

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İPEK FİBROİN/POLİDİMETİLAKRİLAMİD ESASLI YARI İÇİÇE GEÇMİŞ  
(semi-IPN) HİDROJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tuğba ÇELİKER**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Kimya Programı**

**HAZİRAN 2018**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İPEK FİBROİN/POLİDİMETİLAKRİLAMİD ESASLI YARI İÇİÇE GEÇMİŞ  
(semi-IPN) HİDROJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tuğba ÇELİKER  
(509151039)**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Kimya Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Oğuz OKAY**

**HAZİRAN 2018**



İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509151039 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Tuğba ÇELİKER, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "İPEK FİBROİN/POLİDİMETİLAKRİLAMİD ESASLI YARI İÇİÇE GEÇMİŞ (semi-IPN) HİDROJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Prof. Dr. Oğuz OKAY** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Prof. Dr. Nermin ORAKDÖĞEN** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Doç. Dr. Deniz TUNCABOYLU** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Teslim Tarihi** : 4 Mayıs 2018  
**Savunma Tarihi** : 5 Haziran 2018





*Biricik anneme ve babama,*



## ÖNSÖZ

Yüksek Lisans çalışmam için beni laboratuvarına kabul eden, bilgi ve birikimini hiçbir zaman esirgemeyen danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Oğuz Okay'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez yazma sürecimde desteğini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli arkadaşım Aslıhan Arğun'a ve aynı laboratuvarı paylaştığım diğer arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Sağlığımda hastalığımda bir an olsun yanımdan ayrılmayan her zaman desteklerini hissettiğim çok sevgili anneme ve babama çok ama çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması İTÜ Lisansüstü Bilimsel Araştırmaları Destekleme Programı (40602) kapsamında desteklenmiştir. Ayrıca bana sağladığı fırsat ve imkanlardan dolayı İTÜ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Mayıs 2018

Tuğba Çeliker  
(Kimyager)



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR .....	xi
SEMBOLLER .....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET .....	xix
SUMMARY .....	xxi
<b>1. GİRİŞ ...</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORİK KISIM .....</b>	<b>5</b>
2.1 Polimerik Jeller .....	5
2.2 Hidrojeller.....	7
2.3 İç İç Geçmiş Ağ Yapılı Polimerler .....	8
2.3.1 IPN'lerin sınıflandırılması .....	9
2.4 İpek .....	11
2.4.1 Fibroin.....	12
2.4.2 Fibroindeki jelleşme süreci ve $\beta$ -tabaka oluşumu.....	17
<b>3. DENEYSEL KISIM.....</b>	<b>19</b>
3.1 Kullanılan Kimyasallar .....	19
3.1.1 İpek böceği kozaları .....	19
3.1.2 <i>N,N</i> -Dimetilakrilamid.....	19
3.1.3 Sodyum Karbonat.....	19
3.1.4 Lityum Bromür .....	20
3.1.5 <i>N,N'</i> -Metilenbisakrilamid.....	20
3.1.6 Amonyum persülfat.....	20
3.1.7 <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiletildiamin.....	20
3.1.8 Polietilen Glikol.....	21
3.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar .....	21
3.2.1 Hassas terazi.....	21
3.2.2 Desikatör.....	21
3.2.3 Diyaliz tüpü.....	21
3.2.4 Plstik şırınga.....	21
3.2.5 Etüv.....	21
3.2.6 Elektronik kumpas.....	22
3.2.7 Mekanik ölçüm cihazı.....	22
3.2.8 Freeze dryer (Dondurmalı kurutucu).....	22
3.2.9 ATR-FTIR Spektrofotometresi.....	22
3.3 Deneyin Yapılışı .....	22
3.3.1 <i>Bombyx mori</i> ipek böceği kozalarından ipek fibroin çözeltisinin elde edilmesi .....	22

3.3.2 İpek fibroin hidrojenlerinin sentezi.....	25
3.3.2.1 Toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33, %16 ve %25 (ağ/hac) olan fibroin/PDMA semi-IPN hidrojenlerinin sentezi .....	25
3.3.2.2 Toplam fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac) olan farklı fibroin/DMA ağırlık oranlarına sahip semi-IPN hidrojenlerinin sentezi.....	26
3.3.2.3 Kimyasal apraz bağlayıcı varlığında SF/PDMA IPN hidrojenlerinin sentezi.....	27
3.4 Karakterizasyon.....	27
3.4.1 Jel kesri ve şişme karakterizasyonu.....	27
3.4.2 Universal test cihazı ile tek eksenli basma ölçümleri.....	28
3.4.3 ATR-FTIR ölçümleri.....	29
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>31</b>
4.1 Fibroin+DMA Konsantrasyonu (C <sub>0</sub> ) %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) Olan Hidrojenlerinin Deneysel Bulguları .....	31
4.1.1 Semi-IPN hidrojenlerinin jel kesri ve suda ağırlıkça şişme sonuçları .....	32
4.1.2 Mekanik test sonuçları .....	33
4.1.3 ATR-FTIR ölçüm sonuçları .....	36
4.2 Fibroin+DMA Konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki SF/PDMA semi-IPN Hidrojenlerinin Deneysel Bulguları.....	37
4.2.1 Fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki semi-IPN fibroin hidrojenlerinin jel kesri ve suda şişme sonuçları .....	37
4.2.2 Fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki semi-IPN fibroin hidrojenlerinin mekanik ölçüm sonuçları.....	38
4.2.3 %25(ağ/hac)'deki jel örneklerinin ATR-FTIR ölçüm sonuçları.....	40
4.3 Kimyasal apraz Bağlayıcı Varlığında Sentezi Gerçekleştiren Fibroin Hidrojenlerinin Deneysel Sonuçları.....	41
4.3.1 Çapraz bağlı IPN jellerin jel kesri ve suda ağırlıkça şişme sonuçları .....	42
4.3.2 Çapraz bağlı IPN jellerin mekanik ölçüm sonuçları .....	43
4.3.3 Çapraz bağlı IPN jellerin ATR-FTIR ölçüm sonuçları .....	45
<b>5. SONUÇLAR .....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>49</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>55</b>

## KISALTMALAR

<b>APS</b>	: Amonyum persülfat
<b>ATR-FTIR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kıızılötesi Spektroskopisi
<b>BAAm</b>	: <i>N,N'</i> -Metilenbisakrilamid
<b>DMA</b>	: <i>N,N</i> -Dimetilakrilamid
<b>IPN</b>	: İçiçe geçmiş ağ yapılı polimer
<b>PDMA</b>	: Polidimetilakrilamid
<b>PEG</b>	: Polietilen glikol
<b>semi-IPN</b>	: Yarı içiçe geçmiş ağ yapılı polimer
<b>SF</b>	: İpek fibroin
<b>TEMED</b>	: <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiletildiamin



## SEMBOLLER

$E$	: Young modülü
$Wg$	: Jel kesri
$q_w$	: Kütlece şişme oranı
$m_0$	: Jelin sentez sonrası ağırlığı
$m_{\text{şişmiş}}$	: Şişmiş durumdaki jelin ağırlığı
$m_{\text{kuru}}$	: Kuru durumdaki jelin ağırlığı
$F$	: Malzemeye uygulanan kuvvet
$A$	: Malzemenin herhangi bir deformasyon anındaki kesiti
$A_0$	: Malzemenin başlangıç kesit alanı
$L$	: Malzemenin herhangi bir deformasyon anındaki boyu
$L_0$	: Başlangıç anındaki boy
$\lambda$	: Deformasyon oranı
$\sigma_{nom}$	: Nominal gerilim
$\sigma_{gerçek}$	: Gerçek gerilim
$\sigma_f$	: Parçalanma anındaki gerilim
$\epsilon_f$	: Parçalanma anındaki deformasyon



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1:</b> İpeğin bileşimi.....	<b>12</b>
<b>Çizelge 2.2:</b> Fibroinin yapısındaki amino asit yüzdesi. ....	<b>13</b>
<b>Çizelge 3.1:</b> Semi-IPN jellerin sentez koşulları ( $C_o$ =%25(ağ/hac) ). ....	<b>27</b>
<b>Çizelge 3.2:</b> Çapraz bağlayıcı varlığında SF/PDMA IPN hidrojellerinin sentez koşulları ( $C_o$ =%8,33 (ağ/hac) ). ....	<b>27</b>
<b>Çizelge 4.1:</b> Semi-IPN hidrojellerin basma test sonuçları (Fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ). ....	<b>35</b>
<b>Çizelge 4.2:</b> Hidrojellerin basma test sonuçları ( $C_o$ =%25(ağ/hac). ....	<b>40</b>
<b>Çizelge 4.3:</b> Mekanik ölçüm sonuçları ( $C_o$ =%8,33(ağ/hac) fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50). ....	<b>45</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

- Şekil 2.1:** Polimerik jel yapısının şematik gösterimi. .... 5
- Şekil 2.2:** (a) Jelin ideal makromoleküler ağ yapısı, (b) Çapraz bağlı jel ağ yapısı, (c) Fiziksel olarak iç içe geçmiş jel yapısı, (d) Reaksiyona girmeyen grupları içeren jeller, (e) Jeldeki zincir bağlantı şekilleri [39]..... 6
- Şekil 2.3:** 2 polimerin 6 temel kombinasyonu, polimer karışımındaki zincirler arasında bağ yok (a), aşı kopolimer (b), blok kopolimer (c), ab aşı kopolimer (d), IPN (e), semi-IPN (f), a-c termoplastik, d-f termoset..... 9
- Şekil 2.4:** Ardışık (A) ve eş zamanlı (B) IPN sentezinin şematik gösterimi. .... 10
- Şekil 2.5:** Fibroin'in yapısındaki paralel ve antiparalel  $\beta$  tabakaları [Url-2].....15
- Şekil 2.6:**  $\alpha$ -heliks'in yapısı [Url-1]. .... 16
- Şekil 2.7:**  $\beta$ -döngü yapısı [Url-2]. .... 16
- Şekil 3.1:** DMA monomerinin açık formülü. .... 19
- Şekil 3.2:** Sodyum karbonatın açık formülü. .... 19
- Şekil 3.3:** *N,N'*-Metilenbisakrilamid (BAAm) çapraz bağlayıcı açık formülü..... 20
- Şekil 3.4:** *N,N,N',N'*-tetrametiletilediamin'in açık formülü. ....20
- Şekil 3.5:** Mekanik test cihazı (A), Basma aparatları (B), 500 N'luk yük hücresi (C). ....22
- Şekil 3.6:** İpek böceği kozalarından serisini uzaklaştırma(A) ve kalan fibroini yıkama işlemi(B). ....23
- Şekil 3.7:** Vakumlu desikatör içinde ipek fibroinin kurutulması. .... 23
- Şekil 3.8:** İpek fibroini LiBr içerisinde çözme işlemi. ....24
- Şekil 3.9:** Fibroin çözeltisinin suya karşı diyaliz işlemi. ....24
- Şekil 3.10:** Fibroin çözeltisi varlığında APS-TEMED redoks başlatıcı sistemi ile DMA'nın polimerizasyonu. ....25
- Şekil 4.1:** Semi-IPN hidrojellerin jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin toplam fibroin+DMA konsantrasyonu ( $\%C_o$ ) ile değişimi (Fibroin/DMA=50/50 (ağ/ağ)).....32
- Şekil 4.2:** Semi-IPN hidrojellerin suda ağırlıkça şişme oranları  $q_w$  (●) ve su içeriklerinin  $\%H_2O$  (▼) toplam fibroin + DMA konsantrasyonu ( $\%C_o$ ) ile değişimi (fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ)). ....33
- Şekil 4.3:** Semi-IPN hidrojellerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) ve gerçek gerilim  $\sigma_{gerçek}$  (B) sıkıştırma oranı  $\lambda$ 'ya karşı çizilmiştir. C grafiğinde ise düzeltme sonrasında parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}-\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir.  $\%C_o$ (ağ/hac)= 8,33(1), 16(2) ve 25(3) Fibroin/DMA=50/50 (ağ/ağ). ....34
- Şekil 4.4:** Semi-IPN hidrojellerin Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyonları  $\%e_f$  (▼)(A) ve gerilimlerinin  $\sigma_f$  (▲)(B) toplam fibroin+DMA konsantrasyonu ( $\%C_o$ ) ile değişimi (fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ). ....35

- Şekil 4.5:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojenlerinin ve PDMA jelinin FTIR spektrumları ( $\%C_o(\text{ağ/hac})=8,33(1), 16(2), 25(3)$  ve fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).....**36**
- Şekil 4.6:** Hidrojellerin jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin DMA miktarı ( $\%DMA(\text{ağ})$ ) ile değişimi ( $C_o=\%25(\text{ağ/hac})$ ).....**37**
- Şekil 4.7:** Hidrojellerin suda ağırlıkça şişme  $q_w$  (●) ve su içeriğinin  $\%H_2O$  (▲) DMA miktarı ile değişimi ( $C_o=\%25(\text{ağ/hac})$ ).....**38**
- Şekil 4.8:** Hidrojellerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) gerilim sıkıştırma oranı  $\lambda$ 'ya karşı çizilmiştir. B grafiğinde ise parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}-\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir  $C_o=\%25(\text{ağ/hac})$ .**39**
- Şekil 4.9:** Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyon  $\%e_f$  (▼) (A) ve gerilimin  $\sigma_f$  (▲)(B) DMA miktarı ile değişimi ( $C_o=\%25(\text{ağ/hac})$ ).....**39**
- Şekil 4.10:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojenlerinin ve PDMA jelinin IR spektrumları.( $C_o=\%25(\text{ağ/hac})$ , Fibroin/DMA(ağ/ağ)=100/0(a),75/25(b),50/50(c),25/75(d) ).....**41**
- Şekil 4.11:** Jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin BAAM konsantrasyonu ( $\%BAAM(\text{mol})$ ) ile değişimi ( $C_o=\%8,33(\text{ağ/hac})$ , fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).....**42**
- Şekil 4.12:** Suda ağırlıkça şişme  $q_w$  (●) ve su içeriğinin  $\%H_2O$  (▲) BAAM konsantrasyonu ( $\%BAAM(\text{mol})$ ) ile değişimi ( $C_o=\%8,33(\text{ağ/hac})$ , fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).....**43**
- Şekil 4.13:** Hidrojellerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) gerilim sıkıştırma oranı  $\lambda$ 'ya karşı çizilmiştir. B grafiğinde ise parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}-\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir  $C_o=\%8,33(\text{ağ/hac})$ , fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50.....**44**
- Şekil 4.14:** Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyon  $\%e_f$  (▼) (A) ve gerilimin  $\sigma_f$  (▼) (B) BAAM konsantrasyonu ile değişimi ( $C_o=\%8,33(\text{ağ/hac})$ , fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50).....**44**
- Şekil 4.15:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojenlerinin ve PDMA jelinin IR spektrumları. ( $C_o=\%8,33$  (ağ/hac), fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50,  $\%BAAM(\text{mol})=0, 0,5, 1, 2$  ).....**46**

# İPEK FİBROİN/POLİDİMETİLAKRİLAMİD ESASLI YARI İÇİÇE GEÇMİŞ (semi-IPN) HİDROJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

## ÖZET

Hidrojeller suda çözünmeden yüksek miktarda su veya biyolojik sıvı absorplayabilen hidrofilik malzemelerdir. Akıllılık, yumuşaklık ve su depolayabilme özellikleri hidrojelleri eşsiz birer malzeme haline getirmektedir. Sentetik hidrojeller biyolojik dokulara çok benzemesine rağmen, genellikle kırılğandırılar ve kuvvet dayanımı gerektiren uygulamalarda kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Kimyasal çapraz bağlı hidrojellerin düşük mekanik özellik göstermelerinin nedeni parçalanma anında etkili bir enerji dağıtım mekanizmalarının bulunmamasıdır. Yüksek tokluğa sahip jeller elde edebilmek için hidrojel numunesi içerisinde moleküler düzeyde bir enerji dağıtım mekanizması oluşturmak gerekir. Son yıllarda tok jeller elde etmek için geliştirilen yöntemlerden bir tanesi de iç içe geçmiş ağ yapılı (IPN) jel tekniğidir. Bu teknik sayesinde etkin bir enerji dağıtım mekanizması oluşturularak yüksek tokluk, yüksek basma dayanımı ve parçalanma enerjisi gösteren jellerin üretimi gerçekleştirilmektedir. IPN ve yarı içi içe geçmiş (semi-IPN) polimerik ağ yapılar ilk kez 1900'lü yıllarda literatüre girmiş ve bu çalışmalar ile bu malzemelerin ilaç taşıyıcı ve hücre kültürlerinde yapı iskelesi olarak kullanılabilecekları ortaya konmuştur. IPN, aralarında hiçbir kimyasal bağ olmayan en az iki farklı öncül malzeme içeren bunlardan en az birinin diğerinin varlığında sentezlendiği ve/veya çapraz bağlandığı üç boyutlu polimerik ağ yapılarıdır; elde edilen yeni jel, IPN; bileşenleri ile sentezlenen bireysel jellere kıyasla çok daha iyi mekanik dayanıklılık göstermektedir.

İpek, ipek böceklerinden ve bazı örümcek türleri tarafından üretilen doğal bir polimerdir. İpek biyoyoumluluğu, biyobozunurluğu ve üstün mekanik özelliklere sahip olması, biyomedikal uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. *Bombyx mori* ipek böceği kozalarından elde edilen ipek esas olarak iki protein bileşeninden oluşur, bunlar fibroin ve serisin proteinleridir. Fibroin ipek liflerinin yapısal proteinidir, serisin ise fibroin liflerini birbirine bağlayan suda çözünebilen yapışkan kısımdır. Fibroin ağırlıklı olarak glisin ve alanin amino asitlerinden oluşmaktadır. Bu aminoasitler fibroin zincirlerindeki büyük hidrofobik blokları oluştururken bu blokların arasında ve zincir uçlarındaki diğer aminoasitler de hidrofilik blokları oluşturarak fibroinin kopolimerik bir mimariye sahip olmasını sağlamaktadır. Fibroinin yapısındaki hidrofilik kısımlar suda çözünmeyi sağlarken; hidrofobik kısımlar arasında meydana gelen  $\beta$ -tabakalar ise malzemeye mukavemet ve sertlik kazandırmaktadır.

Fibroinin jelleşmesinin temel nedeni hidrofobik kısımlar arasında meydana gelen etkileşimler sonucu rastgele yumak yapıdan  $\beta$ -tabaka yapısına geçişin gerçekleşmesidir. Diğer proteinlerin jelleşmesine oranla fibroinin jelleşmesi için uzun bir süre gerekmektedir. 2012 yılında araştırma grubumuz tarafından geliştirilen bir yöntemle fibroinin jelleşme süreci kısaltılmıştır. Bu yöntemde fibroin

çözeltilerine diepoksitlerin ilavesi ile fibroin zincirleri üzerindeki hidrofilik gruplar birbirine bağlanarak molekülün hareketliliğini azaltmakta ve bu da hidrofobik blokların birbirine yaklaşmasına neden olarak  $\beta$ -tabaka oluşumunu hızlandırmakta ve jelleşme süresini birkaç haftadan bir günün altına düşürmektedir. Ancak elde edilen tek ağ yapılı fibroin hidrojenleri özellikle stres dayanımı gerektiren uygulamalar için yeterli mekanik dayanıma sahip değildir.

Bu tez çalışması kapsamında mekanik dayanımı düşük olan tek ağ yapılı fibroin hidrojenlerinin mekanik dayanımını arttırmak için fibroin ve *N,N*-dimetilakrilamid (DMA) monomeri değişik oranlarda karıştırılarak ipek fibroin/polidimetilakrilamid (SF/PDMA) semi-IPN hidrojenleri elde edilmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda fibroin içeren sulu çözeltilere değişen miktarlarda DMA ilave edilmiş ve DMA'nın fibroin varlığında polimerizasyonu amonyum persülfat (APS)-*N,N,N',N'*-tetrametiletilediamin (TEMED) redoks başlatıcı sistemi ile 50°C'de gerçekleştirilmiştir. Üç seri deneme yapılmıştır. Birinci seri denemelerde fibroin/DMA ağırlıkça eşit (50/50) tutulmuş; toplam fibroin+DMA konsantrasyonu %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) olarak değiştirilerek 3 farklı konsantrasyonda jel sentezi gerçekleştirilmiş ve jellerin mekanik özelliklerine toplam fibroin+DMA konsantrasyonunun yani  $C_0$ 'ın etkisi incelenmiştir. İkinci seri denemelerde birinci denemede en iyi mekanik özelliğe sahip olan yani fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac) olan jel üzerinden devam edilerek fibroin/DMA ağırlık oranı 100/0, 75/25, 50/50 ve 25/75 olarak değiştirilerek fibroin/DMA ağırlık oranlarının etkisi incelenmiştir. Üçüncü seri denemelerde ise fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 sabit tutulmuş toplam fibroin+DMA konsantrasyonu %8,33 olan çözelti ortamına DMA'yı çapraz bağlamak için DMA'nın molce %0,5-2'si arasında değişen mol oranlarında BAAm ilave edilerek kimyasal çapraz bağlayıcının etkisi incelenmiştir. Elde edilen bütün hidrojenlerin şişme davranışları, mekanik test cihazı ile mekanik davranışları incelenmiş ve ATR-FTIR spektroskopisi ile fibroinin yapısı aydınlatılmıştır.

Elde edilen bütün jel örneklerinin ATR-FTIR spektroskopisi ile aydınlatılan yapıları sonucunda jelleşme öncesi fibroin çözeltisinin 1640  $cm^{-1}$ 'de görülen karakteristik pikinin jelleşme sonucu 1620  $cm^{-1}$ 'e kaydığı gözlenmiştir. Bu karakteristik pikin yer değiştirmesi ise jelleşme ile oluşan  $\beta$ -tabakalardan kaynaklanmakta olup bu da semi-IPN jel eldesi yöntemi ile SF/PDMA jellerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ortaya koymaktadır.

Hidrojenlerin mekanik özelliklerine bakıldığında PDMA içermeyen %25(ağ/hac) konsantrasyonda tek ağ yapılı fibroin hidrojenin parçalanma anındaki deformasyonu %40, gerilim değeri 1,2 MPa ve tokluğu 236  $kJ/m^3$  bulunarak mekanik olarak oldukça zayıf olduğu gözlenmiştir. Ağ yapısı içerisine PDMA zincirlerinin girmesiyle elde edilen semi-IPN fibroin/PDMA hidrojenlerin parçalanma anındaki deformasyonu 2 kattan fazla artarak %90'a, gerilimi ve tokluğu ise 5 kat artırılarak sırasıyla 6,3 MPa'a ve 1168  $kJ/m^3$ 'e kadar yükseltilmiştir. Ayrıca hidrofilik yapıdaki DMA'nın ağ yapısı içerisinde ki miktarı arttıkça jellerin ağırlıkça şişme miktarları artmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile PDMA polimer zincirlerinin fibroin ağ yapısı içerisine sokulması ile mukavemeti yüksek, biyoyumlu ve doku mühendisliğinde kullanıma uygun ipek fibroin hidrojenlerin elde edilebileceği ortaya konmuştur.

## **SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF semi-INTERPENETRATING POLYMER NETWORK HYDROGEL BASED ON SILK FIBROIN / POLY(DIMETHYLACRYLAMIDE)**

### **SUMMARY**

Hydrogels are hydrophilic materials which can absorb high quantities of water or biofluids without dissolving in them. Smartness, softness and capability of water uptake properties make hydrogels unique materials. Although synthetic hydrogels are very similar to biologic tissues, they are generally brittle and thus limits the use of these hydrogels for load-bearing applications. Reason of weak mechanical properties exhibited by chemically crosslinked hydrogels is having no effective energy distribution mechanism inside these gel networks. In order to achieve highly tough gels, it is a must to introduce a energy distribution mechanism inside the gel network in molecular level. In recent years, one of these methods to obtain tough gels is interpenetrating network (IPN) technique. By means of this technique, an effective energy distribution mechanism is created in the gel network so, gels exhibiting high toughness, compressive strength and fracture energy can be produced. IPNs and semi-interpenetrating networks (semi-IPN) were introduced into literature in 1900s for the first time and by the help of these studies it was revealed that these materials can be used as drug carrier and tissue scaffold for cell culturing aims. IPNs are polymeric networks comprised of at least two other polymer chains at which no chemical bonds between. Furthermore, at least one of these polymer chains were synthesized and /or crosslinked in the existence of other polymer chain which results in better properties than that of each individual materials' properties involving in IPN.

Silk is a natural polymer produced by silk worms and some kinds of spiders are used for biomedical applications in a wide range due to its extraordinary mechanical properties and biodegradability. Silk, acquired from silk worms named as *Bombyx mori*, is composed of two main proteins called fibroin and sericin. Fibroin is the structural protein of silk fibre and other protein, sericin which is water soluble gummy part, keep these fibre together. Fibroin mainly comprised of two amino acids as glycine and alanine. These amino acids form the large hydrophobic blocks inside the fibroin chains while other amino acids in between these blocks and at the chain ends create hydrophilic blocks; thus, fibroin have a copolymeric architecture. Mentioned hydrophobic parts provides water solubility to fibre, while  $\beta$ -sheets formed between hydrophobic parts bring to structure endurance and rigidity.

The main reason of fibroin gelation is transition of random coils into sheet structures by the help of interactions between hydrophobic parts. Gelation of fibroin takes relatively longer time than that of other proteins. In 2012, a method was described by our research group to shorten the time required for gelation of fibroin. With this method, gelation time of fibroin was shorten from a few weeks to less than a day by addition of diepoxides to fibroin solutions. Diepoxides was provided to bind

hydrophilic groups to each other located on fibroin chains. Thus, immobility of molecules can be obtained which helps obtaining  $\beta$ -sheets by getting hydrophobic blocks together and accordingly shortening of gelation time can be achieved. However, obtained single network fibroin hydrogels are not sufficient in the meaning of mechanical endurance for load-bearing applications.

Within the scope of this thesis, semi-IPN hydrogels were obtained to enhance the single network fibroin hydrogels' mechanical endurance by mixing fibroin solution and *N,N*-dimethyl acrylamide (DMA) monomers in various ratios. For this purpose, various amounts of DMA was added to aqueous fibroin solutions and polymerization of fibroin in the existence of DMA was carried out by the redox initiator system, comprising of ammonium persulphate (APS) and *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED), at 50 °C. Three sets of experiments were performed. For the first set of experiments, fibroin/DMA ratio was set in equal weights (50/50); total fibroin+DMA concentration was varied as 25, 16 and 8.33 % (w/v) and synthesis of gels were performed for these three concentrations to investigate the effect of total concentration, fibroin+DMA, on mechanical properties of gels. Second set of experiments were focused on the sample, having fibroin+DMA total concentration as 25 % (w/v), which have exhibited best mechanical properties in the first set of experiments. For this total concentration, fibroin/DMA weight ratios were varied as 100/0, 75/25, 50/50 and 25/75 and effect of weight ratios at the same total concentration for change in mechanical properties were investigated. For the third set of experiments, effect of chemical crosslink to the system was examined. Fibroin/DMA weight ratio was set as 50/50 for the total concentration, fibroin+DMA, of 8.33 %; to crosslink the DMA, *N,N'*-methylenebisacrylamide (BAAm) was added as crosslinker at 0.5-2 % mol concentrations relative to mol ratios of DMA. Hydrogels obtained by these three sets of experiments were subjected to swelling measurements, their mechanical properties were examined by using universal uniaxial testing machine and interstructures of fibroins were illuminated by using ATR-FTIR spectroscopy.

Results of ATR-FTIR spectroscopy, for all gel samples obtained, were exhibited that the characteristic peak of fibroin solution at 1640  $\text{cm}^{-1}$  before the gelation shifts to 1620  $\text{cm}^{-1}$  after gelation. Shifting of this peak was originated from the  $\beta$ -sheets formed during the gelation and this case reveals that semi-IPN gels, composed of fibroin/poly(*N,N*-dimethylacrylamide) (PDMA), were successfully obtained by this method.

Increasing fibroin+DMA concentrations in the first set of experiments resulted in decrease in equilibrium weights ( $q_w$ ) and water contents ( $\text{H}_2\text{O}$  %). This is because, as fibroin+DMA total concentration is increasing, fibroin amount in a unit gel volume is increased accordingly. A conformation change in fibroin is occurred during the gelation, thus provides formation of  $\beta$ -sheets which behave as crosslink in the structure. Therefore, increasing fibroin+DMA concentration, in the meaning of increasing fibroin and increasing  $\beta$ -sheets amount in a unit volume of gel, was resulted in an increase in crosslink points and a decrease in swelling ratios. Gels in swelling equilibrium was subjected to uniaxial compression tests to reveal mechanical properties. As a result of compression tests performed for semi-IPN gels with the fibroin+DMA concentration of 8.33, 16 and 25 %, young modulus values were acquired as  $0.294 \pm 0.002$ ,  $0.57 \pm 0.3$  MPa, fracture stresses were measured as  $3.1 \pm 0.6$ ,  $5.5 \pm 0.3$ ,  $6.3 \pm 0.3$  MPa and toughness values were recorded as  $349 \pm 37$ ,  $683 \pm 40$ ,  $901 \pm 35$   $\text{Jm}^{-3}$ , respectively. Gels with increasing fibroin+DMA concentration

were displayed increasing young moduli, fracture stresses and toughness values. In other words, increasing fibroin in the structure was resulted in gels with better toughness and mechanical endurance.

Experiments for the second set of single network gels with pure fibroin at the total concentration of 25 % (w/v) were exhibited weak mechanical properties and hardly no endurance under applied forces which was observed as it can not maintain its structural integrity. In order to enhance mechanical endurance of single network pure fibroin gels at the total concentration of 25 % (w/v), semi-IPN gels were synthesized by the addition of 75, 50 and 25% DMA relative to total weight in the same total concentration and so, an energy dissipation mechanism was introduced into system. By increasing DMA ratios in semi-IPN gel samples, Young moduli values were decreased. In contrast with young moduli, fracture stress values were increased from  $1.25 \pm 0.1$  MPa to  $6.3 \pm 0.3$  MPa, toughness values were increased from  $236 \pm 32$  kJm<sup>-3</sup> to  $1168 \pm 186$  kJm<sup>-3</sup>. Pure fibroin hydrogels were fractured under approximately 40 % strain ratio while after introducing PDMA polymer chains in the structure, ratio was increased to 90 %. Mechanical measurements show that, by addition of PDMA chains to the system brittle and relatively weak tough pure fibroin gels were turned into tougher and more durable semi-IPN gels.

Gel samples obtained from third set of experiment with no BAAM at fibroin+DMA concentration of 8.33 % (w/v) were exhibited the highest equilibrium swelling ratio. As the crosslink concentration increases in gel, decreases the equilibrium swelling ratio because of the limitation of water intake caused by crosslink points. Gels acquired at fibroin+DMA concentration of 8.33 % (w/v) with fibroin/DMA weight ratio of 50/50 were synthesized by using 2.1 and 0.5 % mol BAAM, relative to DMA mol concentration, and these gels subjected to uniaxial compression tests to reveal the effect of chemical crosslink on mechanical properties of fibroin hydrogels. It was clear up that, by increasing of BAAM from 0 to 2% mol in the structure, Young modulus  $E$ , fracture stress  $\sigma_f$ , strain ratio  $\% \epsilon_f$  and toughness values were decreased. Due to the lack of energy dissipation mechanism in chemically crosslinked gels, by increasing crosslink amount, mechanical properties of fibroin gels were gotten worse and obtained with weaker mechanical properties.

As a result of this study, by introducing PDMA chains to the networks including fibroin, it was provided to obtain gels with better endurance, biocompatibility and possibility for the tissue engineering benefits.



## 1. GİRİŞ

İpek; ipek böceklerinden, örümceklerden ve bazı böcek türlerinden elde edilen doğal bir biyopolimerdir [1]. İpeğin ilk olarak kraliyet ailelerinde kıyafet üretiminde kullanıldığı görülmektedir. Daha sonraki dönemlerde ise ipek kağıt üretimi, balıkçılık kordonları, müzik enstrümanlarının yayları ve kurşun geçirmez yeleklerin üretimi gibi çeşitli alanlarda kullanılmıştır. Günümüzde ise ipek esas olarak karakteristik mukavemeti, parlaklığı, düşük ısı iletkenliği ve nem emme özellikleri nedeniyle tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır [2]. İpek proteinleri iyi mekanik tokluk, kendi kendine düzenlenme, işleme kolaylığı, biyoyumluluk, sitotoksik olmaması, farklı morfolojik formlarda elde edilen gözenekli malzemelerinde kontrol edilebilir porozite ile oksijen ve su geçirgenliği gibi sahip olduğu sayısız avantajlardan dolayı biyomateryal olarak kullanım için oldukça uygun bir adaydır [3,4]. Biyomedikal uygulamalarla ilgili olarak, ipek biyomateryalleri ya kimyasal olarak değiştirilmiş ipek ya da diğer organik ve / veya inorganik malzemelerle harmanlanmış ipeklerden yapılır. İpek, ABD Gıda ve İlaç İdaresi'nin (FDA) tıbbi cihazlar veya biyomedikal amaçlı kullanım için onayına sahiptir. İpek bazlı biyomateryal matrislerin çeşitli formları vardır. Yapıları ve morfolojisi, hedef dokunun istenilen özelliklerine göre fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlem parametrelerinin değiştirilmesiyle tasarlanabilir [5]. Bunlar bozulma olmaksızın veya malzemenin bileşimine etilen oksit, UV ve gama radyasyonu [6] veya %70 etanol [7] ile muamele gibi yöntemlerdir. İpekten elde edilmiş malzemeler biyomedikal uygulamaları için bazı kimyasal maddeler ile yüksek bir sıcaklıkta [8] kolayca sterilize edilebilir.

İpek sahip olduğu biyoyumluluk, biyobozunurluk, hidrofilik doğası ve sıra dışı mekanik özellikleri dolayısıyla son yıllarda biyomedikal uygulamalarda biyofilm, yapı iskelesi, lif, membran ve hidrojel formlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İpeğin bu değişik formlarındaki kullanımı hücre çoğalması ve tutunmasını, hücre göçünü ve dokuların onarılmasını kolaylaştırdığı kanıtlanmıştır. İpek hidrojelleri ipeğin en önemli formlarından bir tanesidir [9-12]. İpek fibroin hidrojellerinin

kullanımı ipek bazlı biyomateryallerin yapay deri, kemik bağ doku, deri hücresi kültürü gibi bağ dokuları ve ilaç salım sistemindeki doku mühendisliği uygulamaları için umut veren malzemeler olarak kullanımını genişletmiştir [13-15]. Ayrıca ipek fibroin hidrojellerinden elde edilebilecek gözenekli malzemeler sayesinde de hücre büyümesi için mükemmel bir çevre sağlamaktadırlar. Dolayısıyla, ipek fibroin hidrojelleri çok çeşitli tıbbi uygulamalarda faydalıdır.

Hidrojeller, fiziksel veya kimyasal çapraz bağlanma yoluyla kararlı hale getirilmiş polimerlerden oluşturulmuş üç boyutlu polimerik ağlardır. Yapısal bütünlüklerini kaybetmeden büyük miktarlarda su emebilirler [16]. Vücut dokularını taklit etme ve dış uyaranlara tepki verme yetenekleri onları doku mühendisliği, kontrollü ilaç salım sistemleri biyosensörler, mekanik uyarıcılar gibi çeşitli uygulamalar için önemli ve umut verici biyo malzeme formları haline getirmiştir [17]. Özellikle, polimerik matrislerden kontrollü ve sürekli salım, fizyolojik ihtiyaçların karşılanması için hayat kurtaran ilaçların ve aktif moleküllerin öngörülebilir bir şekilde uygulanmasına aracılık eder. Doku mühendisliği için oldukça önemli bir yere sahip olan hidrojellerin bir dezavantajı ise mekanik dayanımlarının düşük olmasıdır. Mekanik dayanımı iyi ve tok malzemeler elde etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Hidrojellerin düşük mekanik özellik göstermesinin başlıca nedenlerinden bir tanesi jel içerisinde yapı bütünlüğünü sağlayan ve uygulanan kuvvetin tamamını ağ yapı içerisine yayabilecek etkin bir enerji dağıtım mekanizmasının mevcut olmamasıdır. Bu nedenle son zamanlarda mekanik dayanımı yüksek jel elde etmek için geliştirilen tekniklerden bir tanesi iç içe geçmiş ağ yapıların bir alt sınıfı olan yarı iç içe geçmiş (semi-IPN) hidrojellerdir [18-20]. Semi-IPN ağ yapıyı oluşturan polimerlerden bir tanesinin çapraz bağlı olmak yerine düz zincirli yapıda olması ve bu ağ yapının diğer ağ yapıyla fiziksel olarak etkileşime girmesiyle oluşmuş üç boyutlu polimerik jellerdir. Semi-IPN polimer ağ yapılarında yapıyı oluşturan iki polimer arasındaki uyum sayesinde mekanik dayanımı artırılmış ve su tutma kapasitesi yüksek, biyomedikal alanda kullanıma uygun jeller elde etmek mümkündür [21].

Akrilamid ve türevlerinin sahip oldukları inert ve hidrofilik yapıları onları tıp ve biyomedikal alanlar için uygun malzemeler haline getirmektedir [22]. Poli N,N-dimetilakrilamid (PDMA) çok kullanışlı biyo-kararlı hidrofilik bir polimerdir [23-25]. PDMA esaslı lineer polimerler [26], hidrojeller [27-29], iç içe geçmiş ağ yapıları polimerler [30] ve karışımlar [31] moleküler biyoloji alanında, kontakt lens ve ilaç

taşınım sistemlerini de kapsayan tıp ve eczacılık alanlarında geniş ölçekli kullanılmaktadır. Ancak PDMA hidrojelleri etkili enerji dağıtım mekanizması eksikliği yüzünden düşük mekanik özellik göstermektedir [32-33]. Literatürde PDMA lineer zincirinin başka polimer ağları ile karıştırılarak mekanik özelliği iyileştirilmiş hidrojellerinin sentezi mevcuttur.

Bu tez çalışması kapsamında biyoyumluluğu, biyobozunurluğu, kolay işlenebilirliği gibi üstün özellikler gösteren ancak düşük mekanik özelliklere sahip fibroin hidrojelinin mekanik dayanımını artırmak için fibroin ağ yapısı içerisine hidrofilik yapıdaki PDMA zincirlerinin sokulması ile mekanik özellikleri iyileştirilmiş biyoyumlu doku mühendisliğinde kullanıma uygun semi-IPN fibroin/PDMA hidrojellerinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

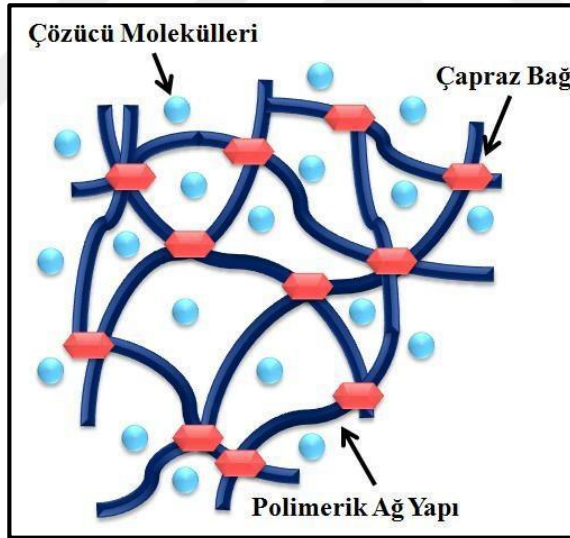




## 2. TEORİK KISIM

### 2.1 Polimerik Jeller

Jeller herhangi bir çözücünde çözünmeden üç boyutlu ağ yapısını koruyan şişmiş polimerler olarak tanımlanır. Çok miktarda çözücü emmiş şişmiş jeller katı maddeler ve sıvılar arasında bir yerdedir ve özellikleri kimyasal bileşime ve diğer faktörlere göre viskoz sıvılardan sert katılara kadar değişir. Jelleşme çapraz bağlanma yoluyla gerçekleşir. Bununla birlikte, çapraz bağlanma mutlaka kovalent bağ oluşumu gerektirmez. Hidrojen bağı gibi fiziksel ikincil kuvvetlerle de elde edilebilir. Şekil 2.1'de polimerik jellerin yapısı şematik olarak gösterilmiştir. [33-36].

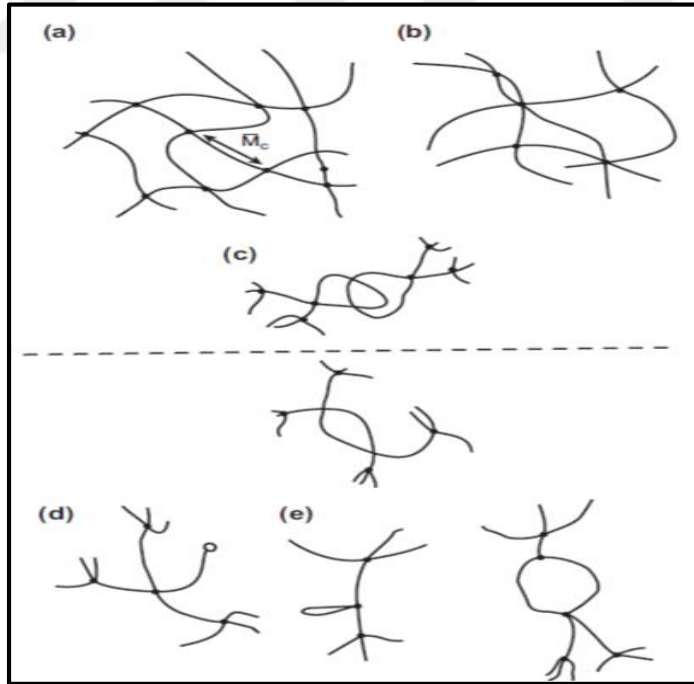


Şekil 2.1: Polimerik jel yapısının şematik gösterimi.

Jeller birçok kategoride sınıflandırılmaktadır. Örneğin, en genel haliyle jeller doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal jeller polisakkaritler ve proteinler gibi doğada bulunan temel maddelerdir. Sentetik jellere ise organik polimerler, silika jeller ve kontakt lensler örnek verilebilir [37]. Başka bir sınıflandırma şekli ise jellerin iyonik yüklerine göre sınıflandırılmasıdır. Bunlar nötral, anyonik, katyonik, ve amfoterik jellerdir [38]. Fiziko-kimyasal özelliklerine göre jeller amorf ve semi-kristalin jel olarak sınıflandırılmaktadır. Amorf jellerde makromoleküler zincirler

rastgele düzenlenmiş; yarı kristalin jellerde ise düzenli makromoleküler zincir bölgeleri kendiliğinden sıralanmış ve kristalin bölgeleri oluşturmuştur. Hazırlanma şekillerine göre jeller homopolimer, kopolimer, multi polimer ve içiçe geçmiş (interpenetrating) jeller olarak sınıflandırılmaktadır. Homopolimer jeller tek bir tür hidrofilik monomer ünitesinin çapraz bağlanması ile oluşan; ancak kopolimer jeller ise en az biri suyla şişirilebilir hale getirmek için hidrofilik olması gereken iki komonomer biriminin çapraz bağlanmasıyla meydana gelen jellerdir [39]. İnterpenetrating polimer jeller bölüm 2.3’de ayrıntılı bir biçimde verilecektir.

Şekil 2.2’de kovalent bağlar tarafından oluşturulan dört fonksiyonel çapraz bağlantı noktalarını belirten ideal bir makro moleküler ağ yapısı gösterilmiştir. Bununla birlikte, gerçek ağlarda yarı-kalıcı bağlantı rolü oynayan çok fonksiyonlu bağlantı noktaları yani çapraz bağ noktaları (Şekil 2.2b) veya fiziksel moleküler dolaşıklıklarda (Şekil 2.2c) mevcuttur. Moleküler boyutta hataya sahip jellerle karşılaşmakta mümkündür. Şekiller 2.2d ve 2.2e bu iki yapılaşmayı gösterir: kısmi dolaşıklıklar ile reaksiyona girmemiş fonksiyonlar (Şekil 2.2d) ve zincir halkaları (Şekil 2.2e) [39,40].



**Şekil 2.2:** (a) Jelin ideal makromoleküler ağ yapısı, (b) çapraz bağlı jel ağ yapısı, (c) fiziksel olarak iç içe geçmiş jel yapısı, (d) reaksiyona girmeyen grupları içeren jeller, (e) jeldeki zincir bağlantı şekilleri [39].

## 2.2 Hidrojeller

Hidrojeller yüksek miktarda su veya biyolojik sıvı emebilen üç boyutlu çapraz bağlı hidrofilik polimer ağ yapılarıdır [39]. Yaşam var olduğundan itibaren hidrojeller doğada mevcuttur. Bakteri biyofilmleri, sulu hücre dışı matris bileşenleri ve bitki yapıları doğada her zaman şişmiş durumda bulunmuştur. İnsanlık tarihinin başlarında jelatin ve agar çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır, ancak modern zamanda ilk olarak hidrojellerin kullanımı biyomedikal alanda kullanımıyla keşfedilmiştir [40]. 1936'da, DuPontlu bilim adamları, son zamanlarda sentezlenen metakrilik polimerler hakkında bir makale yayınlamışlardır. Bu makalede, poli (2-hidroksietil metakrilat) (poli(HEMA))'dan bahsedilmiştir. Kısaca sert, kırılğan ve camsı bir polimer olarak tarif edilmiştir ve önemsiz olarak görülmüştür. Bu yayından sonra, 1960 yılına kadar poli(HEMA) çalışılmamıştır. Wichterle ve Lim, su ve diğer çözücüler varlığında ve çapraz bağlayıcılar eşliğinde HEMA'nın polimerizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada kırılğan polimerler yerine suda şişmiş elastik ve yumuşak jeller elde edilmiştir. Bu çalışma şuan bizim bildiğimiz biyomedikal alandaki hidrojellerin çalışılmasına öncülük etmiştir [41,42]. Hidrojellerin yüksek su içeriği, onları canlı sistemlere biyolojik olarak uyumlu hale getirir ve yumuşak yapısı, çevre dokulara olan zararları en aza indirir. Vücuttaki yumuşak dokular yüksek oranda su içeriğine ve mekanik dayanıma sahiptir. Hidrojellerin biyolojik dokulara olan benzerliklerinden ötürü son yıllarda ilaç salım sistemleri ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımı önem kazanmıştır. Örneğin, hidrojel bazlı ilaç salım sistemleri özelliklerinin ayarlanması için kolaylıkla modifiye edilebildikleri ve hedeflenen dağıtım dolaşım süresinin uzaması ve toksisitenin ve yan etkilerin azaltılmasına olanak sağlamasından dolayı büyük ilgi görmektedir [43]. Daha az çözünürlük, yüksek kristallik, biyobozunurluk gibi problemler elverişsiz mekanik ve termal özellikler, reaksiyona girmemiş monomerler ve toksik çapraz bağlayıcıların bulunması hidrojellerin kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle, bu özelliklerin yeni fikirlerle geliştirilmesi, doğal ve sentetik polimerlerin, biyobozunma, çözünürlük, kristallik ve biyolojik aktiviteler gibi önceden belirlenmiş özelliklere sahip kombinasyonlarıyla mümkün olabilir [44].

Kimyasal çapraz bağlanmayı başlatmak için, bir polimer ile birlikte düşük moleküler ağırlıklı bir çapraz bağlayıcının reaksiyon karışımına eklenmesi gerekmektedir. Çapraz bağlama noktalarının yokluğunda, hidrofilik doğrusal polimer zincirleri,

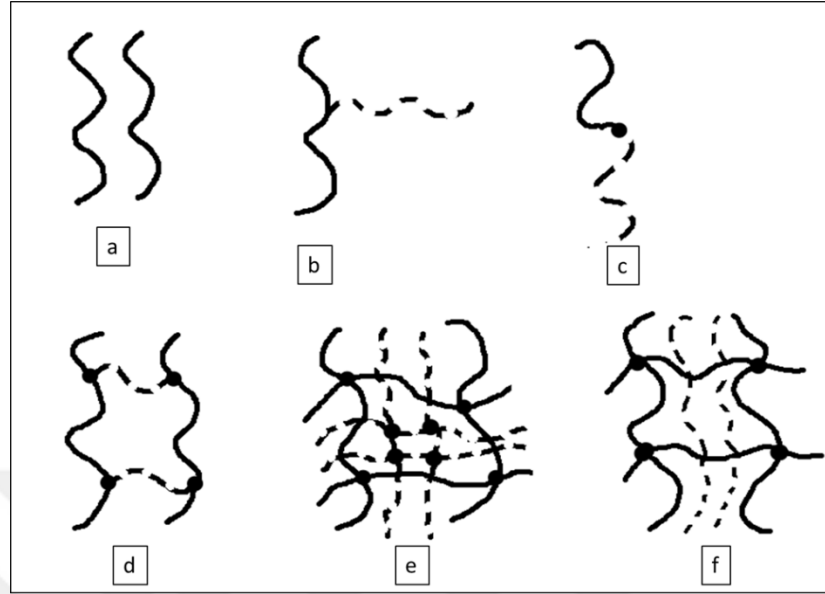
polimer zinciri ve suyun termodinamik uyumluluğu nedeniyle suda çözünür. Bununla birlikte, çapraz bağ noktalarının varlığında, çözünürlük ağdaki çapraz bağlanma noktalarının elastikliğinin çekici gücü ile dengelenir. Bu kuvvetler eşit hale geldiğinde, jeller su içerisinde şişme dengesine ulaşır. Ağın hidrofilisitesi,  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-COOH$ - ve  $-SO_3H$  kapiler etki ve osmotik basınç gibi hidrofilik grupların varlığından kaynaklanmaktadır. Kimyasal ve fiziksel çapraz bağ noktaları, şişmiş haldeki hidrojellerin üç boyutlu yapısını korur. Bu çapraz bağlanmanın bir sonucu olarak, hidrojeller suda çözünmez; bunun yerine, sulu çözeltilerde kolayca şişer ve büyük hacim değişikliklerine maruz kalırlar [45-48]. Çevreye duyarlı hidrojeller, sıcaklık veya kimyasal ortamdaki bir değişiklik gibi bir dış sinyale yanıt olarak hacim değiştiren uyarana duyarlı polimer ağlarından da üretilebilir. Bu malzemeler çeşitli biyomedikal uygulamalar ve yapay kaslar için uygun adaylardır. Ancak hidrojellerin sahip olduğu yetersiz mekanik mukavemet ve tokluk onların biyomedikal alandaki uygulamalarını sınırlandırmaktadır. Geleneksel olarak üretilen sentetik hidrojeller yüksek şişme oranlarını korurken (10-100) düşük Young modül (1-100 kPa), düşük gerilme ve sıkıştırma kuvveti (1-100 kPa) ve düşük kırılma enerjisi ( $<10J/m^2$ ) sergilerler [21,49]. Hidrojellerin mekanik özelliklerini iyileştirmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bir tanesi de IPN hidrojel üretim tekniğidir.

### 2.3 İç İçe Geçmiş Ağ Yapılı Polimerler

İç içe geçmiş ağ yapılı polimerler (IPN) iki veya daha fazla polimerin kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır. Çoğu IPN moleküler ölçekte birbirinin içine nüfuz edememektedir, ancak boyut olarak onlarca nanometreye bölünmüş ince ince fazlar oluştururlar. Birçok IPN iki fazlı devamlılık sergiler buda şu anlama gelmektedir, sistemdeki iki veya daha fazla polimer makroskopik ölçekte süreklilik gösteren faz oluşturur [19,20].

İki veya daha fazla polimer karıştırıldığında sonuç olarak elde edilen kompozisyon çok bileşenli polimer malzeme olarak adlandırılır. İki çeşit polimer molekülünü karıştırmanın birkaç yolu vardır Şekil 2.3'de şematik olarak gösterilmektedir. Eğer zincirler birbirine bağlanırsa aşı veya blok kopolimer oluşur. Bağlanma polimer I'in omurgasının bir kısmı ile polimer II'nin ucu arasında gerçekleşiyorsa aşı kopolimer

olarak adlandırılır. Blok kopolimerler kimyasal yapısı farklı iki homopolimer zincirinin uçlarından birbirine bağlanmasıyla oluşur [21,51-53].



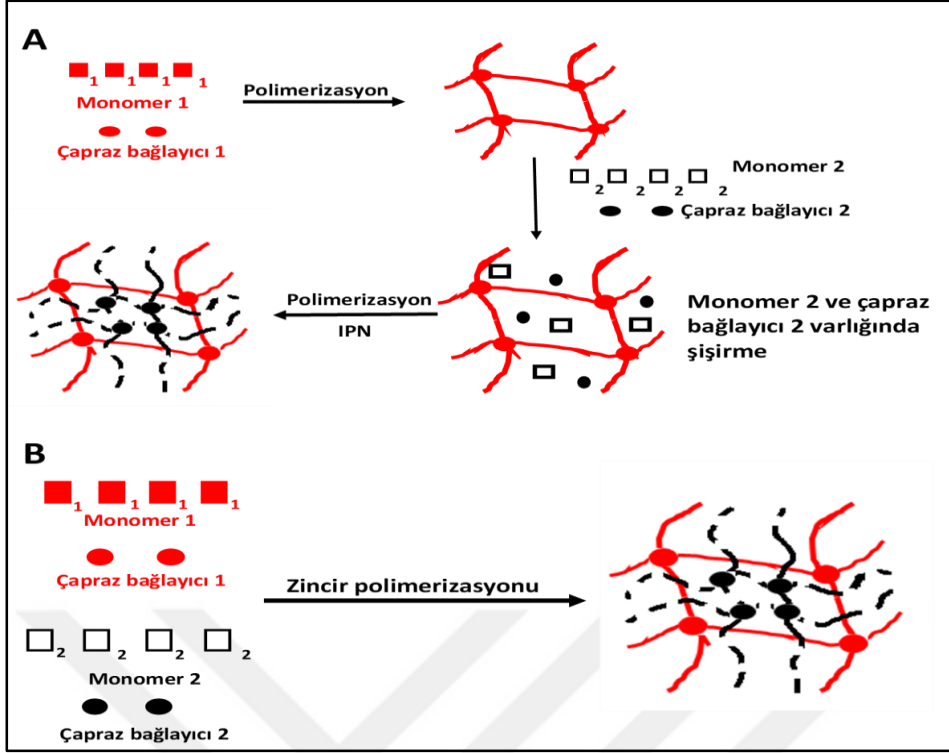
**Şekil 2.3:** 2 polimerin 6 temel kombinasyonu, polimer karışımındaki zincirler arasında bağ yok (a), aşı kopolimer (b), blok kopolimer (c), ab aşı kopolimer (d), IPN (e), semi-IPN (f), a-c termoplastik, d-f termoset.

### 2.3.1 IPN'lerin sınıflandırılması

IPN'ler birçok farklı şekilde sınıflandırılmaktadır. Önemli IPN materyallerinden bazılarının kısa tanımları aşağıdaki gibi açıklanmaktadır.

a) Ardışık IPN: I. polimer ağ yapısı oluşturuluyor, monomer II çapraz bağlayıcı ve başlatıcının ilave edildiği ikinci bir ortamda I. polimer ağ yapısı şişiriliyor Şekil 2.4 A'da şematik olarak gösterilmektedir. Bu yöntemle bir ağ yapısı sentezlendikten sonra diğer bir ağ yapının sentezlenmesinin gerektirdiği birçok olası materyalin sentezi gerçekleştirilmektedir.

b) Eş zamanlı IPN: IPN'i oluşturan her iki polimer için monomerleri veya öncü polimerleri çapraz bağlayıcıları ve başlatıcılarıyla beraber karıştırılıyor. Reaksiyon aynı anda gerçekleşmektedir, fakat reaksiyonlar birbirleriyle karışmamaktadır. Şekil 2.4B'de şematik olarak eş zamanlı IPN sentezi gösterilmiştir.



**Şekil 2.4 :** Ardışık (A) ve eş zamamlı (B) IPN sentezinin şematik gösterimi.

c) Lateks IPN: Genellikle çekirdek ve kabuk yapısında lateks formunda oluşan IPN türüdür. İki farklı lateks karıştırılıyor ve ardından film oluşturuluyor. Yapı içerisindeki her bir lateks çapraz bağlıdır. Bu tür IPN'ler genellikle iç içe geçmiş elastomer ağ yapı olarak adlandırılır.

d) Gradient IPN: Gradient IPN'ler malzemenin bütün kompozisyonunun veya çapraz bağ yoğunluğunun makroskopik seviyede bulunduğu yerden yere göre çeşitlilik gösterdiği malzemelerdir. Örneğin, bir filmin bir yüzeyi baskın bir şekilde I. ağ yapıyla kaplı diğer yüzeyi ise II. ağ yapı ile sarılmış ve iç kısmı boyunca kompozisyon gradienttir.

e) Termoplastik IPN: Termoplastik IPN'ler kimyasal çapraz bağdan ziyade fiziksel çapraz bağlar içeren IPN'ler ve polimer karışımları arasındaki hibrit malzemelerdir. Bu malzemeler termoplastik elastomer benzeri yüksek sıcaklıklarda akışkandılar ve IPN'ler gibi çapraz bağlı davranış gösterirler.

f) Semi-IPN: Bir veya daha fazla polimer içeren kompozisyonlardır ve bunlardan en az bir tanesi lineer veya dallanmış polimer zincirlerinden oluşuyorsa bu tür IPN'ler semi-IPN olarak isimlendirilir [48,54,55].

## 2.4 İpek

İpek genel olarak ipek böcekleri, örümcekler, akrepler ve pire dahil olmak üzere birçok organizma tarafından sentezlenen ve lif haline getirilen protein polimerleri olarak tanımlanır. İpek böceklerinden elde edilen ipek, doğal olarak iplik haline getirilmiş ipek kozalarından önemli ölçüde elde edilebilir ve bu nedenle doğal biyomateryaller olarak kullanılabilir. Doğada ipeğin sentezi çeşitli örümcek ve ipek böcekleri tarafından epitel hücrelerde gerçekleşmektedir [56-58]. İpek doğal bir polimerdir ve çok yaygın bir kullanım alanına sahiptir. İlk olarak ipek Çin’de ortaya çıkmıştır ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra ipeğin farklı alanlarda kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Günümüzde ipek, karakteristik mukavemeti, parlaklığı, düşük ısı iletkenliği ve nem emme özellikleri nedeniyle tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Bunun dışında, evlerin iç dekorasyonunda, paraşüt giyiminde, bisiklet lastikleri, yatak örtüleri vb. yerlerde de kullanılmaktadır [59-61]. En önemlisi, biyomedikal alanda biyomateryal olarak, özellikle doku mühendisliğinde yaygın olarak ve yenileyici tıp alanları ve diğer birçok araştırma alanında da kullanılmaktadır. İpek dikiş, cerrahi drenajı sağlamak ve yarayı bağlamak için eskiden beri uygulanmakta olan cerrahi amaçlar için hala kullanılan en basit biyomateryaldir. İpek böceklerinden elde edilen ipek, önemli ölçüde doğal olarak iplik haline getirilmiş ipek kozalarından elde edilebilir ve bu nedenle doğal biyomateryaller olarak kullanılabilir. Yüksek tokluk ve mukavemet kombinasyonu nedeniyle ipekler ilgi çekici malzemelerdir. Bazı ipeklerin dayanıklılığı, yüksek performanslı Kevlar liflerinden daha yüksektir [1,62,63]. Üstün mekanik özelliklerine ek olarak ipekler çevresel kararlılık, biyoyumluluk kontrol edilebilir biyolojik parçalanabilirlik ve morfolojik esneklik gibi çeşitli faydalar sunmaktadır. Bu nedenle, ipekler geleneksel tekstil endüstrisinde yararlı olan kullanışlı bir yapısal proteinler ailesini temsil ederken, aynı zamanda biyomedikal malzemeler için geniş bir kullanım yelpazesi sağlar [1,64].

İpek proteinlerinin yüksek oranda tekrar eden birincil sırası, katalitik ve moleküler tanıma fonksiyonlarını sağlayan daha az sıralı küresel proteinlerin aksine, yapısal malzeme ihtiyaçları ile ilgili ikincil yapılarında önemli homojenliğe yol açar. İpeklerde ikincil yapı, protein zincirleri arasında hidrojen bağları ile bağlanan istiflenmiş beta tabakalarının (kristal bölgeler) sıkı bir şekilde paketlenmesini sağlar, kuvvet ve esneklik ile hidrofobik bölgeler oluşturur. Bu nedenle, ipek materyaller

önemli bir kristalliğe sahiptir ve su, seyreltik asitler ve alkali dahil çoğu çözücüde çözünmezler [65-69].

#### 2.4.1 Fibroin

*Bombyx mori* ipek böceği kozalarından elde edilen ipek, esas olarak iki protein bileşeninden oluşur, bunlar fibroin ve serisin proteinleridir. Fibroin ipek liflerinin yapısal proteindir, serisin ise fibroin liflerini birbirine bağlayan suda çözünebilir yapışkanimsi kısımdır [65,67]. İpek fibroin kozalarını serisin proteininden arındırmak amacıyla alkali bir çözeltide kaynatılarak saflaştırılır. Kozanın yaklaşık %20-30'luk kısmını oluşturan serisin bu kaynatma işlemi sırasında ipeğin yapısından uzaklaştırılmaktadır [1]. İpek bileşiminde serisin ve fibroine ek olarak waks, karbonhidrat ve pigment gibi diğer bileşenleri de içermektedir. Çizelge 2.1'de ipeğin bileşiminde bulunan maddeler sıralanmıştır [69].

**Çizelge 2.1 : İpeğin bileşimi.**

Bileşen	Bileşen yüzdesi
Fibroin	70-80
Serisin	20-30
Waks	0,4-0,8
Karbonhidratlar	1,2-1,6
Anorganik tuzlar	0,7
Pigmentler	0,2
Toplam	100

*Bombyx mori* ipek böceği kozalarından elde edilen ipek fibroin ağları 10-25 µm çapındadır ve yapı içerisinde 1:1 oranında disülfid bağlarıyla bağlı olan 26 kDa hafif zincir ile 390 kDa ağır zincir büyüklüğündeki iki proteinden oluşmaktadır. Bu proteinler hidrofilik protein sınıfına giren serisin proteini ile kaplıdır. Fibroinin bir arada tutulmasını sağlayan ağır zincirin Cys-c20 ve hafif zincirin Cys-172'si arasındaki disülfid bağıdır ve bu bağ 25 kDa ağırlığında P25 olarak adlandırılan bir glikoproteindir. İpek fibroin malzemelerindeki ağır zincirler üstün mekanik özelliklerinden sorumlu ana yapısal bileşen olarak görev yapan β-tabaka kristalin

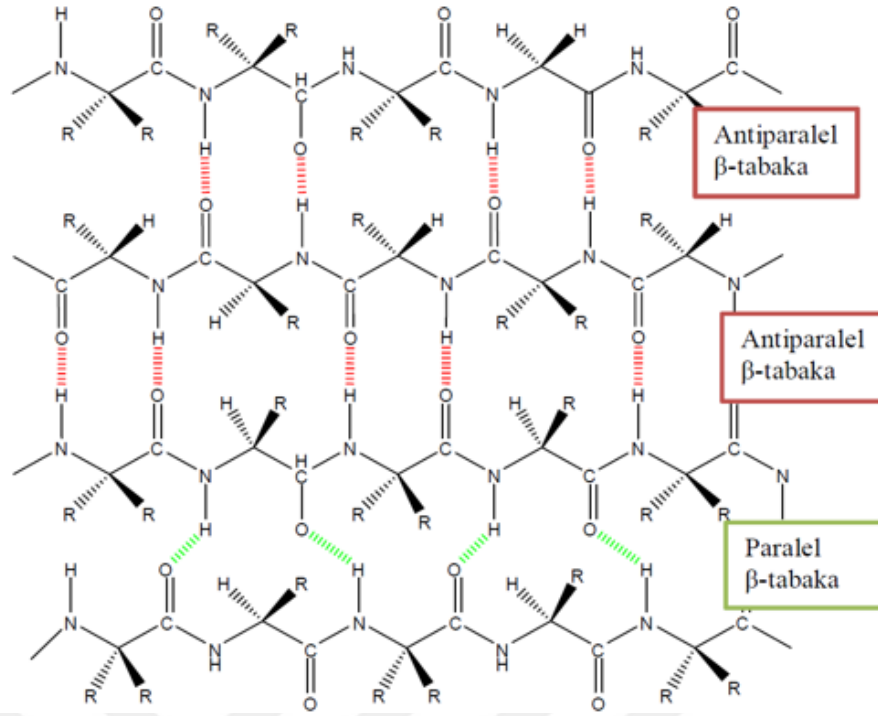
yapıyı oluşturur, hafif zincir boyutu ağır zincir boyutundan küçüktür ve bundan dolayı mekanik özellikler üzerinde çok küçük bir rol oynar ayrıca kristal bölgelerin oluşumunda etkisi bulunmamaktadır [70-72]. Amino asit dizilimi açısından ağır protein zinciri temel olarak en basit üç amino asitten oluşmaktadır ve bunlar şu şekildedir; glisin (~%43-46), alanin (~%25-30) ve serin (~%12). Ayrıca daha büyük polar yan zincire sahip olan tirosinde bulunmaktadır. Daha sonra en bol bulunan aminoasitler sırasıyla valin (~%2) , aspartik asit, fenil alanin, glutamik asit, tironin, izolösin, lösin, prolin, arjinin, lizin ve histidindir [1,70]. Çizelge 2.2'de fibroinin yapısında bulunan amino asitler zincir üzerinde buldukları bölgeye göre verilmiştir.

**Çizelge 2.2:** Fibroinin yapısındaki amino asit yüzdeleri.

Aminoasit	Bileşen (% mol )		
	Toplam	Ağır Alan	Hafif Alan
Glisin	42,9	49,4	10,0
Alanin	30,0	29,8	16,9
Serin	12,2	11,3	7,9
Tirosin	4,8	4,6	3,4
Valin	2,5	2,0	7,4
Aspartik asit	1,9	0,65	15,4
Glutamik asit	1,4	0,70	8,4
Treonin	0,92	0,45	2,8
Fenilalanin	0,67	0,39	2,7
Metionin	0,37	-	0,37
İzolösin	0,64	0,14	7,3
Lösin	0,55	0,09	7,2
Pirolin	0,45	0,31	3,0
Arginin	0,51	0,18	3,8
Histidin	0,19	0,09	1,6
Lizin	0,28	0,06	1,5

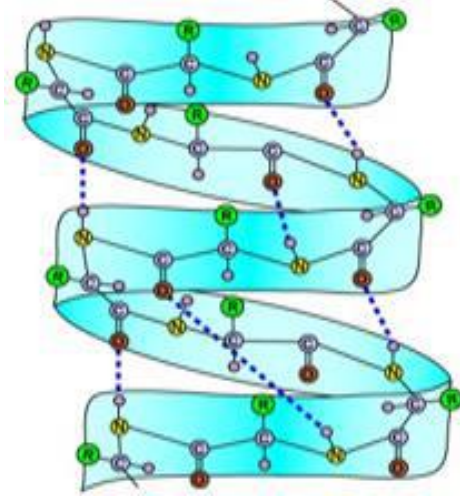
İpek fibroin ağır zinciri, 11 hidrofilik alan ile serpiştirilmiş 12 hidrofobik alandan oluşan oldukça düzenli bir biyopolimerdir. Hidrofilik kısımlar tekrarlamayan amino asit sırası içerirken hidrofobik bölgeler tekrar eden amino asit dizisi içerir. Tekrarlayan bölgeler (çoğunlukla glisin, alanin, serin ve daha az oranda tirozin, valin ve tironin içeren kısımlar) moleküller arası veya hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimleri içeren molekül içi kuvvetler aracılığıyla kendi kendilerine  $\beta$ -tabakalarına organize olabilirler ve sonuç olarak fibroinde yüksek miktarda düzenli kristalin bölgelerin oluşmasına yol açar [1,70-72].

İpek doğal bir protein olduğundan proteinlerde görülen yapılaşmalar ipekte de mevcuttur. Bu yapılaşmalar şu şekilde özetlenebilir. Birincil yapı proteinin peptid dizisinde içerdiği amino asitlerin dizilimiyle oluşan seridir. Amino asit kalıntıları, polimerin poliamid omurgası üzerinde farklı fonksiyonel gruplar sergiler. Bu fonksiyonel gruplar polar, polar olmayan, aromatik anyonik veya katyonik olarak sınıflandırılabilir. Polimer sentezinden sonra, supra moleküler etkileşimler örneğin polimerin omurgasındaki amid bağları arasındaki hidrojen bağı veya aromatik gruplar arasındaki  $\pi$  etkileşimleri, sekonder yapı olarak bilinen polipeptidin lokal konformasyonunu belirler, ikincil yapıların öne çıkan örnekleri şunlardır:  $\alpha$ -heliks,  $\beta$ -tabaka ve  $\beta$ -döngü. Bazı durumlarda, yan yana olan zincirler (zincir içi veya zincirler arası) arasındaki hidrojen bağı, polipeptit zincirinin,  $\beta$ -tabaka olarak bilinen zikzak konformasyonunu benimsemesine neden olur [72-76]. Şekil 2.5'de fibroinde bulunan paralel ve anti paralel  $\beta$ -tabakalar görülmektedir.



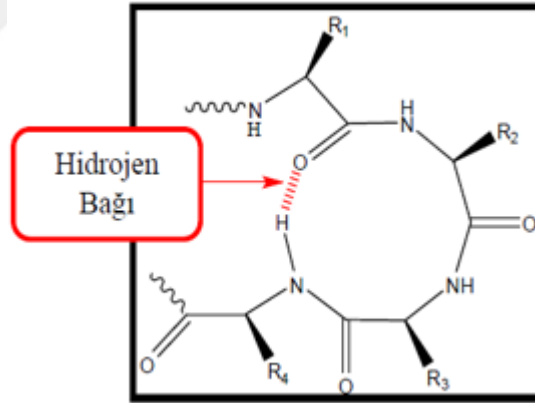
**Şekil 2.5:** Fibroin'in yapıdaki paralel ve antiparalel  $\beta$ -tabakaları [Url-2].

Glisin ve alanin gibi küçük yan zincirlere sahip amino asitler,  $\beta$ -tabakaların istiflenmesine izin verirken, daha büyük amino asitler bu tür bir birikmeyi engeller. Bir amidin nitrojen atomuna bağlanan hidrojen atomu ile peptit bağının amino terminali tarafındaki dördüncü amino asidin karbonil oksijen atomu arasındaki hidrojen bağları, polimeri bir eksenin etrafına bir heliks şeklinde sarılmaya teşvik eder ve  $\alpha$ -heliks yapısı oluşur. Bu yapıdaki her sarmal bükümünü ortalama 3,6 amino asit içerir ve uzunluğu  $5.4 \text{ \AA}$  dur.  $\alpha$ -heliks oluşumu, birbiriyle zıt yüklü 3 veya 4 amino asit kalıntısı arasındaki iyon çifti oluşumu ve benzer aralıklı aromatik amino asitler arasındaki  $\pi$ -etkileşimleri ile meydana gelmektedir. Şekil 2.6'da fibroinde meydana gelen ikincil yapılaşmalardan biri olan  $\alpha$ -heliks yapısı gösterilmiştir [74,79].



Şekil 2.6:  $\alpha$ -heliks'in yapısı [Url-1].

Dönüşler ve döngüler sıklıkla polipeptitlerde ikincil yapıları meydana getirir. Özellikle yaygın olan, birinci amino asidin karbonil oksijenin, dördüncü amino asidin aminindeki hidrojene hidrojen bağı ile bağlandığı 4 amino asitten oluşan, beta dönüşleri olarak bilinen  $180^\circ$ 'lik döngülerdir, ikinci ve üçüncü amino asitler hidrojen bağına katılmaz. Şekil 2.7'de  $\beta$ -döngü yapısı gösterilmiştir [76,81].



Şekil 2.7 :  $\beta$ -döngü yapısı [Url-2].

Özet olarak, fibroin proteini kozanın en önemli yapısal bileşenidir (%72-81) ve ipeğin geri kalanı (%19-28) serisin proteinidir. Moleküler bileşim ve oryantasyon, bu proteinde, iki faz içeren yarı kristalli bir yapı meydana getirir: daha az düzenlenmiş  $\beta$ -tabakalar ile ayrılan yüksek oranda sıralı kristalin antiparalel  $\beta$ -tabakalardır. Kristalin kısım, mukavemet ve tokluğa; kristal olmayan amorf kısım ise esneklik ve dayanıklılığa katkıda bulunur.

## 2.4.2 Fibroindeki jelleşme süreci ve $\beta$ -tabaka oluşumu

Fiziksel çapraz bağ noktaları olarak işlev gören fibroin çözeltilerindeki moleküller arası  $\beta$ -tabakalar, fiziksel koşullar altında kararlı olan hidrojenlerin oluşumuna yol açar. Ancak birçok protein jeli ile kıyaslandığında homojen sulu çözeltilerde fibroinin jelleşmesi oldukça yavaştır. Örneğin, 37 °C'de ipek fibroinin %1 ila 7 konsantrasyon aralığındaki sulu çözeltisi 5 ila 7 gün sonra sol durumdan jel durumuna geçer [73]. Çözeltinin pH'ı 9'un yukarısına çıkarıldığında, jelleşme süresi daha da artar ve pH 10'da jelleşme yaklaşık 1 ay sonra gerçekleşir. Bu uzun jelleşme süresi, fibroin molekülleri üzerindeki karboksil gruplarının karşı iyonlarının zincir genişlemesine neden olan ve hidrofobik etkileşimlerin oluşumunu azaltan ozmotik basıncından kaynaklanır. Asidik pH'larda, karboksil grupları iyonize olmayan formdadır, fibroin molekülleri sulu çözeltilerde daha küçük bir boyutta bulunurlar buda  $\beta$ -tabaka oluşumunu hızlandırır, fakat yine de izoelektrik noktanın (pI=3,8-3,9) yakınılarında %3 konsantrasyonda fibroin çözeltisinin jelleşmesi 2 gün sürmektedir [74-82]. Okay ve çalışma grubu tarafından geliştirilen bir yöntem sayesinde ortama diepoksitlerin ilavesiyle fibroinin jelleşme süreci kısaltılmıştır. Etilen glikol diglisidil eter (EGDE) polisakkaritlerin, proteinlerin, DNA ve küçük organik moleküllerin çapraz bağlanmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. EGDE her iki uçunda içerdiği epoksi grupları sayesinde amin, hidroksil ve tiyol grupları gibi nükleofillerle reaksiyona girebilir. Yapılan bu çalışmada %4,2 konsantrasyondaki fibroin çözeltisinin 50°C'de EGDE varlığında pH 8-11 aralığında kısa bir sürede jelleşmesi sağlanmıştır. EGDE çapraz bağlayıcısı varlığında fibroinin jelleşmesi şu şekilde açıklanabilir. EGDE fibroin moleküllerinin hareketliliğini azaltır ve moleküller arası hidrofobik etkileşimler tetiklenerek  $\beta$ -tabaka yapısının oluşumu hızlandırılmış olur ve kısa sürede fibroin jelleri oluşur [83,84].



### 3. DENEYSEL KISIM

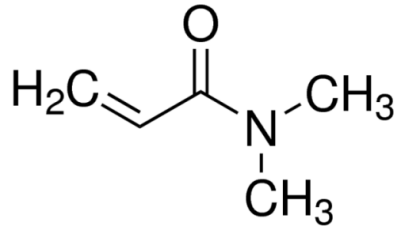
#### 3.1 Kullanılan Kimyasallar

##### 3.1.1 İpek böceği kozaları

İpek fibroin çözeltisi elde etmek için Bursa Kozabirlik firmasından alınan *Bombyx mori* ipek böcekleri kullanılmıştır.

##### 3.1.2 *N,N*-Dimetilakrilamid

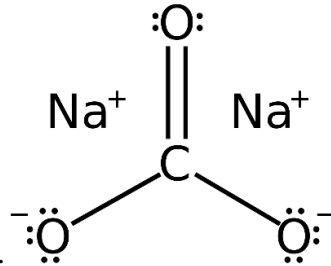
Jel sentezinde hidrofilik monomer olarak molekül ağırlığı 99,13 g/mol olan ve açık formülü Şekil 3.1’de görülen Sigma Aldrich marka *N,N*-Dimetilakrilamid (DMA) monomeri kullanılmıştır.



Şekil 3.1: DMA monomerinin açık formülü.

##### 3.1.3 Sodyum Karbonat

İpektaki fibroin proteininden serisin proteinini uzaklaştırmak için Şekil 3.2’de açık formülü görülen ve molekül ağırlığı 105,98 g/mol olan Merck marka sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) kullanılmıştır.



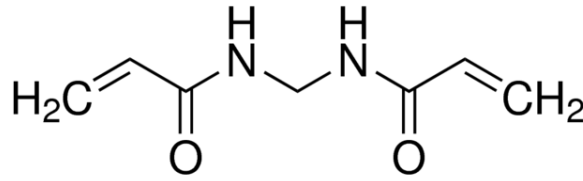
Şekil 3.2: Sodyum karbonatın açık formülü.

### 3.1.4 Lityum Bromür

Fibroini çözmek için molekül ağırlığı 86,84 g/mol olan Merck marka lityum bromür (LiBr) kullanılmıştır.

### 3.1.5 *N,N'*-Metilenbisakrilamid

DMA monomerini çapraz bağlamak için Şekil 3.3'de açık formülü görülen molekül ağırlığı 154,17 g/mol olan Sigma Aldrich marka *N,N'*-Metilenbisakrilamid (BAAm) çapraz bağlayıcısı kullanılmıştır.



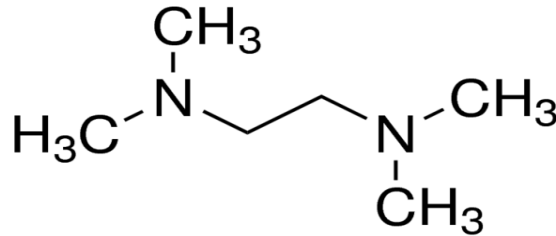
Şekil 3.3: *N,N'*-Metilenbisakrilamid (BAAm) çapraz bağlayıcısının açık formülü.

### 3.1.6 Amonyum persülfat

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> kapalı formülü ile bilinen molekül ağırlığı 228,20 g/mol olan sigma Aldrich marka amonyum persülfat (APS) DMA'nın polimerizasyon reaksiyonunda başlatıcı olarak kullanılmıştır.

### 3.1.7 *N,N,N',N'*-tetrametiletildiamin

Şekil 3.4'de açık formülü görülen molekül ağırlığı 116,24 g/mol olan Sigma Aldrich marka *N,N,N',N'*-tetrametiletildiamin (TEMED) jel sentezinde pH ayarlayıcı ve hızlandırıcı olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.4: *N,N,N',N'*-tetrametiletildiamin'in açık formülü.

### **3.1.8 Polietilen Glikol**

İpek fibroin sulu çözeltisinin konsantrasyonunu artırmak için molekül ağırlığı 10000 olan Sigma Aldrich marka polietilen glikol %10-15(ağ/hac) konsantrasyonda hazırlanarak kullanılmıştır.

### **3.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar**

Deneysel çalışmalar kapsamında kullanılan cihazlar ve özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

#### **3.2.1 Hassas terazi**

205 g' a kadar tartım alabilen 0,1 mg duyarlılıkta Satorius model elektronik terazi kullanılarak tartım işlemleri yapılmıştır.

#### **3.2.2 Desikatör**

Serisin proteini uzaklaştırıldıktan sonra yıkanan fibroini kurutmak için içerisinde NaOH bulunan vakumlu desikatör kullanılmıştır.

#### **3.2.3 Diyaliz tüpü**

Fibroin çözeltisi elde etmek amacıyla kullanılan LiBr'ü fibroin çözeltisinden uzaklaştırmak için suya karşı yapılan diyaliz işleminde Pierce Thermo Scientific Rockford Thermo marka MWCO 10000 diyaliz tüpü kullanılmıştır. Fibroin çözeltisinin konsantrasyonunu artırmak için PEG'e karşı yapılan diyaliz işleminde Pierce Thermo Scientific Rockford Thermo marka MWCO 3500 diyaliz tüpü kullanılmıştır.

#### **3.2.4 Plastik şırınga**

Fibroin hidrojellerinin sentezleri 1 mL'lik plastik şırıngalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.5 Etüv**

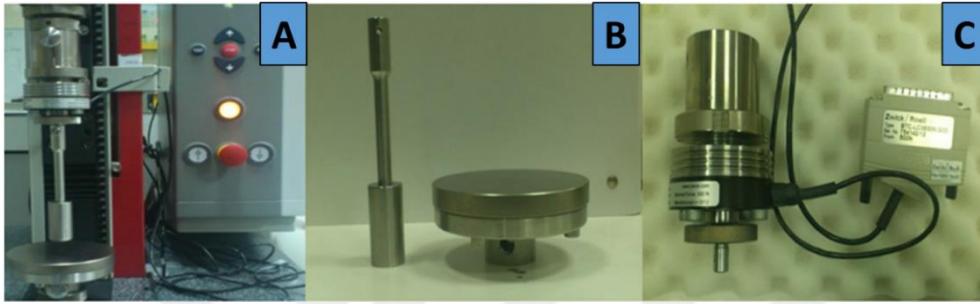
1 °C'ye duyarlı 0-80 °C arasında çalışan Nüve EN 400 marka etüv kullanılarak 50 °C sıcaklıkta fibroin hidrojellerinin sentezi yapılmıştır.

### 3.2.6 Elektronik kumpas

0-150 mm ölçüm aralığına sahip Mitutoyo marka elektronik kumpas ile mekanik ölçüm öncesi jellerin çapları ölçülmüştür.

### 3.2.7 Mekanik ölçüm cihazı

Fibroin/PDMA hidrojellerine basma ölçümleri yapmak için Şekil 3.5'de gösterilen Zwick-Roell Z-0.05 marka mekanik test cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.5: Mekanik test cihazı (A), Basma aparatları (B), 500 N'luk yük hücresi (C).

### 3.2.8 Freeze dryer (Dondurmalı kurutucu)

Christ marka Alpha 2-4 LD plus model dondurmalı kurutucu yardımıyla suda ağırlıkça şişme dengesine ulaşan hidrojelleri kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.9 ATR-FTIR Spektrofotometresi

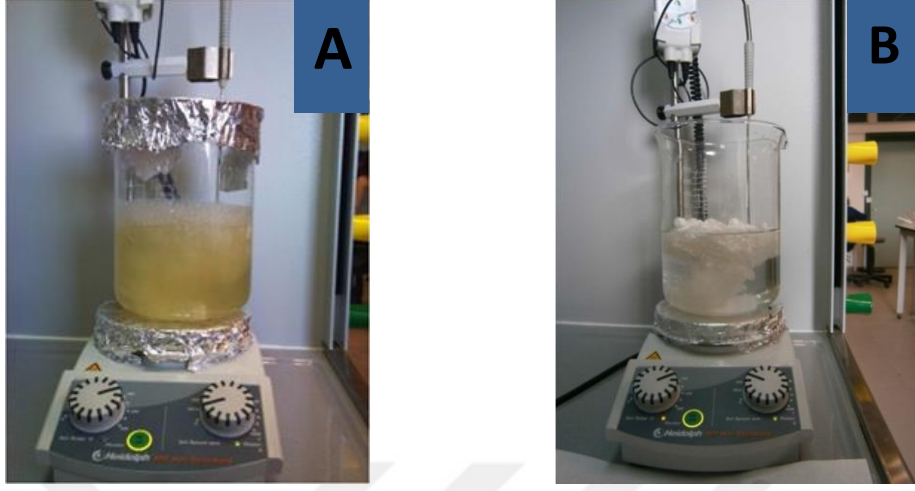
Nicolet Nexus 6700 marka ATR-FTIR spektrofotometre cihazı yardımıyla hidrojeller içindeki ipek fibroin moleküllerinin konformasyonu ve  $\beta$ -tabaka miktarları belirlenmiştir.

## 3.3 Deneyin Yapılışı

### 3.3.1 *Bombyx mori* ipek böceği kozalarından ipek fibroin çözeltisinin elde edilmesi

Böceklerinden arındırıldıktan sonra küçük parçalara ayrılarak temizlenip yıkanan *Bombyx mori* ipek böceği kozaları Şekil 3.6A'da görüldüğü gibi 0,02 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi içinde 1 saat kaynatılarak serisin proteinleri ve vaks gibi yapışkan maddelerin uzaklaştırılması sağlandı. Bir saatin ardından fibroin içerisinde kalmış olması muhtemel bileşenleri uzaklaştırmak için Şekil 3.6B'de görüldüğü gibi 70 °C

sıcaklıkta 1 L saf su içerisinde her biri 20 dakika olmak üzere 4 defa yıkama işlemi gerçekleştirildi.



**Şekil 3.6:** İpek böceği kozalarından serisini uzaklaştırma(A) ve kalan fibroini yıkama işlemi(B).

Yıkama işleminin ardından elde edilen ipek fibroin vakumlu desikatör içerisinde kurumaya bırakıldı (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7:** Vakumlu desikatör içinde ipek fibroinin kurutulması.

Sulu ipek fibroin çözeltisi elde etmek için kuruyan ipek fibroin 9,3 M LiBr içerisinde 60 °C sıcaklıkta çözüldü (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8:** İpek fibroini LiBr içerisinde çözme işlemi.

Çözme işleminin ardından fibroin çözeltisi buzdolabında bir saat bekletildi, buzdolabından çıkarılan fibroin çözeltisi üzerindeki safsızlıklar temizlendi ve elde edilen fibroin çözeltisindeki LiBr'ü uzaklaştırmak için suya karşı 3-4 gün boyunca Pierce Thermo Scientific Rockford IL marka Diyaliz tüpü (MWCO 10000) içerisinde diyaliz işlemi yapıldı, gün içerisinde diyaliz suyu sık sık değiştirildi. (Şekil 3.9 )



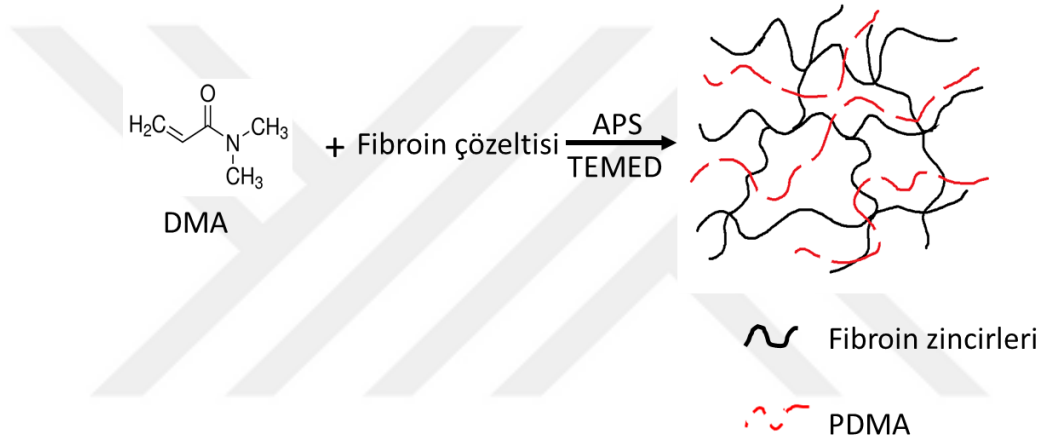
**Şekil 3.9:** Fibroin çözeltisinin suya karşı diyaliz işlemi.

Tuz uzaklaştırma işlemi sonrasında gravimetrik analiz yöntemi kullanılarak fibroin çözeltisinin konsantrasyon tayini yapıldı ve yaklaşık olarak %6 (ağ/hac)'de fibroin sulu çözeltisi elde edildi. Hidrojel sentezinde gerekli olan yüksek konsantrasyona sahip fibroin çözeltisi elde etmek için PEG'ün %10-15 konsantrasyondaki sulu çözeltisine karşı 3500 MWCO diyaliz tüpü içerisinde ikinci bir diyaliz işlemi yapıldı

ve diyalizden sonra fibroin konsantrasyonu tayin edildi (yaklaşık %32 (ağ/ağ) konsantrasyonda). Sulu fibroin çözeltisi hidrojel sentezinde kullanılmak üzere buzdolabında +4 °C’de muhafaza edildi.

### 3.3.2 İpek fibroin hidrojellerinin sentezi

Fibroin ve DMA monomeri değişik oranlarda karıştırılarak semi-IPN hidrojeller elde edilmiştir. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda ipek fibroin içeren sulu çözeltilere değişen miktarlarda DMA eklenerek çözünmesi sağlanmıştır. DMA’nın ipek fibroin varlığında polimerizasyonu APS-TEMED redoks başlatıcı sistemi ilavesiyle 50 °C ‘de gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10 ).



**Şekil 3.10:** Fibroin çözeltisi varlığında APS-TEMED redoks başlatıcı sistemi ile DMA’nın polimerizasyonu.

#### 3.3.2.1 Toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33, %16 ve %25 (ağ/hac) olan fibroin/PDMA semi-IPN hidrojellerinin sentezi

Fibroin / DMA ağırlık oranı 50/50 sabit tutularak fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33, %16 ve %25 olarak değiştirildi. Fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33 (ağ/hac)’deki hidrojel sentezi için saf sudaki diyaliz işleminin ardından elde edilen %6 (ağ/hac)’deki ipek fibroin sulu çözeltisi saf su ile %5(ağ/hac)’e seyretildi ve %5(ağ/hac)’deki fibroin çözeltisinden 5 mL alındı içerisine 0,25 g DMA eklendi ve 1 dk karıştırıldı. Fibroin + DMA çözeltisi içerisine 0,2 mL (7,3 mM) APS ve 15 µL (%0,25 hac/hac) TEMED ilavesinden sonra çözelti hacmi saf su ile 6 mL’ye tamamlandı ve 30 sn’lik karıştırma işleminin ardından 1 mL’lik plastik şırıngalara çekilerek 50 °C etüv içerisinde 24 saat bekletildi.

Fibroin + DMA konsantrasyonu %16 (ağ/hac)'deki semi-IPN hidrojel sentezini gerçekleştirmek için PEG'e karşı diyaliz işleminden sonra konsantrasyonu %32 (ağ/ağ) ıkan ipek fibroin çözeltisi kullanıldı ve hidrojel sentezi şu şekilde gerçekleştirildi. Fibroin çözeltisinden 2,5 g alındı ve içerisine 0,8 g DMA ilave edilerek yaklaşık 1 dakika karıştırıldı. Karıştırma işleminin ardından 0,2 mL (4,4 mM) APS ve 25 µL (%0,25 hac/hac) TEMED ilave edilerek saf su ile çözelti hacmi 10 mL'ye tamamlanarak 30 saniye daha karıştırma işlemine devam edildi. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra homojen jel çözeltisi 1 mL'lik plastik şıngalara çekilerek 50 °C etüv içerisinde 24 saat bekletildi.

Fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki semi-IPN hidrojel sentezi ise şu şekilde gerçekleştirildi. PEG'e karşı diyaliz işleminden sonra konsantrasyonu %32 (ağ/ağ) ıkan fibroin çözeltisinden 3,91 g alındı, içerisine 1,25 g DMA ilave edilerek yaklaşık 1 dakika karıştırıldı. Karıştırma işleminin ardından 0,2 mL (4,4 mM) APS ve 25 µL (%0,25 hac/hac) TEMED ilave edilerek saf su ile çözelti hacmi 10 mL'ye tamamlanarak 30 saniye daha karıştırma işlemine devam edildi. Karıştırma işleminin ardından homojen hidrojel çözeltisi i çapı 4,8 mm olan 1 mL'lik plastik şıngalara çekilerek 50 °C etüv içerisinde 24 saat bekletildi. 24 saatin ardından etüvden çıkarılan jeller oda sıcaklığında bir müddet bekletildikten sonra bir jilet yardımıyla şıngalardan dışarı çıkartıldı. şıngalardan dışarı çıkartılan jellerin tartımları alındıktan sonra şişme dengesine gelmesi için saf su içerisine atıldı.

### **3.3.2.2 Toplam fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac) olan farklı fibroin/DMA ağırlık oranlarına sahip semi-IPN hidrojellerin sentezi**

Toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %25(ağ/hac) olarak sabit tutuldu, buna karşılık fibroin / DMA ağırlık oranları 25/75, 50/50, 75/25 ve 100/0 olarak değiştirildi. Fibroin / DMA ağırlık oranı 50/50 olan hidrojel örneği için geçerli olan sentez prosedürü diğer jellerin sentezlerindedede geçerlidir. Çizelge 3.1'de fibroin + DMA konsantrasyonu %25(ağ/hac)'deki jel sentezlerinde kullanılan madde miktarları ayrıntılı bir biçimde verilmiştir.

**Çizelge 3.1:** Semi-IPN jellerin sentez koşulları ( $C_o=25$ (ağ/hac)).

Fibroin/DMA (ağ/ağ)	%32(ağ/ağ) SF çözeltisi(g)	DMA (g)	APS (mL)	TEMED ( $\mu$ L)	Toplam çözelti hacmi(mL)
100/0	7,8	0	0,2	25	10
75/25	5,9	0,625	0,2	25	10
50/50	3,9	1,25	0,2	25	10
25/75	1,95	1,875	0,2	25	10

### 3.3.2.3 Kimyasal çapraz bağlayıcı varlığında SF/PDMA IPN hidrojellerinin sentezi

Fibroin / DMA ağırlık oranı 50/50 sabit tutularak fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33 olan jel çözeltisine DMA için çapraz bağlayıcı olarak BAAM eklenerek kimyasal çapraz bağlayıcının olası etkisi incelendi. DMA miktarının molce % 0,5 , 1 ve 2 mol oranlarında değişen BAAM kullanıldı. Hidrojel sentezinde kullanılacak olan BAAM miktarları için 10 mL su içerisinde 0,25 g BAAM çözülerek stok çözelti hazırlandı. Çapraz bağlayıcı içeren fibroin hidrojellerinin sentezi genel olarak şu şekilde gerçekleştirildi: beher içerisinde DMA ile BAAM balık yardımıyla 1 dakika karıştırıldı bu karışıma 5 mL fibroin sulu çözeltisi ilave edildikten sonra karıştırma işlemine 1 dakika daha devam edildi, fibroin + DMA ve çapraz bağlayıcı karışımına APS+TEMED başlatıcı sistemi ilave edildikten sonra çözelti hacmi 6 mL'ye tamamlanarak jel çözeltisi 1 mL'lik plastik şırıngalara çekildi ve 50 °C etüv içerisinde 24 saat bekletildi. Hidrojel sentezinde kullanılan madde miktarları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

**Çizelge 3.2:** Kimyasal çapraz bağlayıcı varlığında SF/PDMA IPN hidrojellerinin sentez koşulları ( $C_o=8,33$  (ağ/hac) ).

BAAM (%mol)	%5(ağ/hac) SF çözeltisi(mL)	DMA (g)	BAAM (mL)	APS (mL)	TEMED ( $\mu$ L)	Toplam çözelti hacmi(mL)
0	5	0,250	-	0,2	15	6
0,5	5	0,248	0,076	0,2	15	6
1	5	0,246	0,152	0,2	15	6
2	5	0,242	0,300	0,2	15	6

## 3.4 Karakterizasyon

### 3.4.1 Jel kesri ve şişme karakterizasyonu

Sentezi gerçekleştirilen jel örneklerinde reaksiyona girmeyen başlatıcı, monomer ve çapraz bağlayıcı gibi safsızlıkları uzaklaştırmak için jeller şişme testlerine tabi

tutulmuştur. Şıngalardan çıkarılan hidrojellerin hassas terazi yardımıyla başlangıç kütleleri ( $m_0$ ) tartılmıştır, tartımı alınan jel örneklerinin suda şişme dengesine gelmesi için saf su dolu bir beher içerisine alınmıştır. Saf su içerisinde oda sıcaklığında bulunan jellerin gün aşırı suları değiştirilmiş ve sabit kütleyle ulaşana kadar bu işleme devam edilmiştir, değişmeyen kütle değerlerine ulaşıldığında jellerin şişmiş durumdaki kütleleri ( $m_{\text{şişmiş}}$ ) kaydedilmiştir. Dengeye ulaşan fibroin hidrojellerinin yapı analizini gerçekleştirmek ve jel kesri değerlerini hesaplamak için kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Şişmiş durumdaki hidrojelleri kurutmak için üç gün süren dondurmalı kurutma cihazında kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutma işleminin ilk gününde şişmiş jeller  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuştur. 2. gün  $-40\text{ }^{\circ}\text{C} / 0,12\text{ mbar}$  ve 3. gün  $-60\text{ }^{\circ}\text{C} / 0,011\text{ mbar}$ 'da tutularak kurutulmuşlardır. Üç günlük kurutma işleminin ardından kuru durumdaki hidrojellerin kütleleri ( $m_{\text{kuru}}$ ) tartılmıştır. Aşağıdaki bağıntılar yardımıyla sentezlenen jellerin kuru duruma göre ağırlıkça şişme oranları ( $q_w$ ), yüzde su içerikleri ( $\%H_2O$ ) ve jel kesirleri ( $Wg$ ) hesaplanmıştır. Jel kesri kullanılan DMA ve fibroin'den elde edilen iç içe geçmiş ağ yapı miktarını göstermektedir.

$$q_w = \frac{m_{\text{şişmiş}}}{m_{\text{kuru}}} \quad (3.1)$$

$$\%H_2O = 100 \times \left(1 - \frac{1}{q_w}\right) \quad (3.2)$$

$$Wg = \frac{m_{\text{kuru}}}{m_0 \times c_0} \quad (3.3)$$

### 3.4.2 Universal test cihazı ile tek eksenli basma ölçümleri

Suda şişme dengesine ulaşmış semi-IPN hidrojel numunelerine basma ölçümleri yapmak için Zwick-Roell Z-0.05 marka mekanik test cihazı kullanılmış ve jellerin mekanik davranışları incelenmiştir. Ölçümler sırasında jel örneklerine  $24 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklığında 500 N'luk yük hücresiyle 0,05 N'luk ön yük uygulanarak 1 mm/dak hızda basma testi yapılmıştır. Basma ölçümleri sonrasında gerilim-gerinim eğrileri elde edilerek mekanik özelliklerin belirlenmesinde önemli parametreler olan elastik modül ( $E$ ) ve tokluk hesabı yapılmıştır. Elastik modül değeri gerilim-gerinim eğrisinin %5-15 basma aralığındaki lineer bölgedeki eğiminden hesaplanmaktadır.

Gerilim-gerinim eğrisinin altında kalan alan tokluğu vermektedir ve tokluk numunenin parçalanması için gerekli olan enerji miktarını ifade etmektedir. Basma gerilimi gerçek gerilim  $\sigma_{gerçek}$  ve nominal gerilim  $\sigma_{nom}$  ile ifade edilmektedir. Nominal gerilim  $\sigma_{nom}$  numunenin deformasyona uğramadığı andaki yani sıkıştırma testinin başındaki kesit alanı başına ( $A_0$ ) etki eden kuvveti ( $F$ ) gösterirken gerçek gerilim  $\sigma_{gerçek}$  ise deformasyona uğrayan malzemenin kesit alanı ( $A$ ) başına etki eden kuvvet olarak ifade edilmektedir. Basma gerinimi ( $\lambda$ ), basma sırasında jel örneğinin uzunluğundaki değişimin ( $\Delta L$ ) başlangıç boyuna ( $L_0$ ) oranıyla hesaplanmaktadır. Mekanik ölçüm sonuçları aşağıdaki bağıntılar yardımıyla değerlendirilmektedir.

$$\sigma_{nom} = \frac{F}{A_0} \quad (3.4)$$

$$\sigma_{gerçek} = \frac{F}{A} = \sigma_{nom} * \lambda \quad (3.5)$$

$$\lambda = 1 - \frac{L}{L_0} \quad (3.6)$$

### 3.4.3 ATR-FTIR ölçümleri

FTIR spektroskopisi yardımıyla semi-IPN hidrojeller içindeki ipek fibroin moleküllerinin konformasyonu ve  $\beta$ -tabaka miktarları belirlenmiştir. Amid I bölgesinde ( $1580-1720 \text{ cm}^{-1}$ ) mevcut gizli pikler Peak Fit Version 4.12 SeaSolve Software yazılımı aracılığıyla görünür hale getirilerek sırasıyla  $\beta$ -tabaka, rastgele yumak  $\alpha$ -sarmal ve  $\beta$ -döngü konformasyonlarına karşılık gelen  $1620 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1640 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1660 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1698 \text{ cm}^{-1}$  piklerinin altında kalan alanlardan % konformasyon oranları hesaplanmıştır.



#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında biyoyumluluğu, biyobozunurluğu, kolay işlenebilirliği gibi üstün özellikler gösteren ancak düşük mekanik özelliklere sahip fibroin hidrojelinin mekanik dayanımını artırmak için fibroin ağ yapısı içerisinde hidrofilik yapıdaki PDMA polimer zincirlerinin sokulması ile mekanik özellikleri iyileştirilmiş biyoyumlu ve doku mühendisliğinde kullanıma uygun semi-IPN ipek fibroin/PDMA hidrojellerinin sentezi amaçlanmıştır. Deneysel çalışmalar üç ana başlık altında incelenmiştir. İlk bölümde fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olarak sabit tutulmuş ve fibroin + DMA konsantrasyonu ( $C_0$ ) %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) olarak değiştirilen 3 farklı konsantrasyonda jel sentezi gerçekleştirilmiştir. İkinci kısımda birinci denemeler sonucunda en iyi mekanik özellik gösteren fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki jel sentezinde fibroin/DMA ağırlık oranları 100/0, 75/25, 50/50 ve 25/75 olarak değiştirilerek fibroin ve DMA'nın ağırlık oranlarının jellerin özelliklerine etkisi incelenmiştir. Üçüncü ve son kısımda ise fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33 (ağ/hac) olan fibroin hidrojellerine üç farklı mol oranında DMA için çapraz bağlayıcı olarak kullanılan BAAM ilave edilerek çapraz bağlayıcının hidrojel üzerindeki etkisine bakılmıştır. Üç başlık altında yürütülen deneysel çalışmalar boyunca bütün jel örneklerinin jel kesirleri, suda ağırlıkça şişme oranları, FTIR spektroskopisi yardımıyla hidrojeller içindeki ipek fibroin moleküllerinin konformasyonu ve tek eksenli basma testleri uygulanarak mekanik özellikleri incelenmiştir.

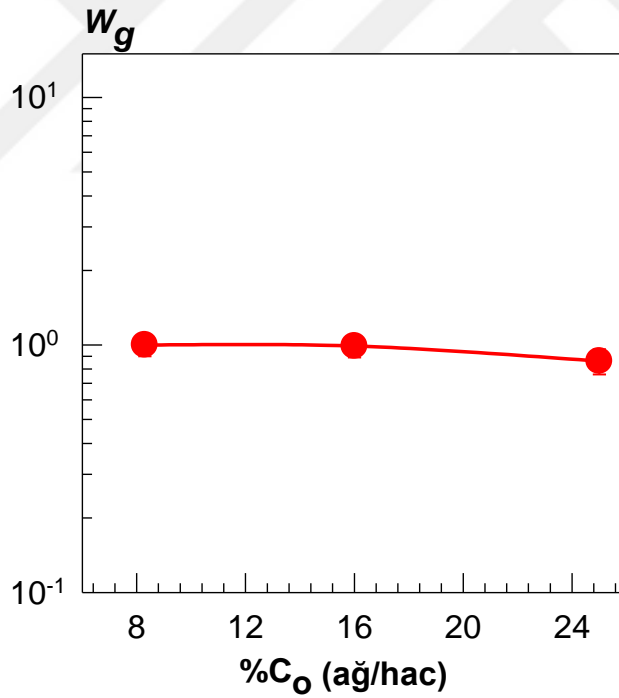
##### **4.1 Fibroin+DMA Konsantrasyonu ( $C_0$ ) %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) Olan Hidrojellerin Deneysel Bulguları**

Sulu çözelti içerisindeki fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olarak sabit tutulmuş toplam fibroin + DMA konsantrasyonu ( $C_0$ ) %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) olarak değiştirilerek 3 farklı konsantrasyonda jel sentezi gerçekleştirilmiş ve semi-IPN

hidrojellerin mekanik özelliklerine toplam fibroin + DMA'nın konsantrasyonunun yani  $C_o$ 'ın etkisi incelenmiştir.

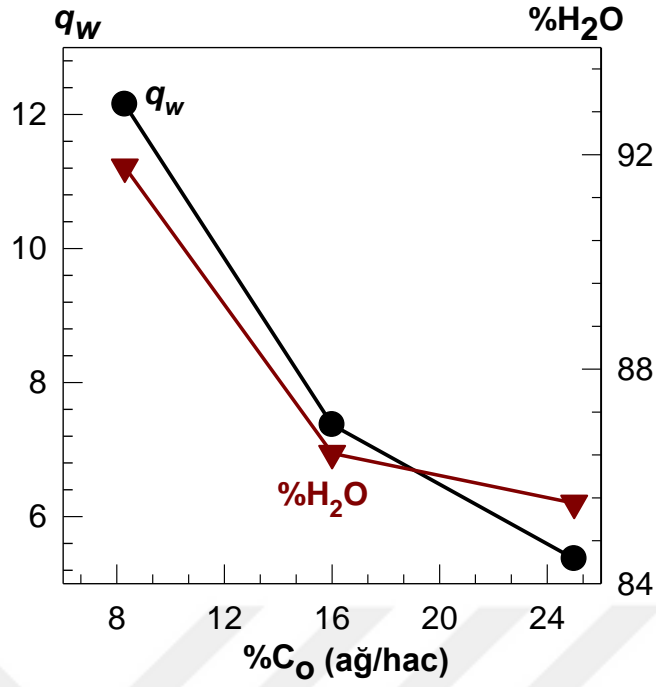
#### 4.1.1 Semi-IPN hidrojellerin jel kesri ve suda ağırlıkça şişme sonuçları

Sentezi gerçekleştirilen semi-IPN hidrojel örneklerinin şişme dengesine ulaşmasını sağlamak için fibroin hidrojelleri saf su içerisine konulmuştur ve gün aşırı suları değiştirilerek tartımları alınan jellerin üç günlük süre zarfında dengeye geldiği görülmüştür. Suda şişme dengesine ulaşan fibroin hidrojellerinin jel kesri ve su içeriklerini hesaplamak için dondurmalı kurutucuda kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra tartımları alınan jellerin formül 3.1 , 3.2 ve 3.3 yardımıyla  $W_g$ ,  $q_w$  ve %H<sub>2</sub>O değerleri hesaplanmıştır ve Şekil 4.1'de toplam fibroin + DMA konsantrasyonuna karşı  $W_g$  ve Şekil 4.2'de toplam fibroin + DMA konsantrasyonuna karşı ağırlıkça suda şişme oranı ( $q_w$ ) ve su içeriği (%H<sub>2</sub>O) grafikleri verilmiştir.



**Şekil 4.1:** Semi-IPN hidrojellerin jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin toplam fibroin + DMA konsantrasyonu ( $\%C_o$ ) ile değişimi (Fibroin/DMA=50/50 (ağ/ağ)).

3 farklı fibroin + DMA konsantrasyonu için jel kesri değerlerinin 1'e yakın olduğu, dolayısıyla reaksiyon sistemindeki fibroin ve DMA'nın tamamının üç boyutlu ağ yapısı içerisine girerek iç içe geçmiş ağ yapıları polimer zincirini oluşturduğu görülüyor.



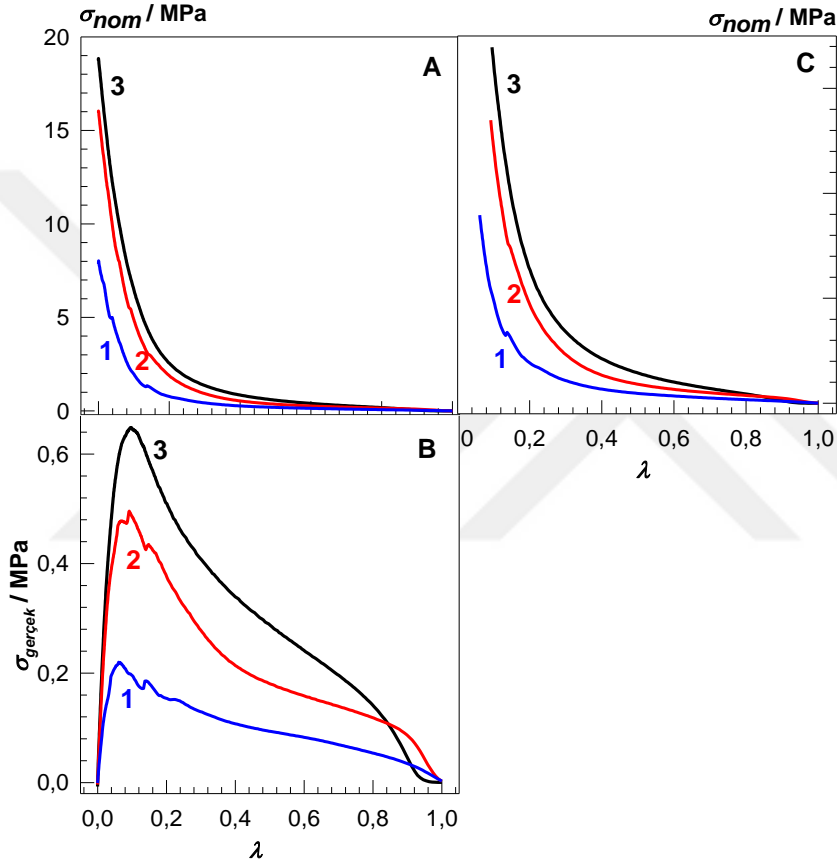
**Şekil 4.2:** Semi-IPN hidrojelilerin suda ağırlıkça şişme oranları  $q_w$  (●) ve su içeriklerinin  $\%H_2O$  (▼) toplam fibroin + DMA konsantrasyonu ( $\%C_o$ ) ile değişimi (fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ)).

Artan fibroin + DMA konsantrasyonu ile beraber jellerin suda ağırlıkça şişmeleri ( $q_w$ ) ve su içeriklerinin ( $\%H_2O$ ) azaldığı görülmektedir. Bunun sebebi, fibroin + DMA konsantrasyonu arttıkça birim jel hacimdeki fibroin miktarının artışı yani  $\beta$ -tabaka miktarındaki artıştır. Jelleşme reaksiyonu sırasında fibroinde konformasyon değişimi gerçekleşmekte ve bunun sonucu oluşan  $\beta$ -tabakaları çapraz bağlayıcı etkisi yapmaktadır. Dolayısıyla artan fibroin + DMA konsantrasyonu ile fibroin miktarı bununla beraber  $\beta$ -tabaka miktarı yani çapraz bağ noktalarının sayısı da artmakta ve şişme derecesi azalmaktadır.

#### 4.1.2 Mekanik test sonuçları

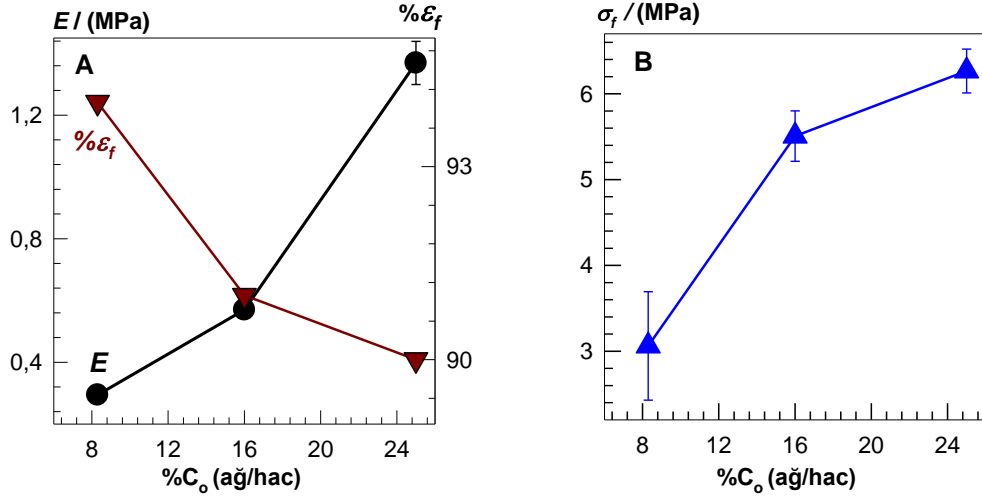
Suda ağırlıkça şişme dengesine ulaşan jel örneklerinin mekanik özelliklerini belirleyebilmek için tek eksenli sıkıştırma testi uygulanmıştır. Dengeye ulaşan jeller silindirik biçimde kesildikten sonra kumpas yardımıyla çapları ölçülmüştür ve ardından 500 N' luk yük hücresi altında 1mm/dak hızla  $\%100$  basma uygulanan fibroin hidrojelilerinin mekanik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Her bir jel örneği için 10 tane ölçüm alınmıştır.  $\%5-15$  sıkıştırma arasındaki eğimden Young modülü ( $E$ ), gerinim-gerilim eğrisinin altında kalan alandan jelin parçalanması için gerekli olan enerji miktarını veren tokluk hesabı gerçekleştirilmiştir.  $\sigma_{nom}-\lambda$  eğrilerinden jellerin

gerçek parçalanma noktaları bulunamamaktadır, bu nedenle gerçek parçalanma gerilimlerini ( $\sigma_f$ ) bulabilmek için  $\sigma_{gerçek}-\lambda$  eğrileri çizilerek maksimum noktalarından jellerin parçalanma gerilimleri ( $\sigma_f$ ) tespit edilmiştir. Şekil 4.3’de sırasıyla fibroin+DMA konsantrasyonu %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) olan ve fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olan jellerin toplam deformasyon oranı  $\lambda$ ’ya karşı nominal gerilim  $\sigma_{nom}$ ’in (A) ve gerçek gerilim  $\sigma_{gerçek}$ ’in (B) ve  $\sigma_{gerçek}-\lambda$  e göre düzeltilmiş  $\sigma_{nom}$ ’in (C) grafiği verilmiştir.



**Şekil 4.3:** Semi-IPN hidrojelilerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) ve gerçek gerilim  $\sigma_{gerçek}$  (B) sıkıştırma oranı  $\lambda$ ’ya karşı çizilmiştir. C grafiğinde ise düzeltme sonrasında parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}-\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir. %C<sub>0</sub>(ağ/hac)= 8,33(1), 16(2) ve 25(3) Fibroin/DMA=50/50 (ağ/ağ).

Şekil 4.3’deki grafikler incelendiğinde artan fibroin + DMA konsantrasyonuyla beraber malzemenin mekanik özellikleri de iyileşme gerçekleşmektedir. Şekil 4.4’de sırasıyla fibroin + DMA konsantrasyonu %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) olan ve fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olan jellerin fibroin + DMA konsantrasyonuna karşı Young modül  $E$ , parçalanma anındaki deformasyon  $\% \epsilon_f$  (A) ve gerilimin  $\sigma_f$  (B) grafikleri verilmiştir.



**Şekil 4.4:** Semi-IPN hidrojenlerin Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyonları  $\% \epsilon_f$  (▼) (A) ve gerilmelerinin  $\sigma_f$  (▲)(B) toplam fibroin+DMA konsantrasyonu ( $\% C_o$ ) ile değişimi (fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ)).

Çizelge 4.1’de mekanik test sonuçları standart sapmalarıyla beraber verilmiştir.

**Çizelge 4.1:** Semi-IPN hidrojenlerin basma test sonuçları (Fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).

%C <sub>o</sub> (ağ/hac)	E (MPa)	σ <sub>f</sub> (MPa)	Tokluk (kJ/m <sup>3</sup> )	%ε <sub>f</sub>
8,33	0,294±0,002	3,1±0,6	349±37	~94
16	0,57±0,3	5,5±0,3	683±40	~91
25	1,37±0,07	6,3±0,3	901±35	~90

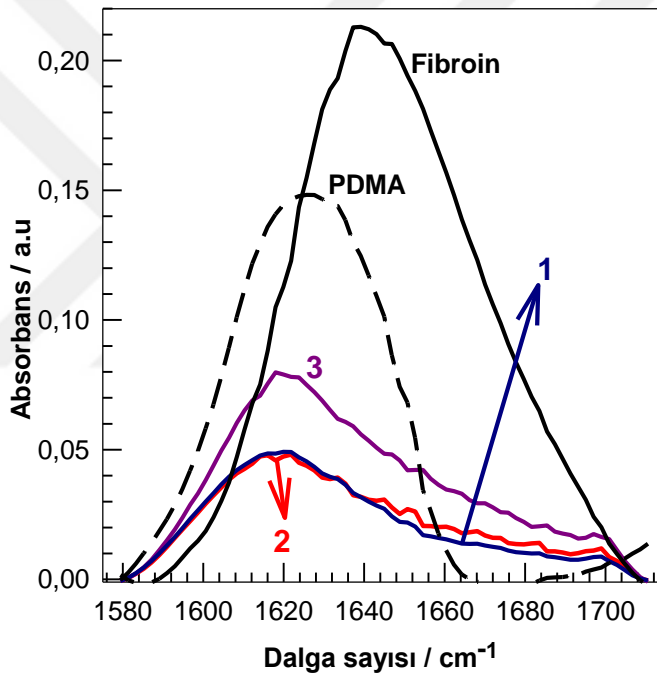
Tüm sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda artan fibroin + DMA konsantrasyonu ile jellerin Young modülleri, parçalanma anındaki gerilim ve tokluk değerleri artış göstermiştir, yani ağ yapısı içerisindeki fibroin miktarı arttıkça daha tok ve mekanik dayanımı yüksek jeller elde edilmiştir. En iyi mekanik dayanımı fibroin + DMA konsantrasyonu %25(ağ/hac) olan SF/PDMA semi-IPN hidrojenli göstermiştir ve ikinci seri denemelerde bu konsantrasyon üzerinden devam edilmiştir.

#### 4.1.3 ATR-FTIR ölçüm sonuçları

Fibroin/PDMA semi-IPN jellerindeki fibroinin konformasyonel analizi için ATR-FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Jelleşme öncesi ve sonrası fibroinin IR spektrumları karşılaştırılarak üç boyutlu semi-IPN ağ yapısının oluşması sonucu meydana gelen  $\beta$ -tabaka yapılarının varlığı spektrumdaki piklerin kaymasından tespit edilmiştir. Ölçüm sonucunda elde edilen spektrumlardan fibroinin yapısında bulunan

$\beta$ -tabaka, rastgele yumak,  $\alpha$ -sarmal ve  $\beta$ -döngü konformasyonlarının yüzde oranlarının tespiti amaçlanmıştır.

Şekil 4.5’de fibroin/PDMA semi-IPN hidrojellerindeki fibroinin jelleşme sonrası, PDMA hidrojelinin jelleşme sonrası ve ipek fibroin çözeltisinin 1580-1720  $\text{cm}^{-1}$  (amid I bölgesi) aralığındaki IR spektrumları verilmiştir. Düz siyah çizgi ile gösterilen saf ipek fibroin çözeltisinin dondurmalı kurutucuda kurutulduktan sonra çekilen IR spektrumudur ve sadece 1640  $\text{cm}^{-1}$ ’de amid I bölgesinde rastgele yumak yapısına ait olan piki vermektedir. Düz çizgi ve farklı renklerle gösterilen 1620  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler kuru durumdaki semi-IPN fibroin hidrojellerine ait olan piklerdir. Kesikli çizgi ile gösterilen pik kuru durumdaki PDMA hidrojeline aittir.



**Şekil 4.5:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojellerinin ve PDMA jelinin FTIR spektrumları (%C<sub>o</sub>(ağ/hac)=8,33(1), 16(2), 25(3) ve fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).

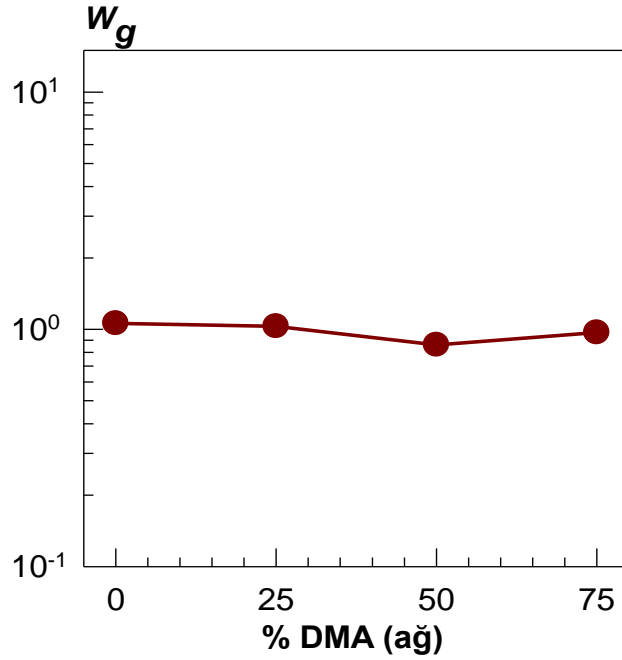
Saf ipek fibroin çözeltisinin 1640  $\text{cm}^{-1}$ ’de gösterdiği pik jelleşme sonrası 1620  $\text{cm}^{-1}$ ’e kaymaktadır, yani ipek fibroinin jelleşmesinin temel nedeni olarak rastgele yumak yapıdan  $\beta$ -tabaka yapısına geçişin olduğu ortaya konulmuştur. İpek fibroin semi-IPN hidrojellerindeki konformasyonel geçişler, Amid I bölgesindeki (1580-1720  $\text{cm}^{-1}$ ) mevcut gizli pikler Peak Fit Version 4.12 SeaSolve Software yazılımı aracılığıyla PDMA jelinde aynı yerde pik verdiğinden (1620  $\text{cm}^{-1}$ ) dolayı tespit edilememiştir.

## 4.2 Fibroin+DMA Konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki SF/PDMA semi-IPN Hidrojellerinin Deneysel Bulguları

1. seri denemede en iyi mekanik özellik gösteren fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac) olan jel örneği üzerinden çalışmaya devam edildi. Toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'de sabit tutulup, fibroin/DMA ağırlık oranları 100/0, 75/25, 50/50 ve 25/75 olarak değiştirilerek sentezlenen semi-IPN hidrojellerin mekanik özelliklerine SF/DMA ağırlık oranlarının etkisi incelendi.

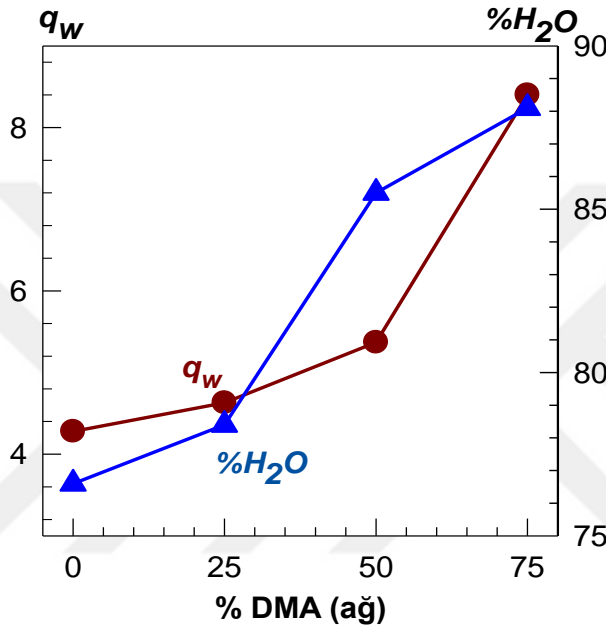
### 4.2.1 Fibroin+DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)'deki semi-IPN fibroin hidrojellerinin jel kesri ve suda şişme sonuçları

Farklı ağırlık oranlarında DMA ilave edilerek sentezi gerçekteştirilen fibroin hidrojellerinin jel kesri değerlerini hesaplamak için suda ağırlıkça şişme dengesine ulaşan hidrojellerin dondurmalı kurutucuda kurutulduktan sonra jel kesri hesabı gerçekteştirilmiştir . Şekil 4.6'da DMA miktarına (% DMA(ağ) ) karşılık jel kesri ( $W_g$ ) grafiği verilmiştir. Şekil 4.6'ya bakıldığında jel kesri değerlerinin hemen hemen bütün jel örnekleri için 1'e yakın olduğu görülmektedir, buda bize gösteriyor ki kullanılan fibroin ve DMA'nın tamamı üç boyutlu ağ yapısı içerisine girerek semi-IPN polimer zincirini oluşturmuşlardır.



Şekil 4.6: Hidrojellerinin jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin DMA miktarı (%DMA(ağ) ) ile değişimi ( $C_o$ =%25(ağ/hac) ).

Sabit fibroin + DMA konsantrasyonunda ve farklı ağırlık oranlarında DMA ilave edilerek sentezi gerçekleştirilen fibroin hidrojellerinin saf su içerisindeki şişme davranışlarını incelemek için şırıngalardan çıkarılan jeller su içerisinde dengeye geldikten sonra bölüm 3’de gösterilen formüller vasıtasıyla gerekli hesaplamalar yapılarak şişme davranışları incelenmiştir. Şekil 4.7’de ağırlıkça DMA miktarına (% DMA) karşılık kütlece suda şişme miktarı ( $q_w$ ) ve su içeriği (%H<sub>2</sub>O) grafiği verilmiştir.

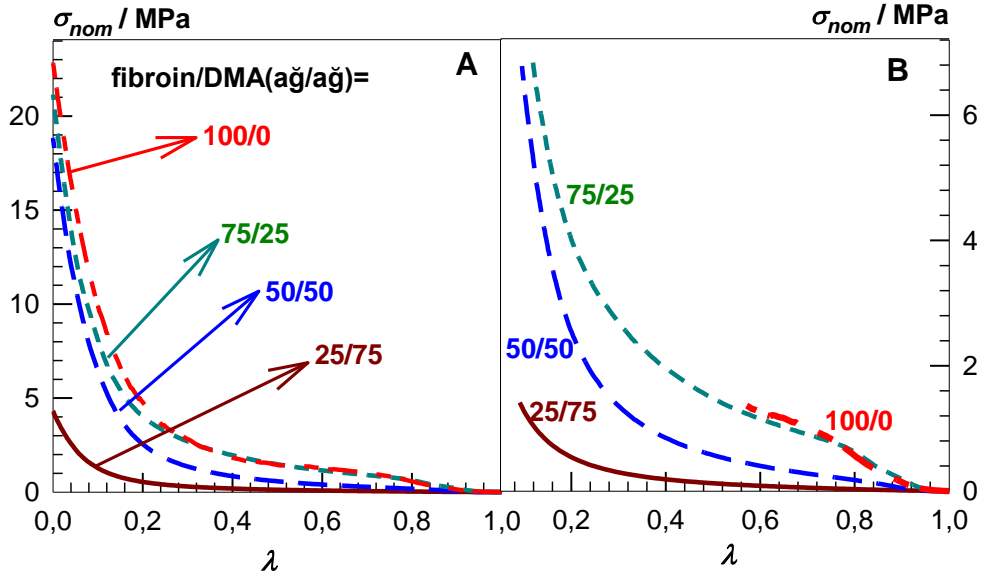


**Şekil 4.7:** Hidrojellerin suda ağırlıkça şişme  $q_w$  (●) ve su içeriğinin %H<sub>2</sub>O (▲) DMA miktarı ile değişimi ( $C_o$ =%25(ağ/hac) ).

Fibroin hidrojellerinin su içerisindeki şişme davranışları incelendiğinde artan DMA miktarıyla ağırlıkça suda şişme miktarı ve su içerikleri artış göstermektedir, bu durum DMA’nın hidrofilik yapısı ile açıklanmaktadır.

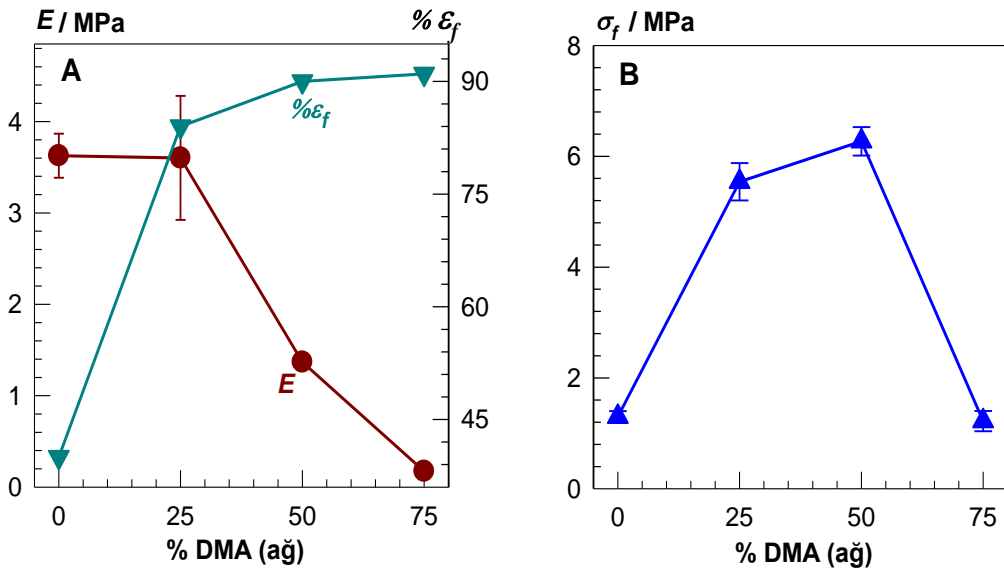
#### 4.2.2 Fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)’deki semi-IPN fibroin hidrojellerinin mekanik ölçüm sonuçları

Şekil 4.8’de farklı fibroin/DMA ağırlık oranlarında sentezi gerçekleştirilen toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %25 (ağ/hac)’deki fibroin hidrojellerinin mekanik ölçümü sonucu elde edilen sonuçların toplam deformasyon oranı  $\lambda$ ’ya karşı nominal gerilim  $\sigma_{nom}$ ’in (A) ve jellerin parçalanma noktasını belirleyebilmek için gerçek gerilime  $\sigma_{gerçek}$  çevrildikten sonra üzerinde düzeltme yapılarak yeniden çizilen  $\sigma_{gerçek} - \lambda$ ’ya göre düzeltilmiş  $\sigma_{nom}$ ’in (B) grafiği verilmiştir.



**Şekil 4.8:** Hidrojellerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) gerilim sıkıştırma oranı  $\lambda$ 'ya karşı çizilmiştir. B grafiğinde ise parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}-\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir  $C_o=\%25$ (ağ/hac).

Şekil 4.8 incelendiğinde kırılğan yapıdaki tek ağ yapılı saf ipek fibroin hidrojelinin içerisine düz zincirli PDMA zincirleri girdikçe parçalanma anındaki gerilim değeri artış göstermektedir ve daha yüksek gerinim değerlerinde parçalanmaya uğramaktadır. Şekil 4.9'da fibroin + DMA konsantrasyonu  $\%25$  (ağ/hac)'deki fibroin/PDMA jellerinin ağırlıkça DMA ( $\%DMA$ (ağ)) miktarına karşı Young modül, parçalanma anındaki deformasyonu (A) ve gerilim (B) grafikleri verilmiştir.



**Şekil 4.9:** Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyon  $\% \epsilon_f$  (▼) (A) ve gerilimin  $\sigma_f$  (▲)(B) DMA miktarı ile değişimi ( $C_o=\%25$ (ağ/hac)).

Şekil 4.9'daki grafikler incelendiğinde SF/DMA ağırlık oranı 100/0 olan jel örneği oldukça kırılğan parçalanma anındaki gerilim değeri  $1,2\pm 0,1$  MPa ve %40'ın üzerindeki basma kuvveti altında parçalanmaktadır. SF/DMA ağırlık oranı 75/25 olan jel örneği  $5,5\pm 0,3$  MPa parçalanma gerilimine sahip olmaktadır ve yaklaşık %84'lük bir kuvvete karşı dayanım göstermektedir. Dört farklı fibroin/DMA ağırlık oranları için ayrıntılı olarak mekanik ölçüm sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

**Çizelge 4.2 :** Hidrojellerin basma test sonuçları ( $C_o = \%25$ (ağ/hac)).

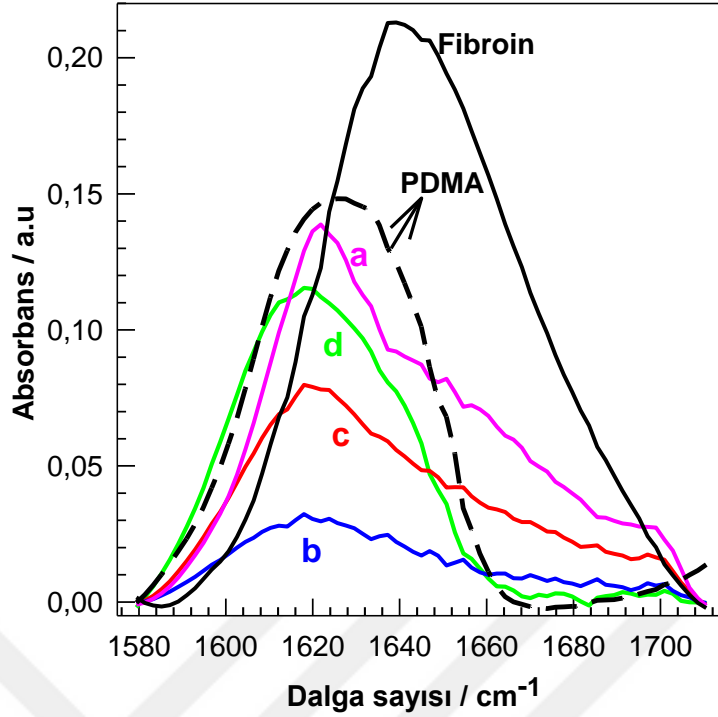
Fibroin/DMA (ağ/ağ)	$E$ (MPa)	$\sigma_f$ (MPa)	Tokluk (kJ/m <sup>3</sup> )	$\% \epsilon_f$
100/0	$3,63\pm 0,24$	$1,25\pm 0,10$	$236\pm 32$	~40
75/25	$3,60\pm 0,68$	$5,5\pm 0,3$	$1168\pm 186$	~84
50/50	$1,37\pm 0,07$	$6,3\pm 0,3$	$901\pm 35$	~90
25/75	$0,173\pm 0,002$	$1,2\pm 0,1$	$181\pm 16$	~91

%25(ağ/hac)'deki tek ağ yapılı saf ipek fibroin hidrojel mekanik olarak dayanıksız, uygulanan kuvvet karşısında bütünlüğünü koruyamamaktadır. Fibroin hidrojelinin mekanik dayanımını arttırmak için yapı içerisine düzgün bir enerji dağıtım mekanizması sağlayabilecek hidrofilik yapıda ki DMA ağırlıkça %75, %50 ve %25 oranlarında ilave edilmiştir. Semi-IPN jel örneklerinde artan DMA oranıyla beraber Young modül değeri düşüş göstermekte, parçalanma anındaki gerilim ise  $1,2\pm 0,1$  MPa'dan  $6,3\pm 0,3$  MPa'a kadar yükselmektedir. Artan parçalanma gerilimiyle beraber tokluk değeride  $236\pm 32$  kJ/m<sup>3</sup>'ten  $1168\pm 186$  kJ/m<sup>3</sup>'e kadar artış göstermektedir. Yaklaşık %40'luk bir gerinim oranında parçalanmış saf ipek fibroin hidrojel, yapı içerisine PDMA zincirlerinin girmesiyle %90'a varan gerinim oranı altında parçalanmaktadır.

Mekanik ölçüm sonuçları gösteriyorki kırılğan, tok olmayan tek ağ yapılı fibroin hidrojelinin yapısı içerisine düz zincirli PDMA zincirlerinin girmesiyle tok ve dayanıklı jeller elde edilmiştir.

#### 4.2.3 %25(ağ/hac)'deki jel örneklerinin ATR-FTIR ölçüm sonuçları

ATR-FTIR spektroskopisi ile fibroindeki konformasyon analizini gerçekleştirmek için fibroin+DMA konsantrasyonu %25(ağ/hac)'de sabit olan SF/DMA ağırlık oranları 100/0, 75/25, 50/50 ve 25/75 olan jellerin Amid I bölgesindeki ( $1580-1720$  cm<sup>-1</sup>) IR spektrumları şekil 4.10'da verilmiştir.



**Şekil 4.10:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojellerinin ve PDMA jelinin IR spektrumları. (  $C_o = \%25$  (ağ/hac), Fibroin/DMA (ağ/ağ) = 100/0 (a), 75/25 (b), 50/50 (c), 25/75 (d) ).

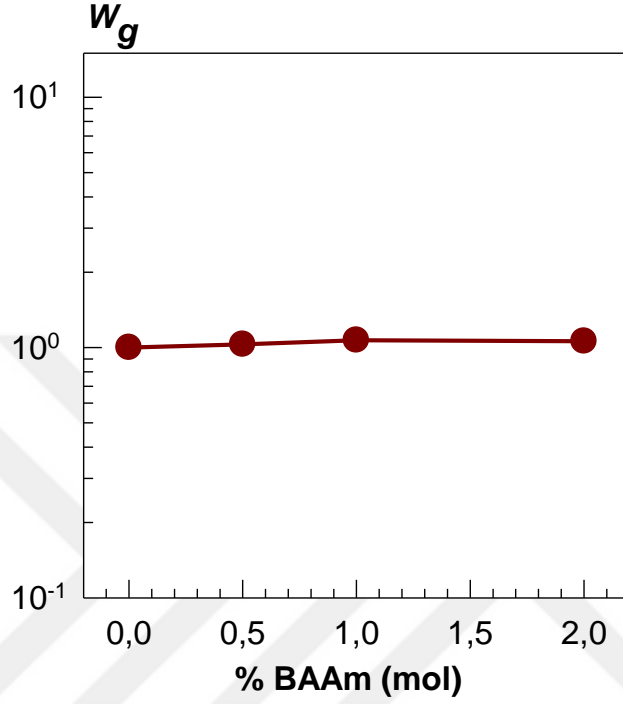
Jelleşme öncesi saf ipek fibroin çözeltisinin dondurmalı kurutucuda kurutulduktan sonra çekilen IR spektrumu  $1640 \text{ cm}^{-1}$ 'de pik vermektedir, jelleşme sonrası hidrojellerde ki bu pik beta tabaka oluşumuyla  $1620 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaymaktadır. PDMA jelinin  $1620 \text{ cm}^{-1}$ 'de verdiği pikten dolayı fibroin hidrojellerindeki % konformasyon analizleri gerçekleştirilememiştir.

#### 4.3 Kimyasal Çapraz Bağlayıcı Varlığında Sentezi Gerçekleştirilen Fibroin Hidrojellerinin Deneysel Sonuçları

Fibroin+DMA konsantrasyonu  $\%8,33$  (ağ/hac) fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olan fibroin hidrojeline DMA miktarının molce  $\%2$ , 1 ve 0,5'i oranında BAAM ilave edilerek kimyasal çapraz bağlayıcının jel sentezi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen çapraz bağlı jellerin suda şişme davranışına, mekanik özelliklerine ve ATR-FTIR spektroskopisi yardımıyla jelleşme ile fibroinin yapısında meydana gelen konformasyonel dönüşümler incelenmiştir.

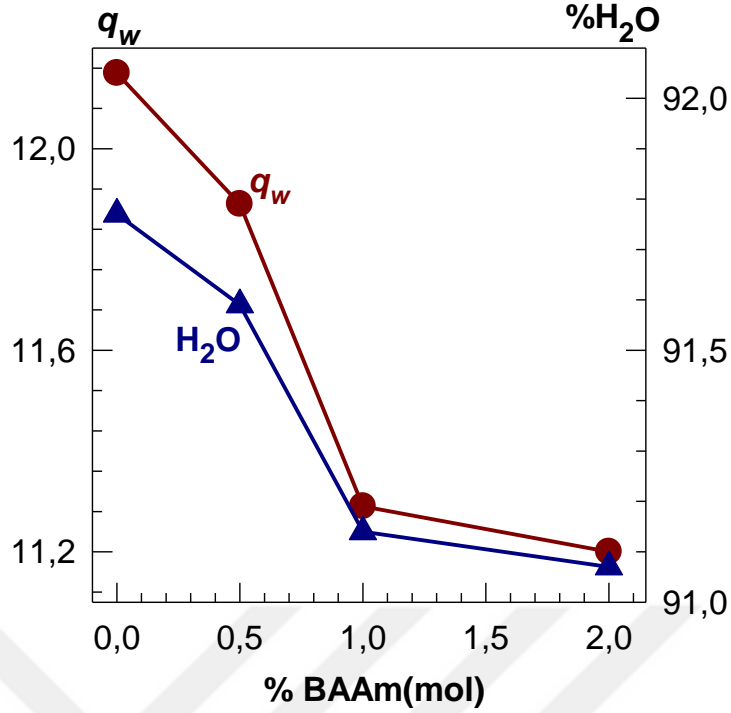
#### 4.3.1 Çapraz bağlı IPN jellerin jel kesri ve suda ağırlıkça şişme sonuçları

Suda ağırlıkça şişme dengesine ulaşan kimyasal çapraz bağlı jeller dondurmalı kurutucuda kurutulduktan sonra jel kesri hesabı yapılmıştır ve Şekil 4.11’de BAAM konsantrasyonuna karşı jel kesri değişimlerinin grafiği verilmiştir.



**Şekil 4.11:** Jel kesri ( $W_g$ ) değerlerinin BAAM konsantrasyonu (%BAAM(mol)) ile değişimi ( $Co=\%8,33$ (ağ/hac), fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).

Şekil 4.11’deki grafikte görüldüğü üzere BAAM içeren jel örnekleri için jel kesri değerlerine bakıldığında bütün jel örnekleri için 1 civarındadır sonuç olarak ilave edilen BAAM tamamıyla ağ yapı içerisine girerek fibroin/PDMA jellerinin sentezi BAAM varlığında da iyi bir verimle gerçekleştirilmiştir.

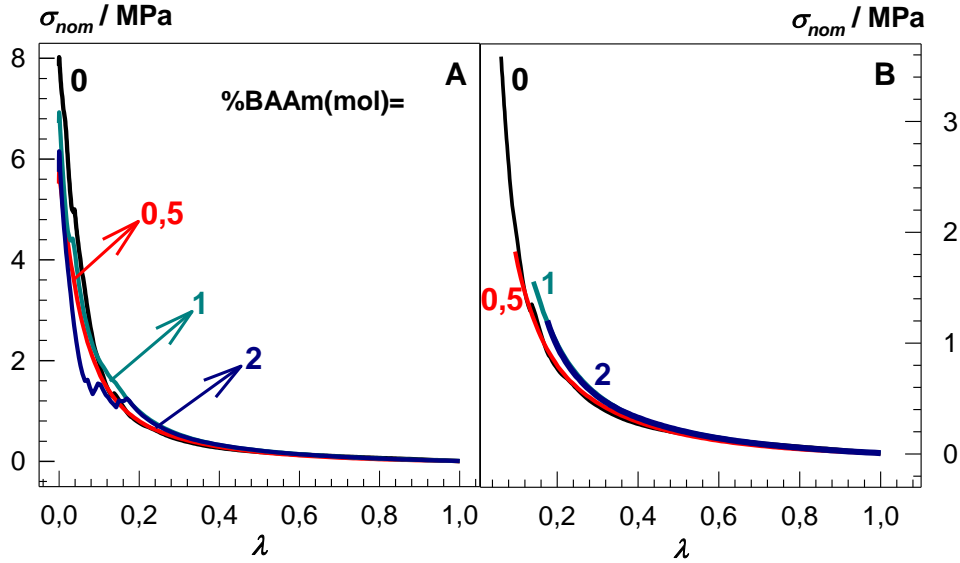


**Şekil 4.12:** Suda ağırlıkça şişme  $q_w$  (●) ve su içeriğinin %H<sub>2</sub>O (▲) BAAM konsantrasyonu (%BAA(mol)) ile değişimi ( $C_0=8,33$ (ağ/hac), fibroin/DMA=50/50(ağ/ağ) ).

Şekil 4.12 incelendiğinde hiç BAAM içermeyen fibroin + DMA konsantrasyonu %8,33(ağ/hac)'deki jel örneği suda en yüksek şişme değerine sahiptir. Jel içerisindeki çapraz bağlayıcı konsantrasyonu arttıkça jellerin su içerisindeki ağırlıkça şişme miktarı azalmaktadır yani çapraz bağ noktaları su moleküllerinin ağ yapısına girmesine engel olarak jellerin daha az şişmesine neden olmaktadır.

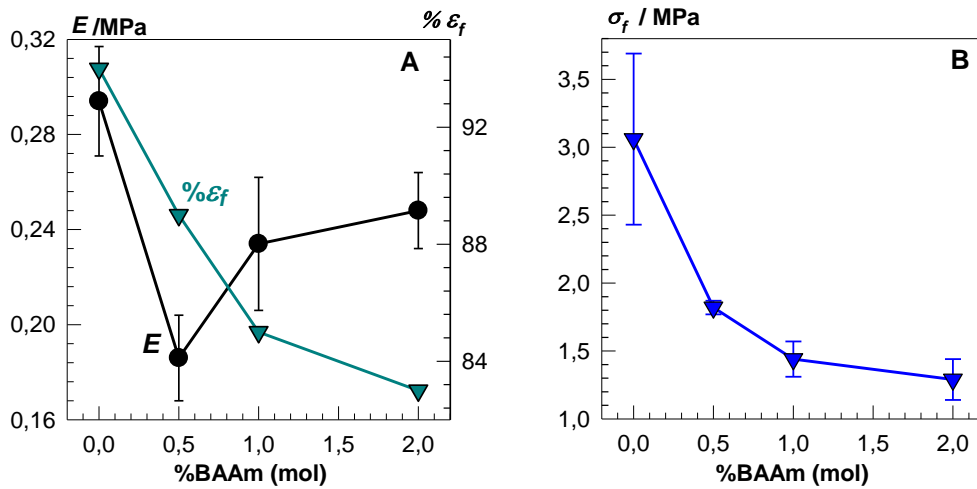
#### 4.3.2 Çapraz bağlı IPN jellerin mekanik ölçüm sonuçları

Fibroin+DMA konsantrasyonu %8,33 (ağ/hac) fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olan hidrojel içerisine DMA'yı çapraz bağlamak için DMA'nın molce %2, 1 ve 0,5 oranında BAAM ilave edilerek elde edilen fibroin hidrojellerinde kimyasal çapraz bağlayıcının mekanik özelliklere etkisini incelemek amacıyla mekanik test cihazında basma testleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.13'de BAAM içeren jellerin mekanik ölçümü sonucu elde edilen sonuçların toplam deformasyon oranı  $\lambda$ 'ya karşı nominal gerilim  $\sigma_{nom}$ 'in (A) ve jellerin parçalanma noktasını belirleyebilmek için gerçek gerilime çevirdikten sonra üzerinde düzeltme yapılarak yeniden çizilen  $\sigma_{gerçek} - \lambda$ 'ya göre düzeltilmiş  $\sigma_{nom}$ 'in (B) grafikleri görülmektedir.



**Şekil 4.13:** Hidrojellerin gerilim-gerinim eğrileri. Grafiklerde nominal  $\sigma_{nom}$  (A) gerilim sıkıştırma oranı  $\lambda$ 'ya karşı çizilmiştir. B grafiğinde ise parçalanma noktasına kadar olan  $\sigma_{nom}$ - $\lambda$  grafiği yeniden verilmiştir  $C_0$ =%8,33(ağ/hac), fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50.

Gerçek gerilime göre düzeltilmiş nominal gerilim  $\sigma_{nom}$ -gerinim  $\lambda$  grafiğine baktığımızda BAAM içermeyen jel BAAM'lı örneklerle kıyaslandığında yüksek gerilim değerinde parçalanmaktadır, BAAM ilave edildikçe gerilim değeri düşerek malzeme kırılğan hale gelmektedir ve daha düşük gerilim değerlerinde parçalanmaktadır. Şekil 4.14'de BAAM içeren SF/DMA jellerinin BAAM konsantrasyonuna karşı Young modül, parçalanma anındaki deformasyon (A) ve gerilim (B) grafikleri verilmiştir.



**Şekil 4.14:** Young modül  $E$  (●), parçalanma anındaki deformasyon  $\% \epsilon_f$  (▼) (A) ve gerilimin  $\sigma_f$  (▼)(B) BAAM konsantrasyonu ile değişimi ( $C_0$ =%8,33(ağ/hac), fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50).

BAAm miktarı %0'dan %2'ye doğru artarken jellerin parçalanma gerilimleri düşmektedir, kimyasal çapraz bağlayıcı içeren jeller daha düşük kuvvet altında parçalanmaya uğramaktadır ve çapraz bağlayıcı ilavesiyle jellerin Young modül değerleri düşmektedir. Çizelge 4.3'de çapraz bağlayıcı içeren jellerin Young modül( $E$ ), parçalanma anındaki deformasyon ( $\% \epsilon_f$ ), gerilim ( $\sigma_f$ ) ve tokluk değerleri verilmiştir.

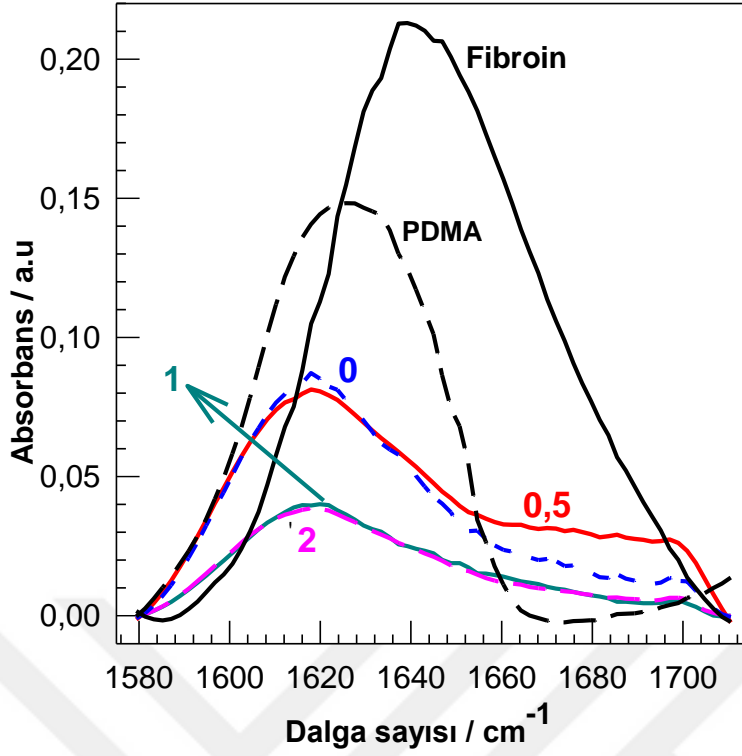
**Çizelge 4.3:** Mekanik ölçüm sonuçları ( $C_o=\%8,33$ (ağ/hac), fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50).

%BAAm (mol)	$E$ (MPa)	$\sigma_f$ (MPa)	Tokluk (kJ/m <sup>3</sup> )	$\% \epsilon_f$
0	0,29±0,02	3,1±0,6	349±37	~94
0,5	0,19±0,02	1,82±0,05	274±8	~89
1	0,23±0,03	1,4±0,1	247±17	~85
2	0,25±0,02	1,3±0,1	222±17	~83

Mekanik ölçüm sonuçlarından anlaşılacağı üzere kimyasal çapraz bağlayıcının ağ yapı içerisine girmesiyle jellerin Young modül  $E$ , parçalanma anındaki gerilim  $\sigma_f$  deformasyon  $\% \epsilon_f$  ve tokluk değerleri düşüş göstermektedir. Kimyasal çapraz bağlı jellerde etkili enerji dağıtım mekanizması eksikliğinden dolayı çapraz bağ miktarı arttıkça jellerin mekanik özellikleri kötüleşmiş ve daha düşük mekanik dayanıma sahip fibroin jelleri elde edilmiştir.

#### 4.3.3 Çapraz bağlı IPN jellerin ATR-FTIR ölçüm sonuçları

Şekil 4.15'te jelleşme öncesi fibroin ve jelleşme sonrası %0, 0,5 , 1 ve 2 mol oranlarında BAAm içeren fibroin hidrojellerinin Amid-I (1580-1720 cm<sup>-1</sup>) bölgesinin ATR-FTIR spektrumları ile PDMA jelinin ATR-FTIR spektrumu verilmiştir.



**Şekil 4.15:** Jelleşme öncesi fibroinin, jelleşme sonrası fibroin hidrojellerinin ve PDMA jelinin IR spektrumları. ( $Co=0,08,33$  (ağ/hac), fibroin/DMA(ağ/ağ)=50/50, %BAAM(mol)=0, 0,5 ,1, 2 ).

Fibroin çözeltisinin jelleşme öncesi  $1640\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısındaki pik jelleşme sonrası  $\beta$ -tabaka oluşumuyla BAAM içeren jellerde  $1620\text{ cm}^{-1}$  dalga boyuna kaydıği görülmektedir. Hidrojellerdeki konformasyon hesabı PDMA jelinin  $1620\text{ cm}^{-1}$ 'de verdiği pikten dolayı gerçekleştirilememiştir.

## 5. SONUÇLAR

Bu tez çalışması kapsamında IPN jel hazırlama tekniği kullanılarak mekanik olarak zayıf fibroin hidrojelinin mekanik dayanımını arttırmak için PDMA zincirleri ile reaksiyonu sonucu dayanıklı ve tok jellerin eldesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bütün jel örnekleri karakterize edilerek ağ yapıyı oluşturan fibroinin konformasyonu, şişme davranışları ve mekanik özellikleri incelenmiştir.

Fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olarak sabit tutulmuş fibroin + DMA konsantrasyonu %25, %16 ve %8,33 (ağ/hac) konsantrasyonlarda değiştirilerek jel sentezinde toplam fibroin + DMA konsantrasyonunun ( $C_0$ ) etkisi incelenmiştir. Jelleşme öncesi fibroinin  $1640\text{ cm}^{-1}$  de verdiği pik jelleşme sonrası  $\beta$ -tabaka oluşumuyla  $1620\text{ cm}^{-1}$  kaymasıyla jel sentezinin başarılı bir şekilde gerçekleştiği ortaya konmuştur. Şişme davranışları sonucunda fibroin + DMA konsantrasyonu arttıkça birim hacimdeki fibroin miktarı artış göstererek kimyasal çapraz bağ görevi gören  $\beta$ -tabakalar jellerin daha az şişmesine neden olmuştur. Mekanik ölçüm sonuçları doğrultusunda artan fibroin + DMA konsantrasyonu ile beraber jellerin parçalanma anında ki gerilim değerleri sırasıyla 3,1 ,5,5 ve 6,3 MPa değerlerinde kaydedilmiştir, yani ağ yapısı içerisindeki fibroin miktarı arttıkça daha dayanıklı jeller elde edilmiştir.

En iyi mekanik özellik gösteren toplam fibroin + DMA konsantrasyonu %25(ağ/hac)'deki jel örneği üzerinde fibroin/DMA ağırlık oranlarının etkisi de incelenmiştir. Fibroin/DMA ağırlık oranları 100/0, 75/25, 50/50 ve 25/75 olarak değiştirilmiştir. Hidrofilik yapıdaki DMA'nın ağ yapısı içerisindeki miktarı arttıkça jellerin ağırlıkça şişme miktarları artmıştır. Fibroin konsantrasyonu %25(ağ/hac) olan tek ağ yapılı fibroin jelinin parçalanma anındaki deformasyonu %40 ve gerilim değeri 1,25 MPa olarak bulunmuştur. Ağ yapısı içerisine PDMA zincirlerinin girmesiyle parçalanma anındaki deformasyonu %90 ve gerilimi 6,3 MPa kadar artış göstermiştir. Fibroin/DMA ağırlık oranı 50/50 olan SF/PDMA jeli en iyi mekanik özellikleri göstermiştir.

Fibroin/PDMA hidrojelleri üzerinde kimyasal çapraz baėın etkisinde incelemiřtir. Bu amaçla DMA için çapraz baėlayıcı olarak BAAM %0-2 aralıėında deėiřen oranlarda kullanılmıřtır. Artan kimyasal çapraz baėlayıcıyla beraber jellerin suda řiřme miktarları ve mekanik dayanımları dūřuř gōstermiřtir. kimyasal çapraz baė aė yapı içerisinde etkin bir enerji daėıtım mekanizması oluřturamadıėından jellerin mekanik özellikleri dūřmūřtūr.

Biyouyumlu, biyobozunur ve biyokararlılık gibi sahip olduğu özelliklerinden dolayı doku mūhendisliėinde biyomateryal olarak yaygın kullanıma sahip olan fibroin jellrinin bu çalışma kapsamında biyouyumlu DMA ile beraber kullanımı sonucu mekanik özellikleri artırılarak mekanik dayanım gerektiren biyomedikal uygulamalarda kullanıma uygun hale getirildiği dūřün÷lmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] **Vepari, C. ve Kaplan, D.L.** (2007). Silk as a biomaterial, *Prog. Polym. Sci.* **32**, 991-1007.
- [2] **X, Hu ve Kaplan, D.L.** (2011). Silk Biomaterials, *Comprehensive Biomaterials*, **2**, 207–219.
- [3] **J Melke, S Midha, S Ghosh, K Ito, S Hofmann,** (2016). Silk fibroin as biomaterial for bone tissue engineering, *Acta Biomaterialia*, **31**, 1–16.
- [4] **S Kapoor, SC Kundu,** (2016) Silk protein-based hydrogels: Promising advanced materials for biomedical applications *Acta Biomaterialia*, **31**, 17–32.
- [5] **D. Naskar, R.R. Barua, A.K. Ghosh, S.C. Kundu,** (2014) Introduction to silk biomaterials, *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 3-40.
- [6] **Kimura, T., Okuno, A., Miyazaki, K., Furuzono, T., Ohya, Y., Ouchi, T., ... & Kishida, A.** (2004). Novel PVA–DNA nanoparticles prepared by ultra high pressure technology for gene delivery. *Materials Science and Engineering: C*, **24**(6-8), 797-801.
- [7] **Jin, H. J., Chen, J., Karageorgiou, V., Altman, G. H., & Kaplan, D. L.** (2004). Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. *Biomaterials*, **25**(6), 1039-1047.
- [8] **Mandal BB, Kundu SC,** (2008). Non-bioengineered silk fibroin protein 3D scaffolds for potential biotechnological and tissue engineering applications. *Macromol Biosc* 2008, **8**:807–18.
- [9] **Hofmann S, Wong CT, Foo P, Rossett F, Textor M, Vunjak-Novakovic G,** (2006). Silk fibroin as an organic polymer for controlled drug delivery. *J Control Release (III)* 219–27.
- [10] **Gobin, A. S., Rhea, R., Newman, R. A., & Mathur, A. B.** (2006). Silk-fibroin-coated liposomes for long-term and targeted drug delivery. *International journal of nanomedicine*, **1**(1), 81.
- [11] **Wang, X., Hu, X., Daley, A., Rabotyagova, O., Cebe, P., & Kaplan, D. L.** (2007). Nanolayer biomaterial coatings of silk fibroin for controlled release. *Journal of Controlled release*, **121**(3), 190-199.
- [12] **Kim UJ, Park J, Li C, Jin HJ, Valluzzi R, Kaplan DL.** (2004). Structure and properties of silk hydrogels. *Biomacromolecules*. **5**:786–92.
- [13] **Mandal BB, Kundu SC.** (2008). SC. Non-bioengineered silk gland fibroin protein: characterization and evaluation of matrices for potential tissue engineering applications. *Biotechnol Bioeng*; **100**:1237–50.

- [14]Wang, Y., Kim, H. J., Vunjak-Novakovic, G., & Kaplan, D. L. (2006). Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials*, 27(36), 6064-6082.
- [15]Kim, U. J., Park, J., Kim, H. J., Wada, M., & Kaplan, D. L. (2005). Three-dimensional aqueous-derived biomaterial scaffolds from silk fibroin. *Biomaterials*, 26(15), 2775-2785.
- [16]Bell, C. L., & Peppas, N. A. (1995). Biomedical membranes from hydrogels and interpolymer complexes. *Adv. Polym. Sci.*, 122, 125–175.
- [17]Peppas NA, editor. (1987) Hydrogels in medicine and pharmacy. *New York: Wiley*.
- [18]D. Myung, D. Waters, M. Wiseman, P.E. Duhamel, J. Noolandi, C.N. Ta, C.W. Frank, (2008) Progress in the development of interpenetrating polymer network hydrogels, *Polym. Adv. Technol.* 19, 647–657.
- [19]L.H. Sperling,(1994) Interpenetrating polymer networks: an overview, in: D. Klemperer, L.H. Sperling, L.A. Utracki (Eds.), Interpenetrating Polymer Networks, *American Chemical Society, Washington, pp.* 3–38.
- [20]L.H. Sperling, (2005) Interpenetrating polymer networks, in: Herman F. Mark (Ed.), *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, vol. 10, third ed. *John Wiley & Sons, New York*, pp. 272–311.
- [21]S.J. Kim, S.G. Yoon, S.I. Kim (2004). Synthesis and characterization of interpenetrating polymer network hydrogels composed of alginate and poly(diallyldimethylammonium chloride), *J. Appl. Polym. Sci.* 91 3705-3709.
- [22]Rosiak J, Burozak K, Pekala W.(1983). Polyacrylamide hydrogels as sustained release drug delivery dressing material. *Radiat Phys Chem* ; 22:907–15.
- [23]Uemura Y, McNulty J, Macdonald PM. (1995). Associative behavior and diffusion coefficients of hydrophobically modified poly(N,Ndimethylacrylamides).*Macromolecules* ;28:4150–8.
- [24]Religio P, Martinho JMG, Farinha JPS. (2005). Effect of surfactant on the intra- and intermolecular association of hydrophobically modified poly(N, N-dimethylacrylamide). *Macromolecules*. 38: 10799–811.
- [25]Mullarney MP, Seery TAP, Weiss RA. (2006). Drug diffusion in hydrophobically modified N, N-dimethylacrylamide hydrogels. *Polymer* ;47:3845–55.
- [26]Gundogan N, Okay O, Oppermann W. (2004). Swelling, elasticity and spatial inhomogeneity of poly(N, N-dimethylacrylamide) hydrogels formed at various polymer concentrations. *Macromol Chem Phys*; 205:814–23
- [27]Caykara T, Akcakaya I. (2006). Synthesis and network structure of ionic poly(N, N-dimethylacrylamide-co-acrylamide) hydrogels: comparison of swelling degree with theory. *Eur Polym J*; 42:1437–45.
- [28]Kuru EA, Orakdogan N, Okay O. (2007). Preparation of homogeneous polyacrylamide hydrogels by free-radical crosslinking copolymerization. *Eur Polym J* ;43:2913–21.

- [29] **Aoki T, Kawashima M, Katono H, Sanui K, Ogata N, Okano T, et al.** (1994) Temperature-responsive interpenetrating polymer Networks constructed with poly(acrylic acid) and poly(N, Ndimethylacrylamide). *Macromolecules*; **27**:947–52.
- [30] **Meaurio E, Cesteros LC, Katime I.** (1997) FTIR study of hydrogen bonding of blends of poly(mono n-alkyl itaconates) with poly(N, Ndimethylacrylamide) and poly(ethyloxazoline). *Macromolecules*; **30**:4567–73.
- [31] **Kataoka K, Miyazaki H, Okano T, Sakurai Y** (1994). Sensitive glucoseinduced change of the lower critical solution temperature of poly[N,N-(dimethylacrylamide)-co-3-(acrylamido)-phenylboronic acid] in physiological saline. *Macromolecules* ;**27**:1061–2.
- [32] **Liu SQ, Tong YW, Yang Y-Y.** (2005) Incorporation and in vitro release of doxorubicin in thermally sensitive micelles made from poly(Nisopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide)-b-poly(d,lactide-co-glycolide) with varying compositions. *Biomaterials*; **26**:5064–74.
- [33] **Galaev, I. ve Mattiasson, B.** (2008). Smart Polymers. Applications in Biotechnology and Biomedicine. *2nd Ed.; CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton.*
- [34] **Ahagon, A. ve Gent, A. N.** (1975). Threshold fracture energies for elastomers, *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.*, **13**, 1903-1911.
- [35] **Lee, K. Y., & Mooney, D. J.** (2001). Hydrogels for tissue engineering. *Chem. Revs.*, **101**, 1869–1879.
- [36] **Lutolf, M. P., & Hubbell, J. A.** (2005). Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering. *Nature Biotechnology*, **23**, 47–55.
- [37] **Miyata, T.** (2010). Biomolecule-Responsive Hydrogels. In R. M. Ottenbrite, K. Park, & T. Okano (Eds.), *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook* (pp. 65–86). New York, NY: Springer..
- [38] **Lowman, A. M., & Peppas, N. A.** (1997). Analysis of the complexation / decomplexation phenomena in graft copolymer networks. *Macromolecules*, **30(17)**, 4959-4965.
- [39] **Peppas, N. A., & Hoffman, A. S.** (2013). Hydrogels. In *Biomaterials Science (Third Edition)* (pp. 166-179).
- [40] **Flory, P. J.** (1953). Principles of Polymer Chemistry. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- [41] **Kopecek J** (2007) Hydrogel biomaterials: a smart future? *Biomaterials* **28**: 5185-5192..
- [42] **Wichterle O, Lim D** (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature* **185**: 117-118.
- [43] **Peppas NA** (1987) Hydrogels in Medicine and Pharmacy. *CRC Press* **21**: 184.
- [44] **Shibayama M, Tanaka T** (1993) Phase transition and related phenomena of polymer gels. *Adv Polym Sci* **109**:1–62.

- [45]**Orakdogan N, Okay O (2006a)** Correlation between crosslinking efficiency and spatial inhomogeneity in poly(acrylamide) hydrogels. *Polym Bull* **57**:631–641.
- [46]**Ozmen MM, Okay O (2003)** Swelling behavior of strong polyelectrolyte poly(N-t-butylacrylamide-co-acrylamide) hydrogels. *Eur Polym J* **39**:877–888.
- [47]**Shibayama M, Tanaka T (1993)** Phase transition and related phenomena of polymer gels. *Adv Polym Sci* **109**:1–62.
- [48]**P. Gong, Y. Katsuyama, T. Kurokawa, Y. Osada, (2003)** Double network hydrogels with extremely high mechanical strength, *Adv. Mater.* **15** 1155–1158.
- [49]**J.L. Vanderhooft, M. Alcoutlabi, J.J. Magda, G.D. Prestwich, (2009)** Rheological properties of cross-linked hyaluronan–gelatin hydrogels for tissue engineering, *Macromol. Biosci.* **9** 20–28.
- [50]**R.F. Ker, (1999)** The design of soft collagenous load-bearing tissues, *J. Exp. Biol.* **202** 3315–3324.
- [51]**E.S. Draǵan, M.M. Lazaŕ, M.V. Dinu, F. Doroftei, (2012).** Macroporous composite IPN hydrogels based on poly(acrylamide) and chitosan with tuned swelling and sorption of cationic dyes, *Chem. Eng. J.* 204–206, 198–209.
- [52]**E.S. Dragan, M.M. Perju, M.V. Dinu (2012),** Preparation and characterization of IPN composite hydrogels based on polyacrylamide and chitosan and their interaction with cationic dyes, *Carbohydr. Polym.* **88** 2270–2281
- [53]**L.Yin, L. Fei, F. Cui, C. Tang, C. Yin, (2007).** Synthesis, characterization, mechanical properties and biocompatibility of interpenetrating polymer network superporous hydrogel containing sodium alginate, *Polym. Int.* **56** 1563–1571.
- [54]**Md.A. Haque, T. Kurokawa, J.P. Gong (2012)** Super tough double network hydrogels and their application as biomaterials, *Polymer* **53** 1805–1822.
- [55]**Z. Li, J. Shen, H. Ma, X. Lu, M. Shi, N. Li, M. Ye, (2013)** Preparation and characterization of pH- and temperature responsive nanocomposite double network hydrogels, *Mater. Sci. Eng. C* **33** 1951–1957.
- [56]**Kaplan, D. L., Adams, W. W., Farmer, B., Viney, C., Eds.;**(1994) In *Silk Polymers: Materials Science and Biotechnology*; ACS Symposium Series 544 American Chemical Society: Washington, DC.
- [57]**McGrath, K., Kaplan, D. L. (1996)** Eds.; In *Protein-Based Materials*; Birkhauser Press: Boston.
- [58]**Foo, C. W. P., & Kaplan, D. L. (2002).** Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. *Advanced drug delivery reviews*, **54**(8), 1131-1143.
- [59]**Barber, E. J. W (1992)** Prehistoric textiles: the development of cloth in the Neolithic and Bronze Ages with special reference to the Aegean (reprint, illustrateded.). *Princeton University Press. pp. 31.* ISBN 978–0-691–00224–8.

- [60]**Columbia Encyclopedia**, sixth edition (2000), ‘Silk: history’,*Columbia University Press*.
- [61]**Meyer, C.** (2000), Des mûriers dans le jardin du mandarin , *Historia*, n°648.
- [62]**Pyda, M.; Hu, X.; Cebe, P** (2008). Heat capacity of silk fibroin based on the vibrational motion of poly (amino acid) s in the presence and absence of water. *Macromolecules*, *41*(13), 4786-4793
- [63]**Altman, G. H., Diaz, F., Jakuba, C., Calabro, T., Horan, R. L., Chen, J., ... & Kaplan, D. L.** (2003). Silk-based biomaterials. *Biomaterials*, *24*(3), 401-416.
- [64]**Shao, Z., & Vollrath, F.** (2002). Materials: Surprising strength of silkworm silk. *Nature*, *418*(6899), 741..
- [65]**Vollrath, F., & Knight, D. P.** (2001). Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, *410*(6828), 541.
- [66]**Omenetto, F. G., & Kaplan, D. L.** (2010). New opportunities for an ancient material. *Science*, *329*(5991), 528-531.
- [67]**Hu, X., Kaplan, D., & Cebe, P.** (2007). Effect of water on the thermal properties of silk fibroin. *Thermochimica Acta*, *461*(1-2), 137-144.
- [68]**Wang, X., Hu, X., Daley, A., Rabotyagova, O., Cebe, P., & Kaplan, D. L.** (2007). Nanolayer biomaterial coatings of silk fibroin for controlled release. *Journal of Controlled release*, *121*(3), 190-199.
- [69]**Mondal, M., Trivedy, K. ve Kumar, S.N.** (2007). The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn.-a review, *Caspian Journal of Environmental Sciences.*, *5*, 63-76.
- [70]**Lovett, M., Cannizzaro, C., Daheron, L., Messmer, B., Vunjak-Novakovic, G., & Kaplan, D. L.** (2007). Silk fibroin microtubes for blood vessel engineering. *Biomaterials*, *28*(35), 5271-5279.
- [71]**Sashina E.S., Bochek A.M., Novoselov N.P. ve Kirichenko D.A.** (2006). Structure and solubility of naturel Silk Fibroin, *Russian Journal of Applied Chemistry.*, *79*, 869-876.
- [72]**Jin H.J., Fridrikh S.V., Rutledge G.C. ve Kaplan D.L.** (2002). Electrospinning *Bombyx mori* silk with Poly(ethylene oxide), *Macromolecules.*, *3*, 1233-1239.
- [73]**Matsumoto A., Chen J., Collette A.L., Kim U.J., Altman G.H., Cebe P. ve Kaplan D.L.** (2006). Mechanisms of silk fibroin sol-gel transitions, *J. Phys. Chem. B.*, *110*, 21630-21638.
- [74]**Hardy, J. G., Römer, L. M., & Scheibel, T. R.** (2008). Polymeric materials based on silk proteins. *Polymer*, *49*(20), 4309-4327.
- [75]**Zhou, C. Z., Confalonieri, F., Medina, N., Zivanovic, Y., Esnault, C., Yang, T., ... & Li, Z. G.** (2000). Fine organization of *Bombyx mori* fibroin heavy chain gene. *Nucleic acids research*, *28*(12), 2413-2419.
- [76]**Url-1**<<http://faculty.cbcemd.edu/~gkaiser/biotutorials/proteins/fg4a.html>>, erişim tarihi 12.02.2018.

- [77] **Url-2** <<http://www.nku.edu/~russellk/tutorial/peptide/peptide.html>>, erişim tarihi 12.02.2018
- [78] **Nagarkar S, Nicolai T, Chassenieux C, Lele A.** (2010). Structure and gelation mechanism of silk hydrogels. *Phys Chem Chem Phys*; **12**:3834–44.
- [79] **Magoshi J, Magoshi Y. ve Nakamura S.** (1994). Mechanism of fiber formation of silkworm. İçinde: Kaplan, D.; Adams, W.W.; Farmer, B.; Viney, C.; Ed. Silk polymers. *Washington: American Chemical Society*, Sayfa: 292-310.
- [80] **Murray R.K., Mayes P.A., Granner D.K., Rodwell V.W.** (1993). *Harper's Biochemistry*
- [81] **Um I.C., Kweon H.Y., Lee K.G. ve Park Y.H.** (2003). The role of formic acid in solution stability and crystallization of silk protein polymer, *Int. J. Biol. Macromol.*, **33**, 203-213.
- [82] **Ak, F., Oztoprak, Z., Karakutuk, I., & Okay, O.** (2013). Macroporous silk fibroin cryogels. *Biomacromolecules*, **14**(3), 719-727.
- [83] **Karakutuk, I., Ak, F., & Okay, O.** (2012). Diepoxide-triggered conformational transition of silk fibroin: formation of hydrogels. *Biomacromolecules*, **13**(4), 1122-1128.
- [84] **Ullah, F., Othman, M. B. H., Javed, F., Ahmad, Z., & Akil, H. M.** (2015). Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*, **57**, 414-433.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Tuğba ÇELİKER  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 25/11/1990 İSTANBUL  
**E-posta** : celikert@itu.edu.tr

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2013, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yüksek lisans** : 2018, İstanbul Teknik Üniversitesi , Kimya Anabilim Dalı, Kimya Programı