



T.C.

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

SPİRULİNA TABANLI BİYOAKTİF HİDROJELLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CANFİDE MERVE YEMİŞ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi ÖNDER İDİL

AMASYA
Ağustos 2022

T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

***SPİRULİNA* TABANLI BİYOAKTİF HİDROJELLER**

Canfide Merve YEMİŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi. Önder İDİL

AMASYA
AĞUSTOS 2022

CANFİDE MERVE YEMİŞ tarafından hazırlanan “**SPİRULİNA TABANLI BİYOAKTİF HİDROJELLER**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi. Önder İDİL

Eğitim Fakültesi / Temel Eğitim Bölümü, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Başkan: Doç. Dr. Fadime ÖZDEMİR KOÇAK

Sağlık Bilimleri Fakültesi/ Hemşirelik Esasları, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

Amasya Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu/ Bilgisayar Teknolojileri, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 31/08/2022

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Ayşe ŞAHİN YAĞLIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,

Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,

Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

31/08/2022

Canfide Merve YEMİŞ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın, tezimin yönlendirilmesi ve yürütülmesi sırasında emeği geçen sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi ÖNDER İDİL'e, tez çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. EMİNE ÇELİKOĞLU'na ve Arş. Gör. Dr. UMUT ÇELİKOĞLU hocalarıma ayrıca laboratuvarıda birlikte çalıştığım Amasya'daki ailem olan HABİBE CENİKLİOĞLU'na, ELİF NUR GÖKÇURAK'a, MERVE KARAASLAN'a, MELİKE KARATAŞ YILDIZ'a her türlü sıkıntılarım ve sevinçlerimde hep yanımda olan kıymetli kardeşim MÜCAHİT YEMİŞ'e ve hayatıma anlam katan kıymetli HAKAN AKÇAY'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmada Biyoteknolojik İnovasyon Yarışması kapsamında laboratuvar malzeme desteği sağlanarak TEKNOFEST tarafından desteklenmiştir.

Bu çalışma 2210-C Öncelikli Alanlar Sanayiye Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Doğal Polimerler.....	1
1.1.1. İpek	2
1.2. Hidrojeller.....	4
1.2.1. Hidrojelin karakteristik özellikleri.....	6
1.2.1.1. Şişme özellikleri	6
1.2.1.2. Mekanik özellikler	7
1.2.1.3. Biyouyumluluk	7
1.2.2. Hidrojellerin sınıflandırılması.....	7
1.2.2.1. Hazırlama yöntemine göre.....	8
1.2.2.2. İçerdikleri yan gruplara göre.....	8
1.2.2.3. Fiziksel yapılarına göre.....	8
1.2.2.4. Çapraz bağlanma durumlarına göre	8
1.2.2.5. Kaynaklarına göre.....	9
1.2.2.6. Su içeriklerine göre.....	9
1.2.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre	9
1.2.3. Biyomalzeme olarak hidrojeller.....	12
1.2.4. Hidrojellerin uygulamaları.....	13
1.2.5. Yara bakım malzemesi olarak hidrojeller	14

1.2.6. İpek fibroin hidrojel	14
1.3. Siyanobakteriler	15
1.3.1. <i>Spirulina platensis</i>	16
2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1. İpek Böceği Kozasından Fibroin İzolasyonu	17
2.2. Fibroin Solüsyonlarının Deriştirilme İşlemi	18
2.3. Hidrojel Sentezi	19
2.3.1. Poliakrilamid ilaveli fibroin jeller	19
2.3.1. N,N-Dimetilakrilamid	20
2.3.2. N,N'-Metilenbisakrilamid	21
2.3.3. Amonyum persülfat	21
2.3.4. N,N,N',N'-tetrametiletildiamin	21
2.3.2. Gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel	22
2.3.3. Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilaveli jellerin sentezlenmesi	23
2.4. <i>Spirulina sp.</i> 'nin Kültürasyonunun Yapılması	24
2.4.1. Zarrouk besiyeri	24
2.5. <i>Spirulina sp.</i> 'nin Sentezlenen Hidrojel Ortamına İlave Edilmesi	25
2.6. Antimikrobiyal Aktivite Testi	26
2.6.1. Bakteri kültürlerinin hazırlanması	26
2.6.2. Kirby bauer disk difüzyon yöntemi	27
2.7. ABTS [2,2'-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonat)] Radikal Temizleme Aktivite Tayin Yöntemi	27
2.7.1. Sentezlenen hidrojin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	28
2.8. Hidrojin Karakterizasyonu	29
2.8.1. Kızılötesi spektroskopi	30
2.8.1.1. Kızılötesi spektroskopi analizi	30
2.8.2. Termal gravimetrik analiz (TGA)	31
2.8.3. Şişme deneyi	
2.8.4. Oksijen salınım deneyi	32
3. BULGULAR	33

3.1. İpek Böceği Kozasından Fibroin İzolasyonun	33
3.2. Hidrojel Sentezi	34
3.2.1. Poliakrilamid ilaveli fibroin hidrojeller	34
3.2.2. Gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojeller	34
3.2.3. Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilaveli jellerin sentezlenmesi....	37
3.2.4. <i>Spirulina</i> sp.'nin sentezlenen hidrojel ortamına ilave edilmesi	38
3.3. Kızılötesi Spektroskopi Analizi Sonuçları.....	38
3.4. ABTS [2,2'-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonat)] Radikal Temizleme Aktivite Tayini	44
3.4. Termal Gravimetrik Analizi (TGA).....	45
3.5. Oksijen Salınım Deneyi	49
KAYNAKÇA.....	58
ÖZGEÇMİŞ	58

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Hidrojeller ve Uygulamalar	14
Tablo 2.1. Fibroin/Akrilamid Hidrojel [77].....	20
Tablo 2.2. İpek Fibroin/ Gluteraldehit Hidrojel.....	22
Tablo 2.3. İpek Fibroin/ Gluteraldehit Hidrojel.....	23
Tablo 2.4. Zarrouk Besiyeri İçeriği [78].	25
Tablo 2.5. Poliakrilamid İlaveli İpek Fibroin/ Gluteraldehit Çapraz Bağlı <i>Spirulina</i> sp. İlaveli Hidrojel Karışım Oranları	26
Tablo 3.1. Gluteraldehit Miktarına Göre Değişen Absorbans Değerleri.	35
Tablo 3.2. Gluteraldehit Çapraz Bağlanma Yüzdeleri.....	36
Tablo 3.3. Okunan Absorbans Değerleri	36
Tablo 3.4. Çapraz Bağlanma Yüzdeleri.....	37
Tablo 3.5. Oksijen Salınım Deneyi Elde Edilen Veriler.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Bombyx mori</i> İpek Böceği Kozaları	3
Şekil 1.2. Hidrofilik Olan ve Nemi Tutan (Su Molekülleri Mavi Noktalarla..... Gösterilmiştir) Amorf Bölgelere Gömülü İpek Fibroinin Hidrofobi..... B Yaprak Yapısı [17].....	4
Şekil 1.3. Çapraz Bağlı Hidrojelin Yapısı	5
Şekil 1.4. Hidrojellerin Sınıflandırılması [38].....	8
Şekil 1.5. Kimyasal Hidrojellerin Oluşum Tepkimeleri [43].....	10
Şekil 1.6. Fiziksel Çapraz Bağlanma; A) Hidrofobik Etkileşim B) İyonik Etkileşim [43].	11
Şekil 1.7. Hidrojelin Ağ Yapısını Şematik Gösterimi [43].....	12
Şekil 2.1. <i>Bombyx Mori</i> İpek Böceği Kozaları.....	17
Şekil 2.2. Serisin Uzaklaştırma (Zamk Giderme) İşlemi	17
Şekil 2.3. Çözülmüş İpek Fibroini.....	18
Şekil 2.4. İpek Fibroini Çözeltilisinden Diyaliz İşlemi ile	18
CaCl ₂ 'nin (Sigma-Aldrich) Uzaklaştırılması	18
Şekil 2.5. Fibroin Deriştirilme İşlemi.....	19
Şekil 2.6. N,N-Dimetil Akrilamid (DMA) Monomer	21
Şekil 2.7. N,N'-Metilenbisakrilamid (Baam) Çapraz Bağlayıcısının..... Açık Formülü	21
Şekil 2.8. N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin'in Açık Formülü	22
Şekil 2.9. <i>Spirulina</i> sp. Besiyeri Ortamında.....	24
Şekil 2.10. Fibroin/Glutaraldehit Çapraz Bağlı Poliakrilamid ve Canlı <i>Spirulina</i> sp..... İlaveli Jeller	25
Şekil 2.11. Spektrofotometre Cihazı (Thermo).....	29
Şekil 2.12. Hidrojelin Fizikokimyasal Karakterizasyon Araçlarının Akış Şeması [98].	30
Şekil 2.13. Kızılötesi Spektroskopi Analiz Cihazı	31
Şekil 3.1. Farklı Oranlarda Ajisawa Reaktif ile Çözülmüş Fibroin Örnekleri.....	33
Şekil 3.2. Poliakrilamid İlaveli Fibroin Hidrojel.....	34
Şekil 3.3. Çapraz Bağlanma Oranı	.
Şekil 3.4. Farklı Oranlarda Glutaraldehit Miktarları ile Sentezlenen Hidrojeller	38

Şekil 3.5. Farklı Oranlarda Gluteraldehit İçeren <i>Spirulina</i> İlave Edilmiş Hidrojeller	38
Şekil 3.6. İpek Böceği Kokonu ve İpek Fibroin FTIR Analiz Sonucu	39
Şekil 3.7. İpek Böceği Kokonu ve İpek Fibroin Ayrı FTIR Analiz Sonucu	40
Şekil 3.8. Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlanması ile Oluşan..... Hidrojinin FTIR Analizi.....	41
Şekil 3.9. Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlanması ile Oluşan..... Hidrojinin Ayrı FTIR Analizleri	41
Şekil 3.10. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlı Hidrojellerin..... FTIR Analizi	42
Şekil 3.11. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlı Hidrojellerin..... Ayrı FTIR Analizleri.....	42
Şekil 3.12. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlı <i>Spirulina</i> İlaveli Hidrojellerin FTIR Analizleri	43
Şekil 3.13. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) Çapraz Bağlı <i>Spirulina</i> İlaveli Hidrojellerin Ayrı FTIR Analizleri	43
Şekil 3.14. (ABTS•+) Reaktifinin Eklenmesini Takiben Kademeli Renk Değişimini.....	44
Şekil 3.15. Hidrojeller ve Hesaplanan %ABTS Antioksidan Aktivite Oranları	45
Şekil 3.16. İpek Fibroin/Poliakrilamid (100/0) Hidrojinin TGA Analizi.....	46
Şekil 3.17. İpek Fibroin/Poliakrilamid (70/30) Hidrojinin TGA Analizi.....	46
Şekil 3.18. İpek Fibroin/Poliakrilamid (50/50) Hidrojinin TGA Analizi.....	47
Şekil 3.19. İpek Fibroin/Poliakrilamid (100/0) ve Gluteraldehit..... İlaveli (%50 Çapraz Bağlanmış) Hidrojinin TGA Analizi	47
Şekil 3.20. İpek Fibroin/Poliakrilamid (70/30) ve Gluteraldehit..... İlaveli (%50 Çapraz Bağlanmış) Hidrojinin TGA Analizi	48
Şekil 3.21. İpek Fibroin/Poliakrilamid (50/50) ve Gluteraldehit..... İlaveli (%50 Çapraz Bağlanmış) Hidrojinin TGA Analizi	48
Şekil 3.22. <i>Escherichia Coli</i> (<i>E. Coli</i> , ATCC 25922) Üzerinde..... Antimikrobiyal Aktivite Testi (OD 0.1).....	50
Şekil 3.23. <i>Escherichia Coli</i> (<i>E. Coli</i> , ATCC 25922) Üzerinde Antimikrobiyal..... Aktivite Testi (OD 0.3)	50
Şekil 3.24. <i>Staphylococcus Aureus</i> (<i>S. Aureus</i> , ATCC 25923) Üzerinde..... Antimikrobiyal Aktivite Testi (OD 0.1).....	51

Şekil 3.25. <i>Staphylococcus Aureus</i> (<i>S. Aureus</i> , ATCC 25923) Üzerinde.....	
Antimikrobiyal Aktivite Testi (OD 0.3).....	51



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
µl	Mikrolitre
kDa	Kilodalton
β	Beta
pH	Potansiyel Hidrojen
mg/ml	Miligram/Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklama

Sp.	Platensis
Vb.	Ve Benzeri
FDA	Food and Drug Administration
RSF	Rejenere Silk Fibroin
DMA	N,N-Dimetilakrilamid
BAAm	N,N,-Metilenbisakrilamid
APS	Amonyum Persülfat
SF	Silk Fibroin
PAAm	Poliakrilamid
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
ABTS	2,2-Azinobis(3-Etilbenzothiazollin-6-Sulfonik Asit)
BHA	Beta Hidroksi Asitler
OD	Optik Yoğunluk
FT-IR	Kızılötesi Spektroskopisi
DTA	Diferansiyel Termal Analiz

TG

Termal Gravimetrik

ATTC

Amerikan Tıp Kùltür Koleksiyonu



ÖZET

SPİRULİNA TABANLI BİYOAKTİF HİDROJELLER

Canfide Merve YEMİŞ

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Ağustos/2022
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL

Diyabet yaraları, dolaşım bozukluğuna bağlı yaralar, varis ve uzun süre yatan hastalarda yatmaya bağlı (bası) yaralar hayat kalitemizi ve yaşamımızı olumsuz yönde etkileyen kronik yaralardır. Oksijen yara iyileşmesinde hayati bir öneme sahiptir. Oksijen yalnızca artmış enerji gereksinimi için değil, birçok kimyasal süreç için de gereklidir.

Siyanobakteriler içerdikleri fotosentetik pigmentler nedeniyle ‘mavi yeşil alg’ olarak adlandırılırlar. Yapılarındaki pigmentler sayesinde CO₂ ve suyu ışığın etkisi ile karbonhidratlara çevirmekte ve böylece su ortamındaki besin değerinin ve çözünmüş O₂ oranının artmasını sağlamaktadır. Bu çalışmada siyanobakterilerin bu özellikleri dikkate alınarak bir siyanobakteri çeşidi olan *Spirulina* sp.’nin oksijen üreticisi olarak kullanılabileceği öngörülmüştür. Ayrıca *Spirulina* sp.’nin hali hazırda fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak, günlük beslenmeye destek olarak, göz için kollojen kristal yama jel bandı gibi birçok farklı şekilde kullanılıyor olması, toksik olmaması tercih edilmesinde önemli bir etken olmuştur.

Hidrojeller ise büyük miktarda su veya biyolojik sıvıları emebilen üç boyutlu hidrofilik polimerik ağlardır. Hidrojellerin yara örtü uygulamalarında ideal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Su absorplama yeteneklerinin yüksek olması, suyu ortamdan uzaklaştırmalarını sağlarken aynı zamanda iyileşme için gerekli olan nemli ortamın oluşturulmasını da sağlamaktadır. Yara tedavisinde en çok kullanılan doğal hidrojel ipek fibroindir. İpek fibroin tabanlı hidrojellerin, doku yaralarının tedavisinde kullanıldığında insan dermal fibroblastlarının çoğalmasını desteklediği bilinmektedir. Bu özellikler dikkate alınarak: Yara dokusuna gereken oksijeni sağlamak için dolgu maddesi *Spirulina* sp.’den oluşan hidrojel tabanlı yara örtüsü yapılmıştır. Bu örtüde yer alacak olan *Spirulina* sp.’nin oksijen üretme kapasitesi kullanılmıştır. Farklı formasyonlarda ipek fibroin hidrojel sentezlenmiş sentezlenen hidrojellerin karakterizasyon analizleri (TGA, F-TIR) yapılmıştır. Oksijen deneyleri ile de oksijen üretme kapasiteleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hidrojel, Silk Fibroin Hidrojel, Siyanobakteri, *Spirulina* sp.

ABSTRACT

SPIRULINA BASED BIOACTIVE HYDROGELS

Canfide Merve YEMİŞ

Amasya University, Institute of Health Sciences
Department of Molecular Medicine, Post graduate, August/2022
Counselor: Assistant Professor Member Önder İDİL

Diabetes wounds, wounds due to circulatory disorders, varicose veins and (pressure) wounds in long-term hospitalized patients are chronic wounds that negatively affect our quality of life and our lives. Oxygen is vital in wound healing. Oxygen is required not only for increased energy requirements, but also for many chemical processes.

Cyanobacteria are called 'blue green algae' because of the photosynthetic pigments they contain. Thanks to the pigments in its structure, it converts CO₂ and water into carbohydrates with the effect of light, thus increasing the nutritional value and dissolved O₂ ratio in the aquatic environment. In this study, considering these characteristics of cyanobacteria, it was predicted that *Spirulina sp.*, a cyanobacterial species, could be used as an oxygen producer. In addition, the fact that *Spirulina sp.* is currently used in many different ways, such as a functional food additive, a supplement to daily nutrition, and a collagen crystal patch gel patch for the eye, has been an important factor in its non-toxicity.

Hydrogels, on the other hand, are three-dimensional hydrophilic polymeric networks that can absorb large amounts of water or biological fluids. It is known that hydrogels have ideal properties in wound dressing applications. The high water absorption capabilities enable them to remove water from the environment, while also providing the moist environment necessary for healing. The most widely used natural hydrogel in wound treatment is silk fibroin. Silk fibroin-based hydrogels are known to promote proliferation of human dermal fibroblasts when used in the treatment of tissue wounds. Considering these features: In order to provide the necessary oxygen to the scar tissue, a hydrogel-based wound dressing consisting of the filling material *Spirulina sp.* was made. The oxygen production capacity of *Spirulina sp.*, which will be included in this cover, was used. Silk fibroin hydrogel was synthesized in different formations and characterization analyzes (TGA, F-TIR) of the synthesized hydrogels were performed. Oxygen production capacities were also determined by oxygen experiments.

Anahtar Kelimeler: Cyanobacteria, Hydrogel, Silk Fibroin Hydrogel, *Spirulina s.*



1.GİRİŞ

Bir polimer tekrarlayan yapısal birimlerden oluşan büyük bir moleküldür (makromoleküller). Polimerler genellikle doğal polimerler, sentetik polimerler ve yarı sentetik polimerler olarak sınıflandırılırlar. Doğal polimerler bitkiler, mikroorganizmalar ve hayvanlar gibi doğal kaynaklı büyük molekül ağırlıklı malzemelerdir. Sentetik ve yarı sentetik ile karşılaştırıldığında bu polimerler öncelikle ucuz olmaları, kolayca bulunabilmeleri, çok sayıda kimyasal modifikasyon yapabilmeleri ve biyolojik parçalanabilmeleri nedeniyle ilgi çekici olmaktadır. Doğal polimerler ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde geniş bir kapsama sahiptir. Ayrıca biyojenik olup hücre tanıma ve etkileşimler, enzimatik bozunabilirlik, hücre dışı matrise benzerlik ve kimyasal esneklikleri gibi biyolojik özellikleri onları medikal ürünler için tercih edilen malzemeler haline getirmiştir [1 ve 2].

Doğal polimerler: Bu polimerler doğada genellikle bitki ve hayvan kaynaklarında bulunur. Proteinler, selüloz, nişasta, reçineler, ipek vb.

Yarı sentetik polimerler: Bu polimerler nişasta, silikon vb. gibi doğal polimerlerin fiziksel özelliklerini değiştirmek için basit kimyasal işlemlerle doğal polimerlerden elde edilir.

Sentetik polimerler: Laboratuvarlarda sentezlenen lifler basit kimyasal moleküllerin polimerizasyonuna sentetik polimerler denir. Naylon, polietilen, polistiren, sentetik kauçuk, PVC, teflon vb. sentetik polimerlere örnektir [1 ve 2].

1.1. Doğal Polimerler

Doğal kaynaklardan elde edilen polimerler sahip oldukları yüksek biyouyumluluk özelliği ve hücrelerin yapışmasını sağlayan yapılarındaki ligandlar sayesinde doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar [3]. Birçok doğal polimer vücutta hücreler ve dokular tarafından tanınan biyolojik aktiviteleri yerine getirebildikleri özel moleküllere sahiptir. Ayrıca doğal polimerler fizyolojik ortamda enzimatik olarak bozunurlar ve bu bozunma ürünleri hücreler tarafından kullanılabilen toksik olmayan ürünlerdir [4 ve 5]. Genellikle doku iskelesi üretiminde kitosan, aljinat, hiyaluronik asit gibi polisakkarit bazlı doğal polimerler ve albümin, kolajen, jelatin, ipek, fibrin gibi protein bazlı doğal polimerler kullanılmaktadır. Doğal polimerlerin sınıflandırılması şu şekilde yapılmıştır.

Doğal Polimerler

- Polisakkaritler:
 - Nişasta
 - Selüloz
 - Kitin
- Proteinler:
 - Kolajen/Jelatin
 - Kazein, Albümin, Fibroin, İpek
- Polyesterler:
 - Poly(Hidroksialkanoatlar)
- Diğer Polimerler:
 - Lignin
 - Lipitler
 - Doğal Kauçuk örnek olarak verilebilir [6].

1.1.1. İpek

İpek lifleri yüksek oksijen geçirgenliği, biyouyumluluğu, kontrol edilebilirliği nedeniyle insan yapımı kan damarları, cerrahi sütürler ve onarım malzemeleri gibi biyomedikal amaçlar için FDA (U.S.Food and Drug Administration- Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onaylıdır. Biyomedikal amaçların yanı sıra tekstil endüstrisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi mükemmel mekanik özelliklere de sahiptirler [7-12]. Doku mühendisliği uygulamalarında ipekten tuzla süzme, dondurarak kurutma, gazla köpürtme veya elektro eğirme teknikleriyle üretilen iskeleler, fibroblastlar, osteoblastlar, hepatositler ve kök hücreler dahil olmak üzere hücreler için destekleyici yapılar sağlar [7]. Tüm bu özellikler dikkate alınarak bu çalışmada ipek tabanlı ürün kullanılabilirliği öngörülmüştür.

İpekler çoğunlukla ipek böcekleri (*Bombyx mori*), örümcekler, akrepler, akarlar ve sinekler gibi bazı lepidoptera larvaları tarafından liflere dönüştürülen protein polimerleri olarak tanımlanır. Bu çalışmada ipek böceğinden (*Bombyx mori*) elde edilen ipek proteini kullanılmıştır.

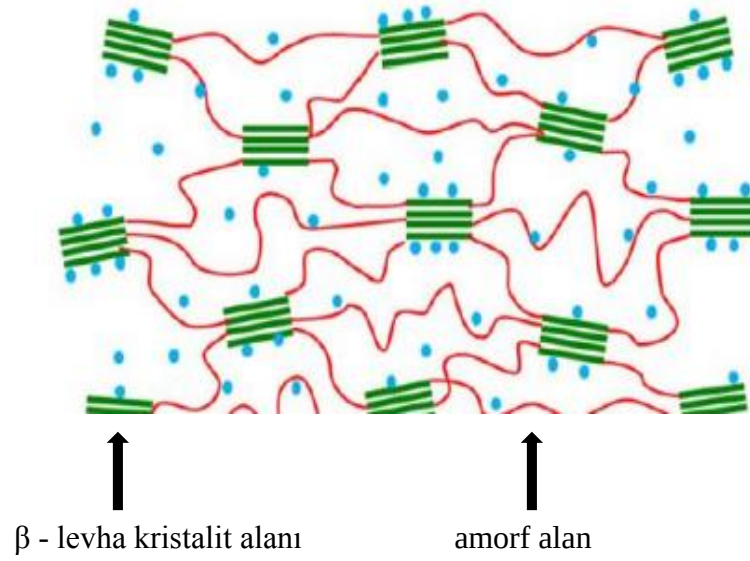
Bombyx mori ipek kurdu tarafından salgılanan ipek proteini fibroin ve serisinden oluşmaktadır [13]. İpek fibroin ipek kurdu kozalarında serisin adı verilen tutkal benzeri

protein ile kaplanmış çift sarmallı bir lif olarak bulunur. Ham ipek lifi kütlesi yaklaşık %20-30 serisin ve %70-80 fibroinden, çok düşük miktarda balmumu ve karbonhidrattan oluşur. Saf ipek fibroin proteini zamburak giderme ile hazırlanır. Serisin inflamatuvar yanıtlara neden olabileceği için serisin proteininden ayrılmıştır [14-16]. İpek fibroin yaklaşık 390 kDa moleküler ağırlığa sahip bir ağır protein zinciri ve bir disülfür bağı ile bağlanmış yaklaşık 26 kDa moleküler ağırlığa sahip bir hafif protein zincirinden oluşur.



Şekil 1.1. Bombyx mori ipek böceği kozaları.

İpek fibroin ipek I, ipek II ve ipek III olmak üzere üç farklı yapısal morfolojide bulunabilir. İpek I formu suda çözünür, ipek II ise hidrojen bağıyla stabilize edilmiş uzatılmış anti paralel tabakalarından oluşan çözünmez bir formdur. İpek III sarmaldır ve hava-su arayüzünde gözlenir [14, 17, 18]. Serisin proteinleri gen kodlamasına ve çeviri sonrası değişikliklere bağlı olarak 20 ila 400 kDa arasında değişen bir moleküler ağırlığa sahiptirler [14].



Şekil 1.1. Hidrofilik olan ve nemi tutan (su molekülleri mavi noktalarla gösterilmiştir) amorf bölgelere gömülü ipek fibroinin hidroforik β - yaprak yapısı [17].

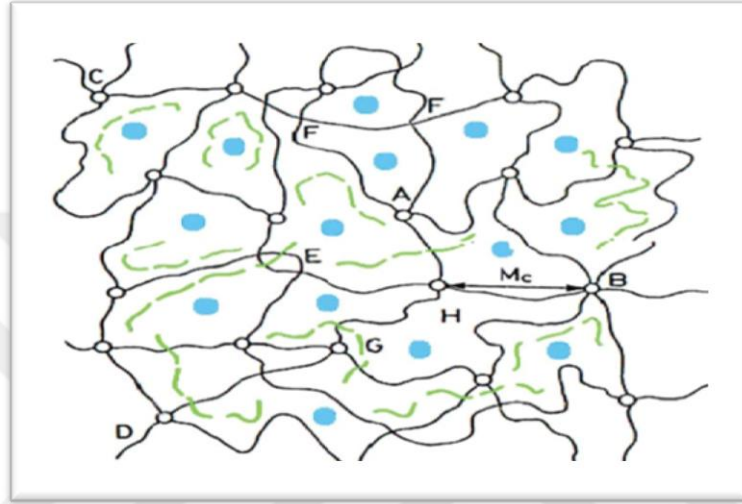
1.2. Hidrojeller

Hidrojeller ilk olarak Wichterle ve Lím tarafından rapor edilmiştir (1960) [19]. Hidrojeller su sever olmaları nedeniyle hidrofilik polimerler olarak adlandırılırlar. Genellikle şişebilen ve şişmiş durumda büyük miktarlarda su tutabilen üç boyutlu çapraz bağlı hidrofilik polimerler olarak kabul edilmiştir [20]. Polimer omurgasına bağlı hidrofilik fonksiyonel gruplara sahip olduğundan dolayı Latince “su” anlamına gelen “hidro” önekini almıştır. Hidro ön ekinden sonra “jel” olarak adlandırılmasının nedeni çapraz bağlantı noktaları yardımıyla çözünmeye karşı olan dirençleridir. Bir polimer jel, elastik bir çapraz bağlı ağdan ve ağına ara boşluklarını dolduran bir sıvıdan oluşur. Uzun polimer moleküler ağ sıvıyı yerinde tutup jelle sahip olduğu katılığı verir. Jeller ıslak ve yumuşak olup katı bir malzeme gibi görünür ancak büyük deformasyona uğrayabilir. Bu özellik kuru ve sert olan metaller, seramikler ve plastikler gibi çoğu endüstriyel malzemenin tersidir.

Canlı organizmalar büyük ölçüde jellerden yapılırlar. Kemikler, dişler, tırnaklar ve derinin dış katmanları dışında memeli dokuları büyük ölçüde protein ve polisakkarit ağlarından oluşan yüksek derecede sulu jel malzemelerdir. Bu organizmanın sağlığını korurken iyonların ve moleküllerin daha kolay ve etkili bir şekilde taşınmasını sağlar [21, 22, 23].

Su içeriği kendi kütlesinin %100’ünden fazla olan hidrojellere süper absorbant denir [24 ve 25]. Su dışındaki çözücülerde en az %20 ve daha fazla miktarlarda şişebilen jeller ise kserojel olarak adlandırılırlar [26 ve 27].

Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar, iyonik etkileşimler, hidrojen bağları, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir [28]. Bir hidrojinin çapraz bağlı yapısı Şekil 1.3.'de verilmiştir [29 ve 30]. Hidrofobik etkileşimler fiziksel çapraz bağ benzeri etkileşimler olduğundan jelin şişme davranışını doğrudan etkilemektedir. Fiziksel çapraz bağlı jellerin dış çevre değişimine fazlaca duyarlı oldukları bilinmektedir [28].



Şekil 1.2. Çapraz bağlı hidrojinin yapısı.

A: Dört fonksiyonlu çapraz bağlar, B: Çok fonksiyonlu çapraz bağlar, C-D: Zincir uçları, E: Dolaşmış ve birbirine karışmış polimer zincirler, F: İki zincir takılması, G: Çapraz bağlanmamış küçük zincirler, Mc: İki çapraz merkezi arasındaki zincirin molekül kütlesi, H: Çapraz bağlar arasındaki boşluk.

Hidrojeller yapılarında çok fazla miktarda su bulundurma, yumuşak ve esnek olma gibi birçok fiziksel özelliklerden dolayı canlı dokularla karşılaştırıldıklarında büyük bir benzerlik gösterirler. Hidrojellerin biyomateryal olarak bu başarısı canlı dokuya yüzeysel benzerlikleri nispeten yüksek su içeriklerine (%20-99) atfedilebilen bir özellik olup çevredeki dokuda minimum sürtünme tahrişine neden olur. Ek olarak hidrojeller toksik olmayabilir, kimyasal olarak stabil olabilir ve (su içeriklerinden dolayı) sulu ortamlarla düşük bir ara yüzey gerilimi gösterebilir. Hidrojeller tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son yıllarda ilgi odağı durumundadırlar. Biyouyumluluk, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle tıpta ve farmasötik alanlarında yaygın olarak kullanılırlar [30 ve 31]. Kullanım yerlerine göre kontak lens,

biyosensörler, yapay kalp, yedek kan damarları, yara sargısı, kas ve deri materyalleri, biyosensör için kaplamalar, kontrollü ilaç salım sistemleri ve enzim immobilizasyonu gibi çok çeşitli örnekler verilebilir [30 ve 31].

1.2.1. Hidrojelin karakteristik özellikleri

Hidrojellerin karakterizasyonu için birçok karakteristik özellik kullanılır. Bunlardan en temel olanları; şişme özellikleri, mekanik ve biyouyumluluk özellikleridir.

1.2.1.1. Şişme özellikleri

Hidrojeller su varlığında şişerken su eksikliğinde büzülürler. Hidrojeller hidrofilik monomerlerden oluştuğu için su veya su buharı ile etkileşmek isterler. Bu etkileşimin sebebi hidrojen atomları ve küçük su molekülleri arasında gerçekleşen hidrojen bağları, iyonik etkileşimler ve ozmotik basınçtır. Polimer zincirinin hidrofilik özelliği ve çapraz bağ yoğunluğu, hidrojelin şişmesini kontrol etmede en önemli iki faktördür. Yüksek çapraz bağlama oranı hidrojel yapısına daha fazla çapraz bağlayıcının girdiği anlamına gelir. Yüksek çapraz bağlı hidrojellerin yapıları daha sıkı olup düşük çapraz bağlantı yapısına sahip olanlardan daha az şişer. Çapraz bağlama polimer zincirinin hareketine müdahale edip hidrojelin şişme oranı azalır [32]. Hidrofilik gruplara sahip hidrojeller hidrofobik gruplar içerenlere kıyasla daha yüksek bir oranda şişer. Hidrofobik gruplar suyun bulunduğu ortamlarda kendi içinde kapanarak su moleküllerinin yapıya nüfuz etmesini önler. Su molekülleri polimer zincirlerine girdiğinde çapraz bağlanmış zincirler bu zincirlerle hidrojen bağları oluşturan Van der Waals veya dipol-dipol etkileşimleri ile açılır. Su molekülleri polimer zincirleri tamamen açılana kadar ağ yapısına yayılmaya devam eder. Bu denge çapraz bağlar arasındaki bölgeler tamamen su ile dolduğunda meydana gelir. Hidrojellerin şişme davranışı denge şişmesine ulaşma hızı, çözücüyü emerek şişme hızı gibi mekanizmaları içerir. Çözücü absorpsiyon denge yapısında şişme derecesine ulaşan hidrojel polimeri ile ilişkili olup bu polimer yapısındaki fonksiyonel grupları etkileyerek şişme kapasitesini etkiler. Şişme testleri yapılırken kuru haldeki hidrojellerin ağırlığı tartılıp birinci kütle olarak kaydedildikten sonra seçilen çözücülerde belirli zaman aralıklarında şişmek üzere serbest bırakılırlar. Çözücüye konulan ilk şişmiş hidrojel kütlelerini tanımlamak için hidrojeller çözücülerden çıkarılıp kurutulduktan sonra tartılır. Bu işleme hidrojellerin kütle değişimi dengeye ulaşana kadar devam edilir. Kuru ağırlıklar göz önünde bulundurularak şişme derecesi denklem (1.1)'e göre hesaplanır [33].

Denklem 1.1.

$$\text{Yüzde Şişme (\%)} = (\text{ŞA} - \text{KA}) / \text{KA} \times 100$$

Burada ŞA şişmiş hidrojelın ağırlığıdır ve KA kuru hidrojelın ağırlığıdır.

1.2.1.2. Mekanik özellikler

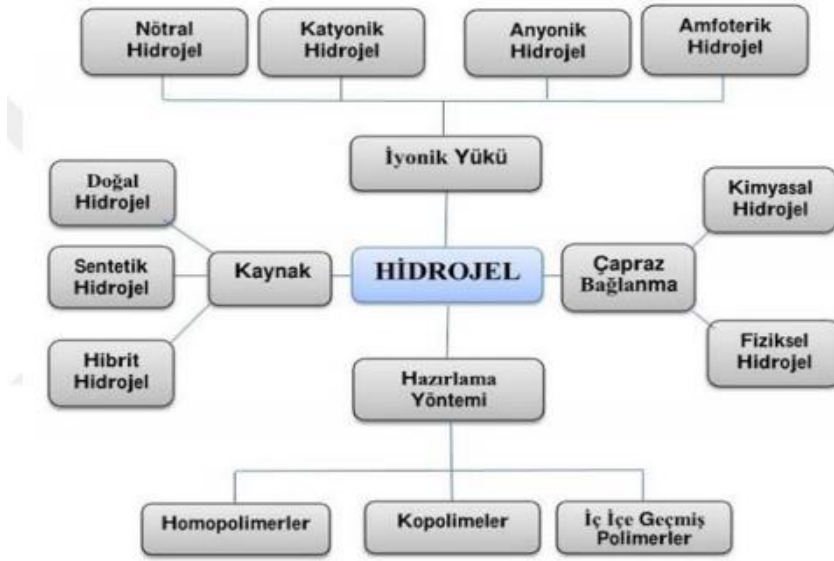
Mekanik özellikler; biyomedikal ve farmasötik alanda yara pansuman maddesi, Biyomedikal gereksinimler yüksek şişme kapasitesine ek olarak biyouyumlu ve uygun mekanik mukavemetli malzemelerin kullanılmasını gerektirir. Çapraz bağlama yoğunluğu arttığında bu mekanik özelliklerin artmasına neden olur [34].

1.2.1.3. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk bir biyomateryalin en önemli özelliğidir. 'Vücuda uyumlu' biyomateryale onu çevreleyen dokuların işleyişlerine müdahale etmeyen ve dokuda (iltihaplanma, pıhtı oluşumu vb.) istenmeyen reaksiyonlara neden olmayan biyolojik olarak uyumlu bir malzemedir. Araştırmacılar bu terimi biraz genişletip biyomateryalin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır. Yüzey uyumluluğu biyomateryalin vücut dokuları için fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yüksek biyouyumluluğa sahip malzemeler vücuda yerleştirilebilecek cihazların hazırlanmasında kullanılır [35].

1.2.2. Hidrojellerin sınıflandırılması

Polimerik hidrojeller hazırlama yöntemlerine, iyonik yüklerine, fiziksel yapılarına ve çapraz bağlanma durumlarına bağlı olarak sınıflandırılabilirler [28, 36 ve 37]. Bu sınıflandırma şematik olarak gösterilmiş ve önemli hidrojel türlerinden bazıları alt başlıklar halinde açıklanmıştır (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. Hidrojellerin sınıflandırılması [38].

1.2.2.1. Hazırlama yöntemine göre

- Homopolimer hidrojeller
- Kopolimer hidrojeller
- Çoklu polimer hidrojeller

1.2.2.2. İçerdikleri yan gruplara göre

- Nötral (iyonik olmayan) hidrojeller
- İyonik hidrojeller
 - Anyonik (negatif yüklü) hidrojeller
 - Katyonik (pozitif yüklü) hidrojeller
 - Poliamfolitik hidrojeller

1.2.2.3. Fiziksel yapılarına göre

- Amorf hidrojeller
- Yarı - kristalin hidrojeller
- Hidrojen bağlı hidrojeller

1.2.2.4. Çapraz bağlanma durumlarına göre

- Fiziksel hidrojeller

- Kimyasal hidrojel

1.2.2.5. Kaynaklarına göre

- Doğal hidrojel
- Sentetik hidrojel

1.2.2.6. Su içeriklerine göre

- Düşük şişme dereceli (%20-50) hidrojel
- Orta şişme dereceli (%50-90) hidrojel
- Yüksek şişme dereceli (%90-99,5) hidrojel
- Süper-absorbant (>%99,5) hidrojel

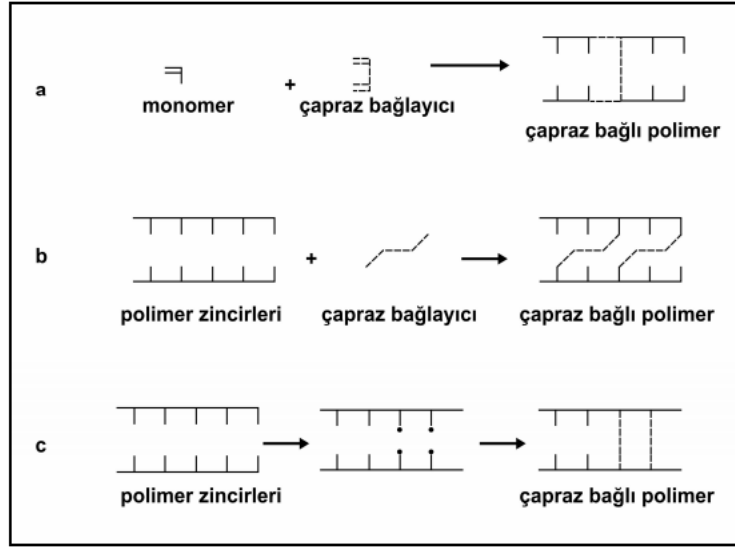
1.2.2.7. Kimyasal kararlılıklarına göre

- Biyobozunur hidrojel
- Biyobozunmayan hidrojel

Tek bir hidrofilik monomerden oluşturulan hidrojel homopolimer hidrojel denir. İki monomerin çapraz bağlanması ile hazırlanan ve monomerlerinden en az bir tanesi hidrofilik yapıda olan hidrojel ise kopolimer hidrojel denir. Çapraz bağlanma kovalent ya da iyonik olarak gerçekleşebilir [37]. Çapraz bağlanma durumlarına göre hidrojel; kimyasal hidrojel ve fiziksel hidrojel olarak ikiye ayrılırlar. Çapraz bağlı hidrojeldeki polimer zincirleri birbirlerine güçlü kovalent bağlarla bağlanmışlardır [39 ve 40].

Kimyasal hidrojel:

Zincirler arası kuvvetli kimyasal bağlarla çapraz bağlanmanın gerçekleştiği hidrojeldir. Sıcaklık, pH ya da çözücü bileşiminin değişmesi ile zincirler birbirlerinden ayrılamaz bu yüzden çözünmezdirler [41 ve 42].



Şekil 1.4. Kimyasal hidrojenlerin oluşum tepkimeleri [43].

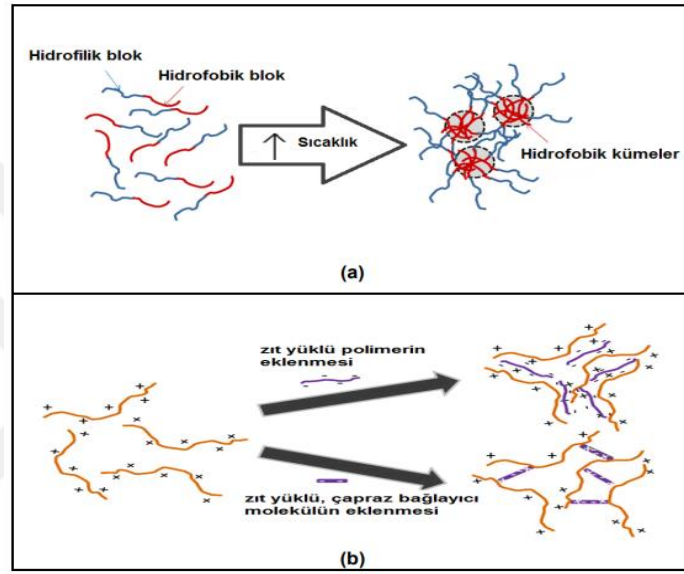
Şekil 1.4.'de kimyasal hidrojenlerin oluşum tepkimeleri sunulmuştur. Tepkime monomerden polimer oluşumu sırasında çapraz bağlayıcının ana zincirde yer alması şeklinde olabileceği gibi (a), oluşmuş polimer zincirlerinin çapraz bağlayıcı ile kovalent bağlarla bağlanması şeklinde de (b) olabilmektedir. Ayrıca çapraz bağlayıcı kullanılmaksızın iyonlaştırıcı ışınlar ile çapraz bağlanma (c) gerçekleştirilerek de kimyasal hidrojel elde edilebilmektedir.

İyonlaştırıcı ışınlar suda ve havada basit molekülleri iyonlaştıracak kadar enerji taşıyan elektromagnetik yayınlardır [44]. Şekil 1.4.a'da verilen tepkimede çapraz bağlayıcı olarak N,N'-metilenbisakrilamid, etilen glikol dimetakrilat, 1,4 bütandiol dimetakrilat gibi iki fonksiyonlu veya trimetilol propantriakrilat, trimetilol propantrimetakrilat gibi üç fonksiyonlu çapraz bağlayıcılar kullanılabilir. Şekil 1.4.b'de verilen tepkime tiplerinde GA (gluteraldehit), formaldehit, asetaldehit gibi çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır [40 ve 44].

Fiziksel hidrojenler:

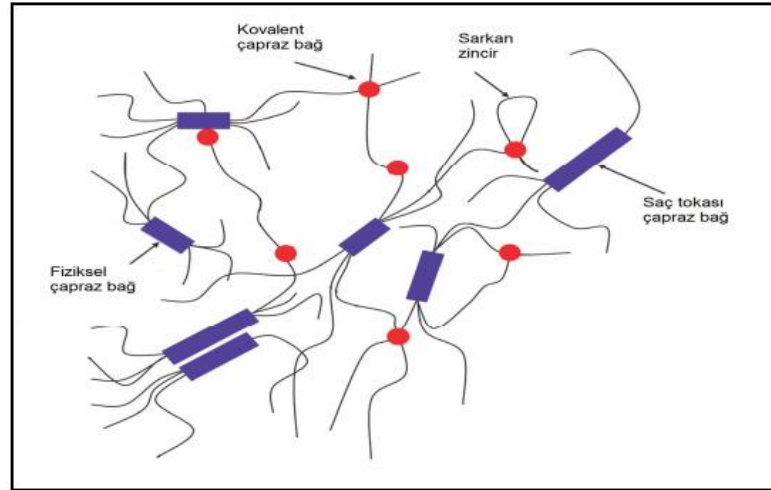
Zincirler arası hidrojen bağları, iyonik bağlar, koordinasyon bağları, hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimler ile çapraz bağlanmanın gerçekleştiği hidrojenlerdir. Bunlar sıcaklık, pH ya da çözücü bileşiminin değişmesi ile homojen bir çözelti oluştururlar. Şekil 1.5.'de hidrofobik ve iyonik etkileşimler sonucu fiziksel hidrojenlerin oluşumu gösterilmektedir. Hidrofobik etkileşimler sonucu hidrojel oluşumunda hidrofobik grupların aşırı polimerizasyon yöntemiyle hidrofilik polimer zincirlerine bağlanması veya bir

blok kopolimer sentezlenmesiyle amfilik (hidrofilik ve hidrofobik grupların her ikisini de içeren yapı) bir polimer elde edilir. Bu amfilik polimerler düşük sıcaklıkta suda çözünebilirler. Sıcaklık arttıkça hidrofobik grupların etrafındaki su miktarı azalır ve hidrofobik gruplar kendi aralarında kümelenerek hidrojel oluştururlar. Jelleşmenin oluşturduğu sıcaklık; polimerin derişimine, hidrofobik bloğun uzunluğuna ve polimerin kimyasal yapısına bağlıdır [45].



Şekil 1.5. Fiziksel çapraz bağlanma; a) Hidrofobik etkileşim b) İyonik etkileşim [43].

İyonik etkileşimler sonucu hidrojel oluşumunda zıt yüklü iki polimer arasında veya zıt yüklü bir çapraz bağlayıcı ile polimer arasında meydana gelen yük etkileşimleri sonucu hidrojel oluşumu gerçekleşir [45]. Hidrojellerde fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma bir arada bulunabilir (Şekil 1.6.). Yapıda aynı zamanda fiziksel bağlı iki veya üç zincirin birbirine bağlanması sonucu saç tokası çapraz bağı olarak adlandırılan fiziksel ağ oluşumu da meydana gelebilir [46].



Şekil 1.6. Hidrojelin ağ yapısını şematik gösterimi [43].

1.2.3. Biyomalzeme olarak hidrojeller

Hidrojellerin biyomalzeme olarak kullanımlarındaki avantajları aşağıdaki gibi verilebilir [47].

- Hidrojeller suda çözünen maddeler için geçirgen olduklarından atık monomerler, başlatıcılar, katalizörler, stabilizatörler ve diğer safsızlıklar yapıdan kolaylıkla ayrılabilir.
- Hidrojeller vücut sıvılarına karşı az ya da çok geçirgen olduklarından besin, oksijen gibi yararlı maddelerin geçişine engel oluşturmazlar.
- Hidrojeller yumuşak olup hidrojel implantının etrafında oluşan doku tabakası ince, dayanıklı ve kalınlaşma eğilimi de yoktur.
- Hidrojeller mukoza zarı ve dokulara düşük yapışma özelliği gösterirler.
- Kuru hidrojeller bazı yollarla belli miktarda su absorplayabilirler. Bu özellik aşırı miktardaki vücut sıvılarının atılmasında kullanılmaktadır.

Şişmiş hidrojellerdeki suyun bir kısmı polimer yapıda belli büyüklükteki moleküller (özellikle ilaçlar) için difüzyon yolları sağlar. Aynı zamanda polimerik yapı sahip olduğu örgü nedeniyle büyük moleküller, hücreler ve bakteriler için bariyer gibi davranmaktadır.

Hidrojeller çok iyi su tutabilme ve sulu ortamda şişebilme yeteneklerinden dolayı biyoteknoloji, biyomühendislik, biyomedikal, eczacılık, tarım, veterinerlik, yiyecek endüstrisi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyomateryal özelliğe sahip hidrojeller, biyotıp, eczacılık, veterinerlik gibi alanlarda; kontrollü salınım sistemleri, yapay organ yapımı, kontakt lens yapımı, enzim immobilizasyon sistemleri, ilaç taşıyıcı

sistemler, kemik hastalıkları tedavisi için materyal, sentetik kırıkda, yara örtü/zarı, ameliyat ipliği ve buna benzer pek çok uygulamada etkin olarak kullanılırlar [48 ve 49].

Tüm bu kullanım alanlarında avantaj ve dezavantajlarını şu şekilde maddelenebilir.

Hidrojellerin Avantajları:

- Hidrojeller büyük oranda su içerdikleri için normal dokulara çok benzer yüksek bir elastikiyet derecesine sahiptir.
- Suda çözünen maddeler için geçirgendir,
- Vücut sıvılarına karşı geçirgendir,
- Su ile etkileşime girdiğinde esnektir,
- Mukoza zarına ve dokulara düşük yapışma gösterir,
- Su absorpsiyon kabiliyeti yüksektir,
- İlaç geçirgendir,
- İyi taşıma özellikleri vardır,
- Değiştirilmesi kolaydır,
- Renksizlik, kokusuzluk ve kesinlikle toksik değildir.

Hidrojellerin Dezavantajları:

- Yüksek maliyetlidir,
- Düşük mekanik mukavemete sahiptir,
- İşlenmesi zordur,
- Sterilize etmek zordur,
- Yapışkan değildir, bu nedenle ikincil bir pansuman ile sabitlenmeleri gerekebilir.

1.2.4. Hidrojellerin uygulamaları

Hidrojellerin kullanımı son yıllarda ilaç salımı ve taşıyıcı sistemler, tıbbi uygulamalar, biyotıp alanı, yapay organ üretimi, diyabet tedavisi, bazı vücut sıvılarının taşınması, tarım ve gübrelemede yaygınlaşmıştır. Bu alanlarda hidrojellerin kullanılmasının ana nedeni implant olarak yerleştirildiklerinde çok uyumlu olmaları ve kan veya doku ile temas halinde birçok etkileşimle uyumlu olmalarıdır. Hidrojellerin başarılı biyomalzemeler olması canlı dokuya benzerliklerinden ve içerdikleri yüksek su oranını sayesinde çevre dokuya verilen hasar yüzdesini azaltır. Tablo 1.1.'de hidrojel tiplerine ve uygulamalarına ilişkin bazı örnekler gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Hidrojeller ve uygulamalar

Uygulamalar	Hidrojeller
Yara İyileşmesi	Chitosan- poly(Ethylene glycol) [50]
Bakteriyel Enfeksiyonlar	k- Carrageenan/locust bean gum /cranberry extract [51]
Antimikrobiyal	k- Carrageenan/locust bean gum [52]
İlaç Salınımı, İlaç Taşıyıcı	Poly (vinyl pyrrolidone), poly(vinyl pyrrolidone) starch, poly (acrylic acid) [52]
Biyomedikal Uygulamalar	Guar gum/ epichlorohydrin [52]
İlaç Salınım	Sodium alginate- locust bean gum [52]
Yara İyileşmesi	Poly (vinyl alcohol)/ chitosan [52]

1.2.5. Yara bakım malzemesi olarak hidrojeller

Yara canlı dokuda herhangi bir nedenle meydana gelen kırılmadır. Bir yaralanmadan sonra lezyon yerindeki iyileşme vücudun cevabı ile başlar [21]. Bir restorasyon işlemi sırasında dış kaynak yara bölgesi enfeksiyonlardan kaçınıp onu fiziksel darbelerden korumak için biyomalzemeler ile sarılır. Bu malzemeler yaranın bakımı için pansuman olarak adlandırılır. Geleneksel tıbbi örtüler pamuklu veya poliester sargılardır. Yara bölgesi ile çevresindeki alan arasında bir bariyer görevi görür. Bakım süreci doku tamamen yenilenene kadar tekrarlayan bir süreçtir. Ticari pansumanların önemli bir dezavantajı özellikle yanık yaraları düşünüldüğünde yara yüzeylerine yapışmalarıdır [22]. Yeni yamalar ile değiştirme sırasında devam eden iyileşmede taze epitelize doku süreç bozulur veya rejenerasyon mekanizması engellenir ve mekanik sonuç olarak hastalar ağrı çeker [23]. Belirtilen durumlar yeni giyinme teknolojileriyle aşılması gereken zorluklardır. Hidrojeller son yıllarda yara sargısı olarak dikkati üzerine çekmiştir. Hidrojel malzemeler nemli bir ortam oluşturup nem ile hızlı iyileşme, azalmış ağrı ve daha az yara izi oluşumunu sağlar.

1.2.6. İpek fibroin hidrojeller

İpek proteini hidrojelleri özellikle biyotıp alanında benzersiz biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları nedeniyle birçok uygulama için etkili olarak kabul edilir. Son yıllarda farklı işlevlere sahip ipek protein hidrojelleri ortaya çıkmıştır. İpek fibroinin çok ölçekli

yapısının moleküler düzeyde tasarımı ve kontrolü sayesinde akademisyenler, diğer özelliklerin yanı sıra yüksek mukavemet, enjekte edilebilirlik, kendi kendini iyileştirme yeteneği, yapışma özelliği, iletkenlik, çevresel uyaranlara duyarlılık, 3D yazdırılabilirlik ile ipek fibroin hidrojelleri elde ettiler. İpek fibroin hidrojellerinde bu fonksiyonların varlığı hizmet ömürlerini uzatır ve mekanik performans ayarlanabilirliğinin yanı sıra insan derisiyle eşleşme derecesini iyileştirip dış uyaranlara karşı akıllı tepki sağlar [53].

1.3. Siyanobakteriler

Siyanobakterilerin (önceden mavi-yeşil algler olarak bilinirdi) evrimsel olarak en eski organizmalar arasında olduğu düşünülmektedir. 3.5 milyar yıllık olduğu varsayılan siyanobakterilere atfedilen mikrofosiller bulunmuştur [54]. Yapılarındaki pigmentler sayesinde CO₂ ve suyu ışık etkisi kullanarak karbondhidratlara çevirirler. Böylece su ortamındaki besin değerinin ve çözünmüş O₂ oranının artmasını sağlamaktadırlar. Ayrıca ilk atmosferik oksijen oluşumunda görev aldığı bilinmektedir [55]. Ana primer üreticiler olmaları nedeniyle biyosferde oldukça önemli bir role sahiptirler [56]. Siyanobakteriler antimikrobiyal, antioksidan ve antitumörjenik etkilere neden olduğu iddia edilen maddelerin önemli bir kaynağıdır. Siyanobakteriler antibiyotikler, algisid, sitotoksik, immun baskılayıcı ve enzim inhibe edici ajanlar gibi endüstriyel olarak önemli sekonder metabolitlerin bir çeşidini üreten prokaryotik organizmaların inanılmaz derecede eski grubudurlar [57].

Siyanobakterileri içeren algler, çeşitli yararları ve gıda, ilaç, kozmetik, tarım, enerji ve çevre sektörlerindeki uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Daha hızlı büyüme oranları, tarıma elverişli olmayan arazilerde yetiştirebilmeleri, yüksek CO₂ seviyeleri yakalamaları ve habitatlarındaki değişen koşullara hızlı adapte olabilmeleri nedeniyle birçok yüksek bitki için avantajlıdır [58]. Birçok siyanobakteri türü mevcuttur bu siyanobakterilerden bazıları şu şekildedir:

- *Anabaena variabilis*,
- *Nostoc spongiaeforme*,
- *Microcystis aeruginosa*,
- *Nostoc commune*,
- *Nodulari harveyana*,
- *Spirulina platensis*.

Gibi birçok siyanobakteri çeşidi mevcuttur. Bu siyanobakteri çeşitleri içerisinde *Spirulina platensis* türünün tercih edilmesinde toksik olmaması ve hali hazırda fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak, günlük beslenmeye destek olarak ve kristal yama jel bandı gibi birçok farklı şekilde kullanılıyor olması tercih edilmesinde önemli bir etken olmuştur.

1.3.1. *Spirulina platensis*

Oscillatoriaceae familyasına ait mavi-yeşil bir mikroalg olan *Spirulina platensis*, yüksek düzeyde amino asitler, çoklu doymamış yağ asitleri, polisakkaritler, fitokimyasallar ve vitamin içeriği ile zengin bir nutrasötik kaynağıdır [59, 60, 61]. *Spirulina*, 1996 yılında Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü tarafından “yarın için en iyisi” olarak ilan edilmiş olup günümüzde gıda kullanımı için ticari olarak yetiştirilen tek mavi-yeşil algdır [62]. Proteinler, esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitler, uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller ve birçok bitkisel besin açısından zengin olan umut verici mikroalglerden biridir. Yetiştirildiği çevre koşullarına bağlı olarak kuru ağırlığının yaklaşık %60-70'i kadar yüksek bir protein konsantrasyonuna sahiptir. Çok sayıda çalışma *Spirulina* veya protein ekstraktlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [62, 63, 64, 65]. Ek olarak antioksidan, antibakteriyel [66], antihipertansif [67, 68, 69], antitümör [70], antiproliferatif [71], antikanser [70] aktivitelerine sahip olduğu gözlenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

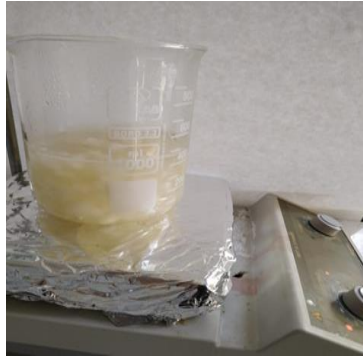
2.1. İpek Böceği Kozasından Fibroin İzolasyonu

Bombyx mori ipek böceği kozaları (Şekil 2.1.) Kozabirlik'ten (Bursa) temin edilmiştir. İpek fibroinin ekstraksiyonu ve saflaştırılması Zhang, (2011) metoduna göre gerçekleştirilmiştir.



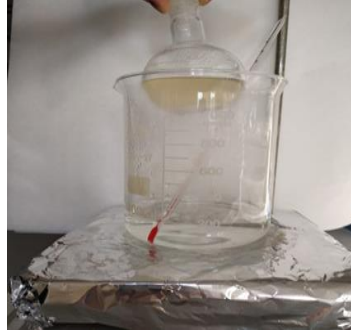
Şekil 2.1. *Bombyx mori* ipek böceği kozaları

Bu amaçla *Bombyx mori* kozaları Na_2CO_3 (Sodyum Karbonat- Natrium carbonat / Riedel-de Haën) çözeltisinde (% 0.2, a/h) 30 dakika kaynatılıp (2 defa) zambı giderilmiştir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Serisin uzaklaştırma (zambı giderme) işlemi

Zambı giderilmiş ipek fibroini saf su ile yıkayıp 40 °C'de 48 saat kurutulmuştur. Kurutulmuş ipek fibroini ağırlığının 20 katı hacmindeki Ajisawa reaktifine ($\text{CaCl}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich: Rags), 1:2:8 mol oranı) batırılıp 60 °C'de 4 saat süreyle karıştırılarak çözülmüştür (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Çözünmüş ipek fibroini

Elde edilen viskoz diyaliz tüpüne (MWCO 12.5 kDa yerleştirilip saf suya karşı diyaliz edilmiştir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. İpek fibroini çözeltisinden diyaliz işlemi ile CaCl_2 'nin (Sigma-Aldrich) uzaklaştırılması

Diyaliz işlemi sonunda elde edilen rejenere ipek fibroini (RSF) bir sonraki kullanıma kadar $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilmiştir [74 ve 75].

2.2. Fibroin Solüsyonlarının Deriştirilme İşlemi

İpek fibroin sulu çözeltisinin konsantrasyonunu arttırmak için çalışmamızda %30 (ağırlık/hacim(a/h)) oranında PEG (polyethyleneglycol (Merck)- 6000-8000) çözeltisi kullanılmıştır. %30 (a/h) PEG; 700 ml saf suya 300 g PEG ilave edilmesiyle oluşturuldu. Manyetik bir karıştırma plakası üzerinde çözünme işlemi bitene kadar karıştırma işlemi uygulandı. PEG tamamen çözündüğünde berrak bir görüntü elde edildi. Önceden diyaliz edilmiş %1-3 (a/h) fibroin solüsyonundan 5'er ml pipetler ile alınarak selüloz membran (MWCO 3500) içerisine dolduruldu. %30'luk PEG çözeltisi, fibroin solüsyonu ile doldurulmuş selüloz membranı içine alabilecek boyutta bir kabın içerisine ilave edilip,

selüloz membranın PEG ile tüm yüzeyi kaplandı (Şekil 2.5.). Alüminyum folyo ile üzeri kapatılıp manyetik karıştırıcı üzerinde deriştirme işlemi başlatıldı. İstenen konsantrasyon elde edilene kadar deriştirilme işlemine devam edildi. Son konsantrasyon %5-12 (a/h) oranlarında olacak şekilde fibroin solüsyonu elde edildi [76].

Fibroin solüsyonlarının konsantrasyonunu belirlemek için; küçük bir beherin ilk ağırlığı tartıldı. Tartılan behere 1 ml konsantre fibroin çözeltisi eklenerek çözelti 60 °C'de kurutulup ardından kurutulmuş filmi tartıldı. Fibroin ağırlığının kullanılan hacime (1 ml) bölünmesi ile yüzde hacim başına ağırlık elde edilmiş olundu.



Şekil 2.5. Fibroin deriştirilme işlemi

2.3. Hidrojel Sentezi

2.3.1. Poliakrilamid ilaveli fibroin jeller

Ağırlıkça %0,5 olan akrilamidin (AAm) %15 sulu çözeltisi N,N'-Methylenebis (acrylamide) hazırlanmış ve ardından ipek fibroin (SF) solüsyonu ile istenilen karışım oranlarına göre karıştırılmıştır. Bu karışım oranlarına hidrojeller redoks başlatıcı çifti olarak kullanılan başlatıcı, amonyum persülfat (APS) ve aktivatör N,N,N',N'-tetrametiletilediamin (TEMED) ile karıştırılmıştır (Tablo 2.1.). Çözeltilerin oda sıcaklıklarında (24 °C) jelleşmesine izin verildi [77]. Elde edilen hidrojel formları -80 °C 'de dondurulduktan sonra liyofilizasyonda kurutma işlemi uygulanıp karakterizasyon

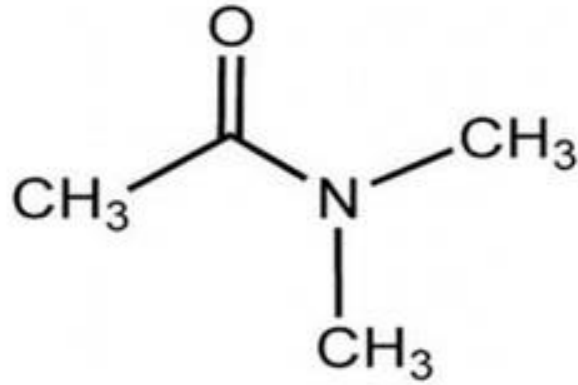
işlemleri yapıldı. Fibroin konsantrasyonları farklı oranlarda hazırlandı (%4, %6, %8) ve her bir oran için aynı deney tekrarlandı.

Tablo 2.1. Fibroin/Akrilamid hidrojel [77].

Kompozisyon	Fibroin protein (%4, %6, %8 ml)	Akrilamid (15wt%) (ml)	Amonyum persülfat (10wt%) (μl)	TEMED (μl)
SF/PAAm: 90/10	1,8	0,2	08	5
SF/PAAm: 80/20	1,6	0,4	16	5
SF/PAAm: 70/30	1,4	0,6	24	5
SF/PAAm: 60/40	1,2	0,8	32	5
SF/PAAm: 50/50	1,0	1,0	40	5
SF/PAAm: 0/100	0	2,0	60	5

2.3.1. N,N-Dimetilakrilamid

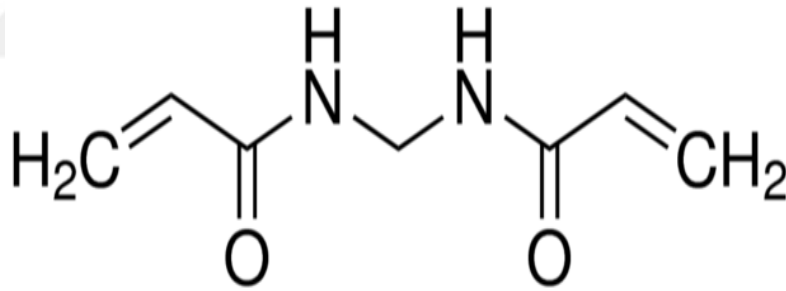
Jel sentezleme aşamasında hidrofilik monomer olarak molekül ağırlığı 71,08 g/mol olan N,N-Dimetilakrilamid (DMA) (Sigma aldrich) monomeri kullanılmıştır [77]. Açık formülü şu şekildedir (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. N,N-Dimetil Akrilamid (DMA) monomer [77].

2.3.2. N,N'-Metilenbisakrilamid

Jel sentezleme aşamasında N,N-Dimetilakrilamid (DMA) monomerini çapraz bağlamak için molekül ağırlığı 154,17 g/mol olan N,N'-Metilenbisakrilamid (BAAm) (Sigma aldrich) monomeri kullanılmıştır [77]. Açık formülü şu şekildedir (Şekil 2.7.).



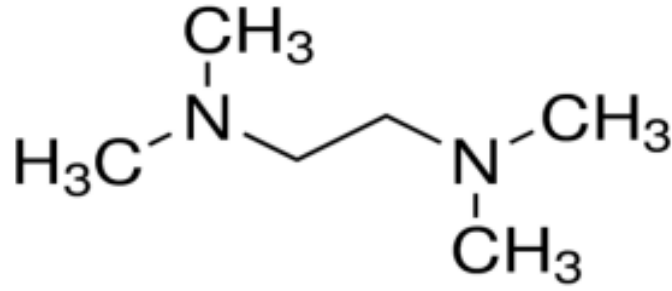
Şekil 2.7. N,N'-Metilenbisakrilamid (BAAm) çapraz bağlayıcısının açık formülü [77].

2.3.3. Amonyum persülfat

N,N-Dimetilakrilamid (DMA) polimerizasyon reaksiyonunda başlatıcı olarak amonyum persülfat (APS) (Sigma aldrich) kullanılmıştır [77]. Molekül ağırlığı 228,20 g/mol'dür.

2.3.4. N,N,N',N'-tetrametiletilediamin

N,N,N',N'-tetrametiletilediamin (TEMED) (Sigma aldrich) jel çapraz bağlanmasında pH ayarlayıcı ve hızlandırıcı olarak görev almıştır [77].



Şekil 2.8. N,N,N',N'-tetrametiletilediamin'in açık formülü [77].

2.3.2. Gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel

Fibroin/Akrilamid karışımına ilave edilecek gluteraldehit miktarını belirlemek için farklı konsantrasyonlarda gluteraldehit miktarları ile deneme yapıldı (Tablo 2.2.). Gluteraldehit stok solüsyonu %25 konsantrasyonda hazırlandı. İpek fibroin konsantrasyonu ise %4 olacak şekilde ayarlandı. %4'lük ipek fibroinden 2 ml alınarak %25'lik gluteraldehitin farklı oranları ile birleştirildi. Üzerine saf su ilave edildi. Saf su oranı gluteraldehit ve saf su bileşimi 1 ml olacak şekilde belirlendi. 50 µl gluteraldehit ilavesine 950 µl saf su ilave edildi. Bu çalışma gluteraldehitin farklı miktarları ile denendi (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. İpek fibroin/ gluteraldehit hidrojel

Silk Fibroin başlangıç (%)	Silk Fibroin başlangıç (ml)	Gluteraldehit Stok (%)	Gluteraldehit (µl)	dH ₂ O (µl)	Silk Fibroin son (%)
4	2	25	0	1000	4
4	2	25	1,56	998,44	4
4	2	25	3,13	996,88	4
4	2	25	6,25	993,75	4
4	2	25	12,5	987,50	4
4	2	25	25	975	4
4	2	25	50	950	4

Yapılan denemeler sonucunda elde edilen hidrojel formları -80 °C’de dondurulma işleminden sonra liyofilizasyon cihazında kurutuldu. Kurutulmuş örneklerin çapraz bağlanma derecesini hesaplamak için; %2’lik ninhidrin (etilen glikol monometil eter) solüsyonu hazırlandı. Kurutulmuş örneklerden hidrojel/ninhidrin oranı 1,5 mg/ml olacak şekilde tartılarak örneklerin üzerine ninhidrin solüsyonu ilave edildi. Hazırlanan çözelti 20 dakika boyunca 100 °C’de ısıtıldı. Çözelti oda sıcaklığında soğutulduktan sonra spektrofotometre (Genesys 10S UV- VIS) yardımıyla 570 nm’de değeri okundu.

Belirlenen gluteraldehit çapraz bağlanma oranlarına göre %98, %57 ve %0 çapraz bağlanan gluteraldehit miktarı tespit edilip (Tablo 2.3.) farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Fibroin/Poliakrilamid içerisine ilave edilmiştir. Oluşan hidrojeller -80 °C’de dondurulduktan sonra liyofilizasyon cihazında kurutulmuştur. Hazırlanan örneklerin karakterizasyon işlemleri yapılmıştır.

2.3.3. Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilaveli jellerin sentezlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojeller değerlendirilmiştir. Bu çapraz bağlı hidrojellerden üç örnek %100, %50 ve %0 çapraz bağlayan gluteraldehit miktarı belirlenmiştir. Belirlenen miktarlar poliakrilamid ile hazırlanan jellerin (Tablo 2.1.) içerisine ilave edilmiştir. %4’lük fibroin çözeltisi içerisine SF/PAAm: 90/10, SF/PAAm: 80/20, SF/PAAm: 70/30, SF/PAAm: 60/40, SF/PAAm: 50/50 oranlarında olacak şekilde %15’lik Akrilamid, %10’luk Amonyum persülfat ve 5 µL TEMED ile her bir numune hazırlanmıştır. Bu numunelerin her biri içerisine 33 µl gluteraldehit ilave edilmiştir. Numuneler tekrar hazırlanarak 1,04 µl gluteraldehit ve 0 µl gluteraldehit miktarları ile deney tekrarlanmıştır. Fibroin çözeltisinin konsantrasyonu %6 ve %8’e ayarlanarak aynı işlemler tekrar yapılmıştır.

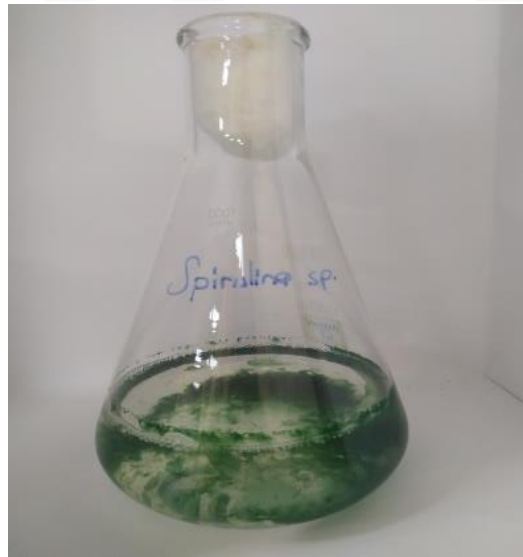
Tablo 2.3. İpek fibroin/ gluteraldehit hidrojel

Kompozisyon	Fibroin protein (%4, %6, %8 ml)	Akrilamid (15wt%) (ml)	Amonyum persülfat (10wt%) (µl)	TEMED (µl)	Gluteraldehit (µl)
SF/PAAm: 90/10	1,8	0,2	08	5	33
					1,04
					0

SF/PAAm: 80/20	1,6	0,4	16	5	33
					1,04
					0
SF/PAAm: 70/30	1,4	0,6	24	5	33
					1,04
					0
SF/PAAm: 60/40	1,2	0,8	32	5	33
					1,04
					0
SF/PAAm: 50/50	1,0	1,0	40	5	33
					1,04
					0
SF/PAAm: 0/100	0	2,0	60	5	33
					1,04
					0

2.4. *Spirulina* sp.'nin kültüvasyonunun yapılması

Spirulina sp'nin temini Muğla/Fethiye NS *Spirulina* firmasından temin edilmiştir. Temin edilen *Spirulina* Zarrouk Besiyeri ortamında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyonu yapılmıştır [78] (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. *Spirulina* sp. besiyeri ortamında

2.4.1. Zarrouk besiyeri

Zarrouk besiyerinin içeriği tablodaki gibidir (Tablo 2.4.).

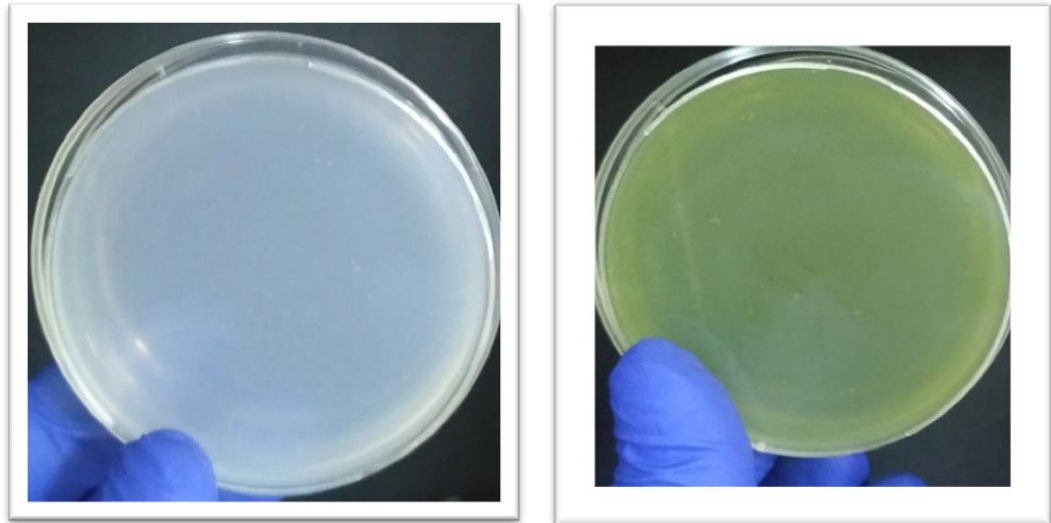
Tablo 2.4. Zarrouk besiyeri içeriği [78].

No	İçeriği	Miktarı (g/L)
1	NaHCO ₃ (Merck)	16,8
2	NaNO ₃ (Merck)	2,5
3	NaCl (Merck)	1,0
4	K ₂ SO ₄ (Merck)	1,0
5	K ₂ HPO ₄ (Merck)	0,5
6	MgSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	0,2
7	FeSO ₄ .7H ₂ O (Merck)	0,01
8	CaCl ₂ .2H ₂ O (Sigma-aldrich)	0,04
9	EDTA (Sigma-aldrich)	0,08
10	Saf su	1000ml

2.5. *Spirulina* sp.'nin Sentezlenen Hidrojel ortamına ilave edilmesi

Tablo 2.3. 'de verilen her biri yaklaşık 2 ml olan çözeltilere canlı *Spirulina* sp.'den 400 mg tartılarak ilave edilmiştir (Tablo 2.5.).

Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ve canlı *Spirulina* sp. ilaveli jeller elde edilmiştir (Şekil 2.10.).



Şekil 2.10. Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ve canlı *Spirulina* sp. ilaveli jeller

Tablo 2.5. Poliakrilamid İlaveli İpek Fibroin/ Gluteraldehit Çapraz Bağlı *Spirulina* sp. İlaveli Hidrojel Karışım Oranları

Kompozisyon	Fibroin protein (%4, %6, %8 ml)	Akrilamid (15wt%) (ml)	Amonyum persülfat (10wt%) (µl)	TEMED (µl)	Gluteraldehit (µl)	Canlı <i>Spirulina</i> sp. (mg)
SF/PAAm: 90/10	1,8	0,2	08	5	33 1,04 0	400
SF/PAAm: 80/20	1,6	0,4	16	5	33 1,04 0	400
SF/PAAm: 70/30	1,4	0,6	24	5	33 1,04 0	400
SF/PAAm: 60/40	1,2	0,8	32	5	33 1,04 0	400
SF/PAAm: 50/50	1,0	1,0	40	5	33 1,04 0	400
SF/PAAm: 0/100	0	2,0	60	5	33 1,04 0	400

2.6. Antimikrobiyal aktivite testi

Elde ettiğimiz jellerin cilt yüzeyinde antimikrobiyal etkiye sahip yani; bakteri ve küf dahil mikropların gelişimini engelleyen etkiye sahip olup olmadığını belirlediğimiz yöntemdir.

2.6.1. Bakteri kültürlerinin hazırlanması

İzole bakterilerden gram pozitif bakteri grubundan olan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve gram negatif bakterilerden olan *Escherichia coli* 25922 kolonisi önceden hazırlanmış 5 mL Nutrient broth'a (NB) ekildi ve bakteri miktarı 1.0×10^8 cfu/mL değerine ulaşana kadar 37 °C'de yaklaşık 18 saat inkübe edildi. Bakteri konsantrasyonu tüm suşlar için standart bir koloni birimi (CFU) elde etmek için besiyerin bulanıklığını McFarland standardının 0,5 (optik yoğunluk: OD (optical density) 600'de 0.08-0.10) bulanıklığı ile eşleştirilerek spektrofotometrik olarak ayarlandı. Bakteri süspansiyonlarının optik yoğunlukları 600 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre (Thermo-Genesys 10S UV-Vis) kullanılarak ölçüldü. Bakteri yoğunluğu istenilen seviyenin altına düştüğünde kuluçka

süresi uzadı; bulanıklık çok yüksek olduğunda NB kullanılarak seyreltme işlemi gerçekleştirilmiş ve nihai konsantrasyon 1.0×10^8 cfu/mL olarak ayarlanmıştır.

2.6.2. Kirby bauer disk difüzyon yöntemi

Kirby-Bauer testinin amacı, patojenik bakterilerin çeşitli antimikrobiyallere ve antimikrobiyal bileşiklere duyarlılığını veya direncini belirlemektir [79]. Kullanılacak petri kaplarının etüv cihazında (memmert) 100°C 24 saat boyunca sterilizasyonu yapıldı. Nutrient agar (Biolife) besiyerleri 1000 mililitre deiyonize su içerisinde 23 gram olacak şekilde ayarlandı. 121°C 'de 15 dakika otoklav (Sanyo) cihazında sterilizasyonu yapıldı. Sterilizasyon işleminin ardından aseptik koşullarda 2 cm kalınlığında 9 cm çapında olan petri kaplarına aktarıldı. Petri kapları deney gününe kadar buzdolabında (4°C) muhafaza edildi. Tüm petri kabı bakteriye batırılmış eküvyon çubuğuyla kenardan kenara ileri geri sürülerek kaplandı. Petri kabı yaklaşık olarak 3 kez 60° döndürüldü ve sürüntü alma prosedürü tekrarlandı. Bu işlem bakterinin yüzeye eşit şekilde yayılmasını sağlamak için yapıldı. Daha sonra hazırlanmış hidrojel, *Spirulina* içeren hidrojel ve sadece *Spirulina* örneklerinden 1 cm çaplarında kesitler alınarak bu besiyeri üzerine ilave edildi. Hazırlanan örnekler 37°C 'de etüv cihazında (memmert) 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda zone çapı ölçülerek değerler kaydedildi [80].

2.7. ABTS [2,2'-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonat)] Radikal Temizleme Aktivite Tayin Yöntemi

Serbest radikaller gıdaların bozulmasından sorumludur ve biyolojik sistemlerde oksidatif hasara neden olur [81–85]. Bu nedenlerle, canlı organizmalardaki oksidasyon süreçleri ve serbest radikaller son yıllarda artan bir ilgi görmüştür. İnsanlar, hayvanlar ve bitkiler sürekli olarak serbest radikallere maruz kalmaktadır. Serbest radikallerle mücadelede canlı bir organizma bu reaktif türleri nötralize eden antioksidanlar adı verilen maddeler tarafından desteklenir [86-89]. Bileşiklerin ve ekstraktların antioksidan özelliklerini tahmin etmek için çeşitli yöntemler kullanılır [90, 91]. Çoğunda bir antioksidanın serbest radikalleri yakalama yeteneği ölçülür. Kromojen bileşiklerinin kullanıldığı yöntemler kolaylıkları, hızları ve duyarlılıkları nedeniyle yaygın olarak uygulanmaktadır [92, 93]. 2,2-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)'ten (ABTS) türetilen radikal katyonun (ABTS) kullanıldığı ABTS tahlili en popüler gibi görünmektedir [94, 95]. ABTS hemen hemen her lipofilik ve hidrofilik antioksidanla hızlı reaksiyona

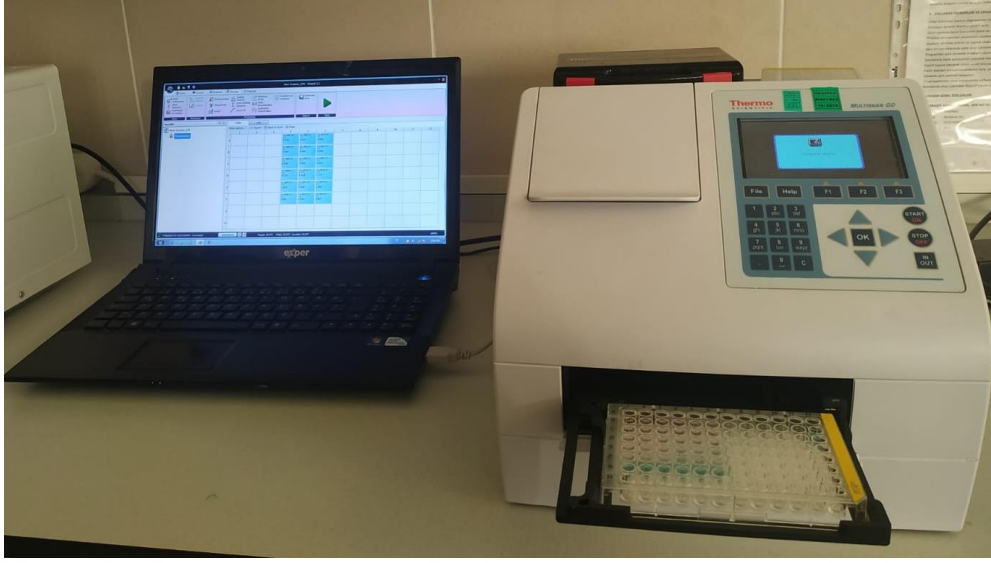
girdiğinden hem lipofilik hem de hidrofilik maddeleri ve gıda ürünlerini antioksidan özellikleri açısından incelemek için uygulanır. Yöntemin fikri ABTS absorbansındaki düşüşü izlemektir. Bu kromojen bileşik, 600-750 nm aralığında güçlü absorpsiyon sergiler ve herhangi bir laboratuvar da spektrofotometrik olarak kolayca belirlenebilir. Yöntemin ek avantajı, geniş bir pH aralığında uygulanabilirliğidir [95]. Bahsedilen özelliklerden dolayı ABTS testi, incelenen bileşiklerin antioksidan özelliklerinin kolay, hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlenmesine izin verdiğine inanan birçok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır.

2.7.1. Sentezlenen hidrojel in antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan hidrojellerin antioksidan aktiviteleri ABTS radikalinin dekolorizasyonu ile değerlendirildi. Ortaya çıkan renk değişiklikleri spektrofotometre (Thermo) (Şekil 2.11) kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar Butillendirilmiş Hidroksi Anisol (BHA) regresyon eğrisi ile karşılaştırıldı (Tablo 2.6.). Kısaca, 7 mM ABTS reaktifi ve 2.45 mM ($K_2S_2O_8$) tartıldı ve ardından karanlık bir kaba ilave edildi. Daha sonra 10 ml saf su eklenip karışım oda sıcaklığında karanlıkta tutuldu ve kullanımdan önce çalkalama inkübatörü kullanılarak 12-16 saat inkübe edildi. ABTS çözeltisi, optik yoğunluk değerini 734 nm'de 0.700-0.710 Abs arasında ayarlamak için 5 mM PBS tamponu (pH: 7.4) içinde çözüldü. Ayrıca, hazırlanan ABTS stok solüsyonu, 1:1 oranında hidrojellerde karıştırıldı. OD değeri 734 nm'de ölçülmüştür. Bu yöntemin temeli, mavi/yeşil ABTS radikalinin antioksidan ile reaksiyonunda renk kaybına bağlıdır (96). Yüzde ABTS reaktifi süpürme kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı;

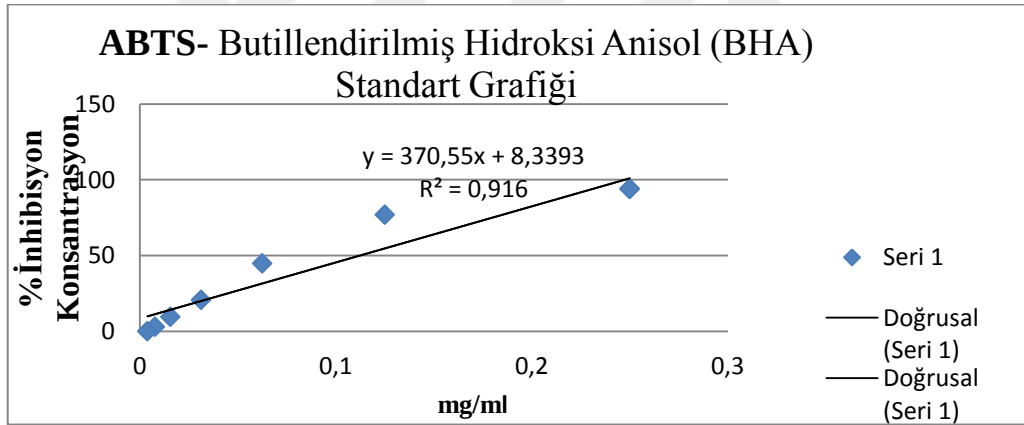
Denklem 2.1. Yüzde ABTS Süpürme aktivitesi

$$\%ABTS \text{ süpürme aktivitesi} = 100 * \frac{Abs(kör) - Abs(örnek)}{Abs(kör)}$$



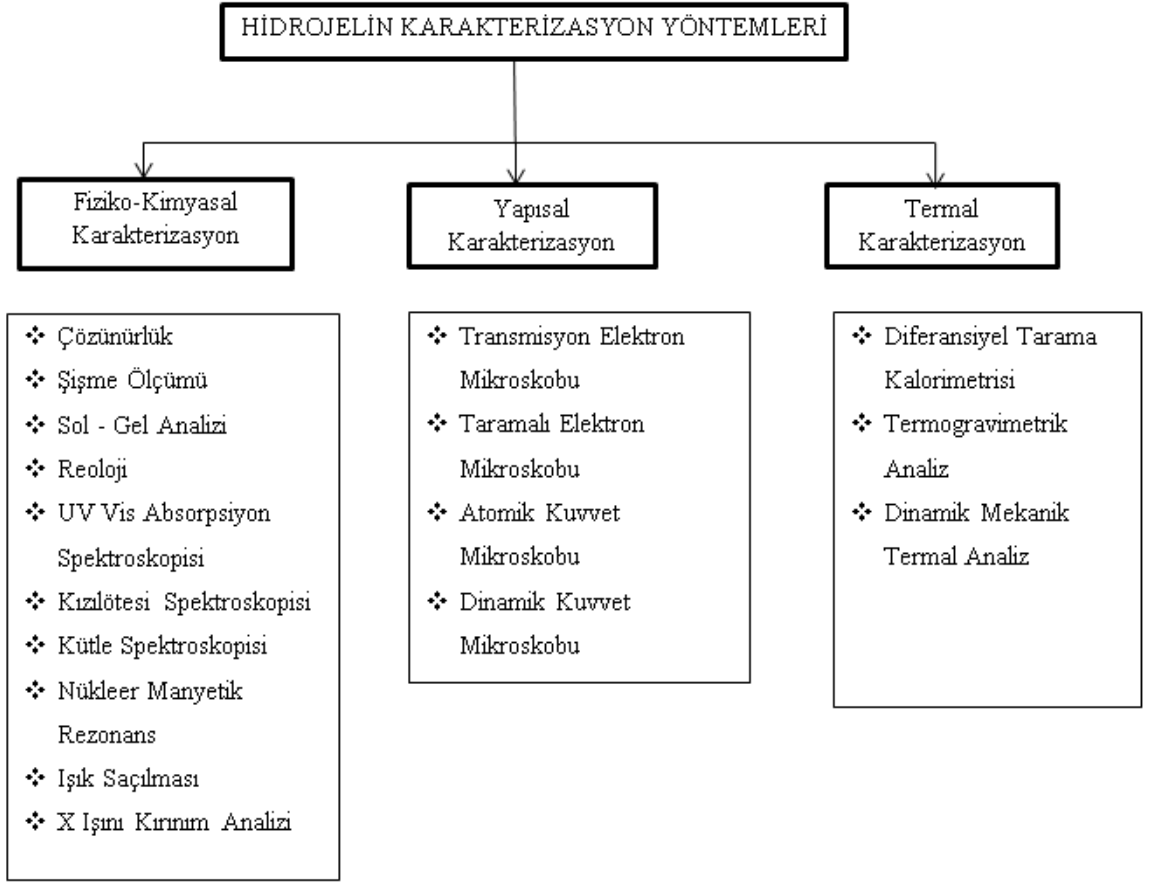
Şekil 2.11. Spektrofotometre Cihazı (Thermo)

Tablo 2.6. ABTS- Butillendirilmiş Hidroksi Anisol (BHA) Standart Grafiği



2.8. Hidrojelin Karakterizasyonu

Hidrojelin istenilen performans ve yapıya sahip tasarlanması için hidrojel ağ parametrelerinin belirlenmesi ve karakterizasyonu büyük önem taşımaktadır. Bir sistemdeki hidrojel varlığını ölçmenin kolay bir yolu polimerik silindirik bir şişe kullanarak suda dağıtmak ve çözünmeyen malzeme oluşumunu görsel olarak gözlemlemektir. Şekil 2.12.'de, hidrojel yapısını karakterize etmek için kızılötesi spektroskopi, X-ışını kırınım analizi, atomik kuvvet mikroskobu, elektron mikroskobu ve diğer birçok teknik gibi hidrojin fizikokimyasal karakterizasyon araçlarının akış şeması açıklanmıştır.



Şekil 2.12. Hidrojelin fizikokimyasal karakterizasyon araçlarının akış şeması [98].

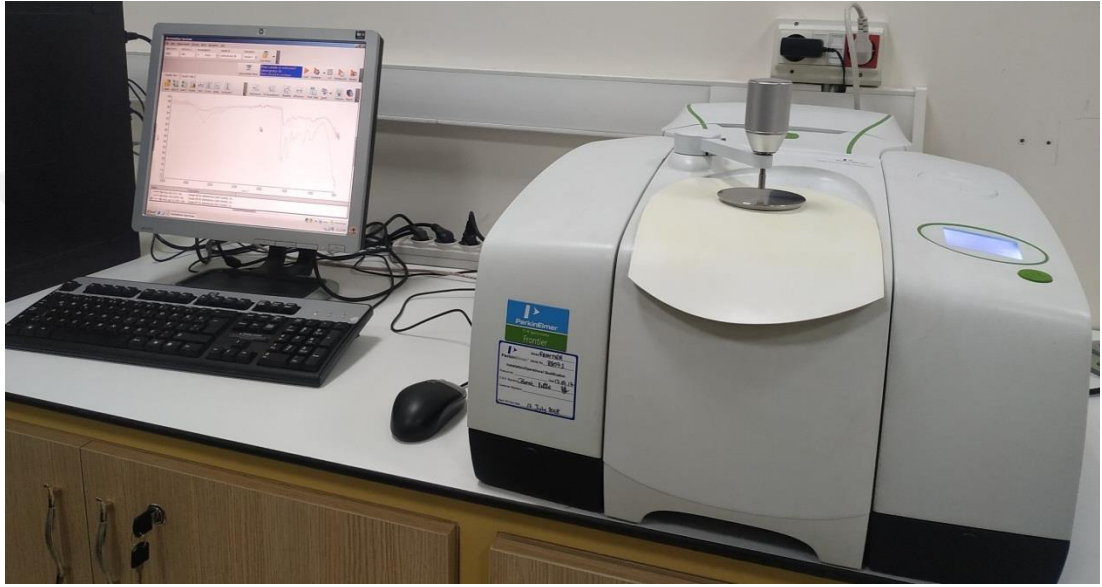
2.8.1. Kızılötesi spektroskopisi

Fiziko kimyasal karakterizasyon yöntemidir. Kızılötesi spektroskopisi titreşimsel enerji geçişlerini ölçmek için kullanılan farklı kimyasal bağ türleri ilgili atomlar ve bir malzemede bulunan yerel kimyasal ortam hakkında bilgi veren polimerlerin kimyasal yapısını tanımlamak için en yaygın kullanılan tekniktir. Bu tekniğin birçok avantajı vardır özellikle de örnekleme yöntemleri açısından esneklik. Ölçüm modu numune türlerine bağlı olarak seçilir [99].

2.8.1.1. Kızılötesi spektroskopisi analizi

Hidrojellerin imalatını takiben fonksiyonel grupların varlığı IR spektroskopisi ile belirlendi. Gluteraldehit, Gluteraldehit ve Poliakrilamid kombinasyonu ile hazırlanan hidrojeller, FT-IR Spektroskopisi tekniği ile kimyasal bileşimleri ve fonksiyonel grupları açısından karakterize edildi. Analizler PerkinElmer FT-IR Spektrometresi ile yapıldı (Şekil

2.13.). Hidrojeller farklı konsantrasyonlarda gluteralehit ve poliakrilamid ile kimyasal olarak çapraz bağlanmıştır. Bu hidrojellerin kimyasal çeşitliliği, hidrojellerin kimyasal yapısına dahil edilen başlıca poliakrilamid ve gluteralehit'in fonksiyonel gruplarından kaynaklanan pikler elde edilen FT-IR spektrumlarında farklı tepe noktalarına işaret edecektir. Tasarlanan hidrojellerin her bir formu arka plan olarak hava ile kuru formda FT-IR ile analiz edildi ve daha sonra birbirleriyle ve kimyasal bileşimlerine göre karşılaştırıldı.



Şekil 2.13. Kızılötesi spektroskopi analiz cihazı

2.8.2. Termal gravimetrik analiz (TGA)

Termal karakterizasyon yöntemidir. Termogravimetrik analiz (TGA) ısıtma altındaki malzemelerin davranışı hakkında bilgi verir. Hassas bir ağırlık terazisi kullanılarak malzemenin ağırlık değişimi ölçülür ve TGA ile sıcaklığın bir fonksiyonu olarak rapor edilir. Malzemenin bozunma sıcaklığı gibi termal özelliklerin yanı sıra kömür verimi, uçucu madde miktarı, malzemelerin bileşimi vb. gibi bazı bilgileri de bulmak mümkündür [102]. Termal analiz özellikle polimer bilimi için çok önemli bir testtir. Termoplastikler yaygın olarak kullanılan malzemeler olduğundan TGA, polimerlerin termal stabilitesini veya alev geciktirici özelliklerini araştırmaya yardımcı olur [103]. Termogravimetrik analiz (TGA), kontrollü koşullar altında polimerlerin bozunması hakkında değerlendirmeler sunar. Birçok malzeme tutuşma sıcaklığı olarak bilinen belirli bir sıcaklıkta çok önemli bir kütle kaybeder. Ayrıca numune farklı bozunma sıcaklıklarına sahip olduğundan bu TGA eğrisinde gösterilen birçok tepe noktası ile de izlenebilir.

Hidrojellerin termal stabiliteleri TGA ile belirlendi. Serbest filmlerin termogravimetrik analizleri (TGA), bir PerkinElmer Termogravimetrik analizör Pyris 1 TGA modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numuneler azot atmosferi altında 10 °C/dk ısıtma hızıyla 0 ila 800 °C arasında çalıştırılmıştır.

2.8.3. Oksijen Salınım Deneyi

Oksijen deneyi yapılmak için bir gün öncesinde Sodyum Fosfat Tamponu (pH:5.7, 7.4 konsantrasyonlarda) Zarrouk besiyeri hazırlandı. Poliakrilamid ilaveli fibroin hidrojel ve *Spirulina* ve poliakrilamid ilaveli jeller hazırlandı.

- Örnek 1: SF tamponu pH: 5.7 (100 ml),
- Örnek 2: SF tamponu pH: 5.7 + Jel (100 ml),
- Örnek 3: SF tamponu pH: 5.7 + Jel+ *Spirulina* (100 ml),
- Örnek 4: SF tamponu pH: 7.4 (100 ml),
- Örnek 5: SF tamponu pH: 7.4 + Jel (100 ml),
- Örnek 6: SF tamponu pH: 7.4 + Jel+ *Spirulina* (100 ml),
- Örnek7: BG11 Besiyeri (100 ml),
- Örnek 8: BG11 Besiyeri+ Jel (100 ml),
- Örnek 9: BG11 Besiyeri+ Jel+ *Spirulina* (100 ml).

Örnekler bu oranlarda hazırlandıktan sonra ilk oksijen ölçümleri oksijen probu ile yapıldı. İnkübatörlü shaker 25 °C ve 20 RPM'e ayarlanarak ışıklı ortamda her bir örnek inkübe edildi. Belirli saat aralığında ölçümler alınarak kaydedildi.

3. BULGULAR

3.1. İpek Böceği Kozasından Fibroin İzolasyonun

Temizlenmiş ipek böceği kozaları küçük parçalara ayrılmıştır. Küçük parçalara ayrılan ipek böceği kozalarından 10'ar gram tartılarak 500 ml Na_2CO_3 (% 0.2, a/h) 30 dakika kaynatılıp (2 defa) zatkı giderilmiştir. Zatkı giderilmiş ipek fibroinlerinden 2'şer gram tartılarak üzerlerine 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100 ml olacak şekilde Ajisawa reaktifi ilave edilmiştir. Bu deney en uygun çözücü konsantrasyonunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Tüm çözücü oranlarında çözündüğü gözlenmiştir ancak daha az miktarda çözücü harcanması ve daha derişik fibroin elde edilmesi amacı ile en uygun konsantrasyon 1:20 olarak tercih edilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Farklı oranlarda Ajisawa Reaktifi ile çözülmüş fibroin örnekleri

1:20 oranında elde edilen fibroinin örnekten birer ml alarak ilk ağırlığı tartılan behere ilave edilmiş ve 50 °C bir gece boyunca sıvı faz uçurulmuştur. Son ağırlık tartılarak derişimi hesaplanmıştır (Denklem 3.1.). Hesaplamalara göre 1:20 oranı ile elde edilen fibroin çözeltisinin; içeriğindeki fibroin miktarının yaklaşık %2 olduğu belirlenmiştir.

Denklem 3.1.

$$\text{İçeriğindeki fibroin miktarı} = (\text{Son ağırlık} - \text{İlk ağırlık}) * 100$$

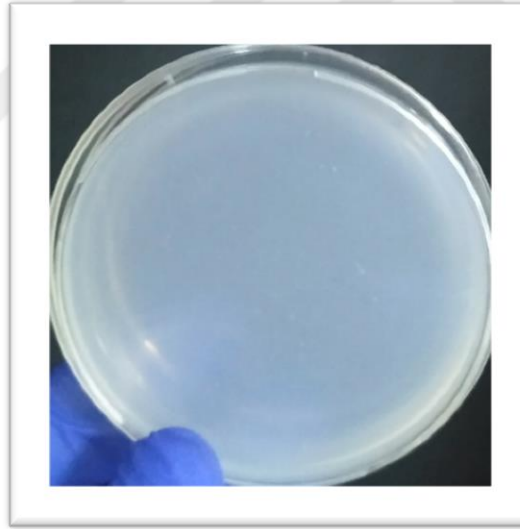
Farklı konsantrasyonlarda fibroin çözeltisi elde etmek amacı ile deriştirilme işlemi uygulanmıştır. 20 ml %2'lik fibroin çözeltisi diyaliz tüpüne ilave edilmiştir. 4 saatlik deriştirilme işlemi sonucunda; 10 ml %4 'lük fibroin çözeltisi elde edilmiştir. %6 ve

%8'lik fibroin çözeltileri elde etmek amacı ile değiştirilme süresi 6 ve 8 saat olarak uzatılmıştır.

3.2. Hidrojel Sentezi

3.2.1. Poliakrilamid ilaveli fibroin hidrojeller

Fibroin konsantrasyonları farklı oranlarda hazırlandı (%4, %6, %8) ve her bir fibroin konsantrasyonu için aynı deney tekrarlandı (Tablo 2.1.). Farklı konsantrasyonlarda fibroin oranının yapısal esnekliğe katkısına bakılarak en uygun form elde edilmesi amaçlandı. Poliakrilamid kompozisyonları; SF/PAAm: 90/10, SF/PAAm: 80/20 oranındaki jellerin polimerleşmediği gözlenmiştir. SF/PAAm: 70/30, SF/PAAm: 60/40, SF/PAAm: 50/50, SF/PAAm: 0/100 oranlarında elde edilen jellerin ise polimerleştiği gözlenmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Poliakrilamid ilaveli fibroin hidrojel

3.2.2. Gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojeller

Fibroin konsantrasyonu %4 olarak ayarlanan fibroin çözeltisine %25'lik gluteraldehit'den farklı oranlarda eklenerek hidrojeller elde edilmiştir. Gluteraldehit miktarı arttıkça hidrojinin renginin sarıya kaydığı gözlenmiştir. Hidrojellerin 24 saat boyunca gözlemlenmiştir. Gluteraldehit miktarı fazla olan hidrojinin daha hızlı polimerleştiği belirlenmiştir. Çapraz bağlanma oranını belirlemek için %2'lik ninhidrin (etilen glikol monometil eter) solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyon hazırlanan ve

liyofilizasyon yöntemi ile kurutulan gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel­lerin üzerine ilave edilerek çözelti 20 dakika boyunca 100 °C ‘de ısıtıldı. Çözelti oda sıcaklığında soğutulduktan sonra spektrofotometre (Genesys 10S UV- VIS) yardımıyla 570 nm’de değeri okundu. Okunan absor­bans değeri tablosu (Tablo 3.1.) ve grafiği (Şekil 3.3.) gösterildiği gibi elde edilmiştir.

Tablo 3.1. Gluteraldehit miktarına göre değişen absor­bans değeri.

Gluteraldehit miktarı (µl)	Absorbans Değerleri Tekrar 1	Absorbans Değerleri Tekrar 2	Absorbans Değerleri Tekrar 3
50	0,003	0,004	0,006
25	0,006	0,010	0,010
12,5	0,020	0,037	0,025
6,25	0,030	0,058	0,060
3,125	0,059	0,080	0,073
1,56	0,092	0,104	0,120
0	0,212	0,244	0,331

Belirlenen gluteraldehit absor­bans değeri­ne göre çapraz bağlanma yüzdeleri şu formüle göre belirlenmiştir.

Denklem 3.2.

$$\text{Çapraz bağlanma oranı (\%)} = \frac{X(\text{Çapraz bağlanmamış}) - X(\text{Çapraz bağlanmış})}{X(\text{Çapraz bağlanmamış})}$$

Tablo 3.2. Gluteraldehit çapraz bağlanma yüzdeleri

Gluteraldehit Miktarı (µl)	Yüzde çapraz bağlanma
50	%98
25	%95
12,5	%89
6,25	%76
3,125	%67
1,5625	%57
0	%0

50 µl gluteraldehit içeren fibroin çözeltisinin %98 oranında fibroini çapraz bağladığı en düşük oran olan 1,5625 µl gluteraldehit içeren fibroin çözeltisinin ise %57 oranında fibroini çapraz bağladığı gözlenmiştir (Tablo 3.2.). Kullandığımız en düşük gluteraldehit oranının dahi fibroin çözeltisinin yaklaşık yarısını çapraz bağladığı gözlenmiştir. Daha düşük oranlarda gluteraldehit çapraz bağlanma oranını belirlemek amacı ile düşük miktarda gluteraldehit ile tekrar deney düzenlenmiş olup elde edilen absorbans değerleri (Tablo 3.3.) gösterildiği gibidir.

Tablo 3.3. Okunan absorbans değerleri

Gluteraldehit miktarı (µl)	Absorbans Değerleri Tekrar 1	Absorbans Değerleri Tekrar 2	Absorbans Değerleri Tekrar 3
0,78	0,282	0,292	0,298
0,39	0,307	0,295	0,312
0,195	0,320	0,334	0,316

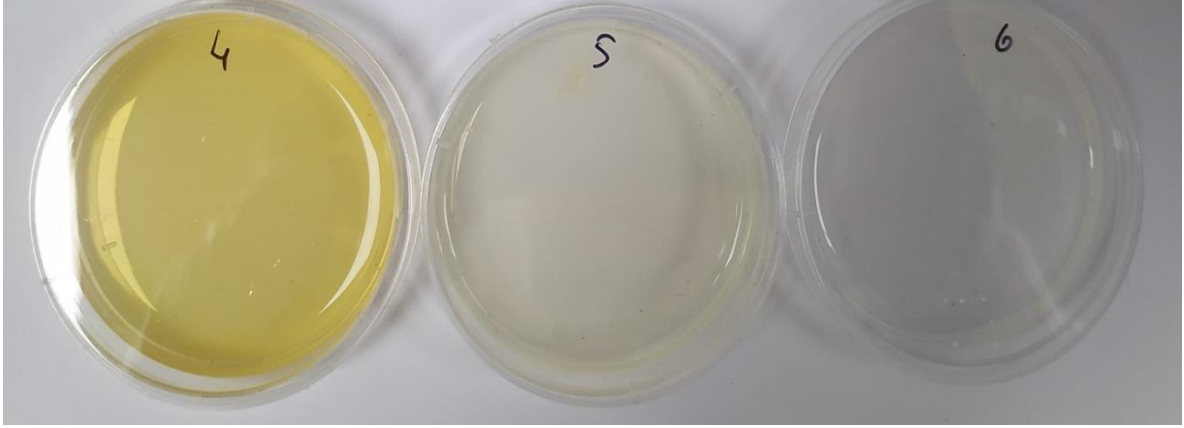
Tablo 3.4. Çapraz bağlanma yüzdeleri

Gluteraldehit Miktarı (µl)	Yüzde çapraz bağlanma
0,78	%14
0,39	%7
0,195	%3

0,78 µl gluteraldehit miktarında %14, 0,39 µl gluteraldehit miktarında %7 ve 0,195 µl gluteraldehit miktarında ise %3 çapraz bağlanma oranı olduğu gözlenmiştir (Tablo 3.3. ve Tablo 3.4.).

3.2.3. Fibroin/gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilaveli jellerin sentezlenmesi

Farklı konsantrasyonlar da hazırlanan gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojeller değerlendirilmiştir. Bu çapraz bağlı hidrojellerden üç örnek belirlenmiştir. Bu örnekler en yüksek çapraz bağlama oranına sahip (%98), yarısı çapraz bağlanmış (%57) ve hiç çapraz bağlanma olmamış (%0) gluteraldehit miktarları belirlenmiştir. Her bir 3 ml örnek için %98 çapraz bağlayan gluteraldehit miktarı 50 µl, %57 çapraz bağlayan gluteraldehit miktarının 1,5625 µl ve hiç çapraz bağlanma olmayan gluteraldehit miktarı ise 0 µl olarak belirlenmiştir. Hacmi 2 ml olan poliakrilamidli jellerin içersine ilave edilecek gluteraldehit miktarları bu doğrultuda hesaplandı. Bu değerler %98 çapraz bağlayan gluteraldehit miktarı 33 µl, %57 çapraz bağlayan gluteraldehit miktarının 1,04 µl ve hiç çapraz bağlanma olmayan gluteraldehit miktarı ise 0 µl olarak hesaplandı. Gluteraldehitin bu miktarları hazırlanan poliakrilamidli jellerin içersine ilave edildi. Tüm oranlarda jeller hızlı bir şekilde polimerleşti (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Farklı oranlarda glutaraldehit miktarları ile sentezlenen hidrojeller

3.2.4. *Spirulina* sp.'nin Sentezlenen Hidrojel ortamına ilave edilmesi

Fibroin/glutaraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilavesi hazırlanan ve belirlenen üç örnek (%98, %57, %0 glutaraldehit çapraz bağlı jeller) hazırlanmış olup canlı *Spirulina* sp.'den 400 mg tartılarak sentez ortamına ilave edilmiştir. Tüm jellerde *Spirulina* sp.'nin eklenmesinin jelleşmeye olumsuz bir katkısı olmamıştır. Glutaraldehit miktarı fazla olan jel'de *Spirulina* sp.'nin yaşam süresinin diğerlerine kıyasla daha kısa olduğu gözlem sonuçlarına göre belirlenmiştir. Üç jel 10 gün süresince oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.



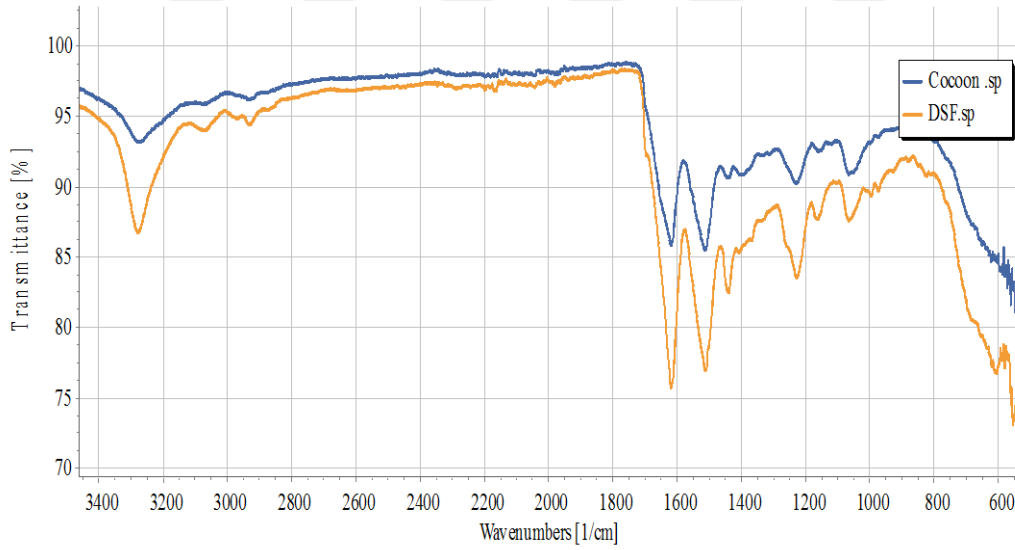
Şekil 3.5. Farklı oranlarda glutaraldehit içeren *Spirulina* ilave edilmiş hidrojeller

3.3. Kızılötesi Spektroskopi Analizi Sonuçları

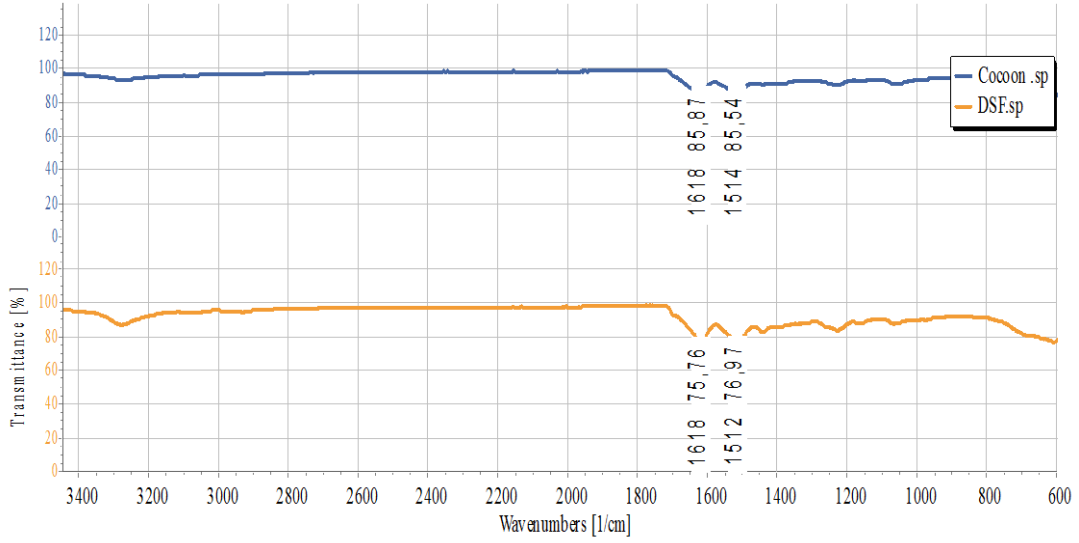
Karşılaştırmalı sonuçlar Şekil 3.6., Şekil 3.8., Şekil 3.10. ve Şekil 3.12 de eğriler üst üste gelecek şekilde sunulmuştur. Şekil 3.7., Şekil 3.9., Şekil 3.11. ve Şekil 3.13'de eğriler

ayrı ayrı verilmiştir. İpek böceği kokonu ve zamkı giderilmiş ipek fibroini örnekleri incelenmiştir (Şekil 3.6. ve Şekil 3.7.).

Saf bileşenlerin grafiği incelendiğinde karboksilik asit gruplarında ($-\text{COO}-\text{H}$), hidroksil gruplarında ($\text{O}-\text{H}$) ve amin/amid bağlarında ($\text{N}-\text{H}$) kararsız proton bağları beklendiği gibi 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} civarında geniş bir pik olarak gözlemlendi. 3300 cm^{-1} 'de alifatik ($-\text{C}-\text{H}$) pikler gözlemlendi. 3200 cm^{-1} ile 3000 cm^{-1} arasında alkol ($\text{O}-\text{H}$) bağından kaynaklanan zayıf pik, $1650-1600\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen keskin pik ise karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) bağından kaynaklı ve $1550-1500\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen keskin gerilme pikinin ise nitro bileşiminden ($\text{N}-\text{O}$) kaynaklı olduğu düşünülmüştür. 1450 cm^{-1} 'de ise gözlenen geniş pik metil grubundan ($\text{C}-\text{H}$), $1225-1200\text{ cm}^{-1}$ arasındaki gerilme piki vinil eter ($\text{C}-\text{O}$) bağından 1000 cm^{-1} ile 1200 cm^{-1} arasındaki gerilme titreşimlerinin ise ($\text{C}-\text{O}$) bağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kokon ile zamkı giderilmiş ipek fibroin karşılaştırıldığında zamkı giderilmiş ipek fibroinin piklerinin daha derin olduğu kararsız proton bağlarının arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 3.6. ve Şekil 3.7.).

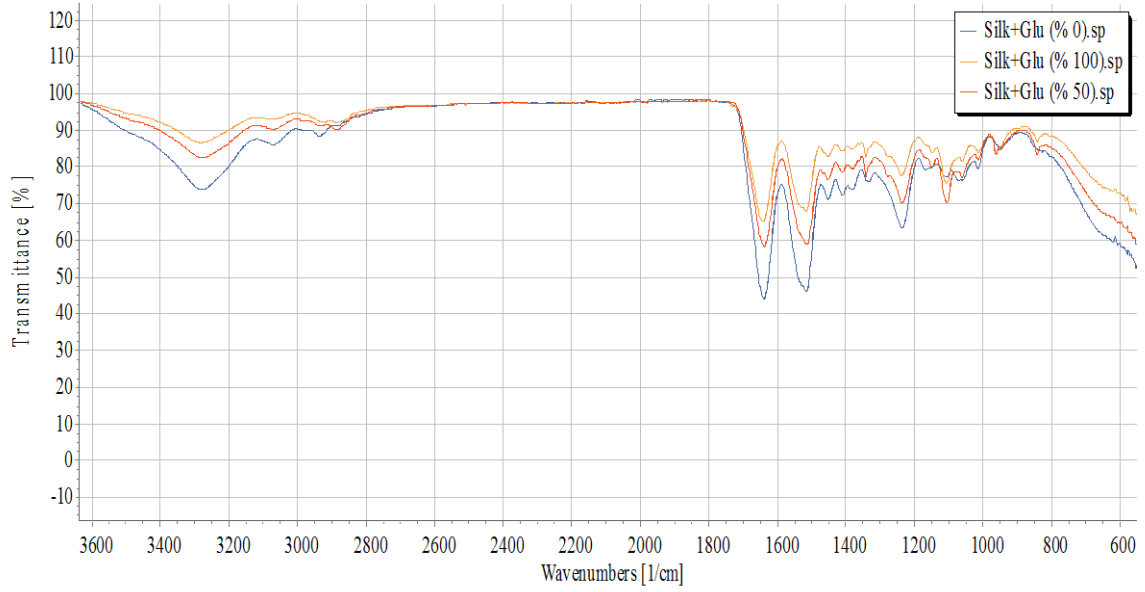


Şekil 3.6. İpek böceği kokonu ve İpek fibroin FTIR analiz sonucu

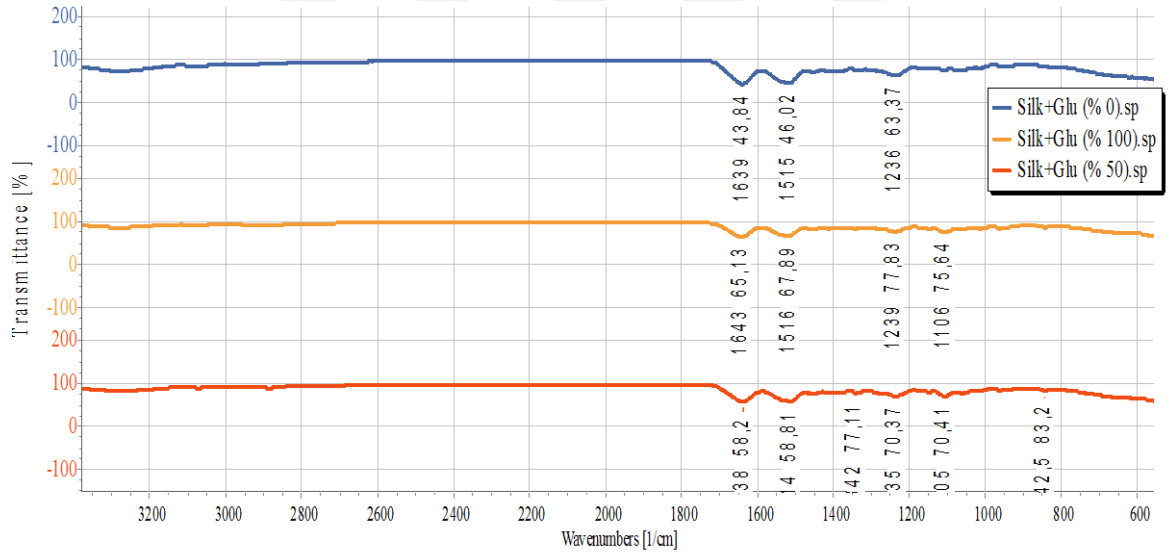


Şekil 3.7. İpek böceği kokonu ve İpek fibroin ayrı FTIR analiz sonucu

Çapraz bağlanma oranı %98, %57 ve %0 olan üç farklı gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel numuneleri ayrı değerlendirilmiştir. Saf numune ile karşılaştırıldığında karboksilik asit gruplarında ($-\text{COO}-\text{H}$), hidroksil gruplarında ($\text{O}-\text{H}$) ve amin/amid bağlarında ($\text{N}-\text{H}$) 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} civarında ve 3300 cm^{-1} 'de alifatik ($-\text{C}-\text{H}$) bağlarında, $1650\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$) pikinde, $1550\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen nitro bileşiminden ($\text{N}-\text{O}$) kaynaklı pikte ve 1450 cm^{-1} 'de gözlenen metil grubu ($\text{C}-\text{H}$) piklerinin şiddetinde azalma gözlenmektedir. $1225\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ arasındaki vinil eter ($\text{C}-\text{O}$), 1000 cm^{-1} ile 1200 cm^{-1} arasındaki gerilme titreşimlerinin ise $\text{C}-\text{O}$ bağlarından $3200\text{--}2700\text{ cm}^{-1}$ civarında belirgenleşen gerilme pikinin ise gluteraldehitin $\text{O}-\text{H}$ grubundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Çapraz bağlanma oranı arttıkça kararsız proton bağları beklendiği gibi azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.8. ve Şekil 3.9.).



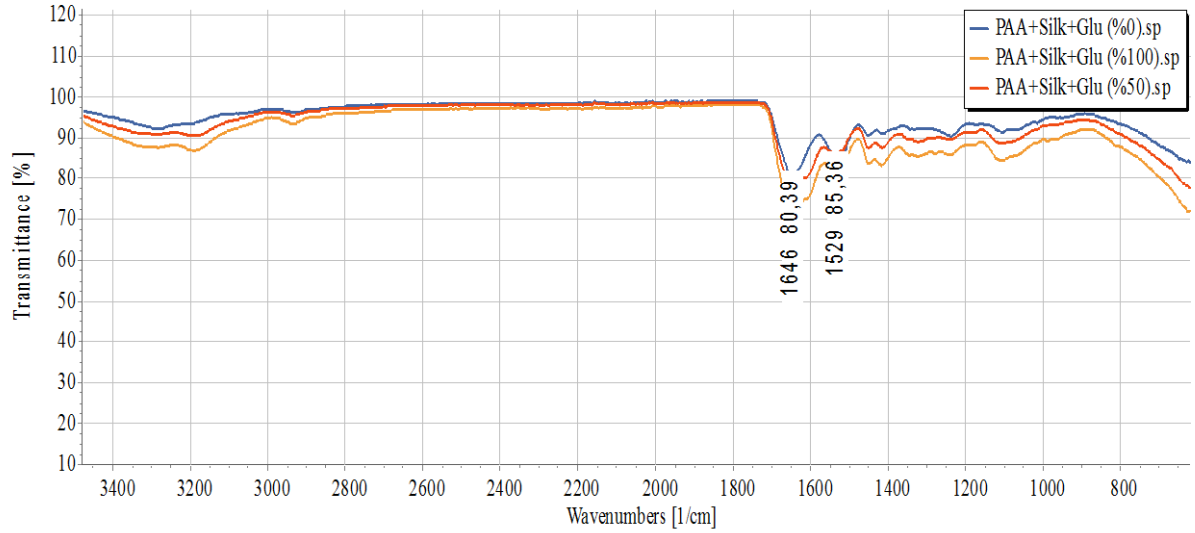
Şekil 3.8. Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlanması ile oluşan hidrojel FTIR analizi



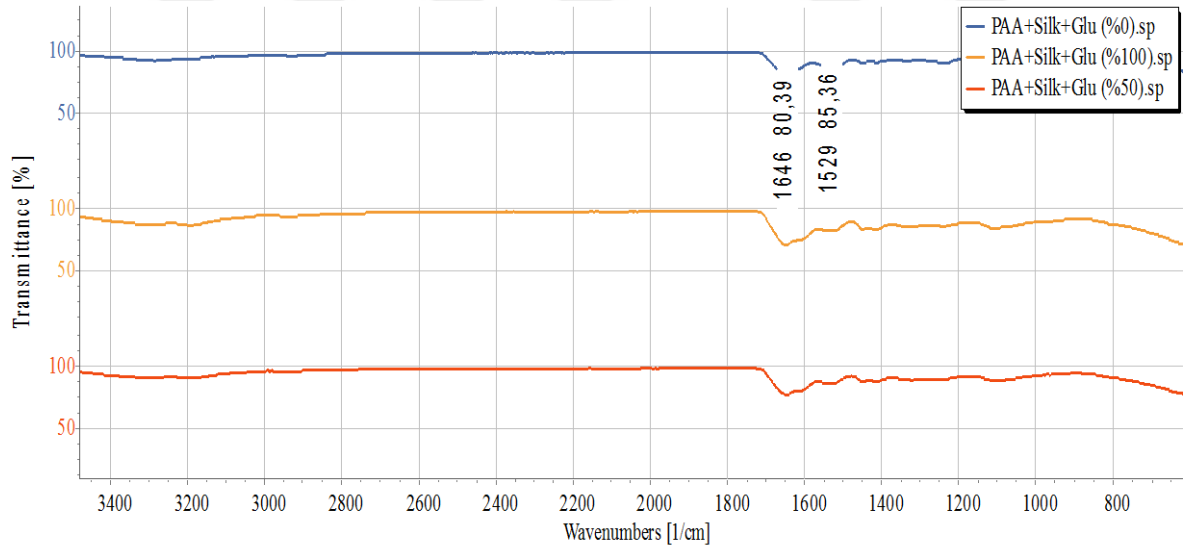
Şekil 3.9. Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlanması ile oluşan hidrojel ayrı FTIR analizleri

Çapraz bağlanma oranı %98, %57 ve %0 olan üç farklı gluteraldehit miktarı hazırlanan poliakrilamid içeren fibroin hidrojellere ilave edilerek analizi gerçekleştirilmiştir. 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} civarında gözlemlenen karboksilik asit ($-\text{COO}-\text{H}$), hidroksil ($\text{O}-\text{H}$) ve amin/amid ($\text{N}-\text{H}$) gruplarından kaynaklanan geniş pikin ve $1800\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ arasında gözlenen pik şiddetlerinde azalma gözlenmiştir. Fibroinden gelen vinil eter ($\text{C}-\text{O}$) bağından

geldiği düşünülen 1225-1200 cm^{-1} arasındaki gerilme pikinin sönümlendiği gözlenmiştir (Şekil 3.10. ve Şekil 3.11.).



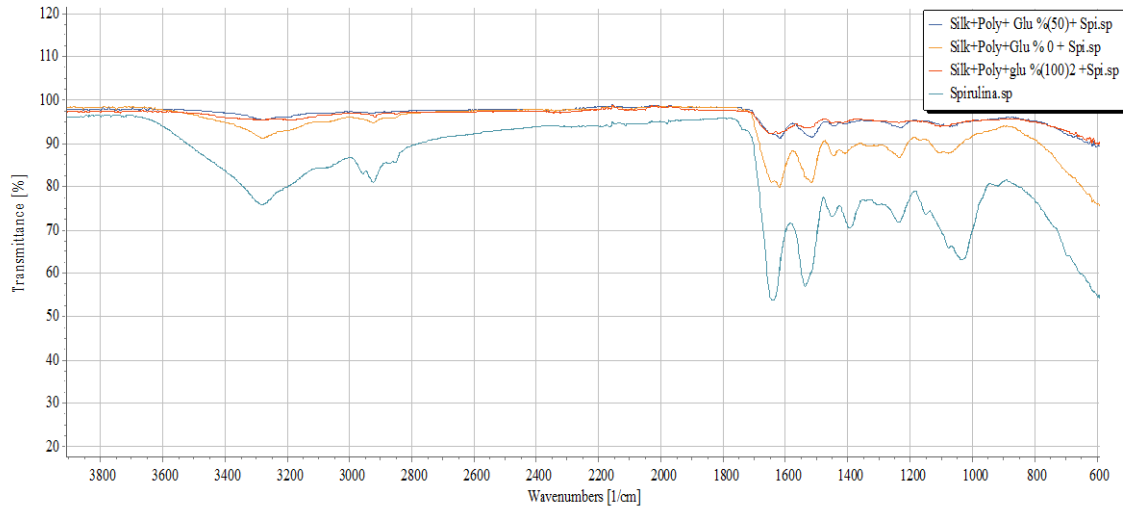
Şekil 3.10. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlı hidrojelilerin FTIR analizi



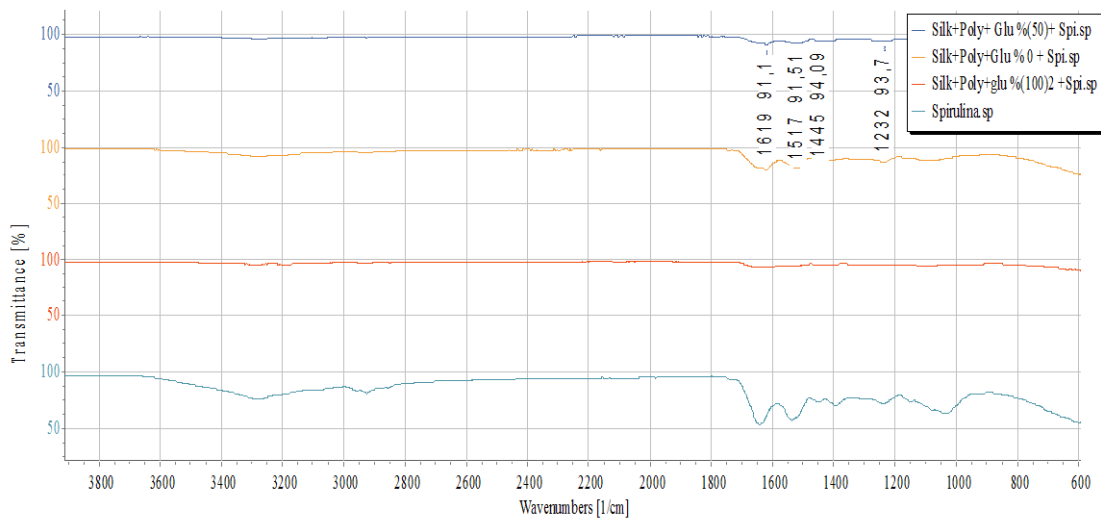
Şekil 3.11. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlı hidrojelilerin ayrı FTIR analizleri

%100, %50 ve %0 Gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ilaveli fibroin hidrojelere *Spirulina* sp. ilave edilerek pikler incelenmiştir. 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} civarında geniş bir pik olarak gözlemlendi. Bu geniş pikin *Spirulina* sp. örneğinden gelen

N-H bağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu geniş pikin derinliği gluteraldehit çapraz bağlama oranı arttıkça azaldığı gözlenmektedir. 2800 cm^{-1} ile 3000 cm^{-1} civarında gözlenen pikin ise C-H bağından kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Piklerin diğer piklerle benzerlik gösterdiği görülmüş çapraz bağlanma oranı arttıkça pik şiddetinde sönümlenme olmuştur. $880 \pm 20\text{ cm}^{-1}$ civarında sadece *Spirulina* örneğinde bir pik gözlenmiş olup bu pikin *Spirulina* sp.'nin içeriğindeki C-H bağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bağın çapraz bağlanma oranı arttıkça sönümlendiği gözlenmiştir.



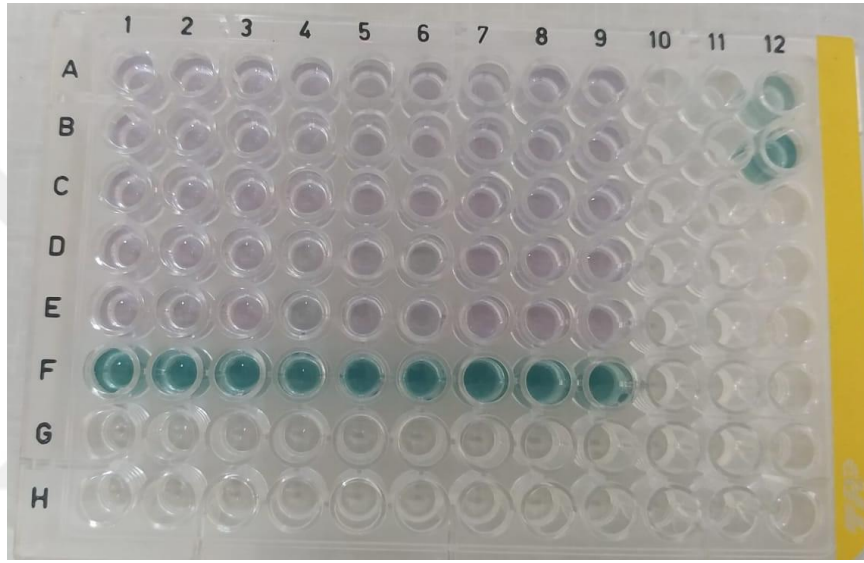
Şekil 3.12. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlı *Spirulina* ilaveli hidrojenlerin FTIR analizleri



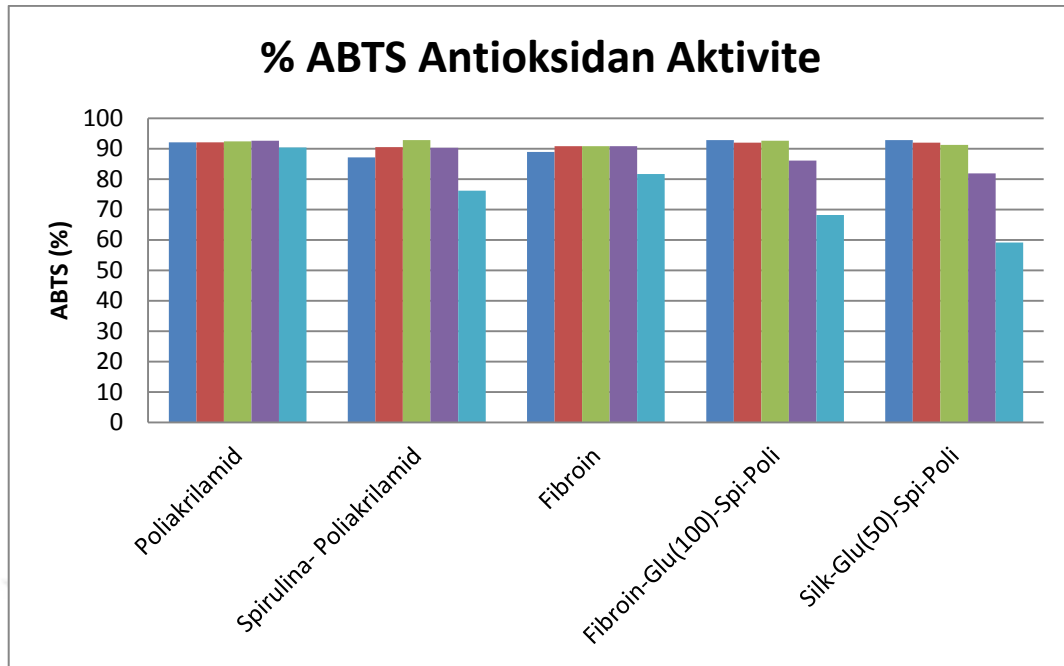
Şekil 3.13. PAA+Fibroin+Gluteraldehit (%0, %50, %100) çapraz bağlı *Spirulina* ilaveli hidrojenlerin ayrı FTIR analizleri

3.4. ABTS [2,2'-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonat)] Radikal Temizleme Aktivite Tayini

%ABTS tahlili, güçlü bir antioksidan ajan (KMnO_4 veya $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) ile reaksiyona girerek antioksidan aktiviteyi belirler. Burada gerçekleştirilen $\text{ABTS}\cdot 1$ oluşumu için teknik, bariz bir şekilde (ABTS ile mavi/yeşil $\text{ABTS}\cdot 1$ kromoforunun oluşumu ve 734 nm dalga boylarında absorpsiyon ile potasyum persülfat reaksiyonu) içerir (Şekil 3.14.). Yüzde antioksidan miktarı hesaplanmıştır (Şekil 3.15.).



Şekil 3.14. ($\text{ABTS}\cdot+$) reaktifinin eklenmesini takiben kademeli renk değişimini gösteren %ABTS, 96 kuyulu mikrolakalar

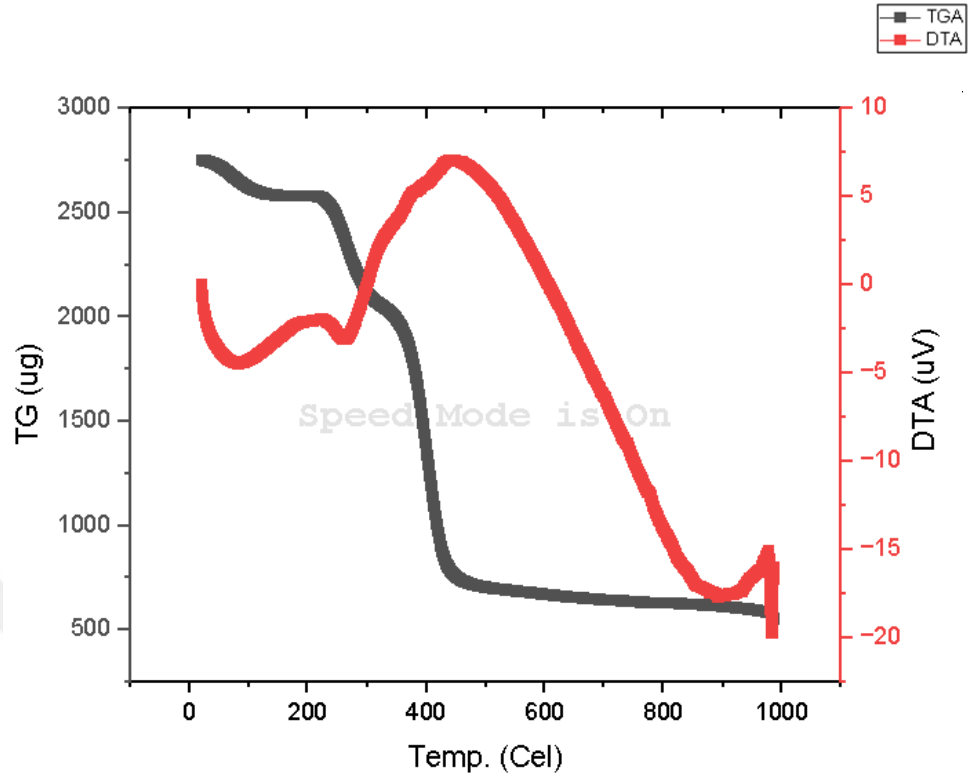


Şekil 3.15. Hidrojeller ve hesaplanan %ABTS antioksidan aktivite oranları

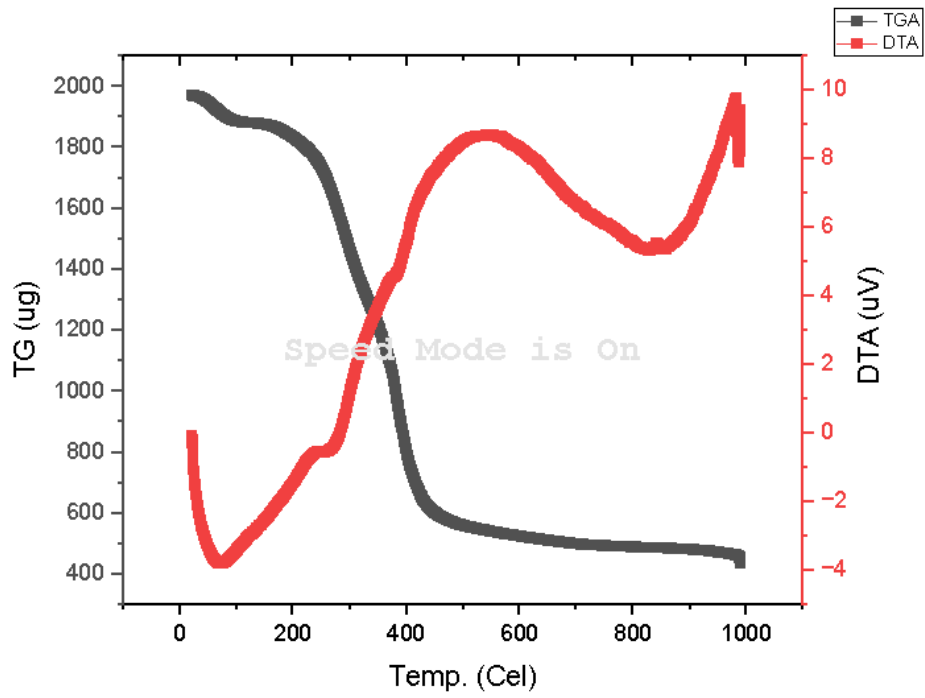
3.4. Termal gravimetrik analizi (TGA)

Hidrojellerin termal özellikleri TGA ile belirlendi. Numuneler azot atmosferi altında 10 °C/dk ısıtma hızıyla 0 ila 800 °C arasında çalıştırılmıştır.

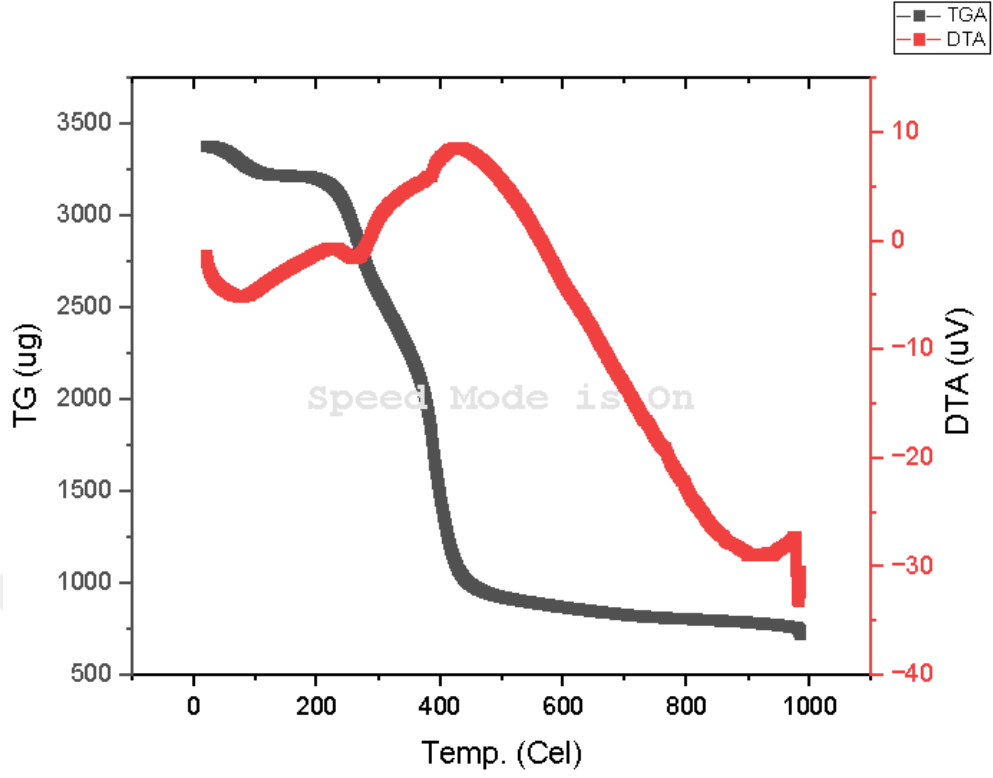
Poliakrilamid ilaveli ipek fibroin/ gluteraldehit çapraz bağlı *Spirulina* sp. ilaveli ipek fibroin/poliakrilamid (100/0), ipek fibroin/poliakrilamid (70/30), ipek fibroin/poliakrilamid (50/50) oranları ayrı ayrı termogravimetrik eğrileri incelenmişti. Bu oranlara sahip hidrojeller ile %50 gluteraldehit çapraz bağlanmış hidrojeller ise ayrı olarak incelenmiştir. İpek fibroin/poliakrilamid (100/0), ipek fibroin/poliakrilamid (70/30), ipek fibroin/poliakrilamid (50/50) içeren grafiklere baktığımızda kütle kaybı yaklaşık 100°C ile 230-250 °C sıcaklık aralığında değişen bölgede olmaktadır (Şekil 3.16., Şekil 3.17. ve Şekil 3.18.). Buradaki kütle kaybı protein zincirindeki peptit bağlarının bozulması sonucunda meydana gelmektedir. %50 gluteraldehit çapraz bağlanmış hidrojelleri incelediğimizde ise belirgin kütle kaybının 200 ile 300 °C aralığında olduğu gözlenmiştir. Gluteraldehit çapraz bağlanma ile bağlar kuvvetlendirilmiş ve bozulma daha yüksek sıcaklıklarda başladığı gözlenmiştir.



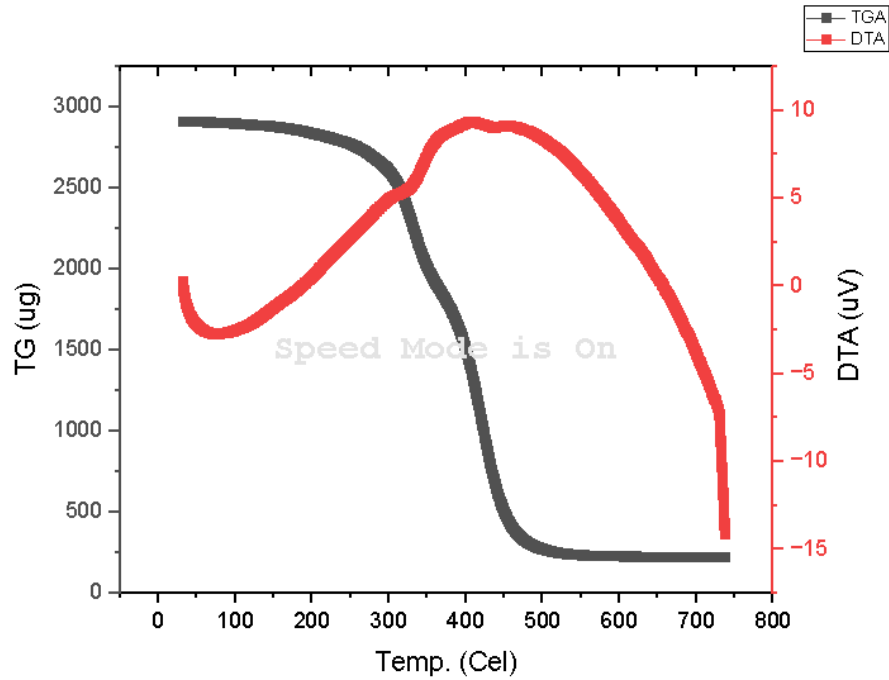
Şekil 3.16. İpek fibroin/poliakrilamid (100/0) hidrojin TGA analizi



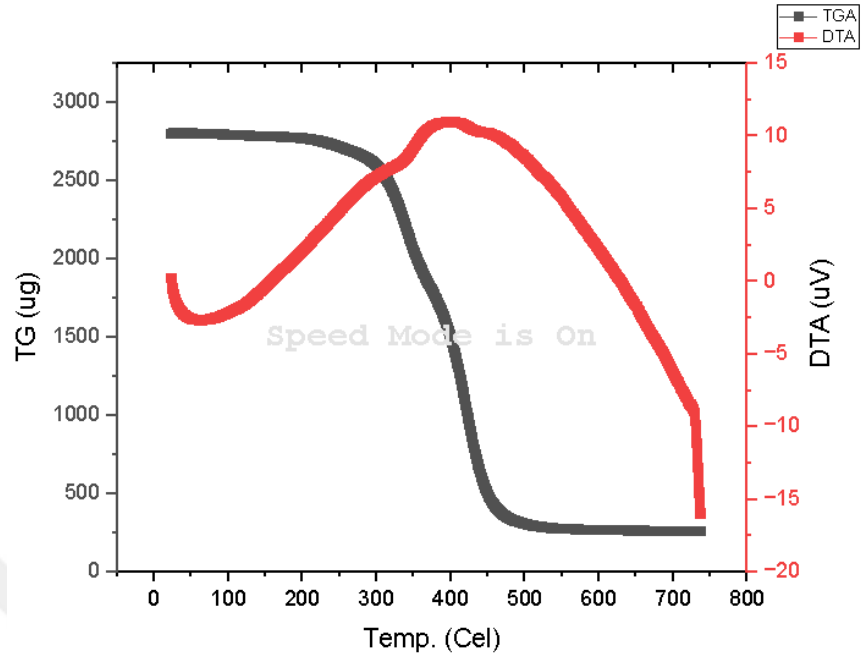
Şekil 3.17. İpek fibroin/poliakrilamid (70/30) hidrojin TGA analizi



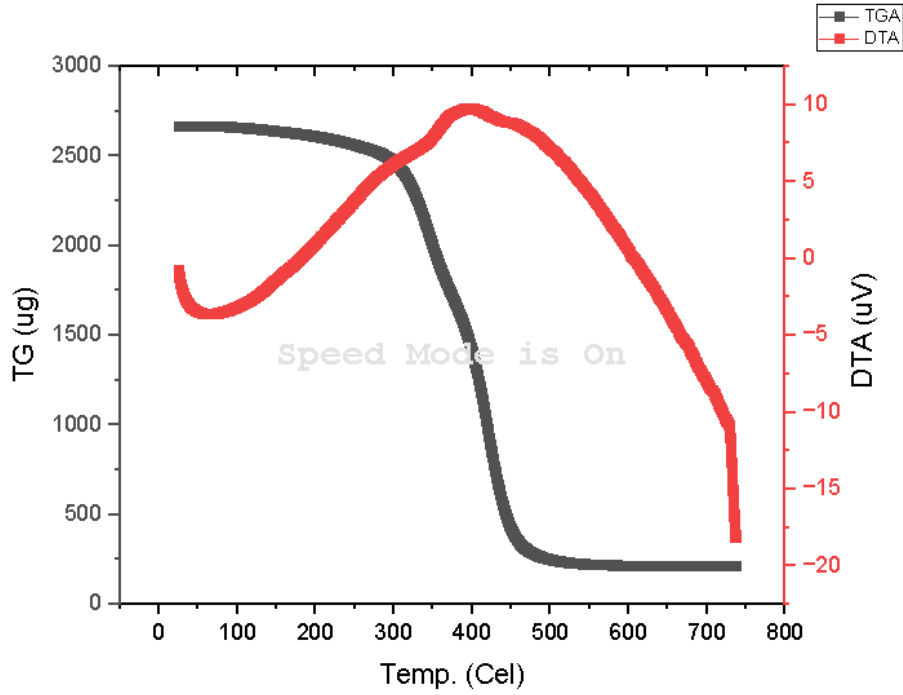
Şekil 3.18. İpek fibroin/poliakrilamid (50/50) hidrojelini TGA analizi



Şekil 3.19. İpek fibroin/poliakrilamid (100/0) ve glutaraldehit ilaveli (%50 çapraz bağlanmış) hidrojelini TGA analizi



Şekil 3.20. İpek fibroin/poliakrilamid (70/30) ve gluteraldehit ilaveli (%50 çapraz bağlanmış) hidrojel TGA analizi



Şekil 3.21. İpek fibroin/poliakrilamid (50/50) ve gluteraldehit ilaveli (%50 çapraz bağlanmış) hidrojel TGA analizi

3.5. Oksijen Salınım Deneyi

Hazırlanmış jel örneklerine tampon ve besiyerileri ilave edilmişti. Her bir örneğin belirlenen saatlerde oksijen probu ile ölçümü yapıldı. Ölçüm sonuçları (Tablo 3.5.) gösterildiği gibi belirlendi

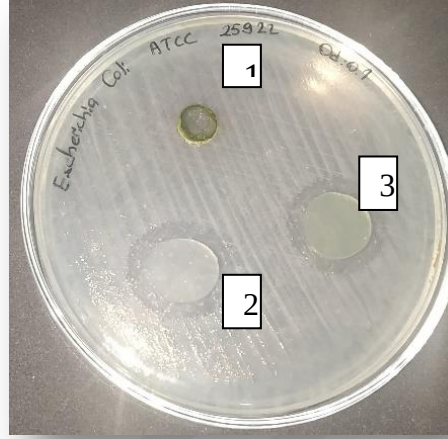
Tablo 3.5. Oksijen salınım deneyi elde edilen veriler

Saat	0	2	4	24	48	72
SF tamponu pH: 5.7	3,51	3,58	4,08	4,76	7,49	6,63
SF tamponu pH: 5.7 + Jel	3,39	3,46	3,87	4,40	7,75	2,39
SF tamponu pH: 5.7 + Jel+ <i>Spirulina</i>	3,29	3,52	3,99	2,46	2,56	1,64
SF tamponu pH: 7.4	3,77	3,90	4,17	4,16	7,50	6,30
SF tamponu pH: 7.4 + Jel	3,16	3,50	3,96	4,29	7,60	2,19
SF tamponu pH: 7.4 + Jel+ <i>Spirulina</i>	3,10	3,93	4,08	2,75	2,89	1,40
BG11 Besiyeri	3,17	4,49	4,46	4,06	8,36	7,21
BG11 Besiyeri+ Jel	4,12	4,45	4,33	4,18	6,31	2,48
BG11 Besiyeri+ Jel+ <i>Spirulina</i>	4,03	4,28	4,46	2,85	2,02	1,76

3.6. Antimikrobiyel aktivite testi

Gram-negatif bakterilerden *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922) ve Gram-pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) antibakteriyel test için kullanılmıştır. Üç örnek şeklinde çalışılmıştır. Örnek 1: sadece *Spirulina*'dan oluşmaktadır. Örnek 2: İpek fibroin/Poliakrilamid (50-50) ve %50 çapraz bağlanmış gluteraldehit içermektedir. Örnek 3: İpek fibroin/Poliakrilamid (50-50) ve %50 çapraz bağlanmış gluteraldehit ve *Spirulina* içermektedir. OD değerleri 0.1 ve 0.3 olacak şekilde iki farklı yoğunluk tercih edilmiştir. İki bakteri türü ayrı olarak değerlendirilmiştir. Zone çapları

ölçülmüştür. Gram-negatif bakterilerden *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922) olan bakteri üzerinde daha etkin sonuç elde edilmiştir (Şekil 3.22.ve Şekil 3.23.).



Şekil 3.22. *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922) üzerinde antimikrobiyal aktivite testi (OD 0.1)



Şekil 3.23. *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922) üzerinde antimikrobiyal aktivite testi (OD 0.3)



Şekil 3.24. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) üzerinde antimikrobiyal aktivite testi (OD 0.1)



Şekil 3.25. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) üzerinde antimikrobiyal aktivite testi (OD 0.3)

4. TARTIŞMA

Deri, iç organları dış ortamdan korumak ve vücudun dehidrasyonunu önlemek için önemli bir doğal bariyer organ [104] olup hasar gördüğünde korunan mekanizmasını kaybeder. Böyle durumda mikroorganizmalar kolayca istila eder ve koloniler oluşturmaya başlar bu da ciddi yara enfeksiyonuna yol açarak iyileşme sürecini engeller ve hatta yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olur [105]. Ek olarak, şiddetli yara dehidrasyonu ideal nemli iyileşme ortamını bozar ve yara iyileşmesini geciktirir [106]. Bu nedenle, hasarlı cildi enfeksiyonlardan ve dehidrasyondan korumak için yeni materyaller geliştirmek için önemli çabalar sarf edilmektedir. Bu amaçla, pamuk yünü, doğal veya sentetik bandajlar ve gazlı bezler gibi geleneksel kuru pansumanlar yara iyileşmesinin ilk aşamaları için önemli olup ancak bunlar kurudurlar ve nemli bir ortam sağlayamazlar ayrıca genellikle kuru yaraya yapışabilirler yüzeyler ve son olarak çıkarıldıktan sonra travmaya neden olur [107]. Bu dezavantajların üstesinden gelmek için nemli yara iyileşmesi kavramından ilham alan araştırmacılar çeşitli ıslak pansumanlar geliştirdiler [108 ve 109]. Bunlar arasında hidrojellere özel dikkat gösterildi çünkü yara ara yüzeyinde nemli bir ortam tutabiliyorlar. Gaz değişimi, mikroorganizmalar için bir bariyer görevi görür, fazla eksudaları uzaklaştırır, mükemmel biyoyumluluğa sahiptir, yaranın hızlı iyileşmesini destekler ve travma olmadan kolayca çıkarılabilir [110 ve 111]. Tüm bu özellikler dikkate alınarak yara için en uygun örtü tasarlanması amacıyla hidrojel yara örtüsü tercih edilmiştir.

Doğal polimerler, sentetik polimerlere kıyasla biyoyumlulukları, düşük immünojenisiteleri ve klinik işlevleri nedeniyle daha fazla kullanılmıştır [112 ve 113]. Bunlar arasında Bombyx mori'den ekstrakte edilen ipek fibroin (SF), benzersiz biyolojik davranışı, biyoyumluluğu, biyolojik bozunabilirliği, yüksek su ve oksijen alımı, düşük immünojenisitesi ve sağlam mekanik özellikleri nedeniyle son zamanlarda dikkat çekmiştir [114, 115, 116]. Bu yüzden doğal bir hidrojel çeşidi olan Bombyx mori'den ekstrakte edilen ipek fibroin (SF) hidrojel yapımında tercih edilmiştir.

İpek fibroin hidrojeller düzensiz ve kararsız bir yapıya sahiptir. İpek fibroin rastgele bobinden β -tabakasına konformasyonel bir geçişini indüklemek ve İpek fibroinin peptit zincirleri arasındaki etkileşimi etkilemek için birçok farklı çapraz bağlayıcı ile çalışmalar yapılmıştır (BDGE, glutaraldehit vb). Glutaraldehit çapraz bağlayıcısının nihai olarak antimikrobiyal özelliğinin bulunma sebebiyle çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır. Hidrojelin nihai özellikleri dikkate alındığında ağlar arasındaki büyük boşluk olup bu boşluk yara tedavisi için kullanılan hidrojel için dezavantaj oluşturmaktadır. Bu durum çok

daha yüksek nihai özelliklere sahip yeni hidrojelere nasıl sentezleyebiliriz sorusunu akıllara getirmektedir. Bu sorulara cevap olarak gluteraldehit ile çapraz bağlayarak düzgün konformasyonda elde ettiğimiz hidrojele poliakrilamid ilave ederek kırılmayan, esnek, dayanıklı ve büyük olan gözenek boyutları doldurulmuştur. Ayrıca ilave edilen *Spirulina* ile gözenek boyutları doldurulmuştur [117]. Büyük olan gözenek boyutlarını doldurarak dış ortamdan yara üzerine geçecek mikroorganizmalara kapalı hale getirilmiştir.

Yara iyileşmesi, dört sürekli örtüşen ve kesin olarak programlanmış aşamadan oluşan dinamik bir süreçtir. Her aşamadaki olaylar kesin ve düzenli bir şekilde gerçekleşmelidir. İşlemdeki kesintiler, anormallikler veya uzama yara iyileşmesinin gecikmesine veya iyileşmeyen kronik bir yaraya neden olabilir. Yetişkin insanlarda optimal yara iyileşmesi şu olayları içerir: (1) hızlı hemostaz; (2) uygun iltihaplanma; (3) mezenkimal hücre farklılaşması, çoğalması ve yara bölgesine göç; (4) uygun anjiyogenez; (5) hızlı yeniden epitelizasyon (yara yüzeyi üzerinde epitel dokusunun yeniden büyümesi); ve (6) iyileşen dokuya güç sağlamak için kolajenin uygun sentezi, çapraz bağlanması ve hizalanmasıdır [118].

Birden fazla faktör, yara iyileşmesinin bozulmasına neden olabilir. Genel olarak, onarımı etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak kategorize edilebilir. Lokal faktörler, yaranın kendisinin özelliklerini doğrudan etkileyen faktörler iken sistemik faktörler, bireyin iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumudur. Bu faktörlerin çoğu birbiriyle ilişkilidir ve sistemik faktörler yara iyileşmesini etkileyen lokal etkiler yoluyla hareket eder.

İyileşmeyi etkileyen yerel faktörlerden biri olan oksijen, hücre metabolizması, özellikle ATP aracılığıyla enerji üretimi için önemlidir ve neredeyse tüm yara iyileşme süreçleri için kritik öneme sahiptir. Yaraları enfeksiyondan korur, anjiyogenezi indükler, keratinosit farklılaşmasını, göçünü ve yeniden epitelizasyonu artırır, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırır ve yara kontraksiyonunu destekler [119]. Vasküler bozulma ve metabolik olarak aktif hücreler tarafından yüksek oksijen tüketimi nedeniyle erken yaranın mikro çevresi oksijenden yoksundur ve oldukça hipoksiktir. İlerleyen yaş ve diyabet de dahil olmak üzere çeşitli sistemik koşullar bozulmuş vasküler akışa neden olabilir ve böylece zayıf doku oksijenasyonu için zemin hazırlayabilir. İyileşme bağlamında, bu zayıf perfüzyon katmanı hipoksik bir yara oluşturur. Kronik yaralar özellikle hipoksiktir; doku oksijen gerilimleri, 30 ila 50 mmHg'lik kontrol doku

değerlerinin aksine, kronik yaralarda 5 ila 20 mmHg arasında transkutan olarak ölçülmüştür [120].

Özetle, optimum yara iyileşmesi için uygun oksijen seviyesi çok önemlidir. Hipoksi, büyüme faktörlerinin salınımı ve anjiyogenez gibi yara iyileşmesini uyarır, iyileşme sürecini sürdürmek için oksijene ihtiyaç vardır [119].

Bazen doku hipoksisinin etkisinin üstesinden gelebilecek bir terapötik seçenek, hiperbarik oksijen tedavisidir. HBOT hipoksik yaralar için etkili bir tedavi olabilirken, kullanılabilirliği sınırlıdır. Bu sebeple yaraya oksijen sağlayacak metotlar geliştirilmesi gerekli görülmüştür. Çalışmamız ile yaraya oksijen bir mikroorganizma ile sağlanmış ve bu mikroorganizma gıda alanında en çok tercih edilen *Spirulina* olmuştur. *Spirulina* tercih edilirken yara için oksijen sağlamak öncelikli amaç olup toksik özelliğinin bulunmaması en önemli etken olmuştur [119 ve 120].

İyileşmeyi etkileyen diğer bir yerel faktör enfeksiyondur. Deri bir kez yaralandığında normalde deri yüzeyinde tutulan mikroorganizmalar alttaki dokulara erişim sağlar. Deri dokusu, organları enfeksiyonlara ve çevresel değişikliklere karşı korumak için bir bariyer olarak kritik bir role sahiptir. Bu nedenle cilt çeşitli kimyasal, mekanik, termal ve mikrobiyal ajanlardan doğrudan etkilenir. İdeal bir pansuman yara ara yüzeyinde nemli bir ortam sağlamalı, ek eksudaları uzaklaştırmalı, gaz değişimine izin vermeli ve mikroorganizmalara karşı bir bariyer görevi görmelidir. Geleneksel pansumanlar esas olarak tiftik, pamuk yünü ve çıkarıldıktan sonra yaralanmaya ve eksik doku büyümesine neden olan çeşitli emicilik derecelerine sahip sentetik ve doğal gazlı bezler ve bandajlardan oluşur. Bu nedenle, yara iyileşmesini indükleyen ve birikmesini destekleyen biyoaktif malzemelere dayalı biyolojik olarak parçalanabilen yara örtüleri arzu edilir. Tasarladığımız hidrojel ile antimikrobiyal özelliği zayıf olan fibroinin aktivitesi glutraldehit, poliakrilamid ve *Spirulina* ile artırılmış ve yüksek antimikrobiyal özelliğe sahip bir hidrojel elde edilmiştir. Böylece enfeksiyonlara açık olan yara yüzeyi antimikrobiyal bir malzeme ile kapatılmış ve iyileşmeyi etkileyen bir faktör daha elimine edilmiştir [121].

Daha sonra, eksudaları emmek, oksidatif stresi iyileştirmek ve hücre çoğalmasını teşvik etmek için iyi biyouyumluluk ve antioksidan özelliklere sahip hidrojeller üretilmiştir. Yeni geliştirilen birçok antioksidan hidrojel, sıcaklık duyarlılığı ve antimikrobiyal aktivite gibi kronik yaraların terapötik etkisini daha da artıracak ek çok işlevli özelliklere sahiptir. Şu anda, antioksidan hidrojellerin çoğu, antioksidan etki elde etmek ve böylece kronik yaraları tedavi etmek için fonksiyonel ilaç molekülleri

(antioksidanlar gibi) ile yüklenmiştir. Ancak hidrojellere yüklenen antioksidanların ilaç yükleme ve salma davranışları gibi birçok zorluk vardır. Bazı biyolojik antioksidanlar (enzimler gibi), aktivitelerini korumak için antioksidan hidrojellerin etkili tedavisini sınırlandıran özel koruyucu koşullar bile içerir. Hidrojellere yüklenen antioksidanların yükleme ve salma işlemindeki zorluk nedeni ile hidrojin antioksidan aktivitesini arttırmak için uygun bileşen elde edilmesi önemli bir problem teşkil etmektedir. Çalışmamızda kullandığımız *Spirulina* ile aynı zamanda antioksidan aktivitesini de arttırmış olmaktadır. Böylece *Spirulina* ile sadece oksijen sağlanmamış aynı zamanda antimikrobiyal ve antioksidan özellik kazandırılmış olmaktadır. Bu sayede multifonksiyonel bir ürün elde edilmiş olmaktadır [122].

Hidrojel oluşumunda gluteralehitin farklı miktarlarda uygulanması ile çaprazlama yüzdeleri %100, %50, %0 bulunmuştur. Elde edilen tüm hidrojellerin yapısal olarak esnek olduğu kullanıma uygun sağlamlıkta olduğu ancak GA miktarları fazla olan %100 çaprazlanan hidrojellerinin, diğer hidrojellere göre çok daha fazla sarımtırak ve daha sert bir yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durum çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla polimer zincirlerinin birbirlerine daha fazla noktadan bağlanması ve böylece yapının daha da sıkılaşarak esnekliğinin azalması şeklinde açıklanabilir [123].

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tezin amacı, iyileşmesi zaman alan açık yaralara sahip hastalarda kullanılabilecek iyileştirici özelliği olan bu ürün ile ilişkili hastalıklarda yara örtü malzemesi olarak kullanılabilecek bir biyomateryal platformun hazırlanmasıdır ve bu tez kapsamında yapılan deneylerde farklı hidrojel iskelelerinin başarılı bir şekilde hazırlanması ve karakterize edilmesi sağlanmıştır.

- Sentezlenen farklı hidrojeller değerlendirilmiştir. Porozite yapısının düzgünlüğü, jel yapısının esnek olması ve jelin siyanobakteri gelişmesi için uygun olması göz önüne alındığında %50 gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid katkılı fibroin içeren hidrojin optimum özelliklere sahip olduğuna karar verilmiş ve projenin bir sonraki adımı için bu oranlar kullanılarak hidrojeller hazırlanmıştır.
- Tüm hidrojel örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip hidrojin %50 gluteraldehit çapraz bağlı poliakrilamid ve *Spirulina* ilaveli hidrojel olduğu gözlenmiştir. Literatürde belirtildiği üzere gluteraldehitin ve poliakrilamidin antimikrobiyal aktivitesinin var olduğu gözlemlenmiş *Spirulina*’nın ise antimikrobiyal aktivite üzerine sönümleyici etkisinin bulunmadığı *Spirulina*’nın da antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.
- Tüm örnekler (Poliakrilamid, *Spirulina* içeren poliakrilamid, Fibroin hidrojel, *Spirulina* ve poliakrilamid içeren %100 gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel, *Spirulina* ve poliakrilamid içeren %50 gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel) ayrı ayrı değerlendirilmiş tüm örneklerin %ABTS aktivitesi yüksek olduğu gözlenmiştir.
- FT-IR sonuçları incelendiğinde: çapraz bağlanma oranı %98, %57 ve %0 olan üç farklı gluteraldehit çapraz bağlı fibroin hidrojel numuneleri ayrı değerlendirilmiştir. Çapraz bağlanma oranı arttıkça kararsız proton bağları beklendiği gibi azaldığı gözlenmiştir. *Spirulina* sp. ilave edilen örneklerde pikler incelenmiş 3400 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} civarında geniş bir pik olarak gözlemlenmiştir. Bu geniş pikin *Spirulina* sp. örneğinden gelen N-H bağından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çapraz bağlanma oranı arttıkça bu bağların sönümlendiği gözlenmiştir.
- Termal gravimetrik analiz ise ipeğin öngörülebilir uzun vadeli bozunma özelliklerine sahip biyomateryal olduğunu destekler. Analiz sonucunda çapraz bağlanma oranı arttıkça ve poliakrilamid ilavesinin malzemenin ilk bozulma sıcaklığını arttırıcı özelliğe sahip olduğunu göstermektedir.

- Oksijen deneyleri yapılmıştır. Oksijen deneyleri sonucunda *Spirulina*'nın hazırlanan ortamlarda yaşamını devam ettirdiği gözlenmiştir ancak analizler yara için yeterli oksijeni sağlayıp sağlamadığı tespit edilememiştir. Bu durum deneylerin açık ortamda yapılıyor olması elimizde yeteri kadar teknik donanımın olmaması yüzünden netlik kazandırılmamıştır. *Spirulina*'nın bu ortamda yaşamına devam etmesi çalışmanın gerçekleştirilebileceğini göstermiştir.

Sonuç olarak, stabil depolama özelliklerine sahip, üretimi ve kullanımı kolay, dokuya yapışan mikroalg hidrojel yamaları kullanarak, dokulara doğal, son derece güvenilir, nemli oksijen verilmesi için yeni bir konseptin potansiyel fizibilitesini gösteriyoruz.



KAYNAKÇA

1. Deb, J., Das, M., & Das, A. (2017). Excellency of natural polymer in drug delivery system: A Review. *IJPBA*, 5, 17-22.
2. Singh, J. (2016). Natural polymers based drug delivery systems. *World J Pharm Pharm Sci*, 5(4), 805-816.
3. Sabir, M. I., Xu, X., & Li, L. (2009). A review on biodegradable polymeric materials for bone tissue engineering applications. *Journal of materials science*, 44(21), 5713-5724.
4. Dumitriu, S. (2002). In *Polymeric Biomaterials*; Dumitriu, S., Ed.
5. Şen, T. *Hiyerarşik gözenekli iskelelerin doğal polimerler kullanılarak doku mühendisliği uygulamaları için hazırlanması* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
6. Hills, P. O. (2012). Natural polymers: an overview. *Natural Polymers: Volume 1: Composites*, 1.
7. Lu, Q., Zhang, X., Hu, X., & Kaplan, D. L. (2010). Green process to prepare silk fibroin/gelatin biomaterial scaffolds. *Macromolecular bioscience*, 10(3), 289-298.
8. Zhang, H., Li, L. L., Dai, F. Y., Zhang, H. H., Ni, B., Zhou, W., ... & Wu, Y. Z. (2012). Preparation and characterization of silk fibroin as a biomaterial with potential for drug delivery. *Journal of Translational Medicine*, 10(1), 1-9.
9. Kambe, Y., Kojima, K., Tamada, Y., Tomita, N., & Kameda, T. (2016). Silk fibroin sponges with cell growth-promoting activity induced by genetically fused basic fibroblast growth factor. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 104(1), 82-93.
10. Kaewprasit, K., Promboon, A., Kanokpanont, S., & Damrongsakkul, S. (2014). Physico-chemical properties and in vitro response of silk fibroin from various domestic races. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 102(8), 1639-1647.
11. He, J., Liu, Y., Hao, X., Mao, M., Zhu, L., & Li, D. (2012). Bottom-up generation of 3D silk fibroin–gelatin microfluidic scaffolds with improved structural and biological properties. *Materials Letters*, 78, 102-105.
12. Sawatjui, N., Damrongrungruang, T., Leeanansaksiri, W., Jearanaikoon, P., & Limpiboon, T. (2014). Fabrication and characterization of silk fibroin–gelatin/chondroitin sulfate/hyaluronic acid scaffold for biomedical applications. *Materials Letters*, 126, 207-210.
13. Setyarini, P. H., & Mukaromah, A. H. (2018). The potential of silk fibroin as a polymer composite reinforcement for bone implant materials. In *MATEC Web of Conferences* (Vol. 204, p. 05017). EDP Sciences.

14. Wray, L. S., Hu, X., Gallego, J., Georgakoudi, I., Omenetto, F. G., Schmidt, D., & Kaplan, D. L. (2011). Effect of processing on silk-based biomaterials: Reproducibility and biocompatibility. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 99(1), 89-101.
15. Kundu, B., Kurland, N. E., Bano, S., Patra, C., Engel, F. B., Yadavalli, V. K., & Kundu, S. C. (2014). Silk proteins for biomedical applications: Bioengineering perspectives. *Progress in polymer science*, 39(2), 251-267.
16. Hardy, J. G., & Scheibel, T. R. (2010). Composite materials based on silk proteins. *Progress in Polymer Science*, 35(9), 1093-1115.
17. Cheng, Y., Koh, L. D., Li, D., Ji, B., Han, M. Y., & Zhang, Y. W. (2014). On the strength of β -sheet crystallites of Bombyx mori silk fibroin. *Journal of the Royal Society Interface*, 11(96), 20140305.
18. Hu, X., Kaplan, D., & Cebe, P. (2006). Determining beta-sheet crystallinity in fibrous proteins by thermal analysis and infrared spectroscopy. *Macromolecules*, 39(18), 6161-6170.
19. Wichterle, O., & Lim, D. (1960). Hydrophilic gels for biological use. *Nature*, 185(4706), 117-118.
20. Kwon, Y., Song, M., Hwang, Y. G., Chang, S. H., & Hong, W. J. (2008). Effect of materials structure and composition on properties of siloxane-containing hydrogels. *Current Applied Physics*, 8(3-4), 486-489.
21. Osada, Y., & Gong, J. P. (1998). Soft and wet materials: polymer gels. *Advanced materials*, 10(11), 827-837.
22. Guenther, M., & Gerlach, G. (2009). Hydrogels for chemical sensors. In *Hydrogel sensors and actuators* (pp. 165-195). Springer, Berlin, Heidelberg.
23. Almdal, K., Dyre, J., Hvidt, S., & Kramer, O. (1993). Towards a phenomenological definition of the term 'gel'. *Polymer gels and networks*, 1(1), 5-17.
24. Shahirdavarpanah, S. (2015). Antimikrobiyal Ajan Salan Hidrojel Bazlı Doku Geniřleticilerin Geliştirilmesi.
25. Mahdavinia, G. R., Pourjavadi, A., Hosseinzadeh, H., & Zohuriaan, M. J. (2004). Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly (acrylic acid-co-acrylamide) grafted chitosan with salt-and pH-responsiveness properties. *European Polymer Journal*, 40(7), 1399-1407.
26. Sezer, S. (2011). PEG ile Stabilize Edilmiş Kollajen-Kitosan Hidrojellerin Biyomalzeme Olarak Geliştirilmesi. *Ankara Üniversitesi, Ankara*.
27. Huglin, M. B., & Zakaria, M. B. (1986). Swelling properties of copolymeric hydrogels prepared by gamma irradiation. *Journal of applied polymer science*, 31(2), 457-475.

28. Duran, S., Şolpan, D., & Güven, O. (1999). Synthesis and characterization of acrylamide–acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 151(1-4), 196-199.
29. Karadağ, E., Saraydin, D., & Güven, O. (1997). Cationic dye adsorption by acrylamide/itaconic acid hydrogels in aqueous solutions. *Polymers for Advanced Technologies*, 8(9), 574-578.
30. Öztop, H. N., Saraydin, D., Karadağ, E., Çaldıran, Y., & Güven, O. (1998). Influence of some aromatic amino acids on the swelling behavior of acrylamide/maleic acid hydrogel. *Polymer Bulletin*, 40(4), 575-581.
31. Karadağ, E., Saraydin, D., Çetinkaya, S., & Güven, O. (1996). In vitro swelling studies and preliminary biocompatibility evaluation of acrylamide-based hydrogels. *Biomaterials*, 17(1), 67-70.
32. Ganji, F., Vasheghani, F. S., & VASHEGHANI, F. E. (2010). Theoretical description of hydrogel swelling: a review.
33. Pal, K., Banthia, A. K., & Majumdar, D. K. (2007). Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-gelatin hydrogel membranes for biomedical applications. *Aaps Pharmscitech*, 8(1), E142-E146.
34. Das, N. (2013). Preparation methods and properties of hydrogel: A review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 5(3), 112-117.
35. Saini, K. (2017). Preparation method, Properties and Crosslinking of hydrogel: a review. *PharmaTutor*, 5(1), 27-36.
36. Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W. S., & Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 50(1), 27-46.
37. Park, H., Park, K., & Shalaby, W. S. (1993). *Biodegradable hydrogels for drug delivery*. CRC Press.
38. Brahima, S. (2016). *pH ve sıcaklığa duyarlı hidrojellerin sentezlenmesi ve ilaç salım davranışlarının modellenmesi* (Master's thesis, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
39. Orlov, Y., Xu, X., & Maurer, G. (2005). Swelling of nonionic N-isopropyl acrylamide hydrogels in aqueous solutions of (acetic acid or pyridine). *Fluid phase equilibria*, 238(1), 87-94.
40. Osada, Y., & Khokhlov, A. (2001). *Polymer gels and networks*. CRC Press.
41. Gupta, P., Vermani, K., & Garg, S. (2002). Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug discovery today*, 7(10), 569-579.

42. Hennink, W. E., & van Nostrum, C. F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 223-236.
43. Akalın, G. O. (2011). Jelatin hidrojellerinin sentezlenmesi, şişme/bozunma davranışlarının incelenmesi ve uygun immobilize lipaz-jelatin hidrojel sisteminin oluşturulması. *Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara*.
44. Karadağ, E., & Saraydın, D. (2002). Swelling studies of super water retainer acrylamide/crotonic acid hydrogels crosslinked by trimethylolpropane triacrylate and 1, 4-butanediol dimethacrylate. *Polymer Bulletin*, 48(3), 299-307.
45. Hoare, T. R., & Kohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *polymer*, 49(8), 1993-2007.
46. Esposito, E., Cortesi, R., & Nastruzzi, C. (1996). Gelatin microspheres: influence of preparation parameters and thermal treatment on chemico-physical and biopharmaceutical properties. *Biomaterials*, 17(20), 2009-2020.
47. Shavandi, A., Bekhit, A. E. D. A., Sun, Z., & Ali, M. A. (2016). Injectable gel from squid pen chitosan for bone tissue engineering applications. *Journal of sol-gel science and technology*, 77(3), 675-687.
48. Hu, J. X., Cai, X., Mo, S. B., Chen, L., Shen, X. Y., & Tong, H. (2015). Fabrication and characterization of chitosan-silk fibroin/hydroxyapatite composites via in situ precipitation for bone tissue engineering. *Chinese Journal of Polymer Science*, 33(12), 1661-1671.
49. Croisier, F., & Jérôme, C. (2013). Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European polymer journal*, 49(4), 780-792.
50. Oh, J., Kim, K., Won, S. W., Cha, C., Gaharwar, A. K., Selimović, Š., ... & Khademhosseini, A. (2013). Microfluidic fabrication of cell adhesive chitosan microtubes. *Biomedical microdevices*, 15(3), 465-472.
51. Shaik, M. M., & Kowshik, M. (2016). Novel melt-down neutralization method for synthesis of chitosan-silver scaffolds for tissue engineering applications. *Polymer Bulletin*, 73(3), 841-858.
52. Zhao, W., Jin, X., Cong, Y., Liu, Y., & Fu, J. (2013). Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 88(3), 327-339.
53. Zheng, H., & Zuo, B. (2021). Functional silk fibroin hydrogels: preparation, properties and applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 9(5), 1238-1258.
54. Schopf, J. W. (1993). Microfossils of the Early Archean Apex chert: new evidence of the antiquity of life. *Science*, 260(5108), 640-646.
55. Castenholz, R. W. (1992). Species usage, concept, and evolution in the cyanobacteria (blue-green algae). *Journal of Phycology*, 28(6), 737-745.

56. Rippka, R. (1988). [1] Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in enzymology*, 167, 3-27.
57. Abed, R. M., Dobrestov, S., Al-Kharusi, S., Schramm, A., Jupp, B., & Golubic, S. (2011). Cyanobacterial diversity and bioactivity of inland hypersaline microbial mats from a desert stream in the Sultanate of Oman. *Fottea*, 11(1), 215-224.
58. Vermaas, W. F. (2001). Photosynthesis and respiration in cyanobacteria. *e LS*.
59. Lupatini, A. L., Colla, L. M., Canan, C., & Colla, E. (2017). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 724-732.
60. Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., & Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food chemistry*, 105(1), 36-41.
61. Zhang, L., Chen, L., Wang, J., Chen, Y., Gao, X., Zhang, Z., & Liu, T. (2015). Attached cultivation for improving the biomass productivity of *Spirulina platensis*. *Bioresource technology*, 181, 136-142.
62. Gad, A. S., Khadrawy, Y. A., El-Nekeety, A. A., Mohamed, S. R., Hassan, N. S., & Abdel-Wahhab, M. A. (2011). Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and *Spirulina* in rats. *Nutrition*, 27(5), 582-589.
63. Villar, B. P. P. E. (2008). Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis* Food Chem 2008 110436445. 47. Bermejo P, Piñero E, Villar MA: Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chem*, 110, 436-445.
64. Estrada, J. P., Bescós, P. B., & Del Fresno, A. V. (2001). Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il farmaco*, 56(5-7), 497-500.
65. El-Tantawy, W. H. (2016). Antioxidant effects of *Spirulina* supplement against lead acetate-induced hepatic injury in rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 6(4), 327-331.
66. Sun, Y., Chang, R., Li, Q., & Li, B. (2016). Isolation and characterization of an antibacterial peptide from protein hydrolysates of *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology*, 242(5), 685-692.
67. He, H. L., Chen, X. L., Wu, H., Sun, C. Y., Zhang, Y. Z., & Zhou, B. C. (2007). High throughput and rapid screening of marine protein hydrolysates enriched in peptides with angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity by capillary electrophoresis. *Bioresource Technology*, 98(18), 3499-3505.
68. Lu, J., Sawano, Y., Miyakawa, T., Xue, Y. L., Cai, M. Y., Egashira, Y., ... & Tanokura, M. (2011). One-week antihypertensive effect of Ile-Gln-Pro in spontaneously hypertensive rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(2), 559-563.

69. Pan, H., She, X., Wu, H., Ma, J., Ren, D., & Lu, J. (2015). Long-term regulation of the local renin–angiotensin system in the myocardium of spontaneously hypertensive rats by feeding bioactive peptides derived from *Spirulina platensis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(35), 7765-7774.
70. Wang, Z., & Zhang, X. (2016). Characterization and antitumor activity of protein hydrolysates from *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) using two-step hydrolysis. *Journal of Applied Phycology*, 28(6), 3379-3385.
71. Wang, Z., & Zhang, X. (2017). Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 918-922.
72. Wang, Z., & Zhang, X. (2016). Inhibitory effects of small molecular peptides from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* on cancer cell growth. *Food & function*, 7(2), 781-788.
73. Kim, N. H., Jung, S. H., Kim, J., Kim, S. H., Ahn, H. J., & Song, K. B. (2014). Purification of an iron-chelating peptide from *Spirulina* protein hydrolysates. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57(1), 91-95.
74. Zhang, Y. Q. (2018). Preparation of silk fibroin nanoparticles and enzyme-entrapped silk fibroin nanoparticles. *Bio-protocol*, 8(24), e3113-e3113.
75. Rockwood, D. N., Preda, R. C., Yücel, T., Wang, X., Lovett, M. L., & Kaplan, D. L. (2011). Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nature protocols*, 6(10), 1612-1631.
76. Rockwood, D. N., Preda, R. C., Yücel, T., Wang, X., Lovett, M. L., & Kaplan, D. L. (2011). Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nature protocols*, 6(10), 1612-1631.
77. Mandal, B. B., Kapoor, S., & Kundu, S. C. (2009). Silk fibroin/polyacrylamide semi-interpenetrating network hydrogels for controlled drug release. *Biomaterials*, 30(14), 2826-2836.
78. Dineshkumar, R., Narendran, R., & Sampathkumar, P. (2016). Cultivation of *Spirulina platensis* in different selective media.
79. Juric, D., Rohner, N. A., & von Recum, H. A. (2019). Molecular imprinting of cyclodextrin supramolecular hydrogels improves drug loading and delivery. *Macromolecular bioscience*, 19(1), 1800246.
80. PALANTÖKEN, A., YILMAZ, M. S., YAPAÖZ, M. A., & PİŞKİN, S. (2015). Investigation of antibacterial properties of hydrogel containing synthesized TiO₂ nanoparticles. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 33(1), 1-7.
81. Brannan, R. G., Connolly, B. J., & Decker, E. A. (2001). Peroxynitrite: a potential initiator of lipid oxidation in food. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 164-173.

82. Aeschbach, R., Halliwell, B., Löliger, J., & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol*, 33, 601-617.
83. McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 108(8), 652-659.
84. Rice-Evans, C., Halliwell, B., & Lunt, G. G. (1995). *Free radicals and oxidative stress: environment, drugs and food additives*. Portland Press Ltd..
85. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 45(4), 287-306.
86. Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
87. Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
88. Macedo, L. F. L., Rogero, M. M., Guimarães, J. P., Granato, D., Lobato, L. P., & Castro, I. A. (2013). Effect of red wines with different in vitro antioxidant activity on oxidative stress of high-fat diet rats. *Food chemistry*, 137(1-4), 122-129.
89. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
90. Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., & Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free radical research*, 36(2), 177-187.
91. Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*, 11(11), 419-421.
92. Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2004). The antioxidant activity of wines determined by the ABTS+ method: influence of sample dilution and time. *Talanta*, 64(2), 501-509.
93. Arts, M. J., Dallinga, J. S., Voss, H. P., Haenen, G. R., & Bast, A. (2004). A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chemistry*, 88(4), 567-570.
94. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
95. Nenadis, N., Wang, L. F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS•+ assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4669-4674.

96. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
97. He, X., Liu, X., Yang, J., Du, H., Chai, N., Sha, Z., ... & He, C. (2020). Tannic acid-reinforced methacrylated chitosan/methacrylated silk fibroin hydrogels with multifunctionality for accelerating wound healing. *Carbohydrate polymers*, 247, 116689.
98. Azeera, M., Vaidevi, S., & Ruckmani, K. (2019). Characterization techniques of hydrogel and its applications. In *Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels* (pp. 737-761). Springer, Cham.
99. Hug, W., Chalmers, J. M., & Griffith, P. R. (2002). Handbook of vibrational spectroscopy. *(John Wiley and Son Ltd., Chichester 2002)*.
100. Aouada, F. A., de Moura, M. R., Fernandes, P. R., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2005). Optical and morphological characterization of polyacrylamide hydrogel and liquid crystal systems. *European Polymer Journal*, 41(9), 2134-2141.
101. El Fray, M., Pilaszkievicz, A., Swieszkowski, W., & Kurzydowski, K. J. (2007). Morphology assessment of chemically modified cryostructured poly (vinyl alcohol) hydrogel. *European Polymer Journal*, 43(5), 2035-2040.
102. Billmeyer, F. W. (1984). *Textbook of polymer science*. John Wiley & Sons.
103. Ghosh, S. P. (2012). *Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles by sol-gel process* (Doctoral dissertation).
104. Huang, X., Zhang, Y., Zhang, X., Xu, L., Chen, X., & Wei, S. (2013). Influence of radiation crosslinked carboxymethyl-chitosan/gelatin hydrogel on cutaneous wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 33(8), 4816-4824.
105. Grzybowski, J., Janiak, M. K., Oidak, E., Lasocki, K., Wrembel-Wargocka, J., Cheda, A., ... & Pojda, Z. (1999). New cytokine dressings. II. Stimulation of oxidative burst in leucocytes in vitro and reduction of viable bacteria within an infected wound. *International journal of pharmaceutics*, 184(2), 179-187.
106. Gong, C., Wu, Q., Wang, Y., Zhang, D., Luo, F., Zhao, X., ... & Qian, Z. (2013). A biodegradable hydrogel system containing curcumin encapsulated in micelles for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 34(27), 6377-6387.
107. Radhakumary, C., Antonty, M., & Sreenivasan, K. (2011). Drug loaded thermoresponsive and cytocompatible chitosan based hydrogel as a potential wound dressing. *Carbohydrate polymers*, 83(2), 705-713.
108. Winter, G. D. (1963). Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. *Nature*, 200(4904), 378-379.

109. Winter, G. D. (1962). Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*, 193(4812), 293-294.
110. Kokabi, M., Sirousazar, M., & Hassan, Z. M. (2007). PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European polymer journal*, 43(3), 773-781.
111. Gonzalez, J. S., Ludueña, L. N., Ponce, A., & Alvarez, V. A. (2014). Poly (vinyl alcohol)/cellulose nanowhiskers nanocomposite hydrogels for potential wound dressings. *Materials Science and Engineering: C*, 34, 54-61.
112. Tai, Z., Yang, J., Qi, Y., Yan, X., & Xue, Q. (2013). Synthesis of a graphene oxide–polyacrylic acid nanocomposite hydrogel and its swelling and electroresponsive properties. *Rsc Advances*, 3(31), 12751-12757.
113. Roy, S. S., & Arnold, M. S. (2013). Improving graphene diffusion barriers via stacking multiple layers and grain size engineering. *Advanced Functional Materials*, 23(29), 3638-3644.
114. Yoonessi, M., Shi, Y., Scheiman, D. A., Lebron-Colon, M., Tigelaar, D. M., Weiss, R. A., & Meador, M. A. (2012). Graphene polyimide nanocomposites; thermal, mechanical, and high-temperature shape memory effects. *ACS nano*, 6(9), 7644-7655.
115. Balandin, A. A., Ghosh, S., Bao, W., Calizo, I., Teweldebrhan, D., Miao, F., & Lau, C. N. (2008). Superior thermal conductivity of single-layer graphene. *Nano letters*, 8(3), 902-907.
116. Pinto, A. M., Goncalves, I. C., & Magalhaes, F. D. (2013). Graphene-based materials biocompatibility: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 188-202.
117. Yang, C., Yin, T., & Suo, Z. (2019). Polyacrylamide hydrogels. I. Network imperfection. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 131, 43-55.
118. Su, D., Yao, M., Liu, J., Zhong, Y., Chen, X., & Shao, Z. (2017). Enhancing mechanical properties of silk fibroin hydrogel through restricting the growth of β -sheet domains. *ACS applied materials & interfaces*, 9(20), 17489-17498.
119. Gosain, A., & DiPietro, L. A. (2004). Aging and wound healing. *World journal of surgery*, 28(3), 321-326.
120. Morgan, Y. (2019). Surgical Wound Healing. *The Dissector: Journal of the Perioperative Nurses College of the New Zealand Nurses Organisation*, 47(1), 34-39.
121. Tandara, A. A., & Mustoe, T. A. (2004). Oxygen in wound healing—more than a nutrient. *World journal of surgery*, 28(3), 294-300.
122. Xu, Z., Han, S., Gu, Z., & Wu, J. (2020). Advances and impact of antioxidant hydrogel in chronic wound healing. *Advanced healthcare materials*, 9(5), 1901502.

123. Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., & Rubini, K. (2002). Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23(24), 4827-4832.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Canfide Merve YEMİŞ

Doğum Yeri:

Doğum Tarihi:

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Biyomedikal Mühendisliği / Erciyes Üniversitesi

Yüksek Lisans Öğrenimi: Moleküler Tıp / Amasya Üniversitesi

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

UBAK 2021 12. Uluslararası Bilimleri Araştırmaları Kongresi (Sözlü bildiri – Aralık 2021)

İŞ DENEYİMİ

BIYOMEDİKAL MÜHENDİSİ

ERKAM (Hasçelik Klinik Araştırma ve Uygulama Merkezi) | 2018 | Dönem Stajı

BIYOMEDİKAL MÜHENDİSİ

Gebze Anadolu Sağlık Merkezi | 2017 | Dönem Stajı

İLETİŞİM

Mobil:

LinkedIn:

Adres: