**T.C.**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KİTOSAN-İPEK FİBROİN KARIŞIM FİLMLERİNİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI İÇİN YAPISAL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

**Tuğba KORKMAZ İVGEN**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fizik Anabilim Dalı

Fizik Programı

Danışman

Prof. Dr. Baki AKSAKAL

Haziran, 2025

**T.C.**

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KİTOSAN-İPEK FİBROİN KARIŞIM FİLMLERİNİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI İÇİN YAPISAL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Tuğba KORKMAZ İVGEN tarafından hazırlanan tez çalışması 08/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı, Fizik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Baki AKSAKAL
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Baki AKSAKAL, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Hasan TATLIPINAR, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Ercüment AKAT, Üye
Yeditepe Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Baki AKSAKAL sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Kitosan-İpek Fibroin Karışım Filmlerinin Biyomedikal Uygulamaları İçin Yapısal ve Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Tuğba KORKMAZ İVGEN

İmza

Bu çalışma, “Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü’nün FCD-2024-5959” numaralı projesi ile desteklenmiştir.

*En büyük destekçim*

*Canım Eşime…*

# TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında bilgi, birikim ve rehberliğiyle bana yol gösteren, her aşamada desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Baki AKSAKAL ’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Akademik süreç boyunca katkı sağlayan, değerli görüş ve önerileriyle bana destek olan Dr. Öğretim Üyesi Altan BOZDOĞAN hocama da ayrıca teşekkür ederim.

Bu tez kapsamında yürütülen biyolojik deneylerin gerçekleştirilmesinde katkı sağlayan, bilgi ve desteklerini esirgemeyen İstinye Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nden Doc. Dr. Ayça BAL ÖZTÜRK ve Gülşah TORKAY ’ya değerli emekleri için teşekkür ederim.

Bu süreçte yanımda olan, sabrıyla, sevgisiyle ve desteğiyle beni hep motive eden canım eşim Tugay İVGEN ’e sonsuz şükranlarımı sunarım. Bu süreci birlikte paylaştığım, her zaman yanımda hissettiğim değerli arkadaşım Leyla KARADEMİR ’e gönülden teşekkür ederim.

Ayrıca, mesleki yaşamımı sürdürdüğüm Boğaziçi Kız Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi’nde, tez sürecimde bana her türlü kolaylığı sağlayan okul idarecilerine ve kıymetli öğretmen arkadaşlarıma destekleri için içten teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, yalnızca bireysel bir çabanın ürünü değil; bilgi, anlayış ve desteğiyle yanımda olan değerli kişilerin katkısıyla hayat bulmuştur. Her birine minnettarım.

Tuğba KORKMAZ İVGEN

# İÇİNDEKİLER

**TEŞEKKÜR** v

**İÇİNDEKİLER** vi

**SİMGE LİSTESİ** xi

**KISALTMA LİSTESİ** xii

**ŞEKİL LİSTESİ** xiii

**TABLO LİSTESİ** xvii

**ÖZET** xx

**ABSTRACT** xx

**1.GİRİŞ** 1

1.1 Genel Bilgiler ve Literatürdeki Çalışmaların İncelenmesi ..... 1

1.2 İpek Fibroin, Kitosan ve Glutaraldehit ..... 1

1.2.1 İpek Fibroinin Yapısı ..... 1

1.2.2 Kitosanın Yapısı ve Özellikleri ..... 4

1.3 Çapraz Bağlayıcılar ..... 5

1.4 Plasktikleştirici Olarak Gliserol ..... 8

1.5 Kitosan ve İpek Fibroin Biyopolimerlerinin Biyomedikal ve Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları ..... 9

2.1 Örneklerin Hazırlanması ..... 15

2.1.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ..... 15

2.2 İpek Fibroin Çözeltisinin Hazırlanması ..... 15

2.3 Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması ..... 16

2.4 SF/CH Kompozit Filmlerin Hazırlanması ..... 16

2.5 Fiziksel Deneyler ve Metotlar ..... 17

2.5.1 Mekanik Özellikleri Belirleme Metodu ve Ölçümleri .....17
2.5.2 SF/CH Kompozit Filmlerin Termal İşlem ve Ölçümleri.....17
2.5.3 SF/CH Kompozit Filmlerin Gerilim-Gevşeme ve İyileşme Metodu ..
.....17
2.5.4 FTIR-ATR Spektroskopisi Metodu ve Ölçümler.....18
2.5.5 UV-Vis Metodu ve Ölçümler.....19
2.5.6 FESEM- SEM Metodu ve Ölçümler.....20
2.5.7 DSC-TGA Termal Analiz Metodu ve Ölçümleri .....20
2.5.8 XRD Metodu ve Ölçümleri .....21
2.5.9 Şişme Oranları ve Çözünme Derecesi Metodu ve Ölçümler.....22
2.5.10Temas Açısı Metodu ve Ölçümler.....22
2.6 Biyolojik Deneyler ve Metotlar.....23
2.6.1 MTT Testleri Metodu ve Ölçümler .....23
2.6.2 Hemoliz Testi Metodu ve Ölçümler.....24
2.6.3 *İn Vitro* Çizik Testi Metodu ve Ölçümler .....25
3.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Mekanik Özellikleri .....27
3.1.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine İpek Katkısının Etkisi .....27
3.1.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine Çapraz Bağlayıcı Etkisi.....28
3.1.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine Gliserinin Etkisi 30
3.1.4 SF/CH Biyokompozit Filmlere Termal İşlemlerin Mekanik Özelliklere Etkisi .....32
3.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Gerilim-Gevşeme (Stress-Relaxation) ve İyileşme Süreçleri .....35
3.2.1 Gerilim-Gevşeme Süreçlerine Plastikleştirici Etkisi.....38
3.2.2 SF/CH Kompozit Filmlerde Deformasyonların İyileşme Süreçleri.40

3.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Spektroskopik Özellikleri.....44

3.3.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Ft-IR/ATR Spektrumlarına Artan SF Oranlarının Etkisi.....44

3.3.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin FT-IR/ATR Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı GA Etkisi .....48

3.3.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin FT-IR/ATR Spektrumlarına Gliserol GLY Etkisi.....51

3.4 Işık Geçirgenliğinin ve Opaklığının Değerlendirilmesi.....54

3.4.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına İpek FİbroIn Etkisi.....54

3.4.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı Etkisi.....55

3.4.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına Gliserol Etkisi .....57

3.4.4 Termal İşlemlerin Işık Geçirgenliği ve Opaklığa Etkisi.....58

3.5 XRD Spektrumlarının Analizi .....60

3.5.1 SF Katkısının SF/CH Biyokompozit Filmlerin XRD Spektrumlarına Etkisi ve Sabit GA Etkisi Altındaki Değişimleri .....60

3.5.2 Biyokompozit Filmlerinin XRD Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı GA Etkisi .....65

3.5.3 SF/CH (25/75) Filmlerinin XRD Spektrumlarına Plastikleştirici Gliserol (GLY) Etkisi .....67

3.5.4 SF/CH Biyokompozit Filmlerin XRD Spektrumlarına Termal İşlemin Etkisi.....70

3.6 Biyokompozit Filmlerin DSC Ölçüm Sonuçları ve Analizleri.....74

3.6.1 İpek Katkısının Sabit GA (%2.5) Çapraz Bağlı SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi .....74

3.6.2 Çapraz Bağlamanın SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi.....78

3.6.3 Gliserol'ün SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi ....80

3.6.4 Termal işlemlerin SF/CH Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi ....82

3.7 Kompozit Filmlerin TGA-DTG Ölçümleri ve Analizleri ....84

3.7.1 İpek Katkısının SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin TGA-DTG Eğrilerine Etkisi ....84

3.7.2 Çapraz Bağlayıcının SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin TGA Eğrilerine Etkisi ....87

3.7.3 SF/CH(25/75) Biyokompozit Filmlerin TGA ve DTG Eğrilerine Gliserol Etkisi ....88

3.7.4 Sıcaklık Değişiminin SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi....91

3.8 Yüzey Morfolojisi Analizi....94

3.8.1 Termal İşlemlerin Yüzey Özelliklerine Etkisi ....96

3.9 Şişme Oranları ve Çözünme Derecesi Ölçümlerinin Analizi....96

3.10 Temas Açısı Ölçümlerinin Analizi ....98

3.10.1SF/CH Filmlerinde SF Oranının Temas Açısına Etkisi....98

3.10.2SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin Temas Açısına GA Etkisi. ....99

3.10.3SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin Temas Açısına GLY Etkisi ....100

3.10.4 Temas Açısına Sıcaklık Etkisi....101

3.11 Hücre Kültürü Testleri ve Analizleri ....102

3.11.1MTT Testleri Analizleri ....103

3.11.2*İn Vitro* Çizik Testi Analizi ....105

3.12 Hemouyumluluk Testleri Analizleri....107

**4 SONUÇ** **107**

**KAYNAKÇA** **115**

**TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR** **124**

# SİMGE LİSTESİ

| | |
|---|---|
| A | Absorbans Şiddeti |
| $\Delta\sigma/\sigma_0$ (%) | Ani Gerilim Gevşemesi |
| $\sigma_ç$ | Çekme Dayanımı |
| $T_0$ | Çiziğin Yapıldığı Andaki Yara Alanı |
| $T_D$ | Dekompozisyon (kitosan makromolekül zincirinin ayrışması) (ekzo) |
| $\sigma$ | Gerilim |
| $T_x$ | Herhangi Bir Zamandaki Yara Alanı |
| $\varepsilon_{pe}$ | İlk Uzama |
| $T_1$ | İpeğin Termal Ayrışması (endo)+ kitosan ekstrakt denatürasyonu |
| $T_3$ | İpeğin termal dekompozisyonu |
| $T_2$ | ipeğin kristal bölgeleri Termal ayrışma, ipek II'nin bozulması |
| $\varepsilon_r$ | Kalıcı deformasyon |
| d | Kompozit Filmin Kalınlığı |
| $\varepsilon_k$ | Kopma Uzaması |
| E | Mekanik Uzama |
| °C | Santigrad derece |
| T | Sıcaklık |
| $T_W$ | Suyun buharlaşması (endo) |
| $\varepsilon$ | Uzama |
| $E_y$ | Young modülü |

# KISALTMA LİSTESİ

| | |
|---|---|
| a/a | ağırlık/ağırlık |
| ASTM D882 | Amerikan Test ve Malzeme Kuruluşu Test Yöntemi |
| au | Absorbans Birimi |
| B. P | Band Pozisyonu |
| CH | Kitosan |
| C.I | Kristallenme İndeksi |
| ÇD | Çözünme Derecesi |
| DSC | Diferansiyel Taramalı Kalorimetre |
| FESEM | Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu |
| Ft-IR/ATR | Fourier TransForm Infrared Attenuated Total Reflection |
| GA | Glutaraldehit |
| GLY | Gliserol |
| MTT | Tetrazalyum Tuzu |
| PES | Por Çaplı Polieter Sülfon |
| SF | İpek Fibroin |
| S | Saat |
| SS | Standart Sapma |
| ŞD | Şişme Derecesi |
| TG-DTA | Termogravimetrik Analiz ve Diferansiyel Termal Kalorimetre |
| UV-Vis | Ultraviolet-Visible Spektroskopisi |
| XRD | X-Işını Difraktometresi |

# ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1.1** İpek fibroin (SF) yapısının şematik gösterimi [5] ..... **2**

**Şekil 1.2** SF polipeptid zincirinin genel kimyasal yapısı [6] ..... **3**

**Şekil 1.3** İpek fibroin yapısını oluşturan yapısal elementlerin görünümü, β-tabaka yapısı oluşumu [3], [7], b) poliamit zincirlerinden ipek fiber yapısı oluşumu [8] ..... **3**

**Şekil 1.4** Kitin ve kitosan [14] ..... **5**

**Şekil 1.5** Çapraz bağlama süreçlerinin farklı yöntemlerine dair şematik gösterim: a) kimyasal çapraz bağlayıcı; b) çapraz bağlayıcı, işlem tamamlandıktan sonra reaksiyondan ayrılır [19] ..... **7**

**Şekil 1.6** Glutaraldehitin kimyasal yapısı[19] ..... **7**

**Şekil 1.7** a) Kitosanın kristal yapısı b) kitosanın glutaraldehit ile çapraz bağlanması[21] ..... **7**

**Şekil 1.8** Gliserolün kimyasal yapısı [3] ..... **8**

**Şekil 2.1** İpek çözeltisi hazırlama ..... **16**

**Şekil 2.2** SF/CH biyokompozit filmlerin hazırlanması ..... **16**

**Şekil 2.3** Gerilim- gevşeme ölçümünün şematik gösterimi[52] ..... **18**

**Şekil 2.4** Sıvıların farklı yüzey enerjisine sahip katılarda ıslatma davranışları [53] ..... **23**

**Şekil 2.5** 0,5 cm çapında kesilmiş film örnekleri ..... **25**

**Şekil 3.1** Artan SF oranına göre SF/CH gerilim-uzama eğrileri ..... **28**

**Şekil 3.2** SF/CH (25/75) artan GA oranına göre gerilim-uzama eğrileri ..... **29**

**Şekil 3.3** %20 GLY katkılı SF/CH (25/75) filmlerinin artan GA oranına göre gerilim-uzama eğrileri ..... **30**

**Şekil 3.4** SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerinin artan GLY oranına göre gerilim-uzama eğrileri ..... **31**

**Şekil 3.5** SF/CH (25/75) + GA(%10) filmlerinin artan GLY oranına göre gerilim-uzama eğrileri ..... **32**

**Şekil 3.6** SF/CH(25/75) + GA(%) filmlerinin kısa süreli gerilim gevşeme eğrileri ..... **36**

**Şekil 3.7** SF/CH (25/75) + GA(%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri ..... **37**

**Şekil 3.8** SF/CH (25/75) + GLY (%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri ..... **38**

**Şekil 3.9** SF/CH (25/75) + GLY (%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri ..... **39**

**Şekil 3.10** SF/CH (25/75) + GA(%) filmlerin farklı ilk uzama deformasyon seviyelerinden sonra deformasyonların iyileşme eğrileri ..... **41**

**Şekil 3.11** Gliserin Katkılı SF/CH(25/75) + GA(%) filmlerin farklı ilk uzama deformasyon seviyelerinden sonra deformasyonların iyileşme eğrileri **.....43**

**Şekil 3.12** SF/CH kompozit filmlerin Ft-IR/ATR spektrumları 1500-1800 $cm^{-1}$ aralığında **.....45**

**Şekil 3.13** SF/CH biyokompozit filmlerin 2600-3800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları **.....47**

**Şekil 3.14** SF/CH kompozit filmlerin 800-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları **.....48**

**Şekil 3.15** Artan GA Oranına Göre SF/CH biyokompozit filmlerin 2600-3800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları **.....49**

**Şekil 3.16** kitosanın shiff bazı mekanizması [70]**.....50**

**Şekil 3.17** Artan GLY Oranına Göre SF/CH biyokompozit filmlerin 1200-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları**.....52**

**Şekil 3.18** Artan sıcaklık değişimine göre SF/CH(25/75) kompozit filmlerin 1200-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları**.....53**

**Şekil 3.19** Farklı kütle oranlarındaki SF/CH filmlerin a) uv viz spektrumları b) opaklık değerleri **.....54**

**Şekil 3.20** Artan SF oranlarının SF/CH filmlerinin renk değişimine etkisi **.....55**

**Şekil 3.21** Farklı GA oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75) filmlerin a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri**.....56**

**Şekil 3.22** Farklı GA oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75) filmlerin renk değişimi **.....56**

**Şekil 3.23** Farklı GLY oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75)+ GA(%5) Filmlerin a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri**.....57**

**Şekil 3.24** GLY(%10) eklenen SF/CH (25/75) +GA(%5) filmlerin renk değişimi **.....58**

**Şekil 3.25** Artan sıcaklık değerlerinin SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerine a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri **.....59**

**Şekil 3.26** Artan sıcaklığın SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerinde renk değişimine etkisi **.....60**

**Şekil 3.27** SF/CH filmlerinin XRD spektrumları **.....61**

**Şekil 3.28** SF/CH biyokompozit filmlerinin kristallenme oranlarındaki değişim grafikleri **.....62**

**Şekil 3.29** %2,5 GA katkılı SF/CH biyokompozit filmlerin XRD spektrumları...**63**

**Şekil 3.30** SF/CH + GA (%2,5) filmlerinin artan SF oranına göre kristallenme oranlarındaki değişim grafikleri**.....64**

**Şekil 3.31** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin artan GA oranıyla XRD spektrumlarındaki değişimler **.....65**

**Şekil 3.32** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin XRD spektrumlarına GA oranı etkisi **.....65**

**Şekil 3.33** Farklı GLY katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin XRD spektrumları ..... **67**

**Şekil 3.34** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin karakteristik XRD piklerinin eğri uydurma yöntemi ile belirlenmiş eğrileri ..... **68**

**Şekil 3.35** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre XRD spektrumlarındaki değişimler ..... **70**

**Şekil 3.36** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre kristallenme oranlarındaki değişimler ..... **71**

**Şekil 3.37** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre XRD spektrumlarındaki değişimler ..... **72**

**Şekil 3.38** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre kristallenme oranlarındaki değişimler ..... **73**

**Şekil 3.39** SF/CH biyokompozit filmlerin DSC eğrileri ..... **75**

**Şekil 3.40** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin farklı GA oranlarında DSC eğrileri ..... **78**

**Şekil 3.41** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin Farklı GLY oranlarında DSC eğrileri ..... **80**

**Şekil 3.42** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin DSC eğrileri ..... **83**

**Şekil 3.43** İpek katkısının SF/CH biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi ..... **84**

**Şekil 3.44** GA katkısının SF/CH biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi ..... **87**

**Şekil 3.45** Farklı GLY katkısının SF/CH (25/75) + GA *(*%2,5*)* biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi ..... **89**

**Şekil 3.46** SF/CH(25/75)+%5 GA filmlere gliserol katkısının TGA-DTA eğrilerine etkisi ..... **90**

**Şekil 3.47** Termal etkinin SF/CH (25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerinin a) TGA ve b) DTG eğrilerine etkisi ..... **91**

**Şekil 3.48** Termal etkinin SF/CH (25/75)+%5 GA+ GLY(%20) biyokompozit filmlerinin a) TGA ve b) DTG eğrilerine etkisi ..... **94**

**Şekil 3.49** Artan ipek oranının SF/CH + GA(%2.5) kompozit filmlerinin yüzey morfolojilerine etkileri ..... **94**

**Şekil 3.50** SF/CH (25/75) filmlerine GA oranının yüzey morfolojilerine etkileri **95**

**Şekil 3.51** SF/CH (25/75) filmlerine GLY katkısının yüzey morfolojilerine etkileri ..... **95**

**Şekil 3.52** SF/CH (25/75) filmlerinin farklı sıcaklıklarda 3 gün tutulması ile elde edilen görüntüler ..... **96**

**Şekil 3.53** Artan GA oranına göre SF/CH (25/75) filmlerin a) şişme derecesi (ŞD) b) çözünme derecesi (ÇD) ..... **97**

**Şekil 3.54** Farklı SF oranlarına sahip SF/CH (GA=2.5%) filmlerin temas açıları **99**

**Şekil 3.55** SF/CH (25/75) filmlerinde farklı GA oranlarının temas açısına etkisi.99

**Şekil 3.56** SF/CH (25/75, GA=5%) biyofilmlerinde farklı GLY oranlarının temas açısına etkisi**.....100**

**Şekil 3.57** Isıl işlemin yüzey temas açısına etkisi**.....102**

**Şekil 3.59** Ekstrakt uygulamasından sonraki 24. saatte hücre morfolojileri**.....104**

**Şekil 3.58** Kontrol ve örnek gruplarının 24 ve 48 saatlik maruziyet sonrasında elde edilen MTT sonuçlarına ait % hücre canlılığı değerleri**.....104**

**Şekil 3.60** Kontrol ve örnek gruplarının farklı zaman noktalarına ait yara kapanma yüzdeleri **.....106**

**Şekil 3.61** Kontrol ve örnek gruplarının farklı zaman noktalarına ait yara kapanmalarını gösteren temsili fotoğraflar**.....107**

**Şekil 3.62** Pozitif ve negatif kontroller ile film örneklerine ait hemoliz (%) değerleri ve tüplerin temsili görüntüsü; a) 1, 2, 3 ve 4 numaraları örnekler, b) 5, 6 ve 7 numaralı örnekler, c) 8, 9 ve 10 numaralı örnekler ve d) 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ve 18 numaralı örnekler (tek yönlü varyans analizi, ns: $p > 0.05$, *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$, ****: $p \leq 0.0001$, veriler ortalama ± standart sapmayı temsil eder, n = 3) **.....108**

# TABLO LİSTESİ

**Tablo 3.1** SF/CH biyokompozit filmlerin mekanik özellikleri .....**27**

**Tablo 3.2** SF/CH biyokompozit filmlerine çapraz bağlayıcı olarak GA'nın etkisi .....**28**

**Tablo 3.3** %5 GA Katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerine GLY etkisi....**31**

**Tablo 3.4** %5 GA Katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerine GLY etkisi....**31**

**Tablo 3.5** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinde termal işlemlerin mekanik özelliklere etkisi ve çapraz bağlayıcının rolü .....**33**

**Tablo 3.6** SF/CH (25/75) Biyokompozit filmlerinde termal işlemlerin mekanik özelliklere etkisi ve çapraz bağlayıcının rolü .....**34**

**Tablo 3.7** Artan GA oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri.....**38**

**Tablo 3.8** Artan GLY oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri.....**38**

**Tablo 3.9** Artan GLY oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri.....**39**

**Tablo 3.10** SF/CH(25/75) + GA(%) filmlere uygulanan deformasyonların gerilimde azalma değerleri .....**42**

**Tablo 3.11** Gliserin katkılı SF/CH (25/75) + GA(%) filmlere uygulanan deformasyonların gerilimde azalma değerleri .....**44**

**Tablo 3.12** Amide I bölgesinde gözlenen piklerin SF/CH kütle oranlarına göre değişimleri .....**45**

**Tablo 3.13** SF/CH kompozit filmlerde gözlemlenen piklerin tanımları ve dalga sayı değerleri.....**46**

**Tablo 3.14** -OH bölgesinde gözlenen piklerin SF/CH kütle oranlarına göre değişimleri .....**47**

**Tablo 3.15** Amide I bölgesinde gözlenen piklerin artan GA kütle oranlarına göre değişimleri .....**48**

**Tablo 3.16** SF/CH(25/75) +%GA filmlerdeki GA' nin düzenli bölgelerdeki değişimi .....**50**

**Tablo 3.17** SF/CH(25/75) +%GA filmlerdeki GA' nin -CH ve -$CH_2$ gruplarındaki C-H gerilme titreşimlerinin değişimleri .....**51**

**Tablo 3.18** Amide I bölgesinde gözlenen bantlar ve absorbans şiddeti değerlerine gliserin katkısının etkisi.....**52**

**Tablo 3.19** Farklı sıcaklıklarda FTIR spektrumlarında karakteristik bantlara ait absorbans değerleri ve oranlar.....**53**

**Tablo 3.20** SF ve CH polimerlerin XRD spektrumlarında gözlenen karakteristik pikler ve bant tanımları**.....60**

**Tablo 3.21** SF/CH + GA (%0) biyokompozit filmlerinin XRD spektrumlarına ipeğin etkisinin spektrumdaki kristallenme oranlarının alan hesabı**....62**

**Tablo 3.22** SF/CH + GA (%2,5) filmlerinin artan SF oranına göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler **.....64**

**Tablo 3.23** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin artan GA oranına göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler **.....66**

**Tablo 3.24** SF/CH (25/75) + GA(%) Filmlerinin Artan GLY Oranına Göre Kırınım Piklerinin Entegre Edilmiş Alan Oranlarındaki Değişmeler **.....69**

**Tablo 3.25** Üç gün artan sıcaklığa göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler **.....72**

**Tablo 3.26** SF/CH (25/75) +GA(%10) Üç gün artan sıcaklığa göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler **.....74**

**Tablo 3.27** SF/CH biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal özelliklerine ait sıcaklık değerleri **.....75**

**Tablo 3.28** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin farklı GA oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri.....**79**

**Tablo 3.29** SF/CH (25/75) GA=%5 biyokompozit filmlerin artan GLY oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri **.....80**

**Tablo 3.30** SF/CH (25/75) +GA(%10) biyokompozit filmlerin artan GLY oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri**.....81**

**Tablo 3.31** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH(25/75)+ GA(%5)+GLY(%20) biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal etkiler**.....83**

**Tablo 3.32** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH(25/75)+ GA(%10)+GLY(%20) biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal etkiler**.....83**

**Tablo 3.33** SF/CH biyokompozit filmlerinin kütle kayıplarının meydana geldiği sıcaklık aralıkları ve kütle kayıpları değerleri **.....85**

**Tablo 3.34** SF/CH(25/75) kompozit filmlerin termal özelliklerine GA etkisi .....**87**

**Tablo 3.35** SF/CH (25/75) + GA (%2,5) biyokompozit filmlerin termal özelliklerindeki değişimler **.....89**

**Tablo 3.36** SF/CH(25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerin termal özelliklerindeki değişimler **.....90**

**Tablo 3.37** SF/CH (25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerin artan sıcaklık etkisiyle TGA-DTA ölçüm değerinin kütle kayıpları değerleri **.....92**

**Tablo 3.38** SF/CH (25/75)+%5 GA Gilserinli(%20) biyokompozit filmlerin artan sıcaklık etkisiyle TGA-DTA ölçüm değerinin kütle kayıpları değerleri **.....93**

**Tablo 3.39** GA oranına göre SF/CH (25/75) filmlerin şişme (ŞD) ve çözünme (ÇD) dereceleri **.....97**

**Tablo 3.40** Örnek numaralarına ait kimyasal bileşimler **.....105**

**Tablo 3.41** Örnek numaralarına ait kimyasal bileşimler ve deney sonuçlarına (% canlılık ve % yara kapanması) ait ortalama ± standart sapma değerleri **.....107**

**Tablo 3.42** Pozitif ve negatif kontroller ile örneklerden elde edilen hemoliz (%) değerleri ve örnek içerikleri **.....108**

# ÖZET

## Kitosan-İpek Fibroin Karışım Filmlerinin Biyomedikal Uygulamaları İçin Yapısal ve Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Tuğba KORKMAZ İVGEN

Fizik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Baki AKSAKAL

Biyomedikal ve biyomühendislik uygulamalarında örneğin; yapay doku, yapay damar, yara örtüsü malzemeler ve ilaç taşıma sistemleri gibi ugulamalarda biyopolimerlerde özellikle ipek fibroin (SF), kitosan (CH, kolojen vb. polimerler, yara iyileştirici, canlı organizmalarla uyumluluk, geçirgenlik gibi önemli özelliklerinden dolayı son zamanlardaki araştırmalarda öne çıkmaktadır. Bu tez çalışmasında öncelikle doğal polimerler olan ve ipek kozalarından elde edilen ipek fibroin (SF)ile kitinin çözünebilir bir türevi olan kitosan (CH) karışımına çapraz bağlayıcı olarak glutaraldehit (GA) ve plastikleştirici olarak gliserol (GLY) katkılayarak bu biyokompozit filmlerin yapısal ve mekanik özellikleri (mekanik dayanım, elastiklik, vb.) iyileştirilmiş ve çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek potansiyel malzemeleri elde etmek amaçlanmıştır.

Mekanik test ölçüm sonuçlarından artan SF oranıyla SF/CH biyokompozit filmlerinin %25 SF katkılı filmler için çekme dayanımının maksimum olduğu (53 MPa) olduğu görülmüştür. Çapraz bağlayıcı GA etkisi ile filmlerin çekme dayanımları ve young modülü değerleri genel olarak %2,5 – 5 oranlarında maksimum olduğu ve filmlerin mekanik özelliklerinin güçlendiği görülmüştür. Fakat rijitleşen filmlerin uzayabilirliklerini modifiye etmek için kullanılan plastikleştirici GLY katkısının optimal oranının %20 olduğu belirlenmiştir. Yine

mekanik dayanım ve uzayabilirlik açısından optimal film bileşiminin SF/CH(25/75)+ GA(%5)+GLY(%20) olduğu belirlenmiştir.

Farklı sıcaklıklarda uzun süreli termal işlemlerin filmlerin mekanik, yapısal, spektroskopik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca bu süreçlerde çapraz bağlayıcı ve plastikleştiricinin rolü detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Filmlerin gerilim-relaksasyon süreçlerinde relaksasyon sürecinin ilk 1-2 dakikasında hızlı ve daha sonra yavaş bir süreç meydana geldiği gözlenmiştir. Relaksasyon modüllerinin zamanın logaritması ile genel olarak lineer bağımlılık gösterdiği anlaşılmıştır. SF/CH (25/75) filmlerinin farklı deformasyon seviyelerinden elastik iyileşme süreleri artan çapraz bağlama oranı ile azaldığı belirlenmiştir. GA'nın bu süreçleri hızlandırdığı görülmüştür. Bunun tersine ise çapraz bağlı SF/CH biyokompozit filmlerinin iyileşme sürelerini plastikleştirici GLY ün arttırdığı dolayısıyla süreci yavaşlattığı belirlenmiştir.

GA nın ve GLY nin SF/CH biyokompozit filmlerin mekanik, yapısal, spektroskopik, su tutma ve çözünme ve termal özelliklerine etkileri FT-ıR/ATR, UV-viz, DSC, TGA-DTG, XRD, SEM, Temas Açısı test metotları kullanılarak detaylı bir şekilde araştırılmıştır.

Ayrıca elde edilen biyokompozit filmlerin canlı organizmalarda çeşitli potansiyel kullanımları için filmlerinin biyouyumluluk, hemouyumluk ve yara iyileştirme potansiyeli özellikleri MTT hücre testleri, kan uyumluluk testleri ve in vitro çizik testi kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen SF/CH +GA+GLY kompozit filmlerinin toksik özellik göstermediği, kan ile uyumlu olduğu (yüksek hemouyumluluk) ve yara kapanma yüzdesinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İpek Fibroin, Kitosan, Glutaraldehit, mekanik dayanım, iyileşme süreçleri, çapraz bağlama, ısıl işlem, hemouyumluluk, biyouyumluluk

# ABSTRACT

## Investigation Of Structural And Mechanical Properties Of Chitosan-Silk Fibroin Blend Films For Biomedical Applications

Tuğba KORKMAZ İVGEN

Department of Pyshics

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Baki AKSAKAL

In recent biomedical and bioengineering applications—such as artificial tissues, vascular grafts, wound dressings, and drug delivery systems—biopolymers including silk fibroin (SF, chitosan (CH, and collagen have attracted considerable research interest due to their key properties such as wound healing capacity, biocompatibility, and permeability. In this thesis study, it was aimed to develop potential materials suitable for various biomedical applications by enhancing the structural and mechanical properties (e.g., mechanical strength, elasticity of biocomposite films composed of natural polymers—silk fibroin (SF derived from silkworm cocoons and chitosan (CH, a soluble derivative of chitin. For this purpose, glutaraldehyde (GA was used as a crosslinking agent and glycerol (GLY as a plasticizer.

Mechanical test results indicated that the tensile strength of SF/CH biocomposite films increased with the addition of SF, reaching a maximum value of 53 MPa for films containing 25% SF. The incorporation of GA enhanced the tensile strength and Young's modulus of the films, with optimal improvements observed at GA concentrations of 2.5–5%, suggesting a significant strengthening effect. However, as the films became more rigid due to crosslinking, the addition of GLY as a

plasticizer was necessary to modify and improve film flexibility. The optimal plasticizer concentration was found to be 20%. Based on both tensile strength and elongation properties, the optimal film composition was determined to be SF/CH (25/75) + GA (5%) + GLY (20%).

The effects of long-term thermal treatments at various temperatures on the mechanical, structural, and spectroscopic properties of the films were thoroughly investigated, along with the specific roles of the crosslinker and plasticizer in these processes. Stress-relaxation studies revealed a two-stage relaxation process: a rapid initial phase within the first 1–2 minutes followed by a slower phase. Relaxation modulus was generally found to exhibit a linear dependence on the logarithm of time. Elastic recovery times under different deformation levels decreased with increasing GA concentration, indicating that GA accelerates recovery processes. In contrast, increasing GLY content led to prolonged recovery times, suggesting a decelerating effect.

The influences of GA and GLY on the mechanical, structural, spectroscopic, water retention, solubility, and thermal properties of the SF/CH biocomposite films were comprehensively examined using a range of analytical techniques, including FT-IR/ATR, UV-Vis spectroscopy, DSC, TGA-DTG, XRD, SEM, and contact angle measurements.

Moreover, the biocompatibility, hemocompatibility, and wound healing potential of the resulting biocomposite films were evaluated for potential in vivo applications. These assessments were conducted through MTT cytotoxicity assays, blood compatibility tests, and in vitro scratch assays. The results demonstrated that the SF/CH + GA + GLY composite films exhibited no cytotoxic effects, showed high hemocompatibility, and promoted a high percentage of wound closure.

**Keywords:** Silk Fibroin, Chitosan, Glutaraldehyde, mechanical strength, healing processes, cross-linking, heat treatment, hemocompatibility, biocompatibility

# 1
# GİRİŞ

## 1.1 Genel Bilgiler ve Literatürdeki Çalışmaların İncelenmesi

Biyomedikal alanında sentetik polimerlerin kullanımı, pratiklik açısından birçok avantaj sunsa da biyouyumluluk ve biyobozunurluk gibi özellikleri nedeniyle doğal polimerlere de gerek duyulmaktadır. Genel olarak doğal polimerler biyolojik olarak uyumlu bir yapıya sahipken, sentetik polimerler hücre büyümesini engelleyebilecek başlatıcı maddeler ve diğer bileşenlerin kalıntılarını içerebilir. Biyomedikal uygulamalara yönelik malzemelerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan başlıca biyopolimerler, tamamen hayvan vücudundan elde edilen doğal polimerler arasında yer alan kolajen, kitin, kitosan, keratin, ipek ve elastindir.[1] Özellikle, tıbbi uygulamalar için daha iyi mekanik özelliklere ve biyouyumluluğa sahip yeni malzemeler üretme ihtiyacı duyulmuştur.[2]

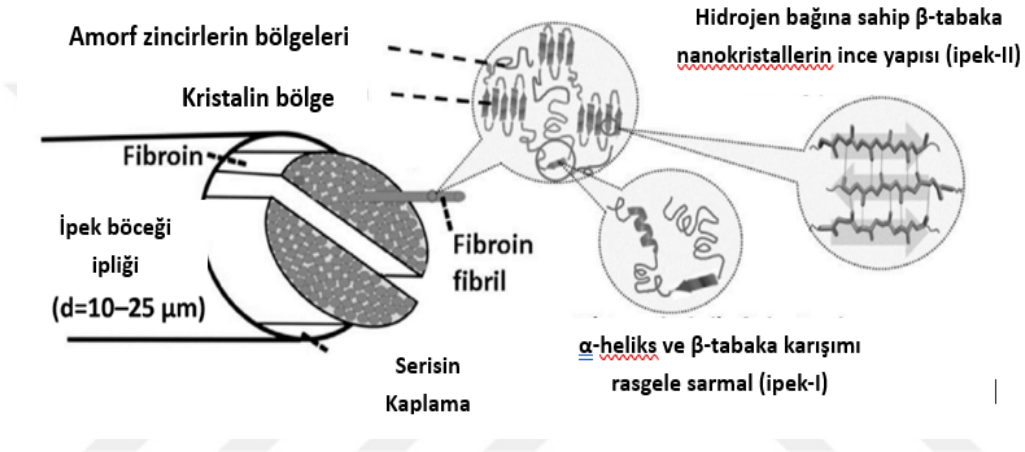
Doğal biyopolimerlerden özellikle kitosan (CH) ve ipek fibroin (SF) önemli özelliklerinden dolayı, yara örtücü malzemeler, kıkırdak, kornea ve kemik onarımı gibi doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için son zamanlarda dikkat çeken polimerler olarak ilgi alanı haline gelmiştir. Kimyasal çapraz bağlayıcılar (örneğin, glutaraldehit (GA), karbodiimid ve genipin), stabilite ve mekanik özelliklerin artırılmasına katkı sağlamaktadır [3], [4].

## 1.2 İpek Fibroin, Kitosan ve Glutaraldehit

### 1.2.1 İpek Fibroinin Yapısı

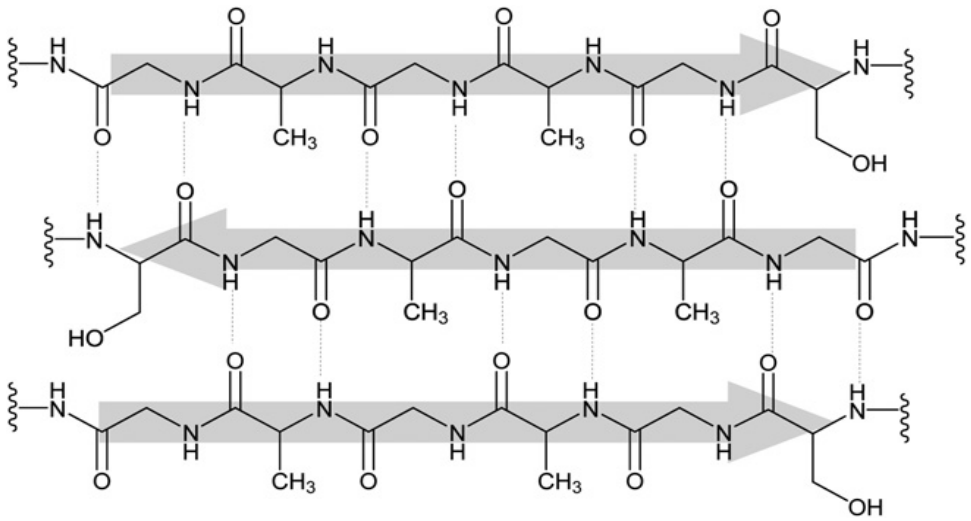
Doğada, ipek ve ipek benzeri proteinler, örümcekler, ipekböcekleri, akrepler, midyeler, arılar ve karıncalar gibi çeşitli organizmalar tarafından üretilmektedir.

Bombyx mori ipekböcekleri, ipek fibroini (SF) olarak adlandırılan protein bazlı malzemeden oluşan kozalar üretmektedir. İpek böceği kozasını oluşturan lif, ipek böceklerinin modifiye edilmiş tükürük bezlerinde üretilir ve birlikte çift iplikli bir çekirdek oluşturmak için eğrilen brins adı verilen iki filamentten oluşur. Brinsler, yapıştırıcı görevi gören, SF filamentlerini bir arada tutan ve kozanın bütünlüğünü koruyan amorf bir protein olan ipek serisini ile kaplanmıştır. Ham SF, yarı kristalin bir proteindir (%65 kristal bölge ve %35 amorf) ve işlevi, kozalara yapısal stabilite ve mekanik direnç sağlamaktır [5]. İpek fibroin (SF) yapısının şematik gösterimi Şekil 1.1 ‘deki gibidir.



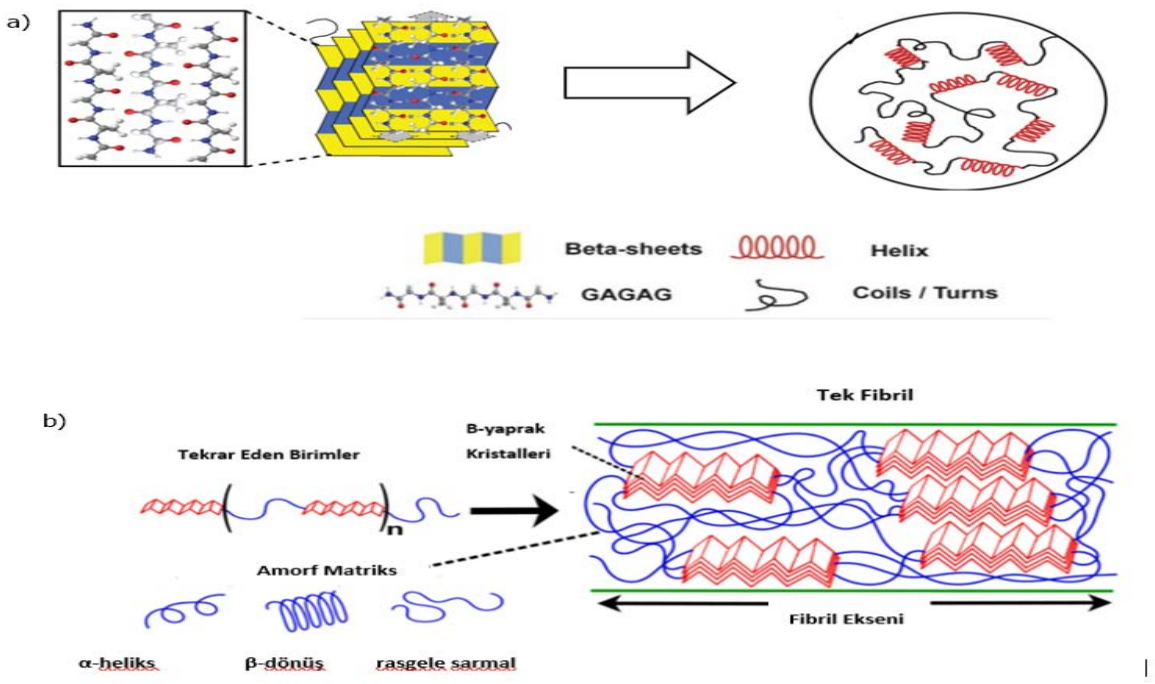

**Şekil 1.1** İpek fibroin (SF) yapısının şematik gösterimi [5]

SF, en güçlü doğal liflerden biri olarak kabul edilmektedir ve bu gücün kaynağı, proteinin kimyasal yapısına atfedilmektedir. İpek fiberi filamentleri, tek parça halinde oldukça uzun bir şekilde örülmektedir. İpek fibroinin temel yapısında polipeptid zincirleri yer almaktadır. SF'nin amino asit dizilimi, antiparalel bir β-tabaka yapısına kendiliğinden birleşen tekrarlayan glisin-alanin-glisin-alanin-glisin-serin (GAGAGS) dizileri içermektedir. Bu β-tabakalar oldukça kristalindir ve esasen proteini güçlü molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları ve yığılmış β-tabakalar arasındaki güçlü Van der Waals etkileşimleri yoluyla çapraz bağlar ve malzemeye sağlam mekanik özellikler kazandırır[6]. Bir SF polipeptid zincirinin genel kimyasal yapısı aşağıda Şekil 1.2’ deki gibidir.



**Şekil 1.2** SF polipeptid zincirinin genel kimyasal yapısı [6]

Polipeptid zincirleri, amino asitlerin amid bağları aracılığıyla birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. Bu zincirde, C=O-N-H grubu, amid grubunu temsil etmekte ve meydana gelen bağlantı amid bağı olarak adlandırılmaktadır. SF'nin yapısı, farklı oranlarda bir araya gelen birçok amino asitten oluşmasına rağmen, genel olarak yoğun bir şekilde (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser) dizilimi gösteren tekrarlayan birimlerden meydana gelmektedir.




**Şekil 1.3** İpek fibroin yapısını oluşturan yapısal elementlerin görünümü, β-tabaka yapısı oluşumu [3], [7], b) poliamit zincirlerinden ipek fiber yapısı oluşumu [8]

İpek liflerinin oluşum sürecinde, polipeptid zincirleri özellikle "β-sayfa" (tabaka) yapısı oluşturarak düzenli bir şekilde üst üste gelmekte ve kristal yapılar meydana getirmektedir. Bu kristal yapılar, ayrıca düzensiz ve rastgele bağlanan amorf zincirlerden oluşmaktadır. SF'nin birincil dizisinin şeması, tekrarlayan bir diziyi gösterirken, bu yapı sert ve esnek bloklar içermektedir. Nanokristaller, "yığılmış" amino asitler arasında hidrofobik etkileşimler ortaya çıkaran β-yapraklardan oluşmakta ve bu yapılar hidrofilik amorf bir matris içine gömülmüş yan zincirlerle birlikte yer almaktadır.

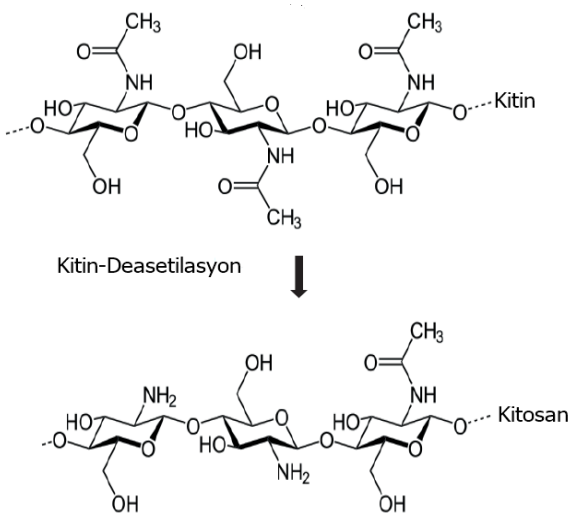
Özellikle β-yapıların oluşumu sırasında poliamid zincirleri, birbirlerine paralel ya da antiparalel bir şekilde düzenlenmektedir. Bu düzenleme sayesinde, tabakalar arasında hidrojen bağları oluşarak yapının güçlü ve stabil kalmasını sağlamaktadır. Polipeptit zincirlerin doğrusal oluşu yanında fazla -H bağı içermesi kopma mukavemetini yükseltmektedir [9]. Beta tabaka yapıları, β-sayfa kristallerini oluştururken, tabakaların üst üste gelerek kristal yapıyı meydana getirdiği görülmektedir. Kristal yapıların oluşumu esnasında, polipeptid zincirlerinin yanı sıra, çeşitli amorf polipeptid zincirleri ve az miktarda bulunan diğer yapısal birimler, β-dönüşüm ve α-spiral yapılar ile amorf matris denilen yapıları oluşturmaktadır. Bu amorf zincirler ve yapılar, β-kristal yapılara oranla daha esnek ve uzayabilen yapı özellikleri taşımaktadır.

### 1.2.2 Kitosanın Yapısı ve Özellikleri

Kitosan (CH), karides kabuklarından, yengeçlerden, ıstakozlardan ve ayrıca ipekböceği gibi diğer böceklerden elde edilen kitinden türetilen ve doğada çok fazla bulunan doğal bir katyonik polielektrolit kopolimeridir. Çeşitli çalışmalar, mükemmel film oluşturma kabiliyetine, gazlara ($CO_2$ ve $O_2$) seçici geçirgenliğe, iyi mekanik özelliğe sahip olması ve antimikrobiyal aktiviteyi kanıtlaması nedeniyle CH'a dayalı yenilebilir filmlerin geliştirilme olasılığını göstermiştir [10], [11].

Kitinin deasetillenmiş bir ürünü olan CH'ın esas olarak β-(1 → 4)-2-amino-2-deoksi-D-glikopiranoz birimlerinden oluşan yüksek molekül ağırlıklı bir polisakkarittir. Deasetilasyon süreci, kitin içindeki asetilamino (-NH-CO-$CH_3$) gruplarının amino (-$NH_2$) gruplarına dönüşmesini sağlar. Bu işlem sonucunda, N-asetil-D-glukozamin grupları tamamen dönüşmez; fakat bu grupların sayısı, D-glukozamin gruplarının sayısına oranla azalır. Deasetilasyon oranı, amino

gruplarının sayısının asetilamino gruplarına olan oranı şeklinde tanımlanır. [12]. Kitin, en az %50 oranında deasetillendiğinde seyreltik asitlerde (formik asit, asetik asit vb.) çözünür hale gelir ve bu durumda kitosan olarak adlandırılır. Kitosanlar zincirler boyunca heterojen bir asetil grubu dağılımına sahiptir [1], [13].




**Şekil 1.4** Kitin ve kitosan [14]

Kitosanlar, N-asetil-D-glukozamin ve D-glukozamin kalıntılarının oranlarına bağlı olarak farklı yapısal değişiklikler gösterir. Bu farklılık, deasetilasyon derecesi ve moleküler ağırlık açısından farklı kitosan türlerinin ortaya çıkmasına yol açar. Deasetilasyon derecesi ve moleküler ağırlık, polimerin özelliklerini etkiler. Sigma-Aldrich, ticari kitosanı yüksek ve düşük moleküler ağırlık olarak iki gruba ayırmaktadır.

Düşük moleküler ağırlıklı kitosan sınıfı, Deasetilasyon Derecesi < %75

Yüksek moleküler ağırlıklı kitosan sınıfı, Deasetilasyon Derecesi> %75 şeklindedir[15].

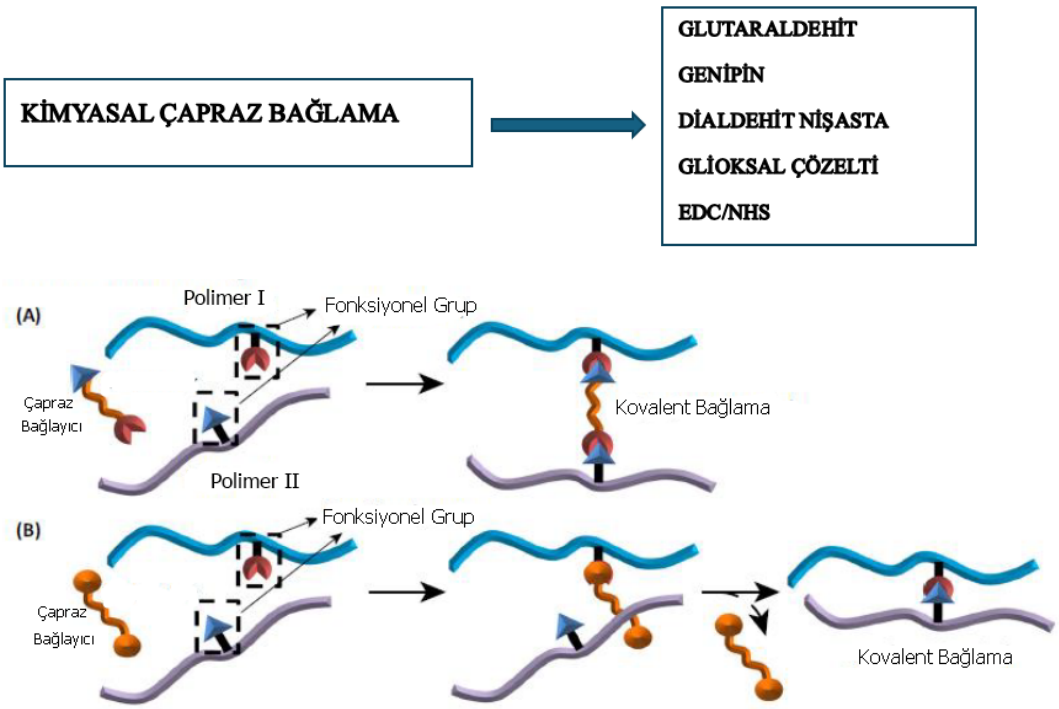
## 1.3 Çapraz Bağlayıcılar

SF ve CH gibi polisakkarit bazlı filmlerin sahip olduğu özelliklere rağmen, bunların doku mühendisliğindeki uygulamaları tek başına oldukça sınırlıdır ve bu durum zayıf mekanik özellikler ve fizyolojik koşullar altında kararsız yapılardan kaynaklanmaktadır. Bu durum biyomedikal uygulamalarda potansiyel uygulamalarının çoğunu olumsuz yönde etkileyebilir. Fakat, çapraz bağlama süreci, özellikle su ile ilgili hassasiyet problemleri olduğunda, polisakkarit temelli

filmlerin etkinliğini ve kullanılabilirliğini artırma konusunda umut verici bir yöntem olarak öne çıkıyor [16] [17].

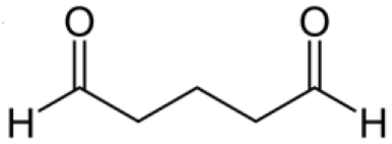
Çapraz bağlama, polisakkarit bazlı filmlerin mekanik ve termal özelliklerinin yanı sıra bu filmlerin performans göstergelerini geliştirmek amacıyla geçerli bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, glutaraldehit, ferulik asit, borik asit ve benzeri çeşitli çapraz bağlama maddeleri literatürde bildirilmiştir[17]. Ancak, bu maddelerin biyomedikal malzemelerin ve çeşitli ambalaj malzemeleri için filmlerin veya kaplamaların hazırlanmasında gerçek uygulaması, sitotoksisiteleri, yüksek maliyetleri ve verimlilikleri nedeniyle sınırlıdır[18].

Amin ve asit yan zincirlerinin mevcudiyeti nedeniyle, ipek fibroini çok çeşitli biyomedikal alan uygulamalarına uyacak şekilde kolayca modifiye edilebilir. Çapraz bağlama, polimerik malzemeleri modifiye etmenin en yaygın yaklaşımıdır. Üç tip çapraz bağlama sınıflandırılabilir: enzimatik, fiziksel ve kimyasal çapraz bağlama. Kimyasal çapraz bağlama, polimer özelliklerini iyileştirmek için polimerik zincirleri kovalent olarak köprülemek için kullanılan işlemdir. Kimyasal çapraz bağlama yöntemi en etkili ve öngörülebilir yöntem olarak kabul edilir. Çok güçlü bağlar oluşturmasına rağmen hücre toksisitesinin bilinmemesi, kalan çapraz bağlayıcıyı çıkarmak için yıkamaya ihtiyaç duyulması ve fiziksel çapraz bağlamadan daha pahalı olması kimyasal çapraz bağlamanın dezavantajlarıdır [19].

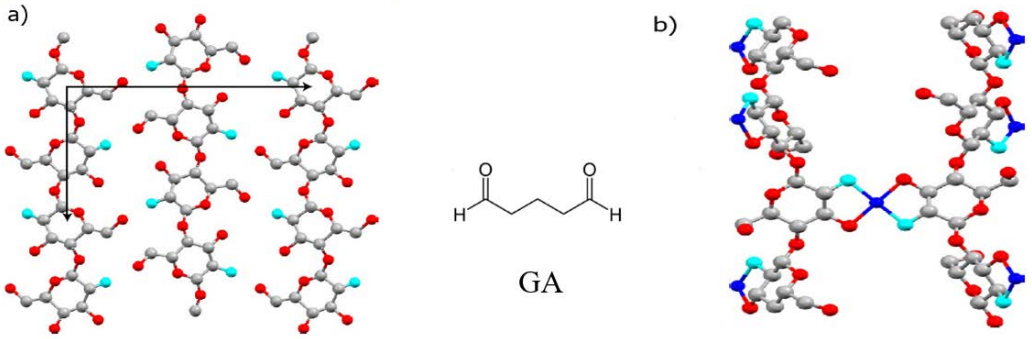


**Şekil 1.5** Çapraz bağlama süreçlerinin farklı yöntemlerine dair şematik gösterim: a) kimyasal çapraz bağlayıcı; b) çapraz bağlayıcı, işlem tamamlandıktan sonra reaksiyondan ayrılır [19]

Kimyasal çapraz bağlama süreçlerinin mekanizmaları Şekil 1.5 da gösterilmiştir. Glutaraldehit, kolayca temin edilebilen, maliyet etkin bir madde olup, sulu çözeltileri, kolajenli dokuları nispeten kısa bir süre içinde etkili bir şekilde çapraz bağlama yeteneğine sahiptir[20].




**Şekil 1.6** Glutaraldehitin kimyasal yapısı[19]




**Şekil 1.7** a) Kitosanın kristal yapısı b) kitosanın glutaraldehit ile çapraz bağlanması[21]

Kitosan, güçlü hidrojen bağına sahip glukozamin birimlerinin doğrusal ve antiparalel paketlenmiş zincirlerinden oluşan α-kristal formunda ortorombik bir kristal yapıya sahiptir (Şekil 1.7-a). Kitosanın bu kristal yapısı yüksek hidrofilisitesi nedeniyle sulu çözeltide kitosanın belirgin şişmesi ve düşük mekanik mukavemeti ve düşük iyon iletkenliği ile sonuçlanır [21]. Şekil 1.7-b de kitosanın GA ile çapraz bağlaması şematik olarak gösterilmiştir. Çapraz bağlanma filmin suda şişmesini engeller ve mekanik mukavemeti artırır.

İpeğin temel bağ tipi hidrojen bağıdır ve bu özelliği ile selülozik liflere benzemektedir. Hidrofobik çekim kuvvetleri, hidrojen bağlarının ardında gelen ikinci dereceli bir etkiye sahiptir. -OH grubu içeren tirozin ve serin amino asitleri, fibroin yapısında yüksek miktarlarda bulunduğundan, hidrojen köprülerinin

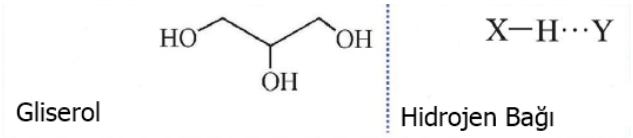
oluşumundaki sıklık önemli ölçüde artmaktadır. Diğer yandan, fibroin makromerleri arasında karbonil (CO) ve amid (NH) grupları arasında hidrojen köprüsü oluşma olasılığı da yüksektir [9].

## 1.4 Plasktikleştirici Olarak Gliserol

Plastikleştiriciler, polimerlerin esnekliğini, kimyasal geçirgenliğini ve gerilme direncini artırmak için kullanılan katkı maddeleridir. Gliserolün plastikleştirici olarak etkili olduğu, filmlerin mekanik ve geçirgenlik özelliklerini iyileştirdiği gösterilmiştir. Gliserol, biyoekonomi açısından çoklu hidroksil grubuna sahip bir bileşiktir. Bu plastikleştiricinin başarısı, polimer zincirleri arasında hidrojen bağlarının varlığından kaynaklanır; bu bağlar, moleküller arası boşlukları genişleterek filmlerin geçirgenliğini ve esnekliğini artırır. Ayrıca, gliserol çekim kuvvetlerini azaltarak filmlerin esnekliğini artırır [22].

Kitosanın ipek fibroini ile hazırlanan biyokompozit filmlerin, sentetik ve biyolojik bileşenler arasında hidrojen bağları ile güçlü etkileşimlerin ortaya çıkmasını sağlar ve bu etkileşim yeni malzemelerin elde edilmesine olanak tanır [23] . Filmlerin kimyasal direncini artırmak ve hidrofilikliğini korumak ve uzun vadeli biyolojik bozunumyı sürdürmek önemlidir [3]. Bazı çalışmalara dayanarak, gliserol, insan vücudu için toksik olmayan filmlerin özelliklerini iyileştirmek için plastikleştirici olarak kullanılabileceği ve GLY ile harmanlanan filmler, özellikle kopma uzaması olmak üzere, ipek fibroin ve kitosanın mekanik özelliklerini iyileştirmek için yararlı olduğunu kanıtlanmıştır [22], [23].

Şekil 1.8 da kimyasal yapısı gösterilen gliserol molekülünün yapısı ile başka bir molekülle yaptığı hidrojen bağları gösterilmiştir. Gliserol molekülüne bitişik olan karbonlarda üç hidroksil grubu bulunur. Bir veya daha fazla gliserin hidroksil grubu bir dizi farklı reaktifle etkileşime girdiğinde, birden fazla izomer oluşabilir.




**Şekil 1.8** Gliserolün kimyasal yapısı [3]

## 1.5 Kitosan ve İpek Fibroin Biyopolimerlerinin Biyomedikal ve Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları

İpek fibroinin konformasyon geçişi, ısıtma, germe veya polar çözücülere daldırma gibi işlemler sonucunda rastgele bobin yapısından β-tabaka yapısına dönüşme yeteneği, ipek fibroinini biyomalzeme olarak cazip kılmaktadır. Zira β-tabaka yapısına sahip ipek fibroini, suya dayanıklılık özelliğiyle birlikte üstün mekanik özelliklere sahiptir [24], [25]. İpek fibroini, biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalar için yeni malzemeler ve cihazlar geliştirmek amacıyla ilgi çekici bir başlangıç malzemesi olarak değerlendirilmektedir. İpek fibroin filminin ıslak halde iken iyi bir oksijen geçirgenliğine sahip olduğu bilinmektedir. Bu durum, ipek fibroinin yara pansumanı ve yapay deri gibi potansiyel uygulamalarını desteklemektedir. Ayrıca, ipek fibroini cerrahi dikişler ve kontrollü ilaç salınımı sağlayan biyouyumlu cihazlar olarak da kullanılabilir [16], [26], [27].

Kuru halde bulunan ipek fibroini, yüksek derecede kırılgan olması dolayısıyla pratik uygulamalar için uygunluk göstermemektedir. Bu sınırlamanın aşılmasına yönelik gerçekleştirilen araştırmalarda, ipek fibroinin poliakrilamid ve poli(vinil alkol) gibi sentetik polimerlerle veya selüloz ve sodyum aljinat gibi doğal polimerlerle harmanlanarak mekanik ve fiziksel özelliklerinin iyileştirilebileceği belirtilmiştir. Bu çerçevede, ipek fibroini ve kitosanın karışımı özellikle dikkat çekici bir potansiyele sahiptir[24], [25], [28], [29].

Kitosanın sert zinciri, kitosan ve ipek fibroini arasında hidrojen bağı oluşması kitosanın, ipek fibroinin rastgele bir bobinden β-tabaka yapısına konformasyonel geçişini indükleyebilmektedir. [24], [30]. Chen ve diğerleri, kitosanla karıştırılarak indüklenen ipek fibroinin konformasyonel geçişini araştırmıştır [28].

Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar, kitosanın (CH) biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyouyumluluğu ve mükemmel film oluşturma özelliği sayesinde yara pansumanı, ilaç dağıtım sistemleri ve gıda paketleme gibi çeşitli uygulamalarda önemli bir ilgi gördüğünü ortaya koymuştur. Kitosan, esneklik ile yüksek mukavemet sunmasının yanı sıra enfeksiyona karşı koruma sağlayan doğal bir polisakkarit niteliği taşımaktadır. [3], [31], [32]. Yapılan incelemeler neticesinde, İpek fibroin içeriğindeki artışın çekme dayanımı ve sertlik üzerinde olumlu bir etki yarattığı gözlemlenmiştir. Bu durumun, büyük olasılıkla kristalin

alanların miktarını artıran ve çekme dayanımı ile sertliği yükselten β-levhalardaki artıştan kaynaklandığı değerlendirilmektedir. İpek fibroin matrisindeki kitosan, su içeriğini artırarak İpek fibroin ile kitosan arasındaki hidrojen bağlarını zayıflatmakta ve dolayısıyla elde edilen karışımların çekme mukavemetini düşürmektedir. Bununla birlikte, kırılma anındaki gerilme değerinde herhangi bir fark gözlemlenmemiştir; bu durum, SF/CH iskelesinin esnekliğinin İpek fibroin ve kitosanın göreceli miktarından etkilenmediğini göstermektedir. Sonuç olarak, fibroinin β-tabaka yapısının kitosan miktarındaki artışla yeterince gelişmediği anlaşılmaktadır.[33], [34] Ayrıca, çapraz bağlayıcı maddeler β-tabakasını (ipek fibroininin konformasyonu) indükler ve kompozitlerin çekme mukavemetini ve elastik modülünü artırırlar[35], [36].

İnsanın en büyük organı olan deri, buharlaşmayı önleyerek metabolizmamızı sürdürmesinin yanı sıra UV ışınlarından, kimyasal maddelerden, yabancı organizmalardan ve diğer zararlı çevresel faktörlerden korunmada da önemli bir rol oynar. İnsan derisi, zararlı dış etkenlerin istilasına karşı ilk savunma hattıdır. Kronik yaralar, insan vücudunda enfeksiyonlara ve diğer hastalıklara neden olabilecek organizmaların erişimini kolaylaştırdıkları için insan sağlığı açısından büyük bir risk oluştururlar. Yüksek performanslı yara pansumanları, yara iyileşmesini hızlandırabilir ve yaralı bölgeyle doğrudan temas halinde kalacak ilaçların dahil edilmesine izin vererek salınımı kontrol eder ve yara bölgesinde uzun süreli ve etkili bir etki sağlar [3], [34], [37].

Yara iyileşme teorisine göre, nemli bir yara ortamı yara iyileşmesini hızlandırabilir ve pansumanın ağrısız bir şekilde çıkarılmasını sağlayabilir, böylece taze dokunun tahribatı önlenir ve skar oluşumu azalır[37]. İdeal bir pansuman yara ara yüzünde nemli bir ortam sağlamalı, gaz alışverişine izin vermeli, mikroorganizmalara karşı bariyer görevi görmeli ve fazla eksüdayı uzaklaştırmalıdır. Yara temas tabakasının iyileşmeyi hızlandıracak bileşikler içermesi kritik öneme sahiptir. Bu tabakaya antibiyotik ve antibakteriyel bileşenlerin eklenmesiyle yara örtüsü antimikrobiyal özellik kazanır ve enfeksiyona neden olan bakterilerin büyümesi büyük ölçüde engellenir. Önceki çalışmalar, antimikrobiyal bileşiklerin yanı sıra, yara pansumanlarında antioksidan bileşiklerin kullanılmasının kronik yaraların iyileşmesini hızlandırdığını ortaya çıkarmıştır[38]. Antioksidan, antimikrobiyal aktivite gibi farklı biyolojik aktivitelere sahip doğal bileşikler içeren birçok bitki

ekstraktının yara iyileştirici etkiye sahip olduğu yıllardır bilinmektedir. Bu amaçla polietilen, polivinil alkol, poliüretan gibi sentetik veya kitosan, aljinat, ipek, selüloz ve kollajen doğal polimerlere dayanan çeşitli yara örtüleri geliştirilmiştir [3], [36], [37].

Kitosan, farmasötik preparatlar, gıda katkı maddeleri ve yara iyileşmesi ile kemik ve kıkırdak rejenerasyonu gibi çeşitli doku mühendisliği uygulamalarında yaygın şekilde kullanılan doğal bir hidrofilik polimerdir. Kitosan, antimikrobiyal özellikler, yüksek şişme kapasitesi, düşük mekanik mukavemet ve yüksek bozunum oranına sahip biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir bir biyomalzemedir [36], [39].

Kitosan, PMN (polimorfonükleer), makrofaj, fibroblastlar ve anjiyoendotelyal hücreler gibi immünositleri ve inflamatuar hücreleri aktive eder. Kitosan oligomerleri ayrıca yara iyileştirici özellikler sergilemiştir, yara iyileştirici özelliklerinin fibroblast büyüme faktörünü etkileyerek fibroblast üretimini uyarma yeteneklerinden kaynaklandığı öne sürülmektedir. Daha sonraki kolajen üretimi bağ dokusunun oluşumunu daha da kolaylaştırır. Oligosakkarit grubunda kiti-oligosakkarit (NACOS) ve kito-oligosakkarit (COS), kollajen lifleri insizyon hattına dik olarak uzanır ve kitosan gruplarında yaranın etrafındaki histolojik çalışmalarda birçok aktive fibroblast gözlemlendi. Kopma mukavemeti daha güçlüydü ve daha yüksek deasetilasyon derecesinde daha fazla aktive fibroblast gözlemlendi. Kitosanın oligomerleri ve monomerlerinin yara iyileştirici etkisi büyük ilgi görmektedir[34], [39]. Bu çalışmada orta deasetilasyon derecesi değerine sahip kitosan kullanılmıştır.

İpek lifinin çekirdek protein elementi olan SF, mekanik özellikleri, biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle tıbbi uygulamalar için bir biyomalzeme olarak kullanılmıştır [36], [40], [41], [42].

İpek fibroin, biyomedikal alanında ilaç dağıtımı[31], [37], [43], ciltteki yaraların iyileşmesi, kanser tedavisi, doku mühendisliği [44], [45] ve yaraların pansuman [46] edilmesi yer almaktadır. İpek fibroin, hidrojeller, süngerler, iskeleler, nano lifli matlar, mikro veya nano partiküller ve kompozit filmler gibi çeşitli formlara kolaylıkla dönüşebilir. Yara pansuman uygulamalarında ipek fibroin kullanımının olumlu yönleri arasında yüksek mukavemet, oksijen geçirgenliği, taşınabilirlik,

sitotoksisite bulunmaması ile hücre proliferasyonu ve çevresindeki değişimlere destek olma yeteneği sayılabilmektedir [47].

SF kuru halde genellikle sert ve kırılgandır ve bu da biyokompozit filmlerin zayıf mekanik özelliklerine ve kararlılığına neden olur. SF biyokompozit filmler, polietilen glikol diglisidil eter (PEGDE), glutaraldehit (GA) vb. gibi bir çapraz bağlayıcı madde veya polietilen glikol (PEG), gliserol gibi bir plastikleştirici ile dökülmesi, SF biyokompozit filmlerin esnekliğinin ve kararlılığının iyileştirilmesiyle sonuçlanan birkaç çalışma mevcuttur [48]. Fakat SF ve CH karışımından elde edilen filmlerin mekanik, yapısal ve spektroskopik özelliklerine çapraz bağlayıcının ve plastikleştiricinin etkisinin birlikte ele alındığı çalışmalara rastlanılmamıştır.

Bu biyomedikal uygulamalarında (yapay deri, yara örtücü malzemeler, ilaç taşıyıcı sistemler vb.) CH ve SF filmlerinden elde edilen malzemeler farklı sürelerde farklı uzama ve gerilme süreçlerine maruz kalabilmektedir. Dolayısı ile bu süre zarfında bu tür malzemelerin mekanik ve diğer özelliklerini koruyabilmeleri ve/veya yapısal değişimlerin bilinmesi önemlidir. Aynı zamanda deformasyon ve gerilme etkisi ortadan kalkınca malzemenin elastik ve plastik deformasyon özelliklerinin bilinmesi oldukça önemlidir.

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, çapraz bağlı ve plastikleştirici kullanılarak mekanik dayanımı ve esneklik özellikleri iyileştirilen saf ipek SF/CH biyokompozit filmlerin biyomedikal uygulamalarda karşılaşacağı deformasyonlar süresince ve sonrasında filmlerin gerilim-gevşeme süreçleri, elastik ve kalıcı deformasyon miktarları ile iyileşme özelliklerinin ele alındığı çalışmalara hemen hemen hiç rastlanmamaktadır. Bu yüzden, bu süreçlerin incelenmesi, bu çapraz bağlı SF/CH biyokompozit filmlerin biyomedikal ve doku mühendisliği vb. alanlardaki çeşitli yapay doku, yapay damar, yara iyileşme süreçlerinde ve ilaç taşıma sitemlerinde kullanılmalarında bu malzemelerin özelliklerinin geliştirilmesi açısından önemli olacaktır.

Bu tezin genel amacı ipek fibroin ve kitosan karışımlarından çapraz bağlayıcı ve plastikleştirici kullanılarak mekanik (mekanik dayanım, elastiklik, iyi iyileşme

özelliği), yapısal, biyouyumluluk ve hemouyumluluk özellikleri geliştirilmiş biyokompozit filmler elde etmektir.

Bu amaca yönelik öncelikle literatürde yaygın olarak bilinen kimyasal çözme yöntemleri kullanılarak ipek fibroin ve kitosan çözeltileri elde edilerek , farklı kütle oranlarında karıştırılarak laboratuvar koşullarında SF/CH filmleri hazırlamaktır. Bu filmlerin mekanik ve diğer özelliklerini geliştirmek için çapraz bağlayıcı olarak glutaraldehit (GA) ve plastikleştirici olarak gliserol kullanılarak biyokompozit filmler elde edilmiştir.

Elde edilen çapraz bağlı filmlerin mekanik ve özellikle elastik özelliklerinin artırılması amacıyla, doğal plastikleştiriciler (örneğin gliserol) kullanılarak daha esnek ve aynı zamanda çapraz bağlı SF/CH/GA biyokompozit filmler üretilmesi planlanmaktadır. Bu tür filmlerin mekanik ve diğer özelliklerine çapraz bağlama ve plastikleştiricinin etkilerinin detaylı bir şekilde incelenmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca, filmlerin yapısında meydana gelen glutaraldehit ile polimer zincirleri arasındaki kimyasal ve fiziksel çapraz bağlanmaların (örneğin hidrojen bağları oluşumu) sulu ortamlardaki davranışına ve suya karşı dayanım özelliklerine etkileri de araştırılmıştır.

Gliserol gibi plastikleştiricilerin çapraz bağlı filmlerin suya çözünme ve şişme gibi özellikleri üzerindeki etkilerini belirlemek de hedeflenmiştir. Ayrıca çapraz bağlayıcının ve gliserolün biyokompozit filmlerin yüzey su tutma, itme (hirofobiklilik ve hidrofiliklik) özelliklerine etkileri de temas açısı ölçümleri ile incelenmiştir.

Filmlerin ayrıca mekanik ve diğer özelliklerine farklı sıcaklıklarda termal işlemlerin etkisi de detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bununla beraber filmlerin termal özelliklerinde (camlaşma sıcaklığı, kristalleşme ve erime sıcaklıkları vb.) meydana gelen değişimlerin yanı sıra, spektroskopik özelliklerdeki farklılıkları anlamak için çeşitli spektroskopik ve termal yöntemlerle ölçümler (DSC, TGA) yapılmıştır. Bu ölçümler sayesinde özellikle mekanik özelliklerdeki değişimlerin spektroskopik ve termal özelliklerle karşılaştırılması ve aralarındaki yapı-özellik ilişkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

SF/CH kompozit filmlerinin biyomedikal ve canlı organizmalar üzerinde kullanılması amaçlandığı için bu biyokompozit filmlerin biyouyumluluk ve

hemouyumluluk özellikleri detaylı bir incelenmiştir. Bu incelemelerde GA ile çapraz bağlı SF/CH filmlerim indirekt-MTT testi ile fare fibroblast hücre hattı (3T3) kullanılarak sitotoksisiteleri belirlenmiştir. Ürünlerin yara örtüsü olarak kullanılabilme potansiyellerinin belirlenebilmesi için in vitro çizik testi yapılmıştır. Bu testlere ilave olarak filmlerin kan ile uyumluluk (hemouyumluluk) testleri yapılmıştır.

Bu tezde, filmlere uygulanan deformasyonların iyileşme süreçlerinin incelenebilmesi için, glutaraldehit ile çapraz bağlı SF/CH biyokompozit filmler uzama sınır değerleri göz önüne alınarak çeşitli deformasyon (uzama, gerilme) miktarlarına sabit belirli bir sürede maruz bırakılarak, filmlerde meydana gelecek olan, gerilim- relaksasyon (gevşeme) süreçlerine çapraz bağlayıcıların ve plastikleştiricinin etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu Gerilim-gevşeme süreçlerini takiben yapılacak olan iyileşme testleri sürecinde filmlerin üzerindeki zamana bağlı deformasyonların tamamı ile iyileşmeme durumunda çok uzun zamana kadar yayılmaları sürecinde bu kalıcı deformasyon miktarlarının zamana bağımlılıkları araştırılmıştır.

# 2
# ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE DENEYSEL METOTLAR

## 2.1 Örneklerin Hazırlanması

### 2.1.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

SF kozaları, S.S. Bursa Koza Tarım Satış Kooperatifleri Birliği (Bursa)' dan temin edilmiştir. İpek Fibroin çözeltileri elde etmek için kullanılan Calcium Chloride ($CaCl_2$) Dihydrate For Analysis Emsure® Acs,Reag Sigma Aldrich' ten satın alınmıştır. Etil Alkol (%96) Teksol, Labor Teknik A.Ş.' den satın alınmıştır. İpek fibroin çözeltilerini çözmek için kullanılan MWCO 3.5 kDa olan Diyaliz membran tüpleri, Thermo fischer Co.' den satın alınmıştır. Filmlerde plastikleştirici olarak kullanılan doğal gliserin ise Alfasol (Türkiye) firmasından alınmıştır. Kitosan tozu (Deasetilasyon Derecesi %75-85) ve Glutaraldehit (%25) Sigma Aldrich' ten satın alınmıştır.

## 2.2 İpek Fibroin Çözeltisinin Hazırlanması

Öncelikle küçük parçalar halinde kesilen kozalar,1 g/L'lik $Na_2C0_3$ sulu çözeltisinde 30 dakika 85- 90 °C'de kaynatıldı. Ardından saf su ile iyice durulandı. Bu işlem 3-4 kez tekrarlandı. Serisini giderilen ipek, oda sıcaklığında 3-4 gün kurutuldu. Daha sonra ($CaCl_2$: $H_20$: $C_2H_5$) çözeltisi, (1:8:2) mol oranında hazırlandı. İpekler 3 saat bu çözeltide yaklaşık 85 °C'lik ısı banyosunda karıştırılarak çözüldü. Böylece elde edilen %2,5 (w/w) ipek fibroin çözeltisi 3-4 gün saf suda diyalize edildikten sonra +4 °C de buzdolabı ortamında saklandı[18], [25], [27], [34], [49].



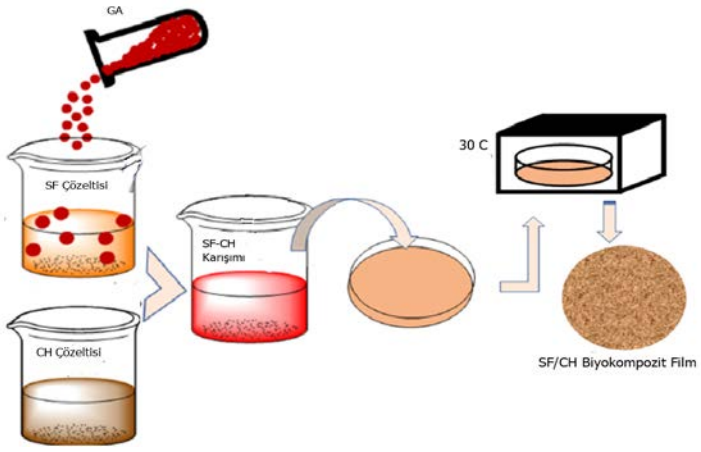

**Şekil 2.1** İpek çözeltisi hazırlama

## 2.3 Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması

%1 (w/w) asetik asit sulu çözeltisi içerisinde kitosan tozu %2.5 kütle oranında olacak şekilde eklendi ve manyetik karıştırıcı (500 rpm) [18] ile üç gün karıştırılarak hazırlandı [10], [50], [51].

## 2.4 SF/CH Kompozit Filmlerin Hazırlanması

Farklı oranlarda SF/CH (0/100, 25/75, 50/50 ve 75/25) kompozit filmler hazırlamak için farklı kütle oranlarında alınan GA (%0, %2.5, %5, %10 ve %15) her bir SF/CH kütle oranında hazırlanan %2,5 SF çözeltisine eklenerek manyetik karıştırıcıda 30 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra elde edilmiş olan GA katkılı %2,5 SF çözeltisi ile %2,5 CH çözeltisinden gerekli oranlarda çözeltiler alınarak manyetik karıştırıcıda 1 saat süresince oda sıcaklığında karıştırılarak kompozit film çözeltileri elde edildi. Daha sonra, Elde edilen solüsyonlar Plastik kaplara dökülerek 3-4 gün süreyle etüvdede 30 °C'de kuruması sağlandı. Elde edilen Kompozit filmler deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere, desikatörde bekletildi.




**Şekil 2.2** SF/CH biyokompozit filmlerin hazırlanması

## 2.5 Fiziksel Deneyler ve Metotlar

### 2.5.1 Mekanik Özellikleri Belirleme Metodu ve Ölçümleri

Tek eksenli çekme testlerinin gerçekleştirilmesinde, 250 N kapasiteli bir yük hücresi bulunan Lloyd LF-Plus mekanik test cihazı kullanılmıştır. Bu cihazdan elde edilen gerilim-uzama eğrileri sayesinde kompozit filmlerin mekanik özellikleri belirlenmiştir. Çekme testleri, ASTM D882 standartlarına uygun olarak, 40 mm uzunluğunda ve 5 mm genişliğinde şerit örneklerle 20 mm/dk çekme hızında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan örneklerin kalınlıkları, dijital mikrometre ile örneğin farklı 5-6 noktasından alınan değerlerin ortalaması alınarak 80 ±5 μm olarak belirlenmiştir. Her ölçüm, aynı kompozit film üzerinden 6-8 örnek ile tekrarlanmıştır. Elde edilen gerilim-uzama eğrileri sayesinde filmlerin çekme mukavemeti, Young (elastiklik) modülü, kopma anındaki uzama gibi mekanik özellikleri ile gerilim-uzama davranışları belirlenmiştir.

### 2.5.2 SF/CH Kompozit Filmlerin Termal İşlem ve Ölçümleri

SF/CH kompozit filmlerin mekanik ve diğer özelliklerine termal işlemlerin etkisini incelemek için Filmler T=37 $^{o}$C, 65 $^{o}$C, 100 $^{o}$C gibi farklı sıcaklıklarda, 3 gün ve 6 gün gibi sürelere kadar Binder Marka Etüv cihazında tutularak yapılmıştır. Termal işlemlerden sonra, filmlerin mekanik ve diğer testleri yapılana kadar filmler desikatörde tutulmuştur.

### 2.5.3 SF/CH Kompozit Filmlerin Gerilim-Gevşeme ve İyileşme Metodu

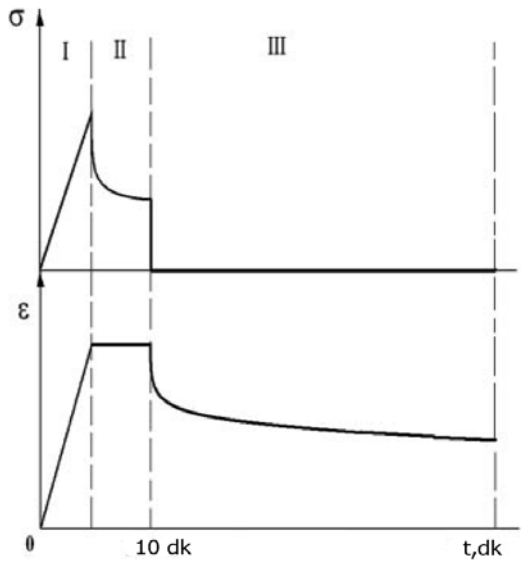
Kompozit film malzemelerin mekanik performanslarının anlaşılabilmesi için, gerilim altında deformasyona maruz bırakıldıktan sonra yapının gevşeme ve iyileşme davranışlarının incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Kompozit filmlerin gerilim-gevşeme (relaksasyon) deneyleri dijital mikrometre ile ölçülerek INSTRON 1122 marka çekme test cihazında sabit hızla belirlenen uzama oranlarına ($\varepsilon_{pe}$) kadar uzatılmış ve 10 dakika boyunca bu gerinim düzeyinde tutulmuştur. Bu süre zarfında stres-gevşeme davranışı gözlemlenmiş ve ardından örnekler serbest bırakılarak iyileşme süreci başlatılmıştır. On dakika sonunda, filme uygulanan gerilim kaldırıldığında, uzatılan filmlerin üzerindeki kalıcı deformasyon ve uzama değerleri hassas bir şekilde belirli bir zamana kadar aynı makine üzerinde ölçülmüştür. Zaman içinde bu deformasyon değerlerinin iyileşme süreçleri takip

edilmiştir. Bazı uzama değerlerinin yüksek olması durumunda, filmler çekme test cihazından alınarak normal laboratuvar koşullarında saklanmış ve farklı zaman dilimlerinde uygulanan deformasyon değişiklikleri dijital kumpasla ölçülmüştür. Elde edilen veriler, logaritmik zaman (log t) eksenine karşı $\varepsilon_r$ değerlerinin çizildiği grafiklerde doğrusal bir ilişki göstermiştir. Bu durum, iyileşme sürecinin aşağıdaki denkleme uygun olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir [52]:

$$\varepsilon_r = \varepsilon_{io} - A_i \log(t/t_1) \quad (2.1)$$

Burada $\varepsilon_r$ kalıcı deformasyon uzama değerini, $\varepsilon_{io}$ birinci dakikadaki deformasyon oranını ve $A_i$ lineer doğrunun eğimidir ve iyileşme hızını ifade etmektedir.

Ayrıca, gerilim-relaksasyon süreçlerinde örneklerdeki gerilimin zamanla nasıl değiştiği, gerilim-zaman grafiklerinin çizilmesiyle incelenmiştir. Burada I. ve II. bölge ilk 10 dakikayı III. Bölge ise 1 dakikadan 1 yıla kadar değişen zaman aralıklarındaki kalan uzama (deformasyon) eğrileri gösterilmiştir.




**Şekil 2.3** Gerilim- gevşeme ölçümünün şematik gösterimi[52]

### 2.5.4 FTIR-ATR Spektroskopisi Metodu ve Ölçümler

FTIR-ATR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Zayıflatılmış Toplam Yansıma) analitik bir tekniktir ve moleküler analizi, kızılötesi (IR) spektroskopisi kullanarak gerçekleştirmektedir. Bu teknik, özellikle yüzey analizlerinde etkili olup, örneklerle doğrudan temas ederek çalışır. Spektrometre cihazında genellikle bir kızılötesi ışık

kaynağı kullanılır. Bu kaynak, belirli bir frekansta IR ışınımı üreterek, ışığın numunenin yüzeyiyle etkileşime girmesini sağlar. FTIR-ATR cihazında sıkça kullanılan kristal yüzeyler arasında germanyum, çinko selenyum veya elmas yer alır ve bu kristal, örnekle doğrudan temas eder.

Numune, ışığın bir kısmını emer ve bu emilen ışık, örnekte bulunan moleküler bağlar ve yapılar hakkında özgül bilgiler taşır. Spektrum elde edilmesi sürecinde, alınan ışık sinyali bir interferometre aracılığıyla Fourier dönüşümüne tabi tutulur. Bu, farklı frekansta olan IR ışığının bileşenlerini ayırmamız ve bir spektrum elde etmemizi sağlar.

FTIR-ATR, polimer kompozitlerin analizinde yaygın şekilde kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, polimer kompozitlerin kimyasal bileşenlerini ve moleküler yapılarını belirlemede oldukça etkilidir. Özellikle fonksiyonel gruplar ve kimyasal bağlar üzerinde detaylı analizler yapma imkânı sunar. FTIR-ATR cihazları, polimer kompozitlerin geliştirilmesi, üretimi ve karakterizasyonu süreçlerinde önemli bir araç olarak kabul edilmektedir.

Elde edilen filmler için FT-IR/ATR spektrumu ölçümleri Thermo Scientific Nicolet İS10 spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Her bir spektrum, 4 $cm^{-1}$ çözünürlüğünde ve 32 tarama ile elde edilmiştir.

### 2.5.5 UV-Vis Metodu ve Ölçümler

UV-Vis spektrometre, ultraviyole (UV) ve görünür (Vis) bölgelerdeki elektromanyetik radyasyonu ölçen bir analitik cihazdır. Bu cihaz, bir maddenin hem çözeltide hem de katı formda, bu elektromanyetik radyasyonu emme veya saçma özelliklerini kullanarak moleküler analizler yapmak için idealdir. Genellikle bu spektrometrelerde ışık kaynağı olarak tungsten lambalar veya deuterium lambalar tercih edilmektedir. Deuterium lambaları, UV bölgesinde ışık sağlarken, tungsten lambalar görünür ışık bölgesinde çalışır.

Gelen ışık, bir monokromatörden geçerek belirli bir dalga boyunun seçilmesine olanak tanır. Numune, seçilen dalga boyundaki ışığı absorbe eder veya saçar; bu proses, numunedeki moleküler yapı ve bileşenlere bağlıdır. Numune tarafından geçen veya saçılan ışık, bir detektör tarafından algılanır ve bu süreç, numunenin absorpsiyon spektrumunu oluşturur. Elde edilen veriler, bir bilgisayar aracılığıyla

işlenip analiz edilerek; numunenin kimyasal bileşenleri ve konsantrasyonları hakkında değerli bilgiler sağlar.

UV-Vis spektrumlarının elde edilmesi için Oriel 74000 model Cornerstone cihazı kullanılmıştır. Ayrıca, 0,5 cm genişliğinde ve 4 cm uzunluğunda kompozit filmlerin spektrumları, 300 ile 900 nm arasında (transmitans) iletim modunda ölçümlenmiştir. 600 nm'deki transmitans değerleri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmış ve böylece kompozit filmlerin opaklık değeri belirlenmiştir.

$$\text{Opaklık değeri} = -logT_{600}/d \qquad (2.2)$$

(d kompozit filmin kalınlığıdır.)

### 2.5.6 FESEM- SEM Metodu ve Ölçümler

Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM), malzemelerin mikro yapısının görüntülenmesinde kullanılan modern bir teknolojidir. FE-SEM, nesnelerin topografyasını incelemek için elektronları ışık kaynakları yerine kullanarak çalışır. Bu mikro yapı görüntüleme yöntemi, yüksek elektrik alanı gradyanı yönünde hızlandırılan elektronlar üreten bir alan emisyon kaynağına sahiptir. Birincil elektronlar, yüksek vakumlu bir sütunda, elektronik bir mercek aracılığıyla her nesneye yönlendirilerek bombardıman edilir. Bu süreçte, her nesne ikincil elektronlar yayar ve bu yayılma, nesnenin yüzey özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterir. İkincil elektronların hızı ve yayılma açısı, yüzeyin yapısına dair belirgin izlenimler sunar. Yakalanan bu elektronlar, elektronik sinyal üreten bir dedektör aracılığıyla toplanır. Elde edilen sinyal, monitörde görüntülenebilen ve ileri işlemler için kaydedilebilen bir video tarama görüntüsüne dönüştürülür.

Bu araştırmada, elde ettiğimiz kompozit filmlerin FE-SEM görüntülerini almak amacıyla Thermo Scientific Apreo 2 S LoVac aleti kullanılmıştır. Yüzey analizi öncesinde film örnekleri, ölçüm yapmak üzere yaklaşık 2x2 cm boyutlarında kesilmiştir.

### 2.5.7 DSC-TGA Termal Analiz Metodu ve Ölçümleri

TGA-DSC (Termogravimetrik Analiz ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre), termal özellikleri incelemek için kullanılan birleşik bir analitik tekniktir. Bu yöntem, özellikle polimer kompozitlerin termal özelliklerini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. TGA-DSC, polimer matrislerin termal

kararlılığını, bozunum sıcaklıklarını, termal çözünürlüğü ve diğer önemli termal özellikleri belirlemek için etkilidir. Ayrıca, polimer kompozitlerdeki farklı bileşenlerin termal kararlılıklarını tespit etmek için de bu teknikten faydalanılabilir.

Polimer kompozitlerin üretim süreçlerinde, TGA-DSC, reaktif polimerizasyon adımlarının izlenmesi ve optimize edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu, özellikle kompozit malzemelerin üretiminde kullanılan reçinelerin sertleşme reaksiyonlarının anlaşılması açısından kritiktir. Ayrıca, polimer kompozitlerin termal dayanıklılığını ve uzun süreli performansını değerlendirmek için de kullanılmaktadır. Bu değerlendirmeler, malzemenin belirli sıcaklık koşullarında nasıl davrandığını anlamak açısından hayati öneme sahiptir.

TGA spektrometrelerinde, bir numunenin sıcaklık değişimine tepki olarak ağırlık değişimi (TGA) ve ısıl özellikler (DSC) ölçülerek bilgi elde edilir. TGA ölçümleri sırasında, numune kontrollü bir şekilde ısıtılırken bir tartım cihazı ile numunenin ağırlığı sürekli olarak izlenir. Ağırlıkta meydana gelen değişiklikler (kütle kaybı veya kazanımı), termal dekompozisyon, oksidasyon veya benzeri termal reaksiyonları işaret edebilir. Öte yandan, DSC ölçümlerinde numune ve referans (boş bir hücre veya belirli bir referans madde) eşit sıcaklıkta ısıtılır. Bu işlem sırasında, numunenin ve referansın ısıl kapasitesindeki farklılıklar kaydedilerek, numunenin içsel enerji değişimleri ve termal özellikleri belirlenir.

Tez kapsamında incelenen bazı kompozit filmlerin termal özellikleri, TGA-DSC cihazlarıyla gerçekleştirilen ölçümler sonucunda belirlenmiştir. DSC analizleri, Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda yer alan NETZSCH DSC 3500 cihazı aracılığıyla yapılmıştır. TGA analizleri ise, Merkez Laboratuvar'da mevcut olan PerkinElmer Diamond TG/DTA ve Seiko Instruments SII Exstar 6300 TG/DTA cihazlarıyla gerçekleştirilmiştir.

### 2.5.8 XRD Metodu ve Ölçümleri

XRD (X-Işını Difraktometresi), bir malzemenin kristal yapısını ve kimyasal yapısını tespit etmek amacıyla kullanılan bir tekniktir. X-ışınları kırınım yöntemi, bir malzemeye X-ışınları gönderip ardından bu ışınların yoğunluklarını ve dağılım açılarını ölçerek o malzemenin kimyasal yapısı ve kristal düzeni hakkında bilgi sağlar. X-ışın kırınım cihazları, ince film, toz ve katı film örneklerinin hem miktar hem de nitel yönlerden incelenmesi için kullanılmaktadır.

Bu tezde yer alan XRD ölçümleri, YTÜ Merkezi Laboratuvarındaki Malvern PANalytical X'Pert PRO – Malvern PANalytical Empyrean MultiCore XRD spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar elde edilirken, tarama hızı olarak 1°/dakika belirlenmiştir.

### 2.5.9 Şişme Oranları ve Çözünme Derecesi Metodu ve Ölçümler

Çeşitli oranlarda SF/CH kompozit filmleri her biri yaklaşık 3×3 $cm^{2'}$ lik küçük parçalara kesildi ve ardından ölçülen kütle $m_0$ isimlendirilmiştir. Bundan sonra, her bir film örneği 24 saat boyunca çeşitli zamanlarda örneğin 1 saat, 3 saat ve 24 saat sonra kütleleri ölçüldü. Daha sonra, şişmiş filmler çıkarıldı ve fazla su yüzeyden silindi ve film tekrar tartıldı ($m_t$).

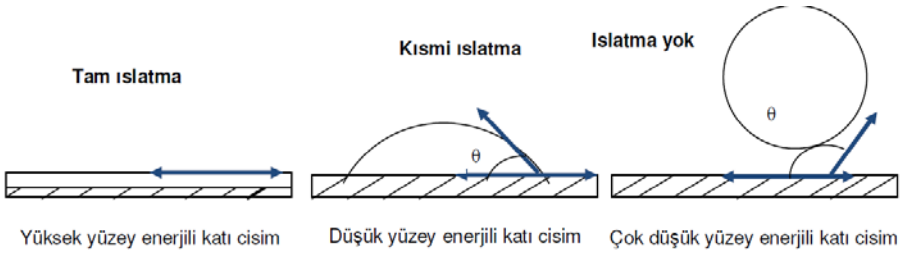
$$\text{Şişme Derecesi (ŞD)} = \frac{m_t - m_0}{m_0} \text{x} 100 \quad (2.3)$$

Formülü ile her zaman dilimi için ayrı ayrı ölçüldü. Filmler son ölçümden sonra 37 °C 'de Binder Marka Etüv cihazında 24 saat boyunca kurutulduktan sonra tekrar tartıldı ($m_k$) ve su içerisindeki çözünme derecesi aşağıdaki denklem ile belirlendi.

$$\text{Çözünme Derecesi (ÇD)} = \frac{m_k - m_0}{m_k} \text{x} 100 \quad (2.4)$$

### 2.5.10 Temas Açısı Metodu ve Ölçümler

Temas açısı (contact angle), bir sıvı damlasının katı bir yüzeyle temas ettiği noktada, sıvı, katı ve gaz fazları arasında oluşan açıya denir. Bu açı, genellikle sıvı ile katı arasındaki ıslanabilirlik derecesini gösterir. Bu açının büyüklüğü kohezyon ve adezyon kuvvetlerinin büyüklüğüne bağlıdır. Eğer temas açısı 90° den büyükse hidrofobik (ıslatmaz), temas açısı 90° den düşükse hidrofilik (ıslatır), temas açısı 140° den büyükse süper hidrofobik ve temas açısı 0° ye çok yakınsa süper hidrofilik özellik gösterir[53]. Şekil 2.5'te sıvıların farklı yüzey enerjisine sahip katılarda ıslatma davranışları görülmektedir.




**Şekil 2.4** Sıvıların farklı yüzey enerjisine sahip katılarda ıslatma davranışları [53]

Bu tezde kullanılan Temas Açısı ölçümleri, YTÜ Merkez Laboratuvar'daki Biolin Scientific marka ve Theta line model optik temas açısı ve yüzey gerilimi ölçüm cihazı kullanılarak yapılmıştır.

## 2.6 Biyolojik Deneyler ve Metotlar

Bu tez çalışmasında yapılan hücre kültürü çalışmaları (MTT testleri), kan uyumluluk (Hemouyumluluk) testleri ve *in vitro* çizik testleri İstinye Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü Laboratuvarında yapılmıştır.

### 2.6.1 MTT Testleri Metodu ve Ölçümler

Hücre kültürü çalışmalarında, sağlıklı bir hücre hattı olarak ISO standartlarının önerdiği şekilde L929 fare fibroblastları kullanılmıştır [54]. Hücreler, %10 fetal sığır serumu ve %1 penisilin/streptomisin (10,000 U/mL) ile takviye edilmiş L-glutamin içeren DMEM ortamında kültüre edilmiştir. Hücreler, %5 CO2 ve 37°C'de nemli bir inkübatörde büyütülmüş ve %70-80 doluluğa ulaşıldığında, flask yüzeyi $Ca/Mg^{2+}$ içermeyen PBS ile yıkanmıştır. Hücreler, ekim öncesinde tripsin ile kaldırılmıştır. L929 hücre hattı üzerinde; örneklerin ekstraktlarının etkilerini araştırmak için MTT testi kullanılmıştır [55].

Hücreler, 96 kuyucuklu plakalara kuyucuk başına $6\times10^3$ hücre olarak ekilmiş ve inkübatörde bir gece boyunca tutunmaları sağlanmıştır. Bu sırada film örnekleri, ağzı kapalı tüplerde 1 × 1 cm film/mL besiyeri içerisinde 37°C'de 24 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Kontrol grubu yerine geçecek standart besiyeri de aynı şartlarda bekletilmiştir.

Hücreler tutunduktan ve 24 saat ekstraksiyondan sonra, ekstraktlar 1:1 (h/h) taze besiyeri ile seyreltilmiş ve sterilizasyon amacı ile 0,22 µm por çaplı polietersülfon

(PES) şırınga filtreden geçirilerek kuyucuk başına 100 µL olarak hücrelere verilmiştir. 24 ve 48 saat sonra, hücrelerin canlılığını ölçmek için kuyulara 10'ar µL MTT solüsyonu (kültür ortamında son konsantrasyonu 0,5 mg/mL) verilmiştir. 4 saatlik inkübasyondan sonra, kuyucuklardan MTT çözeltisi çekilmiş ve mor-menekşe renkli formazan kristallerini çözmek için 100 µL DMSO kuyulara eklenmiştir. 5 dakikalık çalkalamadan sonra, 570 nm'de absorbans bir ELISA okuyucu (BMG LABTECH SPECTROstar® Nano) kullanılarak okunmuştur. Hücre canlılığı, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

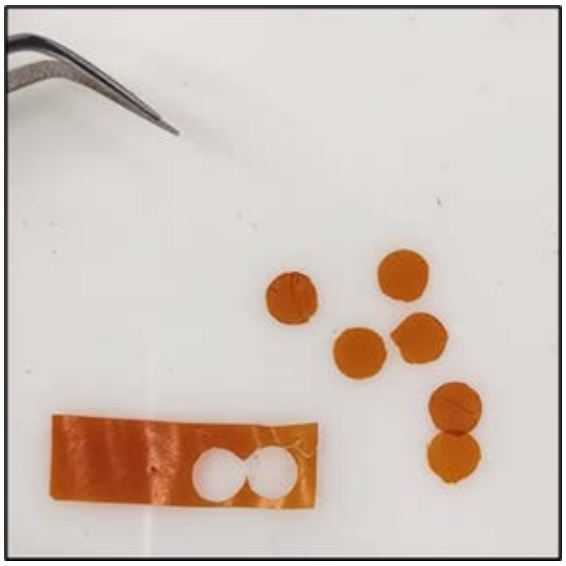
$$Hücre\ Canlılığı\ (\%) = \frac{Optik\ Yoğunluk_{570}\ Örnek}{Optik\ Yoğunluk_{570}\ Kontrol} \times 100 \quad (2.5)$$

Burada Optik Yoğunluk$_{570}$ Örnek, film ekstraktı içeren grupların 570 nm'de absorbansı; (Optik Yoğunluk)$_{570}$ kontrol ise kontrol grubunun 570 nm'de absorbansıdır.

### 2.6.2 Hemoliz Testi Metodu ve Ölçümler

Bu çalışmada, SF/CH filmlerin kan ile uyumunu (hemouyumluluk) anlamak için hemoliz testi gerçekleştirilmiştir. Deneylerde mezbahadan temin edilen tam sığır kanı kullanılmıştır.

Filmlerin kırmızı kan hücreleri (eritrositler) ile uyumu, örneklerin kan hücreleri ile 37°C'de muamelesi sonrası ölçülmüştür. %3,2 sodyum sitrat içeren tüplerde toplanan tam sığır kanı, 3500 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenerek eritrositler çöktürülmüştür. Santrifüjün ardından plazma, aspire edilerek uzaklaştırılmıştır. Eritrositler, fosfat tamponlu salin (PBS) ile süspanse edilerek 5 dakika boyunca 3500 rpm'de yeniden santrifüj edilmiştir. Bu işlem ile eritrositler 3 kez yıkanmıştır. Ardından eritrositler PBS ile 1:9 oranında dilüe edilmiş ve PBS içerisinde %10 (h/h) hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Film örnekleri bir kesme aracı kullanılarak 0,5 cm çapında daireler halinde kalıplanmıştır.



**Şekil 2.5** 0,5 cm çapında kesilmiş film örnekleri

0,5 cm çapında örnek başına 1 mL eritrosit süspansiyonu eklenmiştir. Negatif kontrol grubu olarak eritrosit süspansiyonu ile 1:1 (h/h) oranda PBS, pozitif kontrol grubu olarak ise 1:1 (h/h) distile su kullanılmıştır. Tüpler 37°C'de 2 saat inkübe edildikten sonra 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve eritrositlerin çökmesi sağlanmıştır. Santrifüj sonrasında temsili fotoğraflar çekilmiştir. Her bir tüpten (örnekler, negatif kontrol ve pozitif kontrol) 100'er µL süpernatant alınarak 96-kuyucuklu bir plakanın kuyularına aktarılmıştır. Bir mikroplaka okuyucu (BMG LABTECH SPECTROstar® Nano, Ortenberg, Almanya) kullanılarak 540 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) değerleri belirlenmiştir. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak hemoliz yüzdesi hesaplanmıştır [56].

$$Hemoliz\ (\%) = \frac{OD540_{örnek} - OD540_{negatif\ kontrol}}{OD540_{pozitif\ kontrol} - OD540_{negatif\ kontrol}} \times 100 \quad (2.5)$$

Burada, OD540örnekler film örneklerini içeren tüplerin süpernatantlarının 540 nm'de absorbans değeri, OD540negatif kontrol PBS içeren tüplerin süpernatantlarının 540 nm'de absorbans değeri, OD540pozitif kontrol ise distile su içeren tüplerin süpernatantlarının 540 nm'de absorbans değeridir.

### 2.6.3 *İn Vitro* Çizik Testi Metodu ve Ölçümler

MTT testinde anlatıldığı şekilde hazırlanan film ekstraktlarının yara iyileştirme potansiyeli, L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde in vitro çizik testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler, 24 kuyulu plakalara kuyu başına 40×103 yoğunlukta

ekilerek konfluent olana kadar tam besiyerinde kültürlenmiştir. Steril 200 µL pipet ucu kullanılarak hücre katmanı boyunca dikey olarak standart bir çizik yarası oluşturulmuştur. Hücre artıkları ve ayrılan hücreler DPBS ile yıkanarak dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, 5% FBS içeren tam besiyerinde hazırlanan özütler (ayrıntılar için MTT protokolüne bakın) ilgili kuyulara eklenmiştir. Plakalar, 37°C ve %5 CO2'de kontrollü koşullar altında inkübe edilmiştir. Yara kapanması, ters mikroskop (Observer Z1, Carl Zeiss) kullanılarak önceden belirlenmiş zaman noktalarında (0, 12, 24, 30 ve 48 saat) ve belirlenen koordinatlarda izlenmiş ve fotoğraflanmıştır. Görüntülerdeki yara alanı ImageJ yazılımı (NIH) kullanılarak ölçülmüştür. Yara kapanma yüzdesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır [57].

$$Yara\ Kapanması\ (\%) = \frac{T_0 - T_\times}{T_0} \times 100 \quad (2.6)$$

Burada $T_0$ çiziğin yapıldığı andaki yara alanı ve $T_x$ herhangi bir zamandaki yara alanıdır.

# 3
# DENEY VE BULGULAR

## 3.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Mekanik Özellikleri

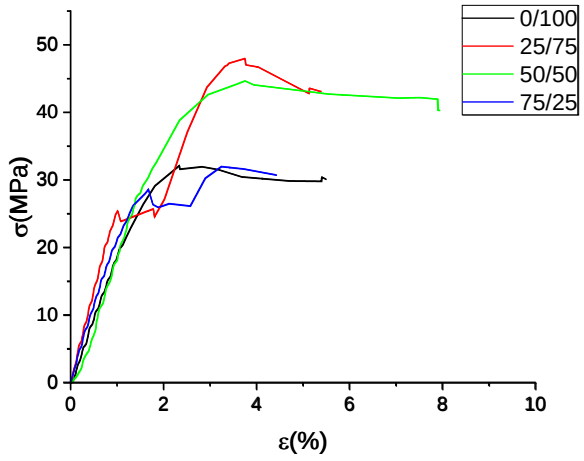
### 3.1.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine İpek Katkısının Etkisi

CH tabanına çeşitli oranlarda katkıladığımız SF ile elde ettiğimiz kompozit filmlerin mekanik özellikleri Tablo 3.1'de görülmektedir. Bu mekanik özellikleri elde ettiğimiz gerilim-uzama eğrileri ise Şekil 3.1'de görülmektedir.

**Tablo 3.1** SF/CH biyokompozit filmlerin mekanik özellikleri

| SF/CH(%) | GA(%) | GLY (%) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0/100 | 0 | 0 | 29,8 ± 3,2 | 6,3 ± 1.8 | 2,08 ± 0,19 |
| 25/75 | 0 | 0 | 53,4 ± 5,5 | 4,4 ± 0,9 | 2,57 ± 0,12 |
| 50/50 | 0 | 0 | 40,4 ± 3,3 | 3,7 ± 1,2 | 2,26 ± 0,25 |
| 75/25 | 0 | 0 | 29,7 ± 2,9 | 3,3 ± 0,9 | 2,19 ± 0,28 |

CH filminin Young modülü SF ile karıştırıldıktan sonra artması [58] beklenmektedir. Tablo 3.1 de %25 SF katkısıyla birlikte yoğun modülünün arttığını ve filmlerin rijitleştiği görülmektedir. Genel olarak, SF katkısının CH filmlerinin mekanik dayanımlarını artırdığı ve bu süreçte filmlerin daha rijit ve modül değerleri yüksek özellikler kazandığı tespit edilmiştir. CH oranının artması bu filmlerde kopma uzaması değerini artırdığı görülmüştür. Bu da CH ilavesinin karışım filminin esnekliğini artırmada yararlı olduğunu [40] göstermektedir.




**Şekil 3.6** Artan SF oranına göre SF/CH gerilim-uzama eğrileri

Şekil 3.1 de gerilim-uzama grafiklerine bakıldığında, %0-%1'lik lineer bölüm, filmlerdeki elastik deformasyon alanıyla örtüşmektedir. Bu kritik noktadan sonraki kısım ise, plato eğrisi olarak bilinen film yapılarındaki plastik deformasyon alanlarına karşılık gelir.

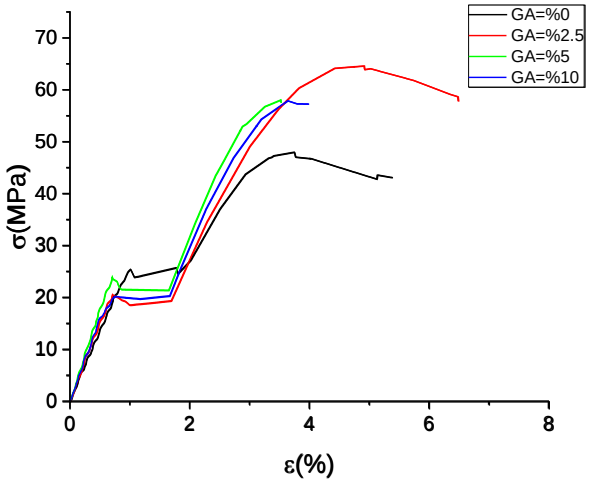
### 3.1.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine Çapraz Bağlayıcı Etkisi

SF/CH (25/75) kompozit filmlerin mekanik özelliklerine çapraz bağlayıcı olarak GA etkisi Tablo 3.2 de görülmektedir. Bu mekanik özellikleri elde ettiğimiz gerilim-uzama eğrileri ise Şekil 3.2 de görülmektedir.

**Tablo 3.2** SF/CH biyokompozit filmlerine çapraz bağlayıcı olarak GA'nın etkisi

| SF/CH(%) | GA (%) | GLY (%) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 25/75 | 0 | 0 | 53,4 ± 5,5 | 4,4 ± 0,9 | 2,57 ± 0,12 |
| 25/75 | 2.5 | 0 | 60,7 ± 5,6 | 3,7 ± 0,8 | 3,29 ± 0,15 |
| 25/75 | 5 | 0 | 56,6 ± 1,5 | 3.3 ± 0,2 | 3,38 ± 0,12 |
| 25/75 | 10 | 0 | 56,8 ± 1,6 | 3,9 ± 0,4 | 2,85 ± 0,39 |

Wang ve diğerleri ipek ile çapraz bağlı filmlerin β-tabaka içiriğinde bir artışa neden olduğunu ve GA/SF ağırlık oranında GA=%7,5 civarında β-tabaka içeriği maksimuma ulaştığını ve daha sonra azalan bir eğilim gösterdiğini [59] bulmuştur.



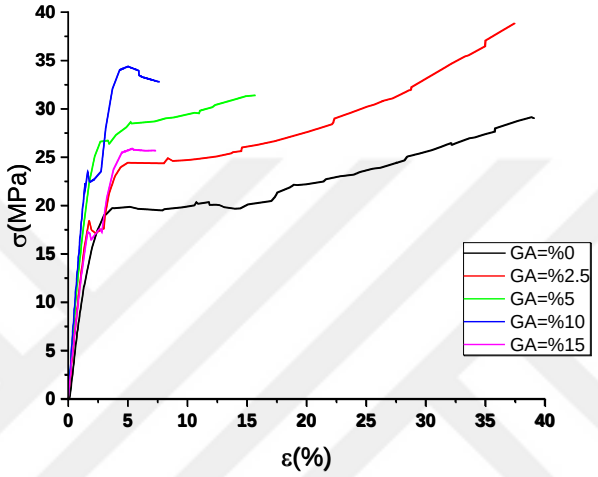

**Şekil 3.7** SF/CH (25/75) artan GA oranına göre gerilim-uzama eğrileri

SF'nin yarı kristalin yapısından kaynaklı iki kristal form İpek I ve İpek II olarak bildirilmiştir. İpek II, anti-paralel β-tabaka yapısıyla kendine özgü bir yapı sergiler. Peptit zincirleri arasındaki güçlü hidrojen etkileşimleri sayesinde, mükemmel çekme mukavemeti sunarken esnekliği ise oldukça düşüktür. Genellikle rastgele bobin, α-heliks ve β-dönüşlerinin bir kombinasyonunu içeren ipek I, yapısı itibarıyla zayıf bir çekme mukavemeti ile daha yüksek bir esneklik sergilemektedir. Tablo ve Şekil incelendiğinde GA oranının %5' e kadar artması ile birlikte filmlerin çekme dayanımı ve modül değerlerinde belli bir artış görülmektedir. Ancak GA oranı %10 olduğunda, filmlerin esnekliği de β-tabaka içeriğindeki artışa eşlik ederek iyileşmiştir. Ayrıca, amin içeren kalıntıların miktarı (toplam mol yüzdesi) kullanılan GA miktarından daha az olduğundan, tepkimeye girmeyen ve kısmen tepkimeye giren GA molekülleri amorf bölgelerde yer alabilir. Bu durum, β-levha yapısındaki artış nedeniyle filmlerin esneklik kaybını dengelemek amacıyla plastikleştirici olarak işlev görebilir[59] .

**Tablo 3.3** Sabit GLY Katkılı SF/CH biyokompozit filmlerine GA'nın etkisi

| SF/CH(%) | GA(%) | GLY(%) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 25/75 | 0 | 20 | 25,8 ± 5,1 | 40,1 ± 6,8 | 1,03 ± 0,19 |
| 25/75 | 2.5 | 20 | 37,4 ± 3,1 | 35,1 ± 4,5 | 1,36 ± 0,09 |
| 25/75 | 5 | 20 | 31,8 ± 2,3 | 15,7 ± 2,6 | 1,72 ± 0,08 |
| 25/75 | 10 | 20 | 37,4 ± 4,0 | 7,1 ± 2,2 | 2,11 ± 0,16 |

Tablo 3.3‘te sabit %20 Gly katkılı farklı GA oranlarında hazırlanan filmlerin mekanik özellikleri görülmektedir. Tablo 3.3 incelendiğinde özellikle hem esnekliği iyi hem de mekanik özellikleri iyi olan filmler, %2.5 ya da %5 GA ve %20 Gly oranlarında olduğu ayrıca %10 GA katkılı filmlerin mekanik dayanımı yüksek fakat, daha rijit ve daha az esnek olduğu görülmektedir. Bu tabloya göre yapay deri ve/veya yara örtüsü gibi uygulamalarda hem çekme dayanımı hem de esnekliği iyi olan biyokompozit film olarak %5 GA ve %10 Gly katkılı filmler seçilebilir.




**Şekil 3.8** %20 GLY katkılı SF/CH (25/75) filmlerinin artan GA oranına göre gerilim-uzama eğrileri

Şekil 3.3’teki grafik, başka çalışmalarda görülen yün ve saç liflerinin gerilim uzama karakteristikleriyle benzerlik göstermektedir. Özellikle lineer Hook bölgesi dışındaki akma (yield) bölgesinde, α-heliks yapıların açılarak uzamış β-zigzag yapıları oluşturduğuna dair bulgular bulunmaktadır. Bu nedenle, film yapımızda ipek fibroinindeki beta kristal yapıların yanı sıra α-heliks yapıların da yer aldığını göz önünde bulundurarak, bu eğrilerdeki benzerliklerin α-β konformasyon dönüşümlerini işaret ettiğini düşünmekteyiz. Eğrilerdeki bu benzerlik, film yapılarımızda α-heliks yapıların bulunduğunu mekanik olarak kanıtlamaktadır. Bu oldukça önemli bir sonuçtur [52].

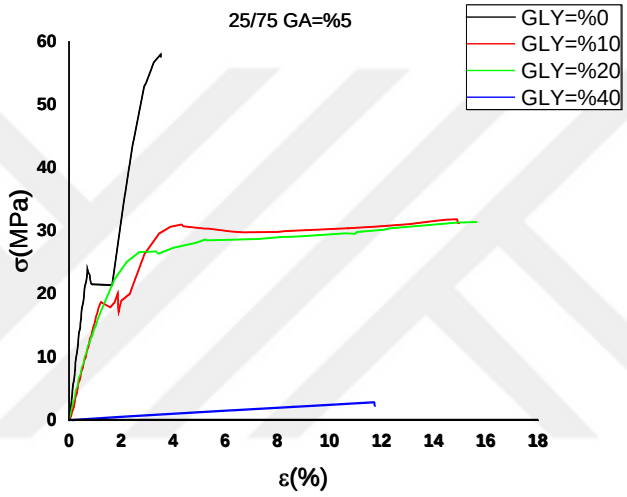
### 3.1.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin Mekanik Özelliklerine Gliserinin Etkisi

Tablo 3.3 te SF/CH (25/75) filminin %5 GA katkılı farklı kütle oranlarında GLY ile hazırlanan filmlerin mekanik özelliklerine gliserinin etkisi incelenmiş ve gliserinin

artan plastikleştirici etkisiyle mekanik dayanım değerlerinin azaldığı, aynı zamanda uzayabilirlik ve esneklik değerlerinde artma gözlemlenmektedir. Ancak, Young modülü değerlerinde de kayda değer bir azalma meydana gelmektedir.

**Tablo 3.4** %5 GA Katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerine GLY etkisi

| SF/CH(%) | GA(%) | GLY (%) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 25/75 | 5 | 0 | 56,6 ± 1,5 | 3,3 ± 0,2 | 3,37 ± 0,12 |
| 25/75 | 5 | 10 | 32,2 ± 2,6 | 13,9 ± 3,8 | 1,79 ± 0,19 |
| 25/75 | 5 | 20 | 31,8 ± 2,3 | 15,7 ± 2,6 | 1,72 ± 0,08 |
| 25/75 | 5 | 40 | 2,0 ± 0,8 | 11,5 ± 2,3 | 0,02 ± 0,01 |



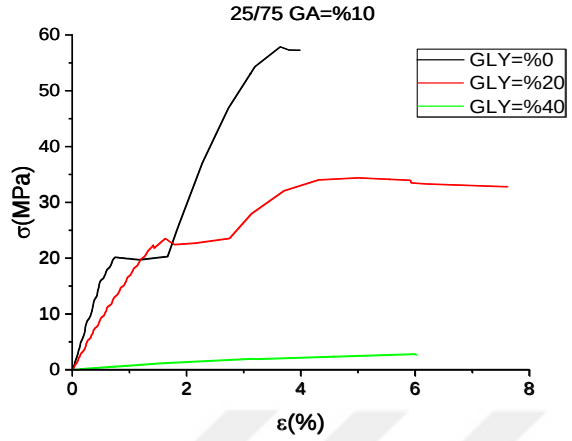

**Şekil 3.9** SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerinin artan GLY oranına göre gerilim-uzama eğrileri

Biyokompozit filmler %10 gliserin etkisiyle mekanik özelliklerde belirgin azalma meydana gelmiştir. Gliserin oranı arttıkça filmlerin moleküller arası etkileşimi zayıflamasından dolayı mekanik dayanımı azalmış ve beraberinde modül değeri de azalmıştır. GLY oranı %20 den büyük olduğunda filmler yara örtüsü ve diğer biyomedikal kullanımları için uygun olmayacağı gözükmektedir. Mekanik özelliklerdeki bu belirgin azalma Şekil 3.5 teki grafikte görülmektedir.

**Tablo 3.5** %5 GA Katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerine GLY etkisi

| SF/CH(%) | GA (%) | GLY (%) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 25/75 | 10 | 0 | 52,5 ± 7,5 | 3,9 ± 0,4 | 2,85 ± 0,39 |
| 25/75 | 10 | 20 | 37,4 ± 4,0 | 7,1 ± 2,2 | 2,11 ± 0,16 |
| 25/75 | 10 | 40 | 2,44 ± 0,7 | 4,9 ± 1,7 | 0,07 ± 0,01 |

Aynı şekilde %10 GA katkılı SF/CH (25/75) filmlerine farklı kütle oranlarında GLY etkisi incelenmiş ve Gly oranı arttıkça mekanik özelliklerin zayıfladığı Tablo 3.5 te görülmektedir.




**Şekil 3.10** SF/CH (25/75) + GA(%10) filmlerinin artan GLY oranına göre gerilim-uzama eğrileri

Her iki Tablo ve grafikler dikkatli bir şekilde incelendiğinde GLY oranı %20 den büyük olduğunda yine filmler yara örtüsü kullanımları için uygun olmayacağı gözükmektedir. Burada özellikle %20 oranında GLY kullanılırken, çapraz bağlama oranı %10 olduğunda, filmlerdeki plastikleştirici etki uzamalarda çok fazla görülmemiş durumdadır. Bu filmlerin daha az esnek olacak yara örtüsü kullanımları için düşünülebileceği fakat daha esnek kullanımlar için çok tercih edilmemesi gerektiği görülüyor.

### 3.1.4 SF/CH Biyokompozit Filmlere Termal İşlemlerin Mekanik Özelliklere Etkisi

Termal etkinin SF/CH biyokompozit filmlere etkisini araştırmak amacıyla hazırlanan filmler üç ve altı gün süreyle farklı sıcaklıklarda (37 $^{o}$C, 65 $^{o}$C ve 100 $^{o}$C) etüvde ısıl işleme maruz kalmış ve bu işlemden sonra mekanik ölçümleri yapılmıştır.

Tablo 3.5 de sabit SF/CH (25/75) kütle oranında farklı GA oranlarıyla katkılı biyokompozit filmlerin, T=37 $^{o}$C den 100 $^{o}$C' ye kadar farklı termal sıcaklık değerlerinde ısıl işlemden sonra mekanik özelliklerdeki değişimler detaylı ve karşılaştırmalı olarak görülmektedir.Tablo 3.5 de özellikle 37 $^{o}$C ve 65 $^{o}$C gibi düşük termal işlem süreçlerinde, artan ısıtma süresine bağlı olarak, her bir örneğin

mekanik özelliklerinde çok belirgin bir değişme görülmemektedir. GA yokken, 100 $^{o}$C de 6 gün sonraki örneklerin modül değeri ve mekanik dayanımda bir azalma ve zayıflama görülmektedir. Fakat farklı GA oranlarında özellikle yüksek sıcaklık ve sürelerde kopma uzaması değerleri az da olsa azalmasına rağmen, rijitlik ve modül değerleri artmaktadır. Sıcaklığın artmasının ve termal enerjinin GA in SF ve CH polimer zincirlerindeki çapraz bağlanma miktarlarını arttırdığından, yapı daha rijit, az esnek ya da uzayabilir olmaktadır. Dolayısıyla, daha küçük uzama değerlerine karşılık gelen çekme dayanım değerlerinde ise bazı azalmalara rastlamaktayız. Özellikle GA %5 ve 10 olan örnekler için, modül değerlerinin hissedilebilir bir biçimde arttığı görülmektedir. Bu da sıcaklığın bu yüksek çapraz bağlama oranlarında daha büyük bir etki yaptığı görülmektedir.

**Tablo 3.6** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinde termal işlemlerin mekanik özelliklere etkisi ve çapraz bağlayıcının rolü

| GA (%) | T($^{0}$C) | t (gün) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 20 | - | 53,4 ± 5,5 | 4,4 ± 0,9 | 2,57 ± 0,12 |
| | 37 | 3 | 50,0 ± 8,1 | 2,4 ± 0,4 | 3,89 ± 0,12 |
| | 37 | 6 | 58,1 ± 7,2 | 2,6 ± 0,3 | 3,93 ± 0,09 |
| | 65 | 3 | 35,9 ± 2,3 | 2,6 ± 0,5 | 3,03 ± 0,18 |
| | 65 | 6 | 57,3 ± 2,6 | 2,9 ± 0,3 | 4,08 ± 0,39 |
| | 100 | 3 | 57,7 ± 4,8 | 3,9 ± 0,6 | 2,89 ± 0,23 |
| | 100 | 6 | 37,1 ± 6,2 | 4,0 ± 1,4 | 2,35 ± 0,47 |
| 2,5 | 20 | - | 60,7 ± 5,6 | 3,7 ± 0,8 | 3,29 ± 0,15 |
| | 37 | 3 | 86,5 ± 2,7 | 3,6 ±0,5 | 4,42 ± 0,30 |
| | 37 | 6 | 95,5 ± 1,3 | 3,2 ± 0,4 | 4,06 ± 0,57 |
| | 65 | 3 | 51,6 ± 4,9 | 3,2 ± 0,4 | 2,79 ± 0,17 |
| | 65 | 6 | 38,4 ± 7,0 | 2,2 ± 0,1 | 3,86 ± 0,48 |
| | 100 | 3 | 75,9 ± 6,9 | 3,5 ± 0,4 | 4,42 ± 0,34 |
| | 100 | 6 | 71,6 ± 7,8 | 3,3 ± 0,4 | 3,83 ± 0,45 |
| 5 | 20 | - | 56,5 ± 1,5 | 3,3 ± 0,2 | 3,38 ± 0,12 |
| | 37 | 3 | 70,9 ± 1,8 | 3,2 ± 0,4 | 4,06 ± 0,39 |
| | 37 | 6 | 55,5 ± 6,6 | 2,3 ± 0,1 | 4,95 ± 0,41 |
| | 65 | 3 | 40,3 ± 12,1 | 2,1 ± 0,7 | 3,39 ± 0,34 |
| | 65 | 6 | 46,0 ± 6,1 | 2,2 ± 0,3 | 3,98 ± 0,39 |
| | 100 | 3 | 64,2 ± 3,9 | 3,5 ± 0,2 | 3,71 ± 0,43 |
| | 100 | 6 | 60,7 ± 1,3 | 2,9 ± 0,5 | 3,76 ± 0,47 |
| 10 | 20 | - | 56,8 ± 1,5 | 3,9 ± 0,4 | 2,85 ± 0,39 |
| | 37 | 3 | 71,8 ± 7,9 | 2,9 ± 0,6 | 4,17 ± 0,09 |
| | 37 | 6 | 68,9 ± 6,7 | 2,8 ± 0,2 | 4,68 ± 0,04 |
| | 65 | 3 | 84,4 ± 12,1 | 3,3 ± 0,6 | 3,72 ± 0,47 |
| | 65 | 6 | 63,6 ± 3,8 | 3,0 ± 0,4 | 4,34 ± 0,38 |
| | 100 | 3 | 58,5 ± 4,3 | 2,6 ± 0,3 | 3,96 ± 0,28 |
| | 100 | 6 | 40,3 ± 7,2 | 2,3 ± 0,3 | 4,20 ± 0,55 |

Burada sıcaklık işlemi özellikle modül değerlerini önemli derecede arttırmıştır. Bunun da nedeninin özellikle GA in sıcaklık etkisiyle daha fazla çapraz bağlanmaya neden olabileceğini düşünmekteyiz.

**Tablo 3.7** SF/CH (25/75) Biyokompozit filmlerinde termal işlemlerin mekanik özelliklere etkisi ve çapraz bağlayıcının rolü

| | T ($^0$C) | t (gün) | $\sigma_ç$ (MPa) | $\varepsilon_k$ (%) | $E_y$ (GPa) |
|---|---|---|---|---|---|
| GA=5 GLY=10 | 20 | - | 32,2 ± 2,6 | 13,9 ± 3,8 | 1,79 ± 0,19 |
| | 37 | 3 | 42,1 ± 5,3 | 6,8 ± 1,9 | 2,61 ± 0,24 |
| | 37 | 6 | 51,7 ± 4,4 | 6,4 ± 1,0 | 3,08 ± 0,26 |
| | 65 | 3 | 47,0 ± 6,0 | 3,1 ± 0,5 | 3,62 ± 0,29 |
| | 65 | 6 | 56,5 ± 8,7 | 3,2 ± 0,6 | 3,66 ± 0,29 |
| GA=5 GLY=20 | 20 | - | 31,8 ± 2,3 | 15,7 ± 2,6 | 1,72 ± 0,08 |
| | 37 | 3 | 61,1 ± 1,5 | 5,6 ± 0,6 | 2,84 ± 0,35 |
| | 37 | 6 | 31,2 ± 2,7 | 6,0 ± 1,8 | 1,99 ± 0,33 |
| | 65 | 3 | 66,6 ± 8,4 | 3,3 ± 0,8 | 3,75 ± 0,18 |
| | 65 | 6 | 40,7 ± 7,5 | 3,7 ± 1,5 | 2,77 ± 0,46 |
| GA=10 GLY=20 | 20 | - | 37,4 ± 4,0 | 7,1 ± 2,2 | 2,11 ± 0,16 |
| | 37 | 3 | 57,6 ± 3,3 | 4,7 ± 1,2 | 2,91 ± 0,27 |
| | 37 | 6 | 43,4 ± 3,5 | 6,2 ± 2,1 | 2,52 ± 0,32 |
| | 65 | 3 | 89,1 ± 3,6 | 3,7 ± 0,3 | 4,49 ± 0,14 |
| | 65 | 6 | 61,4 ± 3,9 | 4,0 ± 1,4 | 3,48 ± 0,48 |

Tablo 3.6 da SF/CH(25/75)+%5 GA +%10 GLY etkisiyle elde edilmiş filmler 37 C ve 65 C deki termal işlemlerden sonra özellikle mekanik özelliklerden, Mekanik dayanım değerlerinin ve modül değerlerinin arttığı bunun tersine ise, filmlerin uzayabilirlikleri önemli derecede azaldığı görülmektedir. 37 C de filmlerin kopma uzama değerleri yaklaşık %50 azalırken, sıcaklık 65 C ise, kopma uzaması değerlerinin yaklaşık dörtte birine düştüğü ve artan ısıtma süresiyle bunların çok etkilenmediği yani değişmediği görülmektedir.

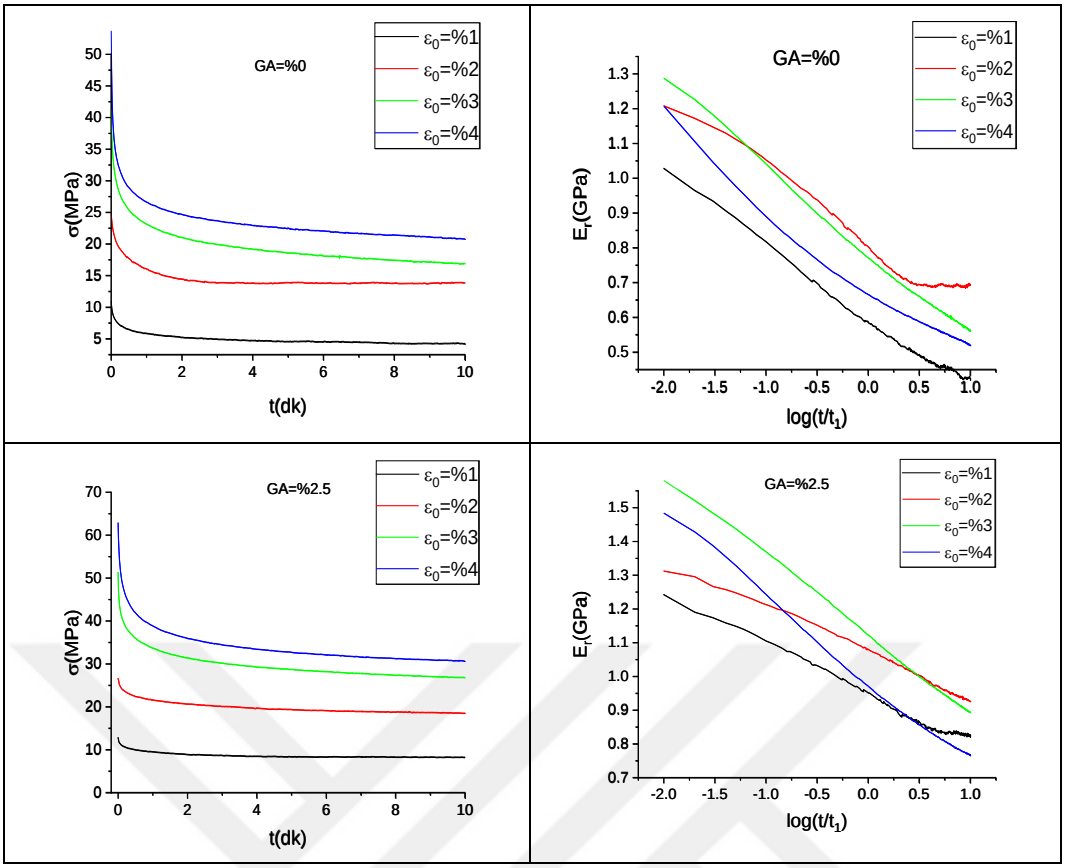
Ayrıca filmler fırında termal işleme maruz kalma sürecinde kısa bir süre sonra filmlerin uzunluklarında az da olsa (mm mertebesinde) azalma olduğu görülmüştür. Bunların ise, yapıda bulunan su molekülleri ve düşük sıcaklıklarda buharlaşabilen uçucu ürünlerin buharlaşmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Bunun bir yansıması olarak, film içindeki polimer zincirleri arasındaki boşluk ve mesafelerin azalmasından dolayı, moleküller arası etkileşme kuvvetlerinin arttığını ve bunlarında filmlerin mekanik dayanım ve elastik modüllerinde önemli artmalara neden olduğu düşünülmektedir.

SF/CH(25/75)+%5 GA +%20 GLY filmlerde, yani gliserol oranı %10 ile karşılaştırdığımızda, iki katına çıktığında ise, 3 gün süre ile 37 C deki termal işlemlerde, kopma uzama değeri yaklaşık %50 azalırken, Young modülü değeri, yaklaşık %65 oranında artmıştır. Filmin mekanik dayanımı ise, 55 MPa civarına çıkmıştır. 65 C de ise filmlerin daha rijitleştiği, uzayabilirliğin yine yaklaşık olarak ¼ oranına düşerken, modül değerinin yaklaşık %120 arttığı görülmüştür. Artan ısıtma süresi ile bu değerlerin dalgalandığı görülmektedir.

%10 GA ile çapraz bağlı ve %20 Gly oranındaki filmlerin mekanik özellikleri, oda sıcaklığında termal işlem görmemiş ile karşılaştırdığımızda, daha düşük GA çapraz bağlı filmlerden farklı olarak, bu filmlerin düşük sıcaklıkta, kopma uzama değerlerinin %5 GA durumu ile karşılaştırdığımızda %50 azalma durumu burada gözlenmeyip, bu değerlerin çok değişmediği görülmektedir. 65 C deki durum ile karşılaştırdığımızda ise, uzama değerleri ¼ değerlerine düşmek yerine, %50 azalma eğilimi görülmektedir. Bu filmlerin, termal işleme karşı, diğer GA oranlı filmlerden daha dayanıklı ve termal işlem görmemiş filmlere göre uzayabilirliklerini daha az kaybettiği görülmektedir. Fakat termal işlem görmüş bütün filmlerde genel olarak, bir rijitleşme ve mekanik dayanımlarda artmalar görülmekle beraber, filmlerin çalışılabilecek uzama aralıkları, yani uzayabilirlik limitlerinde azalmalar meydana gelmektedir. Bu değişimlere neden olan yapısal değişimlerin ise, özellikle moleküller arası etkileşmelerin nisbeten artarak ve aynı zamanda GA in sıcaklıkla bağlantılı olarak polimer zincirlerindeki çapraz bağlanma etkinliğinin nisbeten arttığından dolayı daha rijit bir yapı oluştuğunu düşünmekteyiz.

## 3.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Gerilim-Gevşeme (Stress-Relaxation) ve İyileşme Süreçleri

SF/CH (25/75) filmlere çeşitli oranlarda (%0-10) GA katkısı ekledikten sonra, bu filmlerin 10 dakikalık süre içinde değişik uzama seviyelerinde gerilim ve relaksasyon süreçleri gözlemlenmiş, ardından da aynı örneklerin gerilim ve relaksasyon sürecinin ardından iyileşme süreçleri uzun zaman dilimleri için araştırılmıştır. Şekil 3.6 da bazı SF/CH(25/75) + GA(%) örnekleri için gerilim relaksasyon eğrileri ve gerilim gevşeme modüllerinin zamana bağlı değişimleri zamanın logaritma değerleri alınarak çizilmiştir.



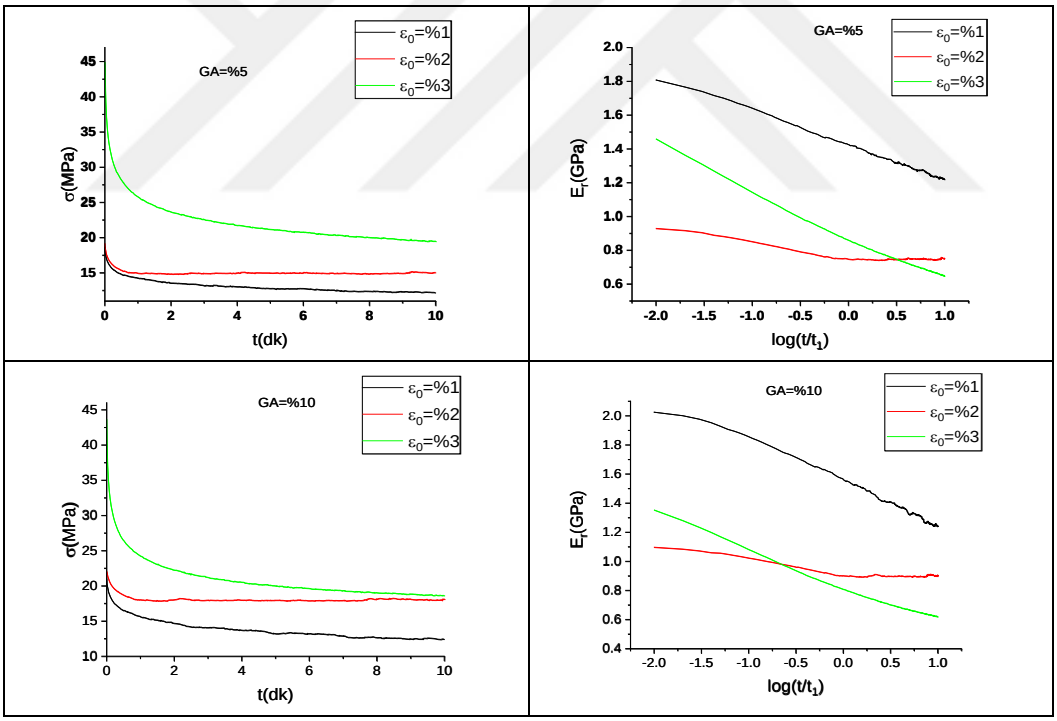

**Şekil 3.11** SF/CH(25/75) + GA(%) filmlerinin kısa süreli gerilim gevşeme eğrileri

Yukarıdaki şekilde ve aşağıdaki şekilde genel karakteristik olarak, düşük uzama seviyelerine karşılık gelen gerilim seviyelerinden relaksasyonun daha hızlı olduğu ve artan gerilim seviyeleri ile bu sürecin daha yavaş olduğu görülmektedir. Fakat genel olarak relaksasyon sürecinin ilk 1 dakikası içinde, gerilmede maksimum bir azalma meydana gelirken hızlı bir relaksasyon gözlenirken, daha sonra gevşeme sürecinin hızının daha yavaş olduğu söylenebilir.

Her bir deformasyon seviyesinde, $E_r$ relaksasyon modülü $E_\infty$ denge modülünden çok daha büyük olduğundan kuvvet de daha büyüktür. Zaman içinde, polimer film yapısındaki birimlerin yeniden gruplaşmasından dolayı örnekte kuvvet azalması meydana gelir ve modül değeri azalır.

Tabo 3.7 de, gerilim gevşeme sürecinde, artan GA oranlarının bu filmlerin ilk ani gerilim düşmesinde, relaksasyona uğramış gerilim oranı değerlerine yaptığı etki görülmektedir. Çapraz bağlama etkisi olmadan, filmlerdeki ilk gevşeme sürecinde, filmlerin üzerindeki gerilme değerlerinin yaklaşık % 50 ye yakın oranının gevşemeye uğradığı görülmektedir. Fakat, GA etkisi ile polimer zincirleri arasına efektif kovalent çapraz bağlamalar meydana geldiğinden, bu çapraz bağların da

gerilimin azalma hızına etki yaptığı görülmektedir. GA katkılı örnekleri kendi aralarında karşılaştırdığımızda, düşük deformasyon değerleri için yani lineer elastik bölge içindeki deformasyonlar için, gevşemeye uğramış gerilme kısmının yaklaşık %25 civarında olduğu ve bu oranın artan GA ile pratik olarak çok değişmediği görülmektedir. Özellikle %2 ve %3 ilk uzama ($\varepsilon_{pe}$) deformasyon değerleri gerilim-uzama eğrilerinde başlangıç elastik deformasyon bölgesinden plastik deformasyon bölgesine geçiş bölgesinde olduğundan, artan deformasyon ile polimer zincir ve moleküllerinde meydana gelen deformasyonlarda artmaktadır. Dolayısıyla, gerilmiş ve oryantasyonları değişmeye başlayan zincir ve yapısal birimlerin denge durumlarını alma sürecinde daha fazla ani gerilim gevşemesi ve daha fazla gerilim harcandığını görmekteyiz. Bu oranlarlar, sabit bir GA oranındaki filmde artan deformasyon miktarı ile arttığı görülmektedir. Aynı zamanda, sabit deformasyon seviyesinde artan GA çapraz bağlanma etkisi ile bu gevşemiş gerilim oranı artmaktadır.



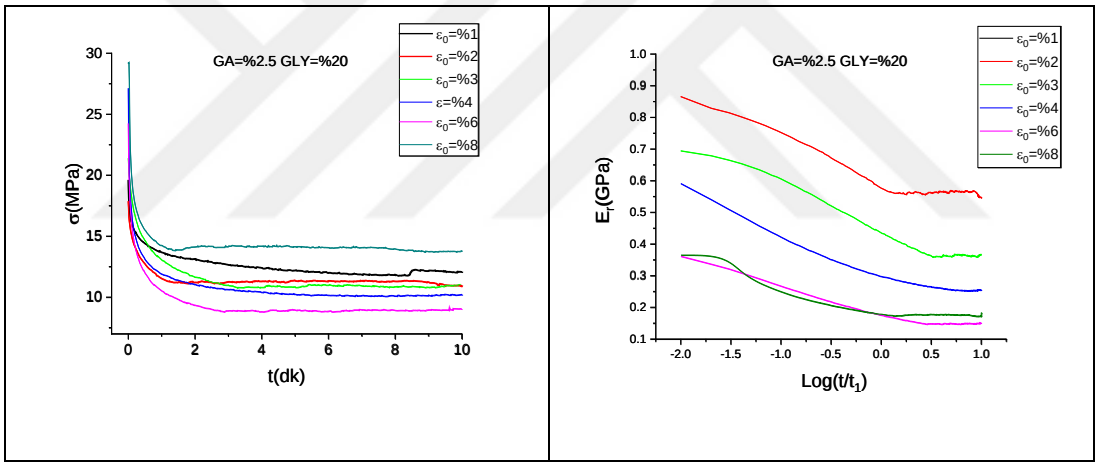

**Şekil 3.12** SF/CH (25/75) + GA(%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri

**Tablo 3.8** Artan GA oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri

| t=1 dk | GA(%) | $\varepsilon_0$=%1(dk) | $\varepsilon_0$=%2(dk) | $\varepsilon_0$=%3(dk) | $\varepsilon_0$=%4(dk) |
|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta\sigma/\sigma_0$ (%) | 0 | 46.7 | 35.6 | 43.7 | 50.4 |
| | 2,5 | 25.6 | 18.7 | 34.3 | 38.1 |
| | 5 | 23.5 | 21.9 | 42.6 | - |
| | 10 | 25.7 | 18.3 | 44.4 | - |

### 3.2.1 Gerilim-Gevşeme Süreçlerine Plastikleştirici Etkisi

Alttaki şekilde, düşük GA (%2,5) katkılı, CH/SF(25/75) kompozit filmlerinde aynı zamanda plastikleştirici etkisinin filmlerin gerilim-gevşeme eğrilerine yaptığı etkiler görülmektedir. Her bir uzama seviyesinde relaksasyon modüllerinin zamana bağlı değişimleri şekil 3.8 da görülmektedir.




**Şekil 3.13** SF/CH (25/75) + GLY (%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri

**Tablo 3.9** Artan GLY oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri

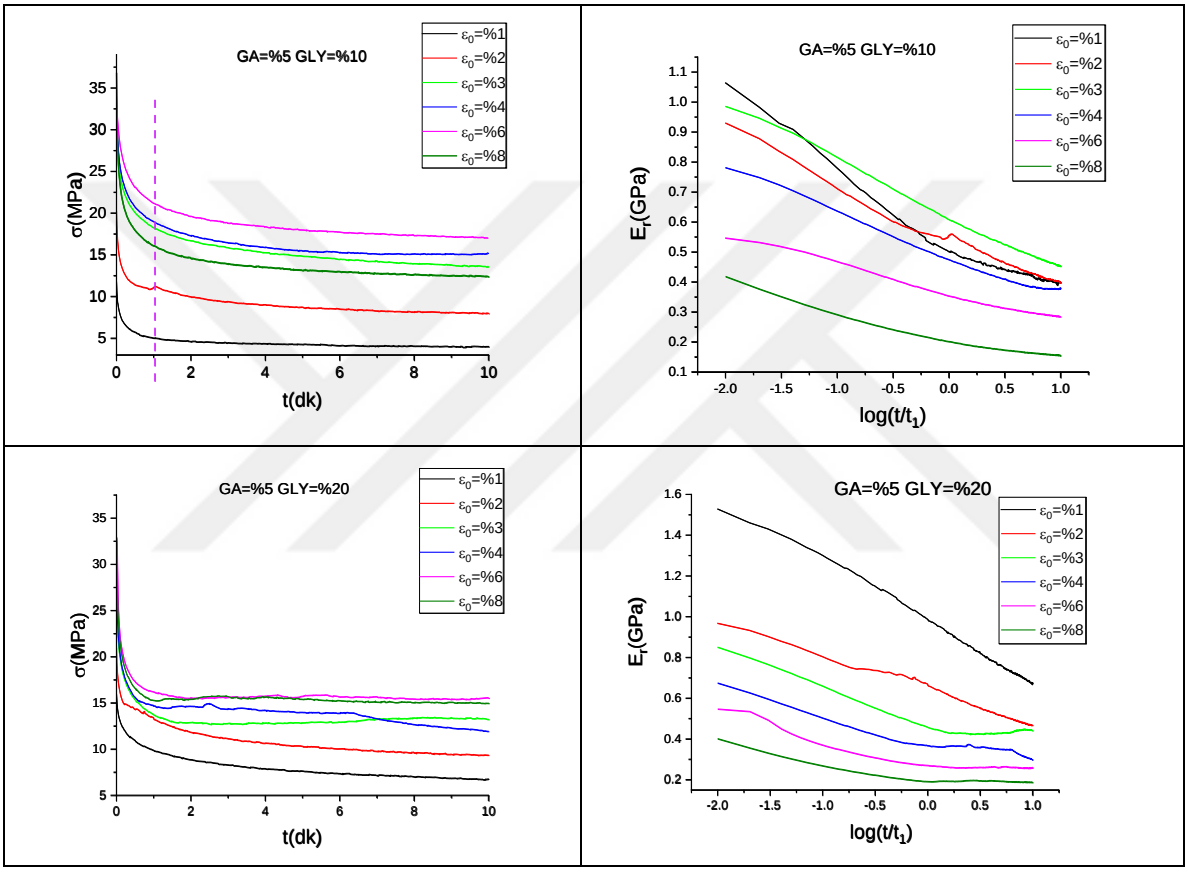
| t=1dk, %2.5 GA | GLY (%) | $\varepsilon_0$=%1 (dk) | $\varepsilon_0$=%2 (dk) | $\varepsilon_0$=%3 (dk) | $\varepsilon_0$=%4 (dk) | $\varepsilon_0$=%6 (dk) | $\varepsilon_0$=%8 (dk) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta\sigma/\sigma_0$ (%) | 0 | 25.6 | 18.7 | 34.3 | 38.1 | - | - |
| | 20 | 30.1 | 35.3 | 38.9 | 56.1 | 56.5 | 51.2 |

Düşük GA (%2.5) oranında ve %20 GLY katkılı örneklerde gerilim-gevşeme sürecinde artan deformasyon seviyeleri ile sürecin birinci dakikasında relaksasyona uğrayan gerilim oranı %30 lardan %56 civarına artmıştır. Sabit bir deformasyon

oranında GLY katkılı örnekteki gevşemiş gerilim oranı gliserinsiz örnektekinden daha fazla olduğu görülmektedir.

GA oranı %5 olan örneklere farklı GLY katkısının örneklerin gerilim-gevşeme ve relaksasyon modülü eğrilerine etkileri Şekil 3.9 da görülmektedir.

Gerilim-gevşeme süreçlerinde ilk 1- 2 dk da hızlı relaksasyon daha sonra daha yavaş şekilde gerçekleşmektedir. Relaksasyon modülü log(t) ile lineer değişim göstermektedir.




**Şekil 3.14** SF/CH (25/75) + GLY (%) filmlerin gerilim-gevşeme eğrileri

**Tablo 3.10** Artan GLY oranlarının filmlere uygulanan deformasyonların t=1 dk süresinde gerilimde azalma değerleri

| t=1(dk) GA=%5 | GLY (%) | $\varepsilon_0$=%1 (dk) | $\varepsilon_0$=%2 (dk) | $\varepsilon_0$=%3 (dk) | $\varepsilon_0$=%4 (dk) | $\varepsilon_0$=%6 (dk) | $\varepsilon_0$=%8 (dk) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $\Delta\sigma/\sigma_0$(%) | 0 | 23,5 | 21,9 | 42.60 | - | - | - |
| | 10 | 57,41 | 45,0 | 42,26 | 43,24 | 37,53 | 56,3 |
| | 20 | 38,14 | 36,8 | 46,44 | 50,0 | 50.86 | 53,6 |

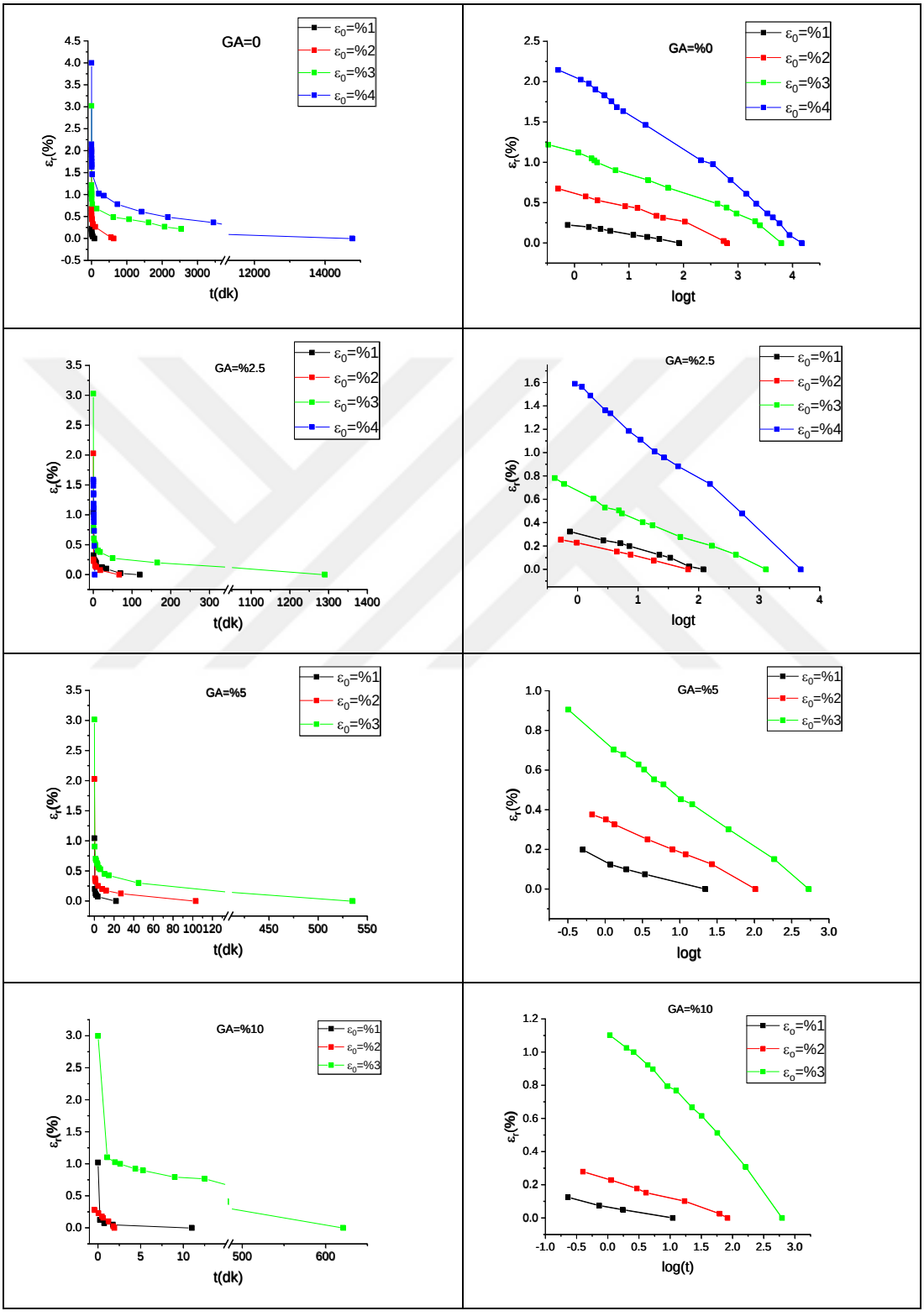
Tablo 3.9 daki sonuçlardan, gliserol katkısı ile artan deformasyon seviyesi ile relaksasyon sürecinin ilk başlangıç kısmındaki gevşemeye uğramış gerilim oranlarının genel olarak plastikleştirici etkisi olmadan elde edilmiş filmlerin oranlarında daha fazla olduğu görülmektedir. Düşük gliserol etkisi ile deformasyon seviyesi artarken, gevşemiş olan gerilim oranında spesifik bir eğilim görülmezken, gliserol oranı %20 yani iki katına çıkarıldığında ise gevşemeye uğramış gerilim oranlarının genel olarak arttığı görülmektedir. Burada özellikle GLY etkisi ile zincirler arasındaki etkileşmeler (Hidrojen bağları, wan-der walls kuvvetleri vb.) değiştiği için ve özellikle zayıfladığı bilinmektedir. Uygulanan gerilme ve uzama etkisi ile deformasyon seviyesine bağlı olarak polimer zincirleri, kristal birimleri, GA ile çapraz bağlamalar, fiziksel çapraz bağlamalar (H bağları) değişmektedir. Dolayısıyla gerilmiş film yapısında denge durumuna ulaşma sürecinde bu gevşemeye uğramış gerilim oranının artması temel olarak GLY ve polimer zincirleri arasındaki -H bağlarının belirleyici olduğunu düşünmekteyiz. Bu hızlı iyileşme kısmı -H bağlarının relaksasyon süreçlerinden önemli derecede etkilenmektedir.

### 3.2.2 SF/CH Kompozit Filmlerde Deformasyonların İyileşme Süreçleri

Alttaki şekilde, farklı oranlarda GA katkılı SF/CH(25/75) kompozit filmlerinde, filmlerin uygulanan ilk uzama-deformasyon değerlerinden sonra bu deformasyonların iyileşme süreçlerini gösteren eğriler Şekil 3.10 de görülmektedir. Bu eğrilerde $\varepsilon_r$ filmlerde zamana bağlı kalıcı deformasyonu göstermektedir. Aynı zamanda filmlere uygulanan uzama deformasyonlarının tamamıyla iyileşme süreleri yani filmlerin deformasyona maruz kalmadan önceki başlangıç uzunluk değerlerine ulaşma süreleri Tablo 3.10 da görülmektedir.

Şekil de herhangi bir film örneğinde (sabit GA oranında) iyileşme eğrilerinden her deformasyon seviyesinde sürecin ilk birkaç dakikasında iyileşme sürecinin hızlı ve daha sonra yavaş bir şekilde devam ettiği görülmektedir. Özellikle %1-2 deformasyon seviyeleri elastik deformasyon bölgesinde olduğu için bu seviyelerden hızlı ve kısa bir sürede geriye dönüş olduğu Tablo 3.10 da görülmektedir. Fakat %3 ve %4 gibi deformasyon seviyeleri plastik deformasyona geçiş bölgesinde ve plastik deformasyon bölgesinde olduğu için bu seviyelerden geri dönüşler çokla daha uzun zaman aldığı görülmektedir.

Burada bazı GA seviyelerinde özellikle yüksek uzama değerlerinde deneyler yapılamamıştır, çünkü bu filmler artan GA ile daha rijitleştiklerinden uzayabilirlikleri azalmıştır.




**Şekil 3.15** SF/CH (25/75) + GA(%) filmlerin farklı ilk uzama deformasyon seviyelerinden sonra deformasyonların iyileşme eğrileri

Tablo 3.10 daki değerleri karşılaştırdığımızda artan GA çapraz bağlayıcı etkisi ile bir deformasyon seviyesinden tam iyileşme sürelerinin azaldığını dolayısı ile çapraz bağlamanın bu iyileşme sürecini hızlandırdığı görülmektedir. bu küçük deformasyon değerlerinde zincirler uzama yönünde yönlenirken ve gerilirken çapraz bağlar nedeniyle çok fazla ayrılma ve kopma olmadığını çapraz bağların bu zincirlerin hareketliliğini kısıtlamaktadır. Bu sebepten dolayı gerilme etkisi ortadan kalkınca çapraz bağlar nedeni ile yapıdaki zincir ve yapısal birimler önceki hallerine daha hızlı ve kısa sürede geldiklerini düşünmekteyiz. Daha yüksek deformasyonlar için filmdeki yapısal birimler ve zincirler daha fazla açılıp, gerilip ve yönleneceği için bu deformasyon seviyelerinden tam iyileşme süreleri artmaktadır.

**Tablo 3.11** SF/CH(25/75) + GA(%) filmlere uygulanan deformasyonların gerilimde azalma değerleri

| GA (%) | $\varepsilon_0$ %1(dk) | $\varepsilon_0$ %2(dk) | $\varepsilon_0$ %3(dk) | $\varepsilon_0$%4(dk) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 83 | 626 | 6243 | 14771 |
| 2,5 | 67 | 198 | 1290 | 4847 |
| 5 | 22 | 103 | 674 | - |
| 10 | 11 | 82 | 621 | - |

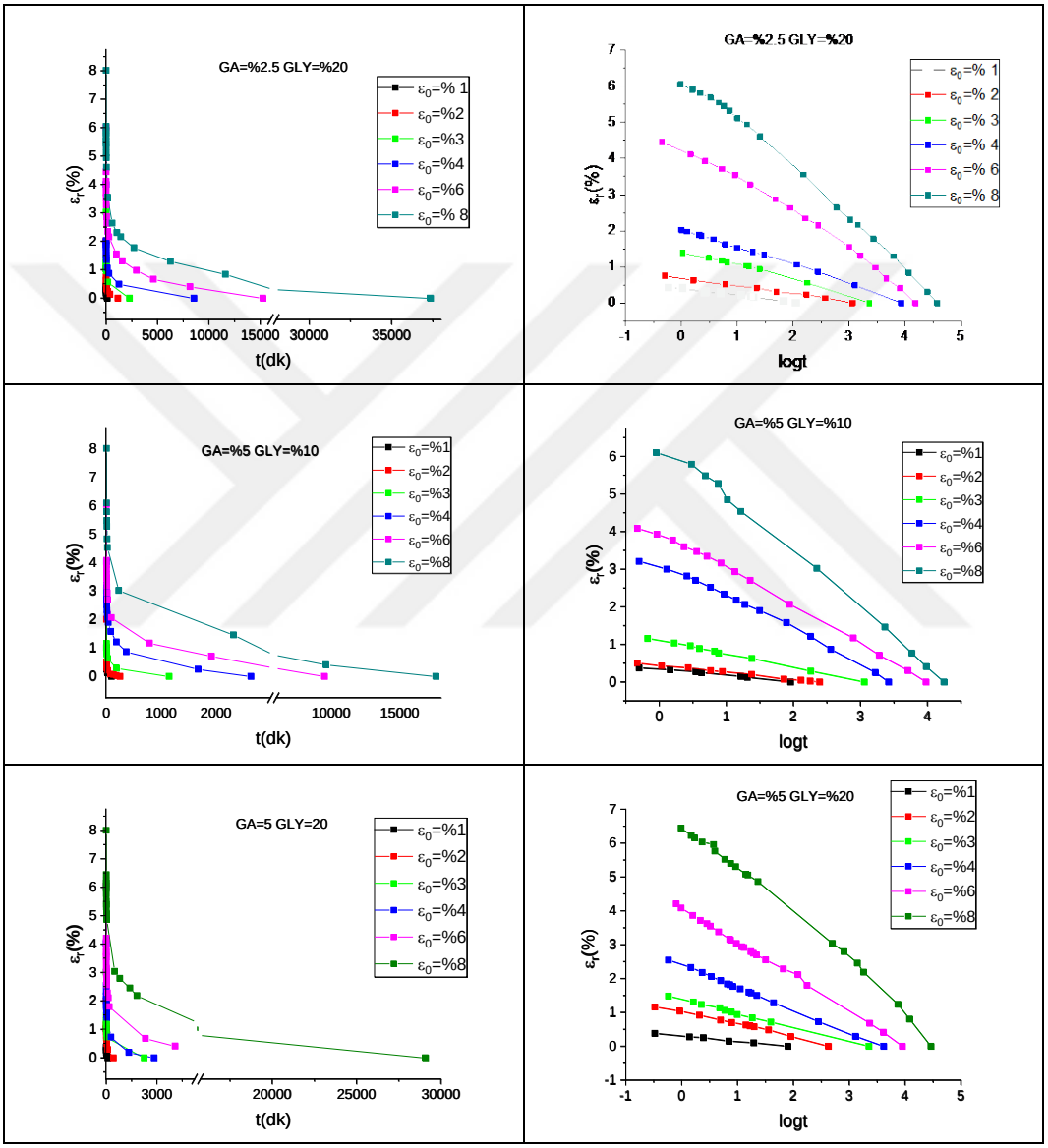
Şekil 3.10 deki eğrilerde kalan deformasyonun zamana bağlı değişimi Logt ile lineer orantılı olduğu ve aşağıdaki denklem ile ifade edileceği görülmektedir.

$$\varepsilon_r = \varepsilon_{io} - A_i \log(t/t_1)$$

$\varepsilon_r$ kalıcı deformasyon uzama değerini, $\varepsilon_{io}$ birinci dakikadaki uzama değeri ve $A_i$ lineer doğrunun eğimidir aynı zamanda sürecin hızını işaret eder. Bu lineer eğrilerden uzama deformasyon seviyesi artarken o iyileşme süreçlerinde geriye dönüş hızının daha fazla olduğu görülmektedir. bu lineer denklem kullanılarak herhangi bir t anında uygulanan belirli bir deformasyondan ($\varepsilon_0$) örnek üzerinden kalan kalıcı deformasyon miktarını kolaylıkla belirleyebiliriz.

GA (%2.5 ve %5) katkılı SF/CH(25/75) farklı oranlarda GLY eklenmesiyle elde edilen kompozit filmlerinde, filmlerin uygulanan ilk uzama-deformasyon değerlerinden sonra bu deformasyonların iyileşme süreçlerini gösteren eğriler Şekil 3.11 de görülmektedir. Aynı zamanda filmlere uygulanan uzama deformasyonlarının tamamıyla iyileşme süreleri Tablo 3.11 de görülmektedir.

GLY katkısı ile elde edilen iyileşme eğrileri GLY katkısı olmadan elde dilen eğrilere benzemektedir. Yine artan ilk uzama deformasyon seviyeleri ile filmlerin tam iyileşme sürelerinin arttığı görülmektedir. Bu deformasyon seviyelerinden zaman içinde kalıcı deformasyon miktarlarını karakterize eden benzer lineer denklemler elde edileceği görülmektedir. Artan deformasyon seviyeleri ile iyileşme süreçlerinin hızlarının arttığı lineer eğrilerin eğimlerinden anlaşılmaktadır.




**Şekil 3.16** Gliserin Katkılı SF/CH(25/75) + GA(%) filmlerin farklı ilk uzama deformasyon seviyelerinden sonra deformasyonların iyileşme eğrileri

Tablodaki değerler karşılaştırıldığında farklı oranlarda çapraz bağlayıcı katkılı örneklere GLY katkısı yapıldığında her deformasyon değerinden tam iyileşme sürelerinin arttığı görülmektedir. Ayrıca sabit %5 GA katkılı örneklerde plastikleştirici etkisi oranı 2 katına (%20 GLY) çıktığında iyileşme sürelerinin daha

da arttığı görülmektedir. Dolayısıyla plastikleştirici etkinin, çapraz bağlayıcı etkinin iyileştirici etkisinin tersine iyileşme süreçlerini yavaşlattığı ve olumsuz etkilediği görülmektedir.

**Tablo 3.12** Gliserin katkılı SF/CH (25/75) + GA(%) filmlere uygulanan deformasyonların gerilimde azalma değerleri

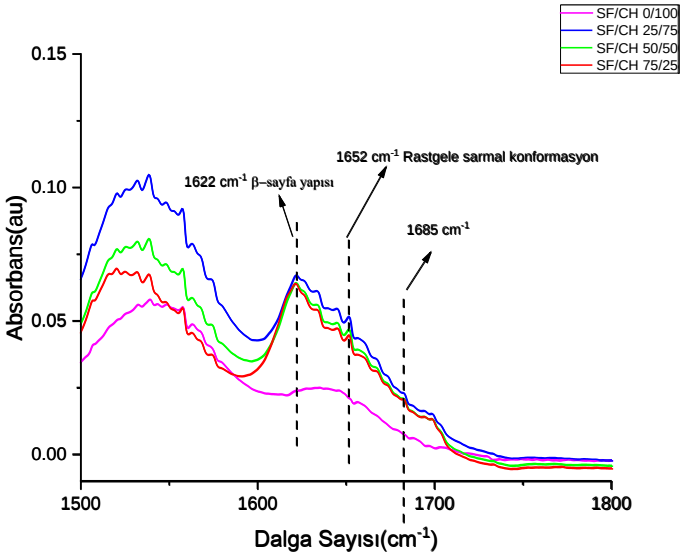
| GA(%)+GLY(%) | $\varepsilon_0$ %1 (dk) | $\varepsilon_0$ %2 (dk) | $\varepsilon_0$ %3 (dk) | $\varepsilon_0$%4 (dk) | $\varepsilon_0$ %6 (dk) | $\varepsilon_0$ %8 (dk) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| GA( 2,5 | 67 | 198 | 1290 | 4847 | - | - |
| GA(2,5)+GLY(20) | 113 | 1150 | 3496 | 8540 | 15260 | 37358 |
| GA(5) | 22 | 103 | 535 | - | - | - |
| GA(5)+GLY(10) | 91 | 247 | 1143 | 2635 | 9511 | 17633 |
| GA(5)+GLY(20) | 95 | 424 | 2249 | 4134 | 11261 | 29079 |

GLY etkisi ile zincirler arasındaki mesafenin artması ve zincirler arası etkileşmelerin zayıflayarak amorf bölgelerin artarak aynı zamanda zincirlerin mobilitelerinin arttığı bilinmektedir. Uygulanan deformasyon seviyelerinden zincirlerin ve yapısal birimlerin eski başlangıç durumlarını alma sürecinde özellikle amorf zincir yapılarındaki deformasyonların bu yapıların eski halini almasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Çünkü hem GLY molekülleri hem de zincirler arasındaki H bağı oluşumları ve/veya kırılmaları bu süreçleri önemli derecede etkilemektedir. Artan aşırı miktardaki GLY molekülleri ise yapıda çeşitli kümeleşmeler ve amorf düzensizlikler meydana getireceğinden süreci daha da yavaşlattığı düşünülmektedir.

## 3.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Spektroskopik Özellikleri

### 3.3.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerin Ft-IR/ATR Spektrumlarına Artan SF Oranlarının Etkisi

Şekil 3.12 da artan SF kütle oranlarının SF/CH biyokomopozit filmlerin Ft-IR/ATR spektrumlarına etkisi görülmektedir.




**Şekil 3.17** SF/CH kompozit filmlerin Ft-IR/ATR spektrumları 1500-1800 $cm^{-1}$ aralığında

**Tablo 3.13** Amide I bölgesinde gözlenen piklerin SF/CH kütle oranlarına göre değişimleri

| SF/CH | Amide I (β-yapı) | | Rastgele Sarmal(α-heliks) | | β-dönüş | | C.I (Amid I) | β-Dönüş |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| % | B.P | $A_{1620}$ | B.P | $A_{1652}$ | B.P | $A_{1685}$ | $A_{1620}/A_{1652}$) | $A_{1685}/A_{1620}$ |
| (0/100 | 1633 | 0,0246 | - | | - | - | | - |
| (25/75) | 1622 | 0,067 | 1651 | 0,0515 | 1682,3 | 0,0229 | 1,30 | 0,340 |
| (50/50) | 1621 | 0,0642 | 1651 | 0,0467 | 1682,5 | 0,021 | 1,37 | 0,327 |
| (75/25) | 1621 | 0,0639 | 1651 | 0,0443 | 1682,6 | 0,0206 | 1,44 | 0,322 |

Şekil 3.12 da 1590 $cm^{-1}$ - 1700 $cm^{-1}$ aralığındaki pikler ipeğin amid I yapısını yapısını gösterir. 1620 $cm^{-1}$ 'de görülen pik β-yapı konformasyonunu, 1652 $cm^{-1}$ civarında görülen pik rastgele sarmal yapıları ve α-helisel konformasyonunu, 1685 $cm^{-1}$ 'te görülen pik ise β-dönüşlere atfedilmektedir [60]. FTIR spektrumundaki amid bantlarının kayması, karışımdaki bileşenler arasında, yani ipek fibroin ve kitosan arasında moleküler bir etkileşim olduğunu gösterir [3].

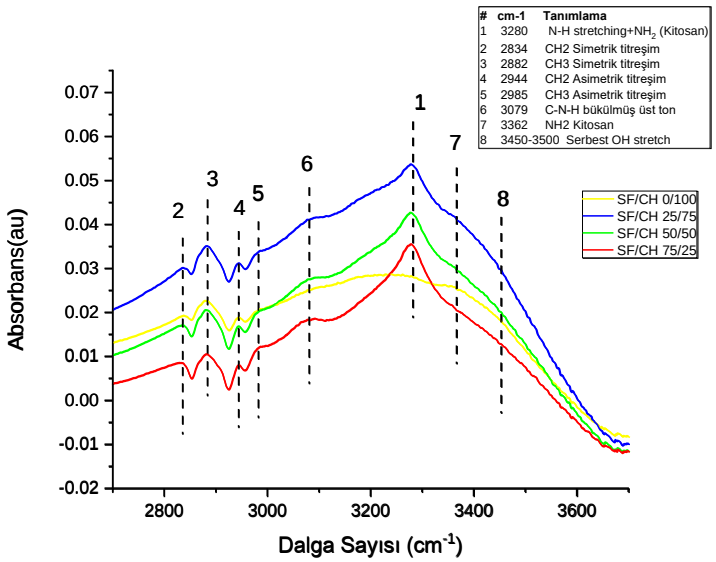
Tablo 3.12 özellikle beta konformasyon yapıların rastgele sarmal yapılara oranlarından, artan silk fibroin katkısıyla beta konformasyon miktarlarının bir miktar arttığını söyleyebiliriz. 1620 civarındaki bantların düşük dalga sayısına kayması SF 'ye ait hidrojen bağlarından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Bu değişimlerden H bağlarının arttığını söyleyebiliriz. Kristallenme indeksinin de

arttığını dolayısıyla düzenli bölgelerin arttığını görmekteyiz. Bu sonuçlardan, SF artışının SF/CH filmlerinin düzenli bölgelerine ve beta kristal yapılarında az da olsa artmaya neden olduğu söylenebilir.

SF/CH karışım filmlerinin FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi) spektrumları, bu iki biyopolimer arasındaki kimyasal etkileşimleri ve yapısal değişimleri anlamak için önemli bilgiler sunar. Tablo 3.13, literatürde bildirilen FTIR spektrumlarındaki karakteristik pikleri ve tanımlamalarını göstermektedir.

**Tablo 3.14** SF/CH kompozit filmlerde gözlemlenen piklerin tanımları ve dalga sayı değerleri

| Bant Dalga Sayısı, $cm^{-1}$ | Tanım | Referans |
|---|---|---|
| 3200-3600 $cm^{-1}$ | -OH gerilme ve bükülme titreşim moduna karşılık gelen geniş tepe noktaları | [3], [23] |
| 3450 $cm^{-1}$ | Kitosanın -$NH_2$ gerilme bantları | [61], [62] |
| 3297 $cm^{-1}$ ve 3366 $cm^{-1}$ | $NH_2$ bant (kitosan)+Amide A N-H str (ipek) | [1], [62] |
| 3500 $cm^{-1}$ ve 2800 $cm^{-1}$ | -CH ve -$CH_2$ gruplarındaki C-H gerilme titreşimleri | [43], [63] |
| 2972 $cm^{-1}$ ve 2930 $cm^{-1}$ | -$CH_3$ ve -$CH_2$ asimetrik titreşim modu | [43] |
| 2870 $cm^{-1}$ ve 2843 $cm^{-1}$ | -$CH_3$ ve -$CH_2$ simetrik titreşim modu | [43] |
| 1590 $cm^{-1}$ - 1700 $cm^{-1}$ | Amid I (C=O gerilme) protein yapısındaki karbonil gruplarının gerilme titreşimlerini gösterir | [3], [60], [64] |
| 1420 $cm^{-1}$ - 1590 $cm^{-1}$ | Amid II (N-H bükülme ve C-N bükülme titreşimi) | [60], [63], [65] |
| 1280 $cm^{-1}$ - 1190 $cm^{-1}$ | Amid III (N-H bükülme titreşimi ve C-N gerilme titreşimi) | [60], [65] |
| 1460 $cm^{-1}$ - 1350 $cm^{-1}$ | C-H bükülme titreşimi ($CH_3$ simetrik deformasyon modu) | [3], [60] |
| 1030 $cm^{-1}$ - 1070 $cm^{-1}$ | Kitosan ve fibroin polisakkarit yapıdaki C–O-C gerilme titreşimleri | [11], [18], [61] |
| 900 $cm^{-1}$ | C-H iskelet gerilmesi (sakkarit yapısı) | [60], [64] |




**Şekil 3.18** SF/CH biyokompozit filmlerin 2600-3800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları

3200-3600 $cm^{-1}$ geniş aralığında görülen pik, bazı kaynaklarda -OH gerilme ve bükülme titreşim moduna karşılık gelen geniş tepe noktalarına atfedilmektedir [3], [23].

**Tablo 3.15** -OH bölgesinde gözlenen piklerin SF/CH kütle oranlarına göre değişimleri

| (SF/CH) | $A_{3362}/A_{3280}$ | $A_{2979}/A_{2943}$ | $A_{2883}/A_{2832}$ |
|---|---|---|---|
| 0/100 | 0,917 | 1,09 | 1,18 |
| 25/75 | 0,770 | 1,09 | 1,16 |
| 50/50 | 0,699 | 1,22 | 1,20 |
| 75/25 | 0,576 | 1,54 | 1,24 |

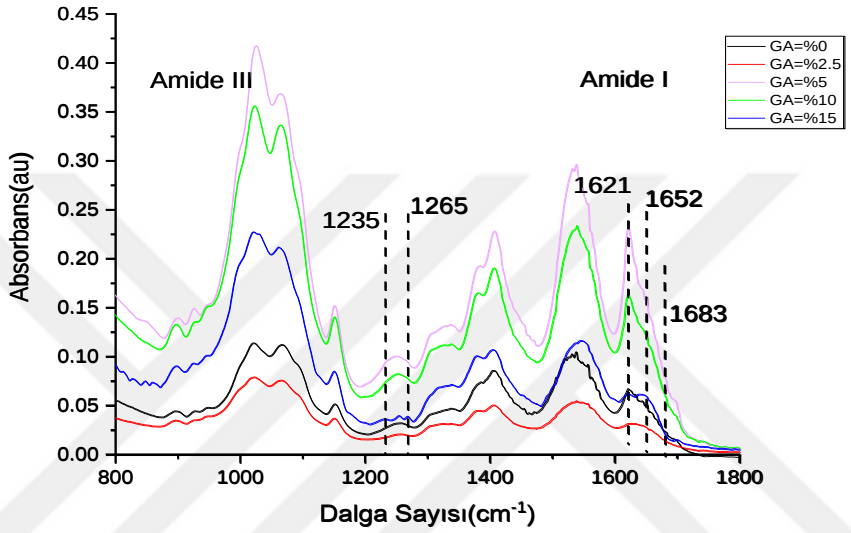
Bununla beraber, Tablo 3.14 te görüldüğü gibi, Özellikle 3362 $cm^{-1}$ de gözlenen ve kitosanın $NH_2$ gruplarından kaynaklanan pikin, ipek fibroin katkısından gelen ve Amide A bandı olarak bilinen ve N-H gerilmesine ait olan pikin absorbans değerine oranından bu oranın ($A_{3362}/A_{3280}$) azaldığını görmekteyiz.

Diğer taraftan $CH_3$ (2883 $cm^{-1}$ smetrik titreşim ve 2979 $cm^{-1}$ asimetrik titreşim) grupların gerilme titreşimlerinin absorbans değerlerinin, $CH_2$ (2835 $cm^{-1}$ simetrik titreşim ve 2943 $cm^{-1}$ asmetrik titreşim) gruplarının absorbans değerlerine oranlarından ($A_{2979}/A_{2943}$ ve $A_{2883}/A_{2832}$) , artan SF katkı miktarıyla bu oranın artma eğilimine sahip olduğu görülmektedir. Normalde, kitosanda bulunan $CH_3$ grupları, kitosanın kütle oranının azalmasıyla azalması beklenirken, bu grupların oranlarının

artması, SF polipeptid zincirlerinde bulunan yan $CH_3$ gruplarının bu orana büyük katkıda bulunduğu söylenebilir.

### 3.3.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin FT-IR/ATR Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı GA Etkisi

SF/CH biyokomopozit filmlerin de artan GA kütle oranlarına göre Ft-IR/ATR spektrumlarına etkisi Şekil 3.14 te görülmektedir.



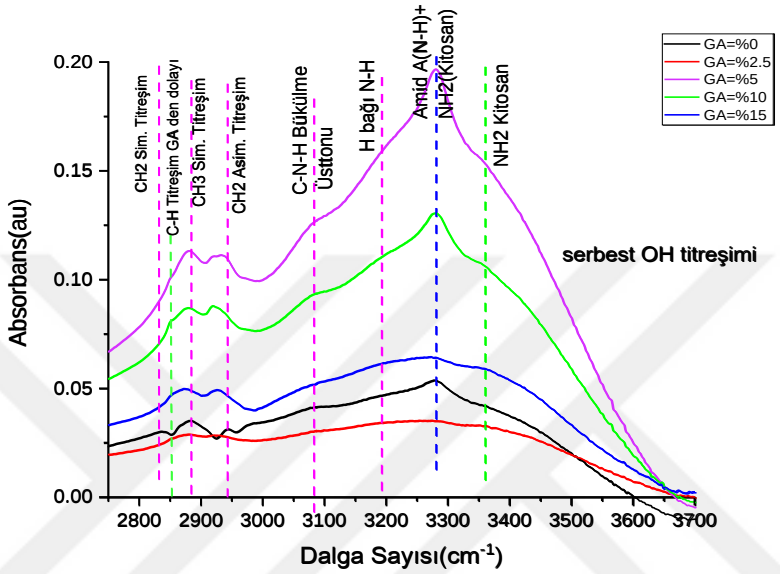

**Şekil 3.19** SF/CH kompozit filmlerin 800-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları

**Tablo 3.16** Amide I bölgesinde gözlenen piklerin artan GA kütle oranlarına göre değişimleri

| SF/CH (25/75) | Amide I (β-yapı) | | Rastgele Sarmal (α-heliks) | | β-Dönüş | | Amide I (C.I) | β-Dönüş |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| %GA | B.P | $A_{1620}$ | B.P | $A_{1652}$ | B.P | $A_{1685}$ | $A_{1620}/A_{1652}$) | $A_{1685}/A_{1620}$ |
| 0 | 1622 | 0,0660 | 1650,82 | 0,0506 | 1682,29 | 0,0223 | 1,30 | 0,34 |
| 2.5 | 1622,16 | 0,0313 | 1650,61 | 0,0279 | 1682,62 | 0,0133 | 1,12 | 0,42 |
| 5 | 1621,88 | 0,2320 | 1651,70 | 0,1590 | 1682,66 | 0,0759 | 1,46 | 0,33 |
| 10 | 1621,88 | 0,1620 | 1652,25 | 0,1190 | 1682,35 | 0,0575 | 1,36 | 0,35 |
| 15 | 1621,34 | 0,0617 | 1651,43 | 0,0592 | 1682,35 | 0,0187 | 1,04 | 0,30 |

GA çapraz bağlama, filmlerde β-tabaka oranının artmasına neden olmaktadır. GA arttıkça, β-tabaka oranı önce yükselir sonra düşer. Rastgele bobin ve α-heliks zıt şekilde davranır ve GA, bu iki durumdan β-tabakasına geçişe yol açar. Konformasyon değişikliği, polipeptit zincirinin hareketini etkileyen bir hidrojen

bağı düzenlemesi sürecidir. Aşırı çapraz bağlama, SF'nin polipeptit zincirlerinin hareketini engeller [59], [62]. Sonuç olarak, Tablo 3.15 de gösterildiği gibi, Çapraz bağlama ile, rastgele sarmal ve α-heliks yapılardan ve beta dönüşlerden, beta sayfa yapılara konformasyonel geçişlerin olduğunu bununda ipeğin düzenli bölgelerinin oluşumuna göreceli olarak bir katkı sağladığını (GA=% 5 civarına kadar) ve sonra artan GA ile göreceli olarak azaldığını belirtebiliriz.




**Şekil 3.20** Artan GA Oranına Göre SF/CH biyokompozit filmlerin 2600-3800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları

Glutaraldehit ile çapraz bağlanmış kitosan büyük ölçüde serbest amino grubu içermez. Bu durum, kitosandaki amino gruplarının glutaraldehitin aldehit grubu ile tamamen reaksiyona girerek bir imin bağlanmasına (Schiff Bazı Oluşumu) neden olur [62], [66] .

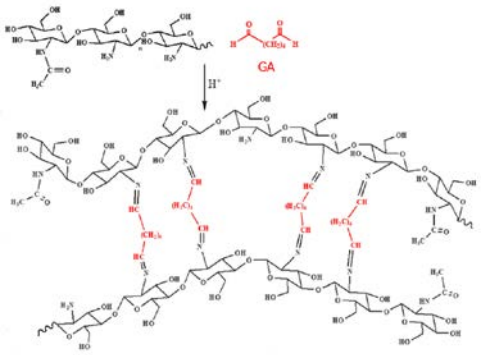
Glutaraldehit ve kitosan arasındaki Schiff bazı (imine) oluşumu, biyomedikal ve çevresel uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir çapraz bağlama yöntemidir. Bu reaksiyon, aldehit veya keton yapısındaki karbonil grubunun (C=O), bir azot içeren imin ya da azometin grubuna (-C=N-) dönüşmesiyle oluşan bir bileşiktir [67], [68], [69] . Şekil 3.16 te GA ile çapraz bağlı CH' ın Shiff bazı mekanizması gösterilmiştir.

**Tablo 3.17** SF/CH(25/75) +%GA filmlerdeki GA' nin düzenli bölgelerdeki değişimi

| (25/75)+GA(%) | $A_{1565}$ | $A_{1720}$ | $A_{1410}$ | $A_{1565}/A_{1410}$ | $A_{1720}/A_{1410}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.0789 | 0.00257 | 0.0853 | 0.92 | 0.030 |
| 2.5 | 0.0474 | 0.00564 | 0.0502 | 0.94 | 0.112 |
| 5 | 0.226 | 0.0186 | 0.228 | 0.99 | 0.082 |
| 10 | 0.187 | 0.0172 | 0.190 | 0.98 | 0.090 |
| 15 | 0.103 | 0.0099 | 0.106 | 0.97 | 0.093 |

Bu tabloda, 1565 $cm^{-1}$ civarında gözlenen pik imine bağı (-N=C-) nın varlığından dolayıdır. Bu bant, glutaraldehit ile amin grupları arasındaki reaksiyon sonucu olarak ortaya çıkmaktadır [68]. Bu bantın absorbans değerinin 1410 $cm^{-1}$ daki bandın absorbas değerinin oranından, artan GA oranıyla, çapraz bağlanmada ortaya çıkan bu bağların, GA oranının %5 değerine kadar arttığını ve sonrasında azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. Buradan da, çapraz bağlanmanın efektif olduğu GA oranının %5 olduğu düşünülebilir. Burada pikler 1410-1420 $cm^{-1}$ deki $-NH_2$ birincil amino grubunun bükülme titreşimine atfedilen [63] bandın absorbans değerlerine oranlanmışlardır.

Tablo 3.16 de ile ilgili olarak, burada 1720 cm-1 de gözlenen ve C=O yani karbonil piklerine ait bant görülmektedir. Burada özellikle, %2.5 GA oranı için, bu grupların sayısında önemli derecede artış gözlenmiştir, çünkü GA molekülleri $(CH_2)_3(CHO)_2$ içinde (uçlarında), 2 adet C=O grupları bulunmaktadır. GA oranı %5 olduğunda bu oranda bir azalma görülmektedir, bununda bazı GA moleküllerin çapraz bağlama yaptığında, C=O gruplarının bu çapraz bağlanmada rol oynadığından dolayıdır. Daha fazla GA miktarı ile, bu C=O grupların oranlarının göreceli olarak arttığını işaret edebiliriz.




**Şekil 3.21** kitosanın shiff bazı mekanizması [70]

Sonuç olarak GA artışının ipeğin düzenli bölgelerinin oluşumuna göreceli olarak bir katkı sağladığını söyleyebiliriz.

**Tablo 3.18** SF/CH(25/75) +%GA filmlerdeki GA' nin -CH ve -$CH_2$ gruplarındaki C-H gerilme titreşimlerinin değişimleri

| GA(%) | $A_{2979}/A_{2943}$ | $A_{2881}/A_{2832}$ | $A_{3450}$ | $A_{3272}/A_{3450}$ |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 1,07 | - | 0,0309 | 1,72 |
| 2,5 | 0,93 | 1,20 | 0,0258 | 1,36 |
| 5 | 0,90 | 1,27 | 0,1140 | 1,72 |
| 10 | 0,91 | 1,22 | 0,0817 | 1,59 |
| 15 | 0,85 | 1,20 | 0,0456 | 1,41 |

Bu tablodan, özellikle artan çapraz bağlanma etkisiyle $A_{3272}/A_{3450}$ , NH grupları katkısıyla meydana gelen hidrojen bağlanmalarda %5 GA oranına kadar artma ve sonra azalma eğilimi olduğunu söyleyebiliriz. Burada özellikle önemli azalmanın ise, GA oranının %10 olduğu kompozit filmlerden itibaren olduğunu söyleyebiliriz.

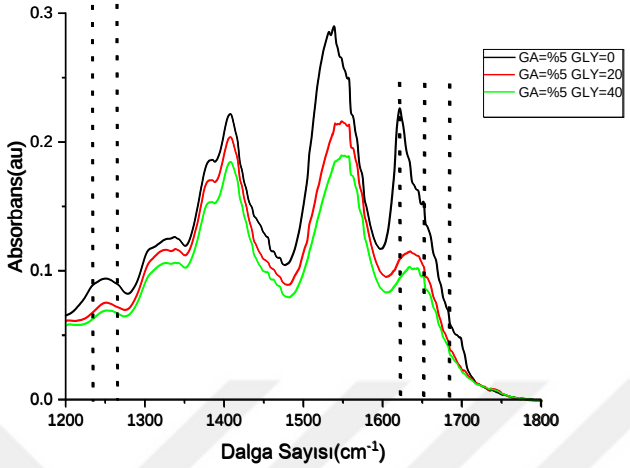
$A_{2881}/A_{2832}$ azalmasını $CH_2$ lerin çapraz bağlamada rol almasından kaynaklandığını söyleyebiliriz. $CH_2$ ler GA dan dolayı sisteme giriyor ve $CH_3$ ler azalıyor çapraz bağlamanın $CH_3/CH_2$ azalmasından kaynaklandığını söyleyebiliriz. Ayrıca film kalınlıkları absorbansı etkiler ve bizim filmlerimizin kalınlıkları stabil olmadığı için böyle bir ortalamaya gittik.

$A_{2979}/A_{2943}$ oranının atan GA ile azalması özellikle $CH_2$ asimetrik gruplarının CH zincirleri arasında çapraz bağlanmanın arttığına işaret etmektedir. İpek filimlerin GA ile yapılan çapraz bağlama çalışmalarında artan GA oranı ile $CH_3$ asim. Titreşim modunun $CH_2$ asimetrik titreşim moduna oranının azaldığı belirtilmiştir.[43]. Sonuçta bizim kompozit film yapısında hem SF hem de CH bulunduğu için çapraz bağlanmalar hem SF zincirleri arasında hem de CH zincirleri arasında meydana geleceği düşünülüyor.

### 3.3.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin FT-IR/ATR Spektrumlarına Gliserol GLY Etkisi

İpek fibroin (SF) ve kitosan (CH) esaslı kompozit filmlerde gliserol (GLY) katkısının etkisini belirlemek amacıyla yapılan FTIR analizi Şekil 3.17 de özellikle 1200–1800 $cm^{-1}$ dalga sayısı aralığı incelenmiştir. Bu bölge, protein ve polisakkarit

yapılarındaki Amide I, Amide II ve Amide III titreşimlerini içermekte olup, moleküler etkileşimlerin ve yapısal düzenlemelerin belirlenmesinde önemli bilgiler sunmaktadır.




**Şekil 3.22** Artan GLY Oranına Göre SF/CH biyokompozit filmlerin 1200-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları

Gliserol eklenmeyen (%0 GLY) filmde Amide I bandı daha yoğunken, %20 ve %40 gliserol ilavesiyle absorbans şiddeti azalmış ve pik pozisyonları düşük dalga sayılarına kaymıştır. Bu durum, gliserolün zincirler arası hidrojen bağları oluşturarak protein yapısını daha amorf hale getirdiğini göstermektedir.

**Tablo 3.19** Amide I bölgesinde gözlenen bantlar ve absorbans şiddeti değerlerine gliserin katkısının etkisi

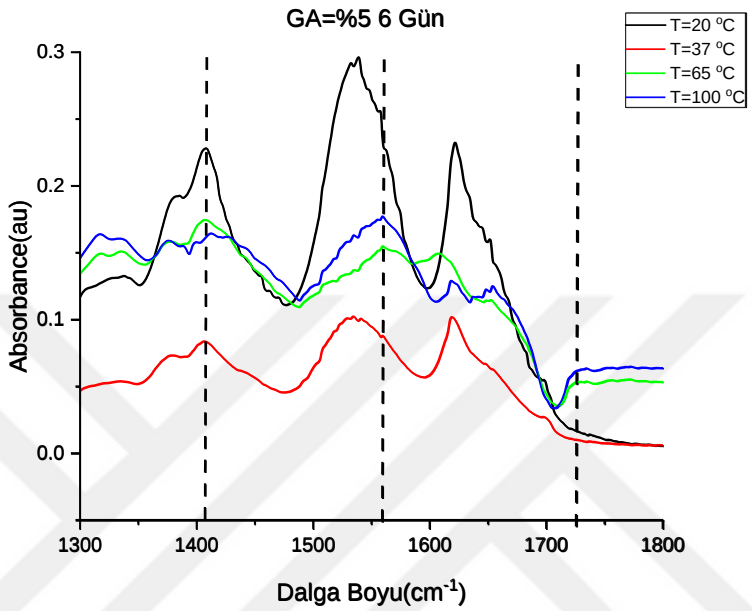
| **(25/75)+ GA(%5)** | **Amide I** | | **α-heliks** | | **β-Dönüş** | | **CI (Amid I)** | **β-Dönüş** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **%GLY** | B.P | $A_{1620}$ | B.P | $A_{1652}$ | B.P | $A_{1685}$ | $A_{1620}/A_{1652}$ | $A_{1685}/A_{1620}$ |
| 0 | 1620 | 0,221 | 1652 | 0,152 | 1684 | 0,065 | 1,454 | 0,294 |
| 20 | 1635 | 0,115 | 1652 | 0,103 | 1684 | 0,044 | 1,116 | 0,383 |
| 40 | 1636 | 0,101 | 1652 | 0,095 | 1684 | 0,036 | 1,063 | 0,356 |

Gliserol ilavesiyle β-sayfa yapılar azalmış, rastgele sarmal ve β-dönüş yapıların oranları göreceli olarak artmıştır. Kristallenme indeksi ($A_{1620}/A_{1652}$) azaldıkça yapının daha amorf hale geldiği ve yapıda gözlenen düzensiz β-dönüş yapılara ait oranın ($A_{1685}/A_{1620}$) oranının arttığı gözlenmektedir.

### 3.3.4 Termal İşlemlerin Spektroskopik Özelliklere Etkisi

SF/CH (25/75) oranında hazırlanan ve %5 glutaraldehit (GA) ile çapraz bağlanmış ipek-kitosan filmlerinin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

analizleri farklı sıcaklık koşullarında (20 °C, 37 °C, 65 °C ve 100 °C) altı gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Bu analizle, sıcaklığın film yapısındaki kimyasal bağlara ve çapraz bağlanma yoğunluğuna etkisi belirlenmiştir. Elde edilen spektrumlar Şekil 3.18 da sunulmakta; karakteristik dalga sayılarındaki absorbans değerleri ise Tablo 3.19 da özetlenmektedir.




**Şekil 3.23** Artan sıcaklık değişimine göre SF/CH(25/75) kompozit filmlerin 1200-1800 $cm^{-1}$ aralığında Ft-IR/ATR spektrumları

**Tablo 3.20** Farklı sıcaklıklarda FTIR spektrumlarında karakteristik bantlara ait absorbans değerleri ve oranlar

| (25/75)+GA(%5) T(°C) | $A_{1565}$ (-N=C-) | $A_{1720}$ (C=O) | $A_{1410}$ | $A_{1565}/A_{1410}$ | $A_{1720}/A_{1410}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 20 | 0,226 | 0,0186 | 0,228 | 0,99 | 0,082 |
| 37 | 0,081 | 0,0114 | 0,084 | 0,96 | 0,136 |
| 65 | 0,104 | 0,0040 | 0,127 | 0,82 | 0,031 |
| 100 | 0,112 | 0,0036 | 0,106 | 1,06 | 0,034 |

Literatürde, bu bağların stabilitesinin sıcaklığa bağlı olarak değiştiği ve FTIR spektrumlarında imine bandında kaymalar ya da yoğunluk değişimleri ile izlendiği gösterilmiştir [70] .

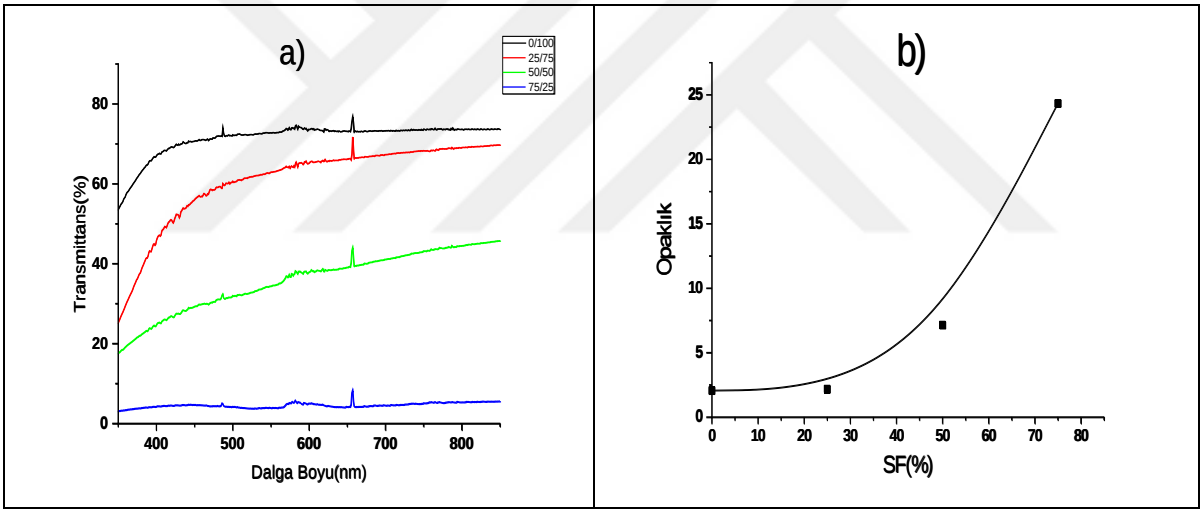
Bu spektrumda termal etkiyle özellikle imin bağlarını dolayısıyla hem CH hem de SF polimer zincirlerinde bulunan amin gruplarıyla meydana gelen çapraz bağlamanın göreceli olarak artan sıcaklıkla arttığı görülmektedir.

$A_{1720}/A_{1410}$ bağıntısında 1720 $cm^{-1}$ (C=O) karbonil absorbans değerlerinde 65 $^{o}$C ve 100 $^{o}$C termal işlemlerde belirli ölçüde önemli derecede arttığı görülmektedir. Bununda yapıda bazı çapraz bağlamaların oluşumlarının yanında uzun süreli termal enerji etkisinde bazı kovalent bağların kırılması ve hızlı bir şekilde oksitlenmesinden dolayı bu grupların arttığını düşünmekteyiz.

## 3.4 Işık Geçirgenliğinin ve Opaklığının Değerlendirilmesi

### 3.4.1 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına İpek Fİbroin Etkisi

SF/CH kompozit filmlerin ışık geçirgenliği ve opaklıkları, 300-900 nm dalga boyu aralığında UV-Viz spektrumları kullanılarak incelenmiştir. Farklı oranlarla oluşturulan SF/CH kompozit filmlerinin spektrumları Şekil 3.19-a ve opaklık ölçümleri Şekil 3.19-b de yer almaktadır.




**Şekil 3.24** Farklı kütle oranlarındaki SF/CH filmlerin a) uv viz spektrumları b) opaklık değerleri

Artan SF katkılarıyla, genel olarak ışık geçirgenlik (transmittans) değerlerinin azaldığı gözlemlenmektedir. Kitosan filmlerinin yapısının çoğunlukla amorf olduğu için, ışık geçirgenliğinin yüksek olduğu söylenebilir. Ancak, SF katkısıyla birlikte polipeptidlerin ikincil yapısal bileşenleri olan β-tabaka yapıları, β-dönüş (turns) yapı ve rastgele sarmal ile α-heliks zincir yapıları ortaya çıkabilmektedir. Gelen ışığın daha amorf alanlardan geçerken, daha az dağılma yaşayarak boşluklardan daha kolay geçebilecekken kristal ve daha sıkı paketlenmiş β-sayfa kristal bölgelerinden geçişin daha zor olacağı, daha fazla dağılma ile karşılaşacağı ve bu

nedenle artan SF oranlarıyla ışık geçirgenliğinde belirgin bir azalma olacağı öngörülebilir [71], [72].

Bununla beraber filmlerin 600 nm'deki ışık geçirgenliklerine bağlı olarak opaklık değerleri örneklerin UV-vis spektrumlarından, denklem 2.2 eşitliği yardımıyla hesaplanmıştır.

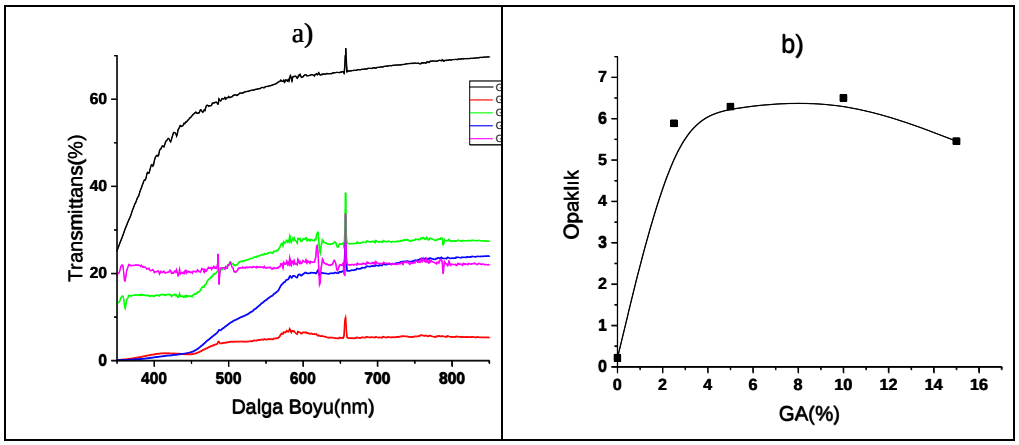
Şekil 3.19-b de görülen eğriden, filmlerin kalınlık değerleride hesaba katılarak hesaplanan opaklık değerlerinin %25 SF katkılı filmlerde çok değişmediği ancak %25- %75 arası artan SF oranıyla arttığı gözlemlenmiştir. Bu durumda, SF arttıkça düzenli beta yapıların artmasından aynı zamanda farklı konformasyonlarda alfa-heliks ve beta-dönüş ve rasgele sarmal yapıların varlığından dolayı opaklığın arttığını söyleyebiliriz. Aşağıdaki şekilde (Şekil 3.20) ipek katkısının SF/CH filmlerinin renk değişimine etkisi görülmektedir.




**Şekil 3.25** Artan SF oranlarının SF/CH filmlerinin renk değişimine etkisi

### 3.4.2 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı Etkisi

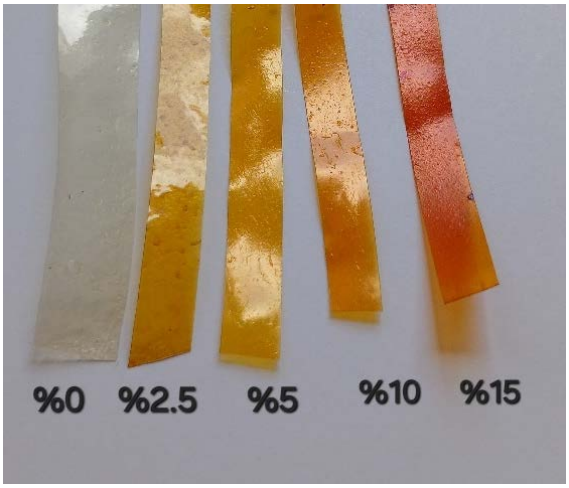
Çapraz bağlamanın UV-Viz spektrumları üzerindeki etkisini incelemek amacıyla, SF/CH (25/75) kütle oranında üretilen filmlere GA eklenmesiyle elde edilen biyokompozit filmlerin UV-Viz spektrumları Şekil 3.21 'de sunulmuştur. Filmlerin ışık geçirgenliği ve opaklıklarının değerlendirilmesi için spektrumlar kullanılarak filmlerin opaklık değerleri hesaplanmıştır.




**Şekil 3.26** Farklı GA oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75) filmlerin a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri

GA, kitosan ve ipek zincirlerindeki serbest amin gruplarıyla Schiff bazı (–C=N–) oluşturarak polimer ağ yapısını güçlendirdiğini söylemiştik. Şekil 3.21-a 'da %0 GA içeren film (siyah eğri), 400–800 nm arasında %60'a varan yüksek ışık geçirgenliğine sahip olup en şeffaf film örneğini temsil etmektedir. GA oranı arttıkça (özellikle %2, %5 ve %10), transmittans değerleri kademeli olarak düşmektedir. %5 GA içeren filmde transmittans %20–30 civarına kadar azalmıştır.

Bu bulgular, glutaraldehitin çapraz bağlayıcı etkisinin yoğunluğu arttıkça film içindeki ışık yollarının dağılmasına neden olarak geçirgenliği azalttığını göstermektedi [73] r, benzer şekilde GA' nın CH zincirleri üzerinde oluşturduğu yoğun çapraz bağlanmanın, film yoğunluğunu artırarak ışık geçirgenliğini azalttığını belirtmiştir.



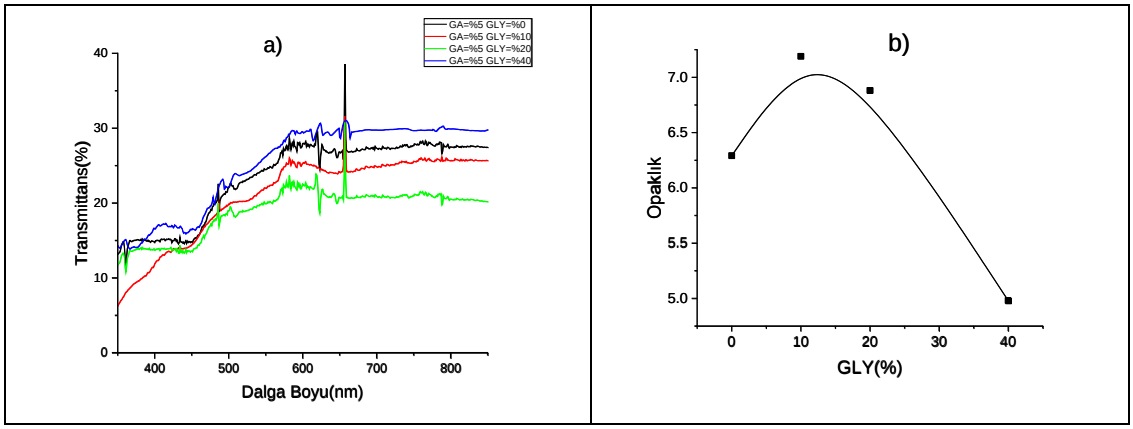

**Şekil 3.27** Farklı GA oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75) filmlerin renk değişimi

Şekil 3.21-b deki verilerine göre, %0 GA içeren film en düşük opaklık gösterirken, %2 GA ile opaklık değeri hızla artmaktadır. %5 ve %10 GA oranlarında opaklık

maksimum seviyeye ulaşmakta ve ardından %15 GA ile hafif bir azalma gözlemlenmektedir. Bu eğilim, filmde optimal bir çapraz bağlanma düzeyinin ışık saçılımını artırarak opaklığı maksimize ettiğini, ancak aşırı GA varlığının yapısal düzensizlik oluşturarak opaklıkta düşüşe neden olabileceğini düşündürmektedir. Bu olasılık, Kildeeva ve ark. tarafından glutaraldehitin polimer zincirlerinde fazlalığının düzensiz aglomerasyonlara yol açtığı yönündeki bulgularla desteklenmektedir [73]. Yasunaga ve ark. tarafından yapılan çalışmada, ipek katkılı kitosan filmlerde opaklığın arttığı, ancak ışık geçirgenliğinin düşmesine rağmen malzemenin şeffaflığının bir dereceye kadar korunabildiği belirtilmiştir [74]. Bu çalışmada ürettiğimiz GA katkılı SF/CH(25/75) filmlerinin renginin sarı olduğu ve artan GA oranıyla birlikte filmlerin renklerinin koyulaştığı şekil 3.22 da görülmektedir.

### 3.4.3 SF/CH Biyokompozit Filmlerinin UV-Viz Spektrumlarına Gliserol Etkisi

Bu bölümde, SF/CH (25/75) oranında ve %5 glutaraldehit (GA) içeren film yapılarında farklı GLY oranlarının (%0, %10, %20, %40) 300–900 nm aralığındaki ışık geçirgenliği ve opaklık üzerindeki etkileri Şekil 3.23 a-b' de değerlendirilmiştir.

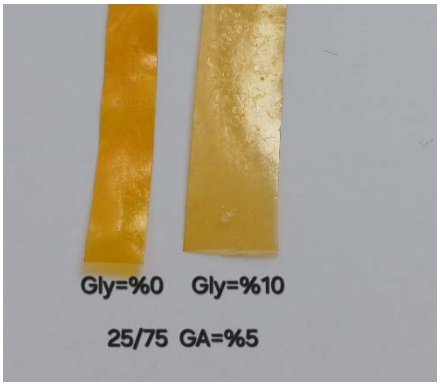



**Şekil 3.28** Farklı GLY oranlarında hazırlanan SF/CH (25/75)+ GA(%5) Filmlerin a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri

Filmlerinin UV-VIS ışık geçirgenlik spektrumları incelendiğinde gliserol oranı arttıkça gliserol oranı %20 ye kadar ışık geçirgenliğinin azaldığı ve %40 gliserol oranında ise ışık geçirgenliğinin en fazla olduğu görülmektedir. Burada her ne kadar GLY etkisi gözükse de filmlerin kalınlıklarının da biraz etkisinin olduğu görülmektedir. Fakat birim kalınlık başına hesaplanan opaklık değerlerinin daha belirleyici olduğunu düşünmekteyiz. Bu sonuçlar, gliserolün film matrisine dahil

edilmesiyle polimer zincirleri arasındaki hidrojen bağlarının zayıfladığını ve ışığın daha kolay geçmesine olanak tanıyan bir yapı oluştuğunu göstermektedir. Leceta ve ark., gliserol katkısının kitosan bazlı filmlerde şeffaflıkta artışa neden olduğunu bildirmiştir [75] . Aynı zamanda, artan gliserol oranının filmdeki mikro boşluk yapısını artırarak ışığın saçılmadan geçmesini kolaylaştırdığı düşünülmektedir.

Buna karşın örneklerinin opaklık değerleri, %0 GLY içeren film, orta seviyede opaklık göstermekte olup %10 GLY ilavesiyle opaklık değeri maksimuma ulaşmıştır. Bu, belirli bir gliserol oranında matrisin düzensizleşmesiyle ışık saçılımının arttığını göstermektedir. %20 GLY ile opaklıkta hafif bir düşüş, %40 GLY ile ise belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Bu eğilim, gliserolün düşük oranlarda film yapısında homojen olmayan alanlar oluşturarak opaklığı artırabildiğini, ancak yüksek oranlarda bu düzensizliklerin giderilmesiyle birlikte film yapısının daha saydam hale geldiğini düşündürmektedir. Yasunaga ve ark. benzer şekilde, fibroin nanofibril katkılı filmlerde gliserol oranı arttıkça film homojenliğinin arttığını ve geçirgenliğin iyileştiğini göstermiştir [74]. Bu çalışmada elde edilen GLY katkılı SF/CH(25/75) +GA(%5) filmlerinin artan GLY oranıyla birlikte filmlerin renklerinin daha şeffaf olduğu şekil 3.24 da görülmektedir.

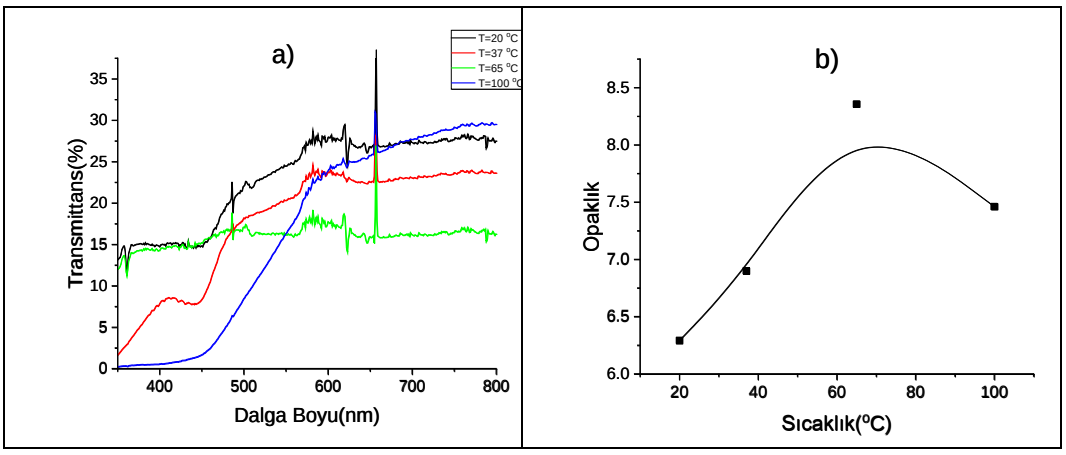



**Şekil 3.29** GLY(%10) eklenen SF/CH (25/75) +GA(%5) filmlerin renk değişimi

### 3.4.4 Termal İşlemlerin Işık Geçirgenliği ve Opaklığa Etkisi

Biyokompozit filmlerin çevresel koşullara karşı dayanımı, uygulama alanları açısından büyük önem taşır. Özellikle sıcaklık gibi çevresel etkenler, film matrisinin yapısal düzenini, optik geçirgenliğini ve opaklık seviyesini doğrudan etkileyebilmektedir. Bu çalışmada, SF/CH (25/75) oranında ve %5 glutaraldehit (GA) içeren filmler, 6 gün boyunca farklı sıcaklıklarda (20 °C, 37 °C, 65 °C ve 100

°C) etüv cihazında tutulmuştur. Elde edilen örneklerin UV-viz ışık geçirgenliği (300–900 nm) Şekil 3.25-a ve opaklık değerleri Şekil 3.25-b' de analiz edilmiştir.

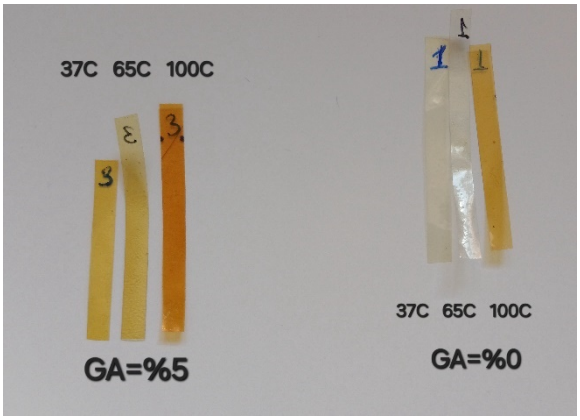



**Şekil 3.30** Artan sıcaklık değerlerinin SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerine a) UV viz spektrumları b) opaklık değerleri

Işık geçirgenlik spektrumları düşük sıcaklıklarda (20–37 °C) hazırlanan filmler 600 nm'de daha yüksek ışık geçirgenliği göstermektedir. Bu sıcaklık aralığında film matrisinde büyük ölçüde yapısal bozulma veya yeniden düzenlenme gerçekleşmediğinden, ışığın daha az saçılma ile geçmesi sağlanmaktadır. Orta sıcaklıkta (65 °C) transmittans değerinde belirgin bir düşüş (%18) gözlenmiştir. Bu sıcaklıkta, protein yapıdaki fibroin zincirlerinin ısıl etkiye bağlı olarak yeniden kristallenmesi ve matrisin daha düzensiz bir hâl alması sonucunda ışığın saçılması artmış olabilir. Literatürde çalışmalarında da benzer şekilde, ısıl işlem görmüş filmlerde β-tabaka oranındaki artışın optik şeffaflığı düşürdüğü raporlanmıştır [71], [75]. Yüksek sıcaklık (100 °C) koşulunda ise en düşük ışık geçirgenliği (%15) ölçülmüştür. Bu sıcaklıkta çapraz bağ yapılarında parçalanma, fibroin denatürasyonu veya mikroskobik ölçekte faz ayrışmaları meydana gelerek filmde ışık geçişini ciddi biçimde engelleyen opak bölgeler oluşmuş olabilir.

Opaklık değerleri incelendiğinde, opaklık değerleri 20°C - 65 °C arası yükselmiştir. Bu artış, sıcaklıkla birlikte film matrisinde ışık saçıcı yapıların oluşumuna bağlı olabilir. 100 °C'de ise opaklık değeri düşmektedir. Leceta ve ark. Çalışmasında, sıcaklığın kitosan bazlı filmlerde hem mekanik hem de optik özellikler üzerinde önemli değişikliklere yol açtığı raporlanmıştır. Ayrıca Kildeeva ve ark., GA ile çapraz bağlanmış sistemlerde sıcaklığın Schiff bazı stabilitesi üzerinde etkili olduğunu vurgulamıştır. Şekil 3.26 de sabit altı gün boyunca farklı sıcaklıklarda

tutulan SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerde sıcaklığın 100 ºC olduğu filmlerin renginin daha koyu olduğu görülmektedir.




**Şekil 3.31** Artan sıcaklığın SF/CH (25/75)+ GA(%5) filmlerinde renk değişimine etkisi

## 3.5 XRD Spektrumlarının Analizi

### 3.5.1 SF Katkısının SF/CH Biyokompozit Filmlerin XRD Spektrumlarına Etkisi ve Sabit GA Etkisi Altındaki Değişimleri

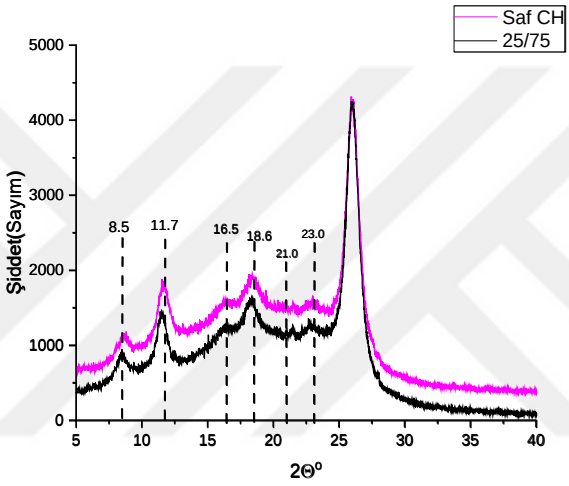
Şekil 3. 27'de %2,5 (a/a) GA eklenmiş SF/CH kompozit filmlerin XRD spektrumları ve artan SF katkısı ile spektrumlarda meydana gelen değişiklikler yer almakta ve hem SF hem de CH bulunduran filmlere ait XRD spektrumlarında tespit edilen pikinler, bunların ilişkili olduğu düzlemler ve bant tanımları Tablo 3. 20'de sunulmaktadır.

| 2 θ | Kristal düzlem | Bant tanımı | Referans |
|---|---|---|---|
| 8,5-8,7-9,1 | 020,100 | SF β-Kristal (İpek II), CH | [64], [76], [77] |
| 10,4 | 200 | CH | [78] |
| 11,7 | 110 | CH, SF β-Kristal (İpek II) | [64], [79] |
| 15,6 | | CH | [80] |
| 16,5 | 002 | CH (Kristal I) | [28], [81] |
| 18,6 | 102 | CH (Kristal II) | [28], [79] |
| 20-21 | | SF β-Kristal (İpek II) | [80] |
| 21,7 | | CH | [77] |
| 23 | 120 | CH (Kristal I) | [77], [81], [82] |
| 24,5; 24,72 | | SF α-Kristal (İpek I) | [16], [77] |
| 26,3 | 030 | CH | [79], [83] |
| 28,6 | | SF-CH (rastgele sarmal yapı) | [3], [64] |

**Tablo 3.21** SF ve CH polimerlerin XRD spektrumlarında gözlenen karakteristik pikler ve bant tanımları

Kitosan yapılan deneysel çalışmalarda, Kitosanın 2θ=8.7-9.1, 10.4, 16.5, 18.6, 21.7, 23 ve 26.3'te güçlü pikler gösterdiği bildirilmektedir [28], [64], [77], [83]. Ayrıca 2θ= 8.5, 11.7, 20-21 ve 28.6 piklerinin kırınım açı değerleri ipeğin β-kristal yapısına (ipek II yapısı) diğer 2θ= 24.5, 24.72 pikleri ise ipek α-kristal (ipek I) yapısına atfedilmektedir [16], [64], [77]. Aynı zamanda, literatürde $28.6^0$ civarında hem ipeğin hem de CH' ın rastgele sarmal yapılarına ait bir pik de gözlenmektedir. Fakat bizim spektrumlarımıza bu pik fark edilir bir şekilde gözlenmemiştir.

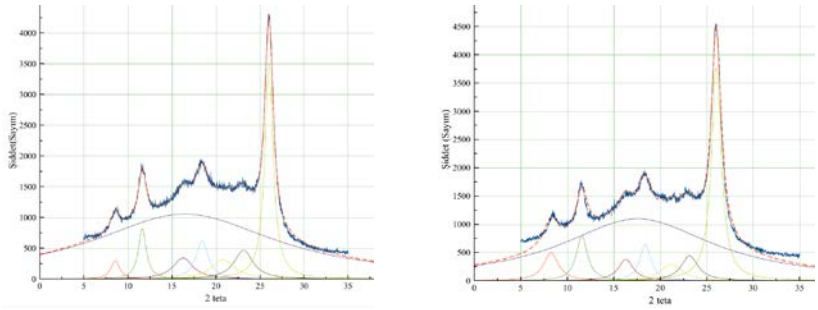
Çapraz bağlayıcı GA yokken, ipek fibroinin saf kitosanın XRD spektrumuna etkisi Şekil 3.27 de görülmektedir.




**Şekil 3.32** SF/CH filmlerinin XRD spektrumları

Şekildeki grafik incelendiğinde SF eklenmesiyle birlikte şiddetin azaldığını ve her pikte belirgin şekilde kaymalar meydana geldiğini görmekteyiz. Özellikle 8.5, 11.7, 16.5 ve 18.6 piklerinin sola kaydığını görmekteyiz.

Filmlerde meydana gelen kristallenme oranlarındaki değişimleri görmek için spektrumlar eğri uydurma yöntemi ile incelenmiş Şekil 3.28 deki grafiklerde verilmiştir.



a) saf CH b) 25/75

**Şekil 3.33** SF/CH biyokompozit filmlerinin kristallenme oranlarındaki değişim grafikleri

**Tablo 3.22** SF/CH + GA (%0) biyokompozit filmlerinin XRD spektrumlarına ipeğin etkisinin spektrumdaki kristallenme oranlarının alan hesabı

| Pik Merkezi | Entegre Alan (%) | |
|---|---|---|
| $2\theta$ (°) | 0/100 | 25/75 |
| *8,5* | 3,054 | 2,967 |
| *11,7* | 3,784 | 3,567 |
| *16,5* | 0,531 | 2,283 |
| *18,6* | 4,746 | 2,895 |
| *21,0* | 1,483 | 2,511 |
| *23,0* | 6,587 | 3,003 |
| *26,0* | 15,265 | 15,114 |
| *18,5(Amorf)* | 64,551 | 67,660 |
| Kristallenme (%) | 35,449 | 32,348 |

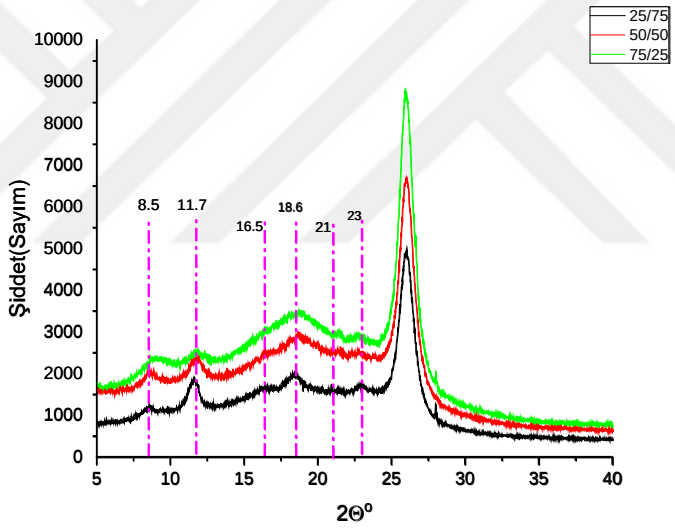
Chen ve arkadaşları SF/CH karışım filminde SF içeriği %10 (w/w) olduğunda, SF'nin neredeyse tamamının β-tabaka konformasyonu gösterdiğini bildirmiştir [28]. SF katkısıyla CH'nin kristallenme oranının azaldığı ve SF katkılayınca kaymaların oluştuğu gözlemlenmiştir.

Çapraz bağlayıcı eklenmeyen filmlerin kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmelerin verildiği Tablo 3.21 detaylı incelendiğinde, 8.5 pikindeki azalma ipekten dolayı düşük kristallenme gözlemlenmiştir. 11.7 piki hem CH' den hem de SF pikiyle üst üste geldiğinden alanı çok fazla değişmemesine rağmen SF katkısıyla daha küçük açı değerine kaymıştır. SF arttıkça CH' nin 18.6 da görünen kristal-II pikinin 102 düzleminde alanının azaldığı görülmüştür. Bu durum ipeğin etkisinden kaynaklanmıştır. 21' deki artış SF' nin β-kristal yapısına atfedilmiştir, açık bir şekilde bu pikin artması ise, beta kristalit oranının arttığını

işaret etmektedir [80]. 23’ deki pik CH’ ın Kristal-I yapısınının (120 düzlemi) oranını azaltmıştır.

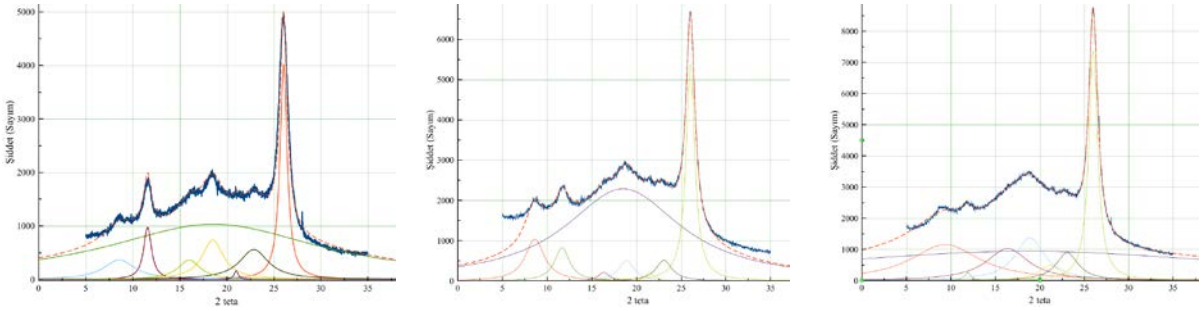
Görüldüğü üzere hem CH’ın kristallenmesinin azalması, fakat ipek kristallenme oranının artmasına rağmen, toplam filmin kristallenme oranının azaldığı görülmektedir. Yönlendirilmemiş küçük kristallerin, ipek fibroin ve kitosan arasındaki hidrojen bağları gibi belirli etkileşimlerle oluştuğu düşünülebilir. Bu durumda, ipek fibroinin kristalleşmesinin, rastgele bobin formundan β-tabaka formuna geçişinin, kitosan karıştırılmasıyla sinerjik bir şekilde desteklenebileceği sonucuna ulaşmamız mümkündür [58].

Diğer taraftan, sabit bir çapraz bağlayıcı oranı etkisinde (GA=2.5%) ise, artan SF oranına göre filmlerin XRD spektrumlarındaki değişimler Şekil 3.29 de görülmektedir




**Şekil 3.34** %2,5 GA katkılı SF/CH biyokompozit filmlerin XRD spektrumları

8.5 pikinde meydana gelen kaymalar belirgin bir şekilde 8.5 ‘dan 9.1’e doğru kaydığı görülmektedir. Ancak meydana gelen kristallenme oranlarındaki değişimleri görmek için spektrumlar eğri uydurma yöntemi ile incelenmiş Şekil 3.30 daki ve kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler Tablo 3.22’te verilmiştir.



a) 25/75 b) 50/50 c) 75/25

**Şekil 3.35** SF/CH + GA (%2,5) filmlerinin artan SF oranına göre kristallenme oranlarındaki değişim grafikleri

Şekil 3.30 da sabit %2,5 GA çapraz bağlı SF/CH Biyokompozit filmlerin XRD Spektrumlarındaki karakteristik piklerinin eğri uydurma yöntemiyle elde edilmiş eğrilerini göstermektedir.

**Tablo 3.23** SF/CH + GA (%2,5) filmlerinin artan SF oranına göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler

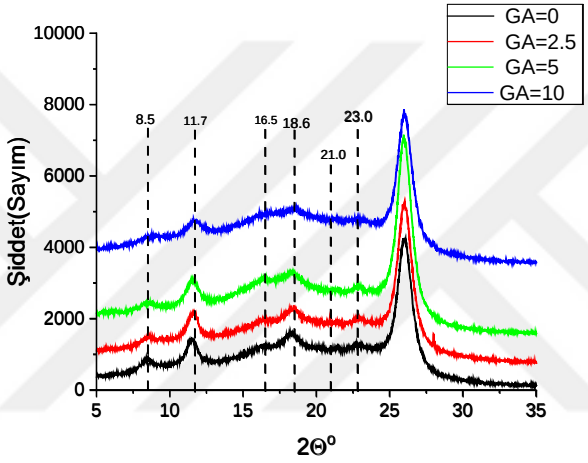
| Pik Merkezi | Entegre Alan (%) | | |
|---|---|---|---|
| *2θ* (°) | 25/75 | 50/50 | 75/25 |
| *8,5* | 3,672 | 5,442 | 5,012 |
| *11,7* | 2,461 | 3,389 | 1,435 |
| *16,5* | 2,610 | 0,637 | 0,955 |
| *18,6* | 5,073 | 2,136 | 3,317 |
| *21,0* | 0,207 | 0,420 | 0,263 |
| *23,0* | 5,205 | 2,273 | 1,187 |
| *26,0* | 9,334 | 13,003 | 12,276 |
| *18,5(Amorf)* | 71,439 | 72,700 | 75,555 |
| Kristallenme (%) | 28,561 | 27,300 | 24,445 |

Tablo 3.22 detaylı bir şekilde incelendiğinde 8.5 pikinde artan ipek oranı ile özellikle SF beta kristalit yapılarına atfedilecek olan pikin oranları SF oranının artmasıyla %3.672'den %5.012'ye artmıştır. Aynı zamanda, 8.5 kırınım pikindeki kırınım açı değerlerinde kaymalar göze çarpmaktadır. 16.5, 18.6 ve 23 piklerinin alanlarındaki azalmalar artan SF oranıyla CH'nin kristallenmelerin azaldığını göstermektedir. 23 pikinde belirgin bir azalma söz konusudur.

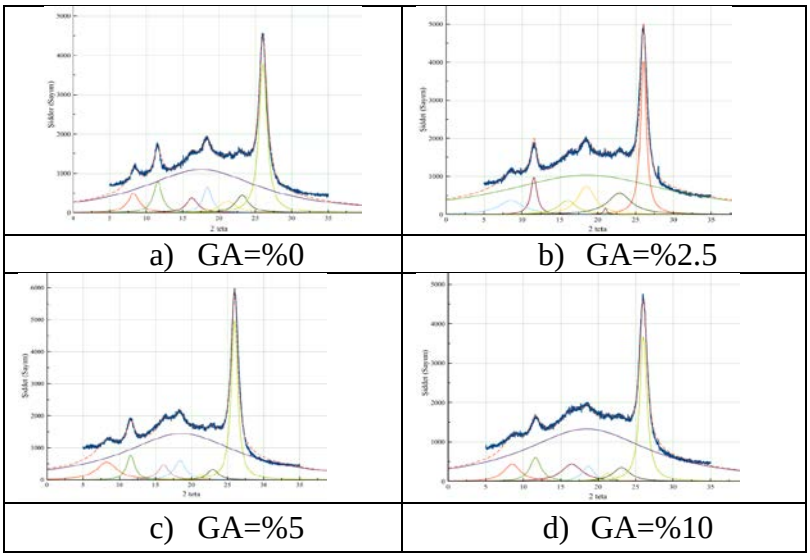
Tablo 3.22 un geneline bakıldığında artan SF oranıyla birlikte amorf bölgelerin arttığı ve kristallenme oranlarında belirgin bir azalma meydana geldiği görülmektedir.

### 3.5.2 Biyokompozit Filmlerinin XRD Spektrumlarına Çapraz Bağlayıcı GA Etkisi

Şekil 3.29 daki grafikte SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin XRD spektrumlarına ve karakteristik piklere çapraz bağlayıcı olarak kullanılan GA oranının etkisinin spektrumda gözlenen piklerin eğrilerinin alanları grafiklerde gösterilmiştir.




**Şekil 3.36** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin artan GA oranıyla XRD spektrumlarındaki değişimler




**Şekil 3.37** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin XRD spektrumlarına GA oranı etkisi

Şekil 3.31 daki grafik incelendiğinde CH'ın kristal I yapısına atfedilen 8.5, 16.5 ve 23 pikleri ile CH'ın kristal II yapısına atfedilen 18.5 pikinin sağa kaydığı ve GA oranı arttıkça bu piklerin daha az belirgin hale geldiği görülmektedir. Ancak meydana gelen kristallenme oranlarındaki değişimleri görmek için spektrumlar Şekil 3.32 da eğri uydurma yöntemi ile incelenmiş ve kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler Tablo 3.23 de verilmiştir.

**Tablo 3.24** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin artan GA oranına göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler

| Pik Merkezi | Entegre Alan (%) | | | |
|---|---|---|---|---|
| 2θ (°) | GA=%0 | GA=%2,5 | GA=%5 | GA=%10 |
| *8,5* | 2,967 | 3,672 | 4,759 | 3,119 |
| *11,7* | 3,567 | 2,461 | 2,523 | 2,887 |
| *16,5* | 2,283 | 2,610 | 2,158 | 3,877 |
| *18,6* | 2,895 | 5,073 | 2,939 | 1,923 |
| *21,0* | 2,511 | 0,207 | 0,342 | 0,767 |
| *23,0* | 3,003 | 5,205 | 1,458 | 2,585 |
| *26,0* | 15,114 | 9,334 | 13,301 | 11,080 |
| *18,5(Amorf)* | 67,660 | 71,439 | 72,520 | 73,761 |
| Kristallenme (%) | 32,340 | 28,561 | 27,480 | 26,239 |

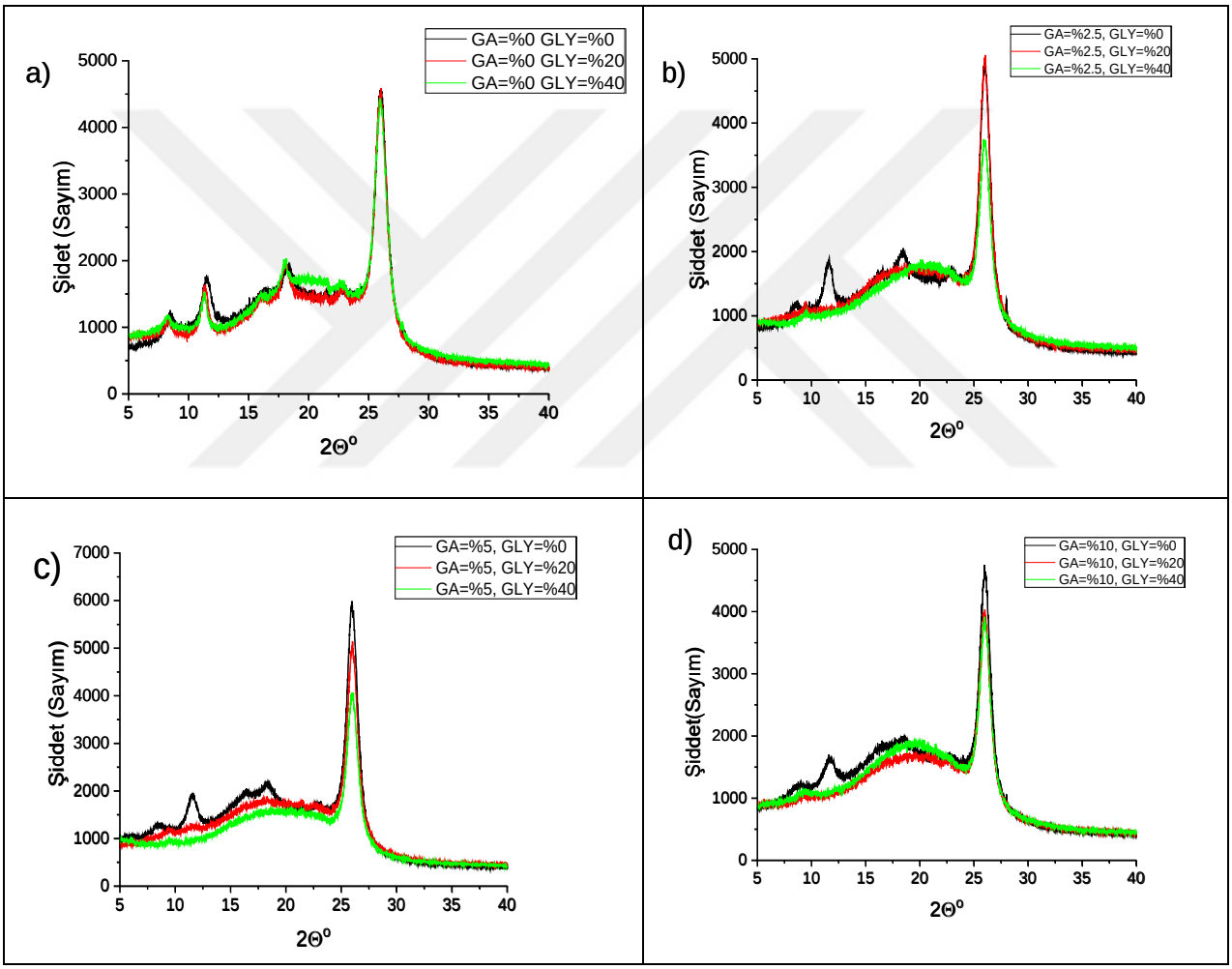
Şekil 3.31 daki grafikte CH'ın kristal I ve kristal II yapısına atfedilen piklerin sağa kaydığı ve GA oranı arttıkça bu piklerin daha az belirgin hale geldiğini gözlemlemiştik. Ancak Tablo 3.23 de verilen kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler incelendiğinde piklerin entegre alanlarının çok fazla değişmediği görülmüştür. Tablonun geneline bakıldığında amorf bölgelerin arttığı ve kristallenmelerin azaldığını görmekteyiz.

Yarı kristalin bir polimer olan CH' nin her zaman hem kristalin hem de amorf bölgeler barındırdığı unutulmamalıdır. CH' ye dayalı filmlerdeki kristalinite azalmasının, bu filmlerin kovalent çapraz bağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar neticesinde, polimer zincirinde bulunan -$NH_2$ grupları, zincirler arasında hidrojen bağlarının oluşmasına yol açar ve bu da malzemenin kristalleşmesine neden olur. Çapraz bağlama tepkimesi ile kitosanın -$NH_2$ grupları ile glutaraldehitin karbonil grubu arasında bir bağlantı kurulur. Bu, hidrojen bağlarının sayısını azaltarak polimer zincirleri arasındaki boşlukları

daraltır; dolayısıyla kristalleşmeyi azaltır ve hatta malzemenin kristal yapısında deformasyona yol açar [84]. Bu bulgu, kristalleşmeye yardımcı olan orijinal hidrojen bağlarının kimyasal çapraz bağlanma süreciyle yok edilmesine dayandırılmaktadır [85].

### 3.5.3 SF/CH (25/75) Filmlerinin XRD Spektrumlarına Plastikleştirici Gliserol (GLY) Etkisi

Şekil 3.33 de GA=%0, %2.5, %5 ve %10 oranlarında GA katkılı filmlerin her biri için GLY=%0, %20 ve %40 için spektrum grafikleri gösterilmiştir.

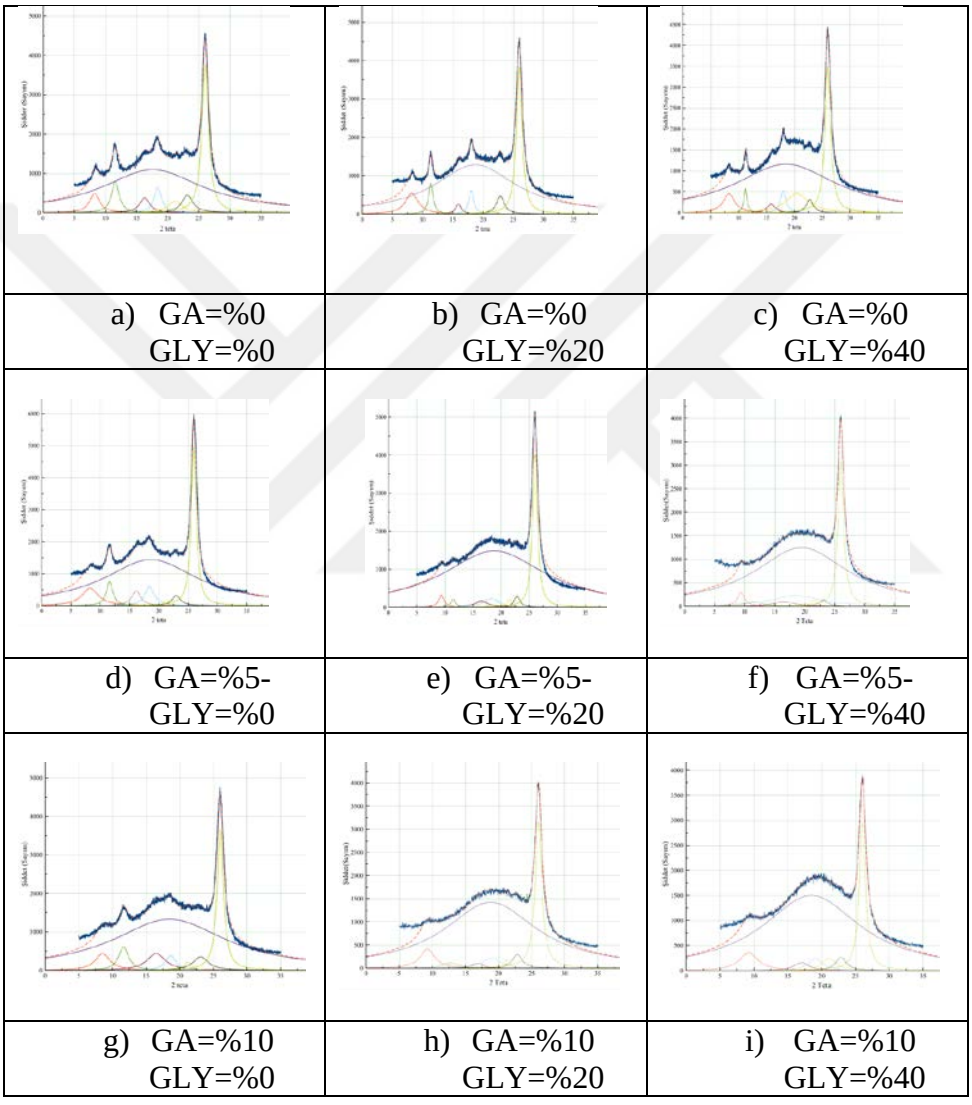



**Şekil 3.38** Farklı GLY katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin XRD spektrumları

Çapraz bağlayıcı kullanılmayan SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerde artan GLY oranına göre XRD spektrumlarındaki değişimlerin grafiği Şekil 3.33-a 'da incelendiğinde CH'ın kristal I ve kristal II piklerinin kırınım açı değerlerinin sola ve daha düşük değerlere kaydığı gözlemlenmiştir. GA çapraz bağlayıcı katkılı

SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerde artan GLY oranına göre XRD spektrumlarındaki değişimlerin grafiklerinde ise piklerin sağa kaydığı ve GLY oranı arttıkça piklerin şiddetlerinin azaldığı gözlenmiştir.

Şekil 3.33 (b, c ve d) incelendiğinde, %2.5, %5 ve %10 çapraz bağlayıcı katkılı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin artan GLY oranına göre kırınım piklerinin XRD spektrumlarındaki değişimlerin grafiklerinde 8.5 kırınım pikinin 9.5'e kaydığı ve 11.7 kırınım pikinin ise 12'ye kaydığı gözlemlenmiştir.



| | | |
|---|---|---|
| a) GA=%0 GLY=%0 | b) GA=%0 GLY=%20 | c) GA=%0 GLY=%40 |
| d) GA=%5- GLY=%0 | e) GA=%5- GLY=%20 | f) GA=%5- GLY=%40 |
| g) GA=%10 GLY=%0 | h) GA=%10 GLY=%20 | i) GA=%10 GLY=%40 |

**Şekil 3.39** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin karakteristik XRD piklerinin eğri uydurma yöntemi ile belirlenmiş eğrileri

GA=%0, %2.5, %5 ve %10 için artan GLY oranlarında (%0, %20 ve %40) piklerin spektrumdaki kristallenme oranlarının entegre alan hesabı Tablo 3.24 de verilmiştir.

Kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler Tablo 3.24 incelendiğinde GA katkısı olmayan filmlerde, GLY oranı arttıkça 8.5 ve 11.7

piklerinin kırım açılarının daha düşük değerlere kaymasının yanında entegre alan oranlarının da azaldığı görülmüştür.

**Tablo 3.25** SF/CH (25/75) + GA(%) Filmlerinin Artan GLY Oranına Göre

| 25/75 GA=%0 | Entegre Alan (%) | | | 25/75 GA=%2,5 | Entegre Alan (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2θ ($^0$) | GLY=%0 | GLY=%20 | GLY=%40 | 2θ ($^0$) | GLY=%0 | GLY=%20 | GLY=%40 |
| *8,5* | 2,967 | 4,799 | 3,129 | *8,5* | 3,672 | 4,061 | 2,015 |
| *11,7* | 3,567 | 2,433 | 1,061 | *11,7* | 2,461 | 1,394 | 1,624 |
| *16,5* | 2,283 | 1,023 | 1,022 | *16,5* | 2,610 | 0,470 | 0,745 |
| *18,6* | 2,895 | 2,047 | 1,723 | *18,6* | 5,073 | 2,419 | 2,504 |
| *21,0* | 2,511 | 0,416 | 6,146 | *21,0* | 0,207 | 0,321 | 0,900 |
| *23,0* | 3,003 | 2,508 | 1,288 | *23,0* | 5,205 | 2,502 | 2,840 |
| *26,0* | 15,114 | 14,651 | 12,035 | *26,0* | 9,334 | 14,878 | 11,513 |
| *18,5(Amorf)* | 67,660 | 72,123 | 73,595 | *18,5(Amorf)* | 71,439 | 73,955 | 77,859 |
| Kristallenme (%) | 32,340 | 27,877 | 26,405 | Kristallenme (%) | 28,561 | 26,045 | 22,141 |

| 25/75 GA=%5 | Entegre Alan (%) | | | 25/75 GA=%10 | Entegre Alan (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2θ ($^0$) | GLY=%0 | GLY=%20 | GLY=%40 | 2θ ($^0$) | GLY=%0 | GLY=%20 | GLY=%40 |
| *8,5* | 4,759 | 1,021 | 1,296 | *8,5* | 3,119 | 3,521 | 3,571 |
| *11,7* | 2,523 | 1,250 | 0,995 | *11,7* | 2,887 | 1,022 | 0,061 |
| *16,5* | 2,158 | 2,276 | 1,246 | *16,5* | 3,877 | 0,662 | 1,282 |
| *18,6* | 2,939 | 4,512 | 6,993 | *18,6* | 1,923 | 2,259 | 1,890 |
| *21,0* | 0,342 | 1,158 | 0,548 | *21,0* | 0,767 | 0,458 | 1,890 |
| *23,0* | 1,458 | 2,095 | 0,647 | *23,0* | 2,585 | 1,678 | 1,543 |
| *26,0* | 13,301 | 12,810 | 11,165 | *26,0* | 11,080 | 12,284 | 10,048 |
| *18,5(Amorf)* | 72,520 | 74,879 | 77,109 | *18,5(Amorf)* | 73,761 | 78,116 | 79,715 |
| Kristallenme (%) | 27,480 | 25,121 | 22,891 | Kristallenme (%) | 26,239 | 21,884 | 20,285 |

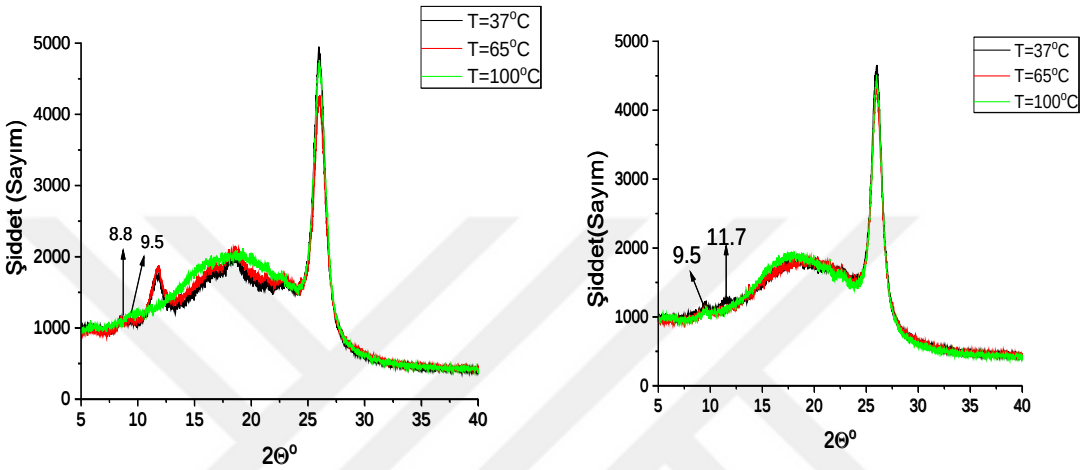
Kırınım Piklerinin Entegre Edilmiş Alan Oranlarındaki Değişmeler

Tablo 3.24 ’de %2.5, %5 ve %10 GA etkisindeki filmlerde ise, özellikle 8.5 pikinin kırınım açısının yukarı değerlere kaydığı görülmektedir. Aynı zamanda, 11.7 kırınım pikinin hem pik şeklinin hem de oranlarının önemli derecede azaldığı görülmektedir. Bu pikin biçim ve şiddetlerini özellikle hem çapraz bağlayıcı moleküllerin hem de gliserol moleküllerinin önemli derecede etkilediği düşünülmektedir. Gliserol moleküllerinin de fazla miktarda -OH grupları olmasında dolayı, kristalit birimlerinin hidrojen bağlarını deforme ettiği ve etkilediği gözükmektedir. Genel olarak toplam kristallenme oranları göz önüne alındığında, artan gliserol oranı ile her ne kadar SF/CH (25/75) filmlerin bireysel kristallenme

oranlarında farklı değişimler meydana gelse de filmlerin toplam kristallenme oranları azalmıştır.

### 3.5.4 SF/CH Biyokompozit Filmlerin XRD Spektrumlarına Termal İşlemin Etkisi

Şekil 3.35 te GA=%5 ve %10 katkılı filmlerin her biri için GLY=%0, %20 ve %40 için spektrum grafikleri gösterilmiştir.




a) GA=%5/GLY=%0 b) GA=%5/GLY=%20

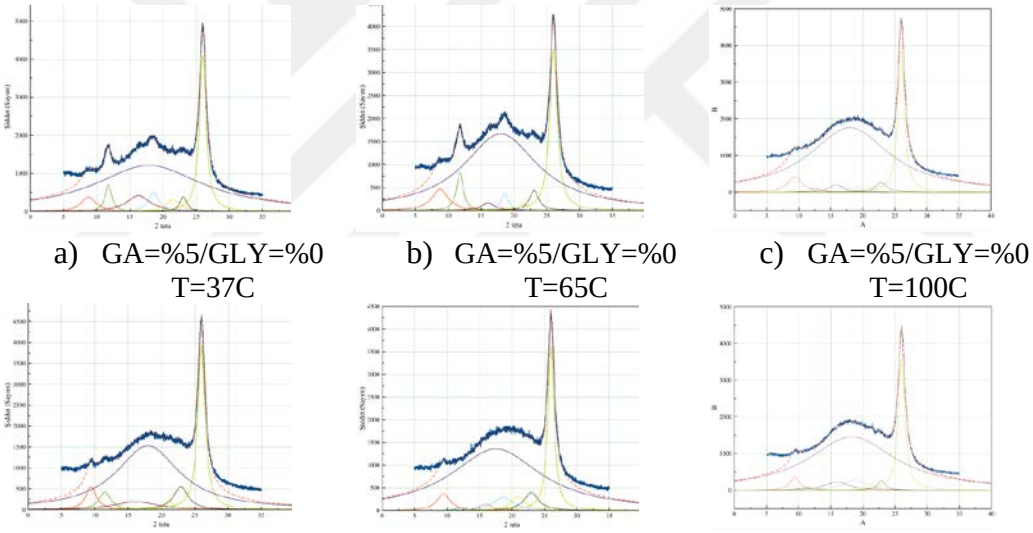
**Şekil 3.40** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre XRD spektrumlarındaki değişimler

SF/CH (25/75), %5 GA çapraz bağlı filmleri 3 gün süreyle farklı sıcaklıklarda termal işlem gördükten sonra, özellikle 11.7 de gözlenen ve CH (110) düzlemine ait ve aynı zamanda da SF β-kristal yapısına da ait olan pikin şiddeti ve oranı 100 ° sıcaklık işleminden sonra önemli oranda düştüğü görülmektedir. 100 C de filmlerde bulunan suyun ve düşük sıcaklıklarda uçucu ürünlerin buharlaşmasıyla ilgili olarak, bu pikin özellikle yapıdaki su gibi moleküllerle hidrojen bağları etkileşimlerinden dolayı önemli derecede etkilendiği görülmektedir. 37 ve 65 de spektrumların şekilleri pek değişmemekle beraber, 100 C de özellikle bazı düşük kırılma açılarındaki piklerin şiddetleri değiştiği görülmektedir. Burada termal işlemin, özellikle 100 C deki işlemin filmlerin toplam kristallenme oranını önemli derecede azalttığı görülmektedir.

Bu spektrumlara gliserol etkisi göz önüne alındığında, şekil b e görüldüğü gibi, spektrumların şekilleri (tipleri) genel olarak çok fazla değişmemekle beraber, yine 100 C de 11.7 pikinin şiddet nispeten daha azaldığı görülmektedir. Burada önemli

olan bir nokta ise, bu pikin şiddetinin, gliserol olmadığı zamanki 37 ve 65 C sıcaklık işlemlerindeki spektrumlarından da daha düşük olduğu ve aynı zamanda Tabloda da görüldüğü gibi genel olarak yüzde oranlarının da daha düşük olduğu görülmektedir. Burada, belki gliserolün fazla olan -OH grupları aynı zamanda yapıda bulunan su molekülleri ve CH kristal birimleriyle etkileşerek, bu kristal birimleri deforme ederek ya da bozarak, bu pikin düzlemine ait kırınım şiddetini azalttığı düşünülebilir. Burada diğer bir önemli nokta ise, normalde 8,5 da gözlenen düşük şiddetteki pikin gözlendiği açı değerinin, 9,5 civarına kaydığı görülmektedir. Bu filmlerin sıcaklık işleminden sonra, gliserolsüz örneklerdeki duruma benzer şekilde, artan termal işlem sıcaklığı ile filmlerin toplam kristallenme oranlarının azaldığı görülmektedir.

Aşağıdaki tablo ve şekillerde farklı GA %5 ve %10 oranlarında piklerin spektrumdaki kristallenme oranlarının entegre alan grafikleri ve hesabı verilmiştir.



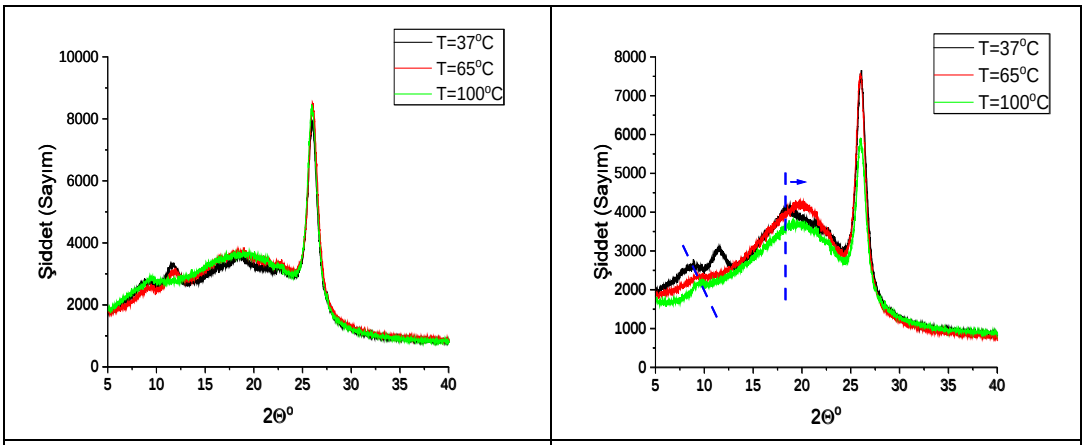
a) GA=%5/GLY=%0 T=37C
b) GA=%5/GLY=%0 T=65C
c) GA=%5/GLY=%0 T=100C
d) GA=%5/GLY=%20 T=37C
e) GA=%5/GLY=%20 T=65C
f) GA=%5/GLY=%20 T=100C

**Şekil 3.41** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre kristallenme oranlarındaki değişimler

**Tablo 3.26** Üç gün artan sıcaklığa göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler

| 25/75 GA=%5, GLY=%0 | Entegre Alan (%) | | | | 25/75 GA=%5, GLY=%20 | Entegre Alan (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2θ ($^0$) | T=37 $^O$C | T=65 $^O$C | T=100 $^O$C | | 2θ ($^0$) | T=37 $^O$C | T=65 $^O$C | T=100 $^O$C |
| *8,5* | 2,891 | 4,349 | 3,301 | | *8,5* | 3,730 | 2,865 | 1,929 |
| *11,7* | 2,387 | 3,114 | 0,663 | | *11,7* | 3,142 | 0,461 | 0,733 |
| *16,5* | 4,987 | 1,307 | 1,552 | | *16,5* | 5,311 | 1,175 | 3,195 |
| *18,6* | 2,652 | 1,552 | 1,170 | | *18,6* | 0,833 | 3,401 | 3,743 |
| *21,0* | 2,295 | 0,640 | 0,776 | | *21,0* | 1,173 | 2,658 | 0,759 |
| *23,0* | 1,423 | 2,293 | 1,609 | | *23,0* | 5,201 | 3,373 | 1,202 |
| *26,0* | 14,129 | 14,839 | 13,375 | | *26,0* | 18,166 | 13,026 | 13,577 |
| *18,5(Amorf)* | 69,235 | 71,905 | 77,554 | | *18,5(Amorf)* | 62,443 | 73,040 | 74,863 |
| Kristallenme (%) | 30,765 | 28,095 | 22,446 | | Kristallenme (%) | 37,557 | 26,960 | 25,137 |

Şekil 3.37 de, %10 GA ile çapraz bağlı SF/CH(25/75) filmlerin ve aynı zamanda plastikleştirilmiş filmlerin farklı sıcaklık değerlerinde 3 gün süreyle termal işleme tabi tutulduktan sonra elde edilen XRD spektrumları görülmektedir. Bu filmlerin karakteristik pikleri ve elde edilen piklerin % oranları şekil 3.38 ve Tablo 3.26 te verilmektedir.



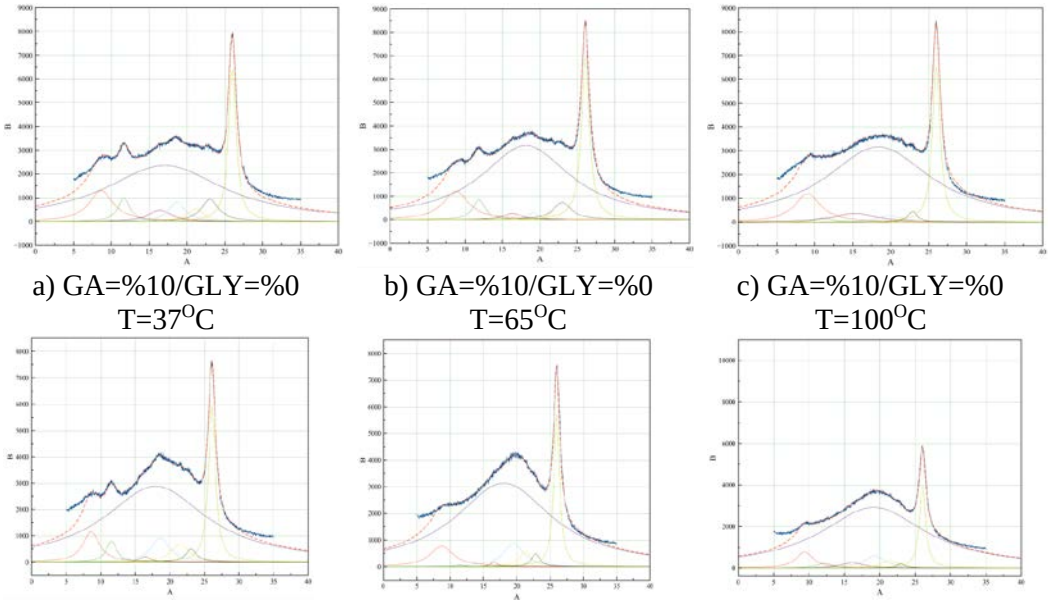

a) GA=%10/GLY=%0 b) GA=%10/GLY=%20

**Şekil 3.42** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre XRD spektrumlarındaki değişimler

Burada gliserol etkisi olmadan, yüksek çapraz bağlayıcı GA (%10) oranında, artan termal işlem sıcaklığı ile XRD spektrumlarında özellikle 11.7 pikindeki radikal değişimin haricinde spektrum şekil ve tipleri birbirine benzemektedir. Burada yine, daha önceki %5 GA katkılı filmlerdeki duruma benzer şekilde, 37 ve 65 C de 11.7 pikinin şiddeti ve oranı birbirine yakınken, 100 C de önemli derecede azaldığı

görülmektedir (Tablo 3.26). Çok az da olsa artan sıcaklık ile, 8.5'teki pik yukarı değerlere kaydığı görülmektedir. Burada yine, sıcaklık işleminin toplam kristallenmeyi kötü etkilediği görülmektedir.

%20 Gliserol katkılı filmlerin sıcaklık işleminden sonra elde edilen XRD spektrumlarında açık bir şekilde, 8.5 pikinin hem şiddeti hem de % oranı artan sıcaklıkla azaldığı görülmektedir (Tablo 3.26). Ayrıca bu pikin açı değeri, artan termal sıcaklık ile yukarı değerlere doğru kaydığı görülmektedir. 11.7 de gözlenen pikin şiddeti artan sıcaklık değeri ile düşme gösterirken, % alan oran değerleri 65 C için düşerken, 100 C için 65 dereceye göre artmasına rağmen, genel olarak yüksek 37 C den yüksek sıcaklık değerlerinde azaldığı görülmektedir. Bunların dışında, 18.6 da gözlenen pik ise, artan sıcaklık ile 19,8 civarına kaydığı görülmektedir. Bu pikin şiddeti ve oran değeri 65 C için bir miktar artmakta, daha sora 100 C için azalmaktadır. Gliserol katkılı örneklerin sıcaklık işlemlerinden sonra, artan sıcaklık ile kristallenmenin olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Burada yine özellikle her bir sıcaklık değerindeki işlemden sonra, gliserol katkısız filmin toplam kristallenme değeriyle gliserol katkılı filmin değeri karşılaştırıldığında, gliserolün de filmlerin kristallenmesini zayıflattığı görülmektedir.



a) GA=%10/GLY=%0 T=37$^{O}$C
b) GA=%10/GLY=%0 T=65$^{O}$C
c) GA=%10/GLY=%0 T=100$^{O}$C
d) GA=%10/GLY=%20 T=37$^{O}$C
e) GA=%10/GLY=%20 T=65$^{O}$C
f) GA=%10/GLY=%20 T=100$^{O}$C

**Şekil 3.43** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin üç gün artan sıcaklığa göre kristallenme oranlarındaki değişimler

**Tablo 3.27** SF/CH (25/75) +GA(%10) Üç gün artan sıcaklığa göre kırınım piklerinin entegre edilmiş alan oranlarındaki değişmeler

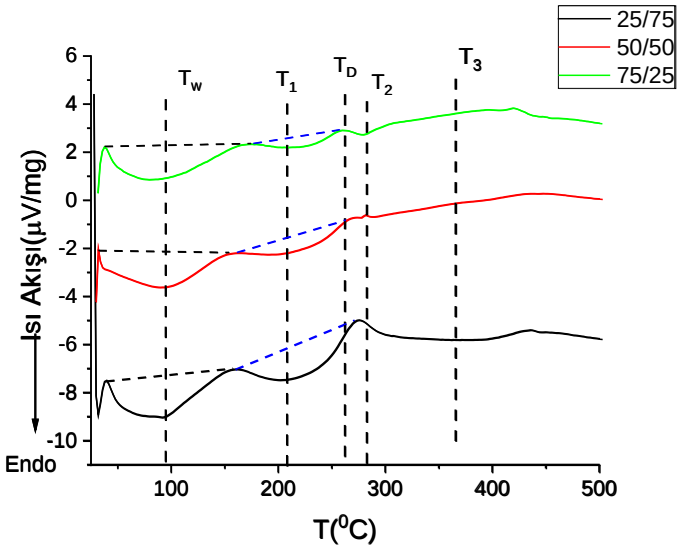
| 25/75 GA=%10, GLY=%0 | Entegre Alan (%) | | | | 25/75 GA=%10, GLY=%20 | Entegre Alan (%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2θ ($^0$) | T=37 $^O$C | T=65 $^O$C | T=100 $^O$C | | 2θ ($^0$) | T=37 $^O$C | T=65 $^O$C | T=100 $^O$C |
| *8,5* | 7,462 | 7,699 | 6,945 | | *8,5* | 4,772 | 4,712 | 3,557 |
| *11,7* | 2,750 | 2,543 | 0,611 | | *11,7* | 2,032 | 0,137 | 0,953 |
| *16,5* | 2,489 | 1,162 | 3,475 | | *16,5* | 0,539 | 0,287 | 1,508 |
| *18,6* | 3,185 | 0,817 | 1,443 | | *18,6* | 4,343 | 4,541 | 3,201 |
| *21,0* | 2,033 | 0,511 | 0,178 | | *21,0* | 3,116 | 1,716 | 1,589 |
| *23,0* | 3,808 | 3,302 | 0,932 | | *23,0* | 1,387 | 1,075 | 0,459 |
| *26,0* | 11,427 | 13,613 | 11,073 | | *26,0* | 10,089 | 8,484 | 6,404 |
| *18,5(Amorf)* | 66,847 | 70,354 | 75,343 | | *18,5(Amorf)* | 73,722 | 79,048 | 82,329 |
| Kristallenme (%) | 33,153 | 29,646 | 24,657 | | Kristallenme (%) | 26,278 | 20,952 | 17,671 |

Saf suyun kitosan zincirleri ile zayıf bir şekilde bağlandığı varsayılmaktadır [78]. Isıl işlem görmüş filmlerde özellikle 8.5, 11.7, 16.5 ve 18.6 piklerinin yoğunluğunun azaldığı görülmüştür. Aynı şekilde GLY katkılı ısıl işlem görmüş filmlerde 26 pikindeki kristallenmenin azalması CH'ın su ile yaptığı zayıf bağlar ile ilişkilendirilebilir.

## 3.6 Biyokompozit Filmlerin DSC Ölçüm Sonuçları ve Analizleri

### 3.6.1 İpek Katkısının Sabit GA (%2.5) Çapraz Bağlı SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi

Farklı oranlarda SF/CH bileşenleri içeren kompozit filmlerin DSC grafiklerindeki farklılıklar Şekil 3.39 da sunulmaktadır. Bu filmlerin termal özelliklerini gösteren sıcaklık değerleri, erime entalpisi ve kristalleşme seviyeleri ise Tablo 3.27 de yer almaktadır.




**Şekil 3.44** SF/CH biyokompozit filmlerin DSC eğrileri

**Tablo 3.28** SF/CH biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal özelliklerine ait sıcaklık değerleri

| SF(%) | $T_W$ | $T_1$ | $T_D$ | $T_2$ | $T_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 25 | 93,85 | 209 | 276,9 | - | 363,8 |
| 50 | 89,58 | 212,5 | 269,2 | 277,5 | 388,2 |
| 75 | 82,03 | 224,3 | 259,9 | 280,0 | 410,6 |

Kitosan filminin DSC spektrumlarında, 70 -110 C civarlarındaki endotermik pik, genellikle yapıda absorbe edilmiş suyun buharlaşmasına [65], [85] ve bu pikin sıcaklığının yüksek olması kitosanın su tutma kapasitesinin yüksek olacağını işaret etmektedir. Bunun yanında, 302,3-307 °C'de ekzotermik bir tepe olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda başka çalışmalarda, 70-100 C civarı pik, kitosan ve SF filmlerinde suyun ve solventlerin (asetik asit, etil alkol, vb) buharlaşmasına atfedilmektedir [18], [65], [80], [86]. Kitosan filmlerin camsı geçiş sıcaklığı ise 165 C civarında olduğu belirtilmektedir [80]. Bu çalışmada, kitosanın termal ayrışma (dekompozisyon) sıcaklığı $T_D$, 262 C civardına başladığı belirtilmesine rağmen, başka bir çalışmada saf kitosan filmler 311 C civarında bir ekzotermik pik gösterdiği belirtilmektedir[18]. Bu pik ise, dehidrasyon, aminsizleşme ve bazı halka açılması reaksiyonları sürecinde, kitosanın zincirlerinin depolimerizasyonu, piranos halkalarının dekompozisyonuna atfedilmektedir. Yine bu pik başka bir çalışmada 302, C de gözlenen ekzotermik tepe, kitin/kitosan makromolekül zincirinin ayrışmasıyla ilişkilidir [87]. Başka bir çalışmada 297 C deki ekzotermik pikin [88] kitosandaki aminlerin dekompozisyonuna atfedilmektedir. Görüldüğü

gibi, kitosanın termal dekompozisyonuna ait pikin sıcaklık değerinin geniş bir aralıkta 262-311 C olduğu görülmektedir. Saf CH filminin gösterdiği karakteristik ekzotermik tepe, sakkarit halkalarının dehidratasyonu, depolimerizasyonu ve polimerin asetillenmiş ve deasetillenmiş birimlerinin ayrışmasını içeren karmaşık bir sürece atfedilir [89].

Özellikle 209 C civarlarında bizim spektrumlarımızda gözlenen geniş pikin $T_1$, doğasına literatürde tam olarak belirtilmemektedir. Farklı yorumlar mevcuttur. Örneğin, bir çalışmada, 198 C civarında gözlenen endotermik pikin, kitosan network yapısında absorbe edilen suyun buharlaşmasına atfedilmektedir. Yine bir çalışmada, 186-203 C arasında gözlenen pikin, gliserol ve kitosan ekstrakt bileşenlerinin denatürasyonuna atfedilmektedir [90]. Fakat aynı zamanda, başka bir CH/SF karışımı ile yapılan bir çalışmada, 220, 280 ve 350 C de gözlenen küçük endotermik piklerin SF nin dekompozisyonuna atfedilmektedir [65], [91] . Başka bir çalışmada, yüksek polimer ipek fibroin çözeltilerinin makromoleküllerinin %50 sinin α-heliks konformasyonunda olduğunu ve bunlarında fibroin filmlerde kaldığı belirtilmektedir [80], [92]. Ve bu yapılara istinaden, 246 C de gözlenen küçük endotermik pikin ise, α-heliks kristalleri içindeki güçlü moleküler hareketlere atfedilmektedir [92]. Özellikle artan kitosan oranıyla bu pikin kaybolmasının, kitosanın fibroin filmlerindeki fibroin makromoleküllerinin α-heliks kristal konformasyonlarının oluşumunu engellediği belirtilmektedir. Dolayısıyla bizim spektrumlarda gözlenen bu 209-225 C de geniş pikinde tüm bu etkilerin bir bileşimi olabileceği düşünülmektedir. Bu kristal yapısının dekompozisyonunda etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Aynı zamanda, 317 C [93] ve başka bir çalışmada [86], [92] 281 C endotermik tepe $T_2$ , SF nin termal bozunumuna atfedilir ve özellikle fibroinin kristal kısımlarının ve ipek II yapısının termal degradasyonuna atfedilmektedir. [80], [92], [94]

Bizim spektrumlarımızda bu özellikle yüksek ipek katkısında ortaya çıkmaya başlamıştır (50/50 ve 75/25 filmlerinde). Bu pik aynı zamanda Aynı zamanda, ipeğin DSC diyagramları ile ilgili literatürdeki çalışmalar incelendiğinde kuru ipek film örneklerinin Tg camsı geçiş sıcaklığının 178 $^0$C de ölçüldüğü ve artan bağıl nem oranıyla bu değerin daha aşağı değerlere kaydığı ve özellikle, %75 bağıl nem şartlarında Tg değeri 39 $^0$C civarına kaydığı belirtirmiştir. Ayrıca 100 $^0$C civarındaki endotermik pik SF ’deki suyun buharlaşmasına atfedilmiştir. SF'nin ısıyla oluşan

kristalleşmesine atfedilen yaklaşık 228 °C bir ekzotermik pikten bahsedilmektedir. [86], [92]. Fakat bu kristallenme piki bizim spektrumlarda gözlenmemiştir

Düşük GA oranı ile çapraz bağlı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerinin Şekil 3.39 deki spektrumlara ait Tablo 3.27 de verilen sıcaklık değerleri incelendiğinde 93,85 °C de bulunan suyun buharlaşmasına ait olan pikin ($T_W$), sıcaklık değerinin artan SF oranı ile azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. Fakat bu pike ait olan entalpi değerleri (pikin entegre edilmiş alan değerleriyle orantılı olan) artan SF ile azalmaktadır. Bunun ise hem çapraz bağlanma etkisinden hem de artan SF katkısı ile filmlerin su tutuculuğunun (absorplamasının) azaldığını söyleyebiliriz. Bununla beraber, literatürde hem CH filmlerinde matriste bulunan suyun buharlaşmasına atfedilen ve hem de SF nin dekompozisyonuna atfedilen üst üste gelmiş olan bu 209 C civarındaki geniş pikin ($T_1$) sıcaklık değerinin artan SF ile arttığı görülmüştür. Artan SF ile hem 80-100 C de gözlenen suyun buharlaşmasına atfedilen pikin hem de , 209 C civarında gözlenen matris içindeki suyun buharlaşmasına atfedilen pikin entalpi değerlerinin azalması ise, artan SF katkısı ile filmlerdeki suyun absorbe edilmesinin azaldığı, dolayısıyla GA in polimer zincirleri arasındaki çapraz bağlama fonksiyonuna ilave olarak, ipek fibroin polimer zincirleri ile kitosan zincirleri arasında özellikle hidrojen bağları üzerinden de fiziksel çapraz bağların arttığından su absorplanmasının azaldığını işaret ettiğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda bu pikin yukarı sıcaklık değerine kaymasının ise, artan SF den dolayı, aynı zamanda SF nin de termal dekompozisyon sıcaklıklarından biri olduğunu bildiğimiz bu pikin sıcaklık değerlerinin yukarı kaymasının filmlerin termal stabilitesinin de arttığını işaret ettiği düşünülmektedir.

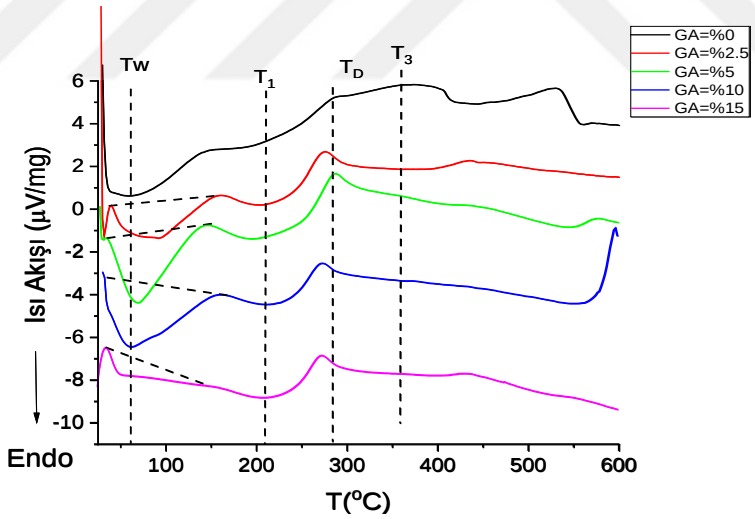
Bu değişimlere ilave olarak, artan SF oranıyla filmlerdeki CH makromolekül ayrışmasının sıcaklık değerlerinin daha düşük sıcaklıklara kaydığı görülmektedir. Burada, bu bölgede SF polimer katkısının da dekompozisyonuna atfedilen 280 C civarındaki pikin ($T_2$) de çıkmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz. İpek fibroin katkısı artarken, CH düzenli bölgelerinin ve kitosan makromoleküllerin özellikle ipekteki α-heliks yapılar ve rastgele sarmal yapılar gibi yapılarından olumsuz etkilenerek, bu CH dekompozisyon pikinin ($T_D$) daha düşük sıcaklıklara kaydığı düşünülmektedir. Yani daha kolay degradasyona başlayacağı düşünülebilir. Aynı zamanda Bu SF nin ipek II yapılarının termal yıpranmasına atfedilen, termal degradasyon ve dekompozisyon pikinin, artan SF katkısıyla, bu pikin varlığı 50/50

filmlerinden itibaren görülmektedir. Bu pik 75/25 filmlerinde daha belirgin olarak gözükmektedir. Aynı zamanda bu endotermik pikin görülmesi ve artan SF ile daha yüksek sıcaklıklara kayması, SF katkısının kompozit filmlerin termal stabilitesini arttırdığını söyleyebiliriz.

Ayrıca, burada bazı makalelerde (350 C civarında da ipek filmlerin termal dekompozisyonuna atfedilen pikin ($T_3$), [65] SF/CH (25/75) filminde, geniş olarak görülmekle beraber, bu ileri seviyede termal yıpranmayı işaret eden bu pikin sıcaklık değerinin de artan SF oranları ile yüksek sıcaklıklara doğru kaydığı fark edilmektedir.

### 3.6.2 Çapraz Bağlamanın SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi

Artan GA oranına bağlı olarak 25/75 SF/CH biyokompozit filmlerin DSC grafiklerindeki farklılıklar Şekil 3.40 ta gösterilmektedir. Bu filmlerin termal özelliklerini açıklayan sıcaklık değerleri, erime entalpisi ve kristallenme oranları ise Tablo 3.28 de yer almaktadır.




**Şekil 3.45** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin farklı GA oranlarında DSC eğrileri

**Tablo 3.29** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin farklı GA oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri

| GA(%) | $T_W$ | $T_1$ | $T_D$ | $T_2$ | $T_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 59,4 | 209,7 | 285,7 | - | - |
| 2,5 | 87,03 | 205,5 | 275,4 | - | 352,8 |
| 5 | 69,4 | 195,1 | 287,7 | | 407,2 |
| 10 | 61,9 | 214,6 | 272,9 | - | 358,4 |
| 15 | 55,1 | 209,3 | 272,2 | - | 341,9 |

Farklı GA oranlarının film üzerindeki DSC diyagramlarına etkisi Şekil 3. 40'ta gösterilmektedir. Termal karakteristik pikslerin sıcaklıkları ve değişimleri Tablo 3. 28'de sunulmuştur. GA katkısı ile 59. 4 °C civarında gözlemlenen su ve uçucu maddelerin (asetik asit, etil alkol, vb. ) buharlaşmasına atfedilen piklerin sıcaklıkları ve değişimler Tablo 3.28 de verilmiştir. Burada GA katkısı ile 59.4 °C civarında görülen suyun ve uçucu ürünlerin (asetik asit, etil alkol, vb) buharlaşmasına atfedilen pikin tepe değerinin %2.5 ve %5 GA oranlarında 87.03-69 °C sıcaklık değerine kayma yaparken, bu değerlerden sonra artan GA oranıyla azaldığı görülmektedir. Burada mekanik özelliklerde de görüldüğü gibi, belirli bir GA oranına (≈5%) oranına kadar mekanik özelliklerin ve dayanımın arttığı, sonraki artan GA oranlarıyla azaldığı görülmektedir. Burada, özellikle kitosan matrisi içinde çapraz bağlama oranı daha efektif olduğu bu %2,5-5 GA değerlerinde absorbe edilen su molekülleriyle kitosan ve ipek fibroin polimer zincirleri arasındaki daha güçlü etkileşmeden dolayı, bu suyun buharlaşma piki daha yukarı sıcaklık değerlerine kaydığı düşünülmektedir.

Bunun yanında, çapraz bağlanma etkisinin %5 civarında daha efektif olduğundan dolayı, kitosan polimer makromolekül zincirlerinin dekompozisyon (ayrışma) piki %5 GA değerine kadar arttığı ve daha fazla GA oranları için tekrar azaldığı fakat %15 oranında ise artık değişmediği görülmüştür. Bu pik ile örtüşen ve ipek fibroinin Silk II yapısının dekompozisyon piki burada ayırt edici bir şekilde gözlenememiştir. Bu pik yerine 350 C civarında gözlenen geniş endotermik pikin, SF polimer yapılarının termal degradasyonunu işaret ettiği ve bunun da artan GA oranı ile (%5 e kadar) genel olarak artma eğiliminde olduğu ve bu değerden sonra azaldığı görülmektedir.

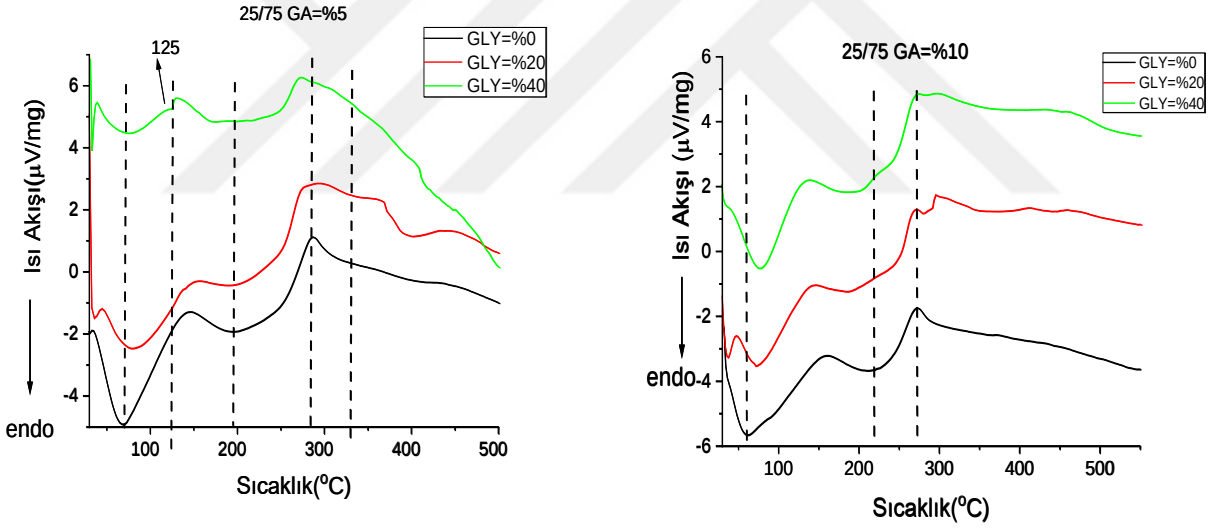
Bu değişmelere ilave olarak, SF nin termal ayrışma piki, CH matriste bulunan absorbe edilen su ve diğer asetik asit, etanol ve GA in buharlaşmasına atfedilen

pikin sıcaklık değeri, GA oranı %5 e kadar arttıkça 209 C den 195 C ye düşüp sonra tekrar arttığı görülmektedir.

Genel olarak, %5 GA değerine kadar, çapraz bağlanmanın daha efektif olduğu ve bununda SF/CH(25/75) filmlerin CH ve SF nin termal dekompozisyon ve degradasyon piklerinin sıcaklık değerlerini arttırdığından, bu orana kadar filmlerin termal kararlılıklarının arttığını söylenebilir.

### 3.6.3 Gliserol'ün SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi

Artan GLY oaranına göre 25/ 75 SF/CH biyokompozit filmlerin DSC eğrilerindeki değişimler Şekil 3.41 a ve b de görülmektedir. Bu filmlerin termal karakteristiklerini belirten sıcaklık değerleri, erime entalpi ve kristallenme dereceleri sabit %5 GA değeri için Tablo 3.29 ve sabit %10 GA değeri için Tablo 3.30 da verilmiştir.




**Şekil 3.46** SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin Farklı GLY oranlarında DSC eğrileri

**Tablo 3.30** SF/CH (25/75) GA=%5 biyokompozit filmlerin artan GLY oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri

| GLY(%) | $T_W$ | $T_1$ | $T_D$ | $T_3$ |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 69,4 | 196,9-246,7 | 287,7 | 340,7 |
| 20 | 79,6 | 192,4-246,2 | 283,88 | 332,4 |
| 40 | 80,4 | 172,5-242,5 | 273,34 | 296,0 |

Sabit %5 GA ağırlıklı SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin DSC eğrileri incelendiğinde, GLY katkısının suyun buharlaşma derecesine bağlı olan pik

sıcaklığını daha yüksek değerlere kaydırdığı gözlenmektedir. Burada muhtemelen artan gliserol ile özellikle kitosan polimer zincirleri ile hidrojen bağları gibi etkileşmeler ile su, gliserol ve polimer zincirleri arasındaki moleküller arası etkileşmenin bir miktar artmasından bu suyun buharlaşmasına atfedilen pikin sıcaklık değeri yukarılara kaymıştır. Fakat, gliserol oranı 2 katına çıkmasına rağmen, bu pik hemen hemen sabit kalmıştır. Bu pikin yanında, özellikle 125 C civarında çok küçük bir endotermik pik gözlenmektedir. Bunun da gliserol molekülünün ayrışmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

195 C civarında başlayan ve yaklaşık 270 C civarına kadar uzanan geniş pikin, hem kitosan matrisinde kalan su, asetik asit gibi uçucu ürünlerin buharlaşması, gliserolün denatürasyonu ile, aynı zamanda ipek fibroin yapılarının dekompozisyonlarına atfedildiği için değişimlerin analizinin yapılması karışık gözükmektedir. Yine de gliserol etkisi ile bu pikin sıcaklık değerinin daha düşük sıcaklıklara kayması ve aynı zamanda ipeğin fibroin yapısının ayrışma sıcaklığının da düşük sıcaklıklara kaydığını düşünmekteyiz. Burada, özellikle gliserol miktarı arttıkça film yapısında polimer zincirleri arasındaki etkileşmelerin zayıflayarak, aynı zamanda amorf yapıların ve zincirlerin daha fazlalaştığını düşünmekteyiz. Bu yüzden daha düşük sıcaklıklarda denatürasyon ve dekompozisyonun başladığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, daha belirgin bir pik olan kitosanın dekompozisyonuna ait olan pikin sıcaklık değerlerinin de daha düşük sıcaklığa kaymasının, yine moleküller arası etkileşmelerin zayıflamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Özelikle 280 C civarında gözlenen ve Silk II yapılarının ve ipeğin kristal yapılarının termal degradasyonuna (yıpranmasına) atfedilen endotermik pik ayırt edilememesine rağmen, diğer taraftan daha yüksek sıcaklıklarda gözlenen ve yine ipek fibroin yapılarının termal ayrışmasına atfedilen ve geniş olarak gözlenen bu pikin sıcaklık değerinin de düşük sıcaklık değerlerine kaydığı görülmektedir. Dolayısıyla bu sonuçlar, artan gliserol plastikleştirici oranlarıyla filmlerin termal kararlılıklarının daha azaldığı görülmektedir.

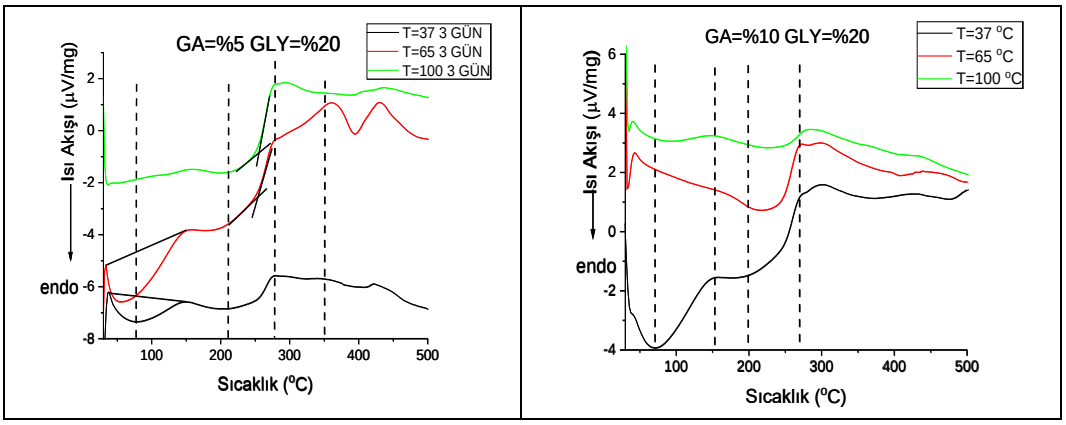
**Tablo 3.31** SF/CH (25/75) +GA(%10) biyokompozit filmlerin artan GLY oranlarında DSC eğrilerinde gözlenen termal özellikleri

| GLY(%) | $T_W$ | $T_1$ | $T_D$ | $T_2$ | $T_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 61,9 | 215,9 | 272,9 | - | - |
| 20 | 73,05 | 190,19-242,86 | 271,9 | 281,0 | 364,5 |
| 40 | 77,5 | 187,96-237,75 | 274,3 | 283,2 | 367,5 |

Diğer taraftan Tablo 3.30 da, SF/CH(25/75)+%10 GA çapraz bağlı filmlerin termal karakteristik piklerine, plastikleştirici gliserol katkısının etkileri görülmektedir. Bu kompozit filmlerde, suyun buharlaşmasına atfedilen pik sıcaklık değeri 61.9 C civarından 77.5 C ye kaydığı görülmektedir. Bu değişime ilave olarak, artan gliserin oranıyla, gliserol bileşenlerinin denatürasyonuna atfedilen pik, değeri daha yüksek sıcaklıklara doğru kaydığı görülmektedir. Yine bu pikin altında hissedilen, ipeğin dekompozisyonuna atfedilen pik ise, nisbeten daha düşük sıcaklık değerine kaydığı görülmektedir. Bunun yanında kitosanın termal dekompozisyonu olan pikin sıcaklık değeri aslında çok değişmemekle birlikte, yüksek gliserol oranında yaklaşık 1 derece arttığı görülmektedir. Burada, bu sıcaklık değerinin çok değişmemesi ve azalmaması, özellikle %10 GA çapraz bağlamadan dolayı olan koruyucu etkinin baskın olduğunu göstermektedir. Ayrıca, %5 GA katkılı filmlerde tam gözükmeyen ve özellikle ipek Fibroinin kristal bölgelerinin degradasyonuna atfedilen küçük endotermik pik, %10 GA ve gliserol katkılı filmlerde görülmekte ve artan gliserol oranıyla çok az değişmektedir. Ayrıca, daha yüksek sıcaklıklarda termal degradasyonu işaret eden geniş pikin sıcaklık değeri ise, bir miktar artmıştır.

### 3.6.4 Termal işlemlerin SF/CH Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi

SF/CH biyokompozit filmler üç gün boyunca farklı sıcaklıklarda tutularak ısıl işlemlerin biyokompozit filmlerin DSC eğrilerine etkileri GLY (%20) sabit kalmak koşuluyla %5 ve %10 GA oranlarında incelenmiştir. Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH (25/75)+GA(%)+GLY(%20) biyokompozit filmlerin DSC eğrileri Şekil 3.42 de görülmektedir.




**Şekil 3.47** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerin DSC eğrileri

**Tablo 3.32** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH(25/75)+ GA(%5)+GLY(%20) biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal etkiler

| T(°C) | $T_W$ | $T_1$ | $T_D$ | $T_2$ | $T_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 37 | 76 | - | 276,0 | 222,5 | 316,2 |
| 65 | 55,6 | - | 276,2 | 202,0 | 319,7 |
| 100 | 52,6 | - | 276,8 | 194,5 | 360,9 |

Tablo 3.31'deki verilere göre, artan termal etki sıcaklığı ile suyun ve düşük moleküllü bileşiklerin yapıdan buharlaşmasına atfedilen sıcaklık değeri de azalmaktadır. SF'nin erime pikine atfedilen kristal sıcaklık pik değeri bir miktar azalmıştır. SF'nin termal ayrışma piki 209.5 °C'de 226 °C'ye artmasına karşın CH'ın dekompozisyon ayrışma pikinde belirgin bir değişim meydana gelmemiştir.

**Tablo 3.33** Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş SF/CH(25/75)+ GA(%10)+GLY(%20) biyokompozit filmlerin DSC eğrilerinde gözlenen termal etkiler

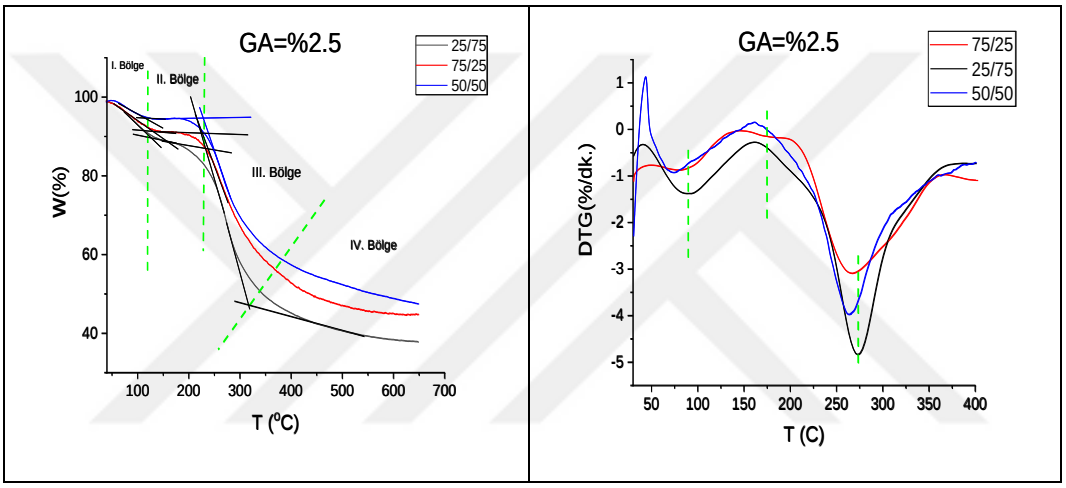
| T(°C) | $T_W$ | $T_1$ | $T_2$ | $T_D$ |
|---|---|---|---|---|
| 37 | 69,5 | 151,5 | 199,6 | 269 |
| 65 | - | - | 217,0 | 272 |
| 100 | 81,3 | 147,3 | 246,0 | 276 |

Farklı sıcaklıklarda 3 gün termal işlem görmüş %10 GA ve %20 GLY katkılı filmlerin Tablo 3.32'deki değerlere göre, artan termal etki sıcaklığı ile suyun ve uçucu moleküllü bileşiklerin buharlaşmasına atfedilen sıcaklık değeri de azalmaktadır. Ancak SF'in termal ayrışma sıcaklık değerinin yaklaşık 200 °C'den 246 °C'ye çıktığı görülmektedir. Benzer şekilde CH dekompozisyon entalpisine ait pikin toplam entalpi değerlerinin artan sıcaklık etkisiyle arttığı görülmektedir.

## 3.7 Kompozit Filmlerin TGA-DTG Ölçümleri ve Analizleri

### 3.7.1 İpek Katkısının SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin TGA-DTG Eğrilerine Etkisi

%2,5 GA eklenmiş SF/CH bileşimli filmlerin farklı oranlarda SF ilavesiyle üretilen filmlerinin termal dayanıklılıklarını değerlendirmek amacıyla TGA ve DTG test analizleri incelenmiştir. Şekil 3.43 de farklı oranlarda elde SF/CH filmlerin analizi verilmiştir. Ayrıca, kütle kayıplarının meydana geldiği sıcaklık aralıkları ve kütle kayıpları değerleri Tablo 3.33 de verilmektedir.




**Şekil 3.48** İpek katkısının SF/CH biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi

SF miktarı arttıkça kompozit filmlerin başlangıç termal dekompozisyon sıcaklıkları yüksek değerlere kaymaktadır. 294 C de kitosanın termal dekompozisyon maksimum piki gözükmekte ve bu süreç sakkarit halkalarının dehidrasyonu ile polimerlerin asetilat ve deasetlilat birimlerinin dekompozisyonunu ve depolimerizasyonuna atfedilen karışık bir sürece atfedilmektedir. Diğer taraftan, 369 C de SF de gözlenen güçlü termal dekompozisyon ise moleküller arası etkileşmeye ve moleküler yapının kısmi kırılmalarına atfedilmektedir [91].

Özellikle SF/CH oranlarına bağlı olarak maksimum pik şiddeti değişmekte ve kaymaktadır. CH pikinin üst değerlere kayması ise, artan SF oranı ile SF ve CH polimer molekülleri arasındaki moleküller arası etkileşmelerin oluştuğunu işaret etmektedir.

SF filmlerin yaklaşık 100 C civarındaki kütle kayıpları nem ve su kütlesinin buharlaşmasından dolayı oldu bildirilmektedir. 270 C den 370 C kadar olan kütle kayıpları ise, amino asit rezidülerinin (kalıntılarının) yan zincir gruplarının ayrılması ve kırılması ve aynı zamanda peptit bağlarının kırılmalarıyla ilgilidir [95]. Aynı zamanda ipek fibroin filmlerile ilgili bir başka çalışmada, 290–500 ◦C, arasındaki termal yıpranmanın, ipek fibroinin yan gruplarının kopmasıyla ilgili olduğu ifade edilmektedir [96]. Ayrıca, ipek fibroin filmlerin 500-650 C arasında gözlenen ileri bölgedeki termal yıpranma bölgesinin ise, SF/nano-TiO2 kompozit filmlerinde, SF ana zincirlerindeki grupların kırılmasına atfedilmektedir [97].

CH/SF ile yapılan bir çalışmada, karışımların TGA eğrilerindeki 100 C altındaki başlangıç kütle kayıpları suyun buharlaşmasına atfedilmektedir. Artan SF oranlarının karışım filmlerin termal bozunum sıcaklığının yukarı kaydırarak karışım filmlerin termal kararlılığını arttırdığı belirtilmektedir [89].

Bizim spektrumlarımızda ise, TGA eğrileri genel olarak 4 termal degradasyon bölgesi olarak düşünülebilir. ilk 30- 100 aralığındaki kütle kayıpları suyun buharlaşmasına atfedilmektedir. 250 C den başlayarak, 280 C de maksimuma ulaşan kütle kaybı sürecinde, SF polimerinin β-kristal yapılarındaki Hidrojen bağlarının degradasyonunun başladığı belirtilmektedir [92].

**Tablo 3.34** SF/CH biyokompozit filmlerinin kütle kayıplarının meydana geldiği sıcaklık aralıkları ve kütle kayıpları değerleri

| | I.Bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV.Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SF/CH | $T_{I-II}$ (ºC) | $T_{pik}$ (ºC) | $W_{I-II-}$ (%) | $T_{II-IIII}$ (ºC) | $T_{pik}$ (ºC) | $W_{II-IIII}$ (%) | $T_{III-IV}$ (ºC) | $T_{pik}$ (ºC) | $W_{III-IV}$ (%) | $W_{650}$(%) |
| 25/75 | 129,3 | 89,4 | 90,13 | 217,7 | - | 84.4 | 339,4 | 273,1 | 50,6 | 37,9 |
| 50/50 | 116,8 | 75,0 | 94,9 | 219,6 | - | 92,4 | 384,3 | 263,8 | 58,6 | 47,5 |
| 75/25 | 133,9 | 90,9 | 90,0 | 216,9 | 175,2 | 85,9 | 368,5 | 267,7 | 56,3 | 43,4 |

Yukarıdaki tabloda, sabit GA oranında çapraz bağlı SF/CH kompozit filmlerin TGA eğrilerinde gözlenen termal degradasyon bölgelerinin sıcaklık değerleri ve kütle değerleri gözükmektedir. Burada özellikle, 30-40 C den 120-133 C arasındaki, ilk termal degradasyon bölgesinde, yani suyun buharlaşmasına ait bölgesinden (I. Bölge) II. Bölgeye geçiş sıcaklık değerinde kalan kütle miktarının %50 SF katkısında daha fazla olduğu ve daha fazla SF katkısı ile biraz azaldığı

görülmektedir. Benzer olarak, II. termal degradasyon bölgesinde, uçucu ürünlerin termal degradasyonuna atfedilen bölgede, yine geçiş sıcaklık değerinin artan SF ile, SF/CH (50/50) filmleri için arttığı daha sonra azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. III. Termal yıpranma bölgesi hem SF termal yıpranmasına hem de CH yapılarının termal dekompozisyon yani, sakkarit halkalarının dehidrasyonu ile polimerlerin asetilat ve deasetlilat birimlerinin dekompozisyonunu ve depolimerizasyonuna atfedilmektedir. IV. Bölgede ise, ileri termal parçalanma ve yanma reaksiyonları oluşmaktadır. Bu bölgedeki termal bozunum başlangıç sıcaklık değerinin %50 SF oranıyla maksimum olduğu görülmektedir. Özellikle SF nin belirli oranına kadar, SF polimer zincirleri ile CH polimer zincirleri arasındaki karşılıklı etkilerden özellikle Hidrojen bağları üzerinden kurulan fiziksel çapraz bağlama gibi moleküller arası etkileşmelerin artmasından dolayı, bu bölgedeki termal dekompozisyon sıcaklık değerinin başlangıcının daha ileri değerlere kaydığı görülmektedir.

TGA eğrilerindeki değişimlerin yanında, DTG eğrilerinde ise, daha önceki literatürdeki bilgilerle uyumlu olarak, 89 C civarında, ilk degradasyon bölgesinin maksimum pik değeri görülüyor. II. Degradasyon bölgesine ait maksimum pikin artan SF oranı ile daha belirgin olduğu görülmektedir. III. Degradasyon bölgesinde gözlenen pik, SF nin termal dekompozisyonun yanında özellikle CH polimerinin termal degradasyon ve dekompozisyonunu işaret etmektedir ve bu pik artan SF oranı ile daha düşük sıcaklığa kaymıştır. Fakat, IV. Degradasyon bölgesinde, literatürde bazı çalışmalarda da olduğu gibi, SF nin karakteristiği olarak gözlenen ve ayrıca onun termal degradasyonunu işaret eden pik belirgin bir şekilde gözlenememiştir.

Sonuç olarak, özellikle SF oranının %50 olduğu filmlerde, termal degradasyon bölgelerinin başlangıç sıcaklıklarının daha yüksek sıcaklıklara kayması hem de o bölgelerdeki kütle kayıplarının, artan SF oranıyla daha az olması, özellikle bu %50 oranında daha az olması artan SF ile termal degradasyonun yavaşladığı ve azaldığı ve bu karışım filmlerin termal kararlılığını arttırdığı görülmektedir. Kısaca artan SF oranıyla termal stabilitelerin daha fazla arttığı fakat %50 oranı için maksimum olduğu görülmektedir.

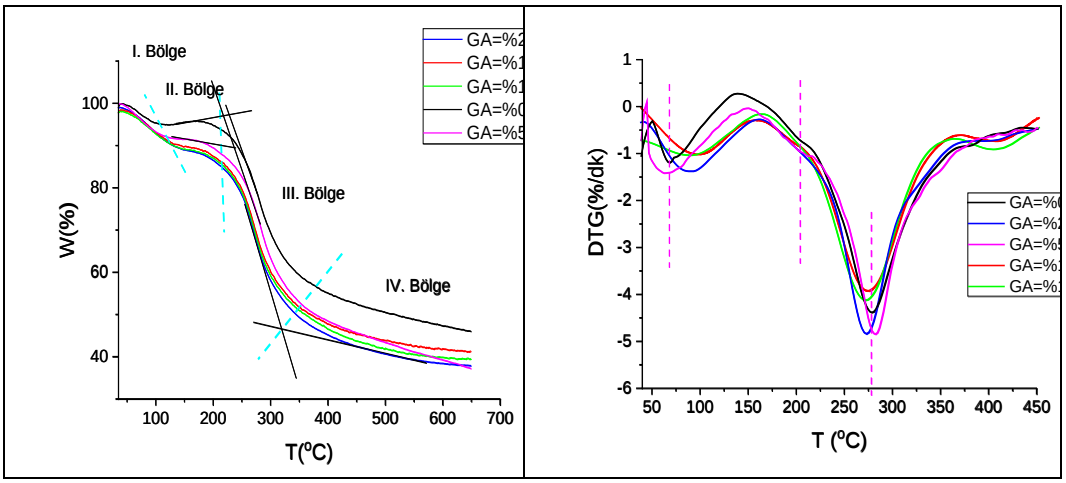
### 3.7.2 Çapraz Bağlayıcının SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin TGA Eğrilerine Etkisi

SF/CH kompozit filmlerinin artan GA yüzdeleri ile üretilen filmlerin termal dayanıklılıklarını değerlendirmek için TGA ve DTG incelemeleri yapılmıştır. Şekil 3.44 te değişik GA yüzdeleri ile üretilen SF/CH filmlerin analizi sunulmuştur. Ayrıca, kütle kayıplarının gerçekleştiği sıcaklık aralıkları ve kütle kayıpları değerleri Tablo 3.34 te belirtilmiştir.

**Tablo 3.35** SF/CH(25/75) kompozit filmlerin termal özelliklerine GA etkisi

| | I.Bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV.Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GA (%) | $T_{I-II}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{I-II}$ (%) | $T_{II-IIII}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{II-IIII}$ (%) | $T_{III-IV}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{III-IV}$ (%) | $W_{650}$ (%) |
| 0 | 109.4 | 68,15 | 95.1 | 215,7 | 204,5 | 93,8 | 343,4 | 278,8 | 60,3 | 46,0 |
| 2.5 | 142,6 | 89,38 | 89,3 | 217,7 | - | 84,4 | 344,1 | 273,5 | 51,0 | 37.9 |
| 5 | 118,0 | 65,5 | 92,2 | 225,8 | - | 86,9 | 355,4 | 282,5 | 52,4 | 37,2 |
| 10 | 145,1 | 99,5 | 89,9 | 221,9 | - | 85,1 | 350,0 | 275,9 | 51,8 | 39,5 |
| 15 | 143,7 | 94,9 | 89,4 | 219,8 | - | 84,7 | 346,8 | 273,4 | 51,3 | 39,4 |

Artan çapraz bağlama oranıyla, genel olarak termal bölgelerde, bölgeler arasındaki geçiş sıcaklık değerleri özellikle %5 GA oranına kadar arttığı ve sonrasında ise %10 GA oranından itibaren azaldığı gözlenmiştir. Bu artma ve azalma özellikle ana termal dekompozisyon (ayrışma) ve ileri degradasyon bölgesinde daha belirgin olarak hissedilmektedir. Her bir bölgeyi kendi içinde değerlendirdiğimiz zaman, kalan kütle oranları seviyeleri, artan %5 GA oranına kadar arttığı, daha sonra ise azaldığı gözlenmiştir.



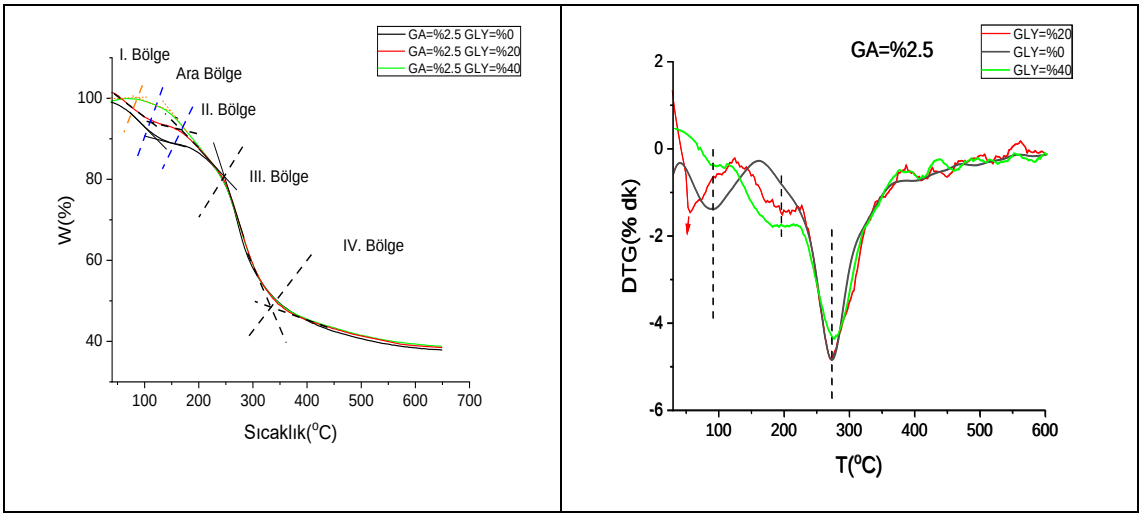

**Şekil 3.49** GA katkısının SF/CH biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi

Glutaraldehit ile çapraz bağlı SF/CH filmlerinde özellikle glutaraldehit ile CH polimer zincirlerinin çapraz bağlanmasından dolayı filmler kısmi hidrofobik karakter göstermektedir[78]. Bundan dolayı artan GA ile, filmlerin daha düşük su tutma eğilimi olduğu düşünülmektedir. Çapraz bağlama etkisinden dolayı, II-III. Bölge geçiş sıcaklığındaki kalan kütle değerleri yine %5 GA oranına kadar artmakta sonra bir miktar azalmaktadır. Çapraz bağlama etkisi burada da gözükmektedir. Glutaraldehit ve kitosanın özellikle amin ve karbonil gruplarıyla etkileşerek imin gruplarını oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu etkileşmeler ve çapraz bağlanmalar nedeniyle, termal degradasyon sıcaklık değerleri ($T_{III-IV}$)yüksek değerlere kaymaktadır. Bu etki, %5 GA oranına kadar gözükmektedir.

DTG eğrilerinden gözlenen suyun buharlaşması maksimum pik sıcaklık değeri genel olarak artma eğiliminde olup, %10 GA oranına kadar artmakta ve sonra azalmaktadır. Fakat özellikle, kitosan polimer zincirlerinin dekompozisyonu, diğer kompleks termal değişim olaylarının ve SF polimer zincir yapılarının da degradasyonunun gözlendiği III. Bölgede, maksimum degradasyon pik sıcaklık değerinin %5 GA oranına kadar arttığı sonra ise azaldığı açık bir şekilde görülmektedir. Burada özellikle GA ile çapraz bağlama özelliği ile, SF ve CH polimer zincirleri arasındaki çapraz bağlama oranları ve moleküller arası etkileşmeler artacağından dolayı, termal geçiş sıcaklık değerleri daha yüksek sıcaklık değerlerine kaydırarak, filmlerin termal stabilitelerini (kararlılıklarını) arttırmıştır. Belirli bir GA oranından itibaren, fazla miktarda GA katkısı ile bu sıcaklık değerinin tekrar düşme ve azalma eğilimi görülmektedir. %10 GA oranından itibaren, filmlerin termal kararlılıkları biraz kötüleştiği görülmektedir. Bu sonuçlardan, tıpkı mekanik özelliklere olduğu gibi, GA=%5 oranı için, filmlerin termal stabilitesinin de artmasını sağlayan optimal oran olduğu görülmektedir.

### 3.7.3 SF/CH(25/75) Biyokompozit Filmlerin TGA ve DTG Eğrilerine Gliserol Etkisi

Şekil 3.45 de artan gliserol katkısının, SF/CH (25/75) + GA *(%2,5)* filmlerin TGA eğrilerine ve DTG eğrilerine yaptığı etkiler görülmektedir. Aynı zamanda, termal degradasyon bölgelerine ait geçiş sıcaklık değerleri ve bu değerlerdeki kalan kütle miktarlarındaki değişimleri Tablo 3.35 de görülmektedir.



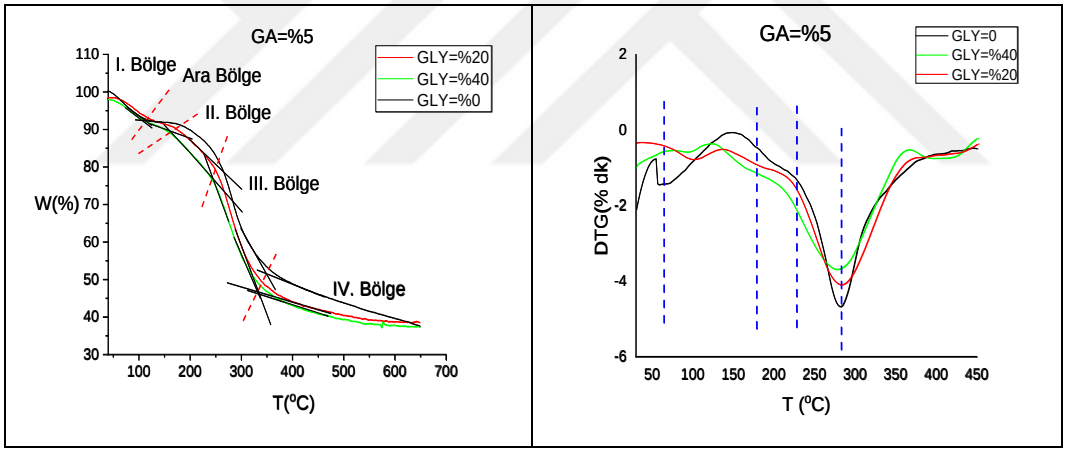

**Şekil 3.50** Farklı GLY katkısının SF/CH (25/75) + GA *(%2,5)* biyokompozit filmlerinin TGA-DTA eğrilerine etkisi

**Tablo 3.36** SF/CH (25/75) + GA (%2,5) biyokompozit filmlerin termal özelliklerindeki değişimler

| GLY (%) | I.Bölge | | | Ara bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV. Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $T_{I-ara}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{I-ara}$ (%) | $T_{ara-II}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{ara-II}$ (%) | $T_{II-III}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{II-III}$ (%) | $T_{III-IV}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{III-IV}$ (%) | $W_{650}$ (%) |
| 20 | 111,1 | 56,5 | 94,7 | 166,6 | 195,4 | 91,7 | 245,2 | - | 80,29 | 341,8 | 272,1 | 49,9 | 38,47 |
| 40 | 85,6 | 92,9 | 99,8 | 145,4 | 183,9 | 96,4 | 243,1 | - | 79,86 | 343,3 | 276,1 | 50,2 | 38,76 |

Çapraz bağlı ve gliserol katkısı olmayan SF/CH (25/75) filmlerin termal degradasyon bölgeleri 4 bölgeye ayrılırken, gliserol etkisiyle, özellikle 50-245 C dereceleri arasındaki I ve II bölge içinde, 115-170 C arasında bir ara bölge daha belirmektedir. Bu ara bölge ve II. Bölgenin özellikle düşük sıcaklık uçucu ürünler (asetik asit, glutaraldehit ve gliserol, alkol vb.) den kaynaklı kütle kayıplarına atfedilmektedir. Bu bölgenin sıcaklık aralığı artan gliserol oranı ile değişmektedir. Gliserol oranı %40 olduğunda bu ara bölgenin sıcaklık değişim aralığı 86-145 C aralığında arttığı görülmektedir. Özellikle, I., II. Ve ara bölgedeki sıcaklık değerlerinin daha düşük değerlere kaydığı görülmektedir. Aynı zamanda, DTG eğrilerindeki kütle değişim hızlarını gösteren türev eğrilerindeki maksimum noktaların özellikle I., Ara ve II. Bölgede önemli derecede değişirken, III. Bölgede bu değişim fazla değildir. Gliserolün kitosan moleküllerinin fonksiyonel gruplarıyla hidrojen bağlarıyla bağlandığından, yapıdaki kitosan- polimer zincirleri arasındaki etkileşimi azalttığından dolayı, kitosanın ve SF nin termal dekompozisyon pikin

maksimum sıcaklık değerini %20 GLY oranı için düşürmektedir. Fakat bu pikin sıcaklık değeri gliserol oranı 2 katına çıktığında biraz arttığı görülmüştür. Özellikle II.-III. Bölge geçiş sıcaklık değerinde kalan kütle değerleri (WII-III) göz önüne alındığında, artan gliserol oranıyla bu değerlerin azaldığı, fakat bu sıcaklık geçiş değerine kadarki kütle kayıplarının arttığını göstermektedir. Bu sonuç aslında beklenen bir etkidir, çünkü hem gliserol oranı arttığı için Hidrojen bağları gibi moleküller arası etkileşmelerden kaynaklanan kitosan ve SF yapısal birimlerin daha kolay termal bozunuma başlayacağından ve aynı zamanda bazı uçucu ürünlerin artmasından dolayı, bunların bozulmasına ve buharlaşmasına atfedilen kütle kayıpları artmaktadır. Sonuç olarak her ne kadar SF ve CH nın ana termal bozunum bölgelerindeki kütle kayıplarına ve sıcaklık geçiş değerlerinde büyük değişimler yapmasa da, genel olarak I. Ve II. Bölgedeki radikal değişimlerden kaynaklanan kütle kayıplarının artmasından dolayı, Filmlerin termal stabilitelerinin azaldığı anlaşılmaktadır.




**Şekil 3.51** SF/CH(25/75)+%5 GA filmlere gliserol katkısının TGA-DTA eğrilerine etkisi

**Tablo 3.37** SF/CH(25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerin termal özelliklerindeki değişimler

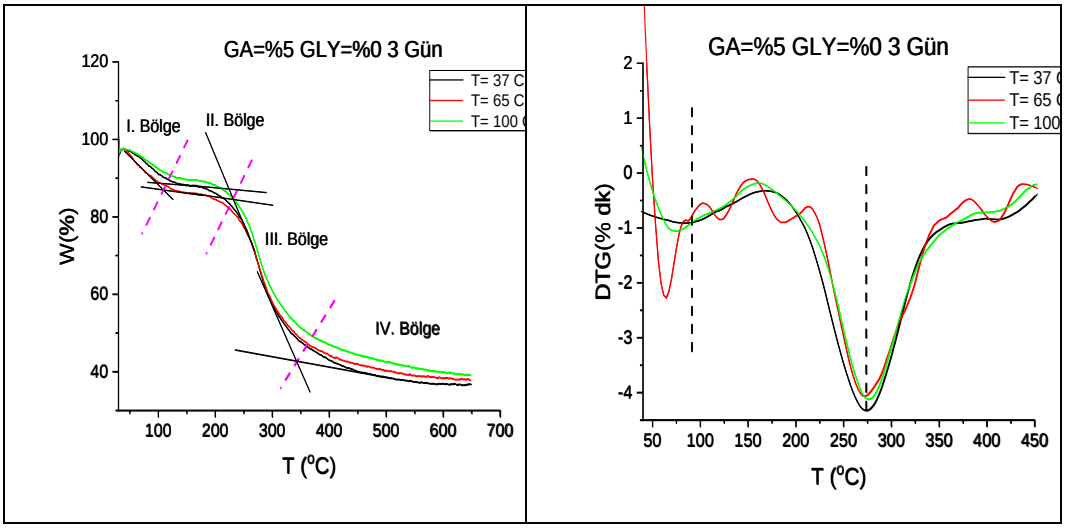
| GLY (%) | I.Bölge | | | Ara bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV.Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $T_{I\text{-}ara}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{I\text{-}ara}$ (%) | $T_{ara\text{-}II}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{ara\text{-}II}$ (%) | $T_{II\text{-}III}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{II\text{-}III}$ (%) | $T_{III\text{-}IV}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{III\text{-}IV}$ (%) | $W_{650}$ (%) |
| 20 | 118,1 | 104,7 | 93,02 | 173,0 | 184,6 | 90,2 | 248,7 | 283,2 | 79,2 | 341,0 | - | 49,01 | 38,6 |
| 40 | 112.2 | 94,7 | 92,13 | 157,7 | 167,2 | 89,06 | 242,09 | 280,8 | 76,8 | 337.6 | - | 48,2 | 37,3 |

Gliserin katkısının termal özelliklere etkisi, diğer bir biyokompozit örneği olan, SF/CH(25/75)+%5 GA, diğer örneğin iki katı oranda çapraz bağlayıcı glutaraldehit katkılı örnekte denenmiştir. Şekil 3.46 de, bu örneğin, artan gliserol etkisi ile TG eğrisindeki değişimler ve termal degradasyon bölgeleri görülmektedir. Termal özelliklerdeki değişimler ise, Tablo 3.36 da verilmiştir. Özellikle Tablo verileri incelendiğinde, artan Gliserol oranı ile, hem termal degradasyon bölgelerinin geçiş sıcaklık değerleri hem de bu sıcaklık değerlerindeki kalan kütle oranlarının daha azaldığı, bunun ise, özellikle %40 Gliserol oranında termal degradasyon ve parçalanmanın daha hızlı olduğu görülmektedir.

Yukarıdaki bulgularımıza benzer şekilde, burada artan gliserol etkisi ile filmlerin termal stabilitelerinin azaldığı görülmektedir.

### 3.7.4 Sıcaklık Değişiminin SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin DSC Eğrilerine Etkisi

%5 GA katkılı gliserinsiz SF/CH (25/75) biyokompozit filmlerine farklı sıcaklıklarda üç gün boyunca termal işleme tabi tutulan filmlerin termal özelliklerini ve stabilitelerini incelemek üzere TGA ve DTG analizlerine bakılmıştır. Şekil 3.45 de bu filmlerin analizi verilmiştir. Bunun yanı sıra, kütle kayıplarının oluştuğu ısı seviyeleri ve kütle kayıplarına ilişkin değerler Tablo 3.37




de verilmektedir.

**Şekil 3.52** Termal etkinin SF/CH (25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerinin a) TGA ve b) DTG eğrilerine etkisi

**Tablo 3.38** SF/CH (25/75)+%5 GA biyokompozit filmlerin artan sıcaklık etkisiyle TGA-DTA ölçüm değerinin kütle kayıpları değerleri

| | I.Bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV.Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **T (°C)** | **$T_{I-II}$ (°C)** | **$T_{pik}$ (°C)** | **$W_{I-II}$ (%)** | **$T_{II-III}$ (°C)** | **$T_{pik}$ (°C)** | **$W_{II-III}$(%)** | **$T_{III-IV}$ (°C)** | **$T_{pik}$ (°C)** | **$W_{III-IV}$(%)** | **$W_{650}$ (%)** |
| **37** | 117,7 | 90,63 | 89,6 | 214,9 | - | 84.6 | 360,1 | 273,8 | 46,6 | 36,8 |
| **65** | 112,5 | 64,26 | 88,1 | 223.8 | - | 82,4 | 362,2 | 272,6 | 47,1 | 37,8 |
| **100** | 122,2 | 74,15 | 90,7 | 231,7 | - | 84.7 | 370,8 | 278,12 | 49,2 | 39,7 |

Özellikle artan sıcaklık ile, I. Ve II. Bölgede, filmlerde bulunan su ve uçucu ürünlerin kütle kayıplarını işaret eden termal degradasyon bölgelerinde, geçiş sıcaklık değerinin termal işlem sıcaklığı 100 C için daha yüksek değerlere kaydığı görülmektedir. Bununla beraber, II. bölgeden III. bozunum bölgesine geçişin başlangıç sıcaklık değeri belirgin bir şekilde daha yüksek değerlere kaymıştır. $T_{III-IV}$ geçiş sıcaklık değeri ile, bu bölgedeki maksimum sıcaklık değerinin (DTG eğrisinde görülen) yine belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.

Termal etkiden sonra, yapıdaki SF ve CH polimer zincirlerinin ana dekompozisyon süreçlerinin meydana geldiği 2. Bölgede, kütle kayıp değerleri birbirine yakın %5-6 civarında olurken, artan yüksek sıcaklık etkisi ile, kütle kayıplarının %38 azalma miktarından %35 civarına düşmüştür ($W_{II}$-$W_{III}$ farkı). Toplamda, açık bir şekilde artan termal işlem sıcaklığı ile, filmlerin termal degradasyon süreçlerinin yavaşladığı ve daha az kütle kaybı olduğu görülmektedir. Böylece artan işlem sıcaklığı ile filmlerin termal stabilitelerinin arttığı söylenebilir. Burada termal işlem görmüş filmlerde, termal işlem sıcaklığına bağlı olarak öncelikle filmlerde bulunan su ve uçucu ürünlerin bir kısmı termal işlem süresince buharlaştığından dolayı, filmlerdeki polimer makromolekülerinin birbirleri arasındaki hidrojen bağlarının daha güçlendiği ve aynı zamanda sıcaklık işleminin filmlerin çapraz bağlama süreçlerini de dolaylı olarak etkilediği ve yapıyı sertleştirdiği düşünülmektedir. Bu sebeplerden dolayı, hem termal yıpranma bölgelerinde filmlerin kütle kayıplarının azalma eğilimi gösterdiği hem de aynı zamanda termal yıpranma başlangıç sıcaklıklarının ileri kaydığı, dolayısıyla termal işlemlerin bir şekilde filmlerin termal stabilitesine önemli katkı sağladığı da görülmektedir.

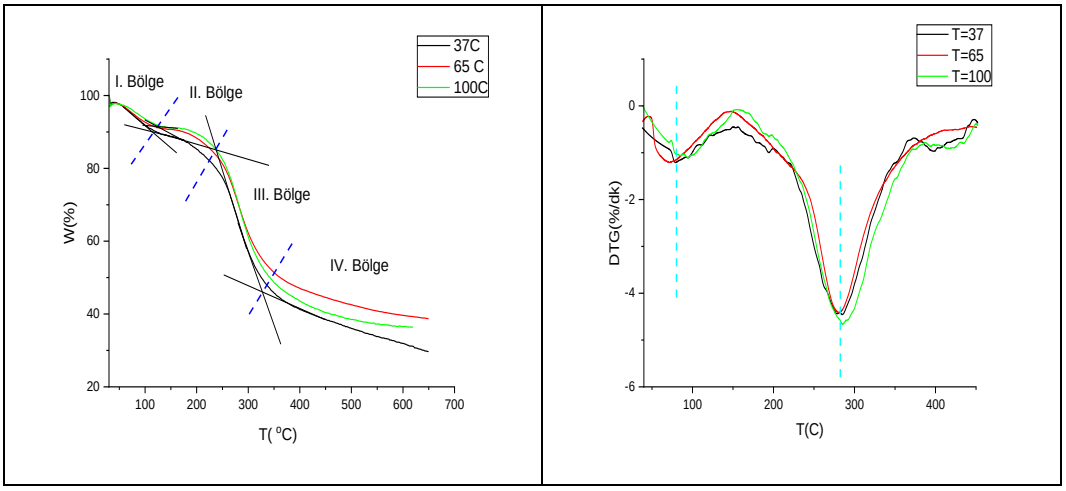
Gliserinli örnekte de termal işlem etkisinin filmlerin termal özelliklerine etkisini görmek için, %20 GLY katkılı, SF/CH (25/75)+%5 GA çapraz bağı ve aynı zamanda plastikleştirici etkisinde kalan bu örneğin farklı sıcaklıklardaki, 3 gün

süreyle maruz kaldığı termal işlemlerden sonraki TGA ve DTG eğrileri elde edilmiştir. Bu eğriler Şekil 3.48 de ve termal özelliklerdeki değişimler Tablo 3.38 de görülmektedir.

**Tablo 3.39** SF/CH (25/75)+%5 GA Gilserinli(%20) biyokompozit filmlerin artan sıcaklık etkisiyle TGA-DTA ölçüm değerinin kütle kayıpları değerleri

| | I.Bölge | | | II.Bölge | | | III.Bölge | | | IV.Bölge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| T (°C) | $T_{I-II}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{I-II}$ (%) | $T_{II-III}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{II-III}$ (%) | $T_{III-IV}$ (°C) | $T_{pik}$ (°C) | $W_{III-IV}$ (%) | $W_{650\ C}$ (%) |
| 37 | 118,5 | 79,3 | 90,2 | 223,9 | - | 82,1 | 336,0 | 282,2 | 47,9 | 29,7 |
| 65 | 123,7 | 71,6 | 91,3 | 234,0 | - | 84,2 | 351,4 | 281,3 | 51,4 | 38,7 |
| 100 | 125,2 | 95,1 | 91,7 | 237,7 | - | 85,2 | 344,1 | 287,2 | 49,8 | 36,4 |

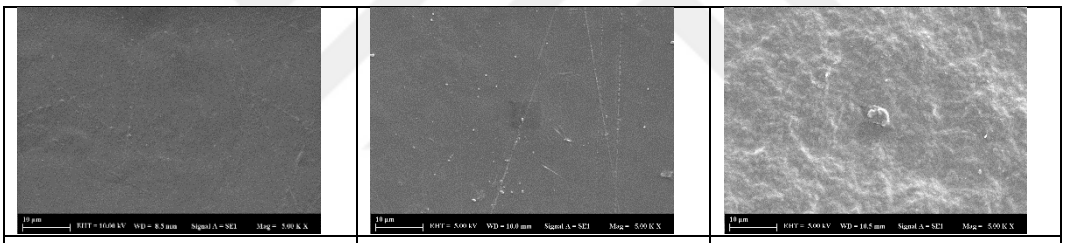
SF/CH (25/75)+%5 GA+%20 GLY kompozit filmlerin farklı termal işlemlerden sonra elde edilen kütle değişim eğrilerinde, daha önceki gliserol katkılı fakat termal işlem görmemiş kompozit filmlerin eğrilerinde gözlenen ara bölge burada belirgin bir şekilde görülmemektedir. Tablodaki termal bozunum ve yıpranma bölgelerindeki değişimler incelendiğinde, genel olarak termal bozunum bölgelerin başlangıç sıcaklık değerlerinin artan termal işlem sıcaklık değeri ile daha büyük değerlere kaydığı görülmektedir. Tüm termal bozunum ve parçalama sonunda filmlerdeki kalan kütle değerlerini karşılaştırdığımızda, özellikle artan termal işlem sıcaklık değeri ile bu kalan kütle değerlerinin yüzde seviyelerinin yükseldiğini, dolayısıyla bu termal işlem görmüş filmlerde termal bozunum sürecinin daha yavaş olduğu görülmektedir. Bu sonuçlardan, artan sıcaklık ile gliserol katkılı filmlerde de SF ve CH polimer zincirleri arasındaki moleküler etkileşimlerin arttığı ve aynı zamanda çapraz bağlanma yoğunluğunda bir artma meydana geldiği ve bundan dolayı bu filmlerin termal stabilitelerinin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.




**Şekil 3.53** Termal etkinin SF/CH (25/75)+%5 GA+ GLY(%20) biyokompozit filmlerinin a) TGA ve b) DTG eğrilerine etkisi

## 3.8 Yüzey Morfolojisi Analizi

Farklı kütle oranlarıyla oluşturulmuş SF/CH biyokompozit filmlerin çeşitli büyüme oranlarında çekilmiş SEM görüntüleri Şekil 3.47 de yer almaktadır.



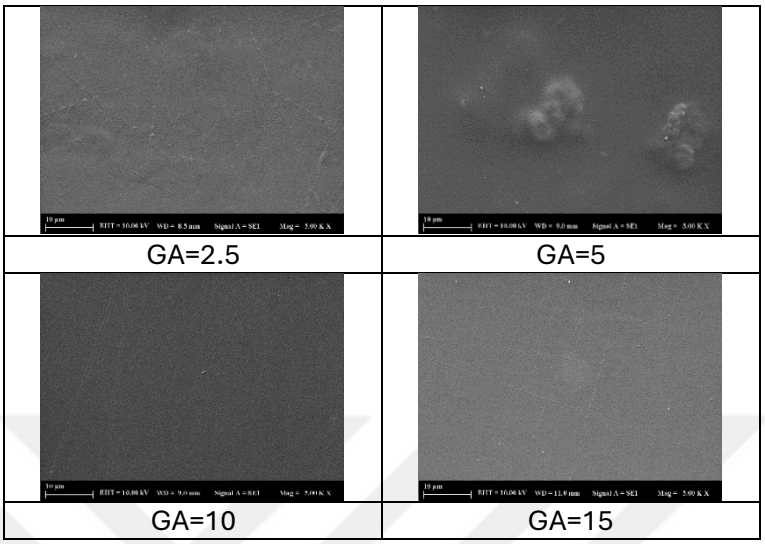
| 25/75 | 50/50 | 75/25 |
|---|---|---|

**Şekil 3.54** Artan ipek oranının SF/CH + GA(%2.5) kompozit filmlerinin yüzey morfolojilerine etkileri

Literatürde saf kitosan filmlerinin düzgün ve homojen bir yüzey yapısına [98] ve saf ipek fibroin filmleri daha lifsi ve düzensiz bir yüzey yapısı sergilediği bildirilmiştir [23]. Ancak Kweon ve ark tarafından yapılan çalışmalarda SF/CH karışım filmlerinin daha homojen ve düzgün bir mikro yapı sergilediği bildirilmiştir [65].

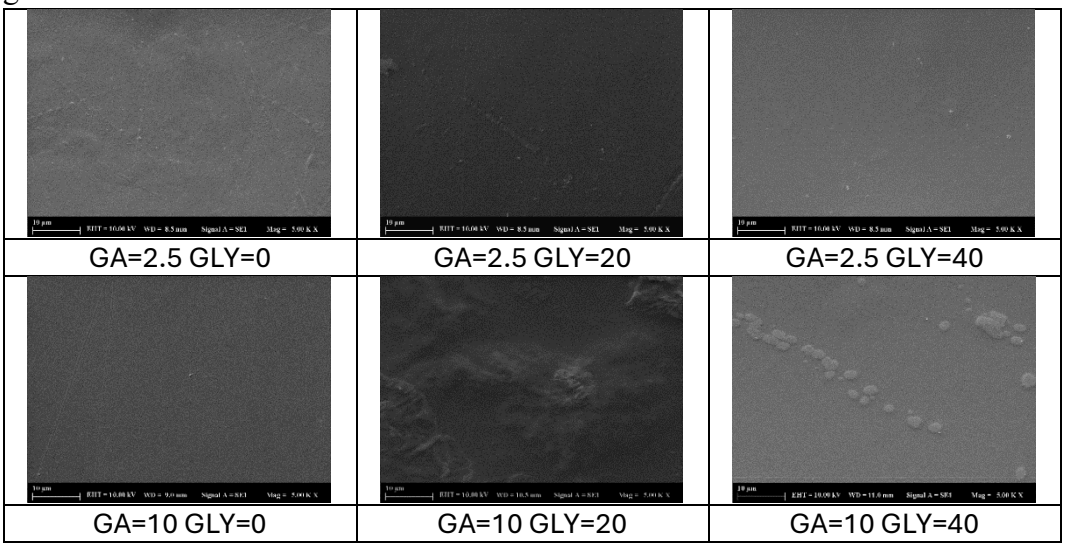
Genel olarak SEM fotoğraflarını gözden geçirdiğimizde, SF/CH + GA(%2. 5) filmlerinden %25 ve %50 SF katkı içeren örneklerin daha üniform, homojen ve düzgün bir yüzey yapısına sahip olduğu, ayrıca yüzeydeki pürüzlülüğün bulunmadığı anlaşılmaktadır. Fakat, SF/CH (75/25) filmlerin yüzeyleri incelendiğinde, yüzeyde bazı çözülmeyen CH parçacıkları fark edilmekle beraber, film yüzeyinde belirgin bir takım küresel film oluşumlarına rastlanmamış ve yüzey

pürüzlüğünün arttığı görülmektedir. Bu aratan yüzey pürüzlülüğünün yukarıda temas açısı ölçüm analizlerinde belirttiğimiz gibi, filmlerin hidrofobikliğinin artmasında bir rol oynadığını düşünmekteyiz.




**Şekil 3.55** SF/CH (25/75) filmlerine GA oranının yüzey morfolojilerine etkileri

Şekil 3.50 de artan GA etkisi ile filmlerin yüzeylerinde herhangi bir çatlama ya da heterojen bir yapı oluşmadığı görülmektedir. Aksine film yüzeyleri daha homojen ve pürüzsüz olduğu görülmektedir. Artan çapraz bağlayıcı oranı ile polimer matrisinde bulunan zincirler arasında bulunan çapraz bağlanma sayısı artarak daha network(ağsı) bir yapı oluştuğu için bunun yüzey pürüzlülüğünü azalttığını düşünmekteyiz. Şekil 3.51 de SF/CH (25/75 biyokompozit filmlerin yüzey morfolojilerine farklı glutaraldehit çapraz bağlama oranlarının etkileri görülmektedir.

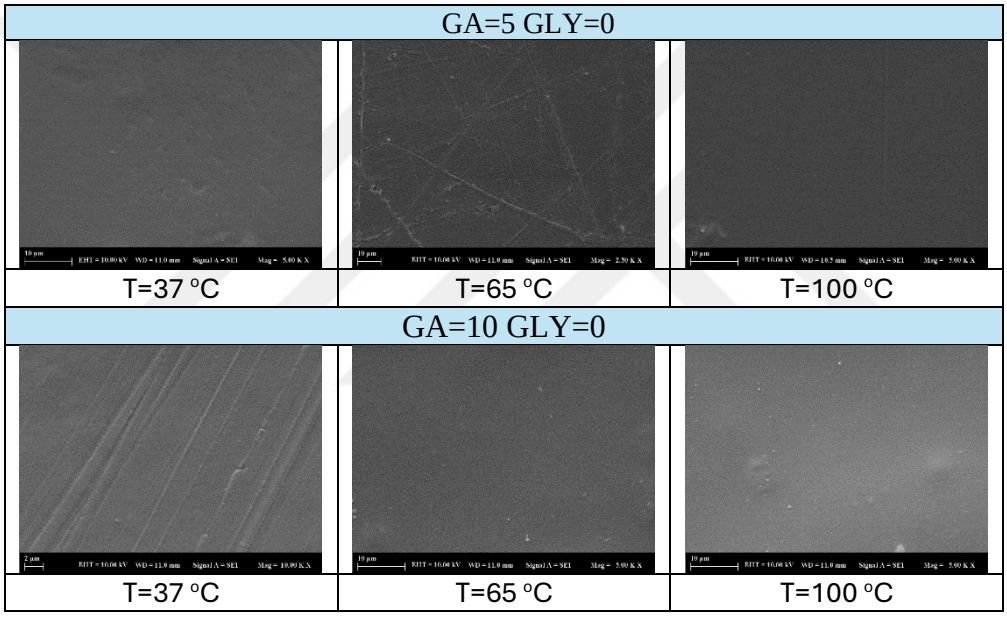



**Şekil 3.56** SF/CH (25/75) filmlerine GLY katkısının yüzey morfolojilerine etkileri

Şekil 3.51 da düşük GA (%2,5) oranlarında artan GLY katkısı ile filmlerin yüzeylerinde herhangi bir çatlama ya da heterojen bir yapı oluşmamasına rağmen yüksek GA(%10) oranlarında artan GLY katkısı ile film yüzeylerinde bazı heterojen yapılara rastlanmaktadır. Bu yapıların çözülmeyen kitosan parçacıkları olduğu düşünülmektedir.

### 3.8.1 Termal İşlemlerin Yüzey Özelliklerine Etkisi

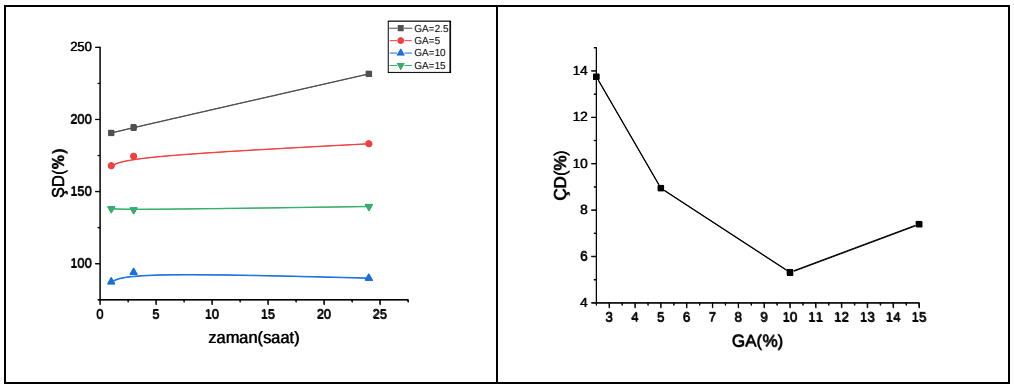
Şekil 3.52 de farklı GA oranlarında ve termal işlemlere maruz kalan filmlerin yüzey morfolojilerinde artan sıcaklıkla herhangi bir mikro ya da makro çatlakların oluşmadığı görülmektedir. Bunun aksine yüzey pürüzlüklerinin de artmadığı görülmüştür.




**Şekil 3.57** SF/CH (25/75) filmlerinin farklı sıcaklıklarda 3 gün tutulması ile elde edilen görüntüler

## 3.9 Şişme Oranları ve Çözünme Derecesi Ölçümlerinin Analizi

SF/CH karışım filmlerinde kullanılan çapraz bağlayıcının miktarı, filmlerin su ile etkileşim özelliklerini belirlemede kritik rol oynamaktadır. Bu çalışmada Tablo 3.39 da, farklı GA konsantrasyonlarında (%2.5, %5, %10 ve %15) hazırlanmış SF/CH (25/75) filmlerin 1, 3 ve 24 saatlik şişme dereceleri (ŞD) ile 24 saat sonunda çözünme dereceleri (ÇD) değerlendirilmiştir.




**Şekil 3.58** Artan GA oranına göre SF/CH (25/75) filmlerin a) şişme derecesi (ŞD) b) çözünme derecesi (ÇD)

Elde edilen verilere göre, GA konsantrasyonu arttıkça şişme derecesi genel olarak azalmıştır. Özellikle %10 GA ile hazırlanan filmler, en düşük şişme derecelerini (1 saatte %87.5, 24 saatte %90.0) göstermiştir. Bu durum, çapraz bağlayıcı etkisiyle polimer zincirleri arasında daha sıkı bağların oluşması sonucu matrisin suyu absorbe etme kapasitesinin azalmasıyla açıklanabilir [48]. Ancak, %15 GA içeren filmlerde şişme değerleri beklenenin aksine artış göstermiştir (%139,7). Bu durum, aşırı çapraz bağlamanın düzensiz ve heterojen yapı oluşumuna neden olmasıyla ilişkili olabilir.

Çözünme dereceleri açısından benzer şekilde, çapraz bağ miktarı arttıkça çözünürlükte belirgin azalmalar gözlenmiştir. %2.5 GA içeren filmler %13.75 çözünme gösterirken, bu oran %10 GA içeren filmlerde %5.31'e kadar düşmüştür. Literatürde de işaret edildiği gibi [17], polimer zincirleri arasında çapraz bağ sayısının artmasının, polimer ağını daha kararlı hale getirerek suyla etkileşimini sınırladığına düşünülmektedir.

**Tablo 3.40** GA oranına göre SF/CH (25/75) filmlerin şişme (ŞD) ve çözünme (ÇD) dereceleri

| GA(%) | ŞD (%) (1 S) | ŞD (%) (3 S) | ŞD (%) (24 S) | ÇD (%) (24 S) |
|---|---|---|---|---|
| 2,5 | 190,6 | 194,4 | 231,5 | 13,75 |
| 5 | 167,9 | 174,5 | 183,1 | 8,95 |
| 10 | 87,5 | 94 | 90 | 5,31 |
| 15 | 138,1 | 137,4 | 139,7 | 7,39 |

Benzer şekilde, Asadpour ve ark. şişme oranlarının, SF oranı ve çapraz bağlayıcı varlığına bağlı olarak azaldığını göstermiştir [36]. Bu bağlamda, SF/CH film sistemlerinde %5–10 GA aralığı, optimum şişme ve çözünme özellikleri açısından en uygun koşulları sunmaktadır.

## 3.10 Temas Açısı Ölçümlerinin Analizi

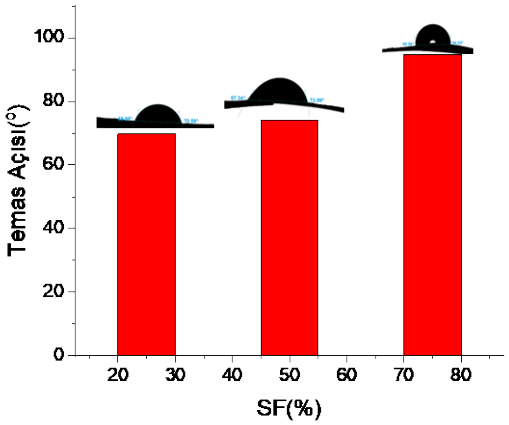
Temas açısı, bir sıvı damlasının katı bir yüzeyle temas ettiğinde oluşturduğu açı olup, bu parametre yüzeyin ıslanabilirliğini ve dolayısıyla hidrofobiklik veya hidrofiliklik derecesini belirler. Biyopolimer esaslı filmlerde temas açısı, özellikle biyouyumluluk, hücre tutunması, su buharı geçirgenliği, yüzey adsorpsiyonu ve kontrollü salım gibi uygulamalarda hayati öneme sahiptir [23]. Hidrofobik yüzeyler daha düşük su tutma eğilimindeyken, hidrofilik yüzeyler daha fazla nem absorbe eder; bu durum yara örtüleri, doku mühendisliği iskeleleri veya ilaç salım sistemleri gibi alanlardaki uygulama başarılarını doğrudan etkiler.

### 3.10.1 SF/CH Filmlerinde SF Oranının Temas Açısına Etkisi

GA %2,5 olan farklı SF oranları içeren kitosan bazlı filmlerin temas açıları karşılaştırılmıştır. Aşağıdaki Şekil 3.54 de görüldüğü üzere, SF oranı arttıkça temas açısı belirgin şekilde yükselmiştir. Temas açısındaki bu artış, yüzeyin giderek daha hidrofobik hale geldiğini göstermektedir. %25 ve %50 SF katkılı filmler daha hidrofilik özellik gösterirken özellikle %75 SF katkılı filmler hidrofobik özellikler gösterdiği görülmektedir.

Bu sonuçlar, literatürdeki bulgularla da uyumludur. Niamsa ve ark., hazırladıkları filmlerde SF oranı arttıkça su ile temas açısının yükseldiğini ve SF'nin doğal olarak CH'ye göre daha hidrofobik bir karaktere sahip olduğunu belirtmiştir [99]. Benzer şekilde, Sionkowska & Płanecka' da, SF oranı yüksek karışım filmlerinde yüzeydeki serbest enerji düşüşüyle birlikte su temas açısının arttığını ve böylece filmlerin daha az ıslanabilir hale geldiğini raporlamıştır [23]. Ayrıca literatürde pürüzlü yüzeylerin heterojen ıslanma nedeniyle temas açılarını etkilediği bildirilmiştir [17]. Diğer bir çalışmada; Asadpour ve ark, SF katkısının film yüzeyinde düzenli β-tabaka yapıları oluşturduğu, bunun da film kompaktlığını artırarak daha az su absorpsiyonuna ve dolayısıyla daha yüksek temas açılarına neden olduğu belirtilmiştir [36]. Yani SF hem yapısal hem de yüzey enerjisi açısından CH' ye göre daha suya dirençli bir yüzey karakteri kazandırmaktadır.

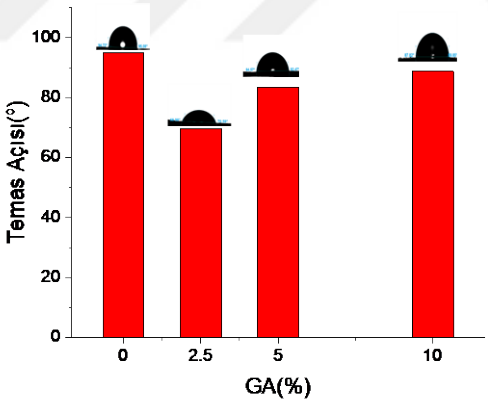
Buradaki düşük çapraz bağlı (%2,5) ve SF katkılı filmlerde zincirler arasındaki çapraz bağlanma ve bu çapraz bağlanmaya ilave olarak özellikle SF beta tabaka yapılarının Asadpour ve ark çalışmasında olduğu gibi filim yüzeylerinde su moleküllerini itici bir özellik göstererek yüzey hidrofobikliğini arttırmaktadır.




**Şekil 3.59** Farklı SF oranlarına sahip SF/CH (GA=2.5%) filmlerin temas açıları

### 3.10.2 SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin Temas Açısına GA Etkisi

Bu çalışmada, SF/CH (25/75) oranında hazırlanmış filmlerde farklı GA konsantrasyonlarının (%0, %2,5, %5 ve %10) temas açısı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Şekil 3.55 de görüldüğü üzere, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan GA' nın temas açısı üzerinde belirgin bir etkisi bulunmaktadır.




**Şekil 3.60** SF/CH (25/75) filmlerinde farklı GA oranlarının temas açısına etkisi

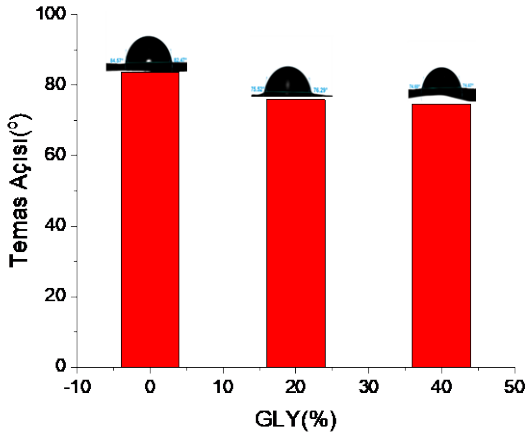
Saf (çapraz bağsız) filmde temas açısı yaklaşık 102° ölçülmüş olup bu, yüzeyin oldukça hidrofobik olduğunu göstermektedir. GA oranı %2.5'e çıkarıldığında temas açısı belirgin şekilde azalarak yaklaşık 78°'ye düşmüştür. Ancak %5 ve %10 GA konsantrasyonlarında temas açısı tekrar artarak sırasıyla yaklaşık 88° ve 90° değerlerine ulaşmıştır. Bu durum, çapraz bağ seviyesinin yüzeydeki serbest fonksiyonel grupları, gözenek yapısını ve polimer zinciri düzenini etkileyerek ıslanabilirliği kontrol ettiğini göstermektedir.

Benzer eğilimler literatürde de gözlemlenmiştir. Sivaselvi ve Ghosh, GA ile çaprazlanmış kitosan filmlerinde yüzeydeki amin gruplarının reaktif aldehitlerle etkileşerek film yüzeyinde daha yoğun ve düzgün bir yapı oluşturduğunu, bunun da su ile temas açısını etkilediğini belirtmiştir [98]. Düşük GA oranlarında yapının daha açık kalması, su penetrasyonunu kolaylaştırabilirken; yüksek GA konsantrasyonlarında ise çapraz bağ sayısının artması ile yüzey daha kompakt ve hidrofobik hale gelebilmektedir. Bu bağlamda, çapraz bağlayıcı miktarı, film yüzey özelliklerinin optimizasyonunda önemli bir araçtır.

Sonuç olarak, GA çapraz bağlayıcısının düşük konsantrasyonu yüzeyin daha hidrofilik olmasına neden olurken, yüksek GA oranı (%10) yüzeyi daha kompakt hale getirerek temas açısını artırmakta ve hidrofobikliği yükseltmektedir. Bu davranış, uygulama amacına göre yüzey ıslanabilirliğinin kontrollü şekilde ayarlanmasını mümkün kılmaktadır.

### 3.10.3 SF/CH (25/75) Biyokompozit Filmlerinin Temas Açısına GLY Etkisi

Bu çalışmada, SF/CH(25/75) oranında %5 GA ile çapraz bağlanmış biyokompozit filmlere farklı oranlarda gliserol (GLY) eklenerek yüzey özelliklerindeki değişim değerlendirilmiştir.




**Şekil 3.61** SF/CH (25/75, GA=5%) biyofilmlerinde farklı GLY oranlarının temas açısına etkisi

Şekil 3.56 de görüldüğü üzere, GLY katkısı arttıkça temas açısında hafif ancak düzenli bir azalma gözlenmektedir. Saf (gliserolsüz) filmde temas açısı yaklaşık 91° iken, %20 ve %40 GLY içeren filmlerde bu değer sırasıyla yaklaşık 87° ve 85°

olarak ölçülmüştür. Bu azalma, yüzeyin daha hidrofilik bir karakter kazandığını göstermektedir.

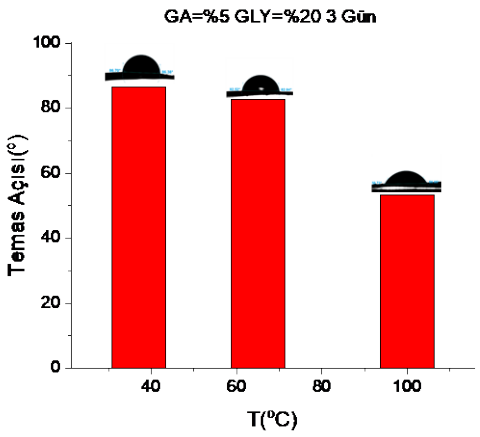
Gliserol, hidroksil gruplarının yoğunluğu nedeniyle oldukça hidrofilik bir plastikleştiricidir. Polimer zincirleri arasına girerek zincirler arası hidrojen bağlarını zayıflatır ve su ile etkileşime açık alanları artırır. Bu durum, filmin daha fazla su absorbe etmesine neden olur ve temas açısını düşürür. Kaewpirom ve ark. yaptığı çalışmada, SF bazlı filmlere gliserol eklendiğinde β-tabaka yapısının azaldığı, yüzeyin daha esnek ve ıslanabilir hale geldiği gösterilmiştir [100]. Benzer şekilde, gliserol katkısı ile temas açısının azaldığı ve filmin hidrofilikliğinin arttığı birçok çalışmada vurgulanmıştır [23].

Bu bağlamda, GLY katkısı hem mekanik özellikleri iyileştirme hem de yüzeyin ıslanabilirliğini artırma açısından etkili bir modifikasyon yöntemi olarak öne çıkmaktadır.

### 3.10.4 Temas Açısına Sıcaklık Etkisi

Biyopolimer esaslı filmlerde ısıya maruz bırakma, polimer zincirlerinin hareketliliğini, kristalite düzeyini ve yüzey fonksiyonel gruplarının yeniden düzenlenmesini etkileyerek temas açısı gibi yüzey özelliklerinde önemli değişimlere yol açabilir. Bu çalışmada, %5 GA ve %20 GLY içeren SF/CH (25/75) filmleri, farklı sıcaklıklarda (37 °C, 65 °C ve 100 °C) 3 gün süreyle etüvde bekletilmiş ve daha sonra film örneklerinin temas açıları ölçülerek yüzey ıslanabilirliği değerlendirilmiştir.

Aşağıdaki Şekil 3.57 de görüldüğü üzere, ısı arttıkça temas açısında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Bu değişim, yüzeyin ısıl işlemle daha hidrofilik hale geldiğini göstermektedir.




**Şekil 3.62** Isıl işlemin yüzey temas açısına etkisi

Sıcaklığın artması, polimer zincirlerinin yeniden düzenlenmesine ve serbest hidroksil ya da amin gruplarının yüzeyde daha belirgin hale gelmesine neden olur. Bu durum, yüzeyin su ile daha fazla etkileşime girmesine olanak tanır. Kaewpirom ve ark., SF filmlerinde sıcaklık etkisiyle β-tabaka yapısının azalabildiğini, bunun da yüzeyin daha düzensiz ve suya daha açık hale gelmesine neden olduğunu bildirmiştir [100].

Sonuç olarak, ısı etkisiyle SF/CH biyofilmlerinin yüzeyi daha ıslanabilir hale gelmektedir. Bu durum, özellikle hücre etkileşimi ve nem geçişi gerektiren biyomedikal uygulamalarda avantaj sağlar. Yüksek sıcaklık, film yapısını hidrofilik karaktere yaklaştırarak biyolojik sıvılarla etkileşimi kolaylaştırabilir.

## 3.11 Hücre Kültürü Testleri ve Analizleri

Bu çalışmada, ipek fibroin/kitosan filmlerin biyouyumluluğunu anlamak için MTT canlılık testi ve filmlerin yara iyileşmesine etkisini anlamak için çizik testi gerçekleştirilmiştir. Deneylerde L929 fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır.

Biyouyumluluk testleri, bir biyomalzemenin canlı organizmalarla uyumunu değerlendirmek için yapılan testlerdir. Bu testler, malzemenin vücutla etkileşime girdiğinde toksik olup olmadığını, hücrelerin normal fonksiyonlarını bozup bozmadığını anlamamıza yardımcı olur [101]. Biyomalzemelerin klinik uygulamalarda kullanılabilmesi için bu testlerin yapılması ve uluslararası standartlara uygun sonuçlar vermesi gerekir. ISO 10993 standardı, biyouyumluluk testlerinin yürütülmesinde kullanılan en yaygın standartlardan biridir ve bu alanda rehberlik sağlar [54].

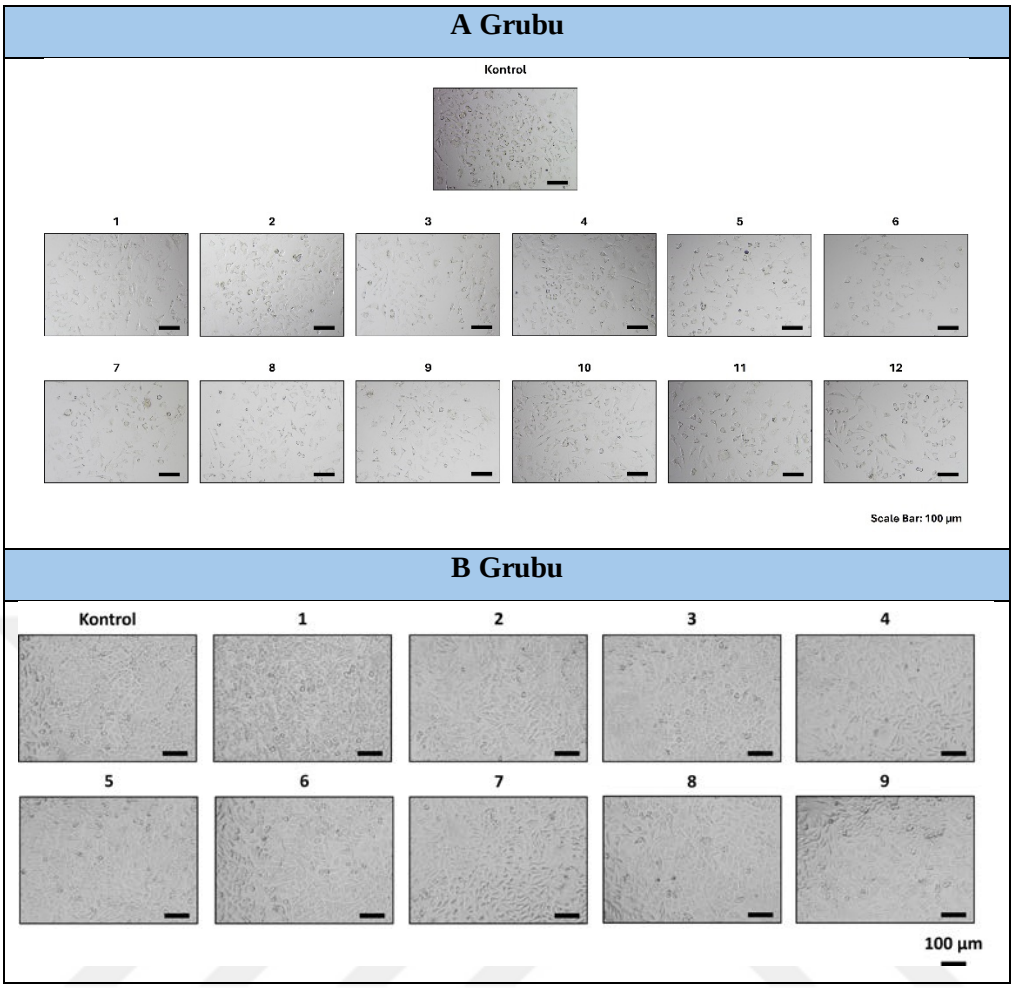
ISO standardında biyouyumluluk testleri; doğrudan (direkt), dolaylı (indirekt), ya da ekstrakt bazlı olmak üzere üç farklı şekilde uygulanabilir. Direkt testler, biyomalzemenin doğrudan hücrelerle temas ettirilmesiyle yapılır ve hücrelerin hayatta kalma oranı, çoğalma yeteneği veya davranışındaki değişiklikler gözlemlenir. İndirekt testlerde ise biyomalzeme hücrelerle doğrudan temas etmez, bunun yerine malzemenin üzerine konulan bir bariyer aracılığıyla hücrelere etkisi değerlendirilir. Ekstrakt bazlı testlerde ise biyomalzeme belirli bir süre boyunca genellikle hücre kültürü ortamına maruz bırakılarak malzemeden salınanların toplanması ve bu ekstraktın hücrelere uygulanması ile test edilir. Böylece malzemenin dolaylı etkileri ve potansiyel olarak zararlı maddelerinin hücreler üzerindeki etkileri anlaşılır [54].

### 3.11.1 MTT Testleri Analizleri

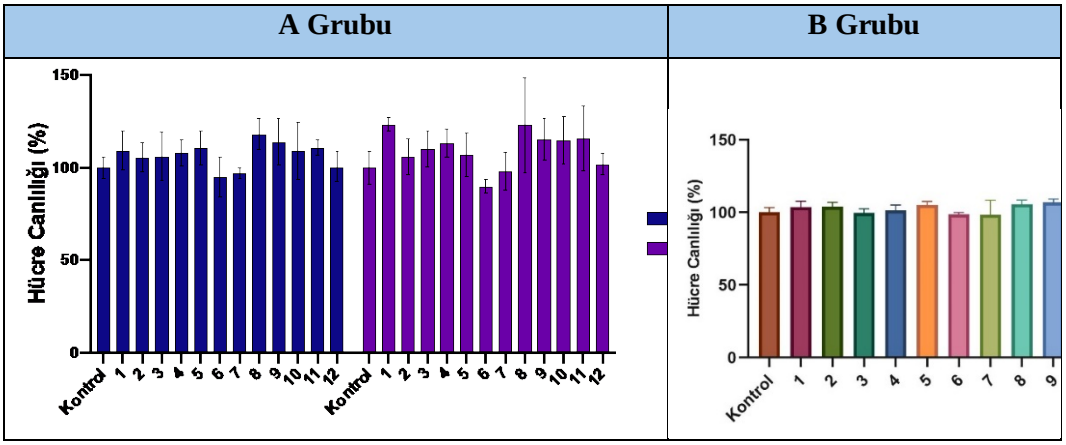
Şekil 3.58 da verilen 24 ve 48 saatlik ekstrakt inkübasyonu sonucunda elde edilen % canlılık değerleri, örnek ekstraktlarının kontrol grubuna kıyasla toksik olmadığı göstermektedir. Tüm örnek gruplarına ait % canlılık değerleri, yapılan one-way ANOVA testine göre kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (non-significant) ($p > 0,05$). Sonuçları desteklemek amacı ile 24. saatte MTT uygulanmasından önce hücrelerin morfolojileri kaydedilmiştir (Şekil 3.59). Hücre morfolojilerine bakıldığında kontrol grubuna benzer bir hücre bütünlüğü olduğu görülmektedir. Hücre ölümünün belirteçlerinden olan yüzeyden ayrılma ve yuvarlak morfoloji alma gibi durumlara rastlanmamıştır. Bu da ekstraktların biyouyumlu olduğuna işaret etmektedir.

Örnekler A grubu 1’den 12’ye ve B grubu 1’den 9’a kadar numaralandırılmıştır. Örnek numaralarının kimyasal bileşimi aşağıda Tablo 3.40 ta verilmiştir.

,




**Şekil 3.63** Ekstrakt uygulamasından sonraki 24. saatte hücre morfolojileri




**Şekil 3.64** Kontrol ve örnek gruplarının 24 ve 48 saatlik maruziyet sonrasında elde edilen MTT sonuçlarına ait % hücre canlılığı değerleri

Bu çalışmada, ipek fibroin kullanarak elde edilen film örneklerinin biyouyumluluğunu değerlendirmek amacıyla L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde ekstrakt bazlı MTT testi yapılmıştır. Ekstrakt bazlı test, biyomalzemenin doğrudan hücrelerle temas etmediği, ancak malzeme tarafından salınan potansiyel

toksik maddelerin hücreler üzerindeki etkisinin değerlendirildiği güvenilir bir yöntemdir. MTT testi sonuçlarına göre, malzemelerimizden elde edilen ekstrakt ile muamele edilen hücrelerdeki canlılık oranları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Bu bulgu, biyomalzemenin hücreler üzerinde toksik bir etkisi olmadığını ve hücre canlılığını olumsuz etkilemediğini göstermektedir.

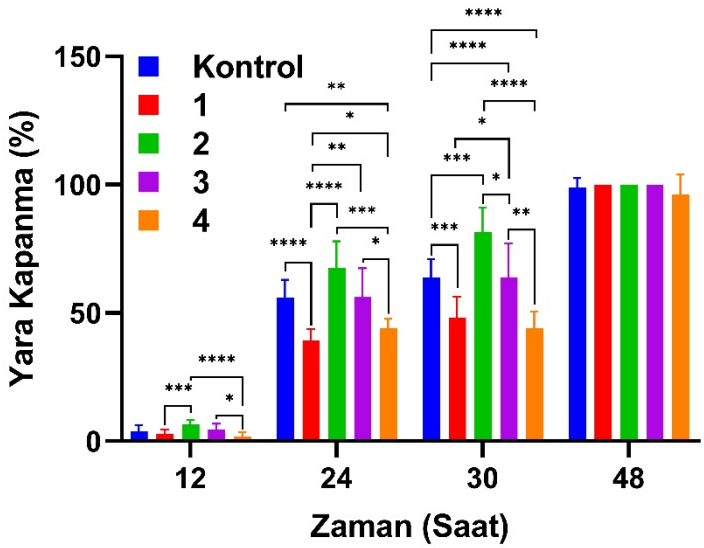
Sonuçlar, ipek fibroinin doğal biyouyumluluk özelliklerini koruduğunu ve malzememizin sitotoksisiteye neden olmadığını doğrulamaktadır. İpek fibroin, biyolojik olarak parçalanabilir ve düşük immünojeniteye sahip olmasıyla bilinen bir biyopolimerdir ve bu özellikleri, malzemenin biyomedikal uygulamalarda kullanımını desteklemektedir [102]. Hücre canlılığında kontrol grubuyla benzer sonuçlar elde edilmesi, malzememizin biyomedikal uygulamalarda, özellikle yara örtüleri, doku mühendisliği iskeleleri ve ilaç salım sistemleri gibi alanlarda güvenle kullanılabileceğine işaret etmektedir.

**Tablo 3.41** Örnek numaralarına ait kimyasal bileşimler

| Örnek Numarası | SF | CH | GA | GLY | Örnek Numarası | SF | CH | GA | GLY |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 25 | 75 | 2,5 | 0 | 1 | 25 | 75 | 0 | 0 |
| 2 | 25 | 75 | 2,5 | 20 | 2 | 25 | 75 | 2,5 | 0 |
| 3 | 25 | 75 | 2,5 | 40 | 3 | 25 | 75 | 2,5 | 20 |
| 4 | 25 | 75 | 5 | 0 | 4 | 50 | 50 | 0 | 0 |
| 5 | 25 | 75 | 5 | 20 | 5 | 50 | 50 | 2,5 | 0 |
| 6 | 25 | 75 | 5 | 20 | 6 | 50 | 50 | 2,5 | 20 |
| 7 | 25 | 75 | 5 | 40 | 7 | 75 | 25 | 0 | 0 |
| 8 | 25 | 75 | 10 | 0 | 8 | 75 | 25 | 2,5 | 0 |
| 9 | 25 | 75 | 10 | 20 | 9 | 75 | 25 | 2,5 | 20 |
| 10 | 25 | 75 | 10 | 40 | | | | | |
| 11 | 25 | 75 | 15 | 0 | | | | | |
| 12 | 25 | 75 | 15 | 20 | | | | | |
| A Grubu | | | | | B Grubu | | | | |

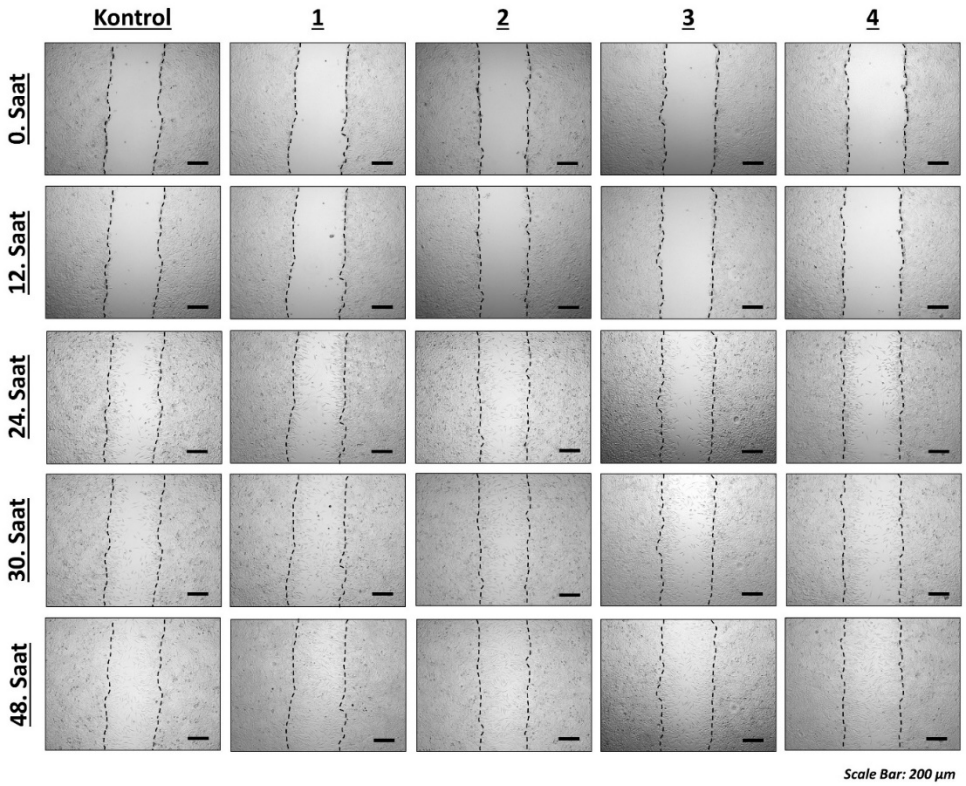
### 3.11.2 *İn Vitro* Çizik Testi Analizi

Şekil 3.60 de çizik testi sırasında farklı zaman noktalarından elde edilen yara kapanma yüzdeleri grafiği verilmiştir. Sonuçlara göre 2 numaralı örnek grubuna ait yara kapanma değerleri tüm zaman noktalarında kontrol ve diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Örnekler 1'den 4'e kadar numaralandırılmıştır. Örnek numaralarının kimyasal bileşimi aşağıda Tablo 3.41 de verilmiştir.




**Şekil 3.65** Kontrol ve örnek gruplarının farklı zaman noktalarına ait yara kapanma yüzdeleri

Gruplara ait farklı zaman noktalarından elde edilen temsili fotoğraflar Şekil 3.61 de verilmiştir. Tablo 3.41 de görüldüğü gibi örnekler arasındaki farklılık genel olarak plastikleştirici miktarıdır. Örnek 1 hem glutaraldehit hem de plastikleştirici içermemektedir. Bu grupta hücre göçü kontrol grubundan daha yavaş seyretmiştir. Bunun nedeni, çapraz bağlayıcı içermeyen bu grubun ekstraksiyon sırasında bozunuma başlamasından kaynaklı ortama yüksek miktarda salınan ürünlerin hücre göçünü engellemesi olabilir. Örnek 2'de ise glutaraldehitin stabilize edici etkisi, ekstraktın daha tutarlı ve kontrollü içerik sunmasına neden olmuş olabilir. Doğal bir protein olan ipek fibroinin, hücre göçünü teşvik ettiği bilinmektedir[103] . Örnek 3 ve 4'te hücre göçü yeniden yavaşlamaya başlamaktadır. Burada ortama sızan gliserinin muhtemel bir osmotik stres yaratarak migrasyonu baskıladığı yorumu yapılabilir [104].



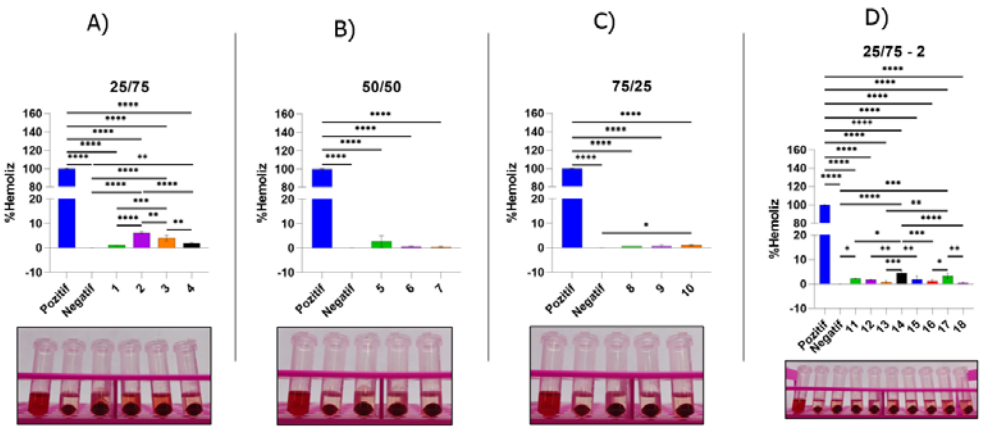

**Şekil 3.66** Kontrol ve örnek gruplarının farklı zaman noktalarına ait yara kapanmalarını gösteren temsili fotoğraflar

**Tablo 3.42** Örnek numaralarına ait kimyasal bileşimler ve deney sonuçlarına (% canlılık ve % yara kapanması) ait ortalama ± standart sapma değerleri

| Örnek Kodu | SF | CH | GA | Gly | MTT Testi | Çizik Testi | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 12 S. | 24 S. | 30 S. | 48 S. |
| Kontrol | - | - | - | - | 100,02 ± 2,06 | 3,81 ± 2,55 | 55,93 ±7,04 | 63,79 ± 7,12 | 98,89 ± 3,68 |
| 1 | 25 | 75 | 0 | 0 | 97,55 ± 2,40 | 3,00 ± 1,51 | 39,20 ± 4,43 | 48,22 ± 8,10 | 100, 00 ± 00,00 |
| 2 | 25 | 75 | 5 | 0 | 100,30 ± 3,74 | 6,46 ± 1,67 | 67,44 ± 10,50 | 81,44 ± 9,64 | 100,00 ± 00,00 |
| 3 | 25 | 75 | 5 | 10 | 91,85 ± 3,31 | 4,53 ± 2,31 | 56,20 ± 11,18 | 63,95 ± 13,07 | 100,00 ± 00,00 |
| 4 | 25 | 75 | 5 | 20 | 94,52 ± 2,65 | 1,66 ± 1,92 | 44,09 ± 3,62 | 44,00 ± 6,62 | 96,36 ± 7,60 |

## 3.12 Hemouyumluluk Testleri Analizleri

İpek fibroin/kitosan film örneklerinin kırmızı kan hücreleri ile muameleleri sonucu elde edilen % hemoliz değerleri ve temsili fotoğraf Şekil 3.62 de verilmiştir. Pozitif ve negatif kontroller ile örneklerden elde edilen değerler ise Tablo 3.42 de verilmiştir. Buna göre 2 numaraları örnek hariç tüm gruplar son derece hemouyumlu bulunmuştur. %5'in altındaki hemoliz, yüksek hemouyumluluk göstergesidir [105].




**Şekil 3.67** Pozitif ve negatif kontroller ile film örneklerine ait hemoliz (%) değerleri ve tüplerin temsili görüntüsü; a) 1, 2, 3 ve 4 numaraları örnekler, b) 5, 6 ve 7 numaralı örnekler, c) 8, 9 ve 10 numaralı örnekler ve d) 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ve 18 numaralı örnekler (tek yönlü varyans analizi, ns: $p > 0.05$, *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$, ****: $p \leq 0.0001$, veriler ortalama ± standart sapmayı temsil eder, n = 3)

**Tablo 3.43** Pozitif ve negatif kontroller ile örneklerden elde edilen hemoliz (%) değerleri ve örnek içerikleri

| Numune Kodu | Ortalama ± SS | SF/CH | GA | GLY |
|---|---|---|---|---|
| Pozitif (Distile Su) | 100 ± 0,35 | - | - | - |
| Negatif (PBS) | 0 ± 0,03 | - | - | - |
| 1 | 0,98 ± 0,04 | 25/75 | 0 | 0 |
| 2 | 6,24 ± 0,47 | | 2,5 | 0 |
| 3 | 3,94 ± 1,17 | | 2,5 | 20 |
| 4 | 1,98 ± 0,28 | | 2,5 | 40 |
| 5 | 2,63 ± 2,37 | 50/50 | 0 | 0 |
| 6 | 0,63 ± 0,11 | | 2,5 | 0 |
| 7 | 0,48 ± 0,28 | | 2,5 | 20 |
| 8 | 0,64 ± 0,00 | 75/25 | 0 | 0 |
| 9 | 0,62 ± 0,60 | | 2,5 | 0 |
| 10 | 1,064 ± 0,30 | | 2,5 | 20 |
| 11 | 0,13 ± 0,00 | 25/75 | 5 | 0 |
| 12 | 0,11 ± 0,00 | | 5 | 20 |
| 13 | 0,08 ± 0,02 | | 5 | 40 |
| 14 | 0,19 ± 0,03 | | 10 | 0 |
| 15 | 0,12 ± 0,04 | | 10 | 20 |
| 16 | 0,10 ± 0,02 | | 10 | 40 |
| 17 | 0,16 ± 0,03 | | 15 | 0 |
| 18 | 0,07 ± 0,01 | | 15 | 20 |

# 4
# SONUÇ

Bu tezde araştırma kapsamında yapılan deneysel çalışma ve analizlerden elde edilen genel sonuçlar aşağıda verilmiştir.

1- SF katkısı ile elde edilen SF/CH filmlerin mekanik özelliklerinin %25 SF oranına kadar arttığı daha SF oranında ise azaldığı görülmüştür dolayısı ile SF /CH (25/75) film oranın optimal olduğu anlaşılmıştır.

2- GA katkısı ile 25/75 filminin çekme dayanımı ve young modülü değerleri %2.5-5 GA oranı için birbirine yakın iyi oranlar olduğu görülmüştür. Fakat filmlerin yine uzayabilirliklerinin nispeten azaldığı ve rijitliğin arttığı görülmüştür. Burada özellikle GA moleküllerinin polimer zincirleri arasında kimyasal çapraz bağlama yaparak filmlerin yapısını güçlendirerek mekanik özellikleri geliştirmiştir.

3- Farklı GA katkılı filmlerde genel olarak GLY katkısı ile filmlerin mekanik dayanımı ve modül değerleri düşerken filmlerin uzayabilirlikleri artmıştır. 25/75 fillerinin uzayabilirliklerini ve elastikliğini modifiye etmek için GLY katkısı kullanıldığında % 5 GA katkısının ve %20 GLY katkısının filmlerin mekanik özellikleri için optimal olduğu anlaşılmıştır. Burada GLY nin plastikleştirici etkisi filmlerdeki polimer zincirleri arasındaki etkileşmeleri önemli derecede etkilediği anlaşılmıştır.

4- Farklı çapraz bağlama oranlarına (0-%10) sahip 25/75 filmlerinin farklı sıcaklıklarda (20C, 37C, 65C ve 100C) uzun süreli termal işlemlere maruz bırakıldıktan sonra mekanik özelliklerde çok fazla kötüleşme görülmezken filmlerin biraz daha fazla rijitleştiği ve çekme dayanımının da biraz arttığı görülmüştür. Bunun da uzun süreli termal işlem etkisi ile GA in çapraz bağlama fonksiyonunun arttığı düşünülmüştür.

5- Sabit GLY katkısı (%20) ile farklı GA oranları ile elde edilen 25/75 filmleri termal işlemlere maruz kaldıktan sonra genel olarak kopma uzama değerlerinin yarı yarıya düşerken mekanik dayanım ve modül değerleri önemli derecede artmıştır. Termal işlem süresi arttıkça filmlerin çekme dayanımı değerlerinde bir miktar azalma meydana gelmiştir. Fakat genel

olarak burada da yine termal işlemlerin çapraz bağlama sürecini etkilediği ve filmlerin daha rijit bir yapıya sahip olmasına neden olmuştur.

6- Kısa süreli gerilim-gevşeme deneylerinde sabit bir GA oranında farklı uzama değerlerinde genel olarak sürecin ilk birinci dakikasında relaksasyon sürecinin hızlı olduğu ve artan uzama seviyeleri ile gevşemiş gerilim oranının %25 civarından %40 civarına kadar arttığı gözlenmiştir. Relaksasyon modüllerinin zamana bağlı değişimleri ise log(t) ye göre yaklaşık bir lineer bağlılık gösterdiği anlaşılmıştır.

7- GLY etkisi ile 25/75 filminin kısa süreli gerilim-gevşeme deneylerinde genel olarak artan GLY oranı ile gevşemiş gerilim oranının arttığı görülmüştür. Gerilim gevşeme eğrilerinin karakterinin GLY katkısı olmadan elde edilmiş filmlerin eğrilerine benzediği yani sürecin ilk bir dakikasının hızlı geliştiği ve sonrasında sürecin yavaş ilerlediği görülmüştür.

8- Gerilim-gevşeme deneyini takiben yapılan iyileşme süreci deneylerinde genel olarak tam iyileşme sürelerinin artan deformasyon seviyeleriyle arttığı görülmüştür. GA ile çapraz bağlamanın iyileşme sürelerini kısalttığı ve bu süreci hızlandırdığı, bunun aksine plastikleştirici katkısının tam iyileşme sürelerini arttırdığı ve sürecin yavaşladığı görülmüştür.

9- FT-ıR analizi sonuçlarından artan SF oranı ile β-tabaka yapılarının ve SF nin düzenli bölgelerinin oranını işaret eden kristallenme indeksi oranının göreceli olarak arttığı görülmüştür. 25/75 fillerinde artan GA oranı ile beta-tabaka yapılarının oranının %5 GA oranına kadar arttığı sonraki GA oranları için göreceli olarak azaldığı görülmüştür. Bu da tıpkı mekanik özelliklerde %5 GA oranının optimal oran olduğunu yapısal değişimlerle kanıtlandığını göstermektedir. Aynı zamanda artan GA oranlarıyla polimer zincirleri arasında GA ile meydana gelen çapraz bağlanmanın belirli bir GA oaranına kadar (%5) arttığı 1565 cm-1 de gözlenen imin (-N=C-) bağına ait olan pikin absorbans oranlarının artmasıyla kanıtlanmaktadır. Yine analiz sonuçlarından aratan GA ile H bağı oranlarının SF ile CH polimer zincirleri arasında meydana gelen hidrojen bağları (fiziksel çapraz bağlanma) oranların %5 GA ya kadar arttığı görülmüştür. GA etkisinin tersine artan plastikleştirici etkisi ile SF nin düzenli bölgelerinin oranlarının azaldığı görülmüştür. Aynı zamanda termal işlem etkisi ile artan termal işlem

sıcaklığı ile imin bağlarının dolayısı ile çapraz bağlama oranlarının artan sıcaklıkla arttığı görülmüştür.

10- SF/CH biyokompozit filmlerin ışık geçirgenlikleri artan SF oranı ile azalırken opaklık değerleri arttığı görülmüştür. Farklı GA oranlarında hazırlanan filmlerde ise çapraz bağlayıcı oranı arttıkça genel olarak filmlerin ışık geçirgenlikleri düşerken opaklık değerleri göreceli olarak artmıştır. Belirli bir orandan sonra çok fazla değişmemiştir. Fakat yüksek GA oranında (%15) bir miktar azalmıştır. Benzer şekilde termal işlem görmüş filmlerde de artan sıcaklık ile ışık geçirgenlikleri azalmış ve opaklık değerlerinde 65C kadar göreceli bir artış görülmekle beraber 100C için düşmüştür. Diğer taraftan filmlerin artan GLY ile filmlerin opaklık değerlerinin azaldığı, filmlerin daha saydam geçirgen olduğu görülmüştür.

11- Şişme ve suda çözünme testlerinde elde sonuçların analizlerinde artan GA oranı ile şişme derecesinin %10 GA oranına kadar azaldığı ve %15 GA oranı için arttığı görülmüştür. Benzer sonuç çözünme derecesinin GA ya bağlılığı eğrisinde de görülmektedir. Yani %10 GA oranına ÇD nin azaldığı sonra arttığı görülmektedir.

12- Şişme testlerindeki sonuçlara benzer olarak filmlerin su tutuculuğu(hidrofilik) ve su iticiliğinin (hidrofobik) araştırıldığı temas açısı deney sonuçlarından artan SF oranı ile temas açısı değerlerinin arttığı ve filmlerin daha hidrofobik olduğu anlaşılmıştır. Aratan GA oranı ile filmlerin hidrofobikliği yani su iticiliği artmıştır. Çünkü zincirler arasında çapraz bağlanma arttığından dolayı su moleküllerinin absorblanması zorlaşmıştır. GA katkısının tersine artan plastiklestirici (GLY) etkisi ile zincirler arasındaki boşluk ve mesafelerin artarak moleküller arası etkileşmeler zayıfladığından filmlerin su absoblama özelliği attığı görülmüştür. SF/CH filmlerinin yara iyileştirme potansiyelini incelemek için yapılan vitro çizik test sonuçlarından %5 GA katkılı filmlerin yara iyileştirme yüzdesinin yüksek olduğu görülmüştür.

13- Biyokompozit filmlerin canlı organizmalar ile uyumunu değerlendirmek için yapılan hücre kültürü testleri (MTT Testleri) ve analizlerinden farklı SF/CH ile elde edilen bu biyomalzemelerin hücreler üzerinde toksik bir etki yapmadığı ve hücre canlılıklarının olumsuz etkilenmediği görülmüştür. Hücre kültürü testlerine benzer şekilde farklı SF ve CH, farklı GA ve GLY

katkılı biyokompozit filmlerin hemouyumluluk testlerinden genel olarak kan uyumluluklarının yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca filmlerin yara iyileştirme potansiyelini araştırma için yapılan in vitro çizik test sonuçlarından %5 GA oranına sahip SF/CH (25/75) filmine ait yara kapanma yüzde değerleri tüm zaman noktalarında (0, 12, 24, 30 ve 48 saat) yüksek bulunmuştur.

14- Filmlerin XRD çalışmalarından saf CH filmlere oranla %25 katkılı filmlerin toplam kristallenme oranının daha düşük olduğu anlaşılmıştır. Sabit bir GA (%2,5) oranında artan SF oranı ile %25 ve %50 SF katkılı toplam kristallenme oranları birbirine yakınken %75 SF oranında daha fazla bir azalma gözlenmektedir. SF/CH(25/75) filmlerinde GA oranı artarken çapraz bağlanma oranları artacağından ve polimer zincirlerinin düzenli bir yapı ve kristal yapısı oluşturma süreçleri olumsuz etkilendiğinden dolayı filmlerin toplam kristallenme oranları literatür ile uyumlu olarak azalmıştır. SF/CH oranı 25/75 olan farklı GA oranlı filmlerde farklı GLY katkısı ile filmlerdeki amorf zincirlerin ve bölgelerinin oranları arttığından filmlerin kristallenme dereceleri azalmıştır. Fakat bu azalmalar GLY oranı %40 olduğunda yani GLY oranı iki katına çıkarıldığında çok fazla olmadığı yalnızca %1-3 civarında olduğu anlaşılmıştır.

15- Termal işlem etkisi ile bazı karakteristik piklerin kırılma açısı değerlerinin kaydığı ve aynı zamanda şiddetlerinin de önemli derecede azaldığı görülmüştür. Bunun yanında tıpkı yüksek sıcaklık değerlerinde çapraz bağlanma oranlarının mekanik ve spektroskopik analizde gösterildiği gibi arttığından dolayı filmlerin toplam kristallenme oranlarının düştüğü görülmüştür.

16- Fillerin termal yıpranma ve bu süreçlerde meydana gelen kütle kayıp değerlerinin vb. termal özelliklerinin incelendiği DSC, TGA ve DTG analiz sonuçlarından sabit GA(%2,5) oranında genel olarak artan SF oranı ile CH nin ve SF nin termal bozunum ve ayrışma karakteristik sıcaklık değerlerinin yüksek değerlere kaymıştır. SF nin, SF/CH kompozit filmlerinin termal kararlılığı arttırdığı görülmüştür. Diğer taraftan artan GA oranı ile %5 GA değerine kadar termal kararlılığın arttığı sonrasında ise azaldığı görülmektedir. GLY etkisi ile genel olarak hem CH nin hem de SF yapılarının termal bozunum sıcaklık değerlerinin düşük değerlere kaydığı

bunun da plastikleştirici SF nin SF/CH (25/75) + GA(%5) filmlerinin termal kararlılıklarını azalttığı görülmüştür.

17- Filmlerin yüzey morfolojisi sonuçlarından sabit GA (%2.5) katkılı SF/CH filmlerinden %25 ve %50 SF katkılı örneklerinin daha üniform, homojen ve düzgün bir yüzey yapısına sahip olduğu ve yüzey pürüzlülüğünün olmadığı fakat, %75 SF katkılı filmlerin yüzeylerinde bazı çözülmeyen CH parçacıkları fark edilmekle beraber, film yüzeyinde belirgin bir takım küresel film oluşumlarına rastlanmamış ve yüzey pürüzlüğünün arttığı görülmektedir. Aynı şekilde artan GLY oranı ile düşük GA (%2,5) oranlarında filmlerin yüzeylerinde herhangi bir çatlama ya da heterojen bir yapı oluşmamasına rağmen yüksek GA(%10) oranlarında film yüzeylerinde çözülmeyen kitosan parçacıkları olduğunu düşündüğümüz bazı heterojen yapılar görülmüştür.

18- Artan sıcaklığın filmlerin yüzeylerinde herhangi bir mikro ya da makro çatlakların oluşmadığı ve artan çapraz bağlayıcı oranı ile de film yüzeylerinin daha homojen olduğu görülmüştür.

19- %2,5 GA katkılı SF/CH(25/75) filmlerinde artan SF etkisi incelendiğinde, SF katkısının %50 olduğu filmlerde, termal degradasyon bölgelerinin başlangıç sıcaklıklarının daha yüksek sıcaklıklara kayması ve o bölgelerdeki kütle kayıplarının, %50 oranında daha az olması artan SF ile termal degradasyonun yavaşladığı ve azaldığı ve bu karışım filmlerin %50 SF oranına kadar termal kararlılığını arttırdığı görülmektedir. bu orandan sonra termal kararlılıkta biraz kötüleşme görülmüştür.

20- Artan çapraz bağlama oranıyla, %5 GA oranına kadar, yapısal termal bozunum bölgelerinde geçiş sıcaklık değerleri artmakta ve kütle kayıpları azalmakta fakat daha fazla GA oranlarından itibaren geçiş sıcaklık değerleri düşmekte, kalan kütle miktarları ise azalmaktadır. Dolaysıyla %5 GA oranına kadar kompozit filmlerin termal kararlılıklarının maksimum olduğu görülmektedir.

21- Çapraz bağlı SF/CH filmlerin termal degradasyon bölgeleri 4 bölgede incelenirken, gliserol eklenince 115-170 °C'de ek bir ara bölge oluşur. Kütle değişim hızları, özellikle ilk iki bölgede belirgin şekilde değişir. Farklı GA oranlarında yapılan testlerden, artan gliserol oranı ile genel olarak ana termal bozunum sıcaklık değerlerinin ve DTG eğrilerinde gözlenen

maksimum bozunum hızını işaret eden pik sıcaklık değerlerinin daha düşük sıcaklıklara kaydığı görülmüştür. Aynı zamanda artan GLY ile kütle kayıplarının da daha fazla olmasından dolayı GLY katkısının filmlerin termal kararlılıklarının azalttığı görülmüştür.

22- Artan sıcaklıklarla birlikte gliserinsiz SF/CH (25/75) %5 GA kompozit filmlerin termal işlemler sonrası kütle değişim eğrileri, artan termal işlem sıcaklıkları ile termal bozunum bölgelerinin termal geçiş sıcaklık değerleri yüksek değerlere kaydığı görülmüştür. Aynı zamanda kütle kayıplarının da daha az olduğu görülmüştür. Çünkü termal işlem etkisi ile çapraz bağlanma oranlarının arttığından dolayı moleküller arası etkileşmeler göreceli olarak artmıştır. Gliserinli (%20) SF/CH (25/75) + GA (%5) biyokompozit filmlerinde ise I. ve II. bölgelerde filmlerdeki su ve uçucu ürünlerin kütle kayıpları belirgin şekilde değişmiş ve geçiş sıcaklık değerleri daha yüksek değerlere kayarken, II. bölgeden III. degradasyon bölgesine geçiş sıcaklığı da yükselmiştir. GLY katkısı ile filmlerin termal kararlılığı arttığı gözlenmektedir. Fakat GLY katkısından dolayı filmlerdeki toplam kütle kayıplarının genel olarak gliserinsiz örneklerdeki kütle kayıplarından daha fazla olduğu görülmüştür.

23- Sonuç olarak biyouyumluluk, hemouyumluluk özelliklerin yanı sıra mekanik olarak SF/CH(25/75) +GA(%5)+GLY(%20) filmlerinin optimal olduğunu ve yara örtücü olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

# KAYNAKÇA


[1] A. Sionkowska, “Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review”, Eylül 2011. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003.

[2] S. Z. Rogovina ve G. A. Vikhoreva, “Polysaccharide-based polymer blends: Methods of their production”, Kasım 2006. doi: 10.1007/s10719-006-8768-7.

[3] Y. Ma vd., “Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing”, Materials Science and Engineering C, c. 81, ss. 522-531, Ara. 2017, doi: 10.1016/j.msec.2017.08.052.

[4] S. Narayana vd., “Potential benefits of using chitosan and silk fibroin topical hydrogel for managing wound healing and coagulation”, Saudi Pharmaceutical Journal, c. 31, sy 3, ss. 462-471, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.jsps.2023.01.013.

[5] Y. Qi vd., “A review of structure construction of silk fibroin biomaterials from single structures to multi-level structures”, 01 Mart 2017, MDPI AG. doi: 10.3390/ijms18030237.

[6] A. R. Murphy ve D. L. Kaplan, “Biomedical applications of chemically-modified silk fibroin”, J Mater Chem, c. 19, sy 36, ss. 6443-6450, 2009, doi: 10.1039/b905802h.

[7] J. Hua vd., “Silk fibroin/chitosan coating with tunable catalytic nitric oxide generation for surface functionalization of cardiovascular stents”, Int J Biol Macromol, c. 228, ss. 261-272, Şub. 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.12.239.

[8] A. Sarkar, A. J. Connor, M. Koffas, ve R. H. Zha, “Chemical synthesis of silk-mimetic polymers”, 01 Aralık 2019, MDPI AG. doi: 10.3390/MA12244086.

[9] Yazıcıoğlu Gülseren, “İpek( Bombyx mori) Fibroinin Kimyasal ve Kristallin Yapısı”, Tekstil ve Mühendis, ss. 73-77, Nis. 1993.

[10] A. Sionkowska, K. Lewandowska, ve A. Płanecka, “Miscibility and physical properties of chitosan and silk fibroin mixtures”, J Mol Liq, c. 198, ss. 354-357, 2014, doi: 10.1016/j.molliq.2014.07.033.

[11] D. W. Li vd., “Silk fibroin/chitosan thin film promotes osteogenic and adipogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells”, J Biomater Appl, c. 32, sy 9, ss. 1164-1173, Nis. 2018, doi: 10.1177/0885328218757767.

[12] M. N. V. R. Kumar, “A review of chitin and chitosan applications”, 2000. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.elsevier.com/locate/react

[13] E. López-Chávez, J. M. Martínez-Magadán, R. Oviedo-Roa, J. Guzmán, J. Ramírez-Salgado, ve J. Marín-Cruz, “Molecular modeling and simulation of

ion-conductivity in chitosan membranes", Polymer (Guildf), c. 46, sy 18, ss. 7519-7527, Ağu. 2005, doi: 10.1016/j.polymer.2005.04.107.

[14] V. Zargar, M. Asghari, ve A. Dashti, "A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications", 01 Haziran 2015, Wiley-Blackwell. doi: 10.1002/cben.201400025.

[15] M. Dash, F. Chiellini, R. M. Ottenbrite, ve E. Chiellini, "Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications", 2011, Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001.

[16] S. Mohammadzadehmoghadam ve Y. Dong, "Fabrication and characterization of electrospun silk fibroin/gelatin scaffolds crosslinked with glutaraldehyde vapor", Front Mater, c. 6, Nis. 2019, doi: 10.3389/fmats.2019.00091.

[17] H. Wu vd., "Effect of citric acid induced crosslinking on the structure and properties of potato starch/chitosan composite films", Food Hydrocoll, c. 97, Ara. 2019, doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105208.

[18] M. S. ur Rehman, Z. A. Raza, Z. A. Rehan, M. J. Bakhtiyar, F. Sharif, ve M. Yousaf, "Citric acid crosslinked biocompatible silk fibroin-mediated porous chitosan films for sustained drug release application", Mater Today Commun, c. 34, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.mtcomm.2023.105373.

[19] S. Grabska-zielińska ve A. Sionkowska, "How to improve physico-chemical properties of silk fibroin materials for biomedical applications?—blending and cross-linking of silk fibroin—a review", 02 Mart 2021, MDPI AG. doi: 10.3390/ma14061510.

[20] A. Bigi, G. Cojazzi, S. Panzavolta, K. Rubini, ve N. Roveri, "Mechanical and thermal properties of gelatin "lms at di!erent degrees of glutaraldehyde crosslinking", 2001.

[21] M. Wu vd., "A high-performance hydroxide exchange membrane enabled by Cu2+-crosslinked chitosan", Nat Nanotechnol, c. 17, sy 6, ss. 629-636, Haz. 2022, doi: 10.1038/s41565-022-01112-5.

[22] A. C. S. de Oliveira, J. C. Ugucioni, ve S. V. Borges, "Effect of glutaraldehyde/glycerol ratios on the properties of chitosan films", J Food Process Preserv, c. 45, sy 1, Oca. 2021, doi: 10.1111/jfpp.15060.

[23] A. Sionkowska ve A. Płanecka, "Surface properties of thin films based on the mixtures of chitosan and silk fibroin", J Mol Liq, c. 186, ss. 157-162, Eki. 2013, doi: 10.1016/j.molliq.2013.07.008.

[24] R. Rujiravanit, S. Kruaykitanon, A. M. Jamieson, ve S. Tokura, "Preparation of Crosslinked Chitosan/Silk Fibroin Blend Films for Drug Delivery System", içinde Macromolecular Bioscience, Wiley-VCH Verlag, Eki. 2003, ss. 604-611. doi: 10.1002/mabi.200300027.

[25] Z. Gu, H. X. Xie, C. Huang, L. Li, ve X. Yu, "Preparation of chitosan/silk fibroin blending membrane fixed with alginate dialdehyde for wound dressing", Int J Biol Macromol, c. 58, ss. 121-126, 2013, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.03.059.

[26] N. Johari, A. Khodaei, A. Samadikuchaksaraei, R. L. Reis, S. C. Kundu, ve L. Moroni, "Ancient fibrous biomaterials from silkworm protein fibroin and

spider silk blends: Biomechanical patterns", 01 Kasım 2022, Acta Materialia Inc. doi: 10.1016/j.actbio.2022.09.030.

[27] Z. Wang, H. Yang, ve Z. Zhu, "Study on the blends of silk fibroin and sodium alginate: Hydrogen bond formation, structure and properties", Polymer (Guildf), c. 163, ss. 144-153, Şub. 2019, doi: 10.1016/j.polymer.2019.01.004.

[28] X. Chen, W. Li, ve T. Yu, "Conformation Transition of Silk Fibroin Induced by Blending Chitosan", John Wiley & Sons, Inc, 1997.

[29] X. Chen, W. Li, W. Zhong, ve T. Yu, "The Al3+ sensitivity of chitosan-silk fibroin complex membrane on swelling and its application on chemical valve for the separation of isopropanol-water mixture", Journal of Macromolecular Science - Pure and Applied Chemistry, c. 34, sy 12, ss. 2451-2460, 1997, doi: 10.1080/10601329708010059.

[30] J. Suesat, R. Rujiravanit, ve A. M. Jamieson, "9 Preparation and Water Absorption of Cross-Linked Chitosan/Silk Fibroin Blend Films".

[31] Y. Baimark, P. Srihanam, ve Y. Srisuwan, "Effect of Chitosan Molecular Weights on Characteristics of Silk Fibroin/Chitosan Blend Films", Current Research in Chemistry, c. 1, sy 1, ss. 8-14, Ara. 2008, doi: 10.3923/crc.2009.8.14.

[32] G. D. Kang, K. H. Lee, C. S. Ki, H. Nahm, ve Y. H. Park, "Silk Fibroin/Chitosan Conjugate Crosslinked by Tyrosinase", 2004.

[33] A. S. Gobin, V. E. Froude, ve A. B. Mathur, "Structural and mechanical characteristics of silk fibroin and chitosan blend scaffolds for tissue regeneration", J Biomed Mater Res A, c. 74, sy 3, ss. 465-473, Eyl. 2005, doi: 10.1002/jbm.a.30382.

[34] M. S. Pacheco, G. E. Kano, L. de A. Paulo, P. S. Lopes, ve M. A. de Moraes, "Silk fibroin/chitosan/alginate multilayer membranes as a system for controlled drug release in wound healing", Int J Biol Macromol, c. 152, ss. 803-811, Haz. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.140.

[35] A. Duangpakdee, C. Laomeephol, D. Jindatip, P. Thongnuek, J. Ratanavaraporn, ve S. Damrongsakkul, "Crosslinked silk fibroin/gelatin/hyaluronan blends as scaffolds for cell-based tissue engineering", Molecules, c. 26, sy 11, Haz. 2021, doi: 10.3390/molecules26113191.

[36] S. Asadpour, S. Kargozar, L. Moradi, A. Ai, H. Nosrati, ve J. Ai, "Natural biomacromolecule based composite scaffolds from silk fibroin, gelatin and chitosan toward tissue engineering applications", Int J Biol Macromol, c. 154, ss. 1285-1294, Tem. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.003.

[37] J. Liu vd., "An asymmetric wettable chitosan-silk fibroin composite dressing with fixed silver nanoparticles for infected wound repair:: In vitro and in vivo evaluation", RSC Adv, c. 7, sy 69, ss. 43909-43920, 2017, doi: 10.1039/c7ra07588j.

[38] G. I. Klebanov, O. B. Lyubitsky, S. E. Ilina, E. O. Medusheva, V. V. Riltsev, ve V. N. Filatov, "Antioxidant activity of free-radical reactions inhibitors,

applied to the dressing material for wound healing", Biomeditsinskaya Khimiya, c. 52, sy 1, ss. 69-82, 2006, doi: 10.1134/s1990750807010076.

[39] I. Aranaz vd., "Functional Characterization of Chitin and Chitosan", 2009.

[40] W. Luangbudnark, J. Viyoch, W. Laupattarakasem, P. Surakunprapha, ve P. Laupattarakasem, "Properties and biocompatibility of chitosan and silk fibroin blend films for application in skin tissue engineering", The Scientific World Journal, c. 2012, 2012, doi: 10.1100/2012/697201.

[41] J. G. Hardy ve T. R. Scheibel, "Composite materials based on silk proteins", 2010, Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.005.

[42] T. Kitagawa ve K. Yabuki, "Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films", J Appl Polym Sci, c. 80, sy 7, ss. 928-934, May. 2001, doi: 10.1002/app.1172.

[43] Y. Lin vd., "Tuning chemical and physical cross-links in silk electrogels for morphological analysis and mechanical reinforcement", Biomacromolecules, c. 14, sy 8, ss. 2629-2635, Ağu. 2013, doi: 10.1021/bm4004892.

[44] C. Holland, K. Numata, J. Rnjak-Kovacina, ve F. P. Seib, "The Biomedical Use of Silk: Past, Present, Future", 10 Ocak 2019, Wiley-VCH Verlag. doi: 10.1002/adhm.201800465.

[45] A. L. Oliveira vd., "Aligned silk-based 3-D architectures for contact guidance in tissue engineering", Acta Biomater, c. 8, sy 4, ss. 1530-1542, 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.12.015.

[46] S. Kanokpanont, S. Damrongsakkul, J. Ratanavaraporn, ve P. Aramwit, "An innovative bi-layered wound dressing made of silk and gelatin for accelerated wound healing", Int J Pharm, c. 436, sy 1-2, ss. 141-153, Eki. 2012, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.046.

[47] C. R. Yoo vd., "Effect of chitin/silk fibroin nanofibrous bicomponent structures on interaction with human epidermal keratinocytes", Int J Biol Macromol, c. 42, sy 4, ss. 324-334, May. 2008, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2007.12.004.

[48] P. Ratanasongtham, R. Watanesk, ve S. Watanesk, "Comparison of porosity improvement of silk fibroin membrane using polyethylene glycol and glutaraldehyde for increasing oxygen permeability", içinde Advanced Materials Research, 2013, ss. 1601-1608. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.750-752.1601.

[49] K. Sun, H. Li, R. Li, Z. Nian, D. Li, ve C. Xu, "Silk fibroin/collagen and silk fibroin/chitosan blended three-dimensional scaffolds for tissue engineering", European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology, c. 25, sy 2, ss. 243-249, Şub. 2015, doi: 10.1007/s00590-014-1515-z.

[50] L. Balau, G. Lisa, M. I. Popa, V. Tura, ve V. Melnig, "Physico-chemical properties of Chitosan films", 2004.

[51] J. Nunthanid, S. Puttipipatkhachorn, K. Yamamoto, ve G. E. Peck, "Physical Properties and Molecular Behavior of Chitosan Films", 2001. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.dekker.com

[52] E. Tsobkallo, B. Aksakal, ve D. Darvish, “Recovery process in stretched wool fibers”, Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics, c. 49, sy 3, ss. 495-505, May. 2010, doi: 10.1080/00222341003595832.

[53] B. Teknik, Ü. Dbmmf, ve K. M. Bölümü, “KBM0404 Kimya Mühendisliği Laboratuvarı III Yüzey Gerilimi ve Temas Açısı Ölçümü”.

[54] P. Thangaraju ve S. B. Varthya, “biological evaluation of medical devices. In Medical device guidelines and regulations handbook ”, Cham: Springer International Publishing.

[55] B. Özkahraman, G. Torkay, Z. Özbaş, ve A. Bal-Öztürk, “The effect of vitamin C in the formulation of pectin/thiolated alginate buccal adhesive patches: In vitro and Ex vivo evaluation”, Int J Adhes Adhes, c. 120, s. 103276, Oca. 2023, doi: 10.1016/j.ijadhadh.2022.103276.

[56] M. Suneetha, K. M. Rao, ve S. S. Han, “Mussel-inspired cell/tissue-adhesive, hemostatic hydrogels for tissue engineering applications”, ACS Omega, c. 4, sy 7, ss. 12647-12656, Tem. 2019, doi: 10.1021/acsomega.9b01302.

[57] A. Bal-Öztürk, G. Torkay, N. İdil, R. O. Akar, Z. Özbaş, ve B. Özkahraman, “Propolis-loaded photocurable methacrylated pullulan films: Evaluation of mechanical, antibacterial, biocompatibility, wound healing and pro-angiogenic abilities”, Int J Biol Macromol, c. 282, s. 137071, Ara. 2024, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.137071.

[58] S. J. Park, K. Y. Lee, H. A. Wan Shik, ve S. Y. Park, “Structural changes and their effect on mechanical properties of silk fibroin/chitosan blends”, J Appl Polym Sci, c. 74, sy 11, ss. 2571-2575, Ara. 1999, doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(19991209)74:11<2571::AID-APP2>3.0.CO;2-A.

[59] Y. X. Wang, Y. P. Qin, Z. J. Kong, Y. J. Wang, ve L. Ma, “Glutaraldehyde cross-linked silk fibroin films for controlled release”, içinde Advanced Materials Research, 2014, ss. 541-546. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.887-888.541.

[60] M. A. Koperska vd., “Degradation markers of fibroin in silk through infrared spectroscopy”, Polym Degrad Stab, c. 105, sy 1, ss. 185-196, 2014, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2014.04.008.

[61] A. Salama, “chitosan/silk fibroin zinc oxide nanocomposite as a sustainable and antimicrobial biomaterial”.

[62] B. Hoffmann, D. Seitz, A. Mencke, A. Kokott, ve G. Ziegler, “Glutaraldehyde and oxidised dextran as crosslinker reagents for chitosan-based scaffolds for cartilage tissue engineering”, J Mater Sci Mater Med, c. 20, sy 7, ss. 1495-1503, Tem. 2009, doi: 10.1007/s10856-009-3707-3.

[63] S. Grabska-Zielińska, A. Sionkowska, C. C. Coelho, ve F. J. Monteiro, “Silk fibroin/collagen/chitosan scaffolds cross-linked by a glyoxal solution as biomaterials toward bone tissue regeneration”, Materials, c. 13, sy 15, ss. 1-20, Ağu. 2020, doi: 10.3390/ma13153433.

[64] Z. She, C. Jin, Z. Huang, B. Zhang, Q. Feng, ve Y. Xu, “Silk fibroin/chitosan scaffold: Preparation, characterization, and culture with HepG2 cell”, J Mater Sci Mater Med, c. 19, sy 12, ss. 3545-3553, Ara. 2008, doi: 10.1007/s10856-008-3526-y.

[65] H. Kweon, I. C. Um, ve Y. H. Park, “Structural and thermal characteristics of Antheraea pernyi silk ®broin/chitosan blend ®lm”. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.elsevier.nl/locate/polymer

[66] S. Grabska-Zielí Nska, A. Sionkowska, E. Olewnik-Kruszkowska, K. Reczy´nska, R. Reczy´nska, ve E. Zbieta Pamuła, “Is Dialdehyde Chitosan a Good Substance to Modify Physicochemical Properties of Biopolymeric Materials?”, International Journal of Molecular Sciences Article J. Mol. Sci, 2021, doi: 10.3390/ijms.

[67] I. A. Duceac ve S. Coseri, “Chitosan Schiff-Base Hydrogels—A Critical Perspective Review”, Gels, c. 8, sy 12, Ara. 2022, doi: 10.3390/gels8120779.

[68] R. R. De Melo vd., “New heterofunctional supports based on glutaraldehyde-activation: A tool for enzyme immobilization at neutral pH”, Molecules, c. 22, sy 7, Tem. 2017, doi: 10.3390/molecules22071088.

[69] B. Zhu, W. Li, N. Chi, R. V. Lewis, J. Osamor, ve R. Wang, “Optimization of Glutaraldehyde Vapor Treatment for Electrospun Collagen/Silk Tissue Engineering Scaffolds”, ACS Omega, c. 2, sy 6, ss. 2439-2450, Haz. 2017, doi: 10.1021/acsomega.7b00290.

[70] N. Nematidil, M. Sadeghi, S. Nezami, ve H. Sadeghi, “Synthesis and characterization of Schiff-base based chitosan-g-glutaraldehyde/NaMMTNPs-APTES for removal Pb2+ and Hg2+ ions”, Carbohydr Polym, c. 222, Eki. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.114971.

[71] X. Hu, D. Kaplan, ve P. Cebe, “Determining beta-sheet crystallinity in fibrous proteins by thermal analysis and infrared spectroscopy”, Macromolecules, c. 39, sy 18, ss. 6161-6170, Eyl. 2006, doi: 10.1021/ma0610109.

[72] S. Lee, S. H. Kim, Y. Y. Jo, W. T. Ju, H. B. Kim, ve H. Kweon, “Effects of ultraviolet light irradiation on silk fibroin films prepared under different conditions”, Biomolecules, c. 11, sy 1, ss. 1-11, Oca. 2021, doi: 10.3390/biom11010070.

[73] N. R. Kildeeva, P. A. Perminov, L. V. Vladimirov, V. V. Novikov, ve S. N. Mikhailov, “About mechanism of chitosan cross-linking with glutaraldehyde”, Russ J Bioorg Chem, c. 35, sy 3, ss. 360-369, May. 2009, doi: 10.1134/S106816200903011X.

[74] Y. Yasunaga, Y. Aso, K. Yamada, ve Y. Okahisa, “Preparation of transparent fibroin nanofibril-reinforced chitosan films with high toughness and thermal resistance”, Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, c. 5, Haz. 2023, doi: 10.1016/j.carpta.2023.100299.

[75] I. Leceta, P. Guerrero, ve K. De La Caba, “Functional properties of chitosan-based films”, içinde Carbohydrate Polymers, Mar. 2013, ss. 339-346. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.04.031.

[76] M. Abomosallam, M. Elalfy, Z. Zheng, K. Nagata, ve M. Suzuki, “Adsorption kinetics and thermodynamics of toxic metal ions onto chitosan nanoparticles extracted from shrimp shells”, Nanotechnology for Environmental Engineering, c. 7, sy 1, Mar. 2022, doi: 10.1007/s41204-021-00179-0.

[77] Z. Xu, E. Tang, ve H. Zhao, “An environmentally sensitive silk fibroin/chitosan hydrogel and its drug release behaviors”, Polymers (Basel), c. 11, sy 12, Ara. 2019, doi: 10.3390/polym11121980.

[78] M. M. Beppu, R. S. Vieira, C. G. Aimoli, ve C. C. Santana, “Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption”, J Memb Sci, c. 301, sy 1-2, ss. 126-130, Eyl. 2007, doi: 10.1016/j.memsci.2007.06.015.

[79] K. Sakurai, M. Takagi, ve T. Takahashi, “CRYSTAL STRUCTURE OF CHITOSAN. I. UNIT CELL PARAMETERS”.

[80] E. S. Sashina ve N. P. Novoselov, “Polyelectrolyte Complexes of Fibroin with Chitosan”, Russia, 2005.

[81] P. K. Naito, Y. Ogawa, S. Kimura, T. Iwata, ve M. Wada, “Crystal transition from hydrated chitosan and chitosan/monocarboxylic acid complex to anhydrous chitosan investigated by X-ray diffraction”, J Polym Sci B Polym Phys, c. 53, sy 15, ss. 1065-1069, Ağu. 2015, doi: 10.1002/polb.23748.

[82] X. Zhang vd., “Fabrication and characterization of silk fibroin/curcumin sustained-release film”, Materials, c. 12, sy 20, Eki. 2019, doi: 10.3390/ma12203340.

[83] Shakeel. Ahmed, Soumeia. Zeghoud, Hadia. Hemmami, ve Ilham. Ben Amor, Chitin and Chitosan : Physical and Chemical Properties. Jenny Stanford Publishing, 2025.

[84] J. M. F. Pavoni, N. Z. dos Santos, I. C. May, L. D. Pollo, ve I. C. Tessaro, “Impact of acid type and glutaraldehyde crosslinking in the physicochemical and mechanical properties and biodegradability of chitosan films”, Polymer Bulletin, c. 78, sy 2, ss. 981-1000, Şub. 2021, doi: 10.1007/s00289-020-03140-4.

[85] Y. Liu, Z. Cai, L. Sheng, M. Ma, Q. Xu, ve Y. Jin, “Structure-property of crosslinked chitosan/silica composite films modified by genipin and glutaraldehyde under alkaline conditions”, Carbohydr Polym, c. 215, ss. 348-357, Tem. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.04.001.

[86] N. Agarwal, D. A. Hoagland, ve R. J. Farris, “Effect of moisture absorption on the thermal properties of Bombyx mori silk fibroin films”, J Appl Polym Sci, c. 63, sy 3, ss. 401-410, Oca. 1997, doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(19970118)63:3<401::AID-APP17>3.0.CO;2-2.

[87] G. Hao vd., “Physicochemical characteristics of chitosan from swimming crab (Portunus trituberculatus) shells prepared by subcritical water pretreatment”, Sci Rep, c. 11, sy 1, Ara. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-81318-0.

[88] F. Ferrero ve M. Periolatto, “Antimicrobial finish of textiles by chitosan UV-curing”, J Nanosci Nanotechnol, c. 12, sy 6, ss. 4803-4810, 2012, doi: 10.1166/jnn.2012.4902.

[89] M. A. de Moraes, G. M. Nogueira, R. F. Weska, ve M. M. Beppu, “Preparation and characterization of insoluble silk fibroin/chitosan blend films”, Polymers (Basel), c. 2, sy 4, ss. 719-727, Ara. 2010, doi: 10.3390/polym2040719.

[90] M. Kaya vd., “Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of Pistacia terebinthus for active food packaging”, RSC Adv, c. 8, sy 8, ss. 3941-3950, 2018, doi: 10.1039/c7ra12070b.

[91] I. C. Um, H. Kweon, Y. H. Park, ve S. Hudson, “Structural characteristics and properties of the regenerated silk fibroin prepared from formic acid”, 2001. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.elsevier.com

[92] E. S. Sashina, Janowska G., Zaborski M., ve Vnuchkin A. V., “compatıbılıty of fıbroın/chıtosan and fıbroın/cellulose blends studıed by thermal analysıs”, Journal ofThermal Analysis and Calorimetry, ss. 887-891, Mar. 2007, doi: 10.1007/s10973-006-7676-1.

[93] M. S. ur Rehman, Z. A. Raza, Z. A. Rehan, M. J. Bakhtiyar, F. Sharif, ve M. Yousaf, “Citric acid crosslinked biocompatible silk fibroin-mediated porous chitosan films for sustained drug release application”, Mater Today Commun, c. 34, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.mtcomm.2023.105373.

[94] N. Jaramillo-Quiceno, C. Álvarez-López, ve A. Restrepo-Osorio, “Structural and thermal properties of silk fibroin films obtained from cocoon and waste silk fibers as raw materials”, içinde Procedia Engineering, Elsevier Ltd, 2017, ss. 384-388. doi: 10.1016/j.proeng.2017.07.054.

[95] G. Freddi, M. Tsukada, ve S. Beretta, “Structure and Physical Properties of Silk Fibroin/Polyacrylamide Blend Films”, 1999.

[96] S. M. Lee, D. Cho, W. H. Park, S. G. Lee, S. O. Han, ve L. T. Drzal, “Novel silk/poly(butylene succinate) biocomposites: The effect of short fibre content on their mechanical and thermal properties”, Compos Sci Technol, c. 65, sy 3-4, ss. 647-657, Mar. 2005, doi: 10.1016/j.compscitech.2004.09.023.

[97] X. X. Feng, L. L. Zhang, J. Y. Chen, Y. H. Guo, H. P. Zhang, ve C. I. Jia, “Preparation and characterization of novel nanocomposite films formed from silk fibroin and nano-TiO2”, Int J Biol Macromol, c. 40, sy 2, ss. 105-111, Oca. 2007, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2006.06.011.

[98] K. Sivaselvi ve P. Ghosh, “Characterization of modified Chitosan thin film”, içinde Materials Today: Proceedings, Elsevier Ltd, 2017, ss. 442-451. doi: 10.1016/j.matpr.2017.01.043.

[99] N. Niamsa, Y. Srisuwan, Y. Baimark, P. Phinyocheep, ve S. Kittipoom, “Preparation of nanocomposite chitosan/silk fibroin blend films containing nanopore structures”, Carbohydr Polym, c. 78, sy 1, ss. 60-65, Ağu. 2009, doi: 10.1016/j.carbpol.2009.04.003.

[100] S. Kaewpirom, S. Piboonnithikasem, P. Sroisroemsap, S. Uttoom, ve S. Boonsang, “Tailoring silk fibroin hydrophilicity and physicochemical properties using sugar alcohols for medical device coatings”, Sci Rep, c. 14, sy 1, Ara. 2024, doi: 10.1038/s41598-024-64450-5.

[101] W. Al-Zyoud, D. Haddadin, S. A. Hasan, H. Jaradat, ve O. Kanoun, “Biocompatibility Testing for Implants: A Novel Tool for Selection and Characterization”, 01 Kasım 2023, Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). doi: 10.3390/ma16216881.

[102] G. De Giorgio vd., “Silk Fibroin Materials: Biomedical Applications and Perspectives”, 01 Şubat 2024, Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). doi: 10.3390/bioengineering11020167.

[103] K. C. Chou vd., “Cutaneous regeneration mechanism of β-sheet silk fibroin in a rat burn wound healing model”, Polymers (Basel), c. 13, sy 20, Eki. 2021, doi: 10.3390/polym13203537.

[104] S. Sakurai, Y. Okada, ve I. Mataga, “Inhibitory Effects of Glycerol on Growth and Invasion of Human Oral Cancer Cell Lines”, J Hard Tissue Biol, c. 20, sy 1, ss. 37-46, 2011.

[105] M. Ul-Islam, K. F. Alabbosh, S. Manan, S. Khan, F. Ahmad, ve M. W. Ullah, “Chitosan-based nanostructured biomaterials: Synthesis, properties, and biomedical applications”, 01 Ocak 2024, KeAi Communications Co. doi: 10.1016/j.aiepr.2023.07.002.

# TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

**Konferans bildirileri**

**1.** T. Korkmaz İvgen, B. Aksakal, K. Turhan, A. Bozdogan, A. Bal Ozturk ve G. Torkay "Investigation of the Structural, Mechanical, and Biocompatibility Properties of Crosslinked Chitosan/Silk Fibroin Composite Films for Biomedical Applications" in Turkish Physical Society 40th International Physics Congress 2024.

**Projeler**

**1.** Tuğba KORKMAZ İVGEN, Baki AKSAKAL, Kadir TURHAN, Altan BOZDOGAN, Ayça BAL OZTURK ve Gülşah TORKAY, "Çapraz Bağlı Kitosan/İpek Fibroin Karışım Filmlerinin Biyomedikal Uygulamaları" YTÜ BAP YL Projeleri (FCD-2024-5959).