

KULLANILAN FARKLI ÇÖZÜCÜLERİN İPEK FİBROİN-PVA KOMPOZİT SÜNGERLERİN YAPISINA OLAN ETKİSİ

Onur ARAS^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0002-5495-5238>

Murat KAZANCI^{*2}

<https://orcid.org/0000-0002-5622-6960>

¹ Gebze Teknik Üniversitesi, Temel Bilimler Fakültesi, Kimya Bölümü, Kocaeli, Türkiye.
² İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fak., Biyomedikal Müh. Böl., İstanbul, Türkiye

Gönderilme Tarihi / Received: 19.11.2018

Kabul Tarihi / Accepted: 06.08.2019

ÖZET: İpek fibroini farklı formlarda elde edebilmek için (film, fiber, sünger vs.), fibroinin uygun çözücüler içinde çözünmesi gerekmektedir. Bu işlem için farklı çözücüler kullanılmaktadır. Literatürde yer alan çalışmalardan çok azı, kullanılan çözücü sistemin, son ürünün yapısı üzerindeki etkilerini incelemiştir. Yapılan bu çalışma ile bu eksikliğin giderilmesi hedeflenmektedir. Bu nedenle, kullanılan farklı çözücülerin, elde edilen fibroin / Polivinilalkol (PVA) kompozit süngerlerin yapısı üzerine etkisinin araştırılması, bu çalışmanın temelini teşkil etmektedir. Elde edilen kompozit süngerlerin yara örtüsü olarak kullanılması hedeflendiğinden, yapılan bu çalışma, planlanan çalışmanın ilk aşaması olup, daha çok ön hazırlık aşamalarını kapsamaktadır. Bu çalışmada, fibroin/PVA kompozit yapıları süngerler, liyofilizasyon (dondurarak kurutma) yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Bu yöntem ile yüksek ve düzgün gözenekli ipek fibroin temelli süngerler üretilmiştir. Yapılan bu ön çalışmada, ilk olarak ipek fibroinin çözünmesinde kullanılan farklı çözücülerin, elde edilen malzemenin genel yapısını ve PVA ile oluşturduğu kompozit yapıya olan etkileri araştırılmıştır. Daha sonra, üretilen kompozit sünger yapıları; Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR), Termogravimetrik Analiz Cihazı (TGA) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) metodları kullanılarak karakterize edilmiştir. Kalsiyum Klorür (CaCl₂)-Etanol-H₂O den elde edilen kompozit sünger yapıları incelendiğinde ikincil yapının β sheet ağırlıklı olduğu görülmüştür. FTIR sonuçları, PVA ile karıştırıldıktan sonra Amid I ve Amid II bantlarının yerlerinde ve değerlerinde değişiklikler olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, fibroin molekülleri ile PVA molekülleri arasındaki etkileşimin oldukça kuvvetli olduğunu göstermiştir. Lityum Bromür (LiBr) içerisinde çözünen ipek fibroin de ise, düzensiz (random coil) yapının ağırlıkta olduğu, kompozit oluşumu sırasında β tabakalarına (sheet) dönüşmediği görülmüştür ve bu da kristal yapının amorf yapıya oranını ve termal kararlılığını etkilemektedir. Malzemelerin ısı özellikleri TGA ve DSC kullanılarak analiz edilmiştir. Özet olarak, CaCl₂-Etanol-H₂O'dan oluşan sistem içinde çözülerek elde edilen fibroin çözeltisi, LiBr içinde çözülerek elde edilen fibroin çözeltileri ile karşılaştırıldığında, ikincil yapı konformasyonlarının ve morfolojilerinin farklılık gösterdiği ve ilk çözüldüğü (CaCl₂-Etanol-H₂O) elde edilen fibroin yapıların PVA ile daha sağlam daha kararlı kompleks yapılar oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İpek Fibroin, Kompozit, Sünger, PVA, İpek Çözücü Sistemleri

THE EFFECT OF DIFFERENT SOLVENTS ON THE STRUCTURE OF SILK FIBROIN-PVA COMPOSITE FOAMS

ABSTRACT: To be able to obtain silk fibroin in different forms (film, fiber, sponge etc.), fibroin should be dissolved in suitable solvents. Different solvents are used for this process. Very few of the studies in the literature were investigated on the effects of the solvent system on the structure of the final product. This work aimed to fulfil this deficiency. For this reason, the main purpose of this work is to investigate the effect of different solvents on the obtained structure of fibroin / Polyvinyl Alcohol (PVA) composite sponges. Since this study's final goal is to use the obtained composite sponges as a wound dressing, this presented work is the first part of the planned study that mainly consists of preliminary preparation steps. Fibroin / PVA composite sponges were obtained by using lyophilisation (freeze drying) method in this work. Silk fibroin based sponges with high porosity were produced by employing this technique. In this preliminary study, first the effects of different solvents that are used in the dissolution of silk fibroin on the general structure of the obtained material and the composite structures that are formed by mixing with PVA were investigated. Then, produced composite sponge structures were characterized by using Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermogravimetric Analysis (TGA) and Differential Scanning Calorimetry (DSC) methods. When the

composite sponge structures, obtained in Calcium Chloride (CaCl₂)-Ethanol-H₂O, were examined, it was observed that the secondary structure was dominated mainly by β sheet. The FTIR results showed that the Amide I and Amide II bands had changes in their location and values after mixing with PVA. These results demonstrated that the interaction between fibroin molecules and PVA molecules is quite strong. The silk fibroin, dissolved in Lithium Bromide (LiBr), mainly consisted the random coil structures and the structure had not transformed into a β sheet conformation during the formation of the composites, which affected the ratio of the crystal structure to the amorphous structure and thermal stability of the composite sponges. The thermal properties of the material were analyzed using TGA and DSC. In summary, when the fibroin solution, obtained by dissolving fibroin in the solvent system of CaCl₂-Ethanol-H₂O, with the fibroin solutions, obtained by dissolving fibroin in the solvent system of LiBr are compared, it is found that their secondary structural conformation and morphologies were different and the fibroin structures that were obtained from CaCl₂-Ethanol-H₂O solvent system formed more stable and strong complexes with PVA.

Keywords: Silk Fibroin; Composite, Sponge, PVA, Silk Decoding Systems

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: muratkazanci.tr@gmail.com

DOI: 10.7216/1300759920192611502, www.tekstilvemuhendis.org.tr

1. GİRİŞ

İpek; ipek böceği ve örümcekler tarafından özel epitel hücreleri içinde sentezlenen lif yapılı bir proteindir. Yaygın olarak *Bombyx mori* (*B. mori*) ipek böceği, *Nephila calavipes* ve *Araneus diadematus* gibi bazı örümcek türlerinden elde edilir. Eldesi en kolay ve en iyi karakterize edilmiş ipek, evcil bir ipek böceği olan *B. mori* tarafından üretilmektedir. *B. mori* tarafından sentezlenmiş olan ipek iki tip proteinden oluşmaktadır, serisin ve fibroin. Fibroin ipeğin temelini teşkil eden proteindir ve saf ipeğin %70'ini oluşturmaktadır. İpek fibroin ağır zincirinin yaklaşık %90'ı alanin, glisin ve serin amino asitlerinden oluşur [1-3]. Bu proteinler hidrofilik polimer ailesinden olan serisin ile (20 kDa) kaplanmıştır [4]. Protein molekülleri arası hidrojen bağları ikincil yapı olarak bilinen konformasyonları oluşturur. İkincil yapıyı oluşturan hidrofilik, amorf bölgeler ve büyük hidrofobik bloklar amfifilik özelliklere sahiptir. Alanin açısından zengin bu bölgeler, biyopolimere mekanik dayanıklılık sağlar [5]. Fibroinin ikincil yapısında bulunan β -tabakaları dayanıklılık ve rijitlik özelliğine sahiptir [6 -8]. İpek fibroini, üstün malzeme özelliklerinin yanında kolaylıkla işlenebilirliği ile birçok alanda kullanılabilen bir malzemedir [9, 10].

İpek böceğinden elde edilen ipek hammaddesi, 4000 yılı aşkın bir süredir, geleneksel tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır. Özellikle verdiği yumuşaklık hissi ve mekanik özellikleri insanların çok eski çağlardan beri ilgisini çekmesine sebep olmuştur [9, 11]. İpek fibroin hammaddesinin biyomalzeme olarak kullanımı, ilk kez ameliyat ipliği olarak kullanılması ile yüzyıllar öncesinden başlamaktadır [1, 12]. Mükemmel performansı sayesinde, ipek fibroinden elde edilen malzemelerin çok farklı uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanıldığını görmekteyiz. Bunların başında ilaç taşıma sistemleri [13], yapay damarlar [14], yara örtüleri [15], ve kemik doku iskeleleri

[16] sayılabilir. İpek fibroin bir biyomalzemedden istenen pek çok özelliği içermektedir; bunların başında biyoyumlu olmasını, biyobozunur olmasını, yüksek derecede dayanıklı olmasını, tok olmasını ve kolaylıkla işlenebilir olmasını saymak mümkündür [17]. Bir biyomalzemenin mikro ve nanoyapısı sadece hücrenin yüzeydeki şeklini ve yapı içerisine migrasyonunu değil, aynı zamanda kök hücrenin farklılaşmasını da etkilemektedir [18-21]. Silk fibroin biyomalzeme olarak 1993 yılında FDA (US Food and Drug Administration) tarafından tanınmıştır [22].

İpek fibroin malzemeleri film, jel, gözenekli iskele ve elektrostatik özellikli ipek lifleri haline dönüştürülebilir. Bunun için öncelikle uygun çözücüler bulmak gerekmektedir. Literatüre bakıldığında ise ipek fibroin işlenmesinde farklı çözücü sistemlerin kullanıldığı görülmektedir [1, 9, 23, 24]. Yapılan birçok çalışmada özellikle kozadan serisinin uzaklaştırılması ile elde edilen ipek fibroini çözmek için kullanılan çözücülerin önemi vurgulanmıştır. Her ne kadar İpek-PVA karışımı kullanılarak üretilen malzemeler hakkında pek çok yayın olsa da, bunların hiçbiri fibroinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan çözücülerin, elde edilen malzemelerin yapısına etkisi konusunda detaylı bir bilgi vermemektedir. Bu çalışmada amaç ipek fibroinin rejenerasyonunda kullanılan çözücü sistemlerin, elde edilen ürünün yapısını ve PVA ile etkileşimine olan etkisini göstermektir. Buna uygun olarak iki farklı çözücü sistem kullanılmış, elde edilen fibroin ve fibroin-PVA yapıları farklı karakterizasyon metotları kullanılarak analizleri ve karşılaştırılmaları yapılmıştır.

2. MALZEME VE METOT

Deneyisel çalışmada kullanılan ipek kozaları Bursa Koza Birlik'ten, etanol, PVA (72000 g/mol) ve formik asit Merck