

Biyomateryal Amaçlı Kollagen ve Polimer Filmlerin Elde Edilmesi Üzerine Bir Araştırma

A Study on Preparation of Collagen and Polymer Films for Biomaterials

Deniz Gürler ¹, Özcan Sarı ²

ÖZET

Bu araştırmada fibriler proteinlerden olan kollagenin sentetik polimer ile farklı oranlarda karışımları hazırlanmış, bu karışımlar film formunda şekillendirilmiş, fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenerek geliştirilen materyalin genel karakterizasyonu ortaya konmaya çalışılmıştır.

Materyallerin elde edilmesi amacıyla, deriden enzimatik yöntemlerle elde edilmiş, ISO 11014-1 standardına sahip, toz formda ticari kollagen hidrolizat ile termoplastik poliüretan esaslı ticari polimer ürün kullanılmıştır. Filmin oluşturulması sırasında farklı oranlarda malzeme kullanılarak gerçekleştirilen bir dizi ön deneme sonucunda en uygun yüzeyi oluşturacak karışım oranları tespit edilmiştir. 0,5 g kollagen/1,0 g polimer ve 1,0 g kollagen/1,0 g polimer oranları ile hazırlanan filmlerin beklenen özelliklere sahip olduğu görülmüş ve bu oranların esas alınmasıyla elde edilen materyallerin özellikleri incelenmiştir.

Anahtar sözcükler: Kollagen, kollagen-polimer yüzeyler, biyomateryal

SUMMARY

In this research the mixture of synthetic polymers and collagen, which is one of the fibrillary proteins of the hide, in various proportions were prepared. The mixtures were formed in film shape and physical, chemical characteristics and the general properties of the developed material were determined.

In order to obtain the material, enzymatically produced commercial collagen hydrolysate, which has the standard of ISO 11014-1, in powder form and thermoplastic polyurethane based commercial polymer material were used.

As a result of some pilot experiment in which different proportions of material had been used the optimal rate of mixture which form the best surface was determined. In proportion as 0,5 g collagen/1,0 g polymer and 1,0 g collagen/1,0 g polymer was found to have the required characteristics and the materials which were prepared in these proportions named as A type and B type.

Keywords: collagen, collagen-polymer surfaces, biomaterial.

¹ Uşak Üniversitesi, Deri Uygulama ve Araştırma Merkezi, 64200 Uşak
E-mail: deniz.celik@usak.edu.tr

² Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Deri Mühendisliği Bölümü, 35100 İzmir

Giriş

Kollagen, deri sanayinin temel girdisi olan büyük ve küçükbaş derilerin histolojik ve organik yapısında yer alan önemli bir protein grubudur. Aynı zamanda vücutta bağ dokunun ana bileşeni olan kollagen, toplam vücut proteinlerinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmakta ve organlara göre dağılımda deride %74 ile en yüksek orana sahip bulunmaktadır. Deri yapısında yer alan proteinler arasında ise kollagen oranı % 98'i bulmaktadır.

Geçmiş çok eskilere dayanan deri sanayinde, temel girdi olarak kabul edilen ham deri, hem kollagen ihtiva eden hem de çeşitli kimyasal maddeler ile modifiye edilerek mamül hale dönüştürülebilien endüstriyel bir ürün olması nedeniyle daima dikkat çekmiştir. Nitekim insanlığın ilgi odağı haline gelen ham deriden zamanla farklı mamüller elde etme fikri ortaya atılması ile gerek mamül deri özelliklerinin iyileştirilmesi ve gerekse tıp ve eczacılık alanlarında değişik kullanım alanı yaratılacak kollagenik ürünlerin geliştirilmesi amacıyla modifikasyon çalışmalarına başlandığı bilinmektedir¹.

Günümüzde de farklı bilimsel disiplinlerden olan araştırma sahalarının ortak noktası, kollagen hidrolizatlarından faydalanma olanaklarının artırılmasına yönelik, çeşitli kullanım amaçlarına hizmet edebilen kollagen içerikli yeni ürün ve malzemelerin geliştirilmesidir. Bu amaçla uygulanabilecek modifikasyonlarda söz konusu kimyasal reaksiyonlar, kollagenin strüktürel yapısında yer alan aminoasitler ve bunlara ait reaktif gruplarca sağlanmaktadır.

Reich, protein modifikasyonu ile moleküler düzeyde fiziksel ve kimyasal özelliklerin kalıcı olarak değiştirilebildiği, kollagen ile reaksiyon veren belirteçlere göre söz konusu

olabilecek modifikasyon mekanizmalarını Çizelge-1'de verildiği gibi özetlemiştir^{1,2}.

Yapılan açıklamalardan anlaşılacağı gibi; kollagen farklı özellikteki kimyasal maddeler ile reaksiyona sokularak modifiye edilebilmektedir. Bu durum kollagen içerikli yeni bileşenlerin ve farklı kullanım amaçlarına yönelik yeni ürünlerin araştırılmasını ve geliştirilmesini gündeme getirmiştir. Bu düşünceden yola çıkılarak planlanan araştırmada, kollagenin sentetik polimer ile reaksiyon olanaklarının incelenmesi, bu şekilde elde edilecek materyallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve bu özellikler doğrultusunda da farklı kullanım alanlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırmada materyal olarak, kollagen hidrolizati ve termoplastik poliüretan esaslı polimer ürün, solvent olarak N,N-dimetilformamid kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Kollagen-polimer materyallerin hammaddelerinin görünümü

Reaksiyon Tipleri			
Fonksiyonel Grup	Bloklama Reaksiyon (İndirgeme)	Dönüşüm Reaksiyonları	Çapraz Bağ Reaksiyonları
-Σ- amino, - NH ₂	N-açılasyon, → Akillleme (DNFB) →	-OH Van-Slyke - NH - C $\begin{matrix} \text{NH} \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$ Guanidilleme	Diflordanitrodifenissülfon Dinifrodifenilsülfon Özellikle dikarbon asitlerinin nitrofeni esterleri
		-COOH süksilasyon	
Guanidil - NH - C $\begin{matrix} \text{NH} \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$	Sakagushi reaksiyonu →	Ornithin Hidrazinoliz	α - Naftol
Hidroksil, - OH	O - Açılasyon Esterleşme (H ₂ SO ₄)	—	—

Çizelge 1. Kollagenin fonksiyonel gruplarına ilişkin modifikasyonların türü ve bloke edilen reaktif gruplar

Kimyasal ismi/CTFA ismi	Hidrolize kollagen
Molekül Ağırlığı	Yakl. 5000 Dalton
Ham Madde Bazı	Hayvansal (deri) bazı
Uygulama Alanları	Hidrolize kollagen grubunda olan Nutrilan I Powder'in cilt ve mukoza uyumu çok iyidir. Cildin üzerinde film tabakası oluşturarak, anyon aktiflerin tahrişlerini önler. Soğuk suda kolayca çözünme özelliği vardır.
Görünüm Özellikleri	Beyaz-sarı renkli toz
Kalite kontrol verileri	
PH Değeri	4.0-5,0
Kuru Madde	min.% 92
Kül tayini	max.%5
Renk	max.12
Analiz metodları	
Kuru madde	DFGH III)
Kül tayini	LMBG 35 L 17.00-3
Ph değeri	DGF H-III 1 mod.
Renk	DGF C-IV 4c.mod
Saklama Koşulları	Kapalı orijinal ambalajlarda kuru ve nemsiz ortamda 35 C° nin altında min.18 ay. Konzervan ihtiva etmez.

Çizelge 2. "Nutrilon Powder I" kollagen hidrolizatına ait özellikler

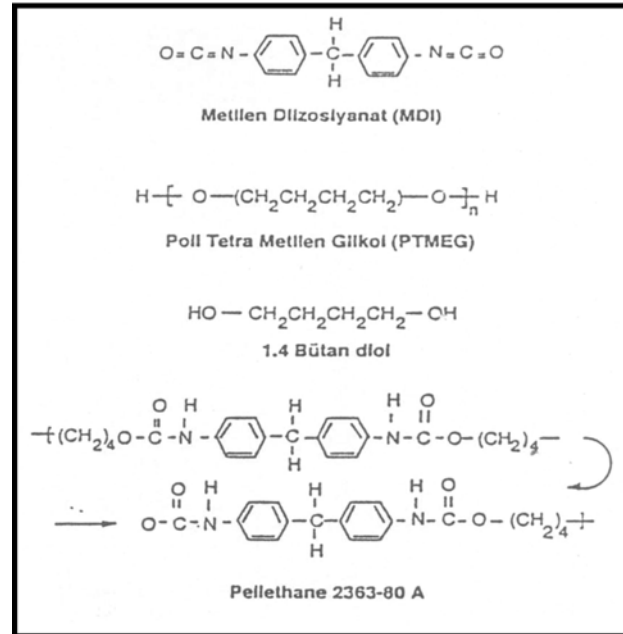
Kollagen olarak, Cognis Firmasına ait, cilt ve mukoza uyumlu, deri kaynak dokusundan elde edilmiş, ISO 11014-1 standardına sahip, toz formda Nutrilon Powder I isimli protein hidrolizat kullanılmıştır. Ürünün genel özelliklerini içeren bilgiler *Çizelge 2* de verilmiştir.

Sentetik polimer olarak, Dow firmasınınca biyomedikal saflıkta üretilen Pellethane 2363-80 A isimli, termoplastik poliüretan esaslı ürün kullanılmıştır. Polimerin üretiminde kullanıldığı belirtilen bileşenler ve polimerin olası yapısı *Şekil 2*'de verilmektedir ^{3, 4}. Ürünün özelliklerini içeren bilgiler *Çizelge 6*'da verilmektedir.

Denemelerde solvent olarak, teknik özellikleri *Çizelge 4*'de verilen N,N-dimetilformamid kullanılmıştır.

Yöntem

Araştırmada kullanılan kollagen hidrolizat ve polimer malzemenin, film oluşturabilecek uygun bir karışım hamuru haline getirilebilmesi amacıyla, en ideal madde miktarlarının belirlenebilmesi için bir dizi ön deneme gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde, *Çizelge 5*'de verilen oranlarda karışımlar hazırlanmış, kollagen ve polimerin uygun film oluşum özellikleri incelenmiştir.



Şekil 2: Pellethane 2363-80 A Bileşenleri ve Olası Kimyasal Yapısı

Yukarıdaki oranlar esas alınarak *Çizelge 6*'da verilen akış şemasına göre denemeler gerçekleştirilmiş, kollagen

Özellikler	Test metodları	Değerler
Fiziksel		
Spesifik ağırlık	ASTM D 792	1,12
Akışkanlık,%		0,5-0,6
Mekanik		
Durometre sertliği, ShoreA (+,-4)	ASTM D 2240	85 A
Kopma-E modülü, Mpa		4,8
% 50 Uzama, Mpa	ASTM D 412	6,1
%100 Uzama, Mpa		10,3
%300 Uzama, MPa		28,9
Kopma mukavemeti, MPa	ASTM D 412	650
Yırtılma mukavemeti,%	ASTM D 412	
Termik özellikleri		
Erime sıcaklığı, °C	ASTM D 1525	81,7
Teknik bilgiler		
Tavsiye edilen kurutma sıcaklığı, °C		80-95
Tavsiye edilen erime sıcaklığı, °C (püskürtme met.)		190-205
Tavsiye edilen Erime sıcaklığı, °C (Extüsiyon)		190-205

Çizelge 3. Pellethane 2363-80 A polimerine ait teknik bilgiler

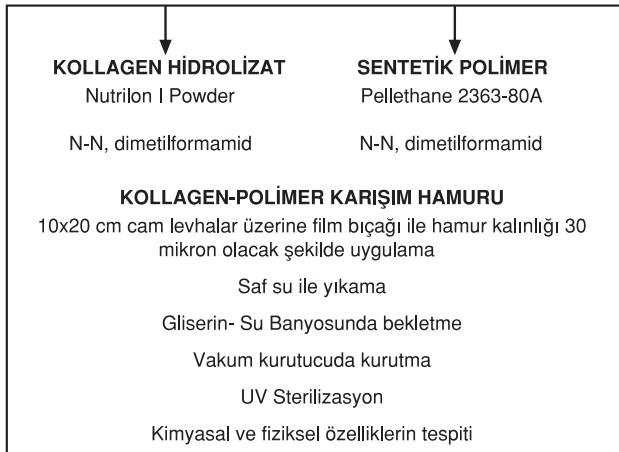
Özellikleri	
% DMF	99.9 min.
Su miktarı	150 max.
Baziklik, dimetilamin olarak,ppm	10 max.
Asetik, formik asit olarak,ppm	10 max.
Metanol, ppm	50 max.
Renk(APHA)	5 max.
İletkenlik (%20'lik sulu çözelti, 20 °C)	Max. 1 µs./cm
PH (%20 lik çözelti, 25 °C)	6,8-7,2
Fiziksel özellikler	
Görünüş	Renksiz sıvı
Molekül ağırlığı	73.09
Kaynama noktası 760 mm Hg, °C)	153
Donma Noktası, °C	-61
Buhar basıncı, 25 °C mm Hg	3.7
Yoğunluk, 20 °C,g/ml	0.949
Buharlaşma ısı,150 °C	138 cal/g
Alevlenmesıcaklığı (açık kaplarda), °C	67
Tutuşma noktası, °C	445
Kritik sıcaklık, °C	370
Kritik basınç, atm	43.5
Çözünürlük	Su, eter, alkoller, esterler, ketonlar, klorlu ve aromatik hidrokarbonlarda tamamen erirler, alifatik hidrokarbonlarda sınırlı çözünürlüğü vardır.
Hidroliz	Asidik veya bazik katalitik etki yoksa oldukça stabildir.
Kullanım alanları	Polimer ve reçine çözücüsü olarak

Çizelge 4. N,N-Dimetilformamidin teknik özellikleri

Ön Deneme	Kollagen miktarı	Polimer Miktarı
1	0,5 g*	1,0 g*
2	0,5 g	2,0 g
3	1,0 g*	1,0 g*
4	2,0 g	0,5 g
5	2,0 g	1,0 g
6	2,0 g	2,5 g

Çizelge 5. Ön denemelerde kullanılan kollagen/polimer madde miktarları

ve polimerin film oluşturma özellikleri incelenmiştir. Elde edilen ön deneme sonuçları doğrultusunda en iyi film verebilen karışım oranları 1. ve 3. ön denemelere ait olduğu saptanmıştır. 0,5 g kollagen /1,0 g polimer oranına göre elde edilen materyaller A Tipi ve 1,0 g kollagen/1,0 g polimer oranına göre elde edilen materyaller ise B Tipi Materyal olarak adlandırılmıştır.

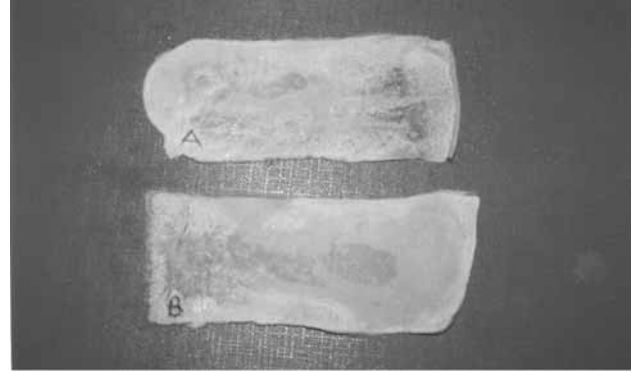


Çizelge 6. Kollagenin sentetik polimer ile reaksiyon aşamaları

Burada öncelikle boncuk yapısındaki polimer malzemenin uygun çözücü içerisinde çözünür hale gelmesi gerekmektedir. Solvent olarak polimer ve reçine çözücüsü olarak yaygın kullanılan, Pellethane 2363-80A isimli polimer için önerilen 5, N-N, dimetilformamid tercih edilmiştir. Polimer maddenin çözülebilmesi amacıyla kullanılan solvent oranlarında önemlidir bu amaçla daha önceki çalışmalarda önerilen 0,08g/ml polimer/solvent oranı kullanılmış ve yine aynı solvent ile muamele edilen kollagen hidrolizat, polimer çözelti içine ilave edilmiş ve böylece film çekme cihazı ile istenilen kalınlıkta yüzey oluşturabilecek kollagenik karışım hamuru elde edilmiştir⁴.

Bu karışım polimer malzemelerin film oluşumunu sağlayan, *şekil 3*'de görülen çelik bıçak ile cam yüzeye

uygulanmış, saf su ile yıkama yapılarak materyalin katı formda çökmesi sağlanmış, elde edilen filmler gliserinli su banyosunda bekletilmiş ve daha sonra vakum kurutucuda bir gece bırakılarak nemi uzaklaştırılmış ve UV odasında sterilizasyonu sağlanmıştır. Böylece düzgün bir yüzey veren materyal elde edilmiştir (*Şekil 3*).



Materyallerin görünüm ve tutumları subjektif olarak incelenmiş ve A tipi materyalin daha ince bir film yapısına ve daha iyi bir poroziteye sahip olduğu, B tipi materyalin ise daha kalın film yapısına ve daha az poroziteye sahip olduğu görülmüştür.

Elde edilen materyallerin pH, kalınlık, su buharı geçirgenliği, kopma mukavemeti ve renk özelliklerini belirlemek üzere ilgili test ve analizler uygulanmış ve Taramalı Elektron Mikroskobu ile materyallerin x35-150-1000,-2000 ve 3500 büyütme ile yüzey görüntüleri fotoğraflanmıştır.

Fiziksel Test ve Kimyasal Analizler

Kimyasal Analizler

pH Tayini

Materyallerin pH tayini için TS 4122 (1984)'de belirtilen yöntem kullanılmıştır.

Fiziksel Testler

Kalınlık Tayini

Deney numunelerinin kalınlıkları 5 ayrı noktadan kumpas yardımıyla ölçülmüştür (T.S. 4117).

Kopma Dayanımı ve Uzama Tayini

Deney numuneleri TS 4119 (1984)'de belirtilen ölçülerde bir pres bıçak kullanılmak suretiyle kesilerek hazırlanmıştır. Test örneği Zwick 1141 dayanım ölçme aletinin 50 mm'ye

ayarlanmış çeneleri arasına çeneler AB ve CD çizgilerine gelecek şekilde sıkıştırılmıştır. Aletin çenelerinin ayrılma hızı 100 mm/dakika olarak ayarlanmıştır. Alet çalıştırılmış ve kopma işlemi, membran örneği tamamen kopuncaya kadar sürdürülmüştür. Okunan bu değerlerden kopma mukavemeti ve uzama miktarı TS 4114 (1984)'e göre hesaplanmıştır. Kopma anında okunan kuvvet, örnek kesit alanına bölünmüş ve sonuçta da N/cm² cinsinden verilmiştir. Uzama miktarı ise, kopma öncesi örneğin uzunluğuna oranlanarak % cinsinden hesaplanmıştır.

Renk Tayini

Bu amaçla CIE L, a, b renk modelinden yararlanılmıştır. Renk modeli, renkleri tanımlamak için kullanılan modeldir. CIE modeli, "Commission Internationale de l'Eclairage" tarafından üretilmiştir. İnsan gözünün RGB modeline verdiği tepkiye dayanan ve insanın renk algılayışını düzgün bir biçimde gösterebilmek amacıyla tasarlanmıştır. L* a* b* , üç boyutlu bir modeldir ve burada algılanan renk farklılıkları renk değeri olarak ölçülmüş uzaklıklara denk gelmektedir (Şekil 5). "a" eksen, yeşilden (-a) kırmızıya (+a), "b" eksen maviden (-b) sarıya (+b) doğru gitmektedir. Aydınlik "L", aşağıdan yukarı gidildikçe azalmakta ve renkler rakamsal değerlerle ifade edilmektedir ⁶.

Deney numunelerinin renk analizi, CIE L*a*b* renk modeline göre, Minolta 508 d Spektrofotometre cihazında gerçekleştirilmiştir.

Su Buharı Geçirgenliği Tayini

Materyallerin su buharı geçirgenliği tayini, mamül derilerde su buharı geçirgenliğinin ölçülmesine yönelik TS 4135 (1985) standardı kapsamında yer alan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir.

Büzülme Testi

Materyallerin ısıya karşı davranışlarının incelenmesi amacıyla T.S.E 4120'de belirtilen mamul derilerde büzülme sıcaklığı tayini gerçekleştirilmiştir. Burada deney parçasının su içinde ısıtılması sırasında ani büzülmenin olduğu sıcaklığın ölçülmesi esastır.

Materyalin Yanmaya Karşı Davranışı

Materyallerin tutuşabilirlik özelliklerinin incelenmesi amacıyla ısıya karşı davranışları subjektif olarak incelenmiştir. Bu amaçla materyaller doğrudan bir alev kaynağı ile muamele edilmiştir. Her iki materyalinde alevle karşı kolayca tutuşabilir bir özellik taşıdığı ve yapılarında yer alan polimer katkısından dolayı boncuk formunda yandığı ve karakteristik bir koku

yaymadığı, herhangi bir is oluşumu olmadığı gözlenmiştir.

Mikroskopik İncelemeler (SEM)

Kollagen ve polimer bazlı materyallerin gözenek yapısının belirlenebilmesi amacıyla, JSM 5200 Scanning Microscope (SEM) kullanılmıştır. Bu amaçla materyal yüzeylerinden alınan örnekler, prinç taşıyıcılar üzerine çift taraflı adesiv bant ile sabitlenmiş ve 1 gün fosfor-pentaoksit içeren desikatörde bekletildikten sonra, yaklaşık 200 angstrom kalınlığında altın film tabakasıyla kaplanmış ve yüzeyleri iletken hale getirilmiştir. Daha sonra materyallerin yüzey görüntüleri x35-150-1000-2000-3500 büyütme ile fotoğraflanmıştır.

Araştırma Bulguları

Fiziksel Test ve Kimyasal Analizler İle İlgili Bulgular ve Tartışma

pH Tayini

Araştırmada en uygun kollagen/polimer oranı esas alınarak iki tip membran elde edilmiştir. Elde edilen örneklerden A grubuna ait membranların pH değerleri 6,38, B grubuna ait membranların pH değerleri 6,32 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan önceki çalışmalarda benzer materyallerin pH değerlerine ait veriler bulunmamaktadır. Ancak pH değerinin kollagenik biyomateriyalin kullanım özelliğine göre belirli sınırlar arasında yer alması gerekmektedir ki; bu vücut içi veya vücut dışı kullanımlar açısından değerlendirilmektedir.

Kalınlık Tayini

Kollagen-polimer karışımlarının film formunda cam yüzeylere uygulanması sonrasında film kalınlıkları tespit edilmiştir. Elde edilen filmlerin kalınlık değerleri A tipi materyallerde 0,22 ve B tipi materyallerde 0,23 mm olarak ölçülmüştür.

Koyun bağırsağından elde ettiği kollagen matrislerin elde edildiği bir araştırmada kalınlık değerini dijital kumpasla ölçerek belirlenmiş ve normal matrislerde 2,0 mm çapraz bağlanmış modifiye matrislerde 1,5 mm ticari numunelerde ise 3,0 mm olarak kalınlık değerlerini bildirilmiştir ⁷.

Kollagen filmlerin başlıca uygulama alanlarının bariyer membran kullanımları olduğu ve yeniden yapılandırılan telopeptidsiz kollagen gibi biyolojik olarak parçalanabilen materyalden yapılan 0,01-0,5 mm kalınlığındaki filmlerin birleşim halindeki ilaçlarda yavaş salınım profili sergilediği

ifade edilen bir çalışmada ise kollagen-elastin kombinasyonundan elde edilen 6x10 mm büyüklüğündeki filmlerin 1.0 mm kalınlığında olduğu bildirilmiştir ⁸.

Araştırma materyallerine ait kalınlık değerleri, literatürlerdeki benzer kollagenik filmler için bildirilen kalınlık değerleri ile uyum göstermektedir. Kollagen esaslı biyomateryallerin kullanım alanı kalınlık ve diğer fiziksel özellikler açısından farklılık gösterebilmektedir. Ancak yapay deri ya da bariyer membran olarak kullanılması amaçlanan materyallerin ince yapılı olmasının daha olumlu sonuçlar vereceği ve deri dokusu ile uyum göstereceği düşünülebilir.

Kopma Dayanımı ve Uzama Tayini

Kollagen-Polimer Membranların kopma dayanımlarının, A tipi materyalde 8,693 daN/cm²; B tipi materyalde ise 6,083 daN/cm² değerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Materyallere ait % uzama değerlerinin tespitinde ise en yüksek sonucun % 463 ile A tipi kompozit yüzeye; en düşük sonucun ise % 426 ile B tipi yüzeye ait olduğu görülmüştür.

Buna göre A tipi materyallerin, kopma dayanımı ve % uzama değerlerinin B tipi materyallere oranla daha yüksek olduğu görülmüş ve A materyalinin B materyaline kıyasla daha dayanımlı ve daha elastik yapıda olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen membranlarda % uzamaların yüksek değerlere ulaşması, materyalin esnek yapısına bağlıdır. Esneklik ve yeterli mukavemet özellikleri bu materyalin farklı amaçlarla kullanılabilirliği açısından değerlendirilebilir.

Aynı poliüretan esaslı polimer kullanılarak, poliüretan membranların elde edilmesine yönelik bir çalışmada, materyallerin mekanik özelliklerini, standart çekme uzama değerleri ve buna göre farklı çözgenlerde hazırlanan poliüretan membranların kopma gerilimi ve % uzama değerleri Çizelge 7'de görüldüğü gibi bildirilmiştir ⁴.

"Kollagen Bazlı Biyomateryaller"adlı bir çalışmada ise glutaraldehitte çapraz bağlanmış ve bağlanmamış formda kollagenik matrisler elde edilmiş ve özelliklerini incelenmiştir. Normal matrislerde kopma dayanımını 0,10 kg, çapraz bağlı olanlarda 0,10 kg, ticari numunelerde 0,30 kg olarak ; % uzama değerlerini ise sırasıyla % 60, %60, % 80 olarak bildirilmiştir ⁷.

Kollagen ve elastinin çeşitli kombinasyonlarından elde edilen kollagen filmlerin ilaç aktarım sistemleri için uygunluğu açısından değerlendirildiği bir başka çalışmada, gerilme dayanım, mekanik dayanım ve elastiki aktivitenin, dayanma

Çözgen Maddeler	Kopma mukavemeti	Kopma anında uzama
Saf tetrahidrofuran	315 kgf/cm ²	% 467
Saf dioksan	408 kgf/cm ²	% 567
Karışım	375 kgf/cm ²	% 567

Çizelge 7. Poliüretan membranların fiziksel özellikleri

gücünün sistemlerin biyoyumluluğunu değerlendirmek için kullanıldığı belirtilmiştir. Hazırlanan kollagen ve elastin kombinasyonları içeren filmlerin gerilme dayanımları Çizelge 8'de verildiği gibi bildirilmiştir ⁸.

Film kompozisyonu (Kollagen: Elastin)	Gerilme dayanımı (MPa±S.D)
90:10	2,9±2,0
50:50	3,0±0,3
20:80	3,1±0.4

Çizelge 8. Kollagen ve elastinli çeşitli kombinasyonları içeren filmlerin gerilme dayanımları

Kollagen ve polivinilalkol esaslı kompozit karışımların hazırlandığı ve modifiye edilerek film formunda yapılar elde edilmesinde kullanıldığı bir çalışmada bu filmlerin fiziksel özellikleri tespit edilmiştir. Buna göre, kopma mukavemeti ve uzama değerlerini modifiye edilmemiş filmlerde 6,25 MPa, % 100 uzama; modifiye filmlerde ise 10,20 MPa ve % 45 uzama; ıslatılmış modifiye filmlerde ise 18 MPa ve % 38 uzama olarak tespit edildiği bildirilmiştir ⁹. Araştırmada elde edilen kopma mukavemeti ve uzama değerleri incelendiğinde, sonuçların diğer araştırmacıların bildirdikleri sonuçlarla paralellik gösterdiği, % uzama değerlerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Renk Tayini

Endüstride akla gelebilecek her türlü ürünün üretiminde, elde edilen son ürünün kalitesini ve bu ürünlerin sınıflandırılmasını belirleyen en önemli parametrenin renk olduğunu, renge göre ürün fiyatının belirlendiğini bildirmiştir¹⁰.

Araştırmada elde edilen materyallerin renk özelliklerinin saptanabilmesi amacıyla spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Buna göre, L parlaklık, a kırmızı-yeşil renk koordinatı ve b sarı-mavi renk koordinatı değerleri tespit edilmiştir (Çizelge 9).

Çizelgeden görüldüğü gibi A materyaline ait a ve b koordinatları -0,84 ile 7,36 arasında; B materyaline ait a ve b

Materyal	L	a	b
A	91,68	-0,84	7,36
B	93,55	-0,78	5,56

Çizelge 9. A ve B Materyallerine ait L, a, b Değerleri

koordinatları ise -0,78 ile 5,56 arasında değişmektedir. L değerleri ise A materyalinde 91,68, B materyalinde de 93,55 olarak saptanmıştır.

Renk tayini sonuçlarına göre; her iki tipteki materyalin beyaz renk tonuna sahip olduğu görülmüş ve kollagen miktarındaki farkların, renk üzerinde etkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu tür materyallerin renk özellikleri kullanılabilirlikleri üzerinde önemli bir kriter olmayıp, kollagen içeriğinin renk üzerindeki rolünün incelenmesi amacıyla ilgili değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Kullanım alanı belirlendikten sonra taleplere göre materyale farklı renk tonlarının kazandırılması mümkün olabilir.

Su Buharı Geçirgenliği Tayini

Yapılan çalışma ile elde edilen membranların su buharı geçirgenlikleri tayin edilmiştir. Buna göre, A tipi materyaller için 3153,020 mg/1000 mm². 24 h, B tipi materyaller için ise 3012,68 mg/1000 mm². 24h değerleri tespit edilmiştir.

Su buharlaşma hızı normal insan derisinde yaklaşık 240 g/m² gün olarak ölçülmüştür. Yara ve yanık oluşması durumunda ise, yara ve yanığın türüne bağlı olarak bu bölgede, su buharlaşma hızı normal değer 20 katına kadar çıkabilmektedir. Bir litre suyu buharlaştırmak için 2.43 milijul/luk enerji gerektiği düşünülürse, aşırı miktardaki su kaybı, normalin üzerinde ısı kaybı demektir ⁴.

membranların su buharı geçirgenlikleri açısından değerlendirildiği bir çalışmada saf tetrahidrofuran içerisinde hazırlanan membranlarda 780±46 g su/m² gün, saf dioksan ile elde edilen membranlarda 920±28 g su/m² gün, %45 tetrahidrofuran-%45 dioksan-%10 dimetilformamid karışımında hazırlanan poliüretan membranlarda ise 1150± g su/m² gün olarak tespit edilmiştir ⁴.

Araştırmada elde edilen sonuçlardan görüldüğü gibi kollagen-polimer bazlı materyaller için su buharı geçirgenliği değerleri, A grubu membranlarda daha iyi düzeydedir. Bu gözenek yapısının daha iyi olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak her iki materyalde su buharı geçirgenliği açısından literatür değerleri ile uyum göstermekte ve bu özellik itibarıyla deri defektlerinde biyomateryal olarak kullanılmaya aday olabileceği anlaşılmaktadır.

Mikroskobik İnceleme Sonuçları (SEM)

A ve B tipi materyallerin yüzey yapısının Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) fotoğrafları alınmıştır. Materyallerin gözenek boyutlarının hesaplanabilmesi için bu fotoğraflar üzerinde verilen ölçekler dikkate alınarak oranlama yapılmış ve her büyümeye ait minimum, maximum ve ortalama gözenek çapları Çizelge 10'da verildiği gibi tespit edilmiştir. Materyallere ait yüzey görüntüleri ise Şekil 4'de (a,b,c) verilmektedir.

Burada görüldüğü gibi; SEM gözlemleri, farklı madde oranları ile hazırlanan A ve B tipi örneklerde, farklı gözenek büyüklüğü ve yoğunluğu bulunduğunu ortaya koymuştur. A materyali daha gözenekli ve girintili, çıkıntılı bir yüzey yapısına sahiptir. Bu özellik deri defektlerinde, dokunun onarımı sırasında, hücrelerin bariyer görevi görece biyomateryale daha iyi ataçlanmasına ve iyileşme hızının

Büyütme Oranları	A Tipi Materyal			B Tipi Materyal		
	Min.	Max.	Ort.	Min.	Max.	Ort.
x 35	66,6µm	166,5µm	116,5µm	33,3µm	133,2µm	83,2µm
x 150	1,25µm	137,5µm	75,0µm	12,5µm	175,0µm	93,75µm
x 1000	1,11µm	8,88µm	5,0µm	1,14µm	6066µm	3,9µm
x 2000	1,25µm	8,75µm	5,0µm	2,50µm	10,0µm	6,25µm
x 3500	0,93µm	6,80µm	3,87µm	0,31µm	0,93µm	0,62µm

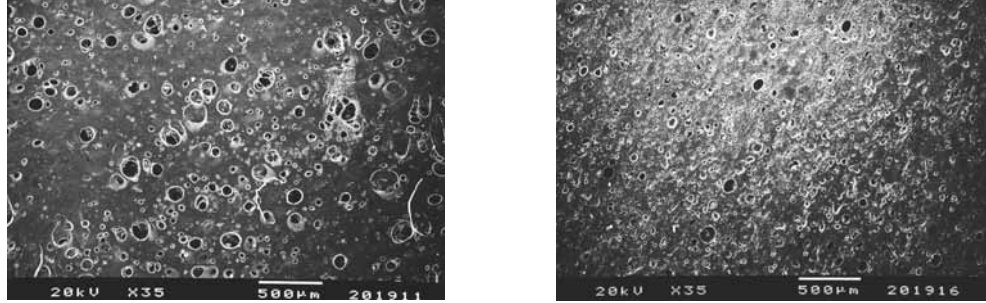
Çizelge 10. A ve B Tipi Materyallere ait gözenek boyutları

Yara ve yanık bölgelerde aşırı miktarda su kaybedilmesinin, vücut metabolizmasına istenmeyen etkileri olabilir. İdeal bir yara ve yanık örtü materyalinin su buharı geçirgenliğinin 1000-2000 gr su/ m² gün aralığında olması istenmektedir ¹¹. Farklı solvent karışımlarında hazırlanan poliüretan

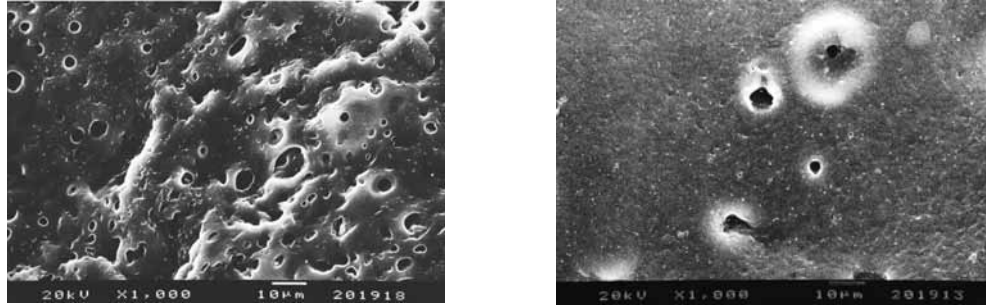
artmasına olanak sağlamaktadır. B Materyalinin ise alınan SEM görüntülerinde, daha az gözenek yapısına ve daha düz bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir.

“Deri Dokusu İçin Geliştirilmiş Biyostabiliteli Poröz Kolla-

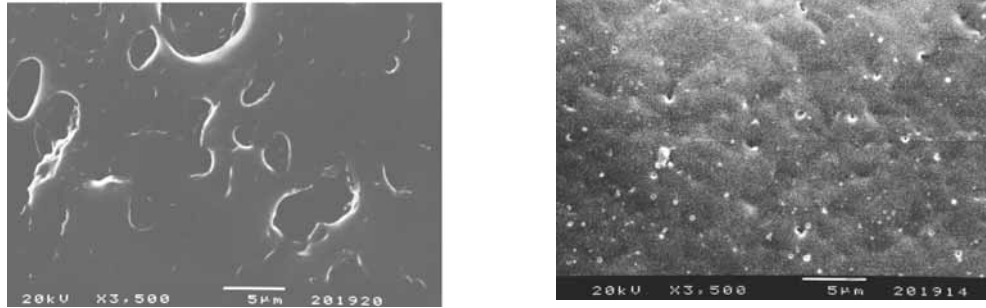
Şekil 4 a) Sırasıyla A ve B materyallerine ait x35 büyütme ile alınan SEM görüntüleri



b) Sırasıyla A ve B materyallerine ait x 1000 büyütme ile alınan SEM görüntüleri



c) Sırasıyla A ve B materyallerine ait x3500 büyütme ile alınan SEM görüntüleri



gen /Chitosan Yapı İskeleleri” adlı çalışmada; gözenek genişliği, dağılımı, porozite ve gözenek şekli gibi mikrostrüktür özelliklerinin doku mühendisliğinde hücrenin nüfuz etmesinde, çoğalmasında ve fonksiyonunda önemli etkisi olduğunu ve deri dokusunun onarımında kullanılan ideal yapı iskelelerinde mükemmel biyouyumluluk, % 90'nın üzerinde porozite, kontrol edilebilir biyoparçalanabilirlik ve uygun mekanik özelliklerin gerekliliğine değinilmiştir¹². Bu özellik açısından, A materyalinin deri defektlerinde kullanılabilirliğinin B materyallerine kıyasla daha iyi olacağı düşüncesine varılmaktadır.

Sonuç

Bu çalışmada öncelikle kollagen hidrolizat ile poliüretan esaslı polimer malzemenin reaksiyon olanağı araştırılmış

ve elde edilen karışımın, çelik film bıçağı ile cam yüzeylere uygulanması ile kompozit bir materyal elde edilmiştir. En uygun karışım hamuru veren madde miktarları yapılan bir dizi ön deneylerle tespit edilerek, A ve B tipi olmak üzere iki tip materyal elde edilmesi sağlanmıştır. Söz konusu materyallerin biyouyumluluk özellikleri bazı fiziksel ve kimyasal test yöntemleri ile ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu materyallerin, sentetik yara örtü materyallerine benzer yapı özelliği göstermesinden, kullanılan polimerin medikal saflıkta olduğu bilindiği ve eksojen kollagenin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri daha önceki çalışmalarda rapor edildiğinden dolayı kollagen içerikli bu yüzeyin, deri defektlerinde koruyucu bir bariyer oluşturarak yapay deri formunda kullanıma olasılığının bulunabileceği düşünülmüştür. Bunun için deney hayvanları ile in vivo uygulamalar gerçekleştirilerek, materyallerin bu

alanda kullanılabilirliği ve biyouyumluluğunun araştırılması önerilmektedir.

Fiziksel özelliklerin belirlenmesi amacıyla yapılan testler sonucunda; A tipi materyallerin 0,22mm kalınlığa, 8,693 daN/cm² kopma mukavemeti, % 463 uzama değerine sahip olduğu saptanmıştır. B tipi materyallerin ise 0,23mm kalınlığa, 6,6083daN/cm² kopma mukavemeti ve % 426 uzama değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Renk özelliklerinin tespitinde ise her iki tip materyalinde beyaza yakın renk tonuna sahip olduğu görülmüştür. Benzeri ticari ürünlerde renk faktörünün önemli olmadığı, ancak bu ürünlerin sadece polimer içerikli olduğu ve bu nedenle renklerinin şeffaf ya da beyaz tonlarda olduğu bilinmektedir.

Kimyasal özellikleri açısından pH değerlerinin tayini gerçekleştirilmiş ve A tipi materyallerde 6,38; B tipi materyallerde ise 6,32 pH değerleri tespit edilmiştir. Cilt ile temas eden bir çok dermatolojik üründe, ideal pH değerinin insan cildi pH'sı olan 5.5 değerine yakın olması gerektiği bildirilmektedir. Bu nedenle pH değerlerinin 5,5 seviyesine getirilmesi amacıyla materyal özelliklerini iyileştirecek denemelerin yapılması önerilebilir. Ayrıca materyallerin SEM ile farklı büyütmelerde mikrostrüktürleri incelenmiş, gözenek genişlikleri, dağılımı ve porozite ile gözenek şekilleri ortaya konmuştur. Bu mikrostrüktür özelliklerinin yenilenen dokularda hücrenin nüfuz etmesi ve çoğalmasında fonksiyonel bir rol oynadığı bilinmektedir. A tipi materyalde gözenek boyutları min 1,25 µm ile max 166,5 µm arasında; B tipi materyalde ise min 0,31 µm ile max 133,2 µm arasında olduğu tespit edilmiş ve materyallerin gözenek çaplarının literatürlerde belirtilen çaplar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Isıya karşı davranışlarının incelenebilmesi amacıyla, tutuşabilirlik ve büzülme testleri uygulanmıştır. Her iki tip materyalinde ısı etkisi karşısında kolayca tutuşup yanabildiği, ancak büzülme testinde herhangi bir yapısal değişikliğe uğramadığı ve yapının kısmen esnediği gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen tüm sonuç ve görüşler doğrultusunda, kollagen ve polimer madde kullanımı ile elde edilen materyallerin, yeni bir kollagenik malzemenin prototipi olarak kabul edilebileceği ve öneriler doğrultusunda yapılacak çalışmalar ile özelliklerinin iyileştirilip, geliştirilmesi halinde, yeni bir malzeme ortaya konması açısından endüstriyel ve ekonomik anlamda ve kollagen hidrolizatların çıkış noktası olan deri sanayinin katı atıklarına alternatif bir değerlendirme olanağı sunması açısından, ayrıca ekolojik anlamda yarar sağlanmış olacağı sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Sarı,Ö.,Gülümser,G., *Kollagenin Fonksiyonel Gruplarının Modifikasyonu Üzerine Bir Araştırma*, 1998, E.Ü.Z.F. Deri Teknolojisi Bölümü-Bornova-İzmir.
2. Reich, G., *Kollagen eine Einführung in Methoden, Ergebnisse und Probleme der Kollagenforschung*, Verlag TheodorSteinkopff Dresden, 1966, 24.
3. Slywester et.al.,*Microcellular Polymer Foams, Application in Biomaterials, Res.Symp.Proc.*,1989, 110,44.
4. Tuncel, A., et.al., *Nondegradable ve Biyodegradable Yara ve Yanık Örtü Materyalleri, Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu*, 1997, Ankara.
5. Pişkin,E., *Polimer Teknolojisine Giriş, İnkilap Kitabevi*, 1987, İstanbul.
6. Anonym, *Renk Modelleri*, 2003, URL:<http://www.epson.com.tr>.
7. Oran,E., *Kollagen Bazlı Biyomateryaller, Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Yüksek Mühendislik Tezi*, 1999,1-33, Ankara.
8. Lee,C.,et.al.,*Kollagenin Biyomedikal Uygulamaları, International Journal of Pharmaceutics* 221, 2001,1-22.
9. Taylor, M. Met.al., *Enzymatic Modification of Hydrolysis Products from Collagen Using a Microbial Transglutaminase.III.Preparation of Films With Improved Mechanical Properties*, 2003, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service Eastern Regional Research Center, 600 E. Mermaid Lane, Wyndmoor, PA 19038.
10. Gülümser,G. vd., *Deri Rengine Çinkonun Etkileri Üzerine Araştırmalar, Ege Üniversitesi, Deri Mühendisliği Bölümü, proje no 2001/Müh 018*, 2001, Bornova-İzmir.
11. Nangia,A.,Hung,C.T, *Preclinical Evaluation of Skin Substuties, Burns*,1990,16,358.
12. Ma, Lie., et.al., *Deri Dokusu Mühendisliği İçin İyileştirilmiş Biyostabiliteli Poröz Kollagen/Chitosan Yapı İskeleleri, Biomaterials*, 2003, 24, 4833-4841.