

**KİTOSAN, AKRİLİK ASİT, AKRİLAMİT, İTAKONİK
ASİT VE KROTONİK ASİT TEMELLİ
HİDROJELLERİN BİYUYUMLULUKLARININ
BELİRLENMESİ**

Osman KARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2008

ANKARA

Osman KARA tarafından hazırlanan “KİTOSAN, AKRİLİK ASİT, AKRİLAMİD, İTAKONİK ASİT VE KROTONİK ASİT TEMELLİ HİDROJELLERİN BİYOUYUMLULUKLARININ BELİRLENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehlika PULAT

Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Biyomühendislik, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Mehlika PULAT

Kimya, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Belma ASLİM

Biyoloji, Gazi Üniversitesi

Tarih: 09 / 05 / 2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Osman KARA

**KİTOSAN, AKRİLİK ASİT, AKRİLAMİT, İTAKONİK ASİT VE KROTONİK
ASİT TEMELLİ HİDROJELLERİN BİYUYUMLULUKLARININ
BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Osman KARA

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Mayıs 2008

ÖZET

Sunulan çalışmada, farklı bileşimlerde akrilamid (AAm), akrilik asit (AA), akrilik asit/krotonik asit (AA/CA), akrilik asit/itakonik asit (AA/IA), akrilamid/krotonik asit (AAm/CA), akrilamid/itakonik asit (AAm/IA) ve kitosan (Cs) temelli hidrojeller, amonyum persülfat (APS)/sodyummetabisülfat $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5]$ kimyasal başlatıcı çifti ve etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) çapraz bağlayıcısı kullanılarak serbest radikal polimerleştirilmesi ile sentezlenmiştir. Öncelikle elde edilen hidrojellerin DMEM besiyeri ortamında şişme davranışları ve ortam pH'sına etkileri incelenmiştir. Hidrojellerin besi ortamındaki şişme değerlerinin birbirine yakın olduğu tesbit edilmiştir. Genel olarak AA temelli hidrojellerin ortam pH'sını asidik bölgeye kaydırırken AAm temelli hidrojellerin bazik bölgeye kaydardıkları gözlenmiştir. L929 fare fibroblast hücrelerinin üreme davranışı çalışmaları yapılmış ve 3. günden sonra logaritmik üreme fazına geçtikleri ve 9. günde üreme yüzeyini tamamen kapladıkları görülmüştür. Biyouyumluluk çalışmaları için L929 fare fibroblast hücre kültürü kullanılarak in vitro koşullarda sitotoksisite çalışmaları yapılmıştır. Sitotoksisite çalışmaları ISO 10993 standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hücre canlılığı

3-[4, 5-dimetilthiazol-2-il]-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemi ile 24, 48, 72, 96 ve 120 saatlerde belirlenmiş, ayrıca çalışma süresince hücrelerin morfolojik durumları incelenmiştir. Sonuçta hidrojellerin hiç biri toksik etki göstermemiş ve hücre morfolojilerinde de herhangi bir bozulma meydana gelmemiştir. AAm temelli hidrojellerin ve Cs'nin tüm çalışma süresince daha iyi biyouyumluluk gösterdiği gözlenmiştir. Akrilik asit temelli hidrojellerin biyouyumluluklarının ilk 48 saatte yüksek olduğu ve aynı zamanda özellikle ilk 48 saatte bütün hidrojel ekstraktlarının hücre üremesini artırıcı etki yaptıkları gözlenmiştir. Sonuç olarak test ettiğimiz bütün hidrojellerin biyomalzeme olarak kullanılmasında herhangi bir sakınca olmadığı düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 201.1.117

Anahtar Kelimeler : Hidrojeller, akrilik asit, akrilamid, itakonik asit, krotonik asit, kitosan, biyouyumluluk, sitotoksisite

Sayfa Adedi : 90

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Mehlika PULAT

**DETERMINATION OF BIOCOMPATIBILITIES OF CHITOSAN, ACRYLIC
ACID, ACRYLAMIDE, ITACONIC ACID AND CROTONIC ACID BASED
HYDROGELS
(M.Sc. Thesis)**

Osman KARA

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

May 2008

ABSTRACT

In this study, acrylamide (AAm), acrylic acid (AA), acrylic acid/crotonic acid (AA/CA), acrylic acid/itaconic acid (AA/IA), acrylamide/crotonic acid (AAm/CA), acrylamide/itaconic (AAm/IA) acid and chitosan (Cs) based hydrogels were prepared in different compositions by using ammonium persulphate (APS)/sodium metabisulfide $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5]$ as initiator and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as cross linker via free radical polymerization. First of all, swelling behaviour of hydrogels in DMEM medium and effects of the hydrogels on medium pH were investigated. The swelling values of hydrogels in DMEM were determined in paralel. In general it was observed that while the hydrogels based on AA made medium pH asidic, the based on AAm made medium pH basic. The multiplification-graphic studies of L929 mause fibroblast cells were carried out and three days later the cells went on logarithmic multiplification phase and at the day of nine the multiplification layer was covered by the cells completely. The cytotoxicity studies for determining of biocompatibility were performed in vitro conditions by using L929 mouse fibroblast.

Cytotoxicity tests were carried out according to ISO 10993 standard. In this study, cell viability was determined 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method at 24, 48, 72, 96 and 120 hours. Also cell morphology was investigated during the study. As a result, non of the hydrogels showed toxic effect and change in cell morphologies was not observed. Especially in the first 48 hours, it was observed that hydrogels affected the cell proliferation. It is thought that there is not inconvenience in the use of all tested hydrogels as a biomaterial.

Science code : 201.1.117

Key Words : Hydrogels, acrylic acid, acrylamide, itaconic acid, crotonic acid, chitosan, biocompatibility, cytotoxicity

Page Number : 90

Adviser : Prof. Dr. Mehlika PULAT

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehlika PULAT'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yine yardım ve desteğini esirgemeyen Hacettepe Üniversitesinden Sayın Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERLİOĞU'na saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince beni azımlendiren her anlamda ve her zaman yanımda olan sevgili eşim Veteriner Hekim Ahu Kader KARA'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda desteğini ve yardımını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Nur TAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda Ankara Şap Enstitüsü olanaklarından faydalanmama imkan sağlayan enstitü müdürü Sayın Dr. Recep ERGÜL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hücre kültürü çalışmalarımnda bilgisini, desteğini ve özverisini esirgemeyen Hücre Bankası laboratuvarı şefi Biyolog Sayın Şükran YILMAZ ve Y.Kimyager Evrim Banu SAĞLAM'a özellikle ve aynı laboratuvardaki diğer arkadaşlarıma yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarıma yardımı olan enstitüdeki diğer çalışma arkadaşlarıma ve katkısı olan herkese teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xixi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hidrojeller	3
2.1.1. Hidrojellerin sınıflandırılması	4
2.1.2. Kimyasal çapraz bağlanma ile hidrojellerin hazırlanması	8
2.1.3. Hidrojellerde suyun konumu	9
2.1.4. Hidrojellerin şişmesi	10
2.1.5. Hidrojellerin kullanım yerleri	11
2.2. Biyouyumluluk.....	16
2.2.1. MTT yöntemi	19
2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	22
2.3.1. Akrilik asit (AA)	22
2.3.2. Akrilamid (AAm).....	23
2.3.3. İtakonik asit (IA).....	24

	Sayfa
2.3.4. Krotonik asit (CA)	26
2.3.5. Kitosan (Cs)	27
2.3.6. Fibroblast hücre	29
3. DENEYSEL ÇALIŞMA	31
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Cihazlar	31
3.2. Hidrojellerin Hazırlanması	32
3.2.1. AA, AAm, IA ve CA temelli hidrojellerinin hazırlanması	32
3.2.2. Kitosan hidrojelinin hazırlanması	34
3.3. Hidrojellerin Şişme Değerlerinin ve Ortam pH'sına Etkilerinin İncelenmesi	34
3.4. Hücre Kültürü Çalışmaları	35
3.4.1. Hücre kültürünün hazırlanması	35
3.4.2. L929 üreme davranışının incelenmesi	36
3.5. Sitotoksosite Çalışmaları	37
3.5.1. Doğrudan temas yöntemi (Direct contact method)	37
3.5.2. Dolaylı temas yöntemi (Indirect contact method)	39
4. DENEYSEL BULGULAR VE YORUM	41
4.1. Hidrojellerin Şişme Değerleri ve Ortam pH'sına Etkisi	41
4.2. L929 Üreme Davranışı	42
4.3. Doğrudan Temas Yöntemi Sonuçları	45
4.4. Dolaylı Temas Yöntemi Sonuçları.	47
5. SONUÇLAR.	56
KAYNAKLAR.....	58

Sayfa

EKLER.....	70
EK-1 Doğrudan temas yöntemi spektrofotometre verileri	71
EK-2 Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri	73
EK-3 Kitosanla yapılan çalışmada alınan absorbanans değerleri.	86
ÖZGEÇMİŞ.	90

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Hidrojellerin sınıflandırılmaları	5
Çizelge 2.2. AA'nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri	22
Çizelge 2.3. AAm in kimyasal yapısı ve bazı özellikleri	23
Çizelge 2.4. IA nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri	24
Çizelge 2.5. CA nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri	26
Çizelge 2.6. Kitosanın özellikleri ve uygulamaları	28
Çizelge 3.1. Hidrojellerin hazırlandığı monomer çözeltilerindeki AA, Am, IA ve CA mol oranları	33
Çizelge 4.1. Hidrojellerin ortalama % Ş değerleri ve ortam pH'sı	41

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Hidrojelin şematik olarak gösterilişi	3
Şekil 2.2. Hidrojeller içindeki dört temel moleküler etkileşimin sistematik olarak gösterilmesi	4
Şekil 2.3. Tampon içeren şişme ortamındaki ince bir iyonik hidrojel diskin şişme kinetiğinin şematik gösterimi	8
Şekil 2.4. Şişmiş bir hidrojeldeki suyun bulunma çeşitleri	9
Şekil 2.5. Sulu ortamda farklı davranış gösteren polimer zincirlerinin jel ve hidrojel oluşturma -- ● -- kovalent çapraz bağları -- ○ -- polimer zincirleri arasındaki karışıklıkla oluşan gerçek olmayan çapraz bağlar	11
Şekil 2.6. MTT'den formazan kristalleri oluşumu	20
Şekil 2.7. Kitinden Kitosan elde ediliş tepkimesi	27
Şekil 4.1. L929 hücrelerine ait MTT sonuçları	42
Şekil 4.2. L929 hücrelerine ait sayım sonuçları	43
Şekil 4.3. Doğrudan temas yönteminde bağıl canlılık değerlerinin zamanla değişimi	46
Şekil 4.4. Doğrudan temas yönteminde bağıl canlılık değerlerinin zamanla değişimi	48

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Fibroblast hücreler (a) ve Oluşan formazan kristalleri (b)	21
Resim 2.2. Fare fibroblast hücreleri.....	30
Resim 4.1. Kültür kabındaki L929 hücrelerinin invert mikroskop görüntüleri (x20); a) 1. gün, b) 3. gün, c) 5. gün, d) 9.gün.....	44
Resim 4.2. 96. saatte MTT uygulaması sonunda oluşan formazan kristalleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol.....	49
Resim 4.3. Ölü hücrelerin bulunduğu ortamda MTT sonucu formazan kristallerinin oluşmadığı gözlenmektedir.....	50
Resim 4.4. 24. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol	51
Resim 4.5. 48. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol	52
Resim 4.6. 72. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol	53
Resim 4.7. 96. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol	54
Resim 4.8. 120. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a)PAA, b)P(AA-co-IA), c)P(AA-co-CA), d)PAAm, e)P(AAm-co-CA), f)P(AAm-co-IA), g)Kitosan, h)H.Kontrol	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Kısaltmalar	Açıklama
AA	Akrilik asit
AAM	Akrilamit
APS	Amonyum persülfat
CA	Krotonik asit
Cs	Kitosan
DMEM	Dulbecco's modified eagle's medium
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
FBS	Fetal bovine serum
IA	İtakonik asit
MTT	3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-difeniltetrazolyumbromür
PBS	Fosfat buffer saline
HÜKÜK	Hücre Kültürü Koleksiyonu
ISO	International Organization for Standardization

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hidrojeller, çapraz bağlı ve içerisinde kendi hacminin % 20'sinden daha fazla su tutabilme özelliğine sahip, suda çözünmeyen, üç boyutlu ağ yapıdaki homo veya kopolimerlerdir [1, 2]. Hidrojeller, kimyasal (kovalent veya iyonik) veya fiziksel çapraz bağların (kristalinite) varlığı nedeniyle suda çözünmezdirler. Hidrojeller genellikle hidrofilik polimer moleküllerinden oluşurlar. Kopolimerlerden oluşan hidrojellerin en azından bir bileşenlerinin hidrofilik özelliğe sahip olması gereklidir. Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir [3].

Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son 30 yıldır ilgi odağı durumundadır. Hidrojeller, biyoyumlulukları, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle tıpta ve farmasötik alanda pek çok uygulama alanı bulmuştur [4 - 7]. Kontak lens, biyosensörler için membran, yapay kalp, kas ve deri materyalleri, kontrollü ilaç salım sistemleri ve enzim immobilizasyonları için destek materyal olarak kullanımları bu uygulamalardan bazılarıdır [8 - 10].

Tıp amaçlı hidrojel formülasyonlarında sıklıkla yer alan hidrojellere poli(akrilamid) (PAAm), poli(akrilik asit) (PAA), Poli(2-hidroksi etil metakrilat) (PHEMA), poli(N-vinil-2-pirolidon) (PNVP), poli(metakrilik asit) (PMAA) ve poli(metil metakrilat) (PMMA) örnek verilebilir. Ayrıca, istenilen özelliklerin kazandırılabilmesi amacıyla hidrojeller çeşitli malzemelerle birleştirilebilir.

Hidrojellerin bu kadar üstün özelliklere sahip olduğu göz önüne alındığında biyomalzeme olarak kullanılabilmeleri ve biyoyumlu olmaları önem kazanmıştır. Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyoyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlardır. Biyoyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliği olup, vücut ile

uyuşabilirlik olarak tanımlanabilir. Biyomalzemeler, kendilerini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu vb.) oluşturmeyen malzemelerdir. Bazı araştırmacılar, biyouyumluluk terimini biraz genişleterek, biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır [11]. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur.

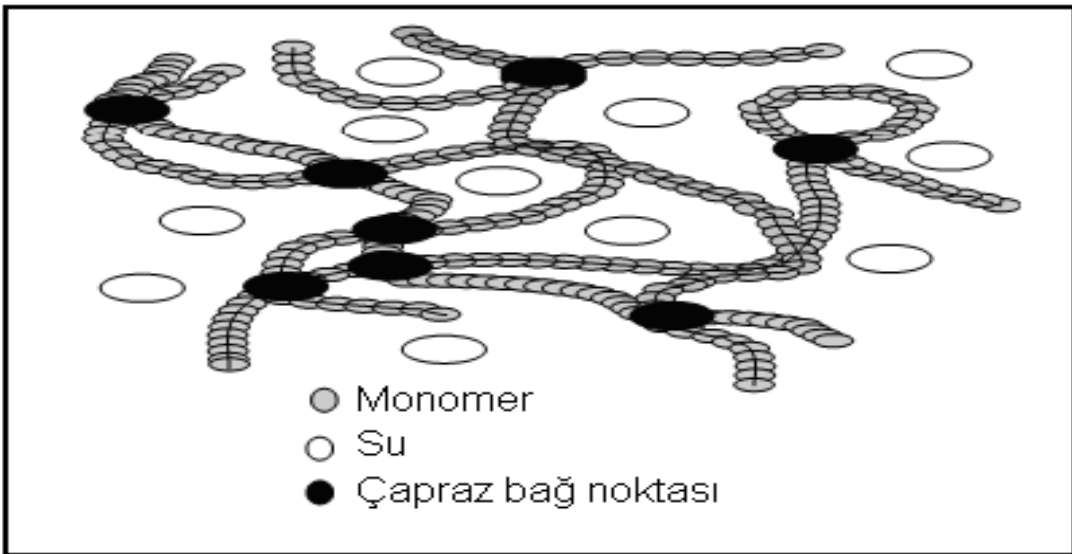
Sunulan çalışmada serbest radikal polimerleşmesi yoluyla kitosan (Cs), AA, AAm, krotonik asit (CA), itakonik asit (IA) temelli hidrojellerinin hazırlanması ve bu hidrojellerin biyouyumluluklarının belirlenmesi amaçlandı. Kimyasal başlatıcı olarak amonyum persülfat (APS)/sodyummetabisülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) ve çapraz bağlayıcı olarak da etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) seçildi. Biyouyumluluk testleri için in vitro hücre kültürü ortamında sitotoksikite çalışması yapılmasına ve hücrelerin morfolojik durumlarının invert ışık mikroskopuyla gözlenmesine karar verildi. Hücre canlılığının tespit edilmesi amacıyla belirlenen süreler sonunda hücrelere 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi uygulanması ve elde edilen değerlerin aynı işlemlerin uygulandığı kontrol hücre değerleriyle karşılaştırılması yoluyla biyouyumlulukları hakkında karar verilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde çalışma konumuzla ilgili genel bilgiler alt başlıklar halinde sunulmuştur.

2.1. Hidrojeller

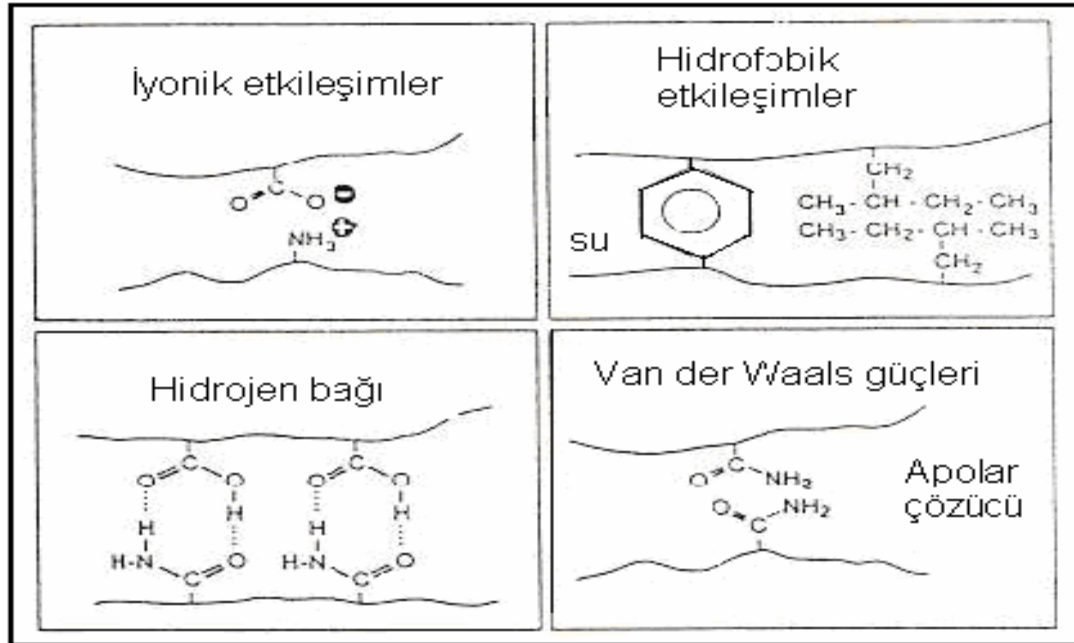
Hidrojeller, su içerisinde çözünmeden şişebilme özelliğine sahip, çapraz bağlı, üç boyutlu ağ yapılı polimerlerdir [12, 13]. Su içeriği kendi kütlesinin %100 ünden fazla olan hidrojellere süper absorbant adı verilir [14, 15]. Su dışında çözücülerde en az % 20 ve daha fazla miktarlarda şişebilen jeller ise kserojel olarak adlandırılır [16, 17]. Hidrojellere ait genel bir şematik gösterim Şekil 2.1’de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Hidrojin şematik olarak gösterilişi

Hidrojellerin üç boyutlu yapısı; kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşimler, hidrojen bağları, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir. Bu etkileşimler Şekil 2.2’de sunulmuştur [3]. Hidrofobik etkileşimler, fiziksel çapraz bağ benzeri etkileşimler olduğundan jelin şişme davranışını doğrudan

etkilemektedir. Fiziksel çapraz bağlı jellerin dış çevre değişimine fazlaca duyarlı oldukları bilinmektedir [3, 18 - 22].



Şekil 2.2. Hidrojeller içindeki dört temel moleküler etkileşimin sistematik olarak gösterilmesi

Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su bulundurmaları, yumuşak ve esnek yapıları gibi taşıdıkları birçok fiziksel özellikler açısından canlı dokularla karşılaştırıldıklarında büyük bir benzerlik göstermektedir [5 - 7].

2.1.1. Hidrojellerin sınıflandırılması

Polimerik hidrojeller, hazırlama yöntemlerine, iyonik yüklerine, fiziksel yapılarına ve çapraz bağlanma durumlarına bağlı olarak sınıflandırılabilirler [3, 23, 24]. Bu sınıflandırma Çizelge 2.1'de şematik olarak gösterilmiş ve önemli hidrojel türlerinden bazıları alt başlıklar halinde açıklanmıştır.

Çizelge 2.1. Hidrojellerin sınıflandırılmaları

Hazırlama yöntemine göre :

Homopolimer hidrojeller
Kopolimer hidrojeller
Çoklu polimer hidrojeller
IPN (interpenetrating networks) hidrojeller

İçerdikleri yan gruplara göre :

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

Fiziksel yapılarına göre :

Amorf hidrojeller
Yarı - kristalin hidrojeller
Hidrojen bağlı hidrojeller
Fiziksel hidrojeller
Kimyasal hidrojeller

Kaynaklarına göre

Doğal hidrojeller
Sentetik hidrojeller

Su içeriklerine göre

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

Kimyasal kararlılıklarına göre

Biyobozunur
Biyobozunmayan

Homopolimer hidrojel

Tek tür hidrofilik monomerden oluşturulan hidrojelidir. PHEMA, poli(gliseric metakrilat), poli(3-hidroksi propil metakrilat) içeren poli(hidroksi alkil metakrilat)'lar bu tür hidrojelere verilebilecek örneklerdendir [30]. Yumuşak kontak lens yapımı ve kontrollü ilaç salım aparatları gibi önemli uygulama alanları vardır [25].

Kopolimer hidrojel

İki komonomerin çapraz bağlanması ile hazırlanırlar; ancak monomerlerden en az bir tanesi hidrofilik yapıda olmalıdır. Kopolimerik hidrojelde çapraz bağlanma kovalent ya da iyonik olarak gerçekleşebilir [26]. En çok araştırılan kopolimerik hidrojelere poli(HEMA-ko-AA) ve poli(HEMA-ko-MMA) örnek olarak verilebilir [27, 28].

IPN tipi hidrojel

Çapraz bağlı iki polimerik örgünün fiziksel olarak birleşmesi ile oluşur. Bu yapılardan en az biri diğerinin varlığında sentezlenir ve/veya çapraz bağlanır [29]. Örneğin polioksietilen ve PAA den hazırlanan IPN yapılar mevcuttur. Öncelikle çapraz bağlı polioksietilen hazırlanır, daha sonra bu örgü AA, başlatıcı ve çapraz-bağlayıcı içeren karışımda şişirilirken polimerizasyonda gerçekleşir [30]. IPN'yi oluşturan iki polimerik örgünün birbiriyle uyumlu olması IPN oluşumunu artırır, faz ayrımını engeller.

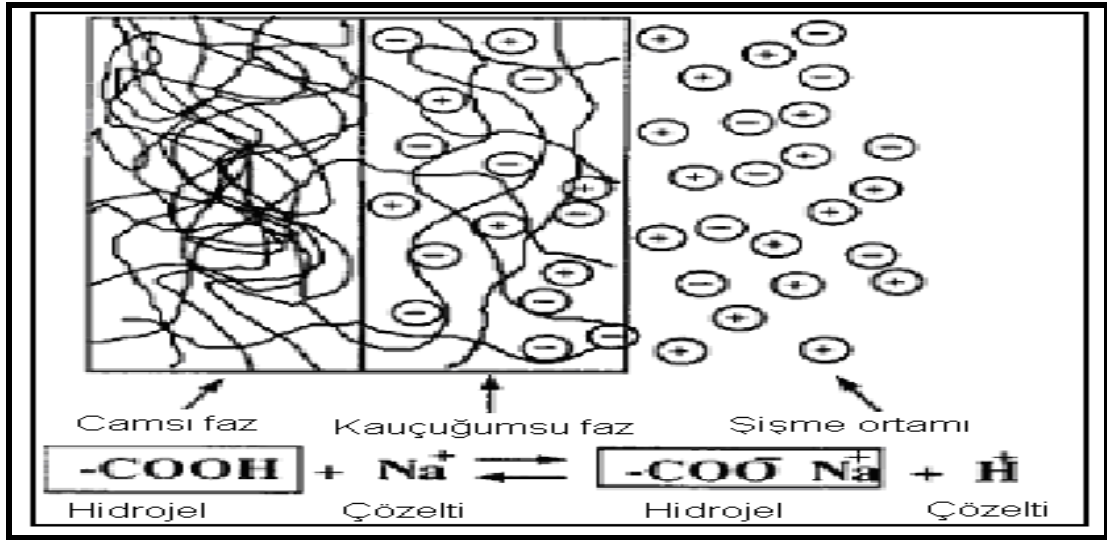
Yarı-IPN tipi hidrojelde ise polimerlerden biri çapraz bağ içerirken diğeri doğrusal yapıdadır [26, 31, 32]. Bu tür hidrojelde misafir polimer zincirleri, ev sahibi ağ yapının içinde kovalent bağlı veya kovalent bağısız olarak yer alabilirler.

İyonik olmayan hidrojeller

Yapılarında yüklü gruplar bulundurmayan homopolimerik veya kopolimerik nötr hidrojellerdir. Çözücünün ozmotik basıncı yan zincirin gerilme enerjisi ile dengelendiği zaman denge değerine kadar şişerler. Bu hidrojellerin şişme ve büzüşme durumları genellikle çevre sıcaklığındaki değişimin bir sonucu olarak meydana gelir [24, 33].

İyonik hidrojeller

Polielektrolitler olarak da bilinen iyonik hidrojeller, iyonik yüklü monomerlerden hazırlanırlar. Bu hidrojeller monomer yüklerinin pozitif ya da negatif olmasına göre katyonik ve anyonik hidrojeller olarak adlandırılırlar. Ayrıca pozitif ve negatif yüklerin her ikisinin de bir arada bulunduğu poliamfolitik hidrojeller de mevcuttur [34, 37]. İyonik hidrojellerin ana zincirinde yüklü grupların bulunması uyarılara duyarlılıklarını artırır [38, 39]. Bu iyonik ağ yapılar hem asidik hem de bazik gruplar içerirler. Uygun pH ve iyonik şiddetteki sulu ortamda bu gruplar iyonize olur ve jelde sabit yükler oluşur. Bu yüklerin elektrostatik itme kuvvetlerinin sonucunda ağ yapı içerisine daha çok çözücü girebilir ve şişme dereceleri artar [23]. Bu durum Şekil 2.3'de gösterilmiştir [39]. Anyonik hidrojellerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan monomerlerden bazıları AA, CA, IA, katyonik hidrojellerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan monomerlerden bazıları ise 4-vinil piridin, aminoetil metakrilat ve türevleridir [24].



Şekil 2.3. Tampon içeren şişme ortamındaki ince bir iyonik hidrojel diskin şişme kinetiğinin şematik gösterimi

2.1.2. Kimyasal çapraz bağlanmayla hidrojellerin hazırlanması

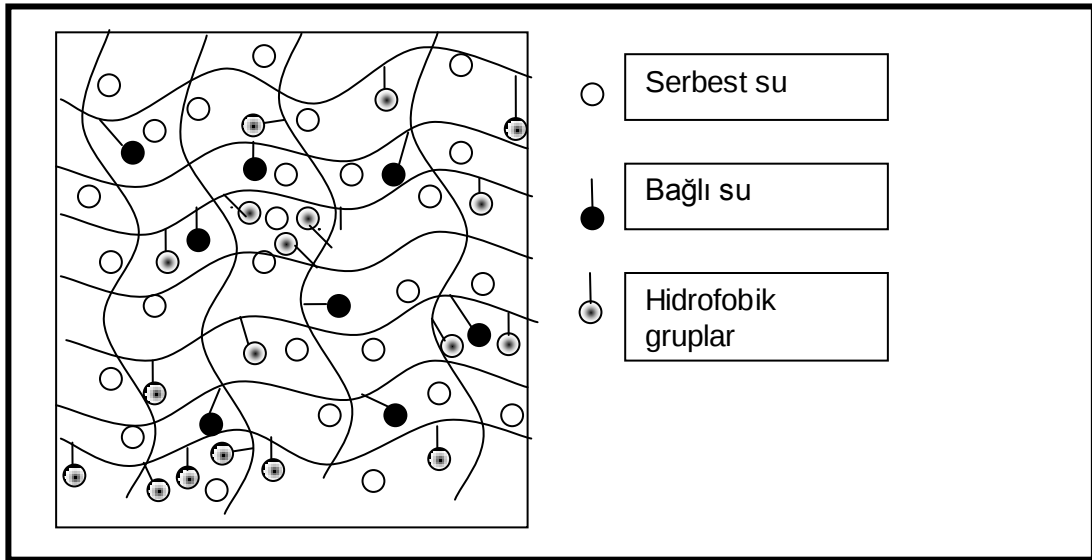
Kimyasal çapraz bağlanma ile hidrojel hazırlanması, doğrusal veya dallanmış homopolimer ya da kopolimerin az miktarda çapraz bağlayıcı kullanılarak doğrudan çapraz bağlanması ile gerçekleştirilir [40]. Bu tepkime çözelti içinde (genellikle biomedikal uygulamalar için sulu çözelti) süspansiyon polimerizasyonu ile yürütülür. Çapraz bağlayıcı olarak, hidroksil grubu ile birlikte iki ya da daha fazla fonksiyonel grup içeren maddeler kullanılır. En çok kullanılan çapraz bağlayıcılara gluteraldehit, formaldehit ve asetaldehit gibi aldehitler, maleik asit, okzalik asit, dimetilüre, poliakrolein, diizosiyanatlar, divinilsülfat, EGDMA, etilenbisakrilamid, seryum içeren redoks sistemler, 1,3-butandiol diakrilat ve N,N-metilen bisakrilamid örnek olarak verilebilir.

Kimyasal çapraz bağlanma ile hidrojel hazırlanmasında başlatıcı olarak anyonik ve radikalik başlatıcıların her ikisi de kullanılabilir. En yaygın kullanılan başlatıcılar, APS/sodyummetabisülfat, azobisisobutyronitril (AIBN) ile benzoil ya da kümil peroksit gibi peroksitlerdir [3]. Kimyasal yolla hidrojel hazırlanması dört basamakta oluşur. Bunlar; başlama, zincir büyümesi ve

çapraz bağlanma, birleşme veya bölünme ve sonlanma basamaklarıdır. İlk önce çapraz bağlayıcılar varlığında birbirine kimyasal olarak bağlanan monomerler polimerleri oluşturur ve daha sonra monomerlerin bazılarının çapraz bağlayıcı ile yer değiştirip polimer zincirlerinin birbirine bağlanmasıyla da hidrojel oluşur [41].

2.1.3. Hidrojellerde suyun konumu

Bir jelin hidrojel olabilmesi için yapısında $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-COOR$ vb. gibi polar ve su sever fonksiyonel grupları içermesi gerekir [39, 41 - 44]. Bu gruplar su ile etkileşerek hidrojen bağlarını oluştururlar. Bağlı durumuna geçen su ile çevrilen, hidrofilik gruptan jelin hacmi ve kütlesi artar ve jel şişmeye başlar. Bir jeldeki su sever grupların fazlalığı şişmeyi daha da artırır [41]. Şişmiş bir hidrojelde Şekil 2.4’de gösterildiği gibi üç tür su bulunmaktadır [45].



Şekil 2.4. Şişmiş bir hidrojeldeki suyun bulunma çeşitleri

- ❖ *Bağlı su*: Polimerin polar grupları ile hidrojen bağları yapan sudur.
- ❖ *Ara yüzey suyu*: Polimerin hidrofobik grubu çevresinde toplanan sudur. Bağlı su gibi sıkıca bağlı değildir.

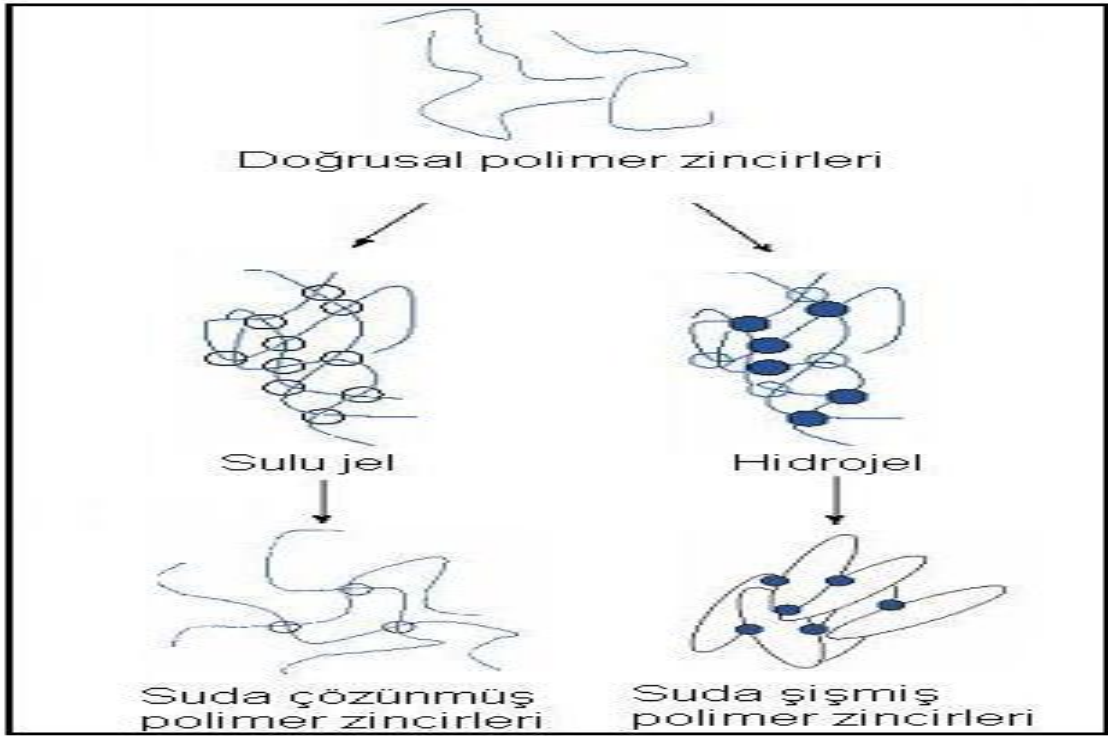
- ❖ *Serbest yada kütle suyu*: Polimerin gözeneklerini dolduran bu su normal su gibi davranır ve polimerle etkileşmez.

Bir şişmiş hidrojinin yüzeyi çok farklı davranış gösterir. Bu yüzey bölgesi; yüksek zincir hareketliliği, değişim gradienti, heterojen zincir uzunlukları, dipolar özellik ve değişik su yapısı ile karakterize edilir. Bu özellikler hidrojel yüzeylerinin analizini ve karakterizasyonunu zorlaştırır [16, 46, 47].

2.1.4. Hidrojellerin şişmesi

Şişme küçük molekülü bir sıvının polimer yapısında bir değişim ile birlikte bir polimer tarafından soğurulması prosesidir. Şişme neticesinde çözücü içeriği artarken, polimer yapısı yavaş yavaş birbirinden ayrılır ve çözeltide içinde çözücü bulunan oynak bir polimerik ağ yapı meydana gelir [41]. Şişme, polimerik ağ yapılarının karakteristik bir özelliğidir. Çapraz bağlanma miktarına bağlı olarak polimerik ağlar çözünmeden çok yüksek miktarda sıvı absorplayabilirler [47].

Şişme sınırlı veya sınırsız olabilir. Sınırsız şişme kendiliğinden çözeltiye dönüşen şişmedir. Böyle bir olaya çözünme denir. Sınırlı şişme de ise sıvıların polimer tarafından tutulma aşaması sınırlanarak çözünmesi önlenir. Ayrıca çapraz bağlı polimerler çözünmezler, jel oluşturarak şişerler. Bir polimerik jelin şişme yeteneğini içerdiği fonksiyonel grupların birbiriyle ve çözücüyle etkileşimi belirlemektedir [21, 45, 48]. Bir polimerin şişmesi ve çözünmesi arasındaki fark aşağıdaki Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Sulu ortamda farklı davranış gösteren polimer zincirlerinin jel ve hidrojel oluşması

- kovalent çapraz bağlar
- - polimer zincirleri arasındaki karışıklıkla oluşan kovalent olmayan çapraz bağlar

2.1.5. Hidrojellerin kullanım yerleri

Hidrojellerin biyomalzeme olarak kullanımlarındaki avantajları aşağıdaki gibi verilebilir [30].

- ❖ Hidrojeller suda çözünen maddeler için geçirgen olduklarından atık monomerler, başlatıcılar, katalizörler, stabilizatörler ve diğer safsızlıklar yapıdan kolaylıkla ayrılabilir.
- ❖ Hidrojeller, vücut sıvılarına karşı az ya da çok geçirgen olduklarından, besin, oksijen gibi yararlı maddelerin geçişine engel oluşturmazlar.

- ❖ Hidrojeller yumuşaktır. Hidrojel implant etrafında oluşan doku, kapsül (tabaka) ince ve dayanıklıdır, kalınlaşma eğilimi yoktur. Hidrojellerin çevredeki dokularla sürtünmesi azdır. Bu, özellikle fazla miktarda su içeren hidrojeller için geçerlidir. Hidrojeller şişerek sadece hacimlerini artırmazlar, ayrıca absorpladıkları su, plastikleştirici gibi davrandığından daha yumuşak olurlar. Bu özellikten, hidrojellerin proses edilmesi sürecinde veya implant yerleştirilmesinde yararlanılabilir.
- ❖ Hidrojeller, mukoza zarı ve dokulara düşük yapışma gösterirler.
- ❖ Kuru hidrojeller, bazı yollarla, belli miktarda su absorplayabilirler. Bu özellik, aşırı miktardaki vücut sıvılarının atılmasında kullanılmaktadır.
- ❖ Şişmiş hidrojellerdeki suyun bir kısmı, polimer yapıda belli büyüklükteki moleküller (özellikle ilaçlar) için difüzyon yolları sağlar. Aynı zamanda polimerik yapı, sahip olduğu örgü nedeniyle büyük moleküller, hücreler ve bakteriler için bariyer gibi davranmaktadır.

Hidrojeller; iyonik şiddet, elektromagnetik ışıma, pH ve sıcaklık gibi dış çevre koşullarındaki değişimlere hacimlerini yüzlerce kat artırıp azaltarak kontrollü bir şekilde cevap verebilmeleri sayesinde biyomedikal, farmasötik, teknoloji ve tarımsal alanda geniş kullanım alanları bulmuştur [5, 23, 25].

Hidrojeller, endüstriyel açıdan son derece önemli olan seyreltik sulu çözeltilerden büyük moleküllerin ayrılmasında da kullanılmaktadırlar. Şişmiş bir jel; suyu emerken, su içersinde çözünmüş maddeleri dışarıda tutar. Ayrıca hidrojeller, jel elektroforezi ve jel kromatografisi gibi moleküler ayırma işlemlerinde “moleküler elek” görevini üstlenirler [49].

Robotlarla çalışılan bilim dalında uyarı-cevap hidrojelleri, yük kaldırma fonksiyonunu yerine getirmek amacıyla kullanılmaktadır. Uyarı-cevap hidrojelleri çeşitli sinyallere cevap olarak büzüşür veya şişerken bir kuvvet

üretir. Böylece bu hidrojeller, robotu harekete geçirici veya sensör olarak robot teknolojisinde kullanım alanı bulur [50]. Hidrojellerin, iskelet kaslarıyla kıyaslanabilir bir güç ürettikleri gözlenmiştir [30].

“Smart jel” adıyla 1996 yılında piyasaya sürülen ticari jel, oda sıcaklığında yumuşak ve esnek olup, vücut ısısına maruz bırakıldığında katılaştıran bir yapıdır. Bu jel, ayakkabıların (özellikle patenlerin) içine yerleştirilerek, ayağa gerekli desteği ve konforu sağlamak amacıyla kullanılmaktadır [51].

Hidrojeller yüksek oranda su tutucu olmaları ile peçete, çocuk bezi gibi temizlik ürünlerinin yapımında kullanılırlar [20]. Yine gübrelerin ve tarım ilaçlarının denetimli salımlarında kullanılmaktadırlar [10,12]. Endüstride yağ ve petrol içerikli sulu atıklardan saflaştırma ve suyun uzaklaştırılması işlemlerinde ve hastane atıklarından suda çözülebilen ya da hidrojele uyumlu olarak soğurulabileceği bazı fizyolojik (kan ve üre vb.) sıvıların soğurulmasında da kullanılırlar [52 - 54].

P(AAm/MA) hidrojeli de sulu çözeltilerden bazı ağır metal iyonlarının adsorpsiyonunda kullanılmaktadır [55]. Ayrıca bu hidrojeller ve P(AAm/IA) hidrojelleri sulu çözeltideki bazı bazik boyaların adsorpsiyonunda ve tekstil endüstrisinin önemli çevresel problemlerinden biri olan çözme işleminde de kullanılırlar [3, 56].

Hidrojellerin, dikiş işlemleri için kaplama uygulamaları, elektrot, elektroforez hücre ve yapay organ yapımı, kornea, doğuştan gelen kemik hastalıklarının tedavisi gibi uygulama alanları vardır. Ayrıca homojen materyal olarak; kulak zarı tıkaçı, sentetik kıkırdak, safra ve yemek borusu yapımı gibi biyotıp alanlarında, biyomühendislik, eczacılık, veterinerlik, gıda endüstrisi ve denetimli salım teknolojilerinde kullanılırlar [10, 12, 57, 58].

Hidrojellerin sensör olarak kullanımına dayalı çeşitli çalışmalar da vardır. Biyoaktif tabakası duyarlı bir hidrojel olan ve iletkenlik ölçümüne dayalı olarak

alışan bir biyosensör geliştirilmiştir [59]. Sensör olarak kullanıma bir başka örnek ise Sun-Tek firması tarafından geliştirilen “ışığa duyarlı pencereler” dir. Bu hidrojeller sıcaklık yükselince opaklaşma göstermektedir.

Günümüzde biyoteknolojik alanda üzerinde en çok durulan konulardan biri hidrojellerin enzim ve hücre immobilizasyonunda taşıyıcı olarak kullanımına yönelik çalışmalardır [10]. Fiziksel enzim tutuklama yöntemi için kullanılan çapraz bağlı PAAm bunlar için iyi bir örnektir. Normal ya da kimyasal olarak modifiye edilmiş kalsiyum aljinat hidrojel de bu tür materyallere bir diğer örneği oluşturmaktadır.

Hidrojellerin kontrollü ilaç salımı için taşıyıcı olarak kullanıldığı çeşitli uygulamalarda geliştirilmiştir [60]. Bu tür sistemlerde hidrojelin, uyarıcı büyüklüğü ile orantılı şişme-büzüşme cevabı, salım sisteminden ilaç çıkış hızının ayarlanması amacıyla kullanılmaktadır. Kontrollü ilaç salım alanındaki en güç ama en ilginç problem kendi kendine ayarlanan (öz ayarlı) insülin salım sistemleridir. Kendi kendine ayarlanan insülin salım sistemleri, glukoz algılama kabiliyeti ve otomatik kesme mekanizması gerektirirler [12]. Bunun için en iyi örnek, Horbett tarafından şeker hastaları için geliştirilen insülin salım sistemleridir. Bu sistem insülin rezervuarını çevreleyen ve bir uyarı-cevap hidrojelinde yapılmış membrandan oluşmaktadır.

İlaçların sisteme verilif yolu olarak en dikkat çeken yöntem kontrollü salım sistemleridir. Kontrollü salım sistemlerinde etken maddenin tek bir uygulama ile uzun süre etkin düzeyde kalması sağlanır. Bu sistemlerde hidrojellerin şişme-büzüşme, mekanik, morfolojik, kimyasal vb. gibi pek çok özelliklerinden yararlanılmaktadır. Özellikle ortam pH sınır değişimlerine en azından belirli oranlarda cevap verebilen hidrojeller, çeşitli vücut bölgelerinde ilaç serbestleştirmek için önem arz etmektedir. Cs ve AA bu tür sistemlerde sıklıkla başvurulan ve biyoyumlu olduğu belirlenmiş olan polimerlerdir [61].

Metilselüloz hidrojenleri, cilt testlerinde alergen salımı için kullanılırlar. Test alergenleri hidrojel içine salınır böylece cildin tahriş olma olasılığı düşer. PHEMA hidrojenleri, antibiyotik ve antitümör ilaçlarının denetimli salımında, yumuşak kontak lens, üreter protezlerinde, hemodiyalizde, kornea cerrahisinde, hücre yüzey çalışmalarında kauçuk tabakası olarak kullanılabilmektedirler [16, 62].

Biyouyumlu ve doğal bir polimer olan Cs, öktürme, nem tutma, film oluşturma, antimikrobiyal etki, enzim immobilizasyonu gibi çok çeşitli fonksiyonları nedeniyle ilaç, kozmetik, tıp, tarım gibi çeşitli endüstrilerde sınırsız kullanım alanlarına sahiptir. Karaciğer bağırsak sindirim kolesterol gibi fonksiyonları düzenlemesi ve kilo kaybını desteklemesi gibi özellikleriyle diyetetik olarak kullanılmaktadır [63 - 67]. Ayrıca şarap, meyve suyu, bira gibi içeceklerde bulanıklığı gidermek için ve atık su arıtımında çöktürücü ajan olarak kullanım alanı mevcuttur [68 - 70]. Yine gıda alanında, gıdaların tazeliğini koruması için film halinde kaplama olarak ve antimikrobiyal etkisi nedeniyle gıdaların raf ömrünün uzatılmasında oldukça yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur [71 - 73].

Ayrıca Cs porozite, taşıyıcılık, adezyon, biyobozunurluk, elastiklik özelliklerini taşıması nedeniyle doku mühendisliğinde uygulama alanı bulmuştur [74, 75]. Doğal bir polimer olan Cs biyogeimli, biyoparçalanabilir, nontoksik olması, allerji yapıcı ve iritasyona yol açıcı olmaması ve antibakteriyel, antiviral, yara ve kemik iyileşmesini hızlandırıcı, immunostimulan, hemostatik gibi önemli biyoaktif özellikleri nedeniyle veteriner alanda da kullanım yeri bulmuştur [76].

Biyomedikal öneme sahip diğerk bir hidrojel, PAAm'dir. Kopecek ve arkadaşları tarafından 1973 de PAAm ve bazı N-substitüe türevlerinin hidrojenleri incelenmiş ve AAm ve N,N-dimetilakrilamidin divinil benzenle olan çapraz bağı kopolimeri ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında kullanılmıştır.

PVA yaygın olarak fıtık tedavilerinde, kalp-damar ve plastik cerrahide “Ivalon” ismi ile kullanılmaktadır. PVA-heparin hidrojel­leri hemodiyaliz membran olarak kullanılırlar. PVA/PAA nın ise yapay kas, sensör, kemomekanik sistemler ve ilaç salım sistemlerinde kullanım alanları mevcuttur [77]. PNIPA-PAAm hidrojel­leride “Jel el” olarak adlandırılan ve sıcaklık değışimi ile çeşitli nesnelerin tutulması amacıyla kullanılan bir tür cımbızdır. Laboratuvar cımbızlarının yaklaşık milyonda biri boyutunda olan bu jel tutucular sulu çözeltilerden göremeyeceğimiz kadar küçük nesneleri almak için son derece uygun aletlerdir [51].

2.2. Biyouyumluluk

Son 30 yıl içinde biyomalzeme/doku etkileşimlerinin anlaşılması konusunda önemli bilgiler elde edilmiştir. Özellikle canlı ve cansız malzemeler arasında çok büyük farklılıklar olduğu saptanmış durumdadır. Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyouyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlardır. Biyouyumlu olan malzemeler, biyomalzeme olarak adlandırılmış ve biyouyumluluk; uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyouyumlu, yani “vücutla uyuşabilir” bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değışimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemelerdir. Wintermantel ve Mayer bu terimi biraz genişleterek biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır [11]. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur.

Biyomedikal ürünlerde kullanılacak malzemelerin, biyolojik sistemlerle etkileştiğinde uyum sağlayabilmeleri ve yan etki oluşturmamaları için yoğun çaba harcanmaktadır. Gün geçtikçe önemi ve uygulama alanı artan

biyoyumlu, güvenilir ve etkin olan biyomalzemeler, insan vücudundaki organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut sıvıları ile temas halindedirler. Bir malzemenin biyoyumlu olması için bulunduğu canlıdaki fizyolojik ortam tarafından kabul edilmesi gerekir. Direkt kanla temas edecek malzemeyle, direkt kemikle temas edecek malzemenin biyoyumluluk tanımları birbirinden çok farklıdır [4].

Biyoyumluluk; bir malzemenin biyomalzeme olabilmesi için, malzemedede aranması gereken en temel özelliktir. Bir malzeme canlı bir ortama konulunca bu malzemeyi (canlı ortamın değişen parametrelerinden dolayı) bekleyen şartlar vardır. Malzeme bu şartlara dayanıklı olmalıdır ayrıca bu şartlara dayanırken biyoyumluluğunu da korumalıdır. Diğer yandan canlı ortamın bu malzemenin varlığında bu malzemeyi kabul etmesi ve tepki vermemesi gerekir. Ama pratikte bilinir ki en uyumlu malzemedede bile malzemeye karşı verilen tepkilerden söz etmek mümkündür.

Biyomalzemeler, insan vücudunun çok değişken koşullara sahip olan ortamında kullanılırlar. Örneğin vücut sıvılarının pH değeri farklı dokulara göre 1 ila 9 arasında değişir. Günlük aktivitelerimiz sırasında kemiklerimiz yaklaşık 4 MPa, tendonlar ise 40 - 80 MPa değerinde gerilime maruz kalır. Bir kalça eklemindeki ortalama yük, vücut ağırlığının 3 katına kadar çıkabilir, sıçrama gibi faaliyetler sırasında ise bu değer vücut ağırlığının 10 katı kadar olabilir. Vücudumuzdaki bu gerilimler ayakta durma, oturma ve koşma gibi faaliyetler sırasında sürekli tekrarlanır. Biyomalzemelerin tüm bu zor koşullara dayanıklı olması gerekir [51].

Biyomalzemeler piyasaya çıkarılmadan önce, vücut içerisinde istenilmeyen bir etkiye neden olmamaları amacıyla detaylı biyolojik testlere tabi tutulmaktadırlar. İlk olarak vücut dışında daha sonra vücut içerisindeki testler yapılmakta, bunu takiben klinik denemelerle malzemenin biyolojik güvenilirliği ve performansı tespit edilmektedir. Polimerlerin biyoyumluluğu ise genellikle

hücre kültürü ortamlarında yürütülen, in vitro sitotoksosite incelemeleri ile araştırılmaktadır [78].

Biyolojik dokularda kullanılacak malzemenin zararlı etkilerinin araştırılmasında kullanılan yöntemlerin prensibi, malzeme ile biyolojik sistemin teması sonucunda canlı hücredeki fonksiyonel ve yapısal değişimin niteliğini ve ölçüsünü belirlemektir. Bir başka deyişle bu etkinin, biyolojik sistemin yapısında belirgin bir değişiklik şeklinde olup olmadığını ve etkinin tersinir olup olmadığını ortaya çıkarmaktır. Her maddenin biyolojik sistemde etki gösterdiği bir derişim aralığı vardır. Canlı sistemin maddeye verdiği cevap kantitatif olarak değerlendirilebilir. Biyolojik etkilerin incelenmesinde “aynı fonksiyonu ve aynı biyokimyasal metabolik yolları olan hücreler belirli bir kimyasal maddeye karşı aynı etkiyi gösterir” prensibi büyük önem taşır. Bu prensip farklı türlerde hücreler içinde tersi şeklinde geçerlidir. Materyal biyolojik aktivite açısından incelenirken kullanım amacı da göz önünde bulundurulmalıdır . Biyomalzemelerin biyolojik olarak incelenmesinde çok sayıda teknik sunulmuştur. Biyouyumluluğun araştırılmasında standart, basit ve kısa sürede sonuç veren bir test yönteminin kullanımı tercih edilmelidir.

Biyomalzemelerin incelenmesi:

- İn vitro deneyler (birincil ya da eleme testleri),
 - İn vivo hayvan deneyleri (ikincil testler),
 - İnsanlarda klinik çalışmalar
- olmak üzere üç basamakta yürütölmektedir.

Sonuçlarının in vivo koşulların sonuçları ile bağıntısının kurulması güç olsa bile, kontrollü olması ve tekrarlanabilirliği ile in vitro hücre kültürü deneyleri, potansiyel biyolojik zararların analizine dayanmaktadır. İn vivo hayvan deneyleri, malzemenin subkutan (deri altı), kas ya da kemik içersine yerleştirdikten sonra doku cevabının incelenmesine dayanır. İn vitro hücre kültürü deneyleri, hayvan deneyleri ile yer değıştiremez ancak ön eleme yaparak kullanımı hayvan deneylerine olan ihtiyacı azaltabilir [78].

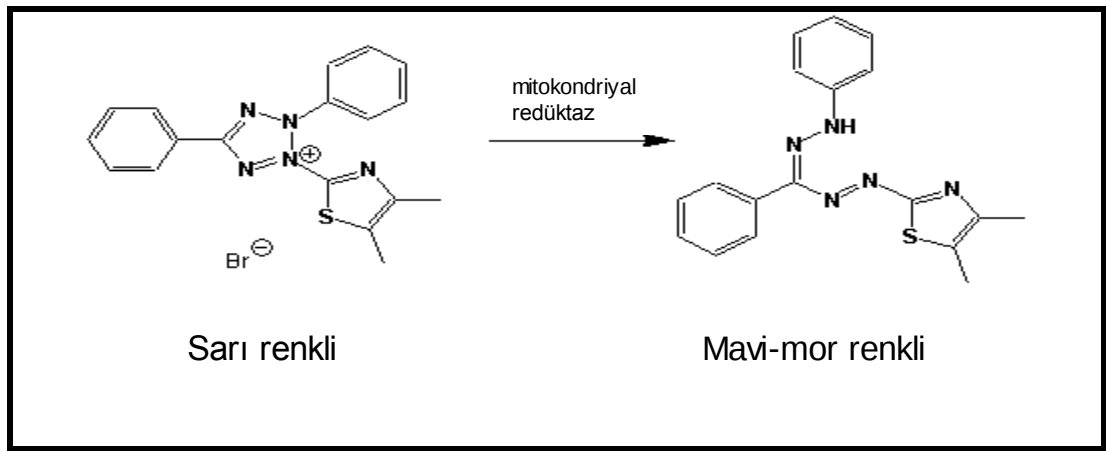
İnsanlarda yürütülen klinik çalışmalar ise birinci ve ikinci basamak testlerde güvenilir bulunan materyalin klinik kullanım ve tepkiler açısından değerlendirilmesidir. Zaman, ekonomi ve etik problemler yeni malzemelerin tümünün bu basamakların hepsinden geçirilerek test edilmesini zorlaştırmaktadır. Malzemenin biyolojik aktivite mekanizmasının in vitro deneylerle öğrenilmesi özelliklerinin geliştirilmesini sağlar.

İn vitro hücre kültürü deneylerinde hücrelerin yaşatılması için açık sistem ya da kapalı sistem inkübatörü kullanılmaktadır. Açık sistemde kültür ortamı ile inkübatör içindeki hava ilişkidir. Bu tür inkübatörlerde ortama bağlı olan bir tüpten CO₂ gelir, hücre ve dokuların yaşatılması için genellikle 37 °C, % 5 CO₂ 'li ve % 95 nemli ortam sağlanmış olur. Uzun süreli kültürlerde mutlaka açık sistem kullanılmalı ve birkaç gün ara ile kültür besiyeri yenilenmelidir. Bu, metabolizma artıklarının uzaklaştırılıp yeni gelişim ve besleyici faktörlerin sağlanması için yapılmaktadır. Kapalı sistemde kültür kaplarının ağızları hava almayacak şekilde kapatılır bu yüzden ortama CO₂ gazı verilmesine ihtiyaç yoktur ve bu sistemler daha çok kısa süreli kültürlerde kullanılır [78].

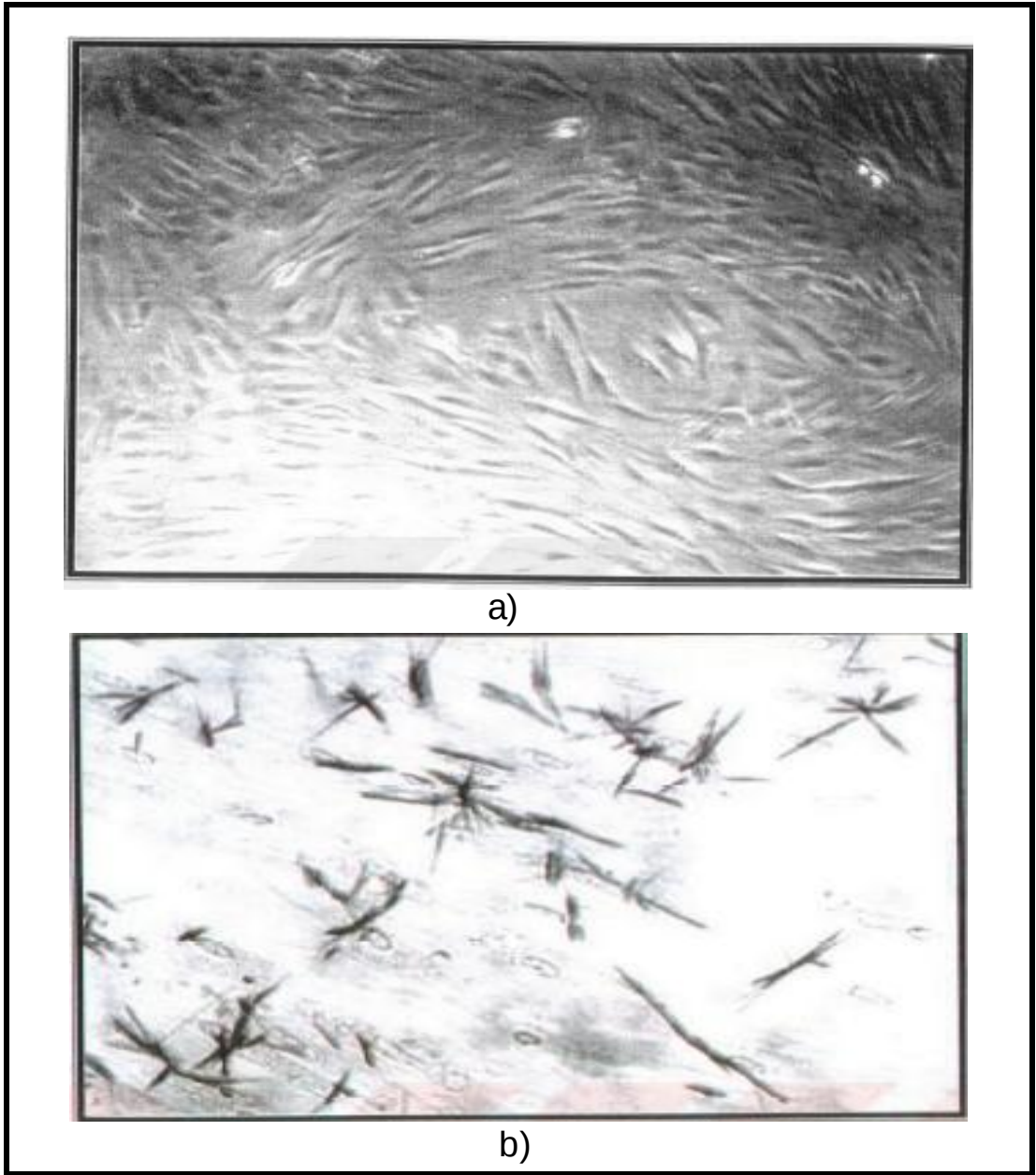
2.2.1. MTT yöntemi

Sitotoksisite çalışmalarında en sık kullanılan in vitro enzimatik test MTT'dir. MTT testini ilk Mosmann Kullanmıştır [79]. MTT yöntemi ile bir hücre topluluğundaki canlı hücreler kolorimetrik ve kantitatif olarak saptanabilmektedir. Bu test mitokondriyal dehidrojenaz enzim aktivitesini ölçer. MTT'nin ana bileşeni 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazoliumbromid'dir. Özel bir çözücü ile çözündürülen MTT sarı renklidir. Canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrojenaz enzimleri MTT'nin tetrazolyum halkasını parçalayarak suda çözünmeyen mor-mavi renkli formazan kristallerini oluştururlar (Şekil 2.6) [80]. Bu kristaller asitlendirilmiş izopropanol içinde çözünürler. Sonuçta elde edilen mor solüsyon spektrofotometrik olarak ölçülür. Hücre sayısındaki artma veya azalma, hücre sayısı ile bağlantılı

olarak oluşan formazan miktarında değişmeye neden olur [81]. Spektrofotometrik ölçüm sonucu elde edilen değer test edilen malzemenin toksisitesini belirler. Bu yöntem diğer sitotoksikite test yöntemlerine göre çok daha hassastır ve tekrarlanabilir sonuçlar vermektedir, ayrıca uygulaması kolay ve hızlı bir metottur [82]. Şekil 2.7’de MTT testinden elde edilebilecek genel bir görüntü görülmektedir [83].



Şekil 2.6. MTT'den formazan kristalleri oluşumu



Resim 2.1. Fibroblast hücreler (a) ve oluşan formazan kristalleri (b)

2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

2.3.1. Akrilik asit

AA oda sıcaklığında renksiz ve kokulu bir sıvıdır. Su ve birçok organik çözücü ile karışabilir. AA ticari açıdan iki sınıfta incelenir. Esterleşme tepkimeleri için olan teknik sınıf (% 94'lük) ve suda çözünen reçine üretimi için olan derişik sınıf (kütlege % 98,0 - 99,5 ve kütlege maksimum % 0,3'ü su) tır.

AA ısıya, ışığa veya metallere maruz bırakıldığında çok kolay polimerleşir. Bu yüzden kuvvetli bir ekzotermik polimerleşmeden korunmak için ticari AA içerisine polimerleşme inhibitörü eklenir [84]. AA'nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. AA'nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri

Kimyasal yapısı	$\text{CH}_2 = \text{CHCOOH}$
Molekül ağırlığı (g/mol)	72,0
Donma noktası ($^{\circ}\text{C}$)	13,5
Yoğunluk (g/mL)	1,045 (25,0 $^{\circ}\text{C}$)
Normal kaynama noktası ($^{\circ}\text{C}$)	141,0
Refraktif indeksi	1,4185 (25,0 $^{\circ}\text{C}$)
Kinematik viskozitesi (cks)	1,1 (25,0 $^{\circ}\text{C}$)

AA kolayca polimerleşmesi ve hidrofilik özelliklerinden dolayı pek çok uygulama alanına sahiptir. AA'nın kullanım alanlarına; Tekstil malzemelerinin modifiye edilmesinde, plastiklerde, kâğıt imalatında, dış cephe boyalarında, zemin cilalarında, zemin ve duvar kaplamalarında, otomobil, araç-gereç ve mobilya verniklemede, eczacılıkta kontrollü ilaç salım sistemlerindeki gibi örnekler verilebilir.

Bioadhesive hidrojel olarak hem mukozaya yapışan hemde viskozite artıran polimer olarak PAA jelleri hiyalüronikasit sodyum tuzudur. PAA jelleri genel olarak insertlerden daha rahat kullanılır ve gözde merhemler gibi bulanıklık yapmaz [85]. Vajinal lezyonların tedavisi amacıyla PAA, metilselüloz, karboksi metilselüloz, hidroksi propil selüloz ve hidroksipropil metil selüloz kullanılarak asiklovir içeren bioadhesive tabletler hazırlanmıştır. Bioadhesive polimer olarak PAA ve hidroksipropil metil selüloz kullanılan tabletlerin laktik çözeltisi ve distile suda 6 saat boyunca şiştiği ve etkin madde salımının 8 saatten daha fazla olduğu görülmüştür.

PAA, sodyum karboksimetilselüloz ve çinkosülfat içeren vajinal tabletler bu konuda verilebilecek örnekler arasında bulunmaktadır [86 - 90].

2.3.2. Akrilamid

Renksiz ve kokusuz bir madde olan AAm oda sıcaklığında kristal yapıdadır. Su, metanol, etanol, dimetil eter ve aseton içerisinde çözünebilirken benzende ve heptanda çözünmez. Monomeri erime noktasında veya UV ışığı altında anında polimerleşir. Katı akrilamid oda sıcaklığında kararlı haldeyken, eridiğinde veya yükseltgen ajanlarla etkileştirildiğinde şiddetle polimerleşir. Ayrıştırmak için ısıtıldığı zaman akrilamid, zehirli bir gaz, keskin duman ve çeşitli NO gazları yayar. Eğer yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılırsa patlayabilir [91]. AAm'in kimyasal yapısı ve bazı özellikleri Çizelge 2.3'de sunulmuştur.

Çizelge 2.3. AAm'in kimyasal yapısı ve bazı özellikleri

Kimyasal yapısı	$\text{CH}_2=\text{CHCONH}_2$
Molekül ağırlığı (g/mol)	71,1
Erime noktası (°C)	85
Yoğunluk (g/mL)	1,13 (25 °C)
Normal kaynama noktası (°C)	125
Sudaki çözünürlüğü (g/100mL)	216

AAM akrilonitrilin sülfürik asitle tepkimesinden elde edilir.

AAM banyo üretiminde, yapıştırıcılarda, kağıt ve tekstil sanayinde, atık arıtma işlemlerinde, cevher işlemede, çeşitli tepkimelerde çapraz bağlayıcı olarak kullanılır [92]. Çeşitli polimerlerin modifikasyonlarında aşırı kopolimer olarak yer almaktadır [93, 94]. Ayrıca kontrollü ilaç salım sistemlerinde çok geniş bir uygulama alanına sahiptir [95].

2.3.3. İtakonik asit

Kokusuz ve beyaz kristalin bir madde olan IA'nın diğer ismi metilen süksinik asittir. Oda sıcaklığında katı olup suda, etanolde ve asetonda rahatlıkla çözünür. IA, küf ya da çeşitli karbonhidratların fermantasyonundan elde edilir [96]. Reaktif özellikleri nedeniyle polimerleşme için son derece önemli ajanlardan biridir.

IA'nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri Çizelge 2.4'de sunulmuştur.

Çizelge 2.4. IA'nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri

Kimyasal yapısı	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2=\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $
Molekül ağırlığı (g/mol)	130,1
Erime noktası (°C)	165 - 168
Yoğunluk (g/mL)	1,5 - 1,6
Normal kaynama noktası (°C)	125
Sudaki çözünürlüğü (%)	8,0 - 9,5

IA'nın sıklıkla kullanıldığı alanlar şunlardır [97]:

- ❖ IA akrilik elyafların üretiminde üçüncü monomer olarak kullanıldığında elyafa kolay boyanabilme ve iyi temas edilebilme gibi özellikler katar. Akrilik elyafların üretiminde uluslararası standart miktar bellidir (% 1.3 - 1.8).
- ❖ IA, dolgu maddesi olarak kullanılabilir. Plastiklerin ve paltoluk kumaşların üretiminde IA % 1 - 5 arasında kullanıldığında ürüne kolay boyanabilme, izolasyon, su geçirmezlik ve korozyon önleyici özellikler katar. Kağıt yüzeylerinde, halıların döşemesinde bulunduğu gibi yüksek dayanıklılıkta plastik ve cam elyafın yapımında kullanılır.
- ❖ Tutkal materyali olarak kullanılır. IA dan yapılan akrilik asit emülsiyonu dokuma olmayan elyaflar için kusursuz bir yapıştırıcıdır. IA içeren monomerik poli (vinil klorür) (PVC) tutkalı, kağıt ve selüloid için en iyi yapıştırıcıdır.
- ❖ Dişçiliğe ait yapışkanların üretiminde de IA kullanılabilir. Çok değerlikli metal oksitlere sahip olan ve AA/IA'nın çapraz bağlanmasından oluşan dişçiliğe ait yapışkanlar basınca dayanıklı ve fizyolojik uyartılabilir özelliktedir.
- ❖ IA içeren polimerler parlak ve saydam özellikteki özel lenslerle ve yapay kıymetli taşların yapımı için uygundur.
- ❖ Lekelerin çıkarılmasında ajan olarak kullanılabilir. IA/AA polimeri bir çeşit yüksek moleküllü şelatlaştırıcıdır. Bu polimer buhar kazanında veya temizleme işlerinde kullanılan aletlerin soğutulmasında, sudaki alkali magnezyum ve alkali kalsiyum kirlerinin oluşumuna karşı özel bir etkiye sahiptir.

- ❖ Çeşitli kopolimerleşme tepkimelerinde, reçine eldesinde kullanılır.
- ❖ Plastikleştirici ve yağ üretiminde katkı maddesi olarak da uygulama alanına sahiptir [92].
- ❖ Eczacılıkta ise kontrollü ilaç salım sistemlerinde denenmektedir [98, 99].

2.3.4. Krotonik asit

Beyaz, kristalin bir katı olan CA, cis ve trans izomerleri halinde bulunmaktadır. Cis formu 15,0 °C de erir ve izokrotonik asit olarak da adlandırılır. Trans formunun erime sıcaklığı ise 72,0 °C dir. Genel olarak su, etanol, toluen ve asetonda çözünür.

CA nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri Çizelge 2.5'te sunulmuştur.

Çizelge 2.5. CA nın kimyasal yapısı ve bazı özellikleri

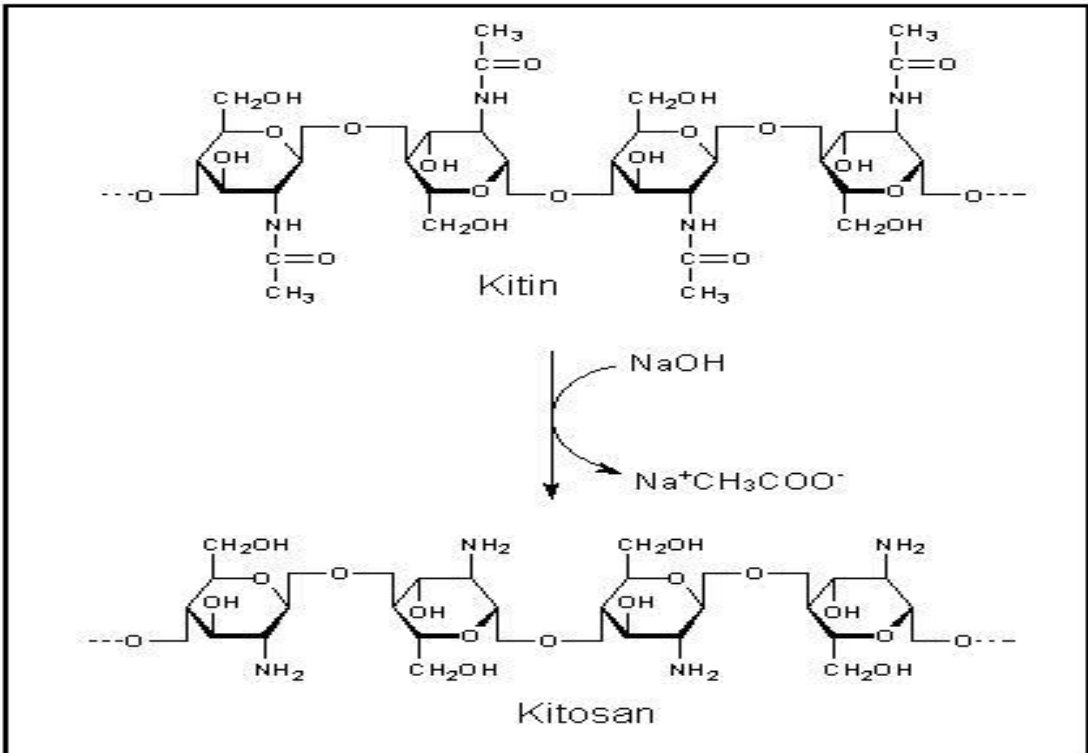
Kimyasal yapısı	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} = \text{CH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Molekül ağırlığı (g/mol)	86,09
Erime noktası (°C)	70 - 73
Yoğunluk (g/mL)	0,543
Normal kaynama noktası (°C)	185 - 199,5
Sudaki çözünürlüğü (g/L)	6,2 (20 °C)

olan krotonik asit, krotonaldehitin oksidasyonu ile elde edilir. Çeşitli reçinelerin, polimerlerin, plastikleştiricilerin ve ilaçların sentezinde kullanılır [100].

2.3.5. Kitosan

Cs, kitinin N-asetillenmiş türevidir [101]. Kitin; uzun ve dallanmış yapıya sahip bir polisakkarittir. Kitin, selülozun ikinci karbonunda bulunan $-OH$ grubunun $-NHCOCH_3$ grubu ile yer değiştirmiş türevi olarak düşünülebilir. Kitin, genel olarak bazı deniz kabuklularının, yumuşakçaların ve böceklerin kabuklarında yer almaktadır [102 - 104].

Kitin, poli(N-asetil-2-amino-2-deoksi- β -D-glikopiranoz) olarak adlandırılır ve burada N-asetil-2-amino-2-deoksi- β -D-glikopiranoz (veya glikozamin) grupları (1 $\rightarrow$ 4) β bağları ile bağlanır [105, 106]. Cs, kitinin alkaline deasetilasyonu ile elde edilen bir poliaminosakkariddir ve amorf yapıdadır. Kitinden kitosan elde edilmesi Şekil 2.7’de sunulmuştur.



Şekil 2.7. Kitinden Kitosan elde ediliş tepkimesi

Cs amorf yapıda katı bir polimerdir. Cs pratik olarak suda hemen hemen hiç çözünmez; formik asit ve asetik asit gibi organik asitlerin sulu çözeltilerinde

çözünür. Suda çözmek için hafif asidik ortamlar oluşturulmaktadır [107, 108]. Cs ve suda çözünen türevi hidroksipropil Cs toksik olmayan ve vücutta enzimatik olarak parçalanabilen bir polimerdir [109].

Cs'nin özellikleri N-asetil grubunun süstitüsyon derecesine, polimerizasyon derecesine ve üretim prosesi ile kullanılan kitinin özelliklerine bağlı olarak olarak değişmektedir.

Cs kontrollü salım sistemlerinde çok kullanılır ve bu amaçla mikroküre, implant ve insertleri hazırlanmıştır [110]. Cs kullanımını cazip kılan bazı özellikleri ve bu özelliklerle ilgili uygulamaları Çizelge 2.6'da özetlenmiştir [111, 112].

Çizelge 2.6. Kitosanın özellikleri ve uygulamaları

Alan	Uygulamalar
Fizikokimyasal	Atık su arıtımı, boyalar için bağlayıcı, değişik ayırma membranları, ultrafiltrasyon, gaz ve sıvı ayırma; kromatografik destek materyali; fiber; kâğıt imalatı
Biyomedikal	Parçalanabilen sutureller; yapay deri ve böbrek membranları; sert ve yumuşak lens; ameliyet ambalajları; hücre kültürü; immobilize enzim destek materyali; yara-yanık örtü materyali; spesifik protein/enzim adsorpsiyonu; diş kompozitleri
Farmasötik	Geciktirilmiş salım materyali; tablet bağlayıcı, stabilizer gibi katkı
Besin	Besin antistaling ajan; besin katkıları; tohum kaplama, toprak iyileştirme; kozmetik ürünleri

2.3.6. Fibroblast hücre

Olgun bağ dokuda sayıca en çok bulunan ve bağ dokusunun fibrillerini, amorf maddesini sentezleyip salgılayan hücrelerdir. Bu nedenle bağ dokusunun ana hücreleri diye anılırlar. Düzensiz dallanmalar yapan uzantıları, ökromatik fakat nispeten yoğun kromatinli çekirdeği, protein sentezi yapan hücrelere özgü gelişmiş granüllü endoplazmik retikulumu ve geniş golgi kompleksi ile bazofilik stoplazması bu hücrelerin tipik özellikleridir. Fibroblastların aktif olmayan yani fibril ve ara madde sentezlemeyen inaktif şekillerine ise fibrosit denmektedir. Fibrositler de uzantılı fakat fibroblasta göre çok az sitoplazmalı hücrelerdir. Bu nedenle mikroskopta sadece çekirdekten ibaretmiş gibi görülürler. Her iki hücrenin de şekli düzensizdir. Genellikle yassı-uzun ya da ovalimsidirler; gövde kısımlarından stoplazmik uzantılar çıkar. Çekirdekleri genellikle limon gibi ovaldir. Bu hücreler birbirlerine dönüşebilirler. Mitotik yetenekleri sınırlı olmakla beraber, doku yaralanmalarında fibroblasta gereksinim arttığından bölünerek çoğalabilirler. Böylece doku kaybının ara madde ve fibril senteziyle tamiri sağlanır. Aynı şekilde normalde fagositoz yeteneği olmamakla beraber, sürekli uyarılar sonucu gerektiğinde fagositoz yapabilmektedirler. Son yıllarda gerektiğinde intrastoplazmik kontraktıl elemanlar ve hücre membranında bağlantı kompleksleri kazanarak myofibroblast olarak adlandırılan hücrelere dönüştükleri gösterilmiştir. Fare fibroblast hücrelerinin invert mikroskop altındaki görüntüsü Şekil 2.9'da sunulmuştur [113, 114].

L929 fare fibroblast hücresi monolayer olarak yani bir yüzeye tek tabaka halinde tutunarak üreyen bir hücredir. Bu hücrelerin dublikasyon süresi denilen yani başlangıçtaki sayısının iki katına ulaştığı ikilenme süresi oldukça kısadır ve elde edilen üründe kalitelidir. Bu hücreler bir yüzeye tutundukları için besi ortamının değiştirilmesi oldukça kolaydır bu da çalışmalarda büyük kolaylık sağlamaktadır. Bu hücrelerin biyoyumluluk çalışmalarında kullanılma nedenlerinin en önemlisi özelliği ise hassasiyetlerinin çok yüksek oluşudur. Ortamdaki değişikliklere çok hızlı cevap verirler. pH 7,2 - 7,5,

sıcaklık 35-37 °C ve % 5 CO₂ li ortam optimum üreme koşullarını sağlar [115]. L929 hücre kültürü birçok uluslar arası standart kuruluşu tarafından sitotoksisite çalışmaları için önerilmektedir [116,117].



Resim 2.2. Fare fibroblast hücreleri

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu bölümde sürdürülen deneysel çalışmalar ayrıntıları ile açıklanmıştır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Cihazlar

- ❖ Cs, (Aldrich), (FM6300000, 75-85% deacetylated)
- ❖ AA, (Aldrich)
- ❖ AAm, (Aldrich)
- ❖ CA, (Sigma, ABD)
- ❖ IA, (Sigma, ABD)
- ❖ EGDMA, (Aldrich)
- ❖ Sodyum bi sülfat, (Merck)
- ❖ Amonyum persülfat, (BDH)
- ❖ Sodyum bikarbonat, (Sigma, ABD)
- ❖ Etil alkol, (Sigma, ABD)
- ❖ Asetik asit, (Merck)
- ❖ Tripan mavisi, (Sigma, ABD)
- ❖ FBS (Fötal sığır serumu), (PAA, Avusturya)
- ❖ Dulbecco's Modified Eagle's Medium, (DMEM, Sigma Co., Germany)
- ❖ Trypsin/10mM EDTA (Etilendiamintetraasetat), (Sigma, ABD)
- ❖ PBS (fosfat buffer saline), (Sigma, ABD)
- ❖ İzopropanol:HCl (0,1 M), (Sigma, ABD)
- ❖ Etüv, (Ultralab U-120)
- ❖ Santrifüj, (Ultralab)
- ❖ Terazî, (Scaltec)
- ❖ Su banyosu, (Memmert)
- ❖ Manyetik karıştırıcı, (Şimşek Labortechnik)
- ❖ UV / Visible Spektrofotometre, (UNICAM UV2 – 100)
- ❖ Spektrofotometre, (Versa max tunable microplate reader, USA)
- ❖ Elisa pleyt okuyucu, (ASYS Hitech UVM 340 Plate Reader)
- ❖ Laminar akış kabin, (Bioair, Type II Laminar Flow Cabinet, İtalya)

- ❖ UV sterilatör, (Philips)
- ❖ Karbondioksitli etüv, (Heraeus Instruments, Almanya)
- ❖ Işık mikroskobu, (Olympus CK2, Japonya)
- ❖ Işık mikroskobu, (Olympus CH, Japonya)
- ❖ İnvert mikroskop, (Olympus IX71, Japonya)
- ❖ Dijital kamera, (Olympus C-4000, Japonya)
- ❖ Hemasitometre, (Bürker hemositometre, Almanya)
- ❖ 96 gözlü hücre kültür kabı, (Nunc, Almanya)
- ❖ Hücre kültürü flasks, (Nunc, Almanya)
- ❖ 0,2 µm filtreler, (Sartorius)
- ❖ Santrifüj tüpleri, (Nunc, Almanya)
- ❖ MTT, 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-difeniltetrazolyum bromür, (Sigma)
- ❖ L929 Fare fibroblast hücresi, (No: 92123004, Şap Enstitüsü, Ankara)
- ❖ Mikropipetler, (Scaltec, Almanya)
- ❖ Pipetler, (Costar steripipette, ABD)
- ❖ Petri kapları, (Orange Scientific)
- ❖ Çeşitli Cam Malzeme
- ❖ Çeşitli plastik malzeme

3.2. Hidrojellerin Hazırlanması

Yapılan çalışmada kullanılan PAA, PAAm, P(AA-ko-CA), P(AA-ko-IA), P(AAm-ko-CA), P(AAm-ko-IA) ve Cs hidrojellerinin hazırlanması aşağıda sunulan alt başlıklarda ayrıntılarıyla anlatıldı. Kullanılan tüm hidrojeller radikalik polimerleşme yöntemiyle hazırlandı [107, 118, 119].

3.2.1. AA, AAm, IA ve CA temelli hidrojellerinin hazırlanması

Çizelge 3.1’de sunulan mol oranlarında tartılan AA, AAm, CA ve IA monomerleri, toplam hacim 7,5 mL olacak şekilde saf suda çözüldükten sonra içlerine çapraz bağlayıcı olarak 0,1’er mL EGDMA ilave edildi. Daha sonra bu çözeltiler, içlerinde $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (0,5 g/0,5 g) redoks

başlatıcı çiftlerinin bulunduğu 1,0 cm çaplı cam tüpler içerisine hızlı bir şekilde aktarıldı ve çapraz bağlanma tepkimesinin tamalanması için 24 saat oda şartlarında bekletildi. Tepkime sonunda silindir bloklar şeklinde elde edilen hidrojeller cam tüplerin içerisinden tüpleri kırmak suretiyle çıkarıldılar ve 0,5 cm kalınlığında diskler halinde kesilerek sabit tartıma gelinceye kadar önce oda şartlarında, daha sonra 37,0 °C de etüvde 48 saat kurutuldular [120]. Elde edilen bütün hidrojeller, biyouyumluluklarının belirlenmesi amacıyla hücre kültürü ile çalışmalara başlamadan önce toksik etki yapabileceği düşüncesiyle ve saflaştırmak amacıyla tepkimeye girmemiş monomerlerin uzaklaştırılması için yıkama işlemine tabi tutuldular. Bunun için hidrojeller 10 gün süreyle ve hergün suları değiştirilerek saf su içinde tutuldular. Yıkama işlemi sonunda hidrojeller oda şartlarında kurumaya bırakıldılar.

Çizelge 3.1. Hidrojellerin hazırlandığı monomer çözeltilerindeki AA, AAm, IA ve CA miktarları (M)

Monomer Hidrojel	AA	CA	IA	AAm	Yorum
PAA	6	-	-	-	Sağlam
P(AA-ko-CA)	5	1	-	-	Sağlam
P(AA-ko-IA)	5	-	1	-	Sağlam
PAAm	-	-	-	6	Sağlam
P(AAm-ko-CA)	-	1	-	5	Sağlam
P(AAm-ko-IA)	-	-	1	5	Sağlam

3.2.2. Kitosan hidrojelinin hazırlanması

2,5 g kitosan tartılıp % 1'lik asetik asit çözeltisinde manyetik karıştırıcı çözüldü. 3,0 cm çapındaki cam petrilere 1.0 cm yüksekliğinde konuldu ve önce oda şartlarında, daha sonra 37,0 °C de etüvde 48 saat kurutularak ince film halinde Cs elde edildi saf suda yıkanarak hücre kültür çalışmalarına hazır hale getirildi.

3.3. Hidrojellerin Şişme Değerlerinin ve Ortam pH'sına Etkilerinin İncelenmesi

Hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla değişimi 37 °C'de 48 saat süreyle incelendi. Etüvde kurutulup sabit tartıma getirilen disk şeklindeki kuru hidrojeller ilk tartımları alındıktan sonra (m_0), 30,0'ar mL DMEM içeren kaplara konuldu. Belirli aralıklarla ortamdan alınan hidrojeller, yüzeyleri hafif bir şekilde kâğıtla kurularak tartıldı (m) ve tekrar şişme ortamına konuldu. Bu işleme hidrojeller denge şişme değerine ulaşınca kadar devam edildi ve disklerin kütlelerindeki değişimler kaydedildi.

Her bir hidrojel için yüzde şişme (% Ş) değeri Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplandı [121,122].

$$\% \text{ Şişme} = \frac{m - m_0}{m_0} \times 100 \quad (3.1)$$

m = Şişirilmiş disk kütlesi,

m_0 = Kuru disk kütlesi

Ayrıca sitotoksosite çalışmalarında jeller besi ortamına konulduğunda ortamın pH değerini etkilemiş olabilir düşüncesi ile, tüm jeller 25'er mL hücre

çalışmalarının yapılacağı DMEM besi ortamına atıldı. 24 saat sonunda ortam pH'ları ölçülerek başlangıç pH değerine göre farkı takip edildi.

3.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

Çalışmanın bu bölümünde sentezlenen PAA, P(AA-ko-CA), P(AA-ko-IA), PAAm, P(AAm-ko-CA), P(AAm-ko-IA) ve Cs hidrojellerinin biyoyuymululuklarının araştırılması amacıyla yapılan sitotoksisite deneylerinde kullanılacak hücre kültürünün hazırlanması çalışmaları anlatıldı. Çalışmaların bu bölümü Ankara Şap Enstitüsü Müdürlüğü Hücre Kültürü Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.4.1. Hücre kültürünün hazırlanması

Bu başlık altında biyoyuymululuk çalışmaları için referans alınan ISO 10993/ EN 30993 (International Organization for Standardization, 1999), standartlarında belirtilen hücre sayısına ulaşmak amacıyla yapılan hücre çoğaltma işlemleri anlatıldı. Hücre kültür çalışmaları, hücre bankası - hücre kültürü koleksiyonundan (HÜKÜK) sağlanan L929 fare fibroblast hücreleri ile yürütüldü.

Ampuller içerisinde -80 °C'de dondurulmuş olarak saklanan hücreler hızlı bir şekilde 37 °C'deki su banyosuna alınarak çözüldü ve santrifüjlendikten (4 dakika, 1000 rpm) sonra DMEM besi ortamı içerisine alındı. DMEM içerisine daha önceden üretme gücünü artırmak amacıyla % 10 FBS ve ortamın pH'sını ayarlamak amacıyla % 1 oranında NaHCO₃ (% 7,5 ' lik) ilave edildi. Daha sonra bu hücreler kültür kaplarında 37 °C 'deki % 5 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakıldı. Logaritmik üreme fazında bulunan, aktif ve yüzeyi % 90 - 95 oranında kaplamış hücreler, % 0,01 tripsin/10 mM EDTA çözeltisi kullanılarak tripsinize edildi ve 37 °C inkübatörde 5-10 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda makroskobik ve mikroskobik olarak incelenen

hücrelerin kültür kabı yüzeyinden ayrıldığı görüldü. Yüzeyden ayrılan hücreler bir miktar besi ortamı ile 5 dakika santrifüj edildi (800-1000 rpm); süpernatant (üstteki sıvı) kısmı atıldıktan sonra santrifüj tüpündeki hücreler, önceden sıcaklığı 37 °C ye getirilen DMEM besi ortamı ile homojenize edildi ve sayım için örnek alındı. 0,9 mL hücre süspansiyonu üzerine 0,1 mL % 1'lik tripan mavisi çözeltisi ilave edildi ve hemasitometre kullanılarak ışık mikroskobu altında hücre sayımı yapıldı. Aynı zamanda hücrelerin canlılığı ve morfolojik durumları da incelendi. Canlı hücreler boyayı membranlarından geçirmezken, ölü hücreler boyayı içlerine almaktadır. Standartta belirtilen sayıya ulaşınca kadar hücre çoğaltma işlemi devam ettirildi. Hücreler ile yapılan ve steril ortam gerektiren tüm işlemler laminar akış ünitesinde gerçekleştirildi. Hücrelere ait görüntüler invert mikroskop altında dijital kamera ile alındı. Bu görüntüler Bölüm 4.4'te sunulmuştur.

3.4.2. L929 üreme davranışının incelenmesi

L929 üreme davranışı çalışmasında kullanılan L929 hücrelerinin pasajlama işlemleri, %10 FBS içeren DMEM ortamında, 37 °C'lik inkübatörde (% 5 CO₂, % 95 nemlilik) gerçekleştirildi.

Hücre üreme davranışı çalışmaları için çok gözlü polistiren kültür kapları ve 40 mm'lik petri kapları kullanıldı. Hücreler, tripsinle muamele edilerek aktif olarak üredikleri kültür kabı yüzeylerinden kaldırıldı ve çok gözlü kültür kaplarına ekildi. MTT çalışmaları için, 24 gözlü kültür kaplarının her bir gözüne 1 mL, 1×10^5 hücre/mL derişiminde ekim yapıldı. Kültürün 1, 2, 3, 5, 9 ve 12. günlerinde hücrelerin üzerindeki kültür ortamı çekilip 24 gözlü kabın her bir gözüne 600 µl taze DMEM ve 60 µL MTT (2,5 MTT/1 mL PBS) eklendi. Örnekler, 37 °C'de 3 saat bekletildikten sonra, ortam uzaklaştırıldı ve her göze 400 µL HCl/izopropanol çözeltisi eklenerek oluşan mor formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Elde edilen çözelti, 96 gözlü elisa pleytine aktarıldı ve pleyt okuyucu kullanılarak 570 nm'de absorbands ölçümü yapıldı.

Hücre sayım testleri ise 12 gözlü polistiren kültür kaplarında gerçekleştirildi. Bu çalışma için, 12 gözlü kültür kabının her bir gözüne 1×10^5 hücre/mL derişiminde hücre ekimi yapıldı. Kültürün 1, 2 ,3, 5, 9 ve 12. günlerinde hücrelerin üzerindeki kültür ortamı çekildi ve hücreler tripsinize edildi. Hücreler tamamen kalktıktan sonra, elde edilen hücre süspansiyonu tripan mavisi ile boyanıp Neubauer lamı kullanılarak hücre sayımı yapıldı.

Hücrelerin yapışma, yayılma ve üreme karakteristikleri, 40 mm'lik petrielerde, invert mikroskop kullanılarak gözlemlendi. Tüm örnekler için, ortam, her üç günde bir yarı yarıya taze besi ortamıyla değiştirildi.

3.5. Sitotoksisite Çalışmaları

Biyouyumluluk için sitotoksisite testlerinde ISO 10993'te önerilen, 1; Doğrudan temas yöntemi (Direct contact method), 2; Dolaylı temas yöntemi (Indirect contact method) yöntemleri uygulandı. Her iki yöntem için de uygulanan basamaklar aşağıdaki alt başlıklarda sunuldu.

3.5.1. Doğrudan temas yöntemi (Direct contact method)

ISO 10993/ EN 30993'e standardına uygun şekilde, tartılan hidrojjeller önce 30 dakika % 70'lik etanolde ve sonra 15 dakika UV altında steril edildi [123]. Diğer yandan % 10 FBS ve % 1 NaHCO_3 içeren DMEM'in mililitresinde 4×10^4 tane hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan 96 gözlü hücre kültür kabının her gözüne 100'er μL eklendi. Bu şekilde 3 hücre kültür kabı hazırlanarak 37 °C 'deki % 5 CO_2 içeren etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda hücre kültür kapları ışık mikrobosıyla incelemeye tabi tutuldu. Hücrelerin kültür kabı gözlerinin tabanlarına tutundukları gözlemlendi. Kültür kaplarındaki besi ortamı boşaltılıp gözlere, önceden steril edip hazırladığımız hidrojjellerden 10'ar mg konuldu, üzerlerine 100'er μL taze besi ortamı ilave edildi. Bundan sonra kültür kapları 24 , 48 ve 72 saat inkübasyon sonunda ışık mikroskobu altında

morfolojik olarak incelendi ve daha sonra MTT yöntemiyle mitokondriyal aktivitelerine bakıldı.

MTT için belirlenen zamanlarda (24, 48, 72 saat) inkübatörden alınan kültür kaplarının içlerindeki besi ortamı boşaltıldı; yerine 100 µL taze besi ortamı ve 0,13 µL MTT çözeltisi (5 mg MTT/1 mL PBS) eklendi. Bu işlemler oda sıcaklığında, steril ve karanlık koşullarda yürütüldü. Kültür kapları ışık almaması için aliminyum folyo ile sarıldıktan sonra 37 °C'deki % 5 CO₂ içeren etüvde 4 saat süreyle inkübe edildi, üzerlerindeki çözelti alındı. Oluşan formazan kristallerinin çözünmesi için 0,1 M izopropanol/HCl çözeltisi eklendi ve elde edilen çözeltinin spektrofotometrede 570 nm'de absorbans değeri okundu [124, 125]. Her bir hidrojel ve kontrol hücresi için elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı. Hiçbir madde eklenmeyen kontrol kültürlerinden elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması da alındı ve bu değer % 100 kabul edildi [126, 127 - 128]. Yüzde bağıl canlılık değerleri Eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Bağıl canlı hücre (\%)} = \frac{[A]_{\text{test}}}{[A]_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.2)$$

$[A]_{\text{test}}$: Madde eklenmiş olan kültürlerden elde edilen absorbans

$[A]_{\text{kontrol}}$: Hiçbir madde eklenmemiş kültürlerden elde edilen absorbans

Her bir jel için hesaplanan yüzde canlı hücre değerleri zamana karşı grafiğe geçirildi.

3.5.2. Dolaylı temas yöntemi (Indirect contact method)

Çalışmanın bu bölümü de yine ISO 10993/ EN 30993 standartları referans alınarak gerçekleştirildi. Dolaylı temas yönteminde hidrojellerin içerisinde bekletildiği besi ortamından ekstraktlar alınarak deneyler yürütülmektedir. Bunun için 20 mL besi ortamına 100 mg olacak şekilde hidrojeller hassas terazide tartıldı; önce 30 dakika % 70'lik etanolde ve sonra 15 dakika UV de bekletilerek steril edildi. Daha sonra da içerisinde % 10 FBS ve % 1 NaHCO_3 içeren DMEM besi ortamına aktarıldı. 24 saat 37 °C deki etüvde inkübe edildikten sonra hidrojeller besi ortamından alındı. Geride kalan bu besi ortamı dolaylı temas yönteminde kullanacağımız ekstraktır. Bu ekstrakt 0,2 μm gözenek çaplı enjektör filtrelerden geçirilerek steril hale getirildiler.

Diğer taraftan % 10 FBS ve % 1 NaHCO_3 içeren DMEM'in mililitresinde 3×10^4 tane hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı. 96 gözlü kültür kabına bu süspansiyondan 100'er μL eklendi ve 37 °C 'deki % 5 CO_2 içeren etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda kültür kapları inkübasyondan alınarak ışık mikrokobuyla incelemeye tabi tutuldu. Hücrelerin kültür kabı gözlerinin tabanlarına tutundukları gözlemlendi. Kültür kaplarındaki besi ortamı boşaltıldı ve mikropipetle daha önceden süzerek hazırladığımız ve sıcaklığını 37 °C'ye getirdiğimiz ekstraktlardan her göze 100'er μL eklendi. Kontrol gözlerine ise 100'er μL taze besi ortamı eklendi. Daha sonra bu kültür kapları 37 °C'deki % 5 CO_2 içeren etüvde tekrar inkübasyona bırakıldı. 24, 48, 72, 96 ve 120 saat inkübasyon sonunda her gün 5 kültür kabı olmak üzere ışık mikroskobu altında hem morfolojik olarak incelendi ve hem de MTT yöntemiyle mitokondriyal aktivitelere bakıldı.

MTT çalışması 3.5.1'de anlatıldığı gibi yapıldı. Her bir ekstrakt ve kontrol ortamı için elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alınıp zamana karşı grafiğe geçirildi. Ayrıca elde edilen absorbans değerleriyle Eşitlik 3.2 kullanılarak yüzde canlı hücre değerleri hesaplandı ve her bir jel için bulunan

yüzde canlı hücre değerleri zamana karşı grafiğe geçirildi. Ayrıca hergün hücrelerin görüntüleri invert mikroskop altında dijital kamera ile alındı.

4. DENEYSEL BULGULAR VE YORUM

Bu bölümde deneysel kısımda anlatılan çalışmalarda elde edilen bulgular, grafikler ve resimler yorumlanarak sunulmuştur.

4.1. Hidrojellerin Şişme Değerleri ve Ortam pH'sına Etkisi

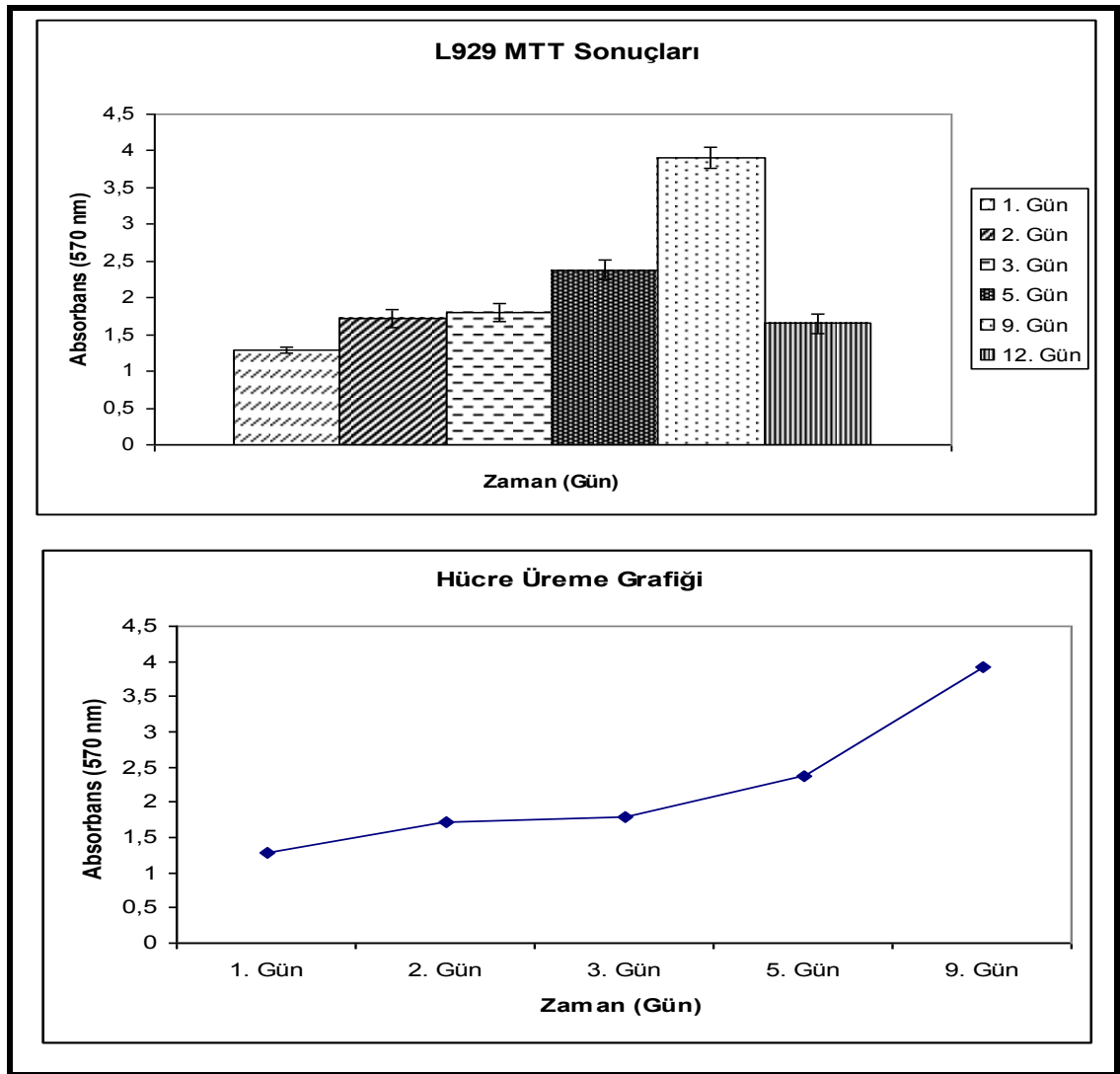
Hidrojellerin sitotoksiste çalışmalarının yapıldığı besi ortamı DMEM içindeki şişme değerleri Bölüm 3.3'te açıklandığı şekilde yürütülen deneylerden saptanmıştır. Hidrojellerin denge şişme değerine 24 saat sonunda eriştikleri gözlenmiş ve sonuçlar, çeşitli literatürlerde yer alan PBS içerisindeki ortalama şişme değerleri ile beraber Çizelge 4.1'de sunulmuştur. DMEM içindeki şişme sonuçları incelendiğinde, Cs'nin en düşük şişme değerine sahip olduğu görülür. Bu durum Cs'de iyonlaşabilecek grupların azlığı ile açıklanabilir. AA içeren tüm hidrojeller beklendiği gibi yüksek şişme değerine sahiptir. DMEM ortamının pH değerleri incelendiğinde bu şişme davranışları daha rahat açıklanabilir. AA içeren jellerin besi ortamında beklemesi ile ortam pH sı asidik bölgeye kaymaktadır. Bu durumda $-COOH$ gruplarının iyonlaşması ve anyonik hidrojel yapının şişmesi gerçekleşmektedir. AAm içeren jeller ise ortam pH'sını bazik bölgeye kaydırmakta, katyonik yapıdaki jelin şişmesi gözlenmektedir. DMEM ortamının başlangıç pH değeri 7,33 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.1. Hidrojellerin ortalama % Ş değerleri ve ortam pH'sı

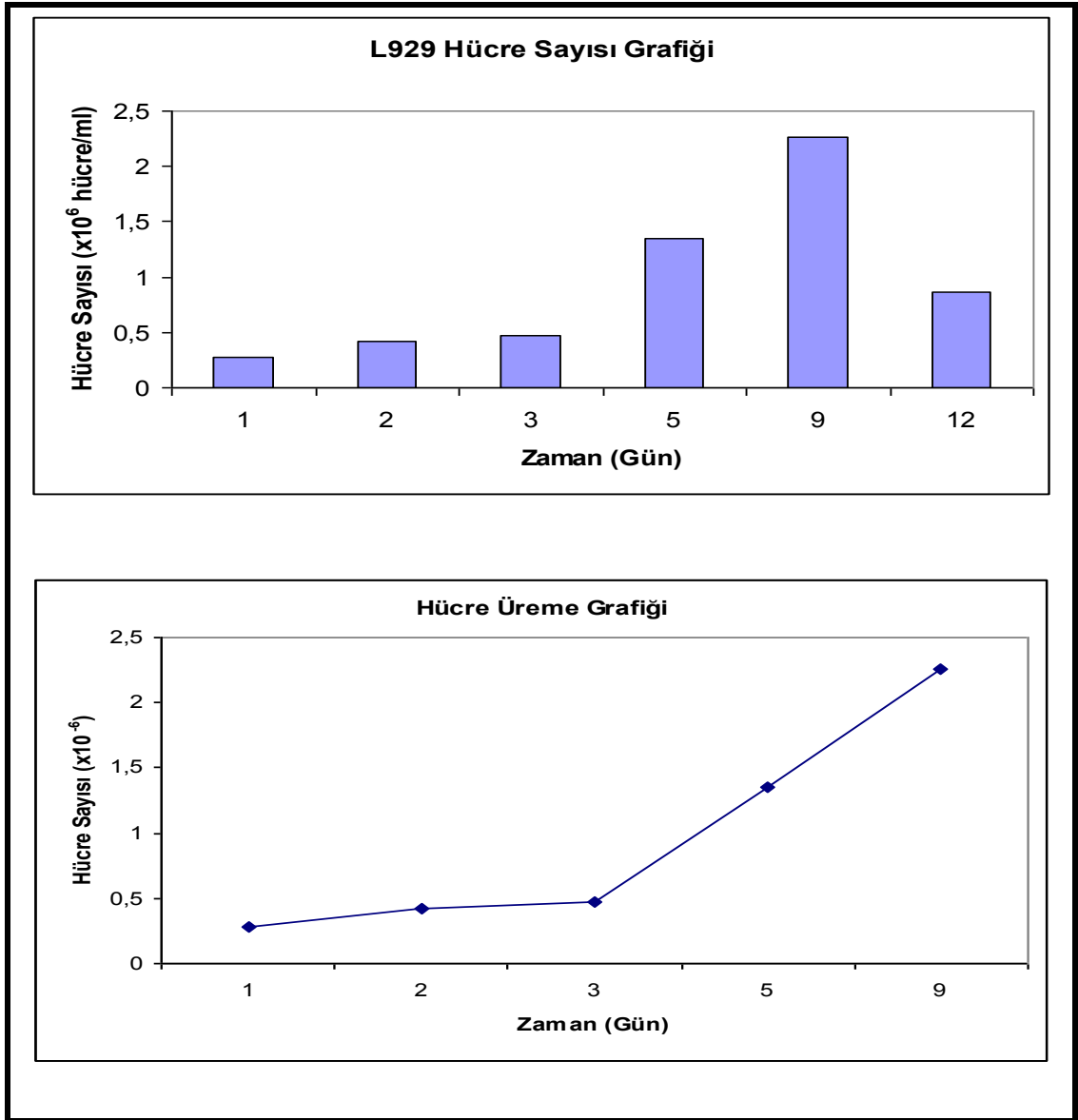
Hidrojel	PAA	P(AA-ko-CA)	P(AA-ko-IA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs
% Ş (DMEM içinde)	2142,15	2249,22	2426,17	1984,25	1837,60	1730,40	985,09
pH (DMEM 24. saat)	6,86	6,88	6,76	8,42	8,46	8,12	7,88
% Ş (PBS içinde)	2300,80	2100,80	2250,25	1830,60	1900,40	1776,50	960,10

4.2. L929 Üreme Davranışı

Yapılan çalışma sonucu elde edilen MTT ve sayım değerleri, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Bu tablolardan da görülebileceği gibi, hücreler kültürün 3. gününde logaritmik üreme fazına geçmişlerdir.

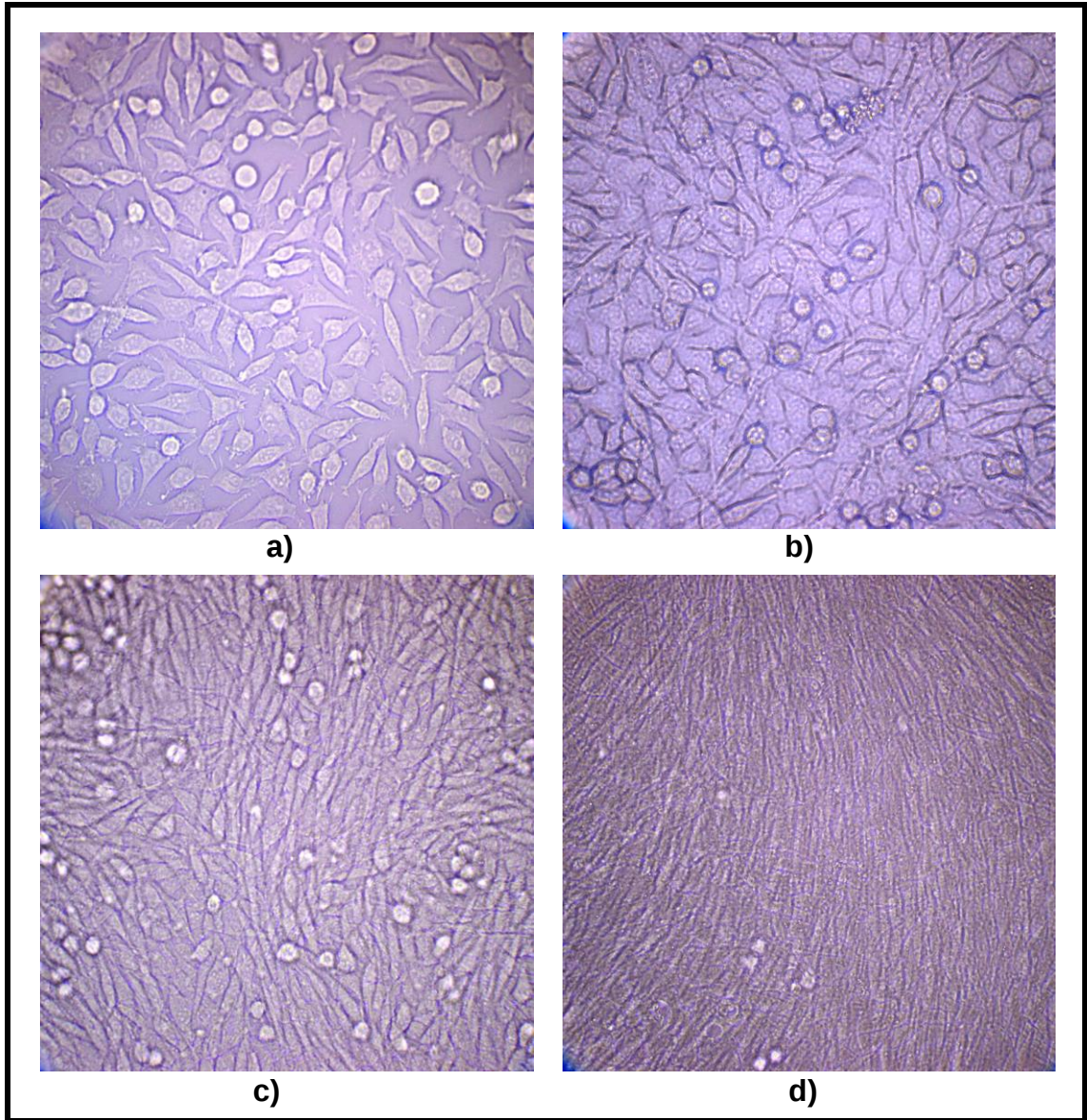


Şekil 4.1. L929 hücrelerine ait MTT sonuçları



Şekil 4.2. L929 hücrelerine ait sayım sonuçları

İnvert mikroskop altında hücrelerin günlük gözlemleri yapılmış; hücrelerin 1, 3, 5 ve 9. günlerdeki morfolojileri ve yayılımları Resim 4.1’de verilmiştir.



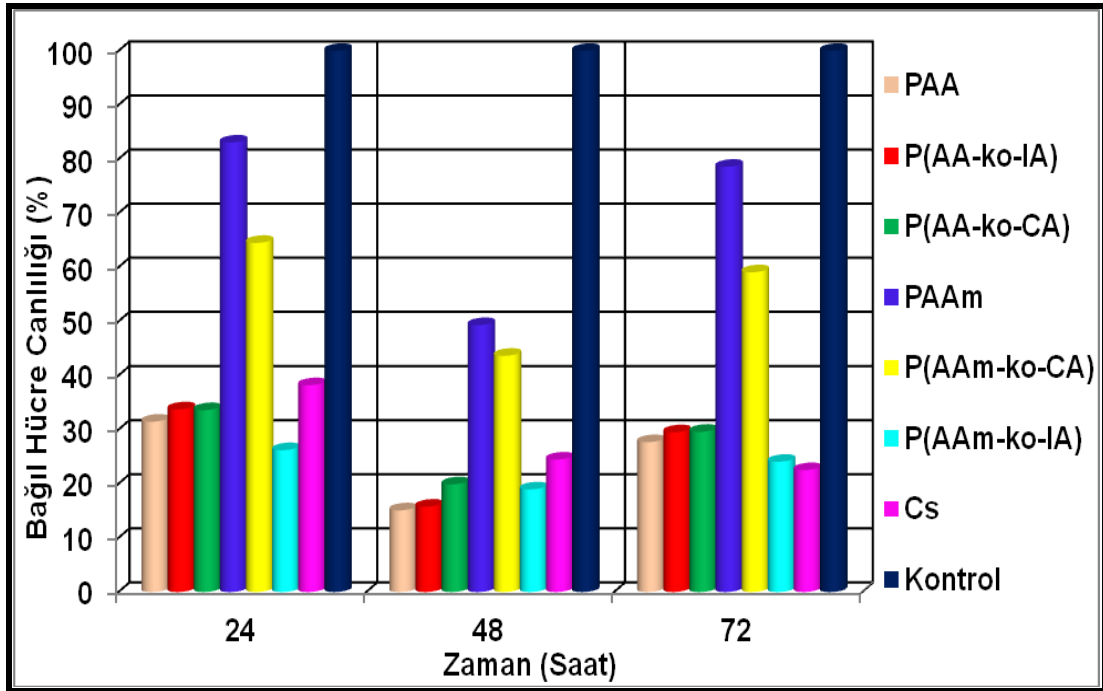
Resim 4.1. Kültür kabındaki L929 hücrelerinin invert mikroskop görüntüleri (x20); a) 1. gün, b) 3. gün, c) 5. gün, d) 9.gün

Resim 4.1’de açıkça görüldüğü gibi hücreler düzgün fibroblastik morfolojiye sahiptirler. Birinci gün sonunda hücrelerin çoğu yüzeye yapışıp yayılarak fibroblastik morfolojilerini kazanmışlardır. İlerleyen zamana bağlı olarak hücreler arası boşluklar tamamiyle dolmuş ve 9. günde “confluent kültür” oluşmuştur. Bundan sonra ölüm fazı başlamıştır.

4.3. Doğrudan Temas Yöntemi Sonuçları

Bu yöntemde daha önce anlatıldığı gibi, hücre kültürü ve hidrojeller aynı ortamda iken çalışmalar yapılmıştır. Işık mikrokobu ile 24, 48 ve 72 saat sonunda yapılan incelemelerde hücrelerin morfolojik durumlarının normal olduğu, tutundukları yüzeyden ayrılmalarının söz konusu olmadığı ve hidrojellerin hücrelere herhangi bir toksik etki yapmadıkları gözlenmiştir. Bu durum hidrojellerin biyouyumluluğu hakkında olumlu fikir vermiştir.

Ancak doğrudan temas yönteminde hidrojellerin hem hücre kültür kabının tabanına ve kenarlarına ve hem de hücrelere yapıştığı gözlenmiştir. Ayrıca üremesine devam eden hücrelerin hidrojellerin gözeneklerine girebilme ihtimali de sözkonusudur. Spektrofotometrede doğru okumalar yapılabilmesi için MTT ile canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitelerinin incelenmesi aşamasından önce hidrojellerin kültür kabından alınmaları gerekmektedir. Bu aşamada hidrojeller kültür kaplarından alınırken hem gözeneklerindeki canlı hücreleri hem de yapıştığı yüzeylerdeki bir kısım canlı hücreleri beraberinde götürdüğü yapılan mikroskobik incelemede gözlenmiştir. Bunun yanı sıra yapışan hidrojeller kültür kabı gözlerinin yüzeylerinden tamamen temizlenememiştir. Bütün bu olumsuz durumlar göz önüne alındığında okunan absorbans değerlerinde hatalar olabileceği açıktır. Buna rağmen durumu gözleyebilmek amacıyla MTT testi gerçekleştirilmiştir. Bu teste ait 570 nm'de 24, 48, ve 72 saat sonunda okunan absorbans değerleri EK-1'de sunulmuştur. Ortalama absorbans değerleri Eşitlik 3.2'de kullanılarak hesaplanan yüzde bağıl canlı hücre değerlerinden elde edilen sütun grafiği de Şekil 4.3'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. Doğrudan temas yönteminde bağıl canlılık değerlerinin zamanla değişimi

Şekil 4.3 incelendiğinde, bağıl canlılık değerlerinin AA içeren tüm hidrojeller için düşük çıktığı gözlenmektedir. Saf AAm içeren hidrojel için ise bağıl canlılık genel olarak daha yüksektir [129]. Ancak AAm içerisine CA ve IA gibi karboksilli asit grupları içeren bileşenler konduğunda, canlılığın göreceli olarak düştüğü belirlenmiştir. Bu durumda asidik grupların hücre üremesine olumsuz etki yaptığı söylenebilir ve bu beklenen bir durumdur [130]. Çizelge 4.1 tekrar ele alındığında bu durum daha da anlamlı olmaktadır. Besi ortamının pH'sının, AA içeren hidrojellerle temas ettiğinde asidik bölgeye kaymasının hücre üremesini göreceli olarak düşürdüğü söylenebilir. AAm içeren hidrojellerle temas eden DMEM ortamı ise bazik pH değerlerine sahiptir ve bu da hücre üremesini daha olumlu etkilemiştir.

Cs içeren hidrojel ortamlarındaki hücre canlılığının düşük çıkması anlamlı değildir. Çünkü Cs doğal bir polimerdir. Bu durumda hücre canlılığı değerleri şişme değerleri ile mukayeseli yorumlanabilir. Cs tüm hidrojeller içinde en az şişen yapıdadır ve bu da hücrenin üreyeceği yüzey alanının diğerlerine göre

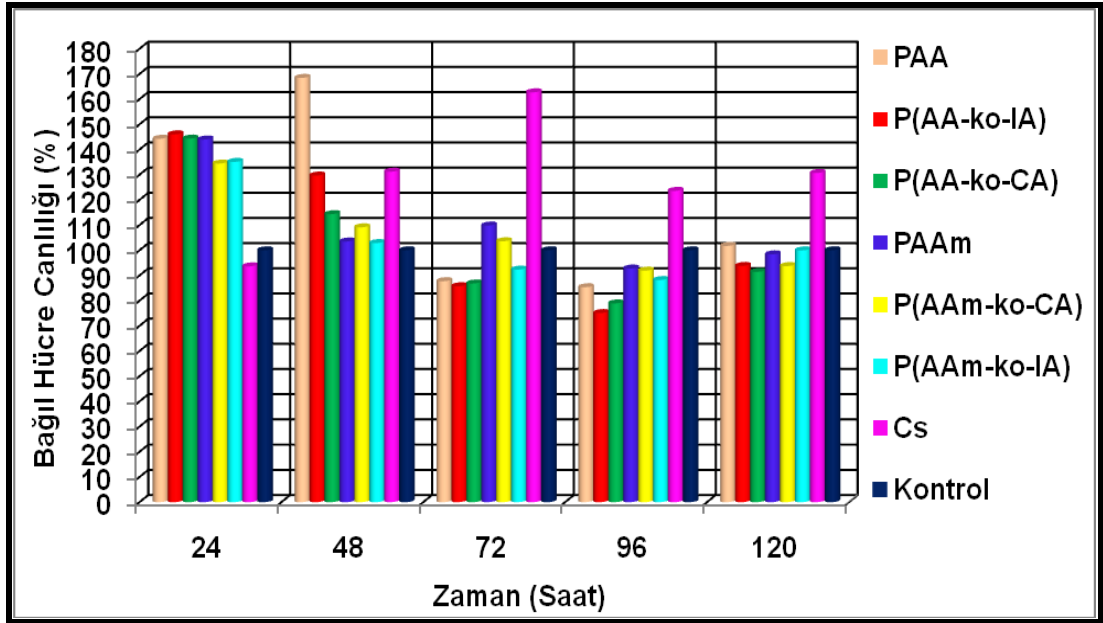
düşük olması demektir. Böylece bağıl canlılık değerleri Cs'li hidrojeller için % 30'lar civarında kalmıştır. Yine de bu değerler Cs için beklenenden daha düşüktür. Bu da, doğrudan yöntemde yukarıda söz edilen sıkıntılı ölçüm sürecinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir.

Tüm hidrojeller için bağıl canlılığın süre ile değişimi incelendiğinde, 48 saat civarında bir düşüş ve daha sonra tekrar yükseliş görülmektedir. Bu durum hücrenin ortama uyum süreci ile bağlantılı olabilir. Çalıştığımız hücrelerin üreme grafiği çalışmasında elde edilen ikilenme süreleri dikkate alınırsa, bu şekilde davranış göstermiş olmalarının normal olduğu söylenebilir.

4.4. Dolaylı Temas Yöntemi Sonuçları

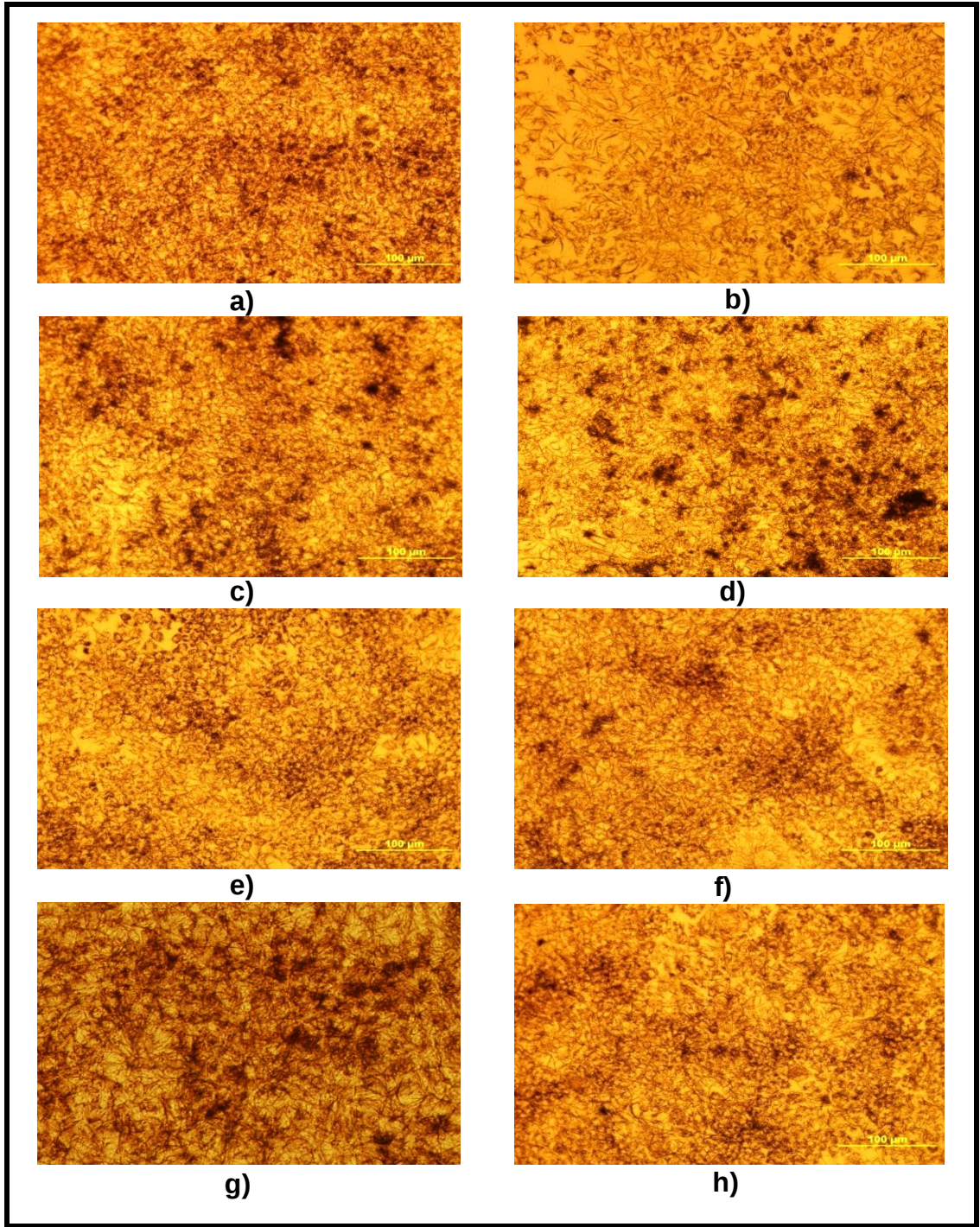
Dolaylı temas yönteminde oluşturulan ekstraktlarda üretilen hücreler için hem MTT testleri hem de mikroskopik incelemeler yürütülmüştür.

Tüm hidrojel ekstraktları 570 nm'de 24, 48, 72, 96 ve 120 saatleri için yürütülen MTT analizlerinden elde edilen absorbans değerleri EK-2'de sunulmuştur. Ortalama absorbans değerlerinden Eşitlik 3.2'de kullanılarak hesaplanan yüzde bağıl canlı hücre değerleri Şekil 4.4'de sütun grafiği şeklinde sunulmuştur. Bu grafik incelendiğinde tüm hidrojeller ekstraktlarının oldukça yüksek bağıl canlılık değerleri verdiği görülür. Cs ekstraktı için elde edilen veriler tüm değerlerden daha yüksek çıkmıştır. Doğal bir polimer olan Cs için bu beklenen bir sonuçtur. Genel olarak 24 saatteki canlılık yüzdelerinin daha yüksek olduğu, sonraki saatlerde ise kontrol değerine daha fazla yaklaştıkları söylenebilir [131]. Hidrojel ekstraktlarının pH değerleri 6,76 ile 8,46 arasında değişmektedir. Optimum üreme pH değerinin 7,2-7,4 civarında olmasına rağmen 6.37 (± 0.05) ile 7.78 (± 0.08) arasındaki pH değerlerinde hücrelerin üremeye devam ettikleri ve hücre canlılığının göreceli olarak etkilendiği literatür bilgilerinde yer almaktadır [132]. Dolayısıyla hidrojel ekstraktlarında pH değerlerinin hücre canlılığını olumsuz etkilemediği söylenebilir.

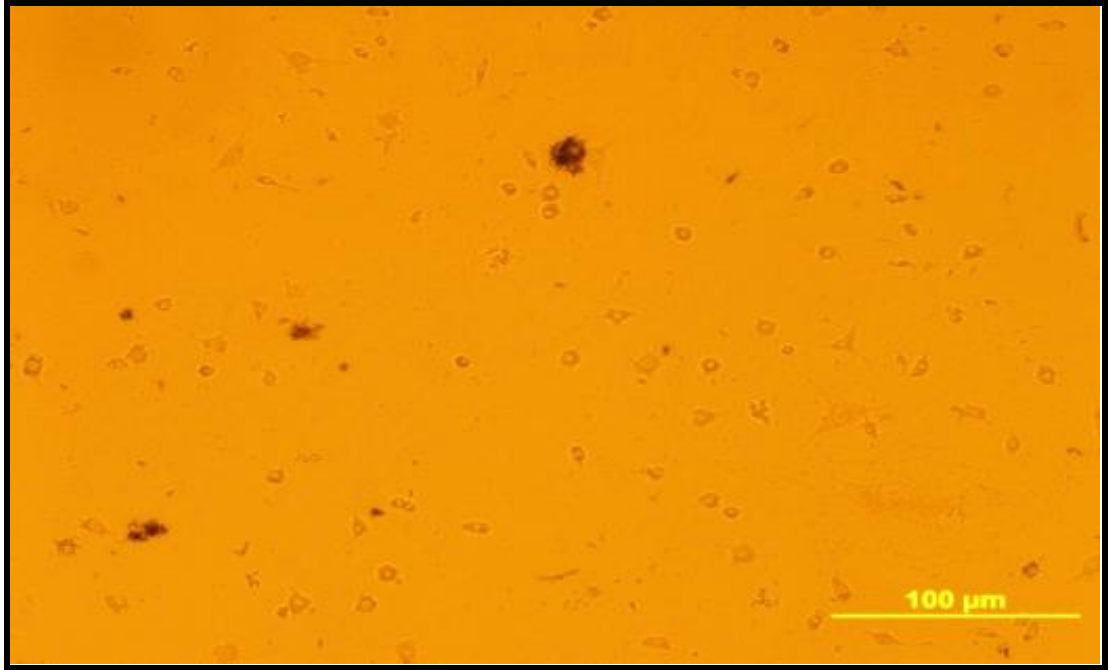


Şekil 4.4. Dolaylı temas yönteminde bağıl canlılık değerlerinin zamanla değişimi

MTT testi sırasında oluşan formazan kristallerine ait invert mikroskop görüntüleri de Resim 4.2’de sunulmuştur. Bu görüntülerde tüm yapılarda yoğun kristal oluşumu rahatlıkla belirlenmektedir. Resim 4.3’te hücrelerin çoğunun öldüğü bir ortama konulmuş MTT den herhangi bir kristal oluşumunun gerçekleşmediği gözlenir. İki resim kıyaslandığında formazon kristallerinin varlığı ve yokluğu arasındaki fark açıkça tesbit edilebilir [133].



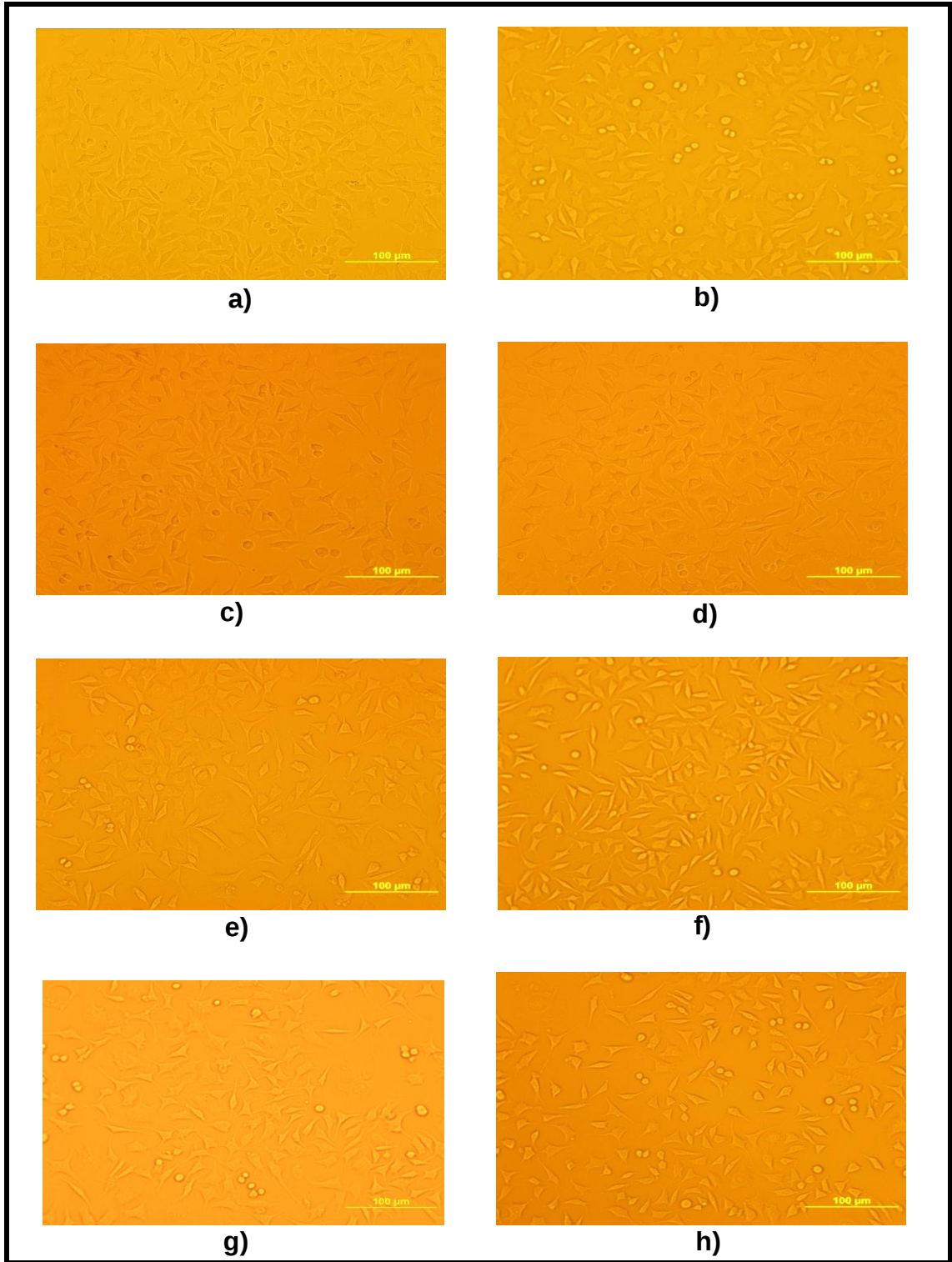
Resim 4.2. 96. saatte MTT uygulaması sonucunda oluşan formazan kristalleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol



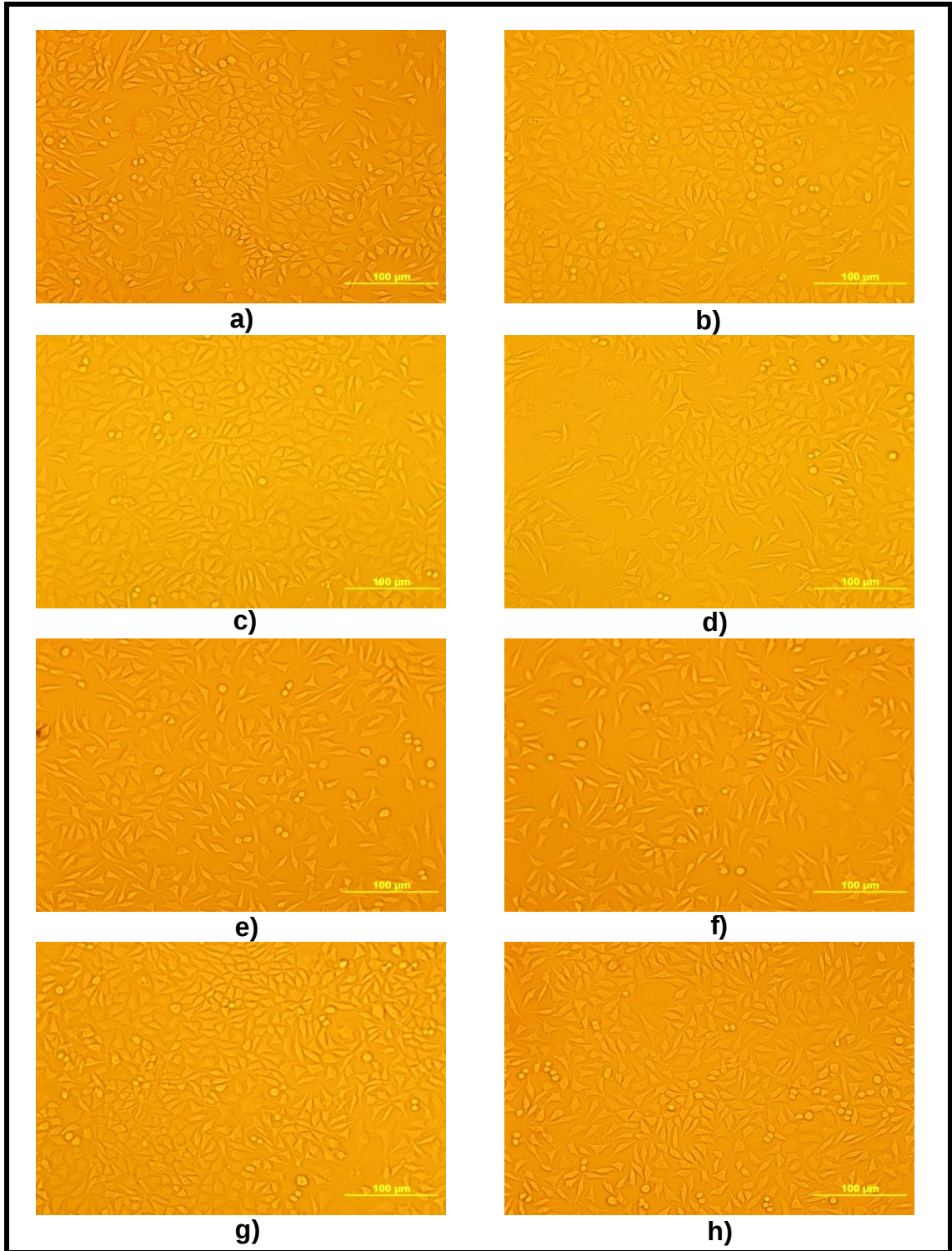
Resim 4.3. Ölü hücrelerin bulunduğu ortamda MTT sonucu formazan kristallerinin oluşmadığı gözlenmektedir

24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonunda ışık mikroskopuyla yapılan incelemede hücrelerin morfolojik durumlarının normal olduğu, tutundukları yüzeyden kalkmadıkları ve üremeye devam ettikleri görülmüştür. Bu metotta ekstraktlar kullanıldığından dolayı temas yönteminde karşılaşılan olumsuz durumların hiçbirisiyle karşılaşılmamıştır. Dolayısıyla okunan absorbans değerleri çok daha doğru olduğu gibi çalışma da çok daha rahat bir şekilde yürütülmüştür.

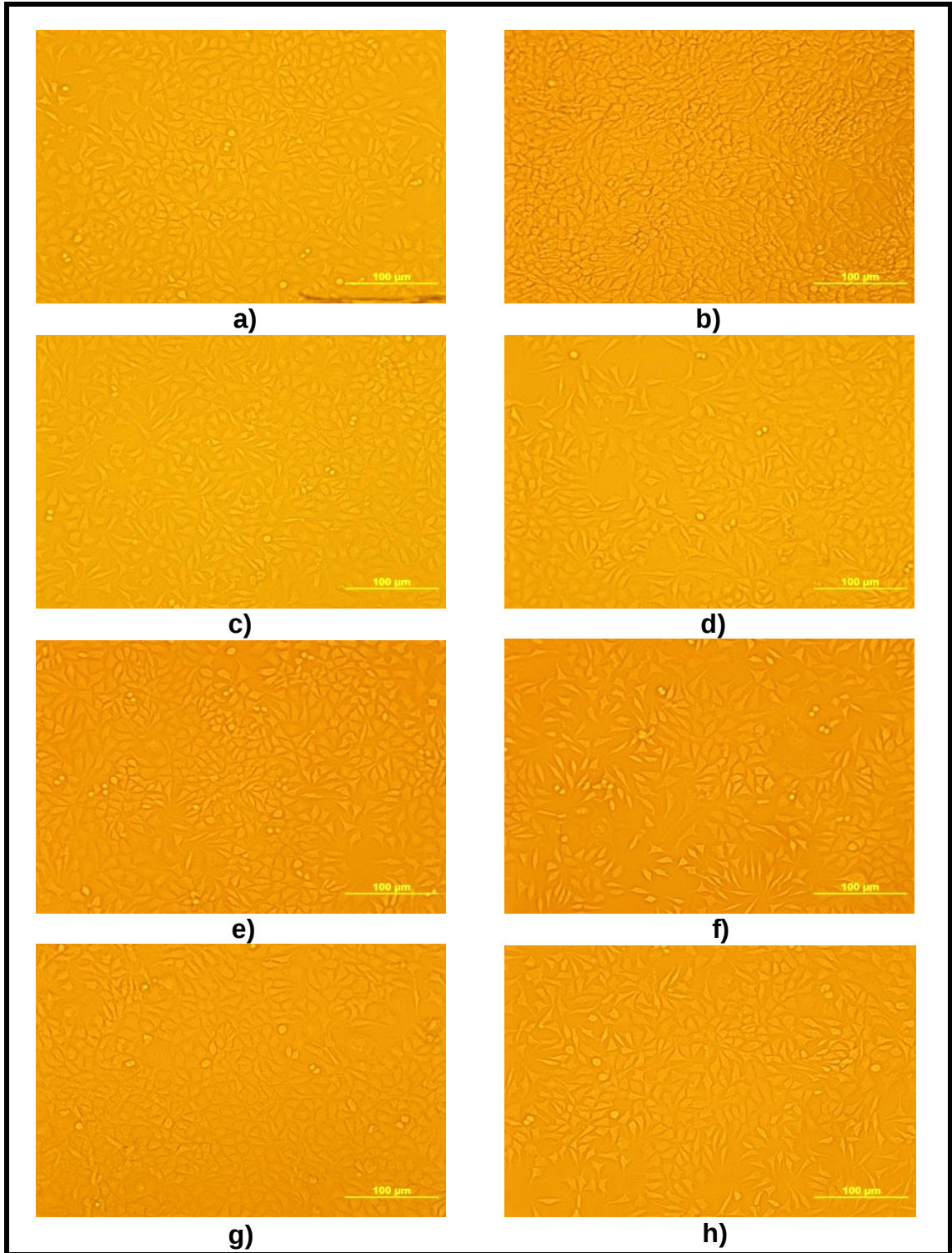
Invert mikroskop altında dijital kamera ile alınan hücrelerin görüntüleri Resim 4.4, Resim 4.5 ve Resim 4.6 Resim 4.7, Resim 4.8’de sunulmuştur. Bu görüntüler Şekil 4.4’deki sütun grafik sonuçları ile uyumludur. Örneğin 48. saat görüntülerine bakıldığında, en yüksek bağıl canlılığın PAA hidrojel için elde edildiği ve bu durumun invert mikroskop görüntüleri ile uyumlu olduğu belirlenir. Yine 72. saat sonuçlarına bakınca, bu sefer de Cs’li ortamın daha fazla hücre üremesini sağladığı tespit edilir.



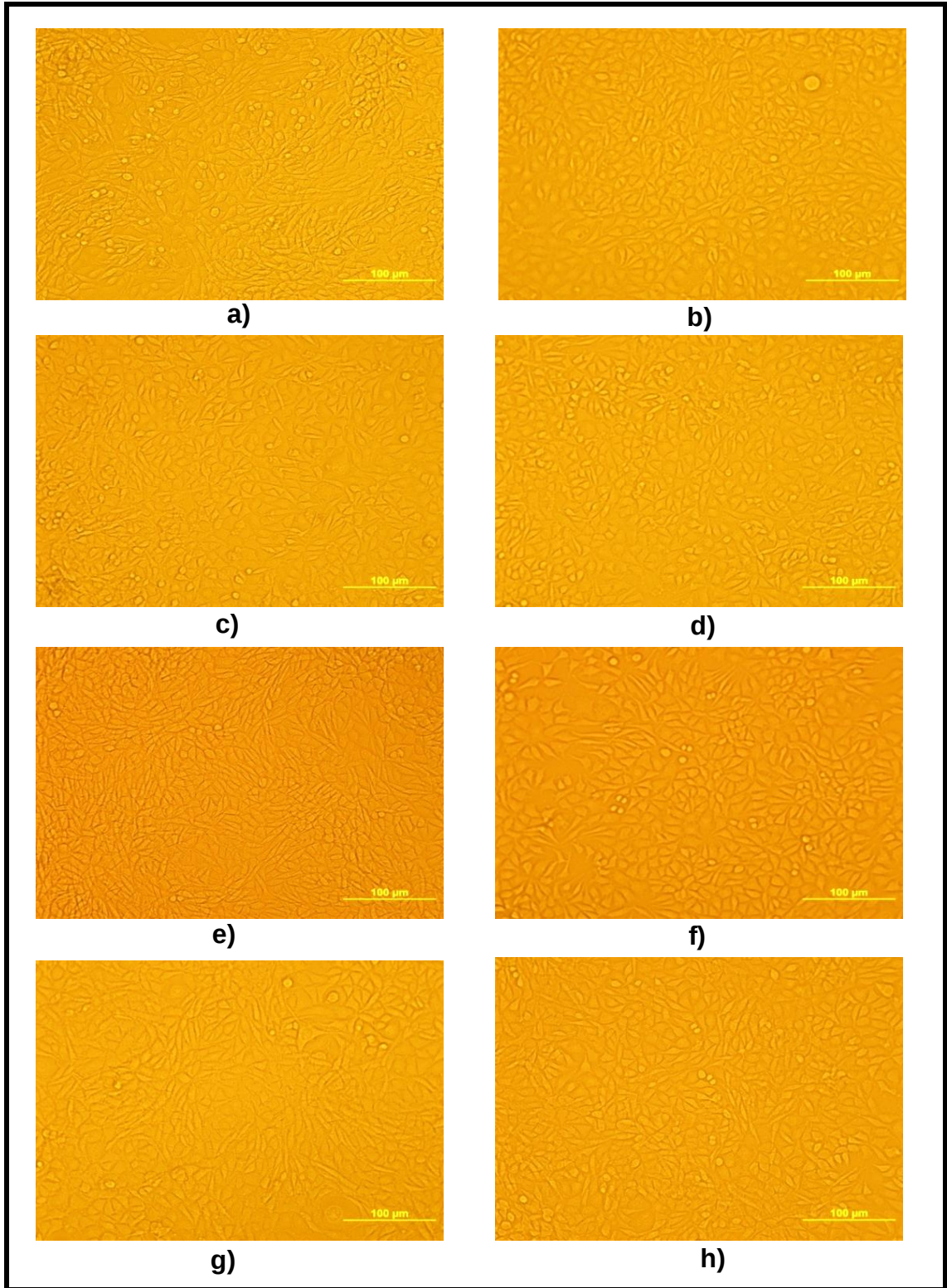
Resim 4.4. 24. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol



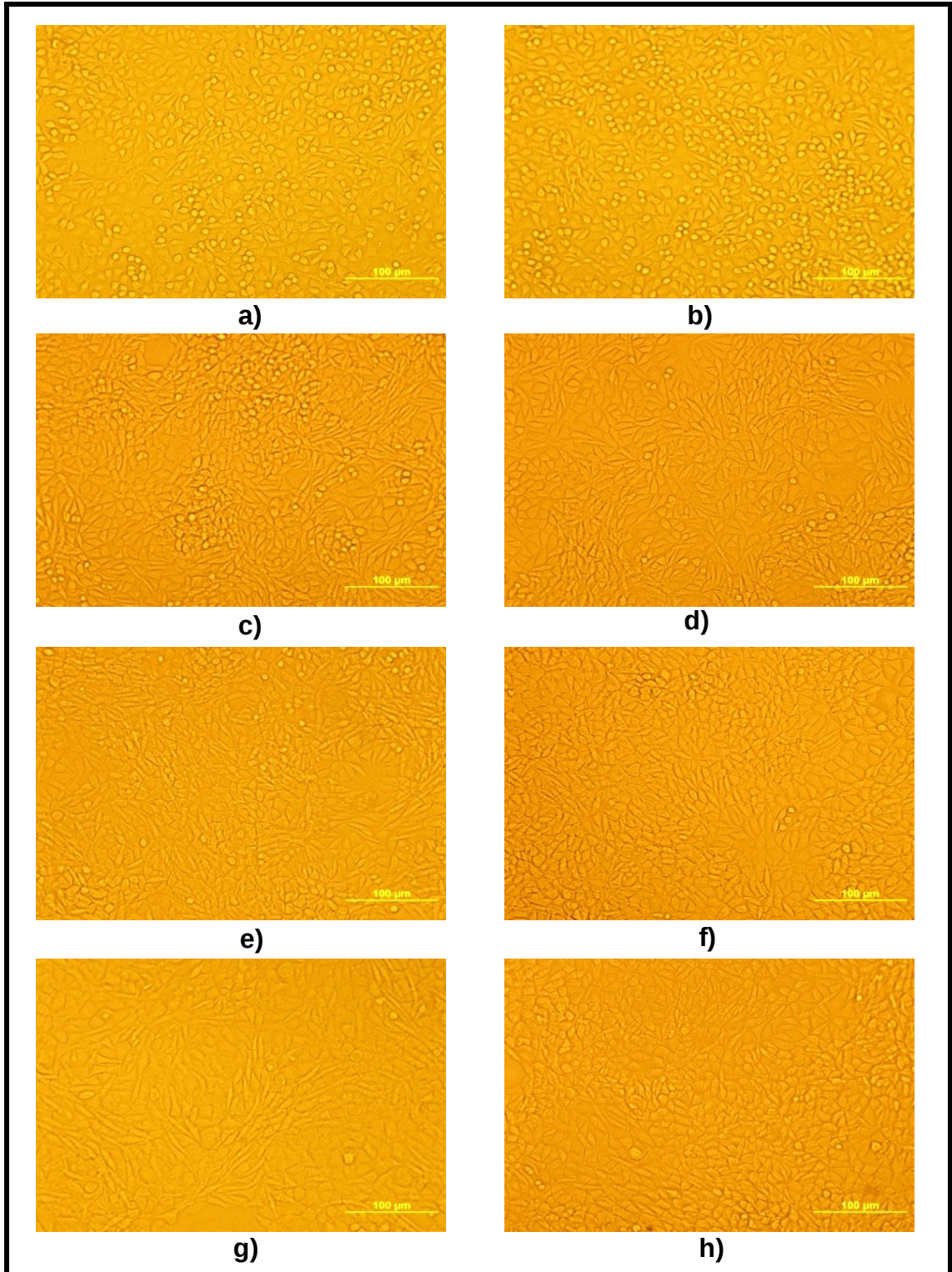
Resim 4.5. 48. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol



Resim 4.6. 72. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol



Resim 4.7. 96. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol



Resim 4.8. 120. saatte hücrelerin mikroskop görüntüleri; a) PAA, b) P(AA-ko-IA), c) P(AA-ko-CA), d) PAAm, e) P(AAm-ko-CA), f) P(AAm-ko-IA), g) Cs, h) Kontrol

5. SONUÇLAR

- ❖ AA, AAm, CA, IA ve Cs temelli hidrojel­ler hazırlanmış ve çalışmada kullanılacak sağ­lamlıkta oldukları görülmüştür. Mekanik olarak en sağlam hidrojellerin PAA ve P(AA-ko-CA) oldu­ğu, bu iki hidrojelden sonra PAAm, P(AA-ko-IA), P(AAm-ko-CA) şeklinde mekanik dayanıklılığın azaldığı ve en dayanıksız hidrojelin P(AAm-ko-IA) oldu­ğu gözlenmiştir.
- ❖ PAA, P(AA-ko-CA), P(AA-ko-IA), P(AAm-ko-CA), P(AAm-ko-IA) ve Cs hidrojellerinin DMEM besi ortamında 37 °C de şişme davranışları incelenmiştir. Besi ortamında AA temelli hidrojel­ler en çok, Cs ise en az şişme göstermiştir. Şişme davranışlarının bu şekilde olması hidrojellerin iyonlaşma özellikleri ile açıklanabilir.
- ❖ Hidrojel­lerin DMEM besi ortamının pH'sına etkilerine bakılmış ve AA temelli jellerin pH'yı asidik bölgeye AAm temelli jellerin ise bazik bölgeye kaydır­dığı gözlenmiştir. Bu durum hidrojel­lerin sahip oldu­ğu fonksiyonel gruplardan kaynaklanmaktadır.
- ❖ L929 fare fibroblast hücrelerinin üreme grafiği çalışmaları­nda hücrelerin logaritmik üreme fazına 3. günde geçtikleri, 9. günde ise üreme yüzeyini tamamen kapladıkları görülmüştür.
- ❖ Doğrudan temas yönteminde 24, 48 ve 72 saat sonunda yapılan morfolojik incelemelerde hücrelerin morfolojik görüntülerinde toksik etkiye dayalı herhangi bir bozulma, parçalanma vb. durum söz konusu olmadığının gözlenmesi hidrojel­lerin biyouyumluluğu hakkında olumlu fikir vermiştir. AA, CA ve IA gibi karboksilli asit grupları içeren hidrojel­lerin hücre üremesini olumsuz etkilediği, buna karşılık AAm temelli hidrojel­lerinin üremede çok iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu durum ortam pH sın­ı de­ğiştirmeleri açısından ele alındığında anlamlı bulunmuştur. Cs bazı

hidrojellerdeki üremenin beklenenden az olmasının şişme değerlerinin düşük olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

- ❖ Dolaylı temas yönteminde çalışmalar çok rahat bir şekilde yürütülmüş, hem mikroskopla morfolojik incelemeler hem de MTT analizi problemsiz gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin morfolojilerinin doğrudan temas yönteminde olduğu gibi normal olduğu gözlenmiştir. MTT analiz sonuçları da bu durumu desteklemiştir. Bütün hidrojel ekstraktlarında yüksek canlılık oranları görülmekle beraber en yüksek canlılık oranları Cs ekstraktında gözlenmiştir. PAAm ve P(AAm-ko-CA) ekstraktları çalışma süresince kontrol hücrelerinden daha fazla hücre üretmiştir.
- ❖ Netice olarak uyguladığımız bu in vitro sitotoksosite çalışmalarıyla PAA, P(AA-ko-CA), P(AA-ko-IA), PAAm, P(AAm-ko-CA), P(AAm-ko-IA) ve Cs hidrojellerinin biyouyumlu olduğu ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Park, K., Shalaby, S.W.W., Park, H., "Biodegradable hydrogels for drug delivery ", **Technomic Publishing Co. Inc.**, 2-3 (1993).
2. Brannon-Peppas, L., Harland, R.S., "Preparation and characterization of crosslinked hydrophilic Networks", **Absorbent Polymer Technology**, Elsevier, Amsterdam, 46-66 (1990).
3. Duran, S., Şolpan, D., Güven, O., "Synthesis and characterization of acrylamide acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes", A Thesis of Master of Science, **The Institute for Graduated Studies in Pure and Applied Sciences of Hacettepe University**, Ankara, 6-8 (2000).
4. Gümüşderelioğlu, M., "Biyomalzemeler", **Bilim ve Teknik Dergisi, TÜBİTAK**, Temmuz özel sayısı, 2-22 (2002).
5. Taşdelen, B., Kayaman, N., Güven, O., Baysal, B.M., "Anticancer drug release poli(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels", **Radiat. Phys. Chem.**, 73: 340-345 (2005).
6. Elvira, C., Mano, J.F., Roman, J.S., Reis, R.L., "Starch-based biodegradable hydrogels with potential biomedical applications as drug delivery systems", **Biomaterials**, 23: 1955-1966 (2002).
7. Karadağ, E., Saraydin, D., Çetinkaya, S., Güven, O., "In vitro swelling studies and preliminary biocompatibility evaluation of acrylamide-based hydrogels", **Biomaterials**, 17: 67-70 (1996).
8. Peppas, A.N., Wright, S.L., "Drug dissolution and binding in ionizable interpenetrating networks from Poly(vinyl alcohol) and Poly(acrylic acid)", **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 46: 15-29 (1998).
9. Arslan, F., Tümtürk, H., Çaykara, T., Şen, M., Güven, O., "The effect of gel composition on the adsorption of invertase on poly(acrylamide/maleic acid) hydrogels", **Food Chem.**, 70: 33-38 (2000).
10. Roseman, T.J., Carderelli, N.F., "Monolithicpolymer devices", **Control. Release Tech.**, 11: 46-49 (2001).
11. Wintermantel, E., Mayer, J., Blum, J., Eckert, K.L., Lüscher, P., Mathey, M., "Tissueengineering scaffolds using superstructures", **Biomaterials**, 17: 83-91 (1996).

12. Qui, Y., Park, K., "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery", **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 53: 321-339 (2001).
13. Gupta, P., Vermani, K., Garg, S., "Hydrogels from controlled release to pH-responsive drug delivery", **Drug Discov. Today**, 7: 569-578 (2002).
14. Güven, O., Şen, M., "Preparation and characterization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels", **Polymer**, 42: 7634-7652 (2001).
15. Mahdavinia, G.R., Pourjavadi, A., Hosseinzadeh, H., Zohuriaan, M.J., "Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly(acrylic acid-co-acrylamide) grafted chitosan with salt- and pH-responsiveness properties", **European Polymer Journal**, 40: 1399-1407 (2004).
16. Akçakaya, İ., "İyonik poli(N,N dimetilakrilamid-ko-akrilamid) hidrojenlerinin sentezi ve şişme davranışları", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 3-5, 13-17 (2005).
17. Huglin, M.B., Zakarai, M.B., "Swelling properties of copolymeric hydrogels prepared by gamma irradiation", **J. Appl. Polym. Sci.**, 31: 457-475 (1986).
18. Bulut, M., "Makrogözenekli poli(akril amit) hidrojenlerinin hazırlanması ve farklı ortamlardaki şişme davranışlarının incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 5-14, 16-19 (2005).
19. Chen, J., Park, K., "Superporous hydrogels fast responsive hydrogel systems", **Pure & Appl. Chem.**, 36: 917-930 (1999).
20. Wu, S.X., Hoffman, S.A., Yager, P., "Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels", **J. Polym. Sci. Part A, Pol. Chem.**, 30: 2121-2129 (1992).
21. Zhang, X.Z., Yang, Y.Y., Chung, T.S., Ma, K.X., "Preparation and characterization of response macroporous poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels", **Langmuir**, 17: 6094-6099 (2001).
22. Duran, S., Şolpan, D., Güven, O., "Synthesis and characterization of acrylamide-acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes", **Nucl. Instrum. Meth. Phys. Research**, B: 151: 196-199 (1999).
23. Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H., "Hydrogels in pharmaceutical formulations", **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 50: 27-46 (2000).

24. Swami, S.N., "Radiation synthesis of polymeric hydrogels for swelling-controlled drug release studies", Ph. D. Thesis, **University of Western Sydney New South Wales**, Australia, 3-13 (2004).
25. Hoffman, A.S., "Hydrogels for biomedical applications", **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 54: 3-12 (2002).
26. Park, K., Shalaby, S.W.W., Park, H., "Biodegradable hydrogels for drug delivery", **Technomic Publishing Co. Inc.**, 1-12, 35-66 (1993).
27. Brazel, C.S., Peppas, N.A., "Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers", **Polymer**, 40: 3383-3398 (1999).
28. Ende, M.T., Peppas, N.A., "Transport of ionizable drugs and proteins in crosslinked poly(acrylic acid) and poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels 2. diffusion and release studies", **J. Control. Release**, 48: 47-56 (1997).
29. Zhang, J., Peppas, N.A., "Synthesis and characterization of pH- and temperature-sensitive poly(methacrylic acid)/poly(N-isopropylamide) interpenetrating polymeric Networks", **Macromolecules**, 33: 102-107 (2000).
30. Uysal, İ., "Poli(vinil eter) bazlı ampifilik hidrojellerin sentezi ve kontrollü ilaç salım uygulamaları", Yüksek Mühendislik Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 5-7 (2001).
31. Peppas, N.A., Mikos, A.G., "Preparation methods and structure of hydrogels", **Hydrogels Med. and Pharm.**, 1: 1-25 (1986).
32. Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Dubovik, A.S., Grinberg, N.V., Burova, T.V., Grinberg, V.Y., "Temperature-sensitive chitosan-poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrated networks with enhanced loading capacity and controlled release properties", **J. Control. Release**, 102: 629-641 (2005).
33. Ostroha, J., Pong, M., Lowman, A., Dan, N., "Controlling the collapse / swelling transition in charged hydrogels", **Biomaterials**, 25: 4345-4353 (2004).
34. Sutani, K., Kaetsu, I., Uchida, K., Matsubara, Y., "Stimulus responsive drug release from polymer gel.-Controlled release of ionic drug from polyampholyte gel", **Radiat. Phys. Chem.**, 64: 331-336 (2002).

35. Şen, M., Güven, O., "Radiation synthesis of poly(N-vinyl 2-pyrrolidone / itoconic acid) hydrogels and their controlled release behaviours", **Radiat. Phys. Chem.**, 55: 113-120 (1999).
36. English, A.E., Mafe, S., Manzanares, J.A., Yu, X., Grosberg, A.Y., Tanaka, T., "Equilibrium swelling properties of polyampholytic hydrogels", **J. Chem. Phys.**, 104: 8713-8720 (1996).
37. English, A.E., Tanaka, T., Edelman, E.R., "Polimer and solution ion shielding in polyampholytic hydrogels", **Polymer**, 39: 5893-5897 (1998).
38. Ende, M.T., Hariharan, D., Peppas, N.A., "Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels", **React. Polym.**, 25: 127-137 (1995).
39. Peppas, N.A., Khare, A.R., "Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release", **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 11: 1-35 (1993).
40. Peppas, N.A., Mikos, A.G., "Preparation methods and structure of hydrogels", **Hydrogels Med. and Pharm.**, 1: 1-25 (1986).
41. Basan, S., "Polimer kimyası", **Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları**, Sivas, 142-149 (2001).
42. Hennink, W.E., Van Nostrum, C.F., "Novel crosslinking methods to design hydrogels", **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 54: 13-36 (2002).
43. Internet: "Radikal Zincir (Katılma) Polimerizasyonu", http://tanrisever.balikesir.edu.tr/dersler/polimeri_kimyası/polimerizasyon/radikal_zincir_polimerizasyon.html.
44. Oğuz, O., Sayıl, Ç., "Macroporous poly(N-isopropylacrylamide) network formation conditions", **Polymer**, 7639-7652 (2001).
45. Ayman, M., Arndt, K.F., "New crosslinkers to synthesize pH and temperature-sensitive ionic hydrogels", **Macromolecules**, 14: 671-674 (1994).
46. Turan, E., "Sıcaklık duyarlı poli(N-t-bütillakrilamit-ko-akrilamit) hidrojellerinin şişme davranışlarına çapraz bağlayıcı türü ve miktarının etkisi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 10-20 (2005).
47. Tanaka, T., "Phase transition in polymer gels", **Sci. Am.**, 7: 110-112 (1985).

48. Kim, J.J., Lee, M.Y., Kim, S.X., "Preparation and characterization of thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide)/poly(ethylenoxide) semi-interpenetrating polymer Networks", **J. Appl. Polym. Sci.**, 90: 3032-3036 (2003).
49. Arı, A., "Sıcaklık ve pH duyarlı poli(vinil eter) hidrojellerinin sentezi ve biyolojik karakterizasyonu", Yüksek Mühendislik Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 4-12, 19-22 (1998).
50. Çiçek, H., "Poliakrilat bazlı hidrojel matrislerin sentezi ve enzim immobilizasyonunda kullanımı", Doktora Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 26-30 (1998).
51. Gümüşderelioğlu, M., Kesgin, D., "Akıllı polimerler", **Bilim ve Teknik**, 52-55 (2001).
52. Ohara, N., Sakai, N., "Water-solvent polymer gels as controlled release agrochemical carriers", **Chemical Abstract**, 103: 214P26q, 801 (1985).
53. Shibana, T., Ho, K., Toyama, S., "Highly water-absorbing polymer", **Chemical Abstract**, 106: 33625t, 11 (1987).
54. Chmelir, M., Dahmen, K., Hoffman, G., Werner, G., "Absorbents for blood and serous body fluids", **Chemical Abstract**, 98: 11379r, 391 (1983).
55. Saraydın, D., Karadağ, E., Güven, O., "Adsorption of some heavy metal ions in aqueous solutions by acrylamide/maleic acid hydrogels", **Sep. Sci. and Techno.**, 30 (17): 3291-3302 (1995).
56. Karadağ, E., Saraydın, D., Güven, O., "Behaviors of acrylamide itaconic acid hydrogels in uptake of uranyl ions from aqueous solutions", **Sep. Sci. Techno.**, 30 (20): 3747-3760 (1995).
57. Peppas, N.A., "Hydrogels and drug delivery", **Curr. Opin Colloid In.**, 2: 531-537 (1997).
58. Carderilli, N.F., "Monolithic elastomeric materials", **Control. Release Techno.**, CRC Pres, Florida, 1: 55-127 (1980).
59. Bromberg, L.E., Ron, E.S., "Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery", **Medicine**, 39 (2): 19-24 (2003).

60. Bayhan, M., "Sıcaklığa duyarlı hidrojel matrislere α -kemotripsin immobilizasyonu ve reaktör koşullarının immobilize sistem performansına etkisi", Yüksek Mühendislik Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 14-17 (1997).
61. Sinko, P., Kohn, J., "Polymeric Drug Delivery Systems:An Overview, Polymeric Drug Delivery Systems:Properties and Application", **American Chemical Society**, Washington DC, 18-21(1993).
62. Oh, K.S., Oh, J.J., Chai, H.S., Bae, Y.C., "Effect of crosslinking density on swelling behaviour of NIPA gel particles", **Macromolecules**, 31 (21): 7328-7335 (1998).
63. Han, LK., Kimura, Y., Okuda, H., "Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet", **Int. J. Obes Relat Metab, Disord**, 23: 174-179 (1999).
64. Lee, J.K., Kim, S.U., Kim, J.H., "Modification of chitosan to improve its hypocholesterolemic capacity", **Biosci. Biotechno. Biochem.**, 63: 833-839 (1999).
65. Pittler, M.H., Abbot, N.C., Harkness, E.F., Ernst, E., "Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction", **Eur. J. Clin. Nutr.**, 53: 379-381 (1999).
66. Razdan, A., Pettersson, D., "Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens", **Br. J. Nutr.**, 72: 277-288 (1994).
67. Wuolijoki, E., Hirvela, T., Ylitalo, P., "Decrease in LDL-cholesterol with microcrystalline chitosan", **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, 21: 357-361 (1999).
68. Chen, Y., Li, C., "Studies on the application of chitosan to clarification of grapefruit Juice", **Food Sci.**, 23: 617-628 (1996).
69. Soto-Perlata, N.V., Muller, H., Knorr, D., "Effect of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice", **J. Food Sci**, 54: 495-496 (1989).
70. Volesky, B., "Biosorbents for metal recovery", **Trends Biotechno.**, 5: 96-99 (1987).
71. Butler, B.L., Vergano, P.J., Testin, R.F., Bunn, J.N., Wiles, J.L., "Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage", **J. Food Sci.**, 61: 953-955, 961(1996).

72. El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R., Boulet, M., "Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries", **J. Food Sci.**, b: 56: 1618-1620 (1991).
73. Kittur, F.S., Kumar, K.R., Tharanathan, R.N., "Functional packaging properties of chitosan films", **Z. Lebensm Unters, Forsch, A**: 206: 44-47 (1998).
74. Senköylü, A., Simsek, A., Sahin, F., Özogul, C., Menevse, S., Denkbaz, E., Piskin, E., "Interaction of cultured chondrocyte with chitosan scaffold", **J. Bioactive Comp. Polym.**, 16(6): 32-6 (2001).
75. Senköylü, A., Korkusuz, F., "Kıkırdak Onarımında Doku Mühendisliği Uygulamaları", **TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Dergisi)**, 3: 3-4 (2004).
76. Senel, S., McClure, S.J., "Potential applications of chitosan in veterinary medicine", **Adv. Drug. Del. Rev.**, 56: 1467-1480 (2004).
77. Jianqi, F., Lixia, G., "PVA/PAA thermo-crosslinking hydrogels fiber: preparation and pH-sensitive properties in electrolyte solution", **Eur. Polym. J.**, 38: 1653-1658 (2002).
78. İnternet: "Protetik amaçlı kullanılan alaşımların biyouyumluluğu", http://papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2001/a2001_11/proje.pdf (2001).
79. Neamnark, A., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., Bunaprasert, T., Supaphol, P., Rujiravanit, R., "In vitro biocompatibility evaluations of hexanoyl chitosan film", **Carbohydr. Polymers**, 68: 166-172 (2007).
80. McGahon, A.J., Martin, S.J., Bissonnette, R.P., Mahboubi, A., Shi, Y., Mogil, R.J., Nishioka, W.K., Green, D.R., "The end of the (cell) line: methods for the study of apoptosis in vitro", **Methods in Cell Biology, Cell Death. Academic Press. San Diego**, 46: 150-181 (1995).
81. Wilson, J.K., Sargent, J.M., Elgie, A.W., Hill, J.G., Taylor, C.G., "A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy", **Br. J. Cancer**, 62: 189-194 (1990).
82. Van de Loosdrecht, A.A., Nennie, E., Ossenkoppele, G.J., Beelen, R.H., Langenhuijsen, M.M., "Cell mediated cytotoxicity against U937 cells by human monocytes and macrophages in a modified calorimetric MTT assay", **A methodological study. J. Immunol Methods**, 141: 15-22 (1991).

83. Fadiloğlu, E.N., "Protetik restorasyonlarda kullanılan değişik metal alaşımlarından, in vitro biyolojik ortamlarda, hızlandırılmış yöntemle serbestleşen bazı elementlerin belirlenmesi ve sitotoksik etkilerinin hücre kültüründe incelenmesi", Doktora Tezi, **Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, İzmir, 12-17 (2004).
84. Internet: "International Programme on Chemical Safety", <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc191.htm> (1997).
85. Robinson, J.R., "Ocular drug delivery mechanisms of corneal drug transport and mucoadhesive delivery systems", **S.T.P. Pharmasciences**, 5: 839-846 (1989).
86. Bell, C.L., Peppas, N.A., "Biomedical membranes from hydrogels and interpolymer complexes", **Advances in Polymer Sci.**, 122: 126-172 (1995).
87. Ramkinssoon, G.C., Gutowska, A., Liu, F., Baudys, M., Kim, S.W., "Polymer molecular weight alters properties of pH/temperature-sensitive polymeric beads", **Pharmaceutical Research**, 16: 819-827 (1999).
88. Serres, A., Baudys, M., Kim, S.W., "Temperature and pH-sensitive polymers for human calcitonin derivative", **Pharmaceutical Research**, 13: 196-201 (1996).
89. Kiyama, Y., Nagahara, N., Kashiwara, T., Hirai, S., Toguchi, H., "In vitro and in vivo evaluation of mucoadhesive microspheres prepared for the gastro intestinal tract using polyglycerol esters for fatty acids and a poly(acrylic) acid derivative", **Pharmaceutical Research**, 12: 397-405 (1995).
90. Genç, L., Oğuzlar, C., Güler, E., "Studies on vaginal bioadhesive tablets of acyclovir", **Pharmazie**, 55: 297-299 (2000).
91. Internet: "International Programme on Chemical Safety", <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc49.htm> (1985).
92. Bell, C.L., Peppas, N.A., "Biomedical membranes from hydrogels and interpolymer complexes", **Advances in Polymer Sci.**, 122, 126-172 (1995).
93. Ganorkar, R.C., Gutowska, A., Liu, F., Baudys, M., Kim, S.W., "Polymer molecular weight alters properties of pH/temperature-sensitive polymeric beads", **Pharmaceutical Research**, 16: 819-827 (1999).

94. Serres, A., Baudys, M., Kim, S.W., "Temperature and pH-sensitive polymers for human calcitonin derivative", ***Pharmaceutical Research***, 13: 196-201 (1996).
95. Kiyama, Y., Nagahara, N., Kashiwara, T., Hirai, S., Toguchi, H., "In vitro and in vivo evaluation of mucoadhesive microspheres prepared for the gastro intestinal tract using polyglycerol esters for fatty acids and a poly(acrylic) acid derivative", ***Pharmaceutical Research***, 12: 397-405 (1995).
96. Internet: "International Programme on Chemical Safety", <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/97654.html#SD> (1998).
97. Dash, A.K., Elmquist, W.F., "Fluconazole" Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients, 27, Brittain H.G., ***Academic Press***, USA, 67-113 (2001).
98. Kim, S.J., Park, S.J., Kim, S.I., "Swelling behavior of Interpenetrating polymer network hydrogels composed of poly(vinyl alcohol) and chitosan", ***Reactive & Functional Polymers***, 55: 53-59 (2003).
99. Tien, C.L., Lacroix, M., Pompilia, I.S., Mateescu, M.A., "N-acylated chitosan: Hydrophobic matrices for controlled drug release", ***J. Control. Release***, 93: 1-13 (2003).
100. Internet: "International Programme on Chemical Safety", <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0423.htm> (1996).
101. Singh, V., Tiwari, A., Tripathi, D.N., Sanghi, R., "Microwave enhanced synthesis of chitosan-graft-polyacrylamide", ***Polymer***, 47: 254-260 (2006).
102. Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Peppas, N.A., Gurny, R., "Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications", ***Eur. J. Pharm. Biopharm.***, 57: 19-34 (2004).
103. Hamdine, M., Heuzey, M.C., Begin, A., "Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels", ***Int. J. Biol. Macromol.***, 37: 134-142 (2005).
104. Tharanathan, R.N., Prashanth, K.V.H., "Crosslinked chitosan-preparation and characterization", ***Carbohydr. Res.***, 341: 169-173 (2006).

105. Cai, H., Zhang, Z.P., Sun, P.C., "Synthesis and characterization of thermo and pH sensitive hydrogels based on chitosan-grafted N-isopropylacrylamide via γ -radiation", *Radiat. Phys. Chem.*, 74: 26-30 (2005).
106. Seyyal, M., "Kitosan İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Üretimi Ve Karakterizasyonu" Yüksek Mühendislik Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 9-19 (1998).
107. Marsano, E., Bianchi, E., Vicini, S., "Stimuli responsive gels based on interpenetrating network of chitosan and poly(vinylpyrrolidone)", *Polymer*, 46: 1595-1600 (2005).
108. Vieira, I.C., "Immobilization procedures for the development of a biosensor for determination of hydroquinone using chitosan and gilo (*Solanum gilo*)", *Enzyme Microb. Tech.*, 38: 449-456 (2006).
109. Kim, S.J., Lee, K.J., Kim, S.I., Lee, K.B., Park, Y.D., "Sorption characterization of poly (vinyl alcohol)/chitosan interpenetrating polymer network hydrogels", *J. Appl. Polym. Sci.*, 90: 86-90 (2003).
110. Gürsoy, A.Z., "Kontrollü salım sistemleri", **Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd.Şti.**, İstanbul, 133-146 (2002).
111. Öztürk, E., "Preparation and characterization of polymeric carriers releasing growth factors to use in wound healing", Y. Lisans Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 25-38 (2002).
112. Montembault, A., Viton, C., Domard, A., "Rheometric study of the gelatin of chitosan in a hydroalcoholic medium", *Biomaterials*, 26: 1633-1643 (2005).
113. İnternet: Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi; "Bağ ve Destek Dokusu", <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1219/unite04.pdf>
114. Sağlam, M., "Genel Histoloji", **Yorum Basım Evi**, Genişletilmiş 5. Baskı, Ankara, 138-141 (1997).
115. Yılmaz, Ş., "BHK- 21 Hücre kültürünün seri süspanse pasajlarında integrin reseptörünün tesbiti", Y. Lisans Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 11-13 (2005).
116. United States Pharmacopoe XXIII, (1995).

117. "Biological evaluation for medical devices-part 5: tests for cytotoxicity: in vitro methods", **International Organization for Standardization ISO 10993-5 (EN 30993-5)**, Geneva, (1999).
118. Burshe, M.C., Sawant, S.B., Joshi, J.B., Pangarkar, V.G., "Dehydration of ethylene glycol by pervaporation using hydrophilic IPNs of PVA, PAA and PAAM membranes", **Sep. Purif. Techno.**, 13: 47-56 (1998).
119. Zhang, Y., Wu, F., Li, M., Wang, E., "pH switching on-off semi-IPN hydrogel based on cross-linked poly(acrylamide-co-acrylic acid) and linear polyallylamine", **Polymer**, 46: 7695-7700 (2005).
120. Herná'ndez, R., Pe'rez, E., Mijangos, C., Lo'pez, D., "Poly(vinyl alcohol)-poly(acrylic acid) interpenetrating networks. Study on phase separation and molecular motions", **Polymer**, 46: 7066-7071 (2005).
121. Bulut, M., "Makrogözenekli poli(akril amit) hidrojellerinin hazırlanması ve farklı ortamlardaki şişme davranışlarının incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 5-14, 16-19 (2005).
122. Abd El-Rehim, H.A., "Swelling of radiation crosslinked acrylamide-based microgels and their potential applications", **Radiat. Phys. Chem.**, 74: 111-117 (2005).
123. Kejlöva, K., Labsky, J., Ji'rova, D., Bendova, H., "Hydrophilic polymers-biocompatibility testing in vitro", **Toxicology in Vitro**, 19: 957-962 (2005).
124. Zange, R., Kissel, T., "Comparative in vitro biocompatibility testing of polycyanoacrylates and poly(D,L-lactide-co-glycolide) using different mouse fibroblast (L929) biocompatibility test models", **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 44: 149-157 (1997).
125. Neamark, A., Sanchavanakit, N., Pavasant, P., Bunaprasert, T., Supaphol, P., Rujiravanit, R., "In vitro biocompatibility evaluations of hexanoyl chitosan film", **Carbohydr. Polymers**, 68: 166-172 (2007).
126. Wilson, J.K., Sargent, J.M., Elgie, A.W., Hill, J.G., Taylor, C.G., "A feasibility study of the MTT assay for chemosensitivity testing in ovarian malignancy", **Br. J. Cancer**, 62: 189-194 (1990).
127. Fischera, D., Lib, Y., Ahlemeyerc, B., Krieglsteinc, J., Kissela T., "In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis", **Biomaterials**, 24: 1121-1131 (2003).

128. Ye, X., Kennedy, J.F., Li, B., Xie, B.J., "Condensed state structure and biocompatibility of the konjac glucomannan/chitosan blend films", ***Carbohydr. Polymers***, 64: 532-538 (2006).
129. Saraydin, D., Unver-Saraydin, S., Karadag, E., Koptagel E., Guven O., "In vivo biocompatibility of radiation crosslinked acrylamide copolymers", ***Nucl. Instrum. Meth. Phys. Research***, B: 217, 281-292 (2004).
130. Eulera, H.V., Soderstedtb, A., Thornec, A., Olssonb, J.M., Yongqingb, G., "Cellular toxicity induced by different pH levels on the R3230AC rat mammary tumour cell line. An in vitro model for investigation of the tumour destructive properties of electrochemical treatment of tumours", ***Bioelectrochemistry***, 58: 163-170 (2002).
131. Chen, X.G., Liu, C.S., Liu, C.G., Meng, X.H., Lee, C.M., Park, H.J., "Preparation and biocompatibility of chitosan microcarriers as biomaterial", ***Biochemical Engineering Journal***, 27: 269-274 (2006).
132. Nicholas, E., Lindsey, K.S., Klearchos, B.K., Sambanis, P.A., Constantinidis, I., "Effects of pH on Murine Insulinoma bTC3 Cells", ***Biochemical and Biophysical Research Communications***, 273, 937-941 (2000).
133. Mosmann, T., "Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays", ***J. Immunol. Methods***, 65: 55-63 (1983).

EKLER

EK – 1 Doğrudan temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 1.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (24. saat)

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,1978	0,2208	0,1986	0,3998	0,2944	0,1465	0,2832	0,6631
0,1952	0,2006	0,221	0,6372	0,5111	0,1807	0,1938	0,5852

Çizelge 1.2. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat)

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,1797	0,1901	0,2158	0,6774	0,5571	0,2364	0,2299	1,2762
0,1983	0,2047	0,2824	0,5577	0,5359	0,2383	0,383	1,2273

Çizelge 1.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (72. saat)

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,2523	0,2362	0,2382	0,6473	0,5496	0,2179	0,2205	0,8712
0,2349	0,2831	0,2827	0,7352	0,4899	0,2055	0,1758	0,888

EK – 1 (Devam) Doğrudan temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 1.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri ortalaması

Hidrojel Zaman	PAA	P(AA- ko-IA)	P(AA- ko-CA)	PAAm	P(AAm- ko-CA)	P(AAm- ko-IA)	Cs	Kontrol
24. saat	0,1965	0,2107	0,2098	0,5185	0,40275	0,1636	0,2385	0,6242
48. saat	0,1890	0,1974	0,2491	0,6176	0,5465	0,2374	0,3065	1,2518
72. saat	0,2436	0,2597	0,2605	0,6913	0,5198	0,2117	0,1982	0,8796

Çizelge 1.5. Hidrojellerin Eşitlik 3.1. kullanılarak hesaplanan yüzde bağlı canlılıkları

Hidrojel Zaman	PAA	P(AA- ko-IA)	P(AA- ko-CA)	PAAm	P(AAm- ko-CA)	P(AAm- ko-IA)	Cs	Kontrol
24.saat	31,482	33,757	33,613	83,073	64,527	26,211	38,211	100
48.saat	15,098	15,769	19,900	49,334	43,658	18,961	24,481	100
72.saat	27,694	29,519	29,610	78,586	59,089	24,067	22,527	100

EK - 2 Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.1.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (24. saat) pleyt 1

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,4126	0,2348	0,2351	0,2241	0,1914	0,1957	0,121	0,1904
0,2439	0,281	0,2635	0,2929	0,4354	0,2263	0,1241	0,1971
0,2591	0,2845	0,2847	0,2579	0,2315	0,2301	0,126	0,2664
0,242	0,2846	0,301	0,3042	0,4527	0,2794	0,1432	0,2738
0,3204	0,4138	0,4041	0,2712	0,2834	0,2549	0,1572	0,2162
0,3645	0,4704	0,4247	0,2891	0,2937	0,2561	0,1712	0,3908
0,2622	0,4014	0,2647	0,3692	0,3204	0,4263	0,2173	0,3268
0,297	0,3288	0,2939	0,2671	0,2815	0,2475	0,2162	0,3084

Çizelge 2.1.2 Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) pleyt 2

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,6476	0,5864	0,5163	0,5606	0,3104	0,2531	0,2272	0,2563
0,5698	0,6061	0,5624	0,6681	0,6439	0,439	0,2207	0,2729
0,6136	0,6033	0,6048	0,6248	0,6113	0,6851	0,2199	0,2319
0,6858	0,6606	0,6105	0,5978	0,6156	0,5975	0,1146	0,2856
0,5805	0,5525	1,3147	0,6107	0,5489	0,6803	0,2207	0,2474
0,6964	0,537	0,555	0,7028	0,5254	0,6605	0,2275	0,3274
0,6337	0,6007	0,5677	0,6714	0,591	0,6118	0,2033	0,3166
0,5288	0,6068	0,5528	0,5494	0,5729	0,7012	0,1794	0,334

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.1.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (72. saat) pleyt 3

AA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,631	0,6305	0,6423	0,4485	0,464	0,4558	0,3435	0,4535
0,5477	0,571	0,6352	0,6171	0,6517	0,568	0,2176	0,3344
0,6411	0,623	0,6232	0,692	0,6179	0,5254	0,2496	0,4029
0,6368	0,5926	0,6482	0,6582	0,6373	0,5717	0,2359	0,4413
0,7294	0,6967	0,6377	0,7364	0,7264	0,6722	0,2332	0,4254
0,6918	0,6698	0,7443	0,7971	0,7102	0,6867	0,2484	0,6056
0,7422	0,6577	0,6557	0,7255	0,7463	0,6919	0,2607	0,6254
0,7264	0,5947	0,6685	0,843	0,7047	0,7549	0,2554	0,7069

Çizelge 2.1.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (96. saat) pleyt 4

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,2797	0,3983	0,2843	0,2802	0,2569	0,2177	0,2073	0,3247
0,3133	0,5188	0,4536	0,3033	0,3469	0,3994	0,1805	0,3049
0,5514	0,5244	0,521	0,3339	0,2599	0,4463	0,1585	0,2398
0,5361	0,4831	0,567	0,5696	0,3796	0,4218	0,1205	0,2509
0,5167	0,3468	0,3626	0,4251	0,272	0,4569	0,1007	0,2787
0,6253	0,5177	0,4865	0,5363	0,5026	0,5636	0,1842	0,3194
0,5785	0,6539	0,4871	0,5662	0,4649	0,574	0,2453	0,3046
0,5909	0,5649	0,5563	0,584	0,6128	0,5848	0,2171	0,3945

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.1.5. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (24. saat) pleyt 5

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,6241	0,6352	0,4252	0,4865	0,5289	0,4377	0,1611	0,492
0,5023	0,5392	0,45	0,6392	0,4635	0,4796	0,1438	0,5461
0,4774	0,5639	0,4897	0,5679	0,6457	0,4975	0,2383	0,4975
0,5639	0,5795	0,5666	0,666	0,6142	0,4795	0,1902	0,5232
0,493	0,6312	0,4875	0,6618	0,6311	0,5026	0,2346	0,5545
0,5392	0,5256	0,5294	0,6194	0,6374	0,546	0,2064	0,7281
0,5012	0,6532	0,5399	0,6737	0,5906	0,9556	0,1488	0,5906
0,5506	0,6243	0,5886	0,612	0,5735	0,6085	0,1856	0,6052

Çizelge 2.2.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) Pleyt 1

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,3985	0,3368	0,3122	0,287	0,3006	0,3195	0,1076	0,3542
0,4017	0,3681	0,2935	0,3379	0,3237	0,2982	0,1412	0,3757
0,6614	0,4225	0,2944	0,3274	0,357	0,296	0,1258	0,3406
0,5625	0,3422	0,2738	0,3359	0,39	0,3086	0,116	0,3094
0,5659	0,5102	0,4931	0,2879	0,3591	0,346	0,1882	0,3303
0,5312	0,4091	0,3302	0,3175	0,3439	0,3402	0,1162	0,3302
0,6413	0,5445	0,3869	0,4023	0,3653	0,2792	0,1807	0,3599
0,4515	0,3924	0,2613	0,4763	0,3166	0,3142	0,136	0,2828

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.2.2. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) pleyt 2

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,3806	0,4796	0,5741	0,3948	0,3694	0,2663	0,1109	0,327
0,4803	0,6164	0,5267	0,523	0,3026	0,4679	0,1592	0,3389
0,7259	0,6453	0,387	0,4024	0,589	0,5454	0,1431	0,3065
0,7281	0,6724	0,684	0,3398	0,3738	0,5317	0,1873	0,3699
0,6019	0,5557	0,6188	0,3578	0,4838	0,3595	0,2593	0,3671
0,7463	0,4925	0,6053	0,5146	0,4263	0,5528	0,2587	0,3324
0,6228	0,3905	0,5954	0,4146	0,7063	0,4727	0,1264	0,3478
0,7222	0,4662	0,4369	0,4934	0,8613	0,3398	0,1109	0,3391

Çizelge 2.2.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) pleyt 3

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,4561	0,3269	0,3075	0,3172	0,3183	0,2768	0,1257	0,3228
0,7427	0,5101	0,362	0,3174	0,3445	0,3981	0,1219	0,3407
0,3847	0,3317	0,3224	0,4003	0,3091	0,5336	0,1327	0,3569
0,7952	0,4454	0,281	0,2714	0,3274	0,3491	0,1089	0,3553
0,7217	0,4394	0,3417	0,3347	0,3374	0,308	0,0989	0,3768
0,7055	0,6106	0,2804	0,306	0,3462	0,3549	0,1172	0,5448
0,7792	0,6206	0,4351	0,3502	0,3414	0,3237	0,1274	0,346
0,824	0,4832	0,4508	0,3598	0,3818	0,3851	0,107	0,4011

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.2.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (48. saat) pleyt 4

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,5393	0,2941	0,3498	0,269	0,3014	0,2165	0,152	0,3272
0,5984	0,566	0,409	0,2799	0,3239	0,3048	0,1421	0,3738
0,6709	0,3731	0,2762	0,2821	0,3308	0,3087	0,1203	0,3903
0,5813	0,3962	0,3917	0,2878	0,3647	0,3616	0,1316	0,3483
0,4166	0,4187	0,4782	0,4047	0,328	0,3336	0,096	0,3085
0,5255	0,3802	0,4911	0,4284	0,3456	0,3372	0,1184	0,299
0,6082	0,4719	0,3274	0,3383	0,3108	0,3106	0,2521	0,394
0,4957	0,4376	0,2852	0,3335	0,3852	0,3078	0,1154	0,3974

Çizelge 2.2.5. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (48. saat) pleyt 5

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,3054	0,3364	0,2475	0,2745	0,2574	0,251	0,117	0,2703
0,4624	0,4601	0,3237	0,3394	0,332	0,31	0,1106	0,2748
0,4167	0,3474	0,2897	0,3036	0,308	0,3091	0,1015	0,2908
0,5824	0,3668	0,3373	0,3417	0,3144	0,3436	0,137	0,3238
0,5972	0,2844	0,3019	0,3491	0,3273	0,3146	0,0898	0,2491
0,3617	0,3793	0,321	0,3194	0,3566	0,3295	0,1073	0,2907
0,527	0,341	0,2944	0,324	0,2843	0,3171	0,0995	0,2992
0,6069	0,3556	0,4959	0,2423	0,3168	0,3077	0,1452	0,3027

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.3.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (72. saat) pleyt 1

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,6968	0,7061	0,6556		0,6269	0,4533	0,1865	0,756
0,7767	0,6564	0,7066		0,7769	0,6711	0,2817	0,8278
0,7425	0,6707	0,6689		0,7291	0,5003	0,2252	0,8956
0,6372	0,7657	0,6741		0,7494	0,7393	0,2174	0,8143
0,6812	0,6517	0,636		0,8622	0,7671	0,1921	0,8003
0,7108	0,7342	0,7114		0,8755	0,6824	0,2267	0,8147
0,6507	0,7429	0,6994		0,8158	0,7578	0,2512	0,6226
0,722	0,8464	0,6651		0,747	0,7416	0,2664	0,7956

Çizelge 2.3.2. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (72. saat) pleyt 2

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,8081	0,7362	0,6241	0,8189	0,8478	0,7819	0,2589	0,7869
0,7203	0,7931	0,7149	0,9223	0,8416	0,8109	0,2825	0,7573
0,6545	0,659	0,6828	0,9569	0,9472	0,7766	0,2925	0,7813
0,6067	0,668	0,7167	0,8851	0,8111	0,8433	0,197	0,8477
0,6355	0,6781	0,7492	0,7904	0,8487	0,84	0,1366	0,9305
0,7145	0,6862	0,7293	0,983	0,8715	0,893	0,2838	0,9094
0,6821	0,6798	0,7318	0,9339	0,9267	0,8374	0,2486	0,8512
0,8176	0,8391	0,7332	1,0781	0,9401	0,7479	0,2285	0,9108

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.3.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbens değerleri (72. saat) pleyt 3

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,8343	0,6468	0,6462	0,657	0,6257	0,5237	0,2763	0,6273
0,7784	0,6479	0,612	0,7445	0,874	0,7623	0,2556	0,8223
0,7512	0,691	0,7831	0,8324	0,8417	0,7789	0,3216	0,7182
0,7764	0,6606	0,7086	0,9152	0,9421	0,7946	0,228	0,5586
0,7571	0,6262	0,7164	0,8216	0,9062	0,8659	0,2921	0,7185
0,7397	0,6935	0,6621	0,9833	1,0331	0,8152	0,2719	0,7983
0,7839	0,6567	0,7214	0,8993	0,8892	0,9008	0,263	0,7458
0,7973	0,67	0,6721	0,9006	1,0614	0,7067	0,2849	0,8718

Çizelge 2.3.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbens değerleri (72. saat) pleyt 4

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,7209	0,7019	0,6935	0,8238	0,8308	0,6111	0,2697	0,8341
0,6472	0,7318	0,8268	0,9853	0,8633	0,7725	0,2511	0,7047
0,7201	0,7109	0,7426	1,0374	0,9826	0,8273	0,2634	0,8566
0,661	0,7346	0,815	1,0224	0,808	0,8409	0,2784	0,9784
0,7302	0,7759	0,6912	0,8703	0,8313	0,8292	0,368	0,9231
0,7487	0,7492	0,6686	0,9393	0,8999	0,8701	0,2616	0,8514
0,6805	0,6523	0,7236	0,9444	0,8202	0,804	0,2864	0,9876
0,7514	0,6583	0,7742	0,9146	0,8239	0,8434	0,2692	0,9244

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.3.5. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbens değerleri (72. saat) pleyt 5

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,7973	0,6597	0,6326	0,9405	0,8598	0,7506	0,3142	0,8752
0,8017	0,7369	0,8536	1,0362	0,7787	0,7324	0,2719	0,9623
0,7575	0,8339	0,8255	1,119	0,9353	0,8185	0,2828	1,001
0,7437	0,8072	0,9288	1,1694	0,9274	0,8593	0,271	0,9916
0,7866	0,7157	0,8449	0,933	0,9923	0,8493	0,2794	0,8352
0,7591	0,8141	0,8845	0,9376	1,003	0,8754	0,2426	0,8629
0,7535	0,8499	0,8641	1,0608	0,9522	0,8231	0,2455	1,0541
0,7471	0,8008	0,7642	1,102	0,9516	0,845	0,2603	1,0632

Çizelge 2.4.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbens değerleri (96. saat) pleyt 1

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
1,0531	0,9898	0,9158	1,2489	1,0555	1,0258	0,1955	0,7904
1,416	0,9306	1,0235	1,2768	1,1693	0,8616	0,1779	1,2347
1,1129	1,1616	1,0192	1,29	1,2292	1,1078	0,2184	1,2371
1,1832	0,9427	1,0446	1,1753	1,0923	1,0936	0,188	1,2894
1,0993	0,8838	1,0208	1,1225	1,1311	1,078	0,1811	1,2258
1,2478	1,0665	1,1925	1,26	1,139	1,2128	0,2931	1,4225
1,1705	0,9308	1,0065	1,1419	1,1467	1,119	0,1847	1,2459
1,1601	0,9203	1,0572	1,2567	1,2463	1,2038	0,1746	1,436

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.4.2. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (96. saat) pleyt 2

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
1,1562	1,0254	1,0819	1,3449	1,2183	1,1626	0,2433	1,4794
1,1705	1,0169	0,9268	1,271	1,3178	1,056	0,2175	1,4397
1,2262	0,9982	0,9746	1,1482	1,151	1,0581	0,2108	1,3164
1,0785	1,0017	1,0415	1,1791	1,1066	1,1644	0,1903	1,593
1,0453	1,0253	0,9019	1,1767	1,1098	1,0254	0,1861	1,3581
1,1403	1,1022	1,0705	1,1589	1,2251	1,0037	0,1877	1,5184
0,7737	1,0465	1,0623	1,1767	1,1686	1,2188	0,2332	1,3847
1,0806	1,0558	0,9412	1,3713	1,3042	1,183	0,1816	1,4595

Çizelge 2.4.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (96. saat) pleyt 3

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,9063	0,9323	0,9817	1,0811	1,0649	1,0917	0,2418	1,532
0,9011	0,8637	1,1503	0,9818	1,2672	1,1295	0,2253	1,3514
0,875	0,7143	0,6081	1,0399	1,1368	1,2174	0,2194	1,1951
0,928	0,763	1,0292	1,128	1,3605	1,0566	0,225	1,2462
0,9091	0,649	1,0486	0,8875	1,0964	0,9281	0,2266	1,0611
0,7027	0,4905	0,853	0,8767	0,9166	0,9268	0,2192	0,9504
0,5526	0,6242	0,806	1,224	0,8911	0,973	0,1994	0,9486
0,8066	0,5895	0,7861	0,7299	0,8855	0,8461	0,1895	1,0448

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.4.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (96. saat) pleyt 4

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,8927	0,8568	0,6282	1,0569	0,9384	0,8876	0,2175	1,2726
0,8026	0,55	0,8201	1,192	1,191	1,0063	0,2017	1,345
1,0581	0,9049	0,8544	1,0263	1,1561	0,9917	0,2192	1,3211
0,8564	0,9425	0,848	1,0201	1,0661	0,8878	0,2118	1,2636
0,854	0,7469	0,793	1,0037	0,8591	0,7855	0,1845	1,2602
0,8346	0,7975	0,7678	1,0903	0,9642	0,9948	0,216	1,3157
0,7974	0,8222	0,7257	0,9611	0,9554	0,8851	0,2135	1,3164
0,9944	0,8805	0,7062	1,0921	0,9001	0,8269	0,1986	1,446

Çizelge 2.4.5. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (96. saat) pleyt 5

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
1,3896	0,9318	0,9071	1,3404	1,1661	1,3064	0,2552	0,9539
1,4151	1,0943	1,0464	1,2921	1,2829	1,1918	0,2266	1,1038
1,2655	1,1522	1,0224	1,2173	1,1712	1,2011	0,2307	1,0665
1,3821	1,1308	1,1568	0,9092	1,3096	1,1892	0,2279	1,0015
1,2064	1,0275	1,1655	1,1598	0,9947	1,209	0,2162	0,9643
1,0209	1,2339	1,2888	1,1583	1,2098	1,3119	0,217	1,0294
1,1014	1,0324	0,9751	1,2162	1,168	1,2128	0,2758	0,9753
1,0262	0,914	1,1787	1,2092	1,215	1,2917	0,2452	1,2016

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.5.1. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (120. saat) pleyt 1

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
	1,1922	1,0279	1,0437	0,9282	0,9889	0,2146	0,9393
1,1757	1,0412	1,1175	1,1502	1,1336	1,1197	0,2315	1,1654
1,207	1,2471	1,231	1,2327	1,0902	1,0211	0,2027	1,0462
1,2948	1,2815	1,1362	1,1965	1,0822	1,1728	0,2035	1,2052
1,2473	1,2952	1,0665	1,1581	1,0839	1,0576	0,1679	1,1566
1,1969	1,1187	1,0825	1,1479		0,9998	0,1675	1,2554
1,2559	1,2472	1,1327	1,1613	1,067	1,2813	0,1825	1,1008
1,3003	1,3724	1,3099	1,1667	1,0839	1,2562	0,1794	1,2708

Çizelge 2.5.2. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (120. Saat) pleyt 2

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,9561	0,7998	1,0633	1,124	1,0477		0,3507	1,0497
1,0658	0,8277	1,0767	1,1092	1,0648	1,1702	0,1626	1,1221
1,0834	0,8303	0,9629	1,1456		1,0853	0,1784	1,1142
1,0673	0,8598	1,0367	1,1603	1,1021	1,0517	0,1719	1,2056
1,1382		0,9733	1,1406	1,0433	1,0688	0,1718	1,1852
1,3251	0,9577	0,9283	1,1108	1,1077	1,2093	0,1781	1,0847
1,1502	0,98	1,1286	1,2283	1,1776	1,2152	0,1764	1,1649
	1,182	1,2462	1,2405	1,271	1,339	0,2022	1,2473

Çizelge 2.5.3. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (120. saat) pleyt 3

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
1,275	0,988	0,896	1,1834	1,0345	1,398	0,2109	1,3216
1,2227	1,1792	0,9499	1,181	1,284	1,3426	0,1946	1,1669
1,3205	1,146	0,9767	1,1887	1,1284		0,1992	1,2968
1,2174	1,1877	1,1202	1,228	1,1404	1,2318	0,1851	1,0929
1,2347	1,0906	1,0551	1,1242	1,1273	1,2198	0,1773	1,2089
1,2752	1,1039	1,1064	1,217	1,2192	1,3037	0,1792	1,0153
1,2002	1,0716	0,9817	1,1773	1,1574	1,271	0,1792	1,09
1,2642	1,0899	0,8804	1,1992	1,2384	1,3645	0,1555	1,1674

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.5.4. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (120. saat) pleyt 4

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
1,3373	1,1127	1,3104	1,1714	1,1409	1,2597	0,2047	1,1479
1,1969	1,1358	1,0558	1,2377	1,0762	1,2277	0,3589	1,2577
1,2664	1,0442	1,0857	1,0491	0,9808	1,1288	0,2107	1,2615
1,1864	1,2039	1,0679	1,0722	1,0557	1,0313	0,1897	1,2621
1,0648	1,1531	1,0121	1,0483	1,0046	1,0469	0,2006	1,2666
	1,3421	1,1015	1,067	1,0379	0,9852	0,2051	1,255
1,1228	1,1669	1,2007	1,1109		1,1024	0,1899	1,305
1,0927	1,1577	1,0909	1,221	1,092	1,1692	0,1848	1,2447

Çizelge 2.5.5. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (120. saat) pleyt 5

PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
0,1415	0,2892	0,2796		0,1885	0,3001	0,0588	0,8833
	0,1665	0,21	0,1861	0,2233	0,2224	0,0814	0,2424
0,1878	0,2433	0,1548	0,1528	0,1511	0,1105	0,0583	0,1091
0,1359	0,1729	0,1883	0,1366	0,23	0,1214	0,0556	
0,138	0,2049	0,0974	0,1421	0,1193	0,1151	0,0591	
0,1184	0,1881	0,1736	0,1306	0,1166	0,1182	0,0635	0,2479
0,1015	0,1667	0,1079	0,1605	0,2857	0,2841	0,0559	0,1999
0,124	0,1145	0,11	0,1113	0,1154	0,1237	0,0634	0,3446

EK - 2 (Devam) Dolaylı temas yöntemi spektrofotometre verileri

Çizelge 2.6. Hidrojellerin 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri ortalaması

Hidrojel Zaman	PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	H.Kontrol
24.Saat	0,5237	0,5312	0,5206	0,5326	0,4987	0,4961	0,1964	0,3848
48.Saat	0,5732	0,4405	0,3869	0,3497	0,3691	0,3483	0,1361	0,3399
72.Saat	0,7321	0,7185	0,7289	0,9362	0,8663	0,7736	0,2596	0,8417
96.Saat	1,0398	0,9186	0,9607	1,1373	1,1245	1,0731	0,2142	1,2399
120.Saat	1,1961	1,1039	1,0754	1,1560	1,1012	1,1746	0,1990	1,1773

Çizelge 2.7. Hidrojellerin Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanan yüzde bağıl canlılıkları

Hidrojel Zaman	PAA	P(AA-ko-IA)	P(AA-ko-CA)	PAAm	P(AAm-ko-CA)	P(AAm-ko-IA)	Cs	Kontrol
24.saat	144,292	146,035	144,335	143,969	134,436	135,093	54,547	100
48.saat	168,451	129,665	114,337	103,496	109,120	102,865	40,235	100
72.saat	87,738	85,712	86,815	109,825	103,581	92,323	31,055	100
96.saat	85,332	75,093	78,911	92,762	91,923	88,175	17,589	100
120.saat	101,734	93,789	91,428	98,369	93,713	99,939	16,894	100

EK – 3 Kitosanla yapılan çalışmada alınan absorbands değerleri

Çizelge 3.1.1. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (24. saat) pleyt 1

Cs	Cs	Kontrol
1,3654	1,2409	0,7826
1,4993	1,5391	0,6853
1,2043	1,3293	0,8947
1,1826	1,2434	1,4489
0,9247	0,9537	1,605
1,1722	1,047	1,6318
1,0133	0,8048	1,3368
0,6921	0,7796	1,1268

Çizelge 3.1.2. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (24. saat) pleyt 2

Cs	Cs	Kontrol
0,8432	0,9639	0,7415
0,7393	1,1229	0,6604
0,8955	0,9354	0,7459
0,6294	1,1295	1,5065
0,6333	0,7373	1,5655
0,4569	0,5414	1,7059
0,4593	0,5695	1,3627
0,4008	0,4663	1,0826

Çizelge 3.2.1. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) pleyt 1

Cs	Cs	Kontrol
0,5825	0,606	0,4804
0,5108	0,6094	0,5028
0,4292	0,6139	0,4793
0,7558	0,644	0,5305
0,6714	0,6023	0,426
0,7371	0,6407	0,4521
0,8474	0,7196	0,4752
0,8128	0,6716	0,4593

EK – 3 (Devam) Kitosanla yapılan çalışmada alınan absorbands değerleri

Çizelge 3.2.2. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (48. saat) pleyt 2

Cs	Cs	Kontrol
0,5252	0,525	0,4266
0,4138	0,5212	0,4677
0,4095	0,5349	0,4459
0,6796	0,5581	0,499
0,6067	0,5012	0,4396
0,6656	0,5419	0,4633
0,7659	0,6204	0,463
0,7184	0,5643	0,4602

Çizelge 3.3.1. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (72. saat) pleyt 1

Cs	Cs	Kontrol
0,8358	0,6033	0,5567
0,6008	0,6765	0,5885
0,895	0,7931	0,5988
1,0371	0,7924	0,5875
0,9878	0,8793	0,5542
1,2576	0,947	0,6598
1,4605	0,9884	0,6834
1,6046	1,2541	0,839

Çizelge 3.3.2. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (72. saat) pleyt 2

Cs	Cs	Kontrol
1,0246	0,7553	0,609
0,7832	0,8552	0,6441
1,214	0,9953	0,6406
1,3703	1,0095	0,6288
1,2204	1,1598	0,6015
1,6895	1,2823	0,8076
1,6951	1,3284	0,8911
1,8361	1,6937	1,0254

EK – 3 (Devam) Kitosanla yapılan çalışmada alınan absorbans değerleri

Çizelge 3.4.1. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (96. saat) pleyt 1

Cs	Cs	Kontrol
1,098	1,0302	0,8356
1,0154	1,2376	0,957
1,0306	1,3353	0,8902
1,0682	1,1959	0,9337
1,1227	1,2111	0,9261
1,0168	1,2243	1,0343
1,2211	1,2055	0,9501
1,0072	1,0565	0,7405

Çizelge 3.4.2. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (96. saat) pleyt 2

Cs	Cs	Kontrol
1,1583	1,0897	0,8792
1,0788	1,3225	1,0202
1,0907	1,4315	0,9625
1,1306	1,263	0,9866
1,1896	1,3153	0,9795
1,0679	1,3028	1,0884
1,2946	1,2629	1,042
1,0597	1,118	0,8432

Çizelge 3.5.1. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri (120. saat) pleyt 1

Cs	Cs	Kontrol
1,4922	1,5529	1,3069
1,9053	1,7293	1,3422
1,9736	1,8616	1,3056
1,8582	1,8198	1,3603
1,8507	1,9055	1,427
1,916	1,9683	1,5704
1,9442	1,8207	1,4352
1,953	1,9067	1,4913

EK – 3 (Devam) Kitosanla yapılan çalışmada alınan absorbands değerleri

Çizelge 3.5.2. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri (120. saat) pleyt 2

Cs	Cs	Kontrol
1,5972	1,686	1,3731
1,9836	1,8896	1,442
2,0107	1,981	1,3455
1,8823	1,9452	1,4096
1,8966	1,9712	1,5208
1,9766	1,9692	1,635
2,0945	1,9609	1,4916
1,9351	1,9611	1,5741

Çizelge 3.6. Kitosanın 570 nm dalga boyunda absorbands değerleri ortalaması

Hidrojel Zaman	Cs	Kontrol
24.Saat	1,0470	1,1150
48.Saat	0,6127	0,4670
72.Saat	1,1102	0,6823
96.Saat	1,1641	0,9418
120.Saat	1,8812	1,4394

Çizelge 3.7. Kitosanın Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanan yüzde bağlı canlılıkları

Hidrojel Zaman	Cs	Kontrol
24.Saat	93,9068	100
48.Saat	131,2171	100
72.Saat	162,7244	100
96.Saat	123,6049	100
120.Saat	130,6931	100

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KARA, Osman
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1979 Afyonkarahisar
Medeni hali : Evli
Telefon : 0 (312) 287 36 00
Faks : 0 (312) 287 36 06
e-mail : o_kara78@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2002
Lise	Konya Vet. Sağlık Meslek Lisesi	1997

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2004-devam	Ankara Şap Enstitüsü Müd.	Kimyager
1998-2004	Erzincan Tarım İl Müd.	Vet. Sağ. Tekn.

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Bilgisayar teknolojileri, İnternet, Futbol, Masa Tenisi, Seyahat