



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KEMİK DOKU REJENERASYONU İÇİN BALLIBABA EKSTRAKTI
İLE KAPLANMIŞ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL KATKILI
KİTOSAN/ PCL NANOFİBER ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

Tuğçe YIRTMAZ

**YÜKSEK
LİSANS TEZİ**

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

**Ağustos-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Tuğçe YIRTMAZ tarafından hazırlanan “Kemik Doku Rejenerasyonu İçin Ballıbaba Ekstraktı İle Kaplanmış Gümüş Nanopartikül Katkılı Kitosan/ Pcl Nanofiber Üretimi ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması 03/08/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Danışman

Prof. Dr. Ahmet AKDEMİR

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Turan DEMİRCİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim KALAYCI

FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 211319015 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Tuğçe YIRTMAZ

03.08.2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMİK DOKU REJENERASYONU İÇİN BALLIBABA EKSTRAKTI İLE KAPLANMIŞ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL KATKILI KİTOSAN/ PCL NANOFİBER ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Tuğçe YIRTMAZ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Ahmet AKDEMİR

2022, 79 Sayfa

Jüri

Prof.Dr. Ahmet AKDEMİR

Prof.Dr. Ahmet AVCI

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Turan DEMİRCİ

Hasarlı kemik yapılarının onarımında çeşitli uygulamalar gerçekleştirilmesine rağmen günümüzde daha çok kemiğin yeniden üretim yöntemlerine odaklanılmıştır. Bu nedenle son zamanlarda yapay kemik iskele üzerine çalışmalar büyük bir artış göstermiştir. Bu çalışmada kemik doku rejenerasyonunda kullanılmak üzere, hücre büyümesine imkân sağlayan, hidrofilik özellikte, yüksek biyobozunurluk ve iyileştirilmiş mekanik özelliklere sahip kemik iskele üretimi gerçekleştirilmiştir. . Biyobozunur polimer olarak PCL (Polycabrolacton), doğal polimer olarak kitosan ve *Lamium galeobdolon* ekstraktı ile kaplanmış gümüş nanopartikül (BB-eAgNP) kullanılarak elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi gerçekleştirilmiş ve nanofiberlerin morfolojik, mekanik özellikleri, antibakteriyel aktiviteleri ve biyobozunurlukları analiz edilmiştir. Analiz sonucuna göre *E.coli* bakterisine karşı antibakteriyel özellikte, hidrofilik özelliği yüksek, BB-eAgNP katkısıyla iletkenliği artırılmış ve saf PCL' ye kıyasla bozunma süresi uzatılmış, iyileştirilmiş mekanik özellik veren düşük çapta ve düzgün formda nanofiber yapısına sahip biyomalzeme elde edilmiştir. Yapılan invitro çalışmalar neticesine de bakılarak BB-eAgNP katkılı PCL/ Kitosan nanofiber yapısından elde edilen kemik iskelenin uzun süreli kemik doku mühendisliği çalışmaları kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektro-eğirme yöntemi, Gümüş Nanopartikül, Kemik Doku Rejenerasyonu, *Lamium Galeobdolon*, Yeşil Sentez

ABSTRACT**MS THESIS****PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN/ PCL
NANOFIBERS ADDED SILVER NANOPARTICLES ENCAPSULATED WITH
LAMIUM GALEOBDOLON EXTRACT FOR BONE TISSUE
REGENERATION****Tuğçe YIRTMAZ****The Graduate School Of Natural And Applied Science Of Necmettin Erbakan
University The Degree Of Master Of Science In Biomedical Engineering****Advisor: Prof.Dr. Ahmet AKDEMİR****2022, 79 Pages****Jury****Prof. Dr. Ahmet AKDEMİR****Prof.Dr. Ahmet AVCI****Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Turan DEMİRCİ**

Although various applications have been carried out in the repair of damaged bone structures, today more focused on bone regeneration methods. Therefore, studies on artificial bone scaffolding have increased recently. In this study, bone scaffolds with hydrophilic properties, high biodegradability and improved mechanical properties are produced using for bone tissue regeneration. Nanofibers are produced by electro-spinning method using PCL (Polycabrolacton) as biodegradable polymer, silver nanoparticle (BB-eAgNP) coated with chitosan and Lamium galeobdalone extract as natural polymer, and the morphological, mechanical properties, antibacterial activities and biodegradability of nanofibers are analyzed. According to the results of the analysis, antibacterial properties against *E.coli* bacteria, is effective. High hydrophilic properties and increased conductivity are held with BB-eAgNP additive, extended degradation time compared to pure PCL, low diameter and smooth form nanofibers. The biomaterial was obtained. Considering the results of in vitro studies, it is thought that the bone scaffold obtained from BB-eAgNP doped PCL/ Chitosan nanofiber structure can be used in long-term bone tissue engineering studies.

Keywords: Bone Tissue Regeneration, Electrospinning Method, Green Synthesis, *Lamium Galeobdolon*, Silver Nanoparticle

ÖNSÖZ

Bu çalışma 211319015 numaralı Kemik Doku Mühendisliğinde İskele Tasarımı İçin Kullanılmak Üzere Nanofiber Üretimi isimli proje ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş ve Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Ahmet AKDEMİR'e

Tez çalışmamın başarılı bir şekilde tamamlanabilmesi için sağladığı desteklerinden ve bilimsel yönlendirmelerinden dolayı değerli hocam Prof Dr. Ahmet AVCI 'ya

Gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse tez yazım aşamalarında desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Cansu GÜNEŞ ve bölüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her alanında maddi ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim bu süreçte rahmetli olan babam Naci ALTAN'a, annem Gülhan ALTAN'a, eşim Nurullah YIRTMAZ'a, abim Gökhan ve yengem Pınar ALTAN'a teşekkürü borç bilirim.

Tuğçe YIRTMAZ

KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Kas ve İskelet Sistemi	4
2.1.1. Kemik dokusunun yapısı ve önemi	4
2.1.2. Kemik dokusundaki hastalıklar, hasarlar, kırıklar ve iyileştirme metodları	5
2.2. Doku Mühendisliği	6
2.2.1. Kemik doku mühendisliği.....	8
2.2.2. Kemik doku mühendisliği iskeleleri.....	9
2.2.3. Gözenekli kemik iskele tasarımı için kullanılan yaklaşımlar	10
2.2.4. İdeal kemik doku iskelede bulunması gereken özellikler	10
2.3. Polimerler	12
2.3.1. Doğal polimerler.....	12
2.3.2. Sentetik polimerler	14
2.4. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları	16
2.4.1. Nanofiberler ve uygulama alanları	18
2.4.2. Nanofiber üretim yöntemleri.....	19
2.5. Elektro-Eğirme Yöntemi	22
2.5.1. Elektro-eğirme cihazı bölümleri.....	23
2.5.2. Elektro-eğirme cihazı çalışma prensibi.....	24
2.5.3. Elektro-eğirme sürecini etkileyen parametreler	24
2.5.4. Elektro-eğirme yöntemi ve diğer nanofiber üretim yöntemlerinin karşılaştırılması	27

2.5.5. Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanofiberlerin kemik doku mühendisliği üzerine yapılan literatür çalışmaları	28
2.6. Gümüş Nanopartikül	30
2.6.1. Gümüş nanopartikül üretim metotları ve yeşil sentez	31
2.6.2. Gümüş nanopartiküllerin kemik dokusunda kullanımı.....	32
2.7. Sarı Ballıbaba Bitkisi (<i>Lamium Galeobdolon</i>)	34
2.8. Ballıbaba Bitkisinin Biyomedikal Alanındaki Çalışmalara Katkısı	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Özellikleri	37
3.2. Kullanılan Cihazlar	38
3.2.1. Laboratuvar ortamında kullanılan cihazlar	38
3.2.2. Hazırlanan numunelerin analizi için kullanılan cihazlar	39
3.3. Yeşil Sentez Yöntemiyle Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretimi (eAgNP)	39
3.4. Elektro-eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi için Solüsyon Hazırlama.....	41
3.4.1. PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama;	41
3.4.2. %1 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama	42
3.4.3. %2 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama	43
3.4.4. %3 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama	44
3.5. Elektro-Eğirme Yöntemiyle Yeşil Sentezlenmiş Ballıbaba Bitkisiyle Enkapsüle Edilmiş Ag Katkılı PCL/ Kitosan Nanokompozit Nanofiber Üretimi.....	44
3.5.1. Elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi için kullanılan parametrelere ait özellikler	45
3.6. Üretilen Nanofiberlerin Karakteristik Özelliklerinin İncelenmesi	46
3.6.1. FE-SEM analizi	46
3.6.2. FTIR analizi	47
3.6.3. XRD analizi.....	47
3.6.4. TGA analizi	47
3.6.5. Su temas açısı	48
3.7. Üretilen Nanofiberlerin Mekanik Analizi	48
3.8. Biyobozunurluk Analizi	48
3.9. Antibakteriyel Aktive Analizi.....	48

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	50
4.1. FE-SEM Analizi Sonucu	50
4.2. X Işını Kırınımı (XRD) Analizi Sonucu	51
4.3. Termogravimetrik (TGA) Analizi Sonucu	52
4.4. FTIR Analizi Sonucu	55
4.5. Su Temas Açısı Analiz Sonucu	56
4.6. İn Vitro Biyobozunurluk Analizi Sonucu	58
4.7. Antibakteriyel Aktivite Ölçüm Sonucu	59
4.8. Mekanik Analiz Sonucu	61
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
5.1. Sonuçlar	64
5.2. Öneriler	66
6. KAYNAKLAR.....	67

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Kemik iskele tasarımında kullanılan teknikler	10
Tablo 2 Elektro-eğirme sürecini etkileyen parametreler	24
Tablo 3 Çözeltiye ait değişkenler	25
Tablo 4 İşlem parametrelerine ait değişkenler	26
Tablo 5 Çevresel değişkenler	26
Tablo 6 Elektro-eğirme yöntemi ve diğer yöntemlerin karşılaştırılması	27
Tablo 7 Gümüş nanopartikül kullanım alanları.....	30
Tablo 8 Analiz için kullanılan cihazlar	39
Tablo 9 Üretimde kullanılan malzemeler ve kullanım amaçları	45
Tablo 10 Hazırlanan nanofiberler ve öngörülen kullanım amacı.....	45
Tablo 11 Elektro-eğirme yöntemi için kullanılan parametre değerleri	46
Tablo 12 TGA dağılım analiz sonucuna ait bilgiler	52
Tablo 13 Nanofiberlere ait su temas açısı ölçüm sonuçları	56
Tablo 14 Nanofiber malzemelerin mekanik analiz sonuçları	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Kemiğin yapısı	5
Şekil 2 Doku mühendisliği uygulamasının şematik gösterimi	8
Şekil 3 Doku mühendisliği kemik iskele uygulaması	10
Şekil 4 Kitinden deasetilasyon ile kitosan sentezi	13
Şekil 5 PCL sentezi	15
Şekil 6 Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen tipik bir nanofiber yapısı	18
Şekil 7 Nanofiber üretim yöntemleri.....	20
Şekil 8 Elektro-eğirme yöntemi.....	22
Şekil 9 Elektro-eğirme cihazı bölümleri	23
Şekil 10 AgNP üretim süreci	32
Şekil 11 <i>Lamium galeobdolon</i> bitkisi	35
Şekil 12 Elektro-eğirme cihazı ve bölümleri.....	38
Şekil 13 Hazırlanan ballıbababa bitki özütü görseli.....	39
Şekil 14 Ballıbababa ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküllerin üretim süreci. a) Bitki özütü hazırlanması, b) Bitki özütü filtrasyonu, c) Karışımın cam kaba aktarılması, d) Etüvde buharlaştırma işlemi ile saf suyun uzaklaştırılması, e) Etüv işlemi sonrası kurutulmuş çözelti, f) Ballıbababa ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküller.....	40
Şekil 15 PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama aşamaları a) PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) PCL/kitosan solüsyonu	41
Şekil 16 % 1 BB-eAgNP PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama aşamaları. a) %1BB-eAgNp PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) % 1 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu	42
Şekil 17 %2 BB-eAgNP PCL/ Kitosan Solüsyonu Hazırlama Aşamaları. a)%2BB-eAgNp PCL solüsyonu b)Kitosan solüsyonu c)%2 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu	43
Şekil 18 %3 BB-eAgNP PCL/ Kitosan Solüsyonu Hazırlama Aşamaları. a)%3BB-eAgNp PCL solüsyonu b)Kitosan solüsyonu c)%3 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu	44
Şekil 19 Nanofiberlere ait SEM analiz görüntüleri a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) % 1 BB- eAgNP nanofiber c) %2 BB- eAgNP nanofiber d) %3 BB- eAgNP nanofiber	51
Şekil 20 Nanofiberlere ait XRD görüntüleri a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) % 1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber.....	52

Şekil 21 Saf PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı	53
Şekil 22 % 1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı	54
Şekil 23 %2 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı	54
Şekil 24 %3 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı	54
Şekil 25 Nanofiber yapıların FTIR spektrumları a) Saf PCL/ Kitosan b) %1 BB-eAgNP PCL/ Kitosan.....	55
Şekil 26 Nanofiberlere ait su temas açısı a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber	57
Şekil 27 Numunelerin zamana bağlı ağırlık kayıpları.....	59
Şekil 28 <i>Escherichia Coli</i> 25922 bakterisine karşı nanofiberlerin göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite. a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) % 1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) % 2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) % 3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber	60
Şekil 29 <i>Staphylococcus Aureus</i> 29213 bakterisine karşı nanofiberlerin göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite. a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) % 2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) % 3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber	61
Şekil 30 Nanofiberlerin gerinim- gerilim eğrisi a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) % 1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) % 2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) % 3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	celcius
ml	mikrolitre
mm	mikrometre
cm	santimetre
g	gram
kV	kilovolt
w/v	ağırlık/hacim
McF	McFarland
Ag+	Gümüş İyonu
mg	Miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
nm	nanometre
pH	power of hydrogen (hidrojen gücü)
rpm	revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)

Kısaltmalar

BB-eAgNP	Ballıbaba Enkapsüle Gümüş Nanopartikül
eAgNP	Enkapsüle Gümüş Nanopartikül
ECM	Ekstrasellüler Matriks (Hücre Dışı Matris)
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu)
FE-SEM	Field Emission Scanning Electron Microscope (Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu)
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi)
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz)
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
XRD	X-Ray Diffraction (X Işınımı Kırınımı)
PCL	Polikaprolakton
PLA	Poli (laktik) asit
PGA	Poli (glikolik asit)
PLGA	Poli (L-Laktik-ko-glikolik asit)

1.GİRİŞ

Vücudumuzda yer alan kemikler kemik iliği, kemik doku ve perosteumdan oluşmaktadır. Damar ve sinir yapılarıyla donatılmış bu kemikler, vücudu desteklemek, organları korumak, hareketi sağlamak ve besinleri depolamak gibi birçok işlevi yerine getirmektedir (Topaloğlu, Ketani ve arkadaşları 2017). Çeşitli olaylar sonucunda meydana gelen kemik hasarlarında doku mühendisliği çalışmaları dikkat çekmektedir.

Doku mühendisliği, hasar görmüş ya da fonksiyonel özelliğini tamamen yitirmiş doku ve organların onarımını amaçlayan disiplinlerarası çalışan bir bilim dalıdır. Doku mühendisliği çalışmaları 3 bileşene sahiptir. Bunlar kök hücreler, hücre büyümesine tetikleyen biyosinyaller, büyüme faktörleri ve bu hücrelerin ekiminin yapıldığı suni ekstraselüler matriks özelliği sağlayan doku iskeleleridir. (Karahaliloğlu 2009).

Doku mühendisliği çalışmaları bu 3 bileşeni içerecek şekilde şu şekilde gerçekleşmektedir. Sağlıklı hücrelerin izole edilmesi, izole edilen hücrenin invitro koşullarda çoğaltılması, doku iskelelerine naklinin gerçekleştirilmesi, üzerine gerekli parametreler (biyoaktif moleküller, besin, oksijen vb) eklenerek doku eldesinin sağlanması ve sağlıklı dokunun vücutta hasarlı kısma implante edilmesidir (Kobolak, Dinnyes ve arkadaşları 2016).

Son yıllarda doku mühendisliği uygulamalarında karşılaşılan sorunları çözmek, mekanik ve biyolojik performansı arttırmak amacıyla maddelerin nano boyutlarına kadar inilerek çeşitli avantaj sağlayacak özelliklerinin kullanıldığı nanoteknoloji alanından yararlanılmaktadır (Hasan, Morshed ve arkadaşları 2018).

Gelişen teknolojik çalışmalar neticesinde kemik onarımı için çeşitli yöntemler kullanılmakla beraber günümüzde daha çok kemiğin yeniden inşa edilmesi yöntemleri üzerinde durulmaktadır. Bu alanda doku mühendisliği ve nanoteknolojik gelişmelerdeki çalışmalar hız kesmeden devam etmektedir. Kemiğin yeniden inşası üzerine yapılan çalışmalar doku mühendisliği alanında yeni bir alt dalın oluşmasına neden olmuş ve kemik doku mühendisliği olarak karşımıza çıkan bu alan önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Öyleki kemik doku mühendisliği sayesinde hastalıklı ve hasarlı doku onarımı gerçekleştirilerek dokuya eski işlevinin kazandırılması sağlanmaktadır (Hutmacher 2000).

Kemik doku mühendisliği alanında yapılan çalışmalar bize doku rejenerasyon sürecinde etkili olan hücre dışı matris (ECM) iskele tasarımının oldukça önemli bir alan olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda yapay kemik iskele üretiminde(scaffold) biyouyumluluk, toksik olmama, yabancı cisim reaksiyonuna neden olmama, biyobozunur olma, malzeme dayanımı, yüksek gözeneklilik oranı gibi çeşitli parametreler önem kazanmaktadır (Neslihan, ŞahİN ve arkadaşları 2019) (Causa, Netti ve arkadaşları 2007). Oluşturulan yapay kemik iskele sağlıklı dokunun yeniden oluşması, hücrelerin çoğalması ve kendi hücre dışı matrisini oluşturması için olanak sağlar (Bülbül 2019).

Yapay kemik iskele tasarımı yapılırken doğal, sentetik ve kompozit malzemeler kullanılabilir (Causa, Netti ve arkadaşları 2007). Doğal ve sentetik polimer karışımları, polimer- seramik karışımları gibi kompozit malzemeler bu anlamda ilgi çekicidir bunun nedeni insan vücudun kompleks yapısı nedeniyle yapılacak tasarımın buna en yakın şekilde planlamasının yapılmak istenmesidir (Konuk 2017).

Son zamanlarda ECM'yi taklit yeteneğine sahip yapay kemik iskele üretiminde nanofiberler ve elektro-eğirme yöntemi üzerine yoğun çalışmalar görülmekte olup (Si, Tang ve arkadaşları 2014) bu yöntemle üretilen nanofiberler yüksek düzeyde gözenekli yapı, yüksek yüzey alanı/ hacim oranı ve gaz geçirgenliğine sahiptir. (Fang, Niu ve arkadaşları 2008).

Aynı zamanda hücrelerin bağlanması için uygun ortam sağlama ve besin geçişlerine imkân veren yüksek düzeyde gözeneklilik oranı sağlama avantajlarından dolayı da kemik iskele üretiminde elektro-eğirme kullanımı yaygındır (Nair ve Laurencin 2008) (Teo ve Ramakrishna 2006).

Kitosan, jelatin, ipek fibrin ve kolajen gibi doğal polimerler poli (laktik-ko-glikolik asit), polilaktik asit, poli (glikolik asit), poli (kaprolakton) gibi yapay polimerler yapay kemik iskele üretiminde elektro-eğirme yönteminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Khajavi, Abbasipour ve arkadaşları 2016).

Kitosan, hyaluronik asit, kondroitin sülfat ve alijinat gibi polisakkarit yapılı polimerlerin bu alanda kullanımı yaygın olmakla birlikte hyaluronik asit ve kondroitin sülfat gibi hayvansal kaynaklı olanlar hastalık riski oluşturmaktadır (Lanza, Langer ve arkadaşları 2020). Buna rağmen kitosan ve alijinat biyopolimerleri ise bu alanda daha çok tercih edilmektedir. (Bose, Roy ve arkadaşları 2012).

Elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi gerçekleştirilirken kullanılan nanopartiküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar kullanılarak üretimi gerçekleştirilebilmektedir (Sinha, Paul ve arkadaşları 2015).

Bu yöntemler içerisinde çevre dostu, yenilebilirlik ve pratik üretim aşaması katkılarından dolayı sık sık rastlanılan yeşil sentez olarak da ifade edilen biyolojik sentez toksik kimyasal kullanımına izin vermeyen, yüksek sıcaklık, enerji ve basınç gibi maliyete neden olabilecek faktörlere de ihtiyaç duyulmadan nanopartikül üretimi gerçekleştirmektedir (Karnani ve Chowdhary 2013).

Bu yöntemle üretim gerçekleştirilirken bitki özleri, virüsler, bakteriler, mayalar vb gibi çeşitli biyomalzemeler kullanılmaktadır. Bitki özleri kullanılarak gerçekleştirilen metalik nanopartikül sentezinde bitki içerisindeki biyomoleküller içerdikleri fonksiyonel gruplar (vitamin, polisakarit vb) ile metallerin indirgenmesine olanak sağlar (Çiftçi, Çalışkan ve arkadaşları 2021).

Üretim gerçekleştirilirken gümüş (Ag), altın (Au) ve bakır (Cu) gibi metaller inorganik antibakteriyel aktivite özellik sağlaması sayesinde iltihaplanmayı önleyebilirliği nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır (Nartop 2019).

Verilen bilgiler doğrultusunda tez çalışması kemik doku mühendisliği alanında yapay kemik iskele geliştirmesi üzerine gerçekleştirilmiştir. Çalışma toplamda 3 aşamada gerçekleştirilmiştir.

İlk basamak olarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül üretimi yapılmıştır. Üretim gerçekleştirilirken indirgeyici ajan olarak *Lamium Galeobdolon* bitki özütü kullanılmış böylece ekstrakt ile kaplanmış gümüş nanopartikül elde edilmiştir.

İkinci aşamada elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir. Elektro-eğirme yöntemiyle üretim yapılırken doğal polimer kitosan, sentetik polimer PCL ve 1.aşamada hazırlanan ballıbaba ekstarktı ile kaplanmış gümüş nanopartikül malzemeler kullanılmış olup saf PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan, %2 BB- eAgNP PCL/ Kitosan, %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan olmak üzere 4 çeşit nanofiber üretimi sağlanmıştır.

Son aşamada üretimi yapılan nanofiberin kemik iskele olarak uygunluğunu belirlemek için in vitro testler, karakterizasyon testleri, mekanik analiz testi, antibakteriyel aktivite ve biyobozunurluk testleri gerçekleştirilmiştir.

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kas ve İskelet Sistemi

İnsanlar ve omurgalı hayvanlarda yer alan iskelet sistemi vücudumuzda bulunan eklem ve bağlarla birbirine entegre olan kemiklerden oluşan, çevresi kaslarla donatılmış canlıya destek veren, ona hareket etme imkânı sağlayan, genel olarak minerallerden oluşan bir yapıdır (Marks ve Odgren 2002, Shipman, Walker ve arkadaşları 2013, 2017) (Marks ve Odgren 2002, Shipman, Walker ve arkadaşları 2013, 2017).

İnsan iskeleti; temelde baş, gövde, üst ekstremiteler ve alt ekstremiteler olmak üzere 4 bölümden oluşmaktadır. Bu yapı içerisinde bulunan ve hareket sistemimiz için önemli bir faktör olan kemikler uzun kemikler, kısa kemikler, yassı kemikler, düzensiz kemikler, susamsı kemikler ve havalı kemikler olmak üzere 6 çeşittir. Yeni doğanda 270 kemik bulunurken yetişkin bireylerde bu sayı 206'ya düşmektedir (Bingöl).

İnsan vücudunda bulunan bu kemikler iç organları koruma, besin alışverişine yardımcı olma, vücudun şekil olarak belli bir formda tutulması ve kalsiyum sağlama gibi çeşitli görevleri üstlenmektedir (Coşkun 2020).

2.1.1. Kemik dokusunun yapısı ve önemi

Kemikler toplam vücut ağırlığının %14 ünü oluşturan (Steele ve Bramblett 1988) kemik doku, kemik iliği ve periosteumdan(bağ doku) oluşmaktadır. (Topaloğlu, Ketanî ve arkadaşları 2017).

Kemik: kemik zarı (periost), sert kemik (kompakti kortikal kemik), süngerimsi kemik (trabeküler kemik) ve kemik iliğinden (kırmızı ve sarı) oluşmaktadır (Yılmaz 2020). Kemiğin içeriğine ait resim Şekil 1'de verilmiştir (Sadat-Shojai, Khorasani ve arkadaşları 2013).

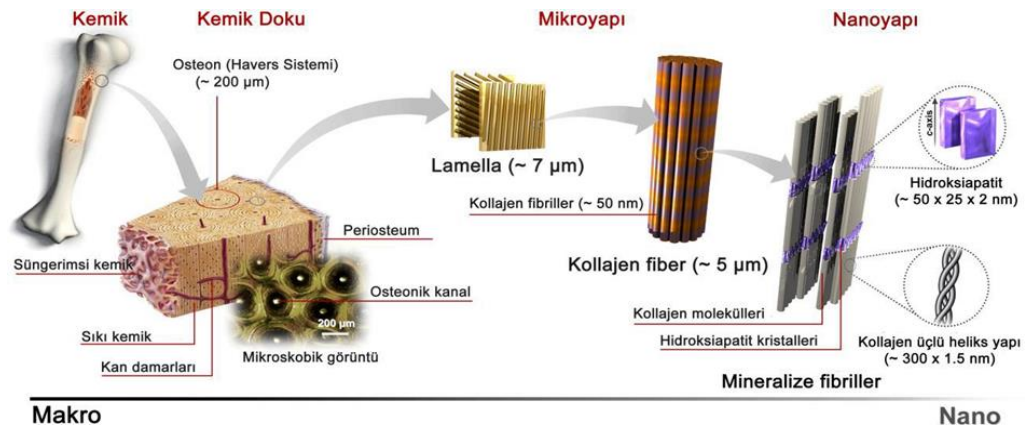
Oldukça karmaşık bir yapı olan kemik doku periosteumün özelleşmesiyle oluşmuş vücutta yer alan diğer doku türleriyle sürekli bir etkileşim içinde bulunmakta olup kemik hücreleri (osteosit) ve ara maddelerin (osein) birleşimiyle oluşmaktadır (2017).

Kemik doku içeriğinde %70 oranında inorganik, %30 oranında organik bileşenler bulunmaktadır. Kemiğe sertlik veren ve dış etmenlere karşı mekanik bir dayanım

sağlayan mineral yapısı inorganik kısım, elastik özelliğini sağlayan kolajen lifler ise %70'lik kısım olan organik kısım sayesinde (Allen ve Burr 2019).

Kemik doku içerisinde görevli çeşitli hücreler barındırmaktadır. Bunlar osteoblastlar, osteoklastlar ve osteositlerdir (Tunçay 2013).

Kemik doku içerisinde yapım ve yıkım işlemleri sürekli bir şekilde devam etmekte olup burada kemik oluşumunda görevli osteoblastlar ve ölü kemik dokunun yıkımında görevli osteoklast hücreler görev almaktadır. Aynı zamanda hücre, hücre dışı matris (ECM) içerisinde bulunan kemik dokunun canlılığı ve hücreler arası protein üretimi sırasında kemik yüzeyi oluşumunda görevli osteositler yer almaktadır (Topaloğlu, Ketanî ve arkadaşları 2017).



Şekil 1 Kemığın yapısı

2.1.2. Kemik dokusundaki hastalıklar, hasarlar, kırıklar ve iyileştirme metodları

Kırıklar sık görülen yaralanmalardır. Kırık iyileşmesi pek çok biyolojik ve mekanik faktörün birlikte organize bir şekilde etkileşmesiyle gerçekleşen bir süreçtir. Biyolojik faktörler Bone Morfojenik Proteini (BMP), Transforming Büyüme Faktörü (TGF-B), Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 2 (IGF 2) ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) gibi biyokimyasal sinyaller olup bunun yanı sıra büyüme hormonu, Kalsitonin, Östrojen, Kortikosteroidler, Tiroid ve D vitamini gibi hormonal faktörlerdir. Gerilme, basınç, stabilite ve akışkan hızı gibi faktörlerde mekanik faktörlerdir. İyileşme sürecinde görevli bu iki faktör kritik öneme sahiptir. Doğru zamanda doğru yaklaşımlarla

bu faktörlerin bir uyum içinde yönetilmesiyle, kırık sağlıklı ve hızlı bir şekilde iyileşebilmektedir (Tanrıkulu ve Gönen 2017).

Ancak kemiğin kendiliğinden gelişen bir iyileşme süresi göstermediği çeşitli olaylar sonucu meydana gelen çok parçalı kırıklarda ve büyük oranda defeklere neden olan durumlarda rejenerasyon özelliğini tam olarak koruyamamakta ve iyileşme süreci yetersiz kalabilmektedir (Huri, Hasırcı ve arkadaşları 2010).

Bu gibi durumlarda eksternal bir etki ile kemik dokunun rejenerasyonu sağlanarak iyileşme süreci çeşitli malzeme kullanımıyla defekt boşuklarının doldurulması şeklinde desteklenmektedir. Kemik organ naklinin diğer nakillere kıyasla beş kat fazla artış oranı göstermesi de göz önüne alındığında kemik doku alanında yapay kemik oluşturabilecek bu gibi sistemlere olan ilgi göz ardı edilemez (Huri, Hasırcı ve arkadaşları 2010).

2.2. Doku Mühendisliği

Son yıllarda ortaya çıkan çevresel etmenler ve günlük yaşama tarzının değişmesine bağlı olarak çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Hastalıklar, trafik kazaları, çeşitli travmalar, ameliyatlar vb birçok nedenden dolayı organ fonksiyonel yapılarında bozukluklar meydana gelmektedir. Meydana gelen bu doku bozuklukları giderilmediğinde daha büyük sıkıntılar ortaya çıkmakta buna bağlı doku ve organ kayıpları yaşanmaktadır.

Bu kayıpların giderilmesinde organ nakilleri önemli bir yer tutmaktadır. Organ nakli sayesinde hasarlı veya özelliğini kaybetmiş organ yerine trasplantasyon gerçekleştirerek hasta bireyi yeni organa kavuşturma sağlanmaktadır böylece hasta için sıkıntılı durum ortadan kaldırılmaktadır buna rağmen organ trasplantasyonunda ortaya çıkan donör azlığı, immün cevap oluşumu vb. olumsuz faktörlerden dolayı istenilen sonuca hemen ulaşamamaktadır (Ergin, Ekici ve arkadaşları 2018).

Bu durum alternatif tedavi yöntemlerini zorunlu kılmakta kayıpları gidermek amacıyla doku ve organ rejenerasyonu için çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Bu alanda varolan tedavi yöntemleri otogreft, allograft ve zenogreft aktarımı üzerinde durmaktadır (Ülker 2013).

Hasta bireyin kendi vücudundan alınan bir dokunun başka bir yerde kullanımıyla ortaya çıkan tedavi yöntemi otogreft, farklı bir bireyden alınan dokunun hasta kişiye

entegresi allogreft ve hayvandan alınan dokunun insana aktarımıyla yapılan tedavide zenogreft olarak tanımlanmaktadır (Toykan 2003).

Bu 3 yöntem incelendiğinde çeşitli olumsuzluklar karşımıza çıkmaktadır. Ototogreftler pahalı bir tedavi yöntemi oluşu, hastadan alınabilecek doku miktarının sınırlı oluşu, morbidite ve hematoma gibi yan etkiler oluşturması ve ikinci bir ameliyata ihtiyaç duyma gibi kısıtlamalar yaşanmakta (O'brien 2011); allogreft ve zenogreftler ile tedavi sürecinde greftlerin hastanın bağışıklık sistemi tarafından reddedilme riskinin yüksek olması ve donör kaynaklı iltihaplanma ve hastalıklar nedeniyle ciddi kısıtlamalara sahiptir (Ülker 2013).

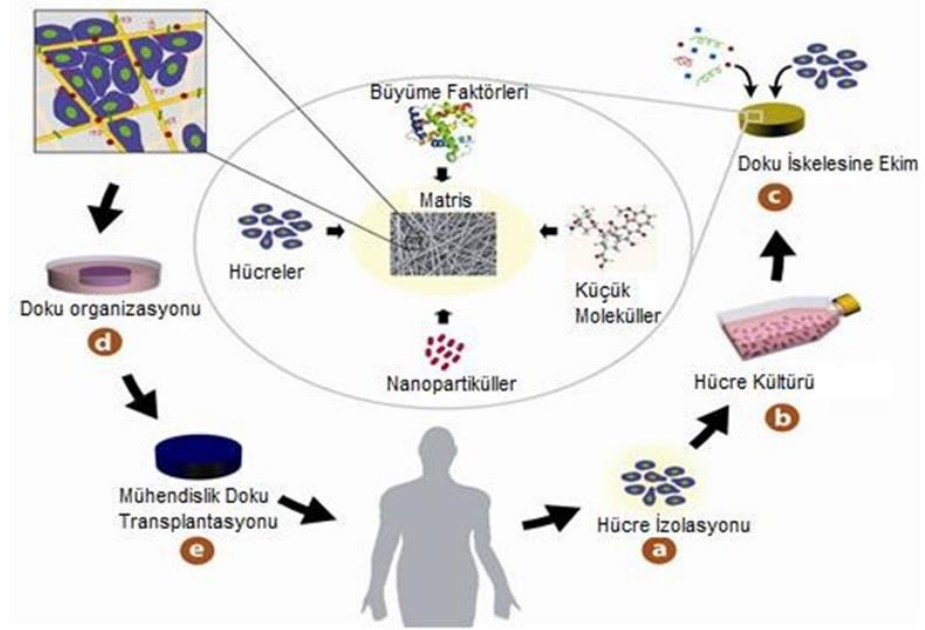
Tüm bu olumsuzluklar yeni bir alanın doğmasını sağlamıştır. İlk tanımı 1987'de California Üniversitesi'nden Dr. Y.C. Fung tarafından NSF'nin (National Science Foundation) bir toplantısında dile getirilen doku mühendisliği (Akca Can ve Duran 2009), temel mühendislik prensiplerini temel alarak çalışan doku veya bütün organ işlevinin kaybedilmesi durumunda mevcut tedavi yöntemlerine alternatif olarak, hasarlı bölgeyi otogreft ya da allogreft eşlenikler ile değiştirmek yerine doku fonksiyonunun yeniden onarımı üzerine çalışan, dokuyu taklit eden, koruyan veya iyileştiren biyolojik iskeleler geliştirmeyi hedefleyen disiplinlerarası bir bilim dalıdır (2018).

Doku mühendisliği çalışmaları 3 şekilde yapılır (Ülker 2013):

1) Bir molekülün hasarlı doku veya organa enjektasyonu; molekül sayesinde sağlam hücrelerin yaralı bölgeye hareketi ile iyileşme sağlanır, özellikle küçük doku hasarlı durumlarda işlevselliği büyüktür.

2) İzole edilen hücrenin polimerik taşıyıcı varlığında hücreye verilmesi: doku onarımı gerçekleştirilir.

3) Hasta veya uygun vericiden alınan hücrelerin uygun besi ortamında bekletilerek çoğaltılması; Şekil 2'de (Dvir, Timko ve arkadaşları 2011) verilen bu yöntem çoğaltılan hücrelerin, biyosinyal moleküller varlığında doku iskelesi üzerine ekiminin yapılarak hasarlı doku bölgesine yerleştirilmesi, doku iskelesinin vücuda uyum sağlanana kadar görev alması ve biyobozunur yapısı ile doku içerisinde emilerek dokunun kendi görevini yapmaya başlaması şeklinde gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2 Doku mühendisliği uygulamasının şematik gösterimi

2.2.1. Kemik doku mühendisliği

Son zamanlarda kemik doku mühendisliği üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır, bunda kemik hücrelerinin tip olarak yumuşak dokulara göre daha basit olması etkili olmuştur. Kemik doku mühendisliği ile kemiğe bağlı hastalıklar sonucu ortaya çıkan kemik doku yaralanmaları tedavi imkânı bulmuştur (Akgüner ve Öztürk 2021).

Kemik doku mühendisliği yaklaşımı temelde 3 bölümden oluşmaktadır ve bunlar aşağıda verilmiştir (2014).

1. Hasar görmüş veya yok olmuş dokuyu tekrar oluşturacak hücreler,
2. Taşıyıcı görevi yapan ve hücrelere desteklik sağlayan materyaller (doku iskeleleri)
3. Hücre üremesi ve farklılaşması için gerekli morfojenik sinyaller, sitokinler ve bazı biyoaktif faktörlerdir.

Kemik yapısındaki sert doku ve içeriğinde bulunan kemiğe çekme gücü veren organik kısım ve yüksek sıkışma gücü sağlayan inorganik kısım sayesinde iyi mekanik özelliklere sahip olmasına rağmen bu yapının komplike bir şekilde taklit edilerek doku mühendisliğinde kullanılması zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu alanda çalışma

gerçekleştirilirken kullanılan malzemelerin doku ile uyum sağlayabilecek özellikte olmasına dikkat edilmektedir (Hasırcı, Işıklı ve arkadaşları 2010).

2.2.2. Kemik doku mühendisliği iskeleleri

İnsan vücudu kompleks bir yapıya sahiptir. Bu yapı içerisinde hücreler ve ECM birleşerek dokuları, dokular organları, organlar sistemleri ve sistemlerde canlı vücudunu oluşturmaktadır (Akca Can ve Duran 2009).

Bu yapı içerisinde ECM önemli bir yere sahiptir. Kemik doku mühendisliğinde kullanılan hücreler herhangi bir yapısal destek olmadan sıvı içerisinde uzun süre yaşayamazlar bu nedenle hücre ekiminin yapılacağı bir destekleyici iskeleye gerek vardır. Canlı vücudu içinde bu doğal destekleyici görevi ECM sağlamaktadır (Doğruok 2019).

ECM hücre beslenmesi, hücre büyümesi, hücre rejenerasyonu, metabolik faaliyetler sonucu ortaya çıkan atıkların atılması ve hücrelerin üzerinde gelişip doku ve organ gibi yapıları oluşturacağı bir sistem sağlamaktadır (Kiremitler 2016).

Doğal kemik doku yapısının çeşitli hastalık kaza vb durum sonucu hasarlanması sonucunda bu yapı hasar görmekte ve bu durum kemik doku rejenerasyonunu gerekli kılmaktadır (Çabuk).

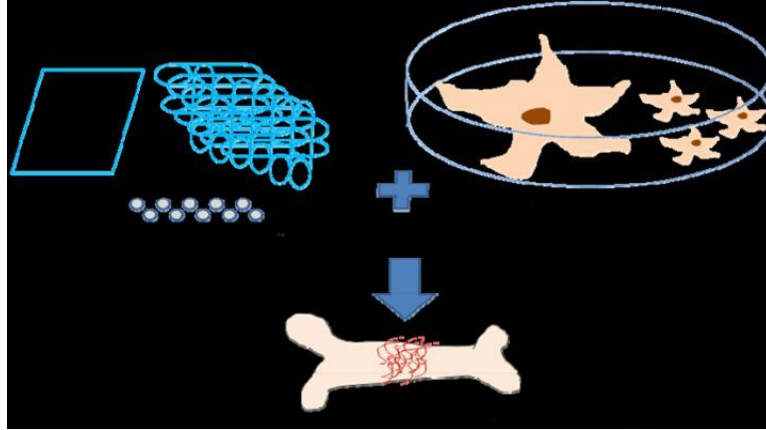
Küresel kemik greftleri ve ikameleri pazar büyüklüğü araştırmalarına bakıldığında 2021'de 2,91 milyar ABD Doları değerindeyken 2022'den 2030'a kadar %6,2'lik bir bileşik yıllık büyüme hızında (CAGR) genişlemesi beklenmektedir.

Pazar büyüklüğü bu denli büyük olan bu alanda mevcut otogreft ve allogreft doku transplantasyonun ek ağrı, defektli bölge için uzun iyileşme süresi, sınırlı donör, enfeksiyon riski gibi çeşitli dezavantajları bulunmaktadır (Vang 2006).

Tüm bu dezavantajları ortadan kaldırmak için hasarlı veya hastalıklı kemik doku rejenerasyonunda istenen özelliklere uygun yapay bir kemik iskele yapısına ihtiyaç olduğu açıkça görülmektedir (Ağbaba 2016).

Bu yapay kemik iskele 'scaffold' olarak tanımlanmaktadır (Neslihan, Şahin ve arkadaşları 2019).

Scaffoldlar üzerine ekimi yapılan hücrelerin işlevsel bir şekilde dokuya dönüşmesi için destek matris görevi görmektedir örnek bir kemik iskele yapısı Şekil 3'te (Hasırcı, Işıklı ve arkadaşları 2010) verilmektedir (Gümüşderelioğlu, Maviş ve arkadaşları 2007).



Şekil 3 Doku mühendisliği kemik iskele uygulaması

2.2.3. Gözenekli kemik iskele tasarımı için kullanılan yaklaşımlar

Doku mühendisliği uygulamalarında gözenekli kemik iskelesi üretimi için çeşitli yöntemler kullanılmakta olup bu yöntemler Tablo 1’de (Top, Gökçe ve arkadaşları 2020) verilmiştir.

Tablo 1 Kemik iskele tasarımında kullanılan teknikler

ÜRETİM TEKNİĞİ			
Gaz Köpürtme	Köpük Jel	Faz Ayrımı	Partikül Süzme
Çözücü Dökümü	Fiber Bağ	Dondurarak Kurutma	Membran laminasyon
Kalıplama	Elektro-eğirme	Biominalizasyon	

Kemik doku iskeleleri hazırlanırken biyobozunur doğal polimerler, sentetik polimerler, seramikler, metaller ve bunların kompozitleri kullanılabilir (Bülbül 2019).

2.2.4. İdeal kemik doku iskelede bulunması gereken özellikler

İdeal bir kemik iskele osteokondiktif olmalı (yeni kemik oluşumunu indüklemek), operasyon sırasında şekillendirilebilir, steril edilebilir ve geniş yüzey alanına sahip (Jin,

Takita ve arkadaşları 2000) porlu (100- 500 µm arasında bir por büyüklüğü (Yılmaz 2017)) ve oluşan metabolik atıkların taşınmasını kolaylaştıracak (Hutmacher 2000) şekilde gözenekli (%90 seviyesinde (Yılmaz 2017)) bir yapıya sahip olmalı (Neslihan, ŞahİN ve arkadaşları 2019), bu sayede içerisinde yer alan hücrelerin yapışmasına büyümesine ve çoğalmasına imkân vermeli (Yılmaz 2017) ve gözenek içinde tutunabilmelerini sağlamalı (Yıkar 2013), gözenek yapısı sayesinde scaffold içerisinde oluşacak dokunun gelişimine ve damarlanmasına izin vermelidir (Burr 2019).

Gözenekli yapının bu kadar önemli olmasının bir başka nedeni de uygun bir yapı olmaması durumunda kök hücrelerin ortamda canlılığını yitirmesi ve fazla artan bir gözeneklilikte de mekanik özelliklerin iyi olmamasıdır (Yıkar 2013).

Bu gözeneklilik ve porlu yapının sağlanması için nano boyutların sağladığı yüksek yüzey/hacim oranı oldukça önemlidir (Yılmaz 2017).

Vücut içerisine implante edileceğinden biyouyumlu ve biyobozunur olmalı (Cao, Croll ve arkadaşları 2005) biyobozunur hızı doku iyileşmesiyle eş zamanlı hareket edebilecek bir fonksiyona sahip olmalıdır. İskele bozunması erken olduğunda hedef doku oluşmadan iskele işlevini kaybeder, yavaş olduğu durumda da hücreler doku oluşturacak bir boşluk bulamaz (Yılmaz 2017). Bu nedenle iyileşmenin tam sağlandığı durumda malzeme vücut içerisinde emilmelidir (Burr 2019). Bozunma ürünü olarak ortaya çıkan maddeler sitotoksik bir etkiye neden olmamalı (Cao, Croll ve arkadaşları 2005) ve bağışıklık sistemine zıt bir etki vermemelidir (Yılmaz 2017).

Kemik dokusu vücutta en fazla yük maruzatına kaldığından uygulanacağı bölgenin mekanik özelliklerinin gerekliliklerini sağlayacak ve ortama yerleştirilirken kırınım vermeyecek bir dayanıma sahip olmalı (Yılmaz 2017) ve hücreler arası etkileşime izin vermelidir. Uygulandığı alanda antijenik ve toksik bir mekanizma oluşturmamalıdır. Aynı zamanda ticari olarak geliştirilebilirliğinin yüksek olması açısından maliyet olarak ucuz olmalı (O'brien 2011) ve hastaya implante edileceği sürece kadar kolay ve düşük maliyetli bir depolama özelliğine sahip olmalıdır (Hutmacher 2000).

Tüm bu özelliklerin birlikte sağlanabilmesi için çeşitli malzemelerin bir araya getirilerek kompozit bir yapıda scaffold üretimi yapılması uygun olacaktır bunun için tez çalışmasında kompozit bir yapı oluşumu için doğal polimer olarak kitosan, sentetik polimer olarak PCL ve bu yapının içerisine (ballıbaba özütü en kapsüle gümüş nanopartikül) BB-eAgNP eklenerek karışım hazırlanmış ve elektro-eğirme ile üretim

gerçekleştirilmiştir. Kullanılan malzemelere ait açıklamalar tezin aşağıdaki bölümlerinde detaylı bir şekilde verilmiştir.

2.3. Polimerler

Monomer diye adlandırılan çok sayıda molekülün kimyasal bağlarla bağlanarak bir araya gelip uzun zincirler oluşturduğu polimerler yüksek molekül ağırlığına sahiptirler (Şentürk, Fatih Coşkun ve arkadaşları 2012).

Günümüzde polimerler mekanik dayanımlarının yüksek olması, kimyasal etkilere maruziyette dayanıklılık, hafif olmaları, şekillendirilebilirlerinin yüksek olmaları, ucuz maliyette üretim yapılabilirlikleri ve yalıtkan olmaları ve lif, film, jel ve nanopartikül formlarında üretilebilir olmaları (Erisken, Kalyon ve arkadaşları 2008) gibi özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (2010).

Polimerlerin oluşum yapılarına göre 2 sınıfa ayrılır. Bunlar: doğal polimerler ve sentetik polimerlerdir (Mutlu 2014).

2.3.1. Doğal polimerler

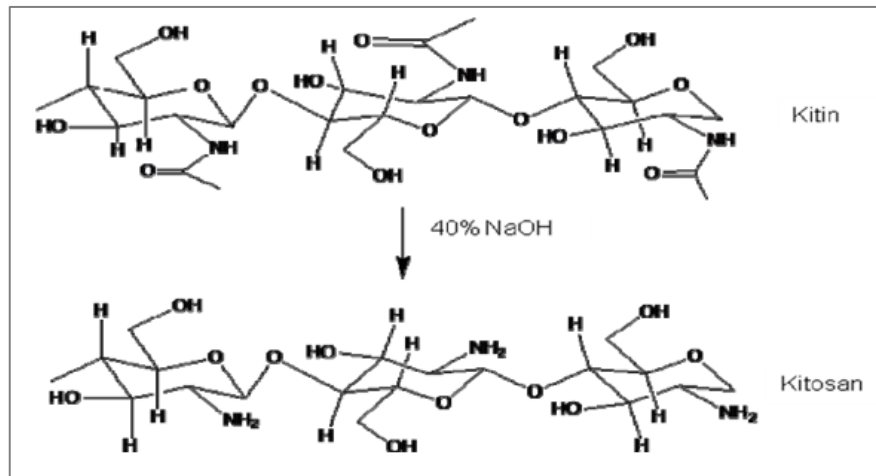
Doğal polimerler 3 başlıkta ele alınır: Bunlar polisakkaritler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Kitosan, selüloz, hiyalüronik asit, kolajen doğal polimerlere verilecek örnekler arasındadır (Edgar, Mcnamara ve arkadaşları 2016).

Doku mühendisliği uygulamalarında biyoaktif malzeme özelliği gösteren bu sayede vücut ile reaksiyona girerek doku oluşumu sağlayan doğal yollarla elde edilen doğal polimerler sıklıkla kullanılmaktadır. Doğal yollarla üretilmeleri sebebiyle bu polimerler toksik özellik göstermez ve biyouyumludurlar bu nedenle deneysel ve teorik uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Ji, Liang ve arkadaşları 2014).

Doğal polimerler biyolojik özelliklerinden dolayı iskele yapımında sıklıkla tercih edilmesine rağmen zayıf mekanik özellikleri, biyobozunurluğu, elde edilebilirliğindeki kısıtlılık, olası immunogenetik ve patojenik kirlilik gibi bazı dezavantajları doku mühendisliğinde kullanımlarını kısıtlamaktadır bu nedenle bu tezde doğal polimerler tek başına kullanılmayıp kompozit bir yapı oluşturulmuştur (Perihan 2016).

2.3.1.1. Kitosan

Kitosan karides, yengeç, istakoz, kerevit gibi canlıların kabukları ve dış iskeletlerinden ekstrakte edilen kitinin heterojen deasetilasyonu sonucunda elde edilen bir glikozaminoglikozdur (Oktav Bulut ve Elİbüyük 2017). Kitin deasetilasyonu ile kitosan elde edilmesine dair bu yapı Şekil 4'te (Hasırcı, Işık ve arkadaşları 2010) verilmiştir.



Şekil 4 Kitinden deasetilasyon ile kitosan sentezi

Kitosan toksik özellik göstermemesi, biyobozunur ve biyoyumlu olması ve ucuz olarak elde edilmesi bakımından özellikle gıda, biyomedikal, biyoteknoloji kozmetik, ziraat vb alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kurtuluş ve Vardar 2020).

Ayrıca kitosanın sağlamış olduğu antibakteriyel, antiviral ve antifungal özelliklerde kitosanın biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmasına neden olmaktadır (Alver, Bulut ve arkadaşları 2017).

Bu amaçla biyomedikal alanında yapay deri üretimi, gen tedavisi için ligand, yapay böbrek membranı, lipit ve kolesterol tutucu araç ve kemik hasarlarının tamiri gibi alanlarda kitosan kullanımı yaygındır (Öztekin 2017).

Kitosanın çeşitli alanlarda yaygın kullanımı olmasına rağmen mekanik olarak zayıf olması bu polimer için büyük bir dezavantaj olmaktadır (Çiftçi, Tamer ve arkadaşları 2014).

Bu çalışmada da kitosanın bu dezavantajını ortadan kaldırmak için PCL ve ballıba ekstrektü ile kaplanmış gümüş nanopartikül yapıdan oluşan kompozit bir yapı kullanılacaktır.

2.3.1.2. Kitosan polimerin kemik iskele çalışmalarına katkısı

Elektro-eğirmeleme yöntemi kullanılarak sentetik kemik iskele tasarımında kitosan, HA, kolajen ve ipek gibi doğal polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır (Matthews, Wnek ve arkadaşları 2002).

Çalışmada doğal bir polimer olan kitosan ve sentetik polimer PCL polimerlerinden Kitosan/ PCL hibrit doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiş olup kitosan pozitif yüklü olması ECM içerisindeki negatif yüklü glikozaminoglikan etkileşimi sağlaması ve film ve gözenekli doku iskelesi olarak üretim kolaylığı sağlamıştır (Türkoğlu Şaşmazel 2010).

Kitosan içerikli doku iskeleleri yara iyileşmesini ve doku kararlılığı ve kemik iyileşmesi sağlamakta ve ECM'nin ana bileşeni glikozaminoglikan (GAG) ile benzerlik göstermesi nedeniyle kemik iskele çalışmalarında sık sık kullanılmaktadır (Ülker 2013).

Kitosan kemik hücrelerinin farklılaşması ve kemik oluşum desteklemede etkin bir polimer olarak kullanılabilir (Durukan 2012).

Çalışmalarda kitosanın doku iskele olarak kullanımında gözenek yapısını artırdığını bu sayede hücre yapışması, besin geçişleri ve hücre çoğalmasını mümkün kıldığı görülmektedir (Çeper 2021).

2.3.2. Sentetik polimerler

Sentetik polimerler kullanılacak uygulamaya göre farklı çeşitleri oluşturulabilen ve tekrarlanan çözeltilerinde tekdüze bir formda elde edilebilirliği yüksek olması nedeniyle oldukça yaygın kullanıma sahiptirler (Can ve Ersoy 2014).

İnert bir yapıya sahip olan sentetik polimerler sahip olduğu biyouyumluluk ve kolay işlenebilirlik ve ECM'ye şekil ve kimyasal olarak benzer yapıda lif oluşturma özelliklerinden dolayı biyomedikal alanda kullanımları yüksektir (Ji, Liang ve arkadaşları 2014).

Yaygın kullanılan sentetik biyopolimerler: poli (laktik asit) (PLA), poliüretan (PU), poli (glikolik asit) (PGA), poli (ϵ - kaprolakton) (PCL), poli (hidroksi bütirat) (PHB), poli 3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiperat (PHBV) Polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), poli laktat glikolik asit (PLGA). Bunlar içerisinde poli (laktik asit), poli (glikolik asit), poli (laktik-ko-glikolik asit), poli (kaprolakton) ECM'yi polisakkarit zincirleri

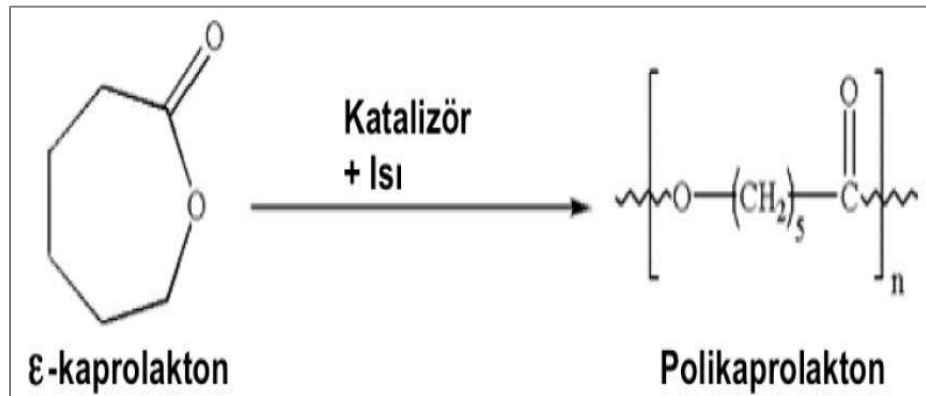
içercek düzeyde mükemmeliyette taklit etmektedir (Chahal, Hussain ve arkadaşları 2013).

Bu nedenle bu sentetik biyopolimerlerin kemik iskele tasarımında kullanımı yaygındır. Tez çalışmasında da PCL polimeri bu amaç için kullanılacaktır.

2.3.2.1. PCL polimeri ve kimyasal özellikleri

PCL görece olarak ucuz, hidrofobik, biyobozunur, lineer alifatik bir polyesterdir. Moleküler yapısında beş apolar metilen grup ve tekrar eden tek polar ester grup bulunur. 60 °C civarında düşük bir erime noktasına ve yaklaşık -60 °C de cam geçiş sıcaklığına sahiptir (Kiremitler 2016).

PCL elde edilirken ϵ -kaprolaktan'ın Kalayoktanat katalizör eşliğinde halka açılma polimerizasyon yöntemi kullanılmakta olup bu yöntem Şekil 5'te (Eroğlu 2014) resmedilmiştir.



Şekil 5 PCL sentezi

PCL'nin biyolojik olarak parçalanabilen polyesterlere göre daha yavaş bozunurluğu (Arakawa ve Deforest 2017) sayesinde uzun süreli implant edilebilir malzeme olarak kullanılabilirliği yüksektir.

Hücre yapışması ve çoğalması hidrofobik özelliği ve zayıf yüzey ıslatması nedeniyle düşük olan bu polimer diğer sentetik ve doğal polimerlerle birlikte karıştırılarak uygulamalarda yer almıştır (Sousa, Mendes ve arkadaşları 2013).

Sahip olduğu mekanik, kimyasal özellikler ve kolay işlenebilir özelliği, biyobozunur oluşu nedeniyle doku hasarlarını onarmada sık sık kullanılan FDA onaylı PCL polimeri insan doku gelişimini için destek matrisi olarak kemik iskele tasarımlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Domingos, Dinucci ve arkadaşları 2009).

2.3.2.2. PCL polimerinin kemik iskele çalışmalarına katkısı

Fizyolojik koşullar altında hidrolizi yüksek olması sayesinde (Edgar, Mcnamara ve arkadaşları 2016) PCL'nin doku mühendisliği alanında kullanımı ilgi çekmektedir (Chen ve Liu 2016).

PCL, iyi biyouyumluluğu, biyobozunurluğu sayesinde menisküs iskelelerinin üretiminde yaygın olarak kullanılan bir malzemedir (Chen, Gao ve arkadaşları 2018).

Bir in vivo çalışmada MSC kültürü içerisinde PCL yapısı fare omentası içerisinde test edilmiş ve 4 haftalık süreç sonrasında kemik yapı oluşumu gözlenmiştir (Gündüz 2014).

Kemik yerine kullanılacak yapıların geliştirilmesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış, PCL'nin biyolojik olarak parçalanabilirliği ve geçirgen yapısının olması, düşük maliyeti, kolay üretilebilir oluşu biyomedikal alanında geniş bir uygulama alanı olduğu görülmüştür özellikle elektro-eğirme yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalar başarılı sonuçlar vermiştir bu alanda yapılan bir çalışmada yüzeyinde çok düşük miktarda Ag nanopartikülleri içeren PCL nanofiber membran sentezlenmiş ve başarı sağlanmıştır, farklı bir çalışmada kalsiyum fosfat kaplamalı PCL dokusu sentezlenmiş ve analiz sonuçlarına göre kemik doku mühendisliğinde kullanımının avantajlı olduğu bulunmuştur (Çetin 2017).

2.4. Nanoteknoloji ve Uygulama Alanları

21. yüzyılın en önemli teknolojik gelişimi olan nanoteknoloji, nano ve teknoloji kelimelerinin birleşmesiyle meydana gelmiş, nanometre boyutundaki yapıların tasarlanması ve kullanılmasına odaklanmış hızla gelişim gösteren bir bilim dalıdır (2018).

Bu alanda nanoboyutlarda malzemelerle çalışılmaktadır, bir malzemenin nanomalzeme olarak sınıflandırmasında kural en az bir boyutunun 100 nm altında olması gerekliliğidir bu kapsamda malzemeler incelendiğinde şu şekilde bir sınıflandırma

karşımıza çıkar sadece 1 ayrıtı 100 nm'nin altında olan malzemeler "nanofilm", 2 ayrıtı 100 nm'nin altında olan materyaller "nanotüp", "nanofiber" veya "nanotel", 3 ayrıtı da 100 nm'nin altında olan materyaller "nanopartikül" olarak isimlendirilmektedir (Saallah ve Lenggoro 2018).

Nanomalzemelerin boyutsal olarak sınıflandırılması ise şu şekildedir (Jonh C 2005).

- 0-D nanomalzemeler (nanopartikül)
- 1-D nanomalzemeler (nanotüp, nanotel, nanofiber)
- 2-D nanomalzemeler (nanofilm)

Bu sınıflandırmaya göre bir boyutlu nanoyapılar kendilerine özgü özellikleri nedeniyle nanoteknolojinin en ilgi çekici konuları arasında yer almakta olup tez çalışmasında da bu alanda nanofiber çalışması gerçekleştirilmiştir (Süslü 2009).

Nanoteknoloji ile maddelere fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak yeni özellikler kazandırılması mümkün hale gelmiştir (Özcan 2019).

Öyle ki makro boyutta maddelerde var olmayan özellikler nanoboyutlara indikçe kendini gösterebilir buna neden olan makro dünyadaki ölçülerin süreklilik göstermesidir. Buna rağmen nano boyutta böyle bir şey söz konusu değildir ve aynı zamanda nano boyuta inildikçe malzemenin yüzey alan/hacim oranının artış göstermesi sayesinde de çeşitli avantajlar elde edilebilmektedir (2018).

Nanoteknolojinin bizlere sunduğu avantajlardan biri de kaliteli, uzun ömüre sahip, ucuz maliyetli, hafif ve küçük boyutta üretim yapılabilir bir alan olmasıdır (Hakan ve Bahçeci 2015).

Sağladığı bu avantajlar sayesinde nanoteknoloji kimya, fizik, biyoloji, tıp, bilgisayar, elektronik, uzay çalışmaları, çevre ve enerji, sağlık sektörü, malzeme bilimi, imalat sektörü, biyoteknoloji, tarım, gıda, savunma sanayi vb birçok alanda çalışma faaliyeti göstermektedir (Erkoç 2007).

Bu alanlardan biri de nanoteknolojinin tıp alanında uygulamalarıdır bu alandaki çalışmalar incelendiğinde çok geniş bir yelpaze karşımıza çıkmaktadır (2018). Bunların başında hastalığın teşhis, tedavi ve izlenmesi aşamalarında karşımıza çıkan nanoboyuttaki biyosensörler yer almaktadır. Aynı zamanda ilaç salınımı, doku mühendisliği alanı da nanoteknoloji çalışma alanlarındandır (Tüylek 2019).

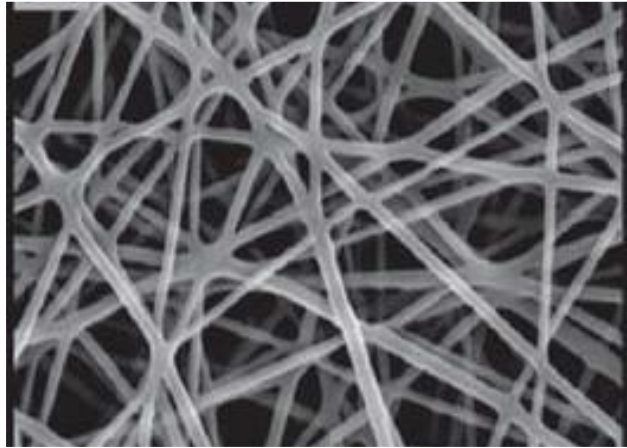
2.4.1. Nanofiberler ve uygulama alanları

Nano sözcüğü Yunancadan gelmektedir. Kelime anlamı olarak ‘‘cüce’’ demektir. Nano yapılar metrenin milyarda birine denk gelmekte olup nano ve metre kelimelerinin birleşimiyle oluşmaktadır (Arpaçay 2009).

Nanometre boyutunda çaplara sahip nanofiberler düz, boncuklu, içi boş, boru şeklinde isteğe ve çalışılacak durumlara göre üretilebilmekte olup (Selda, Çiftci ve arkadaşları 2015) üretilen malzeme içeriğine göre çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere (iyi mukavemet, küçük boyutları sayesinde dar alanlarda kullanım, yumuşak tutumu vb.) sahip olmakta ve bu sayede farklı uygulama alanlarında kullanılabilirler (Wikipedia 2020).

Şekil 6’da (Üstündağ ve Karaca 2009) morfolojik yapısı verilen nanofiberler hafif, oldukça gözenekli ve geniş yüzey alanına sahip, işlevsellik ve mekanik dayanımı yüksek olan yeni nesil malzemelerdir.

Nanofiberlerin küçük çaplarından ötürü yüksek yüzey alanı/hacim oluşturmalarından kaynaklı geniş yüzey alanına sahip yapılar oluşturmaları (Özen 2019), fonksiyonel grupları, iyonları ve çok çeşitli nano seviyedeki partikülleri tutma veya yayma kapasitelerinin yüksek olmasını sağlamaktadır (Celep 2017).



Şekil 6 Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen tipik bir nanofiber yapısı

Nanofiberlerin sahip olduğu bu eşsiz özellikler nedeniyle birçok alanda kullanımı yaygındır. Doku mühendisliği uygulamaları, filtrasyon, sensör yapımı, koruyucu maske ve giysiler, ilaç salınımı, kompozit destekleyicisi vb. nanofiberlerin başlıca uygulandığı alanlardır (Li ve Xia 2004).

2.4.1.1. Nanofiberler ve biyomedikal alanda uygulamaları

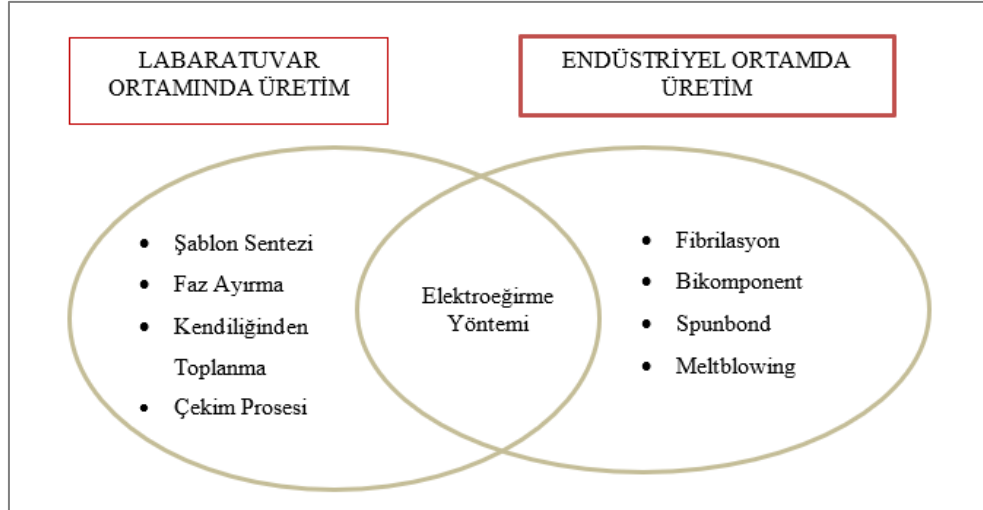
Biyouyumlu nanofiberlerin deri, kemik, sinir, kas, damar gibi doku iyileşmelerinde, doku iskelesi tasarımında, ilaç salınımında, tıbbi protez ve yara örtüsü gibi çeşitli biyomedikal alanda kullanımları mevcuttur (Gündüz 2014).

Nanofiberlerin sahip olduğu yüksek yüzey alanı/hacim oranları sayesinde doku iskelelerinde hücresel adhezyon, proliferasyon, göç ve farklılaşmayı arttırdığı bilinmekte ve bu nedenle bu alanda kullanımı dikkat çekmekte olup bu doku iskeleleri doku mühendisliğinde kemik iskelet kasları, nöral doku, deri, damar ve kırıkta uygulamalarında tercih edilen bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda doku iskeleleri ile ilaç taşınımı, protein, büyüme faktörleri gibi molekül taşınmaları da gerçekleştirilmektedir (Dhandayuthapani, Yoshida ve arkadaşları 2011).

2.4.2. Nanofiber üretim yöntemleri

Nanofiber üretimi çeşitli yöntemlerle sağlanmakta olup bu yöntemler kendi içinde iki ana başlıkta toplanır. Bunlar: Laboratuvar ortamında üretim ve endüstriyel ortamda üretilmektedir. Bu yöntemlerin detaylı bir şekilde gösterimi Şekil 7’de verilmiştir (Üstündağ 2009).

Laboratuvar ölçekli üretimde endüstriyel uygulama yoktur. Elektro-eğirme yöntemi ise hem laboratuvar ortamında hem de endüstriyel ortamda nanofiber üretimi gerçekleştirilen en avantajlı nanofiber üretim yöntemi olup tez çalışmasında da elektro-eğirme yöntemi kullanılacağından bölüm 2.5’te detaylı olarak açıklanmaktadır (Karahana 2017).



Şekil 7 Nanofiber üretim yöntemleri

2.4.2.1. Laboratuvar ortamında üretim prosesleri

Çekim Prosesi

Bu yöntemde mikropipet yardımıyla üretim gerçekleştirilir. Yüzey üzerindeki damlacığa mikropipet daldırılır ve belirli bir hızla damlacıktan uzaklaştırılarak nanofiber oluşumu sağlanır (Eken 2019). Çekim prosesiyle tek tek ve uzun nanofiberler elde edilir (Şenol, Tayyar ve arkadaşları 2005). Tekniğin dezavantajı çekim sırasında oluşabilecek gerilim ve güçlü etkilere dayanıklı viskoelastik malzeme kullanımı gerektirmesidir (Huang, Zhang ve arkadaşları 2003).

Faz Ayırma

Faz ayırma tekniğiyle nanofiber üretimi 5 adımda gerçekleşir. Bunlar: Polimer çözme, jelleşme, çözücü uzaklaştırma, dondurma, soğuk kurutmadır. Bu prosesde ana mekanizma fiziksel uyumsuzluğa bağlı faz ayırımıdır. İşlem özel polimerle sınırlıdır, Üretim tekniği uzundur ve çap ayarlaması yapılamaz (Ramakrishna 2005).

Kendiliğinden Toplanma

Moleküller hidrojen bağ, hidrofobik kuvvetler ve elektrostatik kuvvetler aracılığıyla düzenlenerek üretim gerçekleşir. Bu yöntemin ucuz ve uygulamasının kolay olması sayesinde avantaja neden olmasına rağmen sürekli fiber elde etme zorluğu, uzun işlem süresi ve düşük üretim gücü nedeniyle kullanımı yaygın değildir (Süslü 2009).

şablon Sentezi

Bu yöntemde nano gözenekli membranlar şablon olarak kullanılarak nanofiber üretimi gerçekleştirilir. Su basıncının etkisiyle polimer çözeltileri membran içerisinden geçerken bir zorlanma oluşur, katılaştırıcı çözeltileri sayesinde de diğer uçtan çıkarken katılaşarak nanofiber oluşumu sağlanır (Feng, Li ve arkadaşları 2002).

2.4.2.2. Endüstriyel ortamda üretim süreçleri

Fibrilasyon Yöntemi

Fibrilasyon yönteminde, selülozik yapıdaki liflerin ince lifcikler haline çevrilmesiyle nanofiber üretimi gerçekleştirilir (Gündüz 2014).

Biyokomponent Yöntemi

İki farklı polimerin aynı düze deliğinden geçirilmesiyle oluşan nanolif üretim yöntemidir. Bu yöntemde bikomponent lifler kesit şekline göre isimlendirilmektedir.

Meltblowing

Ticari amaçlı nanofiber üretiminde yaygın kullanılan meltblowing yöntemiyle maliyeti düşük, polimerik nanofiber üretim amaçlanır (Gündüz 2014).

İşlem termoplastik polimerler kullanılarak 4 adımda gerçekleştirilmektedir. Termoplastik polimerin eritilmesi, filtrasyon işlemi, düzeden fışkırtılma ve hava üflenerek inceltme işlemi (Karahan 2017).

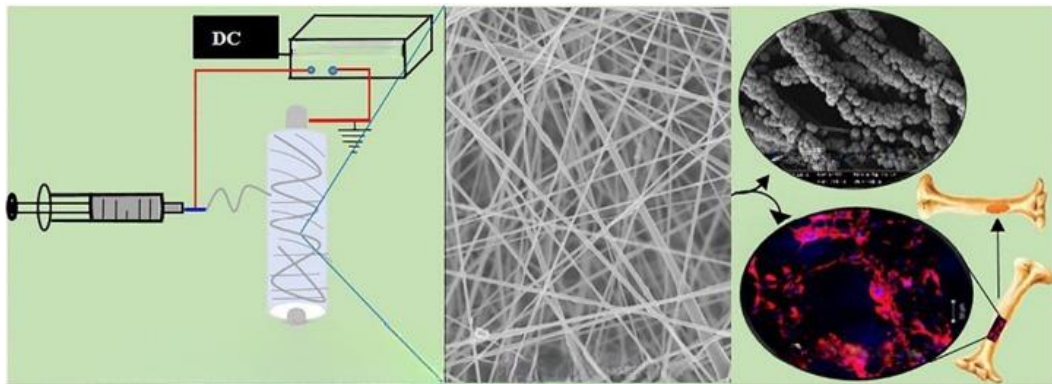
Spunbond Yöntemi

Spunbond yöntemi meltblowing yöntemiyle benzerlik göstermektedir. Hava akımı hacim ve sıcaklık değeri farklılık göstermektedir. Bu yöntemde polimerin soğuyup katılaşması beklenmekte ve germe işlemi ile lif üretilmektedir. Bu yöntem sonucu üretilen nanofiberler kalın olmaktadır (Karahan 2017).

Tezin bu bölümünde nanofiber üretim yöntemleri detaylı bir şekilde işlenmiştir. Tez çalışmamda yöntem olarak elektro-eğirme yöntemi kullanıldığından 2.5 kısmında bu yöntemden detaylı bir şekilde aşağıda bahsedilmiştir.

2.5. Elektro-Eğirme Yöntemi

Elektro-eğirme 1934 yılında Formhals tarafından elektrostatik kuvvetler yardımıyla, çok küçük debilerde viskoz sıvılara kilovolt boyutunda gerilim verilerek (Can ve Ersoy 2014) polimerlerden lif üretimi işlemi olarak tanımlanan kolay kontrol edilebilir ve çok yönlü üretim (Wikipedia 2020) sağlayan bir yöntemdir (Suepueren, Kanat ve arkadaşları 2007). Elektro-eğirme yönteminin detaylı gösterimi Şekil 8'de (Shrestha, Shrestha ve arkadaşları 2017) verilmiştir.



Şekil 8 Elektro-eğirme yöntemi

Bu yöntemde polimer, kompozit ve seramik içeren çeşitli malzemelerden oluşan çözelti kullanılarak çok ince fiberler elde edilir (2019).

Elektro-eğirme süreci damlacık oluşumu, taylor konisi oluşumu, elektroçekim jetinin oluşumu, kararlı bölgede jetin uzaması, kararsız bölge oluşumu ve lif formunda katılaşma basamaklarından oluşur (Şenocak 2021).

Elektro-eğirme yöntemi kullanım alanları: ilaç dağıtımı, doku mühendisliği, biyomedikal uygulamalar, filtreler, koruyucu giysiler, akıllı tekstiller, kapasitörler, gaz sensörler, gaz katalizörlerdir (Lu ve Ding 2008).

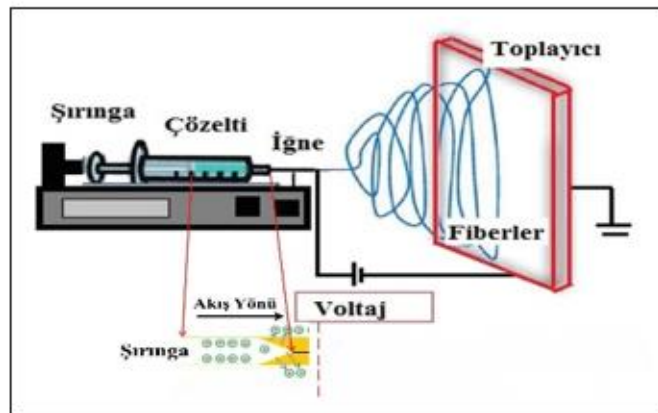
Elektro-eğirme yöntemi ECM içerisindeki fibrilleri taklit etme yeteneği yüksek yapay kemik iskele üretimi sağladığından doku mühendisliği alanında kullanımı oldukça yaygın olup (Ramakrishna 2005) tez çalışmasında da bu nedenle kullanılmıştır.

2.5.1. Elektro-eğirme cihazı bölümleri

Elektro-eğirme cihazı şu bölümleri içerir (Huang, Zhang ve arkadaşları 2003):

- Yüksek voltajlı güç kaynağı (DC voltajlı bir tedarikçi sistem tarafından sağlanır)
- İğne veya pipeti olan bir kılcal boru (besleme sistemi)
- Elektriksel olarak iletken bir silindirik toplayıcı

Tipik bir elektro-eğirme cihazının bölümlerinin detaylı bir şekilde gösterimi Şekil 9'da (Duygulu 2020) verilmiştir.



Şekil 9 Elektro-eğirme cihazı bölümleri

2.5.2. Elektro-eğirme cihazı çalışma prensibi

Elektro-eğirme cihazı çalışma prensibi şu şekildedir: Elektro-eğirme için hazırlanan çözeltinin akış hızı bir şırınga pompası ile düzenlenmektedir. Uç ve plaka üzerine uygulanan elektrik alanının gücü hazırlanmış çözeltinin yüzey gerilimini aşacak derecede yüksek olduğunda, taylor konisi olarak adlandırılan bir sıvı jeti oluşur ve plakaya doğru hareket eder (Başkan 2021).

Oluşan sıvı jetinin hareketi sırasında, çözücü buharlaşır ve belirli çaplara sahip katı nanofiberler, topraklanmış bir metal toplayıcı üzerinde rastgele yönlendirilmiş olarak toplanır (Üstündağ 2009).

2.5.3. Elektro-eğirme sürecini etkileyen parametreler

Elektro-eğirme sürecini etkileyen parametreler 3 grupta incelenmektedir. Bunlar: polimer çözeltisine ait değişkenler, yapılan işleme ait değişkenler ve çevresel faktörlerdir. Bu parametrelere ait detaylar aşağıda Tablo 2’de verilmiştir (Kanmaz 2020).

Tablo 2 Elektro-eğirme sürecini etkileyen parametreler

Elektro-eğirme Sürecini Etkileyen Parametreler		
Çözeltiye ait parametreler	İşleme Ait Parametreler	Çevresel Parametreler
Polimer Konsantrasyonu	İğne ile toplayıcı arası mesafe	Sıcaklık
Viskozite	Çözelti Akış Hızı	Nem
Yüzey Gerilimi	İğne Çapı	
Polimer Molekül Ağırlığı	Voltaaj	
Polimer ve Çözücü İletkenliği		

2.5.3.1. Çözeltiye Ait Değişkenler

Elektro-eğirme sürecinde çözelti parametreleri ince ve düzgün formda nanofiber üretimi için önem arz etmektedir. Bu parametreler ve etkileri Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3 Çözeltiye ait değişkenler

Çözeltiye Ait Değişkenler	
Polimer Konsantrasyonu	Polimer konsantrasyonu oluşan nanofiberin şekil, ortalama çap oluşumu ve nanofiberin boncuklu yapı oluşturmasında etkili bir faktördür. Bunun nedeni çözelti konsantrasyonu ile birlikte viskozite özelliğinin değişim göstermesidir. Düşük polimer konsantrasyonu nanofiberin boncuklu bir yapıda olmasına neden olur. Bunun nedeni elektrik alanının düşük viskozite ile karşılaşmasıdır (Bachımmam 2017) Çok yüksek konsantrasyon ortamında sarmal şekilli mikrobbonlar oluşur ve lif oluşumu görülmez (Sunar ve Hasçıçek 2017) Uygun konsantrasyon değeri sağlandığında pürüzsüz nanofiber yapısı elde edilir.
Viskozite	Çözelti viskozitesi üretilen nanofiber çapını ve morfolojisini etkileyen önemli bir parametredir. Yüksek viskozitede çalışmak zordur bunun nedeni polimer çözeltisinin beslenmesinin zor olmasıdır. Çok düşük viskozitede çalışılınca sürekli fiber eldesi zor olmaktadır. Bu sebeple optimal vizkozitede çalışmak gereklidir. Araştırma sonucunda en yüksek elektro-eğirme viskozite değeri 1 ile 215 μ arasında bulunmuştur (Arıcı 2018).
Yüzey Gerilimi	Elektro-eğirme işleminin gerçekleşebilmesi için çözelti yüzey geriliminin elektrik alanla aşılması gereklidir bu sayede yüzeyden püskürtme akışı gerçekleşerek fiber oluşumu gözlenir (2019). Yüksek yüzey gerilimi damlacık oluşumu ve jet düzensizliğine yol açmaktadır. Düşük voltaj uygulaması ile eğirme işlemi gerçekleştirme için düşük yüzey gerilimine ihtiyaç vardır (Arıcı 2018). Düşük yüzey gerilimi ile boncuklu fiber yapısından düz pürüzsüz fiber yapısına geçilir (Sunar ve Hasçıçek 2017).
Polimer ve çözücü iletkenliği	Elektro-eğirme işleminde elektrotlar aracılığıyla besleme çözeltisine elektriksel yük aktarımı sağlanmaktadır bu sebeple iletkenlik değerinin belirli bir değerde olması gerekmektedir. Çözelti iletkenliğindeki artış nanofiber çapında düşüşe neden olmakta böylece daha ince nanofiber oluşumu sağlanmaktadır (Zong, Kim ve arkadaşları 2002). Yapılan araştırmalara göre elektro-eğirme ile nanofiber üretimi için iletkenlik değerinin 0-5 mS/cm aralığında olması bulunmuştur, çünkü 5mS/cm den büyük değerde ve 0 iletkenlikte nanofiber üretimi mümkün değildir (Arıcı 2018).
Polimer molekül ağırlığı	Moleküler ağırlığın artmasıyla istenen viskozite değeri sağlanır buna bağlı olarak pürüzsüz fiberler elde edilir Yüksek moleküler ağırlığı ile düşük konsantrasyonda bile düzgün fiber oluşumu desteklenmektedir (Zhao, Yang ve arkadaşları 2005) (Arıcı 2018).

2.5.3.2. İşlem parametrelerine ait değişkenler

Elektro-eğirme sürecinde işlem parametreleri düzgün formda nanofiber üretimi için önem arz etmektedir. Bu parametreler ve etkileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4 İşlem parametrelerine ait değişkenler

İşlem Parametresine Ait Değişkenler	
İğne ile toplayıcı arası mesafe	İğne ucuyla toplayıcı arası mesafe nanofiber yapısal morfolojisi etkiler (Demir, Yilgor ve arkadaşları 2002). İğne ucu ve toplayıcı arası mesafenin kısalması durumunda verilen elektrik alan artar, fiber çapında artış, boncuksu yapılanma gibi morfolojik bozulmalar meydana gelir (Kanmaz 2020)
Çözelti akış hızı	Polimer çözeltinin şırınga içerisinden akış hızı önem arz eden diğer bir parametredir. Çok yüksek akış hızı çözeltinin toplayıcıya ulaşmadan önce kısa kuruma nedeniyle kalın çaplı boncuklanma göstermiş fiberlerle sonuçlanır (Kanmaz 2020)
Uygulanan gerilim (voltaj)	Elektro-eğirme işleminde uygulanan gerilim ile polimer çözeltisine enerji verilerek fiberleri döndürücü etkide bir güç sağlanır (Demir, Yilgor ve arkadaşları 2002). Voltaj değeri artırıldığında daha ince yapıda nanofiber elde edilmektedir (Arıcı 2018). Elektro-eğirme işleminde taylor konisi oluşması ve jet oluşması için kritik bir voltaj değerine ihtiyaç vardır, jet kararlılığını artırmak için bu kritik voltajdan büyük bir voltaj uygulanması gerekir (Kiremitler 2016).
İğne çapı	Şırınga içerisindeki polimer çözeltinin dışarıya eriyiğini verdiği kısımdır iğne ucu, bu nedenle dışarı çıkacak eriyik miktarı, damla boyutu ve besleme pompasının ihtiyaç duyduğu kuvvet bu parametreden etkilenmektedir. Kullanılan polimer viskotik özellikte bir sıvı ise küçük iğne çapı kullanıldığında eriyiğin dışarı çıkması zor olur, aynı şekilde çok büyük çapta iğne kullanımı da fazla miktarda eriyik malzemenin dışarı akıtılmasına neden olur, bunun için elektro-eğirme işleminde optimal iğne ucu tercih edilmelidir. İğne iç çapındaki optimum azalma ile daha ince nanofiber elde etmek mümkündür (Kanmaz 2020).

2.5.3.3. Çevresel Değişkenler

Elektro-eğirme sürecinde çevresel parametreler ince ve düzgün formda nanofiber üretimi için önem arz etmektedir. Bu parametreler ve etkileri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5 Çevresel değişkenler

Çevresel Değişkenler	
Sıcaklık	Sıcaklık parametresi artışıyla birlikte viskozite ve yüzey gerilimini düşürerek ince fiberler elde edilmesini sağlar (Kiremitler 2016).
Nem	Nem artışı fiber yapısında porlanmaya neden olmaktadır (Kiremitler 2016).

2.5.4. Elektro-eğirme yöntemi ve diğer nanofiber üretim yöntemlerinin karşılaştırılması

Elektro-eğirme ve diğer yöntemlere ait avantaj ve dezavantajlar Tablo 6'da (Çaydamlı 2012) verilerek karşılaştırma yapılmıştır.

Tablo 6 Elektro-eğirme yöntemi ve diğer yöntemlerin karşılaştırılması

Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
Elektro-eğirme	Sistemin ayar kolaylığı	Yapıların merkezinde düşük hücrel infiltrasyon
	Ucuz	2 boyutlu gözenek ya da yapı oluşumu
	Lif çapını, yapısını ve dizilimini kontrol etmeye izin veren yüksek beceri	Genellikle zehirli çözücüler kullanılmaktadır.
	Geniş malzeme seçeneği	
Kendiliğinden Birleşim	Lif oluşumu esnasında hücrelerin birbiriyle kolay kaynaşması	Karmaşık süreç
	3 boyutlu gözenek oluşumu	Lif yönelimi ve dizilimi hakkında kontrolsüzlük
	Vücut içi aktarıma uygun	Sınırlı aralıkta lif çapı ve boyu
Faz Ayrımı	3 boyutlu gözenek oluşumu	Karmaşık işlem
		Lif dizilimi hakkında kontrolsüzlük
Bakteriyel Selüloz	Ucuz	Sınırlı malzeme seçeneği
	Yüksek verim	Fonksiyon kazandırma seçeneğinden yoksunluk
Kalıplama	Geniş malzeme seçeneği	Malzeme kaybı
	Lif çapı ve uzunluğu hakkında kontrol	Lif boyutları ve dizilimi konusunda sınırlama
Çekme	Geniş malzeme seçeneği	Düşük verim (tek seferde tek lif)
	Basit işlem	Tutarlı çapta lif üretim zorluğu
Ekstraksiyon	Doğal malzemeler	Sınırlı malzeme seçeneği
		Lif çapı ve uzunluğu hakkında sınırlı kontrol
Buhar – Faz Polimerizasyonu	Polimer doğrudan nanolif olarak sentezlenir	Lif çapı ve uzunluğu hakkında sınırlı kontrol
		Sınırlı malzeme seçeneği
		Karmaşık işlemler
Kinetik Kontrollü Çözelti Sentezi	Polimer doğrudan nanolif olarak sentezlenir	Lif çapı ve uzunluğu hakkında sınırlı kontrol
		Sınırlı malzeme seçeneği
		Karmaşık işlemler
Anilinin Kimyasal Polimerizasyonu	Polimer doğrudan nanolif olarak sentezlenir	Lif çapı ve uzunluğu hakkında sınırlı kontrol
		Sınırlı malzeme seçeneği
		Karmaşık işlemler

2.5.5. Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanofiberlerin kemik doku mühendisliği üzerine yapılan literatür çalışmaları

Elektro-eğirme yöntemiyle kemik iskele üretimi son zamanlarda sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemin tercih edilmesinde oluşan nanofiberlerin gözeneklilik yapısı, biyobozunur oluşu, yöntemin uygun tasarımı, kolay ürün elde edilişi, yüksek yüzey / hacim oranına sahip olmaları nedeniyle hücre yapışmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını daha verimli bir şekilde destekler özellikte olması dikkat çekmektedir (Doğruok 2019).

Kıkırdak ve kemik dokusu mühendisliği alanında son yıllarda elektro-eğirme yöntemiyle organik ve inorganik biyomalzemelerden oluşan nanofiber iskeleleri kemik ve kıkırdak rejenerasyonu için umut verici sonuçlar göstermektedir (Ghasemi-Mobarakeh, Prabhakaran ve arkadaşları 2013).

Çalışmada elektro-eğirme yöntemiyle üretilen PCL/PLCL nanofiber yamasının kullanımını değerlendirilmiştir. Daha hızlı bozulan PCL/PLCL polimerinin uygulanması ile kusur bölgesindeki aşırı doku büyümesi en aza indirilmiştir (Townsend, Hukill ve arkadaşları 2020).

Çalışmada elektreğirme yöntemiyle üretimi yapılan poliüretan-grafen oksit iskele, yapıları dopamin hidroklorür çözeltisine daldırarak polidopamin (PDA) ile kaplanılmıştır ve grafen oksit iskele üzerindeki sinerjik etkiler incelenmiştir. PU-GO-PDA iskele ile bağlanma ve çoğalma özellikleri iyileştirilmiş biyolojik olarak proliferasyonu artırdığından dokuların kemik iyileşmesinde iyi olduğu görülmüştür (Ghorbani, Zamanian ve arkadaşları 2019).

Çalışmada biyomimetik hidroksiapatit / jelatin-kitosan çekirdek-kabuk nanofiber kompozit yapı iskeleleri doğal kemik yapısını fiziksel ve kimyasal olarak taklit edecek şekilde imal edilmiştir. Üretilen bu kemik iskele kemik dokusu mühendisliğinde osteoblast hücre büyümesini desteklemede başarılı sonuçlar vermiştir. (Chen, Liu ve arkadaşları 2019).

Çalışmada, işlenmiş bredigit (T-BR) içeren polihidroksibutirat-ko-hidroksivaletare (PHBV) nanofiber yapı iskeleleri elektro-eğirme tekniği kullanılarak geliştirilmiştir. T-BR nanoparçacıklarının PHBV nanofiberlerine dahil edilmesi, mekanik

performansını ve biyoaktivitesini artırmış ve kemik dokusu mühendisliği uygulamaları için uygun görülmüştür (Kouhi, Fathi ve arkadaşları 2019).

Çalışmada elektro-eğirme yöntemiyle modifiye selüloz (MC) ve poli (vinil alkol) (PVA) kullanımıyla iskele üretimi gerçekleştirilmiştir. SEM analiz ile morfolojik dağılım, DSC analiz ile kristal ve termal özellikler ve FTIR analiz ile kimyasal karakterizasyon özelliklerine bakılmıştır ve iskele tasarımında başarılı sonuç verdiği görülmüştür (Chahal, Hussain ve arkadaşları 2013).

Çalışmada kitosan bazlı nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir. Kitosanın hücre dışı matris ile oran, gözeneklilik, kararlılık, geçirgenlik ve morfolojik benzerlikleri sayesinde kemik doku mühendisliğinde kullanımı uygun görülmüştür (Balagangadharan, Dhivya ve arkadaşları 2017).

Elektro-eğirme işlemiyle yapılan küçük gözenekli iki boyutlu nanofiber tabakalar hücre infiltrasyonunu ve proliferasyonunu sınırlar. Çalışmada bunu gidermek için üç boyutlu nanofiber tabakalar tasarlanıp çoklu hareketli monte edilmiş iğneler kullanılmıştır ve üç boyutta PCL kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polikaprolakton nanofiber matrislerin deşarj etkisi ile bir nanofiber toplayıcının yüzeyinde toplanmıştır gözenek boyutu, gözenek hacmi ve gözenek aralığı artırılmış iskele bağlantısının kemik hücreleri üzerinde infiltrasyonu proliferasyonu iyileştirilmiştir (Song, Chen ve arkadaşları 2017).

Çalışmada kitosan hidroksiapatit nanofiberlerin kemik dokusu mühendisliğinde kullanımı çalışılmıştır. Elektro-eğirmeyle üretilen iskelelerde hücre canlılığı ve farklılaşması sağlanmıştır, kemik doku mühendisliği kullanılabilirliği görülmüştür (Balagangadharan, Dhivya ve arkadaşları 2017).

Çalışmada iki boyutlu yeni bir sınıf olarak bor nitrür (BN) takviyeli jelatin nanofiberlerin mekanik davranış üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. BN'nin hücre bağlanmasını veya çoğalmasını etkilemediği ve BN takviyeli jelatin ESM'lerin kemik doku mühendisliğinde kullanılabilir biyomalzemeler olduğu kanıtlanmıştır (Nagarajan, Belaïd ve arkadaşları 2017).

Çalışmada Anilin pentamer-greft-jelatin (AP - g -GA) ve poli (L- laktit) (PLLA) karışımları, biyomimetik yapı iskeleleri olarak kullanılmış iyi termal kararlılık, biyolojik bozunma ve biyouyumluluk sergilemiştir (Liu, Cui ve arkadaşları 2014).

Çalışmada Pamuk selüloz ve nano-hidroksiapatitten (nano-HA) nanofiber yapı iskelelerin kemik dokusu mühendisliğinde kullanımı incelenmiştir. Nano-HA'nın dahil edilmesiyle sitotoksikite olmadığı görülmüştür. Selüloz yapı iskelelerinin hücre çoğalması, yüksek mukavemet ve mükemmel biyouyumluluk özellikleri doğal ECM için umut verici sonuçlar doğurmuştur (Ao, Niu ve arkadaşları 2017).

2.6. Gümüş Nanopartikül

Nanopartiküllerin sahip oldukları geniş yüzey alanı , ısı işlem dayanıklılığı özelliklerinden dolayı kullanım alanları geniştir. Bu bağlamda özellikle Au, Ag, Fe, Al, Ni, Cu ve Zr gibi metalik nanoparçacıkların kullanımı doku mühendisliği alanında yaygınlık göstermektedir (Aktepe 2021).

Metal nanopartiküller arasında gümüş nanopartiküllerin sahip oldukları özellikler sayesinde malzeme bilimi, elektronik, tıp gibi birçok alanda kullanımı yaygın olup kullanım alanlarına ait detaylı açıklama Tablo 7’de verilmiştir (Yazıcı 2009).

Tablo 7 Gümüş nanopartikül kullanım alanları

Sektör	Uygulama Alanı
Tıbbi Cihazlar	İmplantlar, sondalar, yara bantları, hijyenik polimer malzemeler vb
Tekstil Sektörü	Kıyafetler (iç çamaşırı, çorap, gömlek, çalışma elbiseleri, anti-alerjik elbiseler), maskeler, eldivenler, mendiller, halılar vb
Günlük Kullanımlar	PC klavyeleri, cep telefonları, araba endüstrisi (direksiyon, torpido), koku önleyici, antibakteriyel yaşama alanları
Ev Elektrik Aletleri	Hava temizleyiciler, hava nemlendiriciler, klima filtreleri, soğuma fanları, hava temizleyiciler, çamaşır makineleri, elektrik süpürgesi, bulaşık makinesi, buzdolabı, fırın
Spor Ürünleri	Spor kıyafetleri, kasketler, spor aletleri, eldivenler, spor ayakkabılar
Kozmetik	Sabun, losyonlar, akne ürünleri, antiseptik merhemler, spreylere vb.
Oyuncak Endüstrisi	Oyuncak bloklar ve bebekler, doldurulmuş hayvanlar, pazılar vb.
Yer&Duvar Kaplama	Antibakteriyel polimerik ve tekstil yer kaplamaları

Antibakteriyel, antifungal özellikleri sayesinde gümüşün antimikrobiyal madde olarak kullanımı yaygın olup metaller içerisinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteye (Khurana, Vala ve arkadaşları 2014) sahip olduğu görülmüştür.

Toz formdaki gümüş nanopartikülün biyolojik sentezlemelerde ekonomikliği, etkili kullanım alanı sağlaması biyomedikal uygulamalara uyarlanabilir olması ve ticarileşme oranlarının yüksek olması nedeniyle doku mühendisliği alanında da yaygın olarak kullanılmaktadır (Beykaya ve Çağlar 2016).

Bu avantajları nedeniyle tez çalışmasında toz halinde gümüş nanopartikül özütü kullanılarak üretim gerçekleştirilecektir.

2.6.1. Gümüş nanopartikül üretim metotları ve yeşil sentez

Metalik nanopartiküller fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle üretilebilmektedir. Kimyasal ve fiziksel metotların dezavantajlarından dolayı biyolojik yöntemlerle üretim araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Kimyasal ve fiziksel metotlar pahalı olmanın yanı sıra işlemin doğasından gelen toksik kimyasallar ve yan ürünler içermektedir. Biyolojik metotların avantajları arasında temiz, ucuz ve pratik olmaları, toksisite problemlerinin olmayışı yani çevre dostu olmaları sayılabilir (Shedbalkar, Singh ve arkadaşları 2014).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yeşil kimyaya artan bir ilgi görülmüştür, nanopartikül sentezinin ortam sıcaklığında ve tek reaksiyon basamaklı saflaştırma basamağı içermeyecek şekilde “green sentez” yöntemiyle elde edilmesine odaklanılmıştır (Qi, Zhou ve arkadaşları 2004). Bu amaçla toksik olmayan, çevre dostu ve yenilenebilir kimyasallar kullanılmaktadır. Bu strateji son zamanlarda gümüş nanopartikül sentezi amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır (Bar, Bhui ve arkadaşları 2009).

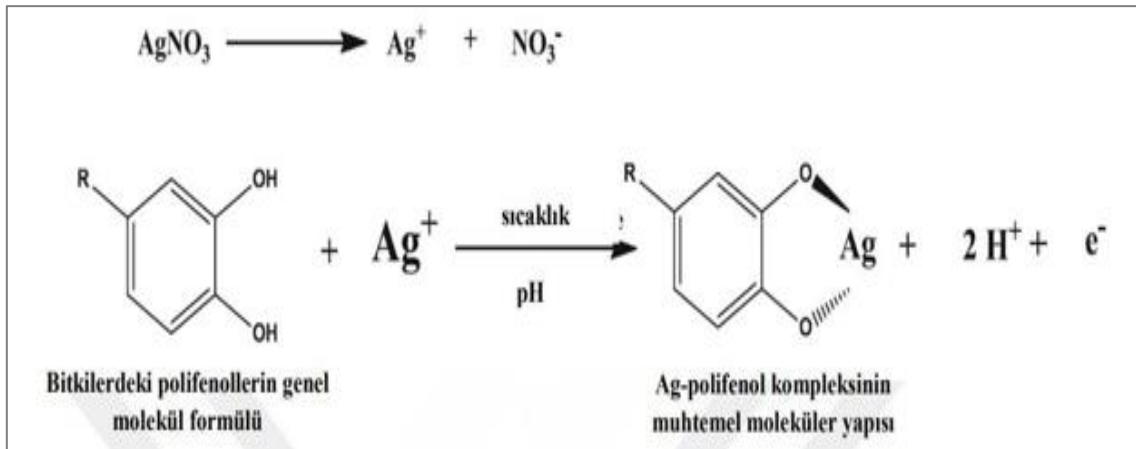
2.6.1.1. Bitkisel nanopartikül sentezi

AgNP’lerin biyosentezle eldesinde çeşitli kaynaklar kullanılmaktadır. Bunlar bakteriler, bitkiler, mantarlar, algler gibi biyolojik kökenli kaynaklardır (Aktepe 2021).

Yapılan bir çalışmada son yıllarda bitki özütlerinin kullanımının fiziksel ve kimyasal metotlara karşı alternatif olduğu ve yaygın olarak sağlık alanında kullanıldığı bildirilmiştir (Nematollahi 2015).

Yeşil sentez ile bitki özütü kullanılarak nanopartikül sentezinin sağlanmasında; ekonomik olma, çevre dostu olma, toksisite problemlerini ortadan kaldırma gibi çeşitli avantajlar mevcuttur. Burada bitki özütü hem indirgeyic ajan hemde kararlı bir etki sağlar (Qi, Zhou ve arkadaşları 2004).

Bitkiler kullanılarak üretilen AgNP'lerin sentezinin kolay ve ucuz olması, diğer kaynaklara göre daha fazla miktarda AgNP elde edilmesi, stabil olmaları bu alana olan ilgiyi artırmaktadır. Bitkiler kullanılarak AgNP sentezlenirken bitkilerin yapısında bulunan alkolloidler, terpenoidler, flavonoidler, enzimler, aminoasitler, fenolikler vb. gibi biyoaktif bileşenler sulu çözeltilerde Ag⁺ iyonlarını indirgeyerek Ag⁰ a dönüştürür. (Aktepe 2021). Şekil 10'da (Annavaram, Posa ve arkadaşları 2015) bitkiler kullanılarak gerçekleşen bu indirgenmeye ait mekanizma verilmiştir.



Şekil 10 AgNP üretim süreci

2.6.2. Gümüş nanopartiküllerin kemik dokusunda kullanımı

Kemik doku mühendisliği çalışmalarında kullanılan biyomalzemeler içerisinde en yüksek mekanik dayanıma sahip metallerin kemik oluşumunda rol alan enzim ve protein yapısında uyarım sağlama, kemik oluşumunu ve yenilenmesini hızlandırma konusunda başarı sağladığı görülmüştür (Dhivya, Ajita ve arkadaşları 2015).

Tezin bu bölümünde literatürde AgNP içeren çalışmalar ve AgNP'ün bu çalışmalara sağladığı faydaları yer almaktadır.

Bakteriler üzerinde yapılan araştırma sonuçlarına göre gümüşün 650 ye yakın bakteri türüne karşı antimikrobiyal olarak etkili olduğu görülmüştür. Nanoparçacık yapıdaki Ag'nin sahip olduğu yüksek yüzey alanı, hücre duvarına nüfus etme potansiyeli ve Ag iyonlarının hücre zarını tutturma yeteneği sayesinde antibakteriyel ajan olarak hareket etme özellikleri, gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliğinin yüksek olmasını sağlamıştır. Bu sayede hücrelerin solunum zincirine nüfuz ederek oksidatif fosforilasyon yolunun kapatılıp bakterilerin ölümüne neden olmaktadır (Arslan ve Tayyar 2016).

Kemik doku mühendisliği alanında yapılan araştırmalar neticesinde gümüş nanopartiküllerin cilt üzerinde herhangi bir tahribata yol açmadığı vurgulanmıştır (Arslan ve Tayyar 2016).

Çalışmada AgNP içeren rejenere selüloz nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir. Ag NP içeren fiberlerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı mükemmel antibakteriyel özellikler gösterdiği görülmüştür (Sofi, Akram ve arkadaşları 2021).

Çalışmada kitosan (CS), poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve gümüşün nanoparçacıklar üretilerek bu kompozit malzemenin doku rejenerasyonu için kullanılabilirliğine bakılmıştır. nCS ve nAg düşük yoğunlukta antibakteriyel aktivite sağlamış ayrıca nAg'nin hücre proliferasyonunu inhibe ettiği görülmüştür (Xue, Hong ve arkadaşları 2019).

Çalışmada Ag yüklü bir stronsiyum hidroksiapatit (SrHAP)/ Kitosan (CS) gözenekli yapı iskelesi (Ag-SrHAP/CS) geliştirilmiştir. Ag iyonlarının antibakteriyel aktiviteyi artırdığı görülmüştür (Xu, Lei ve arkadaşları 2016).

Çalışmada karboksilatlanmış CNW' ler (CCNW' ler) üzerine gümüş nanoparçacıklardan (AgNP' ler) nanokompozit (CCNWs-AgNP' ler) hazırlanmıştır. Bu çalışmayla elde edilen kemik iskeleler osteomyelit vb. kemikle ilgili enfeksiyonları engelleyerek, potansiyel antimikrobiyal etki sağlamıştır (Hasan, Waibhaw ve arkadaşları 2018).

2.7. Sarı Ballı Baba Bitkisi (*Lamium Galeobdolon*)

Geçmişten beri var olan geleneksel tedavi yöntemleri; yaygın kullanımları, iyileştirmedeki öncü etkileri göz önünde bulundurulduğunda yeni medikal ve cerrahi tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde bitki familyaları ve cinsleri büyük potansiyele sahiptir bu nedenle araştırmalar bu alanda yoğun bir şekilde devam etmektedir (Salehi, Stojanović-Radić ve arkadaşları 2018).

Bu yönde araştırması yapılan bitki familyalarından biride nane ailesi olarak da tanınan çiçekli bitkilerin bir ailesi olan *Lamiaceae* familyasıdır (Raja 2012). Bu aileye mensup *Lamium* cinsi Asya, Afrika ve Avrupa 'nın belirli bölgelerinde yetiştirilen otsu bir türdür (Salehi, Armstrong ve arkadaşları 2019). Türkiye de ise Marmara, Karadeniz ve Doğu Anadolu da yetiştirilmektedir. *Lamium* ismi eski Yunancada manasında kullanılan 'Lamos' kelimesinden türemiş olup Türkçe'de çiçeklerinin bal tadında olmasından dolayı ballı baba olarak kullanılmaktadır (2015).

Lamium cinsine ait birçok tür olup bunlar Beyaz ballı baba (*Lamium Album*), Sarı ballı baba (*Lamium galeobdolon*), Benekli ballı baba; *L. Maculatum*, kan kırmızısı ballı baba; *L.purpureum*, ve Sarmalı ballı baba; *L.amplexicaule*'dir (2015).

Lamium cinsi bitkilerin fitokimyasal araştırması sonucunda yapılarında antosiyaninler, fitoekdisteroitler, betainler, benzoksazinoidler, terpenler ve megastigmen bileşikler, uçucu yağlar, iridoidler, sekoiridoidler, polisakkaritler, tanenler, fenilpropanoidler ve flavonoidler barındırmakta olup C10 ve C9 iridoid glikozitler yapıda bulunan en yaygın türdür (Yalçın ve Duygu 2006). Ayrıca yeni keşfedilen benzoksazinoidler *lamiaceae* bitki ailesine mensup *Lamium galeobdolon* olarak bilinen sarı ballı baba bitkisinde tanımlanmıştır (Berezina, Budantsev ve arkadaşları 2000).

Yapılarında yer alan uçucu yağlar sayesinde terapötik olarak kullanılmakta ve bundan dolayı fitokimyasal olarak yaygın bir şekilde araştırmalara kaynak oluşturmaktadır (Salehi, Armstrong ve arkadaşları 2019). Türkiye bitki örtüsü içerisinde 30'a yakın türü bulunan ve tıbbi olarak antispazmodik (spazm giderici), anstrejan (damar veya dokuları büzücü), diüretik (idrar söktürücü), ekspektorant (balgam söktürücü), stiptik (kanama durdurucu) ve vazokonstriktör (kan damarlarını daraltıcı) (Akkoyunlu 2019) gibi çeşitli faydalara sahip *Lamium* bitkileri geleneksel tedavi

yönteminde rahim kanaması, felç, hipertansiyon, menoraji, travma, kırık vb hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Yalçın ve Duygu 2006).

Tez çalışmasında *Lamium* ailesinden olan *Lamium galeobdolon* kullanılmıştır. Şekil 11’de (Akkoyunlu 2019) verilen *Lamium galeobdolon* nemli ve gölgeli bölgelerde yetiştirilmekte olup nisan ve mayıs aylarında çiçeklenmektedir (2021). Yaklaşık olarak 20-50 cm boya sahip yaprakları kalp benzeri şekilde, kenarları kertikli ve üzeri pürütlü koyu yeşil renkli ve gövdesi köşeli bir şekildedir. Gövde kenarında halka şeklinde 6-12 adet sarı renkte çiçek bulunmaktadır (2015).

Tez çalışmasında kullanım amacı gümüş nanopartikül üretiminde fitokimyasal yapısı nedeniyle indirgeyici olması ve üretilen nanopartiküllerin yapıda kararlı bir şekilde durmasını sağlamaktır.



Şekil 11 *Lamium galeobdolon* bitkisi

2.8. Ballıbaba Bitkisinin Biyomedikal Alanındaki Çalışmalara Katkısı

Lamium türü bitkiler yapılarında yer alan uçucu yağlar sayesinde terapötik olarak kullanılmakta ve bundan dolayı fitokimyasal olarak yaygın bir şekilde araştırmalara kaynak oluşturmaktadır (Salehi, Armstrong ve arkadaşları 2019). Türkiye bitki örtüsü içerisinde 30’a yakın türü bulunan ve tıbbi olarak antispazmodik (spazm giderici), anstrenjan (damar veya dokuları büzücü), diüretik (idrar söktürücü), ekspektorant (balgam söktürücü), stiptik (kanama durdurucu) ve vazokonstriktör (kan damarlarını

daraltıcı) (Akkoyunlu 2019) gibi çeşitli faydalara sahip *Lamium* bitkileri geleneksel tedavi yönteminde rahim kanaması, felç, hipertansiyon, menoraji, travma, kırık vb hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Yalçın ve Duygu 2006).

Gerçekleştirilen bir çalışmada ısırgan otu, *Lamium orvala* ve *Lamium galeobdolon* ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması için *S.Aureus* ve *E.Coli* ve *Listeria monocytogenes* üzerinde invitro testler yapılmış ve 3 türünde antimikrobiyal aktivite sağladığı görülmüştür *L.Galeobdolon* yapısındaki benzoksazinoidler çeşitli çalışmalarda antimikrobiyal, antikanser vb özellikler sağlamış bu çalışmada da parazit ve patojene karşı savunma göstermiştir (Salehi, Armstrong ve arkadaşları 2019).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tezin bu kısmında, tez boyunca yürütülen deneysel çalışmalar ve bu çalışmalarda kullanılan malzeme ve cihazların açıklaması verilmiştir. Deneysel çalışmalar, mekanik çekme testleri ve biyobozunurluk testi Necmettin Erbakan üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Karakterizasyon analizleri için SEM, FTIR, XRD, su temas açısı, TGA analizleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde, Antibakteriyel test Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesinde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Özellikleri

Kemik doku rejenerasyonu için kullanılacak olan ballıbaba ile enkapsüle gümüş nanopartikül özütü kitosan/PCL katkılı nanofiber üretimi için doğal polimer olarak kitosan, sentetik polimer olarak PCL kullanılmıştır.

80,000 g/mol moleküler ağırlığına sahip PCL polimeri Sigma-Aldrich firmasından, (C₆H₁₁NO₄)_n molekül formülüne sahip kitosan polimeri Bio Basic Inc. Firmasından temin edilmiştir.

Kitosan ve PCL solüsyonlarının hazırlanmasında çözücü olarak formik asit ve aseton (7:3) kullanılmıştır. CH₂Cl₂ kimyasal formülüne sahip renksiz bir çözücü olan formik asitin molekül ağırlığı 84.93 g/mol, yoğunluğu 1.32 kg/l, kaynama noktası 39.3°C'dir. VWR Chemical firmasından temin edilmiştir. (CH₃)₂CO kimyasal formülüne sahip organik kimyasal olan Aseton Honeywell firmasından temin edilmiştir.

Na⁺, Cl⁻, K⁺, HPO₄⁻ iyonları ve su moleküllerinden oluşan fosfat tampon çözeltisi iyon konsantrasyonu pH değeri (7.4) gibi değerleri uygunluğu nedeniyle çalışmalarda kullanılmıştır. Temini Gündüz Kimya firmasından sağlanmıştır.

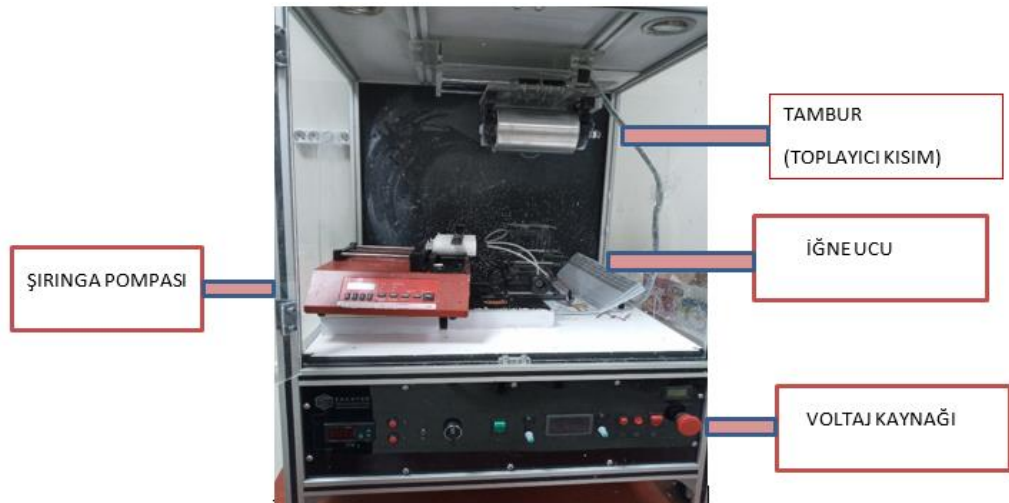
Ballıbaba bitkisi ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül sentezinde kullanılan 169,87 g/mol moleküler ağırlığına sahip AgNO₃ Nanokar Nanotechnology firmasından temin edilmiştir. *Lamium Galeobdolon* (Sarı Ballıbaba Bitkisi) Eymen Baharat 'tan temin edilmiş ve toz hale getirilerek kullanılmıştır. Saf su Necmettin Erbakan Üniversitesi Gıda Mühendisliği Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Laboratuvar ortamında kullanılan cihazlar

Hazırlanacak çözeltilerdeki malzeme tartımı için Radwag marka AS220,R2 model hassas terazi, çözeltilerin karışımı için ISOTEX marka SH-2 model manyetik karıştırıcı, sentez esnasında ballı baba özütü ve gümüş nitrat çözelti oranlarını belirlemek ve biyobozunurluk işlemi sonrasında PBS' den alınan örnek numunelerdeki AgNP / eAgNP varlığını tespit etmek için HITACHI U-3900 marka UV-Vis Spektrofotometre çözücü içerisindeki gümüş nanopartikülleri çözmek için BANDELIN Sonoplus marka GM 2200 model ultrasonik karıştırıcı, hazırlanan numunelerin buharlaştırma işlemi, PBS içinde bekletilen numune kurutma işlemleri ve insan vücut sıcaklığında ortam sıcaklığı ayarlamak için BINDER VD23 marka etüv cihazı ve numunelerin antibakteriyel test öncesi sterilize edilmesi için de Fytronix marka UV Sterilizasyon cihazı kullanılmıştır. Nanofiber üretimi için ise 0-30 kV voltaj kapasitesine sahip Eraktek İnovasyon marka NANO S0-30 model elektro-eğirme cihazı kullanılmıştır.

Elektro-eğirme cihazı tambur, yüksek voltaj kaynağı, şırınga pompası ve iğne uçlarından oluşmaktadır. Şekil 12'de görseli verilen elektro-eğirme cihazıyla tez boyunca nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 12 Elektro-eğirme cihazı ve bölümleri

3.2.2. Hazırlanan numunelerin analizi için kullanılan cihazlar

Hazırlanan numunelerin analizi için kullanılan cihazlar Tablo 8 'de verilmiştir.

Tablo 8 Analiz için kullanılan cihazlar

Yapılan İşlem	Kullanılan Cihaz
Nanofiberlerin yüzey morfolojisini belirlemek	ZEISS GeminiSEM 500 marka Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM)
Fonksiyonel grup analizi	Thermo Scientific/ Nicolet İS-20 marka Fourier Dönüşümlü Kıızıl ötesi Spektrometresi (FTIR) cihazı
Malzeme yapısal analizi	Panalytical EMPYREAN marka X Işını Difraktometre (XRD) cihazı
Sıcaklık bağlı kütle değişimi	Seteram-Labsys Evo marka TermoGravimetrik Analiz (TGA) cihazı
Nanofiberlerin hidrofilik/hidrofobik özelliğini belirlemek	Biolin Scientific Attension- Theta Lite marka temas açısı ölçüm cihazı
Gerilme mukavemeti, şekil değişimi, elastiklik modülü değerlerinin tespiti	SHIMADZU AGS-X marka çekme test cihazı
Mekanik analiz grafiklerinin oluşturulması	Trapezium adlı yazılım

3.3.Yeşil Sentez Yöntemiyle Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretimi (eAgNP)

Şekil 13'de verilen ballıbababa özütü şu şekilde hazırlanmıştır. Öncelikle ballıbababa bitkisi toz haline getirilerek 5 gram ballıbababa hassas terazide tartımı gerçekleştirildi. 1000 ml saf su içerisine tartılan ballıbababa bitkisi eklenerek karıştırıldı. Karışım 24 saat dinlenmeye bırakıldı. Dinlenme sonunda karışım filtre kağıdı yardımıyla süzülerek işlem tamamlanmıştır.



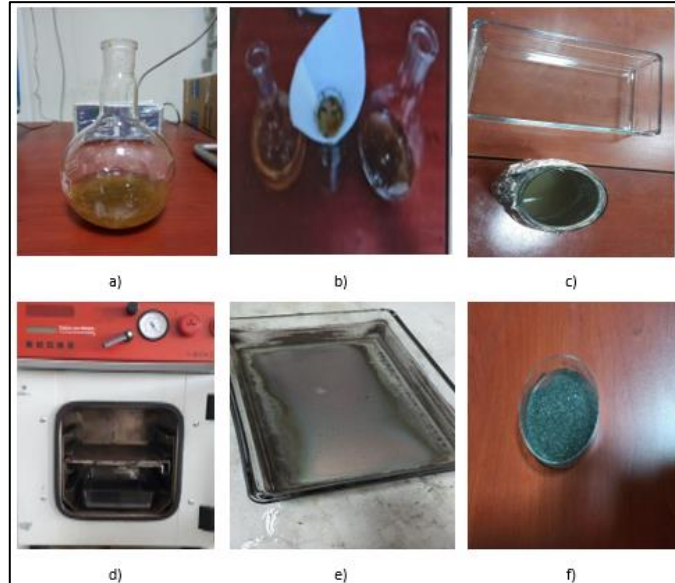
Şekil 13 Hazırlanan ballıbababa bitki özütü görseli

Çıkarılan bitki özütü ekstraktlı gümüş nanopartikül sentezi aşamaları şekil 14'te verilmiş olup karışım hazırlanırken spektrofotometre ile yapılan optimizasyon analizleri sonucunda 3ml ballıbababa /6ml saf su/ 1ml AgNO₃ oranlarının eAgNP oluşumunu sağladığı gözlemlendi. Bulunan eAgNP oluşumunu sağlayan oranlar kullanılarak eAgNP üretimini gerçekleştirmek için öncelikle 150 ml ballıbababa bitki özütü (süzülen kısım) ile 300 ml saf su balon jöje içerisinde toplanarak manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya bırakıldı.

Karıştırma işlemi gerçekleştirilirken 50 ml AgNO₃ solüsyonu pipet yardımı ile saf su bitki özütü karışımına damla damla ilave edildi ve 20 dk boyunca karıştırma işlemine devam edildi.

Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra çözelti 40 saat boyunca karanlık ortamda bekletildi. Elde edilen çözelti cam petri kaplarına boşaltılıp 200 C sıcaklıkta etüve konularak 15 saat boyunca suyun buharlaşması sağlandı. Petri kabının yüzeyinde biriken solüsyondan kalan katı kısımlar kazınarak bitki ekstraktı ile enkapsüle olmuş gümüş nanopartiküller lamel yardımı ile toplandı.

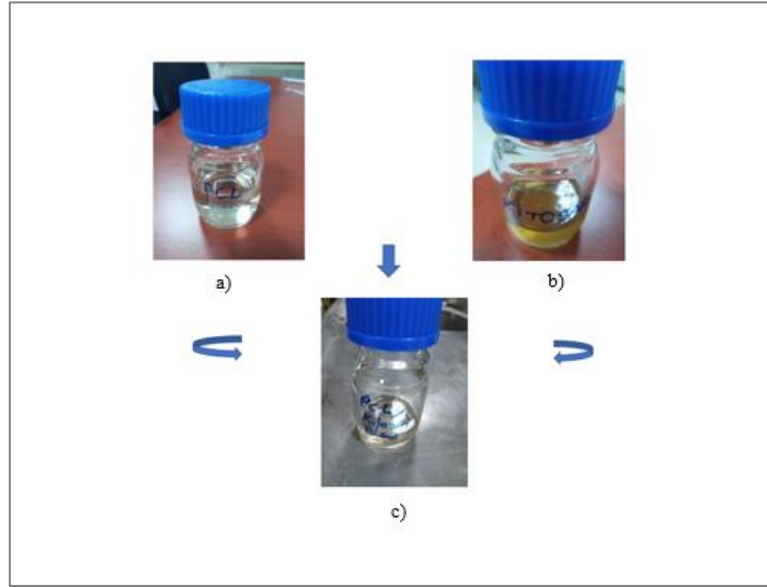
Yeşil sentez metodu ile gümüş nanopartikül üretiminde indirgeyici ajan olarak kullanılan ballıbababa özütü ile Ag⁺¹ iyonu indirgenerek Ag⁰ iyonuna dönüşmüştür.



Şekil 14 Ballıbababa ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküllerin üretim süreci. a) Bitki özütü hazırlanması, b) Bitki özütü filtrasyonu, c) Karışımın cam kaba aktarılması, d) Etüvde buharlaştırma işlemi ile saf suyun uzaklaştırılması, e) Etüv işlemi sonrası kurutulmuş çözelti, f) Ballıbababa ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküller

3.4. Elektro-eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi için Solüsyon Hazırlama

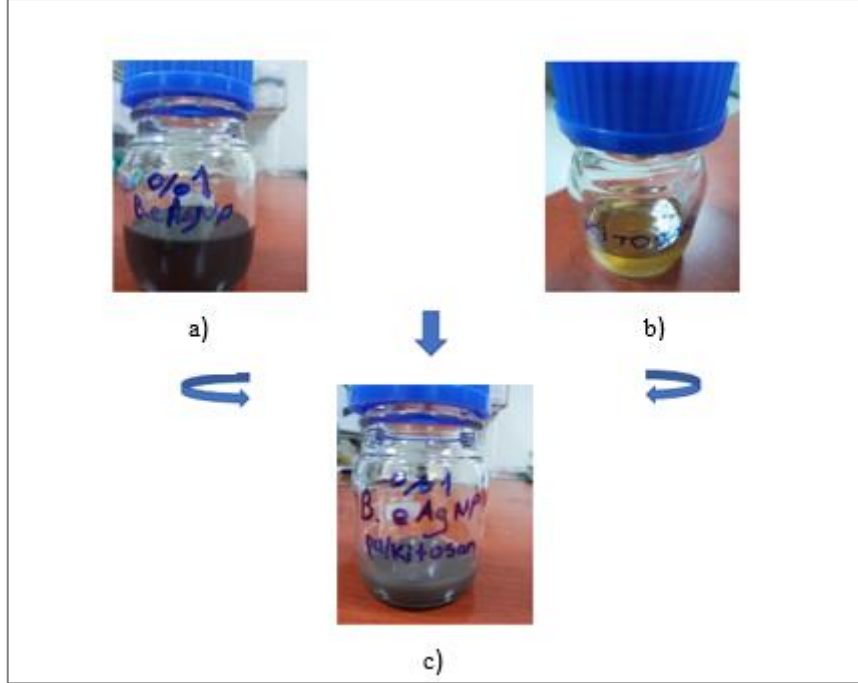
3.4.1. PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama;



Şekil 15 PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama aşamaları a) PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) PCL/kitosan solüsyonu

Solüsyon hazırlanmasına ait aşamalar Şekil 15'te verilmiş olup detayları şu şekildedir: Solüsyonlar hazırlanırken öncelikle çözücü olarak Formik asit ve aseton (7:3) kullanıldı. PCL solüsyonu hazırlamak için Formik asit ve aseton (7:3) çözücüleri içerisinde %12 w/v PCL polimeri ilave edildi ve solüsyon homojen hale gelene kadar 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kitosan solüsyonu hazırlamak için Formik asit ve aseton (7:3) çözücüleri içerisinde %2 w/v Kitosan ilave edildi ve solüsyon homojen hale gelene kadar 8 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. PCL ve Kitosan solüsyonlarından 7:2 oranlarında olacak şekilde 21 ml PCL solüsyonu ve 6 ml kitosan solüsyonu cam kaba ilave edilerek homojen hale gelinceye kadar 12 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak elektro-eğirme işleminin gerçekleştirileceği karışım elde edildi.

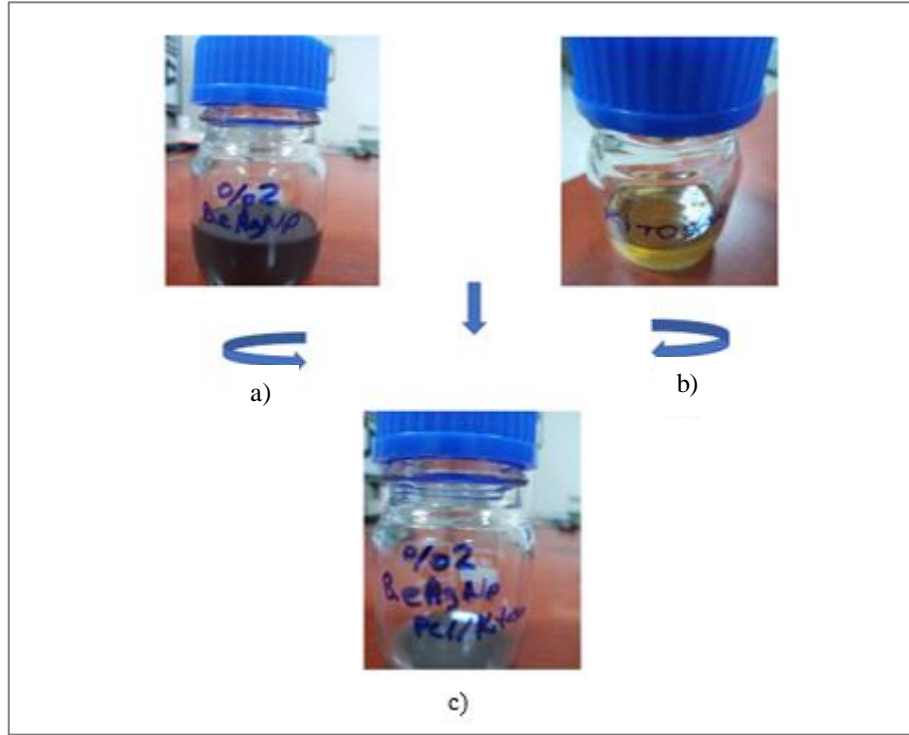
3.4.2. %1 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama



Şekil 16 %1 BB-eAgNP PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama aşamaları. a) %1 BB-eAgNP PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) %1 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu

Solüsyon hazırlanmasına ait aşamalar Şekil 16’da verilmiş olup detayları şu şekildedir: Solüsyon hazırlanırken öncelikle çözücü olarak Formik asit ve aseton (7:3) kullanılmıştır. PCL nin %1’i oranında Ballıbaba enkapsüle AgNP bu çözücü karışımı içerisinde ultrasonik karıştırıcı yardımıyla 15 dk karıştırıldı. Bu karışıma %12 w/v PCL polimeri ilave edildi ve solüsyon homojen hale gelene kadar 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. %2 w/v Kitosan, Formik asit ve aseton (7:3) çözücüleri içerisinde 8 saat boyunca manyetik karıştırıcıda çözdürülerek kitosan karışımı elde edildi. Hazırlanan bu eAgNP katkılı PCL ve kitosan solüsyonları 7:2 oranlarında olacak şekilde 21 ml eAgNP katkılı PCL solüsyonu ve 6 ml kitosan solüsyonu şekildeki gibi birleştirilerek solüsyon elde edildi.

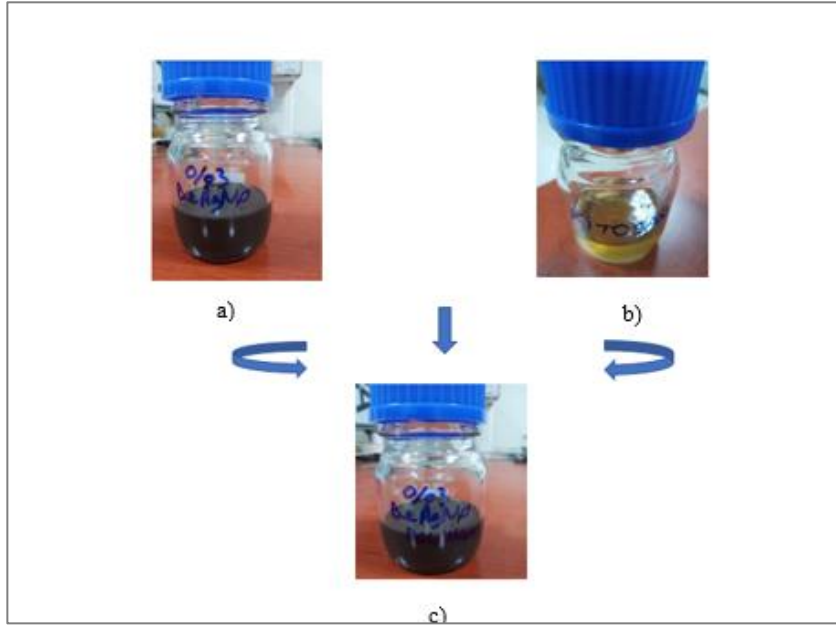
3.4.3. %2 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama



Şekil 17 %2 BB-eAgNP PCL/ Kitosan Solüsyonu Hazırlama Aşamaları. a) %2 BB-eAgNP PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) %2 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu

Solüsyon hazırlanmasına ait aşamalar Şekil 17’de verilmiş olup detayları şu şekildedir: Solüsyon hazırlanırken öncelikle çözücü olarak Formik asit ve aseton (7:3) kullanılmıştır. PCL nin %2 si oranında Ballıbaba enkapsüle AgNP bu çözücü karışımı içerisinde ultrasonik karıştırıcı yardımıyla 15 dk karıştırıldı. Bu karışıma %12 w/v PCL polimeri ilave edildi ve solüsyon homojen hale gelene kadar 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. %2 w/v Kitosan, Formik asit ve aseton (7:3) çözücüleri içerisinde 8 saat boyunca manyetik karıştırıcıda çözdürülerek kitosan karışımı elde edildi. Hazırlanan eAgNP katkılı PCL ve kitosan solüsyonları 7:2 oranlarında olacak şekilde 21 ml eAgNP katkılı PCL solüsyonu ve 6 ml kitosan solüsyonu şekildeki gibi birleştirilerek solüsyon elde edildi.

3.4.4. %3 ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan solüsyonu hazırlama



Şekil 18 %3 BB-eAgNP PCL/ Kitosan Solüsyonu Hazırlama Aşamaları. a) %3 BB-eAgNP PCL solüsyonu b) Kitosan solüsyonu c) %3 BB-eAgNP PCL/Kitosan Solüsyonu

Solüsyon hazırlanmasına ait aşamalar Şekil 18’de verilmiş olup detayları şu şekildedir: Solüsyon hazırlanırken çözücü olarak Formik asit ve aseton (7:3) kullanılmıştır. PCL nin %3 ü oranında ballıbaba enkapsüle AgNP bu çözücü karışımı içerisinde ultrasonik karıştırıcı yardımıyla 15 dk karıştırıldı. Bu karışıma %12 w/v PCL polimeri ilave edildi ve solüsyon homojen hale gelene kadar 6 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. %2 w/v Kitosan, Formik asit ve Aseton (7:3) çözücülerini içerisinde 8 saat boyunca manyetik karıştırıcıda çözdürülerek kitosan karışımı elde edildi. Hazırlanan eAgNP katkılı PCL ve kitosan solüsyonları 7:2 oranlarında olacak şekilde 21 ml eAgNP katkılı PCL solüsyonu ve 6 ml kitosan solüsyonu şekildeki gibi birleştirilerek solüsyon elde edildi.

3.5. Elektro-Eğirme Yöntemiyle Yeşil Sentezlenmiş Ballıbaba Bitkisiyle Enkapsüle Edilmiş Ag Katkılı PCL/ Kitosan Nanokompozit Nanofiber Üretimi

Tezin bu bölümünde BB-eAgNP katkılı PCL/ Kitosan nanokompozit malzemenin kemik doku rejenerasyonunda kullanılabilirliğinin incelenmesi için üretimde kullanılan

malzemeler kullanım amaçları Tablo 9’da, üretilen nanofiber çeşitleri ve bu nanofiberlerin üretilmesinde öngörülen amaçları Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 9 Üretimde kullanılan malzemeler ve kullanım amaçları

Kullanılan malzeme	Kullanım Amacı
PCL	<ul style="list-style-type: none"> Sahip olduğu mekanik ve kimyasal özellikleri, kolay işlenebilirliği ve biyobozunur olması FDA onaylı doku mühendisliği alanında destek matrisi olarak kullanılabilir olması Mekanik olarak zayıf özellik gösteren doğal polimer kitosanın bu özelliğini ortadan kaldırması
Kitosan	<ul style="list-style-type: none"> Biyoyumlu, antibakteriyel, antimikrobiyal ve toksik olmama PCL sentetik polimerinin sahip olduğu hidrofobik ve zayıf yüzey ıslatmasından kaynaklanan zayıf hücre yapışması ve hücre çoğalmasının desteklenmesini sağlamak
Ballıbaba bitkisi	<ul style="list-style-type: none"> <i>Lamium galeobdolon</i> yapısında yer alan benzoksazinoidlerin (BX'ler) antimikrobiyal etkinliğine sahip olması Antienflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve hemostatik özelliklere sahip olması Fitokimyasal özellikleri sayesinde gümüş nanopartikül üretiminde indirgeyici ve stabilize edici olarak kullanılabilirliği sayesinde gümüş nanopartikül için indirgeyici ajan görevi görme
Ag Nanopartikül	<ul style="list-style-type: none"> Oluşturulan nanofibere antibakteriyel özellik kazandırmak

Tablo 10 Hazırlanan nanofiberler ve öngörülen kullanım amacı

Nanofiber Çeşidi	Öngörülen Amaç
PCL/Kitosan	PCL ve kitosan katkılı nanofiberlerin karakteristiğini belirlemek
%1 Ballıbaba eAgNP PCL/ Kitosan	PCL/ Kitosan nanokompozite yeşil sentezle üretilmiş ballıbaba bitkisi katkılı %1 lik Ag np eklenerek oluşturulan nanokompozit karakteristiğini belirlemek
%2 Ballıbaba eAgNP PCL/ Kitosan	PCL/ Kitosan nanokompozite yeşil sentezle üretilmiş ballıbaba bitkisi katkılı %2 likAg np eklenerek oluşturulan nanokompozit karakteristiğini belirlemek
%3 Ballıbaba eAgNP PCL/ Kitosan	PCL/ Kitosan nanokompozite yeşil sentezle üretilmiş ballıbaba bitkisi katkılı %3 lük Ag np eklenerek oluşturulan nanokompozit karakteristiğini belirlemek

3.5.1. Elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi için kullanılan parametrelere ait özellikler

Elektro-eğirme sürecinde kullanılan parametrelerle ilgili açıklamalar Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11 Elektro-eğirme yöntemi için kullanılan parametre değerleri

Nanofiber Çeşidi	Voltaj	İğne ucu ve döner tambur mesafe	Akış hızı
PCL/Kitosan	27-30 kV	14 cm	0,3 ml/saat
%1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/Kitosan	27-30 kV	14 cm	0,20 ml/saat
%2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/Kitosan	27-30 kV	14 cm	0,20 ml/saat
%3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/Kitosan	27-30 kV	14 cm	0.20 ml/saat

Elektro-eğirme yöntemi için hazırlanan çözeltiler ultrasonik ve manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Tambur üzerine 16.5 ve 33 cm boyutlarında alüminyum folyo kesilerek yerleştirilmiştir. 10 ml lik şırıngalar kullanılarak 4ml çözelti çekilmiştir. 4 şırınga, şırınga kılıflarına konularak pompalama sistemine yerleştirilmiştir. Şırıngalar ucuna iletim için borular takılmış ve sabitlenerek uçlarına iğne uçları yerleştirilmiştir. Kv değerinden çözelti için uygun voltaj değeri ayarlanmıştır. İğne uçları ve tambur arası 14 cm olarak ayarlanmış ve optimum 0,2- 0,3 ml/saat lik akış hızında çalışılmıştır. Şırıngalardaki çözeltiler bitene kadar 15-20 saat arası spinleme işlemi gerçekleştirilerek PCL/ Kitosan ve %1, %2, %3 oranlarında ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartikül ekstraktlı PCL/ Kitosan fiberler elde edilmiştir.

3.6. Üretilen Nanofiberlerin Karakteristik Özelliklerinin İncelenmesi

Malzeme karakterizasyon testleri FE-SEM, FTIR, XRD, Su Temas Açısı, TGA Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.6.1. FE-SEM analizi

ZEISS GeminiSEM 500 marka ve model Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu ile nanofiberlerin çap dağılımları, yüzey morfolojileri, yerleşim açısı, geçirgenliği ve biyobozunma sonrası oluşan morfolojik bozunmalar incelenmiştir.

FE-SEM analizi için üretilen saf PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP ve %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP nanofiberlerden 1x1 cm² boyutlarda numuneler alınmıştır. Numuneler 5.31 nm altın paladyum ile kaplanarak analizi gerçekleştirilmiştir.

3.6.2. FTIR analizi

Thermo Scientific – Nicolet iS20 marka/model cihaz ile FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. FTIR analizi 400 – 4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiş olup bu analiz ile fonksiyonel gruplar ve kimyasal karakterizasyon saptanmıştır.

3.6.3. XRD analizi

X-ışını difraksiyonu, malzemelerin kristallografik özellikleri ve içerdikleri fazları hakkında bilgi sağlar. XRD çalışma prensibi X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanmaktadır. Kristale dair bilgi edinilmesinde XRD yöntemi kolaylığı ve sonuçlarının güvenilirliği açısından tercih edilir . PANalytical / EMPYREAN marka/model cihaz ile ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bu ölçüm ile malzemenin kristal yapısı belirlenmiş, kimyasal bileşimleri tespit edilmiştir.

3.6.4. TGA analizi

Setaram – Labsys Evo marka/model cihaz ile 0-500 °C sıcaklık aralığında analiz gerçekleştirilmiş olup sıcaklık artışı dakikada 20 °C/dk olarak ayarlanmıştır.

Bu analiz ile üretilen nanofiberlerin termal özellikleri belirlenmiş, nanofiberlerin sıcaklığa bağlı kütle kaybı ölçülmüştür. Ağırlık kaybının olduğu aralık malzemenin bozunduğu sıcaklık bilgisini vermektedir.

3.6.5. Su temas açısı

Temas açısı katı formda bir numunenin bir sıvı tarafından ıslatılma miktarının belirlenmesidir (Çiğdemir 2015). Biolin Scientific Attension – Theta Lite cihazı ile su temas açısı ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.7. Üretilen Nanofiberlerin Mekanik Analizi

Üretilen nanofiberlerin mekanik olarak tepkisinin ölçülmesi için Shimadzu AGS-X marka/model çekme cihazı ile test gerçekleştirilmiştir. Çekme testi ile malzemeye verilen kuvvet doğrultusunda malzemenin verdiği yanıt ölçülmüştür. Üretilen nanofiberlerin gerilme mukavemeti, elastik modülü ASTM D638-14 standardına göre belirlenmiştir. Üretimi yapılan 4 çeşit elektro-eğirme sonucu oluşturulan nanofiberlerden 3'er tane 1x5 cm ölçülerinde kesilerek hazırlandı, 5mm/dak hızda işlem gerçekleştirildi.

3.8. Biyobozunurluk Analizi

Biyobozunurluk analizi Fosfat tampon çözeltisi (PBS) kullanılarak gerçekleştirildi. Nanofiberler 3x3 cm² ebatlarında kare boyutlarda kesilerek PBS içerisinde 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Kesilen parçaların ilk ağırlık ölçümleri alınmış PBS solüsyonu içerisinde bekletilerek bozunması gerçekleştirilmiş ve haftalık periyotlarla ağırlık kayıpları ölçülmüştür. İnkübe edilen numunelerin ölçümden önce etüvde kurutulma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bozunma oranları aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$Bozunma Oranı (\%) = 100 - \frac{İnkübasyon Sonrası Kuru Ağırlık}{İlk Kuru Ağırlık} * 100$$

3.9. Antibakteriyel Aktive Analizi

Antibakteriyel aktivite testi sırasında kullanılan *Escherichia coli* 25922 ve *Staphylococcus Aureus* 29213 bakterileri Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

Antibakteriyel aktivite için agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak gram negatif *Escherichia coli* 25922 ve gram pozitif *Staphylococcus Aureus* 29213 bakterilerinde çalışma gerçekleştirilmiştir. Bakteri suşları 37 °C sıcaklıkta' de 180 rpm'de McF 0.5-0.6 değerinde olacak şekilde inkübe edilmiş ve besiyeri olarak hazırlanan Mueller Hinton Agar üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra elektro-eğirme yöntemiyle üretilmiş nanofiber numunelerden 12 mm çapta diskler hazırlandı. Ballıba eAgNP' lerin aktivitesi için 1m lik saf su içerisinde 5mg enkapsüle gümüş nanopartikül çözündürme işlemi gerçekleştirildi. 12 mm' lik çapta kesilmiş filtre kağıdı diskler üzerine Green sentez ile üretilmiş enkapsüle gümüş nanopartikül solüsyonu emdirildi ve agar plakalara ekim için uygun hale getirildi.

Nanofiber numunesi için hazırlanan diskler, bakteri ekimi sonrasında her *Escherichia coli* 25922 ve gram pozitif *Staphylococcus Aureus* 29213 bakterileri için ayrı ayrı 4 er adet petri kaplarına yerleştirildi ve vücut sıcaklığında 48 saat inkübasyonu gerçekleştirildi, inkübasyon sonrasında disk etrafındaki inhibasyon halka çapları image j programıyla ölçüldü böylece üretilen nanofiber malzemenin bakterilerin üremesine karşı olan etkisi belirlenecektir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Tez kapsamında üretimi gerçekleştirilen 4 çeşit nanofibere ait (PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP) karakteristik özellikler, mekanik özellikler, biyobozunurluk ve antibakteriyel özelliklere ait analiz sonuçları kapsamında FE-SEM Analiz, XRD Analiz, TGA Analiz, FTIR Analiz ve Su temas Açısı analizleri ve mekanik analiz, invitro biyobozunurluk ve antibakteriyel aktivite analizleri aşağıda verilmiştir.

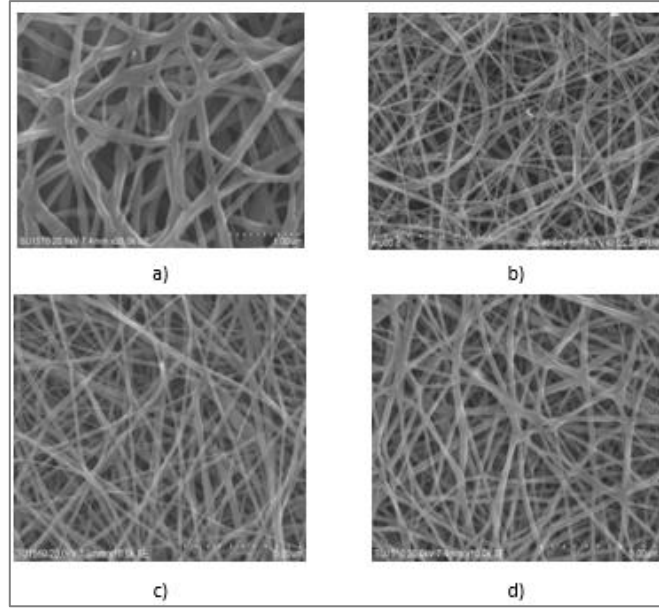
4.1. FE-SEM Analizi Sonucu

Tezin bu bölümünde üretimi yapılan 4 çeşit nanofiberin hepsinden ölçümler alınarak analiz gerçekleştirilmiştir. Şekil 19'da görseli verilen SEM analiziyle üretilen nanofiberlerin ortalama çap değerleri, morfolojik yapısı hakkında bilgi alınmıştır.

Elektro-eğirme yöntemi ile üretilen nanofiber yapısında boncuk oluşumu görülmesi büyük sorun teşkil etmektedir (Bülbül 2019). Tez çalışmamda üretimi yapılan nanofiber yapıların SEM analizleri incelendiğinde boncuksuz yapıda düzgün fiber oluşumlar elde edildiği görülmüştür. Ayrıca morfolojik yapı analiziyle üretilen nanofiber üzerindeki hücre çoğalması ve yapışması hakkında önemli bilgiler elde edilmektedir (Gharravi, Orazizadeh ve arkadaşları 2012). Yan kesit görüntüleri incelendiğinde üretimi yapılan doku iskelelerinin hücreler arası iletişime ve hücre göçüne izin verebilecek ağsı yapıda olduğu görülmektedir.

Ortalama fiber çapları saf PCL/Kitosan için: $132,64613 \pm 1,21919$, %1 Ballıbaba eAgNP Nanofiber için: $125,67 \pm 2,3456$, %2 Ballıbaba eAgNP Nanofiber için: $127,79385 \pm 2,77156$, %3 Ballıbaba eAgNP Nanofiber için: $130,37011 \pm 3,18596$ nm olarak bulunmuştur. Elektro-eğirmede eAgNP ilavesiyle üretilen nanofiberlerin iletkenliği artırması sonucunda daha düşük çapta nanofiber oluşumuna neden olduğu literatür çalışmalarında görülmüştür.(Barani 2014, Topuz, Satilmis ve arkadaşları 2019, Zhou, Thakurathi ve arkadaşları 2019).

Tez çalışmasında da literatürle uyumlu bir şekilde kullanılan ballıbaba eAgNP varlığında nanofiber çaplarında düşüş görülmüştür. Nanofiber çapındaki düşüş ballıbaba eAgNP özütünün iletkenliği artırmasıyla çapta azalış sağlanmasıyla açıklanabilmektedir.



Şekil 19 Nanofiberlere ait SEM analiz görüntüleri a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) %1 BB- eAgNP nanofiber c) %2 BB- eAgNP nanofiber d) %3 BB- eAgNP nanofiber

4.2. X Işını Kırınımı (XRD) Analizi Sonucu

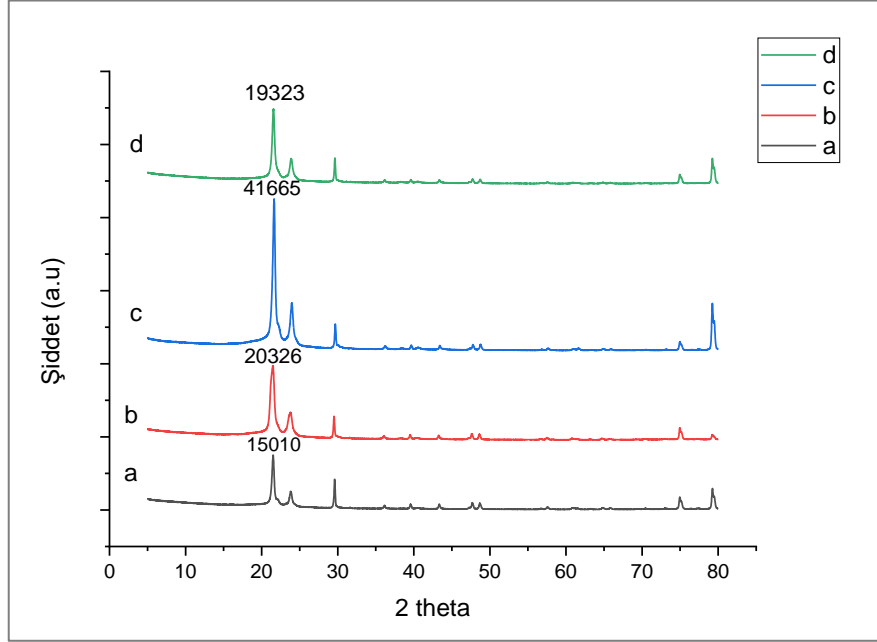
X-ışını kırınımını (XRD) tekniği malzemeye ait kristal yapı ve element dağılımı hakkında bilgi sağlar. Üretimi gerçekleştirilen PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP nanofiberlerin XRD analizi yapılarak kırınimleri incelenmiş ve grafiği Şekil 20’de verilmiştir.

Sırasıyla saf pcl/kitosan $\theta=21,5111$ derecede 15010, %1 bb eAgNP pcl/kitosan için $\theta=21.498$ derecede 20326, %2 bb eAgNP pcl/kitosan için $\theta=21.6293$ derecede 41665, %3 bb eAgNP PCL/kitosan için $\theta=21,498$ derecede 19323 pik kırınım zirvesi vermiştir.

Nanofiberler incelendiğinde saf PCL/ Kitosan nanofibere oranla ballıbaba enkapsüle gümüş katkılı nanofiberlerde tepe yoğunluğu ve şiddet artımıyla sonuçlanmıştır. Bu durum gümüş nanopartiküllerin PCL/ Kitosan tabaka yüzeyinde ve içerisinde olduğunun göstergesidir (Saygılı 2021).

Bu veriler ışığında literatürde XRD analiz sonuçları incelendiğinde kristal yapılı malzemelerin yüksek şiddette pik verdiği görülmüştür. Literatüre uyumlu bir şekilde çalışmamızda da BB- eAgNP katkılı nanofiberlerde şiddet olarak daha yüksek değerler

görülmüştür bu da yaptığımız katkılama işlemiyle malzemenin daha kristal bir şekil aldığı gösterir.



Şekil 20 Nanofiberlere ait XRD görüntüleri a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) %1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber

4.3. Termogravimetrik (TGA) Analizi Sonucu

Üretimi gerçekleştirilen saf PCL/ Kitosan, %1 Ballıba Enkapsüle AgNP, %2 Ballıba Enkapsüle AgNP, %3 Ballıba Enkapsüle AgNP nanofiberlerin Termogravimetrik analizi yapılarak nanofiberlerin termal dağılımları incelenmiştir.

Nanofiberlerin oda sıcaklığı ile 500 °C arasındaki TGA eğrileri Şekil 21, Şekil 22, Şekil 23 ve Şekil 24’de gösterilmiştir. Nanofiberlere ait TGA dağılım grafiği sonucu elde edilen bilgiler ise Tablo 12 ‘de verilmiştir.

Tablo 12 TGA dağılım analiz sonucuna ait bilgiler

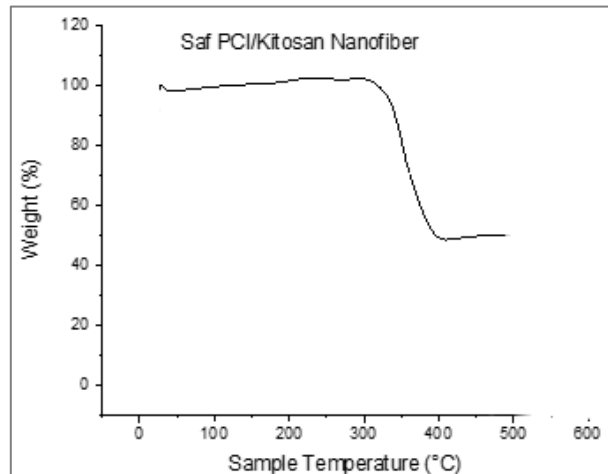
Nanofiber çeşidi	İlk kütle miktarı	Son kütle miktarı	Tam bozulma sıcaklığı
Saf PCL/kitosan	1.79 mg	0.891 mg	356.28 °C
%1 BB- eAgNP PCL/kitosan	1.33 mg	0.829 mg	350.06°C
%2 BB- eAgNP PCL/kitosan	2.59 mg	0.459 mg	393.25°C
%3 BB- eAgNP PCL/kitosan	1.89 mg	0.323 mg	394.57°C

TGA dağılımına ait sonuçlar incelendiğinde nanofiberlerin tek aşamalı bozunma grafiğine sahip olduğu görülmüş ve stabil kaldıkları sıcaklık aralıkları hakkında bilgi edinilmiştir. Saf PCL/ Kitosan, %1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan, %2 BB- eAgNP pcl/kitosan, %3 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber numunelerinde sırasıyla %50,22, %37,68, %82,29 ve %82,93 kütle kaybı görülmüştür.

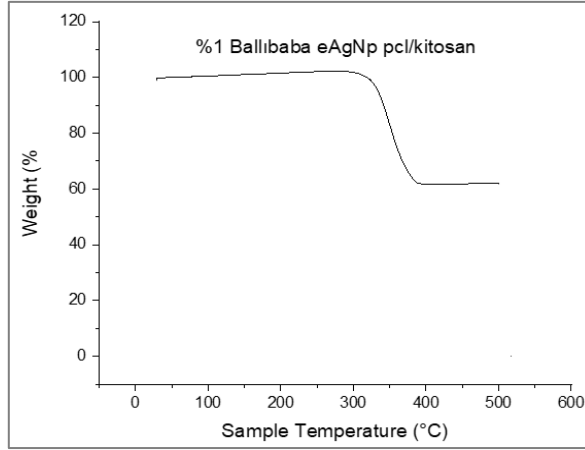
Literatür çalışmaları incelendiğinde nanofiberlerin 300 °C'ye kadar termal kararlılık gösterdiği görülmüştür tez çalışması da bunu doğrulamıştır.

PCL/ jelatin/ kitosan kullanılarak yapılan bir çalışmada kompozit yapı iskelesi 350 °C' de başlayan ve yaklaşık olarak 500 °C de sonlanan, tek aşamalı bir termal bozunma gösteren TGA analiziyle sonuçlanmıştır. (Gautam, Chou ve arkadaşları 2014)

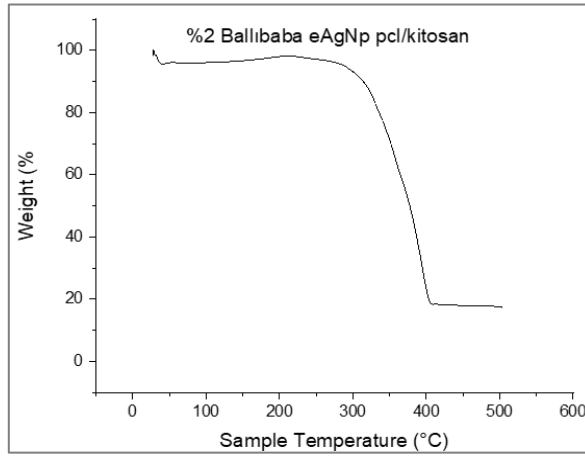
Literatürle uyumlu bir şekilde tez çalışmasında da tek aşamalı ve bozunma sıcaklığına yakın sonuçlar bulunmuştur. %1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan katkılı numunede bozunma sıcaklığındaki düşüşün nedeni pcl/kitosan yapısına eklenen BB- eAgNP varlığı olduğu düşünülmektedir. Burada bitki ekstraktı yapısındaki bileşenler malzemenin termal direncinde düşüklüğe neden olmuştur. Literatürde Cinnamon bitki ekstraktının Kitosan/ Gelatin filmine dâhil edildiği çalışmadaki ekstrakt varlığıyla termal kararlılıkta düşüş yaşanması da bu düşüncemizi destekler niteliktedir. (Ahmadi, Hivechi ve arkadaşları 2021) Artan BB-eAgNP katkısı termal direnci yükselterek saf PCL/Kitosan nanofiber yapısına göre daha yüksek sıcaklıkta bozunmanın başlamasına yol açmıştır.



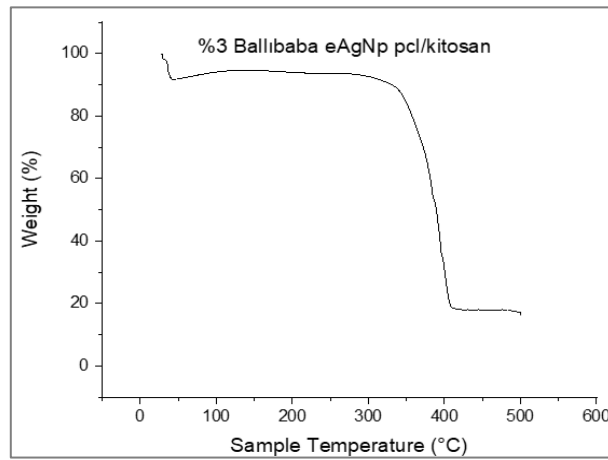
Şekil 21 Saf PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı



Şekil 22 %1 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı



Şekil 23 %2 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı



Şekil 24 %3 BB- eAgNP PCL/ Kitosan nanofibere ait TGA dağılımı

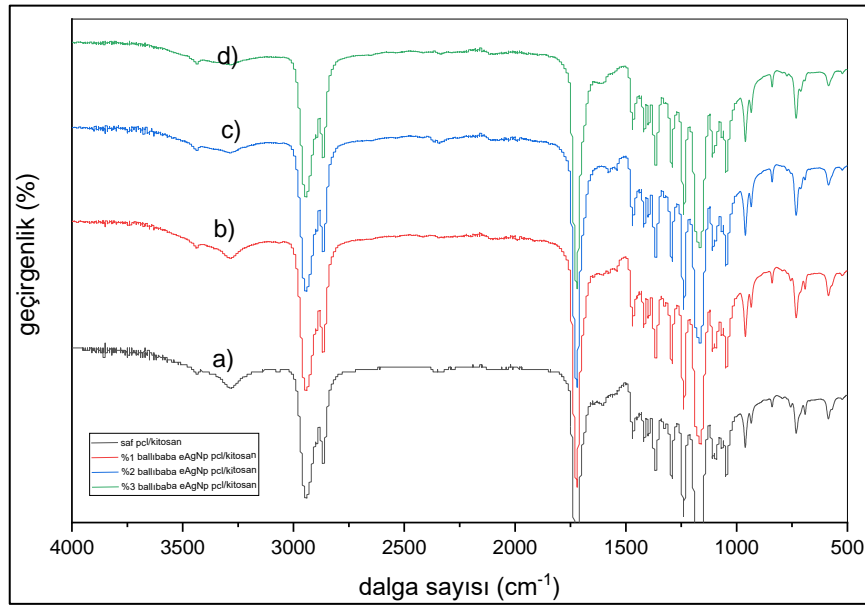
4.4. FTIR Analizi Sonucu

Üretimi gerçekleştirilen PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP, %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP nanofiberlerin FTIR analizi yapılarak numunelere ait fonksiyonel gruplar tespit edilerek nanopartiküllerin kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Literatüre bakıldığında PCL/ Kitosan nanofibere ait FTIR analizinde 3356 cm⁻¹'deki bantlar NH titreşimsel gerilmeye karşılık gelir, 2943 ve 2864 cm⁻¹'de uzanan tipik CH₂ absorpsiyon bantları ile birlikte, COC'nin simetrik gerilmesine, 1666 cm⁻¹'deki bantlar C=O titreşimsel gerilmeye karşılık gelir ve 1569 cm⁻¹'deki bantlar, NH titreşimsel gerilmeye karşılık gelir (Tursucular, Çerkez ve arkadaşları 2018).

Amit I ve Amit II'ye karşılık gelen 1680 ve 1544 cm⁻¹'deki iletim zirveleri, PCL/kitosan karışımında, PCL yapısının ana ester gerilmesi ile birlikte 1720 cm⁻¹'de görülmüştür (Sasmazel 2011).

Çalışmada üretimi gerçekleştirilen nanofiberlere ait FTIR görüntüsü Şekil 25'te verilmiştir.



Şekil 25 Nanofiber yapıların FTIR spektrumları a) Saf PCL/ Kitosan b) %1 BB-eAgNP PCL/ Kitosan c) %2 BB-eAgNP PCL/ Kitosan d) %3 BB-eAgNP PCL/ Kitosan

Literatürle uyumlu bir şekilde FTIR spektrum analizi gerçekleştirilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Saf PCL/ Kitosan nanofiber yapısına eklenen ballıbağ özütü eAgNP varlığı karakteristik bir pik dağılımına neden olmamıştır. Polimerler arasında bir kovalent bağın oluştuğunun göstergesidir (Sasmazel 2011).BB- eAgNP katkılı nanofiberlere ait FTIR görüntüsü ve saf PCL/ Kitosan nanofiber görüntüsü benzer bir dağılım göstermiştir. Böylece enkapsüle gümüş ve bitki özütü kullanımıyla fonksiyonel gruplarda herhangi bir bozulma meydana gelmeden polimer ve bitki özüt yapısının arasında bir kovalent bağ oluşumuyla sonuçlanmıştır.

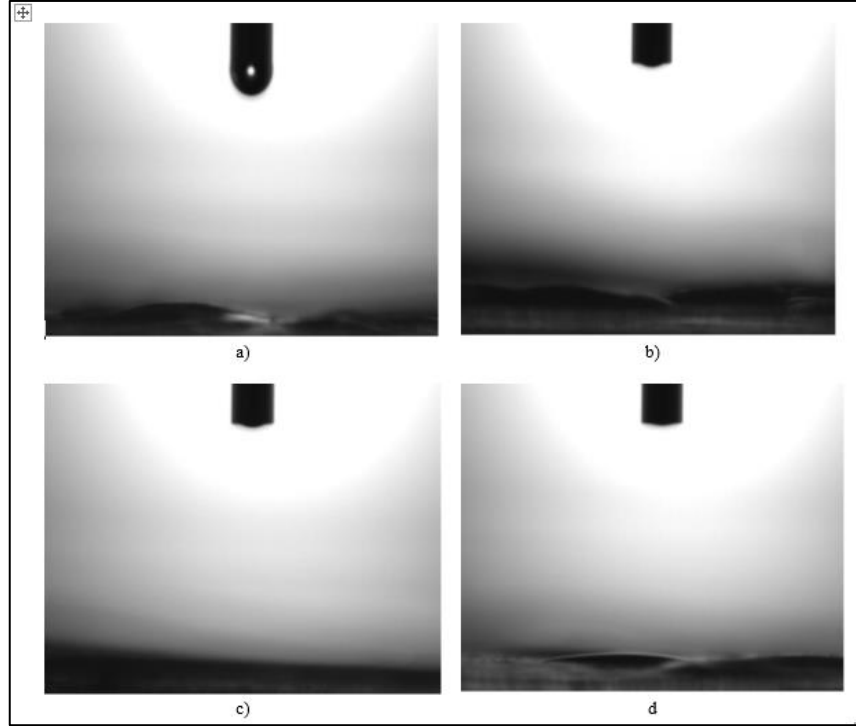
4.5. Su Temas Açısı Analiz Sonucu

Temas açısı ölçümüyle üretilen nanofiber malzemenin yüzey ıslanabilirlik analizi gerçekleştirilmiştir. Su temas açısının 90° üzerinde bir sonuç vermesi numunenin hidrofobik (ıslatmaz) yapıda olduğuna, 90° altındaki sonuçlar numunenin hidrofilik (ıslatma) bir yapı sergilediğini gösterir. Ayrıca temas açısı 140° 'den büyükse süper hidrofobik ve temas açısı 0° 'ye çok yakınsa süper hidrofilik yapı gösterir (Aydar ve Bağdatlıoğlu 2014).

Temas açısı ölçümü Biolin Scientific Attension – Theta Lite cihazı ile nanofiberlerden uygun boyutlarda kesilip üzerine mikropipet yardımıyla 5 μ l hacminde su damlatılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece malzemenin hidrofiliklik konusunda bilgi sağlanmıştır. Üretilen nanofiberlere ait su temas açısı değerleri Tablo 13'te temas açısına ait görseller de Şekil 26'da verilmiştir.

Tablo 13 Nanofiberlere ait su temas açısı ölçüm sonuçları

Su Temas Açısı Ölçümü	
Nanofiber Çeşidi	Temas Açısı
Saf PCL/Kitosan Nanofiber	26,541
% 1 eAgNP PCL/Kitosan Nanofiber	14,959
%2 eAgNP PCL/Kitosan Nanofiber	13,682
%3 eAgNP Pcl/Kitosan Nanofiber	11,767



Şekil 26 Nanofiberlere ait su temas açısı a) Saf PCL/ Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber

Literatüre bakıldığında doku mühendisliği alanında kullanılan yapı iskeleleri için yüzey hidrofiliğinin çok önemli bir parametre olduğu görülmektedir. Hidrofiliklik özelliğe sahip bir yapı iskele üzerine ekimi yapılan hücrelerin yayılması, iskeleye bağlanması ve hücre çoğalması konusunda yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Li, Chang ve arkadaşları 2016).

PCL ve kitosan karışımı yapı iskeleleri iyi hidrofiliğle sonuçlanmış ve saf PCL nanofiber yapısında bulunan hidrofobik özelliği ortadan kaldırılmıştır (Sasmazel 2011).

Farklı bir çalışmada Hokmabad ve arkadaşları *Elaeagnus angustifolia* bitki ekstraktı üzerinde yaptıkları analiz sonucu bitki ekstraktı kullanımıyla hidrofilik özelliğin arttığını bulmuşlardır (Hokmabad, Davaran ve arkadaşları 2019).

Tez çalışmasında üretimi yapılan nanofiber iskelelerde su temas açısı profili dolayısıyla malzemenin hidrofilik hidrofobik özelliği incelenmiştir. Çalışma sonucunda temas açılara bakıldığında malzemenin hidrofilik özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Burada Ballıbağ en kapsüllü gümüş nanopartikül katkılı pcl/kitosan nanofiberler içeriğindeki bitki katkılarından dolayı hidrofilik seviyenin yüksek bulunduğu

düşünülmektedir. Aynı zamanda Malzemenin sağladığı bu hidrofilik özellik sayesinde üretimi yapılan nanofiberin kemik iskele üzerine ekimi yapılan hücrelerin yayılması, iskeleye bağlanması ve hücre çoğalması konusunda yardımcı olabileceği dolayısıyla kemik iskele olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

4.6. İn Vitro Biyobozunurluk Analizi Sonucu

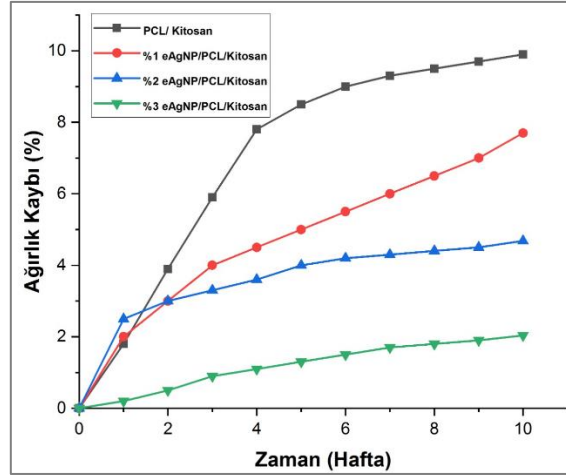
Üretimi gerçekleştirilen PCL/ Kitosan, %1 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan, %2 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan, %3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/Kitosan nanofiberlerinden alınan numunelerin biyobozunurluk analizi gerçekleştirilmiştir. Böylece numunelerin in vitro ortam koşullarında bozunma oranları hakkında bilgi sağlanılmıştır.

Biyobozunurluk analizi toplamda 10 hafta sürmüştür. Numuneler hazırlanarak işlem öncesindeki ağırlıkları ölçülmüştür. Daha sonra PBS içerisine 1 hafta boyunca bekletilmek için bırakılmıştır. Her hafta sonunda PBS çözeltisinden çıkarılmış ve 1 gün boyunca 37 °C'de etüvenerek kurutulma işlemi gerçekleştirilmiş ve her hafta sonunda ağırlıkları kaydedilmiştir. Buna göre ağırlık kayıpları hesaplanmış ve Şekil 27'de verilmiştir.

Şekil 27 incelendiğinde ağırlık kaybının en yüksek Saf PCL/ Kitosan nanofiber numuneye ait olduğu görülmektedir. PCL/ Kitosan yapısına eklenen BB-eAgNP katkısıyla bozunurluk yüzdeleri düşürülmüş ve malzemenin ağırlık kaybı en aza indirilmiştir. Ağırlık kaybının düşük olması BB-eAgNP katkısının malzemenin daha yavaş bozunma göstermesine neden olduğu görülmektedir.

PCL polimeri PLA ve PGA' ya göre yüksek kristal yapıda olması nedeniyle daha düşük bozunma oranı vermektedir. Bu durum PCL'nin kemik doku mühendisliğinde uzun süreli implant uygulamaları alanında daha uygun bir polimer olmasını sağlamıştır (Mert, Gürün ve arkadaşları 2013).

Yapılan çalışmada BB-eAgNP katkısıyla PCL'nin bu bozunma süresi daha da uzatılmıştır. Böylece uzun süreli kemik doku mühendisliği iskele çalışmalarında kullanımlarının uygun olacağı düşünülmektedir.



Şekil 27 Numunelerin zamana bağlı ağırlık kayıpları

4.7. Antibakteriyel Aktivite Ölçüm Sonucu

Bu çalışmayla yeşil sentez ile üretilen ballıbaba enkapsüle gümüş nanopartiküller *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkisi ölçülmüştür. İnkübasyon sonunda üretilen nanofiberlerin ballıbaba bitki yoğunluğuna göre disk ve kuyucuk etrafında oluşturduğu inhibasyon bölgeleri Şekil 28 ve Şekil 29'da verilmiştir.

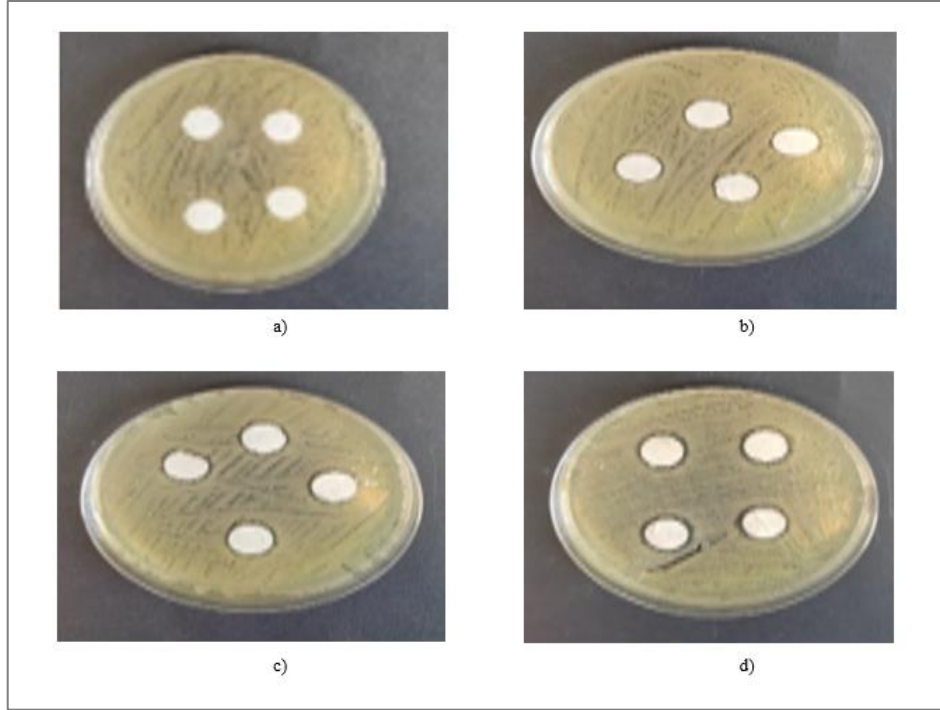
Disklerin ve kuyucukların etraflarında oluşan inhibasyon zonları İmage J programı yardımıyla ölçülmüştür. İnhibasyon zonu disk difüzyon testinde bir antimikrobiyal maddenin etrafında bakteri büyümesinin olmadığı alanı ifade etmektedir .

Escherichia coli bakterisine karşı %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 13,8; %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 14,4; %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 15,98 olarak image J yazılımıyla hesaplanmıştır.

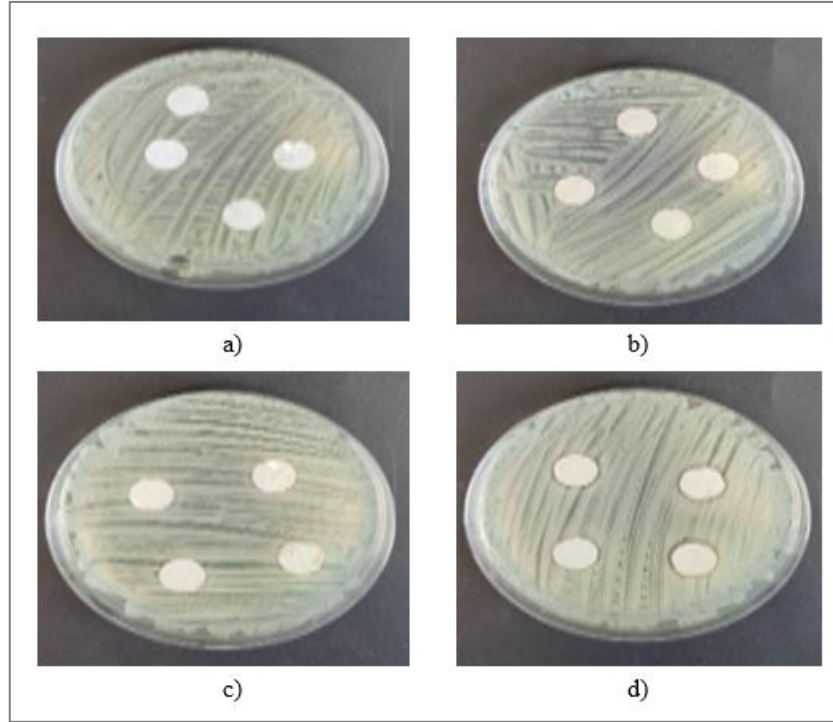
Staphylococcus Aureus bakterisine karşı %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 12,62; %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 12,68; %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber malzemeye ait inhibasyon çapı ortalama 13,48 olarak image J yazılımıyla hesaplanmıştır.

BB- eAgNP/ PCL/ Kitosan nanofiberde *E.coli* bakterisinde belirgin *S.aureus* bakterisinde düşük çaplı bir inhibasyon bölgesi oluşturmuştur. Literatürde yer alan inhibasyon zon çaplarının büyüklüğü ve malzemenin göstermiş olduğu antibakteriyel özellik ilişkisi dikkate alındığında üretilen malzeme içeriğindeki ballıbaba

enkapsüle gümüş nanopartikül katkısının artışıyla malzemenin antibakteriyel aktivitesi arasında doğrudan bir ilişki olduğu görülmüştür (Aytar, Oryaşin ve arkadaşları 2019). Buna göre yapılan tez çalışmasında üretilen BB- eAgNP katkılı nanofiberlerin antibakteriyel aktivite gösterdiği görülmüştür.



Şekil 28 *Escherichia Coli* 25922 bakterisine karşı nanofiberlerin göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite.
a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber



Şekil 29 *Staphylococcus Aureus 29213* bakterisine karşı nanofiberlerin göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite. a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber

4.8. Mekanik Analiz Sonucu

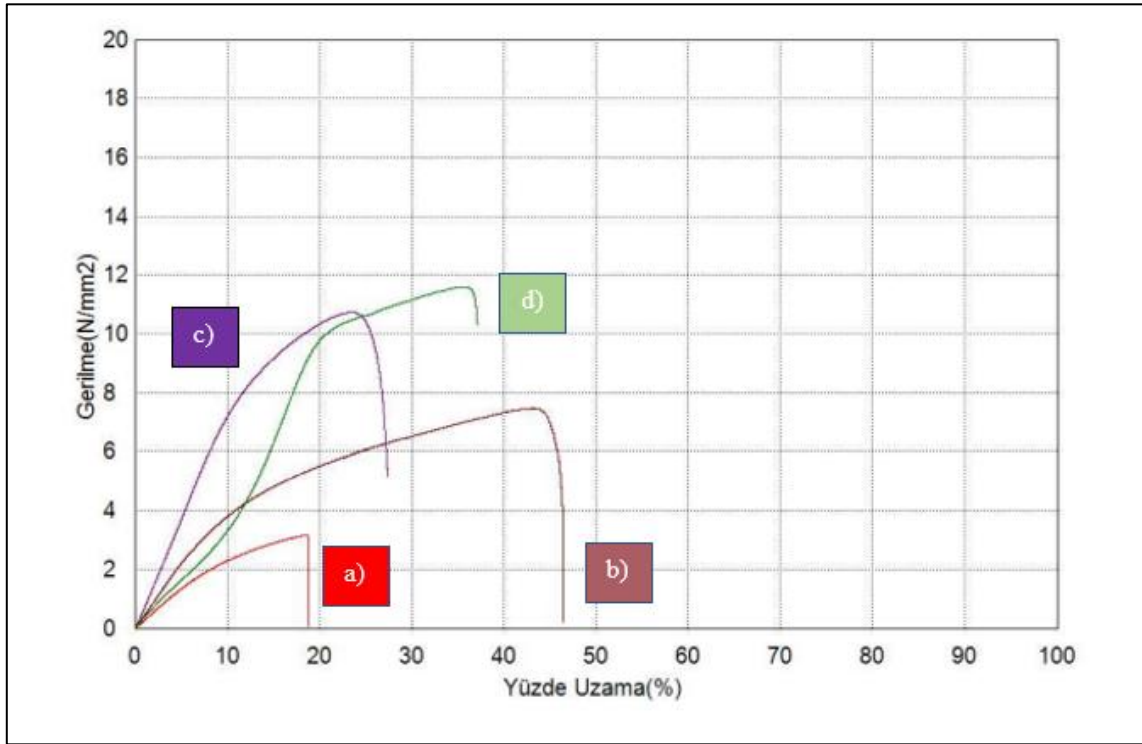
Kemik doku mühendisliği alanında kullanılmak üzere üretimi gerçekleştirilen nanokompozit nanofiberlerin mekanik analizi gerçekleştirilmiştir. Kemik dokusu vücut içerisinde fazla yüke maruz kaldığından bu bölge için gerçekleştirilecek bir biyomalzemenin mekanik özelliklerinin çok iyi olması gerekmektedir (Yılmaz 2017).

Çalışmada polimer kullanılmasının nedeni molekül ağırlığının artışıyla malzemenin aşınma, çekme ve burkulmalara karşı mukavemetinin artırılmasıdır (Öztekin 2017).

PCL sahip olduğu mekanik ve kimyasal özellikleri (Domingos, Dinucci ve arkadaşları 2009) ve çekme mukavemetinin düşük olması sebebiyle gösterdiği elastik özelliklerinin sayesinde bu çalışmada kullanılmış ve kitosan polimerin zayıf mekanik özellikleri elimine edilmiştir (Kehoe, Zhang ve arkadaşları 2012).

Tüm bu faktörlerin değerlendirilmesi için üretimi yapılan PCL/ Kitosan, %1 Ballıba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan, %2 Ballıba Enkapsüle AgNP PCL/ Kitosan,

%3 Ballıbaba Enkapsüle AgNP PCL/Kitosan nanofiberlerinden alınan numunelere ait mekanik analiz sonuç Şekil 30 ve Tablo 14'te verilmiştir.



Şekil 30 Nanofiberlerin gerilim- gerilim eğrisi a) Saf PCL/Kitosan nanofiber b) %1 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber c) %2 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber d) %3 eAgNP PCL/ Kitosan nanofiber

Tablo 14 Nanofiber malzemelerin mekanik analiz sonuçları

Nanofiber İsmi	Maksimum Kuvvet (N)	Maksimum Gerilme (N/mm ²)	Maksimum Uzama (mm)	Strain (Maksimum Yüzde Uzama) (%)
PCL/ Kitosan	1.67506	3.16049	5.57033	18.5678
%1 BB-eAgNP PCL/ Kitosan	1.56854	7.46925	12.9459	43.1529
%2 BB-eAgNP PCL/ Kitosan	4.56190	10.7339	7.05080	23.5027
%3 BB-eAgNP PCL/ Kitosan	4.85073	11.6046	10.6244	35.4148

Yapılan analiz sonucuna göre saf PCL/Kitosan nanofiber ve BB-eAgNP katkılı PCL/Kitosan nanofiberler kıyaslandığında maksimum gerilme açısından %1 BB-eAgNP %136, %2 BB-eAgNP %240, %3 BB-eAgNP %267 lik bir artış göstermiştir. Maksimum

yüzde uzaması açısından %1 BB-eAgNP %32, %2 BB-eAgNP %26, %3 BB-eAgNP %90 'lık bir artış göstermiştir.

Yapılan analiz sonuç tablosu ve grafiği incelendiğinde BB-eAgNP katkılanmasının saf PCL/Kitosan nanofiber malzemeye oranla dayandığı maksimum kuvvet ve maksimum gerilim (çekme dayanımı, gerilimi) üzerinde artırıcı bir etkisi olmuştur. Kemik doku iskeleleri vücuda implante edildikten sonra yüke maruz kalacağından mekanik dayanım önemli bir faktör olup (Arslan 2015), BB-eAgNP katkısından dolayı maksimum gerilim değerindeki bu artış mekanik özelliklerinin (gerilme mukavemetinin) iyileştiğinin göstergesidir ve kemik doku iskele olarak kullanılabilirliği açısından uygun olabilmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Kemik doku mühendisliği alanında son yıllarda birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Çeşitli hastalık, kaza vb. sonucu tahribat gören kemik dokunun rejenarasyonu için çeşitli yöntemler denenmiştir organ naklinin yeterli olmadığı ve doku uyumlarının %100 gerçekleşmediği göz önüne alındığında daha çok kemiğin yeniden üretim yöntemlerine odaklanılmıştır bu nedenle yapay kemik iskele üzerine önemli çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasında da bu alana yönelim sağlanarak kemik doku mühendisliği alanında kemik iskele olarak kullanım için BB-eAgNP katkılı PCL/ Kitosan nanofiberlerin elektro-eğirme yöntemiyle üretimi gerçekleştirilmiştir.

Gümüş nanopartiküller saf halde ortamda agregasyona neden olduğundan gümüş iyonlarının yığılmasıyla ortamda toksiteye neden olmaktadır. Çalışma ile bu engellenerek bitki ekstraktı ile kaplanmış haldeki gümüş nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir. Elektro-eğirme yöntemiyle nanofiber üretimi yapılırken doğal polimer olarak kitosan, sentetik polimer olarak PCL kullanılmıştır. Kitosan ve PCL solüsyonlarının hazırlanmasında çözücü olarak formik asit ve aseton (7:3) oranında kullanılmıştır.

Hazırlanan PCL/ Kitosan çözeltisine BB- eAgNP'ler %1, %2 ve %3 oranlarında eklenerek BB-eAgNP/ PCL/ Kitosan nanofiber üretimi sağlanmıştır. BB- eAgNP elde edilirken son dönemde yaygın olan çevre dostu ve toksik özellik barındırmayan green sentez yöntemi tercih edilmiştir.

Üretimi yapılan nanofiberlerin karakterizasyon testleri, mekanik analizleri, biyobozunurluk ve antibakteriyel özellikleri alanında analizler gerçekleştirilmiştir.

Gerçekleştirilen FE-SEM analiziyle numunenin morfolojik yapısı ve ortalama nanofiber çapı incelenmiştir boncuksuz düzgün formda nanofiberler elde edilmiştir. BB-eAgNP katkısı olan nanofiberlerdeki ortalama çap saf PCL/ Kitosan nanofibere kıyasla daha düşük çap vermiştir burada BB- eAgNP özütünün iletkenliği arttırarak nanofiberin lif çapını düşürdüğü literatür çalışmalarıyla da desteklenmiştir. Ayrıca yan kesit görüntüleri incelendiğinde üretimi yapılan doku iskelelerinin hücreler arası iletişime ve hücre göçüne izin verebilecek ağısı yapıda olduğu görülmektedir.

XRD analiziyle numunenin kristal yapısı ve element dağılımı hakkında bilgi edinilmiştir. Analiz sonucuna göre nanofiberler incelendiğinde saf PCL/kitosan nanofibere oranla ballıbaba enkapsüle gümüş katkılı nanofiberlerde tepe yoğunluğu ve şiddet artımıyla sonuçlanmıştır. Bu durum gümüş nanopartiküllerin PCL/ Kitosan tabaka yüzeyinde ve içerisinde olduğunun göstergesidir. Literatüre göre kristal yapı malzemede görülen şiddetli pikler BB- eAgNP nanofiberlerde de görülmüştür bu sonuç bize malzemenin daha kristal bir şekil aldığını gösterir.

TGA analizi ile malzemin termal dağılım altındaki gösterdiği tepki incelenmiştir. Literatürle uyumlu bir şekilde tez çalışmasında da tek aşamalı ve bozunma sıcaklığına yakın sonuçlar bulunmuştur. Bozunma sıcaklığındaki düşüşün nedeni PCL/ Kitosan yapısına eklenen BB- eAgNP varlığı olduğu düşünülmektedir. Burada bitki ekstraktı yapısındaki bileşenler malzemenin termal direncinde düşüklüğe neden olmuştur

FTIR spektrum analiziyle üretilen nanofiber yapısının kimyasal karakterizasyonuna bakılarak nanofiberlere ait fonksiyonel gruplar incelenmiştir. BB- eAgNP katkısıyla hazırlanan nanofiberlere ait FTIR görüntüsü saf PCL/ Kitosan nanofibere ait FTIR görüntüsüyle benzer bir dağılım vermiştir. Ballıbaba özütü gümüş katkısı karakteristik bir pik dağılımına sebep olmamış malzemenin fonksiyonel yapısında bir bozulma meydana gelmemiş ve kovalent bir şekilde bağlanma gerçekleşmiştir. Böylece solüsyon içerisindeki ballıbaba bitki özütü enkapsüle gümüş nanopartikülün nanofiber yapısına başarılı bir şekilde dâhil edildiği görülmüştür.

Su temas açısı analiziyle nanofiberlerin hidrofilik özelliklerine bakılmıştır. Analiz sonucuna göre hidrofilik nanofiberlerin elde edildiği görülmüştür burada bitki ekstraktlarından kaynaklanan bir hidrofiliklik düşünülmektedir. Aynı zamanda malzemenin sağladığı bu hidrofilik özellik sayesinde üretilen nanofiberin kemik iskele üzerine ekimi yapılan hücrelerin yayılması, iskeleye bağlanması ve hücre çoğalması konusunda yardımcı olabileceği dolayısıyla kemik iskele olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Antibakteriyel analizle üretilen nanofiberlerin *E.Coli* ve *S.Aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etki gösterip göstermediği incelenmiş olup oluşan inhibasyon çaplarına göre nanofiberin *E.coli* bakterisinde daha çok olmak üzere antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür.

Mekanik analiz sonucuna göre saf PCL/Kitosan nanofiber ve BB-eAgNP katkılı PCL/Kitosan nanofiberler kıyaslandığında maksimum gerilme açısından %1 BB-eAgNP %136, %2 BB-eAgNP %240, %3 BB-eAgNP %267 lik bir artış göstermiştir. Maksimum yüzde uzaması açısından %1 BB-eAgNP %32, %2 BB-eAgNP %26, %3 BB-eAgNP %90 'lık bir artış göstermiştir. BB-eAgNP katkısından dolayı maksimum gerilim değerindeki bu artış mekanik özelliklerinin (gerilme mukavemetinin) iyileştiğinin göstergesidir.

Biyobozunurluk analizine göre PCL/ Kitosan yapısına eklenen BB-eAgNP katkısıyla bozunurluk yüzdeleri düşürülmüş ve malzemenin ağırlık kaybı en aza indirilmiştir. Ağırlık kaybının düşük olması BB-eAgNP katkısının malzemenin daha yavaş bozunma göstermesine neden olduğu görülmektedir. Böylece uzun süreli kemik doku mühendisliği iskele çalışmalarında kullanımlarının uygun olacağı düşünülmektedir.

5.2. Öneriler

Tez çalışması sırasında edinilen bilgiler doğrultusunda ilerleyen çalışmalarda gerçekleştirilmesi gereken öneriler aşağıda sunulmuştur.

Farklı oranlarda ballıbaaba katkıları incelenerek antibakteriyel aktivite, biyobozunurluk, hidrofilitiklik vb açısından kemik iskele formunda kullanılacak en optimum veriler elde edilebilir.

Solüsyon hazırlanırken hidroksiapatit katkısı da eklenerek oluşan nanofiberin karakterizasyon analizi gerçekleştirilebilir, ayrıca Ca/P oranı incelenerek doğal kemik yapısındaki orana kıyasla ne kadar başarı sağladığı belirlenebilir.

Üretilen prototip nanofiber yapısının hücre oluşum ve çoğalmasına karşı sitotoksik bir etki verip vermeyeceği sitotoksite testleri ile incelenebilir.

Kemik doku rejenerasyonunu uyarabilecek potansiyelde ilaçların üretilen nanofiber yapısına dâhil edilerek ilaç salınımlarıyla oluşacak katkılar tespit edilebilir.

Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen prototip nanofiberin kemik doku mühendisliğinde kullanımı açısından kemik benzeri kalsiyum fosfat yapılarının biyomineralizasyonu ile nanofiber yapısındaki büyümesi ve biyomineralizasyon karakteristiği incelenebilir.

Kapsamlı bir şekilde in vitro testler tamamlanarak in vivo olarak malzemenin işlevselliğinin tespit edilmesi için hayvan deneyleri gerçekleştirilebilir.

6. KAYNAKLAR

. "Bone Grafts And Substitutes Market Size, Share & Trends Analysis Report By Material Type (Allograft, Synthetic), By Application (Spinal Fusion, Foot & Ankle, Joint Reconstruction), By Region, And Segment Forecasts, 2022 - 2030." from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/bone-grafts-substitutes-market>.

. "İnhibisyon Zonu." from <https://nedir.ileilgili.org/inhibisyon+zonu>.

. "İskelet." from <https://tr.wikipedia.org/wiki/%C4%B0skelet>.

. "Nanofiber Membranların Üretim Yöntemleri ve Uygulama Alanları." from <https://www.plastik-ambalaj.com/tr/plastik-ambalaj-makale/1120-nanofiber-membranlarn-ueretim-yoentemleri-ve-uygulama-alanlar>.

. "X-Işını Difraktometresi." from <https://merlab.metu.edu.tr/tr/x-isini-difraktometresi>.

(2010). "Monomer Ne Demek." from (<https://tekstilsayfasi.blogspot.com/2020/01/polimer-ne-demek.html>).

(2014). "Nanoteknoloji ve Doku Mühendisliği." from <https://www.elektrikport.com/universite/nanoteknoloji-ve-doku-muhendisligi/12335#ad-image-0>.

(2015). "Ballıbaba, Taubnessel, Lamium album ". from <https://enchancingblazekid.tumblr.com/post/120420277041/ball%C4%B1baba-taubnessel-lamium-album>.

(2017). "İnsanda İskelet Sistemi." Yeni Biyoloji. from <https://www.yenibiyoloji.com/insanda-iskelet-sistemi-3714/>.

(2018). "Doku Mühendisliği." from <https://lifeofmedical.com/doku-muhendisligi/>.

(2018). Nanoteknolojinin temelleri

Evrensel Nanoteknoloji Becerileri Geliştirme ve Motivasyon Kazandırma

(2019). "Nanofiberler ve Elektroçerme." from <http://www.nanotechelectronics.com>.

(2021). "Sarı Ballıbaba (Lamium Galeobdolon)." from <https://www.canim.net/sari-ballibaba-lamium-galeobdolon/121/>.

AĞBABA, B. (2016). Doğal Polimerler İle Hazırlanan Doku İskelelerinin Yapımı Ve Karakterizasyonu. İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi.

AHMADI, S., et al. (2021). "Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity." International journal of biological macromolecules **173**: 580-590.

AKCA CAN, C. AND D. DURAN (2009). "Doku Muhendisliği Uygulamalarında Tekstil Materyal Ve Teknolojilerinin Kullanımı." Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi **3**(1): 77-86.

AKGÜNER, Z. P. AND A. B. ÖZTÜRK (2021). "Kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere nanopartikül katkılı doku iskelelerinin geliştirilmesi." Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi **27**(7): 842-850.

AKKOYUNLU, A. (2019). *Lamium purpureum* L. ve *Lamium galeobdolon* (L.) L. türlerinin biyolojik aktivitelerinin ve kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi. . Düzce, Düzce Üniversitesi.

AKTEPE, N. (2021). "Gümüş nano materyallerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktiviteleri." Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi **12**(2): 347-354.

ALLEN, M. R. AND D. B. BURR (2019). Bone growth, modeling, and remodeling. Basic and Applied Bone Biology, Elsevier: 85-100.

ALVER, E., et al. (2017). "One step effective removal of Congo Red in chitosan nanoparticles by encapsulation." Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **171**: 132-138.

ANNAVARAM, V., et al. (2015). "Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Limonia acidissima* leaf extract and its antibacterial activity." Bionanoscience **5**(2): 97-103.

AO, C., et al. (2017). "Fabrication and characterization of electrospun cellulose/nano-hydroxyapatite nanofibers for bone tissue engineering." International journal of biological macromolecules **97**: 568-573.

ARAKAWA, C. K. AND C. A. DEFOREST (2017). Polymer design and development. Biology and engineering of stem cell niches, Elsevier: 295-314.

ARICI, A. (2018). Elektrospon metodu ile hazırlanan polimer/MWCNT nanofiberlerin özelliklerine MWCNT çapının ve uzunluğunun etkisinin araştırılması Konya, Necmettin Erbakan Üniversitesi.

ARPAÇAY, D. (2009). "Magnezyum AZ80 alaşımında yüksek basınç burulma işleminin mikroyapı ve mekanik özelliklere etkisi."

ARSLAN, A. (2015). "Poli (Bütülenadipat-Ko-Tereftalat)(Pbat) Bazlı Doku İskeleleri: Sentez, Karakterizasyon ve Osteoblastik Aktivite."

ARSLAN, P. AND A. E. TAYYAR (2016). "Tekstil Alanında Kullanılan Antimikrobiyal Maddeler, Çalışma Mekanizmaları, Uygulamaları ve Antimikrobiyal Etkinlik Değerlendirme Yöntemleri." Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi **4**(3): 935-966.

AYDAR, A. Y. AND N. BAĞDATLIOĞLU (2014). "Yemeklik Yağların Yüzey Gerilimi ve Temas Açılarının Belirlenmesinde Uygulanan Yöntemler." Akademik Gıda **12**(1): 108-114.

AYTAR, M., et al. (2019). "AGAR WELL DİFÜZYON YÖNTEMİNDE STANDARDİZASYON ÇALIŞMASI." Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences **2**(2): 138-145.

BACHIMAM, K. (2017). Production and characterization of hyaluronic acid nanofibers containing TGF- β and baicalein by using electrospinning method. Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

BALAGANGADHARAN, K., et al. (2017). "Chitosan based nanofibers in bone tissue engineering." International journal of biological macromolecules **104**: 1372-1382.

BAR, H., et al. (2009). "Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*." Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects **339**(1-3): 134-139.

BARANI, H. (2014). "Antibacterial continuous nanofibrous hybrid yarn through in situ synthesis of silver nanoparticles: preparation and characterization." Materials Science and Engineering: C **43**: 50-57.

BAŞKAN, H. (2021). Electrospun composite nanofibers with metal/metal oxidenanoparticles / Metal/metal oksit nanopartikül içerikli elektroğrılmış nanolif üretimi. İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi.

BEREZINA, V., et al. (2000). "Chemical composition of genus *Lamium* LSL species." Rastitel'nye Resursy **36**(3): 122-132.

BEYKAYA, M. AND A. ÇAĞLAR (2016). "Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma." Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi **16**(3): 631-641.

BİNGÖL, N. İskelet Sistemi.

BOSE, S., et al. (2012). "Recent advances in bone tissue engineering scaffolds." Trends in biotechnology **30**(10): 546-554.

BURR, D. B. (2019). Bone morphology and organization. Basic and applied bone biology, Elsevier: 3-26.

BÜLBÜL, Y. E. (2019). Kemik doku mühendisliğine yönelik çok katmanlı karbon nanotüp katkıli poli (laktik asit) / polivinilpirolidon biyokompozit nanofiberlerin sentezlenmesi ve karakterizasyonu Ankara, Gazi Üniversitesi.

CAN, N. AND M. S. ERSOY (2014). "NANOLİF YAPILI POLİMERİK DOKU İSKELELERİ." Journal of Textiles & Engineers/Tekstil ve Mühendis **21**(95).

CAO, Y., et al. (2005). "Scaffolds, stem cells, and tissue engineering: a potent combination!" Australian journal of chemistry **58**(10): 691-703.

CAUSA, F., et al. (2007). "A multi-functional scaffold for tissue regeneration: the need to engineer a tissue analogue." Biomaterials **28**(34): 5093-5099.

CELEP, Ş. (2017). Nanoteknoloji Ve Tekstilde Uygulama Alanları. Adana, Çukurova Üniversitesi.

CHAHAL, S., et al. (2013). "Characterization of modified cellulose (MC)/poly (vinyl alcohol) electrospun nanofibers for bone tissue engineering." Procedia Engineering **53**: 683-688.

CHEN, F.-M. AND X. LIU (2016). "Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering." Progress in polymer science **53**: 86-168.

CHEN, M., et al. (2018). "The application of electrospinning used in meniscus tissue engineering." Journal of Biomaterials science, Polymer edition **29**(5): 461-475.

CHEN, P., et al. (2019). "Biomimetic composite scaffold of hydroxyapatite/gelatin-chitosan core-shell nanofibers for bone tissue engineering." Materials Science and Engineering: C **97**: 325-335.

ÇOŞKUN, O. (2020). Anatomi.

ÇABUK, Y. S. "İn vivo kırık doku mühendisliği."

ÇAYDAMLı, Y. (2012). Elektrospinning yöntemi ile biyopolimer esaslı nanoyapıların hazırlanması ve karakterizasyonu. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi.

ÇEPER, B. (2021). Metal katkıli bifazik kalsiyum fosfat/kitosan esaslı doku iskelelerinin üretimi ve karakterizasyonu, BTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.

ÇETİN, G. (2017). Elektroğirme yöntemi ile nanofiberli antimikrobiyal membranlar üretilmesi ve değerlendirilmesi. İstanbul, Marmara Üniversitesi.

ÇİFTÇİ, H., et al. (2021). "Yeşil yöntemle sentezlenen biyoaktif nanopartiküller." Black Sea Journal of Engineering and Science **4**(1): 29-42.

ÇİFTÇİ, H., et al. (2014). "Electrochemical copper (II) sensor based on chitosan covered gold nanoparticles." Journal of Applied Electrochemistry **44**(5): 563-571.

ÇIĞDEMİR, G. (2015). Çinko oksit ile modifiye edilmiş yüzeyler, Anadolu University (Turkey).

DEMİR, M. M., et al. (2002). "Electrospinning of polyurethane fibers." Polymer **43**(11): 3303-3309.

DHANDAYUTHAPANI, B., et al. (2011). "Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review." International journal of polymer science **2011**.

DHIVYA, S., et al. (2015). "Metallic nanomaterials for bone tissue engineering." Journal of Biomedical Nanotechnology **11**(10): 1675-1700.

DOĞRUOK, Y. S. (2019). 3 boyutlu çok katmanlı elektroçekim yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin doku-yapı iskeleti olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması, Bursa Uludağ University (Turkey).

DOMINGOS, M., et al. (2009). "Polycaprolactone scaffolds fabricated via bioextrusion for tissue engineering applications." International journal of biomaterials **2009**.

DURUKAN, M. D. (2012). Mikrodalga-destekli kitosan/hidroksiapatit doku iskelesi üretimi ve İn-vitro kemik doku mühendisliği. Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

DUYGULU, N. E. (2020). "Elektro Eğirme Yöntemiyle Nano Boyutlu TiO₂ Parçacık katkılı PLA Nano Fiber Üretimi." Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi **10**(1): 7-18.

DVIR, T., et al. (2011). "Nanotechnological strategies for engineering complex tissues." Nature nanotechnology **6**(1): 13-22.

EDGAR, L., et al. (2016). "Heterogeneity of scaffold biomaterials in tissue engineering." Materials **9**(5): 332.

EKEN, R. K. (2019). Biyoaktif Cam Ve Hidroksiapatit İçeren Polikaprolakton Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemi İle Hazırlanması Ve Karakterizasyonu. Manisa, Manisa Celal Bayar Üniversitesi.

ERGIN, E., et al. (2018). "Doku mühendisliği ve uygulama alanları." Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi **38**(1): 70-78.

ERISKEN, C., et al. (2008). "Functionally graded electrospun polycaprolactone and β -tricalcium phosphate nanocomposites for tissue engineering applications." Biomaterials **29**(30): 4065-4073.

ERKOÇ, Ş. (2007). "Nanobilim ve nanoteknoloji."

EROĞLU, A. N. (2014). Biyomedikal uygulamalar için nanofiber yapıda çift tabakalı yara örtü malzemesi üretimi ve karakterizasyonu. . Ankara, Ankara Üniversitesi.

FANG, J., et al. (2008). "Applications of electrospun nanofibers." Chinese science bulletin **53**(15): 2265-2286.

FENG, L., et al. (2002). "Super-hydrophobic surface of aligned polyacrylonitrile nanofibers." Angewandte Chemie International Edition **41**(7): 1221-1223.

GAUTAM, S., et al. (2014). "Fabrication and characterization of PCL/gelatin/chitosan ternary nanofibrous composite scaffold for tissue engineering applications." Journal of materials science **49**(3): 1076-1089.

GHARRAVI, A. M., et al. (2012). "Status of tissue engineering and regenerative medicine in Iran and related advanced tools: Bioreactors and scaffolds."

GHASEMI-MOBARAKEH, L., et al. (2013). "Advances in electrospun nanofibers for bone and cartilage regeneration." Journal of Nanoscience and Nanotechnology **13**(7): 4656-4671.

GHORBANI, F., et al. (2019). "Bioinspired polydopamine coating-assisted electrospun polyurethane-graphene oxide nanofibers for bone tissue engineering application." Journal of Applied Polymer Science **136**(24): 47656.

GÜMÜŞDERELİOĞLU, M., et al. (2007). "Doku mühendisliğinde nanoteknoloji." Bilim ve Teknik Dergisi, Yeni Ufuklara Eki, Ekim Sayısı.

GÜNDÜZ, A. (2014). Elektrospinning yöntemiyle biyobozunur PCL polimeri kullanılarak nanolif tekstil yüzeylerinin üretilmesi ve üretim parametrelerinin araştırılması. Kahramanmaraş, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi.

HAKAN, A. AND E. BAHÇECİ (2015). "Nano malzemeler için üretim yöntemleri." Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology **3**(2): 483-499.

HASAN, A., et al. (2018). "Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects." International journal of nanomedicine **13**: 5637.

HASAN, A., et al. (2018). "Nano-biocomposite scaffolds of chitosan, carboxymethyl cellulose and silver nanoparticle modified cellulose nanowhiskers for bone tissue engineering applications." International journal of biological macromolecules **111**: 923-934.

HASIRCI, N., et al. (2010). "Kitosan-jelatin yapıların doku mühendisliği amaçlı 2-d ve 3-d hazırlanması, karakterizasyonu ve biyouyumluluk özelliklerinin incelenmesi."

HOKMABAD, V. R., et al. (2019). "Effect of incorporating *Elaeagnus angustifolia* extract in PCL-PEG-PCL nanofibers for bone tissue engineering." Frontiers of Chemical Science and Engineering **13**(1): 108-119.

HUANG, Z.-M., et al. (2003). "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites." Composites science and technology **63**(15): 2223-2253.

HURİ, P. Y., et al. (2010). "Kemik doku mühendisliği." Arşiv Kaynak Tarama Dergisi **19**(4): 206-219.

HUTMACHER, D. W. (2000). "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage." Biomaterials **21**(24): 2529-2543.

Jİ, Y., et al. (2014). "Electrospinning and characterization of chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite fiber mats." Carbohydrate polymers **101**: 68-74.

JIN, Q. M., et al. (2000). "Effects of geometry of hydroxyapatite as a cell substratum in BMP-induced ectopic bone formation." Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials **51**(3): 491-499.

JONH C, M. (2005). "The handbook of nanotechnology."

KANMAZ, D. (2020). Yeni nesil nanolif esaslı medikal membran üretimi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

KARAHALILOĞLU, Z. (2009). Nanofibriler yapıda biyopolimerik doku iskelelerinin hazırlanması ve karakterizasyonu, Fen Bilimleri Enstitüsü.

KARAHAN, G. (2017). Elektrospınleme yöntemi ile poliakrilik asit/polietilenimin (PAA/PEI) nanoliflerin hazırlanması ve çeşitli termal spektroskopik ve mikroskopik özelliklerinin incelenmesi. . Çorum, Hitit Üniversitesi.

KARNANI, R. L. AND A. CHOWDHARY (2013). "Biosynthesis of silver nanoparticle by eco-friendly method." Indian journal of Nanoscience **1**(1): 25-31.

KEHOE, S., et al. (2012). "FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy." Injury **43**(5): 553-572.

KHAJAVI, R., et al. (2016). "Electrospun biodegradable nanofibers scaffolds for bone tissue engineering." Journal of Applied Polymer Science **133**(3).

KHURANA, C., et al. (2014). "Antibacterial activity of silver: the role of hydrodynamic particle size at nanoscale." Journal of Biomedical Materials Research Part A **102**(10): 3361-3368.

KIREMITLER, N. B. (2016). Elektroçirime Yöntemiyle Nano Gümüş Katkılı Polikaprolakton Hidroksiapatit (PCL/HA-Ag) Nanolif Üretimi Ve Karakterizasyonu. Kayseri, Erciyes Üniversitesi.

KOBOLAK, J., et al. (2016). "Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche." Methods **99**: 62-68.

KONUK, E. (2017). P3HB Ve PBA Polimerleri İkili Karışımlarının Doku İskelesi Olarak Değerlendirilmesi. Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

KOUHI, M., et al. (2019). "Bredigite reinforced electrospun nanofibers for bone tissue engineering." Materials Today: Proceedings **7**: 449-454.

KURTULUŞ, G. AND F. VARDAR (2020). "Kitosanın Özellikleri, Uygulama Alanları, Bitki Sistemlerine Etkileri." International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences **32**(3): 258-269.

LANZA, R., et al. (2020). Principles of tissue engineering, Academic press.

LI, D. AND Y. XIA (2004). "Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?" Advanced materials **16**(14): 1151-1170.

LI, Q., et al. (2016). "Protein turnover during in vitro tissue engineering." Biomaterials **81**: 104-113.

LIU, Y., et al. (2014). "Electrospinning of aniline pentamer-graft-gelatin/PLLA nanofibers for bone tissue engineering." Acta biomaterialia **10**(12): 5074-5080.

LU, P. AND B. DING (2008). "Applications of electrospun fibers." Recent patents on nanotechnology **2**(3): 169-182.

MARKS, S. C. AND P. R. ODGREN (2002). Chapter 1 - Structure and Development of the Skeleton. Principles of Bone Biology (Second Edition). J. P. Bilezikian, L. G. Raisz and G. A. Rodan. San Diego, Academic Press: 3-15.

MATTHEWS, J. A., et al. (2002). "Electrospinning of collagen nanofibers." Biomacromolecules **3**(2): 232-238.

MERT, F., et al. (2013). "Kemik Tedavilerinde Kullanılan Biyobozunur İmplant Malzemeler, 1." Uluslararası Plastik ve Kauçuk Teknolojileri Sempozyumu ve Sergisi, Ankara: 71-77.

MUTLU, G. (2014). Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Etken Madde Yüklü Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

NAGARAJAN, S., et al. (2017). "Design of boron nitride/gelatin electrospun nanofibers for bone tissue engineering." ACS applied materials & interfaces **9**(39): 33695-33706.

NAIR, L. S. AND C. T. LAURENCIN (2008). "Nanofibers and nanoparticles for orthopaedic surgery applications." JBJS **90**(Supplement_1): 128-131.

NARTOP, P. (2019). "YEŞİL SENTEZ YOLU İLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN ELDE EDİLMESİNDE BİTKİSEL EKSTRELERİN İNDİRGEYİCİ AJAN OLARAK KULLANILMASI." Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji **8**(1): 50-60.

NEMATOLLAHI, F. (2015). "Silver nanoparticles green synthesis using aqueous extract of *Salvia limbata* CA Mey." International Journal of Biosciences **6**(2): 30-35.

NESLİHAN, T., et al. (2019). "DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE YAPAY KEMİK İSKELESİ TASARIMI." Selçuk University Journal of Engineering Sciences **18**(3): 209-228.

O'BRIEN, F. J. (2011). "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering." Materials today **14**(3): 88-95.

OKTAV BULUT, M. AND U. ELİBÜYÜK (2017). "Yengeç kitininden kitosan üretimi." Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi **10**(2): 213-219.

ÖZCAN, B. (2019). Nanofiber membranların hazırlanması, karakterizasyonu, antibakteriyel özellikleri ve ayırma işlemlerinde kullanılması. Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi.

ÖZEN, A. (2019). Yeşil, kırmızı ve mavi renkli floresans protein katkılı nanofiberlerin üretimi ve karakterizasyonu, Fen Bilimleri Enstitüsü.

ÖZTEKİN, M. (2017). Kitosan Nanopartiküllerine Ve Kitosan-Halloysit Nanokompozitlerine Metronidazole Yüklenmesi, Salınımı Ve Adsorpsiyonunun İncelenmesi. Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

ÖZTEKİN, M. (2017). "Kitosan Nanopartiküllerine Ve Kitosan-Halloysit Nanokompozitlerine Metronidazole Yüklenmesi, Salınımı Ve Adsorpsiyonunun İncelenmesi."

PERİHAN, O. (2016). "Osseointegrasyon ve kemik rejenerasyonunda kemik doku mühendisliğinin yeri." Atatürk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi **26**(15): 87-95.

QI, Z.-M., et al. (2004). "Characterization of gold nanoparticles synthesized using sucrose by seeding formation in the solid phase and seeding growth in aqueous solution." The Journal of Physical Chemistry B **108**(22): 7006-7011.

RAJA, R. R. (2012). "Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview." Research journal of medicinal plant **6**(3): 203-213.

RAMAKRISHNA, S. (2005). An introduction to electrospinning and nanofibers, World scientific.

SAALLAH, S. AND I. W. LENGGORO (2018). "Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications." KONA Powder and Particle Journal **35**: 89-111.

SADAT-SHOJAI, M., et al. (2013). "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures." Acta biomaterialia **9**(8): 7591-7621.

SALEHI, B., et al. (2019). "Lamium plants—A comprehensive review on health benefits and biological activities." Molecules **24**(10): 1913.

SALEHI, B., et al. (2018). "Plants of genus Mentha: From farm to food factory." Plants **7**(3): 70.

SASMAZEL, H. T. (2011). "Novel hybrid scaffolds for the cultivation of osteoblast cells." International journal of biological macromolecules **49**(4): 838-846.

SAYGILI, T. (2021). Gümüş nanopartikül içeren polimer esaslı antibakteriyel nanoliflerin elektrospin yöntemiyle üretimi Konya, Konya Teknik Üniversitesi.

SELDA, Ö., et al. (2015). "Nanokil Katkılı PAN Nanolif Sentezi ve Karakterizasyonu." Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi **10**(1): 107-117.

SHEDBALKAR, U., et al. (2014). "Microbial synthesis of gold nanoparticles: current status and future prospects." Advances in colloid and interface science **209**: 40-48.

SHIPMAN, P., et al. (2013). Harvard University Press.

SHRESTHA, B. K., et al. (2017). "Bio-inspired hybrid scaffold of zinc oxide-functionalized multi-wall carbon nanotubes reinforced polyurethane nanofibers for bone tissue engineering." Materials & Design **133**: 69-81.

SI, Y., et al. (2014). Electrospun nanofibers: solving global issues. Electrospun nanofibers for energy and environmental applications, Springer: 3-38.

SINHA, S. N., et al. (2015). "Green synthesis of silver nanoparticles using fresh water green alga *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittrock and evaluation of their antibacterial activity." Applied Nanoscience **5**(6): 703-709.

SOFI, H. S., et al. (2021). "Regenerated cellulose nanofibers from cellulose acetate: Incorporating hydroxyapatite (HAp) and silver (Ag) nanoparticles (NPs), as a scaffold for tissue engineering applications." Materials Science and Engineering: C **118**: 111547.

SONG, W., et al. (2017). "Corona discharge: a novel approach to fabricate three-dimensional electrospun nanofibers for bone tissue engineering." ACS Biomaterials Science & Engineering **3**(6): 1146-1153.

SOUSA, I., et al. (2013). "PCL scaffolds with collagen bioactivator for applications in tissue engineering." Procedia Engineering **59**: 279-284.

STEELE, D. G. AND C. A. BRAMBLETT (1988). The anatomy and biology of the human skeleton, Texas A&M University Press.

SUEPUEREN, G., et al. (2007). "Nano fibres (Part 2)." Textile and Apparel **17**(2): 83-89.

SUNAR, B. S. AND C. HASÇIÇEK (2017). "Elektroeğrilmiş nanoliflerin ilaç taşıyıcı sistem olarak ve doku mühendisliğinde kullanımı." Marmara Pharmaceutical Journal **21**(3): 425-435.

SÜSLÜ, A. (2009). Elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber ve nanotüp üretimi Konya, Selçuk Üniversitesi.

ŞENOCAK, S. (2021). Nanoliflerden eğrilmiş ipliklerin örme performansı ve kumaş özelliklerinin araştırılması, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi.

ŞENOL, F., et al. (2005). "Nanolifler ve uygulama alanları." Tekstil Maraton **15**(78): 20-27.

ŞENTÜRK, A., et al. (2012). "Kalkon İçerikli Metakrilat Polimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu." Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi **14**(2): 81-92.

TANRIKULU, S. AND E. GÖNEN (2017). "Kırık iyileşmesi." TOTBİD Dergisi **16**: 455-475.

TEO, W. E. AND S. RAMAKRISHNA (2006). "A review on electrospinning design and nanofibre assemblies." Nanotechnology **17**(14): R89.

TOP, N., et al. (2020). "Doku Mühendisliğinde Bilgisayar Destekli Yapay Kemik İskelesi Tasarımı."

TOPALOĞLU, U., et al. (2017). "Kemik doku ve kemikleşme çeşitleri." Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi **10**(1): 62-71.

TOPUZ, F., et al. (2019). "Electrospinning of uniform nanofibers of Polymers of Intrinsic Microporosity (PIM-1): The influence of solution conductivity and relative humidity." Polymer **178**: 121610.

TOWNSEND, J. M., et al. (2020). "Biodegradable electrospun patch containing cell adhesion or antimicrobial compounds for trachea repair in vivo." Biomedical Materials **15**(2): 025003.

TOYKAN, D. (2003). Biyomedikal Uygulamalar İçin Titanyum Takviyeli Hidroksiapatit Kompozitlerinin Geliştirilmesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

TUNÇAY, Ö. E. (2013). Biyomimetik yöntemle bor katkılı doku iskelelerinin geliştirilmesi ve kemik doku mühendisliğindeki etkinliklerinin araştırılması. . Ankara, Hacettepe Üniversitesi.

TURSUCULAR, O. F., et al. (2018). "Preperation and antibacterial investigation of polycaprolactone/chitosan nano/micro fibers by using different solvent systems." Textile and Apparel **28**(3): 221-228.

TÜRKOĞLU ŞAŞMAZEL, H. (2010). "Hibrit kitosan/PCL doku iskelelerinin elektro eğirme tekniği ile üretimi ve hücre kültürü uygulamaları."

TÜYLEK, Z. (2019). "Nanotıp alanında kullanılan sistemler." Arşiv Kaynak Tarama Dergisi **28**(2): 119-129.

ÜLKER, N. (2013). Işık-Etkili Kemik Doku Mühendisliği. Konya, Necmettin Erbakan Üniversitesi.

ÜSTÜNDAĞ, G. C. AND E. KARACA (2009). "ELEKTRO ÇEKİM YÖNTEMİ İLE ALGİNAT İÇEREN NANOLİFLİ YÜZEY ÜRETİMİ VE ÇAPRAZ BAĞLAMA İŞLEMİ İLE SUYA DAYANIKLI HALE GETİRİLMESİ." Tekstil ve Mühendis **16**(76): 1-10.

ÜSTÜNDAĞ, G. Ç. (2009). Elektrosinning yöntemi ile biyomedikal kullanıma yönelik nanolif yüzey üretimi ve uygulaması, Bursa Uludag University (Turkey).

VANG, P. (2006). "Advantages and disadvantages between allograft versus autograft in anterior cruciate ligament replacement."

WIKIPEDIA, T. F. E. (2020). "Nanofiber."

XU, Z.-L., et al. (2016). "Enhanced antibacterial activity and osteoinductivity of Ag-loaded strontium hydroxyapatite/chitosan porous scaffolds for bone tissue engineering." Journal of Materials Chemistry B **4**(48): 7919-7928.

XUE, Y., et al. (2019). "Preparation and biological characterization of the mixture of poly (lactic-co-glycolic acid)/chitosan/Ag nanoparticles for periodontal tissue engineering." International journal of nanomedicine **14**: 483.

YALÇIN, F. N. AND K. DUYGU (2006). "Ethnobotany, pharmacology and phytochemistry of the genus Lamium (Lamiaceae)." FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences **1**(31): 43-52.

YAZICI, E. (2009). Ultrasonik sprey piroliz tekniğiyle küresel gümüş nanopartiküllerinin üretimi, İstanbul Teknik Üniversitesi.

YIKAR, E. (2013). Elektrosinning yöntemi ile jelatin/kitosan nanofiberlerin üretimi, biyomimetik hidroksiapatit ile kaplanması ve karakterizasyonu. Mersin, Mersin Üniversitesi.

YILMAZ, Ç. (2017). Yapay zekâ tabanlı algoritmaları kullanarak elektro-eğirme yöntemiyle üretilen doku iskelesinin ortalama lif çapı değerinin hesaplanması. Mersin, Mersin Üniversitesi.

YILMAZ, H. D. (2020). Kemik doku mühendisliği için silisyum ile modifiye edilmiş ayva çekirdeği müsülajının sentezi ve karakterizasyonu. Çanakkale, 18 Mart Üniversitesi.

ZHAO, Y., et al. (2005). "Study on correlation of morphology of electrospun products of polyacrylamide with ultrahigh molecular weight." Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics **43**(16): 2190-2195.

ZHOU, Y., et al. (2019). "Electrospinning 3D nanofiber structure of polycaprolactone incorporated with silver nanoparticles." JOM **71**(3): 956-962.

ZONG, X., et al. (2002). "Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes." Polymer **43**(16): 4403-4412.