



**ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE HİDROKSİAPETİT KATKILI  
KİTOSAN-POLİETİLENOKSİT NANOFİBERLERİN ÜRETİMİ**

**Özlem Başak ÖZKAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OCAK 2019**

Özlem Başak ÖZKAN tarafından hazırlanan “ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE HİDROKSİAPETİT KATKILI KİTOSAN-POLİETİLENOKSİT NANOFİBERLERİN ÜRETİMİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Hakan ATEŞ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Başkan:** Prof. Dr. Necdet SAĞLAM

Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Prof. Dr. Adem KURT

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Dr. Öğr. Üy. Bilge İMER

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı, ODTÜ

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

**Üye:** Dr. Öğr. Üy. Ramazan KARSLIOĞLU

Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 07/01/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Özlem Başak ÖZKAN

07/01/2019

# ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE HİDROKSİAPETİT KATKILI KİTOSAN- POLİETİLENOKSİT NANOFİBERLERİN ÜRETİMİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem Başak ÖZKAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2019

## ÖZET

Nano boyutta ortaya çıkan yüksek yüzey alanı/hacim oranı, yüksek gözeneklilik gibi üstün özellikleri sayesinde biyouyumlu ve biyobozunur nanofiberler, başta biyomedikal uygulamalar olmak üzere birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kemik ekstraselüler matrisine benzer özellikte yapay bir doku iskelesi elde etmek amacıyla kitosan (CH), polietilen oksit (PEO) ve nanohidroksiapatit (nHAp) kullanılmıştır. Sırasıyla 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 ve 90:10, oranlarında CH:PEO çözeltileri hazırlanmıştır ve daha sonra bu çözeltilere 100 mg nanohidroksiapatit eklenerek CH:PEO/nHAp çözeltileri hazırlanmıştır. Ayrıca nanohidroksiapatitin fiber yapısına etkisinin araştırılması için en uygun fiber morfolojisi gösteren 60:40 numunesine 200 mg nHAp eklenmiştir. Hazırlanan çözeltilerden elektroegirme yöntemi ile nanofiberler elde edilmiştir. Elde edilen nanofiberler SEM, FTIR ve XRD ile incelenmiştir. SEM görüntülerine göre en düzgün, sürekli ve boncuksuz fiber morfolojisi 60:40 numunesine aittir. 60:40 numunesinde aynı zamanda nHAp taneciklerinin yapıya iyi bir şekilde entegre olduğu görülmektedir. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numuneleri için ortalama çap değerleri sırasıyla  $461 \pm 17$  nm,  $195 \pm 11$  nm,  $217 \pm 11$  nm olarak hesaplanmıştır. Nanofiber spektrumlarında kitosana özgü amit bantlarının dışında geniş hidroksil ve amin grubu bantları, hidroksiapatite ait fosfat grubu, PEO'nun eter grubuna katkıları ve etilen grubuna ait gerilme bantları net bir şekilde görülmektedir. XRD sonuçları üretilen nanofiberler amorf özellik sergilediğini göstermektedir. Aynı zamanda yapıda % 1 ve % 2 oranında bulunan nanohidroksiapatit taneciklerinin en yüksek şiddetli pikleri  $2\theta=31,7^\circ$  ve  $2\theta=32,1^\circ$  de nanofiberlerin XRD grafiklerinde ayırt edilebilmektedir. Bu pikler hidroksiapatit taneciklerinin elektroegirme süreci sonrasında kristal fazını koruduğunu göstermektedir.

Bilim Kodu : 91501  
Anahtar Kelimeler : Nanofiber, elektroegirme, doku mühendisliği  
Sayfa Adedi : 90  
Danışman : Prof. Dr. Hakan ATEŞ

PRODUCTION OF HYDROXYAPATITE ADDED KITOSAN-POLYETHYLENE  
OXIDE NANOFIBERS VIA ELECTROSPINNING METHOD

(M. Sc. Thesis)

Özlem Başak ÖZKAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2019

ABSTRACT

Biocompatible and biodegradable nanofibers are used in many industrial fields, especially biomedical applications, due to their superior properties such as high surface area/volume ratio and high porosity. In this study, chitosan (CH), polyethylene oxide (PEO) and nano-hydroxyapatite (nHAp) were used to obtain an artificial scaffold similar to the bone extracellular matrix. CH:PEO solutions were prepared in a ratios of 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, and 90:10, respectively. Then, 100 mg of nano-hydroxyapatite was added to these solutions to form CH: PEO/nHAp solutions. Besides, 200 mg of nHAp was added to the 60:40 sample which showed the most appropriate fiber morphology to investigate the effect of nano-hydroxyapatite on the fiber structure. Nanofibers were obtained from the prepared solutions by electrospinning. The nanofibers produced were examined by SEM, FTIR, and XRD. According to SEM results, the smoothest, continuous and non-bead fiber morphology belongs to the 60:40 sample. In this sample, it seems that nHAp particles successfully integrated to structure of polymeric nanofiber. The average nanofiber diameters for the (CH:PEO)50:50/100 mg, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp samples were determined  $461\pm 17$  nm,  $195\pm 11$  nm,  $217\pm 11$  nm, respectively. Apart from amide bands peculiar to the chitosan, the wide hydroxyl and amine stretching regions, phosphate band that is characteristic of hydroxyapatite, vibration bands of ethylene and contributions of PEO to the region stretching of the ether group are clearly seen in the FTIR spectrum. The XRD analysis shows that the nanofibers are in the amorphous structure. In the XRD graph of nanofibers, at  $2\Theta=31,7^\circ$  and  $2\Theta=32,1^\circ$  were sharp peaks and these peaks represented nano-hydroxyapatite which included at the ratio of %1 and %2 in nanofiber structure. XRD results indicated that the hydroxyapatite particles preserved its crystal structure after the electrospinning process.

Science Code : 91501

Key Words : Nanofiber, electrospinning, tissue engineering

Page Number : 90

Supervisor : Prof. Dr. Hakan ATEŞ

## TEŞEKKÜR

Bütün yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini ve inancını benden esirgemeyen çok kıymetli hocam Prof. Dr. Hakan ATEŞ'e

Tez konusunun belirlenmesi ve deneylerin planlanması aşamalarında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocam Prof. Dr. Necdet SAĞLAM'a ve tez çalışmalarımda bana her zaman yardımcı olan Ezgi EMUL ve Kamel BACHIMAM'a,

Tez çalışmalarımın üretim aşamasında bana Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'ndeki laboratuvarını açan sayın hocam Prof. Dr. Nursel DİLSİZ ve sonsuz katkılarından dolayı Emre BÜLBÜL'e, Gazi Üniversitesi Fotonik Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nı bana açan Prof. Dr. Süleyman ÖZÇELİK'e ve karakterizasyon aşamasında yol gösteren Ümran Ceren BAŞKÖSE'ye,

07/2017-09 kodlu Biyomedikal Uygulamalar İçin Elektrospin Yöntemi İle Polimerik Nanofiber Üretimi Ve Karakterizasyonu Projesi ile tez çalışmalarını yürütebilmek için maddi kaynak sağlayan Gazi Üniversitesi BAP birimine,

Bu süreçte sonsuz sevgisi ve desteğiyle her konuda yanımda olan ve bana inancını asla kaybetmeyen Halil İbrahim EFKERE'ye,

Maddi ve manevi her türlü desteklerini benden esirgemeyen, koşulsuz her zaman yanımda olan kıymetli anneme, babama ve canım kardeşim İrem ÖZKAN'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	x
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. NANOFİBER YAPISI VE ÖZELLİKLERİ .....	5
3. NANOFİBER ÜRETİM YÖNTEMLERİ.....	7
3.1. Çekme Yöntemi.....	7
3.2. Kendiliğinden Düzenlenme Yöntemi.....	8
3.3. Kalıp Sentezi Yöntemi .....	8
3.4. Faz Ayrımı Yöntemi.....	9
4. ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİ .....	11
4.1. Elektroegirme Yönteminin Tarihçesi ve Genel Bakış.....	11
4.2. Elektroegirme Yönteminin Teorisi.....	13
4.3. Elektroegirme Yöntemini Etkileyen Parametreler .....	15
4.3.1. İşlem parametreleri.....	16
4.3.2. Çözelti parametreleri .....	18
4.3.3. Ortam parametreleri.....	22
5. POTANSİYEL NANOFİBER UYGULAMALARI.....	23
6. DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMI.....	25

	<b>Sayfa</b>
6.1. Nanofiberlerin Doku İskelesi Uygulamaları .....	26
6.2. Kemik Doku Mühendisliği.....	27
6.3. Kemiğin Yapısı .....	28
<b>7. NANOFİBER BİLEŞENLERİ .....</b>	<b>31</b>
7.1. Kitosan .....	31
7.2. Nanohidroksiapatit .....	32
7.3. Polietilen Oksit.....	33
<b>8. LİTERATÜR TARAMASI .....</b>	<b>35</b>
<b>9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>41</b>
9.1. Malzeme ve Metot.....	41
9.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	41
9.3. Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması.....	42
9.4. Nanofiberlerin Elektroegirme Yöntemi ile Üretilmesi.....	43
9.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi .....	45
9.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	46
9.7. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Analizi .....	46
<b>10. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>47</b>
10.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları .....	47
10.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Sonuçları .....	57
10.3. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Sonuçları.....	61
<b>11. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>67</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>71</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>83</b>
EK-1. Deneme Serisi (1) numuneleri ile elde edilen veriler.....	84
EK-2. Deneme Serisi (2) numuneleri ile elde edilen veriler.....	88
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>90</b>

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.1. Elektroğirme yöntemini etkileyen parametreler.....	16
Çizelge 4.2. Çözücülerin dielektrik sabitleri .....	21
Çizelge 6.1. Kemik doku iskelesinden beklenen özellikler .....	28
Çizelge 9.1. Polimer çözeltisi hazırlamada kullanılan kimyasal malzemelerin listesi..	41
Çizelge 9.2. Elektroğirme işlemi için hazırlanan Kitosan(CH):PEO/nHAp çözeltileri.....	43
Çizelge 9.3. Çözeltilerin elektroğirme reçeteleri.....	44
Çizelge 10.1. Nanofiberlerin çap ortalamaları ve standart sapma değerleri.....	47

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İnsan saçı, polen ve nanofiber matının 1000X büyütmede alınmış SEM görüntüsü .....	5
Şekil 2.2. Kalıp sentezi yönteminin şematik gösterimi .....	9
Şekil 3.1. Çekme yönteminin şematik gösterimi .....	7
Şekil 3.2. Faz ayrımı yönteminin şematik gösterimi .....	10
Şekil 4.1. Elektroçirime yöntemi ile nanofiber üretimi .....	13
Şekil 4.2. Whipping kararsızlığı .....	15
Şekil 4.3. Çözelti besleme hızının artması ile çeşitli polimer jetlerinin oluşması .....	17
Şekil 4.4. Artan viskoziteye bağlı olarak değişen nanofiber morfolojisi.....	18
Şekil 5.1. Elektroçirime yöntemi ile üretilen nanofiberlerin potansiyel uygulama alanları.....	24
Şekil 6.1. Doku iskelesi yapısının hücre yapışması ve çoğalmasına etkisi .....	26
Şekil 6.2. Kemik ve hücresel dağılımın şematik gösterimi .....	29
Şekil 7.1. Kitosanın kimyasal yapısı .....	31
Şekil 7.2. PEO kimyasal yapısı .....	33
Şekil 10.1. (CH:PEO) 50:50/100 mg nHAp numunesi çap dağılımı.....	55
Şekil 10.2. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesi çap dağılımı.....	56
Şekil 10.3. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesi çap dağılımı.....	56
Şekil 10.4. Kitosan FTIR spektrumu .....	57
Şekil 10.5. Polietilen oksit (PEO) FTIR spektrumu .....	58
Şekil 10.6. Nanohidroksiapatit (nHAp) FTIR spektrumu.....	59
Şekil 10.7. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp ve (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunelerinin FTIR spektrumu.....	60
Şekil 10.8. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp, (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunelerinin FTIR spektrumu.....	61
Şekil 10.9. Kitosan XRD grafiği.....	62

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 10.10. PEO XRD grafiği.....	62
Şekil 10.11. nHAp XRD grafiği .....	63
Şekil 10.12. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp, CH:PEO)60:40/100 mg nHAp ve (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunelerinin XRD grafiği.....	64
Şekil 10.13. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp, CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunelerinin XRD grafiği.....	65



## RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 4.1. Taylor konisi oluşumunun aşamalı gösterimi .....	14
Resim 4.2. Konsantrasyon artışı ile nanofiber yapısında meydana gelen değişimlerin SEM görüntüleri .....	19
Resim 4.3. Çeşitli molekül ağırlıklarına göre nanofiber yapısındaki değişim .....	20
Resim 7.1. Hidroksiapatit nanopartiküllerin TEM görüntüsü .....	32
Resim 9.1. Elektroegirme için hazırlanan CH:PEO/nHAp çözeltileri .....	43
Resim 9.2. Tez çalışmasında kullanılan elektroegirme cihazı .....	44
Resim 9.3. Nanofiber matı oluşturulabilen CH:PEO/nHAp Numuneleri .....	45
Resim 9.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Gazi Üniversitesi).....	45
Resim 9.5. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) (Gazi Üniversitesi)	46
Resim 9.6. X-ışınları difraktometresi (XRD) (Gazi Üniversitesi) .....	46
Resim 10.1. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri .....	48
Resim 10.2. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri .....	50
Resim 10.3. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp nanofiberlerinde hidroksiapatit entegrasyonu .....	51
Resim 10.4. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri .....	52
Resim 10.5. (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüsü.....	53
Resim 10.6. CH:PEO)80:20/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri .....	54
Resim 10.7. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüsü.....	55

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

### Simgeler

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrad derece
$\sigma$	Standart sapma
$\Theta$	Teta difraksiyon açısı

### Kısaltmalar

Kısaltmalar	Açıklamalar
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
CH	Kitosan
DMF	Dimetilformamid
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
ECM	Ekstraselüler matriks
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GAGs	Glikozaminoglikanlar
LCD	Likit kristal ekran
NaOH	Sodyum hidroksit
nHAp	Nanohidroksiapatit
PAN	Poliakrilonitril
PCL	Polikaprolakton
PEO	Polietilen oksit
PLLA	Poli-L-laktik asit
PVA	Polivinilalkol
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
STM	Taramalı tünelleme mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
THF	Tetrahidrofur
UHMWPEO	Ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen oksit
WAXD	Geniş açılı X-ışını kırınımı
XRD	X-ışını Difraksiyonu

## 1. GİRİŞ

Yaşadığımız çağda tıp, elektronik, bilişim, çevre ve enerji gibi birçok uygulamada küresel çapta sürekli bir yenilenme, değişim ve dönüşüm görülmektedir. İnsanlığın asırlardır başarmaya çalıştığı daha konforlu yaşam şartlarına ulaşma çabası hayatımızın her alanında faydalanabileceğimiz şekilde ileri teknolojilerin gelişimine sebep olmuştur. Teknolojideki hızlı gelişime paralel olarak; bu gelişimi karşılayacak özellikte yeni nesil malzeme ihtiyacı da üstel olarak artmaktadır.

Nanoteknoloji ise bu noktada tıpkı sanayi devrimi gibi büyük bir değişime yol açacak anahtar olarak düşünülmektedir [1]. Kelimenin doğasından da anlaşılacağı üzere nanoteknoloji atomik boyutta işlem yapabilmeyi mümkün kılan multidisipliner bir bilim dalı olarak tanımlanabilir. Ünlü fizikçi Richard Feynman 1959' da yaptığı konuşmada nanoteknolojinin ilk tohumlarını zihinlere atmıştır. Norio Taniguchi ise nanoteknoloji terimini ilk kullanan kişi olmuştur. Bu terim şuan dünya çapında kabul görmüş ve kullanılmaktadır [2]. Taramalı tünelleme mikroskobu (STM) ve ardından atomik kuvvet mikroskobu (AFM) cihazlarının geliştirilmesi nanoteknolojideki ilerlemeye büyük katkı sağlamıştır [3].

Günümüzde nanoteknoloji terimi nanomalzeme, nanofabrikasyon, nanokarakterizasyon ve nanomimetik gibi birçok kavramı içerisinde barındıran çok genel bir anlama sahiptir. Nanofiberler ise nanomalzeme ailesinin en göze çarpan üyelerinden biri olmakla birlikte çok geniş bir uygulama yelpazesi sunmaktadır. Nanofiberler; katalizör olarak kimya alanında, savunma sanayinde sensör ve koruyucu kıyafet uygulamalarında, yakıt hücresi ve enerji depolama hücresi elemanı olarak enerji sektöründe, filtrasyon uygulamalarında ve en büyük paydaya sahip olan biyomedikal alanda ilaç salımı, yara örtücü malzemesi olarak ve doku mühendisliği uygulamalarında üstün özellikleri sayesinde tercih edilen nanomalzemelerdir [4].

Özellikle doku mühendisliğindeki gereklilikleri karşılayabilmek için doğal ve yapay polimerlerden elde edilen nanofiberlerin; biyouyumluluk, biyobozunurluk, uygun parçalanma hızı, uygun yapısal özellikler, doku ile uyumlu mekanik özellikler ve sterilize edilebilirlik gibi özellikleri olmalıdır [5].

Nanofiber üretimi için birçok teknik geliştirilmiş olsa da elektroğirme tekniği sağladığı birçok avantajla öne çıkmıştır. Elektroğirme tekniği ile morfoloji ve fonksiyon kontrol edilerek hem sentetik hem de doğal polimerlerden kullanım yerine göre geniş bir aralıkta çapa sahip olan nanofiberler üretilebilir [6]. Yöntemin diğer göze çarpan avantajları ise ucuz ve kolay uygulanabilir olması çok farklı sistemsel modifikasyona imkân verebiliyor olması, nispeten yüksek üretim hızına sahip olması, yüksek yüzey alanı ve yüksek gözeneklilik sağlaması, neredeyse bütün çözünebilen polimerlerin kullanılması, 3-boyutlu karmaşık yüzeylerin fiberle kaplanabiliyor oluşu ve yüksek uzunluk/çap oranına sahip fiber elde edilmesi şeklinde sıralanabilir [7].

Elektroğirme tekniğinde polimer çözeltisinin beslendiği bir şırınga ve besleme hızının kontrol edildiği pompa sistemi mevcuttur. Bu sistemin karışışında değıştirilebilen mesafelere sahip olan nanofiberlerin elde edileceği toplayıcı plaka bulunur. Yardımcı elektrotlar vasıtasıyla iğne ucu ile toplayıcı plaka arasında bir elektrik alan oluşturulur ve uygulanan elektrik alan sayesinde iğne ucunda askıda kalan polimer çözelti damlası “Taylor Konisi” olarak adlandırılan şekle girer. Tercih edilen polimer türüne ve işlem parametrelerine göre farklılaşabilen belirli voltaj değeri aşıldığında elektriksel kuvvetler baskın hale gelerek, polimer jeti koninin ucundan toplayıcı plakaya doğru yol alır. Çözücü buharlaşması ve bükülme kararsızlıkları gibi etkiler yardımıyla jet katılarak nanofiberler elde edilmektedir.

Elektroğirme yöntemi ile elde edilen nanofibröz yapılar kemik yenilenmesi çalışmalarını da kapsayan doku mühendisliği alanında büyük ilgi ve merak uyandırmaktadır. Doğal ekstraselüler matrikse benzer yapılar üretmek ve dolayısıyla kemiğin hasar gören bölgesinde yitirmiş olduğu fonksiyonlarını yenilemek amacıyla birçok yeni malzeme ve teknik araç geliştirilmektedir. Biyobozunur polimerler, biyoaktif inorganik parçacıklar ve bunların çeşitli kombinasyonları ile oluşturulan kompozit/hibrid nanofiberler osteoblast ve kök hücreler için gerekli mekanik özellik ve biyoaktiviteye sahip olmaları ile doku mühendisliği açısından umut vericidir.

Doku mühendisliği yaklaşımı nanoteknoloji ve rejeneratif tıpta önemli bir yere sahiptir. Doku kaybından muzdarip olan hastaların yaşam kalitelerinin olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu yaklaşım ile araştırılan ve geliştirilen yeni biyomalzeme teknolojilerine katkıda bulunmak amaçlanmıştır. Tez çalışmasında bu hedefe uygun olarak elektroğirme tekniği

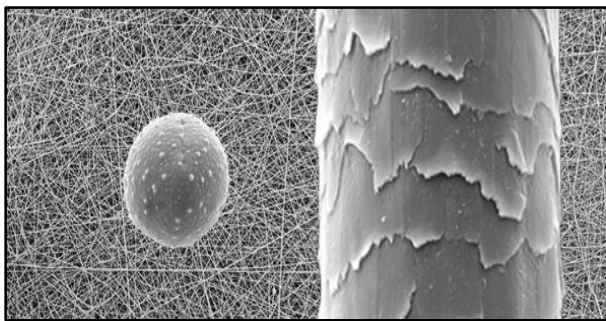
ile biyouyumluluğu daha yüksek ve biyobozunur, kemik dokuda meydana gelebilecek hasarın onarımı için kullanılabilir özellikte doku iskelesi oluşturulması amaçlanmıştır. Elektroğirme üretim yöntemi kullanılarak çeşitli kompozisyonlarda polietilen oksit (PEO) ve kitosan polimer karışımlarına nanohidroksiapatit katkılayarak nanofiberlerin sentezlenmesi, özelliklerinin incelenmesi ve böylece yeni nesil nanomalzemelerin geliştirilmesi söz konusudur. Üretimi gerçekleştirilen nanofiberlerin yapısal, morfolojik ve kimyasal özellikleri analiz edilecektir. Yapılan deneysel çalışmalar ile doğada oldukça yaygın bulunan polisakkaritlerden biri olan kitosan biyopolimeri ve nanohidroksiapatit kullanılarak doğal ekstraselüler matriks (ECM) yapısını taklit edebilecek yapısal özelliklere sahip sentetik doku iskeleleri elde edebilmek adına araştırmalar yapılacaktır. Elektroğirme tekniği ile üretim parametreleri optimize edilecek, nanofiber özellikleri iyileştirilecek ve yeni teknolojilerin yolunun açılmasına katkıda bulunacaktır.



## 2. NANOFİBER YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

21. yüzyılda sık sık duyduğumuz “nano” kelimesinin geçmişe dayanan ilginç bir hikâyesi vardır. SI birim sistemindeki birçok önek gibi İngilizce dışında bir dilden gelmektedir. Yunanca’ da cüce anlamına gelen bu kelime herhangi bir referans biriminin milyarda birine karşılık gelmekte ve günümüzde nanometre, nanosaniye, nanofarad, nanogram gibi fiziksel nicelikleri teknik olarak ifade etmek adına kullanılmaktadır. Tıpta, savunma sanayiinde, tekstilde ve endüstriyel diğer sektörlerde karşımıza çıkan “nanoteknoloji” terimi ise en genel anlamda en az bir boyutunun nano ölçekte olduğu yapılar, malzemeler veya aygıtlar tasarlamak ve üretmek anlamına gelmektedir. Bu üretim teknolojisinde tek tek atomların veya moleküllerin kontrolü ve konumlandırılması söz konusudur [8]. Nobel ödüllü fizikçi Richard Feynman’ın 29 Aralık 1959’ da Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü’nde verdiği “Aşağıda Daha Çok Yer Var” başlıklı ünlü konuşması nanoteknolojinin başlangıcı kabul edilmektedir. Feynman bu konuşmasında; nesnelerin boyutunun fizik yasalarına uygun olarak pratik bir şekilde küçültülebileceğine değinmiş ve yüzlerce ciltlik kitaplar yerine daha küçük ölçekte bilgi depolama alanları, bilgisayarların minyatürleştirilmesi ve gelişmiş elektron mikroskopları gibi konularda çağın çok ötesinde yorumlarda bulunmuştur [9].

Nanofiberler, esneklik ve 1000:1'den büyük boy/çap oranı ile karakterize edilirler. Dünya çapında genel geçer bir tanım bulunmamakla birlikte; Amerikan Ulusal Bilim Vakfı nanomalzemeleri en az bir boyutu 100 nm’ ye eşit ya da daha küçük malzemeler olarak tanımlamaktadır [10]. Bu tanıma kabul ederek nanofiberi tanımlayan bilim insanları olduğu gibi; bazı araştırmacılar da 1000 nm’ nin altındaki çaplara sahip olan fiberleri nanofiber olarak kabul etmişlerdir [11]. Nanofiberlerin boyutları açısından bir perspektif sunmak adına Resim 2.1’ de nanofiber matı, çiçek poleni ve insan saçı karşılaştırması yapılmıştır.



Şekil 2.1. İnsan saçı, polen ve nanofiber matının 1000X büyütmede alınmış SEM görüntüsü [12]

Polimerik fiberlerin boyutları nanometre mertebesine indiğinde çeşitli uygulamalar için çok farklı ve faydalı özellikler ortaya çıkmaktadır. Nano boyutta gelişen bu üstün özellikler sayesinde nanofiberler birçok alanda fonksiyonel yeni nesil malzemeler olarak uygulama bulmaktadır. Farklı gereksinimleri yerine getirmek için şimdiye kadar 200' ün üzerinde polimerle nanofiber tasarım ve üretim çalışmaları yapılmıştır [13].

Nanofiberler yüzey alanı değerleri bir mikrofiberin yüzey alanı/hacim oranından 103 kat fazla olabilmektedir. Bu yüksek yüzey alanı sayesinde fonksiyonel grupların, iyonların veya parçacıkların kolayca tutulması sağlanmakta ve ayrıca sıvı emilimi artmaktadır. Aynı zamanda mekanik ve elektronik özelliklere de katkı sağlanmaktadır. Yüzey alanı/hacim oranının büyük olmasının kompozit uygulamaları için fiber matris ara yüzeyindeki bağlanma gücünü arttırdığı ve özellikle doku mühendisliği alanında hücrelerin yapay doku iskelesine tutunması, çoğalması ve farklılaşması için uygun ortamı oluşturduğu görülmüştür [14]. Fiber çapının küçük olması yeteri kadar mekanik mukavemet sağlamak ve doku iskelelerinde biyoaktifliği geliştirmektedir [15].

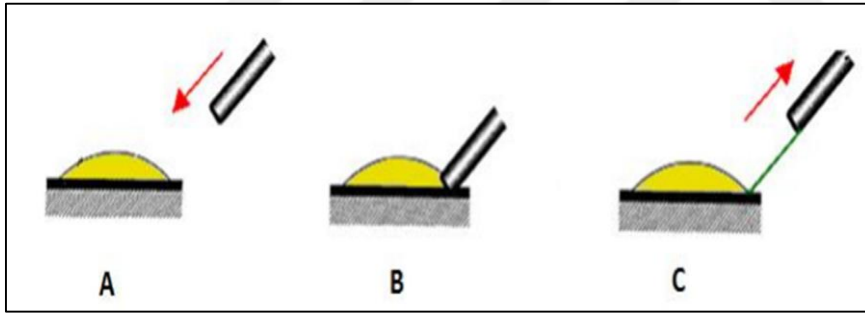
Doku mühendisliği uygulamalarında hücrelerin doku iskelesine tutunmasını sağlamak amacıyla nanofiberlerin küçük boyutta ve yüksek gözenekliliğe sahip olması ve bu küçük gözeneklerin birbiriyle bağlantılı olması durumlarından faydalanılmaktadır [16-17]. Nanofiberler gözenekli yapıları sayesinde nefes alabilirlik özelliği sağlamak ve su buharı ve oksijen geçirgenliğini artırmaktadır. Yapıya kazandırdıkları bu fonksiyonel özellikler ile filtrasyon alanında oldukça geniş bir uygulamaya sahip olmuşlardır [18]. Yüzey alanı ve yüksek gözeneklilik avantajlarına ek olarak; yüksek moleküler oryantasyonlarda, oldukça hafif olarak üretilebilen polimerik nanofiberler sensör teknolojisinin gelişiminde de aday malzemeler olarak görülmektedir [19].

### 3. NANOFİBER ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Literatürde laboratuvar ya da endüstriyel ölçekte kullanılan birçok nanofiber üretim yöntemi bulunmaktadır. Biyomedikal uygulamalar açısından bakıldığında ise öne çıkanlar; çekme yöntemi, kalıp sentezi, kendiliğinden düzenlenme, faz ayrımı ve elektroğirme yöntemidir. Elektroğirme yöntemi bir sonraki başlıkta ayrıntılı bir şekilde inceleneceği için bu bölümde diğer yöntemler ile ilgili bilgi verilecektir.

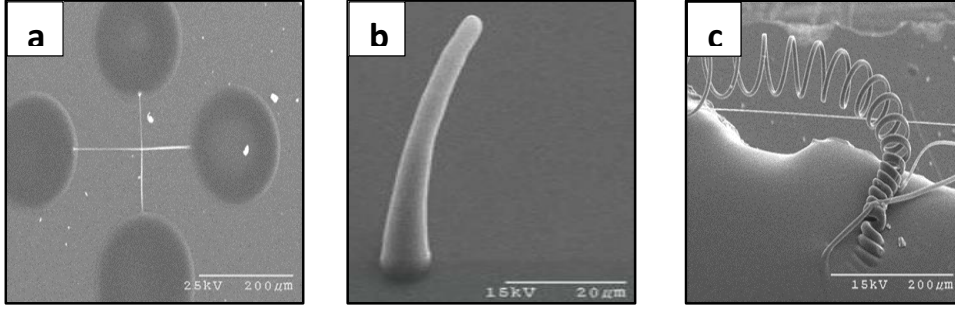
#### 3.1. Çekme Yöntemi

Şekil 3.1’de görüldüğü gibi birkaç mikrometre çapında bir mikropipet düz bir yüzey üzerindeki polimerik sıvı damlacığı batırılır ve ardından yaklaşık  $10^{-4}$  m/s hızlarda damlacıktan uzaklaştırılarak sonuçta nanofiberler tek tek elde edilir. Çekilerek uzayan nanofiberlerin bitiş noktalarına dokunularak sıvı damlacıktan ayrılması sağlanır ve bir yüzey üzerinde biriktirilir [20].



Şekil 3.1. Çekme yönteminin şematik gösterimi. (A: Mikropipetin sıvı damlacığı doğru hareketi. B: Mikropipetin damlacık ile teması. C: Mikropipet çekilerek nanofiber eldesi.) [21].

Çekme işlemi esnasında çözücünün buharlaşması ile viskozite artacağı için polimer damlacığının viskoelastik davranışı kohezif kuvvetlere karşı koyacak şekilde yapısı bozulmadan kuvvetli şekil değiştirebilen ve aynı zamanda çekme sırasında strese dayanabilecek özelliğe sahip olmalıdır. Aksi durumda kohezif etkilerden dolayı daha erken parçalanmalar görülebilir [20].



Resim 3.1. SEM görüntüleri a) çapraz ağı polimer nanofiberler, b) dikey çekilmiş nanofiber, c) STM ucu kullanılarak çekilmiş polimerik bir yay [22].

Çekme yönteminde son yıllarda mikropipet yerine AFM veya STM uçları kullanılması ile birlikte nanorobotik sistemler geliştirilmiştir. Yöntemin bu şekilde gelişmesiyle çok daha uzun ve tekrarlanabilir fiberler elde edilmiştir. AFM esaslı nanorobotik yöntem ile üretilen çeşitli nanofiberlerin SEM görüntüleri Resim 3.1’de verilmiştir [22].

### 3.2. Kendiliğinden Düzenlenme Yöntemi

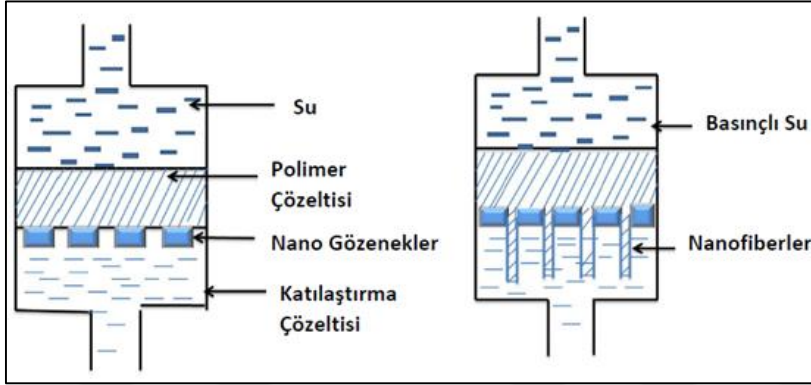
Kendiliğinden düzenlenme yönteminde moleküller ortam şartlarına bağlı olarak kendi aralarında kurdukları bağlarla üç boyutlu bir konformasyon oluştururlar. Kendiliğinden düzenlenme süreçleri doğada ve teknolojide çok yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. Moleküllerden (kristaller) gezegensel (hava sistemleri) boyuta kadar pek çok farklı bileşen türünden etkileşim içerirler [23]. Bu yöntem sadece standart laboratuvar donanımı gerektirmesi ile birlikte, belirli polimerlerin doğrudan nanofiber yapılarına dönüştürülmesiyle sınırlı kalmaktadır.

Nanofiberlerin bu teknikle üretilmesinde çeşitli zayıf bağlar, özellikle hidrojen bağları, iyonik bağlar (tuz köprüleri ve elektrostatik etkileşimler), Van der Waals etkileşimleri gibi kovalent olmayan bağ yapıları etkili olmaktadır. Bu bağlar tek başına olmasa da bir araya geldikleri zaman; moleküllerin 3-boyutlu konformasyonlarının belirlenmesinde ve diğer moleküllerle etkileşimlerinde büyük rol oynarlar [24].

### 3.3. Kalıp Sentezi Yöntemi

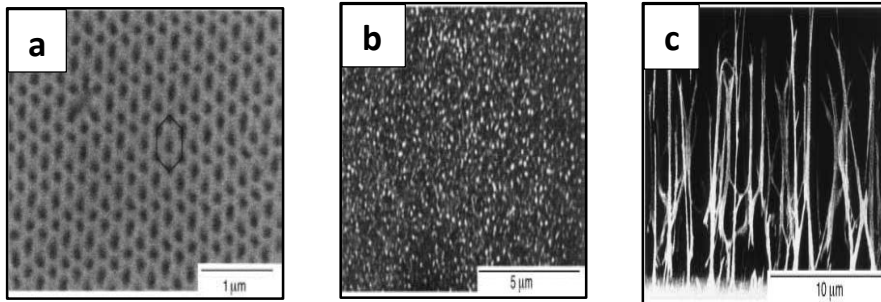
Kalıp sentezi ile nanofiber üretim yönteminde nano boyutta gözeneklere sahip alümina gibi metal oksit bir membran kalıp olarak kullanılmaktadır. Şekil 3.2’de görüldüğü üzere polimer çözeltisi kalıp içerisine alındıktan sonra yukarıda su ile basınç uygulanarak çözeltinin kalıp

içerisindeki nano gözeneklerden geçmesi ile nanofiber oluşumu sağlanır. Gözeneklerden çıkan nanofiberler kalıbın altında bulunan çözeltide katılaşıp kararlı bit yapıya sahip olurlar [25-26].



Şekil 3.2. Kalıp sentezi yönteminin şematik gösterimi [27].

Yüksek miktarlarda gözenekli çok ince nanofiber eldesi mümkün olduğu için doku mühendisliği alanında kullanılabilir [28]. Ancak tekrar edilebilir bir fiber üretimi yapılamadığı için zaman açısından verimli sayılamayacak bir yöntemdir ve sadece laboratuvar çalışmaları için uygundur [29]. Resim 3.2' de kalıp sentezi yöntemi ile elde edilen nanofiber yüzeylerinin SEM görüntüleri görülmektedir.



Resim 3.2. SEM görüntüleri, a) alümina membran yüzeyi; b) Poliakrilonitril (PAN) nanofiber yüzeyi; c) sentezlenmiş PAN nanofiberlerin kesit görünüşü [26].

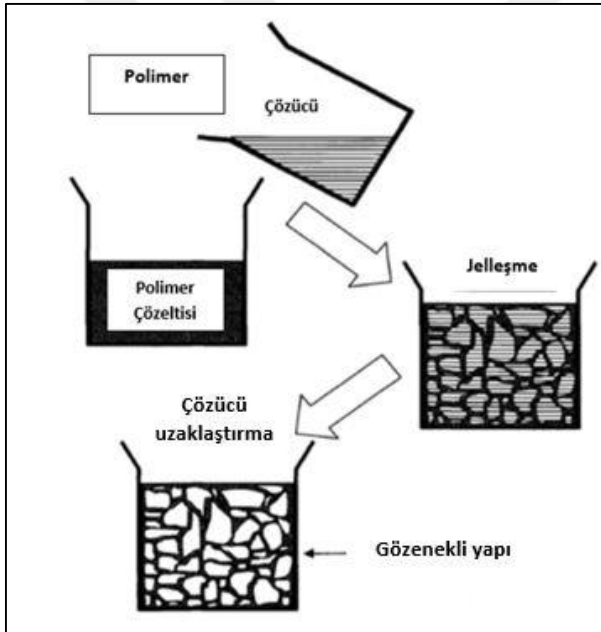
### 3.4. Faz Ayrımı Yöntemi

Bu yöntemin esası iki fazın fiziksel olarak uyumsuzluğundan yararlanarak birbirinden ayrılmasına dayanır. Fazlardan biri daha sonra uzaklaştırılan çözücü, diğeri ise nanofiberlerden meydana gelen yapıdır ( Şekil 3.3).

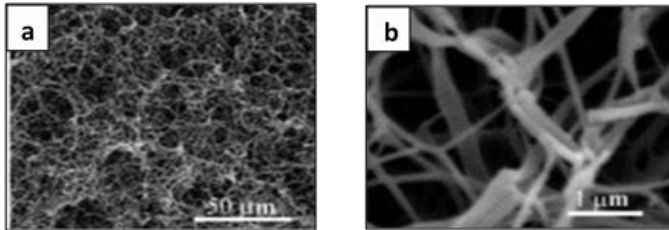
Süreç temel olarak aşağıda verilen şekilde işlemektedir [30];

- Polimerin çözülmesi
- Jelleşme
- Çözücünün uzaklaştırılması
- Dondurma
- Dondurarak kurutma.

İşlem minimum laboratuvar ekipmanıyla doku mühendisliğinin önemli bir uygulaması olan ekstraselüler matriks (ECM) taklit etmek için yüksek gözenekliliğe sahip üç boyutlu doku iskelelerinin üretilmesine imkân vermektedir [31]. Bu yöntemde kullanılacak polimerlerin kısıtlı olması ve işlemin uzun sürmesi dezavantajlardır [8].



Şekil 3.2. Faz ayrımı yönteminin şematik gösterimi [8]



Resim 3.3. PLLA/THF çözeltisinden faz ayrımı yöntemiyle elde edilen nanofiber matların farklı büyütme değerlerindeki SEM görüntüsü [31].

## 4. ELEKTROSPİN YÖNTEMİ

### 4.1. Elektroğirme Yönteminin Tarihçesi ve Genel Bakış

Elektroğirme yöntemi ilk olarak 1934 yılında küçük çaplara sahip fiber üretimi için yeni patentli bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır [32-33]. Elektrik alan kullanarak fiber üretme yöntemi uzun süredir denenmiş olmasına rağmen, fiber kurutma ve toplama gibi önceki yöntemlerde karşılaşılan teknik zorluklardan dolayı Formhals'ın patent aldığı buluşa kadar önem kazanamamıştır. Formhals'ın yöntemi geleneksel ip eğirme yöntemine benzer şekilde döner bir toplayıcıya sahipti ve böylece gergin yönlü lifler elde edebildi. İlk patentinde çözücü olarak aseton kullanarak selüloz asetat fiberler üretmiştir [34]. Daha sonra 1940' da Formhals, birçok polimerden elektrostatik olarak kompozit fiber ağları üretmek için başka bir yöntemin patentini almıştır.

1960' larda Geoffrey Ingram Taylor tarafından polimer jeti oluşumuna yönelik temel çalışmalar başlatılmıştır. Taylor 1969 yılında elektrik alan uygulandığında iğnenin ucunda oluşan damlacığın şeklini incelemiş ve bir koni olduğunu ve jetin koninin tepe noktasından çıktığını raporlamıştır [35]. Jetin bu konik şekli daha sonra araştırmacılar tarafından "Taylor Konisi" olarak adlandırılmıştır. Farklı viskoz akışkanların ayrıntılı incelenmesiyle Taylor, polimerin yüzey gerilimini elektrostatik kuvvetlerle dengelemek için  $49,3^\circ$  lik bir açının gerekli olduğunu belirlemiştir [36].

Sonraki yıllarda bilim insanları nanofiberlerin yapısal morfolojisini incelemeye odaklanmıştır. Fiberlerin yapısal özellikleri ve süreç parametreleri arasındaki ilişkilerin anlaşılması için yapısal karakterizasyona başvurulmuştur. Geniş açılı X-ışını kırınımı (WAXD), taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) araştırmacılar tarafından nanofiberlerin karakterizasyonu için kullanılmıştır. 1971' de Baumgarten, çapları 500 ile 1100 nm arasında değişen akrilik mikro fiberleri elektroğirme yöntemi ile elde edildiğini raporlamıştır [37]. Baumgarten, poliakrilonitril/dimetilformamid (PAN/DMF) çözeltisinin elektroğirme yöntemi ile fiber eldesi sürecindeki limitlerini belirlemiş ve fiber çapının çözeltinin viskozitesine bağlı olduğunu gözlemlemiştir. Larrondo ve Mandley, eriyik formdan polietilen ve polipropilen fiberler üreterek, bu fiberlerin çözelti formundan üretilen fiberlere kıyasla daha büyük çaplara sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır [38-39]. Eriyik sıcaklığının

artması ile fiber çapının azaldığını ve uygulanan voltajın iki katına çıkarılması ile fiber çapının % 50 azaldığını göstermiştir.

1987’de Hayati ve arkadaşları; elektrik alan ve deneysel koşulların etkilerini ve fiber kararlılığını etkileyen faktörleri incelemiş ve çözelti iletkenliğinin sıvı yüzeylerdeki elektrostatik yük dağılımında önemli bir rol oynadığı sonucuna varmıştır. İletkenliği yüksek çözeltilere uygulanan voltajın artması ile farklı yönlerde savrulan kararsız bir jet akışı ortaya çıktığı belirtilmiştir. Sonuçlar; kararsız jetlerin daha geniş çap dağılımına sahip lifler ürettiğini göstermiştir [40].

10 yıllık bir aradan sonra nanofiberlerin uygulama potansiyeli hakkındaki bilgi birikimine bağlı olarak katalizör, membran ve koruyucu giysi gibi farklı alanlarda elektroğirme tekniği üzerine araştırmalarda büyük bir artış yaşanmıştır. Nanofiber araştırmaları, Doshi ve Reneker’ in çalışmaları nedeniyle ivme kazanmıştır. Doshi ve Reneker, çözelti konsantrasyonunu ve uygulanan elektrik potansiyelini değiştirerek polietilen oksit (PEO) nanofiberlerin özelliklerini incelediler. Polimer jetinin çapı koninin tepe noktası referans alınarak toplayıcı ile arasındaki mesafenin bir fonksiyonu olarak hesaplandı ve jet çapının aradaki mesafenin artışı ile azaldığı gözlemlendi [41]. Ayrıca “elektroğirme” terimi ilk defa Doshi ve Reneker tarafından kullanılmıştır [42]. Hohman ve arkadaşları elektriksel olarak yüklü polimer jetlerinin kararsızlık mekanizmaları üzerine önemli araştırmalar yürütmüştür [43]. Yarin ve arkadaşları ise elektroğirme prosesinin önemli bir bölümünü oluşturan bükülme kararsızlığını (whipping instability) incelemiştir [44].

2000’li yıllarda elektroğirme yönteminin ünü dünya çapında 200’den fazla üniversite ve araştırma enstitüsünün elektroğirme yöntemi ve üretilen nanofiberleri çok çeşitli yönlerden incelemesi sayesinde oldukça artmıştır. Ayrıca son yıllarda elektroğirme temelli uygulamalar için patent sayısında da bir yükseliş göze çarpmaktadır. Günümüz koşullarında yüksek teknoloji şirketleri bu nanofiber üretim yöntemi ile faal olarak ilgilenmekte ve hatta bazı şirketler son yirmi yıldır hava filtrasyonunda bu teknik ile elde edilmiş ürünler kullanmaktadır [6].

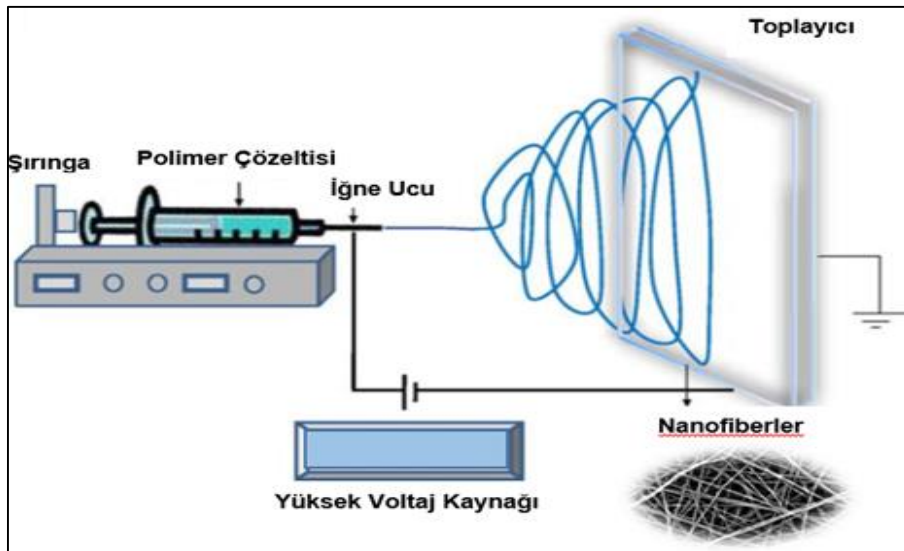
## 4.2. Elektroğirme Yönteminin Teorisi

Elektroğirme yöntemi, bir polimer çözeltisine veya eriyiğine elektrik alan uygulanarak nanofiber elde edilmesini mümkün kılan çok yönlü bir tekniktir.

Bir elektroğirme düzeneği üç ana kısımdan oluşur [45]:

- 1) Pompa ve ucuna iğne bağlı şırınga
- 2) Yüksek voltaj güç kaynağı
- 3) Topraklaması yapılmış bir toplayıcı .

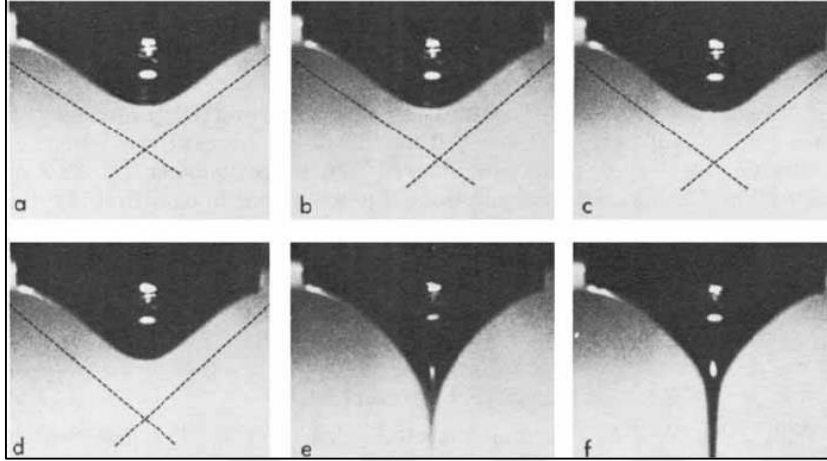
İğne ucu ile toplayıcı arasında elektrik alan oluşturmak amacıyla elektrotlar kullanılır. Şırıngaya bağlı olan pompa ile polimer çözeltisi 0,8 ml/h gibi çok yavaş ve sabit hızlarla iğne ucuna doğru itilir. İğne ucundan çıkan polimer jeti elektrik alan şiddetine bağlı olarak toplayıcıya doğru çekilirken izlediği yol boyunca çözücü buharlaşır ve toplayıcı üzerinde katılaşmış nanofiberlerin birikmesi sağlanır. Mikrometreden nanometreye değişen fiber çapları elde edilmektedir. Fiber çapı uygun parametrelerin optimizasyonu ile kontrol edilebilir [46-47, 11].



Şekil 4.1. Elektroğirme yöntemi ile nanofiber üretimi [13]

İğne ucu ile toplayıcı arasında 50 kV' a kadar yüksek voltaj uygulanabilmektedir. Şırınga içerisine beslenen polimer çözeltisi, uygulanan voltaj kritik değerin üzerine çıkana kadar iğnenin ucunda askıda kalır ve yüzey gerilimi kuvvetlerinden dolayı küresel biçimlidir.

Voltaj kritik eşik değere ulaştığında polimer damlacığı bir arada tutmaya çalışan yüzey gerilim kuvvetleri ve elektrostatik kuvvetler birbirine eşittir. Bu durumda damlacık konik şekil alır ve bu koni “Taylor Konisi” olarak adlandırılmaktadır. Bu noktadan sonra voltajdaki en ufak artışla polimer jeti koninin tepe noktasından toplayıcıya doğru fıskırır [48].



Resim 4.1. Taylor konisi oluşumunun aşamalı gösterimi [49]

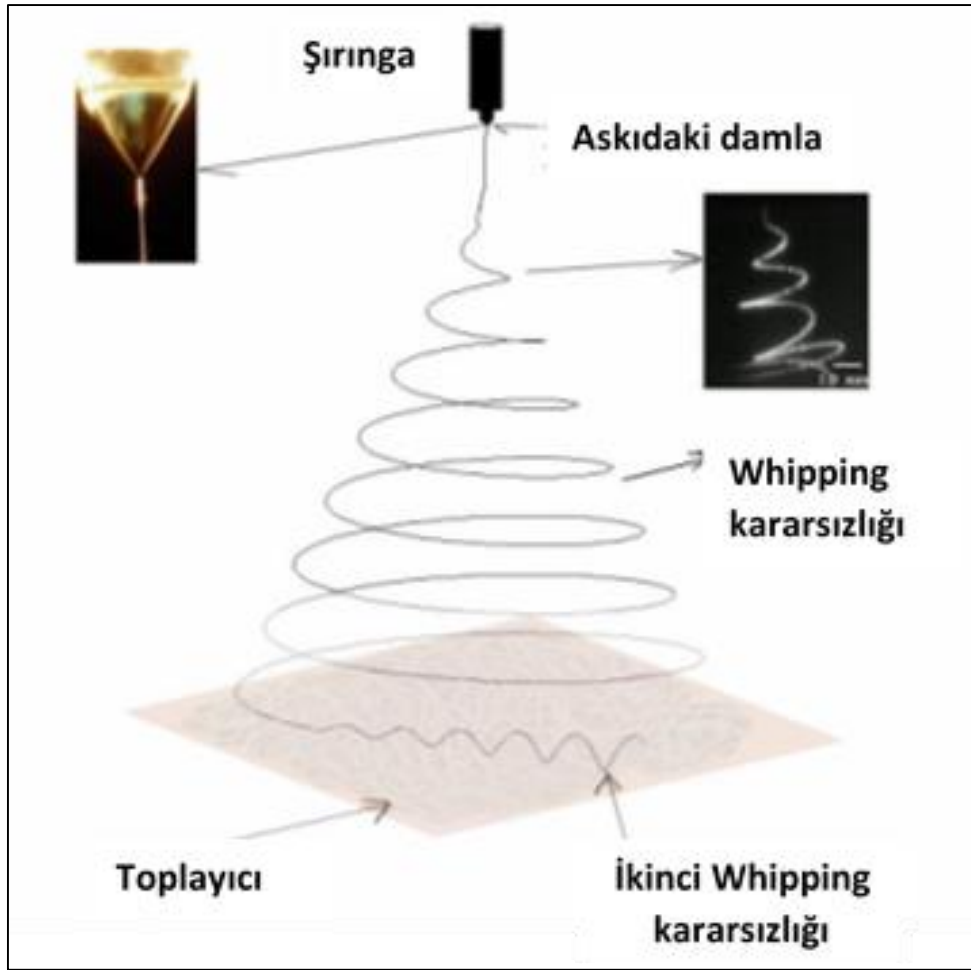
Polimer jeti Taylor konisinden çıktıktan sonra bir süre kararlı bir yol izler. Fiber elektrik alan içerisinde yol alırken ivmelenir ve incelir. Fiber yüzeyinde elektriksel yük dengesizliği oluşması ile birlikte kararsız durumlar ortaya çıkar. Jetin kararsızlığı elde edilen fiberin boyut ve geometrisini etkilemektedir [48].

Çeşitli etkenlere bağlı olarak üç kararsızlık hali mevcuttur:

- 1) Klasik Rayleigh kararsızlığı,
- 2) Eksenel simetrik elektrik alan akımlanması,
- 3) Whipping kararsızlığı

Rayleigh kararsızlığı, eksenel simetriktir ve elektrik alan yeterince güçlü olmadığında veya çözeltinin viskozitesi optimum değer altına indiğinde ortaya çıkar. Çok düşük viskoziteye sahip çözeltilerin kullanılması jet kopmasına ve boncuklu fiber morfolojisine neden olmaktadır. Rayleigh kararsızlığı, yüksek elektrik alan şiddeti (yüksek yük yoğunlukları) veya yüksek polimer konsantrasyonuna sahip çözelti kullanılarak bastırılabilir.

Şekil 4.2’ de gösterildiği gibi Polimer jeti yüzeyindeki yüklerin karşılıklı birbirini itmesi sonucu jette radyal bir tork meydana gelir ve jet toplayıcıya yaklaştığında ana jetten ayrılan küçük jetler oluşmaya başlar. Whipping kararsızlığı olarak adlandırılan bu durum elektroğirme yönteminde en çok karşılaşılan kararsızlık halidir. Jet yeterince incelmediğinde ise yeni ikincil whipping kararsızlıkları ortaya çıkar [50-51].



Şekil 4.2. Whipping kararsızlığı [52]

### 4.3. Elektroğirme Yöntemini Etkileyen Parametreler

Elektroğirme yönteminde etkili olan birçok parametre vardır. Parametreler değiştirilerek nihai fiber morfolojisinde farklılıklar yaratmak mümkündür. Aşağıdaki Çizelge 4.1’ de temel işlem parametreleri verilmektedir.

Çizelge 4.1. Elektroğırme yöntemini etkileyen parametreler

İşlem Parametreleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İğne ve toplayıcı arası mesafe / İğne çapı</li> <li>• Çözelti besleme hızı</li> <li>• Uygulanan Voltaj</li> <li>• Toplayıcı Türü</li> </ul>
Çözelti Parametreleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Viskozite</li> <li>• Polimer konsantrasyonu</li> <li>• Polimerin moleküler ağırlığı</li> <li>• Çözelti elektrik iletkenliği</li> <li>• Çözücü dielektrik sabiti</li> <li>• Yüzey gerilimi</li> <li>• Çözücü Uçuculuğu</li> </ul>
Ortam Parametreleri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sıcaklık</li> <li>• Nem</li> <li>• Basınç</li> </ul>

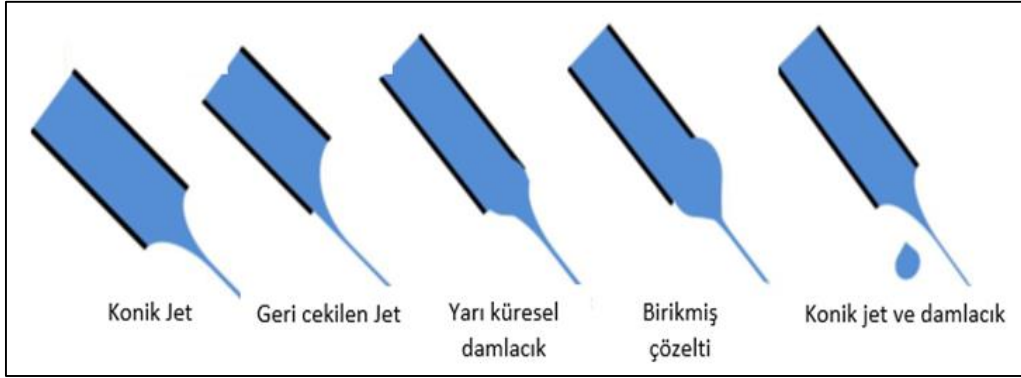
#### 4.3.1. İşlem parametreleri

##### İğne ve toplayıcı arasındaki mesafe

Elde edilen nanofiberlerin morfolojisi temel olarak iğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafeye bağlıdır. Toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafe kısa olur ise; fiberin kat ettiği yol kısa ve dolayısıyla havadaki uçuş süresi az olacaktır. Çözücünün buharlaşması için yeterli zaman olmayacağından dolayı kısa mesafe fiberde boncuk oluşumuna sebep olabilir. Diğer taraftan; yüksek voltaj jetin hızlanmasına neden olabilir. Bu önemli noktalar göz önünde bulundurularak düzgün ve pürüzsüz fiberlerin hazırlanması için optimum uzaklık ayarlanmalıdır [25, 46, 53-54].

##### Çözelti besleme hızı

Çözelti besleme hızı iğne ucundan çıkan polimer jetinin hızını doğrudan etkilemektedir. Besleme hızı çözücünün buharlaşması için yeterli zaman sağlanması açısından yavaş olmalıdır. Aksi durumda yüksek besleme hızlarında boncuk oluşumu gözlenmesi muhtemeldir. Genellikle düşük besleme hızları polimer çözeltisi polimerizasyonuna pozitif etki eder. Yüksek besleme hızlarında gözenek çapı ve fiber çapı paralel olarak artmaktadır. Her polimer çözelti sistemi için farklı besleme hızları belirlenmelidir [4, 25, 46, 53-54].



Şekil 4.3. Çözelti besleme hızının artması ile çeşitli polimer jetlerinin oluşması [53]

#### Uygulanan voltaj

Uygulanan voltaj fiber çapını etkileyen bir diğer parametredir. Elektroğirme yönteminde yüksek voltaj (7-32 kV) uygulanması Taylor Konisi oluşumunda deformasyona ve çözeltinin yüklenmesine sebep olur. Uygulanan yüksek voltaj polimer jetinin çıktığı noktanın şeklini değiştirerek fiber yapısını ve morfolojisine etki etmektedir. Yüksek voltaj polimer jetinin havada geçirdiği süreyi kısaltırken fiber çapını da düşürmektedir [25, 43, 53].

Çözelti beslenen iğnenin çapının küçük olması; fiber çapını küçültür ve boncuk oluşumunu azaltır. Fakat çok küçük çaplarda iğne kullanımında da iğne ucunda tıkanmalar meydana gelir ve elektroğirme işlemi yapılamaz [53].

#### Toplayıcı türü

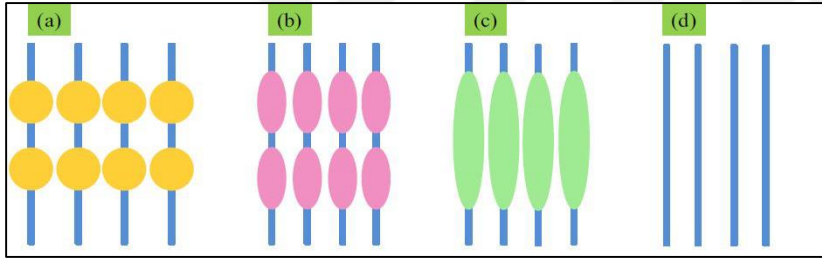
Toplayıcının şekli, hangi malzemeden yapıldığı ve hatta eğer hareketli ise hızı fiber morfolojisini etkileyen önemli parametrelerdir. Nanofiberin sahip olduğu elektriksel yük topraklanmış olan toplayıcıyla temas etmesiyle sıfırlanır. Bu nedenle toplayıcının dielektrik özellikleri önem arz etmektedir [43]. Literatürde alüminyum folyo, iletken kağıt, dönen silindir, tel çerçeve ve ızgara gibi çok çeşitli hareketli veya hareketsiz toplayıcı türleri kullanılmıştır.

### 4.3.2. Çözelti parametreleri

#### Viskozite

Viskozite, polimerin molekül ağırlığı ve polimer konsantrasyonu arasında sıkı bir bağ vardır. Çok düşük viskozite, polimer çözeltisinin yer çekimi etkisiyle iğnenin ucundan damlalar halinde yere düşmesine sebep olurken çok yüksek viskozite değerlerinde ise iğne ucunda tıkanmalar meydana gelir. Başka bir deyişle; uygun viskozite pürüzsüz, sürekli fiber elde etmenin anahtarıdır.

Düşük viskoziteye sahip çözeltilerde baskın kuvvet yüzey gerilimidir ve boncuklu fiberler meydana gelir. Yüksek viskoziteye sahip çözeltilerden ise kalın ve daha az boncuk içeren fiberler elde edilmektedir [11, 55].



Şekil 4.4. Artan viskoziteye bağlı olarak değişen nanofiber morfolojisi a) küresel boncuklu fiber, b) yassılaştırmış boncuklu fiber, c) gerilmiş boncuklu fiber ve d) boncuksuz fiber [56].

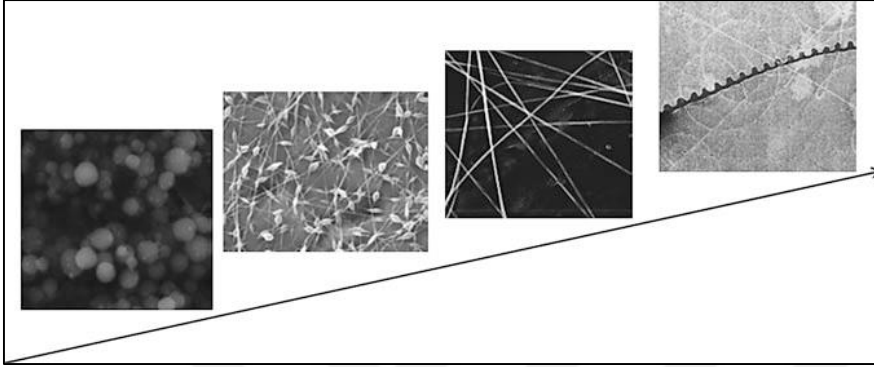
#### Konsantrasyon

Polimer konsantrasyonu fiber oluşumunu direkt etkilemektedir. Öte yandan çözelti viskozitesi de çözelti konsantrasyonu ile ayarlanabilir.

Çözelti konsantrasyonu düşükten yükseğe çıktıkça gerçekleşen dört kritik değişim şöyle açıklanmaktadır:

1. Çözelti konsantrasyonu çok düşük olduğu takdirde nanofiberler yerine nano ya da mikro boyutta partiküller meydana gelmektedir. Bu durumun nedeni; çözeltinin düşük viskozite ve yüksek yüzey geriliminden dolayı elektroegirme işlemi yerine elektrosprey işleminin gerçekleşmesidir [57].

2. Konsantrasyon arttıkça boncuk ve fiber karışımı bir yapı meydana gelmektedir [58].
3. Konsantrasyon optimum değere ulaştığında pürüzsüz ve düzgün fiberler elde etmek mümkün hale gelmektedir [59].
4. Eğer konsantrasyon çok yüksek değere ulaşırsa nanofiber eldesi yerine helezon mikroribonlar oluşmaktadır [60].

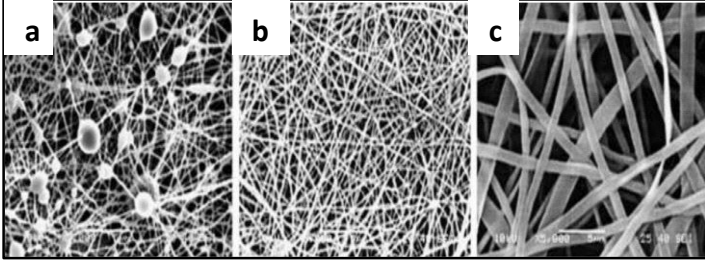


Resim 4.2. Konsantrasyon artışı ile nanofiber yapısında meydana gelen değişimlerin SEM görüntüleri [60]

### Molekül ağırlığı

Molekül ağırlığı fiber özelliklerinin belirlenmesinde en önemli faktörlerden biridir. Aynı polimer malzemede molekül ağırlığı değiştikçe nanofiber çapı da değişmektedir. İstenilen özellikte eşsiz fiberler üretebilmek için en uygun molekül ağırlığı seçilmelidir [4].

Molekül ağırlığı aynı zamanda fiber morfolojisinde de etkilidir. Çünkü molekül ağırlığı değişimine paralel olarak viskozite ve yüzey gerilimi de değişmektedir. Resim 4.3’de görüldüğü gibi; çözelti konsantrasyonu sabit tutularak düşük molekül ağırlığına sahip polimer çözeltisi hazırlandığında boncuklu fiber yapısı gözlemlenirken; yüksek molekül ağırlığına sahip polimerle çözelti hazırlandığında daha düzgün ve daha büyük çaplı fiberler üretilmiştir [54].



Resim 4.3. Çeşitli molekül ağırlıklarına göre nanofiber yapısındaki değişim: a) 9 000-10 999 g/mol, b) 13 000-23 000 g/mol, c) 31 000-50 000 g/mol (çözelti konsantrasyonu % 25 wt) [54]

### Çözelti iletkenliği

Elektroegirme işleminin başlatılabilmesi için çözelti içerisindeki itme kuvvetlerinin yüzey gerilimini aşması gerekmektedir. Bu şartı sağlamak için çözelti yeteri kadar elektriksel olarak yüklenmelidir. Polimer jetinin gerilmesi veya çekilmesi çözeltinin yük taşıma kapasitesine bağlıdır.

Çözücüler genelde çok az sayıda serbest iyon içermeleri dolayısıyla elektriksel iletkenlikleri çok düşüktür. İletkenliği artırmak adına çözücüye eklenebilen maddeler arasında; mineral tuzları, mineral asitleri, karboksilik asitler, bazı amin asitleri, kalay klorid ve bazı tetraalkilamonyum tuzları bulunur. Organik asit çözücüler için az miktarda su ilavesi ile çözücü moleküllerinin iyonlaşmasına bağlı olarak iletkenliği büyük ölçüde artırmak mümkündür [8]. İletkenlikteki bu artışın daha az boncuk içeren fiber üretimine yardımcı olduğu ve fiber çapında belirli bir azalmaya sebep olduğu gözlemlenmiştir [61].

Doğal polimerler genel olarak polielektrolitik özelliktedir. Sentetik polimerlerin aksine; iyonlar polimer jetinin yük taşıma kapasitesini artırdığı için doğal polimerler elektrik alan etkisi altında daha yüksek gerilime maruz kalırlar ve bunun sonucunda zayıf fiber oluşumu görülmektedir [62].

### Çözücü dielektrik sabiti

Dielektrik katsayısı yüksek olan çözücüler sayesinde üretilen fiberlerin çapları düşmekte ve boncuk oluşumu azalmaktadır. Çözücünün dielektrik katsayısı arttığında polimer jeti toplayıcı üzerinde daha geniş bir alanda toplanmaktadır. Bu durumda fiberin izlediği yol artar ve fiber çapında azalma görülmektedir [63].

Çizelge 4.2. Çözücülerin dielektrik sabitleri [8]

Çözücü	Dielektrik sabiti
Su	80,02
Asetonitril	35,92-37,06
Dimetilformamid	36,71
Metanol	32,6
Trifloretanol	27,0
Etanol	24,55
Aseton	20,7
2-Propanol	18,3
Pridin	12,3
Diklorometan	8,93
Tetrahidrofuran	7,47
Asetik Asit	6,15
Etil Asetat	6,0
Kloroform	4,8
Toluen	2,4

### Yüzey gerilimi

Yüzey düzlemine uygulanan kuvvetin birim uzunluğuna oranı yüzey gerilimi olarak adlandırılmaktadır. Elektroegirme yönteminde polimer çözeltisini nanofiberlere dönüştürmek için uygulanacak voltajın yüzey gerilimini aşacak derecede büyük olması gerekmektedir [4].

Boncuksuz fiber yapısı elde edebilmek için yüzey gerilimini azaltmak gerekmektedir. Diğer parametreler sabit tutulursa yüzey geriliminin işlem üzerine etkisi daha net görülebilir. Örneğin; konsantrasyon sabit ise yüzey gerilimi düşürüldüğünde daha az boncuk içeren fiberler elde edilebilmektedir [54].

### Çözücü uçuculuğu

Boncuksuz ve düzgün yüzeyli fiberler elde etmek için doğru çözücüyü seçmek oldukça önemlidir. Çözücü seçiminde dikkat edilecek iki husus vardır. Bunlardan ilki, kullanılan polimerin çözücü içerisinde tamamen çözünebilmesi, ikincisi ise çözücünün kaynama noktasının orta değerde olması gerektiğidir. Kaynama noktası, çözeltinin uçuculuğu hakkında bilgi verir. Uçucu çözümler işlem sırasında hızla buharlaşır ve nanofiber yapısından daha hızlı bir şekilde uzaklaşır. Bununla birlikte kaynama noktası daha fazla düşer ise, yüksek buharlaşma oranından dolayı iğne ucunda kuruma meydana gelebilir ve bu da işlemin durmasına neden olabilir. Tam aksi durumda kaynama noktası yükseldiğinde ise; polimer jetinin kuruması uzun zaman alır ve çözücü yoğun bir şekilde nanofiber yapısında kalarak boncuklu yapıların oluşumuna sebep olmaktadır [53].

### **4.3.3. Ortam parametreleri**

#### Sıcaklık

Sıcaklık artışı ile çözücü buharlaşma hızı artmakta, viskozite düşmekte ve çözünürlüğün arttığı görülmektedir. Polimer jetindeki uzama kolaylaştığı için eş dağılımlı çaplara sahip nanofiber elde etmek mümkün hale gelmektedir [64].

#### Nem

Nem oranı, polimer çözeltisini ve dolayısıyla fiber morfolojisini doğrudan etkilemektedir [65-66]. Nemdeki artış ile gözenek sayısı artarken, ortamdaki nem azaldığında daha hızlı bir kuruma gerçekleşmektedir [67].

#### Basınç

Elektroçirime işlemi atmosfer basıncı altında gerçekleştirilir ise polimer çözeltisi iğne dışına akmak için daha fazla eğilim göstermekte ve bunun sonucunda kararsız jet oluşmaktadır. Basınç daha fazla düşürülür ise polimer jetinde kabarcıklar meydana gelmektedir. Kritik basınç değerinin altına inildiğinde yük doğrudan toplayıcıya boşalmakta ve elektroçirime işlemi gerçekleştirilememektedir. [68-69].

## 5. POTANSİYEL NANOFİBER UYGULAMALARI

Birçok polimer çeşidinin kullanılabilmesinin yanı sıra fiber yüzeyi ve kimyasal yapıya bağlı avantajlı özelliklerin bir sonucu olarak elektroğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberler son yıllarda sürekli genişleyen uygulama alanına sahiptir. Şekil 5.1’de gösterildiği gibi nanofiberler elektrik, optik, nanosensör, koruyucu giysi, enerji verimli-bataryalar, filtreler, doku iskeleleri, katalizörler için kullanılmaktadır [4].

Nanofiber uygulamalarındaki mevcut senaryoları genel bir çerçevede değerlendirecek olursak; elektroğirme yöntemi ile laboratuvar seviyesinden endüstriyel ölçeklere kadar mikron altı boyutlarda fiber üretmek mümkündür. Nanomalzemeler birçok alanda avantaj sağlayan geniş yüzey alanı özelliğine sahiptir. Özellikle elektroğirme yöntemi ile üretilmiş nanofiberler biyouyumlu yapılarından dolayı biyomedikal alanda dikkati üzerlerine çekmektedir. Nanofiber uygulamaları filtreler, koruyucu kıyafetler, membranlar, sensörler ve enerji depolama cihazları gibi kullanım alanları ile birlikte katlanarak büyümektedir. Nanofiberler hali hazırda yara örtülerinde, doku iskelelerinde, ilaç salım sistemlerinde, filtrasyon için membranlarda kullanılmakta ve geliştirilmektedir. Ayrıca pillerde ve yakıt hücrelerinde gelişmiş enerji depolama kapasitesine sahip yeni nesil malzemeler olarak kabul görmektedir.

Nanofiber uygulamaları çoğunlukla biyomedikal, sensör ve fotokatalitik alanlarında yoğunlaşmış olsa da ve ilaç, organik bileşenler ve ince kimyasalların sentezi için katalizör olarak kullanımına yönelik araştırma çalışmalarına da gereken önem verilmelidir. Nanofiberlerin yenilenebilir enerji depolama cihazlarındaki uygulanabilirliği de geleceğe yönelik odaklanılması gereken konular arasındadır. Günümüzde tıbbi ilaçlar hazırlamak için kullanılan yöntemler genelde çok sayıda basamaktan meydana gelmekte ve özel reaksiyon koşulları gerektirmektedir. Bu nedenle, elektroğirme işlemi ile üretilen nanofiberlerin organik reaksiyonlar için potansiyel heterojen katalizörler olarak kullanılabilmesine inanılmaktadır. Böylece karışık işlem basamaklarının azalacağı öngörülmektedir.

Nanotüpler ve nanoteller gibi bir boyutlu malzemeler; elektronik, enerji depolama hücreleri, yakıt hücreleri ve filtreleme gibi birçok alanda potansiyel uygulamalarından dolayı önem kazanmıştır. Fakat son yıllarda oldukça avantajlı özelliklere sahip olan polimer, kompozit ve metal oksitlerden elde edilen nanofiberler ile ilgili birçok bilimsel araştırma

yapılmaktadır. Nanofiberler yüksek çekme mukavemeti, geniş yüzey alanı ve gözeneklilik gibi benzersiz özellikleriyle bu ilgiyi hak etmektedir. Elektroğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler kolay ve düşük maliyetli hazırlanma sürecine ek olarak yüzey modifikasyonuna olanak sağlamaktadır. Son yirmi yılda birçok araştırmacının odağı, iki boyutlu malzemelerin geleceğe dönük uygulamaları nedeniyle nano parçacıklardan nanofiberlere kaymıştır [5].



Şekil 5.1. Elektroğirme yöntemi ile üretilen nanofiberlerin potansiyel uygulama alanları [4]

## 6. DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMI

Doku mühendisliği, yapay organ/doku üretimi veya işlevini yerine getiremez hale gelmiş olan dokuların yenilenmesi için malzeme ve mühendislik dallarının yaşam bilimleri ile birlikte ortak bir zeminde buluşmasıyla ortaya çıkan disiplinler arası bir bilim dalıdır [70].

Doku mühendisliği uygulamalarındaki temel prensip; canlı bünyesinde var olan yapıya en uygun üç boyutlu doku iskelesini üretmek ve bu iskeleye yapılan hücre ekimi sonrasında oluşan yeni dokuların hasarlı bölgeye implante edilmesidir. Doku yenilenme sürecinde kan damarları yapıya nüfuz etmekte ve biyolojik olarak bozulan yapay doku iskelesinin kılavuzluğunda oluşan yeni doku ile onarım sağlanmaktadır. Doku iskelesi, hücrelerin yapıya gelip yapışmasını, tutunup çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlayan ECM olarak bir çatı görevi yapmaktadır [71].

Günümüzde özellikle estetik cerrahi uygulamalarında ve hasarlı/kayıp doku veya organların tedavi edilmesinde yapay protez kullanımında önemli gelişmeler olsa da, hala en çok kabul gören yaklaşım doku/organ transplantasyonudur. Fakat bu yaklaşımın hastalarda cerrahi müdahale sonrası enfeksiyon görülmesi ve doku donörünün sınırlı olması gibi kısıtlamaları vardır. Uygulamalarda karşılaşılan bu tür kısıtlamalar sonucunda doku veya organ tedavisi süreçlerinin geliştirilmesi yönündeki araştırmalar doku mühendisliğine doğru evrilmiştir. Doku mühendisliğinde değişik stratejiler mevcuttur. Bazı yaklaşımlarda doku yenilenmesi veya onarımı için sadece biyomalzemeler kullanılırken, bazı yaklaşımlarda da hastadan ya da uygun donörden alınan hücrelerin hasar görmüş bölgeye direkt enjekte edilmesi ile doku tamirinin yerinde gerçekleşmesi sağlanmaktadır. Ancak büyük doku kayıpları olduğunda bu uygulamalar yetersiz kalmaktadır. Bu noktada en gerçekçi yaklaşım olan doku iskelesi ön plana çıkmaktadır. Bu stratejide yapay olarak tasarlanan ve üretilen doku iskeleleriyle hasarlı bölgenin tamiri için ana doku ile bağlantının sağlanması ve fonksiyonların onarımı amaçlanmaktadır. Bu yaklaşımda hücrelerin bu yapılara uygun biyosinyal molekülleri ile ekilmesi ve ekimi yapılan hücrelerin çoğalıp farklılaşması sırasında doku iskelesinin yapay bir ekstraselüler matriks görevi görerek gerekli desteği sağlaması söz konusudur [72].

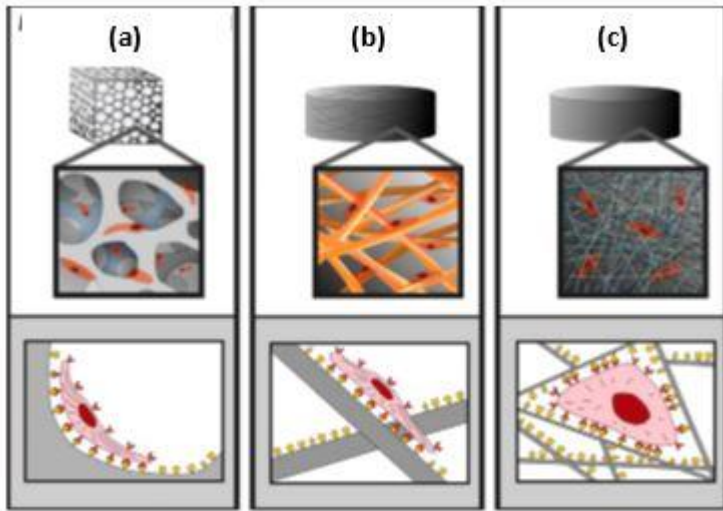
Günümüzde doku mühendisliği yaklaşımı kullanılarak kemik, kıkırdak, kas, sinir ve deri gibi birçok dokunun geliştirilmesine yönelik araştırmalar yürütülmektedir. Biyoloji,

nanoteknoloji ve malzeme bilimindeki ilerlemeler sonucunda doku mühendisliği çalışmalarında büyük ilerlemeler kaydedileceği düşünülmektedir [73].

### 6.1. Nanofiberlerin Doku İskelesi Uygulamaları

Doku mühendisliğinde; hastalık ya da yaralanma sonucu hasar gören dokuya hiçbir bağışıklık sistemi uyarıcısı olmadan, ekstrasüler matriksin yenilenmesi için hücrelere destek sağlamak amacıyla doku iskeleleri kullanılır. Doğal ECM, karbonhidrat polimerler olan glikozaminoglikanlar (GAGs) ve proteinlerden oluşmuştur. Doğal ECM' nin görevi; dokuları ayırmak, hücrelerin etrafında destekleyici bir ağ oluşturmak ve hücrelere dayanak sağlamaktır.

Elektroçirime yöntemi ile yüksek gözenekliliğe ve geniş yüzey alanına sahip üç boyutlu matlar üretilmektedir ve bu nedenle doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak için en uygun tekniktir. Doku mühendisliğinin amaçları için kullanılacak malzemelerin biyoyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri birinci dereceden önem arz etmektedir. Çünkü doku iskelesi zamanla bozunmalı ve yerini yeni gelişen dokuya bırakmalıdır. Ayrıca doku iskelesinin yapısı da önemlidir ve Şekil 6.1'de gösterildiği gibi hücresel bağlanmayı etkiler [74].



Şekil 6.1. Doku iskelesi yapısının hücre yapışması ve çoğalmasına etkisi, a) mikroporlu doku iskelesi, b) mikrofiber doku iskelesi, c) nanofiber doku iskelesi [74].

Mikro boyutlu yapılarda iskelelere tutunan hücreler düz yüzeylerde kültürlenmiş gibi düzleşir ve yayılır. Nano boyutlu doku iskeleler ise proteinlerin absorbe edilebilmesi için

daha geniş yüzey alanına sahiptir ve hücrelerin membran reseptörleri ile bağlanması için daha fazla alan sunar [74].

## 6.2. Kemik Doku Mühendisliği

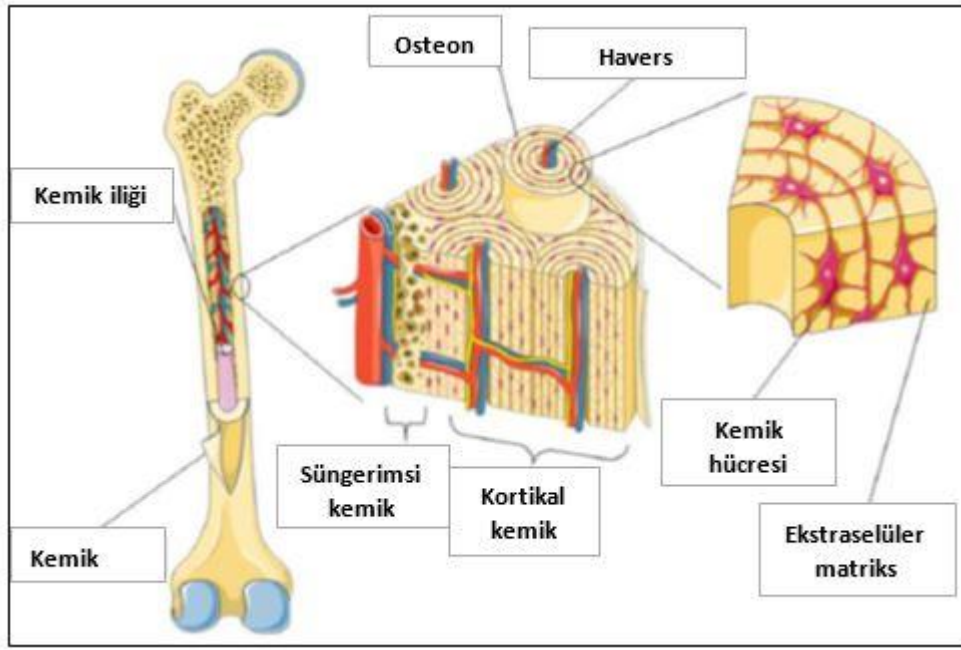
Kemik matrisi, kemik dokunun % 90 'dan fazlasını meydana getirir ve geri kalan kısımları hücreler ve kan damarları oluşturur [75-76]. Kemik matrisi temel olarak Tip I kolajen fiberlerden ve nanohidroksiapatitten oluşan kompozit bir yapıdır. Doğal kemik matrisini taklit etmek adına, çeşitli sentetik ve doğal polimerler hidroksiapatit ile birleştirilmiştir ve kemik doku tamiri için yapay ECM uygulaması olarak nanofibröz doku iskeleleri elektroegirme yöntemiyle üretilmiştir [73]. Prabhakaran ve arkadaşları, kemik doku mühendisliği için elektroegirme yöntemi ile nano hidroksiapatit içeren biyo-kompozit polimerik nanofiberler üretmiştir. Biyokompozit PLLA/ Kolajen/Nanohidroksiapatit (nHAp) nanofibröz doku iskelesinin osteoblastların çoğalmasını ve mineralizasyonunu geliştirdiğini ve kemik yenilenmesine olumlu etkilere neden olabileceğini öne sürmüşlerdir [77]. Wang ve arkadaşları; toplayıcı olarak paslanmaz çelik kullanarak PCL polimerinden belirli yönlerde düzenli desenler oluşturan fiber matlarını başarıyla elde etmiştir [78]. Belirli bir desene sahip olan PCL doku iskelesi rastgele fiber yapısına sahip PCL doku iskelesiyle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda hücre çoğalması görülmüştür. Bununla birlikte hücreler fiber yönü doğrultusunda uzamış ve büyüme göstermiştir. İdeal bir kemik doku iskelesinde olması gereken özellikler Çizelge 6.1 'de verilmiştir.

Çizelge 6.1. Kemik doku iskelesinden beklenen özellikler [79]

Doku İskelesi Yapısı	Beklenen Özellikler
Biyouyumluluk	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bozunma ürünleri zehirli olmamalı</li> <li>• Bağışıklık sisteminin reddetmemesi için doku iskelesi uygun bileşenlerden meydana gelmeli</li> </ul>
Biyobozunurluk	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Doku büyümesi sırasında yeterli desteği sağlayabilecek derecede bozunma hızına sahip olmalı</li> <li>• Temel enzimatik reaksiyonlarla veya biyolojik süreçlerle parçalanabilmeli</li> <li>• Ana hücrelerin kendi hücre dışı matrislerini oluşturmalarına izin verebilmeli</li> </ul>
Biyoaktiflik	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ana doku bağlantı kurabilen ve etkileşime girebilen doku iskelesi malzemeleri olmalı</li> <li>• Osteokondüktif ve osteoindüktif olmalı</li> <li>• Hücrelerin doku iskelesinin içinde büyümesini, bağlanma ve farklılaşmasını uyarmak için biyolojik sinyaller ve büyüme faktörler dahil edilmeli</li> </ul>
Yapısal Özellikler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Difüzyon ve hücre göçüne izin veren birbirine bağlı gözeneklere sahip olmalı</li> <li>• Hücre- doku iskelesi etkileşimini sağlamak için geniş bir yüzey alanı sunan mikroporozite</li> <li>• Damar sisteminin dokuya yayılmasına ve hücre göçüne olanak sağlayan makroporozite</li> <li>• Hedef doku ve hücrelere uygun gözenek boyutu</li> <li>• Mekanik özellikleri zayıflatmadan hücre büyümesine olanak sağlayacak yeterlilikte gözeneklilik</li> </ul>
Mekanik Özellikler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Canlı içerisinde doku bütünlüğünü korumak ve hücre regülasyonunun gerçekleşmesine imkan vermek için hedef dokuya benzer basma, elastik ve yorulma mukavemeti gösterebilmeli</li> </ul>

### 6.3. Kemiğin Yapısı

Kemiğin kimyasal bileşimi iki temel bileşenden meydana gelmektedir: organik faz ve inorganik faz. Organik fazın % 90' ını Tip I kolajen oluşturur ve geri kalan kısımda diğer polimerler bulunur. [80]. Hidroksiapatitten meydana gelen inorganik faz kalsifiye kemiğin % 75'ini oluşturur [81]. Kolajen fiberler ve takviye elemanı olarak da hidroksiapatitten oluşan yapı nanokompozit olarak isimlendirilmiştir. Kemiğin yapısı ve ECM Şekil 6.2'de gösterilmektedir.



Şekil 6.2. Kemik ve hüresel dağılımının şematik gösterimi [83]

Havers Sistemi olarak da bilinen Osteon yoğun kemik dokusunun temel yapı birimidir. Uzun bir boşluk olarak ifade edilen Havers kanalı ve onu çevreleyen kemik katmanlarından meydana gelir. Osteonlar; kemiğin enine kesiti alındığında, her grubun ortasında bir havers kanalının bulunduğu eş merkezli halka grupları olarak görülürler. Havers kanalları küçük kan damarlarını içermekte ve bu küçük kan damarları kemik hücrelerinin kan ihtiyacını karşılamaktadır. Osteon, havers kanalını çevreleyen ekstraselüler matriksi bünyesinde bulundurur [82]. Osteoblastlar ve osteositler osteon içerisinde yer alırlar ve ECM' nin korunmasına katkıda bulunmanın yanı sıra kemiğin yapısal mukavemetini sağlarlar [83].

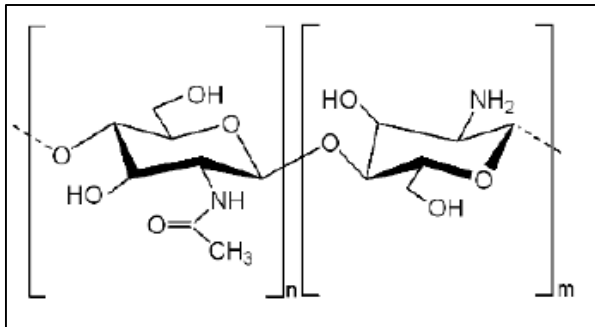


## 7. NANOFİBER BİLEŞENLERİ

### 7.1. Kitosan

İlk kez 1811 yılında Bradconnot tarafından keşfedilen kitosan, kimyasal formülü  $[(C_6H_{11}NO_4)_n(C_8H_{13}NO_4)_m]$ , olan bir polisakkarittir. Kitinin ( $\beta$ -1,4-poli-N-asetil-D-glukozamin) kısmen ya da tamamen deasetilasyonu sonucu elde edilen düz zincirli bir kopolimerdir. Farklı sayı ve oranda 2-asetamido-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz (N-asetil-D-glukozamin, asetile form, yaklaşık % 20) ve 2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz (D-glukozamin, deasetile form, yaklaşık % 80) moleküllerinin  $\beta$ -(1,4) bağı ile bağlanması sonucu meydana gelmektedir [84-86].

Kullanılan ticari kitosanın deasetilasyon derecesi genellikle % 85' den büyük olmakla birlikte molekül ağırlığı 100-1 000 kDa arasında değişkenlik göstermektedir. 50 kDa ve daha küçük değere sahip olanlar düşük, 50-150 kDa orta ve 150 kDa ve daha büyük olanlar ise yüksek molekül ağırlıklı olarak kabul edilmektedir [87]. Deasetilasyona uğramış amino grupları ( $-NH_2$ ) sayısının, asetil-amino grupları ( $-NH-CO-CH_3$ ) sayısına oranına deasetilasyon derecesi denilmektedir. Kitosan yapısal olarak yarı kristalin özellik gösterir ve kristallik derecesi deasetilasyon derecesinin bir fonksiyonudur. Şekil 7.1' de kimyasal yapısı verilen kitosan, pH değeri 6' dan küçük olan asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi seyreltik organik asit çözeltilerinde çözünmektedir [88-89].



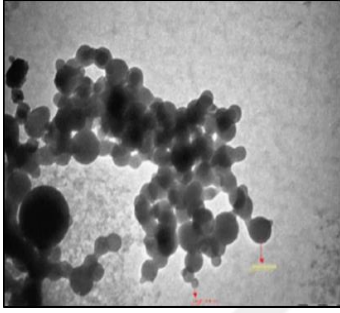
Şekil 7.1. Kitosanın kimyasal yapısı [90]

Deasetilasyon derecesi yüksek olan kitosan tabanlı yapılarda deasetilasyon derecesi daha düşük olanlara göre hücre tutunmasının daha iyi desteklendiği bildirilmiştir. Kitosan yapısında bulunan asetil amino grupları sayesinde toksit olmama, film ve fiber oluşturma

yeteneği, metal iyonlarını absorbe etme gibi kendine has fonksiyonel özelliklere sahiptir [88].

## 7.2. Nanohidroksiapatit

Kimyasal formülü  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  olan hidroksiapatit hegzagonal yapıya sahiptir. Resim 7.1’ de hidroksiapatit nanopartiküllerin TEM görüntüsü yer almaktadır. Ca/P oranı ideal olarak 1,667 ve teorik yoğunluğu  $3,156 \text{ gr/cm}^3$  tür. Bu değeri kemik yoğunluğu değerine yakındır [91].

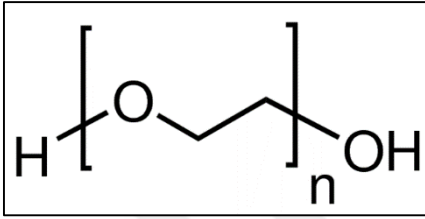


Resim 7.1. Hidroksiapatit nanopartiküllerin TEM görüntüsü [92]

Hidrofilik polimerler ve hidroksiapatit bileşimiyle oluşturulan kompozitler biyomedikal uygulamalar için uygun aday malzemelerdir. Kemik oluşumu ve mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara dönüşümü nanohidroksiapatit parçacıkların polimer yüzeylere ilavesi ile desteklenebilmektedir [93]. Hidroksiapatit (HA), sağlık endüstrisinde önemli bir biyomalzemedir. Kimyasal ve mineral fazları, doğal kemiğinkine benzemektedir ve bu nedenle diş hekimliği ve ortopedi alanında kullanımı araştırılmıştır [94-95]. Osteokondüktif ve osteoindüktif özelliğe sahip olması kemik yenilenmesini arttırmaktadır [96] ve hidroksiapatitin doku mühendisliğinde önemli bir yer tutmasını sağlamaktadır. Hidroksiapatitin osteokondüktif olması implantların kemiğe çok sıkı yapışmasına izin verir. Ayrıca hidroksiapatitin, özellikle kemik proteinleri olmak üzere, lokal büyüme faktörlerine güçlü bir kimyasal bağlanma eğilimine sahip olduğu bulunmuştur. Hidroksiapatitin toksik olmayan özellikleri meydana gelebilecek vücut reaksiyonlarını da en aza indirmektedir [97]. Mükemmel biyouyumluluk özelliği sayesinde implantlar üzerinde biyoaktif kaplama olarak da kullanılmaktadır [98-99]. HA sert dokularla doğrudan kimyasal bağlar yapmaktadır [100]. Nano ölçekte hidroksiapatit sentezi son yıllarda araştırılmış ve hücre ile biyomalzeme etkileşimi üzerinde iyi bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

### 7.3. Polietilen Oksit

Polietilen oksit (PEO) çok farklı uygulamalarda kendine yer bulmuştur ve özellikle doku mühendisliği ve ilaç taşıma sistemleri araştırmalarında dikkati üzerine çekmektedir [101]. PEO etilen oksitin polimerizasyonu sonucu oluşan non-iyonik doğrusal bir polimerdir. Kimyasal formülü  $[H-(O-CH_2-CH_2)_n-OH]$  şeklinde gösterilir ve yarı kristalin bir yapıya sahiptir (Şekil 7.2.).



Şekil 7.2. PEO kimyasal yapısı [102]

Düşük toksisite, suda ve organik çözücülerde iyi çözünürlük, hidrofiliklik, yüksek viskozite ve hidrojen bağı yapabilme kabiliyeti gibi özelliklere sahip olmasına ek olarak biyoaktif, biyouyumlu bir polimerdir [103].

Sahip olduğu çok yönlü özellikler sebebiyle PEO, geniş çapta araştırılan ve geliştirilen polimerlerden biridir. Ahire ve arkadaşları, hyalüorik asit ve polietilen oksitin belirli oranlarda karışımıyla oluşan çözeltiden elektroğirme yöntemiyle antibakteriyel doku iskelesi uygulaması üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışma da PEO doku iskelesinde antibakteriyel özellik kazandırmakla birlikte implant kaplayıcı olarak kullanılmıştır [104]. Doğal polimerlerden elektroğirme yöntemiyle nanofiber elde etme işlemini kolaylaştırmak için PEO içerikli çözeltiler hazırlanmış ve çok ince nano fiberler elde edilmiştir [105]. Kamfor sülfonik asit katkılanmış polianilin ile PEO' nun elektroğirme işlemi başarıyla gerçekleştirilmiş ve iletken çok ince nanofiberler elde edilmiştir [106].



## 8. LİTERATÜR TARAMASI

Doğada bulunan biyolojik yapı ve sistemlerden esinlenerek oluşturulan biyomimetik malzemelerin geliştirilmesi günümüz doku mühendisliği uygulamalarında araştırılan en önemli alanlardan biri haline gelmiştir [107]. Kemik doku, vücudu destekleyen temel yapıdır ve sağlamlığı, sertliği ve yenilenme kabiliyeti ile karakterize edilir. Organları korumak, kan hücresi üretmek, kalsiyum için mineral rezervi oluşturmak ve asit-baz dengesini korumak gibi fonksiyonları yerine getirir [108]. Son zamanlarda tedavi edici ya da iyileştirici biyomalzeme çalışmalarındaki bilimsel gelişmeler; tasarlanmış ve yapılandırılmış dokuların üretilebilmesi ile önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Doku iskelesi üretiminde seramikler ve doğal ya da sentetik polimerler kullanılmaktadır [109].

Kemik doku mühendisliğinde; tek başına kitosan veya farklı polimer bileşimleri ile doku iskelesi olarak kullanılmıştır [110]. Doku iskeleleri faz ayrılması, kendiliğinden düzenlenme, fiber çekme, kalıp sentezi gibi birçok teknikle hazırlanabilmesine rağmen; ECM yapısını üretmek için en etkili ve uygun yöntem mikro boyuttan nano boyuta kadar fiber elde edilebilen elektroğirme tekniğidir [111-112].

Kemik dokunun hasar gören bölgelerinin tıbbi kullanıma uygun malzemelerle tedavisi klinik olarak bir dereceye kadar başarılabilir. Biyomalzemelerin doku hücreleri ile uyumlu etkileşimi otolog cerrahi için ümit verici olmakla birlikte alternatif bir iyileştirme yöntemi olarak kabul edilmektedir. Kemik yenilenmesi için doku mühendisliği yaklaşımına ilgi son on yılda artmış ve önemli araştırma girdileri elde edilmiştir. Doğal kemik dokusunun oluşumu sırasında hücrelerin tutunması ve uygun şekilde farklılaşması için 3-boyutlu bir hücre destek matrisi başka bir deyişle bir doku iskelesi gerekmektedir. Ekstraselüler matris olan yapısal benzerliği, geniş spektrumda malzeme ile çalışma olanağı ve ayrıca tekniğin kolay kurulumu gibi özelliklerden dolayı elektroğirme tekniği ve bu teknikle üretilen nanofibröz doku iskeleleri bu uygulama için en uygun adaylardan biridir. Yapılan çalışmalarda nanofibröz doku iskelelerinin hücrelerin ilk aşamada yapıya tutunmasına ve yayılarak çoğalmasına rehberlik ettiği ve bunun yanı sıra kemik, sinir, deri, kan damarı, kıkırdak, kas ve yağ dokularını uygun ECM moleküllerini salgılamaları için tetiklediği raporlanmaktadır [85, 98].

Kemik doku kaybı hastanın yaşam kalitesini genel olarak önemli ölçüde etkilemektedir. Sonuç olarak, kemik doku ile ilgili tıbbi tedaviler ve maliyetler artmaktadır. Ayrıca insanoğlunun daha uzun yaşam beklentisi ve dünya nüfusunun yaşlanması sebebiyle kırıklar, bel ağrıları, osteoporoz, kemik enfeksiyonu ya da tümörleri gibi kas iskelet hastalıklarında ve osteoartrit (kireçlenme) gibi romatizmal hastalıklarda hızlı bir artış söz konusudur.

Kemik doku olağanüstü rejeneratif özellikler göstermektedir. Ancak büyük yaralanma ve doku hasarları iyileşmeyi geciktirebilir ve iyileşme etkisini azaltabilir. Bu nedenle kemik doku yenilenmesi için ek tedavilere ve destekleyici yapılara ihtiyaç duyulmaktadır. Kemik yenilenmesindeki çözülememiş temel unsurlardan biri de vasküler desteğin azalmasıdır.

Kemik lezyonu için alternatif tedavilerin geliştirilmesi kemik biyolojisinin iyi anlaşılmasından geçmektedir. Kemik vücutta hareket kabiliyeti, yumuşak doku desteği ve koruması, kalsiyum ve fosfat deposu ve kemik iliği sağlamak gibi önemli işlevler üstlenmiş bir destek dokudur. Mekanik özellikleri bölgeye ve işlevine göre değişmektedir. Karmaşık ve hiyerarşik yapısından dolayı inorganik nanokristalin hidroksiapatit (nHAp), organik bileşenler (çoğunlukla kolajen) ve sudan oluşan nanokompozit bir doku olarak tanımlanabilir. Proteinler çeşitli hücrelerin (osteoblast, osteosit, osteoklast) tutunmasına, çoğalmasına ve farklılaşmasına imkân sağlayan ekstraselüler matriksi meydana getirmek için bir araya gelmektedir [80-85].

Kemik lezyonlarının tedavisinde yıllardır farklı teknikler öne sürülmesine ve denenmesine rağmen hala çeşitli zorluklarla karşılaşmaktadır. Kemik, kandan sonra en sık nakledilen dokudur. Kemik greftleri klinik ortamda on yıldan uzun süredir kullanılmasına rağmen uygulamayı kısıtlayan bazı dezavantajlar bulunmaktadır. Ototogreft tekniğinin kısıtlamaları; sınırlı tedarik, donör bölgesinin morbidite riski ve ikinci bir ameliyata ihtiyaç duyulması olarak sıralanabilir. Demineralize kemik matrisi ve ksenograflar gibi allogreftlerle yapılan kemik doku yenileme araştırmalarında ise patojen aktarımı veya alıcı tarafından yapının kabul edilmemesi gibi problemlerle karşılaşmaktadır. Eklem protezi, plaka ve vida olarak kullanılan metal implantlar titanyum alaşımları ve paslanmaz çelikten üretilmektedir. Eklem artroplastisi, uzun kemik ve omurga kırıkları meydana geldiğinde mekanik ve yapısal destek sağlamak için metal implantlardan yararlanılmaktadır. Biyobozunur olmamaları, ana doku ile iyi entegrasyon sağlayamamaları, enfeksiyon riski ve implantın tekrar çıkarılması gereken durumlarda yaşanan sıkıntılar metal implantların sınırlamaları olarak verilebilir.

Son on yılda, geleneksel cerrahi yöntemlerle ilgili komplikasyonların üstesinden gelebilme motivasyonu ile ortaya çıkan doku mühendisliği çalışmaları kemik doku onarımı için gelecek vaat etmektedir. Son zamanlarda doku/organ nakline yönelik sürekli artan talep ve donör bulmakta yaşanan ciddi sıkıntılar nedeniyle bu alternatif doku yenileme yöntemi stratejik bir öneme sahip hale gelmiştir. Doku iskelesi, hedef dokuya uygun hücre ve çeşitli ikincil faktörlerin en iyi şekilde birleştirilmesi ile tasarlanmış yapıların geliştirilmesi, sözü edilen sorunların üstesinden gelmek adına potansiyel bir çözüm yoludur.

Kemik doku mühendisliğinde kullanılan bir biyomalzeme, işlevini yitirmiş bölgede kemiğin büyümesi ve gelişmesine kılavuzluk etmek için özel bir ortam ve yapısal destek sağlayan geçici bir matris olarak tanımlanabilmektedir. Bu bağlamda doku iskeleleri üç boyutlu doku oluşumunu desteklemek için kullanılan sentetik, yapısal ve fonksiyonel elemanlardır. Doku iskeleleri hücre içermeyen sistemler olarak ya da hücre/ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilir. Hücre içermeyen iskeleler hasarlı bölgeye yerleştirildikten sonra doku yenilenmesinin gerçekleşmesi için konak hücrelerin tutunup çoğalmasına izin verir nitelikte olmalıdır [110].

Doku iskeleleri hücre çoğalması ve farklılaşması için gerekli ilk adım olan hücre tutunmasına imkân sağlamalıdır. Nanofibröz yapıların insan osteoblastlarının tutunmasını kolaylaştırdığı bilinmektedir. Ayrıca hücre morfolojisi ve canlılığını korumaya da yardımcı olmaktadır. Polimerik nanofiberler hücresel tutunmanın gerçekleşmesi açısından biyoaktif rol oynamaktadır. Bu bağlamda Kitosan/PEO çözeltisi ile hazırlanan nanofiberlerin hücrelerin tutunması için iyi bir temas yüzeyi oluşturduğu ve hücreleri bağlanmaya teşvik ettiği raporlanmıştır. Kitosan nanofiberler ise hücre aktivitesini geliştirmek için esas olan daha geniş yüzey alanı ve daha iyi gözeneklilik göstermiş ve osteoblastların adhezyonu için uyarımı sağlamıştır [113-114].

Klossner ve arkadaşları; kitosanın reolojik özellikleri ile elektroçirme edilebilirliği arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Bu çalışmada; biyoyumluluğu, esnek zincirli lineer yapısı, çok ince fiber oluşturma yeteneği, suda çözünebilmesi ve makromoleküllerle hidrojen bağı oluşturmak gibi mükemmel özellikleri sebebiyle elektroçirme edilebilirliği geliştirmek için polietilen oksit seçilmiştir. Kullanılan kitosanın deasetilasyon derecesi % 75-85 arasındadır. Sırasıyla 600 000 g / mol, 400 000 g/mol ve 148 000 g/mol molekül ağırlığına sahip kitosan ile PEO karışımından  $62 \pm 9$  nm' den  $129 \pm 16$  nm' ye değişen çaplarda pürüzsüz ve düzgün nanofiberler üretilmiştir. Çalışma sonuçları, toplam polimer konsantrasyonu (kitosan +

PEO) arttıkça, boncuk sayısında azalma ve kitosan yoğunluğu arttıkça fiber çapında azalma olduğunu göstermiştir [115].

Subbiah ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; asetik asit-su çözücü sistemindeki toplam polimer konsantrasyonu sabit tutularak, kitosan ve PEO miktarlarındaki bir miktar değişme ile kitosanın sebep olduğu yüksek vizkositenin dengelendiği ve böylece çözeltiden daha kolay nanofiber elde edilebildiği rapor edilmiştir. Toplam konsantrasyon ağırlıkça % 2,5 ile % 3,4 arasında iken Kitosan/PEO oranını (2:3) ayarlayarak neredeyse hatasız fiberler edilmiştir. Üretilen nanofiberdeki kitosan miktarını artırmak için çözeltide kitosan konsantrasyonu % 1,6' dan % 2,5'a çıkartılmıştır. Bu değişim ile çözeltideki polimer miktarını ağırlıkça % 3.4' den % 4' e yükselmiştir ve üretilen nanofiberlerin çoğunluğu (% 60) boncuksuz, düzgün yapıya sahiptir [46].

Zhang ve arkadaşları; in situ birlikte çöktürme tekniği ile elektroegirme yöntemini birleştirerek Hidroksiapatit (HA)/Kitosan biyomimetik nanofiberleri hazırlanmıştır. Kitosan matris içerisinde iç biçimli HA nano partiküllerin homojen dağılımını sağlamak amacıyla in situ birlikte çöktürme tekniği kullanılmıştır ve ağırlıkça % 30 HA kütle oranına sahip nanokompozit sentezlenmiştir. Fiber oluşturmayı kolaylaştırmak için az miktarda ağırlıkça % 10 çok yüksek molekül ağırlıklı polietilen oksit (UHMWPEO) kullanılarak,  $214 \pm 25$  nm çapa sahip sürekli nanofiberler elde edilmiştir. Kristal yapıya sahip olan hidroksiapatit baskın asetik asit çözücü sisteminde varlığını ve yapısını korumuştur [116].

Shen ve arkadaşları, kitosan, PVA ve HA karışım çözeltilisinden elektroegirme yöntemi ile çok ince, pürüzsüz ve yoğun bir şekilde HA parçacıkları barındıran nanofiberler elde etmiştir. HA içeriğinin ağırlıkça % 0' dan % 0.5'e çıkması ile karışım çözeltilisinde iletkenliğin iki katından daha fazla arttığı ve ortalama fiber çapının  $59 \pm 10$  nm' den  $49 \pm 10$  nm' ye düştüğü görülmektedir. Sonuçlara bakıldığında bazı HA nanopatiküllerin fiber içerisine bazılarının ise yüzeye dağıldığı belirtilmiştir [117].

Yang ve arkadaşları tarafından Kitosan/PVA/HA biyomimetik doku iskeleleri üretilmiştir. Nano boyutta gözeneklilik gösteren doku iskeleleri rastgele fiber matı oluşturmuştur ve fiber çap dağılımı 100 nm ile 700 nm arasında değişmektedir. HA miktarı % 2'ye kadar çıkarıldığında çekme dayanımı ve elastik modülü artmakta fakat HA miktarı daha fazla

yükseltildiğinde çekme dayanımının ve elastik modülün düşmeye başladığı rapor edilmiştir [118].

Polikaprolakton (PCL), iyi esnekliğe sahip yarı kristalli bir polimerdir, cerrahi dikişlerde ve ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilir. Yang ve arkadaşları; farklı miktarlarda kitosan (% 0, % 3, % 9 ve % 23) içeren PCL/Kitosan nanofiberler hazırlanmıştır. Elde edilen nanofiberlerin karakterizasyonu; yapıdaki kitosan miktarı ile ortalama fiber çapı, hidrofiliklik, Young Modülü ve fiber bozunumu arasında sıkı bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca PCL/Kitosan nanofiberler kemik doku oluşumunu teşvik etmede saf PCL fiberlerden daha üstün özellik göstermiştir [119].

Bir diğer çalışmada; PCL ve kitosan “core-shell” elektroğirme işlemi sonucunda birbiri ile bağlantılı gözeneklere sahip mikro ve nano boyutlu fiberler edilmiştir. Bu yapılar doğal ECM'ye benzemektedir ve bağlantılı gözenek yapısının besinlerin difüzyon oranını arttırdığı belirtilmiştir [120].

Polivinilalkol (PVA) polimerinin gelişmiş fiber oluşturma yeteneğinden faydalanmak amacıyla elektroğirme tekniği ile PVA/Kitosan nanofiberler elde edilmiştir. Elde edilen fiber çaplarının 20 nm ile 100 nm aralığında olduğu görülmüştür. % 82,5 deasetilasyon derecesine sahip kitosan ve PVA asetik asit (% 2 (v/v)) içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan çözeltilerde PVA miktarının artması ile daha az boncuk içeren ve ince fiberler elde edilmiştir [121]. Yapılan başka bir çalışmada ise PVA/Kitosan nanofiber matlarının gözenekliliği ve gözenek morfolojisi, hücre göçünü ve kan damarları oluşumunu artırmıştır. Bu bileşimdeki nanofiberlerin hücre tutunmasını, çoğalmasını ve hücre göçünü geliştirmeye katkıda bulunduğu belirtilmiştir [122].



## 9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

### 9.1. Malzeme ve Metot

Bu çalışmada, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 oranlarında hazırlanan 10 ml'lik kitosan/PEO çözeltilerine 100 mg nanohidroksiapatit (nHAp) eklenerek elektroğirme yöntemi ile nanofiberler elde edilmiştir. Ayrıca nanohidroksiapatit ilavesinin nanofiber karakteristiğine etkilerini araştırmak amacıyla nHAp miktarı 200 mg'a çıkarılarak bir kitosan/PEO çözeltisi hazırlanmıştır. Üretilen nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve X-Işınları Difraksiyonu (XRD) ile yapısal ve morfolojik analizleri, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile kimyasal analizleri yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında polimer çözeltisi hazırlama işlemleri Gazi Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Nano Malzeme Sentez ve Üretim Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Nanofiber üretimi için Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde bulunan Elektroğirme cihazı (Teknotıp Türkiye) kullanılmıştır.

### 9.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler Çizelge 9.1' de yer almaktadır.

Çizelge 9.1. Polimer çözeltisi hazırlamada kullanılan kimyasal malzemelerin listesi

Malzeme	Spesifik Özellik	Firma
Kitosan	Orta Molekül Ağırlıklı (190 000-310 000 Da)	Sigma Aldrich
Polietilenoksit (PEO)	600 000 Da	Sigma Aldrich
Nanohidroksiapatit (nHAp)	< 200 nm	Sigma Aldrich
Asetik Asit (Glasiyal)	≥ % 99.8 Safılık	Sigma Aldrich
Sodyum Hidroksit (NaOH)		Merck

### 9.3. Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmada 100 mg nHAp miktarı sabit tutularak 50:50 60:40 70:30, 80:20 ve 90:10 kitosan/PEO oranlarında beş farklı çözelti hazırlanmıştır. Buna ek olarak 200 mg nHAp içeren 60:40 Kitosan/PEO çözeltisi de hazırlanmıştır. Toplamda altı ayrı çözeltilerden elektroğirme yöntemi ile nanofiber elde edilmiştir.

Polimer çözeltilerini hazırlamak için öncelikle asetik asit ve distile su ile asetik asidin seyreltilmesi işlemi yapılmıştır. İki farklı beherde % 90' lık 50 ml asetik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra kitosan % 50 (w/v) sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi içerisinde 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş, distile su ile yıkandıktan sonra standart kurutma kağıdı ile süzülerek suyu uzaklaştırılmış ve oda şartlarında kurutulmuştur.

Bu işlemlerden sonra Kitosan: PEO/nHAp çözeltileri aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

- % 3'lük Kitosan Çözeltisi (50 ml)  
1,5 g Kitosan  
45 ml Asetik Asit  
5 ml Distile Su

1,5 g kitosan sonra bir behere alınarak üzerine % 90'lık (45 ml asetik asit + 5 ml distile su) asetik asit çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan % 3 (w/v) kitosan çözeltisi homojen hale gelene kadar bir gece manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır.

- % 3' lük PEO Çözeltisi (50 ml)  
1,5 g PEO  
45 ml Asetik Asit  
5 ml Distile Su

1,5 g PEO behere alınarak üzerine % 90'lık" (45 ml asetik asit + 5 ml distile su) asetik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan % 3 (w/v) PEO çözeltisi tamamen homojen hale gelmesi için bir gece manyetik karıştırıcıda oda sıcaklığında karıştırılmıştır.

Çözelti derişimleri % 3 (w/v) Kitosan ve % 3 (w/v) PEO 50 ml stok çözeltiler hazırlandıktan sonra bu çözeltiler 50:50 60:40 70:30, 80:20 ve 90:10 kitosan/PEO oranlarında

birleştirilerek homojen çözelti oluşturmak için 3 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmış. Daha sonra çözeltilere ve 100 mg nHAp ilave edilerek 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve çözeltiler elektrospın işlemine hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 9.2. Elektroğırme işlemi için hazırlanan Kitosan(CH):PEO/nHAp çözeltileri.

(10 ml) Kitosan(CH) : PEO	% 3 CH Çözeltisi miktarı (ml)	% 3 PEO Çözeltisi miktarı (ml)	nHAp miktarı (mg)
50:50	5 ml	5 ml	100 mg
60:40	6ml	4 ml	100 mg
60:40	6 ml	4 ml	200 mg
70:30	7 ml	3 ml	100 mg
80:20	8 ml	2 ml	100 mg
90:10	9 ml	1 ml	100 mg



Resim 9.1. Elektroğırme için hazırlanan CH:PEO/nHAp çözeltileri

#### 9.4. Nanofiberlerin ElektroğırmeYöntemi ile Üretilmesi

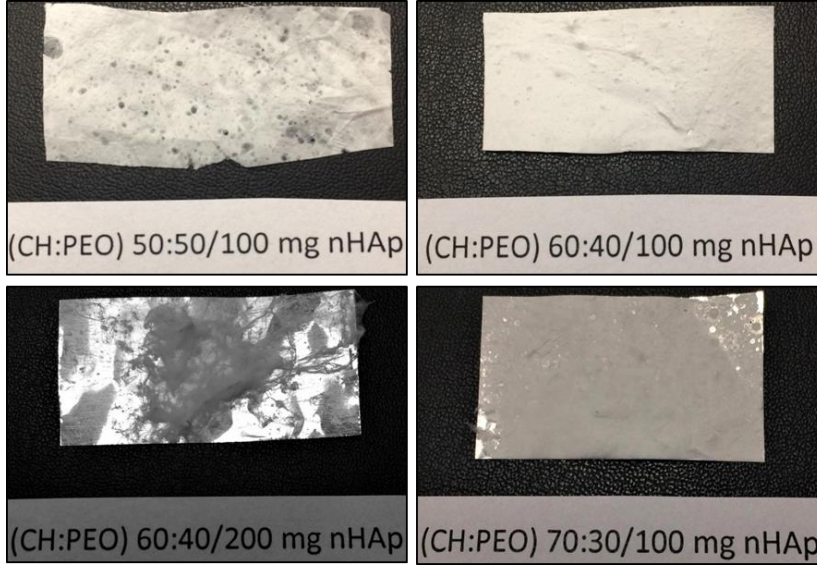
Hazırlanan çözeltiler ilk olarak 5 ml' lik şırıngaya alınmıştır. Daha sonra 0,8 mm iç çapa sahip pirinçten yapılmış özel bir uç kullanılarak elektroğırme işlemi gerçekleştirilmiştir (Resim 9.2). Her bir numune için en uygun parametreler literatür taraması ve çalışmamızda gerçekleştirilen pilot deneyler sonucunda belirlenmiştir. Çizelge 9.3' de çalışmalar sonucu elde edilen optimum proses parametreleri yer almaktadır. Alüminyum folyo üzerine toplanan nanofiber matlar petri kutularına konularak oda sıcaklığında (25°C) kurumaya bırakılmıştır.



Resim 9.2. Tez çalışmasında kullanılan elektroğirme cihazı

Çizelge 9.3. Çözeltilerin elektroğirme reçeteleri

Numune Bileşimi (CH:PEO/nHAp)	Şırınga Toplayıcı Uzaklığı (cm)	Uygulanan Voltaj (kV)	Pompa hızı (ml/h)
50:50/100 mg nHAp	17,5	20	0,5
60:40/100 mg nHAp	17,5	17	0,5
60:40/200 mg nHAp	17,5	17	0,5
70:30/100 mg nHAp	16	20	0,5
80:20/100 mg nHAp	15	20	0,5
90:10/100 mg nHAp	14	20	0,5



Resim 9.3. Nanofiber matı oluşturulabilen CH:PEO/nHAp Numuneleri

### 9.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Elde edilen nanofiberlerin çap dağılımlarını ve yüzey morfolojilerini belirlemek için Gazi Üniversitesi Metalurji Malzeme Mühendisliği Bölümü' nde bulunan Jeol JEM 6060 LV marka taramalı elektron mikroskobu "High vacuum" modunda kullanılmıştır (Resim 9.4.).

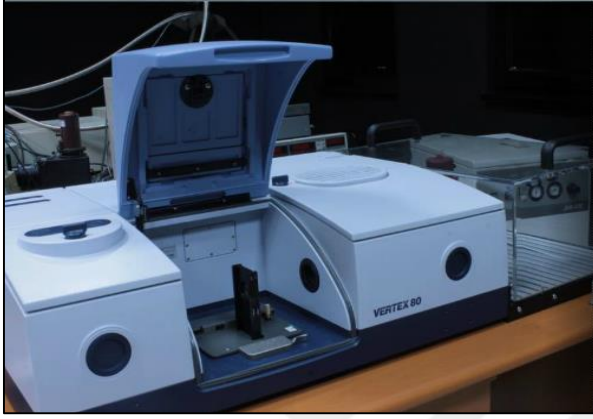
Üretilen polimerik nanofiber numuneleri SEM'de görüntü alabilmek için uygun hale getirmek amacıyla 10 mm x 8 mm şeklinde kesilmiştir. Numunelerin iletkenliğini artırmak için yaklaşık 90 saniye altın kaplama işlemi yapılmıştır.



Resim 9.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Gazi Üniversitesi)

### 9.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

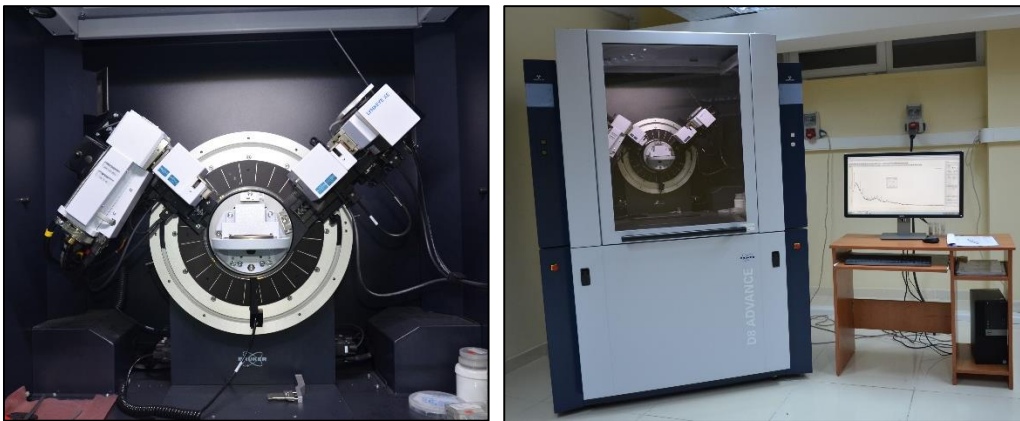
Üretilen nanofiberlerin kimyasal bağ yapılarını incelemek amacıyla Gazi Üniversitesi Fotonik Uygulama ve Araştırma Merkezin’nde bulunan VERTEX 80 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) kullanılmıştır. Numuneler  $4000\text{ cm}^{-1}$  -  $400\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında ölçülmüştür (Resim 9.5).



Resim 9.5. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR) (Gazi Üniversitesi)

### 9.7. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Analizi

Nanofiberlerin yapısal analizinin yapılması, elektroçirime işlemi sonucu oluşan olası yapıların belirlenmesi için Gazi Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Bölümü’nde bulunan BRUKER D8 ADVANCE X-Işını Difraktometresi kullanılmıştır (Resim 9.6.). Cihazda  $\text{Cu-K}\alpha$  kaynağı ve monokromatize X-ışını elde edilmesini sağlayan, yüksek çözünürlükte grafit monokromatör bulunmaktadır. Ölçümler  $2\Theta=5-60^\circ$  aralığında yapılmıştır.



Resim 9.6. X-ışınları difraktometresi (XRD) (Gazi Üniversitesi)

## 10. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 10.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları

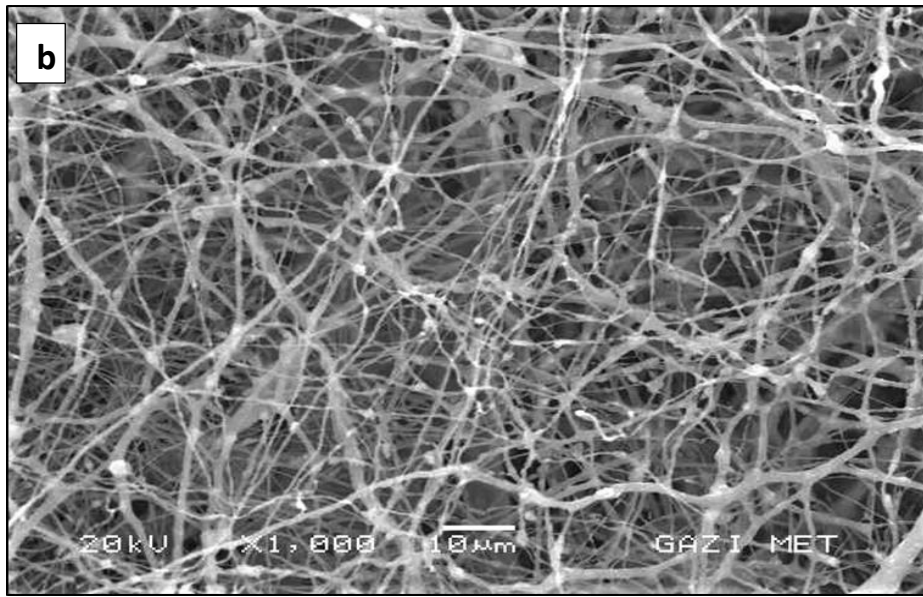
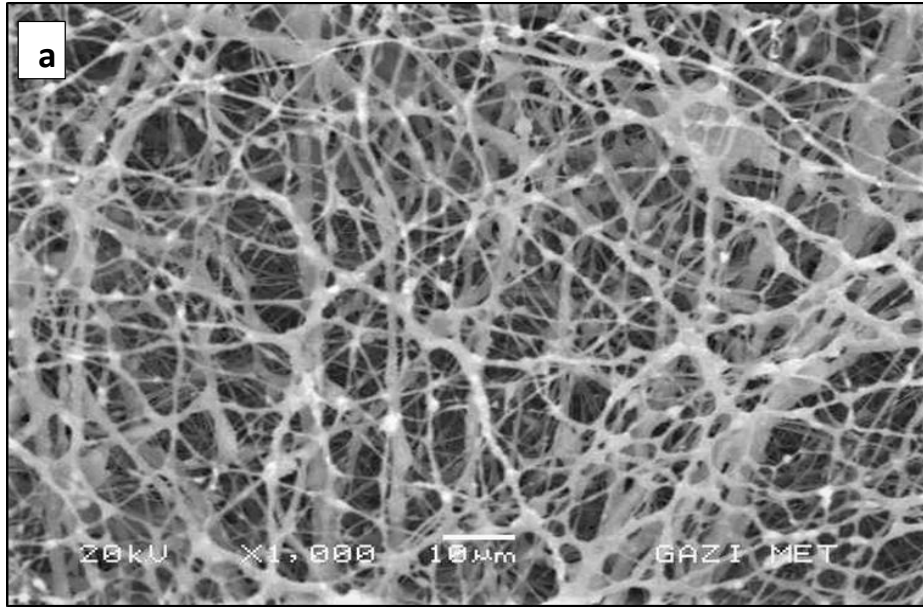
Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan CH:PEO/nHAp nanofiberlerin SEM görüntüleri alınmıştır. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp çözeltilerinden elde edilen nanofiberlerin ortalama çapları ve standart sapma değerleri Image J (National Institutes of Health, USA) programı ile hesaplanmıştır. Nanofiberlerin ortalama çapları sırasıyla; 461,14 nm, 195,95 nm, 217,20 nm'dir. (CH:PEO)70:30/100 mg nHAP ve (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp 10 ml hazırlanan çözeltilerinde elektroğirme işlemi sonucunda dengeli bir fiber oluşumu gözlenemediği için ortalama çap ve standart sapma hesaplamaları yapılamamıştır (Resim 10.6). Kitosanın oranının artışına bağlı olarak (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp numunesi de aynı özellikleri sergilemektedir (Resim 10.7).

Çizelge 10.1'de ortalama çap ve standart sapma değerleri verilmiştir. Eşit karışım oranına sahip olan (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesinde nanofiberlerin dağılımı 200- 500 nm arasında geniş bir dağılım sergilemektedir (Resim 10.1). Bu durum eş oranlarda hazırlanan konsantrasyonun dengeli fiber oluşumu için uygun olmadığını göstermektedir (Şekil 10.1).

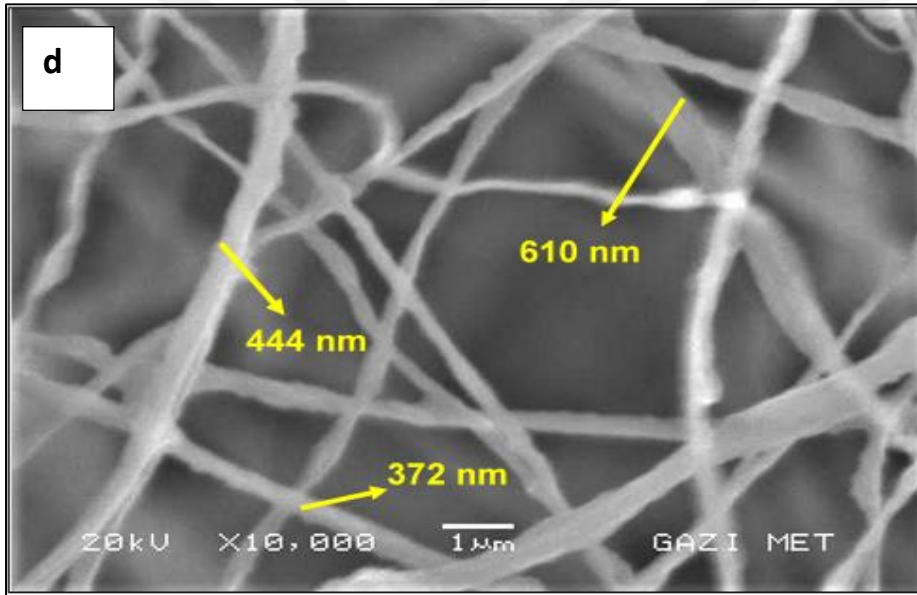
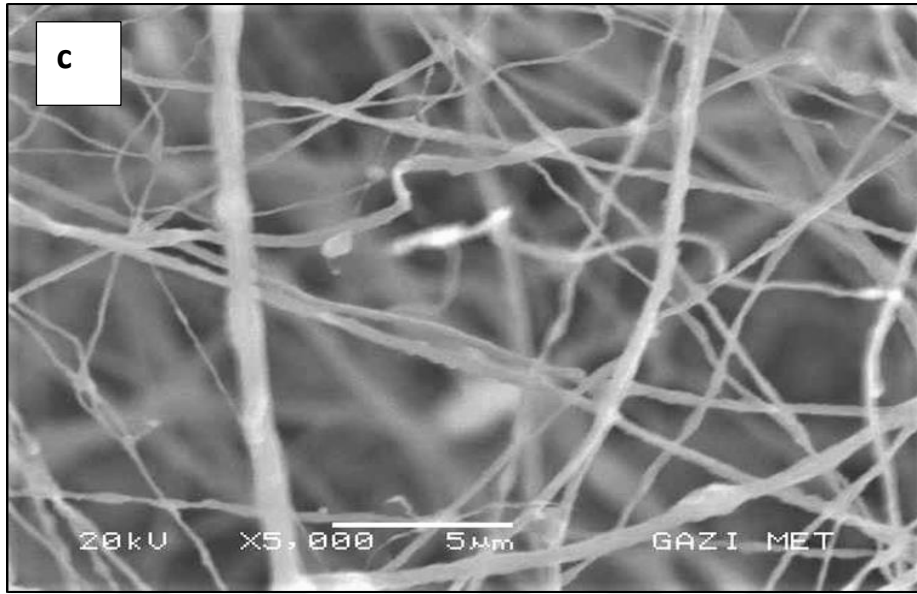
Çizelge 10.1. Nanofiberlerin çap ortalamaları ve standart sapma değerleri

Numune Bileşimi (CH:PEO/nHAp)	Ortalama Çap (nm)	Standart Sapma ( $\sigma$ )
50:50/100 mg nHAp	461,14	17,24
60:40/100 mg nHAp	195,95	11,33
60:40/200 mg nHAp	217,20	11,75

(CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesinde eşit hacimsel oranda kullanılan kitosan ve PEO daha çok ağırs formda bir yapı meydana getirmiştir. Bunun nedeni voltaj artışının bir dereceye kadar fiber çapını azaltma etkisi gösterirken belirli değerin üzerinde kontrolsüz bir şekilde polimer jetinin şırınga ucundan toplayıcıya çekilmesi sonucu toplayıcı da karmaşık yapıda fiberlerin oluşması olabilir. Nanofiberin geniş bir çap dağılımı sergilemesi de bunun bir göstergesidir. Bu numunede çözelti konsantrasyonunda PEO'nun artışı ile fiber oluşumu daha kolay hale gelmiş ve dolayısıyla ortalama nanofiber çapı artmıştır.

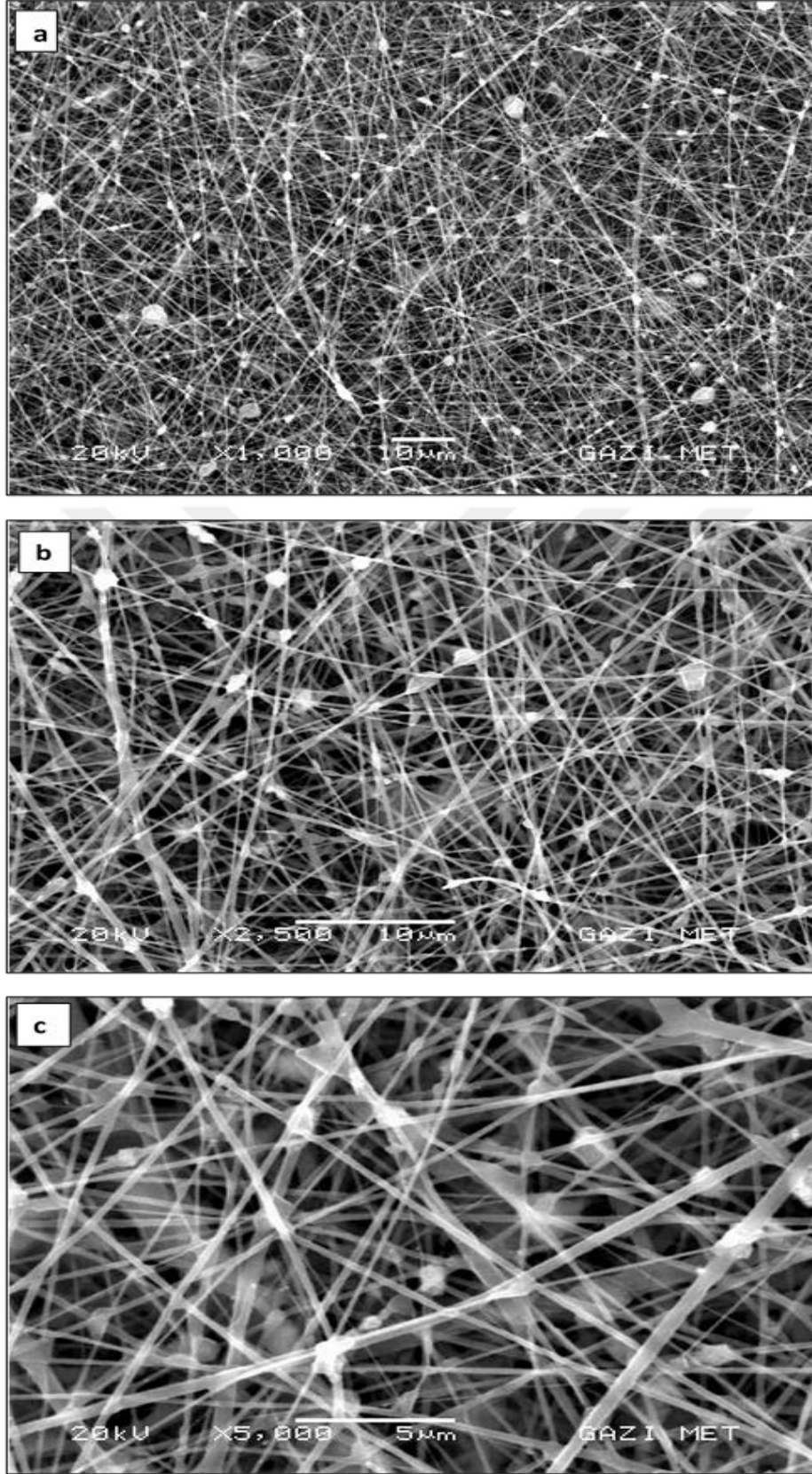


Resim 10.1. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri

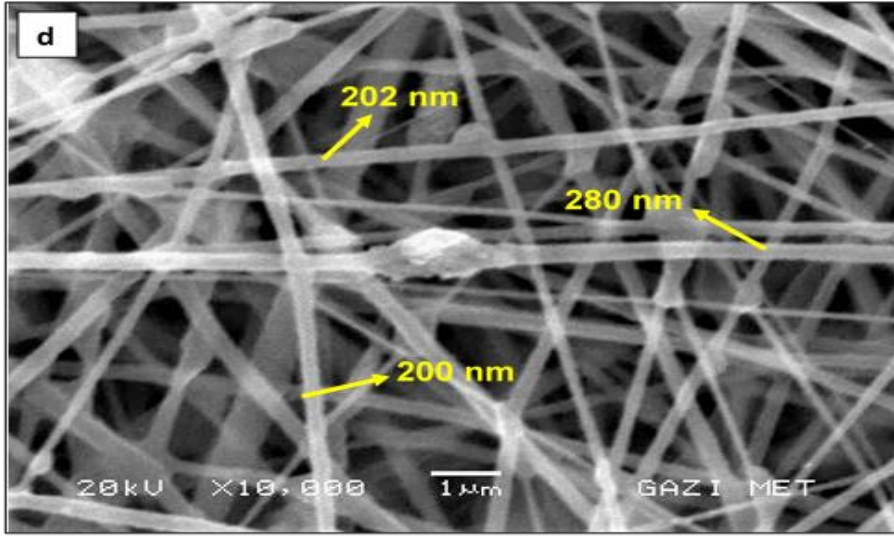


Resim 10.1. (devam) (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri

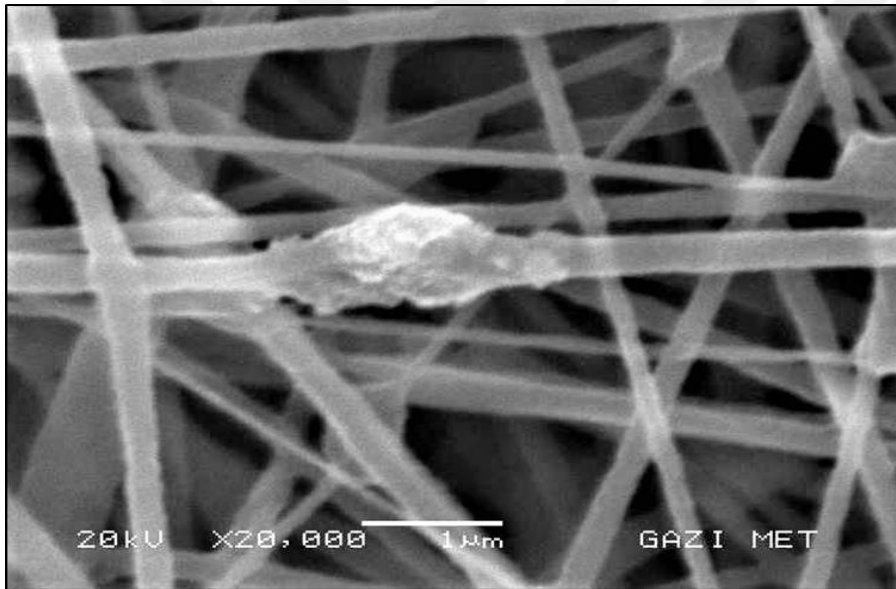
Resim 10.2’de (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri yer almaktadır. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesinde optimum koşulların sağlanması üzerine fiber ekseni boyunca uniform çapı koruyan, düzgün yapılı, boncuksuz nanofiberler elde edilmiştir. Ayrıca nHAp’ın yapıya entegre olduğu ve genelde anofiber yüzeyinde birikme eğilimi gösterdiği Resim 10.3’de görülmektedir. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesinde nanofiber çapı 100-200 nm aralığında yoğunlaşmıştır (Şekil 10.2).



Resim 10.2. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri



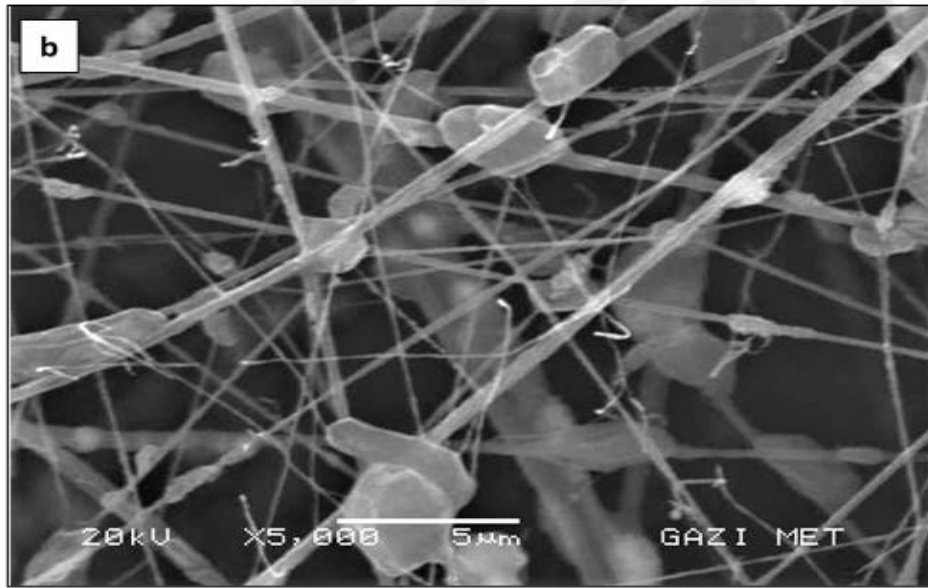
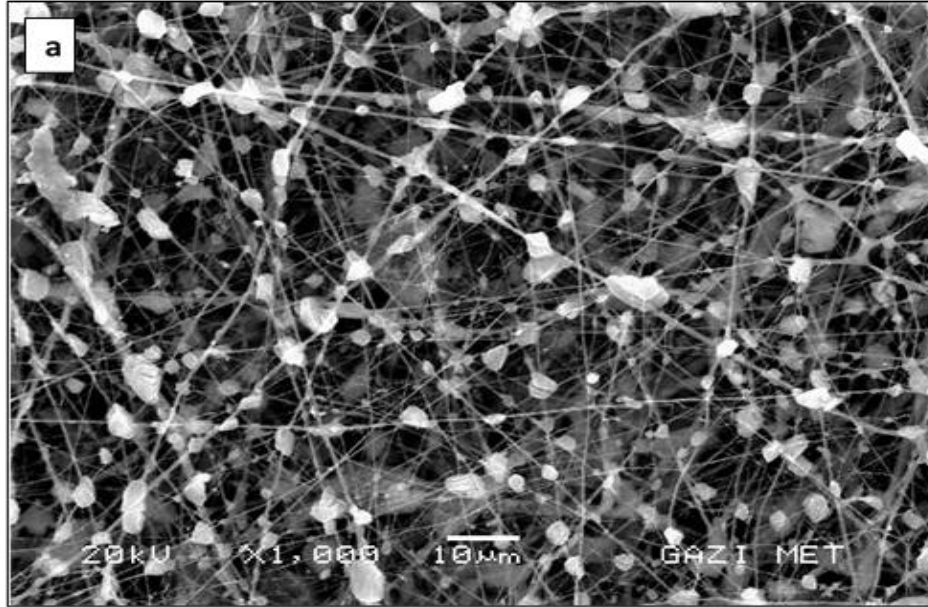
Resim 10.2. (devam) (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri



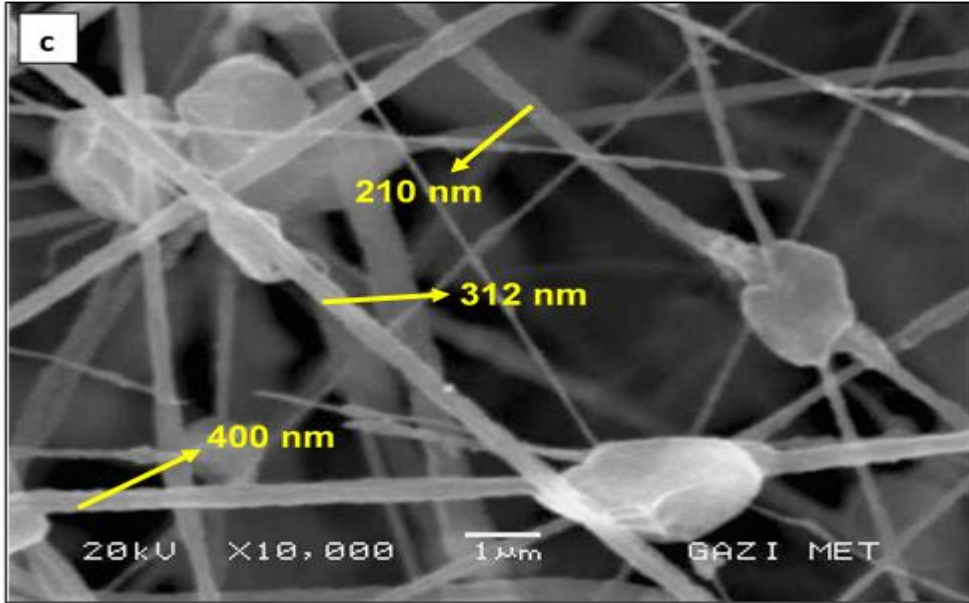
Resim 10.3. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp nanofiberlerinde hidroksiapatit entegrasyonu

200 mg nanohidroksiapatit kullanılarak (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesi hazırlanmıştır (Resim 10.4). (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesinde nanofiber çap dağılımı ise nanohidroksiapatit miktarının artışına bağlı olarak fiber çapı da göreceli artarak 100-300 nm arasında dağılım göstermiştir (Şekil 10.3). (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesinin sonuçları incelendiğinde; ortalama nanofiber çapında artış görülmektedir. nHAp oranının artması ile fiber çapının buna paralel olarak artması beklenen bir durumdur. Bu artış fiber oluşumunu olumsuz etkilemiştir, sürekli ve dengeli fiber yapısı

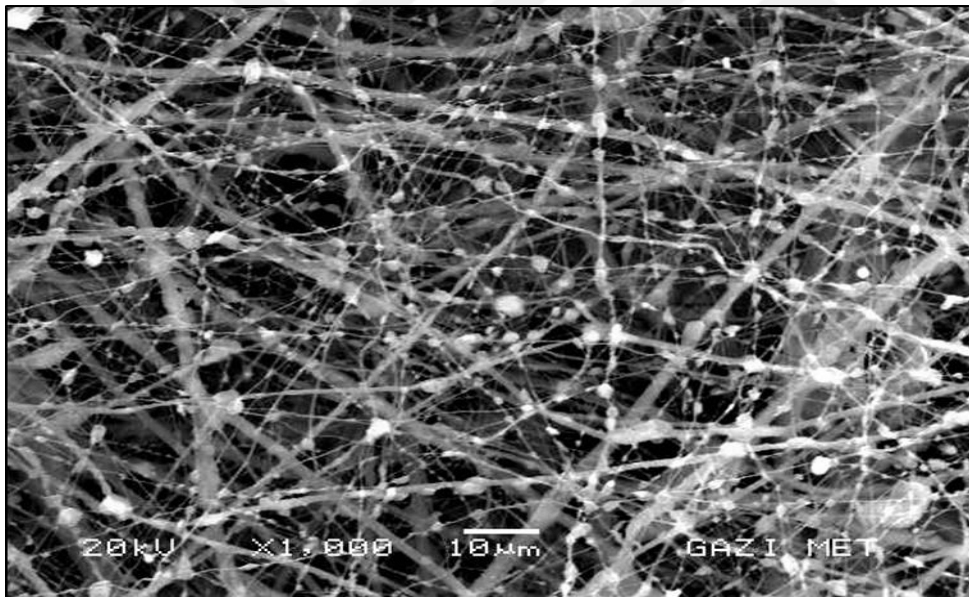
bozulmuştur. Bununla birlikte nHap miktarının çok fazla artışı ile nanofiber yapısında yoğun bir şekilde topaklanmalar ve fiber kopmaları göze çarpmaktadır.



Resim 10.4. (CH:PEO)60:40/200 mg nHap numunesine ait SEM görüntüleri



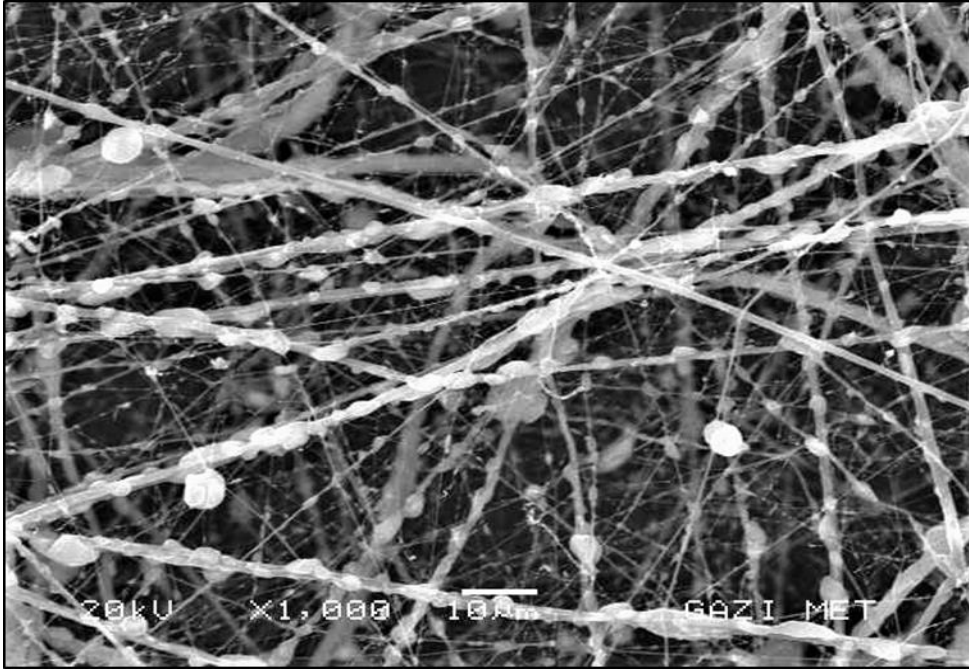
Resim 10.4. (devam) (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri



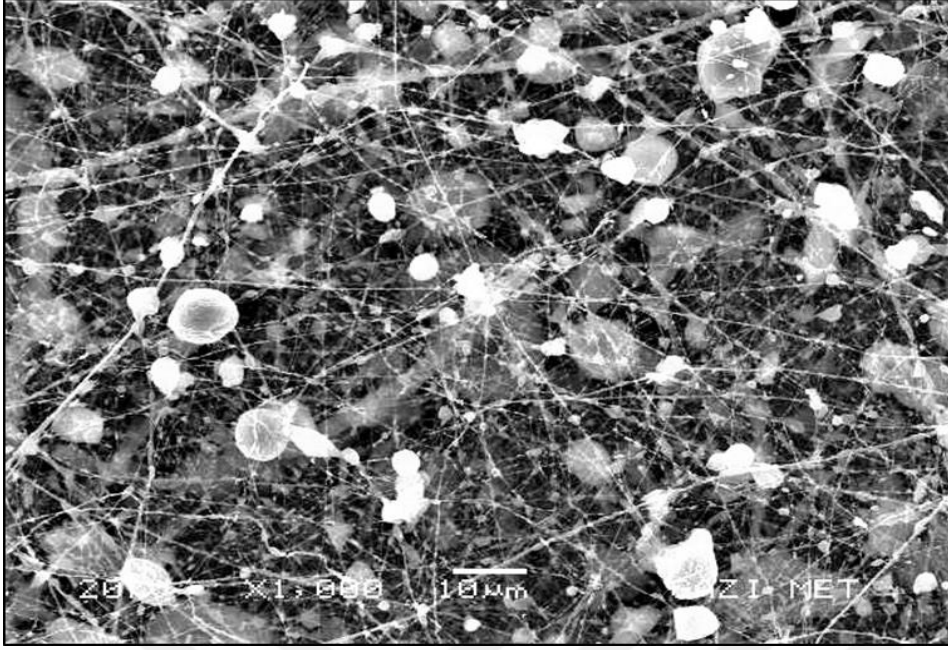
Resim 10.5. (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüsü

(CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunesinin çap dağılımı ve SEM görüntüleri birlikte değerlendirildiğinde; ince ve çok kalın nanofiberlerin bir arada bulunduğu ortaya çıkmıştır. Bu yapı düzensiz ve stabil olmayan bir polimer akışıyla gerçekleşmektedir. Çözelti bileşimindeki PEO miktarı azaldıkça PEO'nun fiber oluşumunu iyileştirici katkısı [123] azalmakta ve kitosan oranı arttıkça yüzey gerilimi arttığı için boncuk oluşumu gözlenmektedir. Ayrıca kitosan miktarının artması ile daha zayıf fiberler oluşmaya başlamıştır.

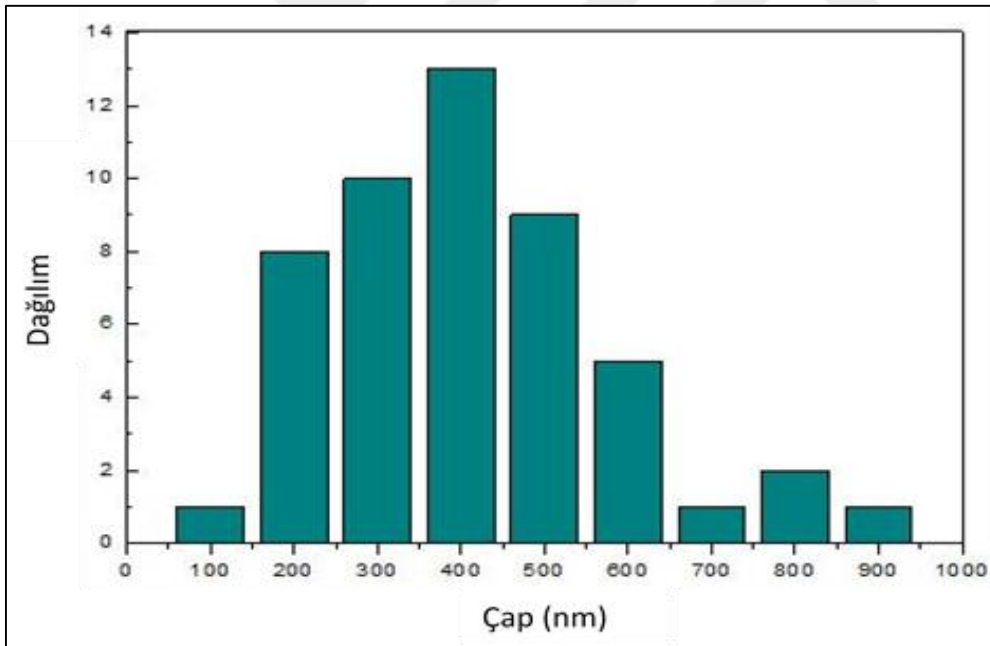
(CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp çözeltilerinden yüksek kitosan içeriği nedeniyle ince, zayıf ve süreksiz fiberler elde edilmiştir. SEM görüntülerinden de anlaşılacağı üzere çoğu zaman fiber oluşumu yerine spreyleme etkisi görülmüştür. Kitosan-asetik asit çözeltisi yüksek iletkenliğe ve yüzey gerilimine sahiptir. Nanofiber bileşimindeki kitosan oranının artması ile bu iki çözelti parametresi gereğinden fazla yükselmektedir. Bu nedenle çözelti elektrik alan altında fiber oluşturamadan direk olarak spreyleme etkisi ile toplayıcıya ulaşmaktadır [124]. Kitosan oranının artmasına bağlı olarak viskozite arttıkça çözeltinin fiber oluşturma yeteneği kısıtlanmıştır ve iğne ucunda tıkanmalar meydana gelmiştir. Sağlıklı bir elektroegirme işlem süreci gerçekleştirilememiş ve iğne ucundan sürekli fiber akışı gözlenememiştir. Bu sebeplerden ötürü homojen fiberler elde etmek mümkün olmamıştır. (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp numunelerinde gözlemlenen zayıf ve ince fiber oluşumu bu şekilde açıklanabilmektedir.



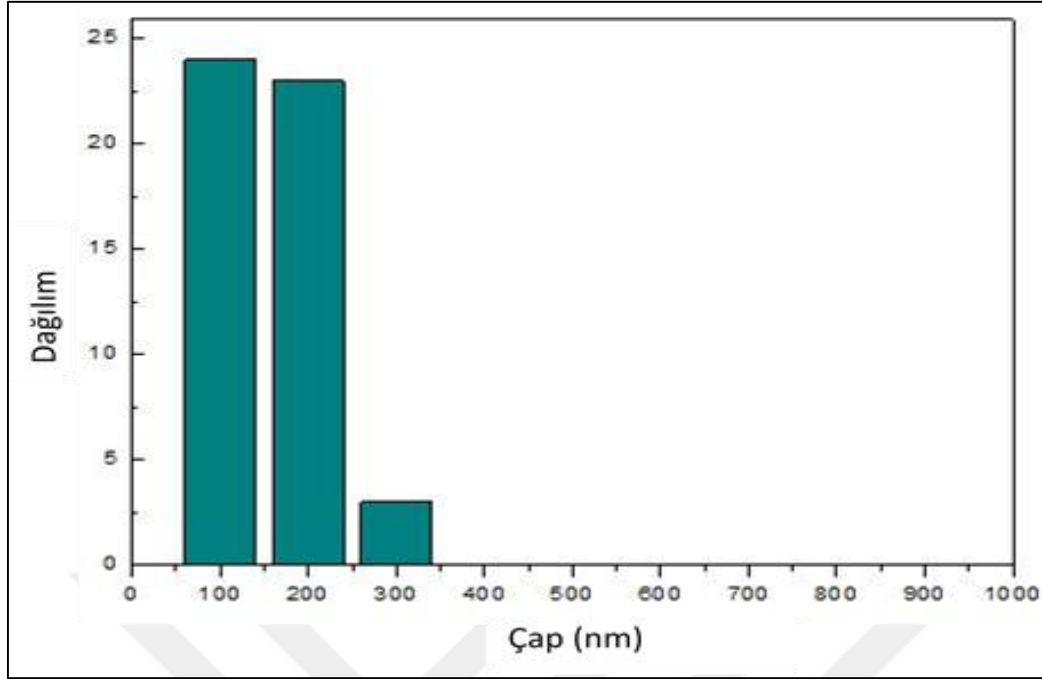
Resim 10.6. (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüleri



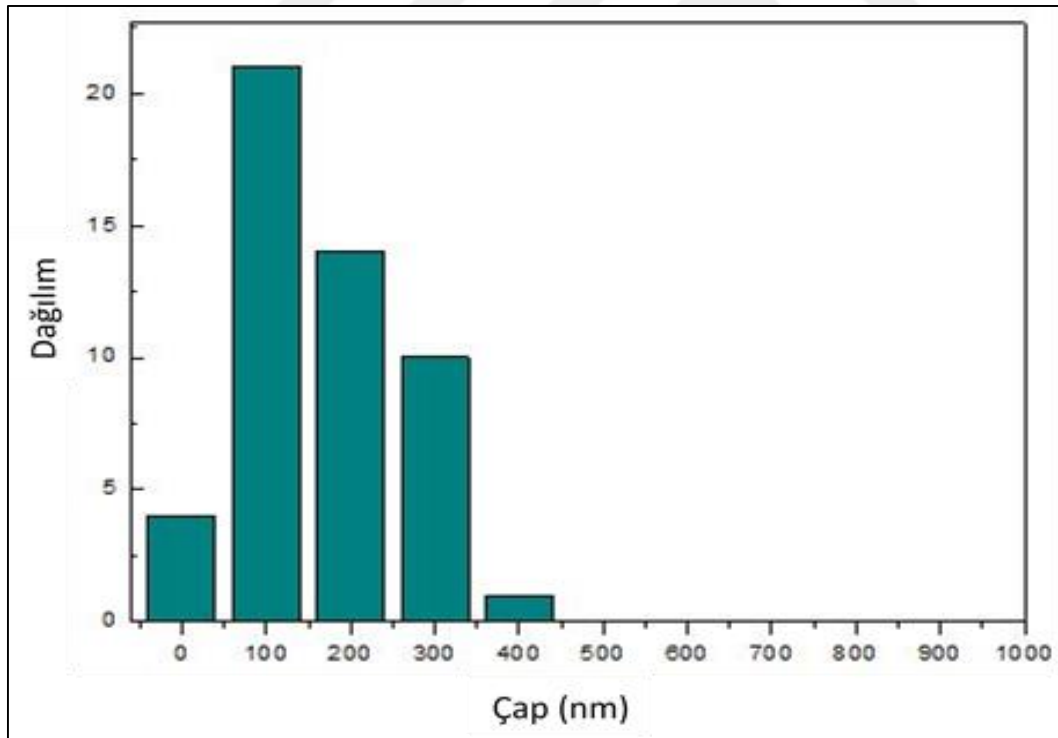
Resim 10.7. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp numunesine ait SEM görüntüsü



Şekil 10.1. (CH:PEO) 50:50/100 mg nHAp numunesi çap dağılımı



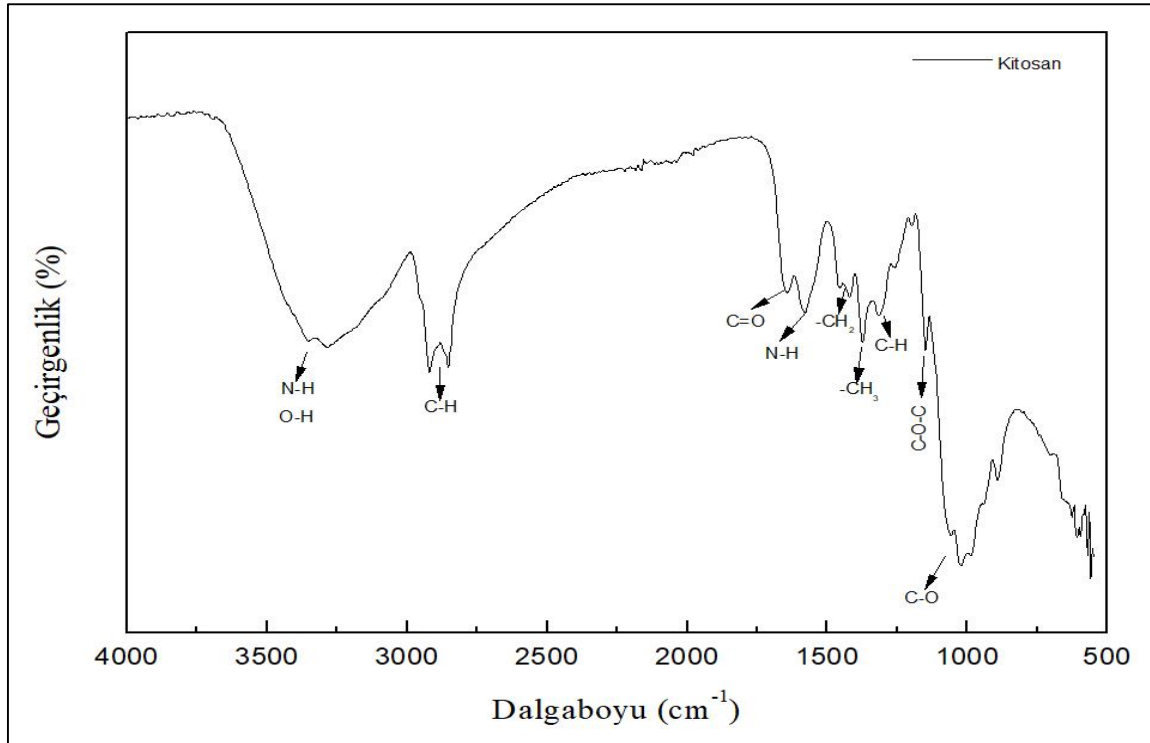
Şekil 10.2. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesi çap dağılımı



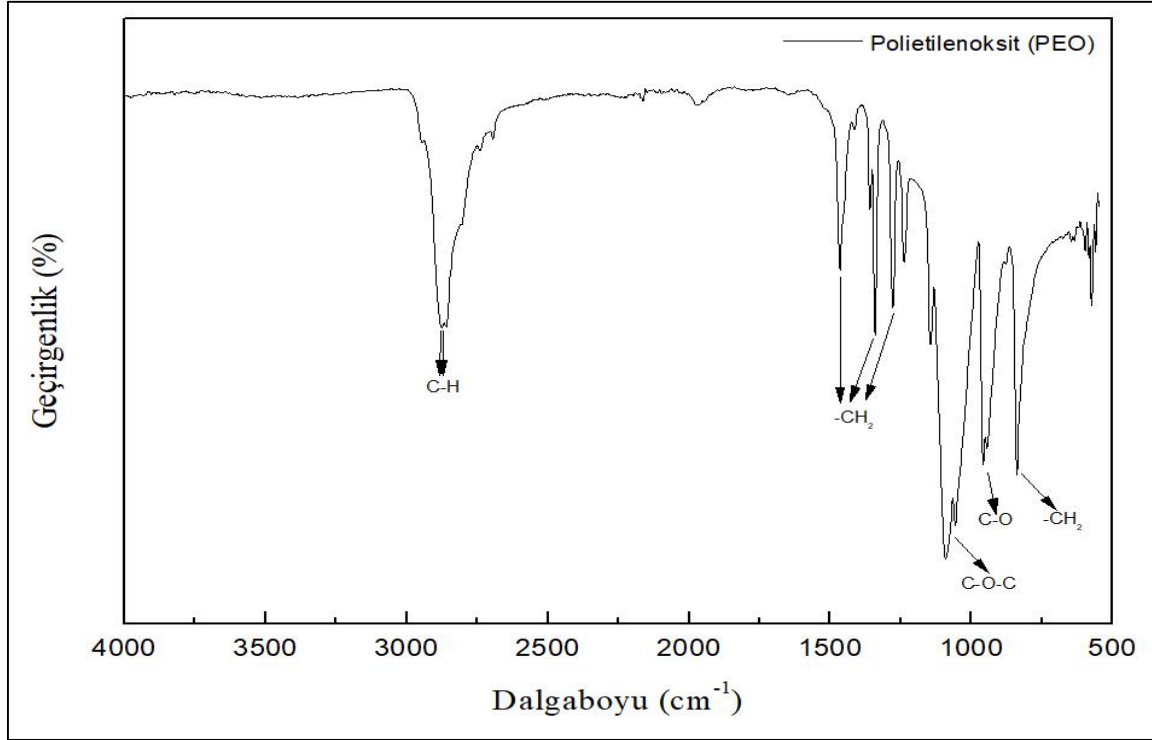
Şekil 10.3. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesi çap dağılımı

## 10.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Sonuçları

Çalışmada kitosan, PEO ve nHAp nanofiber bileşenlerinin saf hallerinin ve elde edilen (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp, (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp, (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp nanofiberlerin fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi analizleri  $4000\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$  aralığında yapılmıştır. Şekil 10.4'de kitosanın FTIR spektrumunda görüldüğü gibi  $3283\text{--}353\text{ cm}^{-1}$  bölgesindeki güçlü bant, hidrojen bağları ile birlikte N-H ve O-H gerilmelerine karşılık gelmektedir.  $2920\text{ cm}^{-1}$  ve  $2852\text{ cm}^{-1}$  bantları sırasıyla C-H simetrik ve asimetric gerilmelerine aittir.  $1645\text{ cm}^{-1}$ 'deki C=O amit I ve  $1317\text{ cm}^{-1}$  C-N amit III gerilmeleri kalıntı N-asetil gruplarının varlığını temsil etmektedir. Bu bantlar, polisakkaritlerin tipik karakteristikleri olarak diğer polisakkarit spektrumlarında da bulunmaktadır [125]. Primer amin N-H bükülmesine ait olan  $1582\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik açıkça görülmektedir [126].  $\text{-CH}_2$  bükülmesi ve  $\text{-CH}_3$  simetrik gerilmesi sırasıyla  $1420\text{ cm}^{-1}$  ve  $1374\text{ cm}^{-1}$  bantları ile açıkça görülmektedir.  $1149\text{ cm}^{-1}$  bandı C-O-C asimetric gerilmesi ile bağdaştırılır.  $1059\text{ cm}^{-1}$  ve  $1024\text{ cm}^{-1}$  bantlarındaki pikler C-O gerilmesine ait olduğu görülmektedir [127-128]



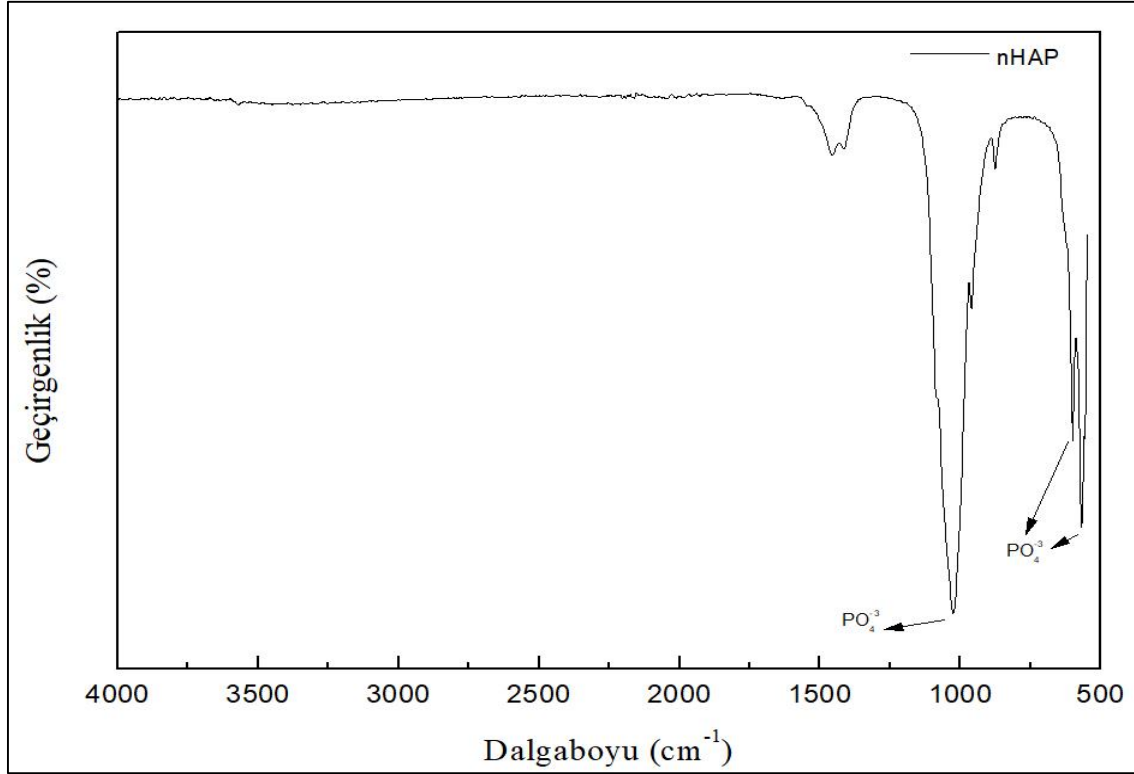
Şekil 10.4. Kitosan FTIR spektrumu



Şekil 10.5. Polietilen oksit (PEO) FTIR spektrumu

Şekil 10.5’da görüldüğü gibi  $2875\text{ cm}^{-1}$ ’de görülen geniş bant PEO’nun C-H gerilmesini işaret etmektedir.  $1144\text{ cm}^{-1}$ ,  $1092\text{ cm}^{-1}$  ve  $1057\text{ cm}^{-1}$ ’deki güçlü üçlü pik PEO’da bulunan C-O-C gerilmesine aittir [129].  $1466\text{ cm}^{-1}$ ,  $1359\text{ cm}^{-1}$ ,  $1273\text{ cm}^{-1}$  ve  $839\text{ cm}^{-1}$  de görülen pikler çeşitli şekil ve konformasyonda  $-\text{CH}_2$  gerilmelerine aittir [130].  $959\text{ cm}^{-1}$  ve  $944\text{ cm}^{-1}$  bantları C-O gerilmelerinin kanıtıdır [131].

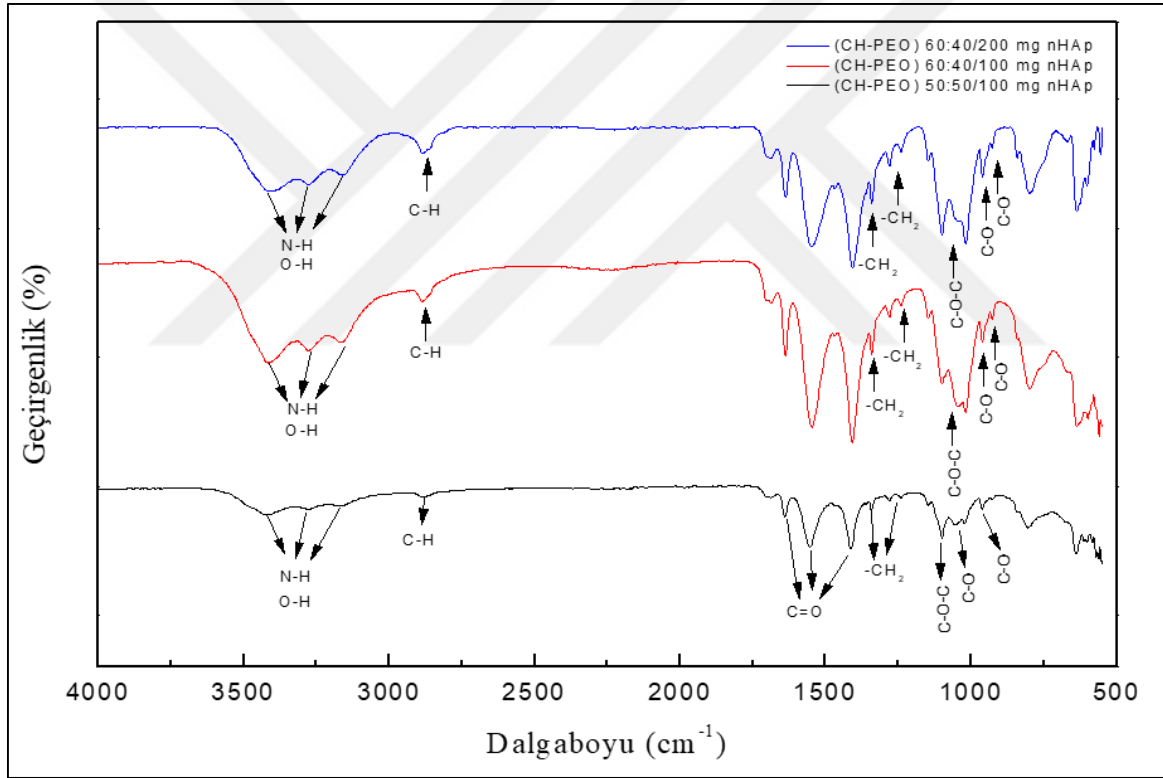
Nanofiber bileşenlerinden hidroksiapatitin FTIR spektrumu Şekil 10.6’da görülmektedir.  $1025\text{ cm}^{-1}$ ’de fosfat grubuna ait pik açık bir şekilde görülmektedir.  $600\text{ cm}^{-1}$  ve  $568\text{ cm}^{-1}$ ’de yine fosfat grubu gerilmeleri görülmektedir [132].



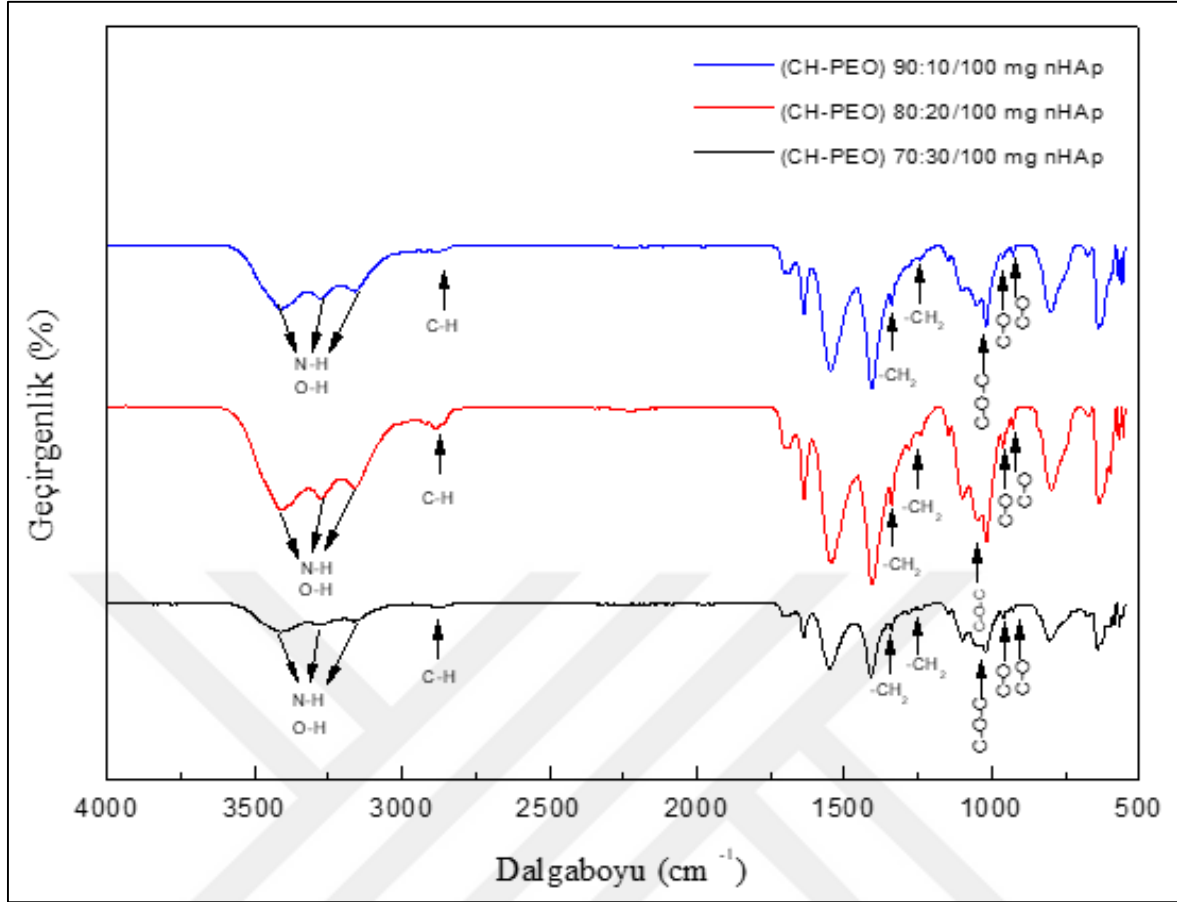
Şekil 10.6. Nanohidroksiapatit (nHAp) FTIR spektrumu

Üretilen nanofiberlerin FTIR analizleri değerlendirildiğinde; yaklaşık  $3400\text{ cm}^{-1}$  ile  $3160\text{ cm}^{-1}$  değerleri arasında ortaya çıkan güçlü geniş pik kitosan ve sodyum asetat piklerinin üst üste gelmesi ile meydana gelmiştir ve N-H ve O-H gerilmelerini işaret etmektedir [133]. Bu geniş bantta bulunan pik yarılmalarının nedeni sodyum asetat hidratın etkisine bağlanmıştır.  $2885\text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan pik nanofiber yapısındaki PEO içeriği ile beslenen C-H gerilmesine aittir. Bu pikin şiddeti (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunesinde en yüksek iken (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp numunesinde neredeyse yok denilecek seviyeye inmektedir. Başka bir deyişle; pik şiddeti bileşimdeki PEO oranı arttıkça yükselmekte ve Nanofiberlerin FTIR spektrumunda birçok üst üste çakışmış pikler bulunmaktadır. Çünkü organik ve inorganik bileşenlerin yanı sıra çözelti hazırlanması esnasında da kimyasallar yapıya eklenmiştir. Elektroçirme işlemi sonucunda oluşan nanofiberlerde sodyum asetat hidrat pikleri kendini göstermektedir. Bununla birlikte nanofiber bileşenlerinin birbiri ile olan etkileşimi pik pozisyonlarını değiştirmektedir. Kitosanın deasetilasyon derecesini artırmak için kullanılan sodyum hidroksitin kitosandan yeterli miktarda uzaklaştırılmaması ve polimerlerin asetik asit içerisinde çözülmesi sonrasında oluşan sodyum asetat pikleri;  $1637\text{ cm}^{-1}$ ,  $1550\text{ cm}^{-1}$ 'de,  $1406\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O gerilmesi olarak görülmektedir [134]. Bu yüksek şiddete sahip olan iki güçlü pikte kitosan, PEO ve sodyum asetat bantlarının üst üste

gelmesi olası görünmektedir. Titreşim bantlarında görülen kaymalar kitosan ve polietilen oksitin molekülleri arasında oluşan hidrojen bağları sebebiyle gerçekleşebilmektedir.  $1340\text{ cm}^{-1}$ ,  $1280\text{ cm}^{-1}$  ve  $1240\text{ cm}^{-1}$  bantlarında  $-\text{CH}_2$  titreşim frekanslarına ait olan piklerin şiddeti nanofiber yapısındaki PEO oranının artması ile artmaktadır.  $1147\text{ cm}^{-1}$ ,  $1100\text{ cm}^{-1}$  ve  $1048\text{ cm}^{-1}$  üçlü piki PEO' in yapıdaki oranı ve kitosanın C-O gerilmelerinin katkısı ile FTIR spektrumunda değişiklik göstermektedir. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesinin FTIR spektrumu incelendiğinde ise  $1100\text{ cm}^{-1}$  ile  $1018\text{ cm}^{-1}$  aralığında fosfat grubu pikinin kendini gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen nanofiber yapısı içerisinde kitosan, polietilen oksit, nanohidroksiapatit ve kalıntı sodyum asetat hidrat bulunduğu FTIR analiz sonuçlarına göre anlaşılabilir.



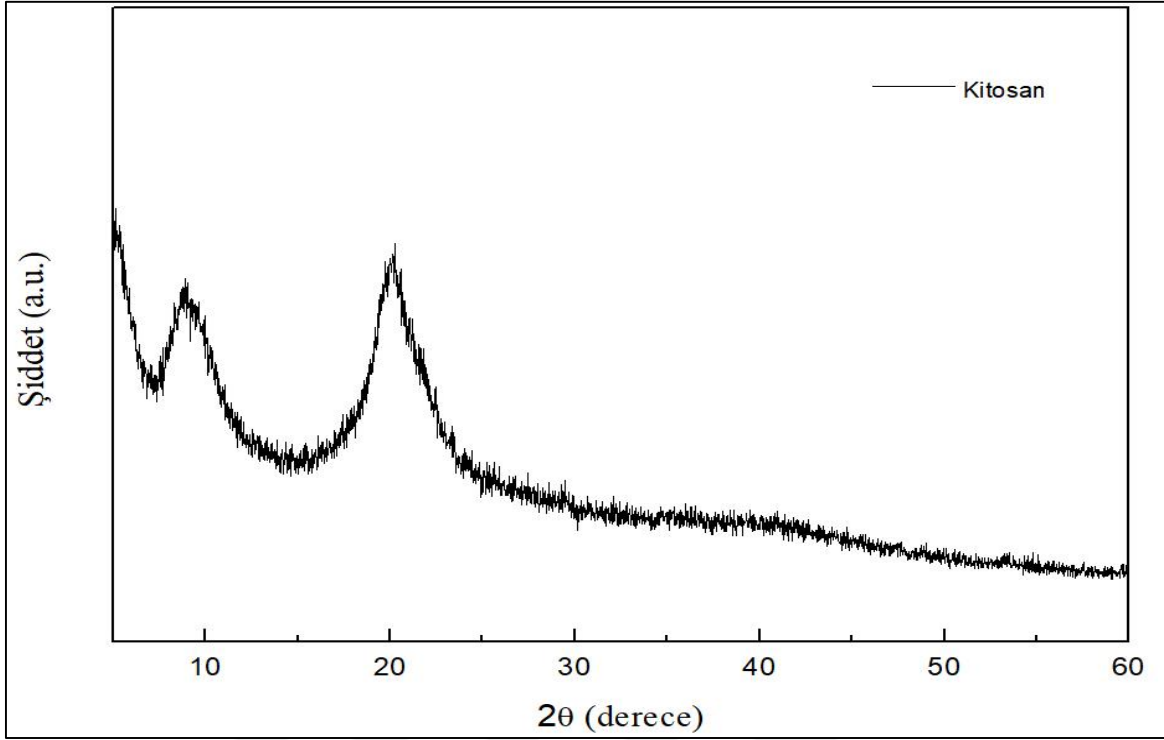
Şekil 10.7. (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp ve (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunelerinin FTIR spektrumu



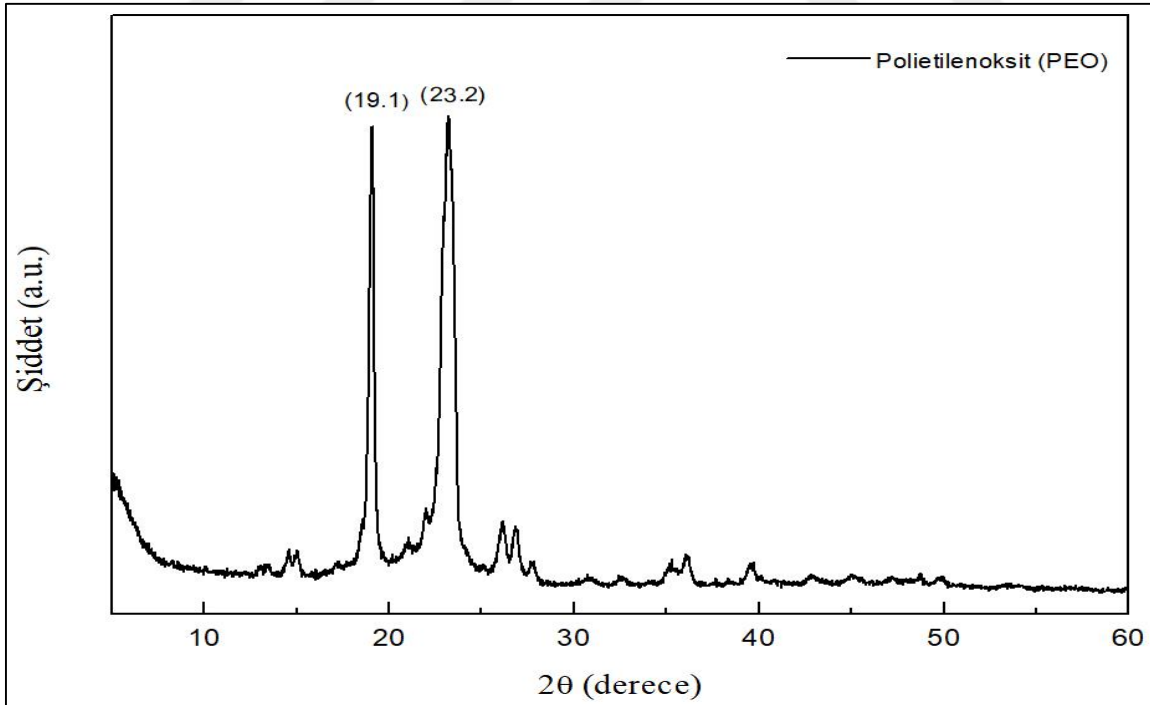
Şekil 10.8. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp, (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunelerinin FTIR spektrumu

### 10.3. X-Işınları Difraksiyonu (XRD) Sonuçları

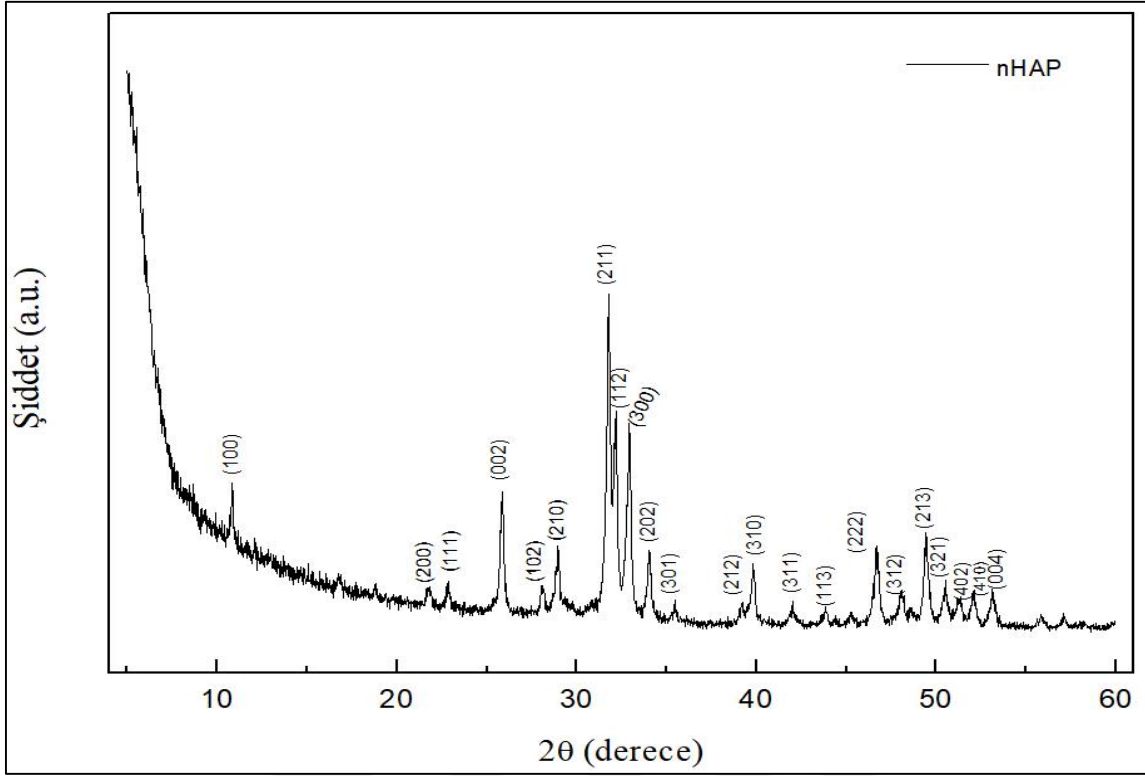
Nanofiber üretiminde kullanılan doğal bir yarı kristalin polimer olan kitosanın X-ışını difraksiyon analizi sonucu Şekil 10.10'da gösterilmektedir. Kitosanın tipik karakteristiği olan  $2\theta=9^\circ$  ve  $2\theta=20^\circ$  civarında geniş pikler görülmektedir (Şekil 10.10.) Bu pikler kitosan "tendon" polimorfunun sırasıyla Tip-I ve Tip-II kristal bölgeleri ile ilişkilidir [135-136]. Saf PEO'nun XRD sonuçlarına bakıldığında ise  $2\theta=19^\circ$  ve  $2\theta=23^\circ$  keskin pikler bulunmaktadır (Şekil 10.11). Bu pikler PEO'nun yüksek kristallikteki fazlarına aittir [137]. Saf halde nanohidroksiapatitin XRD sonuçlarında inorganik kristal yapının bütün karakteristik pikleri açıkça görülmektedir. Şekil 10.12'de yüksek yoğunluğa sahip önemli piklerin hkl indisleri verilmiştir (PDF-09-0432). En şiddetli pikler  $2\theta=31,7^\circ$ ,  $2\theta=32,1^\circ$  ve  $2\theta=32,9^\circ$  olarak belirlenmiştir.



Şekil 10.9. Kitosan XRD grafiği



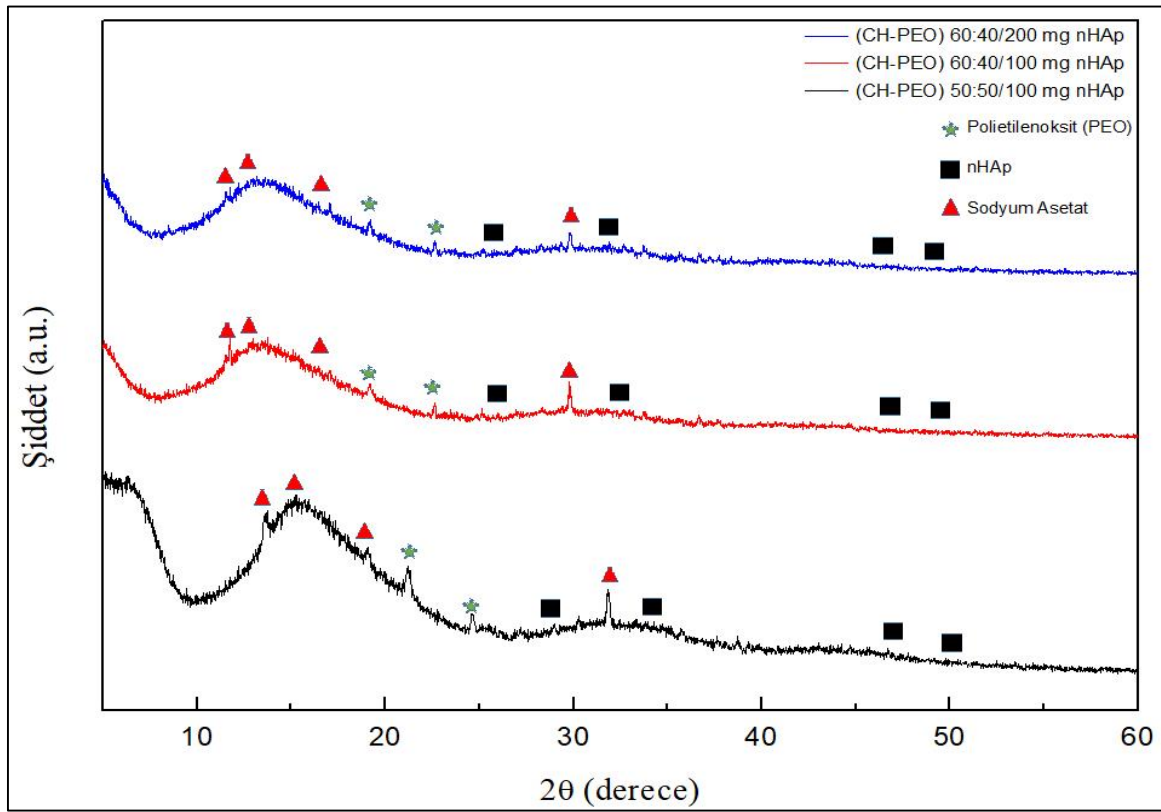
Şekil 10.10. PEO XRD grafiği



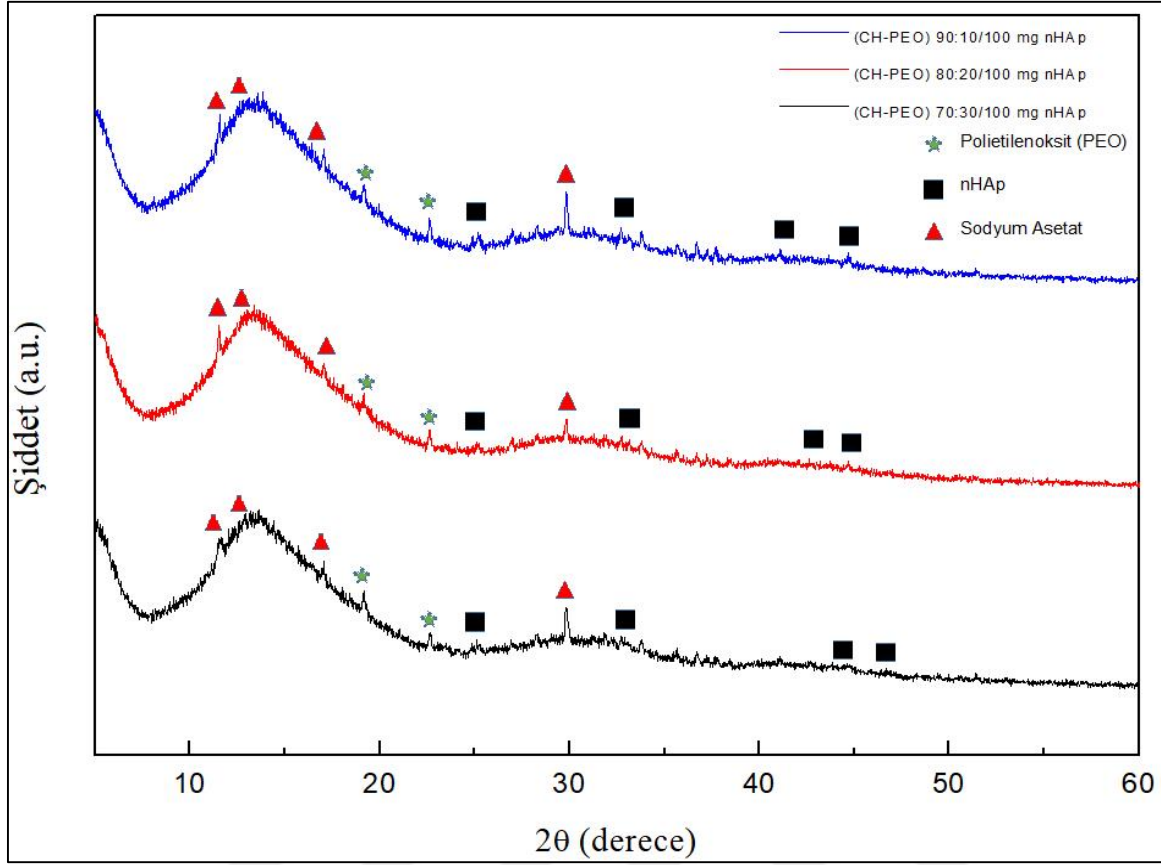
Şekil 10.11. nHAp XRD grafiği

Nanofiberlerin XRD analiz sonuçları Şekil 10.12 ve Şekil 10.13’de verilmektedir. Elektroçirme işlemi öncesinde ve sonrasında kitosanın kristal yapısında değişiklikler olmuştur. Saf kitosanda belirlenen I ve II kristal bölgelerin yerine  $2\theta=30^\circ$ ,  $2\theta=40^\circ$  ve  $2\theta=14,5^\circ$ ’de kendini gösteren geniş amorf pikler meydana gelmiştir. Bu durum kitosanın asetik asit içerisinde çözüldükten sonra elektroçirme işlemi süresince geçen sürenin kitosanın kristalizasyonu için gereken süreden kısa olduğunu gösterir. Aynı zamanda  $2\theta=11,5^\circ$  ve  $2\theta=13,2^\circ$ ’deki keskin pikler kitosanın kristal bölgelerinin katkısı ile meydana gelmiş olabilir [138]. PEO,  $2\theta=19,1^\circ$  keskin pikini nanofiber yapısında da sergilemektedir.  $2\theta=23,2^\circ$ ’deki diğer kristal pik ise  $2\theta=22,6^\circ$ ’ya kaymıştır. Bu durumu Subramanian ve arkadaşları yaptıkları benzer bir çalışmada kitosan ve PEO arasındaki hidrojen bağı etkileşime bağlamışlardır [139]. Bununla birlikte kitosan ile karşılaştırıldığında PEO’nun oda sıcaklığında kristalizasyonu daha kolaydır [138]. (CH:PEO)60:40/200 nHAp numunesi haricinde nanofiber bileşiminde %1 oranında nHAp bulunmaktadır. Nanofiberlerde oluşan amorf doğa ve bileşim oranına bağlı olarak nHAp kristallerinin keskin pikleri bastırılmış olsa da en güçlü pikleri XRD difraktogramında ayırt edilebilir seviyededir.  $2\theta=25,8^\circ$  (002),  $2\theta=31,7^\circ$  (211),  $2\theta=32,1^\circ$  (112),  $2\theta=46,7^\circ$  (222) ve  $2\theta=49,4^\circ$  (213) pikleri nanofiberdeki nHAp’ın kristal yapısının göstergeleridir. Nanofiber yapısında kristal forma sahip sodyum

asetat hidrat pikleri de görülmektedir. Bu piklerin kitosanın deasetilasyon derecesini artırmak için yapılan NaOH muamelesinden sonra tam olarak arındırılmamasına bağlı olarak yapıda kaldığı düşünülmektedir. Kristal fazından dolayı nanofiberlerin XRD analizinde net olarak görülmektedir ve FTIR sonuçları da bu durumu desteklemektedir. Üretilen nanofiberlerde bileşen malzemelerin pikleri birbiri ile çakışarak birbirini gölgelemektedir. Bazı durumlarda sodyum asetat pikleri de diğer kullanılan malzemelerin piklerini bastırmaktadır. Sodyum asetat hidratın yapıda görülen en bariz pikleri şu şekildedir,  $2\theta=11,4^\circ$  (-110),  $2\theta=12,7^\circ$  (-111) ve  $2\theta=29,7^\circ$  (-402) (PDF-29-1160).



Şekil 10.12. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp, (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp ve (CH:PEO)50:50/100 mg nHAp numunelerinin XRD grafiği



Şekil 10.13. (CH:PEO)90:10/100 mg nHAp, (CH:PEO)80:20/100 mg nHAp ve (CH:PEO)70:30/100 mg nHAp numunelerinin XRD grafiği



## 11. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ilk olarak 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 ve 90:10 oranlarında Kitosan:PEO çözeltileri hazırlanmıştır. Tamamen homojen çözeltiler hazırlanmasının ardından çözeltilere nanohidroksiapatit eklenerek elektroğirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanofiberlerin morfolojik, yapısal ve kimyasal analizleri yapılarak yapay ECM'yi taklit etmeye yatkınlığı araştırılmıştır. Doğal bir polimer olan kitosan kemik dokusundaki glikozaminoglikanlara yapısal olarak benzemektedir. Doğal ECM'de bulunan glikozaminoglikanlar uzun, doğrusal ve tekrar eden disakkarid birimleri içeren heterojen polisakkaritlerdir. Tekrarlayan sakkarit gruplarından biri amino şeker (N-asetil-glikozamin veya N-asetil-galaktozamin) diğeri ise üronik asittir. Kitosan ve glikozaminoglikanlar yapılarında ortak olarak N-asetil-glikozamin molekülüne sahiptir [140]. Kitosanın biyouyumlu ve biyobozunur olma özelliği sayesinde hücrelerin tutunmasına ve çoğalmasına olanak sağladığı literatürde yapılan önceki çalışmalar ile bilinmektedir [113].

Diğer nanofiber bileşeni PEO, kitosanın elektroğirme sürecini iyileştirme etkisinden dolayı seçilmiştir. Bu doğal ve sentetik polimerden oluşan bir karışım çözeltinin kullanılmasındaki temel amaç; iki polimerin özelliklerini tek bir çözelti içerisinde elde edebilmektir. Kitosanın zayıf çözünürlüğünü ve yüksek viskozitesini dengelemek için PEO eklenmesiyle bir bütün olarak çözelti elektroğirme işlemine daha iyi cevap vermekte ve fiber oluşumu kolaylaşmaktadır. PEO, vücut tarafından kolayca atılabilecek kadar düşük bir toksisiteye sahiptir ve in vivo olarak minimum reaksiyona girme eğilimi göstermektedir. PEO'nun çözeltiliye eklenmesi ile kitosan ve PEO arasında hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bunun sonucu olarak kitosan zincirlerinin diğer kitosan zincirleriyle etkileşimi azalmakta ve çözelti viskozitesi düşmektedir. Kitosan çözeltisine PEO ilavesi; çözelti viskozitesini azaltarak tek başına kitosandan oluşan bir çözelti ile kıyaslandığında çok daha iyi fiber oluşumu sağlayan bir karışım oluşturmaktadır ve nihai nanofiberler biyobozunur özellik göstermekte ve bağışıklık sisteminden olumsuz bir yanıt gelmemektedir [141]. Nanofiber bileşimine kemiğin inorganik kısmını oluşturan nanohidroksiapatit (nHAp) katılması ile osteokondüktif özelliğin artırılması hedeflenmiştir. Organik polimerlerin birleşiminden oluşan yapıya nHAp eklenmesi ile kemik doku hasarının onarımında kullanılma potansiyeli olan nanofibröz doku iskeleleri elde edilmiştir.

Nanohidroksiapatit oranı 100 mg olarak sabit tutulurken CH:PEO oranı 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 ve 90:10 olarak nanofiberler üretilmiştir. Ayrıca nHAp'ın yapıya etkisini araştırmak için en iyi özellik gösteren CH:PEO karışımına 200 mg nHAp ekleyerek (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesi üretilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre kemik doku iskelesi için en uygun nanofiber numunesinin (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp olduğu anlaşılmaktadır. Bu numune için uygun voltaj değeri 17 kV ve besleme hızı 0,5 ml/saat olarak belirlenmiştir. İğne ucu ve toplayıcı plaka arası uzaklık için optimum değer ise 17,5 cm'dir. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesinde elde edilen fiberler dar bir aralıkta (100-200 nm) çap dağılımı göstermiştir. (CH:PEO)60:40/100 mg nHAp numunesinde optimum koşulların sağlanması üzerine fiber ekseni boyunca uniform çapı koruyan nanofiberler başarıyla elde edilmiştir. Ayrıca nHAp'ın yapıya iyi bir şekilde entegre olduğu SEM analiz sonuçlarında net bir şekilde görülmektedir. 195, 95 nm ortalama çap değerine sahip olan düzgün, pürüzsüz ve boncuksuz nanofiberler üretilmiştir. Bu ortalama çap değeri ile kemik ekstraselüler matris için bileşen olarak kullanılması bakımından istenilen çap aralığına uygun olduğu görülmüştür. Doğal kemik ECM yapısındaki tip I kolajen fiberlerinin çapları 50-500 nm aralığındadır. Literatürde kemik doku onarımı üzerine benzer bir çalışmada Liu ve arkadaşları; jelatin/nanohidroksiapatit kompozit nanofiberlerinde 150 nm ortalama çap değeri elde edildiğini ve ECM'yi taklit etmek için uygun aralığa sahip olduğunu biyoaktivite testleri ile destekleyerek raporlamıştır [142]. Zhang ve arkadaşları; biyomimetik malzeme tasarımı için yaptıkları çalışmada elektroçökeltme işlemine ek olarak yaptıkları in-situ eş çökeltme sentezi yaklaşımıyla ortalama  $214 \pm 25$  nm fiber çap değeri elde ederek nanofiberlerin yapay ECM bileşeni olarak kullanımı için uygun aralığa sahip olduğunu bildirmiştir [116]. Jose ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada ise, saf PLGA nanofiberler 200-400 nm aralığında dağılım sergilerken, PLGA/nanohidroksiapatit nanofiberlerin 400-700 nm çap aralığında dağılım gösterdiği ve nanofiber çapının nanohidroksiapatit miktarındaki artışa paralel olarak arttığı belirtilmiştir. Nanohidroksiapatit taneciklerinin bazıları fiber yapısı içine gömülürken bazılarının da yüzeyde birikerek fiber çapının artışına sebep olduğu belirtilmiştir [143]. (CH:PEO)60:40/200 mg nHAp numunesinde kullanılan nHAp miktarının artırılması ile elde ettiğimiz nanofiber çapındaki artış bu şekilde açıklanabilmektedir.

Nanofiberlerin ve bileşenlerinin FTIR sonuçları, fiberlerde oluşan karakteristik ve fonksiyonel grupları tespit etmek için önem arz etmektedir. Üretilen nanofiber spektrumlarında kitosanın polisakkaritlere özgü amit I, II ve III bantları ve geniş hidroksil

ve amin grubu bandı, PEO'nun C-O-C köprüsü ve etilen grubuna ait gerilme bantları, hidroksiapatite ait fosfat grubu bantları ve kitosanın NaOH muamelesi sonrasında tamamen arındırılmamasının bir sonucu olarak yapıda meydana gelen sodyum asetatın karbonil grubu gerilmelerine katkıları göze çarpmaktadır.

Nanofiberlerin XRD analiz sonuçlarına bakıldığında; üretilen nanofiberlerin genel olarak amorf özellik sergilediği görülmektedir. Yapıda % 1 ve % 2 oranında bulunan hidroksiapatit taneciklerinin en yüksek şiddetli pikleri ayırt edilebilmektedir. Bu pikler hidroksiapatit taneciklerinin elektroğirme süreci sonrasında kristal fazını koruduğunu göstermektedir. Daha düşük şiddetli pikler nanofiberin amorf pikleri nedeniyle bastırılmıştır. Yarı kristalin bir doğal polimer olan kitosan çözünme ve elektroğirme işlemi sonrası geniş amorf pikler vermiştir. Diğer bir nanofiber bileşeni olan PEO ise  $2\theta=19,1^\circ$  ve  $2\theta=23,2^\circ$ 'deki kristalin faza ait piklerini korumuştur. Nanofiberlerin XRD analizlerinde ayrıca sodyum asetat hidrat kristalin fazına ait pikler bulunmaktadır. XRD sonuçları ve FTIR sonuçları birbiri ile örtüşmektedir.

Doğal kemik dokusunda bulunan ekstraselüler matrikse benzer yapıda nanofibröz doku iskeleleri başarıyla üretilmiştir. Elde edilen bulgular ve yapılan analizler ışığında; tez kapsamında üretimi ve karakterizasyonu gerçekleştirilen doku iskelelerinin kemik doku uygulamaları için geliştirilmesini sağlamak amacıyla;

Doku rejenerasyonuna yönelik olarak doku iskelelerine in vitro hücre ekimi yapılması ve üretilen matların bu hücrelerin gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması önerilmektedir. Doku iskelelerine ekimi yapılan kök hücrelerin kemik hücrelerine farklılaşmaları incelenmelidir.

Nanofiber bileşiminde kitosan oranı arttıkça elektroğirme tekniği ile fiber oluşturma işlemi zorlaşmıştır. Fakat biyouyumluluğu artırmak için yapıdaki kitosan oranını mümkün olduğunca artırmak gerekmektedir. Bu olumsuzluğu aşmak için uçuculuğu daha yüksek ve daha fazla miktarda polimer çözebilecek ve viskoziteyi azaltıcı etki gösteren bir çözücü sistemi araştırılabilir.

SEM analizi sonuçlarında nHAp partiküllerinin yeterince homojen bir dağılım göstermediği ve boyutlarının küçültülmesi gerektiği anlaşılmıştır. Polimer fiber içerisinde aglomerasyon

eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu handikap ileriki çalışmalarda daha küçük boyutta sentetik hidroksiapatit nanopartikülleri kullanılarak veya istenilen boyutta hidroksiapatit nanopartikül sentezi yapılarak aşılabilir. Aglomerasyonu engellemek için çözeltiliye farklı dengeleyici maddeler katılabilir. Ayrıca, polimer nHAp arasındaki arayüzey etkileşimini arttırmak amacıyla nHAp'lara yüzey modifikasyonu uygulanabilir.

Nanofiber yapısında tespit edilen sodyum asetat hidratı elimine etmek adına kitosanın sodyum hidroksitle muamelesi sonrası oluşan sulu çözeltiyi kitosan tozundan uzaklaştırmak için vakumlu kurutma gibi değişik yollara başvurularak daha iyi arındırma sağlanmalıdır.



## KAYNAKLAR

1. Rai, S., Rai, A. (2015). Review: Nanotechnology-The secret of fifth industrial revolution and the future of next generation. *Nusantara Bioscience*, 7(2), 61-66.
2. Goddard III, W. A., Brenner D. W., Lyshevski S. E., Iafrate G. J. (Eds.). *Handbook of nanoscience, engineering, and technology*, (Third edition) Boca Raton: Chemical Rubber Company Press, 3-12.
3. Bhat, J. S. A. (2003). Heralding a new future – nanotechnology ?. *Current Science*, 85(2), 147-154.
4. Ng, W. (2009). Nanoscience and nanotechnology for the middle years. *Teaching Science*, 55(2), 16-24.
5. Thenmozhi, S., Dharmaraj, N., Kadirvelu, K., Kim H.Y. (2017). Electrospun nanofibers: new generation materials for advanced applications. *Materials Science and Engineering B*, 217, 36-48.
6. Doğan, G., ve Başal, G. (2009). Elektrolif çekim yöntemine göre elde edilen biyopolimer nanoliflerin ilaç salınım sistemleri yara örtüsü ve doku iskelesi olarak kullanımları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3(2), 58-70.
7. Ramakrishna, S., Fujihara K., Teo, W-E., Yong, T., Ma, Z., Ramaseshan R., (2006) Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today*, 9(3), 40-50.
8. Saner, B. (2007) *Fluorinated Nanofibers for Potential Biomedical Applications*, Yüksek Lisans Tezi, Sabancı Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 17-18.
9. Ramakrishna, S. Fujihara, K. Teo, W., Lim T., Ma, Z. (2005). *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. Toh Tuck: World Scientific Publishing, 1-116.
10. Gucerı, S., Gogotsi, Y. G, Kuznetsov, V., Wright, J. (Editors). (2004). *Nanoengineered nanofibrous materials*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1-6.
11. Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotakic, M., Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15), 2223–2253.
12. İnternet: Human hair, pollen grain, nanofibers. URL:[www.elmarco.com/gallery/nanofibers/](http://www.elmarco.com/gallery/nanofibers/) Son Erişim Tarihi: 29.11.2018.
13. Bhardwaj, N., Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325-347.
14. Karuppuswamy, P., Venugopal, J. R., Navaneethan, B., Laiva, A. L., Sridhar, S., Ramakrishna, S. (2014). Functionalized hybrid nanofibers to mimic native ECM for tissue engineering applications. *Applied Surface Science*, 322, 162-168.
15. Graham, K., Gogins, M., Schreuder-Gibson, H. (2003, September). *Incorporation of electrospun nanofibers into functional structures*. Paper presented at the In International Nonwoven Technical Conference, Baltimore.

16. O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88-95.
17. Venugopal, J., Low, S., Choon, A. T., Ramakrishna, S. (2008). Interaction of cells and nanofiber scaffolds in tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 84(1), 34-48.
18. Ahmed, F. E., Lalia, B. S., Hashaikh, R. (2015). A review on electrospinning for membrane fabrication: challenges and applications. *Desalination*, 356, 15-30.
19. Ding, B., Wang, M., Wang, X., Yu, J., Sun, G. (2010). Electrospun nanomaterials for ultrasensitive sensors. *Materials Today*, 13(11), 16-27.
20. Ondarcuhu, T., Joachim, C. (1998). Drawing a single nanofibre over hundreds of microns. *Europhysics Letters*, 42(2), 215.
21. Bajakova, J., Chaloupek, J., Lukáš, D., Lacarin, M. (2011, September). *Drawing—The production of individual nanofibers by experimental method*. Paper presented at the 3rd International Conference on Nanotechnology-Smart Materials, Brno.
22. Nain, A. S., Amon, C., Sitti, M. (2006). Proximal probes based nanorobotic drawing of polymer micro/nanofibers. *IEEE Transactions on Nanotechnology*, 5(5), 499-510.
23. Hatiboglu, B. (2006). *Mechanical Properties of Individual Polymeric Micro and Nano Fibers using Atomic Force Microscopy (AFM)*, North Carolina State University Textile Engineering, North Carolina, 18-20.
24. Cui, H., Webber, M. J., Stupp, S. I. (2010). Self-assembly of peptide amphiphiles: From molecules to nanostructures to biomaterials. *Peptide Science: Original Research on Biomolecules*, 94(1), 1-18.
25. Feng, L., Li, S., Li, H., Zhai, J., Song, Y., Jiang, L., Zhu, D. (2002). Super-hydrophobic surface of aligned polyacrylonitrile nanofibers. *Angewandte Chemie International Edition*, 41(7), 1221-1223.
26. Cepak, V. M., Martin, C. R. (1999). Preparation of polymeric micro- and nanostructures using a template-based deposition method. *Chemistry of Materials*, 11(5), 1363-1367.
27. Patil, J. V., Mali, S. S., Kamble, A. S., Hong, C. K., Kim, J. H., Patil, P. S. (2017). Electrospinning: A versatile technique for making of 1D growth of nanostructured nanofibers and its applications: An experimental approach. *Applied Surface Science*, 423, 641-674.
28. Tao, S. L., Desai, T. A. (2007). Aligned arrays of biodegradable poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanowires and nanofibers by template synthesis. *Nano letters*, 7(6), 1463-1468.
29. Garg, T., Rath, G., Goyal, A. K. (2015). Biomaterials-based nanofiber scaffold: targeted and controlled carrier for cell and drug delivery. *Journal of Drug Targeting*, 23(3), 202-221.

30. Smith, L. A., & Ma, P. X. (2004). Nano-fibrous scaffolds for tissue engineering. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, 39(3), 125-131.
31. Ma, P. X. (2004). Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today*, 7(5), 30-40.
32. Formhals, A. (1934). Process and apparatus for preparing artificial threads, *United State Patent*, No: 1975504.
33. Formhals, A. (1939). Method and apparatus for spinning, *United State Patent*, No: 2160962.
34. Formhals, A. (1940). Artificial thread and method of producing same, *United State Patent*, No: 2187306.
35. Taylor, G. (1969). Electrically driven jets. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 313(1515), 453-475.
36. Buchko, C. J., Chen, L. C., Shen, Y., Martin, D. C. (1999). Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40(26), 7397-7407.
37. Baumgarten, P. K. (1971). Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 36(1), 71-79.
38. Larrondo, L., St. John Manley, R. (1981). Electrostatic fiber spinning from polymer melts. II. Examination of the flow field in an electrically driven jet. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 19(6), 921-932.
39. Larrondo, L., St. John Manley, R. (1981). Electrostatic fiber spinning from polymer melts. III. Electrostatic deformation of a pendant drop of polymer melt. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 19(6), 933-940.
40. Hayati, I., Bailey, A. I., Tadros, T. F. (1987). Investigations into the mechanisms of electrohydrodynamic spraying of liquids: I. Effect of electric field and the environment on pendant drops and factors affecting the formation of stable jets and atomization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 117(1), 205-221.
41. Doshi, J., Reneker, D. H. (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of electrostatics*, 35(2-3), 151-160.
42. Kiremitler, N. B. (2016). *Elektroçirme Yöntemiyle Nano Gümüş Katkili Polikaprolakton Hidroksiapatit (Pcl/Ha-Ag) Nanolif Üretimi Ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 8-22.
43. Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15), 2235-2253.
44. Yarin, A. L., Koombhongse, S., Reneker, D. H. (2001). Bending instability in electrospinning of nanofibers. *Journal of applied physics*, 89(5), 3018-3026.

45. Li, D., Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?. *Advanced Materials*, 16(14), 1151-1170.
46. Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., Ramkumar, S. S. (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 96(2), 557-569.
47. Sill, T. J., Recum, H. A. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989-2006.
48. Baji, A., Mai, Y. W., Wong, S. C., Abtahi, M., Chen, P. (2010). Electrospinning of polymer nanofibers: effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Composites Science and Technology*, 70(5), 703-718.
49. Larrondo, L., St. John Manley, R. (1981). Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I. Experimental observations on fiber formation and properties. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 19(6), 909-920.
50. Shin, Y. M., Hohman, M. M., Brenner, M. P., Rutledge, G. C. (2001). Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities. *Polymer*, 42(25), 9955-9967.
51. Shin, Y. M., Hohman, M. M., Brenner, M. P., Rutledge, G. C. (2001). Electrospinning: A whipping fluid jet generates submicron polymer fibers. *Applied Physics Letters*, 78(8), 1149-1151.
52. Kozanoğlu, G. S. (2006). *Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretim teknolojisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 37.
53. Haider, A., Haider, S., Kang, I. K. (2015). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1165-1188.
54. Karakaş, H. (2015). Electrospinning of Nanofibers and Their Applications. *Istanbul Technical University, Textile Technologies and Design Faculty*.
55. Andradý A.L., (2008). *Science and Technology of Polymer Nanofibers*, New Jersey: Wiley Press, 404.
56. Frenot, A., Chronakis, I. S. (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8(1), 64-75.
57. Lin, X., Li, Y., Chen, Z., Zhang, C., Luo, X., Du, X., Huang, Y. (2013). Synthesis, characterization and electrospinning of new thermoplastic carboxymethyl cellulose. *Chemical Engineering Journal*, 215, 709-720.
58. Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Harris, D. E. A., Tan, N. B. (2001). The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42(1), 261-272.
59. Eda, G., Shivkumar, S. (2007). Bead-to-fiber transition in electrospun polystyrene. *Journal of Applied Polymer Science*, 106(1), 475-487.

60. Li, Z., Wang, C., (2013). *One-dimensional nanostructures: electrospinning technique and unique nanofibers*, Heidelberg: Springer, 15-28.
61. Fong, H., Chun, I., Reneker, D. H. (1999). Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer*, 40(16), 4585-4592.
62. Göktaş, A. (2008). *Electrospinning Of Polystyrene/Butyl Rubber Blends: A Parametric Study*, The Thesis of Master Science, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ankara, 13-15.
63. Kiper, A., G. (2018). *Elektrospinning Yöntemi İle Doğal Selülozdan Nanofiber Elde Edilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 17-18.
64. İçoğlu, H. İ. (2014). *Elektrospin Yönteminde Çevresel Parametrelerin Nanolif Özellikleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 14-15.
65. Zeng, J., Chen, X., Xu, X., Liang, Q., Bian, X., Yang, L., Jing, X. (2003). Ultrafine fibers electrospun from biodegradable polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(4), 1085-1092.
66. Baumgarten, P. K. (1971). Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 36(1), 71-79.
67. Casper, C. L., Stephens, J. S., Tassi, N. G., Chase, D. B., Rabolt, J. F. (2004). Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules*, 37(2), 573-578.
68. Zeytuncu, B. (2014). *Elektrospinning Tekniği Ve Uv Işımasının Eşzamanlı Olarak Uygulanması İle Nanofiber Membranların Hazırlanması Ve Kıymetli Metallerin Adsorpsiyonunda Uygulanması*, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 26-27.
69. Çakmakçı, E. (2009). *Elektrospinning Yöntemi İle Yeni Polimerik Malzemelerin Sentezi Ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 36-37.
70. Doğan, E. N. (2013). *Elektrospinning Metodu İle Magnezyum Borat Nano Kompozit Eldesi*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 35-36.
71. Langer, R., Vacanti, J.P. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260(5110), 920-926.
72. Shin, M., Yoshimoto, H., Vacanti, J. P. (2004). In vivo bone tissue engineering using mesenchymal stem cells on a novel electrospun nanofibrous scaffold. *Tissue Engineering*, 10(1-2), 33-41.
73. Thein-Han, W. W., Misra, R. D. K. (2009). Biomimetic chitosan-nanohydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 5(4), 1182-1197.

74. Jiang, T., Carbone, E. J., Lo, K. W. H., Laurencin, C. T. (2015). Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration. *Progress in Polymer Science*, 46, 1-24.
75. Agarwal, S., Wendorff, J. H., Greiner, A. (2008). Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer*, 49(26), 5603-5621.
76. Ross, M. H., Pawlina, W. (1989). *Histology A text and Atlas*. (Sixth Edition). China: Lippincott Williams & Wilkins, 218-252
77. Bilezikian, J. P., Raisz, L. G., Martin, T. J. (Eds.). (2008). *Principles of bone biology*. (Second Edition). San Diego: Academic Press, 3-14.
78. Prabhakaran, M. P., Venugopal, J., Ramakrishna, S. (2009). Electrospun nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 5(8), 2884-2893.
79. Wang, Y., Wang, G., Chen, L., Li, H., Yin, T., Wang, B., Yu, Q. (2009). Electrospun nanofiber meshes with tailored architectures and patterns as potential tissue-engineering scaffolds. *Biofabrication*, 1(1), 015001.
80. Turnbull, G., Clarke, J., Picard, F., Riches, P., Jia, L., Han, F., Shu, W. (2017). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive materials*, 3(3), 278-314.
81. Webster, T. J. (Eds.). (2007). *Nanotechnology for the regeneration of hard and soft tissues*, Singapore: World Scientific Publishing, 1-51.
82. Stevens, M. M. (2008). Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials today*, 11(5), 18-25.
83. Ascenzi, M. G., Roe, A. K. (2012). The osteon: the micromechanical unit of compact bone, *Frontiers of Bioscience*, 17, 1551-81.
84. Muzzarelli, R. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M., and Paoletti, M. G. (2012). Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 995-1012.
85. Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International journal of food Microbiology*, 144(1), 51-63.
86. Prashanth, K. H., and Tharanathan, R. N. (2007). Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in food science & Technology*, 18(3), 117-131.
87. Goy, R. C., Britto, D. D., Assis, O. B. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), 241-247.
88. Kurita, K. (2006). Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine Biotechnology*, 8(3), 203-226.

89. Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27.
90. Yıldırım, Z., Öncül, N., ve Yıldırım, M. (2016). Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri. *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5(1), 19-36.
91. Orlovskii, V. P., Komlev, V. S., Barinov, S. M. (2002). Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics. *Inorganic Materials*, 38(10), 973-984.
92. Sagadevan, S., & Dakshnamoorthy, A. (2013). Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite (n-HAP) using the wet chemical technique. *International Journal of physical sciences*, 8(32), 1639-1645.
93. Sinha, A., Guha, A. (2009). Biomimetic patterning of polymer hydrogels with hydroxyapatite nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 29(4), 1330-1333.
94. H, Y. F., Ma, J. (2005). Triblock co-polymer templating synthesis of mesostructured hydroxyapatite. *Microporous and Mesoporous Materials*, 87(2), 110-117.
95. Chen, F., Wang, Z. C., Lin, C. J. (2002). Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials. *Materials letters*, 57(4), 858-861.
96. Hornez, J. C., Chai, F., Monchau, F., Blanchemain, N., Descamps, M., and Hildebrand, H. F. (2007). Biological and physico-chemical assessment of hydroxyapatite with different porosity. *Biomolecular engineering*, 24(5), 505-509.
97. Burg, K. J., Porter, S., Kellam, J. F. (2000). Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 21(23), 2347-2359.
98. Capello, W. N., D'antonio, J. A., Feinberg, J. R., and Manley, M. T. (1997). Hydroxyapatite-coated total hip femoral components in patients less than fifty years old. Clinical and radiographic results after five to eight years of follow-up. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 79(7), 1023-1029.
99. Wang, Y., Chen, J., Wei, K., Zhang, S., Wang, X. (2006). Surfactant-assisted synthesis of hydroxyapatite particles. *Materials Letters*, 60(27), 3227-3231.
100. Ye, W., Wang, X. X. (2007). Ribbon-like and rod-like hydroxyapatite crystals deposited on titanium surface with electrochemical method. *Materials Letters*, 61(19-20), 4062-4065.
101. Zhou, C., Wang, Q., Wu, Q. (2012). UV-initiated crosslinking of electrospun poly (ethylene oxide) nanofibers with pentaerythritol triacrylate: Effect of irradiation time and incorporated cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1779-1786.
102. İnternet: Polyethylene oxide. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/serach?term=PEO&interface=AII&N=0&mode=matchpartialmax&lang=en&region=TR&focus=product>. Son Erişim Tarihi: 16.12.2018

103. Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P. M., Kit, K. (2007). Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films. *Biomacromolecules*, 8(5), 1505-1510.
104. Ahire, J. J., Robertson, D. D., van Reenen, A. J., Dicks, L. M. T. (2017). Polyethylene oxide (PEO)-hyaluronic acid (HA) nanofibers with kanamycin inhibits the growth of *Listeria monocytogenes*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, 143-148.
105. Jin, H. J., Fridrikh, S. V., Rutledge, G. C., Kaplan, D. L. (2002). Electrospinning *Bombyx mori* silk with poly (ethylene oxide). *Biomacromolecules*, 3(6), 1233-1239.
106. Son, W. K., Youk, J. H., Lee, T. S., Park, W. H. (2004). The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers. *Polymer*, 45(9), 2959-2966.
107. Sun, K., Li, Z. H. (2011). Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning. *Express Polymer Letters*, 5(4), 342-361.
108. Taichman, R. S. (2005). Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*, 105(7), 2631-2639.
109. Roseti, L., Parisi, R., Petretta, M., Cavallo, C., Desando, G., Barsolotti, I., Grigolo, B. (2017). Scaffold for bone tissue engineering: state of art and new perspectives. *Materials Science and Engineering C*, 78, 1246-1262.
110. Balagangadharan, K., Dhivya, S., Selvamurugan, N. (2017). Chitosan based nanofibers in bone tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 104, 1372-1382.
111. Chung, H. J., Park, T. G. (2007). Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews*, 59(4-5), 249-262.
112. Li, W. J., Mauck, R. L., Tuan, R. S. (2005). Electrospun nanofibrous scaffolds: production, characterization, and applications for tissue engineering and drug delivery. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 1(3), 259-275.
113. Bhattarai, N., Edmondson, D., Veiseh, O., Matsen, F. A., Zhang, M. (2005). Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*, 26(31), 6176-6184.
114. Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S. V., Tamura, H. (2010). Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials-A short review. *Carbohydrate polymers*, 82(2), 227-232.
115. Klossner, R. R., Queen, H. A., Coughlin, A. J., Krause, W. E. (2008). Correlation of chitosan's rheological properties and its ability to electrospin. *Biomacromolecules*, 9(10), 2947-2953.
116. Zhang, Y., Venugopal, J. R., El-Turki, A., Ramakrishna, S., Su, B., Lim, C. T. (2008). Electrospun biomimetic nanocomposite nanofibers of hydroxyapatite/chitosan for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 29(32), 4314-4322.

117. Shen, K., Hu, Q., Chen, L., Shen, J. (2010). Preparation of chitosan bicomponent nanofibers filled with hydroxyapatite nanoparticles via electrospinning. *Journal of applied polymer science*, 115(5), 2683-2690.
118. Yang, D., Jin, Y., Ma, G., Chen, X., Lu, F., Nie, J. (2008). Fabrication and characterization of chitosan/PVA with hydroxyapatite biocomposite nanoscaffolds. *Journal of applied polymer science*, 110(6), 3328-3335.
119. Yang, X., Chen, X., Wang, H. (2009). Acceleration of osteogenic differentiation of preosteoblastic cells by chitosan containing nanofibrous scaffolds. *Biomacromolecules*, 10(10), 2772-2778.
120. Surucu, S., Sasmazel, H. T. (2016). Development of core-shell coaxially electrospun composite PCL/chitosan scaffolds. *International journal of biological macromolecules*, 92, 321-328.
121. Li, L., Hsieh, Y. L. (2006). Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydrate Research*, 341(3), 374-381.
122. Biazar, E., Zaeifi, D., Keshel, S. H., Ojani, S., Hajiaghaee, A., Safarpour, R., Sadeghpour, S. (2015). Design of Electrospun Poly vinyl alcohol/Chitosan Scaffold and Its Cellular Study. *Journal of Paramedical Sciences*, 6(3), 2008-4978.
123. Shin, S. Y., Park, H. N., Kim, K. H., Lee, M. H., Choi, Y. S., Park, Y. J., Lee, S. J. (2005). Biological evaluation of chitosan nanofiber membrane for guided bone regeneration. *Journal of periodontology*, 76(10), 1778-1784.
124. Song, Y. S. (2006). Rheological characterization of carbon nanotubes/poly (ethylene oxide) composites. *Rheologica acta*, 46(2), 231-238.
125. Fernandes Queiroz, M., Melo, K. R. T., Sabry, D. A., Sasaki, G. L., Rocha, H. A. O. (2014). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?. *Marine Drugs*, 13(1), 141-158.
126. Lim, S. H., Hudson, S. M. (2004). Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydrate Research*, 339(2), 313-319.
127. Vino, A. B., Ramasamy, P., Shanmugam, V., Shanmugam, A. (2012). Extraction, characterization and in vitro antioxidative potential of chitosan and sulfated chitosan from Cuttlebone of *Sepia aculeata* Orbigny, 1848. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), 334-341.
128. Song, C., Yu, H., Zhang, M., Yang, Y., Zhang, G. (2013). Physicochemical properties and antioxidant activity of chitosan from the blowfly *Chrysomya megacephala* larvae. *International journal of Biological Macromolecules*, 60, 347-354.
129. Jia, Y. T., Gong, J., Gu, X. H., Kim, H. Y., Dong, J., Shen, X. Y. (2007). Fabrication and characterization of poly (vinyl alcohol)/chitosan blend nanofibers produced by electrospinning method. *Carbohydrate Polymers*, 67(3), 403-409.

130. Noor, S. A. M., Ahmad, A., Talib, I. A., Rahman, M. Y. A. (2010). Morphology, chemical interaction, and conductivity of a PEO-ENR<sub>50</sub> based on solid polymer electrolyte. *Ionics*, 16(2), 161-170.
131. Sui, X., Shao, C., Liu, Y. (2007). Photoluminescence of polyethylene oxide–ZnO composite electrospun fibers. *Polymer*, 48(6), 1459-1463.
132. Peón, E., Fuentes, G., Delgado, J. A., Morejon, L., Almirall, A., García, R. (2004). Preparation and characterization of porous blocks of synthetic hydroxyapatite. *Latin American Applied Research*, 34(4), 225-228.
133. Panzade, P., Shendarkar, G., Shaikh, S., Rathi, P. B. (2017). Pharmaceutical Cocrystal of Piroxicam: Design, Formulation and Evaluation. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(3), 399-408.
134. Agasti, N., Kaushik, N. K. (2014). One pot synthesis of crystalline silver nanoparticles. *American Journal of Nanomaterials*, 2(1), 4-7.
135. Osorio-Madrado, A., David, L., Trombotto, S., Lucas, J. M., Peniche-Covas, C., Domard, A. (2010). Kinetics study of the solid-state acid hydrolysis of chitosan: Evolution of the crystallinity and macromolecular structure. *Biomacromolecules*, 11(5), 1376-1386.
136. Dey, S. C., Al-Amin, M., Rashid, T. U., Sultan, M. Z., Ashaduzzaman, M., Sarker, M., Shamsuddin, S. M. (2016). Preparation, characterization and performance evaluation of chitosan as an adsorbent for remazol red. *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology*, 2(2), 52-62.
137. Talebian, S., Mehrali, M., Mohan, S., Mehrali, M., Khanlou, H. M., Kamarul, T., Abass, A. A. (2014). Chitosan (PEO)/bioactive glass hybrid nanofibers for bone tissue engineering. *Royal Society of Chemistry Advances*, 4(90), 49144-49152.
138. Chen, Q., Xin, Z. X., Saha, P., Kim, J. K. (2017). Fabrication of chitosan/PEO nanofiber mats with mica by electrospinning. *Journal of Polymer Engineering*, 37(5), 461-470.
139. Subramanian, A., Vu, D., Larsen, G. F., Lin, H. Y. (2005). Preparation and evaluation of the electrospun chitosan/PEO fibers for potential applications in cartilage tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 16(7), 861-873.
140. Buraidah, M. H., Teo, L. P., Yong, C. A., Shah, S., Arof, A. K. (2016). Performance of polymer electrolyte based on chitosan blended with poly (ethylene oxide) for plasmonic dye-sensitized solar cell. *Optical Materials*, 57, 202-211.
141. Üçgül, İ., Aras, S., Elibüyük, U. (2018). Ekstraselüler Matris Yapısı ve Görevleri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 23(1), 295-310.
142. Liu, X., Smith, L. A., Hu, J., Ma, P. X. (2009). Biomimetic nanofibrous gelatin/apatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 30(12), 2252-2258.

143. Jose, M. V., Thomas, V., Johnson, K. T., Dean, D. R., Nyairo, E. (2009). Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 5(1), 305-315.





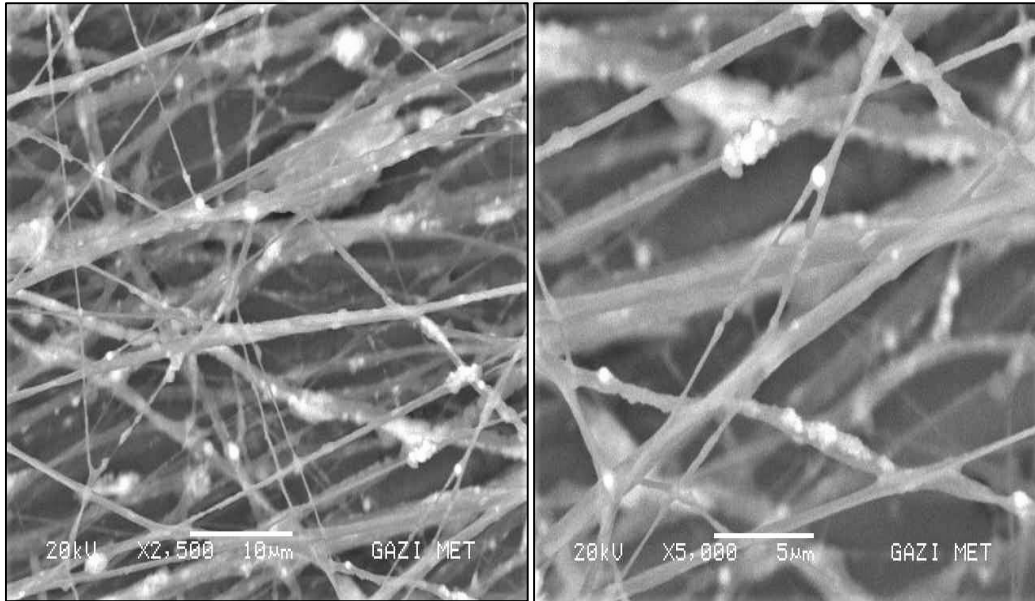
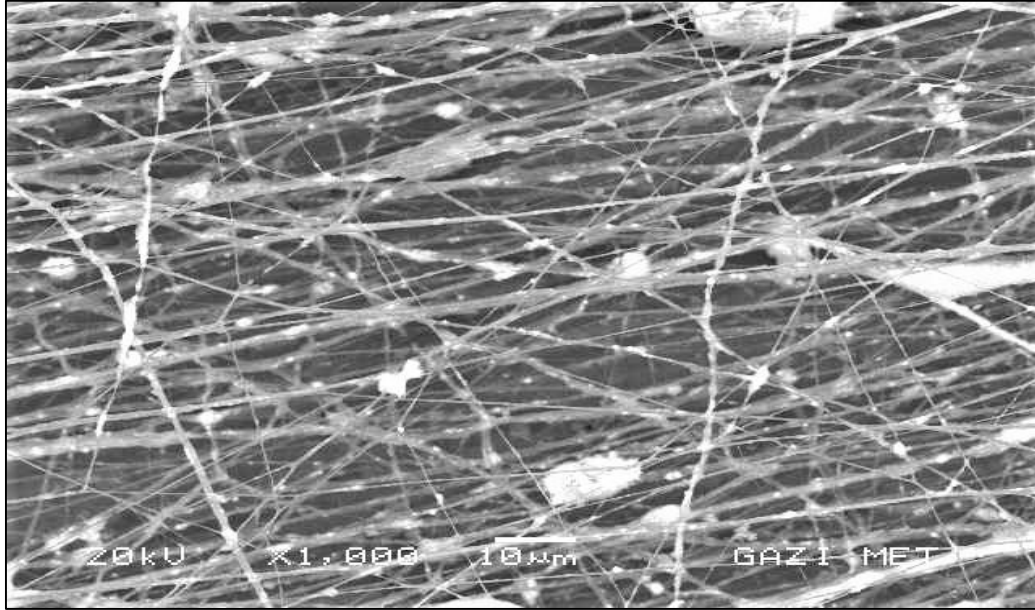


**EKLER**

## EK-1. Deneme serisi (1) numuneleri ile elde edilen veriler

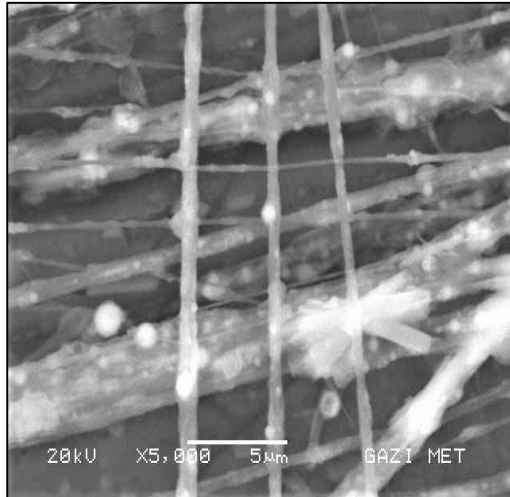
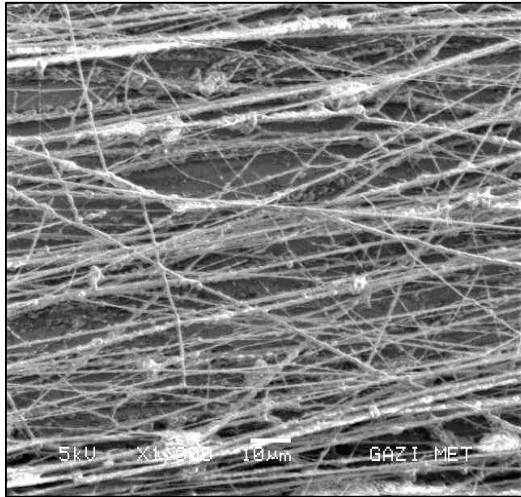
(CH:PEO)50:50/100 mg nHAp Deneme Numunesi			
Uygulanan Voltaj (kV)	Şırınga Toplayıcı Uzaklığı (cm)	Pompa hızı (ml/h)	Fiber eldesi
9 kV	10	0,5 ml/h	Görülmedi
	12		Görülmedi
	14		Görülmedi
	16		Görülmedi
	18		Görülmedi
10 kV	15	0,5 ml/h	Görülmedi
	16		Görülmedi
	17		Görülmedi
	18		Görülmedi
	19		Görülmedi
	20		Görülmedi
10 kV	15	0,5 ml/h	Görülmedi
12 kV	15		Görülmedi
12 kV	17		Görülmedi
14 kV	17		Görülmedi
16 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
16 kV	17,5		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
18 kV	17,5		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
20 kV	17,5		nanofiber eldesi

EK-1. (devam) Deneme serisi (1) numuneleri ile elde edilen veriler



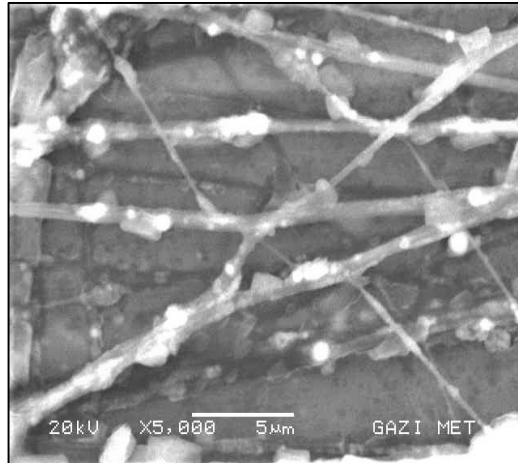
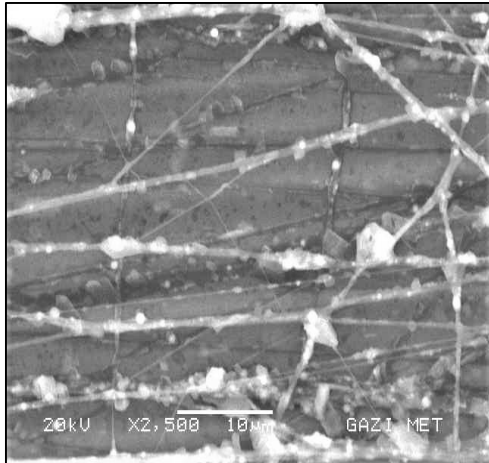
## EK-1. (devam) Deneme serisi (1) numuneleri ile elde edilen veriler

(CH:PEO)60:40/100 mg nHAp Deneme Numunesi			
Uygulanan Voltaj (kV)	Şırınga Toplayıcı Uzaklığı (cm)	Pompa hızı (ml/h)	Fiber eldesi
10 kV	15	0,5 ml/h	Görülmedi
11 kV	15		Görülmedi
12 kV	15		Görülmedi
12 kV	17		Görülmedi
13 kV	17		Görülmedi
14 kV	17		Görülmedi
15 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
16 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
16 kV	17,5		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
17 kV	17,5		nanofiber eldesi

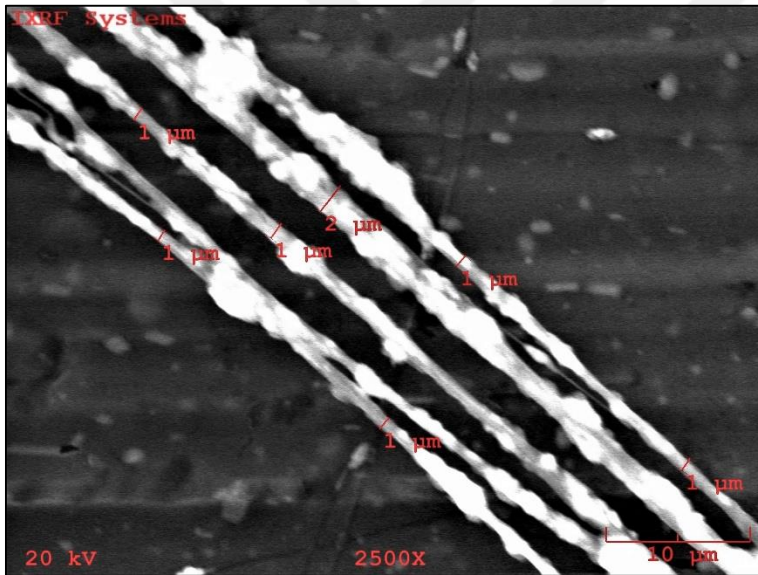
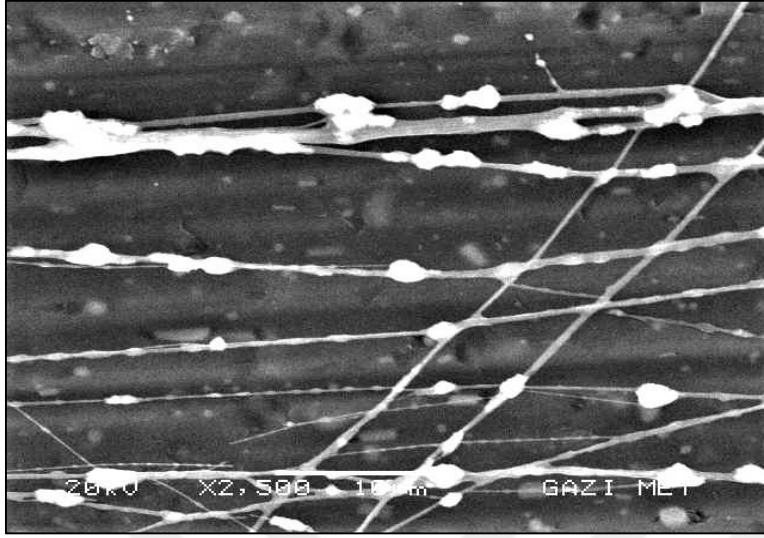


EK-1. (devam) Deneme serisi (1) numuneleri ile elde edilen veriler

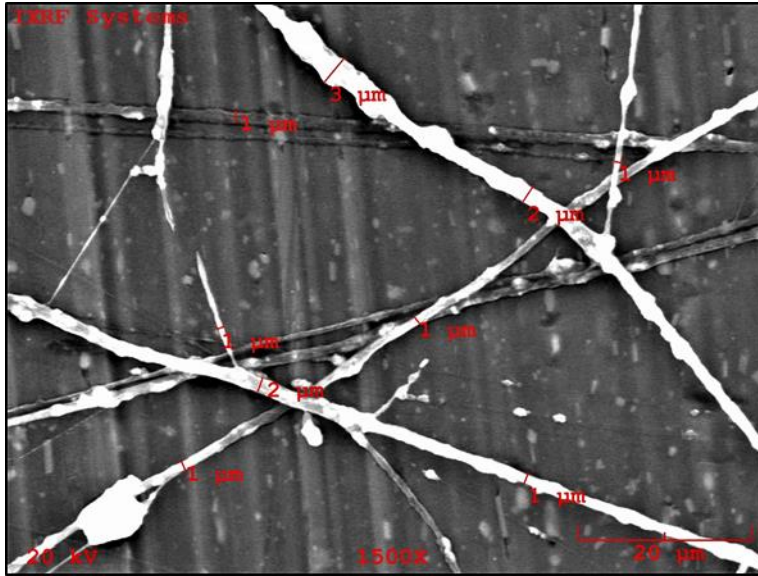
(CH:PEO)70:30/100 mg nHAp Deneme Numunesi			
Uygulanan Voltaj (kV)	Şırınga Toplayıcı Uzaklığı (cm)	Pompa hızı (ml/h)	Fiber eldesi
15 kV	15	0,5 ml/h	Görülmedi
16 kV	15		Görülmedi
16 kV	16		Görülmedi
16 kV	17		Görülmedi
17 kV	17		Görülmedi
18 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
19 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
20 kV	17		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
20 kV	17,5		Düzensiz bir fiber akışı görüldü
20 kV	16		nanofiber akışı



EK-2 Deneme Serisi (2) numunelerinden ile elde edilen veriler



EK-2. (devam) Deneme Serisi (2) numunelerinden ile elde edilen veriler



60:40 oranında kitosan:PEO çözeltilisine 100 mg, 150 mg ve 200 mg nHAp eklenerek elektroğirme işlemi yapılmıştır. Elektroğirme işlemi verileri ve SEM görüntülerine bakılarak, nHAp miktarının artması ile özellikle fiber yüzeylerinde aglomerasyon gerçekleşmekte ve bu durum fiber çapının kalınlaşması ile sonuçlanmaktadır. Buna ek olarak 150 mg nHAp ve 200 mg nHAp ilave edilmesi arasında numunelerin nanofiber yapısına etkisi göz önüne alındığında kayda değer bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. nHAp miktarının 150 mg ve 200 mg çıkarılmasıyla ya 300-500 nm aralığında çaplara sahip nanofiberler üzerinde topaklaşmış nHAp tanecikleri görülmekte ya da nHAp tanecikleri fiber yüzeyine daha homojen bir şekilde dağılarak mikron boyutunda fiberler elde edilmiştir.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZKAN, Özlem Başak  
 Uyuđu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 11.01.1990, Ankara  
 Medeni hali : Bekâr  
 Telefon : 0 (543) 314 98 91  
 e-mail : ozlembasakozkan@gmail.com



### Eđitim

Derece	Eđitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Metalurji ve Malzeme Mühendisliği	Devam ediyor
Lisans	Erciyes Üniversitesi/Malzeme Bilimi ve Mühendisliği	2014
Lise	Batıkent Y.D.A Lisesi	2008

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018- Halen	Eskişehir Teknik Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Ozkan, O. B., Emul, E., Bachımam, K., Ates H. ( 2018 ). *Preparation and characterization of electrospun chitosan/PEO/nano-hydroxyapatite nanofibrous scaffolds for biomedical applications, International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology abstarct book, 297.*

### Hobiler

Kampçılık, doğa yürüyüşleri, çoksesli müzik



*GAZİ GELECEKTİR...*