



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZİ

***ATROPA BELLADONNA İÇEREN ANTİBAKTERİYEL POLİKAPROLAKTON
NANOFİBERLERİN ELEKTROSPİNLE SENTEZİ ve MALZEME
ÖZELLİKLERİNİN TESTİ***

Muhammed Onur AVCI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Bekir Sıddık Binboğa YARMAN

II. DANIŞMAN

Doç. Dr. Aysel ERSOY

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Biyomedikal Mühendisliği Programı

Haziran, 2022



Anneannem Münevver EKİNCİ'ye ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

***ATROPA BELLADONNA İÇEREN ANTİBAKTERİYEL POLİKAPROLAKTON
NANOFİBERLERİN ELEKTROSPİNLE SENTEZİ ve MALZEME ÖZELLİKLERİNİN
TESTİ***

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 34663

TEŞEKKÜR

Başta danışman hocalarım Prof. Dr. Bekir Sıddık Binboğa Yarman ve Doç. Dr. Aysel Ersoy Yılmaz'a araştırma boyuncaengin bilgileri, değerli rehberlikleri ve teşvikleri için teşekkür ediyorum.

Babam Prof. Dr. Ahmet Avcı'ya bana sürekli desteği ve casaretlendirmesi için teşekkür ederim.

Ayrıca başta Araştırma Görevlisi Cansu Güneş olmak üzere, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bölümündeki tüm arkadaşlarıma pozitif katkıları ve çok önemli destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Sürekli teşvikleriyle tez çalışmama katkı sağlayan Melike Kaya Karaaslan, Nedim Muzoğlu ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Son ancak en önemlisi benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, annem (Tülay Avcı), ablam (Zeynep Dünder), anneannem (Münevver Ekinci)'ye hiç bitmeyen sevgileri ve hayat boyu destek ve anlayışları için teşekkür ederim.

Haziran 2022

Muhammed Onur AVCI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xiii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xiv
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	4
2.1. Biyomalzemeler.....	8
2.1.1. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması.....	10
2.1.1.1. Seramik Biyomalzemeler.....	10
2.1.1.2. Metalik Biyomalzemeler.....	11
2.1.1.3. Polimerik Biyomalzemeler.....	12
2.1.1.4. Kompozit Biyomalzemeler.....	14
2.2. Yara İyileşme Malzemeleri.....	16
2.2.1. Cilt Yaralarında Doku İyileşmesi.....	17
2.3. Nanoteknoloji ve Nanomalzemeler.....	18
2.3.1. Metalik Nanomalzemelerin Üretimi.....	19
2.3.1.1. Mekanik Aşındırma Yöntemi.....	19
2.3.1.2. Elektrik Ark Yöntemi.....	20
2.3.1.3. İnert Gaz Altında Yoğunlaştırma Yöntemi.....	21
2.3.1.4. Kimyasal Buhar Biriktirme Yöntemi (CVD).....	22
2.3.2. Gümüş Nanopartiküller (AgNP'ler).....	23

2.3.2.1. Ag Nanomalzemelerin Üretimi.....	25
2.3.2.2. Yeşil Sentez Ag Nanomalzemelerin Üretimi.....	25
2.4. Bitki Ekstraktı.....	27
2.4.1. Bitki Ekstraktı Üretimi.....	27
2.4.2. Güzel Avrat Otu (Atropa Belladonna).....	28
2.4.2.1. Atropa Belladonna ile İlgili Çalışmalar.....	31
2.5. Nanofiber Malzemeler ve Özellikleri.....	32
2.5.1. Polimer Tabanlı Nanofiberlerin Uygulama Alanları.....	33
2.5.2. Doku İskeleleri için Nanolif Uygulamaları.....	34
2.5.3. Nanofiber Üretim Teknikleri.....	37
2.5.3.1. Elektrospın Olmayan Nanofiber Üretim Yöntemleri.....	39
2.5.3.2. Elektrospın ile Nanofiber Üretim Yöntemleri.....	39
2.5.3.3. Elektrospın Yönteminin Temel Parametreleri.....	41
2.5.3.4. Elektrospın ile Üretilmiş Nanofiber Biyomalzemeler.....	45
2.6. Biyobozunur Polimerler.....	47
2.6.1. PCL Polimeri ve Özellikleri.....	54
3. YÖNTEM	55
3.1. Malzemeler.....	55
3.1.1. Ekipmanlar.....	55
3.1.1.1. Elektrospın Nanofiber Hazırlama	55
3.1.1.2. Malzeme Analiz,	55
3.1.2. Kimyasallar ve Biyolojik Materyaller.....	56
3.1.2.1. PCL ve AgNO ₃	56
3.1.2.2. Biyolojik Malzemeler.....	57
3.2. Atropa Belladonna Üretimi.....	57
3.3. Enkapsüle Ag Nanopartikül (eAgNP) Üretimi.....	57
3.4. Elektrospın Prosedürü.....	60
3.4.1. PCL Çözeltisi Hazırlama.....	60
3.4.2. Elektrospın ile PCL Nanofiber Membranların Üretimi.....	62
3.5. AgNP'lerin ve Nanofiberlerin Karakterizasyonu.....	65
3.5.1. Morfolojik Analizler.....	65

3.5.2. FTIR Spektrometre Analizi.....	67
3.5.3. Temas Açısı Ölçümleri.....	69
3.5.4. X-Işını Difraktometre (XRD) Analizi.....	70
3.5.5. UV-Görünür Işık Analizi.....	72
3.5.6. Çekme Testleri.....	73
3.5.7. Antibakteri Testleri.....	74
3.5.8. In-vitro Sitotoksosite Analizi.....	75
3.5.9. Biyobozunurluk Hızı Analizi.....	77
3.5.10. Şişme Profili Analizi.....	78
4. BULGULAR	79
4.1. Enkapsüle Ag Nanopartiküllerin Analiz Sonuçları.....	79
4.2. Saf PCL, AgNP ve eAgNP Katkılı PCL Nanofiberlerin Özellikleri.....	82
4.3. Nanofiberlerin Morfolojik Yapıları, SEM, TEM Görüntüleri.....	83
4.4. XRD Analiz Sonuçları.....	87
4.5. FTIR Analiz Sonuçları.....	88
4.6. Temas Açısı Analizi Sonuçları.....	89
4.7. Mekanik Test (Çekme Testi) Sonuçları.....	90
4.8. Biyobozunurluk Analizi Sonuçları.....	92
4.9. Şişme Testi Sonuçları.....	95
4.10. Antibakteriyel Test Sonuçları.....	98
4.11. MTT Sitotoksosite Analizi.....	99
5. TARTIŞMA.....	102
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	106
KAYNAKLAR.....	107
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	120
ETİK KURUL İZİN YAZISI	121
KURUM İZNİ YAZILARI.....	122
ÖZGEÇMİŞ	123

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Yüksek enerjili bir ball-milling cihazının çalışma prensibi.....	20
Şekil 2.2 : Ark deşarj yöntemiyle nanopartikül üretimi.....	21
Şekil 2.3 : İnert gaz altında yoğunlaştırma ünitesinin şematik resmi.....	22
Şekil 2.4 : Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ünitesinin şematik görüntüsü.....	23
Şekil 2.5 : AgNP'lerin prostat kanseri hücreleriyle etkileşimi.....	24
Şekil 2.6 : Bitki ekstraktlarında bulunan bazı önemli kimyasallar.....	26
Şekil 2.7 : Yeşil sentez mekanizması (Rajasekhar, 2018).....	27
Şekil 2.8 : Güzel avrat otu (Atropa Belladonna) bitkisi, çiçekleri ve meyvesi.....	32
Şekil 2.9 : Polimer nanofiberlerin uygulama alanlarının şematik gösterimi (Gilik, 2020).....	33
Şekil 2.10: Bazı doku iskelelerinin üretim tekniklerinin şematik gösterimi a) faz ayırma, b) kendi kendine montaj ve c) elektrospin yöntemi (Rasouli, 2019).....	35
Şekil 2.11: Nanofiber yapıların sentezlenmesinde kullanılan a) sert ve b) yumuşak şablonların şematik açıklaması (Cheng, 2008).....	38
Şekil 2.12: Bir elektrospin yönteminin şematik görüntüsü (Ge, 2017).....	40
Şekil 2.13: Mesafe ve voltaj parametreleri değiştirilerek farklı çaplarda üretilmiş jelatin-fpmik asit nanofiberlerinin SEM görüntüsü (Ki, 2005).....	42
Şekil 2.14: PVA'dan sentezlenen nanofiberlerin farklı akış hızlarındaki SEM görüntüleri, a) 0.1ml /h, b) 0.5ml /h, c) 1ml / h ve d) 1.5ml /h (Zargham, 2012).....	43
Şekil 2.15: Polimetilmetakrilat (PMMA) kullanılarak farklı çaplarda iğnelerin nanofiberler üzerindeki etkilerini gösteren SEM görüntüleri a) 0.83mm, b) 0.4mm, c) 0.1mm.....	44
Şekil 3.1 : PCL molekül yapısı.....	56
Şekil 3.2 : Atropa belladonna ekstraktının filtre kağıdı ile süzülmesi.....	57
Şekil 3.3 : Atropa belladonna ekstresi ve AgNO ₃ çözeltisinin oda sıcaklığında karıştırılması.....	58
Şekil 3.4 : Yeşil sentezle enkapsüle edilen nanopartiküller (irili ufaklı ve toz halinde).....	58
Şekil 3.5 : Atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş Ag nanopartiküllerin yeşil sentezle üretiminin şematik gösterimi.....	59
Şekil 3.6 : AgNO ₃ ile atropa belladonna ekstraktının atropin moleküllerinin kimyasal reaksiyonu ve eAgNP'lerin oluşumu.....	59
Şekil 3.7 : Gümüş nanoparçacıkların DMF ve kloroform içerisinde ultrasonik karıştırıcı ile dağıtılması.....	61

Şekil 3.8 : Enkapsüle AgNP içeren PCL nanofiber çözeltisi hazırlamanın şeması.....	61
Şekil 3.9 : Nanofiberlerin üretildiği elektrosin cihazı.....	62
Şekil 3.10 : Elektrosin sırasında enjektör pompası, enjektör ve iğne uçlarının pozisyonu....	64
Şekil 3.11 : Elektrosinle üretilmiş, alimünyum folya üzerinde PCL nanofiber membranı.....	64
Şekil 3.12 : Elektron mikroskopunun (SEM ve TEM) şematik gösterimi.....	66
Şekil 3.13 : Bir FTIR spektrometresinin kısımları; ışık kaynağı, interferometre ve dedektörün şematik görüntüsü (Stephansen, 2015).....	69
Şekil 3.14 : Temas açısı deneyinde yüksek hızlı kamerayla kaydedilen görüntü örneği. Görüntü fiber yüzeyinde bir damla tamponu gösterir ve temas açısı kırmızı renkle gösterilmiştir (Tsai, 2019).....	70
Şekil 3.15 : XRD spektrometresi temel parçaları ve çalışma prensibi (Stefanov, 2015).....	72
Şekil 3.16 : Çekme test cihazının çeneleri arasına bağlanan test numunesi.....	73
Şekil 3.17 : Mueller Hinton Agar üzerine bakteri kültürü ekimi.....	74
Şekil 3.18 : MTT solüsyonu ve HaCaT hücre kültürü içeren, 8 tekrarlı hazırlanan ve sağa doğru seri seyreltme ile numune solüsyonu eklenmiş 96'lık kuyu plakaları.....	77
Şekil 4.1 : Atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş Ag nanopartiküllerin TEM görüntüleri.....	80
Şekil 4.2 : eAgNP nanopartiküllerin çap boyutlarının grafik dağılımı.....	81
Şekil 4.3 : eAgNP nanopartiküllerin EDX analiz sonuçları.....	81
Şekil 4.4 : Nanofiber membranların görüntülerin fotoğrafları, a) saf PCL nanofiber, b) saf AgNP katkılı nanofiber, c) eAgNP katkılı nanofiber.....	82
Şekil 4.5 : Nanofiber membranların SEM görüntüleri ve çap boyutlarının grafik dağılımları a) saf PCL nanofiber, b) %1 AgNP ekli nanofiber, c) %1 eAgNP ekli nanofiber.....	85
Şekil 4.6 : PCL nanofiberlerin TEM görüntüsü a) saf AgNP ilaveli PCL nanofiberler, b) eAgNP ilaveli PCL nanofiberler.....	86
Şekil 4.7 : Katkısız PCL nanofiberleri, AgNP eklenmiş PCL nanofiberleri ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerinin XRD grafiği.....	87
Şekil 4.8 : eAgNP, katkısız PCL nanofiberleri, AgNP eklenmiş PCL nanofiberleri ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerine ait FTIR analizi spektrumları.....	89
Şekil 4.9 : Numunelerin temas açıları resimleri a) katkısız PCL nanofiber, b) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler ve c) AgNP eklenmiş PCL nanofiberler.....	90
Şekil 4.10 : Saf AgNP ve eAgNP katkılı PCL nanofiber membranların ve katkısız PCL nanofiber membranın gerilme-şekil değiştirme eğrileri.....	91
Şekil 4.11 : Nanofiber membranların PBS içerisinde 18 hafta içerisindeki biyobozunurluk grafikleri, a) katkısız PCL nanofiberler, b) saf AgNP ilaveli PCL nanofiber, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler.....	93
Şekil 4.12 : PCL nanofiberlerin 18 hafta sonunda bozulmalarının SEM görüntüleri, a) Saf PCL nanofiberler, b) saf AgNP ilaveli PCL nanofiberler, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler.....	95

Şekil 4.13: Farklı pH koşullarında nanofiber numunelerinin şişme oranları, a) katkısız PCL nanofiberler, b) AgNP katılmış PCL nanofiberleri ve c) eAgNP katılmış PCL nanofiberleri.....	97
Şekil 4.14: E.coli ve S.aureus bakterilerine karşı nanofiber numunelerin testleri a) katkısız PCL, b) AgNP eklenmiş PCL, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberleri.....	98
Şekil 4.15: HaCaT hücrelerine karşı numunelerin 1 günlük ve 3 günlük inkübasyon sonrası MTT hücre canlılık testi sonuçları.....	101



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1 : Biyomalzemede sık kullanılan kompozit malzemeler ve temel alanları (Javier, 2018).....	16
Tablo 2.2 : Bazı sentetik ve doğal polimer tabanlı elektrospinlerin genel kullanım alanları.....	36
Tablo 2.3 : Bazı polimerik biyobozunur malzemelerin karşılaştırılması (Armentano, 2010)..	53
Tablo 3.1 : PCL temelli nanofiber üretimde kullanılan ideal elektrospin parametreleri.....	63
Tablo 4.1 : Nanofiber numunelerin mukavemet–şekil değiştirme ve elastik modülleri.....	91

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
ASTM	: Amerikan Malzeme Test Birliği
CD	: Siklodekstrin
CF	: Karbon Lifleri
CP	: Kalsiyum Fosfat
CVD	: Kimyasal Buhar Birikimi
DMEM	: Dulbecco's Modifiye edilmiş Eagle Ortamı
DMF	: Dimetilformamid
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
eAgNP	: Enkapsüle Edilmiş Gümüş Nanopartikül
ECM	: Hücreler Arası Madde
E. coli	: Escherichia Coli
EDX	: Enerji Dağılımı X-Işını Analizi
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
FFT	: Hızlı Fourier Transformu
FTIR	: Fouirer Transform Kızıl Ötesi Spektrometresi
GF	: Cam Lifleri
HA	: Hidroksiapatit
HaCaT	: İnsan Keratinosit Hücresi
IR	: Kızıl Ötesi
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı
JCPDS	: Toz Kırınım Standartları Ortak Birimi
KF	: Kevlar Lifleri
kV	: Kilovolt
MHA	: Mueller Hinton Agar
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5 Difenil Tetrazolyum Bromür

nm	: Nanometre
OF	: Organofosfat
PA12	: Poliamid 12
PAN	: Poliakrilonitril
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PBT	: Poli(Bütlen Tereftalat)
PCL	: Polikaprolakton
PD	: Parkinson Hastalığı
PDLA	: Poli(D-Laktik Asit)
PDS	: Polidioksanon
PE	: Polietilen
PEEK	: Poli(Eter-Eter-Keton)
PEG	: Poli(Etilen-Glikol)
PEI	: Poli(Eter-İmid)
PEO	: Polietilenoksit
PGA	: Poliglikolik Asit
pH	: Potansiyel Hidrojen
PHA	: Polihidroksialkanoat
PHB	: Polihidroksibutirat
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Poli(Laktik-ko-Glikolik Asit)
PLLA	: Poli(L-laktik Asit)
PMMA	: Polimetilmetakrilat
POE	: Poli Orto Ester
PP	: Polipropilen
PPE	: Polifosforester
PSU	: Polisüflon
PU	: Poliüretan
PVA	: Polivinilalkol
PVP	: Polivinil Providanol
<i>S. Aureus</i>	: <i>Staphylococcus Aureus</i>
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu

TCP	: Üç Kalsiyum Fosfat
TEM	: Geçirimli Elektro Mikroskopu
UV	: Mor Ötesi
UV-Vis	: Mor Ötesi ve Görünür Işık
XRD	: X-Işını Difraktometresi



ÖZET

DOKTORA TEZİ

ATROPA BELLADONNA İÇEREN ANTİBAKTERİYEL POLİKAPROLAKTON NANOFİBERLERİN ELEKTROSPİNLE SENTEZİ ve MALZEME ÖZELLİKLERİNİN TESTİ

Muhammed Onur AVCI

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Biyomedikal Mühendisliği Programı

Danışman : Prof. Dr. Bekir Sıddık Binboğa YARMAN

II. Danışman : Doç. Dr. Aysel ERSOY

Atropa belladonna yaraları iyileştirmek ve iltihabı engellemek için kullanılan bitkilerden biridir. Bu çalışmada yeşil sentez yöntemiyle atropa belladonna ekstraktı ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküllerin (eAgNP) PCL yapısına katılması ile oluşturulan malzeme kullanılarak elektrospin yöntemiyle nanofiber membranlarının üretimi ve üretilen malzemenin yara iyileştirme uygulamalarındaki potansiyeli araştırılmıştır. Bu özgün malzemenin TEM ve SEM ile yapılan morfolojik analizleri ile, eAgNP'lerin PCL içerisinde neredeyse homojen dağıldığı, sürekli ve pürüzsüz yüzeye sahip nanofiberlerin oluştuğu gözlemlendi. XRD ve FTIR analizleri ile eAgNP ve AgNP'lerin PCL nanofiber yapısına entegre olduğu görüldü. Çekme testleri ile eAgNP ve AgNP katkısının PCL nanofiber yapısını güçlendirdiği ve mukavemetini artırdığı anlaşıldı. 18 hafta süresince gerçekleştirilen sürekli biyobozunma testi ile eAgNP modifikasyonunun PCL nanofiberlerinin biyobozunur özelliğini artırdığı gözlemlendi. PCL nanofiberlerin hidrofilik yapısının eAgNP ve AgNP katkılarıyla azaldığı, ıslanabilirliğinin arttığı görüldü. Gram-negatif ve gram-pozitif bakteri testleri ile eAgNP ve AgNP içeren PCL nanofiberlerin katkısız PCL nanofiberlere kıyasla daha yüksek antibakteriyel özellik gösterdiği görüldü. MTT hücre canlılık testleri eAgNP modifikasyonunun toksisiteyi azalttığını gösterdi. eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin AgNP eklenmişlere kıyasla çok daha yüksek hücre canlılık ve düşük toksisite özelliklerine sahip olması nedeniyle optimum bir biyomalzeme uygulamasında, AgNP eklenmiş PCL nanofiberlere kıyasla eAgNP eklenmiş PCL nanofiber

malzemesinin çok daha üstün biyolojik özellikler sergilediği görülmüştür. Antibakteriyel özelliği, düşük hücre toksisitesi, yüksek biyobozunurluk, mekanik ve yüzey morfolojik özellikleri eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin yara giydirmeye başta olmak üzere birçok alanda üstün bir biyomalzeme adayı olduğunu göstermektedir.

Haziran 2022 , 143 sayfa.

Anahtar kelimeler: Atropa belladonna, Yeşil sentez, Nanofiberler



ABSTRACT

Ph.D. THESIS

SYNTHESIS of ANTIBACTERIAL POLYCAPROLACTONE NANOFIBERS CONTAINING ATROPA BELLADONNA via ELECTROSPINNING and TESTING of THE MATERIAL PROPERTIES

Muhammed Onur AVCI

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biomedical Engineering

Biomedical Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Bekir Sıddık Binboğa YARMAN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Aysel ERSOY

Atropa belladonna is one of the herbs used to heal wounds and inhibit inflammation. In this study, the production of nanofiber membranes via electro-spinning method using the material formed by adding silver nanoparticles (eAgNP) encapsulated with atropa belladonna extract to the PCL structure by green synthesis method and the potential of the produced material in wound healing applications were investigated. With the morphological analyzes of this unique material by TEM and SEM, it was observed that eAgNPs were almost homogeneously dispersed in the PCL and nanofibers with a continuous and smooth surface were formed. With XRD and FTIR analysis, it was observed that eAgNP and AgNPs were integrated into the PCL nanofiber structure. With the tensile tests, it was understood that the additive of eAgNP and AgNP strengthened the PCL nanofiber structure and increased its strength. With the continuous biodegradation test performed for 18 weeks, it was observed that the eAgNP modification increased the biodegradability of PCL nanofibers. It was observed that the hydrophilic structure of PCL nanofibers decreased with eAgNP and AgNP additives, and their wettability increased. Gram-negative and gram-positive bacteria tests showed that PCL nanofibers containing eAgNP and AgNP showed higher antibacterial properties compared to pure PCL nanofibers. MTT cell viability tests showed that eAgNP modification reduced toxicity. Since eAgNP added PCL nanofibers have much higher cell viability and low toxicity properties compared to AgNP added ones, it has been observed that eAgNP added PCL nanofiber material exhibits much superior

biological properties compared to AgNP added PCL nanofibers in an optimum biomaterial application. Its antibacterial properties, low cell toxicity, high biodegradability, mechanical and surface morphological properties show that PCL nanofibers with added eAgNP are a superior candidate for biomaterials in many areas, especially wound dressing.

June 2022, 143 pages.

Keywords: Atropa belladonna, Green synthesis, Nanofibers



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji alanı, modern malzeme bilimlerinde en aktif araştırma alanlarından biridir. Nanoteknoloji, her geçen gün gelişen, insan yaşamının her alanında etki yaratan ve başta biyomedikal cihazlar ve biyoteknoloji olmak üzere yaşam bilimlerinde giderek artan bir heyecan duygusu yaratan bir alandır. "Nanopartiküller" terimi genel olarak, boyutu 1 nm-100 nm [1] aralığında olan bir malzemeyi tanımlamak için kullanılır.

Günümüzde metal nanoparçacıklar, moleküler teşhis ve ilaç dağıtımı, görüntüleme, kataliz veya algılama gibi alanlardaki uygulamaları ile benzersiz optoelektronik ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle oldukça ilgi çekmiştir [2,3]. Bu nedenlerle metal nanopartiküllerin verimli, çevre dostu ve daha ucuz yolla sentezine ait yaklaşımlar nanoteknolojide çok önemli araştırmalar yapılmasına yol açmaktadır. Yeşil sentez yada diğer adıyla yeşil kimya yöntemi bu yaklaşımlardan birisidir.

Yeşil kimya ilkelerinde belirtildiği üzere, çevresel risk taşıyan maddelerin kullanımını en aza indirilmesi veya ortadan kaldırılmasına yönelik artan ihtiyaçla birlikte, biyolojik maddeler kullanılarak nanoparçacıkların sentezi son yıllarda artan bir ilgi sergilemektedir. Biyosentetik prosedürler, bakteri, mantar ve bitkiler gibi canlı organizmaları içerir [4]. Bu biyolojik varlıklar kullanılarak yapılan nanopartiküllerin sentezi etkili ve başarılı bir şekilde çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Canlı organizmalarla nanopartiküllerin üretimi içerisinde bitkiler daha etkili uygulama alanı bulmuşlardır. Çünkü bitki kullanarak yapılan sentezler, mikrop destekli sentezlere göre daha güvenli, çevre dostu, daha ucuz, kolay ve nispeten daha hızlıdır [5-8]. Bitkiler ile yapılan sentezler gümüş, bakır, çinko ve altın gibi birçok metal nanopartikülün üretiminde kullanılabilir.

Gümüş nanopartiküllerin birçok önemli uygulaması vardır. Bunlardan bazıları; antibakteriyel [9], antifungal [10], antimalaryal [11], larvisid [12], akne önleyici, kepek önleyici [13], plazmodiyal [14], antikanser [15], yara önleyici aktivite [16] gibi uygulamalar olup, bunların yanı sıra kemik çimentosu, cerrahi aletler, cerrahi maske [17] ve katalitik aktivite [18] uygulamaları da önem arz etmektedir. Gümüş nanopartiküller tekstilde, evlerde kullanılan su arıtma sistemlerinde, tıbbi cihazlarda, kozmetikte, elektronikte ve ev aletlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra, AgNP'ler biyolojik algılama ve

görüntüleme sistemlerinde güçlü optik özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Yüksek iletkenlikleri nedeniyle, gümüş nanopartiküller, çeşitli elektronik cihazlar için iletken mürekkep olarak, yapıştırıcı ve macun olarak da kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküller ayrıca stirenin oksidasyonu gibi çeşitli kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak kullanılmaktadır [19].

Gümüş nanoparçacığının kimyasal sentezinde Ag^+ 'yı, AgNP'lere indirgemek için sodyum borohidrit gibi kimyasal bileşikler kullanılabilir. Ancak bu bileşiklerin toksisiteleri ve düşük biyoyumluluk özellikleri nedeniyle kimyasal yöntemler genellikle istenmez. Biyojenik sentez olarak da adlandırılan yeşil sentez, AgNP'lerin sentezlenmesi için alternatif bir yaklaşım olarak kabul edilir. Sentez süreci, bitki ekstraktlarının gümüş tuzları (çoğunlukla gümüş nitrat kullanılır) ile inkübasyonundan sonra başlar. AgNP'lerin sentezi, önce Ag^+ iyonlarının Ag^0 'ye indirgenmesini, ardından kolloidal AgNP'lerin oligomerik kümelerinin oluşumuna yol açan aglomerasyon ve stabilizasyonu içeren iki aşamalı bir işlemdir. İndirgeme işlemi biyolojik katalizörlerin varlığında, bitki ekstraktı yoluyla gümüş nanoparçacıkların yeşil senteziyle gerçekleşir [4]. Bitki ekstraktı, antioksidanların (polifenolik/alkolik bileşikler, aldehytler/ketonlar) ve proteinlerin varlığı nedeniyle metal nanopartiküllerin oluşumu sırasında stabilize edici ajan olduğu kadar indirgeyici ajan olarak da işlev görür [20].

Mevcut çalışma, terapötik potansiyele sahip atropa belladonna özütü kullanılarak biyosentezlenen AgNP'ler ile katkılanmış biyolojik olarak parçalanabilen PCL nanoliflerinin antibakteriyel ve sitotoksik özelliklerini ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır. Bu çalışmada, PCL nanofiber matına Ag nanoparçacıklarının yeşil sentezi, yara iyileşmesi için biyoyumlu bir yapı üretmeyi amaçlamıştır. Ag nanoparçacıklarını bitki özü ile kapsüllemenin faydalarından biri, polimere eklendiğinde agregasyonu önlemektir. Öte yandan, Ag nanopartikülleri, PLC nanofiber matının biyolojik olarak bozunması sırasında yavaşça salınır. Böylece Ag nanopartiküllerinin antibakteriyel etkisinin uzun süre devam etmesini sağlar. Yara iyileştirme işlemi sırasında insan sağlığına zararlı maddelerin oluşumunu azaltmak için yeşil indirgeyici ajanlar kullanılmalıdır. Bu amaçla atropa belladonna özütü ile kapsüllenmiş Ag nanoparçacıklar sentezlenmiştir.

Çalışmanın devamında, karşılaştırma için elektrospin kullanılarak hem kapsüllenmiş Ag nanopartikülleri hem de saf Ag nanopartikülleri ile yüklenen PCL nanolifleri hazırlanmıştır. Kapsüllenmiş Ag nanoparçacıkları ve modifiye edilmiş PCL nanolifleri, TEM, SEM, EDX, FTIR, XRD ve UV-vis spektroskopisi analizleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca PCL matların mekanik özellikleri, ıslanabilirlik kapasiteleri ve şişme profilleri incelenmiştir. Her tür

PCL nanolifinin antibakteriyel aktiviteleri, nanoliflerin antibakteriyel yara örtüsü olarak kapasitesini belirlemek için gram-negatif *E.coli* ve gram-pozitif *S.aureus* üzerinde çalışılmıştır. Kapsüllenmiş Ag nanopartikülleri ile PCL nanoliflerinin biyodegradasyonu ve Ag nanopartiküllerinin salınımı biyomimetik bir solüsyonda değerlendirilmiştir. Ayrıca, nanolif örneklerinin sitotoksitesi, HaCaT (insan epidermal keratinosit) hücre hattı kullanılarak in vitro koşullarda analiz edilmiştir. Modifiye edilmiş PCL nanofiber matları, yara iyileşmesinin istendiği çeşitli uygulamalarda kullanım potansiyeline sahiptir. Bu çalışmada Polikaprolakton (PCL) biyobozunur polimer nanofiberlerin içerisine enkapsüle AgNP'ler ilave ederek antibakteriyel ve sitotoksite etkilerini in vitro yöntemiyle belirlemek istenmiştir.

Bu çalışmada üretilen özgün malzemenin mekanik, morfolojik, kimyasal ve biyolojik özellikleri incelenerek, hangi alanlarda kullanılabileceği ve ne gibi potansiyeller oluşturabildiği incelenmiştir. Elde edilen özgün malzemenin PCL biyobozunur nanofiberler yara örtüsü, antibakteriyel, doku iskelesi, ilaç salınımı gibi biyomedikal ve tıbbi uygulamalarında kullanıma özelliğine sahip olduğu görülmüştür.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

Biyomalzemelerin kullanımı ve doku mühendisliği çalışmaları ile farklı biyolojik doku türlerini onarmak, sürdürmek, iyileştirmek yada değiştirmek mümkündür. Doku mühendisliği genellikle tıbbi bir amaç için yeni canlı doku oluşumunda doku iskelelerine yerleştirilen hücrelerin kullanımını içerir, ancak hücreler ve doku iskelelerini içeren uygulamalarla sınırlı değildir. Bu alan önceleri biyomalzemelerin bir alt dalı olarak sınıflandırılırken, kapsamının ve öneminin artmasıyla günümüzde başlı başına bir alan olarak değerlendirilmektedir. Doku mühendisliği, hücre biyolojisi, malzeme mühendisliği ve medikal biliminin yöntemlerini kullanarak yeni fonksiyonel doku rejenerasyonunu sağlamak üzere gerçeğe yakın yapılar oluşturur.

Bitkilerde bulunan fitokimyasallar başta olmak üzere çok sayıda aktif molekül indirgeyici ve enkapsüle ajan olarak metallerle yapılan kompozit malzemelerde önemli rol oynamaktadır. Bitkilerin sağladığı büyük avantajı kullanarak yeşil sentezle AgNP'lerin üretilmesi araştırmalarda büyük önem arz etmektedir [21-24].

Metal nanoparçacık sentezi için kullanılan geleneksel yöntem, daha yavaş reaksiyon hızına ve daha yüksek maliyete sahiptir. Ayrıca bu yöntem çevre üzerindeki yükü artırabilen sodyum borohidrit, dimetil foramid, trisodyum sitrat gibi kimyasal indirgeyici ajanların kullanımı gibi birçok sınırlamaya sahiptir. Diğer taraftan metal iyonlarının bitki kimyasalları ile indirgenmesiyle yapılan yeşil sentezlemede toksik olmayan kimyasallar, çevre dostu çözücüler ve yenilenebilir malzemeler kullanılabilir. Doğal kaynak, hızlı sentez oranı, çevre dostu ve daha güvenli bir yöntem olmasından dolayı son yıllarda yeşil sentezlenmiş biyoyumlu metal nanoparçacıklar, kullanımları nedeniyle biyotıp alanında önem kazanmıştır. Diğer bir avantaj da yeşil sentezin iyi tanımlanmış ve kontrollü nanoparçacık boyutu vermesi, kontaminasyon içermemesi ve nanoboyutta ölçeği büyütme imkanını sağlamasıdır. Bu nanoparçacıkların nanofiber benzeri yapılara katılmasıyla oluşturulabilecek kompozit malzemeler doku mühendisliğinde bir çok uygulama alanında kullanım imkanı bulmaktadır.

Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerden üretilen elektrosipin (Elektrospın) nanofiberler, daha geniş yüzey/hacim oranları, gözenekli yapıları ve mükemmel mekanik güçleri nedeniyle doku mühendisliğinde yara örtüleri veya yapı iskeleleri olarak kullanılmaktadır. Bu tür nanofiberler hücre büyümesi ve doku rejenerasyonunda uygun bir biyolojik ortam sağlamak için hücre dışı matrisi (extracellular matrix, ECM) simüle ederler. Bu nanofiberler, canlı hücrelerde fonksiyonel dokular oluşturmak, enfeksiyonu kontrol etmek veya hücre proliferasyonunu ile doku rejenerasyonunu düzenlemek üzere biyoaktif moleküller için platformlar sağlayabilir [25-28].

Yara iyileştirme ve doku mühendisliği için fonksiyonel nanofiberlerin geliştirilmesi konusunda kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Çok sayıda ilaçlar, farklı polimerlerden üretilmiş nanofiberlere eklenmiştir. Bu ilaçlar, model ilaçları [29], anti-enflamasyon ilaçları [30] ve anti-kanser ilaçları [31,32] içerir. Bu ilaçları taşıyan nanofiberler zamanla ilaçların sürekli salınımını sağladığı ve böylece ilaçların etkinliğini artırdığı çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir [33]. Aynı zamanda nanoliflere biyoaktif proteinlerin dahil edildiği çok sayıda çalışma da bulunmaktadır. Bu proteinler model proteinler, enzimler, büyüme faktörleri vb. olabilmektedir. Biyoaktif protein yüklü nanofiberlerin birçoğunun hücre proliferasyonunu ve doku rejenerasyonunu arttırdığı biyomedikal uygulamalarda ne ölçüde etkili olabildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [34-40].

Nanofiber iskelelerin yapısında kullanılabilen polimerlerden biri de polikaprolaktondur. Polikaprolakton (PCL), yavaş indirgeme hızı, biyoyumluluğu, elektrosipinleme başarısı ve uygun mekanik özellikleri nedeniyle farklı doku mühendisliği uygulamalarında biyolojik olarak parçalanabilen ve yaygın olarak kullanılan polimerlerden biridir [41-44]. Ayrıca PCL nanoliflerinin mekanik özelliklerini ve antibakteriyel özelliklerini iyileştirmek için çeşitli modifikasyonlar yapılmaktadır [45, 46]. Hidrofobik PCL nanoliflerine, PEG (polietilen glikol) gibi polimerleri kullanılarak yüzey modifikasyonu yoluyla hidrofilik özellikler kazandırılabilir. Böylece nanolif yüzeyinde yüzey polaritesini etkileyecek serbest radikaller oluşturulabilir [47]. Ayrıca polikaprolakton, PLA, PGA ve PLGA gibi diğer biyoyumlu polimerlerle karıştırılarak elektrosipin uygulamaları için kullanılabilmektedir [48, 49]. PCL, PLGA gibi birçok poli-ester polimerlerden daha esnek bir polimerdir [50]. Öte yandan, PCL yüksek seviyede hidrofobik malzeme olup, sahip olduğu yüksek mekanik mukavemet ile doku mühendisliğinde kullanıma uygundur [51].

Birçok elektrospin nanofiber, yara iyileşmesi, tümör hedefleme, ilaç dağıtımı ve antibakteriyel kullanım gibi bazı biyomedikal uygulamalarda daha iyi sonuçlar elde etmek için farklı bitki özleri ile yüklenebilmektedir [52-55]. Hastalıkları tedavi etmek için bitki özleri ile polimer nanoliflerin uygulanması hakkında başka çalışmalar da rapor edilmiştir. Hokmabad ve diğ. [56] *Elaeagnus angustifolia* ekstraktının PCL-PEG-PCL nanofiber yapı iskelelerinde birleştirilmiş kemik rejenerasyonu üzerindeki etkilerini göstermiş ve dental pulpa kök hücrelerinin canlılık ve çoğalmasını (proliferasyonunu) incelemiştir.

Günümüzde nanofiber yapı iskeleleri, benzersiz özelliklerinden dolayı doku rejenerasyonu için yara iyileşmesi alanında büyük ilgi görmektedir [57]. Elektro-eğirilmiş nanolifler, yüksek yüzey alanları, mekanik stabiliteyi nedeniyle yara yüzeyinden sızan sıvıları rahatlıkla emebilir ve çeşitli ajanlarla işlevsellik kazanabilir [58-60]. Ayrıca, antibakteriyel ajanlar ve ilaçlar içeren nanolifler, yara iyileşmesini hızlandırır [61-63]. Nanofiber yapısında kullanılabilme potansiyeline sahip ajanlardan bazıları bitkisel moleküller olup, bu amaçla birçok bitki kullanılabilir. Anti-enflamatuvar özelliği sebebiyle atropa belladonna bu bitkilerden biri olabilir.

Atropa belladonna (güzel avrat otu) tropan alkaloidleri, atropin, hiyosiyamin, skopolamin ve anizodamin içerir. Atropin bu bitkinin önemli kimyasalıdır ve çoğunlukla yapraklarında ve siyah meyvelerinde bulunur. Bu bitkinin yaprakları, meyveleri, gövdeleri ve kökleri birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır [64]. FDA tarafından insan kullanımı için onaylanmayan reçetesiz satılan ilaçlar arasında yer almakta ve öksürük, soğuk algınlığı, astım, boğmaca, bronşit, Parkinson gibi spazmları durdurmak için sakinleştirici olarak, romatizma ve nevralji gibi rahatsızlıkların semptomlarının tedavisinde kullanılmaktadır [65]. Kimyasal çalışmalar sonucunda bu bitkilerin de güçlü antioksidan ve kanser önleyici özelliklere sahip olduğu ortaya çıkmıştır [66]. Atropa belladonna'nın muazzam tıbbi önemi göz önüne alındığında, AgNP'ler özü kullanılarak yeşil sentez ile üretilmiş ve terapötik potansiyelleri üzerinde başarılı çalışmalar yapılmıştır [67]. Bu bitkide bulunan birçok aktif bileşen, indirgeyici ve örtücü maddeler olarak önemli bir rol oynamaktadır [68].

Doku iskelesi yapısına katılması ile başarılı birçok doku iskelesi uygulamasında atropa belladonna'nın biyoyumluluğu artırabileceği düşünülebilir. Esasen, doku iskeletlerinin veya doku iskelelerinin işlevlerinin; hücreler ile biyosinyal/biyoaktif moleküller arasında taşıyıcılık yapmak, üretilen/hazırlanan doku benzeri parçanın büyüklüğünü belirleyerek şeklini korumak, yaralı bölgeye fibröz dokunun gelmesini engellemek, biyoyapay dokunun mekanik olarak hasar

görmüş vücut bölgesine orjinal olarak uyumunu sağlamak olduğu söylenebilir [69]. Doku iskelelerinin seçiminde iskelenin malzemesinin yapısı önemlidir. Malzemenin kimyasal özellikleri, gözenekliliği, biyobozulma hızı ve mekanik özellikleri de ayrıca önemlidir. Doku iskelesinin kullanımındaki amaç, travma bölgesinde doku oluşumuna yardımcı olması, transplant edildiği yerde vücut içinde uyumlu halde çalışmaya başlaması, istenilen süre sonrasında iskele malzemesin tamamen eriyip ortamdan uzaklaşarak iyileşmeyi sağlamasıdır. İskele bozulurken, biyouyumluluğunu kaybetmemeli, toksik ürünler oluşturmamalıdır. Atopa belladonna bitkisinin de, belli bir miktara kadar toksik etki göstermemesi, anti-enflamatuvar ve analjezik etki göstermesi nedeniyle doku iskelesi modifikasyonuna uygun olduğu öngörülebilir.

Doku iskelesi oluşturturken seçilen malzemeler önem arz etmektedir. İskeleler, alginat, kollajen, hyalüronik asit, hücrelerinden arındırılmış (kemik vb.) aselüler doğal malzemeden, pololikaprolanton (PCL), poli(laktik-ko-glikolik asit (PLGA), polilaktik-ko-glikolik asit, polietilenglikol, polivinilalkol ve poliüretan gibi biyobozunur sentetik polimerlerden, biyoseramikler gibi sentetik malzemeden veya bunların oluşturdukları kompozitlerinden meydana gelebilir [70]. İskeleler hazırlanırken rejenerasyonun sağlayacağı dokunun yapısına uygun şekilde, yük taşıma kapasitesi yüksek ve geçirgenlik gibi özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Başarılı bir iskele malzemesi için yapının besin difüzyonuna ve metabolit artıklarının geçişine izin vererek, uygun mekanik dayanım sağlaması gerekmektedir [71].

Nanofiber tabanlı iskeleler geniş yüzey alanına sahip olduklarından hücrelerin tutunup çoğalabileceği geniş ve farklı morfolojide yüzeyler sağlarlar. Bu nanofiberlerin gözenekli yapıları sayesinde iskeleler biyomalzeme ya da doku mühendisliği uygulamaları için amaca uygun olarak şekillendirebilmesinde önemlidir. Doğal polimerlerden yapılan bazı biyomalzemelerin mekanik dayanımı oldukça zayıftır ve genellikle ısıyla bozunmaz ve özel bir çözücüye ihtiyaç duyarlar. Sentetik polimerler ise kimyasal yöntemlerle sentezlenme dezavantajlarına karşılık, rahat işlenebilme ve doğal polimerlerden farklı olarak kimyasal hidroliz yoluyla bozunabildikleri ve enzimatik yöntemlerden etkilenmedikleri için bozunma hızlarının değişmemesi gibi avantajlara sahiptirler. Doku iskeleleri için kullanılan doğal polimer, dondurarak kurutma ve çapraz bağlama gibi sınırlı sayıda üretim tekniği ile elde edilirler. Buna karşılık sentetik polimerler için çok sayıda üretim metotları bulunmaktadır. Bunlardan partikül uzaklaştırma, faz ayırımı, elektrospin ve çözücü kullanımı gibi teknikler söylenebilir.

Son zamanlarda biyomalzeme ve doku mühendisliği uygulamalarında nano boyutunda fiber çapına sahip biyobozunur ve biyouyumlu fiber yapıların üretimi için yeni bir yöntem olan elektrospın metodu kullanılması öne çıkmıştır. Bu üretim yönteminin yardımıyla kollajen ve fibrinojen gibi doğal makromoleküller ve polikaprolakton (PCL), poli laktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve sentetik polipeptitler gibi biyobozunur sentetik polimerler kullanılarak birçok uygulama için fibröz yapılar elde edilebilmektedir.

Elektrospın yöntemin en büyük avantajı nanofiber yapıların oryantasyonunun rastgele veya yönlendirilmiş olmaları, gözenekli ve çok geniş yüzey alanına sahip olmalarıdır. Ayrıca üretim süreci sırasında uygulanan yüksek voltajın, polimer akış hızının, polimer solüsyonunun konsantrasyonu parametrelerin değiştirilerek nanofiberlerin çaplarında ayarlama esnekliği sağlaması da önemli avantajlardandır [72].

2.1. BİYOMALZEMELER

Biyomalzemeler, çeşitli hasarlı, işlevini yerine getiremeyen dokunun desteklenmesi, onarılması ya da tamamen yerini alması amacıyla kullanılan biyolojik sistemlerle etkileşime girebilen malzemelerdir. Bir başka tanıma göre ise, “Biyomalzemeler, doku, kan ve biyolojik sıvılarla temas halinde olan ve canlı organizmayı ve bileşenlerini olumsuz etkilemeden protez, teşhis, tedavi ve depolama uygulamaları için kullanılması amaçlanan sentetik ve doğal kaynaklı malzemelerdir” [73].

İşlevini yitirmiş vücut fonksiyonunun yerine geçme amacının yanı sıra, var olan anormallikleri düzeltme, dokuda eksik olan bir fonksiyonu iyileştirmek, iyileşme sürecini destekleyerek hızlandırmak gibi amaçlar için de kullanılır. Malzemelerin insan vücudunda kullanılabilmesi için biyolojik olarak dokuya uyumlu olması gerektiği için birtakım özelliklere sahip olması gerekir. Bir biyomalzeme, biyolojik sistemlerle doğrudan temas halinde veya etkileşim içinde olduğunda canlı dokunun işlevini yitirmesine sebep olacak herhangi bir zararlı bir doku reaksiyonuna (ağrı, şişme veya nekroz), toksik reaksiyona veya tümör oluşumuna sebep olmamalıdır [74]. Bir biyomalzeme, kullanılacağı dokunun yapısına göre uygun mekanik dayanıklılık, uygun ağırlık, uygun yoğunluk ve uygun sertliğe sahip olmalıdır. Başarılı biyomalzemeler, biyouyumluluk, biyoçözünürlük, biyomekanik özellikler, yüzey kimyası, mikro topografya ve gözeneklilik, gözenek boyutu kıstasları gibi bazı özellikleri içermesi gerekir. Bir biyomalzemenin biyolojik açıdan etkinlik göstermeyip ev sahibi dokuda tepkiye

(host response) neden olmamasına ‘biyoetkisizlik’ (bioinert), canlı dokuda bir etkinliğe (büyüme, gelişme vb.) sebep olmasına ‘biyoaktiflik’ (bioactive), vücutta bozunmaya uğrayarak zamanla yok olma özelliğine ise ‘biyobozunurluk’ (biodegradable) denir.

Biyouyumluluk ifadesinin kapsadığı özelliklerden biri de malzemenin konakçı dokudan gelen enflamasyon yanıtının en aza inmesini sağlamasıdır. Konakçının bağışıklık sistemi implantı konakçının bir parçası olarak tanımalı ve reddetmemelidir. Biyouyumlu malzemeler kullanılarak klinik olarak faydalı, tercih edilen hücresel ve / veya konakçı doku yanıtı elde edilir. Biyouyumlu malzemeler tıbbi tedaviye uygun olarak istenen işlevi yerine getirir. Ayrıca, kullanılan hasta ve dokuya göre en iyi iyileşme performansını gerçekleştirmek için seçilirler. Biyouyumluluk sadece pH, kan taşıma hızı gibi konak doku özelliklerinden değil, aynı zamanda malzemelerin yüzey özelliklerinden de etkilenir. Sonuç olarak, biyomalzemelerin biyouyumluluk özellikleri uygulamadan sonra uygun konak yanıtı sağlamalıdır. Biyomalzeme vücuda yerleştirildiğinde, her şeyden önce, proteine yapışır ve bunu hücre bağlanması izler. Bu nedenle araştırmacılar, biyomalzemenin biyouyumluluğunu kontrol etmek için biyomalzemelerin yüzey modifikasyonundan önce ve sonra protein Emilimi profili üzerinde çalışırlar [75].

Biyobozunurluk oranı, yeni dokuda iyileşme oranına ve mekanik desteğe uyacak şekilde tasarlanmalıdır. Biyolojik olarak bozunabilirlik ve vücutta toksik etki yada toksik yan ürünleri olmadan kullanımı biyomalzemelerin tasarımında hayati öneme sahiptir. Toksiklik biyolojik uyumluluk için büyük önem taşır çünkü toksisite oluşturabileceği kimyasal hasar nedeniyle hücrelerin işlevinde ciddi veya geri dönüşü olmayan bir değişikliğe neden olabilir. Hücrenin işlevindeki bu tarz bir değişiklik o hücrenin ölümüne neden olabilir.

Vücuda yerleştirilen materyalin biyomekanik özellikleri de uygulama alanlarına uygun olmalıdır. Yüzey kimyası, hücresel yapışma için ana faktördür çünkü hücre-malzeme arasındaki yüzeye, çevresel ortamdan alt tabaka (substrat) üzerine adsorbe edilen proteinler aracılık eder. Bununla birlikte, güçlü bir hücre yapışmasına izin veren oldukça yapışkan bir yüzey de hücre immobilizasyona neden olabilir. Biyomalzemenin mikro topografyası hücrenin büyüme ve yayılma davranışını etkiler. Pürüzsüz yüzeylerde, hücreler yayılabilir ve belki de substrata katılarak daha fazla sayıda hücre dışı matrise bağlanan hemidesmozomları oluşturabilirler. Biyomalzemenin gözenekliliği ve gözenek büyüklüğü iskeleler için önemlidir. Büyük gözenek boyutu, yapı iskelesi yapısı boyunca gözenek boşluğunda bağlanma, göç ve büyümeyi, hücre dışı matris üretimini, sıvı dolaşımını ve damar oluşumunu (vaskülarizasyon)

en üst düzeye çıkarır. Biyomateryalin gözenekliliği ve gözenek boyutu, hücre dokusuna bağlı olarak daha iyi hücre çoğalması (proliferasyon) için ayarlanabilmektedir [76].

Biyomalzemeler malzemenin yapısına göre; polimerler, metaller, seramikler (karbonlar, cam seramikler ve gözlükler dâhil), doğal malzemeler (hem bitkilerden hem de hayvanlardan olanlar dâhil) ve kompozitler olmak üzere 5 gruba ayrılır. Tüm bu malzemelerin, malzemenin uygulanmasını etkileyen bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Metaller güçlü, sert ve sünektir, ancak işlenmesi çok zordur ve doku ile temas ettiğinde paslanırlar. Seramik biyomalzemeler inert, güçlü ve yüksek oranda biyouyumlu oldukları için biyomalzeme uygulamaları için çok uygundur. Ancak, aynı zamanda kırılğandır ve onları yapmak çok zordur. Kompozitler tüm bu özelliklerin bir bileşimini gösterebilir, ancak işlenmesi zordur. Benzer şekilde, polimerler rahatlıkla şekillendirilir ve üretimi de daha kolaydır. Bazı polimer türlerinin parçalanabilmesi uygulama alanına göre hem bir avantaj hem de dezavantaj olabilir. Basınçlı ortamlar altında deforme olurlar ve birçok biyomalzeme uygulaması için güçlü değildirler.

2.1.1. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomalzemeler, malzemenin doğasına göre en önemli gruplar olan seramikler, metaller, polimerler ve kompozitler olarak sınıflandırılabilir. Bunlar ya pasif biyomateryaller (genellikle biyolojik çevrelerinde nötr kalırlar ve doğal bir etki gücüne sahip değildirler, biyoinert malzemeler) ya da farklı biyoaktiviteye sahip aktif biyomalzemeler (çevreleriyle etkileşime girebilen ve hatta vücudun ayrılmaz bir parçası olabilirler) olarak tanımlanabilirler.

2.1.1.1. Seramik Biyomalzemeler

Seramik malzemeler, inorganik, metalik olmayan kristalli, yarı kristalli veya kristalli olmayan (amorft bileşikler) ve cam-seramiklerden (kısmen kristalize camlar) oluşur. Seramik biyomalzemeler, malzeme ve konak doku (biyoinert veya biyoaktif) arasındaki etkileşimlere veya bağlanmaya göre kategorize edilebilir.

Ayrıca biyoaktif seramikler, emilebilir ve emilemez olarak ikiye ayrılabilir ve granülatlar halinde, kaplamalar halinde, gözenekli veya yığın halinde yoğun olarak üretilebilir [77]. Seramik biyomalzemeler, kemik, eklemler ve dişlerden oluşan iskelet sistemini onarmak ve hem sert hem de yumuşak dokuyu güçlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [78]. Ek olarak, bu malzemeler enzimler, antikorlar, antijenler için taşıyıcılar ve tümörlerin yerinde tedavisi için radyoaktif izotoplar için mikro-enjekte edilebilir dağıtım sistemi olarak kullanılabilir. Ayrıca gözlük, teşhis aletleri, kimyasal ürünler, termometreler, doku kültürü

şışeleri ve endoskopi için fiber optikler için de kullanılabilir [78]. Diş hekimliğinde seramikler, restoratif materyaller (inleyler ve onleyler dahil), altın-porselen kronlarda, çok üniteli köprülerde ve protezlerde de kullanılabilir.

Seramik malzemelerin tokluğunun genel olarak vücut dokularından daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu durum mekanik anlamda başta implat uygulamaları olmak üzere sorunlara neden olabilmektedir. Seramik biyomalzemeler genel olarak biyoinert olarak kabul edilebilir. Bunların en sık karşılaşılan istisnaları ortopedi alanında ve genelde metal implant fiksasyonunda kullanılan çimentolar ve biyoaktif camlardır.

2.1.1.2. Metalik Biyomalzemeler

Metalurji endüstrisi çok sayıda metal ve alaşım üretebilir, ancak yalnızca birkaçı biyoyumludur ve implant malzemesi olarak uzun vadede başarılıdır. Yüksek mekanik mukavemet ve kırılma tokluğu kombinasyonu, metalleri seramik veya polimerik malzemelere kıyasla yük taşıma uygulamaları için daha uygun hale getirir. Başlangıçta, metalik implantlar esas olarak kemik onarımında (uzun kemiklerin iç kırık fiksasyonu) kullanılmak üzere geliştirilmiş, geçici ve kalıcı cihazlar (örneğin kemik plakaları, pimler, vidalar ve toplam eklem replasmanları) dahil olmak üzere çoğu ortopedik cihazda önemli bir rol oynamıştır [79]. Bunları elde etmenin ana yöntemleri döküm, dövme, presleme, haddeleme ve işlemedir. Daha sonra geliştirilen metalik implantlar sadece ortopedik cerrahide değil, diş dolguları ve kökleri de dahil olmak üzere diş ve ortodonti uygulamalarında da kullanılmaya başlanmıştır.

Halihazırda, birkaç araştırma, sert dokuların/organların geleneksel olmayan rekonstrüktif cerrahisinin (vasküler stentler olarak NiTi şekil hafızalı alaşımlar) uygulamasında metalik biyomalzemelerin kullanımına ve kemik dokusu mühendisliği ve rejenerasyonu için yeni magnezyum bazlı alaşımlar geliştirmeye işaret etmektedir. Bunlar, dört metalik biyomalzeme sınıfının mevcut durumunu ve klinik uygulamalarını özetlemektedir. Paslanmaz çelikler, kobalt esaslı ve titanyum esaslı alaşımlar rutin olarak şu alanlarda uygulanır: Geçici cihazlar (kırılma plakaları, vidalar, kalça çivileri, vb.); kobalt-krom-molibden veya seramik femur başları; toplam eklem değiştirmeleri (dövme alaşımları); diş hekimliği dökümleri ve diğer kalıcı cihazlar (çiviler, kalp pilleri). Son kategori "Muhtelif" kategorisine karşılık gelir ve içinde radyografik işaretleyici olarak kullanılan tantal alaşımları ile plastik cerrahi ve beyin cerrahisinde kullanılan tel dikişler gibi farklı alaşımlar bulunur.

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından birçok metalik biyomalzeme onaylanmıştır. Biyobozunur ortopedik implantlar olarak bilinen magnezyum alaşımları ve farklı uygulamalar için FDA onaylı nikel-titanyum alaşımlarının (Nitinol olarak bilinir) kullanım alanları; ortodontik dental ark telleri, vasküler stentler, vena kava filtresi, intrakraniyal anevrizma klipsleri, kateter kılavuzu yapay bir kalp için teller, ortopedik zimbalar ve kasılabilen yapay kaslardır.

Kemik gibi sert doku onarımı için tüm avantajlarına rağmen metalik biyomalzemelerde birçok sınırlamalar ve dezavantajlar mevcuttur [80]. Toksik metalik iyonların ve/veya partiküllerin olası salınımı korozyon veya aşınma süreçleri, biyouyumluluğu azaltır, enflamasyon kaskadların başlangıcına yol açar ve doku kaybını tetikler. Malzemelerin elastik modülleri doğal kemik dokusununkiyle iyi eşleşmez ise, stres koruyucu etkiler üretir, yeniden şekillenmeyi ve yeni kemik büyümesinin stimülasyonlarını azaltır, implant stabilitesini tehlikeye atar. Genel olarak in vivo olarak nötrdürler (biyoinert'dirler), kalıcı fikstürler olarak kalırlar ve doku onları güvenli bir şekilde çıkarmak için yeterince iyileştikten sonra ikinci bir cerrahi prosedüre neden olur. Bu problemler ciddi kırıkları sabitlemek için kullanılan plakalar, vidalar ve pimlerde sıklıkla görülmektedir.

2.1.1.3. Polimerik Biyomalzemeler

Polimerler en geniş biyomalzeme sınıfını temsil eder. Biyoyumluluğu, rahat işlenebilmesi ve çok yönlülüğü nedeniyle polimerler geçmişten bu yana en sık kullanılan biyomalzemelerden biri olmuştur. Polimerler, yaşamın başlamasından bu yana doğal formda var olmuştur ve DNA, RNA, proteinler ve polisakkaritler gibi olanlar, bitki ve hayvan yaşamında önemli bir rol oynamaktadır. Polimerik biyomalzemelerin kullanılmaya başlanılmasından bu yana, tıp alanında devrim yaratan ve genel olarak biyomalzeme alanının ortaya çıkmasına zemin hazırlayan çok sayıda gelişme meydana gelmiştir.

Polimerler; düşük maliyet, düşük elektriksel ve termal iletkenlik, düşük yoğunluk, yüksek mukavemet / ağırlık oranı, kimyasal korozyona direnç, üretim kolaylığı, minimum ek yüzey işlemleri, tüpler, filmler, levhalar, çubuklar gibi kullanım biçimlerinin çok olması gibi özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılır.

Plastikler olarak da bilinen polimerler, birbirine genellikle kovalent bağ gibi birincil bağlarla bağlanmış bir veya daha fazla atom türünün veya atom gruplarının uzun dizilerinden meydana gelen moleküllerden oluşan bir malzeme türüdür [81]. 'Poli' kelimesi birçok, 'mer'

kelimesi ise birim anlamına gelmektedir. Polimerler monomer adı verilen temel yapı taşlarından oluşurlar. Bir birimi oluşturmak için tekrar eden oldukça fazla monomer yığınının oluşan molekül gruplarına makromoleküller denir. Makromoleküller, polimerizasyon adı verilen kimyasal reaksiyonlar yoluyla birbirine bağlanan monomer moleküllerinden oluşur. Moleküler ağırlık dağılımı ve polimerizasyon derecesi, polimerlerin çekme mukavemeti, darbe mukavemeti, su emilimi ve viskozite gibi yapısal özelliklerini belirler. Moleküler ağırlık dağılımı, bir zincirdeki monomerlerin moleküler ağırlıklarının toplamı; polimerizasyon derecesi ise polimer zincirinin boyutudur. Moleküler ağırlık dağılımının artması ile polimerin çekme mukavemeti, darbe mukavemeti, çatlamaya karşı direnci ve viskozitesi artarken; polimerizasyon derecesi arttıkça viskozitesi artar ve şekil verilmesi zorlaşır. Bu etmenler göz önünde bulundurularak polimerler genellikle küçük molekülleri elektron kaybetmeye ve birbirine bağlanmaya zorlayan yoğunlaştırma ve ilave reaksiyonları ile üretilir [82].

Polimerler doğal polimerler veya organik işlemlerden geçirilen sentetik polimerler olarak ikiye ayrılır. Doğal polimerlere kitin, resilin, kitosan, selüloz, elastin, nişasta, pektin, aljinat, agar, agaroz, kollajen, ipek, keratin, lignin, DNA, enzimler örnek olarak verilebilir [83]. Sentetik polimerlere ise Polietilenoksit (PEO), polilaktikasit (PLA), Polivinilalkol (PVA), polietilen (PE), poli-L-lizin (PLL), poliglutamik asit (PGA), poli(D,L-laktikko- glikolik asit) (PLGA), siklodekstrinler (CD), polikaprolakton (PCL) örnek olarak verilebilir.

Doğal polimerler, yüksek biyoyumlulukları, yapısal olarak doğal hücresel ortamlarını yakından taklit etmeleri, iyi mekanik özellikleri ve bir enzimatik reaksiyon ile biyolojik olarak parçalanabilmelerinden dolayı biyomedikal uygulamalar için bariz bir seçim gibi görünmektedir; fakat viral enfeksiyon riski, antijenisite, dengesiz malzeme temini ve özelliklerde parti-parti (batch to batch) değişimi gibi dezavantajları nedeniyle doğal polimerler biyomedikal alanda tam olarak kullanılmamıştır [84].

Diğer taraftan sentetik polimerler, malzeme tarafından doğal polimerlere oranla muazzam avantajlar sunmaktadır. Sentetik esneklikleri nedeniyle, tekrarlanabilirliğe sahip çok çeşitli özellikler sunabilen polimerler geliştirmek mümkündür. Ayrıca, bu polimerlerin bozunma hızının kontrol edilebilmesi sayesinde yapılarını değiştirmek mümkündür ve bu biyomedikal uygulamalar için büyük bir avantaj sağlar.

Biyobozunur polimerler geniş yüzey alanları sağlarlar. Sinir, kas, tendon, ligament, kan damarları, kemik ve diş doku onarımında yapı iskelesi materyali olarak kullanılırlar [85]. Biyobozunur polimerler kökenine göre doğal ve sentetik olmak üzere iki gruba ayrılır. Genel polisakkaritler ve proteinler doğal malzeme grubuna girmektedir. Fakat bu malzemelerin uygulamaları yüksek fizyolojik aktivitesi, iticilik, bilinmeyen bozunma hızı ve düşük mekanik özelliklerinden dolayı önemli ölçüde sınırlı kalmıştır. Sentetik polimerler ise dikkatli tasarım ve doğru bozunma kontrolü vasıtasıyla çeşitli uygulamalar için doğal polimerlerden daha üstün özelliklere sahiptirler. Polimer zincirleri düz veya diğer zincirler ile çapraz olarak bağlanmış olabilirler. Bir başka deyişle polimerler amorf veya kristal yapıda olabilirler. Polimerin amorf veya kristal yapıda olması direncini ve emilim özelliklerini etkiler. Polimer özellikleri sıcaklıktan etkilenir. Camı geçiş sıcaklığı (Tg) üzerinde polimerler esnek hale gelirler. Bu durum nedeniyle biyobozunur polimerlerin camı geçiş sıcaklıklarının vücut sıcaklığının yeterince üzerinde olması büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde PLA (polilaktik asit), PGA (poliglikolik asit), PCL (polikaprolakton), PHB ve PDS (poli-para-diaksanon) gibi farklı çeşitte yaygın olarak kullanılan sentetik biyobozunur polimerler vardır. Bu malzemeler biyoyumumluluk ve canlı doku içerisine kontrol edilebilir bozunma hızıyla toksik olmayan bileşenleri salıverme yetenekleriyle uzun yıllarda cerrahi operasyonlarda kullanılmaktadır. Biyopolimerler doğal biyopolimerler ve sentetik biyopolimerler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Doğal olanlardan nisasta, alginat, kitin/kitosan veya proteinler (kollajen, elastin, ipek) gibi biyolojik yollarla oluşan polimerlerdir. Biyoyum özellikleri ve hücre ile etkileşimleri çok yüksektir. Biyobozunma ve zayıf mekanik özellikleri vardır [86]. Sentetik biyopolimerler kontrollü şartlar altında üretilebilir. Bu nedenle gerilme mukavemeti, esneklik katsayısı ve degradasyon oranı gibi mekanik ve fiziksel özellikleri genel olarak öngörülebilir ve aynı özelliklere sahip polimerler yüksek hacimlerde yeniden üretilebilir. Sentetik biyopolimerlerin diğer bir avantajı da sentez sırasında saflıklarının kontrol edilebilmesidir [87].

2.1.1.4. Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit malzemeler, William tarafından Biyomalzemeler Sözlüğü'nde "iki veya daha fazla belirgin şekilde farklı malzemedan yapılmış, her bileşenin nihai özelliklere olumlu katkıda bulunduğu yapısal malzeme" olarak tanımlanmıştır [88]. Vücudumuzda birçok doku, diğerlerinin yanı sıra hücre dışı matris (ECM), tendonlar, bağlar, deri ve kemik gibi hiyerarşik yapıları nedeniyle ek bir karmaşıklığa sahip "kompozit" olarak kabul edilir [89]. Genel olarak

kompozit biyomalzemeler, aynı sınıf içindeki malzemelerin bir kombinasyonundan ziyade, temel biyomalzeme sınıflarından metaller, seramik ve polimerlerden iki veya daha fazla bileşenin kombinasyonlarıyla ilişkilendirilir.

Bir kompozitte bulunan bileşenler, mikroskobik düzeyde ayırt edilebilir olmalıdır. Bileşen malzemelerin fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri ile birlikte dağılımı, içeriği ve etkileşimi, kompozit biyomalzemelerin nihai özellikleri üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Kompozit biyomalzemeler genellikle sürekli bir faz (matriks olarak bilinir) içine gömülü bir veya daha fazla süreksiz fazdan (yaygın olarak dolgu veya takviye malzemesi olarak bilinir) oluşur. Dolgu maddesinin temel işlevleri mekanik özellikleri ve biyoaktiviteyi artırmak, fiziksel ve kimyasal özellikleri değiştirmektir. Seramik ve cam partiküllerin yanı sıra karbon, polimer ve cam elyaflar kompozit biyomalzemelerde kullanılan ana takviye malzemelerini oluşturmaktadır.

Biyomedikal uygulamalarda kullanılan çoğu kompozit biyomateryal, biyolojik olarak absorbe edilebilen veya edilemeyen bir polimerik matrikse sahiptir. Seramik ve metalik matris kompozitleri esas olarak biyomedikal olmayan uygulamalarda kullanılır, sadece kalsiyum fosfat kemik çimentoları gibi birkaç kompozit biyomateryalde seramik matris bulunur [89].

Bazı polimerlerin kısaltmaları şunlardır; Bis-GMA: Bis-glisidil dimetakrilat; CF: karbon lifleri; CP: kalsiyum fosfat; GF: cam elyafları; KF: Kevlar elyafı; HA: hidroksiapatit; PA12: poliamid 12; PBT: poli(bütlen tereftalat); P(DLLA-CL): poli(D,L-laktit/-kaprolakton); PE: polietilen; PEEK: poli(eter-eter-keton); PEG: poli(etilenglikol); PEI: poli(eter-imid); PELA: poli(etilen oksit)-b-poli(laktik asit) blok kopolimeri; PET: poli(etilen tereftalat); PGA: poli(glikolik asit); PLA: poli(laktik asit); PLGA: poli(laktik-ko-glikolik asit); PLLA: poli(L-laktik asit); PMMA: poli(metilmetakrilat); PP: polipropilen; PSU: polisülfon; PU: poliüretan; TCP: 3-kalsiyumfosfat; UHMWPE: ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen. Tablo 2.1.'de biyomalzeme alanında sık kullanılan kompozit malzemeler ve uygulama alanları özetlenmiştir [90].

Tablo 2.1: Biyomalzemede sık kullanılan kompozit malzemeler ve temel alanları [90].

<i>Yapı/Destek Maddesi</i>	<i>Uygulamalar</i>
Epoksi reçine/CF	Eksternal fiksator
Epoksi reçine/CF Eksternal fiksator Epoksi reçine/CF; PMMA/CF; PSU/CF; PP/CF, PE/CF; PBT/CF; PEEK/CF; PEEK/GF; PLLA/HA; PLLA/PLLA/PGA	Kemik kırılması fiksasyon plakası, vidaları, kazıkları vb.
PMMA/HA partükülleri; PMMA/Cam tabanlı; Kalsiyum fosfat/aramid fiberleri, CF, GF, PLGA ve PMMA/UHMWPE fiberleri.	Kemik fiksasyon çimentosu
PU/Biyocam; PSU/Biyocam; PEEK/CF; Hidrojeller/PET fiberleri ve PLA/PLA fiberleri/CP	Omurga cerrahisi, kemik yerine kullanım
Bis-GMA/inorganik parçacıklar	Diş çimentosu ve diğer diş uygulamalarında
PE/HA parçacıklar	Kemik çimentosu ve kemik yerine geçmede
Poli(propilen fumurat)/TCP; PEG-PBT/HA PLGA/HA fiberleri	Kemik doldurma ve yenileme uygulamalarında
Hidrojeller/PET ve Poliyolefins/UHMWPE fiberleri	Tendon ve bağ dokularında
PELA/Poliüretan fiberleri, Epoksi reçineleri /CF, GF Epoksi reçineleri/CF, GF, KF	Damar içi implantlarda veya damar yerine kullanımlarda Protez uzuvlarda
PEEK/CF	Eklem implantlarında
PEI/CF-GF; PEEK/CF ve CF/PA12	Kalça protez kazıklarında

2.2. YARA İYİLEŞTİRME MALZEMELERİ

İnsan derisi, insan vücudunun en büyük ve en dış organı olduğu için yaralanmaya en yatkın dokudur. Deri, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %15'i kadardır ve ortalama 1,6-2 m² yüzey alanına sahiptir. Bir yara genellikle normal cilt yapısı bozulduğunda veya tahrip olduğunda bilinir, ancak yalnızca deri altı dokusunun (açık bir yara) maruz kalmasıyla cilt tabakasındaki yırtılmaları veya yırtılmaları değil, aynı zamanda künt nesnelerden kaynaklanan kontüzyonları (kapalı bir yara) içerir.

Patolojide yaralar, cilt yapılarının maruz kaldığı travmanın epidermise nüfuz ettiği ve dermise zarar verdiği durumlarla sınırlıdır. Sharma yaraları çeşitli kriterlere göre aşağıdaki gibi sınıflandırmıştır [91]:

a) Şiddet: Doku hasarının miktarına bağlı olarak deri, kas, kemik, sinirlerde oluşan ve enfeksiyon olan yaralardır. Bu yaralar genellikle travma (yanık ve ülser yaraları), çarpma yaraları, sıyrıklar ve deri grefti donör bölgeleri ve dermabrazyonlar gibi iyatrojenik durumlardan meydana gelir.

b) Morfoloji ve kalınlık: Etkilenen katmanlara bağlı olarak yaralar yüzeysel yaralar (sadece epidermis etkilendiği), kısmi kalınlıkta yaralar (epidermis ve dermisin etkilendiği) ve tam kalınlıkta yaralar (deri altı yağ veya daha derin dokuyu etkileyen) olarak verilebilir.

c) Cerrahi: ABD Ulusal Araştırma Konseyi'ne göre kontaminasyon derecesine göre yani temiz, temiz kontamine, kontamine ve enfekte olarak gruplandırılabilir.

d) Etiyoloji: Yaralar, yara oluşum nedenine göre basınç ülserleri, nöropatik ülserler, vasküler ülserler (arteriyel ve venöz) ve yanıklar olarak sınıflandırılabilir.

e) Doku kaybı olan ve olmayan yaralar: Deri, kas, kemik, tendon gibi dokularda kaybın olup olmadığına göre sınıflandırılabilir.

2.2.1. Cilt Yaralarında Doku İyileşmesi

Yara iyileşmesi için doku mühendisliği ile üretilmiş deri ikamelerinin başlıca uygulamalarından biri kutanöz yaraların iyileşmesini teşvik etmektir. Bu açıdan son on yılda birçok önemli klinik dönüm noktasına ulaşılmıştır. Bununla birlikte, yara iyileşmesi için şu anda mevcut olan deri ikameleri, genellikle yara kontraksiyonu, yara oluşumu ve konakçı doku ile zayıf entegrasyon gibi bir dizi problemten muzdariptir.

Deri ikamelerinin doku mühendisliği yaklaşımıyla mühendisliği, deri fonksiyonel ve yapısal doku oluşturmak için hücre yapışmasını, büyümesini ve farklılaşmasını yönlendirmek için hücre dışı matris (ECM) analogu olarak üç boyutlu yapı iskelelerinin oluşturulmasına dayanmaktadır. Üç boyutlu yapı iskeleleri sadece yarayı örtmek ve yara örtüsü olarak dış enfeksiyona karşı fiziksel bir bariyer sağlamakla kalmaz, aynı zamanda cilt dokusu mühendisliği için hem dermal fibroblastlar hem de üstteki keratinositler için destek sağlayabilir. Başarılı doku iskelesi, uygun fiziksel ve mekanik özellikler sergilemeli ve hücresel bağlanma, çoğalma ve farklılaşmayı kolaylaştırmak için uygun bir yüzey kimyası ve nano ve mikro yapılar sağlamalıdır. Doğal olarak oluşanlardan sentetik olarak üretilenlere kadar çeşitli malzemelere dayalı olarak farklı iskele tipleri üretilmektedir [92].

2.3. NANOTEKNOLOJİ VE NANOMALZEMELER

Nanoteknoloji, malzemelerin, yapıların, cihazların ve sistemlerin tasarımında, karakterizasyonunda, üretiminde ve uygulamasında nanometre ölçeğindeki boyutlarda gerçekleşen olayların kullanıldığı bilim ve mühendislik alanlarına verilen terimdir. Doğada insan vücudundaki temel moleküller ve gıdaların bileşenleri dahil olmak üzere nanometre boyutlarında birçok yapı örneğinin var olmasına ve birçok teknolojinin tesadüfen yıllarca nano ölçekli yapıları içermesine rağmen, bu boyut aralığındaki molekülleri ve yapıları aktif ve kasıtlı olarak değiştirmek ancak yüzyılın son çeyreğinde mümkün olmuştur. Nanoteknolojiyi diğer teknoloji alanlarından ayıran nanometre ölçeğindeki bu kontroldür.

Nanoteknolojinin çeşitli uygulamalarının toplum üzerinde çok önemli bir etki yapma potansiyeli olduğu açıktır. Bu uygulamaların çoğu, çok geniş yüzey alanı-hacim oranlarıyla ve daha büyük boyutlarda görülmeyen kuantum etkileriyle ilişkilendirilebilen, nano ölçekte işlev görerek farklı özellikler sağlayan yeni malzemeleri içermektedir. Bunlardan bazıları; kataliz ve elektronikte kullanılan çok ince filmler biçimindeki malzemeler, optik ve manyetik sistemler için iki boyutlu nanotüpler ile nanoteller ve kozmetik, ilaç ve kaplamalarda kullanılan nanoparçacıkları içermektedir. Nanoteknolojiyi en çabuk benimseyen endüstriyel sektörler, elektronik ve optoelektronik alanlar dahil olmak üzere bilgi ve iletişim sektörü, gıda teknolojisi, enerji teknolojisi, ilaç ve ilaç dağıtım sistemleri, teşhis ve tıbbi teknolojinin birçok farklı yönünü içeren tıbbi ürünler sektörleridir. Nanomalzemeler nanotıp ve biyonanoteknoloji alanlarında yaygın kullanım imkânı bulmuştur.

Bu sektörlerin yanı sıra, nano ölçekte meydana gelen olayların, daha büyük boyutlarda meydana gelenlerden oldukça farklı olabilmesi nedeniyle hayatın hemen her alanında kullanım imkanı doğurmaktadır. Ancak potansiyel etkilerinin büyük boyutta bulunan malzeme ve olaylara kıyasla daha fazla olması, nanoteknolojinin kullanımıyla birçok riski beraberinde getirmektedir. Bilhassa nanomalzemelerin kullanımında malzeme özelliklerinin doğru tespit edilmesi, uygulama alanının doğru seçilmesi ve doğru prosedürlerin uygulanması büyük önem taşımaktadır. Nanomalzemeler günümüz dünyasını her alanda değiştirebilecek potansiyele sahiptirler. Nanomalzemeler genel olarak üç grupta incelenebilir. Bunlar nanomalzemeler, nanopartiküller ve nanokompozitlerdir [93].

a) Nanomalzeme: Nano ölçekte herhangi bir dış boyuta sahip olan veya nano ölçekte içyapıya veya yüzey yapısına sahip malzeme olup nanoboyutta olmayan aynı malzemedan daha farklı özellik gösteren malzemedir [94].

b) Nanoparçacık: Bir veya daha fazla boyutu nano ölçekte olan parçacık

c) Nanokompozit: Birden fazla malzeme türü içeren nano boyutta malzemelerdir. Polimer nanofiber içerisine eklenmiş metal nanoparçacıklar buna örnek verilebilir.

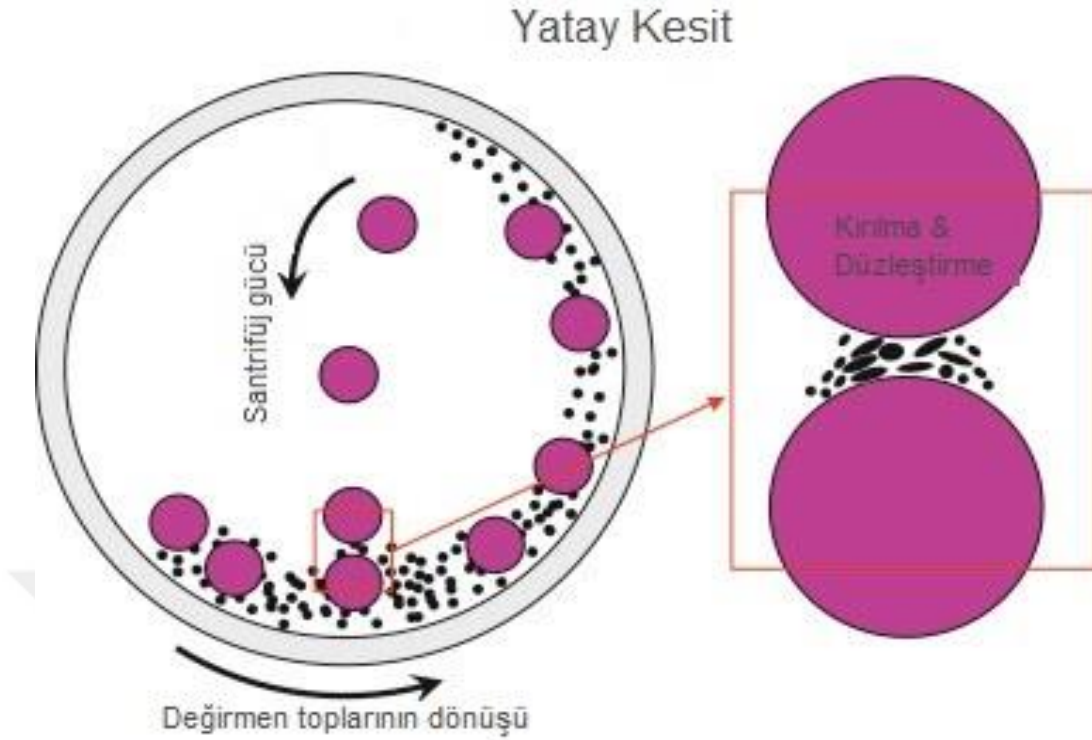
Nanoteknolojinin, tıp alanında, yara iyileşmesinde, ilaç dağıtımında, biyosensörler olarak ve diğer birçok biyomedikal sahasında uygulamaları vardır. Doğrudan biyomalzeme uygulamalarının yanısıra, biyomekanik ve klinik mühendislik sahalarında da nanoteknolojiden yararlanılmaktadır.

2.3.1. Metalik Nanomalzemelerin Üretimi

Nanomalzemelerin üretimi genel olarak iki temel yöntemle yapılmaktadır. Bunlardan biri yukarıdan aşağıya diğeri aşağıdan yukarıya yöntemidir. Yukarıdan aşağıya üretim tekniği büyük parçaların nanoboyuta kadar küçültülmesine dayanır. Bunlarda kendi içerisinde mekanik aşındırma, dağlama, ısıt yöntemi, soğuk ortamda katılaştırma, litografi gibi sınıflara ayrılır. Aşağıdan yukarıya üretim yönteminde ise kimyasal buhar yoğunlaştırma, moleküler hüzme, yakma, sol-jel, spreyl pirolizi ıslak kimyasal sentezleme gibi teknikler kullanılır.

2.3.1.1. Mekanik Aşındırma Yöntemi

Mekanik öğütücülerle bir malzemenin boyut küçültülmesi işlemine dayanır. Bunun için bir öğütücü ortama ve aşındırılacak olan malzeme arasında çarpışma gerekir. Mekanik aşındırma tekniğinde metalik, alaşım, metal bileşenleri, seramik ve kompozit yapı gibi nano boyutta malzemeler üretilmektedir. Bu tekniğin en büyük dezavantajı, mekanik aşındırma aşamasında öğütücü olarak kullanılan metalik veya seramik bilyalarında aşınmasıyla öğütülen malzemenin içerisine karışarak safsızlığa zarar verebilmesidir [95]. Şekil 2.1’de ball-milling cihazının çalışma prensibi gösterilmiştir.

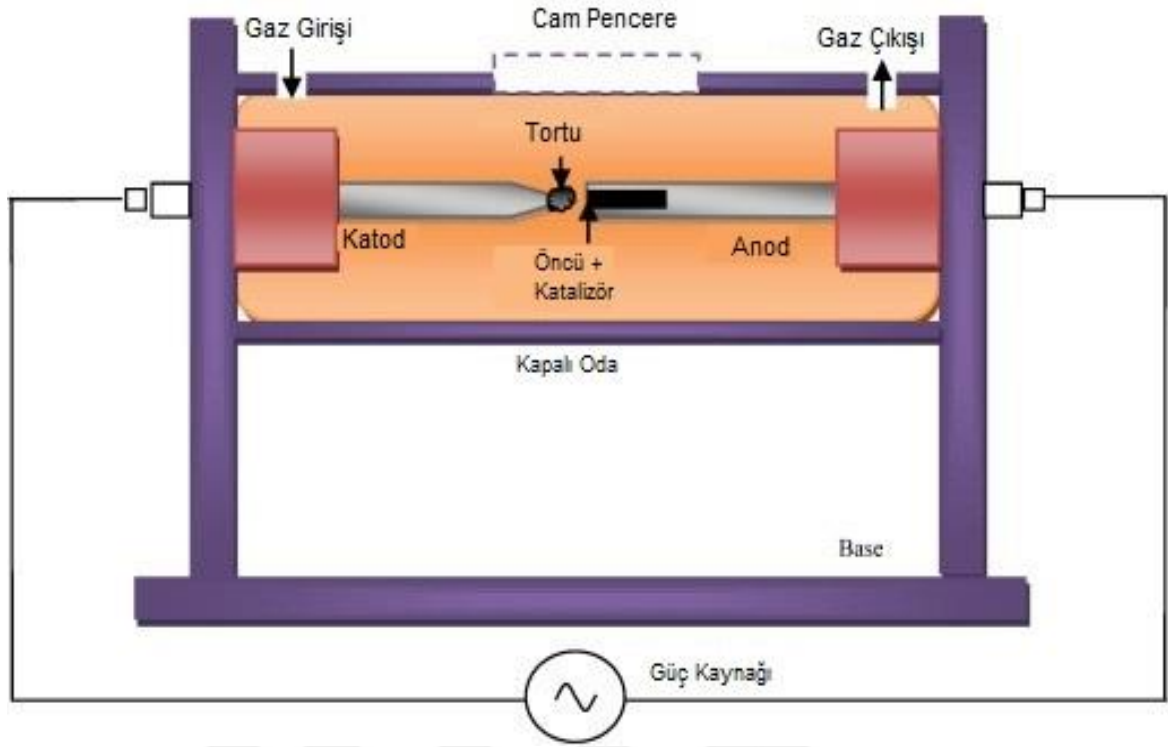


Şekil 2.1: Yüksek enerjili bir ball-miling cihazının çalışma prensibi.

2.3.1.2. Elektrik Ark Yöntemi

Bu teknikte, inert gaz ortamı kullanılarak iki tel içerisinde yüksek akım geçirilir. Tellerin arasında 1mm gibi bir boşluk bırakılır. Akım bir telden diğerine geçerken elektrik arkı oluşur. Bu sırada yüksek akımın etkisiyle telin uçlarında 5000–10000 °C dereceye kadar sıcaklık meydana gelir.

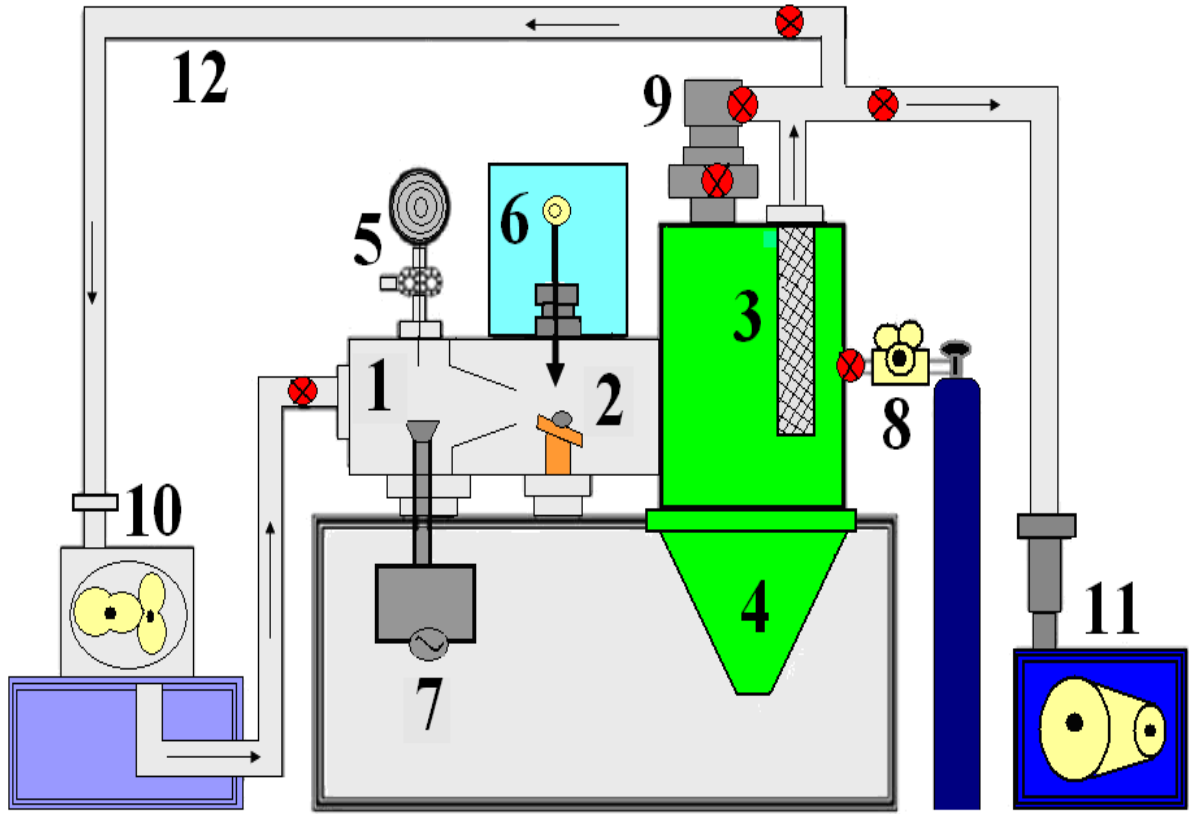
Bu sıcaklıkta metal tellerin ucunda plazma hızla genişleyerek soğuk bir ortama geçer. Metal bu sıcaklıkta iyon haline gelmiştir. Hızlı soğuma sonucunda metal tellerden nano boyutunda metalik nanopartiküller elde edilebilir. Bu teknikte sentezlenen nanopartiküller diğer tekniklerden elde edilen nanopartiküllere göre daha büyük kimyasal reaktiviteye sahiptir [96]. Şekil 2.2' de bir ark deşarj ünitesinin görüntüsü verilmiştir.



Şekil 2.2: Ark deşarj yöntemiyle nanopartikül üretimi.

2.3.1.3. İnert Gaz Altında Yoğunlaştırma Yöntemi

Oldukça yaygın bir nanopartikül üretim yöntemi olan inert gaz altında malzemelerin yoğunlaştırma tekniği ile kontrollü olarak nano malzemelerin sentezlenmesi sağlanır. Bu üretim tekniğinde hangi çeşit nanomalzeme üretilecekse başlangıç malzemesi olarak o malzemenin kendisi veya bilezik formu helyum veya argon atmosferinde buharlaştırılıp arkasından soğutulur. İşlem prosesinde iyon haline gelen malzemenin soğuk bir ortamda yoğunlaşıp nano boyutlarda birleşmesi ve oluşan nanopartiküllerin bir toplayıcıda toplanmasıyla işlem tamamlanır. İşlem sırasında nanopartiküllerin oluşması için süreci etkileyen ve gerekli olan bazı parametrelere dikkat edilmesi gerekir. Bu parametreler inert gazın çeşidi, gaz basıncı, gazın akış hızı ve sıcaklığı ve nanopartiküllerin yapısını etkileyen katalizörlerdir. İnert gaz altında yoğunlaştırma yönteminin şematik bir görüntüsü Şekil 2.3'te gösterilmiştir [97].



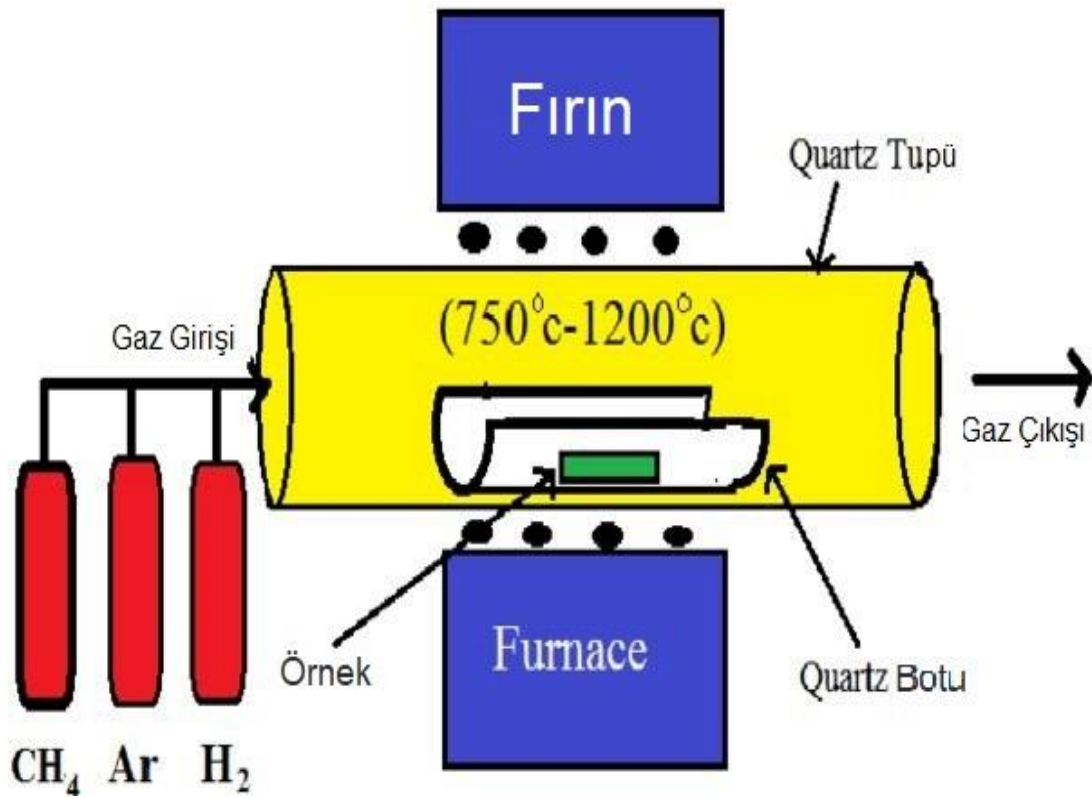
Şekil 2.3: İnert gaz altında yoğunlaştırma ünitesinin şematik resmi.

Şekil 2.3'te gösterilen şemada; (1) buharlaşma teknesi, (3) çelik filtre, (4) nanopartikül toplama hunisi, (5) metal tel besleme bölümü, (6) ark kaynağı, (7) güç ünitesi, (8) inert gaz silindiri, (9) turbo pompa, (10) havalandırma (11) mekanik pompa ve (12) gaz dolaşım borusunu temsil etmektedir.

2.3.1.4. Kimyasal Buhar Biriktirme yöntemi (CVD)

Bol miktarda nanomalzeme üretimi için kullanılan yaygın bir tekniktir. Bu üretim sisteminde kolaylıkla buhar fazına geçebilen bileşikler kullanılır. Bunlar genel itibariyle metal klorürler, metal hidrürler, metal karboniller veya metal organikler olarak örneklendirilebilirler. CVD sisteminde bileşikler belli bir sıcaklıkta gaz fazına dönüştürülürken malzemenin ısı parçalanması ile başlayıp nanopartikül haline yoğunlaşmasına dayanmaktadır. Öncelikle, başlangıç bileşiğinin gaz fazına geçeceği kısma çok düşük basınç altında gaz akışı verilerek buhar haline geçen bileşiğin reaktör olarak da adlandırılan tüp fırının içine aktarılıp burada ısı parçalanması ile iyon haline geçer. Bu yöntemde taşıyıcı gaz olarak azot, argon, helyum veya hidrojen gibi inert gazlar kullanılmaktadır.

Ayrıca buharlaşan bileşiğin indirgenmesi için karbon monoksit veya metan gazları da taşıyıcı ek olarak kullanılabilir. İyon haline geçen metaller kullanılan çeşitli katalizörlerin yardımıyla nanopartikül olarak fırının çıkışında fırına göre oldukça soğuk bölgede yoğunlaşırlar. Yoğunlaşma ya fırın çıkışında tüpün etrafında veya tüpün içerisine konacak bir çubuğun etrafında oluşur [98]. Şekil 2.4'te te bir kimyasal buhar biriktirme yönteminin şematik görüntüsü verilmiştir. Bu yöntemde kullanılan başlangıç malzemesi kimyasallarının ticari olarak kolaylıkla bulunması bu tekniğin avantajlarından biridir. Bu yöntemde daha kararlı ve saflığı yüksek nanopartiküllerin sentezlenmesi bir diğer avantajdır. Bu yöntende enkapsüle nanopartiküller veya kabuk (shell) formunda nanopartiküllerin sentezlenmesi mümkündür [98].

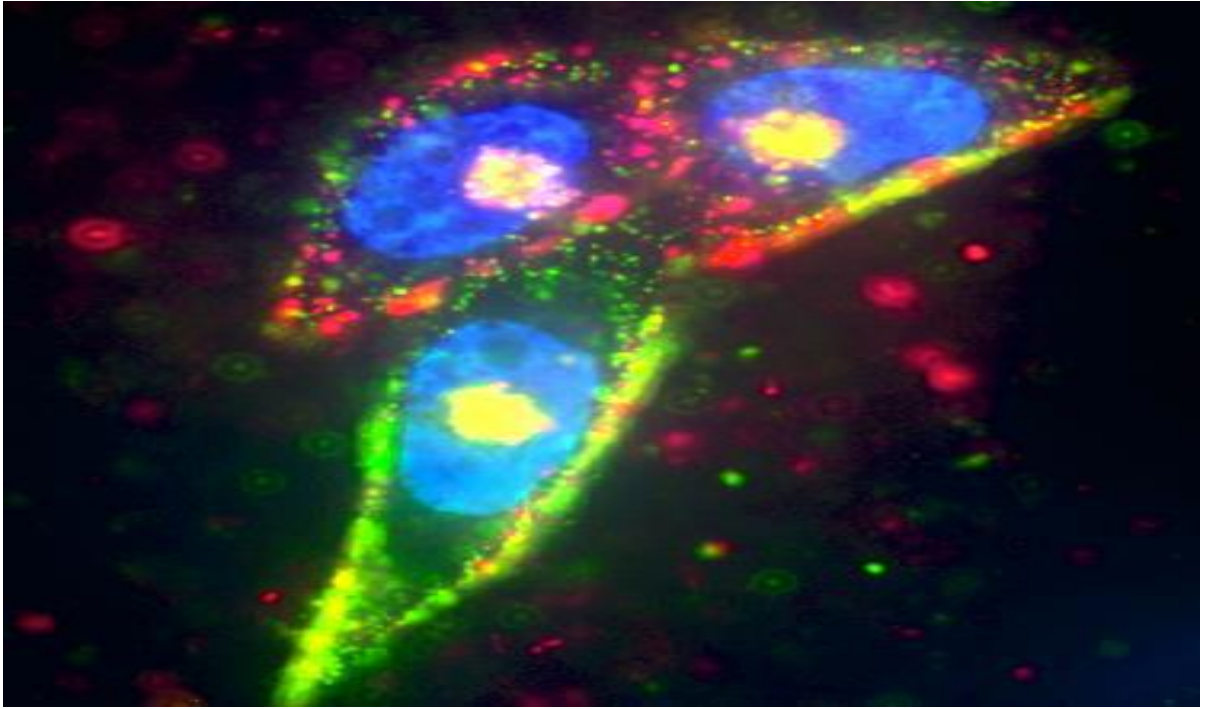


Şekil 2.4: Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ünitesinin şematik görüntüsü.

2.3.2. Gümüş Nanopartiküller (AgNP'ler)

AgNP'ler antibakteriyel, antifungal, antienflamatuar ve daha birçok etkili özelliklerinden dolayı araştırmacıların ve kullanıcıların dikkatini çekmektedir. Nanotel, nanoküre, nanoparizma gibi kontrol edilebilir şekil ve boyutlarda olan gümüş nanopartiküllerin insan vücudunda çeşitli hastalık yapan mikro organizmaların DNA moleküllerinin yapısını bozarak zarar verdiği düşünülmektedir.

Yine AgNP'ler yanık ve yaraların tedavisinde kullanılan ilaçlara ve malzemelere katılarak bunların etkilerinin artırılmasında kullanılmaktadır [99]. AgNP'lerin günlük yaşantıda ev ve kumaş temizlik malzemelerinde, eşyalarda kaplama olarak, elektronikte ve daha başka birçok yerde yoğun olarak kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküller biyomedikal sahada da yaygın olarak kullanılmaktadır. AgNP'lerin kanser tedavisinde kullanımına ait bir çalışmada pepdit ile kaplanmış AgNP'lerin timörlerin hedeflenmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Nanopartiküllerin hedefi bulamama durumunda vücuttan rahatlıkla atılabileceği ifade edilmiştir [100]. Şekil 2.5'de AgNP'lerin bir prostat kanserinde etkileşimi verilmiştir.



Şekil 2.5: AgNP'lerin prostat kanseri hücreleriyle etkileşimi [100].

AgNP'ler tekstil alanında da antibakteriyel, yıkamaya dayanıklılık ve iletkenlik özelliklerinden dolayı yoğun olarak kullanılmaktadır [101]. AgNP'lerin *E.coli* ve *S.aureous* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi önemli olduğundan aynı yazarlar antibakteriyel etkisini de incelemişlerdir. Antibakteriyel ilaçların etkisi Ag nanopartiküllerin ilaca dahil edilmesiyle önemli oranda arttığı gözlenmiştir [102]. Diğer yandan fotoğraf görüntülerinin daha kaliteli olması için AgNP'lerin kullanıldığı ve büyük bir katkı sağladığı ifade edilmiştir [103]. Biyosensör olarak elektron transferini artırdığı ve kanda çözülerek kanın pıhtılaşmasını engellediği de bazı araştırmalarda vurgulanmıştır [104, 105].

2.3.2.1. Ag Nanomalzemelerin Üretimi

Gümüş, nanomalzeme formunda veya antimikrobiyal uygulamalar için metal tuzları olarak kullanılan güçlü bir antimikrobiyal ajandır. Antimikrobiyal ajanlar, su arıtımında, kimya endüstrisinde, gıdaların korunmasında, su ürünleri havuzlarında, tarımsal üretkenlik ve biyomedikal uygulamalarda önemli bir yere sahiptir. Günümüzde nanobilim ve teknolojinin ortaya çıkması nedeniyle metalik gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) antimikrobiyal ajan olarak kullanılmakta ve çeşitli protokoller takip edilerek sentezlenmektedir.

Gümüş nanopartiküllerin üretiminde mekaniksel öğütme, asal gaz altında yoğunlaştırma, kimyasal buhar biriktirme, elektrokimyasal ve biyolojik teknikler kullanılmaktadır. AgNP üretiminde bir başka yol da sprey proliz yöntemidir [105]. Bu yöntemle üretim kolaylığı ve çok miktarda üretim sağlanırken kimyasal bazı maddelerin kullanılması ile canlı çevreye ve mikroorganizmalara karşı zararlarının olduğu da düşünülmektedir.

2.3.2.2. Yeşil Sentez Ag Nanomalzemelerin Üretimi

Bir ajan olarak antimikrobiyal uygulaması için biyosentezlenmiş veya yeşil sentezlenmiş AgNP'ler çevre ve bulaşıcı hastalıklardan korunma için önemli bir materyaldir. Bitkiler çevredeki ortamdan inorganik metalik iyonları absorbe etme, aşırı birikme ve azaltma kabiliyeti gösterirler [106].

Bitki dokularında bulunan çeşitli organik bileşenlerin, enfeksiyonları önemli ölçüde azaltmak için etkili biyolojik fabrikalar olarak hareket etme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, nanopartikül sentezleme sırasında bitki ekstraktlarında bulunan moleküller hem stabilize edici hem de indirgeyici ajanlar olarak işlev görebilir [107].

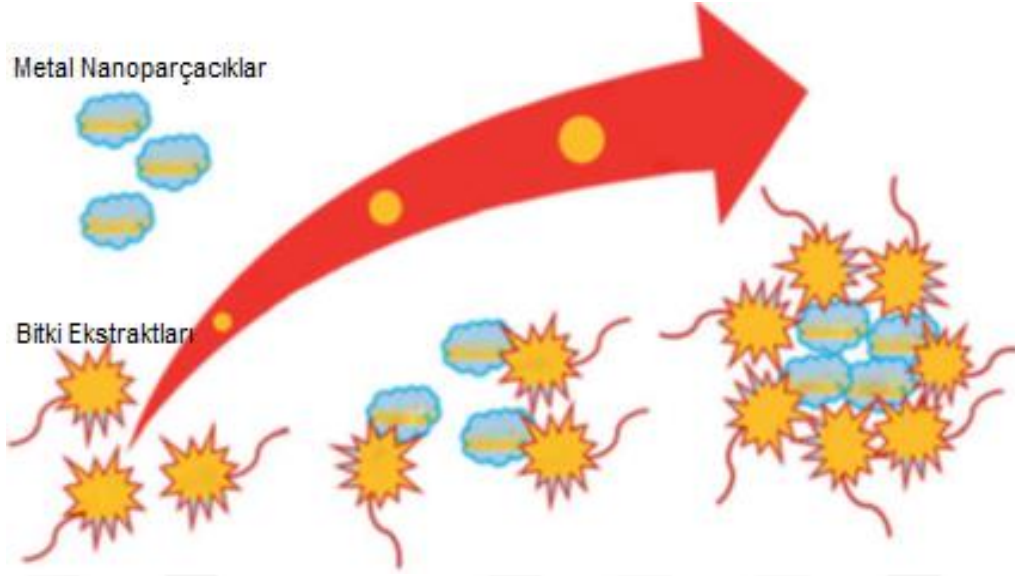
Bu bağlamda, madencilik için ekonomik olarak uygun olmayan ancak değerli metalleri topraktan uzaklaştırmak için de bitkiler kullanılmaktadır. Burada kullanılan bitkiler özellikle çok güçlü metal iyonu hiperbirikim ve indirgeme kapasitesine sahip olanlar tercih edilirler. Bu işlem fitomin olarak bilinen bir yöntemdir. Bu yöntemde bitkilerle harmanlanmış metaller, sinterleme ve eritme işlemleri sonunda elde edilmektedir.

Bitkilerde bulunan besleyici olmayıp hastalık tedavileri gibi uygulamalarda kullanılabilen ve fitokimyasallar olarak bilinen çeşitli biyolojik aktif bileşiklerden bazıları Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6: Bitki ekstraktlarında bulunan bazı önemli kimyasallar.

Bitki ekstraktı ile yeşil sentezlenmiş metal nanopartiküllerin üretim aşamasında üç seviye bulunmaktadır. Bunlar; aktivasyon fazı, büyüme fazı ve sonlandırma fazıdır. İlk aşama, metal iyonlarının tuzlarından indirgeme yeteneğine sahip bitki metabolitlerinin etkisiyle geri kazanıldığı aktivasyon aşamasıdır. Böylece metal iyonları tek veya çift değerli oksidasyon durumlarından sıfır değerli durumlara değiştirilir ve indirgenmiş metal atomlarının çekirdeklenmesi gerçekleşir [108]. Bunu, metal iyonlarının biyolojik indirgenmesi gerçekleşirken, bölünmüş metal atomlarının metal nanoparçacıklar oluşturmak üzere birleştiği gelişim periyodu ile izlenir. Daha sonra büyüme gelişimiyle birlikte nanoparçacıklar birleşerek küpler, küreler, üçgenler, altıgenler, beşgenler, çubuklar ve teller gibi bir dizi morfolojiyi oluşturur. Büyüme aşaması, nanoparçacıkların termodinamik kalıcılığının artmasıyla sonuçlanırken, çekirdeklenme, morfolojilerini değiştirerek sentezlenmiş metal nanoparçacıkların birikmesine neden olur. Yeşil sentezdeki nanopartiküllerin son adımı, nanopartikül oluşumunun sonunda mümkün olan maksimum aktiviteye ulaştığı ve sabit morfolojinin bitki metabolitleri tarafından enkapsüle olduğu sonlandırma aşamasıdır [109]. Bitkiler aracılığıyla yeşil biyosentezin ana mekanizması Şekil 2.7’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.7: Yeşil sentez mekanizması [109].

Metal nanopartiküller canlı bitki özlerinden hazırlanan ekstraktlardan üretilir. Kök, yaprak, lateks, tohum ve gövde gibi bitki parçaları, metal bazlı nanoparçacık sentezi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitki ekstraktları biyoaktif polifenoller, alkaloidler, proteinler, şekerler, fenolik asitler, terpenoidler ajanlar içerirler. Bu ajanlar öncelikle metalik iyonlarını indirgemedi ve sonrasında da onları stabilize etmede önemli bir role sahiptir [110].

2.4. BİTKİ EKSTRAKTI

En basit tanımıyla bitki ekstraktı; kurutulmuş bitkilerden özel ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak, etken maddenin bitkiden ayrıştırılması/uzaklaştırılması sonucu elde edilen, ilaç, gıda ya da kozmetik ham maddesi olarak da kullanılan bitki özlerine (etken maddelere) verilen addır.

2.4.1. Bitki Ekstraktı Üretimi

Bilindiği üzere, bitkilerin temizlik ve ayıklama gibi işlemlerden geçirilerek bir ön hazırlık aşamasına tabi tutulması, bitki ekstraktı (ekstresi) üretiminin ilk aşamasıdır. Temizlenen ve ayıklanan bitkiler, bu işlemin ardından kurutulmaya tabi tutulur. Kurutulma işlemi genelde bitki çeşidine göre değişiklik göstererek 2-7 gün arası sürmektedir. Bu esnada, küf ve toksik başka etkilere uzak tutmak önemlidir. Bitki ekstraktı üretimde kullanılabilecek birden fazla teknik vardır. Bu tekniklerin işlevselliğini ve üretilen ekstraktın kalitesini etkileyebilecek birçok parametre vardır ve bunlardan bazıları; karıştırma hızı, nem, sıcaklık,

çözücü tipi ve enzim uygulanmasıdır. En yaygın olan teknik, çözücü tekniğidir ve bu işlemin en sık karşılaşılan örneklerinden birisi çay demlemedir. Çay demlemede, bir miktar kurutulmuş çay bitkisi çözücü olarak kullanılan su ile temas ettirilir ve genelde yüksek sıcaklığın da etkisiyle verimli bir ekstrakt işlemi gerçekleşir. Bu ve çoğu bitki ekstraksiyon işleminde herhangi bir enzime gerek kalmaksızın uygu çözücü ile işlem tamamlanır. Genel olarak son olarak ekstrenin kurutulması işlemi yapılarak kurutulmuş bitki ekstraktı elde edilmiş olur.

2.4.2. Güzel Avrat Otu (*Atropa Belladonna*)

Solanaceae (Patlıcangiller) familyasından olan *atropa belladonna* (güzel avrat otu) ülkemizde Karadeniz Bölgesi'nde, Toroslarda, Kırıklareli, Bolu, Balıkesir, Adana ve Hatay gibi illerimizde yabani olarak yetişmekte olup, Dilber otu, İt üzümü, Ayı çileği (Trabzon), Kurt böğürtleni (Kastamonu), Yidin (Giresun), Siyah üzüm, Şeytan vişnesi-kirazı, Yabani tütün (Hamsiköy-Trabzon) gibi isimlerle anılmaktadır. Dünya genelinde ise Avrupa (Avustralya, Ukrayna, ve Arnavutluk), Kuzey Afrika (Cezayir, Fas) Batı Asya (İran, Türkiye) İtalya, Fransa İngiltere ve Amerika doğal olarak yetişmekte olup Avrupa'da, Amerika'da ve Hindistan ile Pakistan'ın da bir kısmında tarımı yapılmaktadır.

Atropa belladonna bitkisi, *Solanaceae* familyasına ait çok yıllık bir bitkidir. *Atropa* adı, Yunan mitolojisindeki yaşamın kaderini kesen üç kaderden birine atıfta bulunan "Atropos"tan türetilmiştir. İtalyanca'da *Belladonna* "güzel kadınlar" anlamına gelir. Antik Roma döneminde, bu bitkinin özü, o zamanlar çekici bir özellik olarak görülen göz bebeklerini genişletmek için kadınlar tarafından göz damlası olarak kullanılırdı. Cilde pembemsi-kırmızı parlaklık verir [111].

Genellikle *belladonna*, ölümcül itüzümü, şeytan otu, divale, dwale, şeytan kirazı, yabanmersini, gri morel, yaramaz adamın kirazı ve zehirli siyah kiraz olarak bilinir. Avrupa'da geleneksel olarak bitki, orta çağda çeşitli hastalıkları tedavi etmek için bir bitki olarak kullanılmıştır [111]. Bitki vahşi doğada yetişir ve Asya, Avrupa, Afrika'ya özgüdür ve bazen Amerika Birleşik Devletleri'nde süs bitkisi olarak yetiştirilir.

İsmi Yunan mitolojisinde yer alan kaderi belirleyen üç tanrısından kader ipini kesen Atropos'dan alır. Bella–Donna ise İtalyanca güzel kadın demektir. 16. yüzyılda kadınlar, özellikle İtalyan kadınları, göz bebeklerini büyüterek daha efsunlu bir bakış oluşturmak için meyvelerinin suyunu gözlerine damlatmışlardır. Diğer yandan içerdikleri alkaloidlerin zehirli olmasından dolayı birçok Roma İmparatorunun öldürülmesinden; İskoç süikastçileri olan

Anglo-Saxson'ların zehirlenerek öldürülmesine kadar birçok suikaste kullanılmıştır. Bunun dışında halüsinojenik etkiye sahip olmasından dolayı büyücülükte de kullanılmıştır. Güzel avrat otunun bütün bitki kısımlarında alkaloid bulunmasına rağmen en fazla kullanılan kısmı yapraklarıdır.

Merkezi sinir sistemindeki etkisi nedeniyle göz muayenelerinde ve kalp hastalıklarında sıklıkla kullanılmaktadır. Merkezi sinir sisteminde etkilidir. Ter ve mide ifrazatını hafifletici, spazm giderici ve ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. İdrar yolları ve safra kesesi rahatsızlıklarında, romatizma ağrılarının dindirilmesinde, boğmaca, sigara içmeden meydana gelen astım (nefes darlığı) üzerine de etkilidir. Güzel avrat otu iltihaplanmaları önlemede, Parkinson hastalığında, böbrek ve safra taşlarında, hipertansiyon ve hipotansiyonda kullanılır. Ayrıca güzel avrat otu (*atropa belladonna*) halk hekimliğinde de mide rahatsızlıkları için çay olarak, astımda sigara şeklinde kullanılır. Yara ve şişliklere yapraklar lapa şeklinde kullanılır. Ancak bu bitki zehirli bir bitki olduğu için çok küçük miktarlardaki doz aşımı bile zehirlenmelere sebep olmaktadır bu nedenle evde kullanımı tercih edilmez [112].

Yaklaşık 1.5-2 metreye kadar boylanabilen toprak seviyesinin biraz üstünden itibaren dallanma gösteren, morumsu renkli saplara sahip çok yıllık çalimsı bir bitki olan *atropa belladonna*'nın yaprakları; tütün yapraklarına benzeyip oval, belirgin damarlara sahip, alt yüzeyleri tüylü olup, uzunlukları 7-25 cm arasında değişen yapraklar alternatif veya düzgün karşıt çiftler olup bir yaprak diğerinden daha büyüktür. Çiçekleri; 2-3 cm uzunluğunda olup -yaprak koltuğunda tek, çan şeklinde ve morumsu renkte olup çiçeklerin dip kısımları sarı renklidir. Bitki yaz boyunca çiçeklidir. Göze çarpan sarı anterleri vardır. Anterler stigma etrafında toplanmıştır. Çilek küçük kümelenmelerde asılı durur, olgunlaşmadığı zaman yeşil, olgunlaştığında siyah/koyu mor ve parlaktır. Meyveler-çilekler tatlı, koyu renkli, mürekkep benzeri meyve suları içerir. Çilek çapı 1,5-2 cm olup 2 hücrelidir. Tabanda yıldız şeklinde 5 loplu kaliks bulunmaktadır. Bu bitkinin tohumları oldukça küçük olup, bin tohum ağırlığı 1 gram civarındadır. Uzunluğu 1,5-1,8 mm, genişliği 1-1,5 mm kadardır. Tohumlar bir tarafa hafif eğimli, yumurtamsı şekilli, sert kabuklu, yüzeyi ağımsı yapıda, mat veya hafif parlaktır [64,112].

Yaban mersini ile aynı görünmesini ve yemesi çekici olmasını sağlayan siyah kiraz benzeri meyveleri olan kalın oval koyu yeşil yaprakları vardır ve yaklaşık 4 ila 5 metre boyunda büyür. Büyük yaprakları, bitki sapının her iki yanında çiftler halinde büyür; bununla birlikte, çiçeklerin yakınında bulunan her bir yaprak çiftinden biri, tütün bitkisine biraz benzerlik

göstererek, boyut olarak ve 0.18m uzunluğunda yapraklar açısından belirgin şekilde daha küçüktür. Meyvelerde, yapraklarda ve köklerde bulunan atropin, skopolamin ve hyosiyamin alkaloidleri zehirlenmeye ve vücutta antikolinerjik etkilere neden olur. Zehirlenme düzeyi, alınan alkaloidlerin dozuna bağlıdır. Türe bağlı olarak, meyvelerde ve yapraklarda bulunan alkaloidlerin konsantrasyonu da farklılık gösterebilir. *Atropa belladonna*'nın bazı türleri melezdir ve toksik antikolinerjik sendromun tüm semptomlarını üretmeyebilir. Merkezi etkiler doza ve kaynağa bağlı olduğundan, semptomların şiddeti belirlenirken bu parametreler akılda tutulmalıdır [113].

Tıbbi uygulamalar için değerli olsa da tarih boyunca suikastçiler tarafından ürkütücü bir kullanım şekline sahip çeşitli alkaloidleri içerir. Bitkinin tüm kısımları tropan alkaloidleri içermekte ve bitkinin kökü genellikle en zehirli kısımdır. Ancak bu durum bir numuneden diğerine değişebilir. Bütüncül alkaloidi oluşturan en önemli maddeler; hyosiyamin, atropin, skopolamin, apoatropin ve belladonnin'dir. Ancak en etkin molekülün L- Hyosiyamin (atropin) olduğu ve toplam alkaloid miktarının % 95 kadarını oluşturduğu söylenebilir. Deride tahrişe sebebiyet verip alerji oluşturabilir. 1gr kuru yaprak ya da 10 adet meyve tüketimi zehirlenmeye yol açabilir. Yapılan bir araştırmada, köklerinde toplam alkaloid oranı %1.25, yapraklarında %0.91 olarak bulunmasına rağmen, olgun meyve ve yaprakları en yüksek alkaloid içeriğine sahiptir [112].

Bitkinin vahşi doğada yetiştiği Avrupa, Asya ve Afrika'da, siyah/koyu belladonna meyvesi ile diğer yenilebilir meyveler arasında oluşabilecek karışıklık çocuklar ve yetişkinler için tehlike oluşturmaktadır. Stres koşullarında *atropa belladonna*'nın meyveleri, yaprakları ve kökleri, bitkinin kimyasal savunması olarak işlev gören aktif moleküllerin (atropin, skopolamin ve hyosiyamin dahil olmak üzere 20'ye kadar farklı tropan alkaloidi) miktarını artırır [114]. Bu alkaloidler, S-(-)-fenilalanin'den biyosentezlenir.

Güzel avrat otu 90-180 metre yükseklikte ve en sık 50-55 derece kuzey enlemleri arasında yetişir, bununla birlikte yeterli gölgenin sağlandığı iyi drene olmuş kireçli topraklarda deniz seviyesine kadar inebilir. Nemli-ılıman iklimlerden çok kurak iklimlere kadar yetişmesine rağmen genel olarak nemli toprakları tercih eder. Ilıman iklim bitkisi olan güzel avrat otu koru ve orman açıklıklarında doğal olarak yetişir.

Geniş alanlarda tarımı yapılabilen güzel avrat otu tohum ve kök saplarından elde edilir. Tohumlar genellikle martın ilk yarısına kadar ekilir. Ancak çimlenmenin bazı durumlarda

yaklaşık olarak 3 ay gibi bir süre sürmesi sebebiyle çiftçiler ekim için kök saplarını tercih ettiklerini bildirmişlerdir. İlk yıl bitkiler genellikle 1,5 metreye kadar uzar ve eylül ayına kadar çiçeklenir. Yalnızca yapraklar ve üst kısımları toplanır ve sonraki yıllarda aşırı dallanmayı engellemek için 75-90 cm yukardan kış aylarında seyreltme yapılır. İkinci yılında bitkiler haziran ayında çiçeklenme zamanı kesilir ve mevsim şartlarının iyi olduğu durumlarda bitki ikinci mahsul için eylül ayına kadar yeniden hasat edilir. Kuru sıvı ekstreler, tentür, merhem, bandaj ve gliserin hazırlıkları şeklinde işlenmek için çiçeklenme zamanında bitkinin tamamı kesilir ve kurutulur. Kökleri için ağustos ayında iki üç yılda bir sökülerek yaşlı bitkiler kaldırılır. Atmosferik koşullar belladonna'nın alkaloid içerikleri üzerinde belirgin bir etki gösterir. En yüksek alkaloid yüzdesi güneşli ve kurak mevsimde yetiştirilen bitkilerden elde edilir. Mayıs ve hazirandaki güneşli günlerde alkaloid oranı %0,68 olurken, güneş ışığının yetersiz olduğu durumlarda alkaloid oranı bu oranın yarısına kadar inmektedir [112].

2.4.2.1. *Atropa belladonna* ile ilgili çalışmalar

Su ürünleri yetiştiriciliğinde gerek hastalıkların tedavisinde, gerekse büyütme amaçlı kullanılan antibiyotiklerin zararlı etkilerinden dolayı birçok ülkede kısıtlamaya gidilmesiyle birlikte bitki ekstraktlarının kullanımı ve fitoterapik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışmalarla ilgili kullanılan bitkilerden biriside atropa belladonna olup, Trichodina ve Costia gibi parazitlere karşı balıkların trasportasyonunda güzel avrat otu tavsiye edilmektedir. Organofosfatlar (OF) dünyada özellikle tarımsal faaliyetlerin fazla olduğu ülkelerde yaygın olarak kullanılan böcek öldürücü maddelerdir. OF ile meydana gelen zehirlenmelerde ise güzel avrat otunun etken maddesi olan atropin içerikli atropin sülfat ilaçları kullanılmakta olup; artmış salgı, göz bebeklerinin küçülmesi, akciğer bronşlarında kasılma, kusma, ishal, terleme ve idrar tutama gibi sorunları tedavi edici özelliktedir. Ayrıca gastroenteroloji, üroloji, kadın doğum ve nöroloji gibi pek çok klinikte ve acil kliniklerinde yaygın olarak kullanılan ilaçlar antispazmodik ilaçlar olup, bu ilaçlar içinde en çok tercih edilen antikolinerjiklerin etken maddelerinden biride belladon alkaloidleri (atropin, hiyosiyamin ve simetropium)'dir. Türkiye Sağlık Bakanlığı'ndan alınan bilgiye göre etken maddesi atropin ve atropin sülfat olan 0,25 mg, 0,5 mg ve 1 mg ampul şeklinde ruhsatlı (2019 yılı itibariyle) 19 ilaç bulunmaktadır [112].

Bitki orta çağda büyük ölçüde büyücülük dünyasıyla sınırlı olmasına rağmen, bitki uzmanları ve eczacılar tarafından on altıncı ve on yedinci yüzyılda incelemeye başlanmıştır. Sonrasında, on dokuzuncu yüzyıla gelindiğinde, atropa belladonna'daki alkaloidler, öksürük-soğuk ilaç ürünlerinde antikolinerjik, astım ve boğmacada bronş spazmlarını durdurmak için

yatıştırıcı, hareket hastalığında analjezik olarak insan kullanımı için FDA tarafından onaylanmayan reçetesiz ilaçlara dahil edildi. Parkinson hastalığı (PD), nevralsi ve romatizmanın yanı sıra hiperkinezi, aşırı terleme ve bronşiyal astım ile ilişkili psikiyatrik bozuklukların tedavisine yönelik ilaçların içeriğinde de bulunmaktadır [115].



Şekil 2.8: Güzel avrat otu (*Atropa Belladonna*) bitkisi, çiçekleri ve meyvesi.

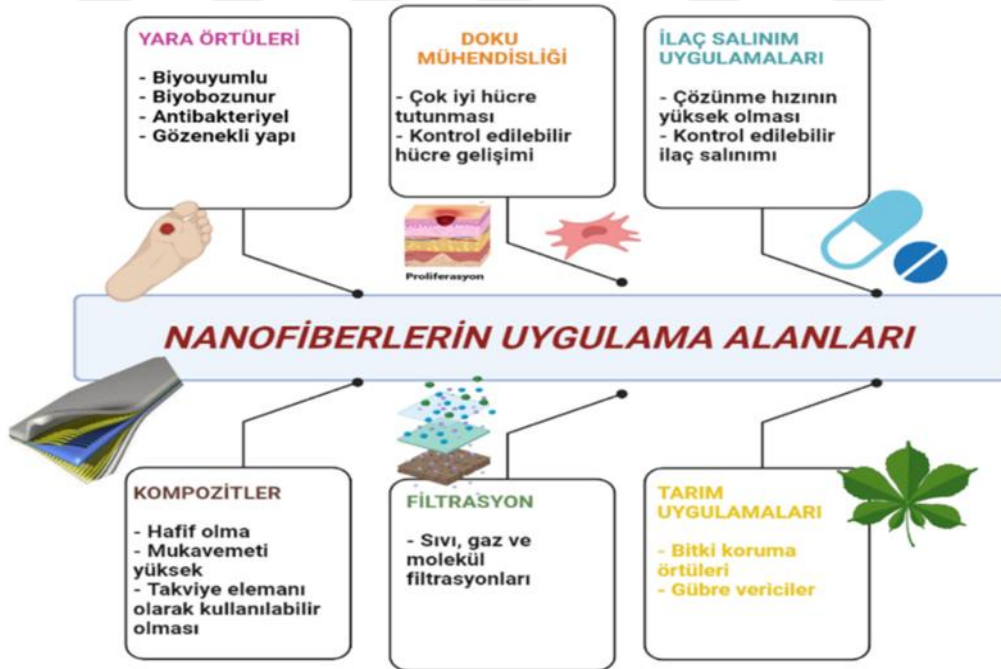
2.5. NANOFİBER MALZEMELER VE ÖZELLİKLERİ

Nanofiberler genel olarak çapları nano boyutta çok küçük buna karşılık uzunlukları çaplarıyla kıyaslanınca çok yüksek olan nano malzemelerdir. Bunun yanı sıra yüzey alanları hacim veya birim ağırlıklarına kıyasla çok fazladır. Yüzeylerde küçük gözenekleri fazla ve birbirine bağlı ağ yapısı oluşturan bir yapıdadır [116]. Genelde çapları 1000 nm'nin altındadır. İdeal çap uygulama alanına göre değişir. Bazı alanlarda çok küçük yarıçapa sahip ve çok yüksek yüzey alanı sahip nanofiberler tercih edilirken bazı alanlarda örneğin; dokularla mekanik uyumun ve “elastic mismatch” olmamasının önemli olduğu biyomalzeme alanlarında nispeten daha büyük (100-250 nm) yarıçapa sahip nanofiberler daha başarılı olmaktadır. Biyomedikal alanlarda yara örtüsü, sert doku iskelesi (scaffold), ameliyat ipliği ve yama olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar. Özelliklerini geliştirmek veya malzeme çeşitliliğini artırmak için üretilen nanofibrelere farklı yöntemler uygulanabilir, ayrıca nanofiber sentezinde fiziksel bir modifikasyon işlemi uygulanabilir. Gözenek boyutları fiberlerin cinsine göre ve morfolojisini etkileyecek etken maddeler ile değişiklik göstermektedir [117].

Nanofiberler genel olarak polimer tabanlı ve seramik tabanlı olmak üzere iki grupta toplanabilirler. Seramik nanofiberlere ZnO ve CdO gibi oksit tabanlı nanofiberler veya karbon nanofiber örnek verilebilir. Polimer tabanlı nanofiberler çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Hemen her çeşit termoplastik veya termoset polimerlerden nanofiberler üretmek mümkündür. Bunlardan polivinil alkol (PVA), polivinil providanol (PVP), poliamid (Naylon), poliakrolanitril (PAN), polilaktik ko-glikolik asit (PLGA) ve polikaprolakton (PCL) örnek olarak belirtilebilir [118].

2.5.1. Polimer Tabanlı Nanofiberlerin Uygulama Alanları

Polimer bazlı nanofiberlerin biyomedikal uygulamalarında ve tekstilde sıklıkla kullanıldığı görülmektedir. Bu nanofiberler geniş yüzey alanları, yüksek mekanik dayanımları, esnek olmaları gibi üstün özelliklere sahiptirler. Yara örtüsü ve yara iyileştirmesinde, doku mühendisliğinde, ilaç salınımı için, tekstilde koruyucu giysi olarak, hava ve sıvıların filtrasyonunda, kompozit malzeme uygulamalarında, sensör uygulamalarında ve daha birçok sahada kullanılmaktadır [119]. Şekil 2.9’da polimer nanofiberlerin bazı kullanım alanları şematik halinde verilmiştir.



Şekil 2.9: Polimer nanofiberlerin uygulama alanlarının şematik gösterimi [119].

Polimerik nanolifler, biyoalgılama, rejeneratif tıp, doku mühendisliği, ilaç dağıtımı ve yara iyileşmesi gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen yeni bir malzeme sınıfını temsil eder. Enzimlerin nanoliflerde kapsüllenmesi, enzimlerin ve diğer bileşenlerin (organik veya inorganik malzemeler) doğrudan birlikte elektropsinsiyle (elektropsinlenmesiyle) sağlanabilir. Bu, enzim kararsızlığının ve tekrar kullanılamamasının üstesinden gelmek için önemli bir araçtır ve biyotıp alanında enzimlerin artan kullanımına ve uygulanmasına izin vermektedir.

Ek olarak yara pansumanı, doku mühendisliği, enzim immobilizasyonu ve ilaç dağıtımı gibi yüksek etkili uygulamalar görüldüğü gibi bu alandaki yeni gelişmeler ve uygulamalar üzerinde çalışılmaktadır. Polimerik nanofiberlerin potansiyel uygulama konularından bazıları aşağıdakileri içerir. Ancak bunlarla sınırlı değildir.

- Elektropsin ile biyouyumlu nanoliflerin doku mühendisliği için potansiyel uygulamaları.
- Elektropsin nanofiberlerden yapılmış biyobozunur polimerik bandajlar ile in vivo yara iyileşmesinde kullanılması.
- İlaç dağıtımı için elektropsin nanoliflerin tasarımı ve üretimi.
- Enzim immobilizasyonu için elektropsin polimer kompozitler ve nanokompozitlerin üretilmesi ve çeşitli alanlarda kullanılması.

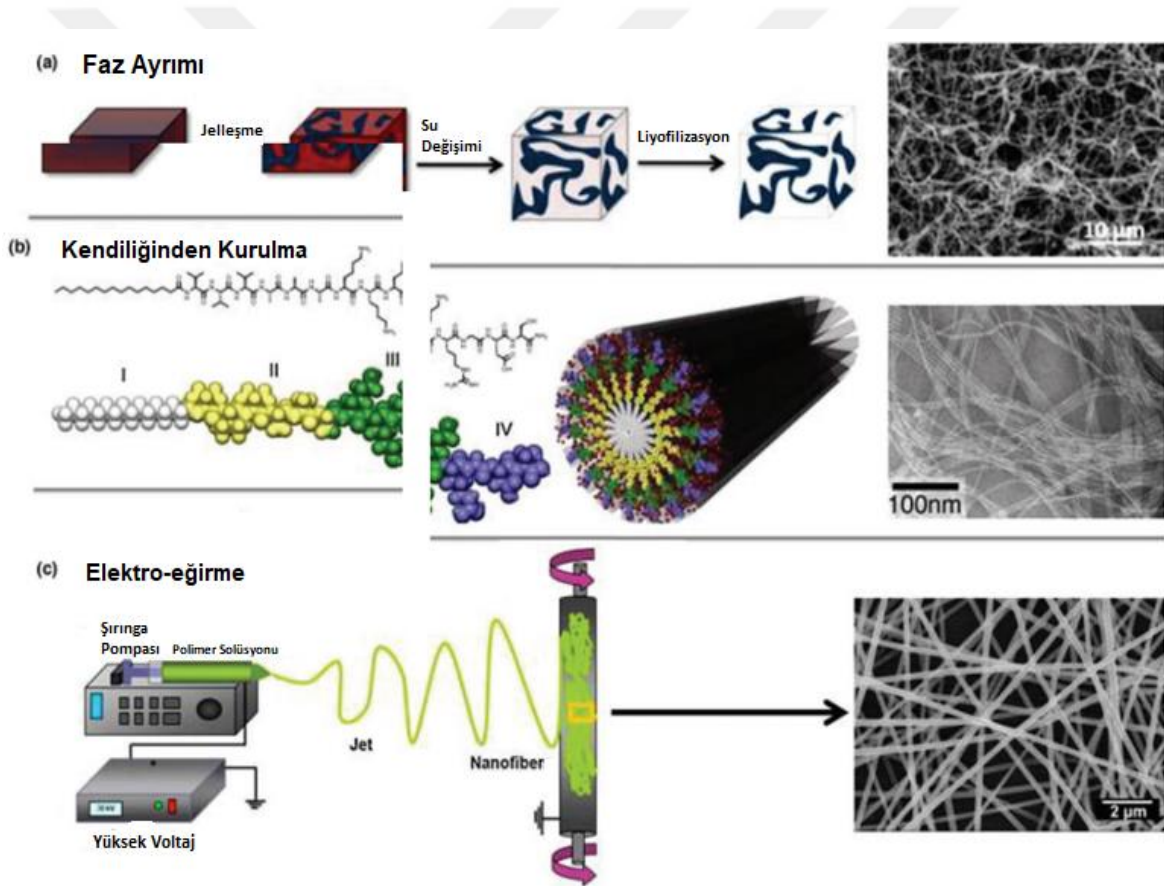
2.5.2. Doku İskeleleri için Nanolif Uygulamaları

Dünyada her yıl son dönem organ yetmezliği veya doku kaybı yaşayan milyonlarca hasta bulunmaktadır [59]. Bu hastaların organların yenisiyle değiştirilmesi genellikle hastanın kendi vücudunun bir parçasından alınması veya başka bir vücuttan alınan doku veya organlar kullanılmaktadır. Bu işlemler için başarı oranları %100 değildir. Genellikle koroner arter değiştirilmesinde %50-70 civarındadır. Bu ameliyatlara maliyeti dünya çapında her yıl milyarlarca dolar tutarındadır [120]. Diğer taraftan doku vericilerinin sayısının az olması da transplantasyondaki bir diğer kısıtlama olarak dikkati çekmektedir. Günümüzde, bu sorunları çözmek için biyomedikal ve doku mühendisliği, hastalıklı, işlevini yerine getiremeyen veya anormal organ veya dokuların transplantasyonuna alternatif yollar geliştirmektedir.

Doku mühendisliği iskelesi, hücre yapışma büyümesi (proliferasyonu) için 3 boyutlu bir ortam sağlar. Bu hücrelerin karmaşık dokuya düzgün olarak uygulanması organın fonksiyonel

mimarisine bağlıdır. Doku mühendisliği için üç temel unsur gereklidir. Bunlar; doku iskelesi, farklılaşmış veya farklılaşmamış hücreler ve moleküllerin biyolojik sinyalleri gibi büyüme faktörleridir [121].

Nanofiber yapı iskelelerini üretmek için çeşitli işleme teknikleri kullanılmıştır. Bunlara faz ayırma tekniği, kendi kendine montaj tekniği [122], dondurarak kurutma tekniği [123] gaz köpürtme [124] ve elektrospın tekniği [125] örnek olarak verilebilir. Şekil 2.10'da bazı doku iskelesinin üretim tekniği şematik olarak verilmiştir [126]. Bunlar arasında, basit ve ucuz maliyetli bir süreç olarak elektrospın yöntemi önemli ve çok ilgi gören bir teknik olmuştur. Elektrospın ile üretilen nanofiberler, farklı boyut ve işlevlerde doğal hücre dışı matrise yüksek benzerlik gösteren çok çeşitli malzemelerden üretilmektedir.



Şekil 2.10: Bazı doku iskelelerinin üretim tekniklerinin şematik gösterimi a) faz ayırma, b) kendi kendine montaj ve c) elektrospın yöntemi [126].

Elektrospın ile üretilmiş yapı iskeleleri, damar sisteminde [127], deri ve yara iyileştirilmesinde [128], kemik dokusu uygulamalarında [129, 130, 131], kıkırdak dokusu olarak, [132] sinir sistemlerde hücre büyümesinde,[133] ve ameliyat ipliği uygulamalarında ve daha birçok farklı doku uygulamasında kullanılmaktadır [134]. Tablo 2.2'de elektrospın

yöntemiyle çeşitli polimerlerden üretilen nanofiberlerin kullanım ve uygulama yerleri verilmiştir. Burada 3D yapıya sahip iskeleler sentetik ve doğal polimerlerden üretilmiş fiberlerin temel uygulama amacı belirtilmiştir. Ayrıca bu polimerlerden üretilen nanofiberlere kitin, kitosan, aljinat, ve jelatin gibi biyolojik temelli materyaller eklenmesiyle doku iskelelerinin özelliklerinin geliştirilmesi, nanolifli yapı iskelelerinde uygulama türlerinin çeşitlenmesi ve etkinliği artırılabilir.

Tablo 2.2: Bazı sentetik ve doğal polimer tabanlı elektrospinlerin genel kullanım alanları [135].

Çok Bilinen Polimer Tipi	Uygulama
Poly(ϵ -caprolactone), PCL	Fonksiyonel biyomateriyal ve doku mühendisliği uygulamaları
Cellulose Acetate	Doku mühendisliği, biyosensörler, biyomolekül immobilizasyonu uygulamaları
Polyurethane, PU	Fonksiyonel biyomateriyal, biyosensörler ve doku mühendisliği uygulamaları
Collagen	Doku Mühendisliği uygulamaları
Chitosan	Doku Mühendisliği uygulamaları
Poly(lactic acid), PLA	Fonksiyonel biyomateriyal ve doku mühendisliği uygulamaları

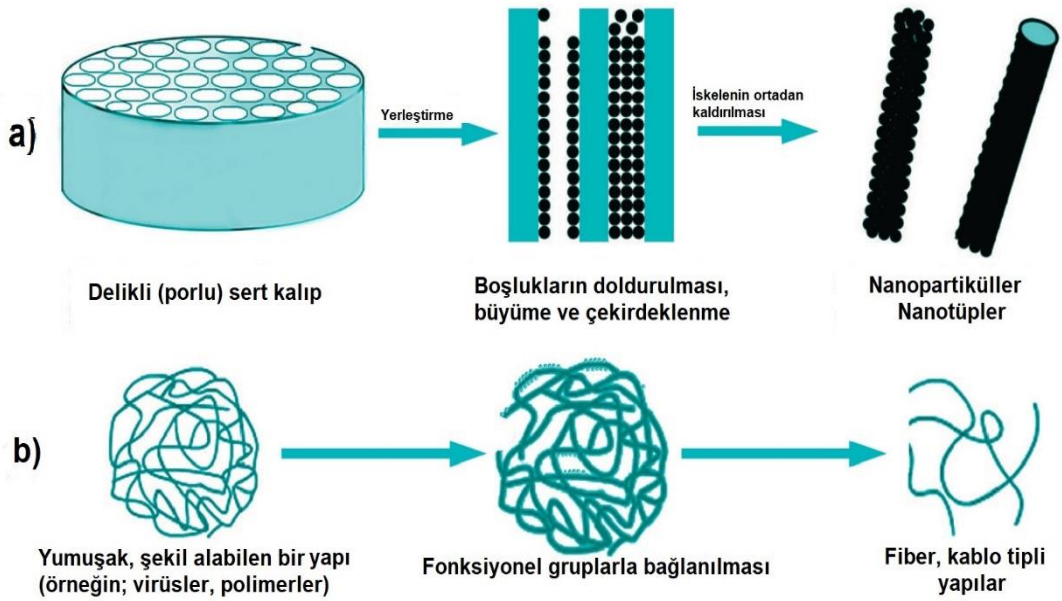
Doku iskeleinin yapısı ve biyolojik işlevi, doğal hücre dışı matrise benzer olmalıdır. Biyobozunurluk, biyoyumluluk, toksik olmama, mutajen olmama ve immünojenik olmama, uygun bir doku iskelesi için gerekli özelliklerdir. Ayrıca yüzey enerjisi, yüzey kimyası ve yüzey alanı gibi yüzey özellikleri hücre yapışmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyebilmelidir. Faydalı ve yararlı bir doku iskelesi geliştirmek için daha başka temel fiziko kimyasal parametrelere de ihtiyaç vardır. Bunlar makro ve mikro yapılar, ara bağlantıları, basma ve çekme mukavemetleri gibi mekanik özellikler ve porozite gibi özellikler söylenebilir. Elektrospin nanofiberler doku iskelelerinin mekanik özellikleri diğer önemli bir parametredir. Nanofiberlerin porozitesi, dağılımı, yönlenmesi gibi yapısal parametreleri mekanik özellikler üzerinde kritik etkilere sahiptir.

2.5.3 Nanofiber Üretim Teknikleri

Nanofiberlerin üretim teknikleri çok çeşitlidir. Bunlardan mekanik yöntemlerini, kimyasal yöntemler ile termal ve elektrostatik üretim yöntemleri söylenebilir. Bu üretim yöntemleri için aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya doğru yaklaşım tekniklerinin uygulanması mümkündür. Aşağıdan yukarıya üretim yaklaşımlarda iyonlar, atomlar, moleküller ve hatta nanopartiküller nanoliflerin oluşumu için yapı taşları olarak kullanılabilir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımlarda nanofiberler, bir yığın malzemenin aşındırma ve veya öğütme yoluyla dilimlenmesiyle veya ardışık kesilmesi ile oluşur. Buna örnek olarak odun hamurundan selüloz nanofiberlerin üretimi söylenebilir. Nanofiberleri üretmek için polimerler, karbon, metal ve metal oksitler kullanılabilir. Nanofiberlerin üretim yöntemleri ve kullanılan malzemeler çeşitli olsa da yine de arzu edilen morfoloji özellikleri ve yüksek verime sahip büyük ölçekli nanofiber üretimi için hala önemli bir zorlular vardır. Nanofiber üretim teknikleri genel olarak iki ana kategoriye ayrılabilir. Bunlardan biri fiziksel, kimyasal ve biyolojik teknikler ikincisi ise eğirme (elektrospın) ve eğirme olmayan imalat teknikleridir [126].

Fiziksel, kimyasal ve biyolojik teknikler ile nanofiberleri üretmek için uygulanan kuvvetlere ve eylemlere dayalı olarak değişmektedir. Her tekniğin belirli avantajları ve dezavantajları vardır. Fiziksel yöntemler ile nanofiber oluşturmak üzere malzemenin erimesine, aşınmasına, buharlaşmasına veya yoğunlaşmasına neden olmak için yüksek enerjili radyasyonlar, mekanik basınç, elektrik enerjisi veya termal enerji uygulanır. Fiziksel üretim tekniklerinin en yaygın örnekleri, fiziksel buhar biriktirme, lazer ablasyon ve eğirme üretim teknikleridir. Bunlardan fiziksel buhar biriktirme yöntemi kendi içerisinde Plazma püskürtme, termal buharlaştırma ve darbeli lazer biriktirme gibi alt gruplara ayrılır. Genellikle metal oksitlerden nanofiberler ve karbon nanofiberleri üretmek için uygulanan tekniklerdir. Bu teknikte, malzemeler öncelikle katı veya sıvı fazdan buhar fazına geçerler. Daha sonra nanolifli yapılar ve ince filmler oluşturmak üzere yeniden yoğunlaştırılır. Buharlaşan atomlar veya moleküller, gaz atomları veya molekülleri ile çarpışırlar. Akabinde homojen bir karışım oluşturarak nanofiber haline geçerler. Yaygın olarak kullanılan fiziksel üretim yöntemlerinden bilyeli öğütme, kriyo-kırma veya yüksek basınçlı homojenizasyon, doğal kaynaklardan nanofiberler üretmek örnek olarak verilebilir. Örneğin, selüloz bitki hücre liflerinin fibrilasyonu yoluyla selüloz nanofiberlerin üretimi öğütme, kriyo-kırma veya yüksek basınçlı homojenizasyon işlemleri yapılır.

Kimyasal yöntemler, nanolifler oluşturmak için iki veya daha fazla reaksiyona giren malzeme arasındaki kimyasal reaksiyonları içerir. Böyle bir kimyasal reaksiyon aynı anda meydana gelebilir veya bir dış kuvvet neden olabilir. Bu dış kuvvetler yüksek enerjili radyasyon, elektrik enerjisi veya termal enerji olabilir. Bu kuvvetlerin etkisiyle nanofiberler oluşurlar. Nanofiberin oluşumunu kontrol etmek için katalizörler ve büyüme kontrol ajanları kullanılır. Kimyasal buhar biriktirme (CVD), elektrokimyasal biriktirme, poliol sentezi, faz ayırma, mikroemülsiyon, sol-jel yöntemi, hidrotermal sentez nanolif sentezi için en sık kullanılan kimyasal yöntemlerden bazılarıdır. CVD genellikle yüksek sıcaklık koşullarında katalitik reaksiyonlar yoluyla buhar fazından metal oksit ve karbon nanofiberlerin üretimi için kullanılır. Kimyasal metotla nanofiber üretmek için kimyasalla birlikte yumuşak şablonlar (kalıplar) veya sert gözenekli şablonlar (kalıplar) kullanılır. Şekil 2.11’de nanofiberlerin sentezlenmesi için sert ve yumuşak şablonların kullanımına ilişkin şematik resmi gösterilmiştir.



Şekil 2.11: Nanofiber yapıların sentezlenmesinde kullanılan a) sert ve b) yumuşak şablonların şematik açıklaması [136].

Biyolojik yöntemlere gelince, bakteri veya enzimler gibi biyoaktif türler ile nanofiber hammaddeleri arasındaki biyolojik reaksiyonları içerir. Bu lifli malzemeler genel olarak selülozik malzemelerdir. Biyolojik işlemlerde, selülozik malzemeler lif yapılarını daha basit olanlara ayıran selülaz gibi selüloolitik enzimlerle işlenir. Aerobik bakteriler tarafından üretilen bakteriyel selüloz nanolifleri, bitki selülozuna kıyasla benzersiz fizyokimyasal özellikleri nedeniyle dikkate değer seviyede önem arz etmektedir. Selüloz nanoliflerinin biyolojik sentezi,

yeşil teknoloji ile birlikte toksik olmayan ve iyi huylu ham maddeler kullanır ve bu nedenle çevre dostudur ve kimyasal ve fiziksel üretim tekniklerinden daha kabul edilebilirdir. Ancak, bakteriyel selülozlardan büyük ölçekli endüstriyel sevide fiber üretimi hala gelişme aşamasındadır.

Eğirme ve Eğirmesiz İmalat Tekniklerine gelince, yukarıda anlatılan fiziksel ve kimyasal imalat tekniklerinin çoğu eğirme olmayan tekniklerdir. Eğirme teknikleri, polimer çözeltilerinden veya polimer eriyiklerinden iplikleri çekmek için elektrik kuvveti, merkezkaç kuvveti veya sıkıştırılmış gaz gibi dış kuvvetler kullanır ve lif çapı birkaç nanometreden birkaç mikrometreye kadar değişir. Nanofiber eğirme, çok yönlülüğü, maliyet etkinliği ve çevresel iyileştirmeden biyomedikal uygulamaya kadar çok çeşitli uygulamalarda kullanılma potansiyeli nedeniyle büyük bilimsel ve endüstriyel ilgi göstermektedir. Nanofiber eğirme teknikleri ayrıca iki ana kategoride sınıflandırılabilir. Bunlardan biri Elektrospin olmayan nanofiber üretim tekniği diğeri de elektrospin tekniğidir.

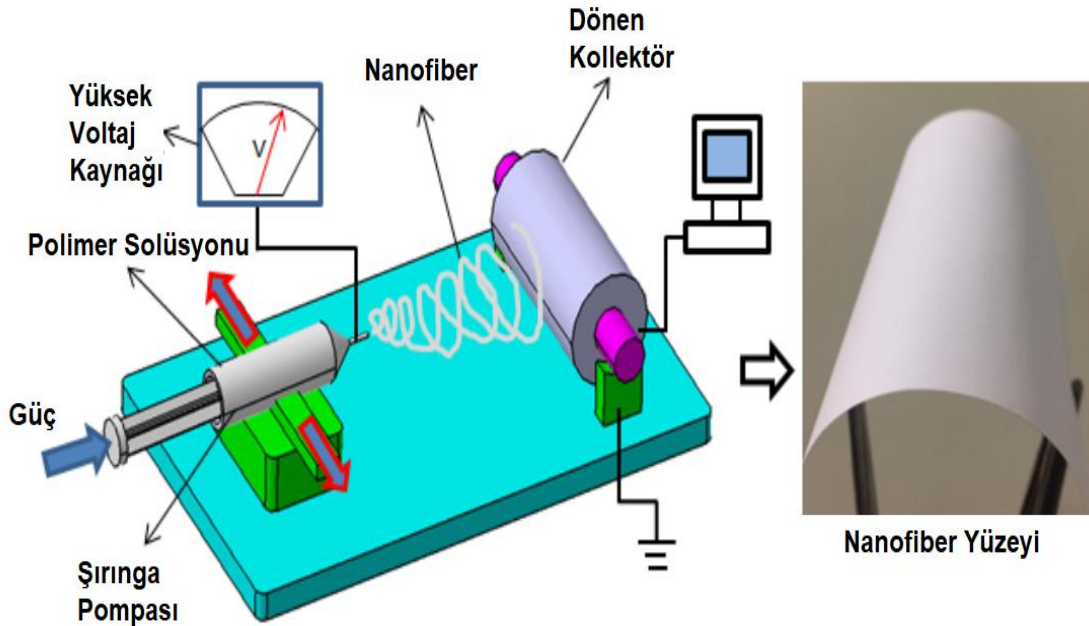
2.5.3.1. Elektrospin Olmayan Nanofiber Üretim Yöntemleri

Elektrospin (elektro-eğirme) olmayan tekniklerde, nanofiber üretmek için elektrik alanı yerine merkezkaç kuvveti veya hava ya da sıkıştırılmış gazlar kullanır. Bu teknikler çözücü kullanımını sınırlar, genelde üretkenliği azaltır ve üretim maliyetlerini artırır. Elektrospin olmayan bu tekniklerden en yaygın nanofiber üretimi için üç tanesi; üfleme balonu eğirme (gaz jeti eğirme), santrifüj eğirme ve fiber çekme teknikleridir. Bunlardan santrifüj eğirme yöntemi yüksek çıktılı nano ölçekli bir elyaf üretim sağlamaktadır. Ancak elyafların kalite seviyesi düşüktür. Elyafların çapları hem büyük hem de düzgün değildir. Üretilen fiberlerin düzensiz performansı ve düşük kalitede olması elyafların biyoaktivitesini etkilediği için biyomedikal alanda kullanılması pek önerilmez [137]. Üfleme balon eğirme yöntemi yüzey gerilimini yenmek üzere hava üfleme veya mekanik kuvvet kullanır. Böylece nanofiberler üretilir. Gaz jeti eğirme sistemiyle nanofiber üretimi için farklı tasarımda üretim üniteleri geliştirilmiştir. Ancak üretim devamlılığının sağlanması ve maliyetin düşük tutulması bu yöntemin en büyük limitleyicileridir.

2.5.3.2. Elektrospin ile Nanofiber Üretim Yöntemleri

Elektrospin yöntemi basit kurulum, nedeniyle nanofiber üretmek için en yaygın kullanılan, hızlı ve kapsamlı bir tekniktir [125, 126]. Elektrospin tekniği, bir polimer çözeltisinin bir şırıngaya yerleştirilmesinden ve daha sonra mekanik bir piston tarafından uygulanan harici pompalama ile şırınganın ucuna itilmesinden ve yüksek gerilimli bir elektrik

alan kullanılarak elektrostatik kuvvetlerin yardımıyla nano boyutta elyafların eğrilmesi işleminden oluşur. Şekil 2.12’de bir elektrospın üretim sisteminin kısımlarının şematik görüntüsü verilmiştir. Burada şırınga pompası ve buna yerleştirilmiş bir şırınga ve ucunda metalik iğne bulunmaktadır. İğneden belli bir mesafede konumlandırılmış iletken toplayıcı arasında etkili olan yüksek voltajlı güç kaynağından ibarettir. Metalik iğnenin ucunda pompanın etkisiyle oluşan polimer çözeltisinin damlacığı oluştuğunda, metalik iğne ile önüne yerleştirilmiş bir toplayıcı arasında bir elektrik voltajı uygulanır. Uygulanan voltaj kademeli olarak arttırıldığında, elektrik kuvvetleri yüzey gerilimini yener ve bir jet üretilir ve son olarak damlacık bir Taylor Konisine doğru uzar. Taylor konisinin ucundan nanofiberler oluşarak toplayıcıda birikir. Güç kaynağından polimerin cinsine göre 5-30 kV arasında voltaj uygulanır. Başka bir ifadeyle uygulanan voltaj metalik iğnenin ucundan polimer çözeltisine geçerek polimere elektrik yük yüklenmiş olur. Elektriksel kuvvetler, iğne ucundaki çözeltinin yüzey gerilim kuvvetinin üstesinden geldiğinde, iğne ucundan polimerik bir jet yayılır ve toplayıcıya doğru hareket eder. Çözeltinin iğne ucundan kopmaması ve sürekliliği için uygun bir viskoelastisiteye sahip olması gerekir. Bu sırada polimerin içerisindeki çözücü jetten hızla buharlaşınca kütle aktarımı meydana gelir. Böylece nanofiber olarak toplayıcı üzerinde toplanır. Elektrospın işleminde üretilen nanofiberlerin düzgün ve tekrarlanabilir olması gerekir. Elektrospın işleminin genellikle düzgün, tekrarlanabilir olması için Bunun için nem, sıcaklık, atmosfer basıncı gibi çevresel faktörlerin kontrol edilmesi gerekir [125].



Şekil 2.12: Bir elektrospın yönteminin şematik görüntüsü [138].

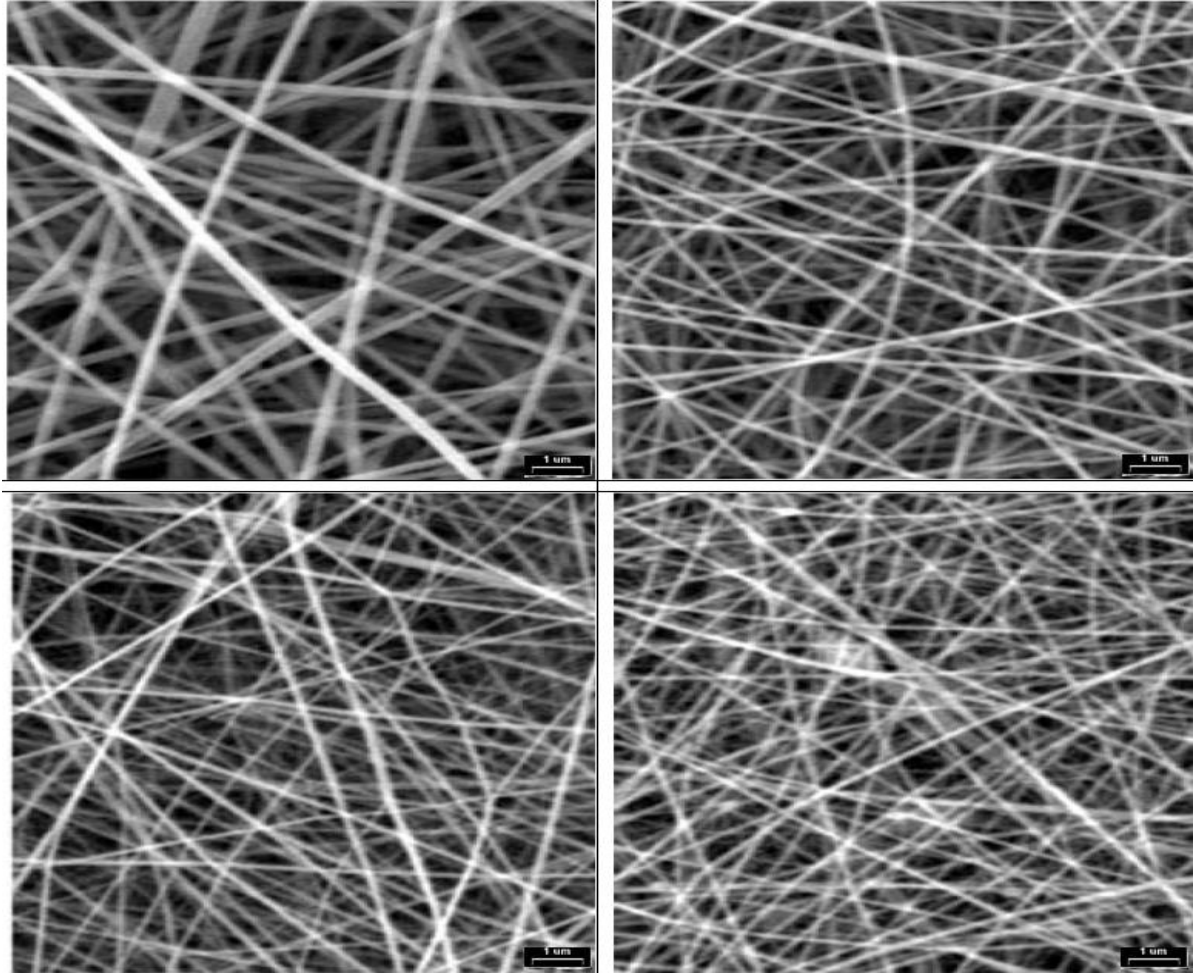
2.5.3.3. Elektroselin Yönteminin Temel Parametreleri

Elektroselin yöntemiyle polimer esaslı nanofiber üretmek için çeşitli parametrelere ihtiyaç vardır. Bu parametreler işlem parametreleri, çevreye bağı ve çözelti parametreleri olmak üzere üç grupta incelenir. Bunlardan işlem parametreleri elektrik alanın büyüklüğü, şırınganın iğnesinin ucu ile kollektör arasındaki mesafe ve polimer çözeltisinin akış hızıdır. Çevreyle ilişkili olan parametreler sıcaklık ve nemdir. Çözelti parametreleri ise çözeltinin yoğunluğu, viskozitesi, moleküler ağırlığı, yüzey gerilimi ve iletkenliktir.

Nanofiber üretimi sırasında uygulanan voltajın, Polimer çözeltisinin iğne ucunda Taylor Konisinin oluşması ve burada meydana gelen yüzey geriliminin üstesinden gelinebilmesi için belirli bir eşik değerin üzerinde olması gerekir. Bu eşik değerin en az 6 kilovolt olması literatürde verilmiştir. Uygulanacak gerilimin büyüklüğü nanofiberin çapı ile ters orantılıdır. Voltaj arttıkça fiber çapı azalmaktadır. Bunun yanı sıra elektrostatik itme kuvveti de artmaktadır. Böylece yüzey geriliminin de üstesinden gelecektir. Bu sırada polimer çözeltisindeki çözücü polimerden ayrılarak uçacak ve daha ince nanofiberin oluşumuna sebep olacaktır [139, 140].

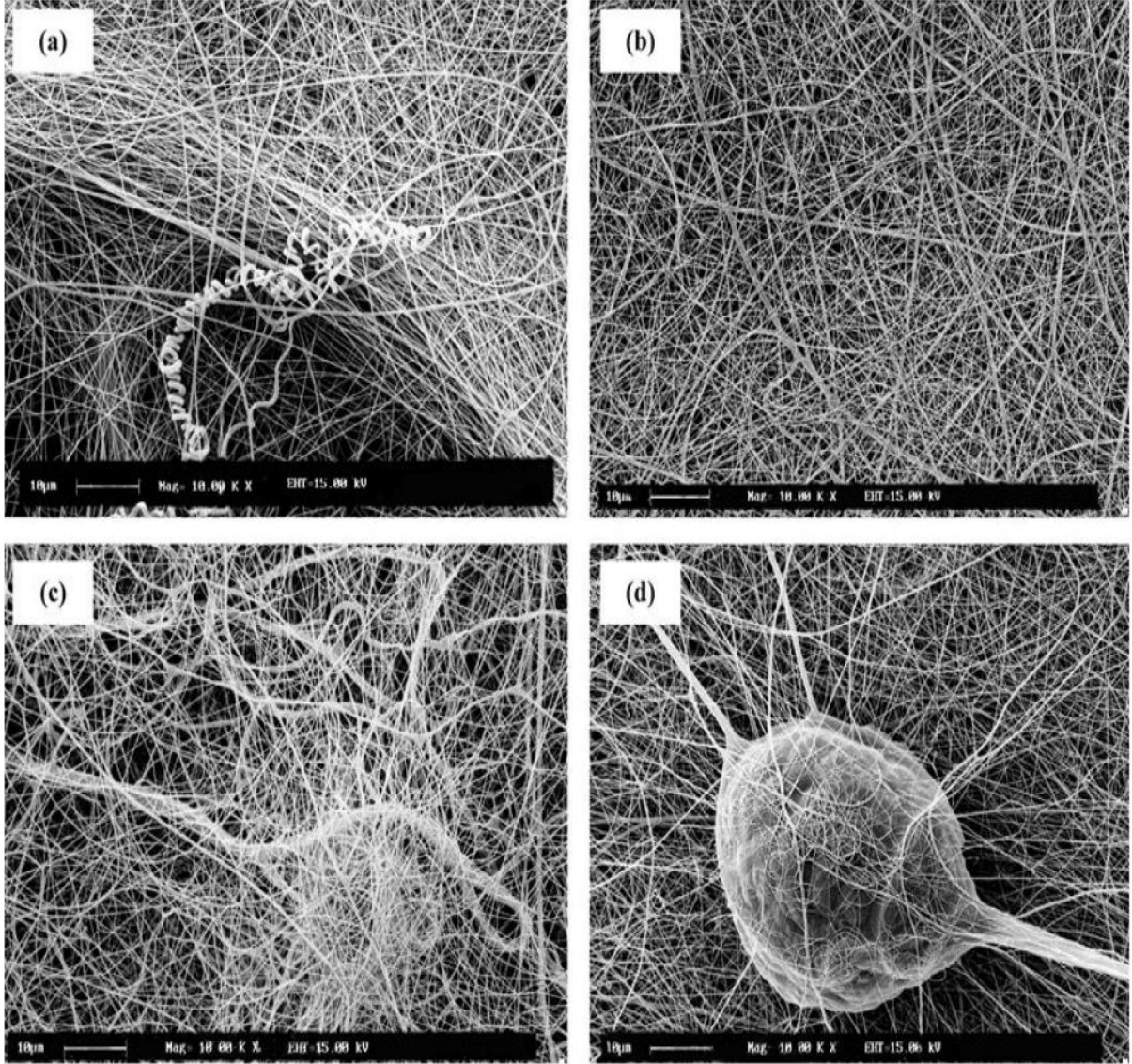
Voltajın büyüklüğünün nanofiber yapısına olan etkisini Zhang [141] yapmış olduğu PLGA kompozit fiber üretimi çalışmasında göstermiştir. Beş farklı büyüklükte voltaj uygulandığında üretilen nanofiberlerin SEM görüntülerinde en uygun ve boncuksuz nanofiberlerin 20-25 kV değerinde olduğunu göstermiştir. Elektroselin geriliminin çok artması durumu, jetin hızının artmasına ve birden fazla jet oluşumuna neden olmakta ve bu durum jette oluşan elektriksel kuvvetlerin birbirini itip eksenel yüklerin oluşmasını geciktirerek kararsızlığa yol açmaktadır. Böyle bir durumda, polimer çözeltisi iğne ucundan ayrılarak yeterince incelmeden kalın fiber yapısında veya damlacık olarak kollektöre gidecektir.

İğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe nanofiberlerin morfolojisini ve çapını etkileyen diğ er bir faktördür. Söz konusu mesafenin polimerin bünyesinde bulunan çözücünün buharlaşıp uzaklaşmasına fırsat verecek miktarda olması gerekmektedir. Eğer bu mesafe gereğinden kısa ise çözücünün bir miktarı buharlaşamayacak ve fiberin içerisinde kalacaktır. Böylece nanofiberin çapı artacak ve boncuklanma meydana gelecektir. Diğ er taaftan, iğne ucu ile kollektörün arasındaki mesafe çok fazla ise yeterli elektrik alanının sağlanabilmesi için voltajın artırılması gerekecek ve bu durumda da kollektörde boncuklama oluşacaktır [142]. Şekil 2.13'de farklı çaplarda oluşan nanofiberlerin SEM görüntüleri verilmiştir.



Şekil 2.13: Mesafe ve voltaj parametreleri değiştirilerek farklı çaplarda üretilmiş jelatin-formik asit nanofiberlerinin SEM görüntüsü [142].

Polimerin akış hızı ile birlikte voltaj miktarı Taylor Konisi oluşmada önemli birer faktördür. Eğer akış hızı Taylor Konisinin oluşumunun altında ise veya üzerinde ise fiber çapı artacak ve boncuklanma oluşacaktır. Akışkanın hızı gereğinden düşük ise Taylor Konisinin oluşması yerine iğnenin içinde jet oluşumu meydana gelir. Bu durumda iğne tıkanacaktır [143]. Eğer akış hızı yüksek ise jet üzerindeki elektriksel yük azalacaktır. Bu durumda polimerdeki çözelti buharlaşamayacağı için fiber çapı kalınlaşıp boncuklaşma oluşacaktır. Taylor Konisi oluşumu elde etmek, küçük çaplı ve düzgün nanofiberler üretmek için akış hızının minimum olarak tercih edilmesi uygun olacaktır. Eğer akış hızı düşürülürse ve diğer parametreler sabit tutulursa nanofiberlerin çapları düşecektir. Şekil 2.14’de PVA polimerden üretilen nanofiberlerin farklı akış hızlarındaki SEM görüntüleri verilmiştir. Akış hızı arttıkça nanofiberlerin içerisindeki boncuklaşmanın oluştuğu ve fiber çaplarının arttığı görülmektedir.

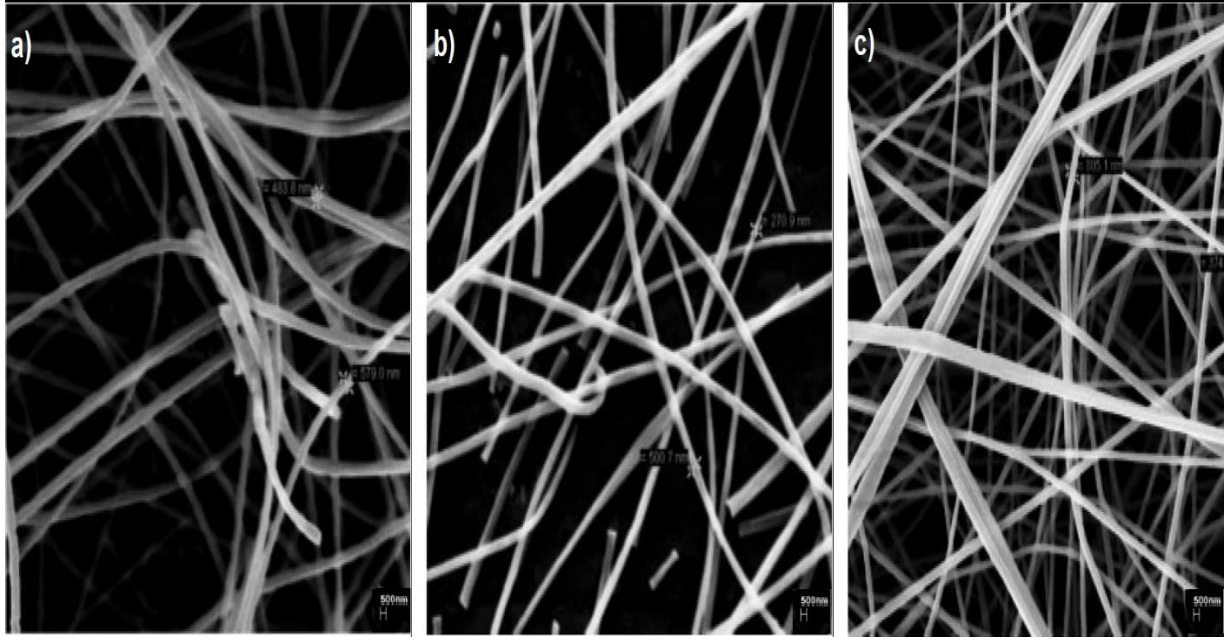


Şekil 2.14: PVA'dan sentezlenen nanofiberlerin farklı akış hızlarındaki SEM görüntüleri. a) 0.1ml /h, b) 0.5ml /h, c) 1ml / h ve d) 1.5ml /h [144].

Elektrospin prosesinde toplayıcının iletken olması gerekir. Toplayıcı plakanın sabit ve hareketli olmasına göre fiberler de farklı şekiller alırlar. Toplayıcı plakanın metal olması iletkenlik açısından tercih edilir. Genel olarak toplayıcının üzerine Alüminyum folyo gerdirilerek iletkenlik sağlanır. Hareketli toplayıcılar dönen silindir, dönen tambur veya kayan düz levhalar olabilir. Nanofiberlerin morfolojik yapıları toplayıcının çeşidine göre özellik taşımaktadır.

Nanofiber üretiminde polimerin çıkış kanalı olan iğnelerin çapları da nanofiberlerin kalınlıklarıyla ilgili önemli bir etkiye sahiptir. Polimer solüsyon iğnelerin içerisinden geçerken iğnelerde tıkanıklık veya daralma var ise üretilen naofiberlerin çapında da düşüş olacaktır.

Ancak Taylor Konisinin oluşmasını engelleyeceğinden istenilen özellikte nanofiber üretmek zorlaşacaktır. Polimer çözeltinin viskozitesine göre nanofiber üretiminde iğnenin içerisinden geçerken çözeltinin itilebileceği uygun bir iğne çapı seçilmelidir. Küçük çaplı iğneler tıkanabileceğinden, genelde küçük çaplı iğneler kullanılmazlar. Ancak küçük çaplı iğneler kullanılırsa nanofiberlerin çapı da küçük olur. Damlacık oluşmasını azaltır [145, 146]. Şekil 2.15’de Polimetilmetakrilat (PMMA) nanofiber üretiminde iğnelerin çapının nanofiber üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada SEM görüntüleri verilmiştir.



Şekil 2.15: Polimetilmetakrilat (PMMA) kullanılarak farklı çaplarda iğnelerin nanofiberler üzerindeki etkilerini gösteren SEM görüntüleri a) 0.83 mm, b) 0.4 mm, c) 0.1 mm [146].

Nem nanofiberlerin yüzeyinin yapısını etkileyen bir başka parametredir. Nem oranındaki artış nanofiberlerin yüzeyinde porlama denilen dairesel gözeneklerin oluşumuna yol açmaktadır. Nem oranı yüzde 30’ların üzerine çıkmasıyla küçük gözeneklerin ortaya çıktığı söylenebilir. Bu oran arttıkça gözeneklerinde büyüdüğü ve zamanla birleşerek daha büyük çapta porlaşmanın olduğu gözlenmiştir. Yüksek nem oranında fiber çaplarının küçüldüğü ancak fiberlerde yassılaşma olduğu ifade edilmektedir. Düşük nem oranlarında çözücü hemen iğne ucunda veya iğneye yakın yerlerde buharlaşma olduğundan iğnede tıkanmalara yol açtığı yapılan çalışmalarda görülmüştür [147].

Elektrospın işleminde nanofiberlerin morfolojisini etkileyen önemli bir parametre de ortamın sıcaklığıdır. Sıcaklık ile polimerin viskozitesi ters orantılıdır. Sıcaklık arttıkça viskozite düşmektedir. Buna bağlı olarak nanofiberlerin çapları da azalmaktadır. Ortamın basıncı

atmosfer basıncının altına düştüğü zaman çözelti iğneden rahatça akmaktadır. Eğer basınç çok düşük ise elektrik yükleri doğrudan salındığı için nanofiber üretimi gerçekleşmeyecektir.

2.5.3.4. Elektrospın ile Üretilmiş Nanofiber Biyomalzemeler

Çok geniş yüzey alanları ve bu yüzeylerin geliştirilebilir olmasından dolayı çeşitli özelliklere sahip olan nanofiberlerin, biyomedikal uygulamalarında önemli roller oynamaktadır. Elektro-eğrime yöntemiyle üretilmiş polimer nanofiberler biyomedikal uygulamalarının yanı sıra bunların uzantısı olan eczacılıkta ve medikal sahada çok çok fazla uygulamaları vardır. Bu sahalardaki uygulamalar için başta biyomalzemeler, elektronik, biyokimya gibi farklı konuların ortaklaşa katkılarıyla nanotıp, nanobiyoteknoloji, rejeneratif medikal, organ ve doku mühendisliği, tıp mühendisliği ve nano-elektromekanik sistemler gibi yeni çalışma sahaları ortaya çıkmıştır [148]. Bu disiplinlerin yoğunlaştığı araştırma konularından bazılarının ilaç salınımı, yara iyileştirilmesi, doku ve organ iskele uygulamaları, biyobiosensörler, dişçilik ve kozmetik uygulamaları olduğu söylenebilir. Yine bu sahalardaki uygulamalar için kullanılan nanomalzemelerden ilaç salınımı ve doku iskeleleri için polimer veya biyobozunur nanofiberler ve vücutta kullanılan ve yüzeyleri nano malzemelerle modifiye edilmiş implantlar bulunur [149].

Polimer nanofiberler ilaç salınımlarında kullanılmalarına bakıldığında zaman ilaçların nanofiberi oluşturan polimer solüsyonun içerisine karıştırılarak üretilen nanofiberlerin içerisine gömüldüğü görülür. Nanofiberlerin uygulamaları sırasında yüksek yüzey alanına sahip olduklarından içerisinde buluna ilaçlar rahatça çözölmektedir. Bu yöntemle ilacın istenilen dokuya veya bölgeye istenilen ölçekte ve zaman aralığında uygulanması sağlanmış olmaktadır. İlaç sadece hastalıklı bölgede etkili olduğundan sağlıklı bölgelere zararının dokunması önlenmiş olmaktadır. Böylece ilacın yan etkisi ortadan kalkmaktadır. İlaç salınımında antibiyotik ve ağrı kesici ilaçlar, antikansorejen ilaçlar ve amaca uygun çeşitli ilaç dağıtım sistemleri uygulanmaktadır [149].

Ağız ve diş uygulamalarında malzeme olarak kollajen ve kitosan gibi doğal polimerler, PVA, PVP, PCL, PLA gibi sentetik polimerler, hidroksiapatit gibi nanokompozitlerden elektrospın yöntemiyle üretilmiş nanofiberler kullanılmaktadır. Bu nanofiberler restoratif nanokompozit olarak, ilaç salınımında ve implant malzemelerin yüzeylerinin modifikasyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca dişerin, kırık ve yönlendirilmiş dokuların rejenerasyonunda, çürük oluşumunun önlenmesinde, yara ve mukozaların onarımı gibi uygulamalarda da kullanılır [150].

Kozmetikte kullanılan kremler, merhemler, cilt bakım losyonları, maskeler, özellikle yüz bölgesinde kullanıldığında gözler ve burunlar için tehlike oluşturmaktadır. Vücudun hassas bölgelerindeki temasları sebebiyle insan sağlığına zarar verebilmektedirler. Bu gibi zararları bertaraf etmek için daha farklı ve etkili uygulamalar için nanofiberlerin tercih edilmesi yolunda birçok uygulamalar geliştirilmiştir. Nanofiberler, cilt temizliği ve ciltteki yara ve sivilcelerin iyileştirilmesi ve tedavi amaçlı cilt bakım ürünleri ve maskesi uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanofiberlerin içerisine gömülen ilaçlar ve katkı maddeleri cilt bakımında ve iyileştirilmesinde oldukça etkili olmaktadır [151].

Yanık yaraların, yaralanma sonunda hasarlanan yaraların veya kızamık, alerji, egzama gibi hastalık sonucunda oluşan yaraların iyileştirilmesi için nanofiberler son zamanlarda rağbet gören bir tedavi yöntemidir. Polimer nanofiberlerin üstün özellikleri, hidrofilik veya hidrofobik olma ve geniş yüzey alanları sebebiyle yara iyileştirilmesinde yara örtüsü olarak kullanımı büyük avantajlar sağlamaktadır. Yaraların hızlı ve düzgün iyileşmesi için yara bölgesinin bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların istilasından ve dış etkenlerde korunması gerekir. Yaradan çıkan sıvıyı emilmesi ve hava alması da ayrıca önem kazanmaktadır. Nanofiberler boyutları nanoboyutta olduğunda mikroorganizmaların geçişini engellemektedir.

Ayrıca nanofiberlere eklenen antibakteriyel özellikler bakterilerin gelişmesini önlemektedir. Hidrofilik olması sebebiyle vücut sıvısını da rahatça emebilmekte ve yara ortamında nem oluşturarak yaranın kurumasını önlemektedir. Havayı geçirdiği için yaranın oksijenle beslenmesini de sağlamaktadır. Bütün bu özellikler yaranın hızlıca iyileşmesini sağlamaktadır [152]. Örnek olarak, Khadka ve diğ. [153] yapmış olduğu bir çalışmada elektrospin ile üretilmiş kolojen nanofiberlerin yara iyileştirilmesi uygulamalarında normal gazlı bez ile iyileştirilmesini kıyaslayarak aradaki farkın ne kadar üstün ve etkili olduğu göstermişlerdir.

Polimer nanofiberler, geniş yüzey alanları ve gözenekli yapıları, yapısal hidrofobik ve kılcal gibi moleküler özellikleri ve yüzey gerilmeleriyle ile algılama uygulamalarında kullanılan önemli biyomedikal malzemelerdir [154].

Nanofiberlerin gözenekli yapıları sayesinde kimyasal reaktif ajanların difüzyonuna erişilebilirlik ve düşük direnç sağlamaları, nanofiberlerin kataliz olarak, nanoreaktörler ve absorbanlar için vazgeçilmez sistemler olmalarına yol açar. Elektrospin ile üretilmiş

nanofiberlerin hücre ile matris arasında etkileşim yapabilmesi ve biyomoleküller ile hızlı emiliminin sağlanması, doku mühendisliğinde geniş bir sahada uygulama imkânı sağlamaktadır.

Biyomalzemeler doku mühendisliğinde en çok araştırılan konuların başında gelmektedir. Doku mühendisliğinde hasar görmüş dokuların veya organların rejenerasyonu ve dokunun asli özelliklerinin yeniden kazandırması esas amaçtır. Doku iskeleleri, hücrelerin canlılıklarını koruyabilecek ortamı sağlayarak doku yenilenmesini desteklemek için geçici veya kalıcı yapay hücreler arası ortam matrisi (ECM) oluşturma görevi yürütür. İdeal bir doku iskelesinde istenen doğal hücre ECM yapısını ve biyolojik fonksiyonlarını taklit edebilmeli, hücreleri ve dokuyu bir arada tutabilme kabiliyetinin sağlanmasıdır. Böylece doku iskeleleri ile hücrelerin tutunup büyüüp difüzyon oluşturabileceği uygun bir ortam hazırlamış olur. Bu doğrultuda, nanofiberlerden oluşan yapı iskeleleri, hücrelerin bu döngüyü sağlayabilmesi için gerekli olan en uygun ortamı sağlayabileceklerdir. Polimer nanofiberlerin iskele uygulamalarında yaygın olarak tercih edilmesini birçok sebebi vardır. Bunlardan nanofiberlerin çok ince olmaları, yüksek seviyede gözeneklere sahip olmaları, farklı polimerlerin ve inorganik maddelerin bir araya gelerek kompozit oluşturabilmeleri, fonksiyonel hücrelerle ilişkilendirilebilmeleri söylenebilir. Yine nanofiberlerin yüzey kimyaları bakımından doku ortamının yapısal özellikleriyle eşleşebilmeleri de nanofiberlerin önemini artırmaktadır. Bu özelliklerinin uygulandığı ve başarılı olduğu kemik, deri ve kan damarları uygulamalarında önemli sonuçlar alınmıştır [155].

2.6. BİYOBOZUNUR POLİMERLER

Biyomalzemeler hasarlı veya normal çalışmasını yapamayan dokunun takviye edilmesi, onarılması veya dokunun yerini aşması amacıyla biyolojik sıvılarla temas halinde olan ve canlı dokuyu ve bileşenlerini negatif yönde etkilemeden implant, teşhis ve tedavi uygulamaları için kullanılan sentetik veya doğal malzemelerdir [156].

Biyomalzemeler, ayrıca dokulardaki anormallikleri düzeltme, zayıf olan bir fonksiyonu iyileştirme gibi amaçlar için de kullanılır. Biyomalzemelerin insan vücudunda çeşitli amaçlarla kullanılabilmesi için biyolojik yönden dokularla uyumlu olması doğrultusunda özelliklere sahip olması gerekir. Biyolojik malzemelerin kullanılması için biyoyumlu olması biyolojik uygulamalarda büyük önem taşır. Bununla beraber bir biyomalzeme kullanılacaksa uygulanacak dokunun yapısına uygun dayanıklılık, ağırlık, yoğunluk ve sertlik gibi uygun

mekanik özelliğe sahip olmalıdır. Yine biyomalzemelerin başarılı olması için biyomekanik özellikler, biyoyumluluk, yüzey modifikasyonu, porozite gibi özellikleri de içermelidir.

Bunlarla birlikte biyoyumluluk, bir malzemenin kullanım amacında biyolojik sistemlerle uyumlu olması anlamına gelmektedir. Bu nedenle bir malzemenin tek bir açıdan biyoyumlu olması mümkün değildir. Örneğin biyoinert yani biyolojik aktivite göstermeyen paslanmaz çelik gibi bir malzeme thromboresistans vb. özellikler gösterebileceği için, mekanik ve kimyasal özelliklerin de uyumlu olduğu durumlarda kalp stenti vb. uygulamalarda biyoyumluluk gösterip tercih edilebilir ancak aynı malzeme örneğin dental implantlarda bir giydirme ve çimento malzemesi kullanılmadığı durumda biyolojik aktif olmadığı için kemikle bağlanma (bond-bonding) özelliği göstermediği için biyoyumlu olarak kabul edilemez. Bu örneklerden de yola çıkarak, bir malzemenin biyoyumluluğunun malzemenin kendine has bir özelliği olmadığını ancak uygulama alanına göre uyumluluk gösterip göstermeyeceğine göre sadece o uygulama alanı için biyoyumlu olup olmadığı söz konusudur. Biyoyumluluk genel olarak malzemenin uygulama alanında biyolojik dokuyu tahrip etmediği, anti enflammatuar, antialerjenik, antikanserojenik, antitoksik olması ve yerine geçtiği veya destek olduğu biyolojik sisteme uyum gösterdiğini belirtir. Daha geniş bir kapsamda, biyoyumluluk malzemenin kimyasal ve fiziksel olarak da temasta bulunduğu doku ile uyumlu olmasını gerektirir. Tüm biyomalzemeler için en önemli özellik olmasının yanı sıra, vücut içerisine komple yerleştirilen ve biyolojik doku ile tamamen temas içerisinde bulunan bir sistem olan implantta biyoyumluluk daha da önem arz etmektedir.

Biyoyumluluk, ana dokudan gelen enflamasyon etkiyi en aza indirir. Konakçının bağışıklık sistemi implantı konakçının bir parçası olarak tanımalı ve reddetmemelidir. Biyoyumlu malzemeler kullanılarak klinik olarak faydalı, tercih edilen hücresel ve / veya konakçı doku yanıtı elde edilir.

Biyoyumlu malzemeler tıbbi tedaviye uygun olarak dokunun işlevini yerine getirir. Kullanılan dokuya uygun performansını gerçekleştirmek için seçilirler. Biyoyumluluk pH ve kan taşıma hızı gibi ana doku özelliklerinin yanı sıra, aynı zamanda malzemelerin yüzey özelliklerinden de etkilenir. Biyoyumlu malzemeler dokuya yerleştirildiğinde, her şeyden önce, proteine yapışır ve bunu hücre bağlanması izler. Bu nedenle araştırmacılar, biyomalzemenin biyoyumluluğunu kontrol etmek için biyomalzemelerin yüzey modifikasyonundan önce ve sonra protein Emilimi üzerinde çalışırlar.

Biyomalzeme uygulamalarda proteinler veya polisakkaritler gibi enzimatik olarak bozunabilen doğal polimerlerin kullanımı binlerce yıl önce başlarken, sentetik biyobozunur polimerlerin uygulanması yaklaşık elli yıl öncesine dayanmaktadır. Sentetikten doğal polimerlere kadar birçok biyolojik olarak parçalanabilen polimer kaynağı vardır. Doğal polimerler yenilenebilir kaynaklardan büyük miktarlarda bulunurken, sentetik polimerler yenilenebilir olmayan petrol kaynaklarından üretilir. Biyobozunma, canlı organizmalarla ilişkili enzimlerin veya kimyasal bozulmaların etkisiyle gerçekleşir. Bu olay iki adımda gerçekleşir. Birincisi, abiyotik reaksiyonlar, yani oksidasyon, fotodegradasyon veya hidroliz veya biyotik reaksiyonlar, yani mikroorganizmalar tarafından bozunma yoluyla polimerlerin daha düşük moleküler kütleli türlere parçalanmasıdır. Bunu, polimer parçalarının mikroorganizmalar tarafından biyoasimilasyonu ve mineralizasyonu takip eder. Biyobozunurluk sadece polimerin kökenine değil, aynı zamanda kimyasal yapısına ve çevresel bozunma koşullarına da bağlıdır. Biyobozunur malzemelerin mekanik davranışı, kimyasal bileşimlerine. Üretim yöntemine, depolamaya, yaşlanma özelliklerine ve uygulama koşullarına bağlıdır [157].

Polimerler gerek esnek yapısı gerekse yumuşak doku paternine en yakın malzeme türü olması nedeniyle oldukça fazla tercih edilen biyomalzemelerdendir. Polimerlerin yumuşak dokular ile elastik modülüs uyumluluğu yani mekanik özelliklerinin yakın olmasının yanı sıra, içerisine polimer metal veya seramik çok fazla malzeme katılabildiği ve rahatlıkla kompozit oluşturulup uygulama alanının genişletilebilmesi de birçok avantaj sağlamaktadır. Polimerler vücut içerisinde ses mühendisliği gerektiren kalp kapağı giydirmesi gibi bir uygulamadan, yara giydirme uygulamalarına, cerrahi iplik veya ilaç salınımı uygulamalarına ve hatta hemodiyaliz cihazları filtreleri gibi biyolojik ara yüzü bulunmayan biyomalzeme uygulamalarına kadar birçok alanda varlığını göstermektedir. Polyglycolide (PGA), Polylactide (PLA), Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA), Polycaprolactone (PCL), Poly(butylene succinate) (PBS), Polyurethanes (PU) ve polivinil alkol (PVA) gibi polimerler yaygın olarak kullanılan polimerlerdir.

Bütün bunlarla beraber polimerlerin biyobozunur çeşitlerinin olması ve yüksek biyolojik aktiviteye sahip polimer türlerinin varlığı gene polimerleri biyomalzemelerin vazgeçilmez bir parçası haline getirmiştir. Bir malzemenin biyobozunur olarak kullanılabilmesi için biyobozunur polimerlerin üç önemli özelliği olması gerekir. Bunlar biyoyumluluk, biyoabsorbite ve mekanik özelliktir.

Biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin mevcut uygulamaları arasında vasküler veya ortopedik cerrahideki cerrahi implantlar ve düz membranlar yer alır. Biyobozunur polyesterler, tipik olarak iyi bir mukavemete ve ayarlanabilir bir bozunma hızına sahip olduklarından, doku mühendisliğinde gözenekli yapı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [158].

Biyomalzemelerin doku yenilenmesi için ilk kullanımlarında vücut içerisine yerleştirilen poli (tetrafluoroetilen) ve poli (üretan) gibi vücut içerisinde parçalanamayan malzemeler kronik bir yabancı cisim reaksiyonuna neden olabileceğinden ve bu nedenle ikinci bir operasyon ile çıkarılması gerektiğinden, özellikle 1980'den sonra vücut içi implantlar için pek tercih edilen bir strateji olmamıştır [85].

Biyobozunur polimerler, in vitro ve in vivo olarak ya vücudun normal metabolitleri olan ürünlere dönüşüp ya da başka metabolik dönüşümlere uğrayıp vücuttan tamamen uzaklaştırılabilen ürünlere ayrılan polimerlerdir. Biyobozunur bir polimerin bir biyomateryal olarak seçilmesinin temel kriterleri, bozunma ürünlerinin toksik olmaması ve malzemenin bozunma hızı ve mekanik özelliklerinin amaçlanan uygulamaya uymasındır. Biyolojik olarak parçalanabilir polimerler parçalanamayan polimerlerle kıyaslandığında, vücuda yerleştirildikten sonra ikinci bir cerrahi prosedür ihtiyacını ortadan kaldırmanın yanı sıra uzun süreli biyouyumluluk endişesini ortadan kaldırır [84].

Biyodegradasyon, canlı organizmalarla ilişkili enzimlerin ve / veya kimyasal bozulmanın etkisi ile gerçekleşir. Bu olay iki adımda gerçekleşir. Birincisi, polimerlerin oksidasyon, fotodegradasyon, hidroliz veya biyotik reaksiyonlar gibi abiyotik reaksiyonlar ile mikroorganizmalar tarafından bozunmalar yoluyla düşük moleküler kütle türlerine parçalanmasıdır. Bunu, polimer fragmanlarının mikroorganizmalar tarafından biyoasimilasyonu ve mineralizasyonu izler. Biyolojik bozunma sadece polimerin kaynağına değil aynı zamanda kimyasal yapısına ve çevresel bozunma koşullarına da bağlıdır [157].

Biyobozunur polimerler doğal, sentetik ve doğal polimerlerin katkı maddeleri veya dolgu maddeleri ile karışımı olabilir. Sentetik biyobozunur polimerler, doğal polimerlere göre üretkenlik açısından bir avantaj sunar. Sentetik biyolojik olarak bozunabilir polimerler, öngörülebilir özelliklere sahip arzu edilen malzemeler ilave edilerek özel olarak hazırlanabilir. Öte yandan, doğal polimerlerin çoğu dokuda toksik olmayan etkiye sahip bir avantaj sunar. Dolayısıyla, biyolojik olarak bozunabilir biyomalzemeler olarak kullanılan ilk polimerler doğal

polimerlerdir. Biyolojik olarak bozunabilir biyomalzeme uygulamaları için, materyalin bozunma hızı, organizmanın doku oluşum hızına eşit olması gerektiği için önemli bir sınırlamadır [159]. Biyoçözünürlük oranı ayrıca spesifik uygulamalar için malzeme seçimini sınırlar. Biyobozunur sentetik polimerik biyomalzemeler kimyasal biyobozunurluk yapılarına göre 7 gruba ayrılmıştır [84]. Bunlar; alifatik polyesterler, poli (orto esterler), polianhidrürler, poli (alkil siyanoakrilatlar), poli (amino asitler), polifosfazenler ve polifosfesterlerdir.

Alifatik polyesterler arasında poli (laktik asit) (PLA), poli (laktit-ko-glikolit) (PLGA) ve poli (glikolik asit) (PGA) gibi poli (hidroksi asitler), esas olarak mikroorganizmalardan türetilen polihidroksialkanoatlar (PHA'lar), poli (bütilen süksinat) (PBS) ve poli (bütilen adipat-ko-tereftalat) (PBAT) gibi hem fosil yakıttan hem de yenilenebilir kaynaklardan türetilen poli (alkilen dikarboksilatlar) bulunur. Alifatik poliestерler neredeyse yüksek moleküler ağırlıklı biyolojik olarak çözünebilir tek bileşiktir [160]. Hidrolize olabilen ester bağları onları biyolojik olarak parçalanabilir yapar. Alifatik polyesterler, bileşen monomerlerin bağlanmasına göre iki tipte sınıflandırılabilir. Birinci sınıf polihidroksialkanoatlardan oluşur. Bunlar hidroksiasitler, HO-R-COOH'dan sentezlenen polimerlerdir. PGA, PLA ve PLGA bunlara örnek verilebilir. Poli (alken dikarboksilatlar) ikinci sınıfı temsil eder ve bunlar dioller ve dikarboksilik asitlerin polikondansasyonu ile hazırlanırlar.

Poli (orto esterler) (POE) zincir boyunca orto ester grupları içerir; bir orto ester, bir karbon atomuna bağlı üç alkoksi grubu içeren fonksiyonel bir gruptur. Parçalanma yüksek hidrofobiklik ve su geçirgenliği özelliklerinden dolayı bir hidroliz mekanizmasından kaynaklanır. Bu polimerler, yüzey erozyonu bozunmasını elde etmek için formüle edilebilir. Poli (orto esterler) sentezlendiği maddeye göre; POE I, POE II, POE III ve POE IV olmak üzere dört kısma ayrılmıştır [161]. Polianhidrürler, biyomedikal uygulamalar için yüzey aşındırıcı polimerlerin şimdiye dek sentezlenen en hidrolitik olarak kararsız polimerleri oluştururlar, böylece hidrolitik bozunma polimer bileşiminin manipülasyonu ile kontrol edilebilir [162].

Poli (alkil siyanoakrilatlar), polimerdeki karbon-karbon bağlarının hidrolizle ayrıldığı benzersiz bir biyobozunur polimer sınıfı oluşturur. Poli (siyano akrilatlar) içindeki karbon-karbon bağlarının hidrolitik dengesizliği, metilen hidrojen atomlarının elektron çekici komşu gruplar tarafından yüksek indükleyici aktivasyonuna bağlanabilir. Bu polimerler, ilaç dağıtımı ve ilaç hedeflemesi için onları iyi aday yapan özellikler gösterir.

Sentetik poli (amino asitler), doğal olarak oluşan proteinlerle yapısal benzerlikleri nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalar için araştırılmıştır. Yüksek kristalinite, düşük bozunma hızı, elverişsiz mekanik özellikler ve immünojenisite biyomedikal uygulamalarını ciddi şekilde sınırlandırmıştır [85]. Polifosfazenler, sentetik esneklikleri ve uygulamalar için yüksek adaptasyonları nedeniyle çok yönlü bir inorganik polimer sınıfı oluşturur. Polimer omurgasının karbon, azot veya oksijen dışında atomlar içerdiği birçok inorganik polimer, benzersiz özellikleri nedeniyle biyomalzemeler olarak büyük önem taşımaktadır. Bunlar, her bir fosfor atomunun iki organik yan grup içerdiği, değişen fosfor ve azot atomlarının inorganik bir omurgasına sahip doğrusal, hidrolitik olarak stabil, yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerdir [85].

Polifosforesterler (PPE) omurgada tekrarlayan fosforester bağları olan bir polimer grubudur. Polimerler yarı kristalli amorfudur; yapısal olarak çok yönlü, biyoyumludur ve fizyolojik koşullar altında hidroliz ve enzimatik sindirim yoluyla biyolojik olarak parçalanabilir. PPE, insan vücudunda çok iyi bozulabilen nükleik asitlere benzerlikleri nedeniyle potansiyel biyoyumluluklarından dolayı biyomedikal uygulamalar için elverişlidir [163]. Aşağıda biyoçözünür olup biyomalzeme alanında çok fazla kullanılan polimerlerden bazıları ile ayrıntılı bilgi verilmiştir.

Polyglycolide (PGA): PGA en basit lineer alifatik polyesterdir. Bir çevirimsel lakton olan glikolidin halka açma polimerizasyonu ile hazırlanır. %45-55'lik bir kristallliği ile oldukça kristaldir ve bu nedenle çoğu organik çözücünde çözünmez. Yüksek bir erime noktasına (220-225°C) ve 35-40°C'lik bir cam geçiş sıcaklığına sahiptir. PGA mükemmel mekanik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, biyomedikal uygulamaları, düşük çözünürlüğü ve asidik ürünler veren yüksek bozunma oranı ile sınırlıdır. Sonuç olarak, tıbbi cihazlar için kaprolakton, laktit veya trimetilen karbonatlı glikolid kopolimerleri hazırlanmıştır [164].

Polilaktid (PLA): PLA genellikle D- veya L-laktik asidin polikondenzasyonundan veya laktik asidin çevirimse bir dimeri olan laktidin halka açma polimerizasyonundan elde edilir. İki optik form mevcuttur: D-laktit ve L-laktit. Doğal izomer L-laktittir ve sentetik karışım DL-laktittir. PLA, -CH₃ yan gruplarının varlığından dolayı hidrofobik bir polimerdir. Metil yan gruplarının sterik koruyucu etkisi nedeniyle hidrolize PGA'dan daha dirençlidir. Temsili ticari PLA için tipik cam geçiş sıcaklığı 63.8 °C'dir, kopma uzaması %30.7'dir ve gerilme mukavemeti 32.22 MPa'dır. PLA'nın fiziksel özelliklerinin ve biyolojik olarak parçalanabilirliğinin düzenlenmesi, bir hidroksi asit komonomer bileşeni kullanılarak veya D-

ve L- izomerlerinin rasemizasyonu ile sağlanabilir. L-laktitten yarı kristalli bir polimer (PLLA) (kristallik yaklaşık %37) elde edilirken poli(DL-laktit) (PDLLA) amorf bir polimerdir. Mekanik özellikleri, bozunma süreleri gibi farklıdır. PLLA, %85-%105 kopma uzaması ve 45-70MPa çekme mukavemeti olan sert, şeffaf bir polimerdir. 170-180 °C'lik bir erime noktasına ve 53 °C'lik bir cam geçiş sıcaklığına sahiptir. PDLLA'nın erime noktası yoktur ve çok daha düşük çekme mukavemeti gösterir. [165].

Poli(D,L-Laktid-ko-glikolid (PLGA): PLGA, özellikle nanofiber yapıları doku iskeleleri olarak sıklıkla kullanılmaktadır. PLGA kabul edilebilir mekanik mukavemeti olan, kolay polimer işlenebilirliğe ve kontrol edilebilir bozunma oranına sahip biyobozunur sentetik bir polimerdir. PLGA, poli laktik asit (PLA) ve poli glikolik asidin (PGA) bir kopolimeridir. Poli laktik asit, klasik stereokimyasal terimlerle tipik olarak D veya L formu olarak ve bazen de sırasıyla R ve S formu olarak tarif edilen bir asimetrik α -karbon içerir. PLA polimerinin enantiyomerik formları poli D-laktik asit (PDLA) ve poli L-laktik asittir (PLLA). PLGA genellikle D ve L- laktik asit formlarının eşit oranda olduğu poli D, L-laktik-ko-glikolik asit için bir kısaltmadır [166]. Tablo 2.3.'te bazı polimerik biyoçözünür malzemelere ait bilgiler verilmiştir.

Tablo 2.3: Bazı polimerik biyobozunur malzemelerin karşılaştırılması [167].

Polimer	Erime Sıcaklığı (°C)	Camsı Geçiş Sıcaklığı (°C)	Gerilme Modülü (GPa)	Bozunma süresi (ay)	Kullanılan Çözücü
Poli (laktik asit) (PLA)	173-178	60-65	1,5-2,7	>24	Kloroform Dioksan Diklorometan Etilasetat Aseton Tetrahidrofuran Hegzafluoro- isopropanol
Poliglikolid asit (PGA)	225-230	35-40	5-7	6-12	Hegzafluoro- isopropanol Aseton Diklorometan Kloroform
Poli (ϵ -kaprolakton) (PCL)	58-63	-60	0,4-0,6	>24	Kloroform Hegzafluoro- isopropanol Diklorometan Toluen
Poli-laktid-ko-glikolid (PLGA)	Amorf	50-55	1,4-2,8	1-2	Kloroform Diklorometan Etilasetat Aseton Tetrahidrofuran

2.6.1. PCL Polimeri ve Özellikleri

Polikaprolakton (PCL), maliyet etkinliği, yüksek tokluğu ve biyouyumluluğu nedeniyle bir ilaç dağıtım maddesi olarak başlıca uygulamaları olan yarı kristalli hidrofobik biyobozunur bir polyesterdir. Yaklaşık 60°C'de düşük bir erime noktasına ve yaklaşık -60 °C'de bir cam geçiş sıcaklığına sahip biyolojik olarak parçalanabilen bir polyesterdir . Polikaprolaktonun en yaygın kullanımı özel poliüretanların üretimindedir. Polikaprolaktonlar üretilen poliüretana suya, yağa ve kloro karşı iyi direnç sağlar. Kimyasal formülü $(C_6H_{10}O_2)_n$ 'dir.

Bir biyobozunur polimer olan PCL çeşitli benzersiz özelliklere sahiptir. Fizyolojik durumda diğer biyolojik olarak parçalanabilen polyesterlerden daha yavaş bozunur, bu özellik, belirli bir süre boyunca hedef dokularda ilaçların kontrollü salınımında kullanılabilir. Zayıf yüzey ıslatması ve hidrofobikliği nedeniyle biyolojik sıvılarla etkileşimi, zayıf hücre yapışmasına ve çoğalmasına neden olur, bu nedenle diğer sentetik- doğal polimerlerle karıştırılır.

Antibiyotik ilaç yüklü PCL polimer tüberküloz gibi solunum yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılabilir. Araştırmalar, insan kemik iliği mezenkimal hücrelerinin farklı kitosan ilaveli polikaprolakton (PCL) karışım oranları için fenotipik tepkilerine dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Olası osteo doku rejenerasyonu için PCL biyomedikal seramik malzemeler üzerinde çalışılmıştır. Diğer genel kullanımlar şunları içerir; ekstrüzyon yardımcısı, kalıp yağlayıcı, kalıp ayırıcı, pigment ve dolgu dispersiyon yardımcısı ve üretanlar ile blok polyesterlerdeki polyester segmentleri uygulamaları.

Bu tez çalışmasının amacı özgün bir nanofiber malzeme geliştirmek ve bu malzemenin başta yara giydirmeye olmak üzere potansiyel uygulamalara elverişliliğini ortaya koymaktır. Bu amaçla, Atropa Belladonna bitkisinin ekstraktı ile kaplanmış gümüş nanoparçacık içeren biyoçözünür polimer olan Polikaprolakton nanofiberlerinin elektrospon yöntemi ile üretilmesi ve sonrasında üretilen malzemenin morfolojik, kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerinin SEM, TEM, XRD, FTIR analizleri, çekme testleri, swelling ve biyoçözünürlük testleri, antibakteriyel testler ve insan HaCaT hücreleri kullanarak in vitro sitotoksikite testleri ile değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma geleneksel Polikaprolakton nanofiberleri ile özgün bir malzeme olarak yapısına Atropa Belladonna bitkisi eklenmiş gümüş nanopartikül içeren Polikaprolakton nanofiberlerinin yapısal ve biyolojik özelliklerini kıyaslayarak bilimsel farklılığını ortaya koymayı amaçlamaktadır.

3. YÖNTEM

Özgün bir biyomalzemenin üretilip bu malzemenin karakterizasyonunun yapılması amacıyla yapılan tüm deneysel çalışmalar ve analiz yöntemleri bu kısımda ayrıntılarıyla belirtilmiştir.

3.1. MALZEMELER

Bu tezde kullanılan malzemelerin bir kısmı yurt içerisinde bir kısmı da yurt dışından sağlanmıştır. Bu malzemeleri ekipmanlar ve kimyasallar olarak iki kısma ayırabiliriz.

3.1.1. Ekipmanlar

Standart laboratuvar ekipmanları olan beherler, tartma kapları, şırıngalar, filtre kağıtları, laboratuvar el aletleri, huniler vb. burada belirtilmemiştir.

3.1.1.1. Elektrosin Nanofiber Hazırlama

Nanofiber hazırlanması için; tartı (Desis 600, precision =0,01g), inkübatör (Nüve EN500), fırın (Nüve KD700), manyetik karıştırıcı (Thermomac TM19-D), ultrasonik karıştırıcı (Bandelin Sonopuls), pH metre (Hanna Edge), UV-visible (UV-görünür ışık) spektroskopisi (Hitachi U-3900) ve elektrosin cihazı (Eraktek inovasyon) kullanılmıştır.

3.1.1.2. Malzeme Analizi

Üretilen nanomalzemelerin karakterizasyon testlerini yapmak için SEM ve EDX analizlerinde taramalı elektron mikroskopu (Zeiss Evo LS10) ve TEM analizlerinde geçirimli elektron mikroskopu (Jeol Jem 2100) kullanılmıştır. Mekanik test analizlerinde çekme test cihazı (Shimadzu AG-X) kullanılmıştır. Şişme ve biyoçözünürlük testlerinde tartı olarak Desis 600 ve pH metre olarak Hanna Edge marka cihaz kullanılmıştır. FTIR analizlerinde FTIR spektrometresi (Thermo Scientific-Nicolet iS20) ve XRD analizlerinde X-ışınları difraktometresi (PANalytical Emprean) kullanılmıştır. Islanabilirlik (wettability) analizlerinde Dataphysics OCA 50Micro marka temas açısı ölçüm cihazı kullanılmıştır. Antibakteriyel testler için ise, UV sterilizatörü olarak Angel UV ve inkübatör olarak Nüve EN500 marka cihaz kullanılmıştır. MTT hücre testleri için JJ Care 8L marka UV sterilizatörü,

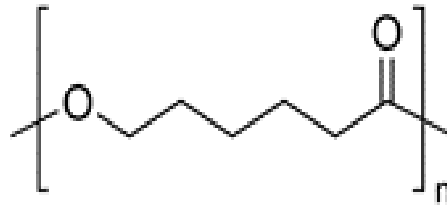
Nüve EN500 marka inkübatör ve santrifüj olarak NF 200 marka cihaz kullanılmıştır. Bunların yanı sıra yine MTT testleri için, MN 120 marka biyogüvenlik kabini, Spectrostar Nano marka absorbands mikroparka okuyucu, Bresser 3D Stereo marka ışık mikroskopu ve Boflat 96 marka 96'lık kuyu plakaları kullanılmıştır.

3.1.2. Kimyasallar ve Biyolojik Materyaller

Bu tezde kullanılan kimyasalların bir kısmı yurt içerisinde bir kısmı da yurt dışından sağlanmıştır. Fosfat tampon çözeltisi (Phosphate buffered saline, PBS, pH =7.2 civarı), Gündüz Kimya, İstanbul; Güzel avrat otu (*Atropa belladonna*), Apraş Arifoğlu A.Ş., İstanbul; Hidro klorik asit (HCl), 1 mol/litre, Merck Chem, Almanya; Sodyum hidroksit (NaOH), saflık >%97.0, Sigma-Aldrich, ABD; Koloroform (CHCl₃), saflık >%99.5, Sigma-Aldrich, ABD; Dimetilformamid (N,N-Dimethylformamide, DMF), saflık >%99.0, Sigma-Aldrich, ABD, MTT *formazarn* tuzu (C₁₈H₁₇N₅S), Sigma-Aldrich, ABD kullanılmıştır. Bakteri testlerinin yapıldığı ortam olarak Mueller-Hinton Agarları, Merck Chem, Almanya kullanılmıştır. Diğer kimyasallar ve biyolojik materyaller aşağıda verilmiştir.

3.1.2.1. PCL ve AgNO₃

Polycaprolactone (PCL), yarı kristal hidrofobik biyolojik olarak parçalanabilen bir polyesterdir. Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri'nden temin edilmiştir. Ortalama molekül ağırlığı Mn=80.000'dir. 25 °C'deki yoğunluğu =1.145 g/ml'dir. 6-Caprolactone polimer ile 2-Oxepanone homopolimerden meydana gelmiştir. Lineer formülü= (C₆H₁₀O₂)_n dir. Molekül yapısı şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: PCL molekül yapısı.

AgNO₃ tuzu granül yapı formunda Sigma-Aldrich ten alınmış olup yüksek saflıkta ve analitik derecededir. Saflığı %99.9 seviyesindedir. AgNO₃ e nitrik asit gümüş tuzu da denir. Molekül ağırlığı = 169.87 g/mol dur. Bu çalışmada 0.1M AgNO₃ çözeltisi hazırlandıktan sonra kabın etrafı alüminyum folyo ile kaplanarak karanlık bir ortamda güneş ışığından uzak bir şekilde muhafaza edilmiştir.

3.1.2.2. Biyolojik malzemeler

Antibakteriyel testler için gram-negatif *Escherichia coli* (*E.coli*), Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü, Konya ve gram-pozitif *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*), Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü, Konya'dan temin edilmiştir. MTT hücre testleri için HaCaT (insan keratinosit hücreleri), Hacettepe Üniversitesi, Ankara'dan temin edilmiştir.

3.2. ATROPA BELLADONNA EKSTRAKTI ÜRETİMİ

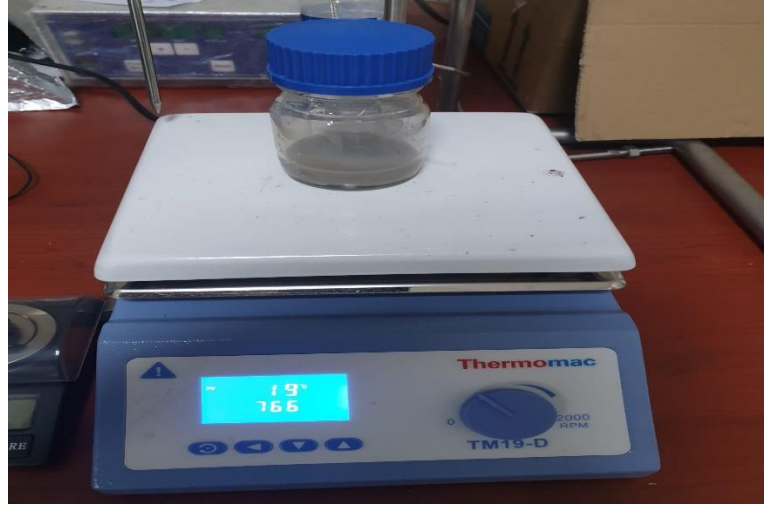
Önce kuru halde alınan atropa belladonna bitkisinden 10 g tartılıp 1000 ml saf suya atılarak karıştırıldı. Arkasından oda sıcaklığında 24 saat bekletildi. Bu süre zarfında atropa belladonna'nın büyük bir kısmı suda çözüldü. Son olarak bu karışım bir filtre kâğıdı kullanılarak süzüldü (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2: Atropa belladonna ekstraktının filtre kağıdı ile süzülmesi.

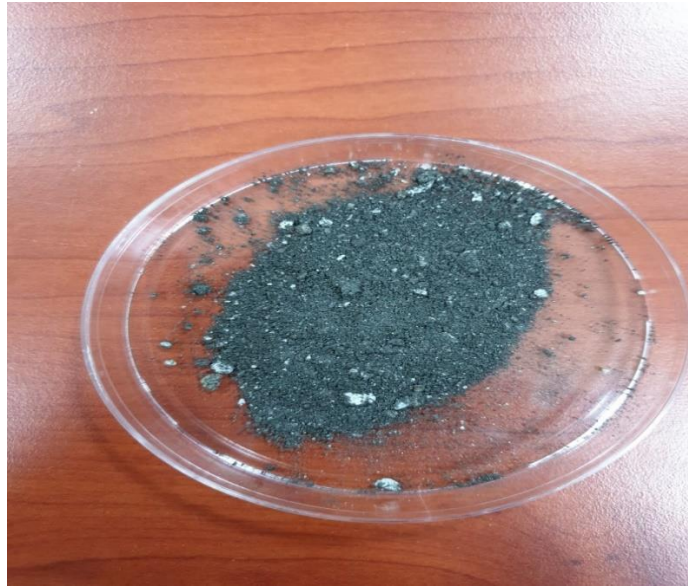
3.3. ENKAPSÜLE Ag NANOPARTİKÜL (eAgNP) ÜRETİMİ

Atropa belladonna molekülü ile enkapsüle olmuş yeşil sentezle Ag nano partikül üretmek için 8 ml saf suyun içerisine 1 ml atropa belladonna ekstraktı katıldı ve 2-3 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Bu karışıma daha önce hazırlanmış olan 0.1M AgNO_3 çözeltisinden 1 ml pipet yardımıyla damla damla katılarak 5-10 dakika oda sıcaklığında ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldı (Şekil 3.2.).



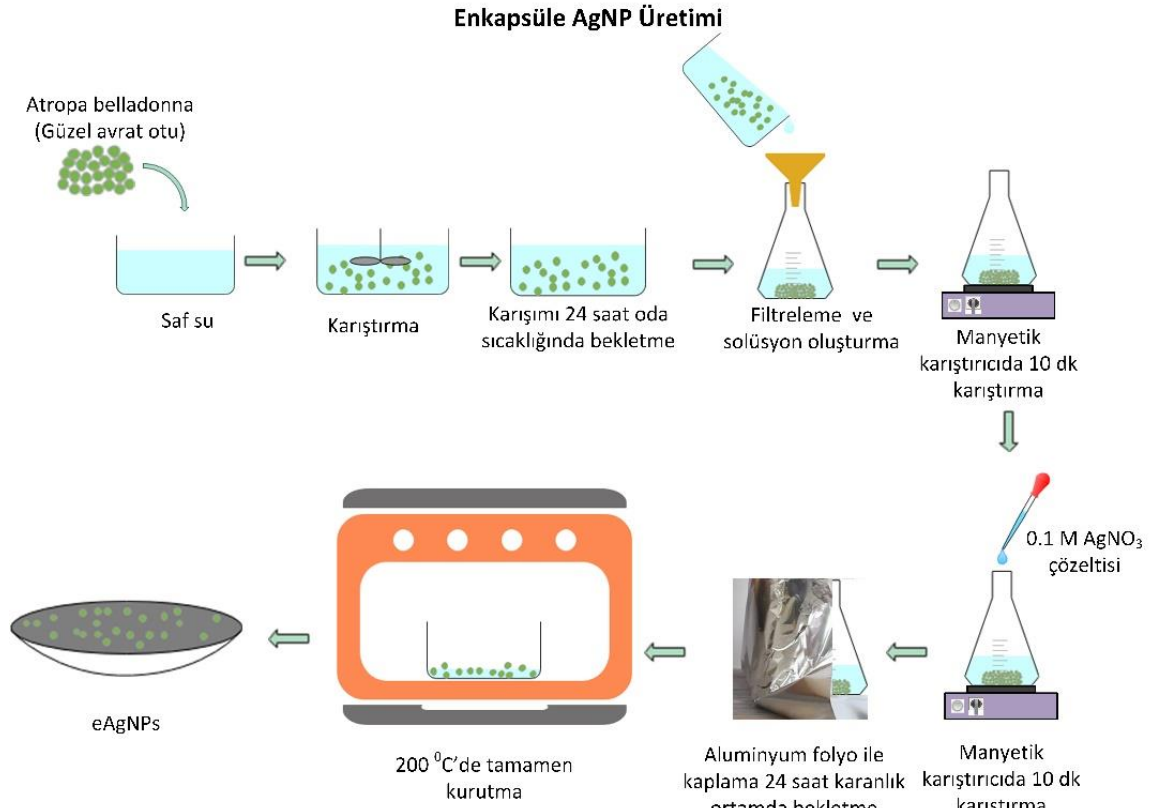
Şekil 3.3: Atropa belladonna ekstresi ve AgNO_3 çözeltisinin oda sıcaklığında karıştırılması.

Hazırlanan çözelti Alimünyum folyo ile sarılarak kimyasal reaksiyon tamamlanması için 24 saat karanlık bir ortamda ağzı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında bekletildi. Bu sırada AgNO_3 molekülleriyle atropa belladonna ekstraktının içerisinde bulunan atropin molekülleri ile sulu çözelti ortamında ve $20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de reaksiyon oluşturmaktadır. Bu sürenin sonunda çözeltinin rengi sarımsı yeşile döndü ve atropa belladonna molekülleri ile kapsüllenmiş AgNP'ler oluştu. Arkasından bu solüsyon büyük bir cam kaba döküldü ve bir fırında $200\text{ }^\circ\text{C}$ 'de buharlaştırıldı. Kabin dibinde kalan ve kuruyan tortu atropa belladonna molekülleri ile kaplanmış Ag nano partiküllerdir. Bu partiküller kazınarak cam kaptan saklama kabına alındı (Şekil 3.4).



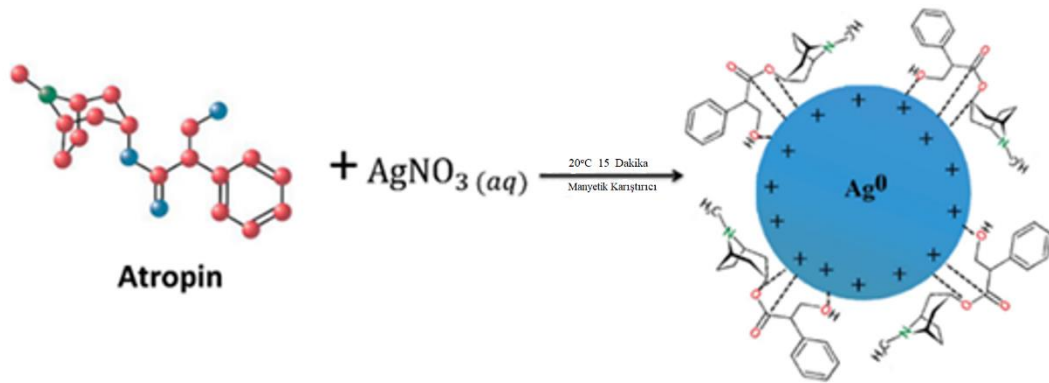
Şekil 3.4: Yeşil sentezle enkapsüle edilen nanopartiküller (irili-ufaklı kum ve toz halinde).

Üretilen nanopartiküller 15 dakika UV sterilizasyona tabi tutulduktan sonra, nemden korunarak saklanmıştır. Atropa belladonna bitkisinden ekstrakt üretimi ve enkapsüle olmuş Ag nanopartiküllerin yeşil metoduyla üretilmesinin şematik gösterimi şekil 3.5’de verilmiştir.



Şekil 3.5: Atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş Ag nanopartiküllerin yeşil sentezle üretiminin şematik gösterimi.

Atropin molekülleri ile AgNO_3 'ın sulu ortamında ve $20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleşen kimyasal reaksiyon denklemi Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6: AgNO_3 ile atropa belladonna ekstraktının atropin moleküllerinin kimyasal reaksiyonu ve eAgNP'lerin oluşumu.

3.4. ELEKTROSPİN PROSEDÜRÜ

Birbirleriyle mekanik, morfolojik, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla üç farklı türde elektrospin nanofiber üretildi. İlk olarak saf PCL nanofiber membran, ikincisi olarak saf Ag nanopartikül katkılı PCL nanofiber membran ve üçüncü olarak da atropa belladonna molekülüyle enkapsüle olmuş Ag nanopartikül katkılı PCL nanofiber membran üretildi. Enkapsüle AgNP'lerin de kendi içinde etkilerini görmek için PCL'ye %0.5 oranında, %1.0 oranında ve %1.5 oranında eAgNP katılarak nanofiberler üretilmiştir.

3.4.1. PCL Çözeltisi Hazırlama

Saf PCL nanofiber üretiminde elektrospin çözeltisi hazırlamak için kloroform ve dimetilformamit (DMF) çözücü olarak kullanıldı. Düzgün nanofiber üretimi yapabilmek için hem literatür bilgilerinden faydalanarak hem de çeşitli denemeler sonunda çözelti içerisinde %50 (h/h) oranında kloroform ve %50 (h/h) oranında DMF katıldı. Bir beherde hazırlanan bu karışıma %12 (w/h) oranında PCL katılarak Isotex marka manyetik karıştırıcıda 24 saat karıştırıldı. PCL çözelti içerisinde tamamen çözüldü ve elektrospinde nanofiber haline getirmeye hazır hale getirildi.

İkinci olarak, %1.0 oranında saf Ag nanopartikül içeren PCL çözeltisi hazırlamak için, kloroform ve DMF karışımı içerisinde nanopartiküller saf Ag nanopartikülleri (enkapsüle edilmemiş) katılmış ve ultrasonik karıştırıcıda 30 dakika süreyle nanopartiküller iyice dağılıncaya kadar karıştırıldı.

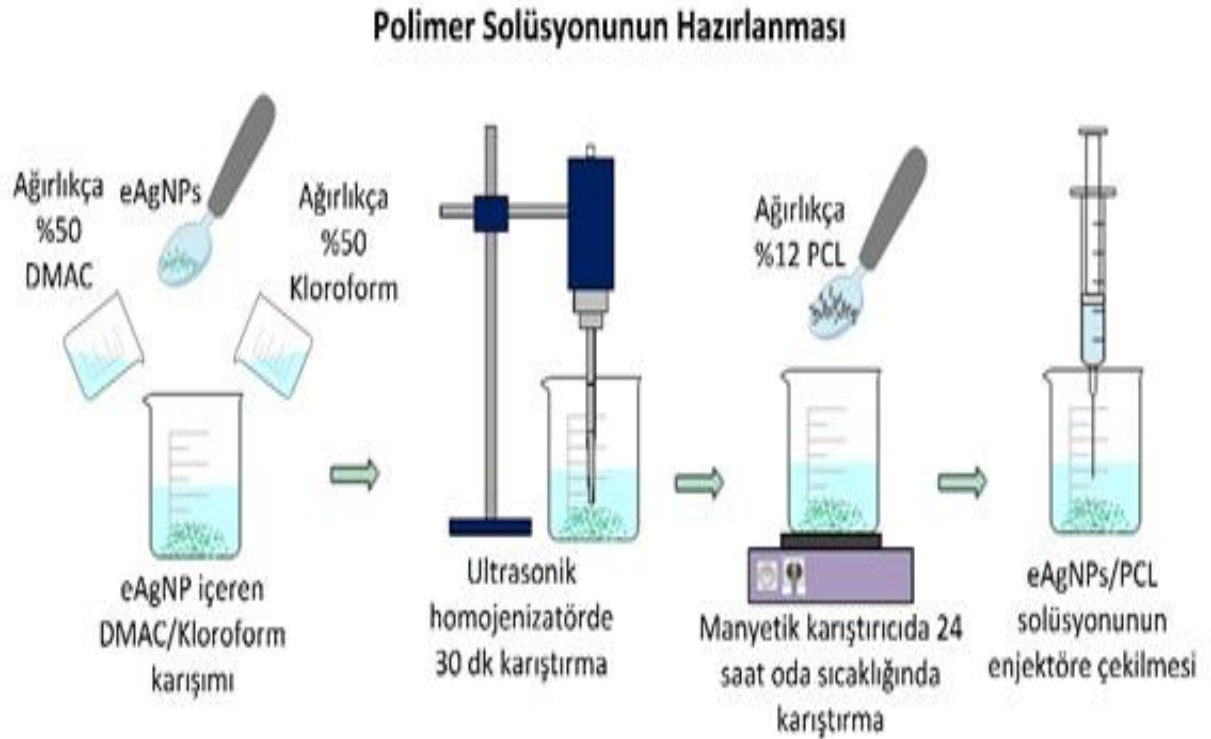
Arkasından karışıma PCL polimer granülleri katılarak önce manyetik karıştırıcıda 30 dakika sonra ultrason ile yaklaşık 10 dakika karıştırılarak Ag nanopartiküllerin PCL içerisinde homojen olarak dağıtılması sağlandı.

Üçüncü olarak, eAgNP içeren PCL solüsyonu hazırlamak için, kloroform ve DMF solüsyonunun içerisinde %0.5, %1.0 ve %1.5 oranlarında enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikülleri katılarak ultrason karıştırıcıda 30 dakika karıştırıldı. Bu karışımın üzerine %12 oranında PCL katılarak 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Son olarak saf gümüş içeren PCL solüsyon üretiminde olduğu gibi bu karışım da yaklaşık 10 dakika süre ile ultrason karıştırıcı ile karıştırıldı (Şekil3.7.).



Şekil 3.7: Gümüş nanoparçacıkların DMF ve kloroform içerisinde ultrasonik karıştırıcı ile dağıtılması.

Polimer solüsyonunun hazırlanmasında malzemelerin doğru miktarlarda olması en önemli parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. İçerisinde eAgNP bulunan PCL çözeltisinin hazırlanma prosedürü Şekil 3.8’de şematik halinde verilmiştir.



Şekil 3.8: Enkapsüle AgNP içeren PCL nanofiber çözeltisi hazırlamanın şeması.

Elektrospın çözeltilerinde dikkat edilmesi gereken önemli parametrelerden biri de çözeltinin yaşlanma etkisidir [168]. Elektrospın ile nanofiber üretimi için hazırlanan çözeltilerin 24 saatten fazla kullanılmadan bekletilmesiyle nanofiber üretiminin giderek zorlaşacağı ve nanofiber için daha yüksek voltajlı elektrik gerilimine ihtiyaç duyulacağı literatürde de ifade edilmiştir. Eğer çözeltinin bekletilme süresi uzarsa boncuk oluşumu ve kesikli veya süreksiz gibi sipinleme jeti oluşacaktır. Bu olumsuzlukları gidermek için çözeltilerin 24 saatten daha az süre bekletilmesine dikkat edilmiştir.

3.4.2. Elektrospın ile PCL Nanofiber Membranların Üretimi

Bu tez çalışmasında nanofiber üretimi için laboratuvar kullanımına uygun olan ve fotoğrafı Şekil 3.9’da verilen elektrospın cihazı kullanılmıştır. Cihaz bir kabin içerisinde yüksek güç kaynağı, pompa, spinleme platformu ile hızı ayarlanabilen ve dönen bir paslanmaz çelik silindirik bir toplayıcıdan meydana gelmiştir. Spinleme işlemi spinleme platformundan yukarıya doğru dönen silindir toplayıcı üzerine gerçekleştirilmiştir. Spinleme yapılacak çözelti şırınga pompasına bağlanmış çapı 15mm olan dört adet plastik şırıngadan silikon kauçuk hortumlar içerisinde geçirilerek platformda bulunan uçları kesilmiş iğnelere gönderildi.



Şekil 3.9: Nanofiberlerin üretildiği elektrospın cihazı.

Bu işlem detaylı olarak şu şekilde gerçekleştirildi. Önce polimer çözeltisi şırıngaya yüklendi ve daha sonra solüsyon iğne ucuna ulaşana kadar manuel olarak itildi. Daha sonra spinleme işlemi için şırınga pompası ayarına geçildi. Başlatılan spinleme işlemiyle toplayıcıda nanofiberler oluşturuldu. Elektrospin deneyleri oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Şırınga (enjektör) pompasından çözelti akış hızı ve 0-50 kV yüksek voltaj kapasiteli güç ünitesinden de spinleme voltajı ayarlandı. Üretilen tüm çözeltiler için uygun spinleme parametreler bulunana kadar ve literatür bilgileri de dikkate alınarak denemeler yapıldı. Yapılan denemelerin sonunda elde edilen nanofiber membranlarının SEM analizleri yapıldı ve en uygun nanofiber morfolojik yapısının elde edildiği parametreler belirlendi. Elde edilen en uygun parametreler Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: PCL temelli nanofiber üretimde kullanılan ideal elektrospin parametreleri

Spinleme Parametreleri	Saf PCL	AgNP + PCL	eAgNP +PCL
Voltaj (kV)	26	29	30
İğne ucu-toplayıcı arası(cm)	15	13	13
Çözelti akış hızı (ml/h)	0.5	0.5	0.4

Enjektör içerisindeki nanofiber solüsyon silindirik toplayıcının üzerine yerleştirilen alüminyum folyo üzerine spinlendi. Daha sonra bu nanofiber ağlar Alimünyum folyo üzerinden sıyrılarak alındı. Nanofiber ağların mekanik özelliklerinin ölçülebilmesi için belirli bir kalınlıkta olması gerektiğinden dört adet şırınga birden kullanıldı. Her bir şırıngaya 5ml çözelti doldurularak toplamda 20ml çözelti kullanıldı (Şekil 3.10). Böylece nanofiberler arzu edilen kalınlığa ulaşmış oldu.



Şekil 3.10: Elektrosin sırasında enjektör pompası, enjektör ve iğne uçlarının pozisyonu.

Üretilen nanofiber membranların boyutları silindirik toplatıcının yüzey alanı kadar olup 33 cm x16 cm gelmektedir. Üretim işleminin sonunda Alimünyum folyodan sıyrılarak alınan ve oda sıcaklığında bekletilen nanofiber membrandan birinin görüntüsü şekil 3.11’de verilmiştir.



Şekil 3.11: Elektrosinle üretilmiş, alimünyum folya üzerinde PCL nanofiber membranı.

Nanofiber çözelti silindirik toplatıcının üzerine yerleştirilen alüminyum folyo üzerine spinlendi (eğirildi). Daha sonra bu nanofiber ağlar alimünyum folyo üzerinden sıyrılarak alındı. Nanofiber ağların mekanik özelliklerinin ölçülebilmesi için belirli bir kalınlıkta olması gerektiğinden dört adet şırınga birden kullanıldı. Her bir şırıngaya 5 ml çözelti doldurularak toplamda 20ml çözelti spinlendi. Böylece nanofiberler arzu edilen kalınlığa ulaşmış oldu.

Üretilen nanofiber membranların boyutları silindirik toplatıcının yüzey alanı kadar olup 33cmx16cm gelmektedir. Üretim işleminin sonunda alimünyum folyodan sıyrılarak alınmış membranlar 24 saat boyunca 60°C’de kurutulmuştur.

3.5. AgNP’LERİN VE NANOFİBERLERİN KARAKTERİZASYONU

Bu çalışmada üretilen ve üretim aşamaları önceki bölümlerde ayrıntılarıyla belirtilen enkapsüle edilmiş veya saf haldeki gümüş nanoparçacıkların ve PCL tabanlı nanofiberlerin karakterizasyonu fiziksel, kimyasal ve biyolojik testlerle gerçekleştirilmiştir. Bu karakterizasyon analizlerinden ilki morfolojik analizler olup, bu analizler aşağıda ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

3.5.1. Morfolojik Analizler

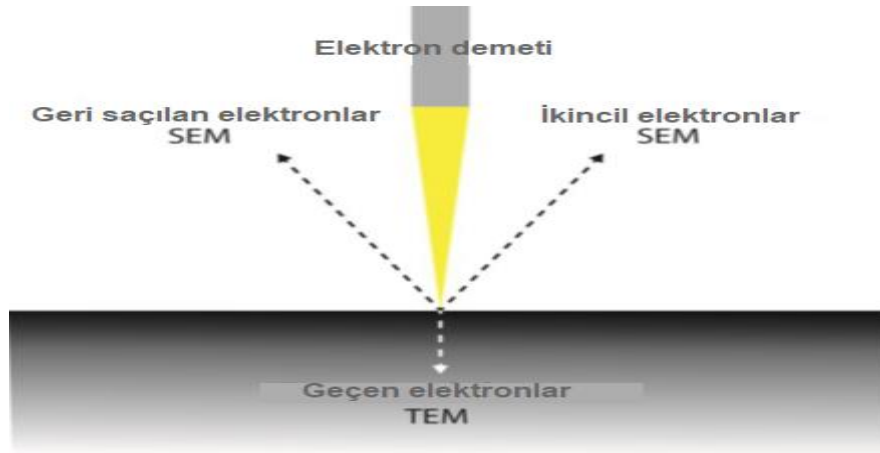
Hem nanopartiküllerin hem de nanofiberlerin üretimi sırasında, bazı parametrelerin belirlenmesinde örneğin; gümüş nanopartiküllerin üretimi sırasında ne kadar süre fırınlanacağı ya da atropa belladonna ile enkapsülasyonu için ne kadar süre manyetik karıştırıcıda karıştırılacağına ait parametrelerin belirlenmesinde nanopartiküllerin SEM ve TEM altındaki görüntülerinin incelenmesi önemli bir etken olmuştur. Benzer şekilde nanofiber üretimi için parametrelerin ne olması gerektiğinin anlaşılması ve ideal parametrelerin bulunmasında SEM ve TEM analizleri kullanılmıştır. SEM ve TEM mikroskopları gelişmiş elektron mikroskopları olup, çalışmada üretilen malzemelerin morfolojik karakterizasyonunun elde edilmesinde kullanılmıştır.

SEM ve TEM mikroskoplarının her ikisinde de, bir elektron tabancası numuneye elektronlar gönderir ve lensler, ışının numuneye odaklanmasını sağlar. TEM’de, ışını dedektöre toplamak için numuneden sonra başka bir lens sistemi yerleştirilir. Elektron tabancası ve lens sistemleri ile ilgili ayrıntılar burada tartışılmayacaktır; bunun yerine bu bölüm numune ve elektronlar arasındaki etkileşimlere odaklanacaktır.

Elektron mikroskobunun arkasındaki genel prensip Şekil 3.12’de gösterilmektedir. Birincil elektronlar numuneye girer ve saçılma olaylarında etkileşime girer ve aynı ve/veya farklı elektronlar bir görüntü oluşturmak için numuneyi terk eder. Numune ve birincil elektronlar elastik olarak etkileşirse, elektronun enerjisi algılanabilir şekilde değişmezken, esnek olmayan saçılmada elektronlar enerjinin bir kısmını etkileşen atoma aktaracaktır.

SEM'de elektron ışını bir numunenin yüzeyini tarar ve seçilen elektronların (ikincil veya geri saçılan elektronların) yoğunluğu izlenerek bir görüntü oluşturulur. İkincil elektronlar, birincil elektronlar numunedeki bir atom ile esnek olmayan bir şekilde etkileşime girdiğinde üretilir ve böylece bir elektron emisyonuna neden olurken, geri saçılan elektronlar, elastik saçılma olaylarından sonra numune tarafından yansıtılır. Her iki elektron türü de numunenin yüzeyinden kaynaklandığından, TEM'e kıyasla SEM'de derinlik alanı yüksektir, bu da SEM'i morfoloji çalışmaları için mükemmel kılar. Bu nedenle SEM, bu çalışmada üretilen elektrospin elyafların (elektrospinle üretilen naofiber ağlarının) morfolojisini incelemek için kullanılmıştır.

TEM'de ise elektron demeti ince bir numuneden geçtiği için elastik saçılma önemlidir. Elektron ışını numuneye çarptığında, elektronlar numune boyunca dağılır ve saçılan elektronların uzaysal dağılımı, elektron kırınım modeli, numunedeki atomların geniş oryantasyonu hakkında bilgi içerecektir. Kırınım deseninden TEM görüntüsü oluşturulabilir. Kontrast farklı açılardan elektronlar arasındaki girişim nedeniyle ortaya çıkar, ancak birçok numune için doğal kontrast zayıftır ve bu durumlarda numune negatif boyamadan yararlanabilir. Negatif boyamada, numuneyi saracak ve böylece elektron ışınının sapmasını artıracak bir boyama ajanı (bu bileşikler elektronlarla kolayca etkileşime girdiğinden genellikle bir ağır metal tuzu) eklenir. Elektronların yüksek enerjisi (40-120 kV), TEM mikroskoplarına yüksek çözünürlük verir (bazı TEM aletleri için 50pm'nin altında çözünürlük elde edilebilir [169] ve bu nedenle TEM çok küçük nesneleri incelemek için kullanılabilir. Bu çalışmada da TEM mikroskopunda elektronların metal olan ve metal olmayan malzemenin içinden geçmesi özelliğinin farklı olmasından yararlanarak enkapsüle edilmiş gümüş nanoparçacıkların morfolojik analizlerinde önemli veriler elde edilmiştir. Şekil 3.12'de elektron mikroskopları şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.12: Elektron mikroskopunun (SEM ve TEM) şematik gösterimi.

Nanofiberlerin lif çapları, yapısal morfolojisi ve fiberlerin yüzeylerinin şekli Zeiss Evo LS10 Marka Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenerek incelenmiştir. Üretilen her bir çeşit nanofiber membranlardan yaklaşık 1cmx1 cm kesilerek numuneler hazırlandı. Öncelikle bu numunelerden sağlıklı görüntülerin alınabilmesi için vakumlu püskürtmeli kaplayıcı ile 40 saniye boyunca yaklaşık 10 nm olacak şekilde üzerleri altın ve paladyum kaplanarak iletkenlik kazandırıldı. Daha sonra bu numuneler karbon iletken çift yüzü bant ile numune tutucuya yatay olarak sabitlendi ve ardından numune haznesine yerleştirildi. Nanofiberlerin boyut dağılımı hakkında genel bir anlayış elde etmek için nanofiberlerin görüntüleri 20.000x büyütmede alındı. SEM den alınan görüntülerin üzerinden yaklaşık 50 civarında lifin çapları ölçülerek yaklaşık ortalama lif çapı tespit edildi.

PCL nanofiberlerin içerisine gömülen AgNP'lerin varlığını ve liflerin içerisindeki dağılımını görmek için Jeol Jem 2100 Marka TEM kullanılarak görüntüleri alınmıştır. Nanofiberlerin TEM numuneleri için bakır gridler kullanılmıştır. Bir bakır grid'in yüzeyi nanofiber membrana sürülerek membrandan birkaç lifin gride yapışması sağlandıktan sonra TEM cihazına yerleştirilerek görüntü alımına geçilmiştir. Daha sonra bu liflerin yüzeyinde veya içerisinde dağılmış olan AgNP'ler incelenmiştir.

3.5.2. FTIR Spektrometre Analizi

Üretilen katkısız PCL nanofiberlerin, saf AgNP katılmış PCL nanofiberlerin ve enkapsüle edilmiş AgNP katılmış PCL nanofiberlerin kimyasal analizleri için FTIR spektroskopik analizi kullanılmıştır. FTIR spektroskopisi ile malzemenin kimyasal radikal gruplarının tespiti ve nanofiber yapısına entegre olmuş katkılar hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır. Numunelerin spektrasının absorpsiyon modları 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında hesaplanmıştır. Bu amaçla Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Konya'da bulunan Thermo Scientific-Nicolet iS20 Marka FTIR spektroskopisi cihazı kullanılmıştır.

FTIR spektrometresi temel olarak ışık kaynağı (infrared), interferometre ve detektörden oluşmaktadır. İlk Kızılötesi spektrumlar, kızılötesi spektral bölgeyi taramak için ızgaralar, spektral çizgileri izole etmek için yarıklar ve kızılötesi ışığın tespiti için termopiller kullanılarak üretildi. Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektrometreleri ızgaraları kullanmaz, bunun yerine zaman alanında, hareketli bir aynanın konumunu ve yapıcı ve yıkıcı girişim oluşumunu takiben spektrumlar üretilir. Bir Hızlı Fourier Dönüşümü (FFT), sinyali zamandan frekans alanına dönüştürür.

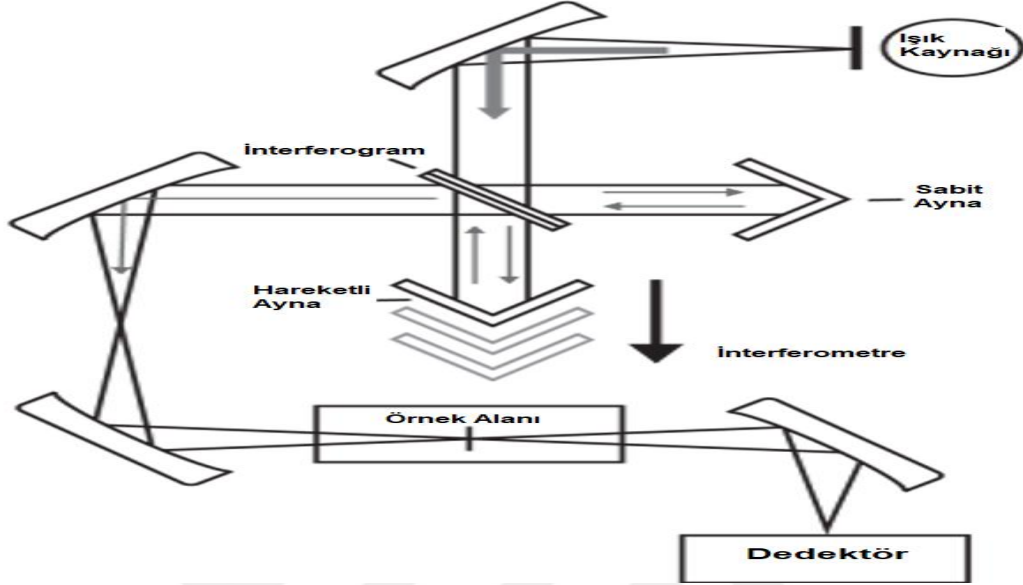
FFT hesaplamasının hesaplanması zaman aldığından, ticari FTIR spektroskopisinin gelişimi, artan güç ve bilgisayarların minyatürleştirilmesi eğilimini yakından takip etti. 1980'lerde, daha çok tercih edilen interferometre tipi spektrometreler için ızgara tabanlı aletler aşamalı olarak kaldırıldı. FTIR'ın ızgara tabanlı ölçümlere göre avantajları vardır.

FTIR spektroskopisi, IR ışığının moleküllerdeki belirli bir titreşim enerjisine karşılık gelen dipol momentlerini nasıl değiştirdiğinden yararlanır. Titreşim enerjisi iki değişkene karşılık gelir; azaltılmış kütle (μ) ve bağ yayı sabiti (k). k sabiti için seri boyunca 800 cm^{-1} 'lik bir artış gösteren C-C, C=C ve C $\equiv$ C' bağları örnek verilebilir.

Bir C-C bağındaki atomların nitrojen ve oksijen ile yer değiştirmesi 100 cm^{-1} 'lik bir kaymaya neden olur. İki seriye bakıldığında, bağ kuvvetinin dalga sayılarını kütleden daha fazla değiştirdiği görülebilir. Her fonksiyonel grup farklı atomlardan ve bağ kuvvetlerinden oluştuğundan, titreşimler fonksiyonel gruplara ve fonksiyonel grup sınıflarına özgüdür. Örneğin, O-H ve C-H gerilmeleri sırasıyla 3200 cm^{-1} ve 2900 cm^{-1} civarında görünür. Çeşitli fonksiyonel grup titreşimleri ile bir korelasyon şeması görülebilir. Bir molekülün tüm fonksiyonel grupları için titreşim enerji bantlarının toplanması her moleküle özgü olduğundan, bu tepe noktaları kapsamlı örnek veri tabanlarının kütüphane aramalarını kullanarak tanımlama için kullanılabilir.

Kaynak tipik olarak bir orta-IR seramik kaynağı ($50\text{--}7800\text{ cm}^{-1}$), bir yakın-IR halojen lamba ($2200\text{--}25.000\text{ cm}^{-1}$) veya bir uzak-IR cıva lambası ($10\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) gibi bir geniş bant yayıcıdır. Girişim ölçer FTIR'ın kalbidir ve bir hüzmeye ayırıcı, sabit bir ayna, hareketli bir ayna ve bir zamanlama lazerinden oluşur. Işın ayırıcı, bir kaynaktan gelen ışığı, ışığın yarısı sabit bir aynaya, diğer yarısı ise hareketli bir aynaya gidecek şekilde iki yola böler. Birçok FTIR sisteminde, ışın ayırıcı gelen ışına 45 derecelik bir açıyla yerleştirilir, ancak yüksek verimli uygulamalar için, P ve S polarizasyonları birbirine yaklaştığı için düşük açılı bir interferometre (JASCO tarafından kullanılan 28 derecelik tasarım gibi) tercih edilir. Buna Brewster'ın Açısı denir. Yaygın ışın ayırıcı malzemeler, orta IR için KBr ($375\text{--}12.000\text{ cm}^{-1}$), yakın IR için Quartz ($4.000\text{--}25.000\text{ cm}^{-1}$) ve uzak IR için Mylar'dır ($30\text{--}680\text{ cm}^{-1}$). Hareketli ve sabit aynalardan gelen ışınlar, ışın ayırıcıda yeniden birleştirilir ve numuneye doğru yönlendirilir. Aynaların yollarındaki farklılık, hareketli aynanın geçiş yapması için geçen süre boyunca yapıcı ve yıkıcı girişime neden olur. Sinyale karşı ayna konumuna (ve dolayısıyla zamana) interferogram denir. Lazerin kesin olarak bilinen dalga boyunu kullanarak hareketli aynanın konumunu belirlemek için bir lazer kullanılır. HeNe lazerleri, katı hal veya diyot

lazerlere kıyasla mükemmel dalga boyu kararlılığı nedeniyle endüstri standardıdır. Bu lazer kararlılığı, spektral eklemelere ve yüksek dalga sayısı doğruluğuna ihtiyaç duyan diğer işlevlere izin verir [169]. Şekil 3.13’de bir FTIR spektrometresinin temel yapısı gösterilmektedir.

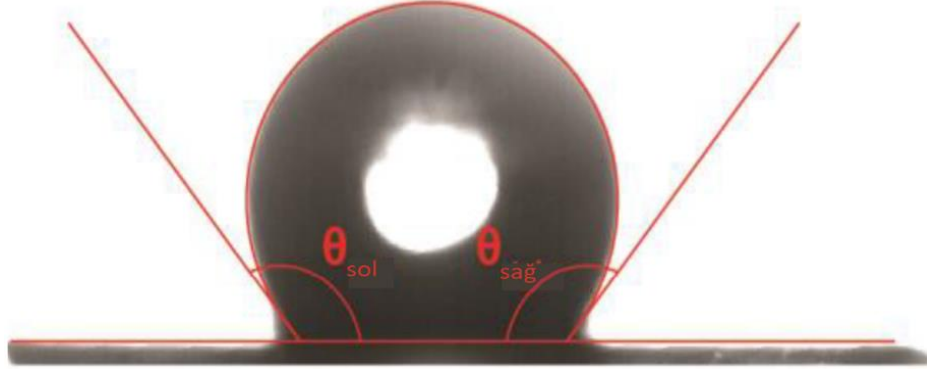


Şekil 3.13: Bir FTIR spektrometresinin kısımları; ışık kaynağı, interferometre ve dedektörün şematik görüntüsü [169].

3.5.3. Temas Açısı Ölçümleri

Enkapsüle AgNP’lerin de bulunduğu PCL nanofiber kompozitler ile su arasındaki etkileşimler, temas açısı ölçümleri kullanılarak araştırıldı. Elektrospın lifler tarafından bir sıvının emilmesine de ıslatma denir ve temas açısı bu işlem için nicel bir ölçü olarak kullanıldı. Temas açısı ayrıca katı/sıvı etkileşimlerinin gücü hakkında bilgi sağlar; küçük bir temas açısı, su ile hidrofilik bir yüzey arasındaki temas açısıyla örneklenen güçlü etkileşimleri gösterir. Temas açısındaki bir değişiklik, bu nedenle, katı ve sıvı arasındaki etkileşimlerde bir değişiklik olarak kabul edilebilir.

Nanofiber sistemlerinin temas açısını belirlemek için, fiber yüzeyinde tek bir tampon damlasının biriktirildiği ve ardından yüksek hızlı bir kameranın sıvının emilimini izlediği statik bir mod kullanıldı. Temas açısı, elde edilen görüntülerden çıkarıldı ve temas açılarını belirlemek için Young/Laplace yerleştirme prosedürü kullanıldı [170]. Sol ve sağ temas açısı arasındaki ortalama değer kullanıldı.



Şekil 3.14: Temas açısı deneyinde yüksek hızlı kamerayla kaydedilen görüntü örneği. Görüntü fiber yüzeyinde bir damla tamponu gösterir ve temas açısı kırmızı renkle gösterilmiştir [170].

Nanofiberler tarafından bir sıvının emilmesine ıslatma denir ve temas açısı bu işlem için nicel bir ölçü olarak kullanılabilir. Temas açısı katı-sıvı etkileşimlerinin gücü hakkında bilgi sağlar. Küçük bir temas açısı, su ile hidrofilik veya hidrofobik bir yüzey arasındaki temas açısıyla örneklenen güçlü etkileşimleri gösterir. Temas açısının değeri katı ve sıvı arasındaki etkileşimlerde bir değişiklik olarak kabul edilebilir. Bir cins nanofiber membranın temas açısındaki değişiklik o nanofiber membran ile yüzey aktif maddeler arasındaki etkileşimin bir göstergesidir.

Burada PCL nanofiberlerin temas açısının değişmesini etkileyen faktör saf ve enkapsüle AgNP'lerin PCL nanofiberlere eklenmesindendir. Her bir nanofiber gruplarının ıslanabilirliği temas açısı ölçümleriyle belirlendi.

Su temas açısı, “sesil damla yöntemi” ile Biolin Scientific Attension-Theta Lite marka tensiyometre kullanılarak testler gerçekleştirildi. 30mmx30 mm boyutundaki her bir lif numunenin yüzeyine 5 mikrolitrelik damıtılmış su damlacıkları bırakılmıştır. Temas açıları, damlaların video kaydına alınmış görüntülerinden belirlendi. Her numune için beş farklı yerden ortalama ölçüm alındı.

3.5.4. X-Işını Difraktometre (XRD) Analizi

Üretilen nanofiber numunelerin kristal yapısının incelenmesi için XRD spektrometresi kullanılmıştır. X-ışını toz kırınımı (XRD), öncelikle kristalli bir malzemenin faz tanımlaması için kullanılan hızlı bir analitik tekniktir ve birim hücre boyutları hakkında bilgi sağlayabilir. Analiz edilen malzeme ince öğütülür, homojenleştirilir ve ortalama yığın bileşimi belirlenir.

X-ışınları, bir katot ışın tüpü tarafından üretilir, monokromatik radyasyon üretmek için filtrelendir, konsantre hale getirilmek üzere toplanır ve numuneye doğru yönlendirilir. Koşullar

Bragg Yasasını ($n\lambda=2d \sin\theta$) karşıladığı zaman, gelen ışınların numune ile etkileşimi yapıcı girişim (ve kırınımlı bir ışın) üretir. Bu yasa, elektromanyetik radyasyonun dalga boyunu, kristal bir numunedeki kırınım açısı ve kafes aralığı ile ilişkilendirir. Bu kırınımına uğramış X-ışınları daha sonra saptanır, işlenir ve sayılır. Numuneyi 2θ açısı aralığında tarayarak, toz haline getirilmiş malzemenin rastgele yönelimi nedeniyle kafesin tüm olası kırınım yönleri elde edilmelidir. Kırınım tepe noktalarının d-aralıklarına dönüştürülmesi, mineralin tanımlanmasına izin verir çünkü her mineralin bir dizi benzersiz d-aralığı vardır. Tipik olarak bu, d-aralıklarının standart referans desenleriyle karşılaştırılmasıyla elde edilir.

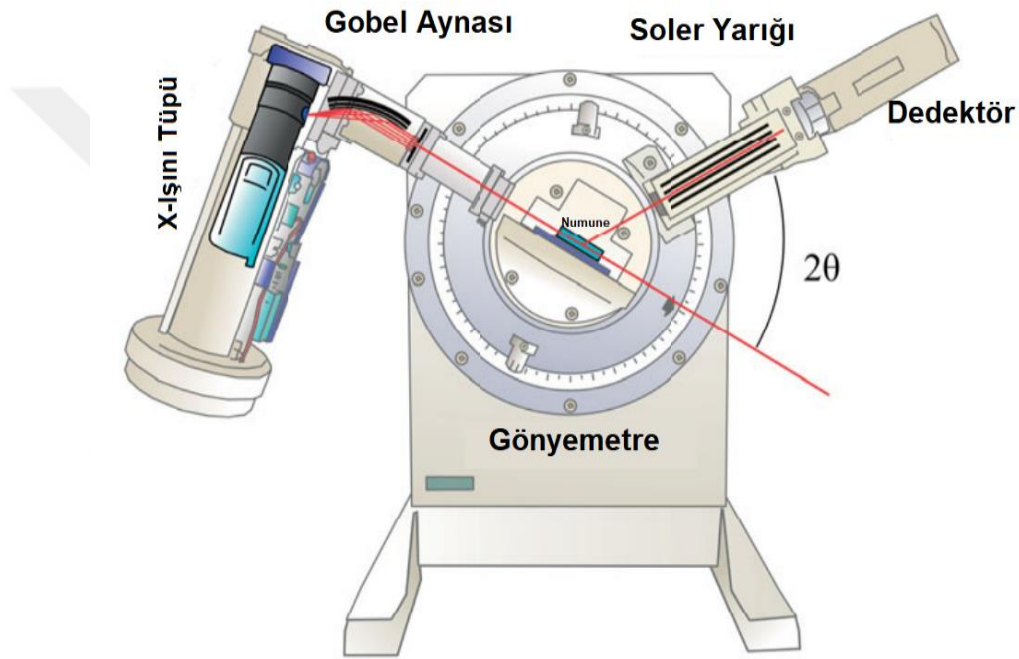
X-ışını difraktometreleri üç temel unsurdan oluşur: bir X-ışını tüpü, bir numune tutucu ve bir X-ışını dedektörü. X-ışınları, elektron üretmek için bir filamanı ısıtarak, bir voltaj uygulayarak elektronları bir hedefe doğru hızlandırarak ve hedef malzemeyi elektronlarla bombardıman ederek bir katot ışın tüpünde üretilir. Elektronlar, hedef malzemenin iç kabuk elektronlarını yerinden çıkarmak için yeterli enerjiye sahip olduğunda, karakteristik X-ışını spektrumları üretilir. Bu spektrumlar, en yaygın olanları $K\alpha$ ve $K\beta$ olmak üzere birkaç bileşenden oluşur. $K\alpha$, kısmen $K\alpha_1$ ve $K\alpha_2$ 'den oluşur. $K\alpha_1$, biraz daha kısa dalga boyuna ve $K\alpha_2$ 'nin iki katı yoğunluğa sahiptir. Spesifik dalga boyları, hedef malzemenin (Cu, Fe, Mo, Cr) karakteristiğidir. Kırınım için gerekli olan monokromatik X-ışınlarını üretmek için folyolar veya kristal monokrom cihazlarıyla filtreleme gereklidir. $K\alpha_1$ ve $K\alpha_2$ dalga boyları bakımından ikisinin ağırlıklı ortalaması kullanılacak şekilde yeterince yakındır.

Bakır (Cu) $K\alpha$ radyasyonu = 1.5418 Å ile tek kristal kırınım için en yaygın hedef malzemedir. Bu X-ışınları birleştirilir ve numuneye yönlendirilir. Numune ve dedektör döndürüldükçe yansıyan X-ışınlarının yoğunluğu kaydedilir. Numuneye çarpan X-ışınlarının geometrisi Bragg Denklemi sağladığında, yapıcı girişim meydana gelir ve yoğunlukta bir tepe noktası meydana gelir. Bir dedektör, bu X-ışını sinyalini kaydeder ve işler ve sinyali, daha sonra yazıcı veya bilgisayar monitörü gibi bir cihaza çıkış olarak verilen bir sayım hızına dönüştürür [171].

Bir X-ışını difraktometresinin geometrisi, numunenin paralelleştirilmiş X-ışını ışını yolunda θ açısıyla dönmesini sağlarken, X-ışını dedektörü, kırılan X-ışınlarını toplamak için bir kol üzerine monte edilir ve belirli bir hızda (2θ açısı) döner. Açığı korumak ve numuneyi döndürmek için kullanılan alete gönyometre denir. Tipik toz desenleri için veriler, X-ışını taramasında önceden ayarlanmış açılar olan $\sim 5^\circ$ ila 70° arasında 2θ 'de toplanır. X-ışını toz kırınımı en yaygın olarak bilinmeyen kristal malzemelerin (örneğin mineraller, inorganik

bileşikler) tanımlanması için kullanılır. Bilinmeyen katıların belirlenmesi jeoloji, çevre bilimi, malzeme bilimi, mühendislik ve biyoloji alanındaki çalışmalar için kritik öneme sahiptir [171].

Nanoliflerin oryantasyonunu ve kristal yapılarını değerlendirmek için PANalytical Emprean Marka X-ışını difraktometre (XRD) kullanıldı. XRD pikleri 40 kV ve 20 mA'de, Cu-Ka radyasyonu altında 2θ ölçüm değeri içerisinde 5-90 derece aralığında dakikada 2 derecelik bir adım hızında gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.15'de XRD çalışma prensibi kısaca şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.15: XRD spektrometresi temel parçaları ve çalışma prensibi [172].

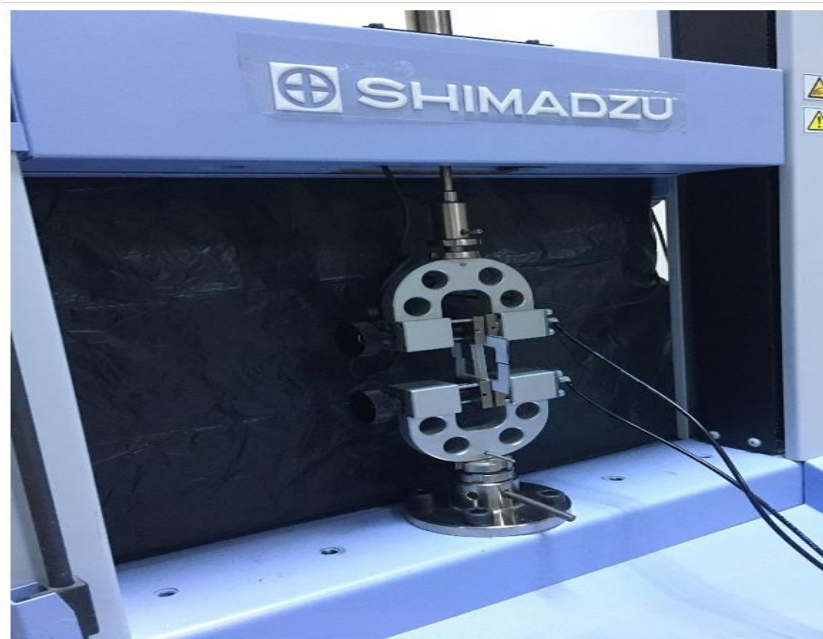
3.5.5. UV-Görünür Işık Analizi

Yeşil sentezlenmiş gümüş nanoparçacıkları karakterize etmek için çeşitli enstrümantal ileri teknikler kullanılmıştır. Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Laboratuvarında bulunan Hitachi U-3900 Marka-Model UV-vis spektrofotometre kullanılarak çeşitli reaksiyon parametrelerini optimize etmek için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu doğrultuda 1ml atropa belladonna ekstraktı, 1 ml 0.1 M AgNO_3 çözeltisi ve 8 ml saf su kullanılarak en uygun formül geliştirilmiştir. Bu formül minimum seviyede Ag nanopartikül üretimi için gerekli formüldür. Bu oranı sabit tutularak çok miktarda Ag nanopartikül üretmek mümkündür.

3.5.6. Çekme Testleri

Saf PCL nanofiberler membran, saf AgNP ve eAgNP ile modifiye edilmiş PCL nanofiber membranların mekanik özellikleri tek eksenli çekme testleriyle ASTM D638-14 standardına uygun olarak çekme test cihazında gerçekleştirildi. Çekme testleri oda sıcaklığında, 50 N luk load cell altında 50 mm/dak çekme hızında yapıldı. Test numunelerin “gage” uzunluğu 50 mm, genişliği 10 mm alınırken kalınlığı ise 0.1 mm ile 0.15mm arasında değişmektedir. Numune kalınlığı mikrometre ile iki cam lam-lamel arasına alınarak ölçülmüştür. Her numuneden üçer adet test yapılarak ortalamaları alınmıştır.

Test numuneleri daha rahat bir kullanım için önce karton çerçevelere monte edildi. Daha sonra çerçeveler, mekanik yükleme için 50 mm'lik bir ölçü uzunluğu bırakarak, test cihazının iki çenesi arasına dikey olarak bağlandı. Çekme testine başlamadan önce karton çerçevenin yan duvarları makasla kesilerek uygulanan kuvvetin sadece numuneye gelmesi sağlandı. Test sonuçlarının ortalama değerleri, maksimum çekme dayanımları, maksimum uzama miktarları ve gerilme-şekil değiştirme eğrileri test cihazına eklenen Trapezium yazılımı kullanılarak rapor edildi. Gerilme-şekil değiştirme eğrilerinin başlangıç lineer kısmının eğiminden elastiklik modülleri (elastic modulus) hesaplandı. Şekil 3.16'da test numunelerinin çekme cihazının çeneleri arasında uzamasının görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.16: Çekme test cihazının çeneleri arasına bağlanan test numunesi.

3.5.7. Antibakteri Testi

PCL nanoliflerinin her bir grubunun antibakteriyel aktiviteleri, inhibisyon diseksiyonuna göre gram-negatif *E.coli* ve gram-pozitif *S.aureus*'a karşı testleri yapıldı. Hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakteriyel süspansiyonları, 0.03 M fosfat tamponu içinde 1x ila 108 koloni oluşturan birim (cfu)/ml'e seyreltildi. Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri hazırlanarak bakteri ekimine geçildi. 100 µl'lik bakteri süspansiyonu tamamen agar plakalarına dağıldı. Antibakteriyel aktiviteyi ölçmek için, katkısız PCL, %1 AgNP eklenmiş PCL ve %1 eAgNP (enkapsüle edilmiş AgNP) eklenmiş PCL nanofiberleri test edilmiştir. Her nanofiber membran antibakteriyel test için 11 mm çapında dairesel şekilde kesildi. Numuneler, kontaminasyonları uzaklaştırmak ve üzerlerinde oluşmuş olabilen bakterileri yok etmek için UV lambasının altında 30 dakika süreyle bekletildi. Her bir nanofiber membran numunesi, önceden *S.aureus* ve *E.coli* ekilmiş agar tabakasına (Şekil 3.17) yakın bir şekilde plaka merkezine yerleştirildi. Örnekler 24 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edildi. 24 saatlik sürenin sonunda dairesel numunelerin etrafındaki inhibisyon zonu görsel olarak incelenmiş ve etki çapları ölçülmüştür.



Şekil 3.17: Mueller Hinton Agar üzerine bakteri kültürü ekimi.

3.5.8. İn Vitro Sitotoksisite Analizi

Üretilen biyomalzemenin biyouyumlulu olması ve canlılarda iyileştirmeye yardımcı olması önemlidir. Bu doğrultuda ISO 10993-5 standardına göre MTT canlılık testleri yapılmıştır. MTT sitotoksosite testi ile nanofiberlerin in vitro ortamda hücre tepkisinin ölçülmesi ve toksisite miktarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Numunelerin hücre canlılığını ölçmek için 6 tipte nanofiber örnekleri (katkısız PCL, wt%1 saf AgNP katılmış PCL, wt%0,5 enkapsüle AgNP (eAgNP) katılmış PCL, wt%1 eAgNP katılmış PCL, wt%1,5 eAgNP katılmış PCL nanofiberleri ile atropa belladonna ekstraktı ile yüzeyi spreylene PCL nanofiberleri) 1x1cm boyutlarında hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler HaCaT (insan epidermal keratinosit) hücre hattı ile test edilmiştir. HaCaT hücreleri bilhassa yara giydirmeye uygulamalarında gerçek doku hücrelerinin enflamasyon ve yaralanma sonrası iyileşme tepkilerini gösterdiği için bu çalışmada tercih edilmiştir.

MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolyum bromür) tahlili, canlı hücreler tarafından mitokondri aktiviteleri ile MTT tuzunun formazan kristallerine dönüştürülmesi özelliğine dayanır. Bu nedenle MTT testi hücrelerin metabolik aktivitesini değerlendirmek için kullanılan bir kolorimetrik analizdir [173]. Hücre oksidoredüktaz enzimleri, NAD(P)H'a bağımlı olup test koşulları altında canlı hücrelerin miktarını gösterebilir. Bu enzimler sayesinde kimyasal olarak 3(3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolyum bromür olan tetrazolyum boyası MTT'yi, mor renkli çözünmeyen formazan kristaline indirgeme yeteneğine sahiptir. Birçok hücre kültürü için toplam mitokondriyal aktivite, canlı hücrelerin sayısı ile ilgili olduğundan, bu tahlil, malzemelerin hücre üzerindeki in vitro sitotoksik etkilerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [174].

Bu test için genellikle 96'lık kuyu plakaları kullanılır ve test edilecek malzemeler belli bir tekrar sayısı ile (güvenilirliği artırmak için) kuyular çözeltiler halinde yerleştirilir. Genel kullanımda numune solüsyonları belli bir seyreltilme miktarı ile kuyulara sırayla eklenir. Bunun nedeni numune konsantrasyonu ile hücre canlılığı arasında doğrudan bir korelasyon oluşturmak ve numunenin hücre toksisitesi hakkında kuvvetli bir veri elde etmeyi sağlamaktır.

Genel olarak sarımsı bir renge sahip olan MTT tuzu canlı hücrelerin mitokondriyal enzim aktiviteleri ile mor renkli bir kristal yapıya dönüşür. Bu renk değişimi doğrudan gözle görülebilecek ya da bir absorban spektrometresi ile rakamsal bir değer atanacak durumdadır. Numunelerin, hücre solüsyonunun ve büyüme ortamının konulduğu kuyu plakaları, hücrelerin numuneye tepkisinin ölçülmesi için belli bir süre inkübe edilir. Inkübasyon sonrasında plaka üzerindeki kuyulara MTT tuzu eklenir ve MTT indirgenmesi için yeterli süre bekletilir. Bu süre

genel olarak hücre ve malzeme miktarına bağlı olsa da, inkübasyon süresi sıklıkla 4-8 saat aralığında belirlenir. Sonrasında kuyu plakalarındaki formazan kristali indirgenme miktarı malzemenin renk değiştirme skalasına göre hesaplanır. Bu amaçla kuyu plakaları bir mikro plaka absorbands okuyucu içerisine yerleştirilir ve numunelerin absorbands spektrometrik değerleri ölçülür. Bu değerler doğrudan hücre canlılık miktarını vermektedir [174]. Genel olarak pozitif kontrol olarak MTT konulduktan sonra ortam solüsyonu olarak kullanılan malzeme (DMSO gibi) ve negatif kontrol olarak hücre büyüme ortamı (DMEM gibi) kullanılır.

Tüm numuneler 30 dakika boyunca bir UV sterilizatörü ile steril edilmiş ve sonrasında DMEM F-12 hücre büyüme ortamına koyulmuştur. Burada her numune için $6\text{cm}^2/\text{ml}$ hücre ortam solüsyonu konulmuş ve sonrasında 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında ekstraksiyon ortamı aspire edilmiştir. Diğer yandan, kriyoviral içerisindeki donmuş HaCaT hücreleri çözülme prosedürü uygulanarak oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Ardından hücre kültürü 3000rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Çözme prosedüründen sonra, hücreler T-25 kalıplarına %10 PBS ve %1 I-Glutamin içeren DMEM solüsyonu ile ekilmiştir. Ekilme işleminden sonra 37°C 'de ve %5 CO_2 içeren bir ortamda 3 gün inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası, hücreler sökülüp santrifüj edilmiş ve tekrar başka T-75 kalıplara hücre doluluk oranını (confluency) artırmak için ekilmiştir. Hücre doluluk oranı ışık mikroskobu ile incelenmiş ve oranın %90 civarında olduğu görüldüğünde, çoğaltılmış HaCaT hücreleri tripsin/EDTA solüsyonu ile sökülerek santrifüj edilmiştir.

$1 \times 10^5/\text{ml}$ hücre içeren DMEM solüsyonu 96'lık bir kuyucuk plaka içeresine yerleştirilmiştir. Her kuyuya $200\mu\text{l}$ bu hücre solüsyonu eklenmiştir. Her bir numunenin hücre toksisitesini ölçmek amacıyla, daha önceden hazırlanan numune solüsyonları (ekstraktları) seri seyreltme şeklinde (seyreltme oranı 2 olacak şekilde) kuyucuklara eklenmiştir. Yani her kuyuda aynı miktarda hücre solüsyonu eklenmiş ancak her kuyucuk sağındaki kuyucuğun 2 katı kadar numune solüsyonu içermektedir. Bu seri seyreltme işlemi 3 kuyucuk için yapılmış ve sırasıyla 1/1, 1/2 ve 1/4 oranlarında numune eklenmiştir. Güvenilirliği artırmak için, bu prosedür her bir nanofiber örneği için 8 kez tekrarlanmıştır. 24 saat ve 72 saat inkübasyon yapılmış ve bu süreler sonucunda oluşan sonuçlar ayrı ayrı değerlendirilerek kıyaslanmıştır. Inkübasyon sonunda büyüme ortamı aspire edilmiş ve steril PBS ile hücreler yıkanmıştır. Ardından $100\mu\text{l}$ ($500\mu\text{g}/\text{ml}$) MTT solüsyonu tüm kuyulara eklenmiştir. 4 saatlik inkübasyon sonrasında, MTT solüsyonu aspire edilmiş ve $100\mu\text{l}$ DMSO solüsyonu tüm kuyulara eklenmiştir. Canlı hücreler tarafından dönüştürülen formazan kristalleri 30dk inkübe edilerek çözülmüştür. Negatif kontrol

için PBS ile DMEM solüsyonu (ortam solüsyonu olarak) ve pozitif kontrol için DMSO solüsyonu (1:20 oranında seyreltilmiş) kullanılmıştır. Spectrostar Nano Marka bir mikro plaka absorbands okuyucu ile 570 nm’de analiz edilmiştir.



Şekil 3.18: MTT solüsyonu ve HaCaT hücre kültürü içeren, 8 tekrarla hazırlanan ve sağa doğru seri seyreltme ile numune solüsyonu eklenmiş 96’lık kuyu plakaları.

3.5.9. Biyobozunurluk Hızı Analizi

Sentezlenen Saf PCL nanofiberlerin, saf AgNP ve eAgNP katkılı PLC nanofiberlerin biyolojik bozulması, in vitro koşullarda test edildi. Test numuneleri için 30 mm x 30 mm PCL nanofiber membranlar, her bir elyaf türünden kesilmiş ve tartıldıktan sonra her birinde 30ml fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) pH =7,4 bulunan cam şişelere ayrı ayrı daldırılmıştır. Daha sonra 3 7°C sıcaklıktaki bir fırına yerleştirildi ve 18 hafta boyunca test edildi. Nanofiberler her hafta şişelerden çıkarılarak deiyonize su ile yıkanmış ve 40 °C sıcaklıkta fırında kurutulduktan sonra hassas bir şekilde tartılmıştır. Ağırlık kaybı aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Ağırlık kaybı(\%)} = (W_0 - W_f) / W_0 \times 100 \quad (3.1)$$

Burada W_0 , nanofiber membranın PBS'ye daldırılmadan önceki ağırlığı ve W_f aynı nanofiber membranın PBS solüsyonunda kaldıktan sonraki ağırlığıdır. Biyolojik olarak bozulmuş olan nanofiberlerin ve PBS çözeltisinin içerisine salınmış olan Ag nanopartiküllerin UV-vis absorbandsını analiz etmek için her şişeden 3 ml PBS solüsyonu çekildi ve aynı miktarda taze PBS solüsyonu eklendi. PBS çözeltisine daldırılmadan önce ve sonra tüm PCL nanofiber türlerinin morfolojik analizleri SEM görüntüleri alınarak incelendi.

3.5.10. Şişme Profili Analizi

Özellikle yara giydirmesi gibi uygulamalarda biyomalzemenin vücut sıvısı ile teması ile ne kadar şiştiği ve sıvının ne kadarını absorbe ettiği önemli bir parametredir. Bu doğrultuda, saf PCL nanofiberlerin ve AgNP ile eAgNP eklenerek modifiye edilmiş nanofiberlerin şişme karakteristiğinin elde edilmesi amacıyla pH=5, pH=7,4 ve pH=8'de PBS solüsyonu kullanılmıştır. PBS solüsyonunun tıpkı biyoçözünürlük testlerinde olduğu gibi burada da kullanılmasıdaki temel sebep, hücre dışı vücut sıvısının kimyasal olarak benzer bir ortamını oluşturabilmesidir. Bu analizde, pH=7,5 normal hücre dışı sıvı (extracellular fluid) ortamını, pH=5 normal deri pH'ını ve pH=8'de enflamasyon oluşmuş ortamın pH'ını temsil etmesi nedeniyle tercih edilmiştir. PBS solüsyonunun pH'ı bu parametrelere göre hazırlanmıştır. Numuneler 30mmx30mm boyutlarda hazırlanmış dikkatlice tartılarak 10 ml PBS içeren beherlere konularak bekletilmiştir. Önceden belirlenen bir zaman sonrasında numuneler çıkarılmış bir peçete ile yüzeyindeki fazlalık sıvı alınmış ve tekrar tartılmıştır. Her bir numune için bu işlem belli zaman aralıkları ile tekrarlanmış ve ortalama değerler elde edilmiştir. Şişme değerleri yüzdesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Seq}(\%) = (W_s - W_d) / W_d \times 100 \quad (3.2)$$

Burada W_s şişen numunenin ağırlığı, W_d ise numunenin ilk kuru halinin ağırlığıdır. Elde edilen sonuçların zamana göre grafiği çizilmiştir.

4. BULGULAR

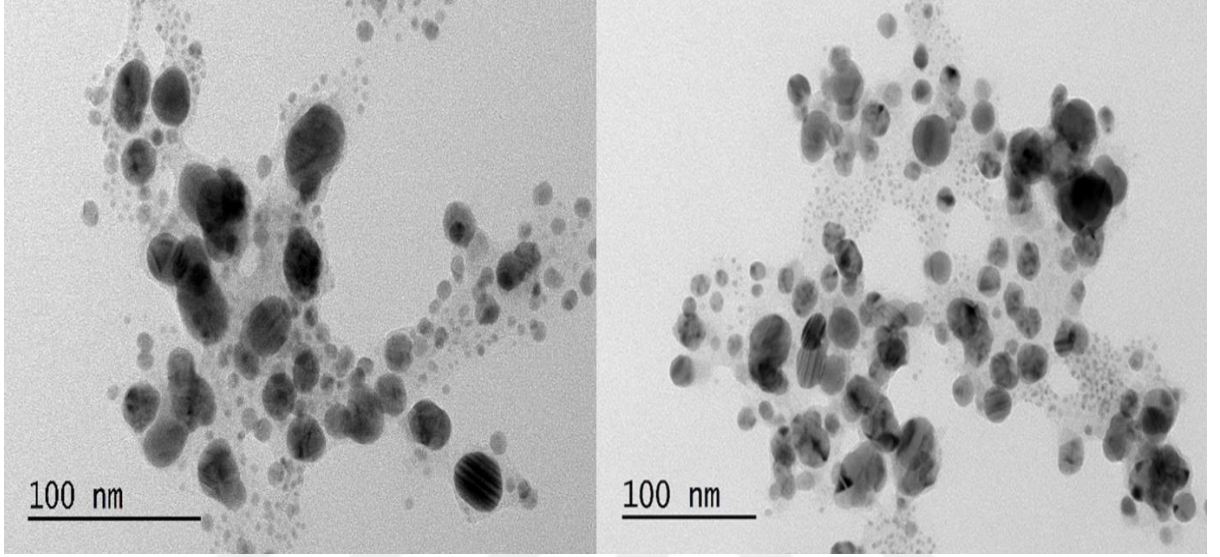
Bu çalışmada özgün bir malzeme olarak atropa belladonna ekstresi ile kaplanmış gümüş nanoparçacık içeren PCL nanofiberlerinin elektrospin yöntemiyle üretilmesi ve üretilen bu membranların karakteristik özelliklerini tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen analizler önceki kısımlarda ayrıntılı bir biçimde anlatılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen bulgular bu kısımda belirtilmiştir.

4.1. ENKAPSÜLE Ag NANOPARTİKÜLLERİN ANALİZ SONUÇLARI

Nanopartiküllerin şekli ve boyutu, nanomalzemelerin kolorimetrik yapısını etkilemektedir. Ag nanoparçacıklarının yüzey plazmon rezonansının davranışı, elektronik spektrumun görünür bölgesi içindedir [44]. Bundan dolayı atropa belladonna özünden yeşil sentezle üretilen enkapsüle AgNP'lerin oluşumunu doğrulamak için UV-Vis spektroskopisi kullanılmıştır. Üretilen nanopartiküllerin boyutları ne kadar küçük olursa o oranda nanopartiküller kıymetlidir. Küçük boyutta yeşil sentezle Ag nanopartikül üretmek için bazı parametrelerin doğru seçilmesi gereklidir. Bunlardan AgNO_3 çözeltisinin miktarı, atropa belladonna özütünün hacmi, sıcaklık ve pH değeri gibi çeşitli reaksiyon parametrelerinin etkileri söylenebilir. Burada küçük boyutlu Ag nanoparçacıkları elde etmek için 0.1 M AgNO_3 çözeltisi altında reaksiyon gerçekleştirilmiştir [47]. Bu doğrultuda 1 ml atropa belladonna ekstraktı ile 1ml 0.1 M AgNO_3 çözeltisi 8 ml saf suyun içerisine reaksiyona tabi tutuldu. Bu formül miktar, sıcaklık ve pH etkilerin optimizasyonu neticesinde ortaya çıkmıştır. Ag nanopartikülleri üretmek için bu formüldeki katkı oranlarının 50-100 katı alınmıştır. Sentezlenme işleminin sonunda elde edilen Ag nanofiberlerin morfolojisi incelemek için TEM görüntüsü alınmıştır.

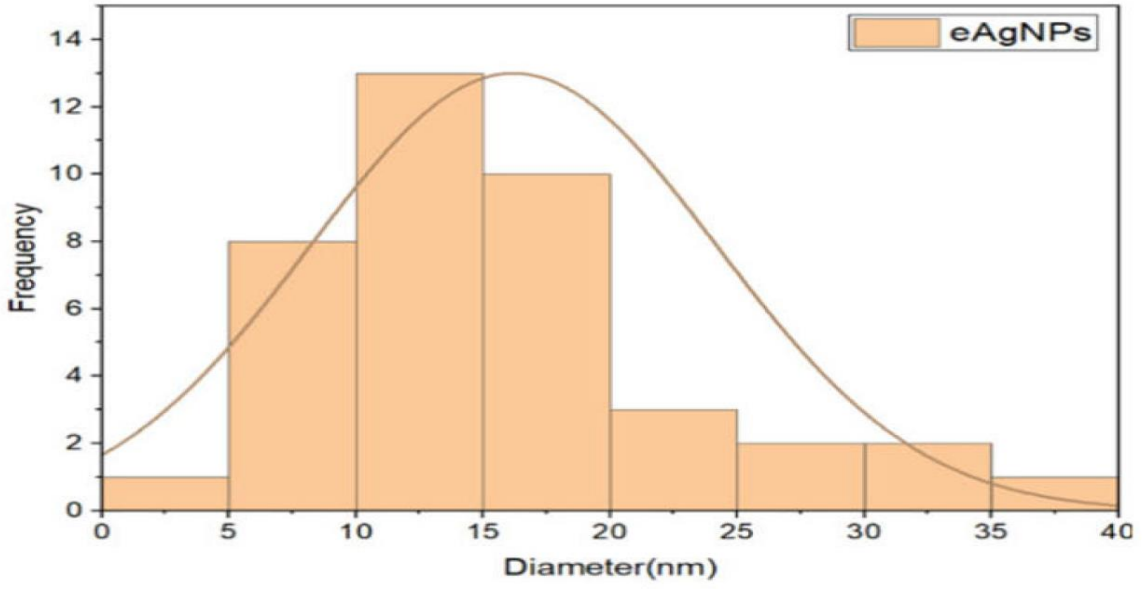
Şekil 4.1'de kapsüllenmiş Ag nanoparçacıklarının atropa belladonna molekülünün TEM görüntüsünü gösterilmiştir. Ag nanoparçacıklarının çoğu atropa belladonna moleküllerine gömülü haldedir. Nanopartiküllere yakından ve tek tek bakıldığında atropa belladonna molekülleriyle çevrelenmiş olduğunu görülecektir. Ag nanopartiküllerin parçacık boyutları yaklaşık 5nm ila 25nm arasında değişir, ancak çoğunlukla 15 nm'den azdır.

Nanopartiküllerin morfolojisi neredeyse küreseldir ve belli bir seviyede birbirlerinden ayrılmış durumdadır. Yani topaklanma miktarı azdır. Nanomalzemelerde topaklanma olayı nanopartiküllerin kullanımında önemli bir problemdir. Topaklanmayı azaltmak için fonksiyonelleştirme gibi işlemler yapılmaktadır. Burada atropa belladonna molekülleri Ag nanopartikülleri sararken aynı zamanda fonksiyonelleştirme de yapmıştır.



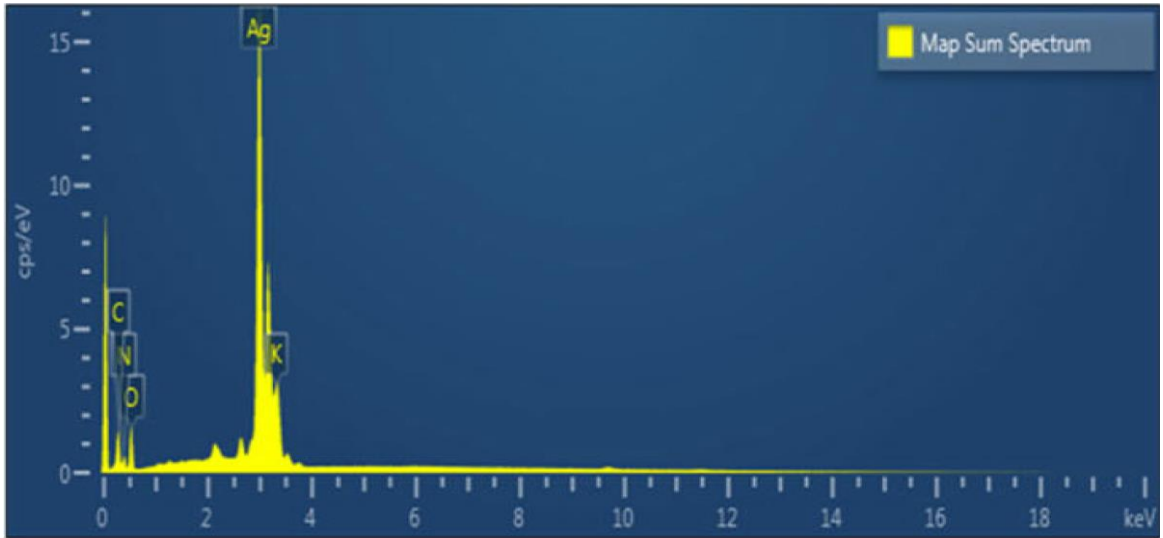
Şekil 4.1: Atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş Ag nanopartiküllerin TEM görüntüleri.

Bu çalışmada, Hussain ve diğ. [175] prosedürü takip edilerek küçük Ag nanopartiküllerin üretimi sağlanmıştır. Şekil 4.2’de atropa belladonna ile kaplanmış gümüş nanopartiküllerin çap boyutlarının dağılımı gösterilmiştir. Enkapsüle Ag partüküllerin çapı 5 nm ile 25 nm arasında değişmekte olup 16 nm ortalamaya sahiptir. Gene analiz sonuçlarından nanopartiküllerin şekillerinin neredeyse küresele yakın ve bir seviyeye kadar ayırık olduğu söylenebilir.



Şekil 4.2: eAgNP nanopartiküllerin çap boyutlarının grafik dağılımı.

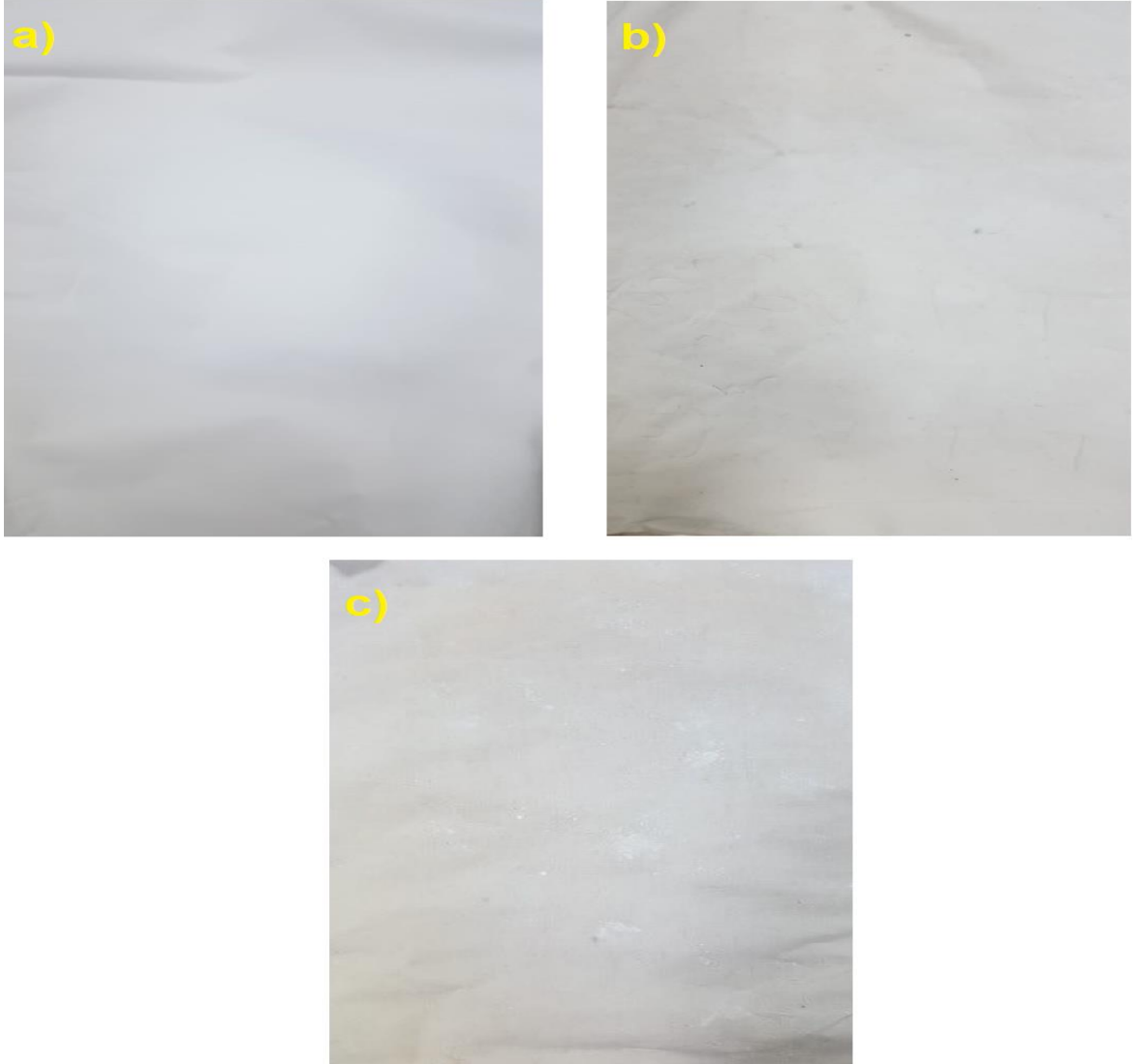
eAgNP nanopartiküllerin EDX analiz sonucu Şekil 4.3’de görülmekte olup, sentezlenen eAgNP’lerde elemental gümüşün varlığı belirlendi. 3 keV’de güçlü bir absorpsiyon bandı ile bu durum görülmekte. Ayrıca, 0,12 keV’de karbon absorpsiyon bandı, 0,20 keV’de nitrojen bandı ve 0,26 keV’de oksijen bandı görülmektedir.



Şekil 4.3: eAgNP nanopartiküllerin EDX analiz sonuçları.

4.2. SAF PCL, AgNP VE eAgNP KATKILI PCL NANOFİBERLERİN ÖZELLİKLERİ

Nanofiber membranlar aynı anda 4 adet şırınga olmak üzere 9-10 saat spinleme yapıldıktan sonra elde edildi. Bütün membranlar esnek yapıda olmuştur. Saf PCL nanofiberlerin rengi açık beyaz renkte iken saf Ag nanopartikül içeren membranın rengi hafif grileşmiştir. eAgNP içerikli PCL membranın rengi hafif sarı-kahverengiye meyilli beyaz renkte çıkmıştır. Nanofiber membranların fotoğrafları şekil 4.4’de verilmiştir.



Şekil 4.4: Nanofiber membranların görüntülerin fotoğrafları, a) saf PCL nanofiber, b) saf AgNP katkıli nanofiber, c) eAgNP katkıli nanofiber.

Hemen hemen her tip PCL nanofiberlerin spinlenmesi sırasında iğnelerin ucunda polimer birikmesi oluşmuştur. Bu birikme AgNP’ler ilave edilince daha da artmıştır. Zaman zaman bu birikintiler nemli bir bezle alınmış ve düzgün spinleme yapılmasına çalışılmıştır.

Bunun dışında ara ara iğne ucundaki biriken polimer kontrolsüz olarak jet patlaması yaparak damlacık halinde toplayıcıdaki nanofiberlerin üzerinde birikmeler oluşturmıştır. Yine nadiren şırınga içerisindeki polimer miktarı bitmeye yakın azalınca iğne ucundan iplik halinde gözle görülür fiber sipinlemesi olumuna gözlenmiştir. Nanofiber membranların SEM görüntüsünde yüzey kısımlarda bazı kalın nanofiberlerin olmasının sebebi bu tür düzensizliklerden kaynaklanmıştır. Jet patlamaları ve iğne ucunda birikmelerden kaynaklanan karasızlıklar çözeltinin toplayıcıya doğru hareketini hızlandırmakta ve bunun sonucu olarak polimer çözücülerinin buharlaşmasını engellemektedir. Böylece ıslak fiberler ve çözelti damlacıkları toplayıcıda birikmeye neden olmuştur.

Gerek saf PCL nanofiber membran gerek AgNP'lerle modifiye edilmiş PCL nanofiber membranlar düzgün ve kusursuz olarak homojen bir yüzeye sahip olarak üretilmişlerdir. Alüminyum folyodan rahatlıkla ayrılmışlar ve hazır hale getirilmişlerdir.

4.3. NANOFİBERLERİN MORFOLOJİK YAPILARI, SEM, TEM GÖRÜNTÜLERİ

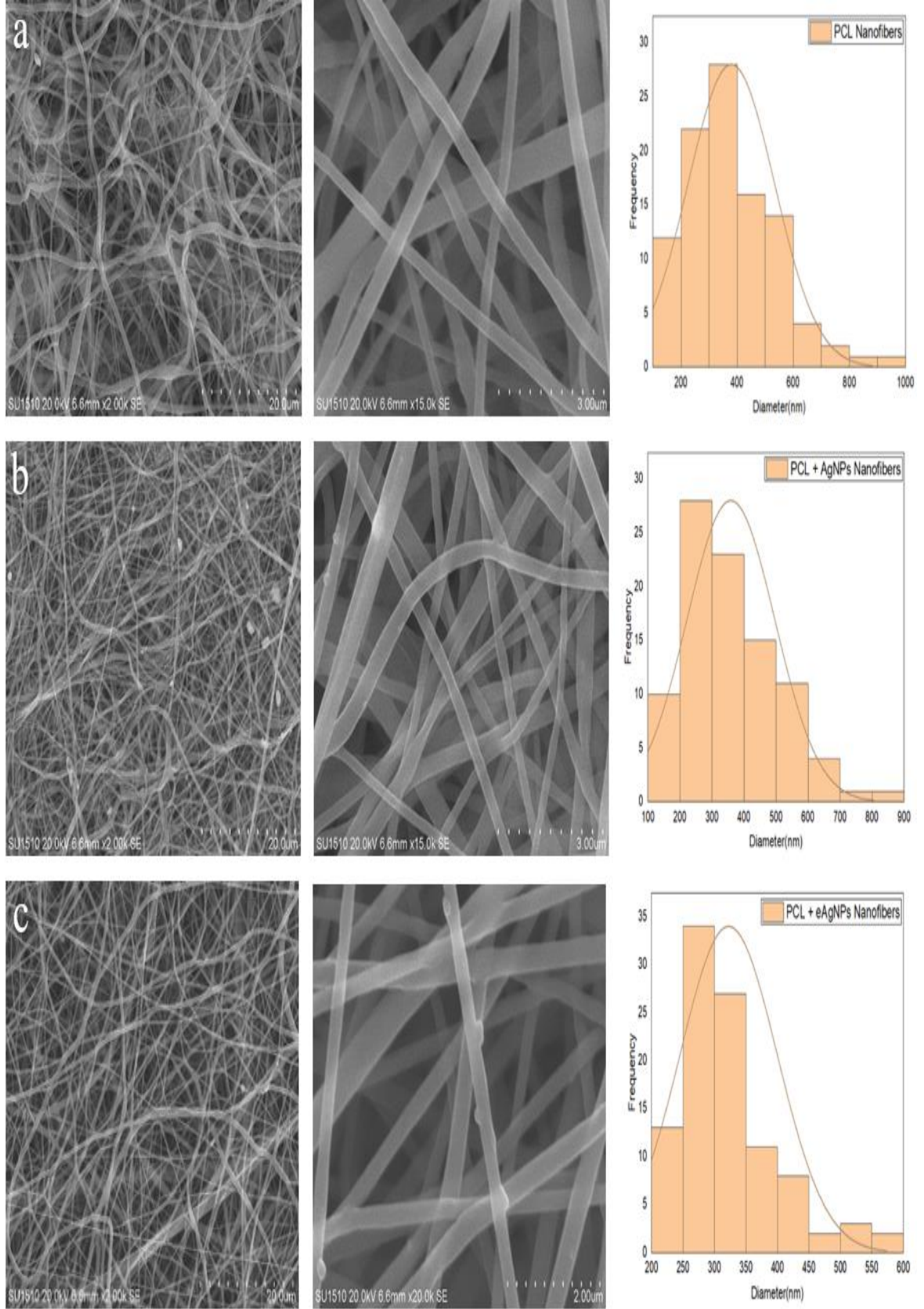
SEM, nanofiberlerin kalitesini değerlendirmenin ve elektrospin parametrelerini optimize etmenin hızlı ve basit bir yolu olarak kullanılmaktadır. Elektrospin ile üretilen saf PCL nanoliflerin, saf Ag nanopartikül ve enkapsüle Ag nanopartiküllerle modifiye edilmiş PCL nanoliflerin morfolojisi şekil 4.5'de gösterilmektedir. Şekil 4.5'de görülen nanopartikül görüntüleri optimize edilmiş elektrospin koşulları altında çalışılan her bir PCL nanofiber için rastgele yönlendirilmiş fiber yapısını göstermektedir. Her bir grup nanofiberin SEM görüntüleri, düzgün morfolojiye sahip spagetti benzeri bir yapıda, farklı çaplarda, boncuk oluşmamış ve yüzeyleri pürüzsüz halde görülmektedir.

Üç grup PCL nanofiber için de aynı akış hızı ve aynı koşullarla elektrospin yoluyla sürekli nanofiberlerin oluştuğu söylenebilir. Nanofiberlerin çaplarına gelince, saf PCL nanoliflerinin çapları yaklaşık 100 nm ila 400 nm arasında değişmektedir (Şekil 4.5a). Buna karşılık içerisinde saf Ag nanopartikül içeren PCL nanofiberlerin çapları ortalama 275 nm olarak hesaplandı. Bu nanofiberlerin şekil 4.5'de verilen SEM görüntüleri incelendiğinde nanofiberlerin içerisinde bazı topaklanmış Ag nanoparçacıkların olduğu görülmektedir. Bunun sebebi Ag nanopartikül katkılı PCL polimer çözeltisinin ultrasonla dağıtılması sırasında bazı Ag nanopartiküllerin iyice dağılmadığı ve veya sipinle sırasında çözelti şırınga içerisinde beklerken Ag nanopartiküllerin birbirini çekerek topaklanma oluşturmastandır. Atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş Ag nanopartikül içeren PCL nanofiberlerin SEM

görüntülerine gelince (şekil 4.5c) nanoliflerinin ortalama çapları 260nm olarak hesaplanmıştır. Bu nanofiberlerin bazılarında da saf Ag nanopartikül katkılı PCL nanofiberlerde olduğu gibi eAgNP'lerin topaklandığı görülmektedir. Buradaki topaklanma için de aynı yorumlar yapılabilir. Özellikle çözeltinin şırınga içerisinde beklemesi sırasında topaklamanın oluştuğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca sipinleme sırasında çözelti iğnelerin ucunda biriken polimer çözeltisinin içerisinde de topaklandığı ve arakasından jet patlaması sırasında nanofiber veya damlacık şeklinde toplatıcıda biriktiği söylenebilir.

SEM analiz sonuçlarından elde edilen verilerden yola çıkarak PCL nanofiberlerin, AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin çap ortalamaları belirlenmiştir. Bu verilerden yola çıkarak oluşturulan grafikler şekil 4.5'de belirtilmiştir.

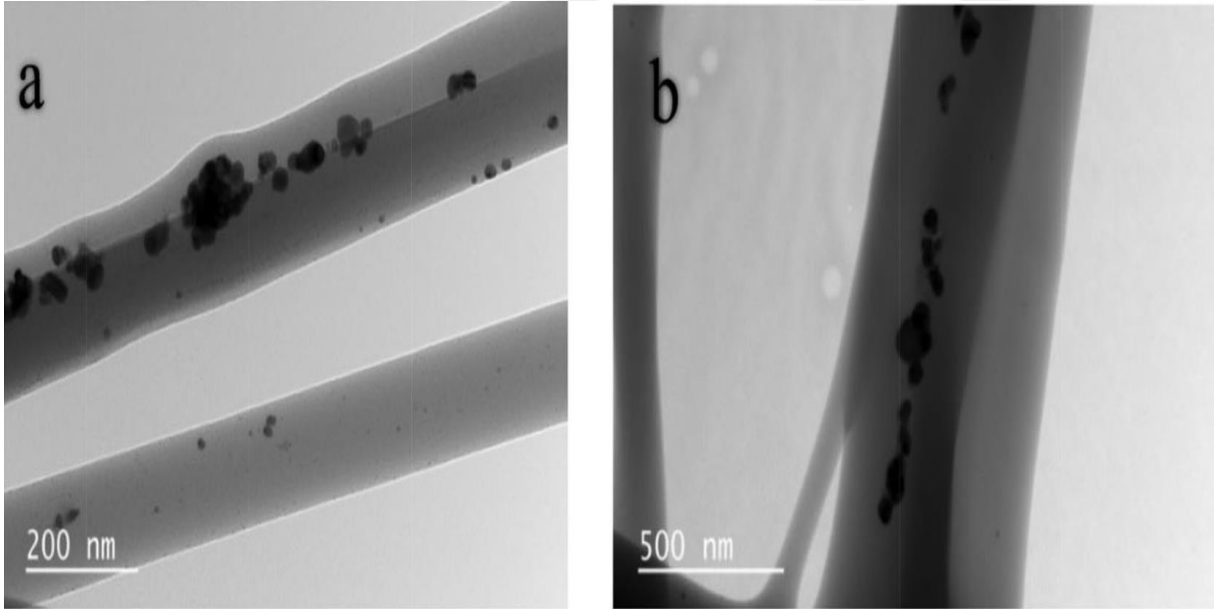




Şekil 4.5: Nanofiber membranların SEM görüntüleri ve çap boyutlarının grafik dağılımları, a) saf PCL nanofiber, b) %1 AgNP ekli nanofiber, c) %1 eAgNP ekli nanofiber.

Elektrospın ile üretilen polimer nanofiberlerin içerisine çeşitli nanomalzemeler eklenerek nanofiberlerin özelliklerinin değiştirilmesi ve yeni özelliklerin katılması önemli olduğu gibi bu konu üzerinde çokça çalışmalar yapılmaktadır. PCL nanofiberlerin içerisine AgNP'ler katılınca bu nanopartiküllerin nanofiber içerisindeki varlığının ve dağılımının belirlenmesi için TEM görüntülerinin alınması gerekmektedir. Şekil 4.6'da PCL nanofiberlerin içerisine %1 oranında saf AgNP'lerin eklendiği PCL nanofiberler ile yine içerisine %1 oranında eAgNP'lerin ilave edildiği PCL nanofiberlerin görüntüleri verilmiştir.

Saf AgNP'lerin PCL içerisinde oldukça düzgün dağıldığını ve ara ara nanopartiküllerin topaklandığını görmekteyiz (Şekil 4.6a). Bu topaklanma normal bir topaklanmadır. Çünkü topaklanma nedenlerinin yukarıda izah edildiği gibi çözelti şırınga içerisinde beklerken ve iğne ucunda birikmeden kaynaklanmaktadır. Nanofiberlerinin yüzeyleri incelendiğinde pürüzsüz ve düzgün olduğu görülmektedir. İçerisine eAgPN'lerin katıldığı PCL nanofiberler incelendiğinde bunlarda da enkapsüle gümüş nanopartiküllerin düzgün dağıldığı söylenebilir (Şekil 4.6b). Ancak zaman zaman eAgNP'lerin topaklanmasına rastlanmaktadır. Bunun nedeni de polimer çözeltisinin iğne ucundaki birikmeleri ve şırıngadaki beklemelerinden kaynaklanmaktadır. Bu nanofiberlerin yüzeyleri de düzgün ve göreceli olarak pürüzsüzdür.



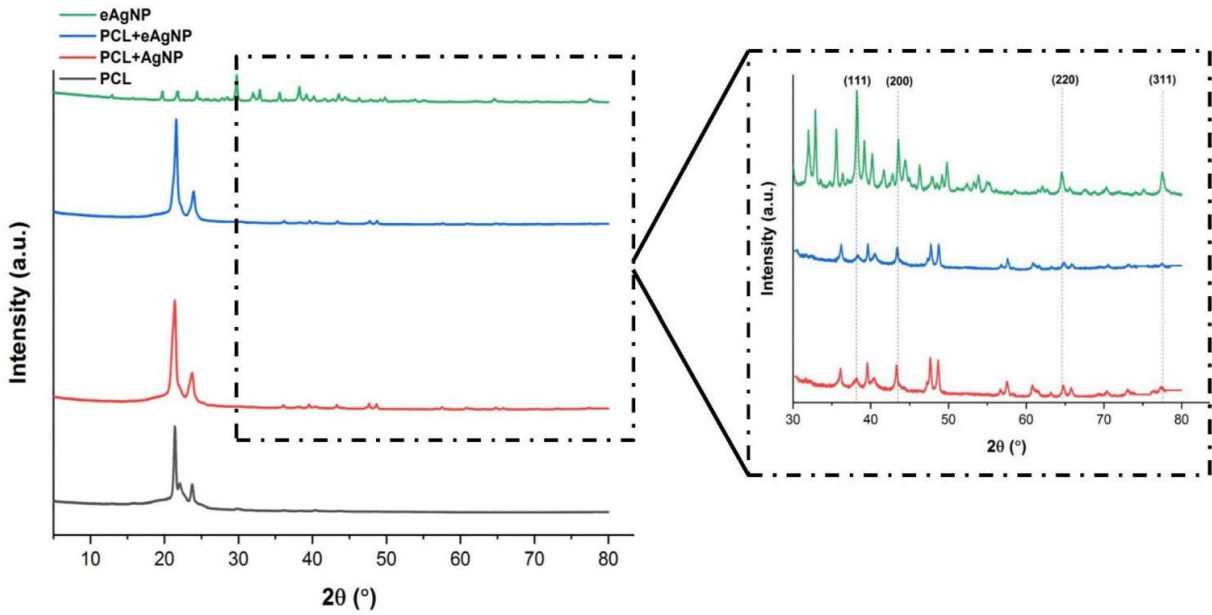
Şekil 4.6: PCL nanofiberlerin TEM görüntüsü a) saf AgNP ilaveli PCL nanofiberler, b) eAgNP ilaveli PCL nanofiberler.

4.4. XRD ANALİZ SONUÇLARI

Şekil 4.7’de saf PCL nanofiber nanofiber membranın, içerisine saf AgNP’lerin ilave edildiği PCL nanaofiber membranın ve atropa belladonna molekülleriyle enkapsüle olmuş AgNP’lerin katıldığı PCL nanofiber membranın XRD piklerinin değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Saf PCL nanofiber membran PCL nanofiberlerin yarı-kristal formasyonunu gösteren birkaç farklı piklerin yanı sıra bir de geniş bir pik içermektedir. Yaklaşık $2\theta=21.4^\circ$ ve 23.7° ’de bulunan pikler, sırasıyla ile PCL’nin (110) ve (111) düzlemlerine aittir [176].

Katkısız PCL nanofiberler ile AgNP ve eAgNP katılmış PCL nanofiberlerin XRD paterni kıyaslandığında dört ayrı pik 38.2° ’de, 43.3° ’de, 64.8° ’de ve 79.2° ’de gözlenmektedir. Bu pikler PCL nanofiberlerin içerisindeki Ag nanopartiküllerin yüzey merkezli kübik yapının (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelen piklerdir. Bu pikler JCPDS (No. 4-0783) ye göre uygun piklerdir [177].

Gümüş XRD piklerinin yanında eAgNP’lerin 21.5° ’de, 29.7° ’de, 32.9° ’de ve 36.4° ’de birkaç pik noktasında sahiptir. Bu piklerin varlığı gümüşlerin çevresini kaplayan atropa belladonna bitkisinin çeşitli organik ve fotokimyasal birleşiklerinin varlığı nedeniyle oluşmuş olabilir. Benzer sonuçlar başka bitkilerle yapılan çalışmalarda da görülmektedir [67,178]. XRD sonuçları, PCL içerisindeki saf AgNP’ler ve eAgNP’lerin dispersiyonlarının antimikrobiyel uygulamalar için bit aday malzeme olabileceğini göstermektedir.

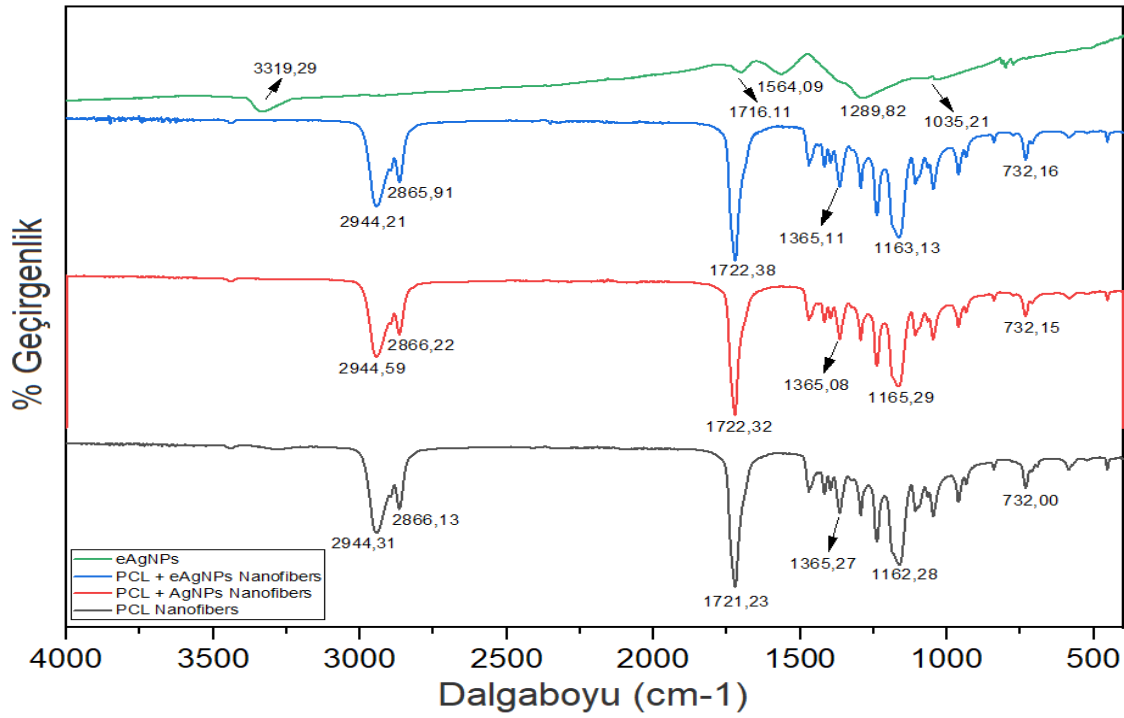


Şekil 4.7: Katkısız PCL nanofiberleri, AgNP eklenmiş PCL nanofiberleri ve eAgNP eklenmiş PCL

4.5. FTIR ANALİZ SONUÇLARI

FTIR analizi polimerlerin moleküler etkileşimlerini belirlemek ve plastik malzemelerin kalitesini değerlendirmek için güveilir bir analitik araçtır. eAgNP'lerin FTIR spektrumları, katkısız PCL nanofiberlerin, AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin ve enkapsüle edilmiş AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin spektrumları Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Bu spektrumlar bize nanofiber kompozitlerin yapısı hakkında bilgi vermektedir. PCL nanofiberlerin 2944 cm^{-1} 'de (C-H asimetrik gerinme vibrasyonu), 2866 cm^{-1} 'de (C-H simetrik gerinme vibrasyonu), 1721 cm^{-1} 'de (C=O karbonil grubunun gerinme vibrasyonu), 1470 cm^{-1} 'de (C-H simetrik deformasyonu), 1365 cm^{-1} 'de (C-O simetrik gerinme), 1238 cm^{-1} 'de (C-O-C asimetrik gerinme), 1162 cm^{-1} 'de (O-C-O gerinme vibrasyonu) ve 1107 cm^{-1} 'de (C-O gerinmesi) Şekil 4.8'de görülmektedir [179]. AgNP ve eAgNP nanopartiküllerin PCL nanofiberine katılımı, PCL nanofiberinin absorpsiyon bantlarında bir değişiklik yapmamıştır. Bunun sebebi van der Waals güçleri ile PCL içerisindeki AgNP nanopartiküllerin fiziksel tutulma yaşaması olabilir [180]. Ayrıca AgNP etrafındaki atropa belladonna ekstraktının kütleli miktarının PCL nanofiberlerine göre çok az miktarda olması PCL nanofiberlerin FTIR spektrumu üzerinde kayda değer bir değişiklik olmamasına sebep olduğu düşünülmektedir.

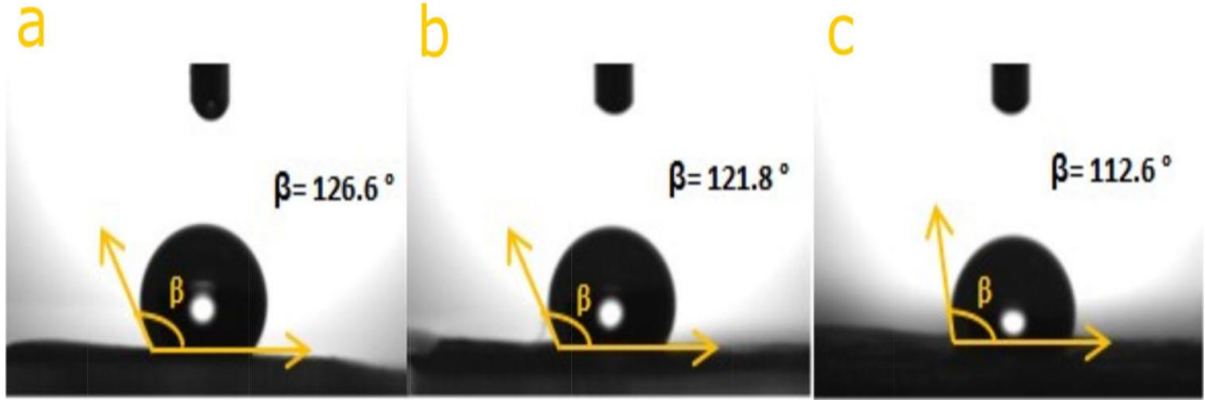
Diğer taraftan, atropa belladonna bitkisi ile AgNP arasındaki kimyasal etkileşme FTIR spektroskopisi spektrumunda ortaya çıkmaktadır. Şekil 4.8'de görüleceği gibi, eAgNP spektrumuna ait 3319 cm^{-1} 'de (N-H gerinimi), 1716 cm^{-1} 'de (C=O gerinim vibrasyonu), 1564 cm^{-1} 'de (N-O), 1289 cm^{-1} 'de (C-O) ve 1035 cm^{-1} 'de (C-O gerinimi) pikler bulunmaktadır. 3319 cm^{-1} 'de bulunan pik amin grubuna ve 1716 cm^{-1} 'deki, 1289 cm^{-1} 'deki ve 1035 cm^{-1} 'deki pikler de atropin molekülündeki ester gibi bir karbonil grubunun varlığını gösterir. Farklı fonksiyonel gruplara ait karakteristik FTIR spektrumu pikleri gümüş nanopartiküllerin atropa belladonna bitkisi ile kaplandığını göstermektedir. Benzer sonuçlar Das ve diğ. [67] tarafından da yaptıkları farklı bir çalışmada görülmüştür.



Şekil 4.8: eAgNP, katkısız PCL nanofiberleri, AgNP eklenmiş PCL nanofiberleri ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerine ait FTIR analizi spektrumları.

4.6. TEMAS AÇISI ANALİZİ SONUÇLARI

Şekil 4.9’de nanofiber membranların sabit düşme testleri ile su damlatılarak ölçülen temas açıları gösterilmektedir. Saf PCL nanofiber membranın yüzey temas açısı, daha önce temas açısı ölçümlerinde bildiren PCL nanofiber membranların güçlü hidrofobikliğine uygun olarak 126.6° olarak bulunmuştur. PCL nanofiberlerin hidrofobik özelliğinin büyük olmasının sebebi ana polimer zinciri boyunca CH_2 gruplarının varlığına dayanmaktadır [181]. Şekil 4.9b’de eAgNP katkılı PCL nanofiberlerin ve şekil 4.9c’de saf AgNP ilaveli PCL nanofiberlerin yüzey temas açılarının değerleri sırasıyla 121.8° ve 112.6° olduğu hesaplanmıştır. PCL nanofiberlerinin temas açılarının değerleri, eAgNP’lerin ve saf AgNP’lerin aşılmasıyla azalmaktadır. Bunun nedeni yüzeyleri düzgün olan PCL nanofiberlerin yüzey pürüzlülüğünün AgNP’ler katılınca artmasından kaynaklanmaktadır. Bu iki tür nanofiber membran numuneleri için temas açısı ölçümleri de PCL’nin hidrofobikliğini biraz azaltmış olsa da yine de hidrofobik karakterle tutarlıdır.



Şekil 4.9: Numunelerin temas açıları resimleri a) katkısız PCL nanofiber, b) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler ve c) AgNP eklenmiş PCL nanofiberler.

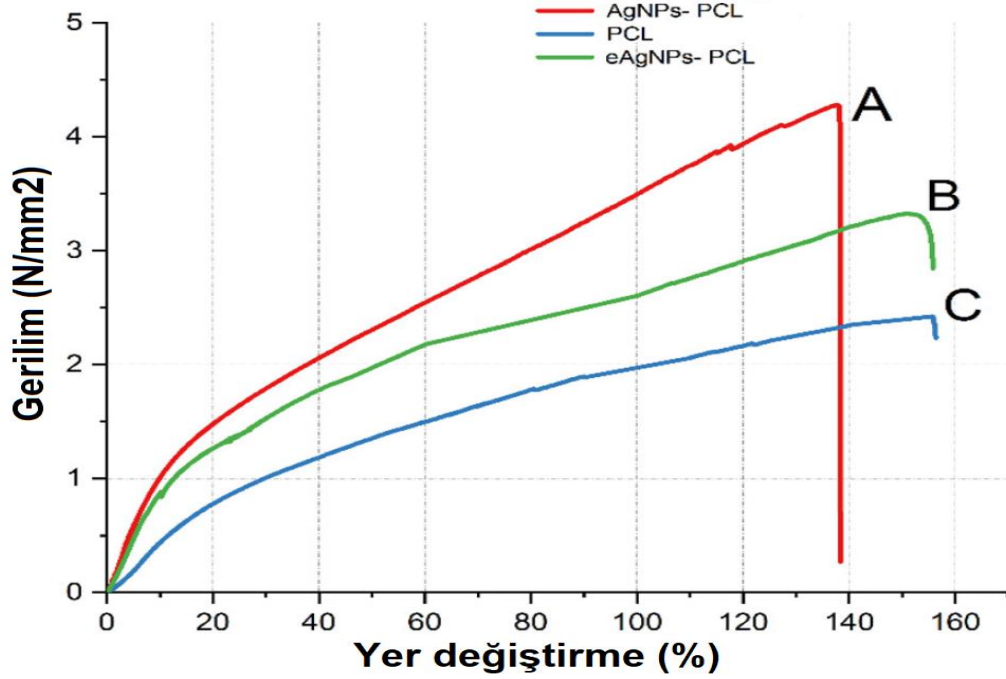
4.7. MEKANİK TEST (ÇEKME TESTİ) SONUÇLARI

Saf AgNP katkılı PCL nanofiber membran ile eAgNP katkılı PCL nanofiber membranların üniversal çekme testleri yapılarak mekanik özellikleri bulunmuştur. İlave olarak karşılaştırmak amacıyla saf PCL nanofiber membranın da çekme testleri yapılarak mekanik özellikleri tespit edilmiştir. Şekil 43’da her bir çeşit nanofiber membranların karşılaştırmak amacıyla ve daha rahat anlaşılması için kuvvet yer değiştirme fonksiyonlarına karşılık gelen gerilme-şekildeğiştirme eğrileri birlikte verilmiştir. Bu grafikler incelendiğinde saf PCL nanofiber membranın çekme mukavemetinin 2.44 MPa ile en düşük olduğu görülmektedir. En yüksek çekme mukavemeti 4.27 MPa ile saf AgNP katkılı PCL membranda olurken eAgNP katkılı PCL membranın mukavemeti 3.32 MPa ile daha düşük çıkmıştır. Ancak saf PCL nanofiberlere göre daha yüksektir. PCL nanofiberlerin içerisine saf AgNP’ler katılınca çekme mukavemetini %75.0 oranında artırırken eAgNP katılınca mukavemetini %36.1 oranında artırmıştır.

Saf AgNP katkılı PCL nanofiberlerde çekme mukavemetinin yüksek çıkmasının sebebi saf AgNP’ler ile PCL polimer arasında kimyasal ve mekanik olarak güçlü bağların oluşmasından kaynaklanmaktadır. Saf AgNP’ler PCL polimerin aynı zamanda rijitliğini de artırmaktadır. PCL nanofiberler termoplastik olduğundan sünek bir malzemedir. Bundan dolayı en yüksek şekil değiştirme saf PCL nanofiberlerde meydana delmiştir. PCL nanofiberlerin içerisine eAgNP’ler eklendiğinde çekme mukavemeti saf AgNP eklenmiş PCL nanofibelerinkinden daha düşük ancak saf PCL nanofibelerin mukavemetinden yüksektir.

Bunun sebebi şöylece izah edilebilir. Enkapsüle olmuş Ag nanoparçacıklarının etrafındaki bitki molekülleri, termoplastik polimer olan PCL molekülleri ile kimyasal bağ

yapmazlar. Sadece eAgNP'ler PCL nanofiberler içerisinde mekanik olarak kilitleme yaparlar. Bundan dolayı mukavemetleri PCL nanofiberlerin üzerinde çıkmıştır. Enkapsüle gümüş nanopartiküllerin PCL nanofiberlere katılmasıyla PCL'nin sünekliğini saf AgNP'lerde olduğu gibi azaltarak rijitliğini bir miktar artırmıştır.



Şekil 4.10: Saf AgNP ve eAgNP katkılı PCL nanofiber membranların ve katkısız PCL nanofiber membranın gerilme-şekil değiştirme eğrileri.

Tablo 4.1: Nanofiber numunelerin mukavemet-şekil değiştirme ve elastik modülleri.

Nanofiber Membranı	Mukavemet (MPa)	Şekil Değiştirme (%)	E-Modülü (MPa)
Saf PCL nanofiber	2.44	154.2	0.430
eAgNP katkılı PCL nanofiber	3.32	150.9	0.870
Saf AgNP katkılı PCL nanofiber	4.27	137.8	1.004

Üretilen üç çeşit PCL nanofiber membranların çekme mukavemetleri, kopma şekil değiştirmeleri ve elastiklik modüllerinin ortalama değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Ortalama değerler, her çeşit nanofiber membran için en az üç testten elde edilmiştir. Maksimum gerilme (çekme mukavemeti) ve maksimum yüzde uzama (şekil değiştirme) kopmaya karşılık gelen değerlerden hesaplandı. Elastiklik modülleri, elde edilen gerilme-şekil değiştirme eğrilerinin ilk lineer kısmının eğiminden hesaplanmıştır. PCL nanofiberlerin içerisine saf AgNP'lerin ve

eAgNP'lerin eklenmesiyle nanofiberlerin çekme mukavemetini büyük oranda artırdığı gibi elastiklik modüllerini de önemli ölçüde arttırmıştır.

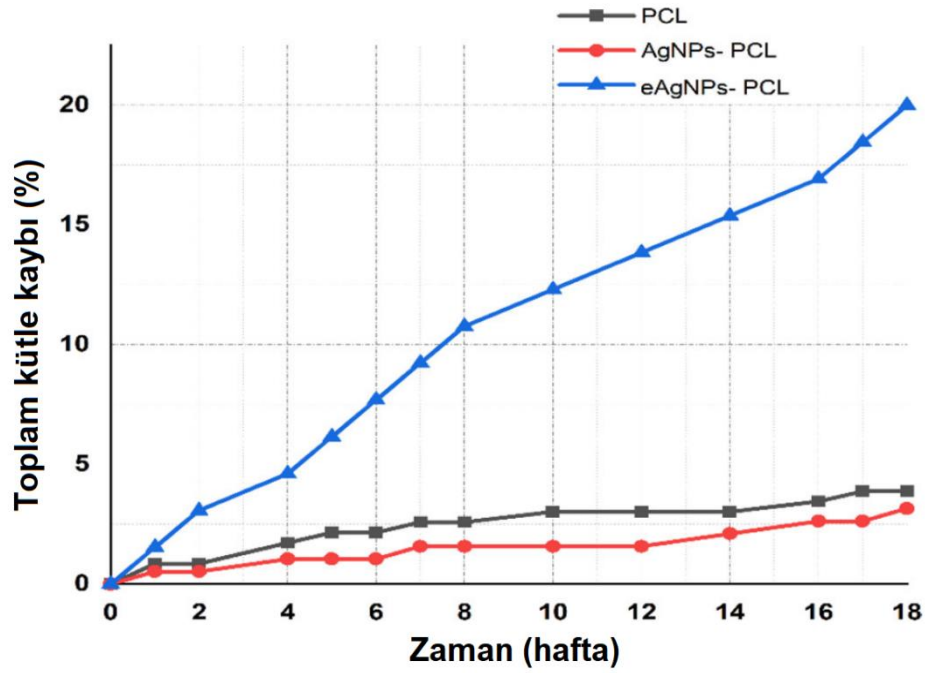
Maksimum çekme elastiklik modülü 1.004 MPa olarak saf AgNP'ler ilave edilmiş PCL nanofibelerde elde edilmiştir. Saf AgNP eklenmiş PCL nanoliflerinin elastiklik modülü, eAgNP ilave edilmiş PCL nanoliflerinin elastiklik modülünden %15.40 daha yüksek çıkarken saf PCL nanoliflerinin elastiklik modülünden %133.48 daha büyük çıkmıştır. Diğer taraftan, eAgNP eklenmiş PCL nanoliflerinin elastiklik modülü saf PCL nanoliflerinin elastiklik modülünden %102.32 daha yüksek çıkmıştır. Maksimum şekil değiştirme saf PCL nanofiber membranda en yüksek değerde çıkmış olup 154.2 (mm/mm)'dir. Saf PCL nanofiberlerin şekil değiştirmelerinin yüksek çıkmasının sebebi PCL nin hem termoplastik olması hem de sünek olmasından kaynaklanmaktadır. PCL nanofiberlere eAgNP'ler eklendiğinde şekil değiştirme değeri %2.2 azalmıştır. PCL nanofiberlere saf AgNP'ler eklendiğinde de PCL kompozitin şekil değiştirmesi daha da azalmıştır. PCL nanofiberlerin sünekliliğinin saf ve enkapsüle gümüş nanopartiküller katıldığında azalmasının sebebi kompozit yapının içerisinde yeni bir faz oluşturmasından kaynaklanmaktadır.

Bu sonuçlar, gerek saf AgNP'lerin gerek eAgNP'lerin PCL nanofiberler dahil edilmesinin PCL ve benzeri polimerlerden üretilen nanofiberlerin mekanik özelliklerini geliştirmek için faydalı olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, çekme testi, gümüş nanopartiküllerin PCL nanofiberlere eklenmesinin yanı sıra polimer içerisinde yeni bir faz oluşturmasının elektrospin ile üretilen nanofiber membranların mekanik stabilitesi üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Bu tezde, mekanik özelliklerin iyileştirilmesinin olağanüstü olduğunu söylemek mümkündür. Çünkü %1.0 oranında gümüş nanopartiküllerin başarılı bir şekilde katılması PCL nin mukavemetini %75.0 ve %36.1 oranında artırırken elastiklik modülünü %133.48 ve %102.32 oranında artırmıştır. Ayrıca saf AgNP'ler ve eAgNP'lerin PCL polimer arasında iyi bir etkileşim olduğu ve başarılı bir elektrospin ile nanofiber üretildiği söylenebilir.

4.8. BİYOBOZUNURLUK ANALİZİ SONUÇLARI

PCL nanofiberlerin biyobozunurlukları, kristallik derecesine, PCL'nin molekül ağırlığına, bozunma koşullarına, nanofiberlerin morfolojisine ve artık monomer içeriğine bağlıdır [182].



Şekil 4.11: Nanofiber membranların PBS içerisinde 18 hafta içerisindeki biyobozunurluk grafikleri, a) katkısız PCL nanofiberler, b) saf AgNP ilaveli PCL nanofiber, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler.

PBS çözeltisine daldırılan her bir PCL nanofiber membran gruplarının biyolojik bozulmaları, 18 hafta boyunca 37°C'de bekletilme süresince gerçekleştirildi. Şekil 4.11'de, saf PCL nanofiber numunelerin, saf AgNP ve eAgNPs katkılı PCL nanofiber numunelerin ağırlık kaybı değişimi gösterilmektedir. Saf PCL nanofiberlerin ve saf AgNP katkılı PCL nanofiberlerin biyobozunurluklarının oranı oldukça düşük çıkmıştır. PCL nanofiberler biyoyoumluluğu gayet iyi olan nanofiberlerdir. Diğer taraftan PCL nanofiberlerin mekanik özellikleri başka birçok biyobozunur polimer nanofiberlerin mekanik özelliklerinden daha üstün özelliklere sahiptir. Ek olarak PCL nanofiberlerin düşük immünojenisite özelliğinin olduğu da bilinmektedir. Bütün bu özelliklere sahip olmasına rağmen PCL'nin biyobozulma hızı oldukça yavaş olmaktadır.

Saf AgNP'ler içeren PCL nanoliflerinin ağırlık kayıpları, saf PCL nanoliflerinininkinden daha düşük çıkmıştır. Katkısız PCL nanofiberlerde 18 haftalık bozunmanın neticesindeki ağırlık kayıp miktarı %4.5 iken saf AgNP katkılı PCL nanofiberlerin kayıp miktarı %4.1 çıkmıştır. Bunun nedeni, PCL nanofiberlerdeki Ag nanopartiküllerinin, nanoliflerin içindeki PBS'nin sızmasını ve nüfuz etmesini önlemesidir.

İçerisine eAgNP katılmış PCL naofiberlerin bozulması ile saf PCL nanofiberlerin ve saf AgNP ilave edilmiş PCL nanopartiküllerin bozulmasını kıyaslayacak olursak eAgNP eklenmiş

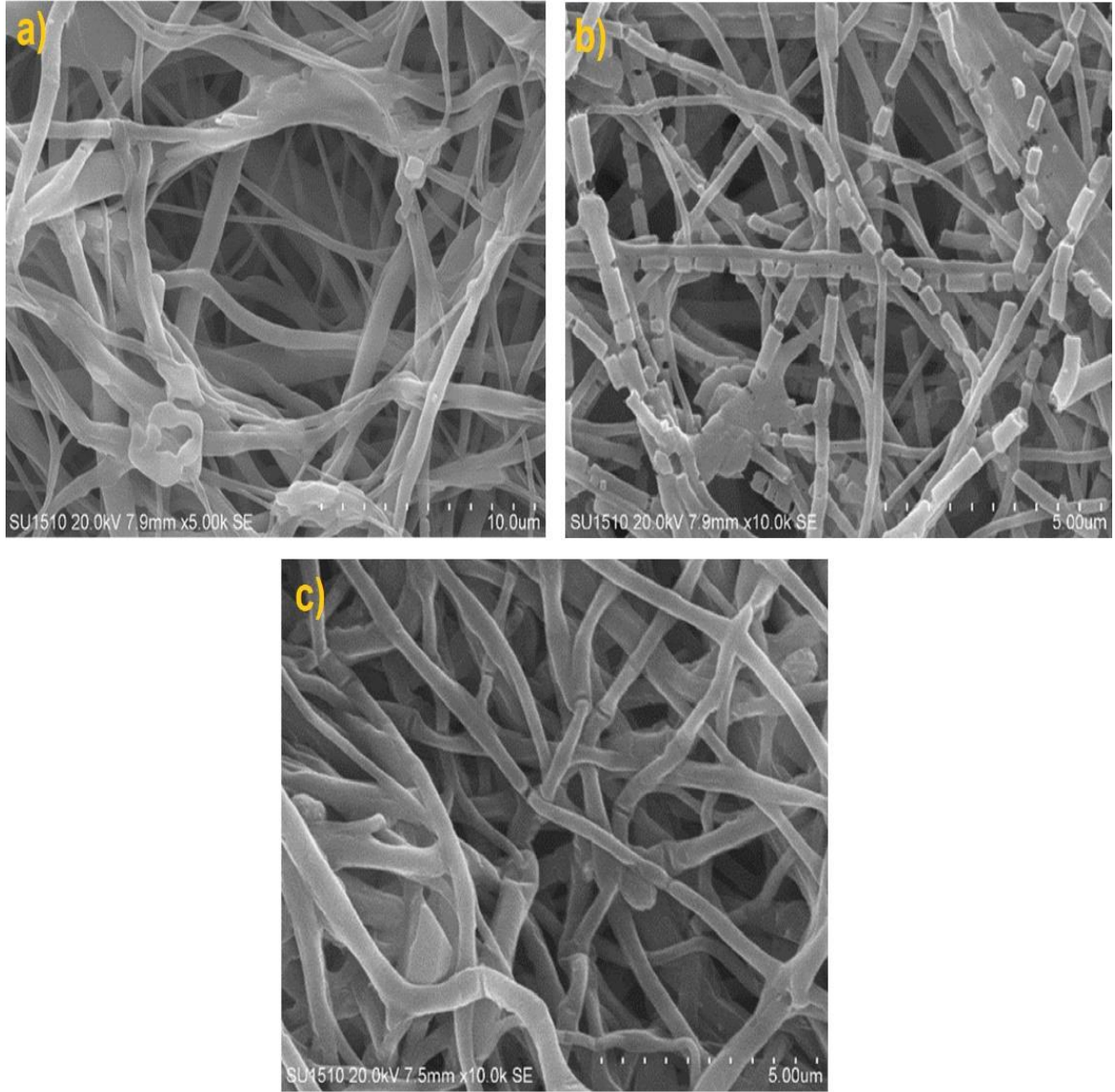
PCL nanofiberlerin biyobozulmasının çok hızlı ve fazla olduğunu görülmektedir. eAgNP eklenmiş nanofiberlerin 18 hafta sonundaki bozulma oranı saf PCL nanopartiküllerin bozulma oranlarından %400 daha fazla olurken saf AgNP katılmış PCL nanofiberlerin bozulma oranından %566 daha fazla çıkmıştır. Bu kadar yüksek çıkmasının sebebi eAgNP ile modifiye edilmiş PCL nanofiberlerin tabiatına bağlıdır. PCL termoplastik bir polimerdir. İçerisindeki ve AgNP'lerin etrafında atropa belladonna molekülleri vardır. Atropa belladonna molekülleri organik molekül olup içeriğinde alkolaid atropin ve skopolamin bulunmaktadır.

Diğer taraftan PCL polimerin içerisindeki eAgNP'ler ile arasında PCL polimeri arasında herhangi bir kimyasal bağ oluşmamıştır, ancak mekanik bağ vardır. Yani AgNP'lerin etrafındaki atropa belladonna molekülleri ile PCL arasında zayıf bir bağ vardır. pH değeri 7.4 olan PBS çözeltisinin sulu ortamı PCL nanofiberlerin içerisine nüfuz edince AgNP'lerin etrafındaki atropin molekülleriyle reaksiyona girerek onu eritmektedir. Böylece su molekülleri PCL ile AgNP arasında oluşan boşluğu doldurmaktadır. Böylece eAgNP ile modifiye olmuş PCL nanofiberlerin biyobozulmaları hızlanmıştır.

Sonuç olarak eAgNP katkılı PCL nanofiberlerin bozulmaları diğer iki grup PCL nanofiberlerle kıyaslanınca atropa belladonna moleküllerinin diğer PCL nanofiberlerden daha hızlı bozulmasına sebep olduğu söylenebilir. Saf PCL nanofiber ve gümüş nanopartiküllerle modifiye edilmiş PCL nanofiberlerin 18 hafta sonundaki bozulma sonucundaki nanofiberlerin SEM görüntüleri şekil 4.12'de verilmiştir. Nanofiberlerin genel durumuna bakıldığında nanofiberlerin yüzeylerinin düzgün olduğu söylenebilir.

PBS içerisinde 18 haftalık bekletme süresinden sonunda saf PCL nanoliflerinin ve eAgNP katkılı PCL nanoliflerin içerisine PBS'nin nüfuz ederek önemli ölçüde şiştiğini ve fiberlerin birbirine yapışmış olduğu görülmektedir. Enkapsüle gümüş nanopartiküllerin eklendiği PCL nanoliflerde ara sıra kopmalar ve kısalmaların meydana gelmiştir (Şekil 4.12c).

Diğer taraftan, Şekil 4.12b'de saf AgNPs katkılı PCL nanoliflerinin PBS'nin etkisiyle şişmesinin ve birbirine yapışmasının düşük olduğunu, ancak liflerde daha fazla kırılma meydana geldiğini göstermektedir. Bu liflerdeki kırılmaların, Ag nanopartiküllerin bulunduğu yerlerde ortaya çıktığı düşünülmektedir.



Şekil 4.12: PCL nanofiberlerin 18 hafta sonunda bozulmalarının SEM görüntüleri, a) saf PCL nanofiberler, b) saf AgNP ilaveli PCL nanofiberler, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberler

4.9. ŞİŞME TESTİ SONUÇLARI

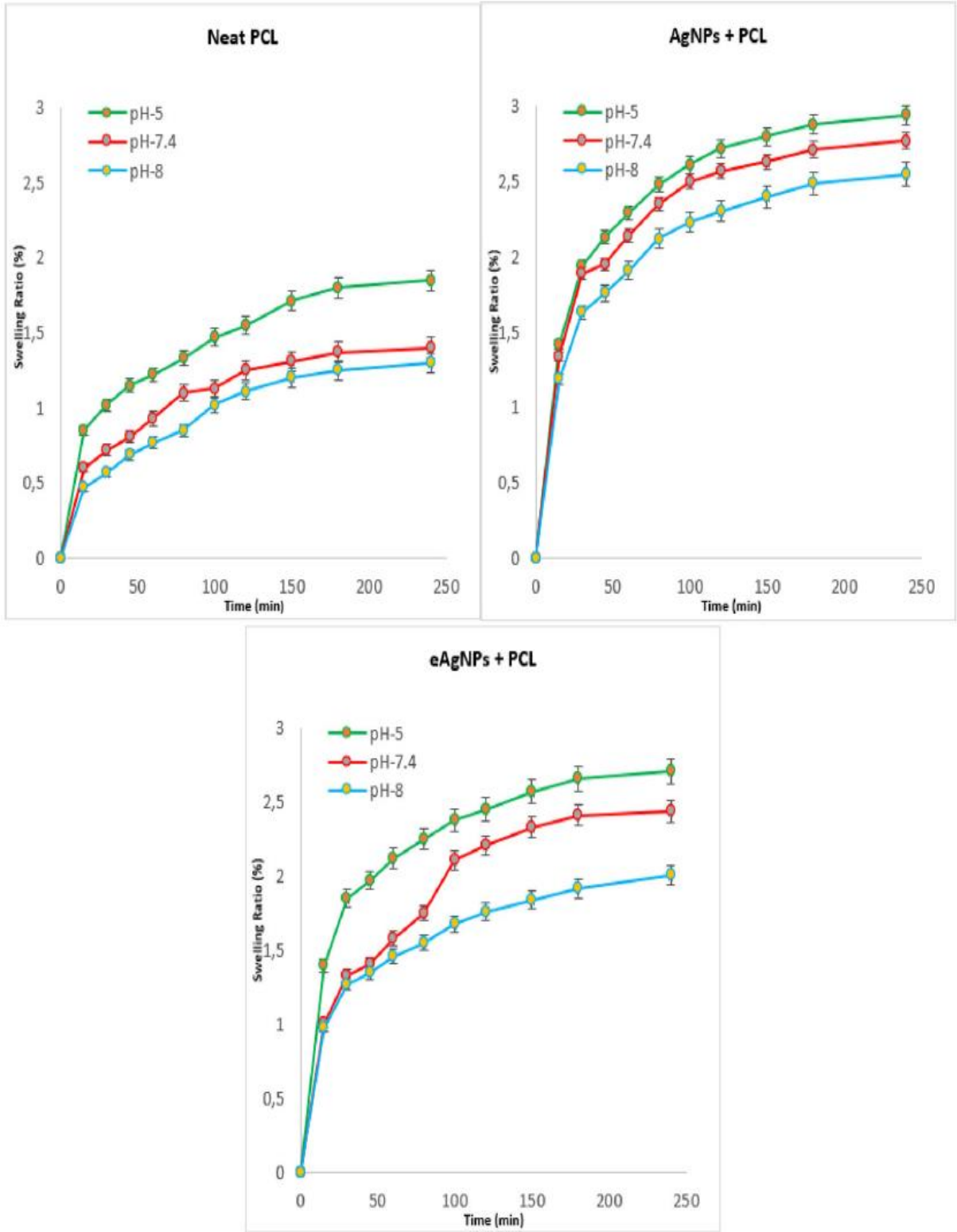
Çevresel koşullar şişme davranışını etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Yapısına AgNP'ler ve eAgNP'ler katılmış PCL nanolifleri ile katkısız PCL nanolifleri, farklı pH değerlerinde (pH = 5, pH = 7,5 ve pH = 8) PBS'ye yerleştirildi ve zamana göre şişme değerleri not edildi.

Şişme analizi sonunda en yüksek şişme değerlerinin yapısına AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerinde olduğu ve buna en yakın şişme değerleri içerisine atropa belladonna ile enkapsüle edilmiş AgNP'lerin katıldığı PCL nanofiberlerinde elde edilmiştir. En düşük

değerlerin elde edildiği katkısız PCL nanofiberlerin hidrofilik yapısının ve göreceli olarak daha az gözenekli olmasının bu sonuca etki ettiği düşünülebilir.

Şekil 4.13'te yer alan grafikte de görülebileceği üzere tüm pH değerleri için yapısına AgNP ve eAgNP katılmış PCL nanofiberlerin katkısız PCL nanofiberlere göre daha hızlı yükselen şişme oranı göstermiştir. Bununla beraber tüm numunelerde şişme oranı 0-60 dakika arasında hızla yükseldikten sonra, PBS içerisine konulmalarından yaklaşık 180 dakika sonra stabilize bir hale gelmiştir. İlk 1 saat içerisinde yapısına AgNP ve eAgNP katılmış PCL nanofiberlerin, katkısız PCL nanofiber numunelerine göre daha fazla şişmesinin ve stabilize olduktan sonra da görece olarak daha fazla sıvıyı barındırmasının nedeninin nanopartükül katılarak modifiye edilmiş nanofiberlerin yüzey pürüzlülüğünün artması yani daha fazla porlu (gözenekli) bir yapıya dönüşmesi ve buna bağlı olarak hidrofilik özelliğinin artması olduğu bu nedenle yapısında daha fazla sıvı tutma potansiyeline sahip malzemeler oldukları söylenebilir.

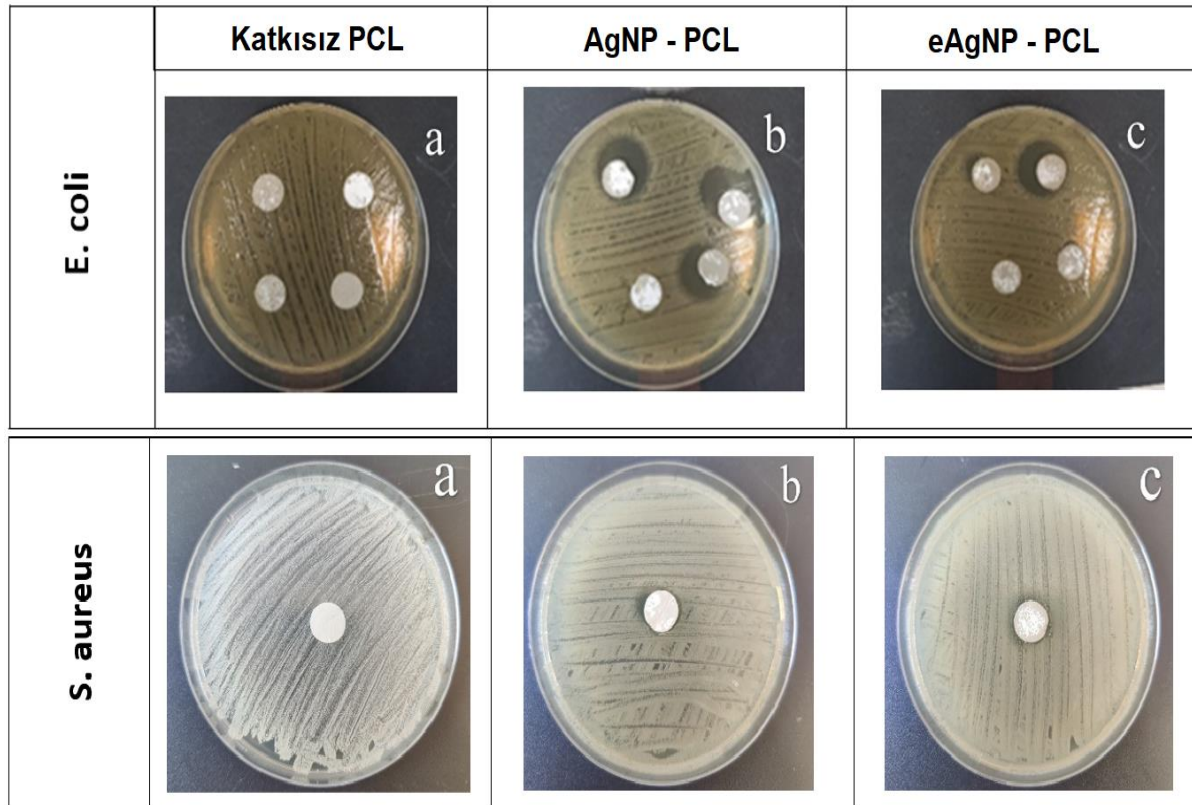
Bunun yanı sıra, pH değerinin düşmesi ile tüm numune tiplerinde şişme oranının yükseldiği görülmüştür. Bunun sebebinin asidik bir ortamdaki güçlü elektrostatik kuvvetlerden kaynaklandığı düşünülebilir [183]. Numunelerin zamana göre şişme oranlarının sonuçları Şekil 4.13'de verilmiştir.



Şekil 4.13: Farklı pH koşullarında nanofiber numunelerinin şişme oranları, a) katkısız PCL nanofiberler, b) AgNP katılmış PCL nanofiberleri ve c) eAgNP katılmış PCL nanofiberleri.

4.10. ANTİBAKTERİYEL TEST SONUÇLARI

Antibakteriyel özellik yara giydirmeye başta olmak üzere birçok biyomalzeme için önemli bir kriterdir. Bu çalışmada üretilen katkısız PCL nanofiberlerinin, AgNP içeren PCL nanofiberlerinin ve eAgNP içeren PCL nanofiberlerinin antibakteriyel özelliklerini analiz etmek amacıyla hem gram-negatif *E.coli* bakterileri hem de gram-pozitif olan *S.aureus* bakterileri kullanılmıştır. Agar plakası üzerindeki temiz alan yarıçapı her üç numune için de ölçülmüş ve bakteri türlerine göre şekil 4.14’de verilmiştir.



Şekil 4.14: *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı nanofiber numunelerin testleri a) katkısız PCL, b) AgNP eklenmiş PCL, c) eAgNP eklenmiş PCL nanofiberleri.

Şekil 4.14a’da görüldüğü üzere, katkısız PCL nanofiberleri, aynı test koşulları altında hem gram-negatif hem de pozitif bakteriler için herhangi bir antibakteriyel aktivite sunmamaktadır.

Ağırlıkça %1.0 oranında saf AgNP’ler eklenmiş PCL nanolifleri ve ağırlıkça %1.0 eAgNP’ler içeren PCL nanolif membralarının *E. coli*’ye karşı inhibisyon bölgeleri sırasıyla ortalama 19.2mm ve 16.6mm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.14b ve 4.14c). *E.coli* bakterileri için, eAgNP eklenmiş PCL membranı, saf AgNPs eklenmiş PCL nanoliflerinden daha küçük bir inhibisyon bölgesi göstermiştir, çünkü eAgNPs eklenen PCL membranındaki Ag

nanopartiküllerinin etrafındaki atropa belladonna molekülleri, gümüşün antibakteriyel özelliklerini azaltmıştır. Buna rağmen, *E.coli* inhibasyon bölgeleri, eAgNP'lere sahip PCL nanoliflerinin, saf AgNP'ler içeren PCL nanoliflerine yakın antibakteriyel özellik gösterdiği ve bakteri üremesini etkili bir şekilde engelleyebileceğini göstermektedir. Öte yandan, gram pozitif test sonuçlarına göre, nanolif örneklerinin hiçbiri *S.aureus*'a karşı önemli antibakteriyel özellikler göstermedi. Ancak AgNP ve eAgNP içeren PCL nanofiberlerin sırasıyla 13,1 mm ve 12.2 mm inhibasyon bölgelerine sahip olması, katkısız PCL nanoliflerine kıyasla *S.aureus*'a karşı az da olsa daha fazla antibakteriyel davranışa sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, hem AgNP'lerin hem de eAgNP'ler eklenmiş PCL nanoliflerin gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesini geliştirdiği sonucuna varabiliriz.

4.11. MTT SİTOTOKSİSİTE ANALİZİ

HaCaT hücreleri ile MTT sitotoksosite testleri yapılmış ve PCL nanoliflerinin yapısına gümüş nanopartiküllerin eklenmesinin materyalin biyouyumluluğunu in vitro olarak değiştirip değiştirmediği gözlemlenmiştir. Ayrıca gümüş nanopartiküllerin atropa belladonna özü ile kaplanıp farklı konsantrasyonlarda PCL nanofiber yapısına eklenmesiyle biyouyumluluğun nasıl değiştiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, inkübasyon süresinin numunelerin in vitro hücre canlılık karakterine etkisini görmek için birinci ve üçüncü gün sonunda sitotoksosite yüzdesindeki değişim karşılaştırılmıştır.

MTT kolorimetrik analizine göre, eAgNP eklenmiş PCL nanofiber numunelerinin hücre toksisitesi hem katkısız PCL nanofiberlerden hem de AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerden daha düşük çıkmıştır. Üstelik bu sonuç hem bir günlük inkübasyon süresinde hem de üç günlük inkübasyon deneyinde aynı sonucu vermiştir. Buradan yola çıkarak atropa belladonna eklenmiş gümüş nanopartikül içeren PCL nanofiberlerin HaCaT hücreleri ile uyumunun katkısız PCL ve AgNP eklenmiş PCL numunelerinden daha yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

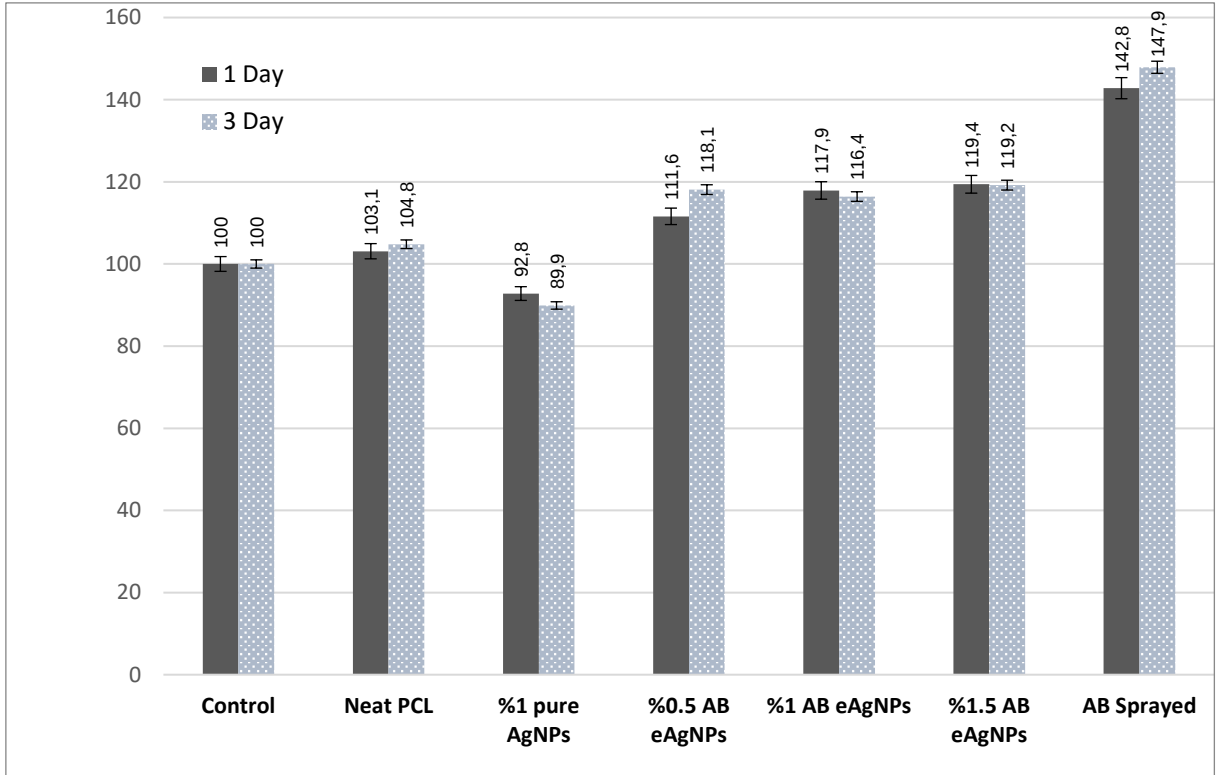
eAgNPs katkılı PCL'nin daha fazla hücre canlılığına sahip olmasının bazı nedenleri şunlar olabilir; eAgNPs katkılı PCL numuneleri saf PCL'den daha hidrofiliktir, Ag nanopartiküllerin yüzeyi kaplanarak AgNP'lerin toksik özellikleri azalmıştır ve atropa belladonna'nın yapısındaki radikal gruplar hücre proliferasyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Diğer taraftan birinci ve üçüncü gün sonunda hücre canlılık ortalamaları alındığında, %0,5, %1 ve %1,5 oranlarında eAgNP eklenmiş PCL nanofiber numuneleri arasında her ne

kadar konstrasyonun artması ile hücre canlılığında çok az artış olmuş olsa da, ciddi bir fark görülmemiştir.

Tüm numuneler içerisinde hem birinci hem de üçüncü inkübasyon günü sonunda AgNP katılmış PCL nanofiberleri en kötü hücre canlılığı gösteren numuneler olmuştur. Dahası, inkübasyon süresinin uzaması hücre toksisitesinin artmasında ve hücre canlılığının azalmasında biraz da olsa etkili olmuştur. AgNP katkılı PCL numunelerinin HaCaT hücrelerine karşı bir miktar toksisite göstermesinin ana nedenlerinin sitokin indüksiyonu, DNA hasarı ve oksidatif stres olabileceği düşünülebilir.

Atropa belladonna bitkisinin hücre canlılığına etkisini daha iyi anlamak için hazırlanan PCL nanofiberlerinin atropa belladonna spreyi ile kaplanmış numunelerin analizinde en yüksek hücre canlılığını oluşturduğu görülmüştür.

Yapılan MTT analizinde inkübasyon süresinin numunelerin hücre canlılığında radikal bir değişim oluşturmadığı görülmüştür. Bu bakımdan tüm nanofiber numunelerinin hücre toksisite karakterlerini bir günlük inkübasyon süresi içerisinde göstermiş olduğu ve inkübasyon süresinin uzamasıyla aynı karakterizasyonu göstermeye devam ettikleri söylenebilir. İnkübasyon süresinde numune davranışının değişmemesi tutarlı bir sonuç vermiştir. Bununla beraber numuneler arasında en yüksek toksisiteyi gösteren saf AgNP eklenmiş PCL nanofiber numunelerinin inkübasyon süresinin uzamasıyla gösterdiği toksisiteyi artırması ve numuneler arasında en yüksek hücre canlılığı gösteren atropa belladonna ekstresi ile yüzeyi spreylene PCL nanofiberlerinin gene inkübasyon süresinin artması ile hücre canlılığını artırması, malzemelerin karakterine uygun hareket ettiğini göstermektedir. Bir günlük ve üç günlük inkübasyon sonunda numunelerin hücre canlılığını gösterir grafik şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.15: HaCaT hücrelerine karşı numunelerin 1 günlük ve 3 günlük inkübasyon sonrası MTT hücre canlılık testi sonuçları.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında, düzensiz küresel biçimli gümüş nanopartikülleri atropa belladonna bitki ekstresi ile verimli ve uyarlanabilir bir yöntem olan yeşil sentezleme ile kaplanmıştır. Yeşil sentez kaplamasında doğru oranı yakalamak için UV-vis spektroskopi analizleri kullanılarak ve 1ml atropa belladonna ekstresi, 1 ml 0.1 M AgNO_3 çözeltisi ile 8 ml deiyonize su karışımının ideal oranlar olduğu belirlenmiştir. Yeşil sentezleme sonrasında eAgNP'lerin karakterizasyonu yapıldı. Sonuçlar Anandalakshmi ve diğ. [178] yaptığı çalışmalar gibi mevcut çalışmalarla kıyaslanmış ve TEM ve SEM analizlerinde gümüş partiküllerin başarılı bir şekilde kaplandığı, bazı gümüş nanopartiküllerinin yer yer biriktiği olduğu görülmüştür. EDX analizleri ile kaplanmış numunelerin kimyasal analizleri incelenmiş ve bu analiz sonuçları da başarılı bir yeşil sentezlemenin gerçekleştiğini desteklemektedir. Yine morfolojik analizler ile kaplanmış gümüş nanopartiküllerin çaplarının 5-15 nm arasında ve 16nm ortalamaya sahip olduğu görülmüştür. Bütün bu sonuçlar zor olmayan ve verimli bir yol olan yeşil sentezleme metodunun atropa belladonna bitkisi ile gümüş nanopartikül kaplanmasında etkin bir metot olduğu ve deneyler sonucunda takip edilen protokolün doğru olduğunu göstermektedir.

PCL nanofiberlerini üretmek için Armentano ve diğ. [167] çalışmasında belirttiğine benzer şekilde çözücü olarak kloroform ve DMF solüsyonu kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda çözücü kullanılmış ve elde edilen nanofiber membranlarının SEM görüntüleri alınmıştır. Bu analizler ile en ideal çözücü oranının %50 kloroform ve %50 DMF solüsyonu olduğu görülmüştür. Bu oran kullanılarak PCL nanofiberleri çözülmüş ve solüsyonun içerisine enkapsüle edilmiş Ag nanopartikülleri eklenmiştir. Elde edilen homojen PCL çözeltisi elektrospın yönteminde solüsyon olarak kullanılmıştır.

İçerisine atropa belladonna eklenmiş PCL nanofiberleri özgün bir malzeme olduğu için literatürde elektrospın işleminde kullanılacak parametreler birebir olarak bulunmamaktadır. Ancak diğer çalışmalarda bulunan, gümüş nanopartikül içeren PCL nanofiberleri üretiminde kullanılan elektrospın parametreleri değerlendirilmiştir. Buna rağmen, iğne-kollektör arasındaki mesafe, gerilim ve solüsyon akış hızı gibi parametreler için ideal değerler bu proje içerisinde deneysel çalışmalar ile belirlenmiştir.

Üretilen naofiberlerin morfoloji değerlendirmeleri SEM ve TEM analizleri ile yapılmıştır. eAgNP ve AgNP'lerin PCL nanofiber yapısının içerisine gömüldüğü, ara sıra birikme (agglomerasyon) sergilediği ancak genel anlamda nanofiber içerisinde homojen olarak dağıldığı ve malzemelerin başarılı bir nanofiber yapısı sergilediği görülmüştür. Bunun yanı sıra, hem AgNP hem de eAgNP içeren PCL nanofiberlerin literatürdeki benzer çalışmalara uygun şekilde fiber çap ortalamasına (275 nm ve 260 nm) sahip olduğu ve bu özelliğinin yanı sıra, porlu yapısı ile geniş yüzey alanı sayesinde birçok biyomalzeme uygulamasına uygun olacağı ön görülmüştür [184-187]. Yine, morfolojik incelemeler, her tür nanofiber membranın spagetti benzeri rastgele dağılmış, sürekli ve pürüzsüz nanofiber yüzeyine sahip olarak üretildiğini göstermiştir. Bu özelliğe sahip nanofiber membranların yara iyileşmesinde kullanılabileceği öngörülebilir.

FTIR analizindeki eAgNP eklenmiş PCL nanofiber numunelerinin spektrumlarında farklı fonksiyonel gruplara ait karakteristik FTIR spektrumu pikleri gümüş nanopartiküllerin atropa belladonna bitkisi ile kaplandığını göstermektedir. Benzer sonuçlar Das ve diğ. [67] tarafından da yaptıkları farklı bir çalışmada görülmüştür. XRD analizi sonuçlarının literatürdeki benzer çalışmalar ile kıyaslandığında, gümüş XRD piklerinin yanında eAgNP eklenmiş numunelerdeki 21.5°'de, 29.7°'de, 32.9°'de ve 36.4°'deki piklerin gümüşlerin çevresini kaplayan atropa belladonna bitkisinin çeşitli organik ve fotokimyasal birleşiklerinin varlığı nedeniyle oluşmuş olduğu düşünülmektedir [67,178]. FTIR ve XRD analizleri PCL nanofiber yapısındaki eAgNP varlığını doğrulamaktadır.

Çekme testleri, nanopartikül eklemenin PCL nanofiber yapısının mekanik özellikleri üzerinde önemli bir pozitif etkiye sahip olduğunu göstermektedir. %1.0 saf AgNP'lerin ve %1.0 eAgNP'lerin PCL nanoliflerine başarılı bir şekilde dahil edilmesi, saf PCL nanoliflerinin gücünü sırasıyla %75.0 ve %36.1 artırdı. Öte yandan, AgNP'lerin katılanması, benzer bir etkiyle, saf PCL nanofiber membranın elastisite modülünü %133,48 ve %102,32 oranında arttırmıştır. Saf AgNP'lerin ve eAgNP'lerin eklenmesi, PCL nanofiber membranların morfolojisi, fonksiyonel özellikleri ve mekanik stabilitesi ile ilgili olarak yara pansuman ve biyomedikal uygulamalar için en umut verici çalışmalardan biri olacaktır.

Ayrıca, ıslanabilirlik testleri sonuçlarına göre AgNP ve eAgNP'lerin PCL yapısına eklenmesi ile nanofiberlerin ıslanabilirliğinin arttığı yani daha fazla hidrofilik hale geldiği görülmüştür. Bu özellik sayesinde hidrofilik özelliğin arzulandığı yara giydirmeye gibi uygulamalarda PCL nanofiberin yapısının ve yüzey karakterizasyonunun bu şekilde modifiye

edilmesinin olumlu sonuçlar vereceği anlaşılmıştır. Benzer şekilde şişme test sonuçları, yapısına eAgNP ya da AgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin daha fazla sıvıyı yapısına alabileceği ve doğrudan vücut sıvısı ile temas eden uygulamalarda daha verimli olabileceği anlaşılmıştır.

Biyoçözünürlük test sonuçları eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin, katkısız PCL nanofiberlere ve yapısına AgNP eklenmiş nanofiberlere göre çok daha fazla biyoçözünür olduğunu göstermiştir. Bunun temel sebebinin eAgNP ile modifiye edilmiş PCL nanofiberlerin karakterinden kaynaklandığı söylenebilir. PCL termoplastik bir polimerdir. Yapısına eklenmiş AgNP'lerin etrafında organik atropa belladonna moleküllerinin (alkaloid atropin ve skopolamin gibi) bulunması PCL ile zayıf bağların oluşmasını sağlamıştır. PCL ile eAgNP'lerin arasında herhangi bir kimyasal bağ bulunmayıp, zayıf mekanik bağların oluşması biyoçözünürlüğün yüksek olmasında etkilidir. Bu özellik, vücut içerisinde ya da vücut ile temas halinde olduğu sırada çözünmesi istenilen birçok uygulama için eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerini çok uygun bir aday yapmaktadır.

E.coli bakterilerine karşı eAgNP içeren PCL nanofiberlerinin inhibisyon bölgesi, saf AgNP içeren PCL nanofiber membranlarınkinden daha küçük olmuştur. Çünkü Ag nanoparçacıklarının etrafındaki atropa belladonna molekülleri gümüşün antibakteriyel özelliklerini azaltmıştır. Ancak, eAgNP'lerin eklenmesinin PCL nanofiberlerine *E. coli*'ye karşı önemli düzeyde antibakteriyel özellikler sağladığı görülmüştür. Diğer taraftan yapısına AgNP ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin, katkısız PCL nanofiberlerine kıyasla gram-pozitif *S.aureus* bakterisine karşı az da olsa daha fazla antibakteri özelliği sergilediği görülmüştür. Bunun nedeninin sitokin indüksiyonu, DNA hasarı ve oksidatif stres olabileceği öngörülmektedir. eAgNP eklenmiş PCL numunelerinde ise enkapsülasyon ile gümüşün antibakteriyel etkisi kısmen azalmış olsa da, atropa belladonna içerisindeki başta atropin olmak üzere fonksiyonel gruplar nedeniyle katkısız PCL nanofiberlere göre daha yüksek antibakteriyel özellik sağladığı görülmüştür.

MTT hücre toksisite testleri in vitro ortamda bir malzemenin hücre tepkisini ölçmek amacıyla yapılan önemli bir analizdir. Yapılan analizde HaCaT hücrelerine karşı katkısız PCL ve AgNP eklenmiş PCL nanofiberlere kıyasla en az toksisiteyi yapısına eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin gösterdiği görülmüştür. Yine yapılan çalışmada en fazla toksik etkiyi AgNP eklenmiş PCL nanofiber numuneleri göstermiştir. Atropa belladonna bitki ekstraktının hücre canlılığına etkisini doğrudan ölçmek amacıyla PCL nanofiber yüzeyi atropa belladonna ekstresi spreyi ile kaplanmış ve bu şekilde hazırlanan numuneler MTT analizinde en yüksek hücre

canlılığını ortaya koymuştur. Bu analiz-net bir şekilde atropa belladonna ile kaplanmış bir nanofiber yüzeyinin hücre ile teması ile hücre canlılığının arttığını göstermiştir. Benzer bir şekilde eAgNP eklenmiş nanofiberlerin, katkısız PCL nanofiberlerine ve eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlere kıyasla daha yüksek in vitro hücre canlılığına sahip olmasının yapısındaki organik fonksiyonel gruplar sayesinde olduğu düşünülmektedir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen verilerin mevcut literatür çalışmaları ile kıyaslanması sonucunda, PCL nanofiberlerin sorunsuz bir şekilde üretildiği, AgNP'lerin ve atropa belladonna ile enkapsüle edilmiş AgNP'lerin PCL yapısına sorunsuz bir şekilde entegre olduğu, eAgNP ve AgNP eklemenin malzemenin mekanik ve hidrofilik özelliklerini artırdığı görülmüştür. Bunların yanı sıra eAgNP'lerin eklenmesinin AgNP'lere kıyasla daha yüksek biyoçözünürlük kazandırdığı ve bunun birçok uygulamalarında ciddi fark yaratacak bir malzeme olduğu ön görülmüştür. Ayrıca eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin AgNP eklenmişlere kıyasla daha düşük antibakteriyel özelliklere sahip olsa da, çok daha yüksek hücre canlılık ve düşük toksisite özelliklerine sahip olması nedeniyle optimum bir malzeme uygulamasında, AgNP eklenmiş PCL nanofiberlere kıyasla eAgNP eklenmiş PCL nanofiber malzemesinin çok daha üstün biyolojik özellikler sergilediği görülmüştür. Bütün bunlar eAgNP eklenmiş PCL nanofiberlerin yara giydirmeye başta olmak üzere birçok alanda üstün bir biyomalzeme adayı olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile özgün bir malzeme olarak; atropa belladonna (güzel avrat otu) ekstresi ile yeşil sentez metodu ile kaplanmış gümüş nanopartiküllerin polikaprolakton (PCL) içerisine katılarak elektrospin yöntemi ile nanofiber üretimi ve üretilen bu malzemenin potansiyel yara giydirmeye ve benzeri biyomalzeme uygulamaları için karakterizasyonu yapılmıştır. Yapılan çalışmada özgün eAgNP içeren PCL nanofiberlerinin morfolojik ve kimyasal testleri ile başarılı bir şekilde üretildiği ortaya konmuştur. Yine üretilen malzemenin mekanik özelliklerinin ve biyoçözünür özelliklerinin gelişmiş olduğu, biyoçözünür malzemelerin kullanılmak istendiği deri altı ya da üstü yara giydirmeye gibi uygulamalarda kullanılabilir olduğu düşünülmüştür. Bunların yanı sıra, malzemenin antibakteriyel özellik sağlaması açık yara dokularının korunması uygulamalarında elverişli bir yapıda olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bu özgün malzemenin in vitro hücre toksisitesinin düşük olması ve hücre canlılığını ve proliferasyonunu artırması doku iyileştirme uygulamalarında kullanılabilir bir aday malzeme olduğunu ortaya koymaktadır. İleride bu özgün malzemenin in vivo test çalışmaları ile canlı içerisindeki performansının anlaşılması malzemenin hem uygulama alanının geliştirilmesi hem de biyoyumluluğunun daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1]. Parida, U., Bindhani, B., 2011, Nayak, P., Green synthesis and characterization of gold nanoparticles using onion (allium cepa) extract; *World Journal of Nano Science and Engineering*, 1(4), 93-98.
- [2]. Rao, K.J. and Paria, S., 2015, Aegle murelos leaf extract and plant surfactant mediated green synthesis of Au and Ag nanoparticles by optimizing process parameters using takuchi method, *ACE Sustainable Chemistry and Engineering*, 3(3), 483-491.
- [3]. Boisselier, E. and Astruc, D., 2008, Gold nanoparticle in nonmedicine-preparation, imaging, diagnostic, therapies and toxicity, *Chemical Society Reviews*, 38(6), 1759-1782.
- [4]. Victor, S.M. and Alfredo R.V.N., 2012, *Green synthesis of noble metal (Au, Ag, Pt) nanoparticles; assisted by plant-extracts*, Noble Metals, In: Su, Y., Chapter 18, Intech Open, 391-408.
- [5]. Narayanan, K.B. and Sakthivel, N., 2011, Facile green synthesis of gold nanoparticles by NADPH-dependent enzymes from the extract of sclerotium rolfisii, *Colloids and surfaces A Physiological and engineering Aspects*; 380 (1-3), 156-161.
- [6]. Dhanasekar, N.N., Rahul, G., Narayanan, K.B., et al., 2015, Green chemistry approach for the synthesis of gold nanoparticle using fungus Alternaria sp, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (7), 1129-1135.
- [7]. Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R.D., et al., 2011, Synthesis of nanoparticle by microorganisms and their application in enhancing microbiological reaction rates; *Chemosphere*, 82(4), 489-494.
- [8]. Chung, I.M., Park, I., Seung-Hyun, K., et al., 2016, Plant mediated synthesis of silver nanoparticles-their characteristic properties and therapeutic application, *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 1-14.
- [9]. Vijay-Kumara, P.P.N., Pammib, S.V.N, Kolluc, P., et al., 2014, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their anti bacterial activity, *Industrial Crops and Products*, 2014(52), 562-566.
- [10]. Narayanan, K., Badri, V., Park, H., 2014, Antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using turnip leaf extract (Brassica rapa L.) against wood rotting pathogens, *European journal of plant pathology*, 140 (2), 185-192.
- [11]. Dutta, P.P., Bordoloi, M., gogo, K., et al., 2017, Antimalarial silver and gold nanoparticles: Green synthesis, characterization and in vitro study, *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 2017 (91), 567-580.
- [12]. Velayutham, K., Rahuman, A.A., Govindasamy, R., et al., 2013, Larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using bark aqueous extract of Ficus racemosa against Culex quinquefasciatus and Culex gelidus, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*; 6(2), 95- 101.

- [13]. Palanivel, S., Johnson, P., Raji, V., et al., 2016, Anti-acne, anti-dandruff and anti-breast cancer efficacy of green synthesised silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract, *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology*, 2016(163), 69–76.
- [14]. Ponarulselvam, S., Panneerselvam, C., Murugan, K., et al., 2012, Synthesis of silver nanoparticles using leaves of *Catharanthus roseus* Linn. G.Don and their antiplasmodial activities, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(7), 574-580.
- [15]. Kummara, S., Patil, M.B., Uriah, T., 2016, Synthesis, characterization, biocompatible and anticancer activity of green and chemically synthesized silver nanoparticles - A comparative study, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2016(84), 10-21.
- [16]. Balamurugan, M., Sami, N.R., 2014, Characterization of coriander sativum mediated silver nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and wound healing activity, *IOSR Journal of Polymer and Textile Engineering*, 1(2), 22-25.
- [17]. Eby, D.M., Luckarift, H.R., Johnson, G.R., 2009, Hybrid antimicrobial enzyme and silver nanoparticle coatings for medical instruments, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 1(7), 1553-1560.
- [18]. Saha, J., Begum, A., Mukherjee, A., et al., 2017, A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye, *Sustainable Environment Research*, 27(5), 245-250.
- [19]. Khalil, M.M.H., Ismail, E.H., El-Baghdady, K.Z., Mohamed, D., 2014, Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity, *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1131-1139.
- [20]. Patra, S., Mukherjee, S., Barui, A.K., et al., 2015, Green synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics, *Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications*, 2015(53), 298-309.
- [21]. Talukdar, S. and Hossain, M., 2014, Phytochemical, Phytotherapeutical and Pharmacological Study of *Momordica dioica*, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-12.
- [22]. Bollavarapu, A., Rapaka, G., Tamanam, R., 2016, Phytochemical evaluation and antioxidant potential of *Praecitrullus fistulosus* fruit extracts, *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 10(9), 23-28.
- [23]. Parmar V. and Sharma, S., 2000, Novel constituents of *Gardenia species*, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 59, 893-903.
- [24]. Wright, K., Pike, O., Fairbanks, D., et al., 2002, Composition of *Atriplex hortensis*, Sweet and Bitter *Chenopodium quinoa* Seeds, *Journal of food science*, 2002(67), 1383-1385.
- [25]. Rim, N.G., Shin, C.S., Shin, H., 2013, Current approaches to electrospun nanofibers for tissue engineering, *Biomedical Matererials*, 8(1), 014102.
- [26]. Mitragotri, S., Anderson, D.G., Chen, X., et al., 2015, Accelerating the translation of nanomaterials in biomedicine, *ACS Nano*, 2015(9), 6644-6654.
- [27]. Jiang, L., Jiang, Y., Stiadle, J., et al., 2019, Electrospun nanofibrous thermoplastic polyurethane-poly (glycerol sebacate) hybrid scaffolds for vocal fold tissue engineering applications, *Material Science and Engineering C*, 94, 740-749.

- [28]. Bolgen, N., Vargel, I., Korkusuz, P., et al., 2010, In vivo performance of antibiotic embedded electrospun PCL membranes for prevention of abdominal adhesions, *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 81(2), 530-543.
- [29]. Okuda, T., Tominaga, K. and Kidoaki, S., 2010, Time-programmed dual release formulation by multilayered drug-loaded nanofiber meshes, *Journal of Controlled Release*, 143(2), 258-264.
- [30]. Kim, K., Luu Y.K., Chang, C., et al., 2004, Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. *Journal of Controlled Release*, 98(1), 47-56.
- [31]. Xu, X.L., Chen, X., Wang, Z., et al., 2009, Ultrafine PEG-PLA fibers loaded with both paclitaxel and doxorubicin hydrochloride and their in vitro cytotoxicity, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(1), 18-25.
- [32]. Xie, J. and Wang, C.H, 2006, Electrospun micro- and nanofibers for sustained delivery of paclitaxel to treat C6 glioma in vitro, *Pharmaceutical Research*, 23(8), 1817-1826.
- [33]. Ignatious, F., Sun, L., Lee, C.P., et al., 2010, Electrospun Nanofibers in Oral Drug Delivery, *Pharmaceutical Research*, 27(4), 576-588.
- [34]. Patel, S., Kurpinski, K., Quigley, R., et al., 2007, Bioactive nanofibers: Synergistic effects of nanotopography and chemical signaling on cell guidance, *Nano Letters*, 7(7), 2122- 2128.
- [35]. Kim, T.G. and Park, T.G., 2006, Surface Functionalized Electrospun Biodegradable Nanofibers for Immobilization of Bioactive Molecules, *Biotechnology Progress*, 22(4), 1108-1113.
- [36]. Qi, H., Hu, P., Hu, J., et al., 2006, Encapsulation of drug reservoirs in fibers by emulsion electrospinning: Morphology characterization and preliminary release assessment, *Biomacromolecules*, 7(8), 2327-2330.
- [37]. Ji, W., Yang, F., Baucke J.J.P., et al., 2010, Fibrous scaffolds loaded with protein prepared by blend or coaxial electrospinning, *Acta Biomaterialia*, 6(11), 4199-4207.
- [38]. Yan, S., Xiaoqiang, L., Lianjiang, T., et al., 2009, Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone) electrospun nanofibers for encapsulating and sustained releasing proteins, *Polymer*, 50(17), 4212-4219.
- [39]. Lee, J.H., Hwang, E.T., Kim, B.C., et al., 2007, Stable and continuous long-term enzymatic reaction using an enzyme-nanofiber composite, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(6), 1301-1307.
- [40]. Zhu, Y., Leong, M.F., Ong, W.F., et al., 2007, Esophageal epithelium regeneration on fibronectin grafted poly(l-lactide-co-caprolactone) (PLLC) nanofiber scaffold, *Biomaterials*, 28(5), 861-868.
- [41]. Karbalaieimahi, A., Shahrousvand, M., Javadi, H.R., et al., 2017, Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells on polycaprolactone/gelatin bi-electrospun nanofibers. *Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications*, 78, 1195-1202.
- [42]. Hu, J., Tian, L., Prabhakaran, M.P., et al., 2016, Fabrication of nerve growth factor encapsulated aligned poly(ε-caprolactone) nanofibers and their assessment as a potential neural tissue engineering scaffold, *Polymers*, 8(2), 54.

- [43]. Augustine ,R., Nethi, S.K., Kalarikkal, N., et al., Electrospun polycaprolactone (PCL) scaffolds embedded with europium hydroxide nanorods (EHNs) with enhanced vascularization and cell proliferation for tissue engineering applications, *Journal of Materials Chemistry B*, 5(24), 4660-4672.
- [44]. Dsouza, A.A and Shegokar, R., 2016, Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(9), 1257-1275.
- [45]. Ranjbar-Mohammadi, M., Rabbani, S., Bahrami, S.H., et al., 2016, Antibacterial performance and in vivo diabetic wound healing of curcumin loaded gum tragacanth/poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers, *Materials Science and Engineering: C*, 69, 1183-1191.
- [46]. Baker, S.R., Banarjee, S., Bonin, K., et al., 2016, Determining the mechanical properties of electrospun poly- ϵ -caprolactone (PCL) nanofibers using AFM and a novel fiber anchoring technique, *Materials Science and Engineering: C*, 59, 203-212.
- [47]. Danafar, H., Davaran, S., Rostamizadeh, K., et al., 2014, Biodegradable m-PEG/PCL core-shell micelles: preparation and characterization as a sustained release formulation for curcumin, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(2), 501-510.
- [48]. Fanga, Y., Zhub, X., Wangb, N., et al., 2019, Biodegradable core-shell electrospun nanofibers based on PLA and γ -PGA for wound healing, *European Polymer Journal*. 2019;116:30-37.
- [49]. Hiep, N.T and Lee, B.T., 2010, Electro-spinning of PLGA/PCL blends for tissue engineering and their biocompatibility *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(6), 1969-1978.
- [50]. Chou, S. and Woodrow, K.A., 2017, Relationships between mechanical properties and drug release from electrospun fibers of PCL and PLGA blends, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 65, 724-733.
- [51]. Kim, C.H., Khil, M.S., Kim, H.Y., et al., 2006, An improved hydrophilicity via electrospinning for enhanced cell attachment and proliferation, *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 78(2), 283-290.
- [52]. Suganya, S., Ram, T.S., Lakshmi BS, et al., 2011, Herbal drug incorporated antibacterial nanofibrous mat fabricated by electrospinning: an excellent matrix for wound dressings, *Journal of Applied Polymer Science*, 121(5):2893-2899.
- [53]. Liu, J., Liu, J., Xu, H., et al., 2014, Novel tumor-targeting, self-assembling peptide nanofiber as a carrier for effective curcumin delivery, *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 187-207.
- [54]. Karami, Z., Rezaeian, I., Zahedi, P., et al., 2013, Preparation and performance evaluations of electrospun poly(ϵ -caprolactone), poly(lactic acid), and their hybrid (50/50) nanofibrous mats containing thymol as an herbal drug for effective wound healing, *Jornal of Applied Polymer Science*, 129(2), 756-766.
- [55]. Sampath, M., Lakra, R., Korrapati, P., et al., 2015, Curcumin loaded poly (lactic-co-glycolic) acid nanofiber for the treatment of carcinoma, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 117, 128-134.
- [56]. Hokmabad, V.R., Davaran, S., 2019, Aghazadeh M, et al. Effect of incorporating *Elaeagnus angustifolia* extract in PCLPEG-PCL nanofibers for bone tissue engineering, *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 13(1), 108-119.

- [57]. Xue, J., Xie, J., Liu, W., et al., 2017, Electrospun nanofibers: new concepts, materials, and applications, *Accounts of Chemical Research*, 50(8), 1976-1987.
- [58]. Wang, J. and Windbergs, 2017, M., Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 119, 283-299.
- [59]. Cui, W., Zhou, Y., Chang, J., 2010, Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery, *Science and Technology of Advanced Materials*, 11(1), 014108.
- [60]. Wei, Q.L., Xu, F.Y., Xu, X.J., et al., 2016, The multifunctional wound dressing with core-shell structured fibers prepared by coaxial electrospinning, *Frontiers of Materials Science*, 10(2), 113-121.
- [61]. Permyakova, E.S., Polcak, J., Slukin, P.V., et al., 2018, Antibacterial biocompatible PCL nanofibers modified by COOH-anhydride plasma polymers and gentamicin immobilization, *Materials & Design*, 153, 60-70.
- [62]. Rezk, A.I., Lee, J.Y., Son, B.C., et al., 2019, Bi-layered nanofibers membrane loaded with titanium oxide and tetracycline as controlled drug delivery system for wound dressing applications, *Polymers*, 11, 1602.
- [63]. Pant, B., Park, M., Park, S.J., 2019, Drug delivery applications of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: a review, *Pharmaceutics*, 11(7), 305.
- [64]. Rahman, K., Khan, S.U., Fahad, S., et al., 2018, In vitro biological screening of a critically endangered medicinal plant, *atropa acuminata* Royle Ex Lindl of north western Himalaya, *Scientific Reports*, 8(1), 11028.
- [65]. Rajput, S., Kumar, D., Agrawal, V., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using Indian *Belladonna* extract and their potential antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and larvicidal activities, *Plant Cell Reports*, 39(7), 921-939.
- [66]. Mehmood, A., Malik, A., Anis, I., et al., 2002, Highly oxygenated triterpenes from the roots of *Atropa acuminata*. *Natural Product Letters*, 16(6), 371-376.
- [67]. Das, P., Ghosal, K., Jana, K.N., et al., 2019, Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using belladonna mother tincture and its efficacy as a potential antibacterial and anti-inflammatory agent, *Materials Chemistry and Physics*, 228:, 10-317.
- [68]. Sharma, P., Kumar, P., Sharma, R., et al., 2019, Tissue engineering; current status and futuristic scope, *Journal of Medicine and Life*, 12(3), 225-229.
- [69]. Chen, F.M. and Liu, X., 2016, Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering, *Progress in Polymer Science*, 53, 86-168.
- [70]. Badylak, S.F., Brown, B.N., Gilbert, T.W., 2013, *Tissue Engineering with Decellularized Tissues*, Third Ed., Elsevier, doi:10.1016/B978-0-08-087780-8.00140-6.
- [71]. Chan, B.P. and Leong, K.W., 2008, Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations *European Spine Journal*, 17(4), 467-469.
- [72]. Politi, S., Carotenuto, F., Rinaldi, A., et al., 2020, Smart ECM-based electrospun biomaterials for skeletal muscle regeneration, *Nanomaterials*, 10(9), 1-19.
- [73]. Bruck, S.J.B., 1980, Problems and artefacts in the evaluation of polymeric materials for medical uses, *Biomaterials*, 1(2), 103-107.

- [74]. M'hamdi, L., M'hamdi, N., M'hamdi, N., 2013, *Cell adhesion to biomaterials: Concept of biocompatibility*, Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications, In: Pignatello, R., Intech Open, 207-240.
- [75]. Williams, D.F.J.B., 2008, On the mechanisms of biocompatibility, *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953.
- [76]. Kuhn, L.T., 2005, *Introduction to Biomedical Engineering*, Second Edition, Academic Press, 252-312.
- [77]. Jones, R.J. and Gibson, I.R., 2020, *Ceramics, glasses, and glass-ceramics: Basic principles, biomaterials science*, Biomaterials Science, In: Wagner, W., Elbert, S.S., Zhang, G., et al., Fourth Ed., Academic Press, 289-305.
- [78]. Huang, J. and Best, S., 2014, *Ceramic biomaterials for tissue engineering*, Tissue Engineering Using Ceramics and Polymers, In: Boccaccini, A.R. and M, P.X., Second Ed. Elsevier, 3-34.
- [79]. Chen, Q. and Thouas, G.A., 2015, Metallic implant biomaterials, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 87, 1-57.
- [80]. Staiger, M.P., Pietak, A.M., Huadmai, J., et al., 2006, Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review, *Biomaterials*, 27(9), 1728-34.
- [81]. Young, R.J. and Lovell, P.A., 2011, *Introduction to Polymers*, Third Ed., Chapter 1, CRC press, 4-7.
- [82]. Griffith, L.G., 2000, Polymeric biomaterials, *Acta Materialia*, 48(1), 263-277.
- [83]. Sell, S.A., Wolfe, P.S., Garg, K., et al., 2010, The use of natural polymers in tissue engineering: a focus on electrospun extracellular matrix analogues, *Polymers (Basel)*, 2(4), 522-553.
- [84]. Nair, L.S. and Laurencin, C.T., 2006, Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 102, 47-90.
- [85]. Mey, J., Brook, G., Hodde, D., et al., 2011, *Electrospun fibers as substrates for peripheral nerve regeneration*, Biomedical Applications of Polymeric Nanofibers, In: Leung, V. and Ko, F., Springer, 131-170.
- [86]. Mohanty, A.K., Misra, M., Hinrichsen, G., 2000, Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview, *Macromolecular Materials and Engineering*, 276(277), 1-24.
- [87]. Rezwan, K., Chen, Q.Z., Blaker, J.J. et al., 2006, Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 27, 3413-3431.
- [88]. Williams, D.F., 1999, *The Williams Dictionary of Biomaterials*, First Ed. Liverpool University Press, 343-345.
- [89]. Lau, K., Ho, M., Au-Yeung, C., et al., 2010, Biocomposites: Their multifunctionality, *International Journal of Smart and Nano Materials*, 1(2), 13-27.
- [90]. Javier, A.F., 2018, Nanofibrous membranes obtained by electrospinning for bone tissue engineering and wound dressing applications, Ph.D Thesis, Universidad de Zaragoza, Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente.

- [91]. Paul, W. and Sharma, C.P., 2015, *Classification of wound dressing products*, Advances in Wound Healing Materials: Science and Skin Engineering, In: Paul, W. and Sharma C.P., Smithers Rapra Technology, 49–60.
- [92]. Zhong, S.P., Zhang, Y.Z., Lim, C.T., 2010, Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction, *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(5), 510–525.
- [93]. Donaldson, K. and Stone V., 2003, Current hypotheses on the mechanism of toxicity of ultrafine particles, *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 39, 405–410.
- [94]. International Organization for Standardization, 2015, ISO/TS, 80004-1:2015 Nanotechnologies-Vocabulary, Part 1: Core terms, ISO.
- [95]. Chawia, V., Prakash, S., Sidhu, B.S., 2007, State of the art: Applications of mechanically alloyed Nanomaterials-A review, *Materials and Manufacturing Processes*, 22, 469–473.
- [96]. Arora, N., Sharma, N.N., 2014, Arc discharge synthesis of carbon nanotubes: Comprehensive review, *Diamond and Related Materials*, 50, 135–150.
- [97]. Ward, M.B., Brydson, R., Cochrane, R.F., 2006, Mn nanoparticles produced by inert gas condensation, *Journal of Physics: Conference Series*, 26, 296–299.
- [98]. Gurmen, S. and Ebin, B., 2008, Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1, *Metalurji Dergisi*, 150, 31–38.
- [99]. Zhang, X.F., Liu, Z.G., Shen, W., et al., 2006, Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1534.
- [100]. Braun, G.B., Friman, T., Pang, H.B., et al., 2014, Etchable plasmonic nanoparticle probes to image and quantify cellular internalization, *Nature Materials*, 13, 904–911.
- [101]. Shahverdi, A.R., Pharm, A.F., Shahverdi H.R. et al., 2007, Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3, 168–171.
- [102]. Newman, R. and Jasani, B., 1998, Silver development in microscopy and bioanalysis: past and present, *The Journal Pathology*, 186, 119–125.
- [103]. Ren, X., Meng, X., Chen, D., et al., 2005, Using silver nanoparticle to enhance current response of biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 433–437.
- [104]. Lateef, A., Ojo, S.A., Oladejo, S.M., 2016, Anti-Candida, Anti-Coagulant and thrombolytic activities of biosynthesized silver nanoparticles using cell-free extract of *Bacillus safensis* LAU 13, *Process Biochemistry*, 51(10), 1406–1412.
- [105]. Pingali, K.C., Rockstraw, D.A., Deng, S., 2005, Silver nanoparticles from ultrasonic spray pyrolysis of aqueous silver nitrate, *Aerosol Science and Technology*, 39, 1010–1014.
- [106]. Kale, A., Bao, Y., Zhou, Z., et al., 2013, Directed self-assembly of CdS quantum dots on bacteriophage P22 coat protein templates. *Nanotechnology*, 24, 045603.
- [107]. Song, J.Y. and Kim, B.S., 2009, Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts, *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 32(1), 79–84.

- [108]. Malik, P., Shankar, R., Malik, V., et al., 2014, Green chemistry based benign routes for nanoparticle synthesis, *Jornal of Nanoparticles*, 2014, 1-4.
- [109]. Chokkareddy R. and Redhi G.G., 2018, Green Synthesis of metal nanoparticles and its reaction mechanisms, *Green Metal Nanoparticles*, 2018, 113–139.
- [110]. Kale, A., Bao, Y., Zhou, Z., et al., 2013, Directed self-assembly of CdS quantum dots on bacteriophage P22 coat protein templates, *Nanotechnology*, 24(4), 045603.
- [111]. Moulton, B.C. and Fryer, A.D., 2011, Muscarinic receptor antagonists, from folklore to pharmacology; finding drugs that actually work in asthma and COPD, *British Journal of Pharmacology*, 163(1), 44-52.
- [112]. Gun, M. and Aytac, S., 2019, Güzel avrat otu (*Atropa belladonna* L.) genel özellikleri, *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(2), 50-57.
- [113]. Berdai, M.A., Labib, S., Chetouani K., et al., 2012, Case report-atropa belladonna intoxication: A case report, *Pan African Medical Journal*, 11(1), 72.
- [114]. Gupta, R.C., 2012, *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*, Vol. 2, Academic Press.
- [115]. Rita, P. and Datta, A.K., 2011, An updated overview on atropa belladonna L, *International Research Journal of Pharmacy*, 2(11), 11-17.
- [116]. Bharathi, S.K.V., Murugesan, P., Moses, J.A., et al., 2021, Recent trends in nanocomposite packaging materials, *Innovative Food Processing Technologies: A Comprehensive Review*, 2021, 731-755.
- [117]. Arthanari, S., Mani, G., Jang, J.H., et al., 2016, Preparation and characterization of gatifloxacin-loaded alginate/poly (vinyl alcohol) electrospun nanofibers, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(3), 847-852.
- [118]. Mankotia, P., Sharma, K., Sharma, V., et al., 2021, *Polymer and Ceramic-Based Hollow Nanofibers via Electrospinning*, Electrospun Nanofibers, In: Tiwari, S.K., Sharma, K., Sharma V., et al., Springer International Publishing, 223-250.
- [119]. Gilik C., 2020, *Karanfil özüt eklentili PLGA/gümüş nanopartikül nanofiberlerin yara iyileştirilmesi ve ilaç taşınımında uygulaması*, Master's Degree Thesis, Necmettin Erbakan Üniversitesi.
- [120]. Lerret, S.M., Weiss, M.E., Stendahl, G.L., et al., 2015, Pediatric solid organ transplant recipients: Transition to home and chronic illness care, *Pediatric Transplantation*, 19(1), 129, doi:10.1111/PETR.12397.
- [121]. Pereira, H., Frias, A.M., Oliveira, J.M., 2011, Tissue engineering and regenerative medicine strategies in meniscus lesions, *Arthroscopy*, 27(12), 1706-1719, doi:10.1016/J.ARTHRO.2011.08.283.
- [122]. Jiang, K., Eitan, A., Schadler, L.S., et al., 2003, Selective attachment of gold nanoparticles to nitrogen-doped carbon nanotubes, *Nano Letters*, 3(3), 275-277. <https://doi.org/10.1021/NL025914T>.
- [123]. Wu, J., and Meredith, J.C., 2014, Assembly of chitin nanofibers into porous biomimetic structures via freeze drying, *ACS Macro Letters*, 3(2), 185-190.

- [124]. Jiang, J., Carlson, M.A., Teusink, M.J., et al., 2015, Expanding two-dimensional electrospun nanofiber membranes in the third dimension by a modified gas-foaming technique, *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 1(10), 991-1001.
- [125]. Avci, M.O., Muzoglu, N., Yilmaz, A.E., et al., 2022, Antibacterial, cytotoxicity and biodegradability studies of polycaprolactone nanofibers holding green synthesized Ag nanoparticles using atropa belladonna extract, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1–24, <https://doi.org/10.1080/09205063.2022.2045665>.
- [126]. Rasouli, R., Barhoum, A., Bechelany, M., et al., 2019, Nanofibers for biomedical and healthcare applications, *Macromolecular Bioscience*, 19(2), <https://doi.org/10.1002/MABI.201800256>.
- [127]. He, W., Yong, T., Teo, W.E., et al., 2005, Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: potential vascular graft for blood vessel tissue engineering, *Tissue Engineering*, 11(9), 1574-1588, <https://doi.org/10.1089/TEN.2005.11.1574>.
- [128]. Toullec, C., Bideau, J., Geoffroy, V., et al., 2021, Curdlan-chitosan electrospun fibers as potential scaffolds for bone regeneration, *Polymers*, 13(4), 1-14.
- [129]. Cui, W., Li, X., Zhou, S., et al., 2007, In situ growth of hydroxyapatite within electrospun poly(DL-lactide) fibers, *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 82(4), 831–841, <https://doi.org/10.1002/JBM.A.31187>.
- [130]. Nagarajan, S., Pochat-Bohatier, C., Teyssier, C., et al., 2016, Design of graphene oxide/gelatin electrospun nanocomposite fibers for tissue engineering applications, *RSC Advances*, 6(110), 109150-109156.
- [131]. Nagarajan, S., Belaid, H., Pochat-Bohatier, C., et al., 2017, Design of boron nitride/gelatin electrospun nanofibers for bone tissue engineering, *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(39), 33695-33706.
- [132]. Chen, J.P. and Su, C.H., 2011, Surface modification of electrospun PLLA nanofibers by plasma treatment and cationized gelatin immobilization for cartilage tissue engineering, *Acta Biomaterialia*, 7(1), 234-243.
- [133]. Ghasemi-Mobarakeh, L., Prabhakaran, M.P., Morshed, M., et al., 2008, Electrospun poly(epsilon-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering, *Biomaterials*, 29(34), 4532-4539.
- [134]. Barber, J.G., Handorf, A.M., Allee, T.J., et al., 2013, Braided nanofibrous scaffold for tendon and ligament, *Tissue Engineering. Part A*, 19(11-12), 1265–1274.
- [135]. Doyle, J.J., Choudhari, S., Ramakrishna, S., et al., 2013, Electrospun nanomaterials: Biotechnology, food, water, environment, and energy, *Conference Papers in Materials Science*, 1–14.
- [136]. Cheng, F., Tao, Z., Liang, J., et al., 2008, Template-directed materials for rechargeable lithium-ion batteries, *Chemistry of Materials*, 20(3), 667-681.
- [137]. Peng, H., Liu, Y., Ramakrishna, S., 2017, Recent development of centrifugal electrospinning, *Journal of Applied Polymer Science*, 134(10), 44578.

- [138]. Ge, J.C., and Choi, N.J., 2017, Fabrication of functional polyurethane/rare earth nanocomposite membranes by electrospinning and its VOCs absorption capacity from air, *Nanomaterials*, 7(3), 60.
- [139]. Bhardwaj, N., Kundu, S.C., 2010, Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique, *Biotechnology Advances*, 28(3), 325-347.
- [140]. Peng, H., Liu, Y., Ramakrishna, S., 2017, Recent development of centrifugal electrospinning, *Journal of Applied Polymer Science*, 134(10), 44578.
- [141]. Zhang, H., 2011, Effects of electrospinning parameters on morphology and diameter of electrospun PLGA/MWNTs fibers and cytocompatibility in vitro, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 26(6), 590-606.
- [142]. Ki, C.S., Baek, D.H., Gang K.D., et al., 2005, Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution, *Polymer*, 46(14), 5094–5102.
- [143]. Heikkilä, P. and Harlin, A., 2008, Parameter study of electrospinning of polyamide-6, *Macromolecular Nanotechnology*, 10(44), 3067-3079.
- [144]. Zargham, S., Bazgir, S., Tavakoli, A., et al., 2012, The Effect of flow rate on morphology and deposition area of electrospun Nylon 6 nanofiber, *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 7(4), 42-49.
- [145]. Luo, C.J., Stoyanov, S.D., Stride, E., et al., 2012, Electrospinning versus fibre production methods: from specifics to technological convergence, *Chemical Society Reviews*, 41(13), 4708-4735.
- [146]. Macossay, J., Marruffo, A., Rincon, R., et al., 2007, Effect of needle diameter on nanofiber diameter and thermal properties of electrospun poly(methyl methacrylate), *Polymers for Advanced Technologies*, 18(3), 180-183.
- [147]. de-Vrieze, S., van-Camp, T., Nelvig, A., et al., 2009, The effect of temperature and humidity on electrospinning, *Journal of Materials Science*, 44(5), 1357-1362.
- [148]. Gazit, E. and Mittraki, A., 2013, *Plenty of Room for Biology at the Bottom: An Introduction to Bionanotechnology*, Second Ed., Imperial College Press, 6-15
- [149]. Ghafoor, B., Aleem, A., Najabat, A.M., 2018, Review of the fabrication techniques and applications of polymeric electrospun nanofibers for drug delivery systems, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 48, 82-87.
- [150]. Zafar, M., Najeeb, S., Khurshid, Z., et al., 2016, Potential of electrospun nanofibers for biomedical and dental applications, *Materials*, 9(2), 73.
- [151]. Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotaki, M., et al., 2003, A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites, *Composites Science and Technology*, 63(15), 2223-2253.
- [152]. Khil, M.S., Cha, D., Kim, H.Y., et al., 2003, Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing, *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 67(2), 675-679.
- [153]. Khadka, D.B. and Haynie, D.T., 2012, Protein- and peptide-based electrospun nanofibers in medical biomaterials, *Nanomedicine*, 8(8), 1242-1262.

- [154]. Murthe, S.S., Mohamed, S.M.S., Perumal, V., et al., 2018, *Electrospun nanofibers for biosensing applications*, Nanobiosensors for Biomolecular Targeting, In: Gopinath, S., LAkshmiPriya T., First Ed., Elsevier, 253-267.
- [155]. Chew, S., Wen, Y., Dzenis, Y., et al., 2006, The role of electrospinning in the emerging field of nanomedicine. *Current Pharmaceutical Design*, 12(36), 4751-4770.
- [156]. Bruck, S.D., 1980, Problems and artefacts in the evaluation of polymeric materials for medical uses, *Biomaterials*, 1(2), 103-107.
- [157]. Vroman, I., Tighzert, L., 2009, Biodegradable Polymers, *Materials*, 2(2), 307-344.
- [158]. Kunduru, K.R., Basu, A., Domb, A.J., 2016, *Biodegradable polymers: Medical applications*, Encyclopedia of Polymer Science and Technology, In: Magurudeniya D.H., Huang, P., Gunathilake, S.S., John Wiley & Sons, 1-22.
- [159]. Lu, J., Qiu, Z., Yang, W., 2007, Fully biodegradable blends of poly(l-lactide) and poly(ethylene succinate): Miscibility, crystallization, and mechanical properties, *Polymer (Guildf)*, 14(48), 4196-4204, doi:10.1016/j.polymer.2007.05.035.
- [160]. Chandra, R. and Rustgi, R., 1998, Biodegradable polymers, *Progress in Polymer Science*, 23(7), 1273-1335.
- [161]. Casalini, T. and Perale, G., 2012, *Types of bioresorbable polymers for medical applications*, Durability and Reliability of Medical Polymers, In: Jenkins, M., Stamboulis, A., Woodhead Publishing, 3-29.
- [162]. Kumar, N., Langer, R.S., Domb, A.J., 2002, Polyanhydrides: an overview, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(7), 889-910.
- [163]. Tang, X., Thankappan, S.K., Lee, P., et al., 2014, *Polymeric Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Natural and Synthetic Biomedical Polymers, In: Kumbar, G.S., Laurencin, C.T., Deng, M., Elsevier, 351-371.
- [164]. Nair, L.S., Laurencin, C.T., 2007, Biodegradable polymers as biomaterials, *Progress in Polymer Science*, 32(8-9), 762-798.
- [165]. Södergård, A. and Stolt, M., 2002, Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *Progress in Polymer Science*, 27(6), 1123-1163.
- [166]. Makadia, H.K. and Siegel, S.J., 2011, Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier, *Polymers (Basel)*, 3(3), 1377-1397.
- [167]. Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., et al., 2010, Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review, *Polymer Degradation and Stability*, 95(11), 2126-2146.
- [168]. Pakravan, M., Heuzey, M.C., Ajji, A., 2011, A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning, *Polymer (Guildf)*, 52(21), 4813-4824.
- [169]. Stephansen, B.K., 2015, *Development and Characterization of Nano-Micro Structures as Carrier for Bioactive Compounds*, PhD Thesis, Technical University of Denmark.
- [170]. Tsai, H.Y., Hsieh, Y.C., Lin, Y.H., et al., 2019, Fabrication of Hydrophilic Surface on Rigid Gas Permeable Contact Lenses to Enhance the Wettability Using Ultraviolet Laser System, *Micromachines (Basel)*, 10(6).

- [171]. Bunaciu, A., Udristioiu, G.E., Aboul-Enein, H., 2015, X-Ray diffraction: Instrumentation and applications, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45(4), 289-299.
- [172]. Stefanov, B., 2015, *Photocatalytic TiO₂ thin films for air cleaning : Effect of facet orientation, chemical functionalization, and reaction conditions*, PhD Thesis, *Acta Universitatis Upsaliensis*.
- [173]. Stockert, J.C., Horobin, R.W., Colombo, L.L., et al., 2018, Tetrazolium salts and formazan products in cell biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives, *Acta Histochemica*, 120(3), 159-167.
- [174]. van-Meerloo, J., Kaspers, G.J.L., Cloos, J. 2011, Cell sensitivity assays: the MTT assay, *Methods in Molecular Biology*, 731, 237-245.
- [175]. Hussain, M., Nafady, A., Sirajuddin, et al. 2019, Biogenic silver nanoparticles for trace colorimetric sensing of enzyme disrupter fungicide vinclozolin, *Nanomaterials*, 9(11), 1604.
- [176]. Eghbalifam, N., Shojaosadati, S.A., Hashemi-Najafabadi, S., et al., 2020, Synthesis and characterization of antimicrobial wound dressing material based on silver nanoparticles loaded gum Arabic nanofibers, *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 119-130.
- [177]. Thomas, R., Soumya, K.R., Mathew, J., et al., 2015, Electrospun polycaprolactone membrane incorporated with biosynthesized silver nanoparticles as effective wound dressing material, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 76(8), 2213-2224.
- [178]. Anandalakshmi, K., Venugobal, J., Ramasamy, V., et al., 2016, Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Petalium murex* leaf extract and their antibacterial activity, *Applied Nanoscience*, 6(3), 399-408.
- [179]. Jia, Y., Huang, G., Dong, F., et al., 2016, Preparation and characterization of electrospun poly(ϵ -caprolactone)/poly(vinyl pyrrolidone) nanofiber composites containing silver particles, *Polymer Composites*, 37(9), 2847-2854.
- [180]. Hu, M., Li, C., Li, X., et al., 2018, Zinc oxide/silver bimetallic nanoencapsulated in PVP/PCL nanofibres for improved antibacterial activity, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(6), 1248-1257.
- [181]. Qian, Y., Zhang, Z., Zheng, L., et al., 2014, Fabrication and characterization of electrospun polycaprolactone blended with chitosan-gelatin complex nanofibrous mats, *Journal of Nanomaterials*, <https://doi.org/10.1155/2014/964621>.
- [182]. Razmshoar, P., Bahrami, H., Akbari, S., 2019, Functional hydrophilic highly biodegradable PCL nanofibers through direct aminolysis of PAMAM dendrimer, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 69(16), 1069-1080.
- [183]. Katas, H., Hussain, Z., Ling, T.C., 2012, Chitosan nanoparticles as a percutaneous drug delivery system for hydrocortisone, *Journal of Nanomaterials*, 2012(3), <https://doi.org/10.1155/2012/372725>.
- [184]. Ghajarieh, A., Habibi, S., Talebian, A., 2021, Biomedical applications of nanofibers, *Russian Journal of Applied Chemistry*, 94(7), 847-872.
- [185]. Reddy, V.S., Tian, Y., Zhan, C., et al., 2021, A review on electrospun nanofibers based advanced applications: From health care to energy devices, *Polymers (Basel)*, 13(21), 3746.

- [186]. Gupta, K.C., Haider, A., Choi, Y.R., et al., 2014, Nanofibrous scaffolds in biomedical applications, *Biomaterials Research*, 18(1), 1-11.
- [187]. Pant, B., Park, M., Park, S.J., 2019, One-step synthesis of silver nanoparticles embedded polyurethane nano-fiber/net structured membrane as an effective antibacterial medium, *Polymers (Basel)*, 11(7), 1185.

