

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ**

**BİYOAKTİF CAM VE HİDROKSİAPATİT İÇEREN
POLİKAPROLAKTON NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME
YÖNTEMİ İLE HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Rabia KONYALI EKEN

**Danışman
Doç. Dr. Aylin Müyesser DELİORMANLI**



MANİSA-2019

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ**

**BİYOAKTİF CAM VE HİDROKSİAPATİT İÇEREN
POLİKAPROLAKTON NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME
YÖNTEMİ İLE HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Rabia KONYALI EKEN

**Danışman
Doç. Dr. Aylin Müyesser DELİORMANLI**



MANİSA-2019

**Rabia
KONYALI
EKEN**

**BIYOAKTIF CAM VE HİDROKSIAPATİT İÇEREN POLİKAPROLAKTON
NANOLİFLERİN ELEKTROĞİRME YÖNTEMİ İLE HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

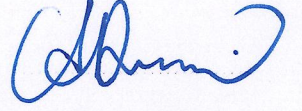
2019

TEZ ONAYI

Rabia KONYALI EKEN tarafından hazırlanan “**Biyoaktif Cam ve Hidroksiapatit İçeren Polikaprolakton Nanoliflerin Elektroeğirme Yöntemi ile Hazırlanması ve Karakterizasyonu**” adlı tez çalışması 29/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Aylin M. DELİORMANLI
Manisa Celal Bayar Üniversitesi



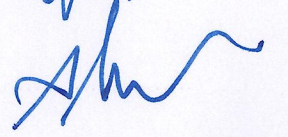
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Yılmaz YÜREKLİ
Manisa Celal Bayar Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Abdullah SEYRANKAYA
Dokuz Eylül Üniversitesi



TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Rabia KONYALI EKEN



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	i
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLO DİZİNİ	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ.....	5
2.1. Doku Mühendisliği.....	5
2.2. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyomalzemeler.....	7
2.2.1. Metaller ve Alaşımlar	7
2.2.2. Polimerler.....	8
2.2.2.1. Doğal Polimerler	9
2.2.2.2. Sentetik Polimerler.....	9
2.2.2.2.1. Polikaprolakton (PCL)	9
2.2.3. Biyoseramikler.....	12
2.2.3.1. Biyoaktif Camlar	13
2.2.3.1.1. Biyoaktif Cam Sentez Yöntemleri	16
2.2.4. Biyoaktif Cam İçeren Kompozitler.....	17
2.3. Doku Mühendisliğinde Nanoliflerin Kullanımı	20
2.3.1. Doğal Hücre Dışı Matris ve Nanolifler.....	20
2.3.2. Nanolif Üretme Yöntemleri	21
2.3.2.1. Çekme Yöntemi	21
2.3.2.2. Kalıp Sentezi (Template Synthesis).....	22
2.3.2.3. Faz Ayrımı (Sol-Jel Process)	23
2.3.2.4. Kendiliğinden Toplanma (Self Assembly).....	24
2.3.2.5. Islak Eğirme (Wet Spinning)	24
2.4. Elektroegirme Yöntemi	25
2.4.1. Elektroegirmenin Temel Bileşenleri.....	26
2.4.1.1. Metalik Uç.....	26
2.4.1.2. Toplayıcı	27
2.4.1.3. Yüksek Voltaj Sağlayıcısı	27
2.4.2. Elektroegirmeye Etki Eden Parametreler	28
2.4.2.1. Çözelti Özellikleri	28
2.4.2.1.1. Dielektrik Sabiti	28
2.4.2.1.2. Viskozite.....	28
2.4.2.1.3. Yüzey Gerilimi	28
2.4.2.1.4. Elektrik İletkenlik.....	29
2.4.2.1.5. Polimer Özellikleri	29
2.4.2.1.6. Çözücü Özellikleri.....	29
2.4.2.2. İşlem Parametreleri	30
2.4.2.2.1. Solüsyon Besleme Hızı	30
2.4.2.2.2. Metalik Uçla Toplayıcı Arasındaki Uzaklık	30

2.4.2.2.3. Metalik Uç Ağzının Çapı	30
2.4.2.2.4. Elektrik Alan	31
2.5. Polikaprolakton-Cam/Seramik Kompozit Liflere Ait Literatürde Yer Alan Çalışmalar.....	31
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Kullanılan Malzemeler	33
3.2. Elektroçirime Yöntemi ile Biyoaktif Cam Nanolif Üretimi.....	34
3.3. Polikaprolakton Liflerin Hazırlanması	35
3.4. Yapay Vücut Sıvısı (SBF) Hazırlanması.....	37
3.5. Fosfat Tampon Çözeltisinin (PBS) Hazırlanması	38
3.6. Karakterizasyonlar.....	38
3.6.1. Tane Boyut Analizleri.....	39
3.6.2. Viskozimetre Ölçümleri.....	39
3.6.3. ICP-OES Analizleri	39
3.6.4. Lif Çapı Ölçümü	40
3.6.5. X-Işını Kırınımı (XRD) Analizleri	40
3.6.6. Temas Açısı Ölçümleri	41
3.6.7. Degradasyon Çalışmaları.....	41
3.6.8. Gözeneklilik Ölçümleri.....	41
3.6.9. Su Emme Ölçümleri.....	42
3.6.10. <i>In Vitro</i> Biyoaktivite Analizleri	42
3.6.10.1. SEM Analizi.....	42
3.6.10.2. AFM Analizleri	43
3.6.10.3. FTIR-ATR Analizi.....	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1. Kullanılan Malzemelerin Fiziksel Özellikleri	45
4.2. Viskozite Ölçümleri	49
4.3. Hazırlanan Liflerin Morfolojik Analizleri.....	53
4.4. Gözeneklilik	61
4.5. Sıvı Emme Kapasitesi	62
4.6. Temas Açısı	63
4.7. Kütle Kaybı ve İyon Salınımı Analizleri.....	65
4.8. <i>In Vitro</i> Biyoaktivite Deneyleri	69
4.8.1. SEM Analizi	69
4.8.2. AFM Analizi.....	73
4.8.3. FTIR-ATR Analizi.....	76
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	80
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	94

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ECM	Ekstraselüler Matriks
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration)
SBF	Yapay Vücut Sıvısı (Simulated Body Fluid)
PCL	Polikaprolakton
HA	Hidroksiapatit
HCA	Hidroksikarbonaapatit
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
XRD	X-Işını Kırınımı
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
F-TIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Biyomalzemelerin kullanım alanları [37]	8
Şekil 2.2. ε-kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi [42].	11
Şekil 2.3. Çekme yönteminin şematik gösterimi [71].....	22
Şekil 2.4. Kalıp senteziyle nanolif tekniğini gösteren şematik (gri: alümina şablon, yeşil: reçine mavi: polimer nanolifler, pembe: silika replika şablon) [74].	23
Şekil 2.5. Faz ayrılması yönteminin şematik gösterimi [74]	23
Şekil 2.6. Kendiliğinden toplanma tekniğinin şematik gösterimi a) Bir araya toplanmak b) Nanolevha c) Nanolevha üzerindeki nanolifler d) Nanolifler e) Üst düzey nanolifler [75].	24
Şekil 2.7. Islak eğirme yönteminin şematik gösterimi [76].	25
Şekil 2.8. Elektro eğirme cihazının şematik gösterimi [77].....	25
Şekil 2.9. (a) Enjektörsüz elektroegirme modeli (b) Çoklu metalik uçlu model [78].....	27
Şekil 2.10. Farklı toplayıcılarla oluşturulan nanolif yapılarını gösteren şematik[78].....	27
Şekil 3.1. Manyetik karıştırıcı üzerinde %10'luk PCL çözeltisi hazırlanmasını gösteren fotoğraf.	36
Şekil 3.2. Deneylede kullanılan elektroegirme cihazının dış (a) ve iç (b) ünite görüntüleri, elektro eğirme işlemi sırasında çekilmiş bir fotoğraf (c).	37
Şekil 3.3. Deneylede kullanılan ICP-OES analiz cihazının fotoğrafı.....	40
Şekil 3.4. FEI QUANTA 250 FEG SEM cihazı görüntüsü.	43
Şekil 4.1. Biyoaktif cam ve HA tozlarının tane boyut analizi grafikleri; (a)13-93B3, (b) 45S5(T), (c) 13-93(T), (d) HA	45
Şekil 4.2. Elektroegirme ile hazırlanmış ve 625 °C 'de kalsine edilmiş 13-93 liflerin (a) SEM görüntüsü, (b) Lif çapı grafiği, (c) XRD diyagramı; Ergitme yöntemi ile hazırlanmış 13-93 tozlarının (d) SEM görüntüsü, (e) XRD diyagramı	47
Şekil 4.3. Elektro-egirme ile hazırlanmış ve 700 °C'de kalsine edilmiş 45S5 liflerin (a) SEM görüntüsü, (b) XRD diyagramı; Sol-jel yöntemi ile hazırlanmış ve 700 °C' de kalsine edilmiş 45S5 tozların (c) SEM görüntüsü, (d) XRD diyagramı.	48
Şekil 4.4. Ergitme yöntemi ile hazırlanmış 13-93B3 tozlarının (a) SEM görüntüsü, (b) XRD diyagramı.	48
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki PCL'nun a) kayma gerilimi/kayma hızı grafiği, b) viskozite/kayma hızı grafiği.	49
Şekil 4.6. %10 PCL solüsyonu ve katkı içeren dispersiyonların reolojik davranış grafikleri (a) PCL- 13-93(L); (b) PCL-13-93(T); (c) PCL- 13-93B3 ; (d) PCL-45S5(L); (e) PCL- 45S5(T), (f) PCL-HA.	51
Şekil 4.7. Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı %10 PCL dispersiyonlarının viskozite/kayma hızı grafiği.	52
Şekil 4.8. (a) Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı %10 PCL örneklerinin sabit kayma hızındaki viskozite grafiği, kayma hızı: 50 1/s. (b) Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı % 10 PCL örneklerinin kayma gerilimi/kayma hızı grafiği.....	53
Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda PCL solüsyonu kullanılarak elektroegirilmiş PCL liflerin SEM görüntüleri (a),(b) %8; (c),(d) % 10; (e),(f) % 12; (g) % 14.....	54
Şekil 4.10. Elektroegirilmiş %10 PCL lif görüntüleri (a),(b)	55
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış PCL örneklerinin lif çapı grafikleri (a) % 10 PCL, (b) % 12 PCL, (c) %14 PCL, d) Tüm konsantrasyonlar.	57
Şekil 4.12. Farklı katkı maddeleri eklenerek hazırlanmış PCL örneklerinin SEM görüntüleri (a) PCL, (b) PCL-HA, (c) PCL-45S5 (T), (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-	

45S5(L), (f) PCL-13-93(L), (g) PCL-45S5(T). Beyaz oklar sisteme eklenen katkı maddelerini işaret etmektedir.	59
Şekil 4.13. Farklı katkı maddeleri eklenerek hazırlanmış % 10 PCL bazlı numunelerinin lif çapı grafikleri; (a) 13-93(T), (b) 13-93(L); (c) 45S5(T), (d) 45S5(L); (e) 13-93B3(T); (f) HA.	60
Şekil 4.14. Hazırlanan lifsi yapıdaki skafoldların gözeneklilik yüzdelerini gösteren grafik.	61
Şekil 4.15. Hazırlanan lifsi yapıdaki skafoldların su emme kapasitesi grafiği.	62
Şekil 4.16. Hazırlanan kompozit skafoldların yüzeyindeki su damlacıklarının görüntüleri; (a) PCL,(b) PCL- HA, (c) PCL- 13-93(L), (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-45S5(L), (f) PCL-45S5(T), (g) PCL-13-93(T).....	64
Şekil 4.17. Hazırlanan lifsi skafoldların sıvıyla temas açısı derece grafiği.	64
Şekil 4.18. Hazırlanan lifsi skafoldların 30 gün PBS’de bekledikten sonraki kütle kaybı grafiği.	66
Şekil 4.19. Hazırlanan lifsi skafoldların iyon salınımı grafikleri; (a) Silisyum, (b) Kalsiyum, (c) Fosfor.	68
Şekil 4.20. Hazırlanan PCL bazlı kompozit skafoldların 37 °C’deki yapay vücut sıvısında 7 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri a)PCL; (b)PCL-HA; (c) PCL-45S5 (T); (d) PCL-13-93B3; (e) PCL-13-93 (L); (f) PCL-13-93 (T), (g),PCL-45S5(L).	70
Şekil 4.21. Hazırlanan PCL bazlı kompozit skafoldların 37 °C’deki yapay vücut sıvısında 30 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri; a)PCL; (b) PCL-13-93(L); (c) PCL-13-93(T);(d) PCL-45S5(L);(e) PCL-45S5 (T); (f) PCL-HA; (g) PCL-13-93B3; (30 GÜN).	71
Şekil 4.22. Proje kapsamında kullanılan biyoaktif cam ve tozların 37 °C’deki yapay vücut sıvısında 30 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri; (a) 45S5(T); (b) 13-93B3 ; (c) 45S5(L); (d) 13-93(L) ;(e) 13-93(T).	72
Şekil 4.23. SBF’de 30 gün bekletilmiş lifsi PCL-biyoaktif cam kompozit skafoldların AFM görüntüleri; (a) saf PCL, (b) PCL-13-93(L), (c) PCL-13-93(T) (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-HA (f) PCL-45S5(L).	75
Şekil 4.24. PCL lifli skafoldların SBF’de bekletilmeden önceki ve 7 gün, 15 gün ve 30 gün bekletildikten sonraki FTIR-ATR spektrumları.	78
Şekil 4.25. Biyoaktif cam ve HA katkılı PCL lifsi skafoldların 7, 15 ve 30 gün SBF’de bekletilmiş hallerinin FTIR-ATR spektrumları a)PCL-HA; (b) PCL-45S5(T); (c) PCL-13-93B3;(d) PCL-13-93(T);(e) PCL-45S5 (T); (f) PCL-13-93(L); (g) PCL-13-93(L)	79

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Polikaprolaktonun fiziksel ve kimyasal özellikleri [41].....	10
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan biyoaktif camların kompozisyonları [2].....	33
Tablo 3.2. Biyoaktif cam tozu ve liflerin kodları ve üretilme yöntemleri.	34
Tablo 3.3. Yapay vücut sıvısı hazırlarken kullanılan kimyasallar (pH 7.40, 1L) [48].	38
Tablo 3.4. Fosfat tampon çözeltisi hazırlanırken kullanılan kimyasallar (pH 7.40, 1L).	38
Tablo 4.1. Biyoaktif cam ve lifler ile HA tozların tane boyutları (d_{50}).....	45



TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aőamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, her türlü teşvik ve fedakârlıklarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aylin M. DELİORMANLI' ya, deneysel aőamadaki yardımlarından ötürü Proje Asistanı Mert TÜRK ve Ar. Gör. Kürőat KANBUR'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım. FTIR, AFM ve ICP-OES analizlerinin en titiz Şekilde yapılmasını sağlayan baőta Doç. Dr. Harika ATMACA ve tüm Manisa Celal Bayar Üniversitesi DEFAM personeline ve ayrıca SEM analizlerindeki katkılarından dolayı Uzman Zehra Sinem YILMAZ ve tüm İYTE Malzeme Araştırma Merkezi personeline teőekkürü bir borç bilirim. Bana her zaman güvenen, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, hiçbir zaman sevgisini ve desteğini benden esirgemeyen canım aileme ve çalıőmalarım sırasında sevgisini ve ilgisini her zaman hissettiğim canım eőim Abdusselam EKEN'e içtenlikle teşekkür ederim.

Rabia KONYALI EKEN
Manisa, 2019

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Biyoaktif Cam ve Hidroksiapatit İçeren Polikaprolakton Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemi ile Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Rabia KONYALI EKEN

**Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Aylin Müyesser DELİORMANLI

Biyoaktif camlar canlı doku ile güçlü bağlar oluşturarak kemik dokuya bağlanmalarından dolayı doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu çalışmada elektroğirme yöntemiyle silika bazlı (13-93, 45S5) ve bor bazlı (13-93B3) biyoaktif cam toz ve lif ile hidroksiapatit (HA) katkılı polikaprolakton (PCL) fibröz kompozit skafoldlar üretilmiştir. Proje kapsamında katkı maddesi olarak kullanılan silika bazlı 13-93 ve 45S5 lifler elektroğirme yöntemiyle hazırlanmıştır. Üretilen katkısız PCL, biyoaktif cam ve HA katkılı PCL fibröz kompozitlerin yapısal ve morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), X-Işını difraktometresi (XRD), fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (FTIR-ATR) kullanılarak analiz edilmiş ayrıca *in vitro* biyoaktiviteleri yapay vücut sıvısı (SBF) içinde bekletilerek zamana bağlı olarak incelemiştir. Skafoldların degradasyon davranışı fosfat tampon çözeltisi içinde bekletilerek çalışılmış ve iyon salınım özellikleri ICP-OES ile analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre üretilen kompozit skafoldların lif çaplarının saf PCL fibröz skafoldlara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yapılan analizler sonucu, 45S5 lif ve toz içeren PCL kompozit skafoldların sıvı emme kapasiteleri %100 ün üzerinde çıkmıştır. Hazırlanan örneklerin gözeneklilikleri %93-%97 değerleri arasında bulunmuştur. Fosfat tampon çözeltisinde (PBS) 30 gün bekleyen katkılı ve katkısız PCL kompozit skafoldların kütle kaybı sonuçlarına göre biyoaktif cam toz ve liflerin katkısı skafoldların yüzey reaktivitelerini artırarak çözünmeyi hızlandırmıştır. Ayrıca skafoldların iyon salınımlarında da zamana bağlı artış görülmüştür. Artışlardaki farklılığın her bir katkı maddesinin boyutsal ve morfolojik özellikleriyle birlikte farklı yüzey reaktivitelerinden kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır. Atomik kuvvet mikroskobu analizi sonuçlarına göre saf PCL skafoldlarla karşılaştırıldığında biyoaktif cam ve HA katkılı olanların pürüzlülüğünde artış görülmüştür. PCL matrisine biyoaktif cam ve HA katkısı fibröz skafoldların biyoaktivitesini arttırmıştır. Bor bazlı 13-93B3 biyoaktif cam katkılı skafoldların yüzey pürüzlülüğün yüksek olması yapay vücut sıvısı içerisinde daha yüksek biyoaktivite göstererek HA tabakası oluşturmaya bağlanmıştır. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi analiz sonucu da 13-93B3 katkılı numunenin HA oluşum hızının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, FTIR analizleri ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) mikrograflarına göre SBF’de bekletilme süreleriyle HA oluşturma kabiliyetleri arasında doğru orantı vardır. Çalışmaların

sonuçları, biyoaktif cam toz ve lif ile HA toz katkılı skafoldların doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektroğirme, Biyoaktif cam, Polikaprolakton, Skafoldlar, Doku Mühendisliği.

2019, 95 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Preparation and Characterization of Bioactive Glass and Hydroxyapatite Containing Polycaprolactone Nanofibers by Electrospinning Method

Rabia KONYALI EKEN

**Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Metallurgical and Materials Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Aylin Müyesser DELİORMANLI

Bioactive glasses are used in tissue engineering applications due to their binding ability to bone tissue by forming strong bonds with living tissue. In this study, polycaprolactone (PCL) fibrous composite scaffolds containing silica-based (13-93, 45S5) and borate-based (13-93B3) bioactive glass powders and fibers and hydroxyapatite (HA) were produced by electrospinning method. The silica-based 13-93 and 45S5 fibers used as additives in the project were prepared by electrospinning method. Structural and morphological properties of produced bare PCL, bioactive glass and HA containing PCL fibrous composites were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), X-Ray diffractometer (XRD), fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR-ATR) and *in vitro* bioactivities were investigated by immersion in simulated body fluid (SBF) depending on time. The degradation behavior of the scaffolds was studied by immersing in phosphate buffer solution and ion release properties were analyzed by inductively coupled plasma emission spectrometer (ICP-OES). According to the results, fiber diameters of composite scaffolds produced were higher than bare PCL fibrous scaffolds. Water absorption capacities of PCL composite scaffolds containing 45S5 fiber and powder were measured to be above 100%. The porosity of the prepared samples was between 93% and 97%. According to the mass loss results of PCL composite scaffolds with and without additives in phosphate buffer solution (PBS) for 30 days, the contribution of bioactive glass powder and fibers increased the surface reactivity of the scaffolds and accelerated degradation behaviour. In addition, time-dependent increase in ion release behaviour was observed. It was concluded that the differences observed in the ion release may be due to the different surface reactivities of the additives with their dimensional and morphological properties. According to the results of atomic force microscopy analysis, compared to pure PCL scaffolds, the roughness of bioactive glass and HA containing scaffolds were higher. The addition of bioactive glass and HA to the PCL matrix increased the bioactivity of fibrous scaffolds. The high surface roughness of borate-based 13-93B3 bioactive glass containing scaffolds was attributed to the formation of HA layer by showing higher bioactivity in simulated body fluid. Fourier transform infrared spectroscopy analysis showed that the rate of HA formation of the 13-93B3 containing sample was higher. Additional, there is a direct correlation between FTIR analysis and scanning electron microscopy (SEM) micrographs, the residence time in SBF and their ability to form HA. The results of the study showed that bioactive

glass and HA containing scaffolds have potential to be used in tissue engineering applications.

Keywords: Electrospinning, Bioactive Glass, Polycaprolactone, Scaffolds, Tissue Engineering.

2019, 95 pages



1. GİRİŞ

Hücre dışı matris (ECM) hücreler için fiziksel desteklik sağlayan, hücrelerin yapışması, farklılaşması ve çoğalması için büyük önemi olan, bütün organ ve dokular arasındaki gelişmiş bir yapıdır [1]. Travma, yaşlanma, hastalık gibi sebeplerden dolayı görevini yerine getiremez hale gelen doku ve organlar insanın hayatını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu noktada doku mühendisliği hayati bir önem taşımaktadır. Son yirmi yılda doku mühendisliği alanında yapılan çalışmaların sonucu olarak cilt, kemik ve kıkırdak gibi dokuların hücre bazlı rejenerasyonu gerçekleştirilmiştir. Doku mühendisliğinin en temel amacı hastadan veya başka vericiden alınan hücrelerin doku iskeleleri üzerine ekilerek uygun hücre kültürü ortamında 3 boyutlu dokuların üretilmesini sağlayarak gerekli onarımı yapmasıdır [2]. Biyoaktif skafoldlar olarak da adlandırılan doku iskeleleri hücre dışı matrisi taklit ederek geçici bir destek yapı oluşturur ve hücrelerin yapışmasına, çoğalmasına ve işlevlerini yerine getirmesi için uygun yüzey oluşumuna olanak sağlar [3]. Günümüzde 3 boyutlu skafoldların biyoaktif maddeler ve hücrelerle kombinasyonu hem sert doku hem yumuşak doku mühendislik uygulamalarında oldukça yaygın bir kullanıma sahiptir [4]. Osteokondral ve fibro-osseöz greftler gibi kompozit doku greftleri ile birden fazla doku fenotipinin hücre bazlı restorasyonu üzerine yapılan son çalışmalar, kompleks anatomik yapıların doku mühendisliği ile üretebileceğini göstermiştir [2].

Nanoliflerden oluşan skafoldların kullanımı doku mühendisliği uygulamalarında artan ilgi kazanmıştır. Bu yapılar, insan dokularının hücre dışı matrisinde bulunanlarla benzer morfolojilere ve lif çaplarına sahiptir. Hücre genişlemesi ve farklılaşmasını destekleyen bu yapılar, hasarlı dokuya hücre nakli için bir araç olarak, yara iyileşmesinde ve ilaç salınımı uygulamalarında da kullanılabilirler [5–8]. Elektroğirme yöntemi nanolifli yapıda skafold üretmekte oldukça popüler bir yöntemdir [9]. Yüksek gerilim uygulanarak skafoldların fibril yapıya sahip olmasını sağlar. Çözelti parametreleri ve çalışma koşulları gibi proses parametrelerinin düzenlenmesi, üretilen liflerin morfolojisini ve özelliklerini etkilemektedir [10, 11].

Polikaprolakton (PCL), yüksek dayanıklılık ve biyouyumluluğa sahip biyobozunur bir polimerdir [12]. Fakat kemik rejenerasyonu uygulamalarında düşük sertliği, hidrofobik yapısı ve biyoaktivitesinin yetersizliği nedeniyle istenilen verim elde edilememektedir [12, 13]. PCL ve diğer biyopolimerlerin hidroksiapatit (HA) ve biyoaktif cam gibi biyoaktif malzemelerle birlikte kullanılması, bu dezavantajların üstesinden gelmek için umut verici bir yoldur [14, 15].

Biyoaktif camlar kemik ve yumuşak doku onarımı için kullanılan yüzey reaktif malzemelerdir. Kemik rejenerasyonunu, diğer biyoaktif seramiklerden daha fazla uyarabildikleri bilinmektedir [16–18]. Biyoaktif camlar ilk olarak 45S5 kodu ile Hench ve arkadaşları tarafından 1969 yılında üretilmiştir [17]. İlerleyen yıllarda birçok çalışma ve yeni üretim metotlarının mevcudiyetiyle birlikte biyoaktif cam skafoldların da çeşitliliği artmıştır. 13-93 olarak kodlanan bir diğer silikat bazlı biyoaktif cam, 45S5'in bir türevidir [19]. Bununla birlikte, silikat bazlı biyoaktif camların bozunmaları ve apatite dönüşüm hızları daha yavaştır. Alternatif olarak, daha yüksek yüzey reaktivitesine sahip 13-93B3 borat bazlı biyoaktif camlar geliştirilmiştir [20].

Biyoaktif camların nanometre boyutuna kadar düşürülmesi polimer matrislerle birleştirilip kompozit oluşturulan nanoyapıdaki biyomalzemelerin oluşumuna öncülük etmektedir. Bu yapılar var olan uygulamalarda daha iyi performanslar gösterebileceği gibi yeni uygulamalarda da kullanılabilir. Nano boyuttaki biyoaktif camların yüksek spesifik yüzey alanları ve gözenekli yapısı, hücre penetrasyonunu arttırarak daha iyi biyoaktivite kazandırır. Boyutu düşürülmüş inorganik malzemelerin diğer bir avantajı da daha ince biyoaktif kaplamaların üretiminde ya da polimerik nanolifleri güçlendirmekte kullanılabilme imkânının olmasıdır [21]. Fakat bununla birlikte sert ve oldukça kırılğan yapılarda olmalarından ötürü 3 boyutlu yapılar haline getirmek oldukça zordur. Diğer taraftan biyouyumluluğa ve biyoçözünmeye sahip polimerler üç boyutlu hale çok kolay getirilebilseler de kemik dokusuyla eşleştiklerinde mekanik kararlılık gösterememektedirler. Bu yüzden polimerler biyolojik özelliklerinden dolayı kemik dokusu mühendisliğinde kullanılmaya elverişli olsalar da mekanik olarak güçlendirilmeye ihtiyaçları vardır [3]. Bu sebeplerden ötürü polimer ve biyoaktif

cam kompozitleri, malzemede istenilen fizikokimyasal, mekanik ve biyolojik özellikleri sağladığı için ilgi çekmektedir [22].

Daha önce, Lin ve ark., 2012 elektroğirme metodu kullanarak mikro gözenekli biyoaktif cam nanopartikülleri (MBG) içeren bir polikaprolakton (PCL) nanolif kompozit matrisler üretmişlerdir. PCL/MBG kompozitin lif çapları %5 MBG katkılı için 312 ± 134 nm ve %10 MBG katkılı için 321 ± 144 nm iken katkısız PCL için 575 ± 162 nm'dir. Biyoaktifliği SBF içinde bekletilerek tayin edilen kompozit matrislerden katkılı PCL liflerin biyomineralizasyon kapasitesi katkısız PCL'a göre daha yüksek çıkmıştır [23]. Bir başka çalışmada, Lepry ve ark., 2016 sol-jel türevi borat biyoaktif camlarının hidroksiapatite dönüşüm hızlarının yüksek oluşunu baz alarak, %2.5 ve %5 biyoaktif cam katkılı elektroğirilmiş polikaprolakton lif kompozitler üretmişlerdir. Sonuçlar, biyoaktif cam katkılı elektroğirilmiş PCL liflerin hidrofilitiyi arttırdığını ve %5 biyoaktif cam katkılı örneklerde 3 günden daha erken bir sürede apatit oluşumu gözlemlendiğini göstermiştir [24]. Diğer bir çalışmada, Liverani ve ark., 2017 diğer çalışmalardan farklı olarak asetik asit ve formik asit gibi çözücüler kullanarak biyoaktif cam katkılı PCL/kitosan kompozitler üretmişlerdir. Sonuçlar, kompozit nano liflerin, SBF çözeltisine 1 günlük bekletilme işleminden sonra yüzeylerinde hidroksiapatit oluştuğunu göstermiştir, bu da polimerik ağlara gömülü biyoaktif cam parçacıklarının biyoaktivitesini koruduğunu doğrulamıştır [25]. Biyoaktif cam nanopartikülleri ve simvastatin ilacı içeren PCL nanolifleri Kouhi ve ark., 2013 tarafından elektroğirme yöntemiyle üretilmiştir. Nanoliflerin mekanik özellikleri incelenirken nanopartikül konsantrasyonunun belli bir orana kadar çekme direncini arttırdığı gözlemlenmiştir. XRD analizi, farklı zaman periyotlarında yapay vücut sıvısında (SBF) bekletildikten sonra nano lifli numunelerin yüzeyinde oluşan bir HA katmanının olduğunu göstermiştir [13].

Bu çalışmada, biyoaktif cam ilavesi ile hidrofobik ve biyo inert bir malzeme olan PCL nanofiberlerin biyoaktivite ve hidroksiapatit oluşturma kabiliyetlerinin artırılması hedeflenmektedir. Proje kapsamında elektroğirme yöntemi ile üretilen PCL liflere biyoaktif cam ve HA ilavesi ile PCL yüzeyinde hidroksiapatit çökmesi yaratılacağı bunun da biyoaktiviteyi arttıracacağı beklenmektedir. Diğer yandan PCL liflerin degradasyon derecesinin modifiye edilebileceği düşünülmektedir. PCL liflere

biyoaktif cam ilavesi hem farklı boyutlarda partikül olarak ve hem de elektroğirme ile hazırlanmış lif olarak yapılacağından morfolojik farklılığın da etkisi gözlenmiş olacaktır. Bu amaç doğrultusunda, 13-93 biyoaktif cam toz ve lif, 45S5 biyoaktif cam toz ve lif, 13-93B3 toz ve HA toz katkılı PCL kompozit skafoldlar hazırlanmıştır. Fizyolojik sıvılarda bu kompozit liflerinin morfolojisini, *in vitro* mineralizasyonunu ve bozunma davranışını incelemek için karakterizasyonlar yapılmıştır. Literatürde biyoaktif cam lif içeren PCL nanoliflerin hazırlanması üzerine bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Bu nedenle, tez projesinin literatürdeki bu eksikliği dolduracağı düşünülmektedir.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Doku Mühendisliği

Hücre dışı matris, hücreler için 3 boyutlu bir mikroçevre oluşturan ve böylelikle hücrelere fiziksel destek sağlayan bir yapıdır. Bu yapı hücrelerin düzenini sağlamaktadır. Hücrelerin yapışması, farklılaşması ve çoğalması için biyokimyasal ve biyofiziksel uyarıları yapmaktadır [1]. Fakat travma, yaralanma, yaşlanma gibi nedenlerle doku ve organlar zarar görebilir hatta kaybedilebilir. Doku mühendisliği; bu durumlarda doku ve organların yenilenmesi ve onarımı için çalışma yapan bir bilim dalıdır [2]. Doku mühendisliğinden ilk olarak 1987'de ABD Ulusal bilim vakfının bir toplantısında Kaliforniya Üniversitesi'nden Dr. Y.C Fung tarafından söz edilmiştir. Gerçek anlamdaki doku mühendisliği tanımı Massachusetts Teknoloji Enstitüsü'nden (MIT) Prof. Robert Langer ve Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Prof. James Vacanti'nin ortak çalışmaları sonucu yapılmıştır. Avrupa Komisyonun yaptığı doku mühendisliği tanımı da şu şekildedir: 'Doku mühendisliği, canlı hücrelerin, destek malzemeleri ve/veya biyolojik moleküllerin yardımıyla biyolojik dokuları oluşturmalarıdır.' [26].

Doku mühendisliğinin en temel amacı, hastadan veya başka vericiden alınan hücrelerin doku iskeleleri üzerine ekilip uygun hücre kültürü ortamında 3 boyutlu dokuların üretilmesini sağlayarak gerekli onarımı yapmasıdır. Doku mühendisliği transplantasyon için mevcut canlı doku ve organların yetersizliği probleminin üstesinden gelmek için gerekli potansiyele sahip bir bilim dalıdır [2].

Doku mühendisliğinin dört temel bileşeni vardır: Bunlar doku iskeleleri, işlevselliğe sahip hücreler, biyosinyal molekülleri ve biyoreaktörlerdir. Doku iskeleleri vücut içerisinde gerçek doku mikroçevresini taklit edebilen, biyoyumlu ve biyobozunur yapıdaki polimer, seramik veya kompozit malzemelerden üretilen 3 boyutlu yapılardır. Bir diğer bileşen olan biyosinyal molekülleri ise doku veya organ rejenerasyonu boyunca yapışma, yayılma, üreme, farklılaşma gibi hücresel işlevlerde destekleyici olarak görev yapar. Uygun kaynaktan alınan hücreler öncelikle doku iskelesine ekilir ve bu hücre gerekli besin maddeleri ve biyosinyal molekülleri ile oluşturulan hücre kültüründe doku iskelesine tutunur, çoğalır ve kendi hücre dışı matrislerini sentezleyerek doku oluşturmaya başlarlar. Bu işlemler hem vücut dışında yani laboratuvar koşullarında (*in vitro*) hem de vücut içinde (*in vivo*)

gerçekleştirilebilmektedir. Hücre dışı matris oluşmaya başladıktan sonra doku iskelesinin bozunup tamamen yok olması beklenmektedir [26–28].

Doğal hücre dışı matrise benzeyen yapı oluşturmak için hücresel iletişimi sağlayabilecek ve taklit edebilecek çok sayıda malzeme üretilmektedir [29]. Biyoaktif skafoldlar olarak da adlandırılan doku iskeleleri hücre dışı matrisi taklit ederek geçici bir destek yapı oluşturur ve hücrelerin yapışmasına, çoğalmasına ve işlevlerini yerine getirmesi için uygun yüzey oluşumuna olanak sağlar [3]. Diğer bir deyişle skafoldlar yapay hücre dışı matrislerdir. Skafold kullanımının asıl amacı dokuyu oluşturan hücrelere istenilen şekil ve boyutlarda yeni doku sentezinde geçici bir destek yapısı sağlamaktır [2].

Skafoldlarda aranan başlıca özellikler şunlardır: [1, 30–32]

- a) Besinlerin, metabolik atıkların akışını ve hücre büyümesini sağlayan birbirine bağlı gözenekli ve 3 boyutlu yapıda olması,
- b) Yapay ortamda veya canlının içinde hücre/doku eşleşmesini sağlayabilecek kontrol edilebilir bozunma ve emilim hızıyla biyouyumlu ve biyoemilebilir olması,
- c) Hücrenin yapışması, çoğalması ve farklılaşması için uygun yüzey kimyasına sahip olması,
- d) Hücreler yeni hücre dışı matrisi oluşturabilecek hale geldiklerinde, yapay doku iskelesin parçalanabilir olması,
- e) Parçalanırken zehirli ürünler oluşturmaması,
- f) Mekanik özelliklerinin implantasyon yapılacak dokudakilerle eş değer olması.

2.2. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyomalzemeler

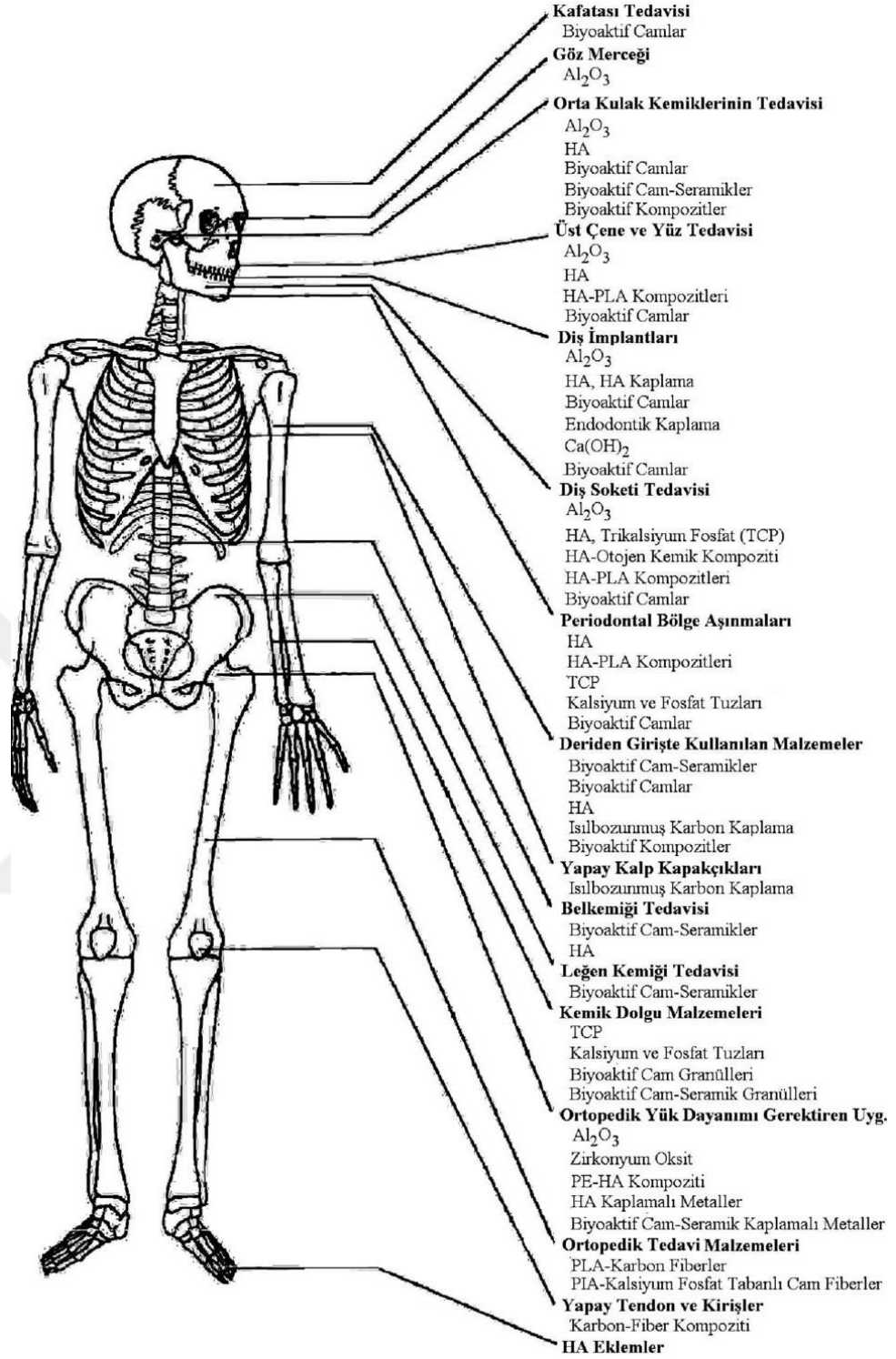
Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan belirli özelliklere sahip olan doğal ya da sentetik malzemelerdir [26]. Biyomalzemenin literatürdeki en yaygın tanımı da şöyledir; biyolojik sistemlerle etkileşim için hazırlanmış, tıbbi araçlarda kullanılan cansız malzemelerdir. Bir malzemenin biyomalzeme olduğunu kanıtlayan en önemli özellik, biyouyumluluktur [33, 34]. Şekil 2.1’de biyomalzemelerin kullanım alanları yer almaktadır.

Biyomalzemeler metaller ve alaşımlar, polimerler, biyoseamikler ve kompozitler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır.

2.2.1. Metaller ve Alaşımlar

Metaller ve alaşımlar, yapılarındaki güçlü metalik bağlardan kaynaklanan mekanik özellikleri nedeniyle biyomalzeme sınıfının önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Metallerin eklem protezinden kemik yenileme malzemesine, diş implantından kalp-damar cerrahisindeki yapay kalp parçalarına kadar birçok alanda kullanımı mevcuttur. İnsan vücudunda kullanılan ilk metal ‘Sherman-Vanadyum Çeliği’ dir [35]. Altın, platin, kobalt içeren alaşımlar, dental amalgam, nikel-titanyum alaşımları gibi çok sayıda metal ve alaşımlar biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Diğer taraftan metaller, vücut sıvısının içerdiği su, çözünmüş oksijen, hidroksit ve diğer başka iyonlar nedeniyle korozyona uğrarlar. Korozyon sonucu biyomalzeme zayıflar ve korozyon nedeniyle oluşan ürünler hücrelere zarar verebilir. Bu yüzden korozyona dirençli metallerin biyomalzeme olarak kullanılması gerekmektedir [26]. Ayrıca metaller dokulara kıyasla daha serttirler ve metal iyonu salımı nedeniyle alerjik semptomlara yol açabilirler [36].

Metaller biyoinert malzeme sınıfında yer almaktadırlar. Fiziksel ve kimyasal yaklaşımlarla metal implantların yüzeyini aktifleştirmek için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Holzapfel ve ark., 2013’ün yaptığı magnezyum esaslı implantlar alanındaki çalışmalar da bunlara örnek gösterilebilir [28].



Şekil 2.1. Biyomalzemelerin kullanım alanları [37].

2.2.2. Polimerler

2.2.2.1. Doğal Polimerler

Doğal yolla oluşan polimerlerin doku mühendisliği uygulamalarında biyoaktif malzeme olarak kullanımı oldukça yaygındır . Biyoaktif malzemeler; vücut içi implantasyonda kullanıldığı zaman, vücut ile reaksiyona girerek doku oluşumunu sağlayan malzemelerdir. Doğal polimerler biyolojik özelliklerinden dolayı iskele yapımında sıklıkla tercih edilir [38]. Doğal polimerler; polisakkaritler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere üç grupta incelenir. Selüloz, kitin, kitosan, hiyalüronik asit, alginat, kolajen, elastin doğal polimerlere örnek verilebilir. Bu malzemeler doğal yolla oluştukları için toksiklik ve antijenlik gibi durumlarla başa çıkmada çok uygun malzemelerdir. Hem deneysel hem teorik uygulamalarda bu uyumluluk özellikleri gözlenmektedir [33]. Polimerlerin lif, film, jel ve nanopartikül gibi farklı şekillerde ve bileşimlerde üretiliyor olması çok geniş bir kullanım alanının olmasına imkân tanımaktadır [8].

2.2.2.2. Sentetik Polimerler

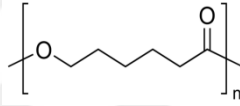
Sentetik polimerlerin biyomühendislikte matrisler ve plakalar olarak kullanılması, doğal polimerlere kıyasla birkaç önemli avantaj sağlar. Sentetik polimerler; şekilsel ve kimyasal olarak uygun alternatifler üreterek ECM sistemlerini taklit etmek için cazip seçenekler sunar. Polyesterler ve poliüretanlar biyomühendislikte kullanılan sentetik polimer gruplarıdır. Doku rejenerasyonunda en çok tercih edilen sentetik polimerlere örnek olarak poli(α -hidroksi asit) grubundaki polilaktik asit (PLA) ve poligolik asit(PGA) gösterilebilir [38]. Polikaprolakton da biyoyumluluğu, fizyolojik koşullar altında hidrolizi yüksek olan doku mühendisliği uygulamalarında ilgi çeken hidroksi alkanoik bazlı sentetik polimerdir. Birçok sentetik polimerin biyomedikal uygulamalarda hücre dışı matris benzeri mikro ya da nano boyutta lifler oluşturabilmesi biyoyumlu ve işlenebilir olmasındandır [33, 34].

2.2.2.2.1. Polikaprolakton (PCL)

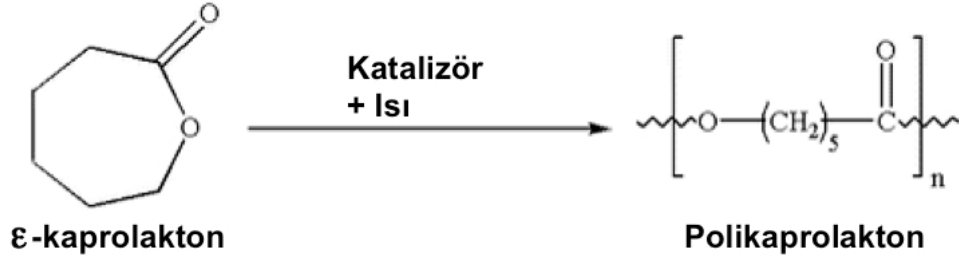
Polikaprolakton (PCL) 1930'un başlarında Carothers grubu tarafından sentezlenen bir polimerdir [30]. Hidrofobik, yarı kristal bir polimerdir ve kristalliği, artan moleküler ağırlığa göre azalmaktadır. Düşük erime sıcaklığına sahip olması ve

farklı solventler içinde çözünür olması polikaprolaktona olan ilgiyi arttırmış ve çeşitli biyomedikal alanlarda kullanımına imkân tanımıştır. Biyouyumlu ve esnek oluşunun yanı sıra doku mühendisliğindeki geniş kullanım alanlarından dolayı da oldukça dikkat çekmektedir. PCL elektroegirme yöntemiyle hücre dışı matrisi taklit edebilen lif oluşumuna yatkınlığı ile de bilinmektedir [30, 38, 39]. Tablo 2.1.'de polikaprolaktonun fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmektedir.

Tablo 2.1. Polikaprolaktonun fiziksel ve kimyasal özellikleri [41].

Eş Anlamlıları	2-Oksapanon homopolimer, 6-Kaprolakton polimer
Moleküler Ağırlığı	3000-80,000 g/mol
Kimyasal Formülü	$(C_6H_{10}O_2)_n$
Yapısal Formülü	
Erime Noktası	59-64 °C
Parlama Noktası	275 °C
Parçalanma Sıcaklığı	200 °C
Yoğunluk (25 °C)	1.145 g/ml
Camsı geçiş sıcaklığı	-60 °C

PCL halkalı monomer ϵ -kaprolaktonun halka açılımı polimerizasyonuyla sentezlenebilir (Şekil 2.1.). PCL' nin polimerizasyonunu etkileyen anyonik, kationik, koordinasyon ve radikal gibi mekanizmalar bulunmaktadır. Her bir metot oluşturulan PCL'nin molekül ağırlığını, molekül ağırlık dağılımını, uç kompozisyonunu ve kopolimerlerin kimyasal yapısını etkilememektedir [30, 40].



Şekil 2.2. ε-kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi [42].

PCL, - 60 °C camsı geçiş sıcaklığında (T_g) ve + 59-64 °C arasında değişen erime sıcaklığına sahiptir [41]. PCL örneklerinin ortalama molekül ağırlığı 3000 ile 100,000 g/mol arasında değişmektedir ve molekül ağırlığına göre derecelendirilmektedir [41]. PCL kloroform, diklorometan, karbon tetraklorür, benzen, tolüen, sikloheksanon ve 2-nitropropan içinde oda sıcaklığında çözünmektedir. 2-bütanon, etil asetat, asetonitril ve dimetilformamit içinde düşük çözünürlük göstermektedir. Diğer yandan; alkol, petrol eter ve dietil eter içinde çözünmez. PCL yüksek termal kararlılığıyla diğer alifatik poliesterlerden ayrılmaktadır. Diğerlerinin bozunma sıcaklıkları (T_{boz}) 235 ve 255 °C arasında iken PCL'nun T_{boz} değeri yaklaşık 350 °C' dir [42].

PCL, uyguladığı skafoldun başlangıç ağırlığına ve porozite, kalınlık, toplam yüzey alanı gibi yapısal özelliklerine bağlı olarak 2 ila 4 yıl arasında tamamıyla degradasyona uğrar [43]. PCL stres çatlak direnci, çekilebilirlik ve adezyon gibi özellikler kazanması için diğer bazı polimerlerle birlikte kullanılabilir [30]. PCL'nin termoplastik yapısı sayesinde fosfatla kompoziti diş hekimliğinde dolgu malzemesi olarak kullanımına imkân tanımaktadır. Yumuşak ve sert doku uyumluluğundan dolayı dikiş ipliği, ilaç salım ajanı, deri örtüsü olarak da kullanılmaktadır. PCL yapısının yüksek mekanik dayanıma sahip olmasından ve biyomedikal uygulamalarda bakteri üremesine olanak vermemesinden ötürü oldukça kullanışlıdır [41].

2.2.3. Biyoseramikler

Vücutun zarar gören veya işlevini yitiren organlarının onarımı, yeniden yapılandırılması veya yerini alması amacıyla özel olarak tasarlanan seramiklere biyoseramik malzemeler denir. Biyoseramikler kullanıldığı konak dokudaki etkileşimine göre 2 grupta incelenmektedir: biyo inert seramikler ve biyoaktif seramikler [44].

Sert doku yerine biyomalzeme kullanılan ilk çalışmalarda amaç, yaralanmadan dolayı oluşan kusurları onararak temel fonksiyonları iyileştirmektir. Bunu yaparken de fizyolojik çevreden olabildiğince az biyolojik tepki almak amaçlanmaktadır. Bu amaçlarla kullanılan malzemeler biyo inert olarak sınıflandırılır. Alümina(Al_2O_3) ve zirkonya (ZrO_2) gibi oksit seramikler biyo inert malzeme grubunda yer almaktadır. Toksik etkilerinin olmayışı bu malzemelerin özelliklerindedir [44]. Diğer taraftan mekanik dayanımları ve korozyon dirençleri yüksek; sürtünme katsayıları düşük ve biyobozunur olmamalarından ötürü kalça protezi olarak kullanılabilir [42].

Biyoaaktif seramikler kullanıldığı konak hücreyle kimyasal etkileşime girebilen seramik grubudur. Bu tür seramikler fizyolojik sıvılara maruz kaldıklarında reaksiyonun yan ürünü olan aktif karbonat apatit ile kaplanır. Bu aktif karbonat apatit kemikteki mineral faz ile eşdeğer olduğu için, kemik ile bağlanma ara yüzeyi oluşturmaktadır [45].

Kemik doku mühendisliğinde kullanılan biyoaktif seramik skafold malzemelerinin en başında hidroksiapatit ve diğer kalsiyum fosfatların (örneğin; α -TCP, β -TCP) gelmesi şüphesiz ki kemiğin ağırlıkça %60'ının HA $Ca(PO_4)_6(OH)_2$ 'den oluşmasındandır. Kalsiyum fosfatlar, kemik mineraline kimyasal olarak yakınlığı ve kristal benzerliğinden dolayı mükemmel derecede biyoyumluluğa sahiptir. Bununla birlikte kalsiyum fosfatların osteokonduktif özelliklere sahip olması belirli koşullarda kemiğe bağlanmasını sağlamaktadır. *In vivo* ve *in vitro* yapılan tüm değerlendirmeler; kalsiyum fosfatların hangi formda ya da hangi fazda olursa olsun her zaman ilgili hücreyle bağlanma, farklılaşma ve çoğalmayı sağladığını kanıtlamıştır. Kalsiyum fosfatların içinde tüm bunları en iyi gerçekleştiren faz ise HA'tir. Fakat kristal ve amorf yapıdaki kalsiyum fosfatların

bozunma hızlarında farklılık gözlenmektedir. Kristal yapıdaki HA diğer kalsiyum fosfatlarla karşılaştırıldığında en düşük bozunma hızına sahiptir [46].

Degradasyon hızları:

Amorf HA > α -TCP > β -TCP > Kristal HA

Vücut içinde, doğal kemiğin mekanik özellikleri; kemiğin kristal yapısı, gözenekliliği ve kompozisyonu biyolojik ve fiziksel ve mekanik çevreye uyum sağladığı için değişiklik gösterir. Sentetik kalsiyum fosfatların özellikleri; tanecik büyüklüğü, gözeneklilik ve kompozisyon gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Yüksek kristallenme derecesi, düşük gözenek ve küçük tanecik boyutu daha yüksek sertlik, basma ve çekme dayanımı ve kırılma tokluğu vermektedir [46–48].

2.2.3.1. Biyoaktif Camlar

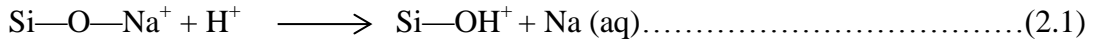
Camlar, cam seramik oluşturulurken kullanılan öncü malzemelerdir. Camlara uygulanan ısı işlem sayesinde daha iyi mekanik özelliklere sahip cam seramikler elde edilir [45]. Fakat bu camların kristallenmeye uygun olması gerekmektedir [37]. Kokubo ve ark., 1990 tarafından geliştirilen apatit-vallastonit (A/W) biyoaktif cam seramik buna örnek olarak verilebilir [48]. Biyoaktif cam amorf bir yapıya sahipken, cam-seramikler kristal faz ile artık camsı faz içeren yarı kristalleşmiş camlardır [2].

Biyoaktif camlar ilk olarak 45S5 kodu ile Hench ve arkadaşları tarafından 1969 yılında üretilmiştir [17]. Günümüzde ise pek çok farklı kompozisyonda biyoaktif camlar bulunmaktadır. Bunlar temel olarak geleneksel silika bazlı biyoaktif camlar, fosfat bazlı biyoaktif camlar ve borat bazlı biyoaktif camlar olarak sınıflandırılabilir [9]. Çoğu biyoaktif camın yapısında bulunan temel bileşenler SiO_2 , Na_2O , CaO ve P_2O_5 'tir. Fizyolojik sıvı ortamında kemiklerin yüzeyine bağlanan bir grup yüzey reaktif malzemeler olarak bilinirler. Biyomedikal alanlarda kullanılan silika bazlı biyoaktif camlar; silikatın farklı oranlarda sodyum, kalsiyum ve fosforla karıştırılmasıyla elde edilir [21]. En bilinen ve klasikleşen biyoaktif cam 45S5'tir. Bu kompozisyon %45 SiO_2 içermekte olup $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ oranı 5:1 şeklindedir. Yapılan çalışmalar bu $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ oranından daha düşük orana sahip biyoaktif camların kemiğe bağlanmasının mümkün olmadığını göstermiştir [37]. Bunun yanında diğer bazı biyoaktif cam kompozisyonları sodyum içermediği gibi demir, gümüş,

potasyum ya da çinko gibi farklı elementler de içerebilir [21]. Biyoaktif camın diğer inorganik skafold malzemelerine göre daha üstün yapısı; tamamen emilebilir olması ve inorganik malzemelerin özelliğini koruyarak çözünürlüğü arttırması nedeniyledir [4]. Biyoaktif cam-seramiklerin sahip olduğu özelliklerden dolayı vücuttaki kullanım alanları oldukça geniştir. Diş implantlarından periodental bölge aşınma tedavilerine, üst çene tedavisinden kemik dolgusuna kadar birçok yerde kullanılmaktadır [37].

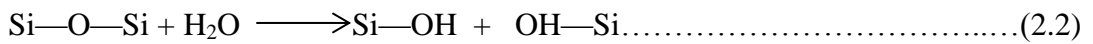
Silikat bazlı 45S5 biyoaktif camının biyoaktivitesi ve kemiğe bağlanma mekanizması pek çok araştırmalara konu olmuştur [48–51]. Bu araştırmalar sonucunda 45S5 camının kemiğe bağlanması vücut sıvısıyla etkileşim içindeki cam yüzeyinin üzerinde karbonat yerine geçen hidroksikarbonaapatit (HCA) benzeri tabaka oluşumuna dayandırılmıştır. HCA tabakası kemikle aynı mineral içeriğine sahip olduğu için canlı doku ve kemiğe sıkıca bağlanır [2]. Biyoaktif cam implantının yüzeyinde ardarda olan reaksiyonlar sonucu oluştuğu düşünülen HCA tabakasının oluşumu şu sırada gerçekleşmektedir [2, 51].

1.Aşama: Biyoaktif cam vücut sıvısı ile etkileşime geçtikten sonra cam ağ düzenleyicileri (Na^+ ve Ca^{2+}) ile solüsyondan gelen H^+ (veya H_3O^+) iyonları hızlı bir şekilde yer değiştirir. Böylelikle silika gruplarının hidrolizi gerçekleşirken cam yüzeyinde silanol (Si-OH) grupları oluşur.



H^+ iyonlarının azalması dolayısıyla OH^- iyonlarının artması nedeniyle solüsyon pH'ı artmaktadır.

2. Aşama: OH^- konsantrasyonundaki artış SiO_2 bağlarının kırılmasına ve silisyumlu asit (Si(OH)_4) formundaki silikanın çözünmesine neden olur. Cam yüzeyinde bulunan Si(OH)_4 Si-O-Si bağlarının kırılması ile silanol formuna geçer.



Silikanın çözünürlüğü düşük olduğu halde, 45S5 camın ve cam-seramiğin ürünlerinin sulu çözeltide çözünmesiyle Si konsantrasyonunda artış gerçekleşir.

3. Aşama: Na^+ ve Ca^{2+} iyonları tükenen cam yüzeyinde, SiO_2 bakımından zengin amorf tabakanın (1-2 μm kalınlığında) yoğunlaşması ve polimerizasyonu gerçekleşir.

4. Aşama: Camın daha da çözünmesi, Ca^{2+} ve $(\text{PO}_4)^{3-}$ iyonlarının SiO_2 bakımından zengin camdan göçüyle birlikte SiO_2 bakımından zengin tabakanın yüzeyinde amorf kalsiyum fosfat (ACP) tabakası oluşmasını sağlamaktadır.

5. Aşama: Cam çözünmeye devam eder, ACP tabakası solüsyondan gelen $(\text{OH})^-$ ve $(\text{CO}_3)^{2-}$ ile birleşir ve HCA katmanı olarak kristallenir [2].

13-93 olarak kodlanan bir diğer silikat bazlı biyoaktif cam, 45S5'in bir türevidir [19]. Fakat 45S5 ile karşılaştırıldığında 13-93 daha yüksek SiO_2 oranına ve ek olarak cam ağ düzenleyicilere (K_2O ve MgO) sahiptir. 13-93 biyoaktif cam kullanılarak elde edilen ürünlerin *in vitro* kullanımı Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından onaylanmıştır [19]. Bunun nedeni, 13-93 viskoz akış sinterlemesi ve cam fazının 3 boyutlu gözenekli skafoldlarda kristalleşme olmaksızın yüksek yoğunlukta sinterlenmesi gibi daha iyi işleme özelliklerinin olmasıdır. Bununla birlikte 13-93 cam 45S5 cama göre daha yavaş çözünmektedir [2].

Düşük kimyasal dayanıklılığa sahip olan bir diğer biyoaktif cam çeşidi olan borat bazlı biyoaktif camlar, 45S5 ve 13-93 gibi silikat biyoaktif camlara oranla daha hızlı çözünüp hidroksiapatit benzeri malzemeye daha hızlı dönüşme yeteneğine sahiptir [52]. Borat bazlı biyoaktif camın hidroksiapatite dönüşüm prosedürü silikat biyoaktif camla benzerlik gösterir. Sadece SiO_2 bakımından zengin tabaka oluşumu gözlenmez. 13-93B3 koduyla bilinen bir borat bazlı biyoaktif cam kompozisyonunda 13-93'ten farklı olarak SiO_2 yerine B_2O_3 'ün bulunmaktadır. Borat bazlı camların üretim kolaylığı ve bozunma hızının kontrol edilebilir olması kemik yenilenmesini teşvik ettiği için borat bazlı camları faydalı kılmaktadır. Diğer bir yandan, borat bazlı biyoaktif camların *in vitro* ve statik ortamda bazı kemik hücrelerinde toksik etkisi olduğu da gözlenmiştir [53].

Biyoaktif camlar genel olarak kemik hücrelerinin üremesini arttırıcı özelliğe sahiptir [54]. Bunun yanında biyoaktif camlar damarlaşmayı da güdülemektedir [55]. Fakat biyoaktif camlar, yapısal olarak kırılabilirliğinden dolayı sadece katkı

maddesi veya metal implantlarda kaplama olarak kullanıldığında başarılı sonuçlar elde edilmektedir [4]. Bütün biyoaktif camlardaki tipik özellik canlı doku ile güçlü bağlar oluşturarak kemik dokuya bağlanmayı sağlamalarıdır. Diğer bir deyişle bu malzemeler biyoreaktiftirler. Kemikle bağ kurulması için; malzeme ile kemik ara yüzeyinde biyolojik olarak aktif apatit yüzey katmanı oluşmalıdır. Bu biyoaktif apatit katmanların gelişimi ortopedik implantlar, kemik değişiminde ve kemik doku mühendisliğindeki skafoldlarda kullanılan inorganik malzemelerin ortak özelliğidir. [21, 56].

2.2.3.1.1. Biyoaktif Cam Sentez Yöntemleri

Biyoaktif camlar hem geleneksel ergitme metoduyla hem de SiO_2 , CaO , Na_2O , P_2O_5 , K_2O , MgO , B_2O_3 ve eser metallere bağlı olarak farklı kompozisyonlar içeren sol-jel (ince asıtlı pelte) tekniğiyle sentezlenebilir [4].

Hench tarafından ilk üretilen 45S5 biyoaktif camın da üretim metodu olan yüksek sıcaklıkta ergitme yöntemi, tüm malzemelerin karıştırılarak $1300\text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üstünde ergitilmesi ile gerçekleşir [57]. İşlem basamakları; başlangıç hammaddelerini karıştırma, yüksek sıcaklıkta ergitme, homojenleştirme ve camı şekillendirme. Bu aşamalar sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli husus, yabancı maddelerin karışmasını engellemektir. Üretim sırasında eriyiğin kirlenmemesi için platin veya platin alaşım potaların kullanılmasına dikkat edilmelidir. Camı şekillendirme, döküm veya püskürtme dökümle yapılabilmektedir. Kompozisyona da bağlı olarak yumuşatma tavlama kritik sıcaklık aralığının, biyoaktif cam bileşimlerinin ısı genleşme katsayılarının yüksek olması sebebiyle, $723\text{-}823\text{ K}$ olması gerekmektedir [37].

1990'lu yıllarda kimya alanındaki yenilikler sayesinde ortaya çıkan sol-jel yöntemi, biyoaktif cam nanopartikülleri de üretmede kullanılan bir yöntemdir. Ergitme yöntemine kıyasla sol-jel yöntemi daha düşük sıcaklıklarda üretim yapmaya imkân sağlamaktadır. Bu proses, inorganik polimerik bir ağın oda sıcaklığında ve ortam basıncında oluşumuna neden olan moleküler öncüllerin (alkoksitler veya tuzlar) hidrolizi ve kondenzasyonuna dayanmaktadır [57]. Kolloidal bir çözelti oluşturmak için oda sıcaklığında tetraetil ortosilikat (TEOS) gibi alkoksilatların hidrolizi gerçekleşir. Su molekülü ile alkoksit etkileşim içine girerek alkol molekülü

oluşur. Daha sonra silanol (Si-OH) gruplarının polikondenzasyonu ile oligomerler oluşur. Polimerizasyon aşamasının bitmesiyle üç boyutlu, çapraz bağlı yapı oluşmaktadır. Ağ içinde sıkışan çözücü nedeniyle viskozite artar ve jel oluşumu gözlenir. Jel oluşumundan sonra yaşlandırma, kurutma ve sinterleme işlemleri gerçekleştirilir [58]. Sol-jel tekniği ile üretilen biyoaktif camların SiO₂ oranı %90'lara ulaşabilirken ergitme tekniğinde bu oran en fazla %60 olmaktadır [59].

2.2.4. Biyoaktif Cam İçeren Kompozitler

Farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla malzemenin özelliklerini koruyarak oluşturdukları çok fazlı malzemelerdir [21]. Kompozit malzemeler birtakım dezavantajlara sahip diğer malzemelere alternatif olarak üretilmektedir. Kompozit malzemeler kendisini oluşturan malzemelerin tek başına sahip olmadığı özelliklere sahiptir. Kompozit malzeme matris olarak adlandırılan bir malzeme içeresine güçlendirici malzeme katılması ile hazırlanır. Matris olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olarak da daha çok cam, karbon ya da karbon lifler ve çeşitli seramik tozlar kullanılır. Bu malzemeler homojen malzemelere göre vücuttaki yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır [59]. Kompozitlerle ilgili günümüzde oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların birkaçı aşağıda detaylı olarak ele alınmıştır.

Martins ve ark., 2017 köpürtme yöntemiyle 3 boyutlu biyoaktif cam içeren kitosan köpük kompozitleri üretmişlerdir. Üretilen skafoldların yüksek gözenekliliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarından, kitosan/biyoaktif cam köpüklerinde katkısız kitosana göre mekanik özelliklerin daha iyileştiği, moleküller arası etkileşimin arttığı ve gözenek dağılımının homojen olduğu anlaşılmıştır. Üretilen bu kompozitlerde toksik etkiler görülmemiştir. Bu sonuçlar üretilen skafoldların doku mühendisliğinde kullanabileceğini desteklemiştir [60].

Farklı miktarlarda tetrapod çinko oksit (ZnO) wisker içeren biyoaktif cam/jelatin kompozit skafoldlar Guo ve ark., 2017 tarafından üretilmiştir. Kompozit skafoldların morfolojisi, mekanik özellikleri ve *in vitro* biyoaktivitesi incelenmiştir. Artan ZnO miktarıyla, mekanik özelliklerin iyileştiği gözlenmiştir. Bununla birlikte %2' den fazla ZnO ilavesi, ZnO'nun topaklaşmasıyla sonuçlandığı için mekanik özellikler üzerinde takviye etkisi azalmaya başlamıştır. *In vitro* biyoaktivite testleri çinko iyonlarının salınmasının HCA'nın büyümesini geciktirdiğini ortaya koymuştur.

Elde edilen tüm veriler, kompozit skafoldların kemik onarımında kullanabileceğini göstermektedir [61].

Gönen ve ark., 2016 bir çalışmada nanokompozit jelatin/polikaprolakton lifli mat üretmişlerdir. Stronsiyum veya bakır katkılı biyoaktif cam partikülleri elektroçirime yöntemiyle jelatin/polikaprolakton nanoliflerin içine yerleştirilmiştir. Biyoaktif cam oranı arttıkça, nanokompozit lif matların ortalama lif çapında artış gözlenmiştir. Polimerik matris içindeki biyoaktif cam artışı *in vitro* biyoaktifliği de pozitif yönde etkilemiştir. Tedavi amaçlı ilave edilen stronsiyum ve bakır iyonlarının SBF'ye daldırma süresine göre salım oranları; stronsiyum için 5.4-10.1 mg/g skafold, bakır için 0.34-1.87 mg/g skafold olarak bulunmuştur. Sonuçlar umut verici olmasına rağmen, biyoaktif cam bileşiminde SrO ve CuO miktarının, nanokompozit lif matların osteojenik, anjiyojenik ve antibakteriyel potansiyelini geliştirmek için artırılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu çalışma nanokompozit malzemeler kullanarak doku mühendisliği uygulamaları için skafold tasarlamak adına iyi bir yaklaşım oluşturmaktadır [62].

Dziadek ve ark., 2016 adaçayından çıkarılan polifenollerle zenginleştirilmiş polikaprolakton/biyoaktif cam kompozitleri üretmişlerdir. Biyoaktif cam partikülleri sol-jel ve ergitme metotlarıyla üretilmiştir. Polifenolin canlı dışındaki salım kinetikleri, ABTS^{•+} ve DPPH[•] radikallerine karşı antioksidan aktivitesi, WM266-4 kanser hücrelerine karşı hücre büyümesini engelleyen aktivitesi, biyoaktifliği ve yüzey ıslanabilirliği değerlendirilmiştir. Sonuçlar antioksidan ve antikanser aktivitelerini doğruladığı gibi biyoaktifliğinde artış ve hidrofiliğinde gelişme olduğunu ortaya koymuştur [63].

Mohammadkhah ve ark., 2015 üç farklı kompozisyonda, polikaprolakton (PCL) ve biyoaktif cam çeşitleri kullanılarak hazırlanmış kompozit plakları incelemişlerdir. Bu üç kompozit ağırlıkça %50 PCL' a ve ağırlıkça %50 13-93B3 borat cam parçaları, ağırlıkça %50 45S5 silikat cam parçaları, ağırlıkça %25 13-93B3 borat cam parçaları ve ağırlıkça %25 45S5 silikat cam parçalarının karışımından oluşmaktadır. Her bir kompozitin bozunma profillerine bakılarak sadece 13-93B3 borat cam içeren kompozitin sadece 45S5 silikat cam içeren bozunma hızının daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Polimere eklenen biyoaktif camın mekanik özelliğe etkisi tek eksenli gerilim deneyi ile belirlenmiştir. Tüm

kompozitlerin en yüksek değerdeki gerilimleri saf PCL'den daha azdır. Bununla birlikte 6 hafta hücre kültürü ortamında ön reaksiyon uygulanan saf PCL'nin sertliği biyoaktif cam katkılılara göre daha yüksek elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, PCL ve biyoaktif cam kompozit plaklarının sinir dokusu tedavi uygulamaları için uygun biyomalzeme olduğuna karar verilmiştir [64].

Ji ve ark., 2015 tane boyutları 50-90 nm arasında değişen biyoaktif camları stöber metotla sentezlemiştir. Farklı oranlarda biyoaktif cam içeren (ağırlıkça %0, %10, %20, %30, %40) polikaprolakton-biyoaktif cam kompozitlerini eriyik harmanlama ve termal enjeksiyon kaplama yöntemleriyle üretmişlerdir. Biyoaktif cam katkısının mekanik özelliklere etkisi ve kompozitlerin *in vitro* biyoaktivitesi XRD, FTIR, SEM analizleriyle incelenmiştir. Ağırlıkça %40 biyoaktif cam ilavesinde biyoaktif camın daha homojen dağıtılabirliği gözlenmiştir. Kompozitlerin elastik modülü içeriğindeki biyoaktif cama bağlı olarak 198 ± 13 MPa'dan 851 ± 43 MPa' a artış gösterirken, çekme direnci 19-21.5 MPa arasında değişmiştir. Bununla birlikte hidrofilik özellik ve bozunma davranışında, artan biyoaktif cam katkısıyla iyileşme gözlenmiştir [65].

Farklı boyutlardaki (6µm, 250 nm, < 100 nm) ve ağırlıkça %5'lik 45S5 biyoaktif cam partikülleri içeren polikaprolakton filmler Tamjid ve ark., 2011 tarafından çözücü döküm yöntemi (solvent casting) kullanılarak hazırlanmıştır. Biyoaktif cam partikülleri yüksek enerjili mekanik öğütücüde öğütülerek istenilen tanecik boyutuna indirgenmiştir. Uzun bir mekanik öğütme sırasında amorf biyoaktif cam parçacıklarının kısmen kristalleşmesinin gerçekleştiği ve kalsiyum silikat (CaSiO_3) ve sodyum kalsiyum silikat ($\text{Na}_2\text{CaSiO}_4$) fazlarının oluştuğu bulunmuştur. Mikron boyutunda biyoaktif cam içeren filmlerle mikron altı biyoaktif cam içeren filmler karşılaştırıldığında, mikron altı biyoaktif cam içeren filmlerde biyoaktivite, sertlik, elastik modüllerinde fark edilebilir bir artış olduğu gözlenmiştir. Diğer bir taraftan nanopartiküllerin geniş yüzey alanına sahip olmasına rağmen, mekanik öğütme sırasında kısmi kristalizasyon ve işlem sırasında nanopartiküllerin topaklanması biyoaktif cam katkılı PCL kompozitlerin hidrofilikliğini, biyoaktivitesini ve mekanik gücünü düşürmüştür [66].

Esfahani ve ark., 2011 iki fazlı kalsiyum fosfat (BCP) skafoldları mekanik özelliklerini arttırmak ve biyoaktifliğini geliştirmek için bu skafoldları biyoaktif cam

ve PCL içeren nanokompozit bir tabakayla kaplamışlardır. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki (%1-90) biyoaktif camın skafoldların, mekanik özellikleri ve *in vitro* davranışı incelenmiştir. Bununla birlikte PCL ve hidroksiapatit kaplı BCP skafold ve sadece PCL kaplı BCP skafold üretilip biyoaktif cam ve PCL kaplı BCP skafoldlarla karşılaştırılmıştır. %1-90 arasında değişiklik gösteren biyoaktif cam katkılı skafoldlarda yapılan mekanik testler sonucu basma dayanımı 0.2-1.45 MPa ve modülü 19.3-49.4 MPa arasında ölçülmüştür. Bu değerler hidroksiapatit katkılı örneklerde de yaklaşık olarak aynı iken biyoaktif cam katkılı skafoldların daha iyi biyoaktifliğe ve bozunma hızına sahip olduğu gözlenmiştir. Mekanik özelliklerin maksimum olduğu biyoaktif cam katkı oranı %30 olarak belirtilmiştir [67].

Fabbri ve ark., 2010 katı-sıvı faz ayırma yöntemiyle polikaprolakton (PCL) ve 45S5 biyoaktif cam kullanılarak gözenekli kompozitler üretmişlerdir. Kompozitlerin bileşimindeki ağırlıkça biyoaktif cam katkısı %0 ile 50 arasında değişmektedir. Çözücü olarak dimetilkarbonat (DMC) ya da dioksan (DIOX), çıkarma ortamı olarak etanol kullanılmıştır. Skafoldların gözenekliliğinin %88-92 civarlarında olduğu belirlenmiştir. Mekanik özellikler kompozitin içindeki cam katkısının miktarına göre değişiklik göstermiştir. Mekanik özellikleri etkileyen bir diğer faktör de çözücüdür. %50-%50 PCL-biyoaktif cam kompozisyonuna sahip DIOX ile hazırlanan örneğin elastik modülü 251 ± 32 kPa iken DMC ile hazırlanan örneğin elastik modülü 156 ± 36 kPa'dır. Skafoldlar hidroksiapatit oluşumunu gözlemlemek için SBF'de bekletilmiştir. Yüksek oranda cam katkılı skafoldlarda hidroksiapatit oluşum miktarlarının fazla olduğu gözlenmiştir [14].

2.3. Doku Mühendisliğinde Nanoliflerin Kullanımı

2.3.1. Doğal Hücre Dışı Matris ve Nanolifler

Doğal hücre dışı matris 50-300 nm çaplarındaki fibriler kolajenlerden oluşmaktadır. Geçmiş yıllarda yapılan doku mühendisliği çalışmalarında doğal ve sentetik polimerler kullanarak farklı üretme metotları sonucu elde edilen skafoldların lif çapı 10 μ m civarında olmuştur. Bu da doğal hücre dışı matristeki lifle karşılaştırıldığında çok büyüktür. ECM'yi daha iyi taklit edebilmesi için lif çapının mikrometreden nanometreye düşmesi gerekmektedir [46]. Nanolifler hücre dışı matrisin fonksiyonlarını taklit etmeye, yenilemeye ve düzenlemeye elverişli yapılardır. Bu yapıların en büyük avantajı bazı hücrelerin büyümesine ve hücresel

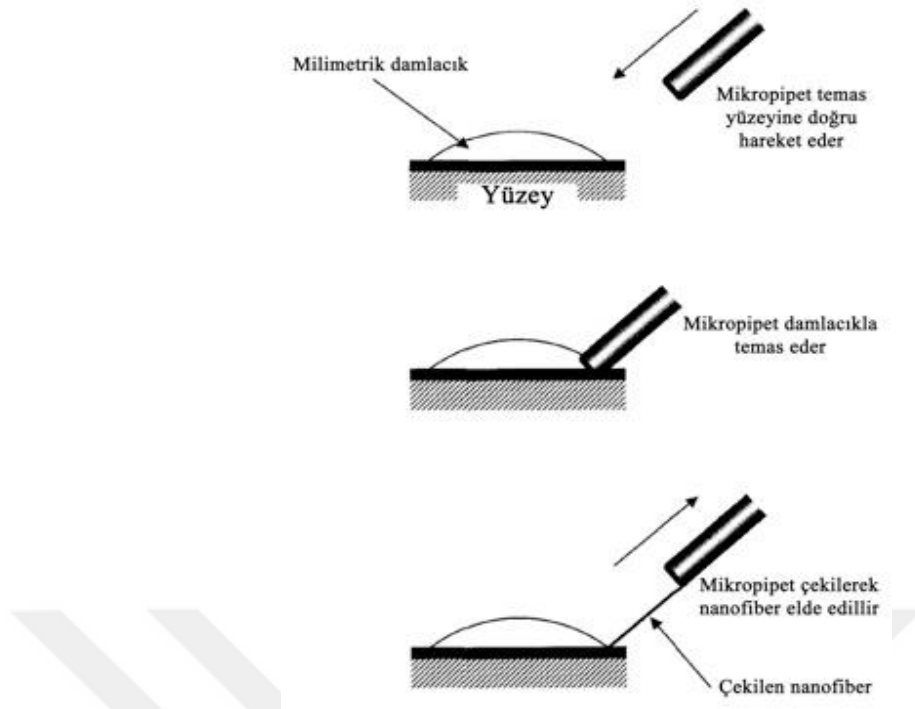
farklılaşmaya ortam sağlayan geniş yüzey alanına sahip olmasıdır [29]. Nanolif üretme teknikleriyle 1-1000 nm çaplarında yüzey alanı çok yüksek olan nanolifler üretilmektedir. Nanoliflerin yüzey alanının yüksek olmasının yanı sıra yüksek gözeneklilik, değişebilen gözenek boyutu, yüksek yüzey/hacim oranı gibi avantajları vardır. Nanofibriler yapılardan hazırlanan doku iskeleleri kırık, kemik, ligament, deri ve damar onarımı gibi geniş kullanım alanına sahiptir [68].

2.3.2. Nanolif Üretim Yöntemleri

Nanoliflerin özellikle polimer olanlarının, daha büyük yapıdaki liflere oranla daha çok tercih edilmesinin; esnek yapıda olması, daha iyi mekanik özelliklere sahip olması ve birim hacimdeki yüzey alanının fazla olması gibi birçok nedeni vardır [69]. Nanolifleri üretme yöntemlerinden bazıları faz ayrımı, kendiliğinden birleşme, çekme, kalıp sentez yöntemi ve elektroğirmediir [70]. Proje kapsamında nanolif üretiminde kullanılan elektroğirme yöntemi bölüm 2.4'te detaylı olarak açıklanmaktadır.

2.3.2.1. Çekme Yöntemi

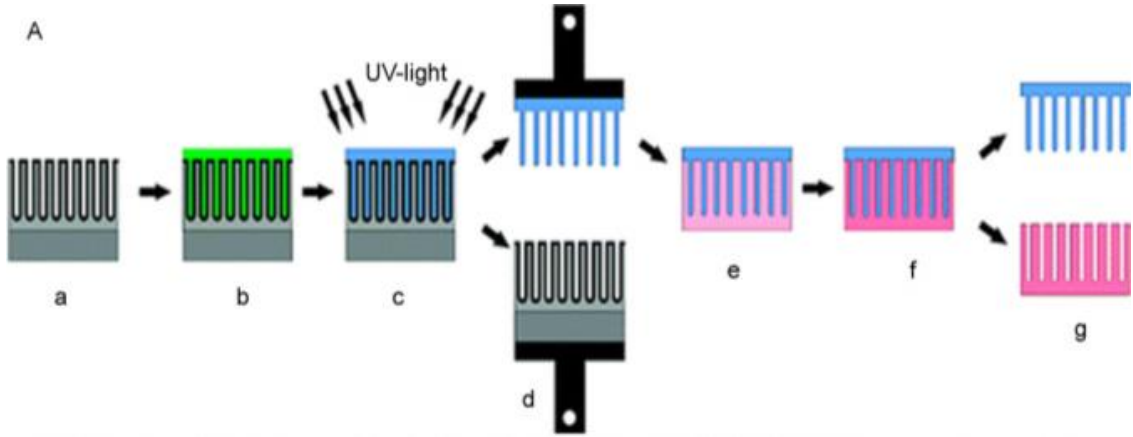
Çekme yönteminde nanolif üretimi sitrat molekülleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Mikropipet, düz bir yüzey üzerinde sıvı damlacığa daldırılır ve mikromanipülator yardımıyla belirli bir hızla damlacıktan uzaklaştırılır (Şekil 2.3.). Çekilen nanolifler uzayan liflerin bitiş noktasına dokunup sıvıdan ayrılır ve oluşan nanolifler bir yüzeyde toplanır. Her bir damlacıkla bu işlem tekrarlandığında istenilen miktarda nanolif üretimi sağlanır [71]. Çekme yöntemi basit ve ucuz bir yöntemdir. Çekim bölgesinde sabit ısı dağılımını gerektirmektedir ve üretilen tellerin boyları belli bir limitle sınırlıdır. Bu yöntemle üretilen nanoliflerin esneklik kabiliyetleri iyidir ve düşük optik kayıp gösterirler [72]. Son yıllarda çekme yönteminde mikropipet yerine atomik kuvvet mikroskobu veya taramalı elektron mikroskobu uçları kullanılmaktadır. Geliştirilen bu sistemle tekrarlanabilir ve daha uzun nanolifler elde edilmektedir [71].



Şekil 2.3. Çekme yönteminin şematik gösterimi [71].

2.3.2.2. Kalıp Sentezi (Template Synthesis)

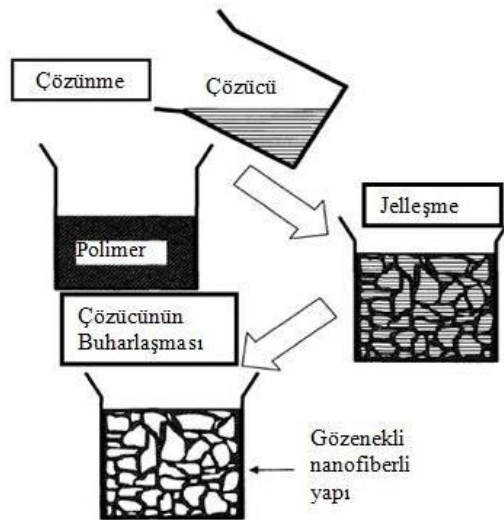
Kalıp sentezi değişik morfolojilerde nano malzemelerin kontrollü sentezine olanak sağlayan etkili bir yöntemdir [70]. Şekil 2.1.'te kalıp senteziyle nanolif üretim tekniği gösterilmiştir. Kalıp sentezinde nanolif oluşturmak için nano gözenekli bir membran kalıp olarak kullanılmaktadır. Bu kalıp genelde metal oksittir. Polimer çözeltisi kalıp içerisine yerleştirildikten sonra üzerinde bulunan suya basınç uygulanarak nano gözeneklerden akması sağlanmaktadır. Aşağıda bulunan çözeltiliye akan nanolifler katılaşıp ve kararlı bir yapıya sahip olur. Nanoliflerin çapı kalıp içindeki nano gözenekler tarafından belirlenmektedir [71]. Diğer taraftan bu metotta kullanılan malzemelerin elektronik iletkenliği olması gerekmektedir ve bu yöntemle sürekli nanolif üretiminde zorluk yaşanmaktadır [73].



Şekil 2.4. Kalıp senteziyle nanolif tekniğini gösteren şematik (gri: alümina şablon, yeşil: reçine, mavi: polimer nanolifler, pembe: silika replika şablon) [74].

2.3.2.3. Faz Ayrımı (Sol-Jel Process)

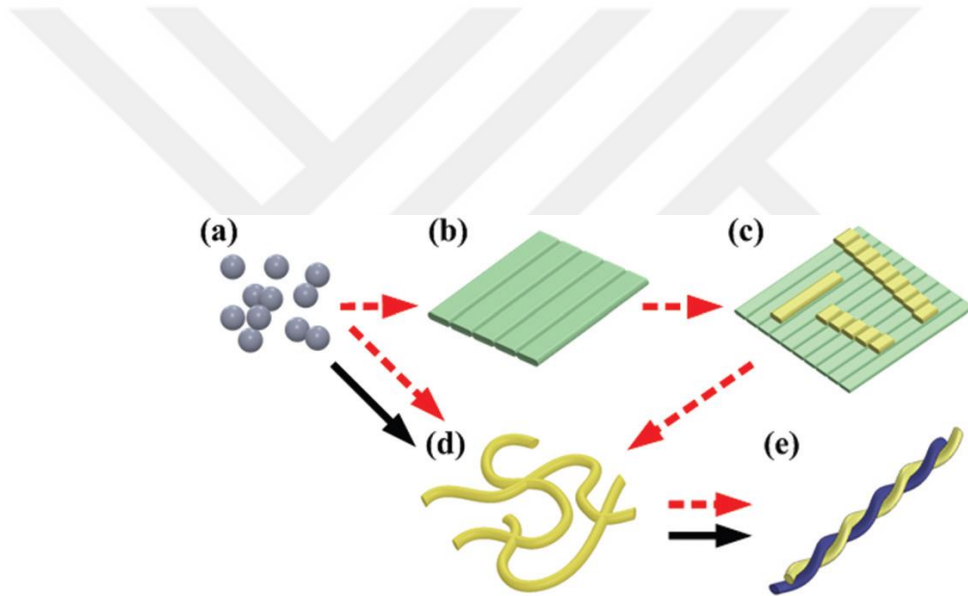
Bu yöntemin ana prensibi fiziksel uyumsuzlıklardan ötürü fazların birbirinden ayrılmasıdır. Faz ayrılması yönteminde prosedür şöyledir: polimerin solvent içinde çözünmesi, fazların ayrılması ve polimerin düşük sıcaklıkta jelleşmesi, suya daldırmayla çözücü değişimi, dondurma ve dondurarak kurutma (Şekil 2.5.). Polimerce zengin faz ve polimerce yoksun faz olarak iki faz oluşmaktadır. Üretilen nanoliflerin morfolojisi jelleşme sıcaklığı, polimer konsantrasyonu gibi bazı parametrelere bağlıdır ve bunlara bağlı olarak kontrol edilebilir. Poroziteleri %98.5' a ulaşan 50 ila 500 nm çapları arasında nanolifler üretilebilmektedir [74].



Şekil 2.5. Faz ayrılması yönteminin şematik gösterimi [74].

2.3.2.4. Kendiliğinden Toplanma (Self Assembly)

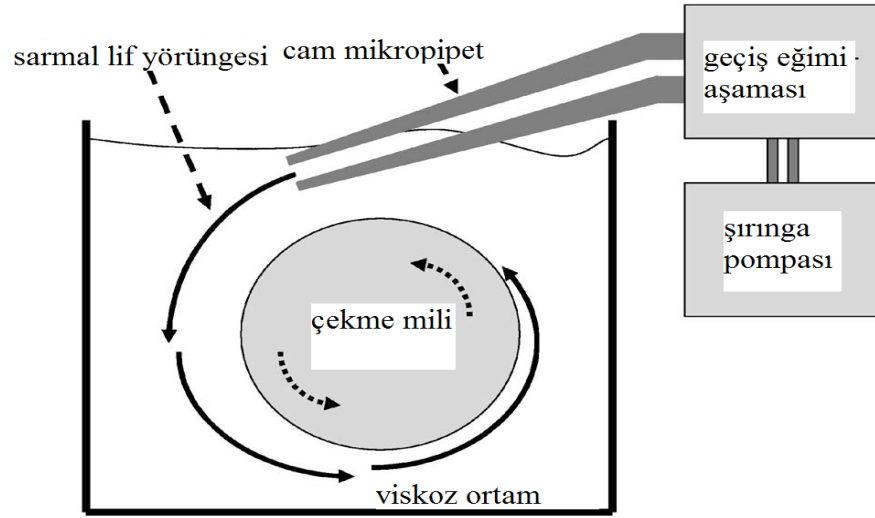
Kendiliğinden toplanma moleküllerin kendilerini hidrojen bağ, hidrofobik kuvvetler ve elektrostatik kuvvet vasıtasıyla organize ettikleri ve düzenledikleri bir yöntemdir. Bu zayıf bağlar tek başlarına etkili olmasalar bile bir araya geldiklerinde moleküllerin 3 boyutlu yapısını oluşturur ve diğer moleküllerle etkileşimini sağlar [71]. Bu yöntemle 5 ile 25 nm çaplarına kadar nanolifler üretilmektedir [74]. Nanoliflerin çap ve yüzey yapıları da moleküler yapıları kontrol edilerek değiştirilebilir. Bunun yanı sıra bu yöntemle elde edilen nanolifler oldukça düzenli yapıya sahiptir. Optik, elektronik ve biyomedikal uygulamalar bu nanoliflerin kullanıldığı başlıca alanlardır [73]. Şekil 2.6.'da kendiliğinden toplanma tekniğinin şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.6. Kendiliğinden toplanma tekniğinin şematik gösterimi (a) Bir araya toplanmak (b) Nanolevha (c) Nanolevha üzerindeki nanolifler (d) Nanolifler (e) Üst düzey nanolifler [75].

2.3.2.5. Islak Eğirme (Wet Spinning)

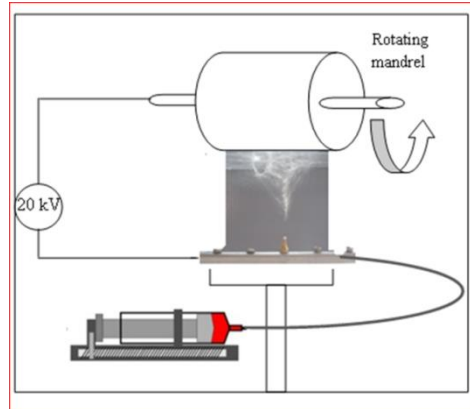
Bu teknikle 400 nm'den 10 μm 'ye kadar nanolif üretilmektedir. Lif eğirmesi, polimer solüsyonunun hareketli ve çok yoğun bir ortama çok küçük bir aralıktan geçerek enjekte edilmesiyle gerçekleşir. Ortamın hareketli olmasını dönen bir mil sağlamaktadır (Şekil 2.7.). Ekstrüzyon ucu uygun şekilde konumlandıysa, ekstrüzyon yapılmış lif spiral bir yörüngede hareket eder ve milin etrafına sürekli olarak birikir. Polimer yoğun ortamda katılaşır. Bu yöntemle düşük viskoziteli malzemelerden nanolif elde edilebilir [76].



Şekil 2.7. Islak eğirme yönteminin şematik gösterimi [76].

2.4. Elektroegirme Yöntemi

Elektroegirme, polimer solüsyonlarında ya da eriyiklerden yüksek elektrik alan varlığında sürekli polimer ile nanolifler üreten bir yöntemdir. Elektroegirme; akışkanlar dinamiği, fizik, polimer kimyası, elektrik fiziği gibi içinde birçok disiplini içinde barındıran disiplinler arası bir metottur. Polimer sıvısındaki elektrik güç yüzey gerilimini aştığında, ince polimer jet fırlatılır. Yüklü jet elektrik alanıyla uzatılır ve hızlandırılır. 1990'ların ortasından beri elektroegirme doku mühendisliği de dahil olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Elektroegirme ile oluşturulan lifler 50- 5000 nm aralığında olmaktadır [46]. Şekil 2.8.'de elektroegirme cihazının şematik gösterimi ve elektroegirmeye hazırlanmış PCL lif mat yer almaktadır.



Şekil 2.8. Elektroegirme cihazının şematik gösterimi [77].

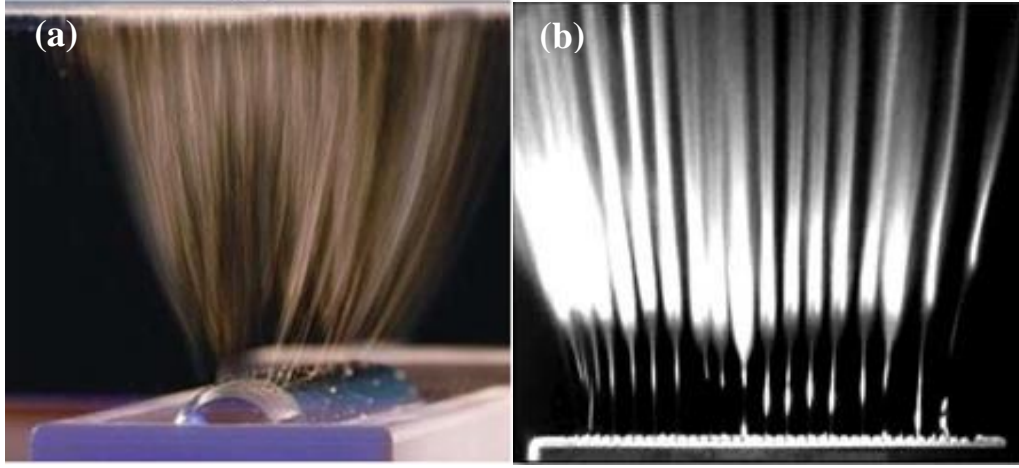
Diğer geleneksel metotlarla karşılaştırıldığında elektroğirme daha az maliyetli ve basit bir yöntemdir. Uzun boylarda, küçük çaplarda ve birim hacimde yüksek yüzey alanında lifler oluşturması da elektroğirmeyi ilgi çekici kılmıştır [78]. Ayrıca elektroğirme tekniği sol-jel yöntemiyle birlikte kullanıldığında seramik ve polimer çözeltiden belirli elektrik alan altında sürekli nanolif üretimi sağlamaktadır [79]. Elektroğirme farklı birçok alanda kullanılabilen lif üretimi sağlamaktadır [80]. Daha küçük gözenekli yapıya sahip ve yüksek yüzey alanlı elektroğirilmiş liflerin optikten, elektroniğe; biyotıptan, doku mühendisliğine kadar birçok uygulama alanı mevcuttur [80, 81].

Elektroğirme yöntemiyle oluşan liflerin çapı ve morfolojisi birçok parametreye bağlıdır. Diğer bir deyişle bu parametrelerde değişiklik yaparak lif çap ve morfolojisi değiştirilebilir. Solüsyonun konsantrasyonu, polimerin çeşidi, çözücü çeşidi, uygulanan elektrik alanın gücü, metalik uçla toplayıcı arasındaki mesafe, metalik uç ağzının çapı, solüsyon besleme hızı, bağıl nem ve ortam sıcaklığı parametrelerdir [82]. Elektroğirme yüksek voltaj sağlayıcısı, metalik uç ve toplayıcı olmak üzere 3 bileşenden oluşmaktadır.

2.4.1. Elektroğirmenin Temel Bileşenleri

2.4.1.1. Metalik Uç

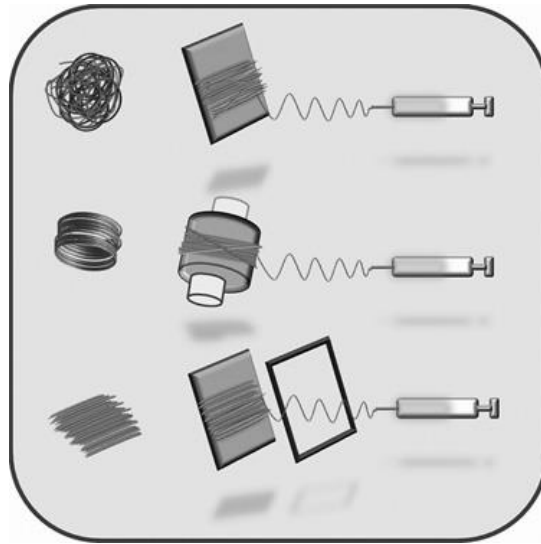
Polimer solüsyonu şırınga pompasının yardımıyla kontrollü bir hızla metalik uca gönderilir. Yüksek voltaj uygulanmasıyla metalik uçta asılı duran polimer damlacığı elektriklenir ve Taylor koniği adı verilen bir şekil oluşur. Koniğin ucundan çıkan indüklenmiş yük, yüzeye homojen olarak dağıtılır. Sıvı jetin devamlı uzamasıyla ve çözücünün buharlaşmasıyla da nanolifler oluşur [79]. Başka bir elektroğirme çeşidi de metalik uç ve enjektörün olmadığı sıvı polimer banyosu içinde dönen silindir sayesinde nanolif oluşturan modellerdir (Şekil 2.9.). Bir başka çeşitte ise birden fazla metalik ucun olduğu çoklu metalik uçlu modeldir [78].



Şekil 2.9. (a) Enjektörsüz elektroegirme modeli, (b) Çoklu metalik uçlu model [78].

2.4.1.2. Toplayıcı

Nanolifleri üzerine hapseden sabit ya da dönen bir yapıdır. Sabit durumdaki toplayıcı hareket etmez ve metalik uçtan çıkan lifler toplayıcıya gelişigüzel dizilir. Dönen durumda olan toplayıcıda ise lifler dairesel olarak toplayıcıyı çevreler ve daha düzenli bir dizilim oluşur [78]. Şekil 2.10.'da farklı toplayıcılarla oluşturulan nanolif yapıları gösterilmektedir.



Şekil 2.10. Farklı toplayıcılarla oluşturulan nanolif yapılarını gösteren şematik [78].

2.4.1.3. Yüksek Voltaj Sağlayıcısı

Yüksek voltaj sağlayıcısı ile gerekli elektrik alan oluşturulup metalik uçtan çıkan polimer solüsyonunun yüzey gerilimi arttırılır ve jet taylor konisi denilen

şekilden fırlatarak toplayıcıda hapsolür [79]. Pozitif yük metalik uca, negatif yük ise toplayıcıya bağlıdır. Elektroğirme cihazlarında istenilen gücün miktarına bağlı olarak bir ya da iki tane yüksek voltaj sağlayıcısı bulunabilir [78].

2.4.2. Elektroğirmeye Etki Eden Parametreler

2.4.2.1. Çözelti Özellikleri

2.4.2.1.1. Dielektrik Sabiti

Çözücü seçimi gözeneklilik ve lif oluşumunu etkilemektedir. Elektroğirme prosesi sırasında polimer jetin şırıngadan çıkıp toplayıcıya ulaşana kadar yeterli miktarda çözücünün buharlaşması gerekmektedir. Bunun için de kullanılan çözücünün uçucu olması gerekmektedir. Eğer çözücü istenildiği kadar buharlaşmazsa birtakım işlemsel kusurlar meydana gelir. Genelde yüksek dielektrik sahip çözücüler bu kusurların oluşumunu en aza indirgeyerek daha ince liflerin oluşumu sağlamaktadır. Yüksek dielektrik sabitine sahip polimer kullanmak polimer jetin gideceği mesafeyi arttırdığı için lif çapını da düşürür [71].

2.4.2.1.2. Viskozite

Viskozite sıvıların akışkanlığa olan direncidir. Polimer solüsyonun viskozitesi lif oluşumunu en çok etkileyen parametredir. Viskozitenin yüksek ya da düşük olmasına göre liflerin yapısı değişiklik gösterir. Örneğin düşük viskoziteye sahip polimer solüsyonlarında nanolif oluşumundan daha çok polimer parçacıkları gözlenir [78]. Düşük konsantrasyonlu solüsyonlarda lif yerine boncuk yapı gözlenmektedir. Konsantrasyon arttıkça viskozite arttığı için sürekli liflerin oluşumu engellenmekte ve daha büyük çapta lif oluşumu gözlenmektedir. Elektroğirme prosesinde optimum solüsyon konsantrasyonu gerekmektedir [80].

2.4.2.1.3. Yüzey Gerilimi

Elektroğirmenin ana prensibi, çözelti üzerindeki yüklerin birbirini itip polimer jetin gerilmesi ve uzamasıdır. Yüzey gerilimi bir sıvı taneciğin küresel şekle dönüşme isteğidir. Düşük konsantrasyonlu solüsyonlarda, yüzey gerilimi baskın bir faktördür. Elektroğirme işlemi sırasında metalik uçtan çıkan solüsyon yüzey gerilimi sayesinde damlacıklara ayrışıp hızlanarak toplayıcıya varır. Yüzey gerilimi çözücü ile doğrudan alakalı bir fonksiyondur. Farklı çözücülerde farklı yüzey

gerilimi oluşmaktadır. Yüzey gerilimi azaldığında boncuk yapısız lifler elde edilir. Diğer taraftan sadece yüzey gerilimini düşürerek istenilen boyutta lifler elde etmek her zaman beklenemez. Genel olarak elektroğirme prosesinde diğer değişkenler sabit tutulduğunda, yüzey gerilimi üst ve alt sınırları belirlememize olanak sağlar [78, 80].

2.4.2.1.4. Elektrik İletkenlik

Solüsyonun iletkenliğini belirleyen faktörler polimerin çeşidi, kullanılan çözücü ve iyonlaşabilen tuzların varlığı olarak sayılabilir [80]. Solüsyonun elektrik iletkenliği sadece Taylor konisinin oluşmasını sağlamakla kalmaz ayrıca lif çapının istenilen boyutta olmasını sağlar. Diğer taraftan elektrik iletkenliğinin çok düşük olması elektroğirme işlemini güçleştiren bir nedendir [83]. Yüksek elektrik iletkenliği daha küçük çapta lif üretilmesine olanak sağlar. Diğer bir deyişle elektrik iletkenliğindeki artış lif çapında düşüşe neden olmaktadır [80]. Bununla birlikte solüsyonun iletkenliğinin gereğinden çok fazla olması da üç boyutlu yapılar ve daha büyük çapta liflerin oluşması gibi işlemsel sorunlara yol açmaktadır [78].

2.4.2.1.5. Polimer Özellikleri

Kullanılan polimerler doğal ya da sentetik olabilir. Polimerin molekül ağırlığı arttıkça çözücüde çözünmeye karşı direnci de artmaktadır [84]. Polimerin moleküler ağırlığı polimer zincir boyuyla doğru orantılı olduğu için yüksek moleküler ağırlığa sahip polimerin polimer zinciri dolaşımı dolayısıyla da Berry numarası artmaktadır. Berry numarasının lif morfolojisi ve çapıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bunun sonucu olarak artan molekül ağırlığı lif çapını arttırdığı gibi boncuk oluşumuna da neden olmaktadır [73]. Polimer konsantrasyonu yüzey gerilimi ve viskoziteyle doğrudan ilişkilidir. Eğer solüsyon çok seyreltik olursa polimer lifler yüzey geriliminden ötürü toplayıcıya ulaşmadan kopar. Diğer taraftan polimer konsantrasyonu çok yüksek olursa yüksek viskoziteden ötürü şırıngadan akış olmayacağı için lif oluşumu gözlenmez [84]. Optimumu sağlamak koşuluyla polimer konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak da lif çapı artmaktadır [78].

2.4.2.1.6. Çözücü Özellikleri

Çözücü seçimi, lif oluşumunu ve lif gözenekliliğini etkileyen önemli bir parametredir. Çözücünün düşük kaynama sıcaklığına sahip olması elektroğirme prosesinde istenilen bir özelliktir. Bunun nedeni uçucu çözücünün metalik uç ve

toplayıcı arasında yeterli buharlaşmayı sağlayabilmesidir [84]. Fakat yüksek buhar basınçlı çözücü ile yapılan bir elektroğirme işleminde buharlaşmadan ötürü jet çapında azalma görülebilir [78]. Ayrıca buharlaşmanın fazla olması da metalik uçtaki tıkanma sıklığını arttırmaktadır [73].

2.4.2.2. İşlem Parametreleri

2.4.2.2.1. Solüsyon Besleme Hızı

Solüsyonun şırıngadan besleme hızı; jet hızını ve malzeme transferini doğrudan etkileyen önemli bir parametredir. Daha düşük besleme hızı daha çok tercih edilmektedir. Bunun nedeni de böylelikle çözücünün buharlaşmak için yeterli zamana sahip olmasıdır. Çok yüksek besleme hızı, kuruma süresinin kısa olmasından ötürü boncuk kusurları ile lif oluşumuna neden olmaktadır [80]. Besleme hızı arttıkça lif çapı da artmakta; besleme hızı azaldıkça lif çapı da azalmaktadır [78].

2.4.2.2.2. Metalik Uçla Toplayıcı Arasındaki Uzaklık

Metalik uçla toplayıcı arasındaki uzaklık lif çapı ve morfolojisini kontrol etmeyi sağlayan bir diğer faktördür. Bu uzaklığın çok az olması çözücünün buharlaşmasını engellemekte ve boncuk kusuru denilen lif üzerinde istenmeyen bir oluşuma neden olmaktadır. Aynı şekilde bu uzaklığın çok fazla olması da istenilen boyutta lif çapı elde etmeyi engellemektedir. Bunun nedeni; aradaki mesafe arttıkça liflerin havada kalma süreleri artacağı için life etkiyen kuvvetlerin etki süreleri artması ve çözücünün daha fazla buharlaşmasıdır. Bu sebeplerden ötürü bu uzaklığın optimum seviyede olması çözücünün buharlaşmasına imkân vererek daha verimli sonuçlar elde etmeyi sağlamaktadır [80].

2.4.2.2.3. Metalik Uç Ağzının Çapı

Metalik uç ağzının çapı lif çapını etkileyen önemli bir etkendir. Metalik uç ağzının çapı yani başlangıç jet çapı arttıkça, lif çapında da artış gözlenmektedir [85]. Daha küçük çapta metalik uç kullanımıyla boncuk oluşumunda azalma ve lif çapında da düşüş gözlenmektedir. Metalik ucun çapı düştüğünde damlacığın yüzey gerilimi artmaktadır. Gereğinden daha küçük çapta metalik uç kullanımı da ağızda tıkanmalarla sonuçlanmakta hatta elektroğirme işlemi gerçekleşmemektedir [71].

2.4.2.2.4. Elektrik Alan

Elektroegirme sırasında uygulanan voltaj, prosesi en çok etkileyen parametrelerin başında yer almaktadır. Elektroegirme prosesi sırasında yetersiz ya da çok fazla miktarda uygulanan elektrik alan kimi zaman boncuk kusuru oluşumuna kimi zamanda hiç lif oluşmamasına neden olur. Bu yüzden elektrik alanın optimum olması gerekmektedir [84]. Bazı durumlarda daha yüksek voltaj solüsyonun daha fazla uzamasını ve çözücünün daha çabuk buharlaşmasını sağlamaktadır. Uygulanan voltajın lif çapını ne kadar etkilediği polimer solüsyonunun konsantrasyonu ve metalik uçla toplayıcı arasındaki mesafeye göre değişiklik göstermektedir [80]. Elektrik alanın optimum seviyesi de kullanılan polimerden polimere farklılık göstermektedir [83].

2.5. Polikaprolakton-Cam/Seramik Kompozit Liflere Ait Literatürde Yer Alan Çalışmalar

Aragon ve ark., 2017 yaptıkları çalışmada nano hidroksiapatitle (nHA) yüklenmiş çekirdek-kabuk oluşumundaki polikaprolakton/polikaprolakton(PCL/PCL) ve polikaprolakton/polivinil asetat (PCL/PVAc) elektroegirilmiş liflere mikro gözeneklilik yaratmak için lazer uygulamışlardır. Her koşulda homojen dağılımlı ve boncuk oluşumu içermeyen 150-300 nm arasındaki çaplarda lifler elde edilmiş ve yaklaşık olarak 20 nm çapında ve 150 nm boyundaki iğne benzeri nHA nanopartiküllerin liflerin içine sarıldığı anlaşılmıştır. Lazer uygulamasından sonra mikro gözenekli haldeki PCL- nHA / PCL nanokompozitin lif çapı 70–120 µm , PCL- nHA / PVAc nanokompozitinin ise 50–90 µm olduğu görülmüştür. Hidroksiapatit içeren örnekleri yapay vücut sıvısında bekletilmiştir ve tüm örneklerde çok düşük mortalite ve kemik hücre çoğalması görülmüştür. Lazer uygulamasından sonra artan gözeneklilik biyouyumluluğu da arttırmıştır [86].

Gönen ve ark., 2016 bir çalışmalarında, kemik doku mühendisliği için kullanılmak üzere uygun bir nanokompozit malzeme tasarlamışlardır. Elektroegirme yöntemini kullanarak jelatin, polikaprolakton (PCL) ve biyoaktif cam nanokompozit lif üretmişlerdir. Bunun için, üç seviyeli, dört değişkenli Box-Behnken tasarımına dayanan tepki yüzeyi metodolojisi, arzu edilen lif çapını elde etmek üzere en uygun parametre ayarlarını belirleyen optimizasyon aracı olarak kullanılmıştır. İkinci dereceden bir polinom modeline dayanan bu yöntemle, hem çözüm hem de işlem

parametrelerinin lif çapına ve standart sapmasına etkisi analiz edilmiştir. Optimum koşullar olarak biyoaktif cam oranı %7.5 (a/h), 25 kV voltaj, metalik uçla toplayıcı arası mesafe 12.5 cm ve akış hızı 1 mL/saat alınarak oluşturulan liflerin çapı 584 ± 337 nm olarak ölçülmüştür. Geliştirilen modelde de 523 ± 290 nm lif çapı öngörüldüğü düşünüldüğünde modelle uyum yakalandığı anlaşılmıştır. Yapılan diğer analizler sonucunda da nanokompozit skafoldların doku mühendisliğine uygunluğuna karar verilmiştir [62].

Kharaziha ve ark., 2013 yüzeyi değiştirilmiş forsterit nanotozunun ve hidrolitik uygulamadan önce ve sonra PCL/ yüzeyi değiştirilmiş forsterit kompozitin özelliklerini araştırıp, üretilen skafolda hücre yapışması ve proliferasyonunu incelemeyi amaçlamışlardır. Seramik nano parçacıkların polimerlerle olan uyumsuz polaritesi nedeniyle, polimer matrisinde yığılma eğilimi gösterdiklerinden ötürü çalışmalarında yüzeyi dodesil alkol ile esterleştirilmiş forsterit (Mg_2SiO_4) nanopartikülleri kullanmışlardır. Nanofibril yapıdaki polikaprolakton/yüzeyi değiştirilmiş forsterit kompozit skafoldlar elektroğirme tekniğiyle hazırlanmıştır. Sonuçlar, nanoparçacıkların yüzey modifikasyonunun, sırasıyla, modifiye edilmemiş numunelere kıyasla, 1.5 ve 4 misli çarpma kuvvetini ve tokluğunu önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Bu da matris ve dolgu arasındaki gelişmiş uyumluluk nedeniyle gerçekleşmiştir. Skafoldlara uygulanan hidrolitik işlem biyolojik aktivitesini ve hücresel bağlanmayı ve proliferasyonu büyük ölçüde arttırmıştır. Yüzeyi değiştirilmiş forsterit nanotozu ve hidrolitik işlemden geçen skafoldların gerek mekanik özellikleri gerekse biyoaktiflikleriyle kemik doku mühendisliğinde kullanılmaya uygun olduğu anlaşılmıştır [87].

Ding ve ark., 2016 çalışmalarında polihidroksibutirat (PHB) yüksek sertliğini, poli (ϵ -kaprolakton) (PCL) esnekliğini ve 58S biyoaktif camın biyoaktifliğini birleştirmek için elektroğirme ve sol-jel metodunu kullanarak PHB/PCL/58S sol-gel biyoaktif cam hibriti üretmişlerdir. FTIR analizi sonucunda PHB/PCL lif matların artan hidrofilitesinden dolayı 58S biyoaktif camının karışım polimerlerine başarıyla dahil edildiği gözlenmiştir. Hazırlanan lifsi yapıdaki biyoaktif camı içeren hibrit skafoldların MG-63 hücre yapışmasına uygun olduğu ayrıca az miktarda hücre canlılığını ve önemli derecede de alkalın fosfat aktivitesini artırdığı anlaşılmıştır [88].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Malzemeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan biyoaktif cam tozları daha önce farklı bir proje kapsamında (TÜBİTAK, 111M736) üretilmiştir. Üretilen camların kompozisyonları Tablo 3.1.'de verilmektedir. Tablo 3.2.'de biyoaktif cam tozu ve liflerin kodları ve üretilme yöntemleri yer almaktadır. Biyoaktif cam tozlarından 45S5 sol-jel tekniğiyle 13-93 ve 13-93B3 biyoaktif cam tozları ise ergitme yöntemiyle üretilmiştir. 13-93 ve 45S5 biyoaktif cam nanolifler ise literatürde yer alan metoda göre elektroğirme yöntemi kullanılarak bu proje kapsamında üretilmiştir [77, 90]. Hidroksiapatit tozları TransTech (USA)' den satın alınmıştır.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan biyoaktif camların kompozisyonları [2].

Kompozisyon (% ağırlık)	45S5	13-93	13-93B3
SiO ₂	45.0	53	0
B ₂ O ₃	0	0	56.6
MgO	0	5.0	4.6
CaO	24.5	20.0	18.5
Na ₂ O	24.5	6.0	5.5
P ₂ O ₅	6.0	4.0	3.7
K ₂ O	0	12.0	11.1

Tablo 3.2. Biyoaktif cam tozu ve liflerin kodları ve üretilme yöntemleri.

	Kod	Üretilme Yöntemi	Faz Analizi
45S5 Toz	45S5(T)	Sol-jel	Kristalli
45S5 Lif	45S5(L)	Elektroegirme	Kristalli
13-93 Toz	13-93(T)	Ergitme	Amorf
13-93 Lif	13-93(L)	Elektroegirme	Amorf
13-93B3 Toz	13-93B3	Ergitme	Amorf
Hidroksiapatit	HA	Ticari toz	Kristalli

Deneysel çalışmalarda kullanılan polikaprolaktonun molekül ağırlığı 80000 g/mol'dür (Sigma Aldrich, USA). Deiyonize su SMART2PURE Thermo Scientific' den elde edilmiştir. Biyoaktivite testleri için hazırlanan yapay vücut çözeltisi (SBF) ve fosfat tampon çözeltisinde (PBS) kullanılan tüm kimyasallar sodyum klorür (NaCl), sodyum bikarbonat (NaHCO₃), potasyum klorür (KCl), potasyum fosfat dibazik (K₂HPO₄.3H₂O), magnezyum klorür heksahidrat (MgCl₂.6H₂O), kalsiyum klorür (CaCl₂), sodyum sülfat (Na₂SO₄), Tris(hidroksimetil) aminometan ((CH₂OH)₃CNH₂) ve hidroklorik asit (HCl) Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır.

3.2. Elektroegirme Yöntemi ile Biyoaktif Cam Nanolif Üretimi

Elektroegirme yöntemi ile 13-93 ve 45S5 biyoaktif cam nanolif sentezi için kullanılan kimyasallar; tetra etil orto silikat (TEOS), kalsiyum nitrat tetra hidrat (Ca(NO₃)₂.4 H₂O), magnezyum nitrat hekza hidrat (Mg(NO₃)₂.6H₂O), sodyum nitrat, NaNO₃, potasyum nitrat, KNO₃, tri etil fosfat (TEP), ve nitrik asittir. Cam sentezi için kullanılan bu kimyasallara ek olarak polivinil alkol (PVA), etil alkol ve bir yüzey aktif madde olan Surfonyl SE ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

13-93 cam sentezi için 14.41 ml deiyonize suyun içine (cam şişede) 0.0998 ml %65 nitrik asit eklenmiş ve 15 dakika manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Sonrasında önce 9.92 ml TEOS (13-93 için) eklenmiş ve 1 saat

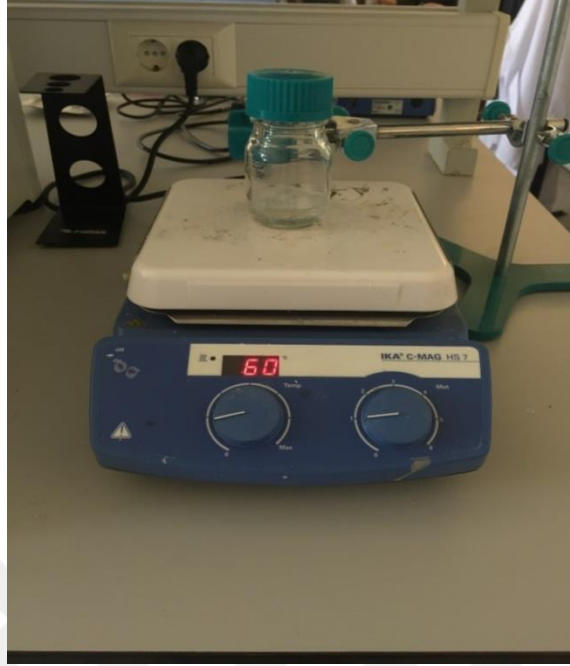
karıştırmaya bırakılmıştır. Solüsyon berrak hale geldiğinde sırası ile 0.475 ml TEP, 0.835 gr sodyum nitrat, 4.135 gr kalsiyum nitrat, 1.579 gr magnezyum nitrat ve 1.308 gr potasyum nitrat solüsyona birer saat ara ile ilave edilmiştir. 45S5 cam sentezi için kompozisyonda yer alan yüzdelikler baz alınarak yukarıdaki madde miktarları modifiye edilerek kullanılmıştır. 45S5 biyoaktif cam kompozisyonunda magnezyum ya da potasyum olmadığı için bu maddelerin ilavesi yapılmamıştır. Her iki cam kompozisyonu için hazırlanan solüsyonlar oda sıcaklığında 24 saat karışıma bırakılmıştır.

Elektroğirme yöntemi ile 45S5 ve 13-93 biyoaktif cam lif üretimi için 24 saat karıştırılarak homojen hale getirilen solüsyonlar 1/1 oranında %10 PVA ile karıştırılmıştır. Bu amaçla 10 ml biyoaktif cam solüsyonuna, 10 ml PVA solüsyonu (ağırlıkça %10) eklenmiştir. Bu karışıma 2 ml etil alkol ve %0.1 yüzey aktif madde ilavesi yapıldıktan sonra bir gece karışmaya bırakılmış sonrasında elde edilen sıvı karışım 20 ml hacimli plastik enjektöre yüklenerek elektroğirme işlemi Nanospinner NE 300 kullanılarak, 20 kV elektrik potansiyeli uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Enjektörden akış hızı 1 ml/saat olarak ayarlanmış ve hedef olarak dönen silindir kullanılmıştır. Eğirme işlemi alüminyum folyo üzerine yapılmış böylece silindir üzerinden nanoliflerin alınması sırasında zedelenmesi önlenmiştir. Tekli nozül ile hedef arası 12 cm olarak ayarlanmıştır. Lifler üretildikten sonra 2 gün oda sıcaklığında bekletilmış, sonrasında 13-93 biyoaktif cam lifler 625 °C’ de 4 saat ve 45S5 biyoaktif cam lifler 700 °C’ de 2 saat hava atmosferinde ısıl işleme tabi tutulmuştur. Kalsinasyon işlemi için ısıtma ve soğutma hızı 5 °C/dakika olarak ayarlanmıştır [77, 90].

3.3. Polikaprolakton Liflerin Hazırlanması

Ağırlıkça %8, %10, %12, %14 PCL solüsyonları, uygun miktardaki PCL peletlerin suyu uzaklaştırılmış asetonda (Sigma Aldrich, USA) çözdürölüp 50 °C ‘de 2 saat karıştırılması ile hazırlanmıştır. HA, 45S5, 13-93 ve 13-93B3 biyoaktif cam katkıları (ağırlıkça %10) %10 PCL organik matris solüsyona ilave edilip manyetik karıştırıcıda 20 dakika, ultrasonik cihazda da 10 dakika karıştırılarak homojen bir dağılımda olması sağlanmıştır. Tüm bu karıştırma işlemleri sırasında asetonunun uçmasını engellemek için cam beher parafilmle kaplanmıştır. Toz haldeki biyoaktif camlar %10 PCL-aseton solüsyonuna doğrudan karıştırılırken lif

haldeki biyoaktif camlar 10 dk agat havanda öğütüldükten sonra eklenmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Manyetik karıştırıcı üzerinde %10'luk PCL çözeltisi hazırlanmasını gösteren fotoğraf.

Homojen bir karışım elde ettikten sonra dispersiyonda herhangi bir çökeltme ya da katılaşma olmaması için çok hızlı bir şekilde şırıngaya çekilmiştir. Dispersiyon metalik uca 1.00 mL/s pompa hızında beslenmiştir. Elektroegirme deneyleri Şekil 3.2.' de gösterilen elektroegirme cihazı (Ne-300, Inovenso, TR) kullanılarak oda sıcaklığında (-25°C) yapılmıştır. Deneyler, metalik uç-toplayıcı mesafesi 10 cm alınarak gerçekleştirilmiştir. Yüksek voltajlı güç kaynağı ile polimer solüsyonunu ileten metalik başlığa 20 kV'luk bir elektrik voltajı uygulanmıştır. Tüm deneyler boyunca bu parametreler sabit tutulmuştur.



Şekil 3.2. Deneşlerde kullanılan elektroğirme cihazının (a) dış ve (b) i unite görüntüleri, (c) elektroğirme işlemi sırasında çekilmiş bir fotoğraf.

3.4. Yapay Vct Sıvısı (SBF) Hazırlanması

Scaffoldların yüzeyindeki HA oluşumunu dolasıyla biyoaktifliğini gözlemlemek için *in vitro* ortamda yapay vct sıvısı kullanılarak deneyler yapılmıştır. Bu deneylerde kullanılan vct sıvısı Kokubo yöntemiyle hazırlanmıştır [48]. SBF hazırlama prosedürü aşağıda yer almaktadır

36.5 C'ye ayarlanmış su küvetinin içine, içinde 500 ml'lik saf su olan beher yerleştirilmiş ve saat camıyla örtülmüştür. Manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilen su küvetinin içindeki behere manyetik balık eklenmiştir. Tablo 3.3.'deki yapay vct sıvısı kimyasalları sırasıyla ve yaklaşık 15 dk ara ile eklenmiş ve manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Son malzeme de eklenip zndkten sonra solüsyonun pH'ını 7.4'e ayarlamak için 1N-HCl solüsyonu titre edilerek konulmuştur. Solüsyon 1 L'lik balon jöjeye alınarak ultra saf suyla 1 L'ye tamamlanarak karıştırılmıştır. Son olarak solüsyon polietilen şişeye alınarak buzdolabında +4 C' de muhafaza edilmek üzere kaldırılmıştır. Hazırlanan SBF solüsyonu en fazla 1 ay içinde kullanılmıştır.

Tablo 3.3. Yapay vücut sıvısı hazırlarken kullanılan kimyasallar (pH 7.40, 1L) [48].

Sıra	Kimyasal	Miktar
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO ₃	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.228 g
5	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.305 g
6	1M-HCl	40 mL
7	CaCl ₂	0.278 g
8	Na ₂ SO ₄	0.071 g
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057 g

3.5. Fosfat Tampon Çözeltisinin (PBS) Hazırlanması

800 ml'lik saf suyun içerisine fosfat tampon çözeltisi kimyasalları (Tablo 3.4.) sırayla ve bir öncekinin çözündüğünü gözlemledikten sonra ilave edilmiştir. Tüm kimyasallar çözündükten sonra pH kontrolü yapılmış ve 7.4'e ayarlanmıştır. Solüsyonun üzeri saf suyla 1 L'ye tamamlanmış ve polietilen şişeye konularak buzdolabında saklanmıştır.

Tablo 3.4. Fosfat tampon çözeltisi hazırlanırken kullanılan kimyasallar (pH 7.40, 1L) [41].

Sıra	Kimyasal	Miktar
1	NaCl	8 g
2	KCl	0.2 g
3	Na ₂ HPO ₄	1.44 g
4	KH ₂ PO ₄	0.24

3.6. Karakterizasyonlar

DeneySEL çalışmalarda kullanılan biyoaktif cam tozlarının tane boyutunu belirlemek için tane boyut analizi yapılmıştır. Solüsyon akışkanlığını tespit etmek için viskozimetre ölçümü yapılmıştır. Elektroğrılmış liflerin çaplarını belirlemek için lif çapı analizi, hidrofibisitesini tayin etmek için temas açısı ölçümü ve

gözeneklilik ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen numunelerin biyoaktifliğini belirlemek için belli sürelerde yapay vücut sıvısı içerisinde bekletilmiştir. İn vitro deneyler sonucunda ve öncesinde numunelerde ya da yapay vücut sıvısında gerçekleşen değişimleri ve HA oluşumunu gözlemlemek için FTIR, SEM, ICP-OES ve AFM analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.6.1. Tane Boyut Analizleri

Malzemedeki sağlamlık, kimyasal reaktiflik ve malzeme mukavemeti gibi özellikler malzemenin tane boyut karakteristiklerine bağlıdır. Küçük tanelerin boyutlarını ölçmekte Mie teorisi kullanılır [90]. Biyoaktif camların ve HA tozlarının tane boyutu analizleri lazer ışık saçılımı prensibine dayalı Malvern MASTERSIZER 3000 Malvern cihazıyla yapılmıştır. Dağıtıcı olarak deiyonize su kullanılmıştır.

3.6.2. Viskozimetre Ölçümleri

Viskozite, bir akışkanın yüzey gerilimi altında deforme olmaya karşı gösterdiği direncin ölçüsüdür. %8, %10, %12 ve %14 PCL ve biyoaktif cam ve HA katkılı (%10) PCL dispersiyonlarının akışkanlık tayini için Thermo Scientific VISCOTESTER E cihazı kullanılmıştır. Ölçümler 25 °C sıcaklıkta küçük hacimli örnek aparatı ve TR10 ucu kullanılarak yapılmıştır. Sıcaklığın sabit tutulması için LAUDA Alpha RA 8 marka su banyosu kullanılmıştır.

3.6.3. ICP-OES Analizleri

İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES) analizi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, DEFAM'da Perkin-Elmer Optima 8000 cihazı kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.3.). Cihazın temel prensibi, numunenin yaklaşık 6000-10000 °C sıcaklıktaki plazmaya püskürtülmesi ile gaz fazına geçerek uyarılan atomların yaptıkları emisyon ölçümüne dayanır. Her elementin dalga boyu özelliği farklı olduğu için farklı elektromanyetik radyasyon yayarlar ve emisyon şiddeti farklı olur. Emisyon şiddeti, numune içindeki elementin konsantrasyonuna işaretir [61]. Biyoaktif cam ve HA katkılı liflerin içinde bekletildiği SBF sıvısının içerisindeki iyon salınımı ve elementel konsantrasyon değişimini gözlemlemek için bu analiz yapılmıştır.



Şekil 3.3. Deneylerde kullanılan ICP-OES analiz cihazının fotoğrafı.

3.6.4. Lif Çapı Ölçümü

Lif çapı ölçümleri İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezinde Scandium programı ile yapılmıştır. SEM cihazından alınan görüntülerdeki *5000 magnifikasyondaki liflerin çapları rastgele ölçülüp 40 adet ölçümün ortalaması alınarak ortalama lif çapı hesaplanmıştır.

3.6.5. X-Işını Kırınımı (XRD) Analizleri

XRD analizi numunelerin üzerine X-ışınının gönderilmesi ve atomik bağlar tarafından kırınıma uğrayan ışınların cihaz tarafından tekrar toplanması mantığına dayanır. Kristal fazların sahip oldukları atomik dizilimler sayesinde gönderilen X-ışınları karakteristik bir şekilde kırılmaktadır. Her bir bağın X-ışınına farklı bir şekilde kırmasıyla her türlü fazın kendine özgü bir kırınım profili oluşur ve bu profiller fazın tanımlanmasında kullanılır [66, 93]. Hazırlanan biyoaktif cam nanoliflerde kristal faz oluşumunu incelemek için Philips X'Pert Pro model X-ışını kırınımı cihazıyla analiz yapılmıştır. XRD, 10° - 90° 2θ açısı aralığında 0.01° /dakika tarama hızında Cu $K\alpha$ radyasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümün yapılabilmesi için numuneler agat havanda dövülerek toz haline getirilmiştir.

3.6.6. Temas Açısı Ölçümleri

Temas açısı ölçümleri oda sıcaklığında, damla şekli analiz sistemi kullanılarak (Krüss GmbH Inc., DSA 30, Almanya) ölçülmüştür. Sıvı olarak ultra saf su kullanılmıştır. Numune yüzeyinin temas açısı sıvı damlatıldıktan 15 sn sonra ölçülmüş ve değerler standart sapma ile üç deneyin ortalaması ifade edilmiştir.

3.6.7. Degradasyon Çalışmaları

Proje kapsamında, boyutları 1cmx1cmx0.5mm olacak şekilde kesilip hazırlanan fibröz skafoldların degradasyon (kütle kaybı) ölçümleri PBS çözeltisinde (pH 7.4) 37 °C 'de 30 gün bekletilerek yapılmıştır. Skafoldların PBS çözeltisinde bekletilmeden önceki kuru ağırlığı ve bekletildikten sonraki kuru ağırlığı (Skafoldlar PBS'den çıkarıldıktan sonra 48 saat kurutulmuştur.) Radwag AS220R2 marka analitik terazide ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar denklem 3.1.'deki yerine konarak numunelerin kütle kaybı yüzdeleri hesaplanmıştır.

$$(W\%) = \frac{(W_0 - W_F)}{W_0} \quad (3.1.)$$

W%: Kütle kaybı yüzdesi

W₀: Skafoldun ilk kütlesi

W_F: Skafoldun son kütlesi

3.6.8. Gözeneklilik Ölçümleri

Bu amaçla skafoldlar boyutları 1cmx1cmx0.5mm olacak şekilde kesilip ağırlığı ölçülmüştür. Numune ağırlığı, numune hacimine bölünerek görünür yoğunluk elde edilmiştir (Denklem 3.3.). Teorik gözeneklilik hesabı 3.2. nolu denkleme göre yapılmıştır.

$$\text{Teorik gözeneklilik} = \left(1 - \frac{d_A}{d_B}\right) * 100 \quad (3.2.)$$

d_A: Görünür yoğunluk

d_B: Hacimsel yoğunluk

$$\text{Görünür yoğunluk} = \frac{S_W}{S_V} \quad (3.3.)$$

S_W : Skafold ağırlığı

S_V : Skafold hacmi

3.6.9. Su Emme Ölçümleri

Her bir numuneden 3'er adet 1cm*1cm*0.5mm boyutunda kesilen skafoldların kuru ağırlıkları hassas terazide ölçülmüştür. Daha sonra her set 37 °C'de PBS'nin içerisinde 5'er saniye bekletilmiş ardından iskelelerin üzerindeki fazla suyun emdirilmesi için kurutma kâğıdına alınarak hassas terazide tekrar tartılmıştır.

$$\text{Su emme kapasitesi} = \frac{W_1 - W_0}{W_0} * 100 \quad (3.4.)$$

Su emme kapasitesi denklem 3.4. ile hesaplanmıştır. Formüldeki W_0 örneğin kuru ağırlığını, W_1 örneğe sıvı emdirildikten sonraki ağırlığını ifade etmektedir.

3.6.10. *In Vitro* Biyoaktivite Analizleri

In vitro çalışmalarda farklı biyoaktif cam ve HA katkılı PCL numuneleri 3 farklı zaman aralığında SBF içerisinde bekletilmiştir. Öncelikle 2cm*2cm*0.05cm boyutunda kesilen numunelerin ağırlıkları ölçülmüştür. Numuneler 1 gr lif için 1000 ml oranına uygun SBF içerecek şekilde santrifüj tüplerinin içerisine konulmuştur. Hazırlanan kompozit liflerde HA oluşumu 7, 15 ve 30 gün olmak üzere 3 farklı zaman aralığında incelenmiştir. Numuneler vücut sıcaklığında (37 °C) NÜVE EN 400 inkübatörde bekletilmiştir. Süresi dolan numune SBF' ten çıkarılıp önce deionize su sonra etanol ile yıkandıktan sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

3.6.10.1. SEM Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Malzeme Araştırma Merkezinde bulunan FEI QUANTA 250 FEG cihazı ile yapılmıştır. Analizden önce elektriksel iletkenliği sağlamak ve daha net görüntü alabilmek için numunelere Emitech K550X cihazı ile 10-15 nm kalınlığında altın

kaplama yapılmıştır. SEM görüntüleri 3 kV'luk hızlanma voltajı ve yaklaşık 10 mm'lik çalışma mesafesinde farklı magnifikasyonlarda alınmıştır. Biyoaktif cam katkılı PCL ve katkısız PCL lif numunelerinin SBF'e konmadan ve SBF'e konduktan sonraki etkileşimi ve yüzeyde oluşan HA nanopartiküllerinin morfolojileri ve boyutları incelenmiştir.



Şekil 3.4. FEI QUANTA 250 FEG SEM cihazı görüntüsü.

3.6.10.2. AFM Analizleri

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, DEFAM' da Nanomagnetics hpAFM cihazı kullanılarak yapılmıştır. Malzeme topografisini ve yüzeyin fiziksel özelliklerini atomik boyutta Angstrom(10^{-10} m) mertebesinde 100 mikrona kadar yüksek çözünürlükte 3 boyutlu görüntülenmesini sağlamaktadır. AFM'de görüntü cihaza sonradan yerleştirilen tip adı verilen osilasyon hareketi yapan bir iğne-yay (cantilever) sisteminin numunenin atomları ile çeşitli etkileşimleri sonucunda elde edilir [22]. Bu mikroskopta elde edilen görüntü çözünürlüğü optik mikroskoplara göre çok daha fazladır. Bu analizle lif numunelerimizin fiziksel özellikleri ve topografik görüntüleriyle yüzey pürüzlülüğü parametreleri de rakamsal olarak elde edilmiştir

3.6.10.3. FTIR-ATR Analizi

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) cihazının temel prensibi, gönderilen kızılötesi ışının numunede bulunan spesifik dalga boylarında soğrulmasına dayanmaktadır [92]. FTIR analizi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi,

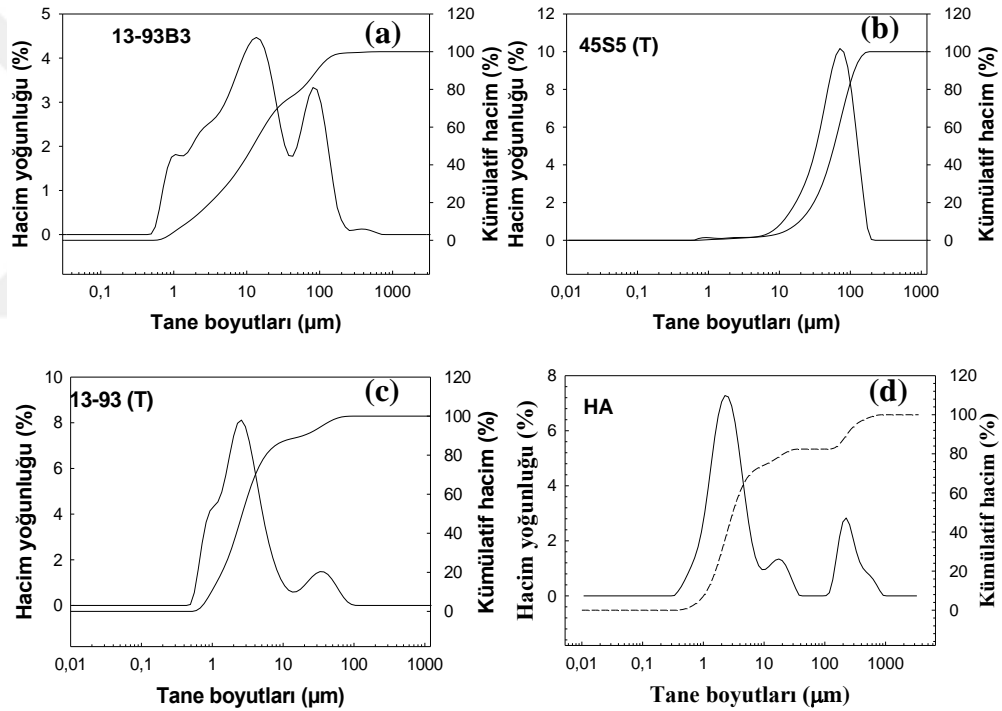
Deneysel Fen Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinde (DEFAM) yapılmıştır. Lif numunelerinin yapay vücut sıvısında beklemeden önceki ve beklemeden sonraki kimyasal yapılarının tayini için Agilent Cary 660 FTIR-ATR cihazı kullanılmıştır. Bu analizdeki kızılötesi (IR) değerleri $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığındadır. Bu spektrum içerisinde belirlenen absorbans değerleri literatürde bulunan değerlerle karşılaştırılarak numunelerde HA oluşumunun gerçekleşip gerçekleşmediği gözlenmiştir. Bu testle birlikte yapay vücut sıvısında bekletilen biyoaktif cam katkılı liflerin yüzeylerinde HA oluşup oluşmadığı ve oluşan HA miktarının biyoaktif cam katkı oranıyla ne kadar değiştiği sonucuna ulaşılabilmektedir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kullanılan Malzemelerin Fiziksel Özellikleri

Çalışma kapsamında kullanılan biyoaktif cam ve hidroksiapatit tozlarının tane boyut dağılım grafikleri Şekil 4.1.'de yer almaktadır. Buna göre, 45S5 biyoaktif cam tozları unimodal (tek tepeli), kullanılan diğer biyoaktif cam partikülleri ve hidroksiapatit tozları ise bimodal (2 tepeli) ve geniş tane boyut dağılımı göstermektedir. Ölçüm sonuçlarına göre 13-93 biyoaktif cam tozunun d_{50} değerinin $2.3 \mu\text{m}$ olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan 45S5 biyoaktif cam tozunun yüzde 50'si $60 \mu\text{m}$ ve altında olduğu anlaşılmıştır. 45S5 ve 13-93 lifler havanda öğütüldükten sonra tane boyut ölçüm cihazında analiz edilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan tüm katkı malzemelerinin boyutları Tablo 4.1.'de verilmektedir.

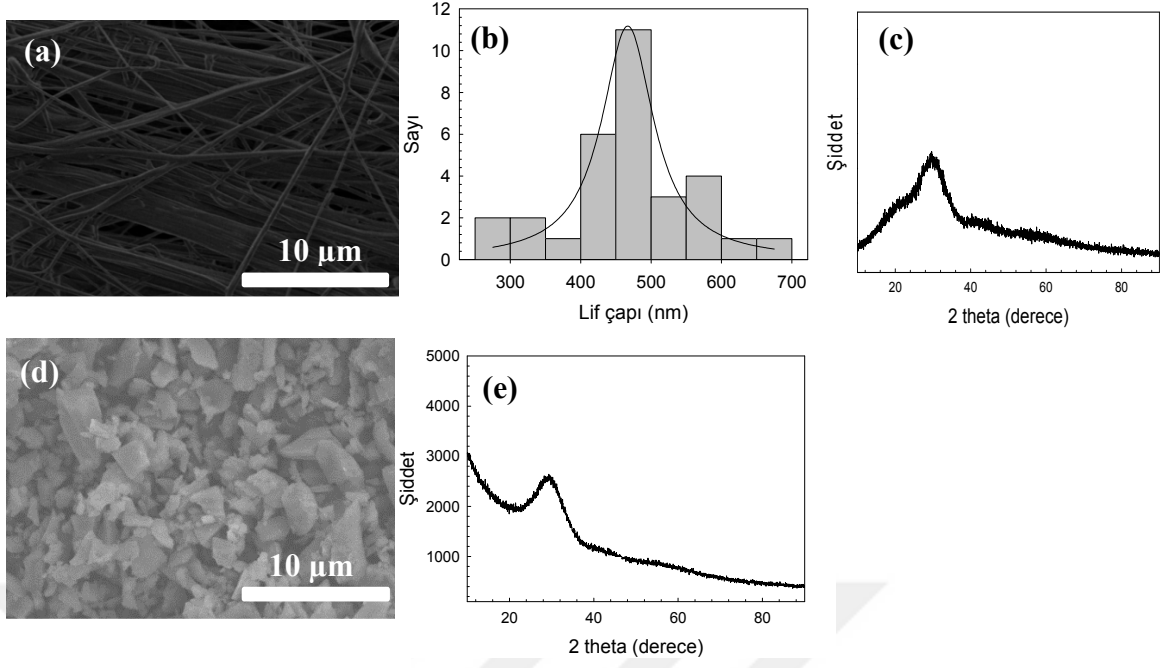


Şekil 4. 1. Biyoaktif cam ve HA tozlarının tane boyut analizi grafikleri; (a) 13-93B3, (b) 45S5 (T), (c) 13-93 (T), (d) HA.

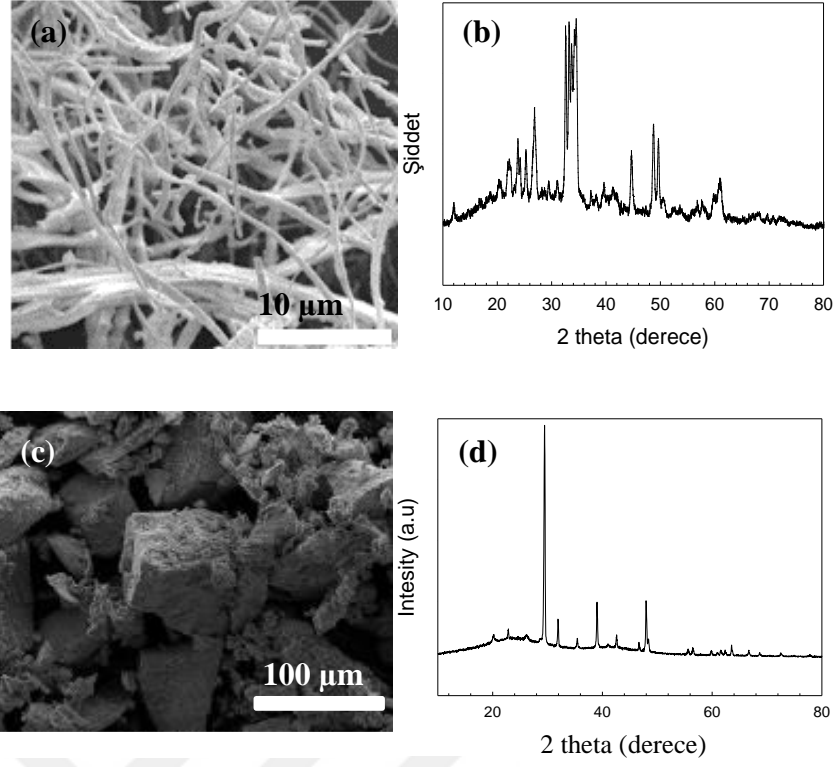
Tablo 4.1. Biyoaktif cam ve lifler ile HA tozların tane boyutları (d_{50}). *Lifler havanda öğütüldükten sonra tane boyut ölçüm cihazında elde edilen değer.

Malzeme	Tane Boyutu (d_{50})
HA	3.2 μm
45S5(T)	60 μm
45S5(L)*	89 μm
13-93(T)	2.3 μm
13-93(L)*	76 μm
13-93B3	14 μm

Şekil 4.2.'de elektroğirme yöntemi ile hazırlanan 13-93 biyoaktif cam liflerin ve ergitme yöntemi ile hazırlanmış olan 13-93 biyoaktif cam tozlarının SEM mikrografları ve XRD diyagramları yer almaktadır. Buna göre, her iki örnekte de herhangi kristal faz oluşumu gözlenmemiş ve her ikisi de amorf yapı sergilemiştir. 625 °C'de kalsine edilmiş 13-93 liflerinin ortalama lif çapının 76 μm olduğu anlaşılmaktadır. Şekil 4.3.'te sırası ile elektroğirme ve sol-jel yöntemleriyle hazırlanmış olan 45S5 biyoaktif cam liflerin ve tozların SEM görüntüleri ve XRD diyagramları yer almaktadır. Her iki diyagramda da NaNO_3 kristal fazlarına ait piklerin varlığı gözlenmektedir. Bu durum 700 °C 'de yapılan kalsinasyon işleminin nitratları yapıdan tamamen uzaklaştıramadığını kanıtlamakta ayrıca yapıda başka kristal fazların oluştuğuna işaret etmektedir. Bu kristal fazlar arasındaki en önemli faz olan combeite $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$, (ICDD PDF #22.1455) fazının biyoaktifliği tetiklediği bilinmektedir [91]. Combeite fazının oluşumu, sol-jel sentezinde kullanılan kalsinasyon basamağı sırasında 700 °C'de gerçekleştirilen ısı işlem ile ilişkilidir [89, 94].

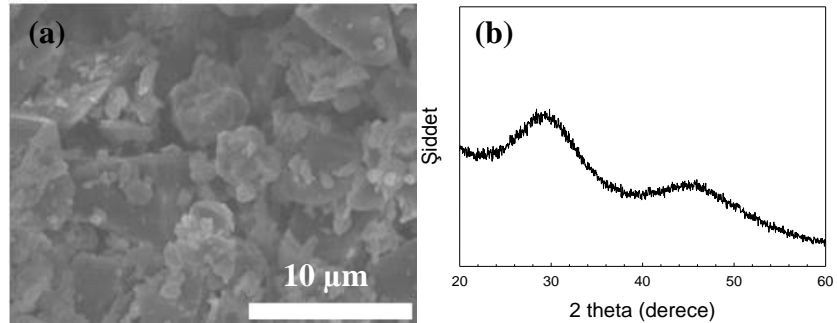


Şekil 4.1. Elektroğirme ile hazırlanmış ve 625 °C 'de kalsine edilmiş 13-93 liflerin (a) SEM görüntüsü, (b) Lif çapı grafiği, (c) XRD diyagramı; Ergitme yöntemi ile hazırlanmış 13-93 tozlarının (d) SEM görüntüsü, (e) XRD diyagramı.



Şekil 4.3. Elektroğirme ile hazırlanmış ve 700 °C’de kalsine edilmiş 45S5 liflerin (a) SEM görüntüsü, (b) XRD diyagramı; Sol-jel yöntemi ile hazırlanmış ve 700 °C’de kalsine edilmiş 45S5 tozların (c) SEM görüntüsü, (d) XRD diyagramı.

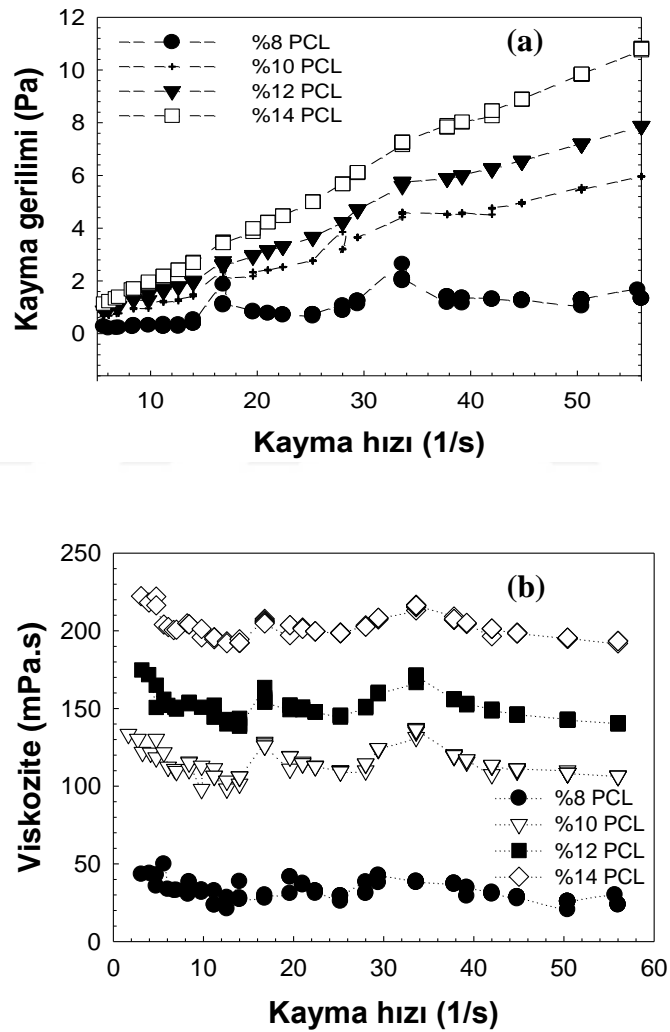
Çalışma kapsamında kullanılan bir diğer katkı malzemesi olan borat bazlı 13-93B3 tozunun SEM görüntüsü ve XRD diyagramı Şekil 4.4.’te gösterilmektedir. Kullanılan tozların düzensiz bir morfolojiye ve amorf yapıya sahip olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4.4. Ergitme yöntemi ile hazırlanmış 13-93B3 tozlarının (a) SEM görüntüsü, (b) XRD diyagramı.

4.2. Viskozite Ölçümleri

Elektroçirime çalışmalarında kullanılmak üzere farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (kütlece % 8, %10, %12 ve %14) PCL solüsyonlarının kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite-kayma hızı grafikleri Şekil 4.5.'te yer almaktadır. Kayma hızının artışıyla tüm konsantrasyonlardaki PCL solüsyonlarının kayma gerilimleri lineer şekilde arttığı ancak viskozitelerinin sabit kaldığı görülmektedir. Ayrıca solüsyonlardaki polimer konsantrasyonun artması viskoziteyi arttırmaktadır ancak bu durum kayma hızının fonksiyonu değildir.

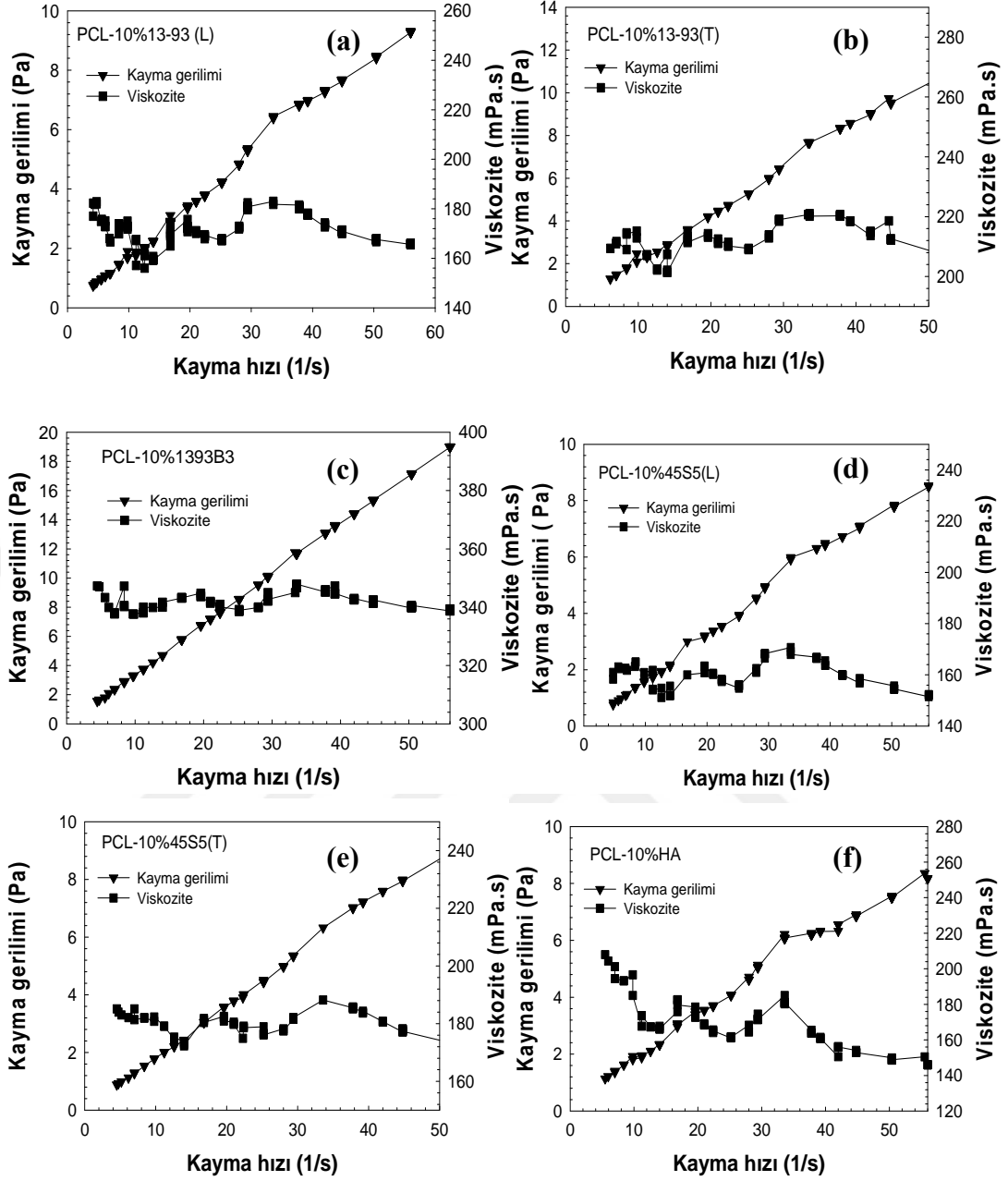


Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki PCL'nun a) kayma gerilimi/kayma hızı grafiği, b) viskozite/kayma hızı grafiği.

Bir polimer çözeltisinin viskozitesi genellikle konsantrasyondaki artışla doğru orantılıdır. Polimer çözeltiler için seyreltik, karışık olmayan yarı-seyreltik ,

karişik yarı seyreltik ve konsantre olmak üzere dört rejimden söz edilmektedir. Seyreltik ve karişik olmayan yarı seyreltik rejimleri arasındaki geçište örtüşme konsantrasyonu meydana gelir. Bu konsantrasyonda bireysel zincirler birbirleriyle örtüşmeye başlar, fakat yine de karişiklık büyük ölçüde giderilemez. Karişik olmayan yarı seyreltik ve karişik yarı seyreltik arasındaki geçiş de karmaşıklik konsantrasyonu (C_e) olarak adlandırılmaktadır. Eğer bir solüsyonun konsantrasyonu karmaşıklik konsantrasyonundan düşükse elektroegirme esnasında düzenli ve boncuksuz lif elde edilebilmektedir [55]. Bu çalışmada da ağırlıkça %10'luk solüsyonlarda boncuk oluşumu gözlemediğimiz ve sürekli lif oluşumu sağladığımız için PCL-aseton çözeltisinin karmaşıklik konsantrasyonun ağırlıkça %10'nun altında olduğunu düşünmekteyiz. Ağırlıkça %12 ve %14 lük PCL-aseton solüsyonlarının konsantrasyonu karmaşıklik konsantrasyonundan yüksek olduğu için liflerde boncuk oluşumu ve süreksizlik gözlenmiştir.

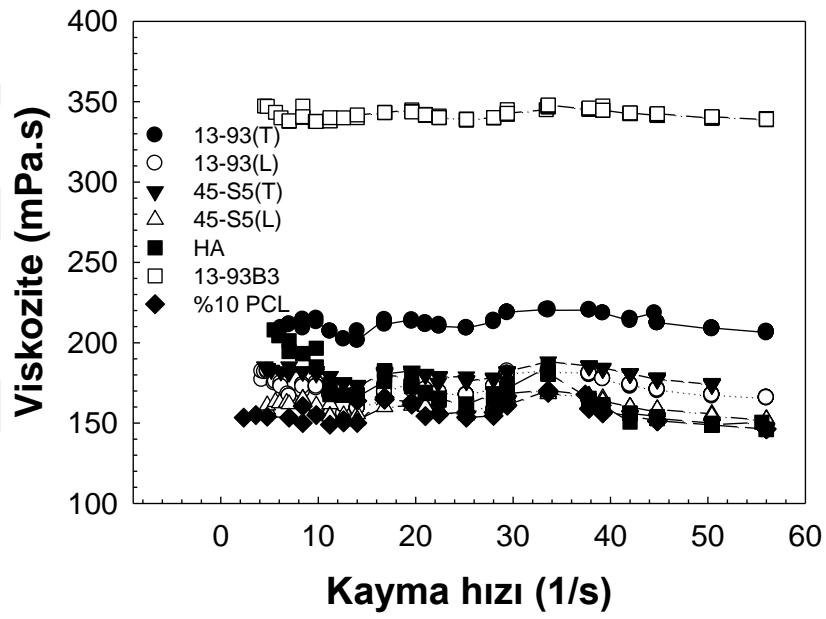
Bu nedenle, çalışmada biyoaktif cam toz ve lif ya da HA ilavesinin %10 PCL solüsyonlarına yapılması uygun bulunmuştur. Şekil 4.6.'da kütlece %10 konsantrasyondaki katkısız PCL solüsyonu ile kütlece %10 biyoaktif cam ya da HA içeren PCL dispersiyonlarının kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite-kayma hızı grafikleri yer almaktadır. Tüm grafiklerde kayma gerilimin kayma hızına etkisine bakıldığında doğru orantılı bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla hazırladığımız katkılı ve katkısız tüm dispersiyonlar Newtonian akış göstermektedir. Newtonian davranış biçimine sahip akışkanlarda kayma hızının değişimiyle viskozite de değişim gözlenmemektedir [94]. Ayrıca saf PCL solüsyonunun (ağırlıkça %10) viskozitesi (kayma hızı 40 s^{-1}) yaklaşık 130 mPa.s olarak ölçülmüştür. Aynı koşullarda diğer katkılı tüm PCL dispersiyonların viskoziteleri daha yüksek değerlere sahiptir. Bu durum, Şekil 4.7.'de daha açık olarak ortaya konmaktadır. Grafikten de anlaşıldığı gibi kayma hızının artmasıyla viskozite değerleri değişmemektedir. Aynı kayma hızlarına sahip dispersiyonlar arasında en yüksek viskoziteye sahip olan 13-93B3 katkılı PCL dispersiyonudur. 13-93B3 içeren PCL-aseton dispersiyonundaki yüksek viskozitenin nedeni PCL-aseton çözeltisindeki borat cam parçacıklarının agregasyonu olabilir. Bu topaklanma hidrofobik PCL yüzeyle ve oldukça hidrofilik cam parçacıkları arasındaki etkileşimden kaynaklanabilir [65, 97].



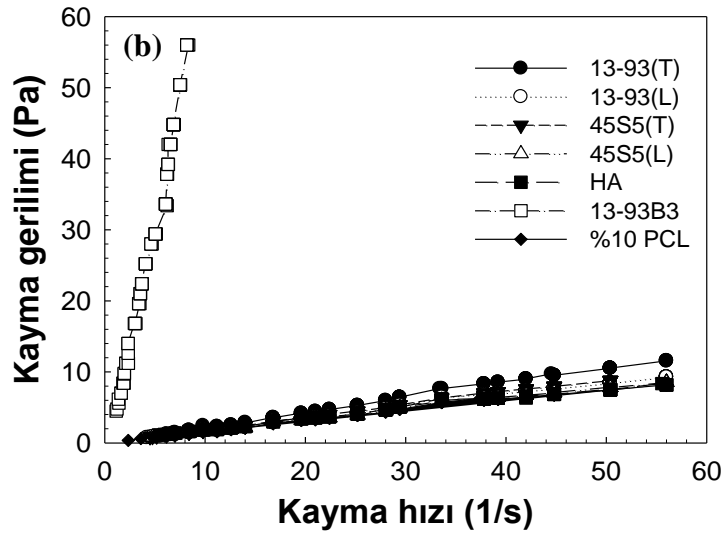
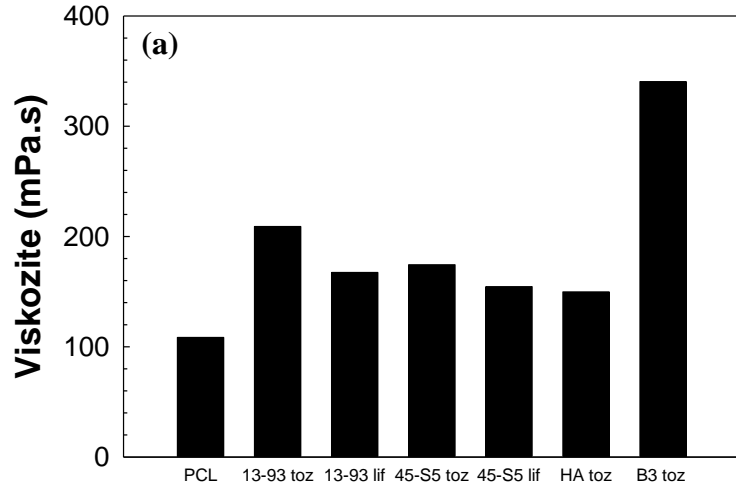
Şekil 4.1. %10 PCL solüsyonu ve katkı içeren dispersiyonların reolojik davranış grafikleri (a) PCL-13-93(L); (b) PCL-13-93(T); (c) PCL-13-93B3 ; (d) PCL-45S5(L); (e) PCL- 45S5(T), (f) PCL- HA.

Sabit bir kayma hızında (50 s^{-1}) PCL solüsyonu, biyoaktif cam ve HA toz katkılı PCL dispersiyonlarının viskoziteleri bar grafiği olarak Şekil 4.8.(a)'da verilmektedir. En yüksek viskoziteye 13-93B3 biyoaktif cam toz içeren dispersiyon sahip olurken en düşük viskozitenin saf haldeki PCL solüsyonuna ait olduğu

anlaşılmaktadır. Şekil 4.8.(b)'de katkılı ve katkısız tüm PCL dispersiyonlarının kayma gerilim- kayma hızı grafikleri yer almaktadır. Diğer dispersiyonlara göre 13-93B3 biyoaktif cam içeren dispersiyon farklı davranış göstermiştir. Diğer dispersiyonlar 8 s^{-1} kayma hızında 1 ila 2 Pa civarında kayma gerilimi gösterirken 13-93B3 katkılı 53 Pa kayma gerilimi değerine sahiptir. Borat bazlı biyoaktif cam tozları içerenler dışında diğer tüm PCL bazlı dispersiyonların katkı türüne göre (silika bazlı biyoaktif cam ya da HA) viskozitelerinde belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.



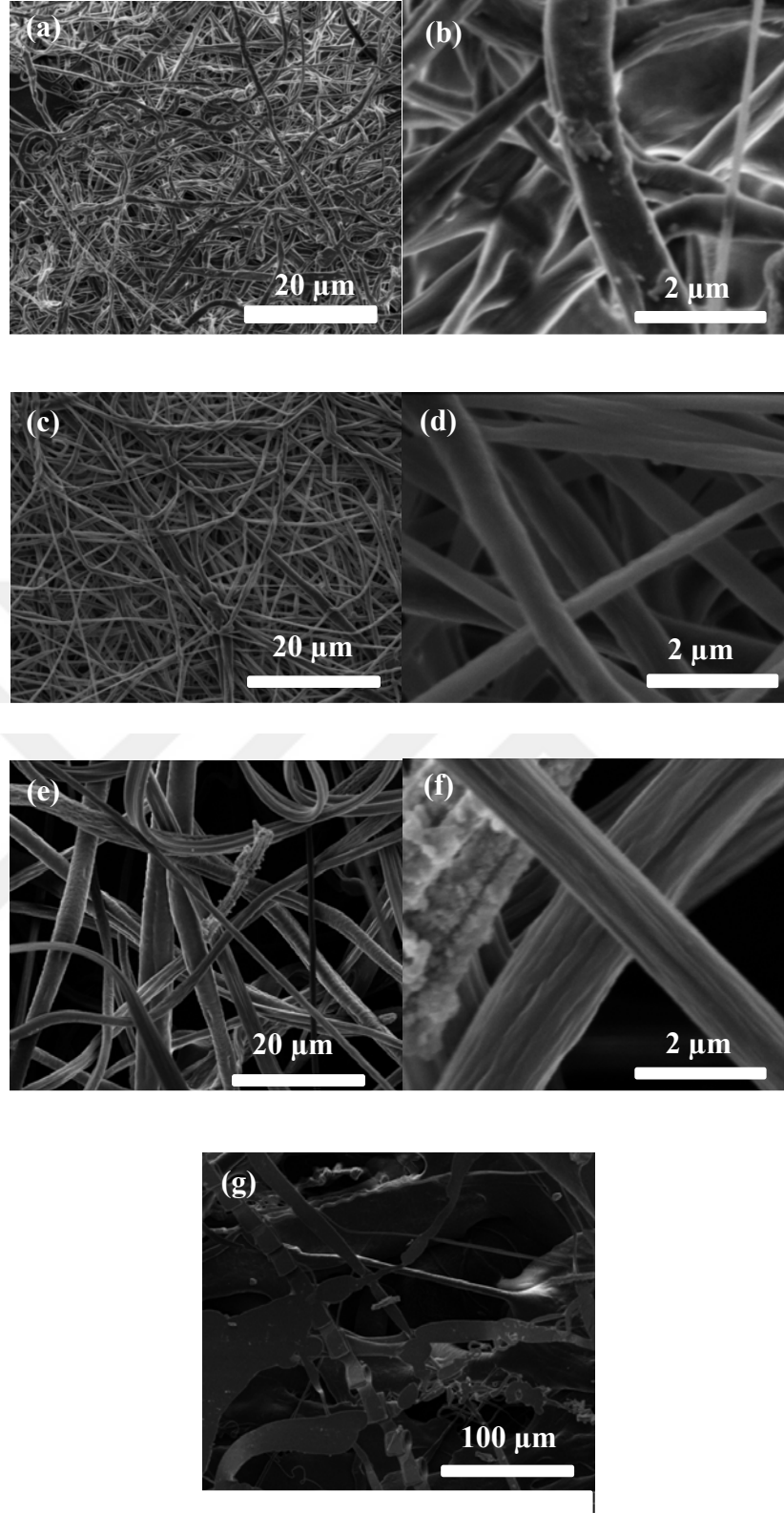
Şekil 4.7. Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı %10 PCL dispersiyonlarının viskozite/kayma hızı grafiği.



Şekil 4.8. (a) Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı %10 PCL örneklerinin sabit kayma hızındaki viskozite grafiği, kayma hızı: 50 1/s. (b) Katkısız ve farklı toz ve lif katkılı %10 PCL örneklerinin kayma gerilimi/kayma hızı grafiği.

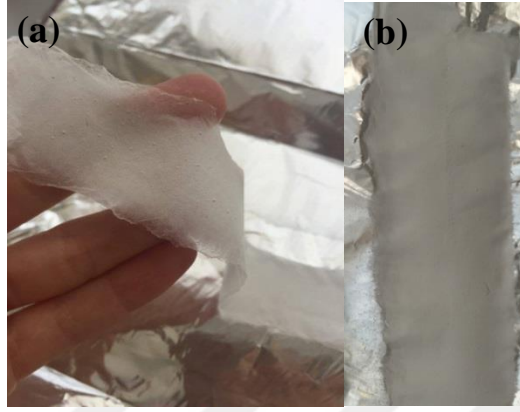
4.3. Hazırlanan Liflerin Morfolojik Analizleri

Şekil 4.9.'da farklı konsantrasyonlarda PCL solüsyonu kullanılarak elektroğirilmiş PCL liflerin SEM görüntüleri yer almaktadır. %14 'lük PCL'nun viskozitesinin fazla olması elektroğirme sırasında problemlere yol açmıştır. Bu sebepten ötürü %14'lük liflerde süreklilik gözlenmemiştir. Görüntülere ve elektroğirme sırasında diğer konsantrasyonlu örneklere kıyasla daha sorunsuz eğirme yapılabilmesine bakılarak en iyi lif oluşumunun %10'luk konsantrasyonundaki PCL örneğinde olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda PCL solüsyonu kullanılarak elektroğrılmış PCL liflerin SEM görüntüleri (a),(b) %8; (c),(d) %10; (e),(f) %12; (g) %14.

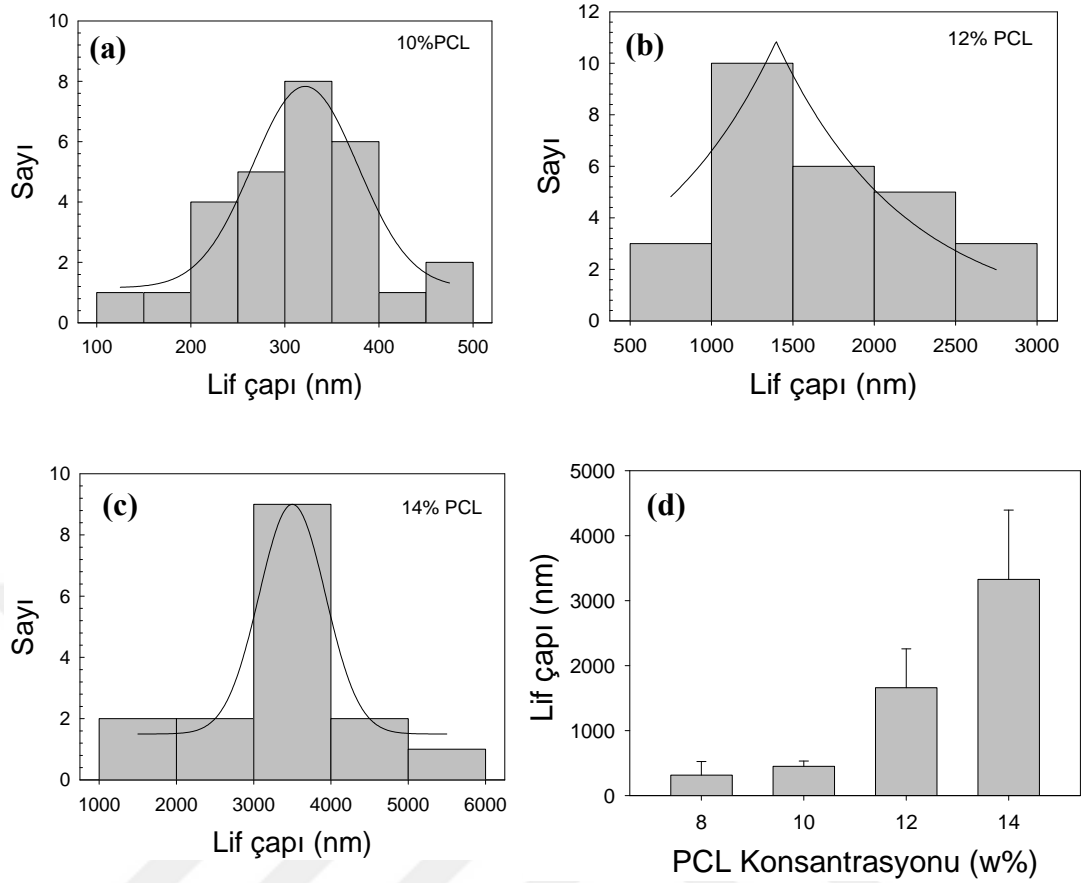
Şekil 4.10.'da elektroğrılmış %10 PCL liflerin oda koşullarında 48 saat kurutulduktan sonraki dijital görüntüleri yer almaktadır. Görüntülerden de anlaşılacağı gibi elde ettiğimiz lifler alüminyum folyo üzerinde ince bir katman oluşturmuştur.



Şekil 4.10. Elektroğrılmış %10 PCL lif görüntüleri (a),(b).

Çalışma kapsamında hazırlanan lif örneklerinin çapları SEM mikrografları kullanılarak ölçülmüştür. Şekil 4.11.'de farklı konsantrasyonlardaki katkısız PCL lif örneklerin lif çapı grafikleri yer almaktadır. Ağırlıkça %8 ve %10'luk PCL solüsyonlarında elektroğirme sırasında hiç boncuk oluşumuna rastlanmamış ve nanolifler karşı elektrot üzerine ince bir film şeklinde rastgele birikmiştir. %12'lik PCL solüsyonundan itibaren lif çaplarında artış gözlenmiştir. %14'lük PCL solüsyonunda ise lif oluşumunda aksaklık görülmüştür. %14'lük solüsyonda elektroğirme sırasında yaşanan sıkıntının nedeni olarak metalik uçtaki solüsyonun hızlı kuruması gösterilebilir. Dört farklı konsantrasyonla üretilen lifler incelendiğinde ağırlıkça %8 ve %10'luk örneklerde mikronun altında lifler görülürken diğer yüksek konsantrasyondakilerde (ağırlıkça %12 ve %14) mikron boyutunda lifler üretilmiştir. Ağırlıkça %8, %10, %12 ve %14'lük PCL solüsyonları için ortalama lif çapları sırasıyla 314 ± 210 nm, 450 ± 80 nm, 1658 ± 598 nm ve 3327 ± 740 nm 'dir. Diğer konsantrasyondakilerle karşılaştırıldığında, ağırlıkça %10 PCL solüsyonuyla üretilen liflerin SEM görüntüsünde çapların dağılımının daha dar olduğu görülmüştür. Bu sebepten ötürü, optimum konsantrasyon olarak ağırlıkça %10'luk PCL konsantrasyonu seçilmiş ve biyoaktif cam ve HA katkılı örnekler ağırlıkça %10'luk PCL konsantrasyonu ile gerçekleştirilmiştir.

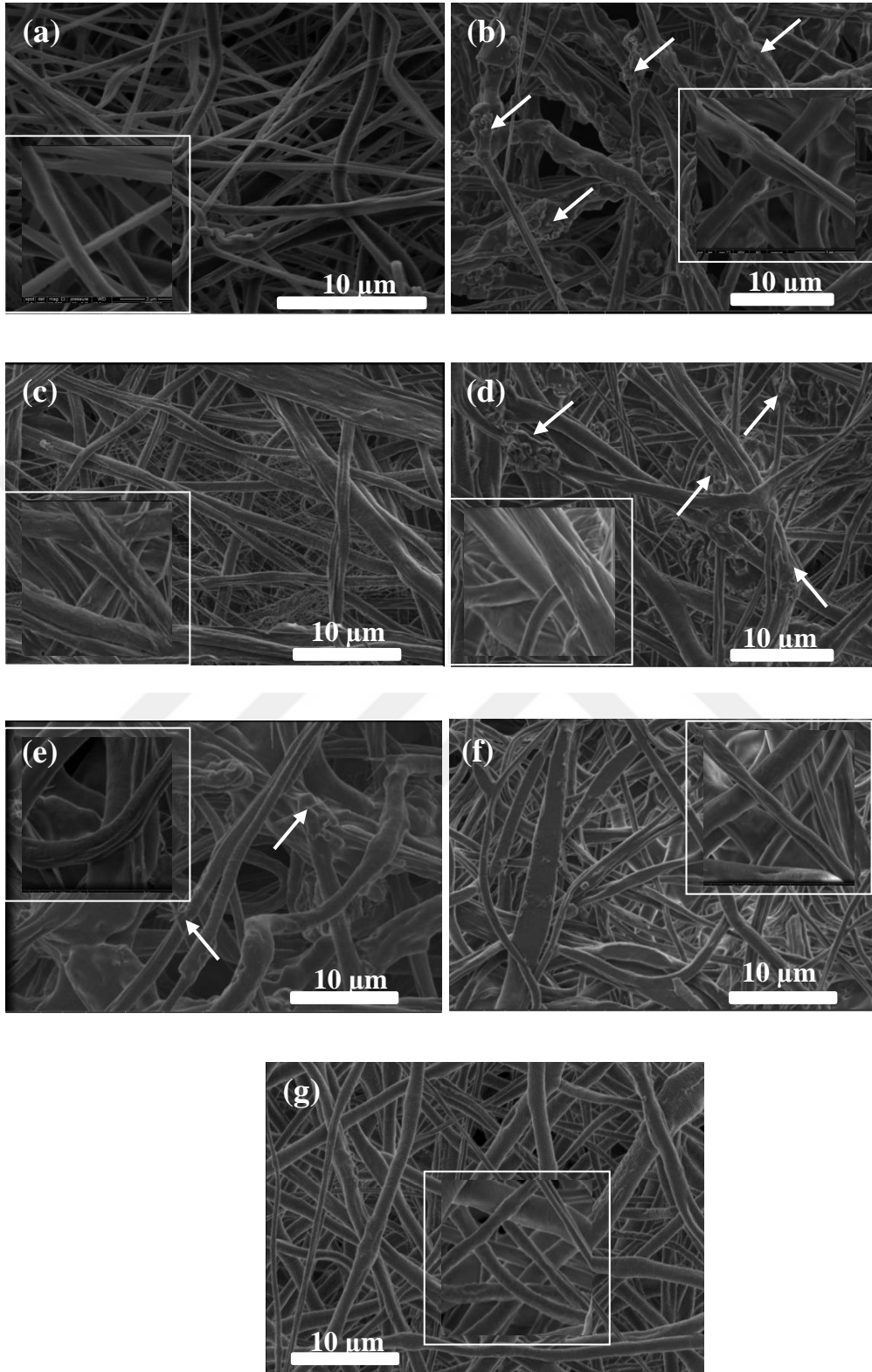
Badami ve ark., 2006 tarafından yapılan bir çalışmada doğrusal ve paralel dizilmiş 0.5-2 μm çaplarında liflere sahip polimerlerin hücre uyumunu etkileyerek osteoblastik farklılaşma belirteçlerini arttırdığını dile getirmişler. Elde ettikleri sonuçlara göre yaklaşık 2 μm çaplarındaki elektroğrılmış liflerin üzerinde düz yüzeylere göre hücre tutunmasının daha fazla olduğunu göstermiştir [96]. Diğer taraftan liflerin çaplarına göre hücre tutunmalarının farklı hücre çeşitlerinde değiştiği görülmüştür. Price ve ark., 2003 bir çalışmasında fibroblast, kondrosit ya da düz kas hücrelerinin tutunmasında büyük çaplara sahip liflerin kullanımının daha verimli olacağı sonucuna varılmıştır [97]. Jin ve ark., 2004 çalışmalarında yaklaşık 15 μm çaplarındaki elektroğrılmış ipek liflerinin üzerindeki kemik iliği kök hücrelerinin tutunmasını ve proliferasyonunun arttığını yaptıkları testlerle göstermişlerdir [98]. Başka bir çalışmada Luu ve ark., 2003 nano boyuttan mikro boyuta geçtikçe hücre tutunması ve proliferasyonun arttığını bildirmişlerdir [99].



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış PCL örneklerinin lif çapı grafikleri (a) %10 PCL, (b) %12 PCL, (c) %14 PCL, d) Tüm konsantrasyonlar.

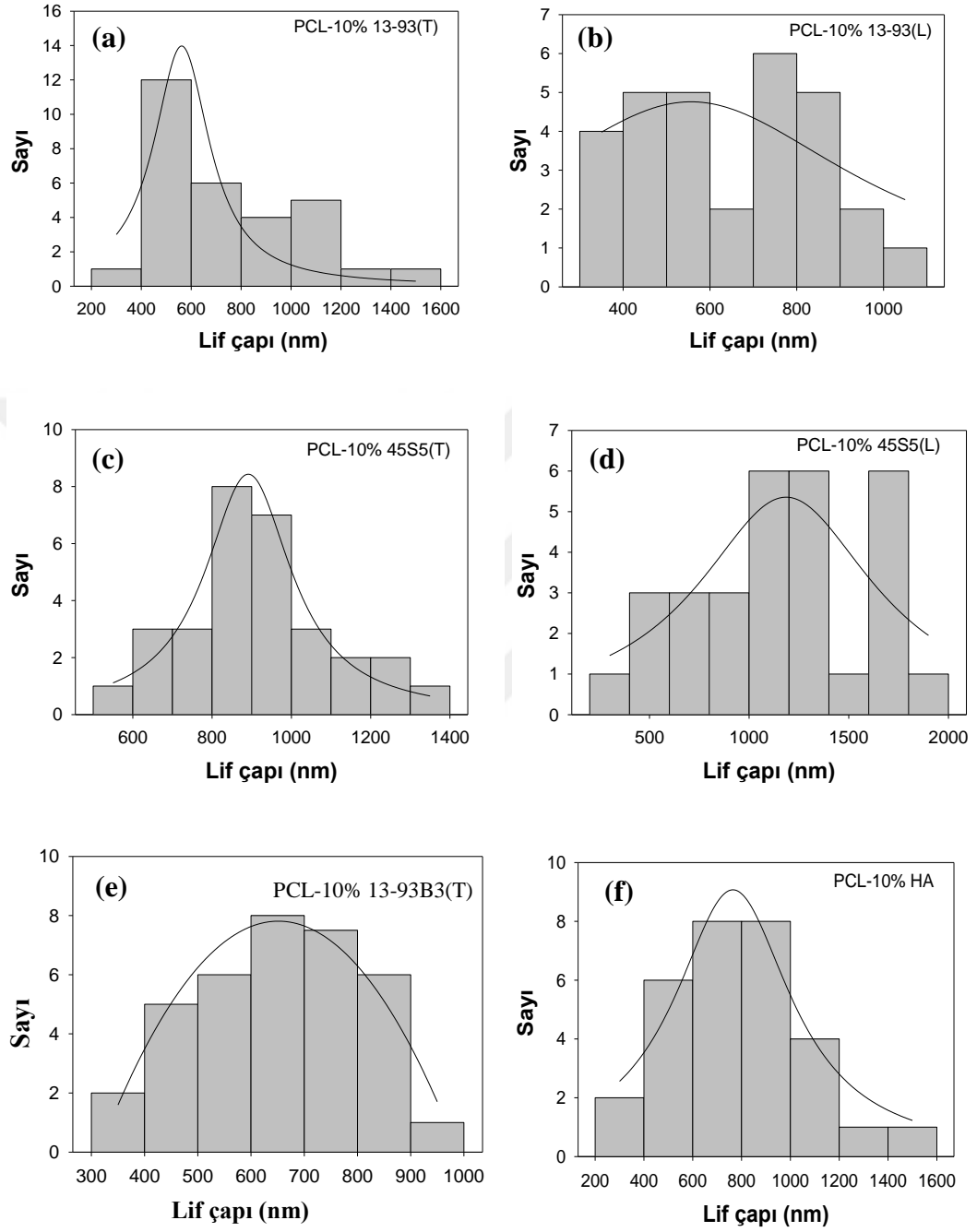
Şekil 4.12.'de farklı toz ve lif katkıları içeren elektroğrılmış kütlece %10'luk PCL lif örneklerinin SEM görüntüleri yer almaktadır. Bazı örneklerin morfolojileri birbirinden farklılık göstermektedir. Katkısız %10 PCL solüsyonu kullanılarak elde edilen liflerin çaplarının 450 ± 80 nm olduğu düşünüldüğünde mikrometre boyutundaki katkı maddelerinin yapıya ilavesinin SEM ile görüntülenmesi bazı zorluklara neden olmuştur. Bu nedenle bazı SEM mikrograflarında yapıda katkı maddesinin varlığı gözlenememiştir. Bu durum, katkı maddelerinin boyutlarının büyük olmasından kaynaklanacağı gibi katkı maddelerinin yapıda homojen olmayan bir dağılım göstermediğinin işareti olabilir. Ayrıca SEM görüntüleri, yapıya eklenen bazı katkı maddelerinin lif morfolojisinde deformasyona neden olduğunu göstermektedir. Biyoaktif cam yada HA katkılı PCL liflerin ortalama çapları aynı şekilde SEM mikrografları baz alınarak hesaplanmıştır (Şekil 4.13.). Buna göre katkı maddesi ilavesinin PCL kompozit liflerinin çaplarında bir artışa neden olduğu görülmektedir.

Gönen ve ark., 2016 bir çalışmada elektroçirime işlemlle stronsiyum ve bakır katkılı biyoaktif cam içeren jelatin-PCL lif üretmişlerdir. Mevcut projede elde edilen sonuçlara paralel olarak katkı maddesinin konsantrasyonunun artmasıyla lif çapı ortalamasının arttığı sonucuna varmışlardır [62]. Toz ve lif formunda biyoaktif cam içeren örneklerin tümünde lif çaplarında artış gözlenmiştir. Çalışmada üretilen skafoldlardan 13-93 lif, 13-93 toz, 45S5 lif, 45S5 toz, 13-93B3 toz ve HA toz katkılı liflerin çapları sırasıyla 647 ± 186 nm, 761 ± 290 nm, 1129 ± 413 nm, 921 ± 185 nm, 653 ± 157 nm ve 787 ± 265 nm olarak bulunmuştur. Toz formunda katkı içeren örnekler arasında en yüksek lif çapı ortalaması 45S5 biyoaktif cam içeren PCL liflere aittir. Şekil 4.1.'deki tane boyut analiz grafiğine bakıldığında da bu sonuç tutarlılık göstermektedir. Genel olarak yapıda lif ya da toz formunda biyoaktif cam bulunması lif oluşumunda süreksizliğe yol açmamıştır. Kemik dokuda doğal olarak bulunan kollajen fibriller ile yakın ölçülerde olduğundan ötürü birkaç mikrometre ve yüzlerce nanometre boyutlarındaki lif çapları kemik doku rejenerasyonu için tercih edilebilir [55].



Şekil 4.12. Farklı katkı maddeleri eklenerek hazırlanmış PCL örneklerinin SEM görüntüleri (a) PCL, (b) PCL-HA, (c) PCL-45S5 (T), (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-

45S5(L), (f) PCL-13-93(L), (g) PCL-13-93(T). Beyaz oklar sisteme eklenen katkı maddelerini işaret etmektedir.

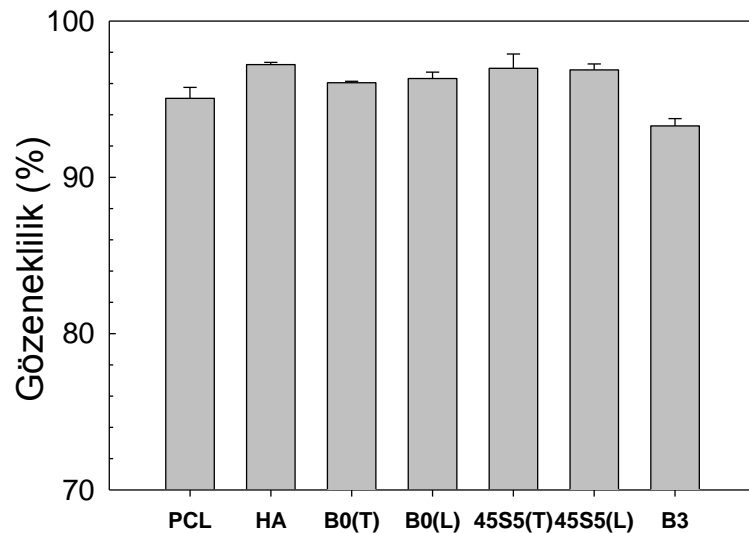


Şekil 4.13. Farklı katkı maddeleri eklenerek hazırlanmış %10 PCL bazlı numunelerinin lif çapı grafikleri; a) 13-93(T), b) 13-93(L); c) 45S5(T), d) 45S5(L); e) 13-93B3(T); f) HA.

4.4. Gözeneklilik

Gözeneklilik, gözenek yapısı ve boyutu, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan skafoldların biyouyumluluğunu belirleyen özelliklerdendir. Gözeneklilik, yeni doku oluşumu için gereken hücre taşınması ve proliferasyonunu doğrudan etkilemektedir. Genel olarak biyouyumluluk için optimal bir porozite değeri belirlenmemiş olsa da bazı uygulamalar için mekanik özelliklerin artan porozite değerleri ile birlikte azaldığı bilinmektedir [100]. Önceki çalışmasında Hollister, 2005 sert doku uygulamalarında kullanılacak yeterli mekanik basma dayanıma sahip PCL skafoldlar için optimum porozite değerini %50-60 olarak belirlemiştir [101].

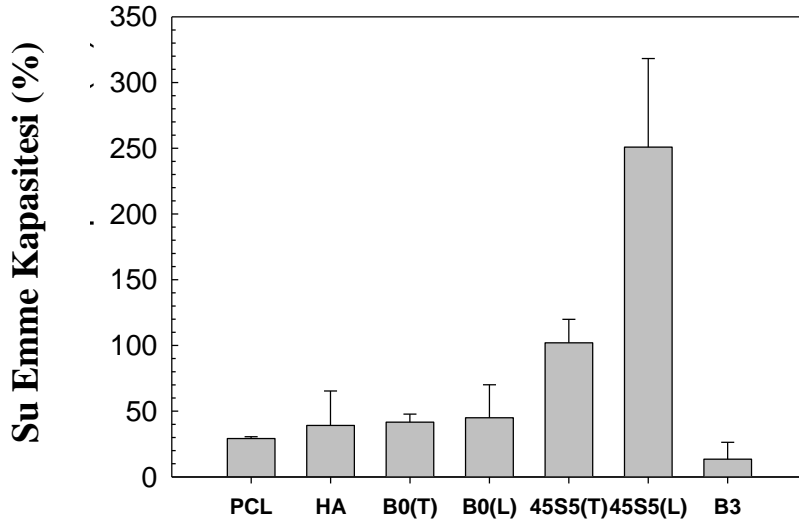
Şekil 4.14. tez projesi kapsamında üretilen lifsi skafoldların gözeneklilik ölçüm sonuçlarını göstermektedir. Hazırlanan örneklerin gözeneklilikleri %93-%97 değerleri arasında bulunmuştur. Yüksek gözeneklilik, skafoldların toplam yüzey alanını arttırdığından hem hücre penetrasyonu hem de ilaç salınımı uygulamaları için istenilen bir durumdur [102]. Zhu ve ark., 2008 deri doku mühendisliği uygulamaları için elektroçizme yöntemi ile PCL lifsi skafoldlar hazırlamışlar ve üretilen skafoldların gözenekliliğini %92.4 ve gözenek boyutunu 132.7 µm olarak belirtmişlerdir [103]. Çalışmada elde edilen gözeneklilik değerleri önceki çalışmalarda elde edilen değerler ile uyumluluk göstermektedir.



Şekil 4.14. Hazırlanan lifsi yapıdaki skafoldların gözeneklilik yüzdelerini gösteren grafik.

4.5. Su Emme Kapasitesi

Proje kapsamında hazırlanan skafoldların su emme kapasiteleri şekil 4.15.'de gösterilmektedir. Diğer skafoldlara kıyasla 45S5 biyoaktif cam lif ve toz içeren skafoldların su emme kapasitelerinin yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Her iki skafold çeşidinin de su emme miktarları %100'ün üzerindedir. 45S5 içeren PCL liflerinin daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi, muhtemelen, yoğun eriyik-türevli cam ile karşılaştırıldığında sol-jel prosesinin doğasında olan gözenekli bir yapıya sahip 45S5'in daha yüksek spesifik yüzey alanından kaynaklanmaktadır [104]. Sol-jel yönteminin yüksek yüzey alanı ve yüksek gözenekli camların üretimine olanak sağladığı bilinmektedir. Sol-jel cam dokusu eriyik cam dokusuna göre oldukça gözenekli olduğu için yüzeydeki hidroksilasyonu artırarak SiOH(silika jel tabakası) oluşumunu sağlamaktadır [49]. Özellikle 45S5 lif içeren PCL skafoldlarda elde edilen 251 ± 67 seviyesindeki su emme miktarı, 45S5 biyoaktif cam lif ilavesinin skafoldları hidrofilik hale getirdiğine işaret etmektedir. Proje kapsamında hazırlanan lifsi kompozit skafoldlar içinde en düşük su emme kapasitesinin ($13,5 \pm 12$) borat bazlı 13-93B3 biyoaktif cam katkılı örneklerde elde edildiği görülmektedir. Bu durum kısmen borat bazlı biyoaktif cam içeren PCL kompozit skafoldların daha düşük gözeneklilik değerine sahip olması ile açıklanabilir.



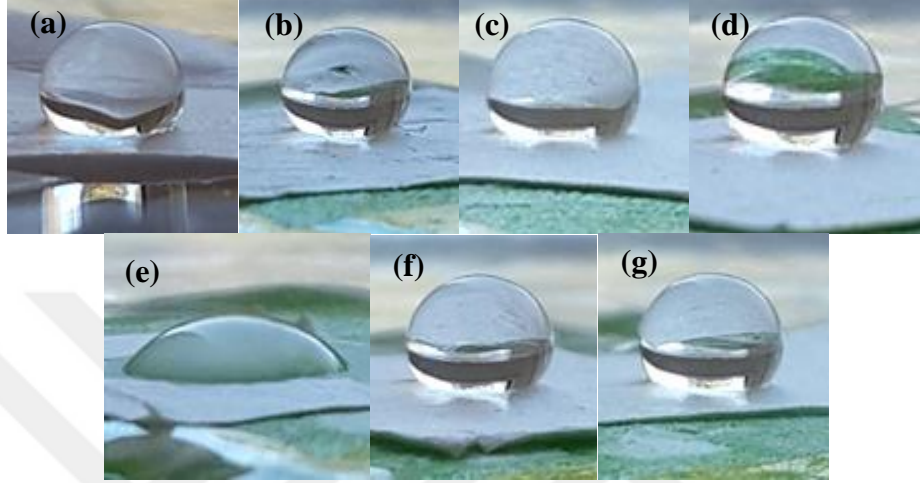
Şekil 4.15. Hazırlanan lifsi yapıdaki skafoldların su emme kapasitesi grafiği.

Chutipakdeevong ve ark., 2015 geçmiş çalışmalarında elektroçirime ile üretilmiş PCL liflerin su emme kapasitelerinin 15 dakika su içinde bekleme süresi sonunda %28 olduğunu raporlamıştır. Aynı çalışmaya göre hazırlanan liflerin su emme seviyesi 2 saat sonunda doygunluk değerine (%35) ulaşmıştır [105]. Benzer şekilde bu proje çalışmasında katkısız PCL liflerin su emme seviyeleri $29 \pm 1,4$ olarak ölçülmüştür.

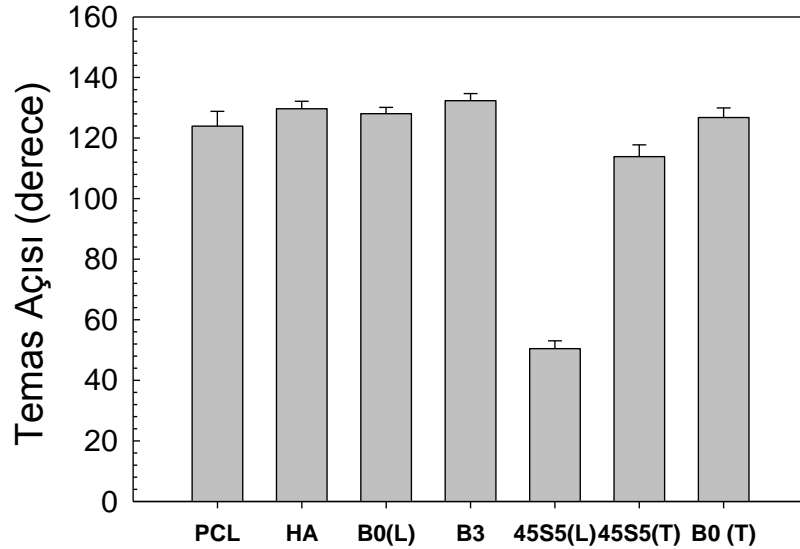
4.6. Temas Açısı

Hazırlanan skafodların yüzeylerinin ıslanabilirliğini ölçmek için temas açısı ölçümü yapılmıştır. Şekil 4.16.'da çalışmada hazırlanan PCL bazlı kompozit liflerin yüzeyindeki su damlacıklarının dijital görüntüleri yer almaktadır. Elde edilen sonuçlar en yüksek temas açısının 132 ± 2.4 derecelik açıyla 13-93B3 biyoaktif cam içeren lifsi yapıdaki PCL skafoldlara ait olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 4.17.). Bu sonuç, borat bazlı biyoaktif cam içeren PCL skafodların düşük su emme kapasiteleri ile uyumludur. Diğer taraftan 45S5 lif içeren PCL bazlı lifsi skafodların yüzeyinde en düşük temas açısı ($50,5^\circ \pm 2,5$) ölçülmüştür. 45S5 lif içeren skafold dışındaki tüm skafodlar, sonuçlardan anlaşılacağı üzere hidrofobik yapı göstermektedir. Bilindiği üzere, biyoaktif camlar ve HA hidrofilik malzemelerdir [64]. Buna bağlı olarak kompozit lifsi skafodlarda su ile temas açısı değerlerinde azalma olması beklenmektedir [106,107]. Ancak üretilen kompozit skafodların lifsi yapısı (yüksek yüzey alanı) ve yüksek gözenekliliğe sahip olmalarından ötürü nispeten yüksek temas açıları ($>90^\circ$) elde edildiği düşünülmektedir. Matın pürüzlü yüzey morfolojisi ve gözenekli PCL lifler arasında sıkışan hava, su ile temas açısında artışa neden olmuş olabilir [104, 105]. Temas açısı değerlerinin yüksek olmasının diğer bir sebebi de, PCL içindeki biyoaktif cam ve HA partikül konsantrasyonunun hidrofobisiteyi azaltacak kadar yeterli gelmemesi olabilir. Li ve Barber, 2012 polikarbonat elyafların su ile temas açısının, kompozit sıvı-hava-katı ara yüzünün oluştuğu ve böylece yüzeyin hidrofobikliğini arttırdığı Cassie-Baxter modelinde açıklandığı gibi belirgin pürüzlülük ile arttığını göstermişlerdir [108]. Benzer şekilde, Hassan ve Sultana geçmişte yaptıkları çalışmalarında, mevcut tez çalışmasının sonuçları ile uyumlu olarak PCL liflerinin su ile temas açılarını 132° olarak belirtmişlerdir [109]. Öte yandan, tez çalışmasında hazırlanan lifsi PCL kompozit skafodların son derece hidrofobik yapısından ötürü yaralara minimum tutunma gösterdiği için yara örtüsü uygulamalarında faydalı olabileceği

düşünülmektedir [110]. Hatta biyoaktif cam partiküllerinden ya da liflerinden salınan iyonların (Mg^{+2} , Ca^{+2} , B, Na^{+1} , K^{+1}) da yara iyileşmesinde etkili olması mümkündür [111]. Özellikle borat bazlı 13-93B3 biyoaktif cam partiküllerinin etkileri yara iyileşmesi ve kemik metabolizmaları gelişiminde etkili olduğu yaygın olarak bilinmektedir [112].



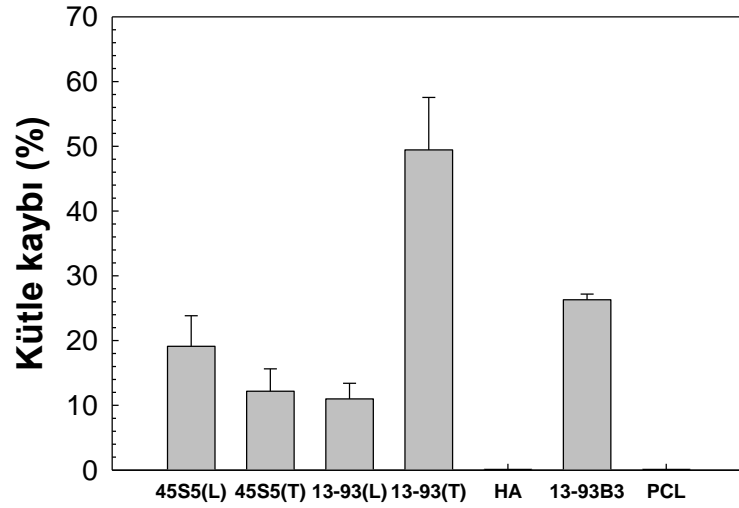
Şekil 4.16. Hazırlanan kompozit skafoldların yüzeyindeki su damlacıklarının görüntüleri; (a) PCL, (b) PCL-HA, (c) PCL-13-93(L), (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-45S5(L), (f) PCL-45S5(T), (g) PCL-13-93(T).



Şekil 4.17. Hazırlanan lifsi skafoldların sıvıyla temas açısı derece grafiği.

4.7. Kütle Kaybı ve İyon Salınımı Analizleri

Fosfat tampon çözeltisinde (PBS) 30 gün bekletilen katkılı ve katkısız PCL kompozit lifsi skafoldların kütle kaybı değerleri Şekil 4.18.'de yer almaktadır. Buna göre, katkısız PCL numunesinin diğer numunelere kıyasla daha yavaş degrade olduğu görülmektedir. Diğer yandan biyoaktif cam katkılı, lifsi PCL skafoldların daha yüksek miktarda kütle kaybına uğradığı anlaşılmaktadır. Bu davranış, özellikle silika bazlı 13-93 biyoaktif camın, muhtemelen sudaki yüksek yüzey reaktivitesinden dolayı PBS'de PCL liflerinin parçalanması için bir hızlandırıcı görevi gördüğünü göstermektedir. Diğer taraftan PCL'nin hidrofobik bir malzeme olduğundan ötürü suyun hızlı nüfus etmesini engelleyen oldukça kristalli bir yapısı vardır. PCL'nin bozunma mekanizması, ester bağının rastgele hidrolitik zincir bölünmesi olarak bilinse de, bozunma kinetiği diğer parçalanabilir polyesterlerden nispeten daha yavaştır [113]. Sonuçlara bakıldığında 13-93 biyoaktif cam katkılı lifin 13-93 toz katkılı life göre daha düşük kütle kaybına uğradığı görülmektedir. Bu durum 13-93 lifin düşük reaktivitesine bağlanabilir. Yüksek kütle kayıp oranına sahip bir diğer numune de 13-93B3 katkılı PCL skafoldtur. 13-93B3 katkılı PCL skafoldların düşük gözeneklilik, düşük su emme ve su ile yüksek temas açısına sahip olmasına rağmen PBS içinde nispeten yüksek kütle kaybına uğraması, borat bazlı 13-93B3 biyoaktif camının silika bazlı diğer biyoaktif cam kompozisyonlarına göre çok daha hızlı çözünmesine bağlanabilir. Sulu ortamda hızlı iyon salınımı yaparak daha kolay degrade olması borat bazlı 13-93B3 biyoaktif camlarının mekanik dayanım özelliklerini de düşürdüğü bilinmektedir [114].



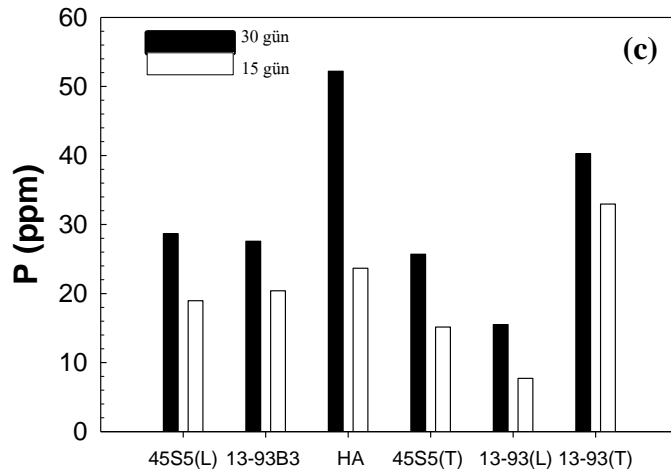
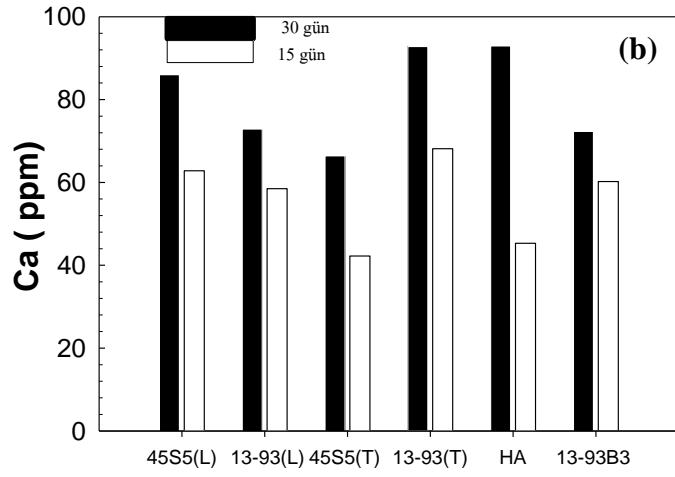
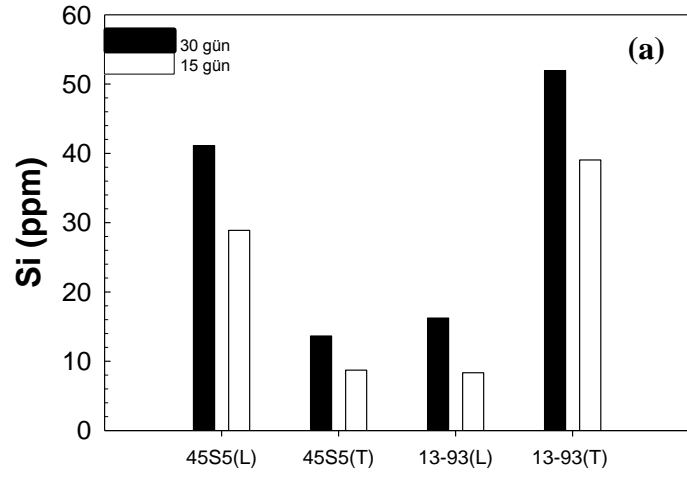
Şekil 4.18. Hazırlanan lifsi skafoldların 30 gün PBS’de bekledikten sonraki kütle kaybı grafiği.

Diaz ve ark., 2014 bir çalışmasında PCL/nano-HA kompozit skafoldların 16 hafta üzerinde 37 °C’deki PBS içindeki bozunma davranışlarını ve mekanik özelliklerini incelemiştir. Skafoldlara nano-HA parçacıklarının eklenmesi kompozitlerin kütle kaybını ve ilk bozunma işlemi sırasında suyu emme kapasitelerini hızlandırmıştır [115]. Benzer olarak Santocildes-Romero ve ark., 2016 strontiyum yerleştirilmiş biyoaktif cam parçacıkları içeren elektroğrılmış PCL kompozit membranları üzerinde çalışmışlardır. Polimer bozunmasının her iki bileşen arasındaki etkileşime bağlı olduğu sonucuna varmışlardır [116]. Tez çalışmasında, PCL liflerinin cam parçacıklarının veya cam liflerin varlığında hızlı bozunması, asidik bozunma ürünlerinin salınımına neden olan ortamın hızlı alkalileşmesine bağlı olabilir.

Bu çalışmada, SBF içinde bekletilen biyoaktif cam ve HA katkılı, lifsi PCL kompozit skafoldlardan, silisyum, kalsiyum ve fosfor iyonlarının SBF’e salınım özellikleri statik koşullarda incelenmiştir. Kompozit PCL lifsi skafoldların, SBF’inde 15 ve 30 gün boyunca bekletme işleminden sonra SBF’deki tüm iyon konsantrasyonlarındaki artışı, PCL kompozit lifsi skafoldların çözünebildiğini ve çözünme ürünlerini ortama salılabildiğini göstermiştir. Şekil 4.19.’a göre aynı koşullar altında, 13-93 biyoaktif cam tozu katkılı PCL numuneden salınan silisyum, kalsiyum ve fosfor iyonları 13-93 lif katkılı örneğe göre daha fazladır. Daha yüksek salınım

hızı 13-93 toz katkılı skafoldlardaki daha yüksek bozunma davranışına bağlanmıştır. Fakat bu durum 45S5 toz ve lifler için tam tersi şekilde gelişmiştir. Bu durumun PCL matrisi içindeki lif ve tozların dağılımının farklılık göstermesinden ve yüzey reaktivitelerinin farklı oluşundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.



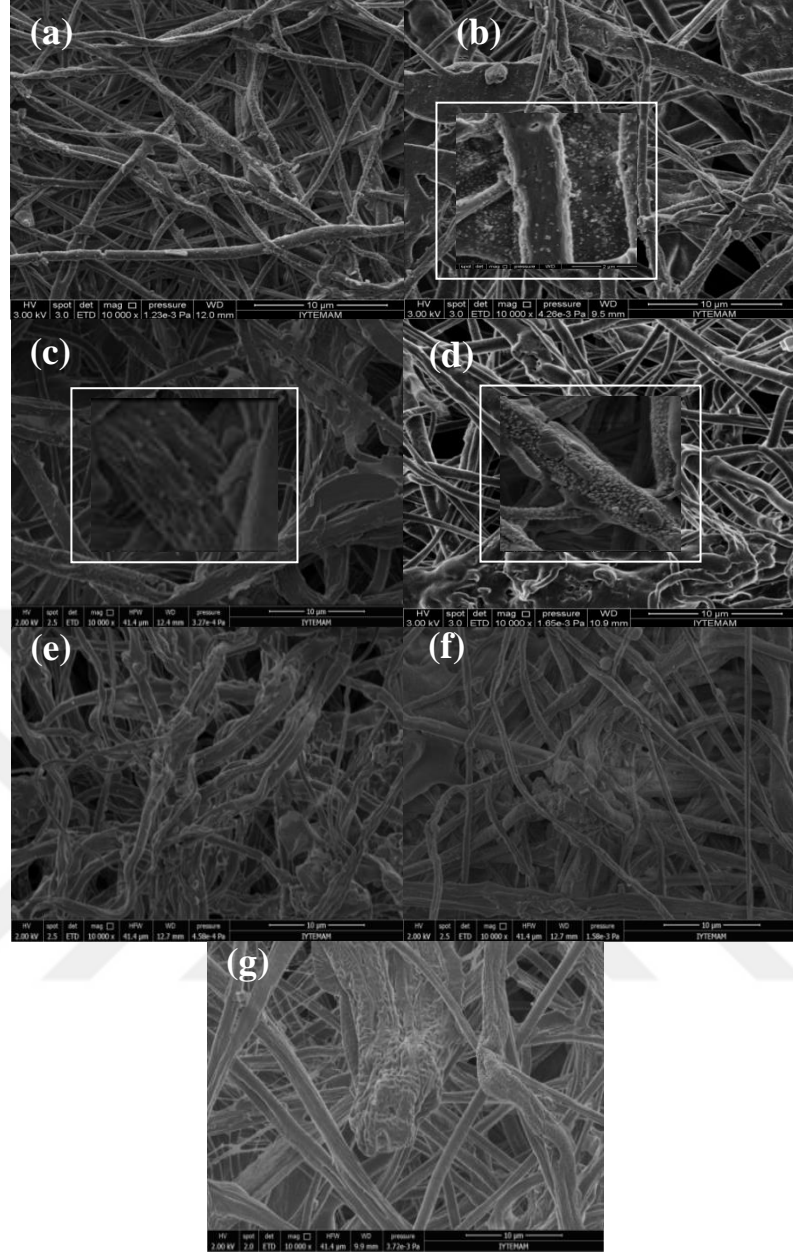


Şekil 4.19. Hazırlanan lifsi skafoldların iyon salınımı grafikleri; (a) Silisyum, (b) Kalsiyum, (c) Fosfor.

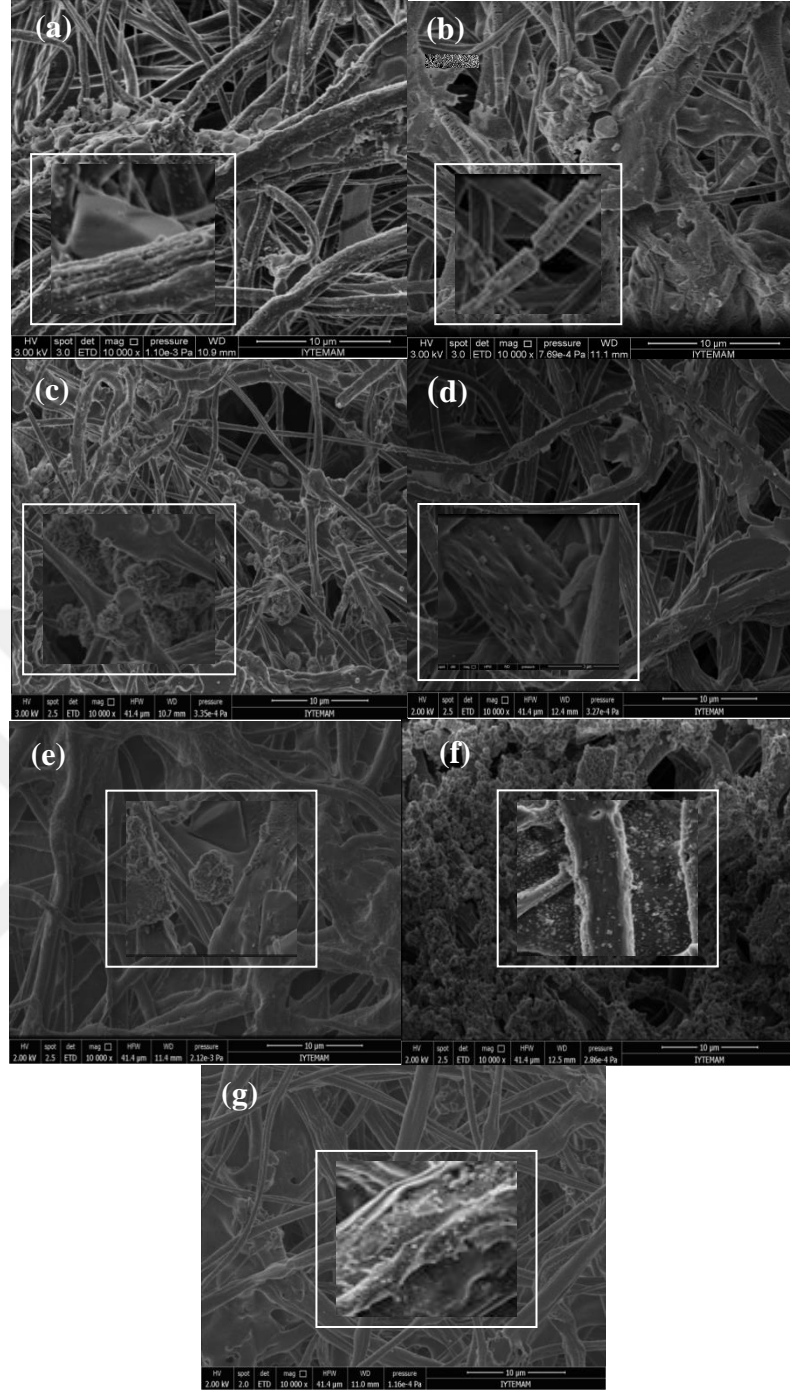
4.8. *In Vitro* Biyoaktivite Deneyleri

4.8.1. SEM Analizi

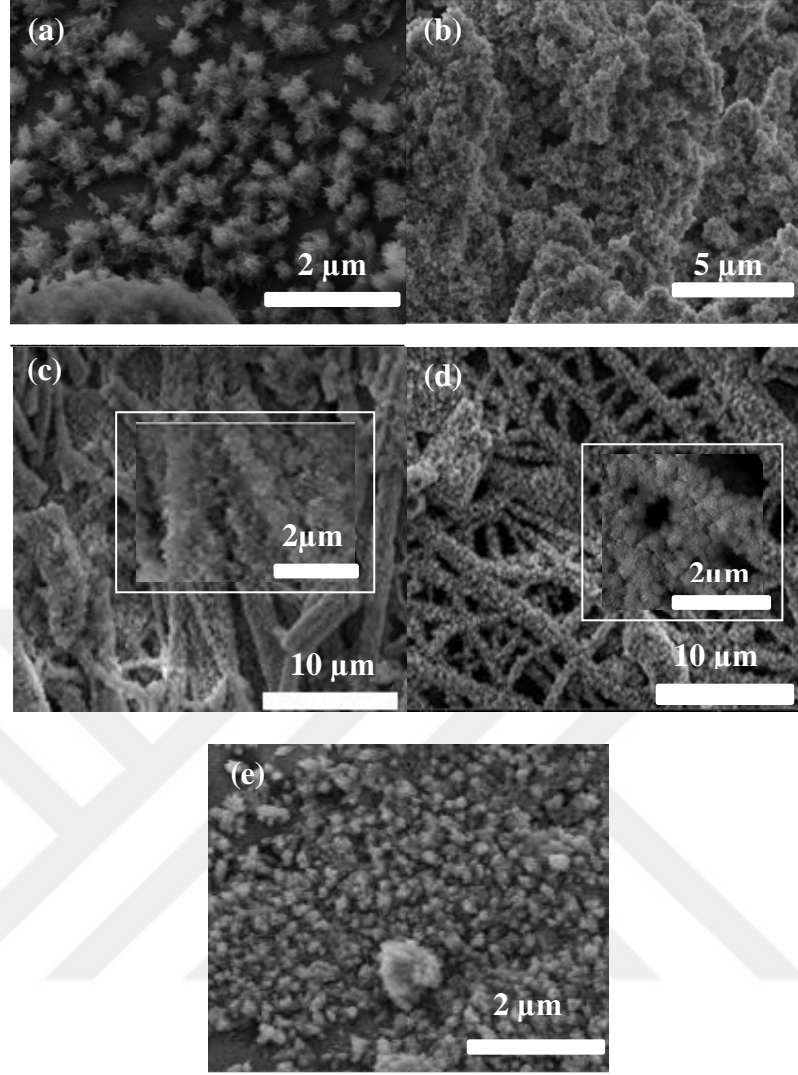
Çalışmada hazırlanan skafoldların *in vitro* biyomimetik mineralizasyon yetenekleri SBF içerisinde test edilmiştir. Şekil 4.20. - Şekil 4.22. 'de PCL-biyoaktif cam kompozit skafoldların 37 °C'deki yapay vücut sıvısında sırasıyla 7 ve 30 gün bekletildikten sonra yüzey morfolojinin görüntüleri yer almaktadır. SEM görüntülerine bakılarak skafoldların yüzeyinde *in vitro* biyoaktifliğin göstergesi olan HA oluşumu araştırılmıştır. Şekil 4.20.'deki SEM görüntülerinde, 7 gün SBF'de bekletilen örneklerden özellikle HA toz , 45S5 biyoaktif cam toz ve borat-bazlı 13-93B3 katkılı PCL kompozit liflerin üzerindeki yeni oluşumlar dikkat çekmektedir. Buna göre, skafoldların yüzeyinde bir ikinci-faz malzemesinin muhtemelen amorf kalsiyum fosfat veya hidroksiapatit birikimi olduğu gözlenmektedir. Yeni HA faz oluşumunun yanı sıra SBF içerisindeki mineraller de liflerin yüzeyine tutunarak birikim yapmış olabilir. Katkısız polikaprolakton skafoldlarda biyoaktif cam veya HA katkısı olmadığı için HA oluşumu çok az miktarda beklenmiştir. Diğer yandan, Şekil 4.21.'de 30 gün SBF'de bekletilen tüm katkılı örneklerin yüzeyinin HA benzeri bir partiküllü yapı ile kaplanmış olduğu görülmektedir. Şekil 4.22'de toz ve liflerin kendilerinin görüntüleri yer almaktadır.



Şekil 4.20. Hazırlanan PCL bazlı kompozit skafoldların 37 °C'deki yapay vücut sıvısında 7 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri; (a) PCL; (b) PCL-HA; (c) PCL-45S5 (T); (d) PCL-13-93B3; (e) PCL-13-93 (L); (f) PCL-13-93 (T), (g), PCL-45S5(L).



Şekil 4.21. Hazırlanan PCL bazlı kompozit skafoldlarının 37 °C'deki yapay vücut sıvısında 30 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri; (a) PCL; (b) PCL-13-93(L); (c) PCL-13-93(T); (d) PCL-45S5(L); (e) PCL-45S5 (T); (f) PCL-HA; (g) PCL-13-93B3.



Şekil 4.22. Proje kapsamında kullanılan biyoaktif cam toz ve liflerin 37 °C'deki yapay vücut sıvısında 30 gün bekletilmiş hallerinin SEM görüntüleri; (a) 45S5(T); (b) 13-93B3; (c) 45S5(L); (d) 13-93(L); (e) 13-93(T).

Katkı maddesinin boyutunun doku mühendisliğindeki kompozit yapıların mukavemetini, biyoaktivitesini ve hücre çoğalmasını etkilediği bilinmektedir [117]. Jo ve ark., 2009 tarafından hazırlanan bir çalışmada biyoaktif cam lif ve mikron boyutundaki biyoaktif cam partikül katkılı PCL kompozitler karşılaştırılmıştır. Sonuçlara bakıldığında biyoaktif cam lif katkılı kompozitin biyoyumluluğunun ve mukavemetinin biyoaktif cam partiküllü kompozite göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Fakat bu çalışmada biyoaktif cam partikül katkılı PCL kompozit filmler, çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlandığı için HA oluşum kabiliyeti test edilememiştir [118]. Misra ve ark., 2008 mikro (5 mm) ve nano (29 nm) boyutlardaki biyoaktif cam partikülün P(3HB) polimer matrisine karıştırıldığındaki

etkisine bakmıştır. Nano boyuttaki biyoaktif camların katkısı mikro boyuttakine göre, kompozit filmlerdeki yapısal ve mekanik özelliklerinde büyük değişiklikler yaratmıştır [119].

Tez çalışmasında kullanılan biyoaktif cam lifler mikron altı boyutlara sahiptir ve spesifik yüzey alanı mikron boyutundaki biyoaktif cam partikülüne göre daha yüksektir. Yüksek yüzey alanları sayesinde biyoaktif cam lifler organik matrisle yeterince etkileşime girebilirler ve SBF gibi fizyolojik ortamlarda daha hızlı reaksiyon verebilir. Bununla birlikte; biyoaktif cam toz ve lifleri üretme yöntemlerinin farklı olması, camların son hücrel biyoaktivitesini etkileyebilmektedir. Deliormanlı, 2015 yaptığı bir çalışmada elektroğrılmış 13-93 liflerin 0.5 mg ml^{-1} lif/SBF oranında SBF'e daldırıldıktan 7 gün sonra kristalli bir Ca-P katmanının oluştuğu gözlemiştir [89]. Öte yandan, PCL (ağırlıkça %20) kaplı 13-93 cam skafoldların *in vitro* mineralizasyonu üzerine yapılan farklı bir çalışmada SBF'ye 3 gün daldırma işleminden hemen sonra HA oluşumu olduğunu kanıtlamıştır [89]. Benzer bir şekilde, Fu ve ark., 2008 SBF'ye 7 gün batırılmış, sinterlenmiş 13-93 cam skafoldların yüzeyinde ince film XRD analizi ile HA fazı oluştuğunu bildirmişlerdir [120]. Bu nedenle, çalışma kapsamında kullanılan cam liflerin ve tozların *in vitro* mineralizasyon kabiliyeti üzerinde farklılıklar bulunabilir.

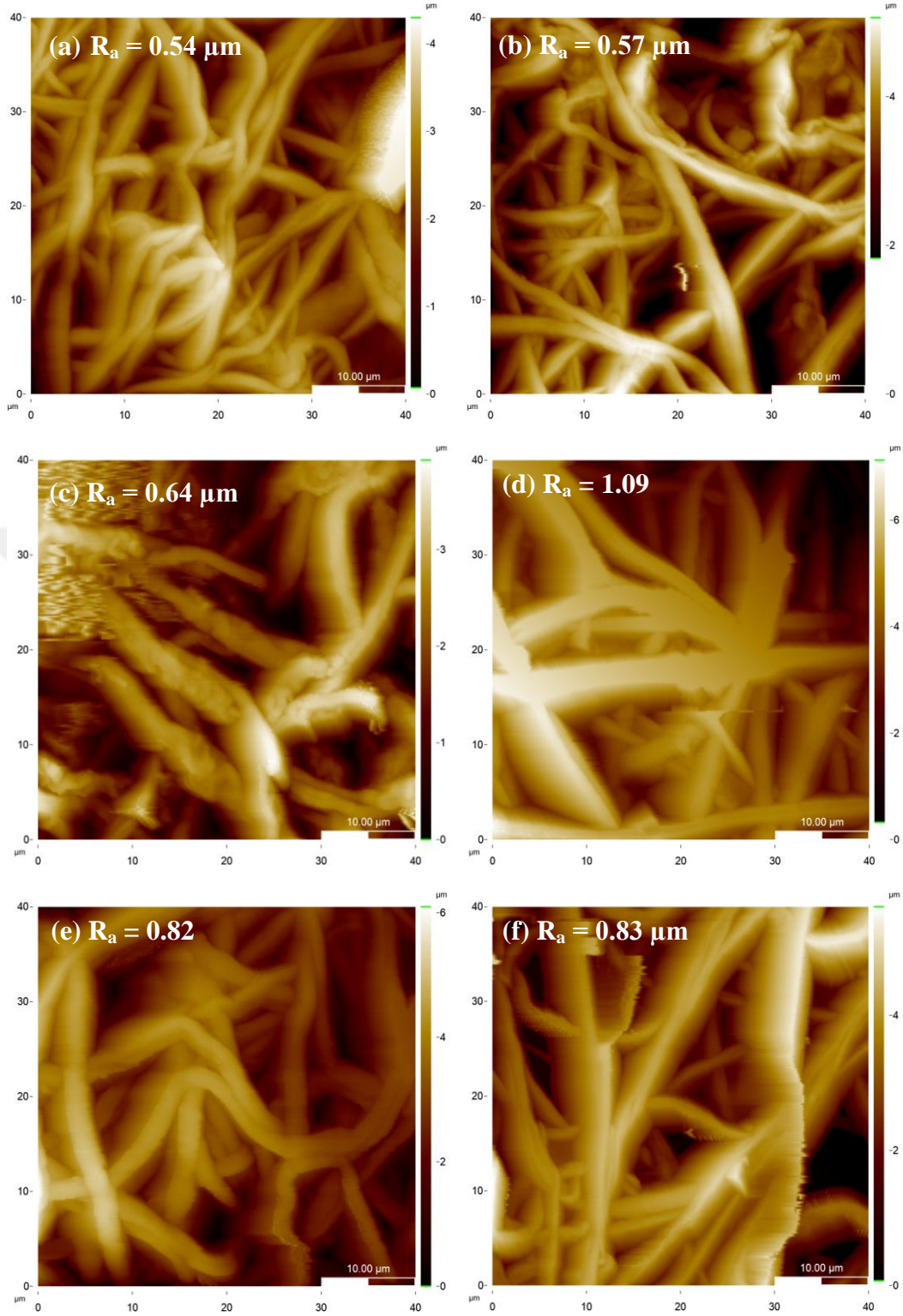
Ek olarak, bu çalışmanın sonuçları, biyoaktif cam tozların boyut dağılımları nedeniyle PCL matrisinde eşit bir şekilde dağılım olamayabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan, liflerin kullanımdan önce küçük parçalara ayrılması gerekmektedir. Tane boyut analizi, yüksek lif oranına sahip kısa lif formunda bazı topaklanmalar olduğunu göstermiştir. Bu da PCL kompozit matrisinin içindeki dağılımı etkileyebilir.

4.8.2. AFM Analizi

Proje kapsamında SBF içinde bekletilen örneklerin yüzey morfolojisi ve pürüzlülüğü atomik kuvvet mikroskobu ile incelenmiştir. Yüzey pürüzlülükleri AFM'nin profilometre modunda değerlendirilmiş ve yüksek biyoaktiviteye sahip örneklerin yüzey pürüzlülüğünün de yüksek olacağı varsayılmıştır. Şekil 4.23.'te SBF'de 30 gün bekletilen katkılı ve katkısız PCL kompozit lifsi skafoldların AFM görüntüleri yer almaktadır. AFM görüntülerindeki parlaklık numunelerin yükseklik parametresine bağlı olarak artan bir fonksiyondur. SBF'de 30 gün bekletilmiş

katkısız PCL skafoldun ortalama pürüzlülüğü 0.54 μm olarak ölçülmüştür. Diğer taraftan 13-93 lif katkılı, 13-93 toz katkılı, 13-93B3 katkılı, HA katkılı ve 45S5 lif katkılı PCL örneklerinin ortalama pürüzlülükleri sırasıyla 0.57 μm , 0.64 μm , 1.09 μm , 0.82 μm ve 0.83 μm 'dir. Diğer numunelere kıyasla 13-93B3 biyoaktif cam katkılı örneğin pürüzlülüğünün yüksek olmasının sebebi SBF içinde daha yüksek biyoaktif tepki (HA tabakası oluşumu) vermesinden olabilir. SBF içinde bekletilmiş 45S5 biyoaktif cam katkılı örneklerin çok yüksek yüzey pürüzlülüğü değerleri nedeni ile AFM ile görüntü alınması gerçekleştirilememiştir.





Şekil 4.23. SBF’de 30 gün bekletilmiş kompozit skafoldların AFM görüntüleri; (a) saf PCL, (b) PCL-13-93(L), (c) PCL-13-93(T) (d) PCL-13-93B3, (e) PCL-HA (f) PCL-45S5(L).

4.8.3. FTIR-ATR Analizi

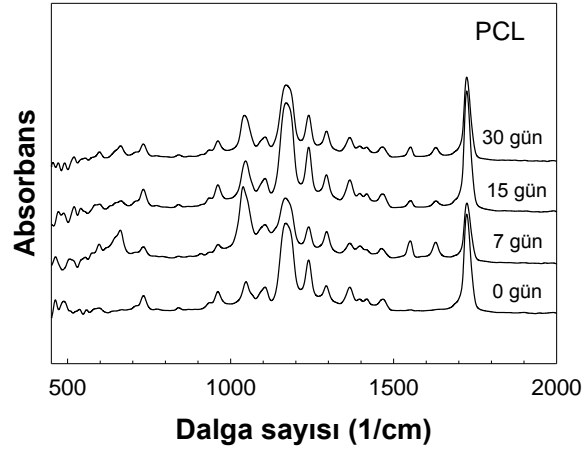
Çalışmada elde edilen lifsi skafoldların biyoaktivitesi, (yüzeylerinde kalsiyum fosfat bazlı malzeme oluşumu) ayrıca ATR-FTIR spektrometresiyle incelenmiştir. IR spektroskopisinde elektromanyetik spektrumun belli bir bölgesindeki (belli frekanstaki) ışınımdan yararlanılmaktadır. Elektromanyetik spektrumun 780 nm - 1 mm arası infrared alan olarak bilinir. Bir organik molekül tarafından absorplanan yakın infrared alandaki ışınlar o molekülün vibrasyonel (titreşimsel) ve rotasyonel (dönmeye ait) enerjilerini, uzak infrared alandaki ışınlar ise sadece rotasyonel enerjilerini etkiler [92].

Proje kapsamında SBF içinde bekletilmiş ve bekletilmemiş, saf PCL liflerin FTIR spektrumları Şekil 4.24.'te gösterilmektedir. Buna göre 1295 cm^{-1} dalga boyunda kristal faz ve 1166 cm^{-1} dalga boyu (C-O-C grubu nedeniyle) civarında amorf faz oluşumu göstermiştir [112]. Şekil 4.24.'te işlem görmemiş PCL için bu pikler oldukça net görülmektedir. 1721 cm^{-1} dalga boyundaki bant (C=O) gerilmesi iken 1237 cm^{-1} ve 1180 cm^{-1} sırasıyla asimetrik gerilme (C-O-C) ve simetrik gerilme (C-O-C) ile ilişkilendirilmektedir [124, 125]. Bunlara ek olarak; asimetrik 2943 cm^{-1} dalga boyundaki CH_2 gerilmesi ve 2866 cm^{-1} dalga boyundaki CH_2 gerilmesi PCL'nin karakteristik piklerindedir [122]. Diğer taraftan hem katkısız PCL liflerde, hem de kompozit liflerde 1722 cm^{-1} dalga boyundaki karbonil gerilmesi hakimdir [25]. Ayrıca kristallik göstergeleri C-COO gerilmesi, C-C gerilmesi, CH_2 burulması, CH_2 eğilmesi ve (C=O) gerilmesi modlarına karşılık gelen gerilme ve eğilme titreşimleridir [127, 128].

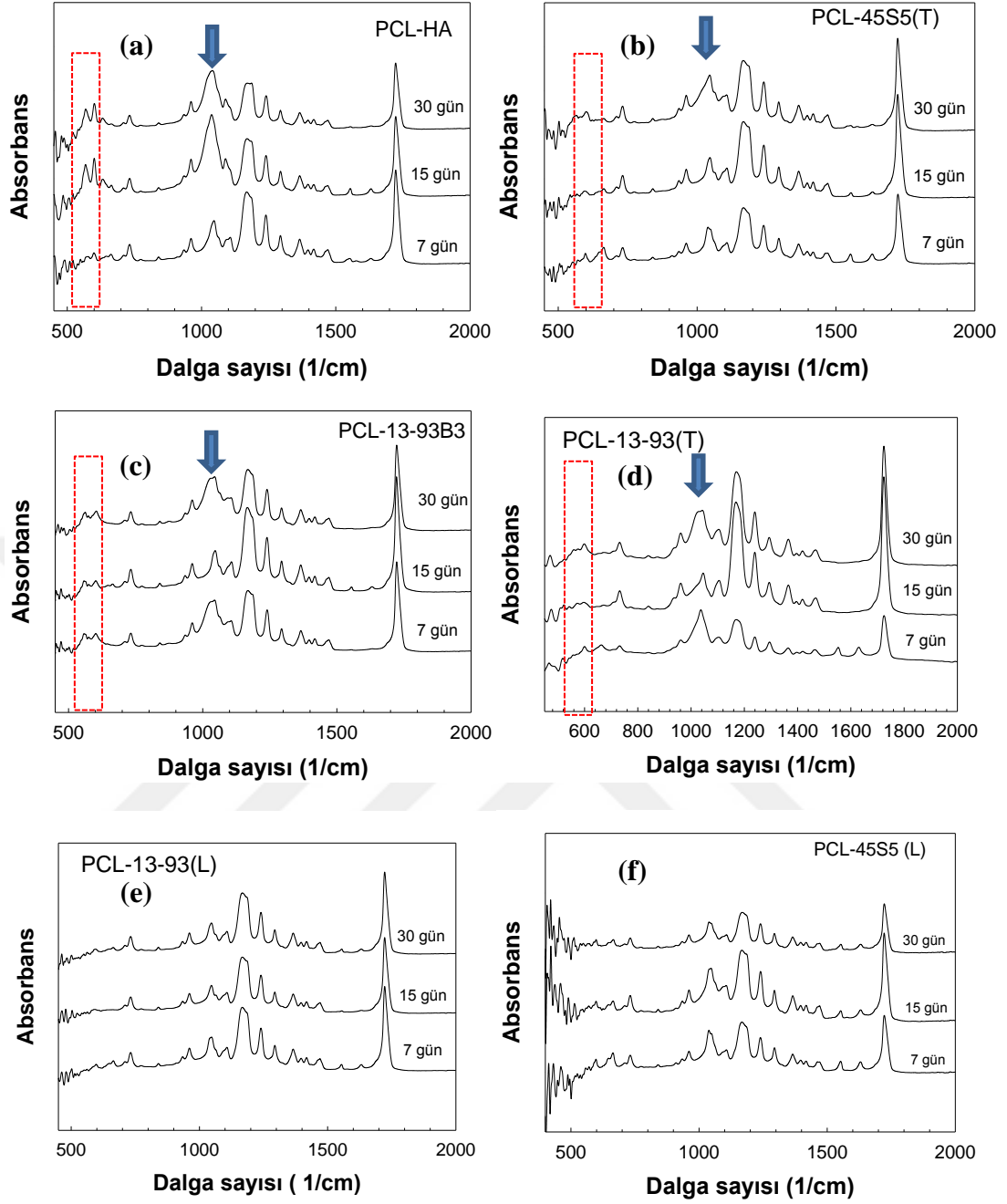
SBF' de bekletilmiş kompozit liflerin FTIR spektroskopi analizi 570 cm^{-1} ve $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ dalga boyunda kalsiyum fosfata karşılık gelen rezonansta oluşunu göstermiştir (Şekil 4.25.). 560 cm^{-1} ve 604 cm^{-1} dalga boylarındaki iki P-O bükme pikleri HA oluşumunu karakterize eden iki ana piktir [129, 130]. Kristal Ca-P katmanı, 550 cm^{-1} ile 610 cm^{-1} dalga boyları arasında bölünmüş P-O bükülme titreşim bandında ve sadece SBF'de bekletilmiş biyoaktif içeren numunelerde oluşmaktadır. 13-93B3 katkılı PCL numunelerinde SBF içerisindeki 7 günden itibaren P-O bükülme titreşimi görülmektedir (Şekil 4.25.). Diğer taraftan 45S5 toz içeren PCL numunelerinde 30 günden sonra P-O bükme titreşimi tespit edilmiştir. Borat bazlı 13-93B3 biyoaktif camların, düşük dayanıklılıklarından ötürü silikat bazlı

eşdeğerlerine kıyasla HA'ya önemli ölçüde daha hızlı dönüştüğü ve SBF içerisindeki silikat bazlı 45S5'in tepkime hızının borat bazlı 13-93B3'e göre daha yavaş olduğu bilinmektedir [2]. Bununla birlikte, sol-jel türevli iri taneli 45S5 cam tozlarında gözlenen kristalli oluşum aynı zamanda HA'ya dönüşüm oranını da etkileyebilir. 45S5 sol-jel bileşimindeki nitratların yok olabilmesi için yüksek sıcaklığa ulaşması gerekmektedir. Bununla birlikte, cam kalsinasyon sırasında 700 °C'de ağırlıklı olarak birleşik kristalimsi faz oluşturur. Devitrifikasyon işlemi, 45S5 camının, HA üzerinde çökeltilebilir oluşuma kabiliyetini engellememesine rağmen, HA'ya dönüşüm oranını azaltma etkisine sahiptir [2, 131].

Çalışmada, 13-93B3 borat bazlı biyoaktif cam içeren numunelerin P-O bükülme piklerindeki daha yüksek yoğunluk, daha hızlı bir HA oluşum hızı olduğunu göstermektedir. Borat bazlı biyoaktif camın HA benzeri materyale dönüştürülmesinin, 45S5 cam için tarif edilene benzer bir işlemi takip ettiği, ancak SiO₂ bakımından zengin bir tabaka oluşumu olmadığı bilinmektedir [53]. Diğer taraftan, SBF içerisinde 15 ve 30 gün bekletilmiş HA içeren PCL lifleri için, kalsiyum fosfat pikinde bir genişleme gözlenmiş ve 1721 cm⁻¹ dalga boyunda karakteristik karbonil pikinin yoğunluğunu aşmıştır. SBF içindeki süre, kalsiyum fosfat oluşumunu gösteren PO₃⁻⁴ 'e atfedilen, 1020 cm⁻¹ civarındaki pikin yoğunluğunda aşamalı bir artış olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, SBF'de beklemiş katkısız PCL örnekleri için spektrum zamanın bir fonksiyonu olarak büyük ölçüde değişmeden kalmıştır. Genel olarak, PCL kompozit lifsi skafoldların *in vitro* biyoaktivitesinin, biyoaktif cam lif ve tozlar ile HA tozların polimerik matrise dahil edilmesi ile arttığı gözlenmiştir. *In vitro* biyomimetik mineralizasyon çalışmalarının sonuçlarına dayanarak, çalışmada hazırlanan kompozit lifsi skafoldların yüksek HA oluşturma kabiliyetleri nedeniyle kemik doku mühendisliğindeki uygulamalarda kullanılabileceği sonucuna varmak mümkündür.



Şekil 4.24. PCL bazlı lifsi skafoldların SBF’de bekletilmeden önce ve 7 gün, 15 gün ve 30 gün bekletildikten sonraki FTIR-ATR spektrumları.



Şekil 4.25. Biyoaktif cam ve HA katkılı PCL lifsi skafoldların 7, 15 ve 30 gün SBF’de bekletilmiş hallerinin FTIR-ATR spektrumları a)PCL-HA; (b) PCL-45S5(T); (c) PCL-13-93B3;(d) PCL-13-93(T);(e) PCL-45S5 (T); (f) PCL-13-93(L); (g) PCL-45S5(L) .

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Proje kapsamında biyoaktif cam lif ve tozlar ile HA toz içeren PCL kompozit skafoldlar, elektroğirme yöntemiyle üretilmiştir. Öncelikle optimum konsantrasyona karar vermek için ağırlıkça %8, %10, %2 ve %14 PCL-aseton çözeltilerden elektroğirme işlemi ile PCL lifsi skafoldlar elde edilmiştir. Oda sıcaklığında kurutulan PCL lifsi skafoldların SEM mikrografları baz alınarak fiziksel özellikleri incelenmiş ve lif çapı boyutları hesaplanmıştır. Diğer konsantrasyondakilerle karşılaştırıldığında %10 PCL solüsyonları ile üretilen lifsi skafoldlardaki lif çapı dağılım aralığının daha dar ve morfolojilerinin daha düzgün olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca yapılan viskozite ölçümleri, %10'luk konsantrasyonun karmaşıklık konsantrasyonundan düşük olduğu için elektroğirme esnasında düzenli ve boncuksuz lif elde edilebildiğini göstermiştir. Bu sebeplerden ötürü optimum konsantrasyon olarak %10'luk PCL konsantrasyonu seçilmiştir.

Katkı maddesi olarak kullanılan 45S5 toz sol-jel tekniğiyle, 13-93 ve 13-93B3 biyoaktif cam tozları ergitme yöntemiyle başka bir proje kapsamında hazırlanmış ve 13-93 ve 45S5 lifler elektroğirme yöntemiyle bu proje kapsamında üretilmiştir. Biyoaktif cam toz ve liflere yapılan XRD analizi sonucu, 45S5 toz ve liflere ait diyagramlarda NaNO_3 kristal fazlara ait piklerin olduğu görülmektedir. Bu durum $700\text{ }^\circ\text{C}$ 'de yapılan kalsinasyon işleminin nitratları yapıdan tamamen uzaklaştıramadığını kanıtlamaktadır. Analiz sonuçları baz alınarak 45S5 toz ve lifin kristal yapıda; 13-93 toz, lif ve 13-93B3 tozun amorf yapıda olduğu görülmüştür. Hazırlanan ağırlıkça %10 katkılı biyoaktif cam lif ve toz ile HA katkılı fibröz PCL kompozit skafoldların fiziksel özellikleri ve biyoaktivitesi incelenmiştir. Üretilen skafoldların lif çaplarında hem toz hem de lif katkılı olanlarda katkısız PCL lifsi skafolda göre artış olduğu gözlenmiştir. Sıvı emme kapasiteleri sonuçlarına göre 45S5 lif ve toz içeren PCL kompozit skafoldların sıvı emme kapasiteleri %100'ün üzerinde çıkmıştır. 45S5 biyoaktif cam tozu içeren skafoldların diğer örneklerle kıyasla yüksek sıvı emme kapasitesinin olması sol-jel prosesinin yüksek yüzey alanlı ve yüksek gözenekli camlar ürettiğini kanıtlamaktadır. Diğer taraftan 13-93B3 içeren skafoldun sıvı emme kapasitesinin düşük olmasından dolayı borat bazlı biyoaktif cam içeren PCL kompozit skafoldların daha hidrofobik olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca PCL lifsi kompozit skafoldların gözeneklilik ve temas açısı değerleri 13-93

B3 içeren skafoldun gözenekliliğinin kısmen düşük olması varılan sonucu desteklemektedir. Temas açısı sonuçları baz alındığında, biyoaktif cam ve HA'nın hidrofilik malzemeler olmasına rağmen bu katkı maddelerini içeren PCL skafoldların sıvıyla temas açılarında azalma görülmemesinin; kompozit skafoldların lifsi yapısı ve yüksek gözenekliliğiyle birlikte katkı maddelerinin konsantrasyonunun hidrofobiteyi azaltacak kadar yeterli gelmemesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. PBS'de 30 gün bekleyen katkılı ve katkısız PCL kompozit skafoldların kütle kaybı sonuçları katkı malzemesi olan biyoaktif cam toz ve liflerin her ikisinin de yüksek yüzey reaktiviteleri nedeniyle çözünmeyi hızlandırdığını göstermiştir. Ek olarak, SBF çözeltisinde bekletilen (15 ve 30 gün) tüm katkılı örneklerde iyon salınımları zamana bağlı olarak artış göstermiştir. Diğer taraftan SBF çözeltisindeki silisyum, kalsiyum ve fosfor iyon salınımlarına bakıldığında 13-93 toz katkılı skafoldların salınım miktarlarının 13-93 lif katkılı örneklere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. 45S5 toz ve lif için ise aynı durum söz konusu değildir. Bu farklılıklar, muhtemelen katkı maddelerinin boyutsal ve morfolojik özelliklerinin yanı sıra yüzey reaktivitesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca PCL matrisi içindeki lif ve tozların dağılımının salınım oranlarını etkileyebileceği düşünülmektedir. AFM analiz sonuçlarına bakıldığında, PCL'a katkı maddelerinin ilavesinin pürüzlülüğü arttırdığı görülmüştür. Diğer katkılı numunelere kıyasla SBF içinde bekletilen 13-93B3 biyoaktif cam tozu katkılı örneğin pürüzlülüğünün yüksek olmasının SBF içinde yüksek biyoaktif tepki vermesinden dolayı HA tabakası oluşmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. SEM mikrografları incelendiğinde, 7 gün SBF'de bekletilen örneklerden özellikle HA toz , 45S5 biyoaktif cam toz ve borat-bazlı 13-93B3 katkılı PCL kompozit liflerin üzerindeki yeni oluşumların amorf kalsiyum fosfat veya hidroksiapatit birikimi olduğu düşünülmektedir. FTIR ve SEM analizlerine göre, SBF içerisinde bekletilme sürelerine bağlı olarak numunelerin HA oluşturma kabiliyetlerinde artış gözlemlenmiştir. FTIR sonuçları ile 13-93 B3 borat camı içeren numunelerin P-O bükülme piklerindeki daha yüksek yoğunluk, daha hızlı bir HA oluşum hızı gösterdiği onaylanmıştır. Morfolojik ve yapısal analizler sonucunda, amorf yapıdaki 13-93B3 biyoaktif cam toz katkılı kompozit skafoldların mineralizasyon kabiliyetinin kristal yapıdaki 45S5 biyoaktif cam toz katkılı skafolda göre daha iyi olduğu görülmüştür. Buna göre, biyoaktif cam toz ve liflerin farklı üretim yöntemlerinin biyoaktiviteyi etkileyebileceği sonucuna varılabilir. Diğer taraftan çalışmada kullanılan liflerin tozlara göre yüksek yüzey alanları sayesinde

organik matrisle yeterince etkileşime girebileceği ve SBF gibi fizyolojik ortamlarda verimli şekilde reaksiyona girebileceği düşünülse de topaklanmalardan ötürü PCL matrisindeki dağılım olumsuz şekilde etkilenmiştir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde hazırlanan PCL kompozit lifsi skafollarin kemik doku mühendisliği uygulamalarında yer bulabileceği ortaya konmaktadır. Üretilen skafoldların porozitelerinin yüksek oluşu sayesinde toplam yüzey alanı arttığı için hücre proliferasyonu doğrudan etkilenmektedir. Diğer taraftan sonuçlar, borat bazlı 13-93B3 biyoaktif cam katkılı PCL skafoldların hidrofobik amorf yapısının hasarlı doku bölgesine doğrudan yapışmasını engelleyeceği ve iyon salınımına imkân tanıyacağı için yara örtüsü uygulamalarında kullanılma potansiyeli olduğunu göstermektedir. Proje kapsamında hazırlanan fibröz skafoldların silika-bazlı biyoaktif cam ve HA katkılı olanların osteoblast hücreleri ve bor bazlı 13-93B3 biyoaktif cam tozu katkılı olanların keratisonit hücreleri kullanılarak *in vitro* biyouyumluluk testlerinin yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca hücre tutunması ve proliferasyonun incelenmesinin ardından olumlu sonuçlar alınması durumunda, ilaç yüklü skafoldların yara iyileşmesindeki etkilerinin *in vivo* çalışmayla test edilmesi faydalı olacaktır. Hazırlanan kompozit fibröz skafoldların mekanik özelliklerinin (çekme gerilmesi) test edilmesi kullanım alanlarının belirlenmesinde etkili olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Akça Can, C., Duran, D. “Doku mühendisliği uygulamalarında tekstil materyal ve teknolojilerinin kullanımı”, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, cilt 3, sayı 1, ss. 77–86, 2009.
- [2] Rahaman, M., Day, D., Bal, S., Fu, Q., Jung, S., Bonewald, L., Tomsia, A. “Bioactive glass in tissue engineering”, *Acta Biomaterialia*, cilt 7, sayı 6, ss. 2355–2373, 2011.
- [3] Allo, B. A., Rizkalla, A. S. and Mequanint, K. “Synthesis and Electrospinning of ϵ -Polycaprolactone-Bioactive Glass Hybrid Biomaterials via a Sol - Gel Process”, *Journal of American Chemical Society*, cilt 26, sayı 13, ss. 18340–18348, 2010.
- [4] Gantar, A., Silva, L., Oliveria, J., Marques A., Correlo, V., Novak, S., Reis, R. “Nanoparticulate bioactive-glass-reinforced gellan-gum hydrogels for bone-tissue engineering”, *Material Science and Engineering C*, cilt 43, ss. 27–36, 2014.
- [5] Lannutti, J., Reneker, D., Ma, T., Tomasko, D., Farson, D. “Electrospinning for tissue engineering scaffolds”, *Material Science and Engineering C*, cilt 27, sayı 3, ss. 504–509, 2007.
- [6] Liu, H., Ding, X., Zhou, G., Li, P., Wei, X., Fan, Y. “Electrospinning of Nanofibers for Tissue Engineering Applications” *Journal of Nanomaterials*, cilt 2013, ss. 1–11, 2013.
- [7] Li, W.J., Mauck, R. L., Tuan, R. S. “Electrospun nanofibrous scaffolds: production, characterization, and applications for tissue engineering and drug delivery”, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, cilt 1, sayı 3, ss. 259–275, 2006.
- [8] Eriskin, C., Kalyon, D. M., Wang, H. “Functionally graded electrospun polycaprolactone and β -tricalcium phosphate nanocomposites for tissue engineering applications”, *Biomaterials*, cilt 29, sayı 30, ss. 4065–4073, 2008.
- [9] Jones, J. R. “Review of bioactive glass: From Hench to hybrids”, *Acta Biomaterialia*, cilt 9, sayı 1, ss. 4457–4486, 2013.
- [10] Teo, W., Inai, R., Ramakrishna, S. “Technological advances in electrospinning of nanofibers”, *Science and Technology of Advanced Materials*, cilt 12, 2011.
- [11] Putti, M., Simonet, M., Solberg, R., Peters, M. “Electrospinning poly (ϵ -caprolactone) under controlled environmental conditions : In fl uence on fi ber morphology and orientation”, *Polymer (Guildf)*, cilt 63, ss. 189–195, 2015.
- [12] Zeimaran, E., Pourshahrestani, S., Djordjevic, I., Pingguan-Murphy, B., Kadri, N. A., Towler, M. R. “Bioactive glass reinforced elastomer composites for skeletal regeneration: A review”, *Material Science and Engineering C*, cilt 53, ss. 175–188, 2015.
- [13] Kouhi, M., Morshed, M., Varshosaz, J., Fathi, M. H. “Poly (ϵ -caprolactone)

- incorporated bioactive glass nanoparticles and simvastatin nanocomposite nanofibers: Preparation, characterization and in vitro drug release for bone regeneration applications”, *Chemical Engineering Journal*, cilt 228, ss. 1057-1065, 2013.
- [14] Fabbri, P., Cannillo, V., Sola, A., Dorigato, A., Chiellini, F. “Highly porous polycaprolactone-45S5 Bioglass® scaffolds for bone tissue engineering”, *Composites Science and Technology*, cilt 70, sayı 13, ss. 1869–1878, 2010.
- [15] Kim, H. W., Knowles, J. C., Kim, H. E. “Effect of biphasic calcium phosphates on drug release and biological and mechanical properties of poly(ϵ -caprolactone) composite membranes”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, cilt 70, sayı 3, ss. 467–479, 2004.
- [16] Stanley, H. R., Hall, M. B., Clark, A. E. “Using 45S5 bioglass cones as endosseous ridge maintenance implants to prevent alveolar ridge resorption: a 5-year evaluation”, *The International Journal of Oral&Maxillofacial Implants*, cilt 12, ss. 95–105, 1997.
- [17] Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., Greenlee, T. K. “Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials”, *Journal of Biomedical Materials Research*, cilt 5, sayı 6, ss. 117–141, 1971.
- [18] Kaur, G., Pandey, O. P., Singh, K., Homa, D., Scott, B., Pickrell, G. “A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, cilt 102, sayı 1, ss. 254–274, 2014.
- [19] Brink, M., Turunen, T., Happonen, R. P., Yli-Urpo, A. “Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system $\text{Na}_2\text{O}-\text{K}_2\text{O}-\text{MgO}-\text{CaO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$ ”, *Journal of Biomedical Materials Research*, cilt 37, sayı 1, ss. 114–121, 1997.
- [20] Liang, W., Rahaman, M. N., Day, D. E., Marion, N. W., Riley, G. C., Mao, J. “Bioactive borate glass scaffold for bone tissue engineering”, *J Non-Cryst Solids*, cilt 354, sayı 16, ss. 1690–1696, 2008.
- [21] Boccaccini, A. R., Erol, M., Stark, W. J., Mohn, D., Hong, Z., Mano, J. F. “Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications: A review”, *Composites Science and Technology*, cilt 70, sayı 13, ss. 1764–1776, 2010.
- [22] Dziadek, M., Menaszek, E., Zagrajczuk, B., Pawlik, J., Cholewa-Kowalska, K. “New generation poly(ϵ -caprolactone)/gel-derived bioactive glass composites for bone tissue engineering: Part I. Material properties”, *Material Science and Engineering C*, cilt 56, ss. 9–21, 2015.
- [23] Lin, H. M., Lin, Y. H., Hsu, F. Y. “Preparation and characterization of mesoporous bioactive glass/ polycaprolactone nanofibrous matrix for bone tissues engineering”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, cilt 23, sayı 11, ss. 2619–2630, 2012.
- [24] Lepry, W. C., Smith, S., Liverani, L., Boccaccini, A. R., Nazhat, S. N.

- “Acellular Bioactivity of Sol-Gel Derived Borate Glass-Polycaprolactone Electrospun Scaffolds”, *Biomedical Glasses*, cilt 2, sayı 1, ss. 88–98, 2016.
- [25] Liverani, L., Boccardi, E., Beltran, A. M., Boccaccini, A. R. “Incorporation of calcium containing mesoporous (MCM-41-type) particles in electrospun PCL fibers by using benign solvents”, *Polymers (Basel)*, cilt 9, sayı 10, ss. 1–16, 2017.
- [26] Gümüşderelioğlu, M. “Doku Mühendisliği ve Ürünleri,” *Bilim Teknik Dergisi*, Kasım 2010, s. 71, 2010.
- [27] Chaudhari, A. A., Vig, K., Baganizi, D., Sahu, R., Dixit, S., Dennis, V., Singh, S., Pillai, S. “Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review”, *International Journal of Molecular Science*, cilt 17, sayı 12, 2016.
- [28] Holzapfel, B. M., Reichert, J., Schantz, J.-T., Gbureck, U., Rackwitz, L., Nöth, U., Jakob, F., Rudert, M., Groll, J., Hutmacher, D. “How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, cilt 65, sayı 4, ss. 581–603, 2013.
- [29] Aguirre-chagala, Y. E., Altuzar, V., León-sarabia, E., Tinoco-magaña, J. C., Yañez-limón, J. M., Mendoza-barrera, C. “Physicochemical properties of polycaprolactone/collagen /elastin nano fi bers fabricated by electrospinning”, *Material Science and Engineering C*, cilt 76, ss. 897–907, 2017.
- [30] Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W. “The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century”, *Progress in Polymer Science*, cilt 35, sayı 10, ss. 1217–1256, 2010.
- [31] Hynes, R. O. “The Extracellular Matrix: Not Just Pretty Fibrils”, *Science*, cilt November, s. 80, 2009.
- [32] Cao, Y., Croll, T., Lees, J. G., Tuch, B. E., Cooper-White, J. “Scaffolds, stem cells, and tissue engineering: A potent combination!”, *Australian Journal of Chemistry*, cilt 10, ss. 691–703, 2005.
- [33] Edgar, L., McNamara, K., Wong, T., Tamburrini, R., Katari, R., Orlando, G. “Heterogeneity of scaffold biomaterials in tissue engineering”, *Materials (Basel)*, cilt 9, sayı 5, 2016.
- [34] Chen, F. M., Liu, X. “Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering”, *Progress in Polymer Science*, cilt 53, ss. 86–168, 2016.
- [35] Başar, H. M. “Organik Kökenli Doğal Adsorbanlarla Kontrollü İlaç Salınımı”, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilimdalı, İstanbul, 191 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2006.
- [36] Akdemir, Z. S. “Doku Mühendisliğinde Kullanılacak Yeni Polimerik Biyomalzemelerin Geliştirilmesi ” Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı, İstanbul, 128 s. (Doktora Tezi), 2009.

- [37] Oyar, P. “Osseointegrasyon Ve Kemik Rejenerasyonunda Kemik Doku Mühendisliğinin Yeri”, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, cilt 15, ss. 87–95, 2016.
- [38] Ji, Y., Liang, K., Shen, X., Bowlin, G. L. “Electrospinning and characterization of chitin nanofibril / polycaprolactone nanocomposite fiber mats”, Carbohydrate Polymers, cilt 101, ss. 68–74, 2014.
- [39] Yao, Q., Noeaid, P., Roether, J. A., Dong, Y., Zhang, Q., Boccaccini, A. R. “Bioglass®-based scaffolds incorporating polycaprolactone and chitosan coatings for controlled vancomycin delivery”, Ceramics International, cilt 39, sayı 7, ss. 7517–7522, 2013.
- [40] Özsağiroğlu, E. “Enzimatik Polimerizasyon ile Sentezlenen Polikaprolaktona Reaksiyon Koşullarının Etkisinin ve Polikaprolaktunun Biyobozunurluğunun İncelenmesi,” İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilimdalı, İstanbul, 112 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2011.
- [41] Gerçek Beşkardeş, I. “Biyoseramik Ve Biyosinyal Moleküllerle Desteklenmiş Poli(Kaprolakton) Doku İskeleleri: Sentez, Karakterizasyon ve Kemik Doku Mühendisliği Uygulamaları,” Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilimdalı, Ankara, 132 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2008.
- [42] Kostakova, E. K., Meszaros, L., Maskova, G., Blazkova, L., Turcsan, T. Lukas, D. “Crystallinity of electrospun and centrifugal spun polycaprolactone fibers : A comparative study”, Journal of Nanomaterials, cilt 2017, p.9, 2017.
- [43] Best, S. M., Porter, A. E., Thian, E. S., Huang, J. “Bioceramics: Past, present and for the future ”, Journal of the European Ceramic Society, cilt 28, sayı 7, ss. 1319–1327, 2008.
- [44] Vallet-Regí, M. “Evolution of bioceramics within the field of biomaterials”, Comptes Rendus Chimie, cilt 13, sayı 1–2, ss. 174–185, 2010.
- [45] Kükürtçü, B. “Biyoaktif Cam Ve Cam-Seramik Malzemelerin Üretimi Ve Yapay Vücut Sıvısı İçerisindeki Davranımlarının İncelenmesi” İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilimdalı, İstanbul, 107 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2008.
- [46] Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., Boccaccini, A. R. “Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering”, Biomaterials, cilt 27, sayı 18, ss. 3413–3431, 2006.
- [47] Hench, L. L., Roki, N., Fenn, M. B. “Bioactive glasses: Importance of structure and properties in bone regeneration”, Journal of Molecular Structure, cilt 1073, ss. 24–30, 2014.
- [48] Kokubo, T., Kushitani, H., Sakka, S., Kitsugi, T., Yamamum, T. “Surface-Structure Changes in Bioactive”, Biomedical Materials, cilt 24, ss. 721–734, 1990.

- [49] Sepulveda, P., Jones, J. R., Hench, L. L. "Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses", *Journal of Biomedical Materials Research*, ss. 564–569, 2001.
- [50] Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D. K., Hench, L. L., Polak, J. M. "Gene expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass (R) 45S5 dissolution", *Journal of Biomedical Materials Research*, cilt 55, sayı 2, ss. 151–158, 2001.
- [51] Hench, L. L., Greenspan, D. "Interactions between bioactive glass and collagen: a review and new perspectives", *Journal of Australian Ceramic Society*, cilt 49, ss. 1–40, 2013.
- [52] Bi, L., Jung, S., Day, D. "Evaluation of bone regeneration, angiogenesis, and hydroxyapatite conversion in critical-sized rat calvarial defects implanted with bioactive glass scaffolds", *Journal of Biomedical Materials Research -Part A*, cilt 12, ss. 3267–3275, 2012.
- [53] Liu, X., Rahaman, M. N., Day, D. E. "Conversion of melt-derived microfibrillar borate (13-93B3) and silicate (45S5) bioactive glass in a simulated body fluid", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, cilt 24, sayı 3, ss. 583–595, 2013.
- [54] L. Sedel and C. Rey, *Bioceramics*, Pergamon, Paris. cilt 10(Ekim), p. 639, 1997.
- [55] Tiwari, S. K., Venkatraman, S. S. "Importance of viscosity parameters in electrospinning: Of monolithic and core-shell fibers", *Material Science and Engineering C*, cilt 32, sayı 5, ss. 1037–1042, 2012.
- [56] Serra, J., Liste, S., Chiussi, S., Le, B., Mart, J. "New biomorphic SiC ceramics coated with bioactive glass for biomedical applications", *Biomaterials*, cilt 24, ss. 4827–4832, 2003.
- [57] Vichery, C., Nedelec, J. M. "Bioactive glass nanoparticles: From synthesis to materials design for biomedical applications", *Materials (Basel)*, cilt 9, sayı 4, 2016.
- [58] Ş. Toygun, G. Köneçoğlu, and Y. Kalpaklı, "General Principles of Sol-Gel", *Journal of Engineering and Natural Science*, cilt 31, ss. 456–461, 2013.
- [59] Konukoğlu, Z. A. "Pirinç Kabuğu Kökenli Silika İçerikli MgO, SrO Ve Al₂O₃ İlaveli 45S5 Biyoaktif Cam Üretimi Ve Karakterizasyonu," Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İstanbul, 107 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2013.
- [60] Martins, T., Oliveira, A. R., Oliveira, A. C., Boaventura, T. P., Barrioni, B., Junior, E., Pereira, M. M. "Novel 3D composites with highly flexible behavior based on chitosan and bioactive glass for biomedical applications", *Materials Chemistry and Physics*, cilt 189, ss. 1–11, 2017.
- [61] Guo, W., Zhao, F., Wang, Y., Tang, J., Chen, X. "Characterization of the mechanical behaviors and bioactivity of tetrapod ZnO whiskers reinforced bioactive glass/gelatin composite scaffolds", *Journal of the Mechanical*

Behaviour of Biomedical Materials, cilt 68, ss. 8–15, 2017.

- [62] Gönen, S. Ö., Erol Taygun, M., Küçükbayrak, S. “Fabrication of bioactive glass containing nanocomposite fiber mats for bone tissue engineering applications”, *Composite Structure*, cilt 138, ss. 96–106, 2016.
- [63] Dziadek, M., Dziadek, K., Zagrajczuk, B., Menaszek, E., Cholewa-Kowalska, K. “Poly(ϵ -caprolactone)/bioactive glass composites enriched with polyphenols extracted from sage (*Salvia officinalis* L.)”, *Materials Letters*, cilt 183, ss. 386–390, 2016.
- [64] Mohammadkhah, A., Marquardt, L. M., Sakiyama-Elbert, S. E., Day, D. E., Harkins, A. B. “Fabrication and characterization of poly-(ϵ)-caprolactone and bioactive glass composites for tissue engineering applications”, *Material Science and Engineering C*, cilt 49, ss. 632–639, 2015.
- [65] Ji, L, Wang, W., Jin, D., Zhou, S., Song, X. “In vitro bioactivity and mechanical properties of bioactive glass nanoparticles/polycaprolactone composites”, *Material Science and Engineering C*, cilt 46, ss. 1–9, 2015.
- [66] Tamjid, E., Bagheri, R., Vossoughi, M., Simchi, A. “Effect of particle size on the in vitro bioactivity, hydrophilicity and mechanical properties of bioactive glass-reinforced polycaprolactone composites”, *Material Science and Engineering C*, cilt 31, sayı 7, ss. 1526–1533, 2011.
- [67] Roohani-Esfahani, S. I., Nouri-Khorasani, S., Lu, Z. F., Appleyard, R. C., Zreiqat, H. “Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds”, *Acta Biomaterialia*, cilt 7, sayı 3, ss. 1307–1318, 2011.
- [68] Karahaliloğlu, Z. “Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji” *Nanobülten Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, sayı Mayıs, ss. 46–51, 2011.
- [69] Beachley, V. Wen, X. “Effect of electrospinning parameters on the nano fiber diameter and length”, *Material Science and Engineering C*, cilt 29, sayı 3, ss. 663–668, 2009.
- [70] Kiyak, E. Y., Cakmak, E. “Nanofiber Production Methods”, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, cilt 8, sayı 83, ss. 49–60, 2014.
- [71] S. Çakmak, “Polimerik Nanofiber Üretim Yöntemleri,” *Nanobülten Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, sayı Mayıs, ss. 22–45, 2011.
- [72] Xing, X., Wang, Y., Li, B. “Nanofiber drawing and nanodevice assembly in poly(trimethylene terephthalate)”, *The Optical Society, Optics Express*, cilt 16, sayı 14, ss. 10815–10822, 2008.
- [73] Ko, F. K., Wan, Y. “Introduction to Nanofiber Materials”, *Cambridge University Press*, 2014.
- [74] Xing, X., Yu, H., Zhu, D., Zheng, J., Chen, H., Chen, W., Cai, J. “Subwavelength and Nanometer Diameter Optical Polymer Fibers as Building Blocks for Miniaturized Photonics Integration”, *Intech, Optical Communication*, sayı 12, ss. 289–320, 2012.

- [75] Liao, H., Lin, J., Liu, Y., Huang, P., Jin, A., Chen, X. "Self-assembly mechanisms of nanofibers from peptide amphiphiles in solution and on substrate surfaces", *Nanoscale*, cilt 8, ss. 14814–14820, 2016.
- [76] Gorantla, M., Boone, S. E., Young, D. "Continuous polymer nanofibers by extrusion into a viscous medium: A modified wet-spinning technique Continuous polymer nanofibers by extrusion into a viscous medium: A modified wet-spinning technique", *Applied Physics Letters*, cilt 073115, ss. 5–8, 2006.
- [77] Deliormanlı, A. M. "Preparation and in vitro characterization of electrospun 45S5 bioactive glass nanofibers," *Ceramics International*, cilt 41, sayı 1, ss. 417–425, 2015.
- [78] Valizadeh, A., Farkhani, S. M., "Electrospinning and electrospun nanofibres", *IET Nanobiotechnology*, cilt 8, sayı 2, ss. 83–92, 2014.
- [79] Uslu, İ., Keleşoğlu, A. "Elektroçirime yöntemi bor katkılı alüminyum asetat nanolif malzemelerin eldesi", *TÜBAV Bilim Dergisi*, cilt 2, sayı 3, ss. 266–270, 2009.
- [80] Bhardwaj, N., Kundu, S. C. "Electrospinning : A fascinating fiber fabrication technique", *Biotechnology Advances*, cilt 28, ss. 325–347, 2010.
- [81] Kim, B. H., Kim, H., Knowles, J. C. "Production and Potential of Bioactive Glass Nanofibers as a Next-Generation Biomaterial **", *Advanced Functional Materials*, cilt 16, ss. 1529–1535, 2006.
- [82] Xia, W., Zhang, D., Chang, J. "Fabrication and in vitro biomineralization of bioactive glass (BG) nanofibres", *Nanotechnology*, cilt 18, ss. 7, 2007.
- [83] Haider, A., Haider, S., Kang, I. "A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology", *Arabian Journal of Chemistry*, cilt 11, sayı 8, ss. 1165-1188, 2018.
- [84] Sill, T. J., Von Recum, H. A. "Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering", *Biomaterials*, cilt 29, ss. 1989-2006, 2008.
- [85] Thompson, C. J., Chase, G. G., Yarin, A. L., Reneker, D. H. "Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model", *Polymer*, cilt 48, sayı 23, ss. 6913–6922, 2007.
- [86] Aragon, J., Navascues, N., Mendoza, G., Irusta, S. "Laser-treated electrospun fibers loaded with nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering", *International Journal of Pharmaceutics*, cilt 525, sayı 1, ss. 112–122, 2017.
- [87] Kharaziha, M., Fathi, M. H., Edris, H. "Effects of surface modification on the mechanical and structural properties of nanofibrous poly(ϵ -caprolactone)/forsterite scaffold for tissue engineering applications", *Material Science and Engineering C*, cilt 33, sayı 8, ss. 4512–4519, 2013.
- [88] Ding, Y., Li, W., Müller, T., Schubert, W., Boccaccini, A. R., Yao, Q.,

- Roether, J. “Electrospun polyhydroxybutyrate/poly(ϵ -caprolactone)/58S sol-gel bioactive glass hybrid scaffolds with highly improved osteogenic potential for bone tissue engineering”, *ACS Applied Materials and Interfaces*, cilt 8, sayı 27, ss. 17098–17108, 2016.
- [89] Deliormanlı, A. M. “Preparation, in vitro mineralization and osteoblast cell response of electrospun 13-93 bioactive glass nanofibers”, *Material Science and Engineering C*, cilt 53, ss. 262–271, 2015.
- [90] Malgır, E. “Lazer kırınım yöntemiyle tane büyüklüğü dağılımının hesaplanmasında fraunhofer ve mie kuramı”, *Boyatürk*, 2011.
- [91] Türk, M., Deliormanlı, A. M. “Electrically conductive borate-based bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering applications”, *Journal of Biomaterials Applications*, cilt 32, sayı 1, ss. 28–39, 2017.
- [92] Başığit Kılıç, G., Karahan A. “Fourier dönüşümlü kızılötesi (ftır) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması”, *Gıda*, cilt 35(6), ss. 445–452, 2010.
- [93] Faure, J., Drevet, R., Lemelle, A., Jaber, N., Btaouri, H., Benhayoune, H. “A new sol-gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst”, *Material Science and Engineering C*, cilt 47, ss. 407–412, 2015.
- [94] Çelebi, N. “Modern Farmasötik Teknoloji, Reoloji”, *Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını*, 2009, ss. 391–405.
- [95] Faghihnejad, A., Zeng, H. “Interaction mechanism between hydrophobic and hydrophilic surfaces: Using polystyrene and mica as a model system”, *Journal of American Chemical Society*, cilt 29, sayı 40, ss. 12443–12451, 2013.
- [96] Badami, A. S., Kreke, M. R., Thompson, M. S., Riffle, J. S., Goldstein, A. S. “Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly(lactic acid) substrates”, *Biomaterials*, cilt 27, sayı 4, ss. 596–606, 2006.
- [97] Price, R. L., Waid, M. C., Haberstroh, K. M., Webster, T. J. “Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers”, *Biomaterials*, cilt 24, ss. 1877–1887, 2003.
- [98] Jin, H., Chen, J., Karageorgiou, V., Altman, G. H., Kaplan, D. L. “Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats”, *Biomaterials*, cilt 25, ss. 1039–1047, 2004.
- [99] Luu, Y. K., Kim, K., Hsiao, B. S., Chu, B., Hadjiargyrou, M. “Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA – PEG block copolymers”, *Journal of Controlled Release*, cilt 89, ss. 341–353, 2003.
- [100] Salerno, A., Di Maio, E., Iannace, S. Netti, P. “Tailoring the pore structure of PCL scaffolds for tissue engineering prepared via gas foaming of multi-phase blends”, *Journal of Porous Materials*, ss. 19–181, 2012.
- [101] Hollister, S. J. “Porous scaffold design for tissue engineering”, *Natural*

Materials, cilt 4, s. 518, 2005.

- [102] Karageorgiou, V., Kaplan, D. “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis”, *Biomaterials*, cilt 26, s. 5474, 2005.
- [103] Zhu, X., Cui, W., Li, X., Jin, Y. “Electrospun Fibrous Mats with High Porosity as Potential Scaffolds”, *Biomacromolecules*, cilt 9, ss. 1795–1801, 2008.
- [104] Notingher, I., Jones, J. R., Verrier, S., Bisson, I., Embanga, P., Edwards, P., Polak, J.M., Hench, L. L. “Application of FTIR and Raman Spectroscopy to Characterisation of Bioactive Materials and Living Cells”, *Spectroscopy*, cilt 17, sayı 2–3, ss. 275–288, 2012.
- [105] Chutipakdeevong, J., Ruktanonchai, U., Supapholl, P. “Hybrid biomimetic electrospun fibrous mats derived from poly(ϵ -caprolactone) and silk fibroin protein for wound dressing application”, *Journal of Applied Polymer Science*, cilt 132, sayı 11, 2015.
- [106] Yohe, S. T., Freedman, J. D., Falde, E. J., Colson, Y. L., Grinstaff, M. W. “A mechanistic study of wetting superhydrophobic porous 3D meshes”, *Advanced Functional Materials*, cilt 23, sayı 29, ss. 3628–3637, 2013.
- [107] Meikandan, M., Malarmohan, K. “Fabrication of a superhydrophobic nanofibres by electrospinning”, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, cilt 12, sayı 1, ss. 11–17, 2017.
- [108] Li, S., Barber, A. H. “Creating superhydrophobic polycarbonate fiber network from hydrophilic polycarbonate through electrospinning”, *Journal of Materials Research*, cilt 1, 2012.
- [109] Hassan, M. I., Sultana, N. “Characterization, drug loading and antibacterial activity of nanohydroxyapatite/polycaprolactone (nHA/PCL) electrospun membrane”, *Biotechnology*, cilt 7, sayı 4, 2017.
- [110] Saeed, K., Park, S. Y., Lee, H. J., Baek, J. B., Huh, W. S. “Preparation of electrospun nanofibers of carbon nanotube/polycaprolactone nanocomposite”, *Polymer*, cilt 47, sayı 23, ss. 8019–8025, 2006.
- [111] Pereira, R. F., Bártolo, P. J. “Traditional Therapies for Skin Wound Healing”, *Advances in Wound Care*, cilt 5, sayı 5, ss. 208–229, 2016.
- [112] Miguez-Pacheco, V., Hench, L. L., Boccaccini, A. R. “Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues”, *Acta Biomaterialia*, cilt 13, ss. 1–15, 2015.
- [113] An, J., Chua, C. K., Leong, K. F., Chen, C. H., Chen, J. P. “Solvent-free fabrication of three dimensionally aligned polycaprolactone microfibers for engineering of anisotropic tissues”, *Biomedical Microdevices*, cilt 14, sayı 5, ss. 863–872, 2012.
- [114] Hong, Z., Reis, R. L., Mano, J. F. “Preparation and in vitro characterization of scaffolds of poly(l-lactic acid) containing bioactive glass ceramic nanoparticles”, *Acta Biomaterialia*, cilt 4, sayı 5, ss. 1297–1306, 2008.

- [115] Díaz, E., Sandonis, I., Valle, M. B. “In Vitro Degradation of Poly (caprolactone)/ nHA Composites”, *Journal of Nanomaterials*, s. 7, 2014.
- [116] Santocildes-Romero, M. E., Goodchild, R. L., Hatton, P. V. , Crawford, A., Reaney, I. M., Miller, C. A. “Preparation of Composite Electrospun Membranes Containing Strontium-Substituted Bioactive Glasses for Bone Tissue Regeneration”, *Macromolecular Materials and Engineering*, cilt 301, sayı 8, ss. 972–981, 2016.
- [117] Vollenweider, M., Brunner, T., Knecht, S., Grass, R., Zehnder, M., Imfeld, T., Stark, W. “Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles,” *Acta Biomaterialia*, cilt 3, sayı 6, ss. 936–943, 2007.
- [118] Jo, J. H., Lee, E. J., Shin, D. S., Kim, H. W., Koh, Y. H., Jang, J. H. “In vitro/in vivo biocompatibility and mechanical properties of bioactive glass nanofiber and poly(ϵ -caprolactone) composite materials”, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, cilt 91, sayı 1, ss. 213–220, 2009.
- [119] Misra, S. K., Mohn, D., Brunner, T., Stark, W., Philip, S., Roy, I., Salih, V., Knowles, J., Boccaccini, A. R. “Comparison of nanoscale and microscale bioactive glass on the properties of P(3HB)/Bioglass® composites”, *Biomaterials*, cilt 29, sayı 12, ss. 1750–1761, 2008.
- [120] Fu, Q. Rahaman, M. N., Sonny Bal, B., Brown, R. F., Day, D. E. “Mechanical and in vitro performance of 13-93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique”, *Acta Biomaterialia*, cilt 4, sayı 6, ss. 1854–1864, 2008.
- [121] Coleman, M. M., Zarian, J. “Fourier-Transform Infrared Studies of Polymer Blends II. Polycaprolactone-Poly(vinyl Chloride) System”, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, cilt 17, ss. 837–850, 1979.
- [122] Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistac, S., Dumas, P. “FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces”, *Journal of Colloid Interface Science*, cilt 273, sayı 2, ss. 381–387, 2004.
- [123] Kister, G., Cassanas, G., Bergounhon, M., Hoarau, D., Vert, M. “Structural characterization and hydrolytic degradation of solid copolymers of d,l-lactide-co- ϵ -caprolactone by Raman spectroscopy”, *Polymer*, cilt 41(3), ss. 925–932, 2000.
- [124] Kumsar, F. “İki ve Çok Atomlu Moleküllerin Dönme-Titreşim Enerjilerinin Yaklaşım Yöntemleriyle İncelenmesi” Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Çorum, 97 s. (Yüksek Lisans Tezi), 2015.
- [125] Lu, H. H., Pollack, S. R., Ducheyne, P. “45S5 Bioactive glass surface charge variations and the formation of a surface calcium phosphate layer in a solution containing fibronectin”, *Journal of Biomedical Materials Research*, cilt 54, sayı 3, ss. 454–461, 2001.
- [126] De Oliveira, A. A. R., De Souza, D. A., Dias, L. L. S., De Carvalho, S. M., Mansur, H. S., De Magalhães Pereira, M. “Synthesis, characterization and

cytocompatibility of spherical bioactive glass nanoparticles for potential hard tissue engineering applications”, *Biomedical Materials*, cilt 8, sayı 2, 2013.

- [127] Huang, W., Day, D. E., Kittiratanapiboon, K., Rahaman, M. N. “Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, cilt 17, sayı 7, ss. 583–596, 2006.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Rabia KONYALI EKEN

Doğum Yeri ve Yılı : İzmir, 1990

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : rabiakonyali@ogr.cbu.edu.tr, rabiakonyali@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : İzmir Karşıya Atakent Anadolu Lisesi, 2008

Lisans : İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü , Kimya Mühendisliği Bölümü, 2014

Yüksek Lisans : Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mühendislik Bilimleri Anabilim Dalı, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü

Mesleki Deneyim

Devlet Hava Meydanları İşletmesi, Havacılık Bilgi Yönetimi Memuru 2017-....(halen)

Yayımları

SCI-Expanded Kapsamında Taranan Dergilerdeki Makaleler

1. Konyalı, R., Deliormanlı, A. M. “Preparation and Mineralization of Electrospun 13-93 Bioactive Glass incorporated Poly-Epsilon-Caprolactone Composite Nanofibrous Mats” *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 32(5) 690–709 (2019).
2. Deliormanlı, A. M., Konyalı, R. “Bioactive glass/hydroxyapatite- containing electrospun poly (ϵ -caprolactone) composite nanofibers for bone tissue engineering,” *Journal of the Australian Ceramic Society*, 55(1), 247-256 (2019).

Uluslararası Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler

1. Konyalı, R., Deliormanlı, A. M. “ Preparation and in vitro characterization of electrospun polycaprolactone/ 13-93 bioactive glass composite nanofibers” 16th *International Materials Symposium*, Denizli, Türkiye, 2016.
2. Konyalı, R., Deliormanlı, A. M. “ Fabrication and In vitro mineralization of electrospun polycaprolactone nanofibers containing hydroxyapatite and bioactive glass particles”, *International Materials Technologies and Metallurgy Conference*, İstanbul, 265-268, 2017.

