

**ELEKTRO ÇEKİM (ELEKTROSPİNNİNG)
YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN
POLİESTER NANOLİFLERİN MEDİKAL ALANDA
KULLANILABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şebnem DÜZYER



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELEKTRO ÇEKİM (ELEKTROSPİNNİNG)
YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN
POLİESTER NANOLİFLERİN MEDİKAL ALANDA
KULLANILABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şebnem DÜZYER

Prof.Dr. Aslı HOCKENBERGER
Danışman

DOKTORA TEZİ
TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2014
Her Hakkı Saklıdır.

TEZ ONAYI

Şebnem DÜZYER tarafından hazırlanan “**Elektro Çekim (Elektrospinning) Yöntemiyle Üretilen Poliester Nanoliflerin Medikal Alanda Kullanılabilirliklerinin Araştırılması**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof.Dr. Aslı HOCKENBERGER

Başkan : Prof.Dr. Ali KİREÇCİ

Üye : Prof.Dr. Aslı HOCKENBERGER

Üye : Prof.Dr. Esra KARACA

Üye : Prof.Dr. Agah UĞUZ

Üye : Prof.Dr. Telem GÖK SADIKOĞLU

İmza

İmza

İmza

İmza

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
...../...../.....

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumun da ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.



29/05/2014

İmza
Şebnem DÜZYER

ÖZET

Doktora Tezi

ELEKTRO ÇEKİM (ELEKTROSPİNNİNG) YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN POLİESTER NANOLİFLERİN MEDİKAL ALANDA KULLANILABİLİRLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şebnem DÜZYER

Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Aslı HOCKENBERGER

Bu çalışmanın amacı, biyolojik olarak bozunmayan polietilen tereftalat (PET) polimerinden elektro çekim yöntemi ile üretilen nanoliflerin medikal alanda kullanılabilirliklerinin incelenmesidir. Çalışma iki bölümden oluşmaktadır. Çalışmanın ilk bölümünde, elektro çekim yöntemi ile PET nanoliflerden oluşan yüzeylerin doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla, öncelikle elektro çekim sistemine etki eden parametreler ve bu parametrelerin nanoliflerin inceliği üzerine etkisi belirlenmiş ve farklı konsantrasyon, besleme oranı ve sarım hızlarında nanolifli yüzeyler üretilmiştir. Üretilen yüzeylerin yüzey karakterizasyonu, taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), yüzey gözenekliliği analizleri ve temas açısı ölçümleri, mekanik karakterizasyonu ise kopma mukavemeti ve uzaması testleri ile gerçekleştirilmiştir. Hücre ekim işleminden önce yüzeyler etilen oksit (EO), otoklav (AU) ve ultraviyole (UV) yöntemleri ile sterilize edilmiş ve sterilize edilen yüzeyler SEM, AFM, yüzey gözenekliliği, temas açısı, kopma mukavemeti ve uzaması testleri, diferansiyel taramalı kalorimetri analizleri (DSC) ve Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) analizleri ile karakterize edilerek yüzeyler için en uygun sterilizasyon yöntemi araştırılmıştır. Daha sonra üretilen yüzeyler hücre ekimleri gerçekleştirilmiş ve hücre ekimi değerlendirmelerinden sonra uygun yüzeyler belirlenip, yüzeyler sodyum hidroksit (NaOH) ve plazma yöntemleri ile modifiye edilmiştir. Ayrıca vitamin katkılı ve soya proteini katkılı PET nanolifler üretilmiştir. Modifiye edilen yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücrelerinin ekimleri yapılmıştır ve yüzeylere hücre tutunması/çoğalması değerlendirilmiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde, biyolojik olarak bozunmayan polietilen tereftalat (PET) polimerinden elektro çekim yöntemi ile üretilen nanoliflerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla farklı molekül ağırlıklarında porojen maddeler kullanılarak PET nanoliflerden floresan boyarmadde veya vitaminin kontrollü salınım gerçekleştirilmiştir. Üretilen yüzeylerin salınım profilleri floresan spektrofotometresi, yüzey özellikleri SEM görüntüleri ve temas açısı ölçümleri ile incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: nanolif, elektro çekim, polietilen tereftalat, doku çatısı, ilaç salınım sistemi, **2014, xv+194 sayfa**

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

INVESTIGATION OF MEDICAL APPLICATIONS OF POLYESTER NANOFIBERS PRODUCED BY ELECTROSPINNING

Şebnem DÜZYER

Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Textile Engineering

Supervisor: Prof.Dr. Aslı HOCKENBERGER

The aim of this study is to investigate the medical applications of non-biodegradable PET nanofibers produced by electrospinning. The study consists of two parts. In the first part, the use of electrospun PET nanofiber mats as tissue scaffolds were investigated. Therefore, electrospinning parameters and the effects of these parameters on fiber fineness were obtained. Then nanofibers with different concentrations, feed rates and collector rotation speeds were produced. Surface properties of the nanofiber mats were examined by scanning electron microscope (SEM), atomic force microscopy (AFM), surface porosity analyses and contact angle measurements; mechanical properties were obtained by breaking strength and elongation tests. Since, the mats have to be sterilized before cell culture studies, the surfaces were sterilized by mainly 3 different methods: ethylene oxide (EO), autoclave (AU) and ultraviolet (UV) methods. Sterilized surfaces were characterized by SEM, AFM, surface porosity, contact angle measurement, breaking strength and elongation test, differential calorimetry (DSC) and Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) analyses were performed and the most appropriate sterilization method for the nanofiber mats was investigated. Then, cell culture studies were carried out. After cell culture studies, cell attachment and proliferation on the nanofiber mats were observed and the most suitable surfaces were determined for cell attachment. In order to facilitate cell attachment on the surfaces, the surfaces were modified by sodium hydroxide (NaOH) treatment and plasma methods. Moreover, PET nanofibers were produced with the addition of vitamin and soy protein. Fibroblast and keratinocyte cells were cultured on modified surfaces and cell attachment/proliferation was evaluated. In the second part of the study, the use of non-biodegradable electrospun PET nanofibers as drug delivery systems was investigated. Therefore, controlled release of fluorescent dye or vitamin from PET nanofibers was achieved by porogens with different molecular weights. Release properties of the mats were tracked by fluorescent spectroscopy. Surface properties were characterized by SEM studies and contact angle measurements.

Key Words: Nanofiber, electrospinning, polyethylene terephthalate, scaffold, drug release system, **2014, xv+194 pages**

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü çalışmalarım boyunca her konuda gösterdiği büyük ilgi ve destek için, hem akademik olarak hem de hayata yaklaşımıyla örnek aldığım ve öğrencisi olmaktan onur duyduğum, üzerimde çok büyük emeği bulunan, çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Aslı HOCKENBERGER'e,

Çalışmalarımın yönlendirilmesi ve yürütülmesindeki katkılarından dolayı, her zaman saygı ve sevgi duyduğum hocalarım Prof. Dr. Esra KARACA ve Prof. Dr. Agah UĞUZ'a,

Hücre ekimleri ve değerlendirmeleri çalışmalarında bana laboratuvarlarını açan ve tecrübe ve bilgilerini benimle paylaşan Prof. Dr. Zeynep KAHVECİ ve Dr. Elif EVKE'ye,

İlaç yükleme ve salınım çalışmalarının gerçekleşebilmesi için laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan University of Illinois at Chicago'ya, yardım ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Alexander YARIN ve ekip arkadaşlarına,

Lisans eğitimimden itibaren desteklerini gördüğüm Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Binnaz KAPLANGİRAY ve tüm bölüm hocalarıma;

Lisansüstü eğitimime başladığım ilk günden itibaren destek ve yardımlarını esirgemeyen, Yrd. Doç. Dr. Serpil KORAL KOÇ, Araş. Gör. Dr. Serkan TEZEL ve Araş. Gör. Şerife ŞAFAK başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Son olarak, yaşamın her alanındaki eğitimi ön planda tutan, destek ve varlıklarını hep yanımda hissettiğim sevgili aileme; gösterdikleri ilgi, yardım, sabırları için ve iyi insan olmanın her şeyden daha önemli olduğunu öğrettikleri için sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Nanoliflerin Medikal Uygulamaları	4
2.1.1. Doku mühendisliği tanımı ve doku çatısı (scaffold) uygulamaları.....	5
2.1.2. İlaç taşıyım sistemleri	10
2.2. Biyolojik Dokular.....	23
2.2.1. Fibroblast hücreleri	25
2.2.2. Keratinosit hücreleri.....	27
2.3. Nanoliflerin Medikal Uygulamalarında Kullanılan Malzemeler	29
2.3.1. Biyolojik malzemeler	30
2.3.1.1. Poliglikolik asit (PGA)	30
2.3.1.2. Polilaktik asit (PLA)	31
2.3.1.3. Poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA)	32
2.3.1.4. Polikaprolakton (PCL).....	33
2.3.2. Biyolojik bozunmayan malzemeler	34
2.3.2.1. Poliamidler (PA).....	34
2.3.2.2. Politetrafloroetilen (PTFE)	36
2.3.2.3. Polietilen tereftalat (PET)	37
2.4. Doku Çatısı Üretim Teknikleri.....	39
2.4.1. Lif bağlama	39
2.4.2. Çözücü dökümü/parçacık uzaklaştırma	40
2.4.3. Membran laminasyonu.....	41
2.4.4. Eriyik kalıplama	41
2.4.5. Ekstrüzyon	42
2.4.6. Gaz köpüklendirme	42
2.4.7. Faz ayrımı.....	43
2.4.8. IN SITU doku çatısı üretimi.....	44
2.4.9. Dondurarak kurutma	45
2.4.10. Elektro çekim (elektrospinning) metodu	45
2.4.10.1. Elektro çekim prosesinin tarihçesi.....	46
2.4.10.2. Prosesin temelleri.....	49
2.4.10.3. Elektro çekim prosesine etki eden parametreler	56
3. MATERYAL VE YÖNTEM	65
3.1. Materyal.....	65
3.2. Yöntem	67
3.2.1. Poliester nanolif üretimi	67
3.2.2. Nanoliflerin sterilizasyonu	74
3.2.2.1. Etilen oksit sterilizasyonu	74
3.2.2.2. Otoklav sterilizasyonu	74
3.2.2.3. Ultraviyole sterilizasyonu	75

3.2.3.	Nanoliflerin yüzey modifikasyonu.....	75
3.2.3.1.	NaOH modifikasyonu.....	76
3.2.3.2.	Plazma modifikasyonu.....	76
3.2.3.3.	Soya katkılı nanoliflerin üretimi.....	77
3.2.4.	Hücre ekim işlemi.....	77
3.2.5.	Nanoliflere ilaç yüklenmesi.....	78
3.2.6.	Nanoliflerden ilaç salınım değerlendirmesi.....	79
3.2.7.	Nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu testleri.....	80
3.2.7.1.	Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri.....	80
3.2.7.2.	Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizleri.....	81
3.2.7.3.	Yüzey gözenekliliği.....	81
3.2.7.4.	Hava geçirgenliği testleri.....	82
3.2.7.5.	Temas açısı ölçümleri.....	82
3.2.7.6.	Çekme testleri.....	83
3.2.7.7.	Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizleri.....	84
3.2.7.8.	Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) analizleri.....	84
3.2.7.9.	İlaç salınımında floresan madde takibi.....	84
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	86
4.1.	Nanoliflerin Karakterizasyonu.....	86
4.1.1.	SEM analizi sonuçları.....	88
4.1.2.	Temas açısı ölçüm sonuçları.....	94
4.1.3.	Çekme testi sonuçları.....	96
4.2.	Sterilize Edilen Nanoliflerin Karakterizasyonu.....	97
4.2.1.	SEM ve AFM analizi sonuçları.....	97
4.2.2.	Yüzey gözenekliliği ölçüm çalışmaları.....	100
4.2.3.	Temas açısı ölçüm sonuçları.....	101
4.2.4.	Çekme testi sonuçları.....	103
4.2.5.	DSC analizi sonuçları.....	104
4.2.6.	FTIR analizi sonuçları.....	108
4.3.	Hücre Tutunması ve Çoğalması Sonuçları.....	110
4.4.	Nanoliflerin Modifikasyonu Sonrası Karakterizasyon Sonuçları.....	117
4.4.1.	NaOH modifikasyonu sonrası karakterizasyon sonuçları.....	118
4.4.2.	Plazma modifikasyonu sonrası karakterizasyon sonuçları.....	127
4.4.3.	Soya katkılı pet nanoliflerin karakterizasyon sonuçları.....	142
4.4.4.	Vitamin katkılı pet nanoliflerin karakterizasyon sonuçları.....	144
4.5.	Modifikasyon Sonrası Hücre Tutunması ve Çoğalması Sonuçları.....	147
4.5.1.	NaOH uygulaması sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları.....	147
4.5.2.	Argon plazma sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları.....	149
4.5.3.	Oksijen plazma sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları.....	151
4.5.4.	Soya katkılı PET yüzeyler üzerine hücre tutunması ve çoğalması sonuçları.....	152
4.5.5.	Vitamin yüklü PET yüzeyler üzerine hücre tutunması ve çoğalması sonuçları.....	153
4.6.	Boyarmadde Yüklü Nanoliflerin Karakterizasyonu.....	155
4.7.	Nanoliflerden İlaç Salınım Değerlendirmesi.....	157
5.	SONUÇ.....	171
	KAYNAKLAR.....	179
	ÖZGEÇMİŞ.....	191

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
A	Silindirik elemanın yüzey alanı
a	İvme
2a	Molekül boyutu
b	Enine kesit yarıçapı
C	Konsantrasyon
$C_{\max}$	Maksimum konsantrasyon
$C_{\min}$	Minimum konsantrasyon
cP	Centipoise
D	Difüzyon katsayısı
dc/dx	Konsantrasyon gradyanı
D_{eff}	Efektif difüzyon katsayısı
E	Desorpsiyon entalpisi
E	Elektriksel alan şiddeti
F_{DO}	Polimer jetini aşağı doğru çeken kuvvet
F_{R}	Bileşke kuvvet
F_{UO}	İtici kuvvet
H	Hava boşluğu mesafesi
J	Kütle akışı
k_k	Korsmeyer sabiti
$k(T)$	Desorpsiyon oran sabiti
L	Gözenek uzunluğu
m	Kütle
M_{d0}	$t=0$ anındaki boya miktarı
M_p	Polimer miktarı
M_t	t anında salınan ilaç miktarı
M_{∞}	Toplam ilaç miktarı
q	Yük
r	Plaka kalınlığı
R	Evrensel gaz sabiti
R	Yarıçap
t	Salınım süresi
T	Mutlak sıcaklık
T_c	Kristalizasyon sıcaklığı
T_g	Camsı geçiş sıcaklığı
T_m	Erime sıcaklığı
V	Voltaj
V	Hacim
Θ	Temas açısı
γ	Serbest yüzey enerjisi
ρ_{sd0}	Başlangıçtaki boya yoğunluğu
τ_r	Karakteristik zaman
γ	Sıvının yüzey gerilimi
ΔH_c	Kristalizasyon entalpisi
ΔH_m	Erime entalpisi

Kısaltmalar	Açıklama
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
Ar	Argon
AU	Otoklav
DMF	Dimetilformamid
DMT	Dimetil tereftalat
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
EG	Etilen glikol
EO	Etilen oksit
FTIR	Fourier transform infrared spektrometresi
GA	Glikolik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
O ₂	Oksijen
PA	Poliamid
PAN	Poliakrilonitril
PCL	Polikaprolakton
PDLLA	Poli(D,L-laktid)
PEG	Polietilen glikol
PEO	Polietilen oksit
PET	Polietilen tereftalat
PGA	Poliglikolik asit
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Poli(laktik-ko-glikolik) asit
PLLA	Poli-L-laktid
PPF	Polipropilen fumarat
PMMA	Polimetil metakrilat
PTFE	Politetrafloroetilen
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TFA	Trifluoroasetik asit
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
TPA	Tereftalik asit
UV	Ultraviyole
WAXD	Geniş açı X ışını difraksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Doku mühendisliği yaklaşımı kullanılarak hücre büyüme/çoğalması (Gualandi 2011)	6
Şekil 2.2. Konvansiyonel ilaç taşıma sistemlerindeki ilaç dozajının zamanla değişimi (Nierstrasz 2007).....	10
Şekil 2.3. Patlama salınımı ve sıfır-mertebe salınımı (Nierstrasz 2007).	11
Şekil 2.4. Sıfır-mertebe ve Fick difüzyonu (Korsmeyer denklemi) (Nierstrasz 2007)...	12
Şekil 2.5. İlaç yüklü nanoliflerdeki üç morfolojik modelin gösterimi (Andrady 2008).15	
Şekil 2.6. Proteinaz K varlığında ve yokluğunda, doksorubisinin zamanla salınım oranları (Zeng ve ark. 2005).....	17
Şekil 2.7. Polimerik nanoliflerdeki gözeneklerin görünümü	18
Şekil 2.8. Polimer matriksi içindeki, çapı $2b$ olan silindirik gözenegin şematik gösterimi. $x=0$ 'da gözenek açıktır ve $x=L$ 'de kapalıdır (Srikan ve ark. 2008)	19
Şekil 2.9. Hücre ve çevresinin birbiri ile etkileşiminin şematik gösterimi (Lutolf ve Hubbell 2005)	24
Şekil 2.10. Fibroblast hücresinin şematik gösterimi.....	26
Şekil 2.11. Fibroblast hücrelerinin mikroskopik görüntüleri.....	27
Şekil 2.12. Keratinosit hücrelerinin mikroskopik görüntüleri	28
Şekil 2.13. Deriyi oluşturan katmanlar	28
Şekil 2.14. PGA'nın kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009).	31
Şekil 2.15. L ve DL rasemik formdaki PLA (http://normalpolymer.com/ 2014).....	32
Şekil 2.16. PLGA'nın kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009)	33
Şekil 2.17. PCL'in kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009)	33
Şekil 2.18. a) PA 6 ve b)PA 6.6 liflerinin kimyasal yapısı (http://www.lookchem.com 2014)	35
Şekil 2.19. PA 6 doku çatısı (Das ve ark. 2003)	35
Şekil 2.20. PTFE'nin kimyasal yapısı (www.saville.com 2014).....	36
Şekil 2.21. Polietilen tereftalat (PET)' in molekül yapısı (Reese 2003).....	37
Şekil 2.22. Lif bağlama yönteminin şematik gösterimi (Mikos ve ark. 1993)	40
Şekil 2.23. Çözücü dökümü/parçacık uzaklaştırma yönteminin şematik gösterimi (Zhu ve ark. 2013).....	40
Şekil 2.24. Ekstrüder yapısı. 1. Ekstrüde borusu, 2. Borunu dış çapını oluşturan düze, 3. Gövde, 4. Erimiş karışım, 5. Sıcaklık kontrollü kafa, 6. Borunun iç çapını belirleyen çubuk, 7. Eriyik polimeri hareket ettiren piston (Widmer ve ark. 1998)	42
Şekil 2.25. Gaz köpüklendirme metodu ile üretilmiş bir doku çatısı (Ferrer 2007)	43
Şekil 2.26. Faz ayrımı prosesinin şematik gösterimi a) toz, b) sürekli ağ şeklindeki doku çatıları, c) kapalı gözenekli köpük yapılar (Chen ve Ma 2006).....	44
Şekil 2.27. J. Zeleny'in kurduğu sistemin şematik gösterimi (Zeleny 1914)	46
Şekil 2.28. Formhals'in düzeneğinin şematik görüntüsü (Formhals 1934)	47
Şekil 2.29. Formhals'in modifiye edilen düzeneğinin şematik görüntüsü (Formhals 1944)	48
Şekil 2.30. Elektro çekim düzeneğinin şematik gösterimi (http://www.neotherix.com 2014)	50
Şekil 2.31. Uygulanan elektriksel kuvvet ile polimer damlasında oluşan değişiklikler (Garg ve Bowlin 2011).....	50
Şekil 2.32. Elektrosinning jetinin, jet ile taşınan uniform olarak dağılmış yükler ile itici elektriksel yüklere cevap olarak büyüme başladığı segmentin şematik gösterimi.	

F_{DO} : polimer jetini aşağı doğru çeken kuvvet, F_{UO} : itici kuvvet, F_R bu iki kuvvetin bileşkesi. F_R nedeniyle yörüngede bozulmalar gerçekleşir (Reneker ve Yarin 2008)	51
Şekil 2.33. Elektrospraying jetinin kararsızlık bölgesinde izlediği yol (Reneker ve Yarin 2008)	52
Şekil 2.34. Eğilme kararsızlığının başlangıç ve oluşum diyagramı (Reneker ve Yarin 2008)	55
Şekil 2.35. Sıvı içindeki moleküllerin maruz kaldığı kuvvetlerin şematik gösterimi (http://web.utk.edu 2014)	59
Şekil 2.36. A) yüksek viskozitede, çözücü moleküllerinin, polimer molekülleri arasına dağılımı, B) düşük viskozitede çözücü moleküllerinin yüzey gerilimleri etkisi altında biraraya gelmesi (Ramakrishna ve ark. 2005).....	59
Şekil 3.1 a) Elektro çekim sisteminin şematik görüntüsü, b) U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan elektrospraying düzeneği (http://www.hindawi.com 2014)	72
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan mikrometrenin görüntüsü.....	73
Şekil 3.3. İlaç yükleme çalışmalarında kullanılan elektro çekim cihazının şematik görüntüsü (http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/10026.pdf 2014)	73
Şekil 3.4. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan kültür flakları (http://ooxis.com/wp-content/uploads/2014/01/Cell_Culture.jpg 2014).....	77
Şekil 3.5. PARKSİSTEM marka atomik kuvvet mikroskobu	81
Şekil 3.6. U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan hava geçirgenliği cihazı	82
Şekil 3.7. a) Temas açısı ölçümünün şematik gösterimi, b) U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan temas açısı ölçüm cihazı ile yapılan ölçümlerden bir görüntü.	83
Şekil 3.8. U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan Instron cihazı	83
Şekil 3.9. Gemini SpectraMax marka spektrofotometre.....	85
Şekil 4.1. P1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	88
Şekil 4.2. P2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	89
Şekil 4.3. P3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	89
Şekil 4.4. P4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	90
Şekil 4.5. P5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	91
Şekil 4.6. P6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	91
Şekil 4.7. P7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	91
Şekil 4.8. P8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	92
Şekil 4.9. P9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	92
Şekil 4.10. P10 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	92
Şekil 4.11. P11 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	93
Şekil 4.12. P12 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	93
Şekil 4.13. P13 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	93
Şekil 4.14. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası fiziksel görüntüleri...97	97
Şekil 4.15. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası SEM görüntüleri (skala 10µm'yi göstermektedir.)	99
Şekil 4.16. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası AFM görüntüleri99	99

Şekil 4.17. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası yüzey gözenekliliği görüntüleri (skala 10µm'yi göstermektedir.)	101
Şekil 4.18. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları	106
Şekil 4.19. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları	107
Şekil 4.20. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları	108
Şekil 4.21. P1 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler.....	109
Şekil 4.22. P2 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler.....	110
Şekil 4.23. P3 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler.....	110
Şekil 4.24. P1 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	111
Şekil 4.25. P2 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	111
Şekil 4.26. P3 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	111
Şekil 4.27. P4 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	112
Şekil 4.28. P5 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	112
Şekil 4.29. P6 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	113
Şekil 4.30. P7 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	113
Şekil 4.31. P8 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	113
Şekil 4.32. P9 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	114
Şekil 4.33. P10 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	114
Şekil 4.34. P11 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	114
Şekil 4.35. P12 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	115
Şekil 4.36. P13 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü.....	115
Şekil 4.37. P6 kodlu yüzeylere ekilen keratinosit hücrelerinin SEM görüntüsü	116
Şekil 4.38. P10 kodlu yüzeylere ekilen keratinosit hücrelerinin SEM görüntüsü	116
Şekil 4.39. Elektrospraying ile üretilen nanoliflerin üzey modifikasyon yöntemleri a) plazma uygulaması veya ıslak kimyasal metod, b) yüzey graft polimerizasyonu, c) co-elektrospraying (Yoo ve ark. 2009)	118
Şekil 4.40. 1 M NaOH çözeltisinde 10 dk muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler.....	119
Şekil 4.41. 0,5 M NaOH çözeltisinde 1 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler.....	119
Şekil 4.42. 0,5 M NaOH çözeltisinde 3 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler.....	119
Şekil 4.43. 5 M NaOH çözeltisinde 1 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler.....	120
Şekil 4.44. 5 M NaOH çözeltisinde 3 saat muamele gören yüzeyler, a) P7, b) P13 kodlu yüzeyler.....	120
Şekil 4.45. a) N1, b) N2, c) N3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	122
Şekil 4.46. a) N4, b) N5, c) N6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	122

Şekil 4.47. a) N7, b) N8, c) N9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	122
Şekil 4.48. a) N10, b) N11, c) N12 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	123
Şekil 4.49. a) N13, b) N14, c) N15 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	123
Şekil 4.50. a) N16, b) N17, c) N18 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	123
Şekil 4.51. a) N19, b) N20, c) N21 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	124
Şekil 4.52. a) N22, b) N23, c) N24 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	124
Şekil 4.53. a) N25, b) N26, c) N27 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	124
Şekil 4.54. a) N28, b) N29, c) N30 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	125
Şekil 4.55. a) N31, b) N32, c) N33 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	125
Şekil 4.56. a) N34, b) N35, c) N36 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)	125
Şekil 4.57. Ar1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	130
Şekil 4.58. Ar2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	130
Şekil 4.59. Ar3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	130
Şekil 4.60. Ar4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	131
Şekil 4.61. Ar5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	131
Şekil 4.62. Ar6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	131
Şekil 4.63. Ar7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	132
Şekil 4.64. Ar8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	132
Şekil 4.65. A9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	132
Şekil 4.66. O1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	133
Şekil 4.67. O2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	133
Şekil 4.68. O3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	133
Şekil 4.69. O4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	134
Şekil 4.70. O5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	134
Şekil 4.71. O6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	134
Şekil 4.72. O7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	135
Şekil 4.73. O8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	135
Şekil 4.74. O9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	135
Şekil 4.75. P6 kodlu yüzeylerin 1M NaOH çözeltisinde 10 dk uygulama sonrası SEM görüntüleri	137
Şekil 4.76. P10 kodlu yüzeylerin 1M NaOH çözeltisinde 10 dk uygulama sonrası SEM görüntüleri	138
Şekil 4.77. P6 kodlu yüzeylerin 60sn argon plazma sonrası SEM görüntüleri	138
Şekil 4.78. P10 kodlu yüzeylerin 60sn argon plazma sonrası SEM görüntüleri	138
Şekil 4.79. P6 kodlu yüzeylerin 60sn oksijen plazma sonrası SEM görüntüleri	139
Şekil 4.80. P10 kodlu yüzeylerin 60sn oksijen plazma sonrası SEM görüntüleri	139
Şekil 4.81. P6 ve P10 kodlu yüzeylerin modifikasyonlardan önce ve sonraki AFM görüntüleri	140

Şekil 4.82. Nanolifli yüzeylerin modifikasyonlar öncesi ve sonrası siyah-beyaz görüntüleri	141
Şekil 4.83. P14 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	143
Şekil 4.84. P15 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri	143
Şekil 4.85. Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin görüntüleri, a) P21, b) P22, c) P23, d) P24, e) P25 kodlu yüzeyler.....	145
Şekil 4.86. Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri, a) P21, b) P22, c) P23, d) P24, e) P25 kodlu yüzeyler (skala 10µm'yi göstermektedir.)	145
Şekil 4.87. NaOH ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması	147
Şekil 4.88. NaOH ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması	148
Şekil 4.89. NaOH ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması	148
Şekil 4.90. NaOH ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması	148
Şekil 4.91. Argon plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması.....	149
Şekil 4.92. Argon plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması.....	150
Şekil 4.93. Argon plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması.....	150
Şekil 4.94. Argon plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması.....	150
Şekil 4.95. Oksijen plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması.....	151
Şekil 4.96. Oksijen plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması.....	151
Şekil 4.97. Oksijen plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması.....	152
Şekil 4.98. Oksijen plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması.....	152
Şekil 4.99. P14 kodlu yüzeyler üzerine fibroblast hücresi tutunması ve çoğalması.....	153
Şekil 4.100. P15 kodlu yüzeyler üzerine fibroblast hücresi tutunması ve çoğalması...	153
Şekil 4.101. Vitamin katkılı yüzeyler üzerine fibroblast hücre tutunması ve çoğalması, a) P21, b) P23, c) P24, d) P25 kodlu yüzeyler (skala 20µm'yi göstermektedir.) .	154
Şekil 4.102. Rhodamin B katkılı PET nanolifli yüzeylerin görüntüleri, a) P16, b) P17, c) P18, d) P19, e) P20 kodlu yüzeyler.....	156
Şekil 4.103. Rhodamin B içeren soldan sağa sırasıyla, a) P16, b) P17, c) P18, d) P19, e) P20 kodlu yüzeyler (skala 10µm'yi göstermektedir.)	156
Şekil 4.104. Elektro çekim yöntemi ile üretilen yüzeylerin 24 saat suda bekletildikten sonraki SEM görüntüleri a) P16, b) P21 kodlu yüzeyler (sağ üst köşede büyütülmüş olan resimdeki skala 1µm'yi göstermektedir.)	160
Şekil 4.105. Rhodamin B katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri a)P16, b)P17, c)P18, d)P19, e)P20 kodlu yüzeyler.....	161
Şekil 4.106. Riboflavin katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri a)P21, b)P22, c)P23, d)P24, e)P25 kodlu yüzeyler	162

- Şekil 4.107.** Rhodamin B içeren numunelerin (P16-P20) Şekil 4.105'e karşılık gelen salınım kinetikleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.1'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.165
- Şekil 4.108.** Riboflavin içeren numunelerin (P21-P25) Şekil 4.106'ya karşılık gelen salınım kinetikleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.1'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.166
- Şekil 4.109.** Eşitlik 4.3 kullanılarak Rhodamin B içeren numunelerden (P17-P20) elde edilen salınım profilleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.3'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.....168
- Şekil 4.110.** Eşitlik 4.3 kullanılarak Riboflavin içeren numunelerden (P21-P25) elde edilen salınım profilleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.3'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.....169

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Elektro çekim prosesine etki eden parametrelerin sınıflandırılması (Ramakrishna ve ark. 2005)	57
Çizelge 3.1. Nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri.....	68
Çizelge 3.2. Uygun nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri.....	69
Çizelge 3.3. Taguchi L18 ortogonal dizisi.....	70
Çizelge 3.4. Taguchi L18 ortogonal dizisinin elektro çekim ile nanolif üretimine uyarlanması	71
Çizelge 3.5. Doku çatısı olarak kullanılan nanoliflerin üretim parametreleri.....	72
Çizelge 4.1. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerin viskozite değerleri.....	86
Çizelge 4.2. Nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri.....	87
Çizelge 4.3. Doku çatısı olarak kullanılan nanoliflerin üretim parametreleri.....	87
Çizelge 4.4. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin çapları.....	94
Çizelge 4.5. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerden oluşan yüzeylerin kalınlık ölçümleri.....	94
Çizelge 4.6. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerden oluşan yüzeylerin temas açısı değerleri.....	95
Çizelge 4.7. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerin Young modülü ve kopma uzaması değerleri.....	96
Çizelge 4.8. PET nanolifli yüzeylerin çap, yüzey kalınlığı ve gözenek boyutları.....	100
Çizelge 4.9. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilmiş ve farklı sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilmiş nanoliflerden oluşan yüzeylerin temas açısı değerleri	102
Çizelge 4.10. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilmiş ve farklı sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilmiş nanoliflerden oluşan yüzeylerin mekanik özellikleri.....	103
Çizelge 4.11. DSC analizi sonuçları	105
Çizelge 4.12. NaOH çözeltisi ile muamele edilen yüzeylerin işlem parametreleri	121
Çizelge 4.13. NaOH modifikasyonu sonrası yüzeylerin temas açıları	126
Çizelge 4.14. Plazma ile modifiye edilen yüzeylerin işlem parametreleri	128
Çizelge 4.15. Plazma işlemi sonrası yüzeylerin temas açıları	136
Çizelge 4.16. P6 ve P10 kodlu yüzeylerin modifikasyon öncesi ve sonrası temas açıları	140
Çizelge 4.17. Numunelerin yüzey gözenek boyutları.....	141
Çizelge 4.18. Nanolifli yüzeylerin hava geçirgenliği değerleri	142
Çizelge 4.19. Modifiye edilen yüzeylerin mekanik analiz verileri.....	142
Çizelge 4.20. Soya katkılı PET nanolifli yüzeylerin temas açısı değerleri.....	144
Çizelge 4.21. Katkılı nanoliflerin üretim parametreleri.....	144
Çizelge 4.22. Riboflavin katkılı numunelerin çap ve temas açısı değerleri.....	146
Çizelge 4.23. Katkılı nanoliflerin üretim parametreleri.....	155
Çizelge 4.24. Rhodamin B katkılı numunelerin çap ve temas açısı değerleri	157
Çizelge 4.25. Rhodamin B katkılı PET nanoliflerin doygunluk salınım oranları.....	161
Çizelge 4.26. Riboflavin katkılı PET nanoliflerin doygunluk salınım oranları.....	162
Çizelge 4.27. Şekil 4.107'ye uygulanan fitting ile Eşitlik 4.1'den elde edilen parametreler.....	165
Çizelge 4.28. Şekil 4.108'e uygulanan fitting ile Eşitlik 4.1'den elde edilen parametreler	166

Çizelge 4.29. Şekil 4.109'a uygulanan fitting ile Eşitlik 4.3'ten elde edilen parametreler (boyarmadde salınımı için)	169
Çizelge 4.30. Şekil 4.110'a uygulanan fitting ile Eşitlik 4.3'ten elde edilen parametreler (vitamin salınımı için).....	169

1. GİRİŞ

Literatürde çapları 1µm'nin altındaki lifler “nanolif” olarak sınıflandırılmaktadır ve bu liflerin geniş yüzey alanı, yüksek gözeneklilik ve küçük gözenek boyutu, mekaniksel olarak yüksek dayanım gibi pek çok özelliği vardır (Greiner ve Wendorff 2007).

Nanolifler bu üstün özellikleri nedeniyle filtrasyondan, savunmaya kadar pek çok uygulama alanı bulmuşlardır. Nanoliflerin bu uygulama alanlarından birisi de medikal uygulamalardır. Nanoliflerin alanında kullanım bulduğu yerler arasında doku mühendisliği ve ilaç salınım sistemleri sayılabilir (Greiner ve Wendorff 2007).

Doku mühendisliği; hastalık, yaralanma veya doğuştan gelen hatalar gibi nedenlerden dolayı zarar gören ekstrasellüler matriksi (ECM) yenilemek ve hücrelere destek sağlamak için skaffold (doku çatısı) üretimini kapsar. Ekstrasellüler matriks (ECM), memeli dokuları içindeki hücrelerin arasında bulunan ve onları destekleyen kompleks yapıdır. Doku mühendisliğinde kullanılacak olan malzemelerin, toksik özelliklere sahip olmaması, kanserojen olmaması, biyouyumlu olması gerekmektedir. Literatürde genellikle biyolojik olarak bozunur polimerlerin doku çatısı olarak kullanımları ile karşılaşılmaktadır. Ancak, bazı durumlarda biyolojik olarak bozunmayan polimerlere ihtiyaç duyulmaktadır (Gualandi 2011).

Nanoliflerin ilaç taşıma sistemi olarak kullanımları günümüzde giderek önem kazanan bir konudur. İlaç salınımları için nanolif sistemleri tümör terapisi, iyileşme ve ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Bu alanda kullanılan lifler; hedef organa ilacın belirli sürede ve belirli oranlarda kontrollü salınımını yapabilmelidir. Böylece ilacın etkin kullanımı arttırılmış ve olası yan etkileri azaltılmış olur (Khansari ve ark. 2013).

Elektro çekim, yüksek gözenekli ve geniş yüzey alanına sahip üç boyutlu yapılar oluşturur. Oluşan yapı, ekstrasellüler matriks gibi davranır. Bu durum nanoliflerden oluşan yapıları doku mühendisliği için mükemmel aday haline getirir. Elektro çekim yöntemi nanoliflerin üretilmesi için en basit yöntemdir. Elektro çekim; çoğunlukla polimerlerin solüsyondan ya da eriyikten çekim ile çapları birkaç mikrometreden birkaç

nanometreye kadar değişen kesiksiz lif üretimi için çok yönlü bir metottur. Bu yöntemin esası polimer çözeltisi veya eriğine yüksek potansiyel alanı kullanılarak çok küçük çaplı liflerin üretilmesine dayanır. Bu proseste iğnenin ucunda polimerin kendi yüzey gerilimi tarafından tutulan polimer çözeltisi elektriksel alana tabi tutulur. Elektriksel alanın gücü arttıkça çözelti iğnenin ucunda uzar ve Taylor konisi olarak bilinen konik bir şekil alır. Elektrostatik kuvvetler polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aştığında; polimer jeti topraklanmış toplama yüzeyine doğru akar. Çıkan jet ivmelendikçe büyük oranda çözücü buharlaşır ve toplama alanı yüzeyinde dokusuz yüzey formunda polimerik lifler oluşur (Duzyer ve ark. 2011).

Poliester lifleri ana zincirlerinde ester bağları bulunduran, iyi mekaniksel ve termodinamik özelliklere sahip, yarı aromatik poliesterdir. PET, biyolojik olarak bozunmayan, toksik ve kanserojenik özellikler göstermeyen bir polimerdir. Bu nedenle, ameliyat iplikleri, medikal önlükler, ligamentler, damar greftleri, hastane çarşafları gibi medikal alanlarda iplik ve kumaş formunda kullanılırlar. Ayrıca, filtrasyon ve medikal alanlardaki kullanımlarının artması ile lif yapısının ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesi üzerine araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (Ma ve ark. 2005, Duzyer ve ark. 2011).

Buradan yola çıkarak bu çalışmada elektro çekim yöntemi ile üretilmiş poliester nanoliflerin doku çatısı ve ilaç taşınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışma iki kısımdan oluşmaktadır. Çalışmanın ilk kısmında PET nanolifli yüzeylerin doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla, elektro çekim yöntemi ile farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerden, farklı besleme oranlarında ve sarım hızlarında PET nanolifli yüzeyler üretilmiştir. Daha sonra üretilen numunelerin, yüzey ve mekanik analizleri yapılmıştır. Nanoliflerin yüzey karakteristiklerini belirlemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve yüzey gözenekliliği analizleri gerçekteştirilmiştir. Numunelerin temas açıları ölçülerek nanolifli yüzeylerinin ıslanabilirliği hakkında bilgi edinilmiştir. Nanolifli yüzeylerin mekanik karakterizasyonu Instron cihazında kopma mukavemeti ve uzaması testleri ile gerçekteştirilmiştir. Hücre ekim işlemlerinden önce, numunelerin sterilize edilmesi gerektiğinden, etilen oksit (EO), otoklav (AU) ve ultraviyole (UV) sterilizasyonları ile

numuneler sterilize edilip, yüzeyler için en uygun olan sterilizasyon yöntemi araştırılmıştır. Farklı metodlar ile sterilize edilen numunelerin yüzey özellikleri; SEM, AFM, yüzey gözenekliliği ve temas açısı deneyleriyle, mekanik özellikleri; kopma mukavemeti ve uzaması testleri ile, termal özellikleri; diferansiyel taramalı kalorimetri analizleri (DSC) ve iç yapı analizleri Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) testleri ile karakterize edilmiştir. Uygun sterilizasyon metodu ile serilize edilen yüzeylere hücre ekimleri gerçekleştirilmiş ve hücre tutunması/çoğalmasına en uygun olan yüzeyler belirlenmiştir. Belirlenen yüzeyler sodyum hidroksit (NaOH) ve Argon ve Oksijen plazma yöntemleri ile modifiye edilmiştir. Ayrıca vitamin katkılı ve soya proteini katkılı PET nanolifler üretilmiştir. Modifikasyon işlemlerinin amacı yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalmasını arttırmaktır. Çalışmanın ikinci bölümünde, biyolojik olarak bozunmayan polietilen tereftalat (PET) polimerinden elektro çekim yöntemi ile üretilen nanoliflerin ilaç taşınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla, polietilen glikol (PEG) ve polietilen oksit (PEO) gibi farklı molekül ağırlıklarında porojen maddeler kullanılarak PET nanoliflerden floresan boyarmadde veya vitaminin kontrollü salınım gerçekleştirilmiştir. Üretilen yüzeylerin salınım profilleri floresan spektrofotometresi, yüzey özellikleri SEM görüntüleri ve temas açısı ölçümleri ile incelenmiştir.

Bu doktora tezinin kaynak araştırması kısmını oluşturan ikinci bölümde, nanoliflerin doku çatısı ve ilaç taşınım sistemi olarak medikal alandaki uygulamalarından, ekimleri yapılan fibroblast ve keratinosit hücrelerinden, nanoliflerin medikal uygulamalarında kullanılan malzemelerden, doku çatısı üretim teknikleri ve bu tez çalışmasında kullanılan yöntem olan elektro çekim (elektrospinning) prosesinden, prosesin tarihçesi, temelleri ve prosese etki eden parametrelerden bahsedilmiştir. Çalışmanın üçüncü bölümünde kullanılan malzemeler, cihazlar ve metodlar belirtilmiştir. Tezin dördüncü bölümünde ise bu çalışmada gerçekleştirilen deneylerin sonuçları verilmiş ve bu sonuçların yorumları yapılmıştır. Tezin son bölümü olan beşinci bölümde ise elde edilen tüm sonuçlar birbirleriyle ilişkilendirilerek yorumlanmış ve gelecekte yapılması önerilen çalışmalar belirtilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoliflerin Medikal Uygulamaları

Çapları birkaç nanometre ile birkaç yüz nanometre aralığında olan liflerin pek çok uygulama alanı vardır. Nanolifler geniş yüzey alanı, esneklik, yüksek porozite, küçük gözenek boyutu, eksenel mukavemet gibi özellikleri çok farklı ve geniş uygulama alanları bulmasına neden olmuştur (Greiner ve Wendorff 2007). Nanolif üretim yöntemlerinden biri elektro çekim yöntemidir. Bu yöntemin esası polimer çözeltisi veya eriğine yüksek potansiyel alanı kullanılarak çok küçük çaplı liflerin üretilmesine dayanır. Bu proseste iğnenin ucunda polimerin kendi yüzey gerilimi tarafından tutulan polimer çözeltisi elektriksel alana tabi tutulur. Elektrostatik kuvvetler polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aştığında; polimer jeti topraklanmış toplama yüzeyine doğru akar. Çıkan jet ivmelendikçe büyük oranda çözücü buharlaşır ve toplama alanı yüzeyinde dokusuz yüzey formunda polimerik lifler oluşur. Oluşan nanometre boyutlarındaki polimerik liflerin pek çok uygulama alanından birisi de medikal uygulamalardır. Bu liflerin doku mühendisliği, yara bezleri, damar graftları, suni deri, ilaç iletim sistemleri, koruyucu giysiler, filtre yüzeyleri, kompozitlerde destekleme elemanı olarak kullanımları gittikçe artmaktadır.

Doku mühendisliği; hastalık, yaralanma veya doğuştan gelen hatalar gibi nedenlerden dolayı zarar gören, memeli dokuları içindeki hücrelerin arasında bulunan ve onları destekleyen bir kompleks yapı olan ekstrasellüler matriksi (ECM) (hücreler arası madde) yenilemek ve hücrelere destek sağlamak için doku çatısı (scaffold) üretimini kapsar.

Elektro çekim, yüksek gözenekli ve geniş yüzey alanına sahip üç boyutlu yapılar oluşturur. Oluşan yapı, ekstrasellüler matriks gibi davranır. Bu durum nanoliflerden oluşan yapıları doku mühendisliği için mükemmel aday haline getirir.

Doku mühendisliğinde kullanılacak olan malzemelerin biyouyumluluk ve biyobozunurluk gibi özellikleri olmalıdır. Doku çatısı üzerinde zamanla yeni hücreler çoğalmaya başlar.

Doku mühendisliği ile ilaç salınım sistemleri birbirine çok yakın alanlardır. İlaç salınımları için nanolif sistemleri tümör terapisi, iyileşme ve ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Bu alanda kullanılan lifler; ilacın kan içinde parçalanmasını engellemeli ve ilacın belirli sürede ve belirli oranlarda kontrollü salınımını yapabilmelidir. Ayrıca yapı içine bazı hücrel membranların geçişine izin vermeli aynı zamanda ilacın sadece hedeflenen dokuya iletilmesini sağlamalıdır.

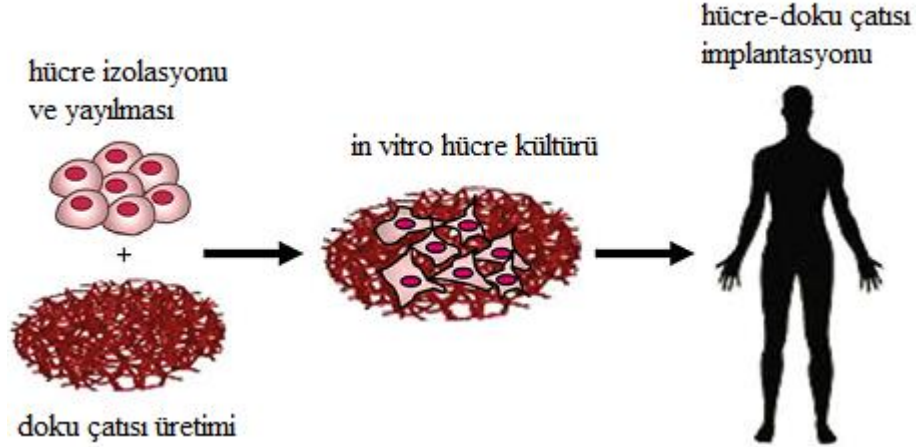
Elektro çekim liflerin medikal alanda bir başka uygulaması da yanık ve kesik gibi geniş yaraların tedavisidir. Yapılan çalışmalar sonucunda, yara yüzeyleri ince tabaka halinde nanolifler ile kaplandığında yaranın hızlı ve komplikasyon olmadan iyileşebildiği görülmüştür. Nanoyapılar çok gözenekli olduğundan sıvı ve gaz geçişine izin verir fakat gözenek boyutları çok küçük olduğundan yapı içine herhangi bir bakteri giremez. Konvansiyonel yara iyileştirme uygulamaları ile karşılaştırıldığında, nanolif yüzeyi ile yapılan uygulamalarda iz kalma olasılığı yoktur. (Agarwal ve ark., 2008, Coskun ve ark. 2014)

2.1.1. Doku mühendisliği tanımı ve doku çatısı (skaffold) uygulamaları

Günümüzde, tıbbi vakalarda en çok karşılaşılan problemlerden biri vücut doku veya organının yaranma, yaşlanma gibi sebeplerle görevini kısmen veya tamamen yerine getirememesidir. Kullanılan implantlar ve biyomedikal cihazlar gibi çeşitli terapötik yöntemler hastanın yaşam kalitesini arttırsa da, donör yetersizliği, enfeksiyon riski, düşük uyum nedeniyle vücudun implantı reddetmesi gibi sınırlamalar bu yöntemlerin kullanılmasını zorlaştırmaktadır. Bu zorlukları aşmak için ve daha etkin iyileştirme yöntemleri bulmak amacıyla rejeneratif tıp üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Rejeneratif tıptan amacı işlevini yitiren vücut doku veya organını onarmak veya tekrar yapmaktır (Gualandi 2011).

Ortaya çıktığı ilk günden beri, rejeneratif tıp büyük bir ilgi görmüş ve konuyla ilgili oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Günümüzde rejeneratif tıp içinde, yeni vücut dokularının tekrar yapılması için klonlamanın, izole edilen hücrelerin, hücresele olmayan yapıların ve hücresele yapılarının kullanımı gibi çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında “Doku Mühendisliği” dokuların kendini yenilemesi için kullanımı oldukça ilgi çeken bir yaklaşımdır (Gualandi 2011).

Doku mühendisliği terimi ilk olarak 1980ler’in ortalarında ortaya çıkmasına rağmen, 1993 yılında Langer ve Vacanti’nin “mühendislik ve yaşam bilimlerini uygulayarak, biyolojik maddelerin kullanımı ile doku veya organın fonksiyonlarını tekrar kazanmasını, sürdürmesini veya geliştirmesini sağlayan disiplinlerarası alan” tanımı ile araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Şekil 2.1’de hücre yapılarının hazırlanması için doku mühendisliği yaklaşımının şematik gösterimi verilmiştir. Bu yaklaşımda hücreler üç boyutlu ve gözenekli bir yapı olan doku çatısı üzerinde in vitro ortamda kültüre edilir. Daha sonra doku çatısı vücut içerisine yerleştirilir (Gualandi 2011).



Şekil 2.1. Doku mühendisliği yaklaşımı kullanılarak hücre büyüme/çoğalması (Gualandi 2011)

Doku mühendisliğinin amaçlarından birisi de vücuttaki doğal ekstraselülüler matrikse (ECM) yakın mekaniksel ve biyolojik özelliklere sahip doku çatılarının üretilmesidir. In vivo ortamda, hücrelerin çoğu, nanometre boyutlarında protein ve glikozaminoglikanların ağısı şekilde oluşturdukları ECM ile ilişki içindedir. ECM, memeli dokuları içindeki hücrelerin arasında bulunan ve onları destekleyen bir

kompleks yapıdır. Dokulara destek sağlayan, hücrelerin şekil ve fonksiyonunda, gelişiminde, çoğalmasında canlılığını sürdürmesinde, migrasyonunda ve hücrelerin dokuları oluşturmada görev yapmaktadır.

Bu geçici çevrenin karmaşıklığı, direkt ve indirekt sinyaller göndererek hücrel davranış dinamik olarak etkiler. Örneğin, kemikte, düzenli kollajen tip I ECM'nin varlığı, osteoprogenitor hücrelerinin olgun osteoblastlara doğru gelişimi için gereklidir. Hücreler ve ECM arasındaki bu tip etkileşimler, migrasyon, çoğalma, farklılaşma, gen ekspresyonu, hormon ve büyüme faktörlerinin salgılanması gibi hücrel aktiviteleri ayarlar. Bu nedenle, doğal ortama ne kadar yakın bir çevre elde edilirse (kimyasal bileşim, morfoloji, yüzey fonksiyonel grupları gibi), doku çatısının başarısı da o kadar fazla olur (Pham ve ark. 2006).

Doku çatıları, organ görevini tam olarak yerine getirmeye başlayınca kadar, destek yapı görevi görür. Doku çatısı, in vitro ortamda hücrelerin tutunması ve çoğalması için oluşturulmuş üç boyutlu yapılardır. Hücre/doku çatısı yapısı doku tedavisi için hasarlı bölgeye implant edilebilir.

Farklı konstrüksiyonda doku çatılarının kullanımı ve modifikasyonu, doku mühendisliğinde en çok kullanılan yöntemdir. Doğal ECM gibi davranan üç boyutlu doku çatısı doku mühendisliğinde anahtar bileşendir. Bir doku çatısından beklenen özellikler:

- Yapısının ve fonksiyonlarının doğal ECM'ye benzer olması,
- Belirli aralıkta gözenek boyutuna sahip olması,
- Doku yenilenmesi hızına uyumlu degradasyon hızına sahip olmasıdır (Kun ve ark. 2009).

Oluşturulan yapay ECM, in vivo ortamda hücrelerin kendi mikro-çevreleri ile etkileşimine izin vermelidir. Öncelikle, fibrilsel doku çatıları, hücre tutunmasını, migrasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlamak için çok geniş yüzey alanına sahip olmalıdır. Ayrıca, tedavi amaçlı kullanımlarda biyokimyasal faktörlerin hedef organa ulaşmasını sağlamak için biyokimyasalları taşıyıcı olarak görev yapabilmelidir.

Bu çok yüksek gözenekliliğe sahip yapılar, oksijen ve hücre büyüme faktörleri gibi vital hücre besinlerinin girişine izin vermeli ve hücre büyümesi sırasında salgılana biyomoleküllerin kolay bir şekilde difüzyonuna izin vermelidir.

Son zamanlarda, çapları 1 μm 'nin altında olan nanoliflerden yapılan doku çatılarının kullanımı önem kazanmıştır. Doku mühendisliği alanında, doku çatısı olarak kullanılmaya başlanan nanoliflerden oluşan doku çatıları, makro liflerden oluşan doku çatılarına göre daha üstün özelliklere sahiptir. Nanolifli yapıların bazı avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- Yüksek yüzey alanı/hacim oranı sayesinde vitronektin ve fibronektin gibi adhezyon moleküllerinin absorpsiyonu artar.
- Nanolifler küçük boyutlarından dolayı doğal ECM'ye benzer yapı sağlar ve hücre etkileşimini artırır.
- Nanoliflerden oluşan doku çatıları, hücrelerin çoğalması ve belirli hücre fenotiplerinin sürdürülebilirliğini sağlayan bir ortam oluşturur.
- Nanoliflerden oluşan doku çatılarına ekilen stem hücreleri farklı hücre hatlarına farklılaşabilir, böylece tek bir stem hücresinden başlayan ve farklı hücre hatlarından oluşan kompleks dokuların oluşması olanağı sağlanmış olur.
- Nanoliflerden oluşan doku çatıları, doğal doku büyümesini taklit eden hem fiziksel hem de boyutsal destek sağlayan yapılardır (Kun ve ark. 2009).

Başarılı bir şekilde doku restorasyonunu ve organ fonksiyonunu sağlamak için doku çatılarından beklenen bazı temel özellikler vardır. Öncelikle gözenek boyutu yeterli ve gözeneklilik hücre ekimini kolaylaştıracak ve hücre besini ile metabolik atıkların değişimine izin verecek kadar yeterince yüksek olmalıdır. Fibrilsel bir doku çatısında hücreler çevrelerindeki lifleri bir kenara iterek yerleşirler ve doku çatısındaki gözenekleri büyütürler. Böylece, fibrilsel doku çatıları hücrelere gözenek çapını optimal olarak ayarlama ve daha küçük olan bazı gözeneklere migrasyon imkanı sağlar.

Doku çatılarının mekanik özellikleri de doku mühendisliği açısından oldukça önemli bir konudur. Çünkü doku çatıları sadece hücre yerleşimi için çatı görevi görmez. Bu nedenle doku çatısı hasta doku iyileşene kadar mekanik stabilitesini de korumalıdır. Bir

doku çatısının en az iki temel mekaniksel özelliği karşılaması gerekir (Li ve ark. 2002). Bunlar,

- Doktorun doku çatısını hasta bölgeye implant ettiği süre boyunca stabil olmalı,
- İmplantasyondan sonra, biyobozunma prosesinde, doku yenilenmesi gerçekleşinceye kadar yeterli biyomekaniksel desteği sağlamalıdır (Li ve ark. 2002).

Bir doku çatısının mekaniksel özelliği sadece malzemenin kimyasal yapısı gibi özelliklerle değil, konstrüksiyon geometrisi gibi özelliklerle de belirlenir (Li ve ark. 2002).

Örneğin vasküler graft gibi nabız içeren uygulamalarında, kompians ve malzemenin elastisitesi gibi mekaniksel özellikler ön plana çıkar (Wang ve ark. 2005). Eğer graftın kompiansı ve esnekliği istenen değerleri karşılamazsa, kan akış distürbansı oluşabilir ve anastomik bölge yanlarındaki mekanik gerilim artacağı için endotel yaralanmalar gerçekleşebilir (Doi ve ark. 1997). Fakat doku çatısı malzemesi olarak elastik liflerin ya da polimerlerin kullanımı ile hemodinamik basınca karşı kompians arttırılabilir (Wang ve ark. 2005).

Son olarak, “biyobozunurluk” doku çatısı malzemesinin seçiminde önemli bir parametredir. İdeal durumda, biyobozunur doku çatısı çevreleyen dokular tarafından absorbe edilir ve doku çatısından beklenen özellikleri tamamladıktan sonra vücut içinde metabolize edilir. Örneğin çok kullanılan bir biyobozunur polimer olan polilaktid-co-glikolid (PLGA), laktid ve glikolid monomerlerine hidrolize olur. Bu monomerler daha sonra Krebs döngüsü (canlı hücrelerin besinleri yükseltgeyerek enerji elde etmesini sağlayan ve bütün yaşam biçimlerinde önemli bir yer tutan kimyasal süreçlerin son aşaması) ile su ve karbon dioksit dönüşür (Bazile ve ark. 1992). Bozunma hızı, doku oluşumuna uyumlu olmalıdır. Bunun anlamı, doku çatısı zamanla bozunurken, hücreler çoğalmalı ve farklılaşarak doğal ECM’yi oluşturmalıdır.

2.1.2. İlaç taşınım sistemleri

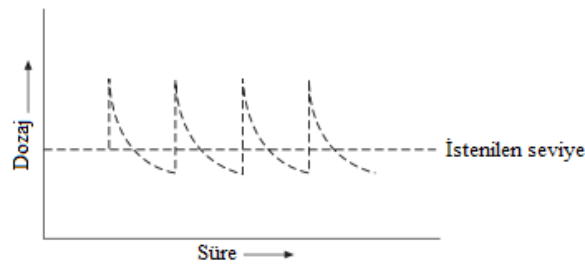
Yüksek gözenekli, küçük gözenek boyutlu, yüksek yüzey alanına sahip, nano seviyesinde çaplara sahip liflerden oluşan yüzeylerin uygulama alanları, bu üstün özellikler nedeniyle günden güne artmaktadır.

Medikal uygulamaları arasında doku mühendisliği uygulamalarının yanı sıra, ilaç taşınım sistemi olarak kullanımları da mevcuttur.

İlaç taşınım sistemleri, hastalıklı bölgeye ilacın kontrollü ve direkt olarak verilmesini ve bu sayede, ilacın hedef organa etkin bir şekilde iletilmesini hedeflemektedir.

Nanoyapılı taşıyıcıların birçok farklı fonksiyonu yerine getirmesi gerekmektedir. Örneğin, ilacın, kan sıvısı içinde dekompoze olmasını engellemeli ve ilacın belirli süre içinde, belirli oranda kontrollü salınımını sağlamalıdır. Ayrıca, bazı membranların geçişine izin vermeli ve sadece hedef organa iletim yapılmasını sağlamalıdır. Ayrıca ilaç salınımı, iç veya dış tetikleyiciler tarafından tetiklenmeli ve tedavi süresince etkinliğini korumalıdır (Greiner and Wendhorrf 2007).

Konvansiyonel ilaç taşınımında, uygulanan dozlar, kandaki ilaç konsantrasyonunun tedavi süresince dalgalanmasına neden olur (Şekil 2.2). Bu nedenle, belirli sürelerin üzerinde, konsantrasyon, biyotoksositeye neden olabilen ve tavsiye edilen maksimum konsantrasyon değerini (C_{max}) aşabilir. Veya teröpatik etkiyi azaltabilen minimum konsantrasyon değerinin (C_{min}) altına düşebilir. İlaçtan en yüksek teröpatik etkiyi elde edebilmek için, tedavi süresince vücut dokusundaki optimum konsantrasyon (C), $\{(C_{min}) < C < (C_{max})\}$ korunmalıdır (Andrady 2008).



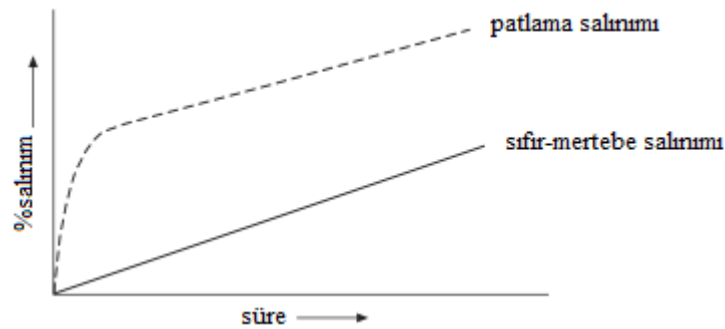
Şekil 2.2. Konvansiyonel ilaç taşıma sistemlerindeki ilaç dozajının zamanla değişimi (Nierstraszc 2007).

Kontrollü ilaç taşınım sistemleri ile birlikte, ilacın biyouygunluğu tedavi boyunca optimuma yakın olacak şekilde tasarlanabilmektedir. Ayrıca, kontrollü salınımında kullanılan ilacın miktarı daha düşük olduğu için, olası yan etkiler azaltılmaktadır.

Doku mühendisliğinde, polimerik doku çatıları tasarlanırken, büyüme faktörleri ve diğer biyoaktif ajanlar zaman içinde büyüyen dokuya verilebilir (Pham ve ark. 2006). Yara örtüsü veya yapay organ gibi nanolif uygulamalarında kontrollü antibiyotik salınımı iyileşme sürecine yardımcı olabilir (Katti ve ark. 2004).

Bazı ilaçlar, bazen saatlerce, günlerce veya aylarca devam eden, sabit fakat yavaş salınım oranı gerektirir. Bu durum kolayca elde edilebilecekmiş gibi görünmesine rağmen, bu tarz sıfır-mertebe ilaç salınım kinetiklerini elde etmek mümkün değildir (Nierstrasz 2007).

Sıfır-mertebe salınım kinetiklerinde, ilaç salınım oranı sabittir ve ilaç konsantrasyonunun kendisinden bağımsızdır. Bazı tekstil bazlı ilaç salınım sistemlerinde, öncelikle bir patlama salınımı görülür (Şekil 2.3). İlaç taşınım sisteminden, ilk olarak çok önemli bir miktar ilaç salınır ve daha sonra sıfır-mertebe salınım kinetikleri devreye girer. Salınım kinetikleri ortamdan, ilaç ve taşıyıcı seçiminden etkilenir (Nierstrasz 2007).



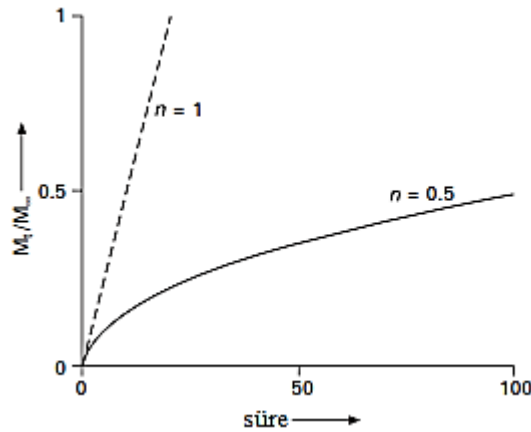
Şekil 2.3. Patlama salınımı ve sıfır-mertebe salınımı (Nierstrasz 2007).

Taşıyıcı malzemeden salınan ilaç miktarını ve kinetiklerini etkileyen birçok parametre vardır. Bu parametreler, ilacın moleküler ağırlığı, konsantrasyon, difüzyon katsayısı, adsorpsiyon ve desorpsiyon sabitleri, yük (iyon değişimi), polimerizasyon derecesi, biyobozunurluk, taşıyıcının aşınması, iyonik güç, sıcaklık ve pH'tır.

Polimerlerden salınan ilacın verileri, Korsmeyer denklemi ile ifade edilir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_k t^n \quad (2.1)$$

Burada M_t/M_∞ ilacın salınım kesridir. M_t , t anında salınan ilaç miktarıdır, M_∞ ilaç taşınım sistemindeki toplam ilaç miktarı, k_k Korsmeyer sabiti (ilaç/polimer sisteminin karakteristik kinetik sabiti), t salınım süresi ve n , salınım mekanizmasını karakterize eden difüzyon katsayısıdır. Sıfır-mertebe kinetikleri $n=1$ ile Fick difüzyonu $n=0,5$ ile non-Fick difüzyon $0,5 < n < 1$ ile karakterize edilir (Şekil 2.4) (Nierstrasz 2007).



Şekil 2.4. Sıfır-mertebe ve Fick difüzyonu (Korsmeyer denklemi) (Nierstrasz 2007)

Kontrollü salınımda en basit konfigürasyon, ilacın yüksek konsantrasyonlu çözelti içinde çözündürülmesi veya partiküllerin süspanse halde olduğu durumlardır. Bu durumlarda ilaç salınımı 4 yolla gerçekleşir:

1. Polimer matriksinden, çevredeki dokuya difüzyonu,
2. Liflerin biyobozunması ile çözünmüş ilacın salınımı,
3. Kovalent olarak bağlanmış ilacın bağların hidrolitik ayrılması nedeniyle yavaş salınımı,
4. Lifin çözünmesi ile ilacın çok hızlı iletilmesi (Andrady 2008).

Prensip, polimer esaslı ilaç taşınım sistemlerinde bu mekanizmalardan herhangi biri ile salınım gerçekleşebilmesine rağmen, yapılan araştırmalarda salınımın başlıca 1 numaralı mekanizma ile gerçekleştiği belirtilmiştir (Andrady 2008).

Nanolifli ilaç taşıma sistemlerinde, belirli tipteki ilaçların polimer matriksi içine katılmasının, elektro çekim çözeltisinin iletkenliğinin artması nedeniyle, lif çaplarında artışa neden olduğu gözlenmiştir (Luong-Van ve ark. 2006).

Çözünmüş maddenin polimerlerden difüzyonunun kinetikleri Crank (1980) tarafından ortaya konmuştur (Eşitlik 2.2). Bu ifadeler, Fick Kanunları'nın uygulandığı varsayılarak yapılmıştır. Bu eşitliğe göre, molekül hareketi iki bölge arasında konsantrasyon gradyanı "sıfır" oluncaya kadar devam eder.

$$J = -D (dc/dx) \quad (2.2)$$

Burada, J ilacın bölgesel akışı ($\text{g}/\text{cm}^2.\text{s}$), D , ilacın konsantrasyondan bağımsız difüzyon katsayısı, ve (dc/dx) konsantrasyon gradyanıdır.

(dc/dx) difüzyonun gerçekleşmesini sağlayan itici güçtür. Deneysel olarak, t anındaki polimer matriksinden salınan ilaç oranı (M_t/M_∞) en çok ölçülen niceliktir. Tipik bir ilaç salınım çalışmasında, ilaç yüklü nanolifli yüzey numunesi, iyi karıştırılmış tampon çözelti içine yerleştirilir ve ilaç salınımı spektroskopik olarak belirli süre boyunca izlenir. Farklı geometrilerdeki monolitik polimer salınım sistemleri için (M_t/M_∞) ile t arasındaki ilişki elde edilmiştir (Crank 1980).

Kısa süreler için en basit plaka geometrisi Eşitlik 2.3 ile ifade edilir:

$$(M_t/M_\infty) = 4(D \cdot t / \pi r^2)^{1/2} \quad (2.3)$$

Burada r plakanın kalınlığı ve D difüzyon katsayısıdır. İlaç salınımı $t^{1/2}$ ile değişmektedir. Düşük yoğunluklu, nanoliflerin birbirinden aralıklı olarak çekildiği sistemlerde, daha silindirik olarak kabul edilir. Dairesel enine kesite sahip ve r çaplı lifte, eşitlik aşağıdaki şekle dönüşür (Comyn 1985).

$(M_t/M_\infty) \leq 0,4$ lduğu salınımın erken aşamalarında, eşitlik yaklaşık olarak;

$$(M_t/M_\infty) = 4(D \cdot t / \pi r^2)^{1/2} - (D \cdot t / r^2) \quad (2.4)$$

$$d(M_t/M_\infty)/dt = 2(D / \pi r^2 t)^{1/2} - (D/r^2) \quad (2.5)$$

$(M_t/M_\infty) > 0,6$ olduğunda daha karışık bir eşitlik uygulanır:

$$(M_t/M_\infty) = 1 - 4/(2,405)^2 \exp\{-(2,405)^2 Dt/r^2\} \quad (2.6)$$

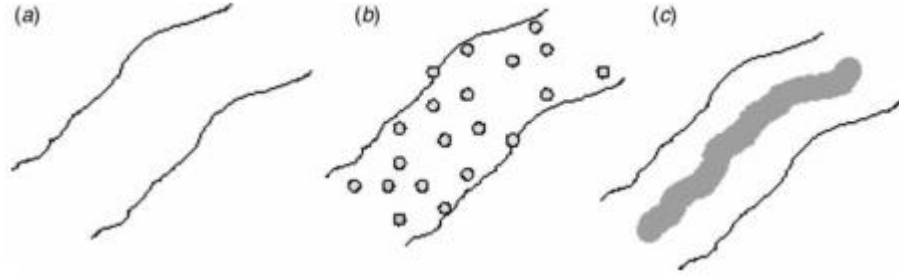
$$d(M_t/M_\infty)/dt = (4D/r^2) \exp\{-(2,405)^2 Dt/r^2\} \quad (2.7)$$

Burada, M_t t anında salınmış olan ilaç miktarı ve M_∞ sonlu zamanda salınan toplam ilaç miktarıdır. Salınım kinetikleri polimerin kristalinitesinden etkilenir. Çözünmüş ilacı taşıyan, matriksin amorf oranıdır.

İnce film geometrisine sahip ilaç taşıyıcı sistemlere uygulanan Fick'in ikinci kanunu nanolifli yüzeylere de uygulanabilir. Fick'in birinci kanuna göre konsantrasyonun mesafe ile değişimi zamandan bağımsız iken, Fick'in ikinci kanuna göre konsantrasyon ve akış hem zaman hem de mesafeye bağlıdır. Kısaca, konsantrasyon ve akış mesafenin bir fonksiyonudur. Yapılan araştırmalarda nanolifli yüzeylerden elde edilen salınım verileri ile ince filmlerden elde edilen salınım verilerindeki difüzyon katsayılarının hem ince filmlerde hem de nanolifli yüzeylerde hemen hemen aynı olduğu görülmüştür (Luong-Van ve ark. 2006).

İlaç Yüklü Lifler: İlacın salınım kinetikleri, polimerin yarı kristalin yapısı ve polimer/ilâç kompozitinin morfolojisi tarafından kontrol edilir. Kissel ve arkadaşları (1993) ilaç yüklü polimerler için üç basit morfolojik model önermiştir. Verreck ve arkadaşları (2003) bu modelleri ilaç yüklü nanoliflere uygulamıştır (Şekil 2.5):

- İlaç, polimer matriksinde moleküler seviyede çözünür,
- İlaç, polimer matriksinde kristalin veya amorf parçacıklar olarak dağılır,
- İlaç polimer tabakaları arasında hapsolür.



Şekil 2.5. İlaç yüklü nanoliflerdeki üç morfolojik modelin gösterimi (Andrady 2008)

Polimer içindeki ilacın çözünürlüğü, maksimum ilaç yüklemesini sınırladığı için 1 numaralı tipe çok fazla ilgi yoktur. İmplanttaki nanolifin kütlesi küçük ise, çoğu ilacın küçük miktarlarını taşıyabilir. 2 numaralı model, aynı sistemin daha fazla ilaç yüklenebildiği tiptir. Bu modeli içeren çok sayıda nanolif temelli ilaç salınım sistemleri mevcuttur. Nanolifli yüzeylerin yüksek gözenekliliği, biyobozunur sistemlerde biyobozunma ürünlerinin çok hızlı şekilde atılmasına neden olur.

İlacın polimer matriksinde üniform olarak çözündüğü Model 1’de, nanoliflerin salınım kinetikleri, yüzeyin monodispers silindirlerden oluştuğu varsayılarak hesaplanabilir. Düşük çözünürlüğe sahip ilaçlar ile çalışılırken, özellikle yüksek yüklemelerde, nanolifler boncuk oluşturma eğilimindedir (Zhang ve ark. 2005) ve bu kabul her zaman doğru bir kabul olmaz. Chew ve arkadaşları (2005), ϵ -kaprolaktam ve etiletilen fosfatın kopolimerinden ürettikleri nanoliflerden protein ile stabilize edilmiş insan beta sinir hücresi büyüme faktörü salınımını çalışmışlardır. Verileri analiz etmek için, tamamen silindir matriks mono dispersten tek boyutlu difüzyon için, batma durumunda bir Fick kinetik ekspresyonu elde edilmiştir (Ritger ve Peppas 1987). Salınım verisini tanımlamak için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır:

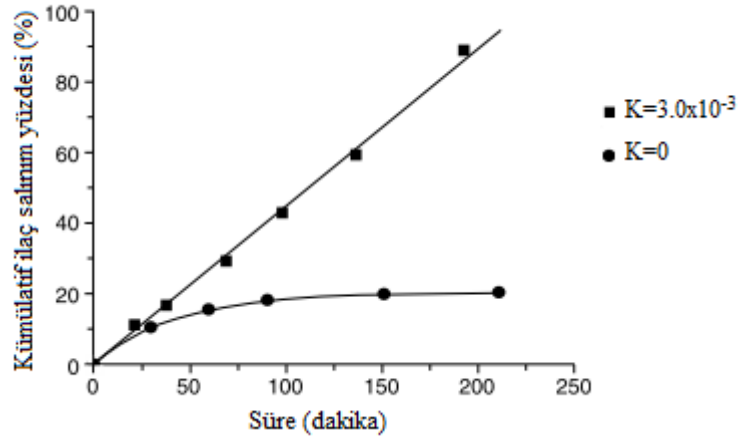
$$(M_t/M_\infty) = 0,19t^{0,34} \quad (r^2=0,99) \quad (2.8)$$

Fick modellerinde ilacın polimer içinde üniform dağılımı kabul edilirse, polimer ve ilacın iyi uyumlu olması beklenir. Ekspansiyelin değeri, tahmin edilenden düşüktür ($k \sim 0,45$). Bu durum büyük olasılıkla yüzey içindeki lif çaplarının heterojen olması ve lif morfolojisinin yarı-kristalin olması nedeniyledir.

İlaç yüklü nanolif morfolojisinin Model 2 gibi olduğu durumlarda, taşıma sistemi şu şekilde olur. İlaç önce çözünür. Çözünen ilaç, lif yüzeyine difüzyon yolu ile ulaşır ve lif/tampon arayüzey arasındaki sınır tabakada ayrılır. Son olarak, ilaç molekülleri sınır tabakadan, sıvı ortama difüzlenir. Higuchi (1961) ve Roseman (1972) prosesin kinetiklerini ilaç taşıma progresi devam ederken, yüzey tabakalarında bulunan ilaç açısından (deplezyon bölgesi yaklaşımı) açıklamak için nicel formülasyonlar elde etmişlerdir.

Model 2'deki morfolojiye sahip nanoliflerde, ilaç salınım profili incelenirken, başlangıçta ani ve yüksek bir salınım görülür. Bu bölgeye “patlama salınımı” adı verilir (Kenawy ve ark. 2002, Jiang ve ark. 2004, Luu ve ark. 2003). Patlama salınımının süresi, polimer/ilaç sistemine göre değişmekle beraber, birkaç saatten birkaç güne kadar sürebilen bir süreçtir. Nanolifin ilaçla doyurulduğu sistemlerde de bazen patlama salınımı görülebilir (Comyn 1985). Fakat gömülü olan ilaç partiküllerinin hızlı çözünmesi ve nanolif yüzeyinde kısmen açığa çıkması bu durumu çok fazla etkiler (Kenawy ve ark. 2002, Zeng ve ark. 2003). Düşük konsantrasyonlardaki ilaç yüklemelerinde, genellikle patlama salınımı görülmez (Verreck ve ark. 2003, Zong ve ark. 2002).

Patlama salınımı, kontrollü ilaç salınımının gerçekleşmesinin istendiği bölgelerde, özellikle antibiyotik ve antikanser ilacı gibi ilacın sürekli belirli dozlarda salınmasının gerekli olduğu durumlarda istenmez. Kontrollü ilaç salınım çalışmalarında, patlama salınımının minimuma indirgenmesi üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Şekil 2.6'da, Zeng ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışma gösterilmektedir. Araştırmalar, biyobozunur PLLA polimerinden doksorubisinin salınımını, polimerin degradasyonuna neden olan enzimin varlığı ve yokluğu altında çalışmışlardır. Burada ilk salınım mekanizması biyoaşınmadır. Enzimin yokluğunda, sadece çok az difüzitif salınım elde edilmiştir.



Şekil 2.6. Proteinaz K varlığında ve yokluğunda, doksorubisinin zamanla salınım oranları (Zeng ve ark. 2005)

Proteinaz K varlığında, beklenen sıfır-mertebe kinetikleri elde edilmiştir. İlacın salınım kinetikleri, devamlı olarak lif morfolojisi tarafından ve kısmen ilaç/matriks etkileşimleri ile kontrol edilmektedir.

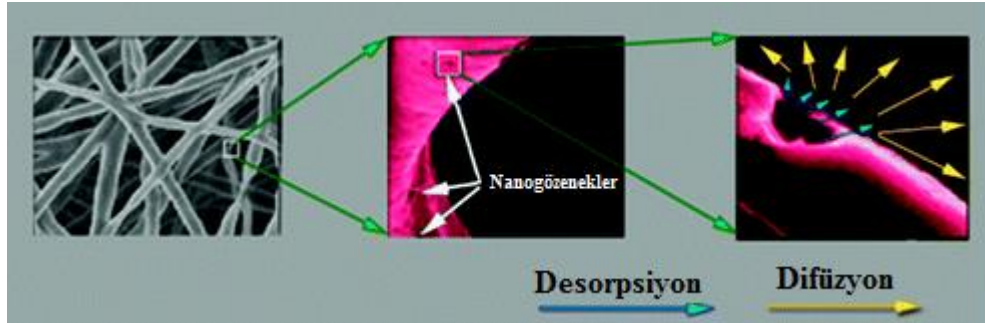
Model 3'deki morfolojiye sahip nanoliflerin, diğer iki modele göre en büyük avantajı, ilaç veya biyolojik materyalin (proin veya DNA gibi), elektro çekim çözücüler ile etkileşime girmemesi ve bu nedenle oluşabilecek etkinliğin azalması veya ilacın bozulması durumlarının önüne geçilebilmesidir. Merkez-kabuk nanoliflerinde, ilaç merkez tabaka içine hapsedilir. İlaç salınımının kinetik özellikleri, ilacın nanolif matriksi içinde dağıldığı ilaç salınım profillerine nicel olarak benzerdir (Andrady 2008).

Desorpsiyon Limitli Salınım Mekanizmaları: Genel olarak, yukarıda anlatılan sistemler de dahil olmak üzere, lif içine hapsedilmiş bileşenlerin sulu ortama olan salınımları katı-hal difüzyonu ile açıklanmıştır. Bu kabul altında, yeterince uzun süre beklendiğinde, hapsedilmiş bileşenin %100 oranında salınması beklenmektedir.

Ancak Srikar ve arkadaşlarının (2008) çalışmasında, biyolojik olarak bozunmayan polimerler ile yapılan deneylerde, 100% salınımın gerçekleşmediğini ve katı-hal difüzyonunun, öncelikli salınım mekanizması olmayabileceğini ortaya koymuşlardır.

Araştırmacılar, bu durumlarda salınımı, lifin içindeki veya dış yüzeyindeki nanogözenekler içine gömülü bulunan bileşenlerin sulu ortama desorpsiyonu ile açıklamışlardır. Salınımdan sonra, suda çözünebilen bileşen hızla suya difüze olmuştur. Bu proseste salınım oranını belirleyen mekanizma sınırlı desorpsiyon basamağıdır (Srikar 2008).

Nanogözeneklilik, elektro çekim yöntemi ile üretilen liflerde iki şekilde oluşabilir. Bunlardan birincisi, ortam nemi nedeniyle polimer çözeltisi ve su buharının etkileşime girmesi ve faz ayrımıdır. Fakat bu tip gözeneklilik oluşumu, kuru ortamda yapılan üretimler için geçerli değildir. Gözeneklilik oluşumuna neden olan ikinci durum, elektro çekim sırasında çözücünün uzaklaşmasıdır (Şekil 2.7) (Dror ve ark. 2007). Burada, polimer jeti çekim alanında hareket ederken polimer çözeltisinde çekirdekleşme ve çözücü buharının balonlaşması ile gözeneklilik oluşumu başlar. Bu tip balonlaşmaya, çözelti viskozitesi karşı koyar (Doi ve Edwards 1986, Yarin ve ark. 1999). Bu nedenle, yüksek molekül ağırlıklı ve yüksek konsantrasyonlu çözeltiler ile üretilen nanoliflerde gözeneklilik daha az olur.



Şekil 2.7. Polimerik nanoliflerdeki gözeneklerin görünümü
(<http://www.uic.edu/labs/MNFTL/research/>, 2014)

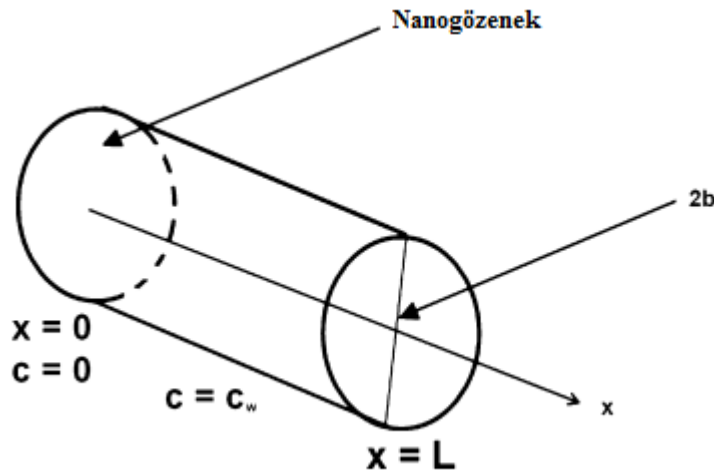
Bu yüzey salınım mekanizmasının çıktılarından birisi, sadece yüzeyin üzerindeki ve gözenek yüzeylerindeki bileşenin salınması, lifin içinde gömülü olan bileşenin yeterince uzun süreler (günlerden-aylara kadar) beklenmesine rağmen salınmayacağını göstermektedir (Srikar ve ark. 2008).

Sonuç olarak, bu durumlarda, tamamiyle salınım mümkün olmaz. Salınımı etkileyen faktörler: nanogözenekliliği ve desorpsiyon entalpisini etkileyen polimer içeriği,

polimerin molekül ağırlığı, nanolif yapısıdır (monolitik lifler, kabuk/merkez lifler) (Srikar ve ark. 2008).

Daha yoğun polimer konsantrasyonlu çözeltilerden üretilen monolitik yapılu lifler daha az gözeneklidir ve tek bir lifin üzerinde nanogözenek yüzeyinde daha az madde (boya, ilaç vb.) yerleşir. Dolayısıyla, su ile temas halinde, salınan madde miktarı daha az olur (Srikar ve ark. 2008).

Desorpsiyon Limitli Salınım Mekanizmalarının Fiziksel Mekanizması: Srikar ve arkadaşları (2008) çalışmalarında, nanogözeneklerin, nanoliflerin içinde dış yüzeye açılan çıkışları olduğunu varsaymışlardır (Şekil 2.8) .



Şekil 2.8. Polimer matriksi içindeki, çapı $2b$ olan silindirik gözeneğin şematik gösterimi. $x=0$ 'da gözenek açıktır ve $x=L$ 'de kapalıdır (Srikar ve ark. 2008)

Burada, L ; gözenek uzunluğuna, b ; enine kesit yarıçapına, $x=0$ lif yüzeyine denk gelir ve lif suya batırıldığında sulu banyoya doğru bir çıkıştır.

Araştırmacılar, nanoliflerdeki nanogözeneklerin dış yüzeye çıkışları olduğunu varsaymışlardır. Böylece dışarıdaki suya ulaşabilmektedir. Çalışmada, model ilaç olarak Rhodamin B floresan boyarmaddesi kullanılmıştır.

Nanogözeneğin su ile dolması için gerekli süre, boyarmadde salınım prosesinin uzunluğu ile karşılaştırıldığında ihmal edilebilecek kadar küçüktür. Bu nedenle,

çalışmanın başında nanogözeneklerin su ile dolu olduğu varsayılarak modelleme yapılmıştır (Srikan ve ark. 2008).

Elektro çekim ile nanolif üretilirken, nanogözenek yüzey katmanının polimer matriksi içinde gömülü boyarmadde içerdiğini ve çözücünün uzaklaştığını varsayalım. Ve salınım prosesinin başında ($t=0$), nanogözenek sadece su ile dolu olduğunu varsayalım.

Bu durumda başlangıçta yüzeydeki boya yoğunluğu Eşitlik 2.9 olur:

$$\rho_{sdo} = \rho_p \cdot 2a \cdot M_{do}/M_p \quad (2.9)$$

Burada, ρ_p , ortalama polimerik lif yoğunluğu; $2a$, molekül boyutu, M_{do}/M_p başlangıçtaki boya miktarının, polimer miktarına oranıdır.

Bir polimerin yüzey yoğunluğu, $\rho_{sp} = \rho_p \gg \rho_{sdo}$ 'dır. Nanogözenek yüzeyinden olan boyarmadde desorpsiyonu, yüzey yakınlarındaki suda belirli bir başlangıç boyarmadde konsantrasyonuna (c_{w0} , gr/cm³) neden olur. Bu değer, nanogözenek yüzeyindeki spesifik başlangıç boyarmadde konsantrasyonu (ρ_{sdo}/ρ_{sp}) ile orantılıdır:

$$c_{w0} = k(T) \cdot \rho_{sdo}/\rho_{sp} \quad (2.10)$$

$k(T)$, Clapeyron (veya Arrhenius) bağıntıları ile verilen desorpsiyon oran sabitidir:

$$k(T) = k_0 \cdot \exp(-E/RT) \quad (2.11)$$

Burada, k_0 , (gr/cm³) ön eksponansiyel katsayısıdır. E , desorpsiyon entalpsi (aktivasyon enerjisi)dir. R evsensel gaz sabitidir. T mutlak sıcaklıktır.

Boyarmadde suda çözünür olduğu için, molekülleri suya difüzyon katsayısı (D) ile difüze olur. Nanogözenekten salınım oranı, $x=0$ 'daki çıkıştan kütle akışı (J) ile belirlenir.

$$\text{Burada } J \sim D \cdot c_{w0} \cdot b^2 / L \quad (2.12)$$

Ve salınan toplam boya miktarı (G), dar gözeneklerdeki ($L \gg b$) boyarmadde miktarı, yanal yüzey ile karşılaştırıldığında ihmal edilebilecek kadar çok küçük olduğu için Eşitlik 2.13 elde edilir:

$$G \sim \rho_{sdo} \cdot L \cdot b \quad (2.13)$$

Yukarıda anlatıldığı gibi, polimer matriksi içine gömülü olan boyarmadde tamamıyla salınmaz ve sadece polimer yüzeyinden salınım gerçekleşir. Bu nedenle salınım prosesinin karakteristik süresi Eşitlik 2.14 olur:

$$\tau_r = (G/J) = (L^2 / D_{eff}) \quad (2.14)$$

Buradaki D_{eff} efektif difüzyon katsayısıdır Ve:

$$D_{eff} = D \cdot c_{w0} \cdot b / \rho_{sdo} \text{ 'dır} \quad (2.15)$$

$k_0 = 10^{-3} \text{ g/cm}^3$, $\rho_p = 1 \text{ g/cm}^3$, $b = 10^{-6} \text{ cm}$, $2a = 10^{-8} \text{ cm}$, $E = 52,7 \text{ kJ/mol}$, $T = 300 \text{ K}$ ve $D = 10^{-5} \text{ s}$ olarak kabul edilirse (gerçeğe yakın olarak alınmıştır); $D_{eff} = 10^{-15} \text{ cm}^2/\text{s}$ bulunur. D ile kıyaslanınca D_{eff} değerinin çok küçük olması, salınım prosesinin iki basamaktan oluşması nedeniyledir. Bu basamaklar:

1. Sınırlayıcı basamak olan nanogözenek duvarından boyarmaddenin desorpsiyonu
2. Daha hızlı gerçekleşen, boyarmaddenin suya difüzyonudur.

Nanogözeneklerden boyarmaddenin suya difüzyonu modellenirken, sınır şartlar belirlenmelidir. Sınır şartlarının belirlenmesinden sonra, desorpsiyon denklemlerinin dönüşümleri ile nanolifli malzemeden salınan boyarmadde miktarı Eşitlik 2.16 ile hesaplanabilir:

$$\frac{G_t}{M_{d0}} = \alpha \left[1 - \exp\left(-\frac{\pi^2 t}{8 \tau_r}\right) \right] \quad (2.16)$$

Burada, M_{d0} başlangıç anındaki ($t=0$) toplam boyarmadde miktarıdır. α , nanogözeneklilik faktörüdür ve Eşitlik 2.17 ile ifade edilir.

$$\alpha = M_{sd0} / (M_{sd0} + M_{bd0}) < 1 \quad (2.17)$$

Burada, M_{sd0} nanolif yüzeyinde başlangıçta bulunan boyarmadde miktarıdır. M_{bd0} lifin içinde bulunan boyarmadde miktarıdır.

Eşitlik 2.16'ya göre, salınım prosesi α %100 kadar bir değerde doygunluğa ulaşacaktır. Bu durumda, toplam salınım %100'ün altında olur.

Eşitlik 2.16'daki nanogözeneklilik faktörü (α), nanogözenek yüzey alanı ve dolayısıyla polimer konsantrasyonu ve polimer molekül ağırlığından etkilenir. Karakteristik zaman (τ_r) ise, polimer yoğunluğu (ρ_p) ve su varlığında, polimer yüzeyi ile boyarmadde molekülleri arasındaki moleküller arası kuvvetleri karakterize eden desorpsiyon proses parametrelerinden (k_0 ve E) etkilenir. Bu nedenle, τ_r, k_0 ve E polimer konsantrasyonu ve polimer molekül ağırlığından bağımsız olmalıdır. Bu değerler sadece su varlığında sorpsiyon-desorpsiyon proseslerinde polimer-boyarmadde arasındaki etkileşimlerden sorumludurlar.

Eşitlik 2.16, deneysel veriler ile su içindeki farklı polimerler için, boyarmadde desorpsiyon prosesinin parametrelerinin özellikle desorpsiyon entalpisinin (E) ortaya konmasına yardımcı olur.

Desorpsiyon enerjisi, su varlığında, polimer-boyarmadde sisteminde rol alan bir fonksiyondur ve bu nedenle polimer konsantrasyonu ya da molekül ağırlığından bağımsızdır.

Nanogözeneklilik faktörü (α) polimer konsantrasyonu ve molekül ağırlığı değişiminden etkilenir. Bu parametreler, numune nanogözenekliliğini ve α tarafından karakterize edilen toplam salınım değerinin belirlenmesini sağlar (Srikanth ve ark. 2008).

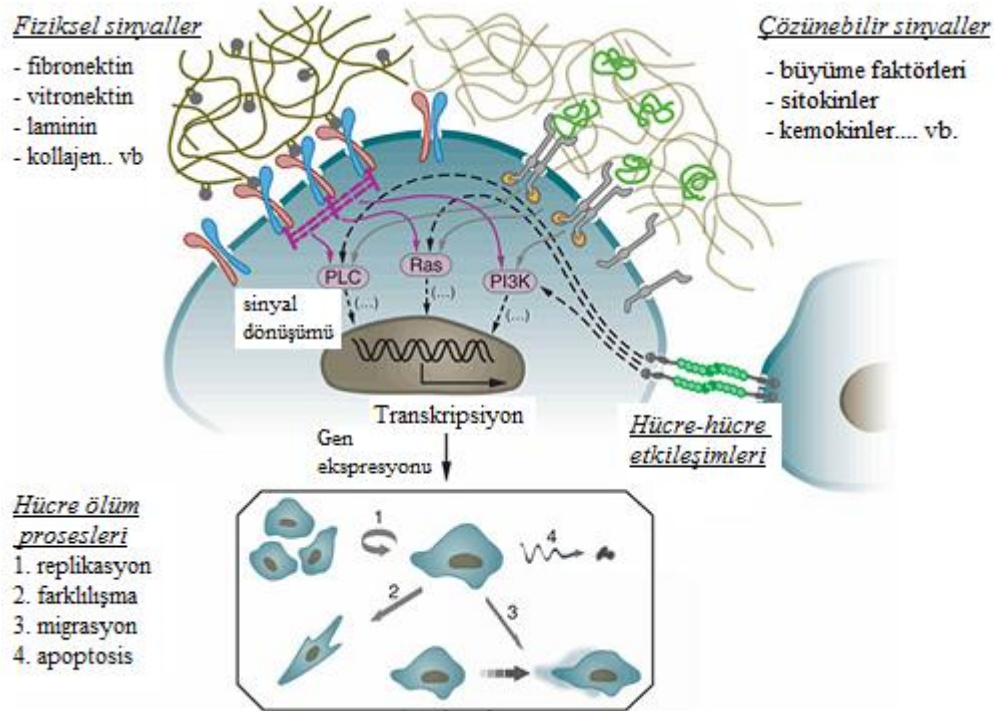
2.2. Biyolojik Dokular

Yapay organların ve doku mühendisliği uygulamalarının başarılı olabilmesi için, vücuttaki biyolojik dokuların yapı ve fonksiyonu çok iyi bilinmelidir. Biyolojik dokular genel olarak hücreler ve ekstraselüler matriks adı verilen (ECM) hücresel olmayan kısımdan oluşur. İnsan vücudundaki fizyolojik fonksiyonlar, organ tipine göre farklı özelliklere ve kimyasal kompozisyonlara sahip olan ECM ile sarılmış, çok çeşitli memeli hücrelerinden oluşan organlar tarafından koordine edilir (Gualandi 2011).

Hücreler doku bloklarının yapı taşlarıdır ve doku mühendisliği uygulamalarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Doku mühendisliği uygulamalarında hücreler, vücut dokularından ayrılır ve in vitro ortamda büyümeleri sağlanır. Birçok hücrenin büyümek için bir tutunma yüzeyine ihtiyacı vardır (Folkman ve Moscana 1978). Bu nedenle doku mühendisliği uygulamalarında genel prosedür, hücrelerin “hücre kültürü plakaları” adı verilen iki boyutlu yüzeyler üzerine ekimini yapmaktır. Hücrelerin dokulardan izolasyonu gerçekleştirildikten sonra, iki boyutlu yüzeyler üzerinde çoğaltılır ve daha sonra üç boyutlu doku çatılarına ekim yapılır. Klasik doku mühendisliğinde, tamamen farklılaşmış 210 kadar farklı memeli hücresi üzerinde çalışılır (Slack 2007). Fakat bu hücrelerin az olması, ekim sürecinin zorluğu ve hücrelerin in vitro ortamda yaşamalarının zor olması nedeniyle modern doku mühendisliği hücre kültürü çalışmalarını stem hücreleri üzerinde gerçekleştirir. Bu hücreler, in vitro ortamda kolaylıkla çoğalabilir (Vacanti J.P. ve Vacanti C.A. 2007).

Hücre davranışı, hiyerarşik düzenden ve ortamın fizikokimyasal özelliklerinden etkilenir (Şekil 2.9) (Vacanti J.P. ve Vacanti C.A. 2007). Bütün biyolojik dokularda, hücreler; bölgesel hücrelerden salgılanan, karbonhidrat ve proteinlerden oluşan, ağsı bir şekilde yerleşmiş olan ECM ile sarılmıştır. ECM kabaca; jelimsi bileşen, fibrilsel bileşen ve özelleşmiş proteinler olmak üzere üç bileşenden oluşur (Lutolf ve Hubbell 2005). Çok viskoz olan sulu jelimsi kısım, ECM’ye yağsı ve absorpsiyon özelliklerini verir. Bu kısım, glikozaminoglikan olarak adlandırılan ve polisakkaritleri oluşturan karbonhidratlardan oluşur. ECM’nin fibrilsel kısmı kollajen ve elastinden oluşur. Bu fibriller, çapları birkaç nanometreden birkaç yüz nanometreye değişen liflerden oluşan

kompleks bir ağ tabakası oluştururlar. Bu kısım dokuya rijitlik ve mukavemet kazandırır. Son olarak ECM'nin içinde büyüme faktörleri, sitokinler, enzimler gibi proteinleri barındıran kısmı bulunur. Bu kısım, çevredeki diğer hücreler ile iletişimi sağlayan kısımdır.



Şekil 2.9. Hücre ve çevresinin birbiri ile etkileşiminin şematik gösterimi (Lutolf ve Hubbell 2005)

ECM hücreler ile dinamik etkileşimi sayesinde, hücrelere destek görevi görmenin yanı sıra, hücresel davranışın düzenlenmesi ve doku yapısı ile fonksiyonlarının devamında önemli bir rol oynar.

Hücreler, kilit-anahtar mekanizmasını takip ederek, hem ECM'deki hem de çevreleyen hücrelerin yüzeyleri üzerindeki dış proteinleri birbirine bağlayan membran proteinleri aracılığıyla, sürekli olarak dış çevre ile etkileşim halindedir. Hücrede belirli bir fonksiyonu yerine getirmek için, bir çok hücre içi reaksiyon aracılığı ile, ligand-reseptör etkileşimi spesifik bir sinyale dönüştürülür (Giancotti 2000). Bu dinamik reaksiyon, hücre ölümü, şekillenmeyi ve ECM kompozisyonundaki en ufak değişiklikte hücre sel cevabın kontrol edilmesini sağlar (Bissel ve ark. 1987, Streuli ve ark. 1991, Chen ve

ark. 1997, Blaschke ve ark. 1994). Özet olarak, ECM'nin görevleri şu şekilde özetlenebilir (Veiseh ve ark. 2008):

- Mikro/nanoçevredeki hiyerarşik düzenin kurulması,
- Mekaniksel ve yapısal destek,
- Hücre şekli ve hücre polaritesinin düzenlemesi,
- Enzimler, büyüme faktörleri, proteinler gibi düzenleyici moleküllerin depolanması,
- Çoğalma, büyüme, migrasyon, farklılaşma gibi hücresel fonksiyonların düzenlenmesi

Hücre davranışının açıklanmasında ECM ve hücre ortamının çok büyük etkisi vardır. Bu nedenle doku mühendisliği uygulamalarında, hücre-ECM ve hücre-hücre etkileşimlerinin çok iyi anlaşılması gereklidir. Doku mühendisliğinde kullanılmak üzere üretilen doku çatılarının, uygun biyolojik ve mekaniksel özellikleri olmalı, hücre tutunması ve çoğalması için uygun yüzeylere sahip olmalıdır (Gualandi 2011).

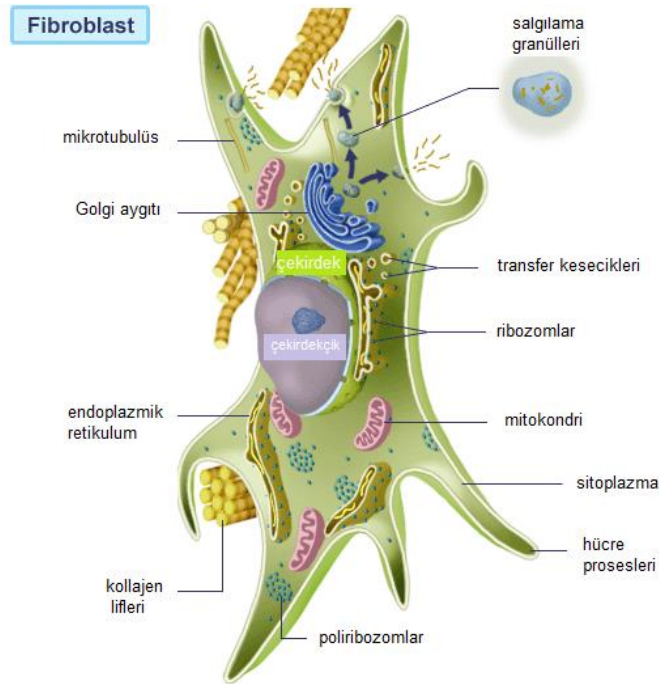
2.2.1. Fibroblast hücreleri

Fibroblast, ekstraselüler matriks ve kollajen sentezleyen hücre tipidir. Hayvan dokularının yapı çatılarıdır ve yara iyileşmesinde büyük rol oynarlar. Hayvanlarda en çok karşılaşılan bağ dokularıdır (<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-are-Fibroblasts.aspx>, 2014).

Fibroblast ve fibrositler aynı hücrenin iki farklı halidir. Fibroblast daha aktif olan haldir, fibrosit ise daha az aktif olan haldir. Bulunduğu yere ve aktivitesine göre fibroblastlar farklı görünümlere sahiptir ve morfolojik olarak heterojendirler (<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-are-Fibroblasts.aspx>, 2014).

Fibroblastların ana görevi, devamlı olarak ECM'nin yapı maddesini (prekürsör) salgılayarak, bağ dokularının yapısal bütünlüğünü sağlamaktır. Fibroblastlar, temel madde ve çeşitli lifler başta olmak üzere ECM'nin bütün bileşenlerinin ana maddelerini salgılar. ECM'nin bileşimi bağ dokularının fiziksel özelliklerini belirler (<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-do-they-do.aspx>, 2014).

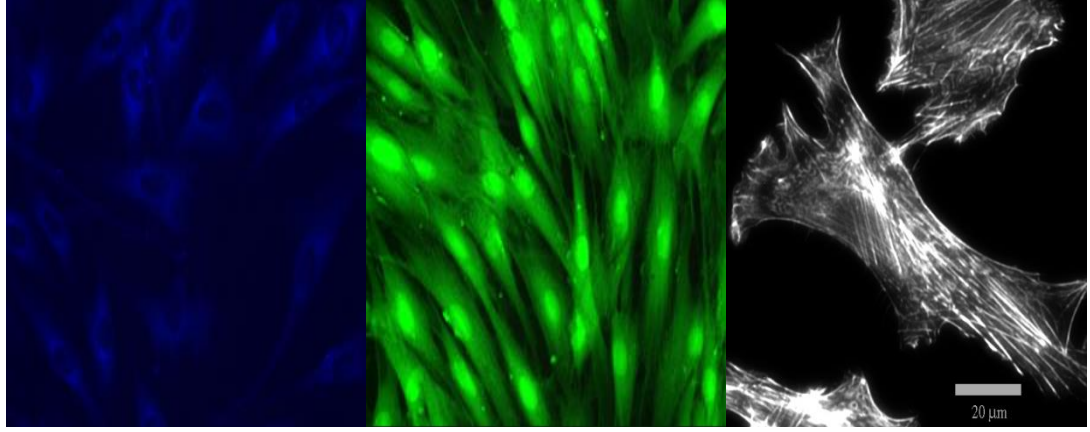
Fibroblastların, bir ya da birkaç çekirdekçikten oluşan elips şeklindeki çekirdeği sarmayalan dallanmış sitoplazmaları vardır (Şekil 2.10). Aktif fibroblastlar, çok pürüzlü yapıdaki endoplazmik retikulumları ile anlaşılabilir. Fibrisit adı verilen, aktif olmayan fibroblastlar daha küçük ve çubuk şeklindedir. Bu yapılarda daha az pürüzlü endoplazmik retikulum görülür. Geniş bir alanı kaplamaları gerektiğinde parçalanıp dağılmalarına rağmen, fibroblastlar çoğaldıkları zaman bölgesel olarak kümesel ve birbirine paralel büyürler (<http://fibroblast.org>, 2014, Milani 2013).



Şekil 2.10. Fibroblast hücrenin şematik gösterimi
(http://gunainternational.com/docs/news/12562/Art_Milani, 2014)

Fibroblastlar, ECM’de bulunan glikoaminoglikanları, ağsı ve elastik lifleri ve glikoproteinleri yapar. Büyüyen fibroblastlar bölünür ve temel maddeyi sentezler. Doku zedelenmesi, fibrositler uyarır ve fibroblastların mitoz bölünmesini sağlar (<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-do-they-do.aspx>, 2014).

Epitel hücrelerinin aksine, fibroblastlar tek katmanlı, düz yapılar oluşturmazlar. Görüntüsü, her bir hücreden çıkıntılı olarak uzayan, geniş ve düzdür. Hücre çubuk şeklinde görülür. Çekirdeği ovaldir (Şekil 2.11) (<http://fibroblast.org>, 2014).

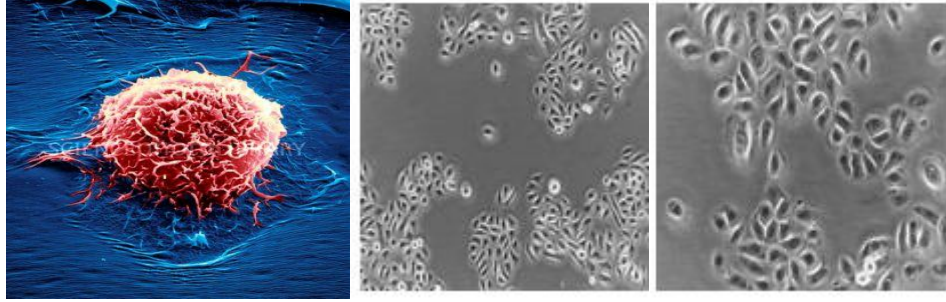


Şekil 2.11. Fibroblast hücrelerinin mikroskopik görüntüleri (<http://fibroblast.org/>, 2014) (<http://users.ece.cmu.edu/~dwg/photos.html>, 2014)

2.2.2. Keratinosit hücreleri

Keratinosit hücreleri, derinin temel yapı taşlarıdır. Deride, saçta ve tırnaklarda bulunan keratini yaparlar. Keratinositler deri sinirleri ve epidermis altındaki dokular arasında bağlantı oluşturmak için, çok sıkı bir şekilde biraraya gelirler. Bu hücreler bazal deri katmanını meydana getirirler ve epidermisin katmanları arasından dışarıya doğru büyürler. Böylece, deri yoluyla vücuda girebilecek ve enfeksiyona neden olabilecek maddelerin geçişi engellenmiş olur. Keratinosit hücreleri sürekli olarak dış tabakadan dökülür ve yerine yenisi gelir. Bazal tabakada yeni hücrenin oluşturulup, değiştirilmesi prosesi yaklaşık bir ay sürer. Şekil 2.12’de keratinosit hücrelerinin mikroskopik görüntüleri verilmiştir (<http://med-stud.narod.ru/med/immunology/skin.html>, 2014)

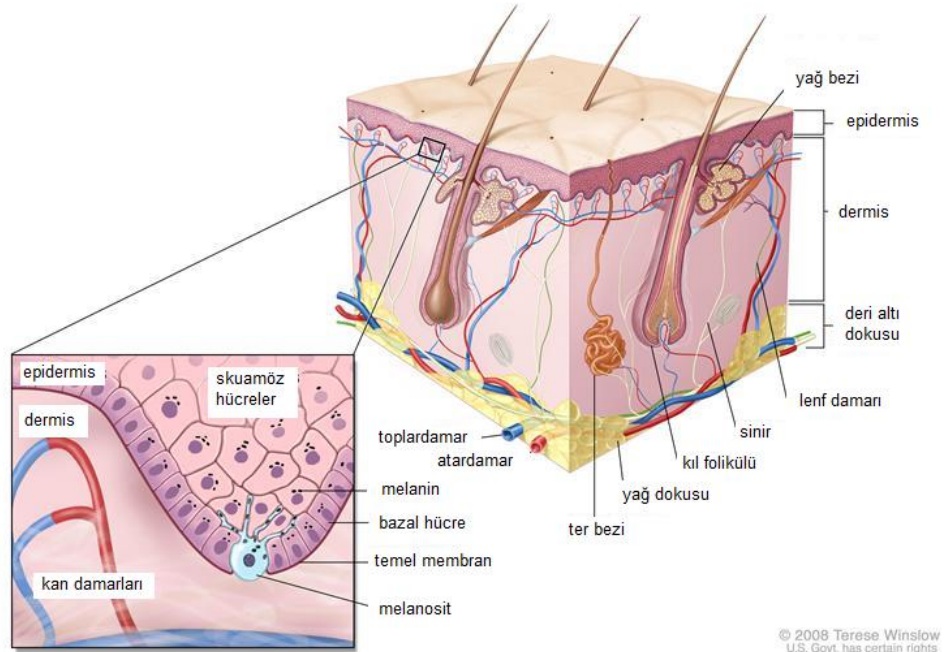
Keratinositlerin başlıca görevleri, bakteri, mantar, parazit, virüs gibi patojenlere karşı koruma sağlamaktır. Patojenler epidermisin üst tabakalarına hücum etmeye başladıklarında, keratinosit hücreleri, lökositleri patojen istilasının başladığı yere harekete geçiren kemokinez gibi proinflamatuvarlar üretir (<http://keratinocyte-transfection.com/index.html>, 2014).



Şekil 2.12. Keratinosit hücrelerinin mikroskopik görüntüleri

(<http://www.sciencephoto.com/media/101434/view> 2014, <http://www.zenbio.com/products/cells/keratinocytes.php>, 2014)

Epidermis, derinin dışındaki ince tabakadır ve üç adet alt tabakadan oluşur. En dıştaki tabaka ölü keratonist hücrelerinden oluşur. Ondan sonraki tabaka, skuamöz adı verilen canlı hücrelerden oluşur ve korumaya yardımcı olan kısımdır. Üçüncü tabaka bazal katmandır ve burada yüzeyden dökülen yaşlı hücrelerin yerine yeni hücrelerin oluşturulduğu katmandır. Şekil 2.13'te deriyi oluşturan katmanlar gösterilmektedir (<http://med-stud.narod.ru/med/immunology/skin.html>, 2014).



Şekil 2.13. Deriyi oluşturan katmanlar

(<http://www.cancer.gov/PublishedContent/MediaLinks/657700.html>, 2014)

2.3. Nanoliflerin Medikal Uygulamalarında Kullanılan Malzemeler

Doku mühendisliği uygulamalarında malzeme seçerken, öncelikle malzemenin biyouyumlu olması yani ev sahibi organizmada uygun tepkiyi başlatması gerekir. Bu tepki, uygulamadan uygulamaya göre farklılık gösterir, fakat olası bağışıklık sistemi ve inflarmatuar tepkileri en aza indirmektedir (Li ve ark. 2002).

Biyouyumluluktaki ilk araştırmalar biyoinert malzemeler üzerine olmuştur (Langer ve Vacanti 1993). Protein adsorpsiyonu ve inflarmatuar tepki hemen her implantta bir miktar görülürken, biyoinert malzeme, ECM ve onu çevreleyen dokular dahil, çevresi ile hiç spesifik etkileşime gitmez. Günümüzde ise, biyolojik çevresi ve hücrel fonksiyon gibi etkiler gösteren biyoaktif malzemeler üzerine araştırmalar yapılmaktadır (Hench ve Polak 2002). Bu etkileşimler genellikle, sentetik, doğal veya hibrit malzemelerin elektro çekim ile üretilmesi ve yüzey modifikasyonu ile gerçekleştirilir.

Doku çatısı yapımında kullanılan malzemeler, doğal polimerler ve sentetik polimerler olarak iki grupta incelenir.

Doğal polimerler, kollajen, dekstran, elastin, fibrin, kitosan gibi doğal yollarla elde edilen biyobozunur polimerlerdir. Bu tip malzemeler biyolojik tanınırlığı kolaylaştırır ve doku yenilenmesi için daha iyi bir ortam sağlarlar. Bu malzemeler hızlı absorbe edilirler ve düşük mukavemete sahiptirler. Bu polimerler, iltihabı veya alerjik durumları ortaya çıkarabilirler. Doğal polimerler arasında en düşük immünolojik cevabı kollajen ortaya çıkarır (Kun ve ark. 2009).

Sentetik polimerler, biyobozunur veya biyobozunmaz olabilirler. Polilaktid (PLA), poliglikolid (PGA), polikaprolaktan (PCL) gibi biyobozunur polimerler üzerine çalışmalar oldukça fazladır. Sentetik polimerler arasında bozunma hızı oldukça farklılık göstermektedir. PGA haftalar içinde bozunmaya uğrarken, PCL birkaç yıl içinde bozunur. Günümüzde, PLGA gibi kopolimerler, bileşenlerinin miktarları değiştirilerek bozunma süreleri kontrol edilebildiği için daha çok tercih edilmektedir. Sentetik polimerlerin diğer bir avantajı da, kontrollü parametreler ile çok miktarda üretilebilmesi

ve mukavemet, bozunma hızı, mikroyapı gibi özelliklerinin daha iyi olmasıdır (Kun ve ark. 2009).

Sentetik polimerlerin dezavantajı ise, doğal polimerler ile karşılaştırıldığında, hücresel etkileşimlerde biyolojik tanınırlıklarının daha az olmasıdır. Bu sorunun aşılması için yapılan çalışmalardan bazıları, sentetik doku çatıların yüzeylerine doğal polimerler yerleştirmek veya fabrikasyon öncesi sentetik polimerler ile doğal polimerleri blend haline getirmektir. Böylece doku çatısının mekaniksel özellikleri azalmazken, hibrit doku çatısının biyouyumluluğu artırılmış olur (Kun ve ark. 2009).

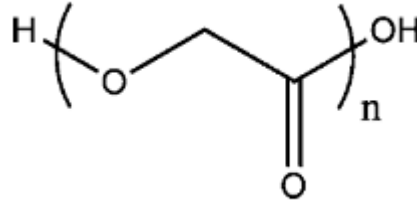
İlaç taşıma sistemlerinde kullanılmak üzere malzeme seçiminde dikkat edilmesi gereken pek çok nokta vardır. Doku mühendisliği uygulamalarında olduğu gibi, biyolojik olarak bozunan polimer kullanıldığında, implantın tekrar çıkarılması prosesine gerek kalmaz. Fakat ilaç taşınım sistemlerinde biyolojik olarak bozunan polimerlerin kullanımı ile ilacın salınımı öncelikle difüzyon ile gerçekleşeceğinden, biyolojik olarak bozunmayan polimerlerin ilaç salınımından daha kompleks bir prosedür ortaya çıkar. İlaç salınımında istenilen başlıca özellik, salınımın kontrollü olmasıdır. Biyolojik bozunan polimerler ile çalışıldığında, ilaç salınırken aynı zamanda malzeme de bozunacağı için salınımın kontrol altına alınması zor olur. Biyobozunur sistemlerin kullanıldığı ilaç taşıma sistemlerinde bu durum, ilacın fazla miktarda salınımına hatta bazı durumlarda toksik etkinin ortaya çıkmasına neden olabilir (Sill ve Recum 2008).

2.3.1. Biyolojik malzemeler

2.3.1.1. Poliglikolik asit (PGA)

PGA en basit lineer alifatik polyesterdir (Şekil 2.14). Rijit ve termoplastiktir. Mukavemeti 250 MPa'a kadar çıkabilen biyobozunur bir polimerdir. Bu nedenle, pek çok biyomalzeme uygulamalarında kullanılır. İlk olarak sentetik absorblanabilir ameliyat ipliği olarak 1960larda Davis ve Geck tarafından Dexon adı ile üretilmiştir. Yüksek mukavemeti ve bozunurluğu sayesinde, PGA implantları kemik kırıklarında pin, vida, plaka ve çubuk formlarında kullanılmışlardır. Fakat kırığın yerinin değişmesi,

düzeltilmedeki bozukluklar ve daha da önemlisi vücudun yabancı maddeye karşı gösterdiği inflarmatuar tepki nedeniyle kullanımında komplikasyonlar oluşmuştur. Genç hastalarda bu tepkinin daha az olduğu gözlenmiştir. Özellikle çocuklardaki kırıklarda PGA ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 2.14. PGA'nın kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009).

PGA'nın degradasyon ürünü olan glikolik asit (GA), vücut tarafından emilebilir. Fakat çok yüksek konsantrasyonlarda bölgesel olarak asit konsantrasyonu artabilir ve bu durumda doku hasarı oluşabilir.

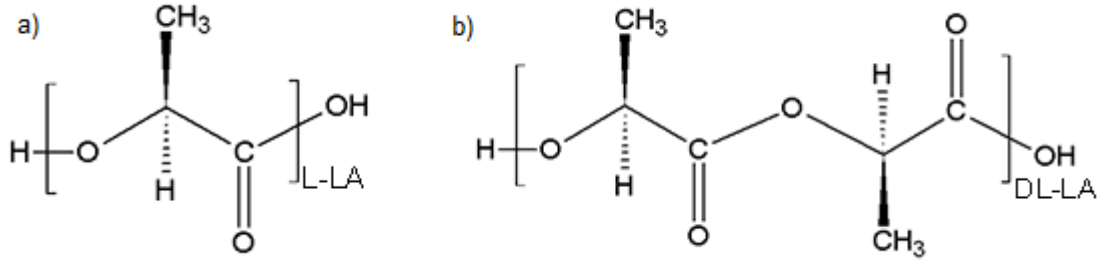
In vivo ortamda, GA karbondioksit ve suya parçalanır ve terleme ile vücuttan atıldığı düşünülmektedir. Fakat araştırmacılar, sadece LA'nın bu şekilde atıldığını, GA'nın ise glikolat oksidaza dönüştüğünü, glikolat oksidazın ise glisin ile tepkimeye girerek glisin transaminaz oluşturduğunu belirtmiştir.

PGA'nın kristalinitesi %35 -%50 arasında değişmektedir ve yüksek florlu çözücüler hariç diğer organik çözücülerde çözünmez. Literatürde, PGA polimerinden elektro çekim yöntemi ile nanolif üretiminde kullanılan çözücü genellikle heksafloroizopropanoldür. Fakat bu polimerin degradasyon oranı 20 günün altında olduğu için, genellikle doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilmezler (Dong ve ark. 2009).

2.3.1.2. Polilaktik asit (PLA)

PLA, herbir birime metil grubunun eklenmesi nedeniyle, PGA'dan daha yavaş bozunur ve çok daha hidrofobdur. Laktid monomeri, iki izomer L- ve D- laktid (L-LA ve D-LA) ve rasemik D,L-lacyid (DL-LA) olmak üzere 3 farklı formda bulunabilir (Şekil 2.15). LA birimlerinin asimetsik olarak bulunması, degradasyon oranlarının, fiziksel ve mekaniksel özelliklerin ayarlanmasını sağlar. PLA'nın üç adet stereoizomeri birbirinden

farklı özellikler gösterir. Poli(L-laktid) (PLLA), yarı kristalin polimerdir. Erime sıcaklığı 173-178 °C, kristalitesi %37-72 aralığında değişir. Poli(D,L-laktid) (PDLLA) ise amorf polimerdir ve belirli bir erime noktası yoktur. PLA polimerleri biyobozunur ameliyat iplikleri, diş implantları, kemik vida ve plakaları ve ilaç taşıyım sistemleri gibi pek çok medikal uygulamada kullanılır.

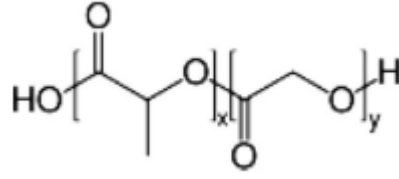


Şekil 2.15. L ve DL rasemik formdaki PLA (<http://normalpolymer.com/> 2014)

PLA nanolifli yapılar ile yapılan doku çatısı çalışmalarında, liflerin yapı içindeki yerleşiminin, hücre büyümesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Özellikle sinir hücrelerinin liflerin yerleşim yönünde büyüme gösterdikleri ve birbirine paralel liflerden oluşan yüzeylerde büyümenin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Dong ve ark. 2009).

2.3.1.3. Poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA)

PLGA, PLA ve PGA polimerlerinin kopolimeridir (Şekil 2.16) ve mükemmel biyoyumu ve değiştirilebilir bozunma oranı sayesinde doku mühendisliği uygulamalarında en çok tercih edilen polimer tipidir. GA:LA oranının 90:10 olduğu PLGA ameliyat iplikleri 8 ila 10 hafta arasında absorbe edilmektedir ve 3 hafta sonra bile mukavemetinin %50'sini korumaktadır. LA:GA oranının 7:3 olduğu PLGA polimerleri kemik klipslerinde, PLGA mikrokürecikleri ilaç taşıyım sistemlerinde kullanılmaktadır. PLGA'nın yaygın kullanımı, PLA ve PGA'nın farklı kopolimerizasyon oranları ile esnek bir şekilde değiştirilebilmesinden kaynaklanmaktadır. Böylece herbiri birbirinden farklı özellikte yeni polimerler elde edilebilmektedir.

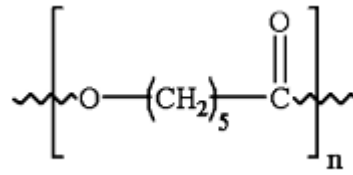


Şekil 2.16. PLGA'nın kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009)

Doku mühendisliği uygulamalarında ilk olarak kullanılan biyobozunur polimer PLGA'dır. PLGA kopolimeri, PLA ve PGA birbirine sıkı şekilde paketlenemediği için amorf yapıdadır. Araştırmacılar, PLGA doku çatılarının yüksek gözenekli ve doku mühendisliği uygulamalarına uygun yüzeyler oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (Dong ve ark. 2009).

2.3.1.4. Polikaprolakton (PCL)

Poliester ailesinin bir diğer ferdi de yarı kristalin ve biyobozunur bir polimer olan PCL'dir (Şekil 2.17). Kristalinitesi %45 ve %67 arasında değişmektedir. PCL; yavaş bozunma kinetikleri nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında PLA, PGA ve PLGA gibi diğer poliesterlere göre daha az kullanılmaktadır. Fakat yavaş bozunma özelliği, bu polimerleri uzun süreli ilaç salınım sistemlerinde ideal duruma getirmiştir. PCL'in taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerde ilaç salınımı, aşınma kontrolünde değil, difüzyon kontrolünde gerçekleşir.



Şekil 2.17. PCL'in kimyasal yapısı (Dong ve ark. 2009)

PCL düşük maliyeti ve kolay üretimi sayesinde elektro çekim sistemlerinde kullanım bulmaktadır. Ayrıca elektro çekim sisteminde PCL polimer zincirleri tekrar organize olur ve üretilen nanolifler işlem görmemiş PCL'e göre daha az kristaliniteye sahip olur (Dong ve ark. 2009).

2.3.2. Biyolojik bozunmayan malzemeler

2.3.2.1. Poliamidler (PA)

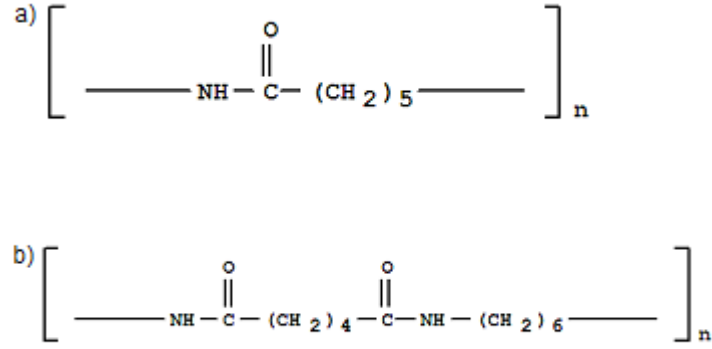
Naylon lifleri, yapısal birimleri -NH-CO- grupları ile birbirine bağlanmış lineer makromoleküllerden oluşur. Eğer yapısal birimleri alifatik ise ve iki aromatik halkaya %85'ten daha az amid bağı bağlanmış ise naylonlar, poliamid adını alır. Eğer iki aromatik halkaya %85'ten daha fazla amid bağı bağlanmış ise naylonlar aramid adını alır. Aramidlerin üretim prosesleri ve özellikleri poliamidlerden çok farklıdır (Agrawal ve Jassal 2008).

Poliamid lifleri pek çok farklı metod ile üretilebilir. Endüstride lif üretiminde en çok kullanılan iki yöntem şöyledir:

- Diaminlerin, diasitler ile kondenzasyonu,
- Laktamların hidrolitik polimerizasyonu (laktamların amino asite kadar kısmi hidrolizi

Diasitler ve diaminlerden üretilen poliamidler AABB tipi olarak adlandırılır. Bu lifler PA x,y olarak gösterilir. Burada, x ve y sırasıyla diamin ve diasitte bulunan karbon sayısıdır. Bu yöntem ile bir çek PA lifi üretilebilmesine rağmen, tekstil endüstrisinde en çok kullanılan PA 6.6'dır (Şekil 2.18) (Agrawal ve Jassal 2008).

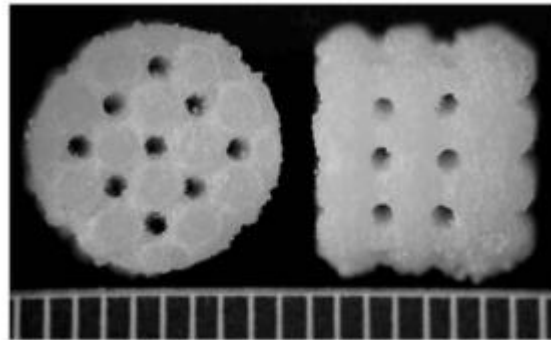
Diğer bir yöntem, zıt molekül uçları üzerindeki amin ve karboksilik asit grupları ile ω -amino asitlerin kondenzasyonunu içeren yöntemdir. Bu yöntem ile elde edilen lifler AB tipidir ve Pa x olarak gösterilir. Burada x, monomerdeki karbon atomlarının sayısıdır. PA 6 lifi bu grup içindeki ticari olarak en çok öne çıkan lif grubudur (Şekil 2.19) (Agrawal ve Jassal 2008).



Şekil 2.18. a) PA 6 ve b)PA 6.6 liflerinin kimyasal yapısı (<http://www.lookchem.com> 2014)

Poliamid lifleri yüksek mukavemet, yüksek aşınma direnci ve yüksek toparlanma davranışları gösteren biyoyumlu ve biyolojik olarak bozunmayan termoplastik liflerdir.

Günümüzde giderek önem kazanan elektro çekim yöntemi ile PA polimeri ile çözeltiden nanolif üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Kullanım alanları arasında tekstil uygulamalarının yanı sıra, ameliyat iplikleri, hücre kültür materyali, doku çatısı uygulamaları ve kontrollü ilaç salınımı gibi medikal uygulamaları da vardır (Huber ve ark. 2007, Das ve ark. 2003). Şekil 2.19’da PA 6’dan üretilen farklı geometrideki doku çatılarını göstermektedir. Yapılan çalışmalar, jelatin gibi malzemeler ile karıştırılarak poliamidlerin in vivo biyoyumluluğunun arttırılabileceği görülmüştür. (Das ve ark. 2003).



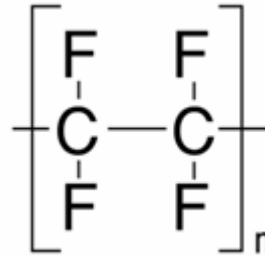
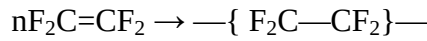
Şekil 2.19. PA 6 doku çatısı (Das ve ark. 2003)

2.3.2.2. Politetrafloroetilen (PTFE)

PTFE, pek çok uygulaması olan tetrafloroetilenin sentetik floropolimeridir. Ticari olarak bilinen ismi DuPont Co. tarafından tescillenen Teflon'dur.

PTFE, tamamiyle karbon ve flordan oluşan yüksek moleköl ağırlıklı bir florokarbondur (Şekil 2.20). PTFE hidrofobiktir. Flor, yüksek elektronegativitesi yüzünden hafifletilmiş London dispersiyon kuvvetleri gösterdiği için, ne su, ne de su içeren maddeler PTFE'yi ıslatmaz. Ayrıca PTFE, düşük sürtünme katsayısına sahip polimerlerden biridir (Hintzer ve ark. 2014).

Tetrafloroetilenin polimerizasyonu ile oluşurlar:



Şekil 2.20. PTFE'nin kimyasal yapısı (www.savillex.com 2014)

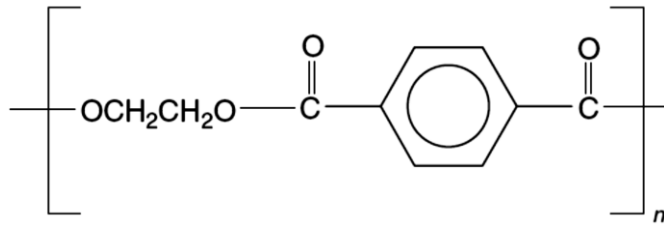
PTFE oda sıcaklığında beyaz renkli, yüksek modöl ve sertliğe sahip termoplastik bir polimerdir. Özelliklerini, karbon-flor bağlarının biraraya gelmesinden alır. PTFE polimerinin birçok kullanım alanından birisi de medikal uygulamalardır. Bu polimerler, periferel damar hastalıklarında stenotik atardamar bypasslarında, uygun damar graftı bulunamadığında kullanılabilir. PTFE'nin implant edilebilen tüp şeklinde protezleri özellikle vasküler graft uygulamalarında kullanılmaktadır. PTFE üstün biyouyumluluk özellikleri ile implant edilebilir protezlerde kullanılmaktadır. Ayrıca düşük trombojenite gösterdikleri için kan damarlarının onarımı veya değiştirilmesinde tercih edilir. Damar uygulamalarında kullanılan tübüler PTFE implantları, doğal dokunun büyümesi ve hücre endotellenmesine izin veren mikrogözenekli yapıda bulunur (<https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US5800512.pdf>).

Ayrıca, PTFE'nin membran olarak kullanımı ile kemik iyileşmesi üzerine çalışmışlar bulunmaktadır. (Linde ve Hedner 1995).

2.3.2.3. Polietilen tereftalat (PET)

Günümüzde en çok kullanılan tekstil ham maddelerinden biri olan poliesterin patenti İngiliz bilim adamları J.R. Whinfield ve J.T. Dickson tarafından 1941 yılında alınmıştır. Daha sonra aynı yıl içinde ilk poliester lifi J.R. Whinfield ve J.T. Dickson tarafından, W.K. Birtwhistle ve C.G. Ritchie ile birlikte Imperial Chemical Industries'de (ICI) üretilmiştir. (<http://www.whatispolyester.com/history.html>., 2014).

Poliester lifleri ana zincirlerinde ester bağları bulunduran sentetik liflerdir (Şekil 2.21). Poliester lifleri pek çok olumlu özelliğe sahiptir. Bunlar yüksek mukavemet, düşük sürünme, uzamaya ve deformasyona karşı iyi dayanım, yüksek camsı geçiş sıcaklığı ve asitlere, yükseltgen maddelere karşı yüksek dayanım olarak özetlenebilir. Tüm bu olumlu özellikler nedeniyle poliester lifleri hem konvansiyonel hem de endüstriyel alanda tercih edilmektedir (Hsieh 2001).



Şekil 2.21. Polietilen tereftalat (PET)' in molekül yapısı (Reese 2003)

Polietilen tereftalat (PET) tüm poliesterler içinde lif üretiminde en yaygın olarak kullanılan poliester çeşididir. PET, tereftalik asit (TPA) veya dimetil tereftalat (DMT) ile etilen glikolün (EG) polimerizasyonu sonucunda elde edilir. Konvansiyonel PET lifi eriyikten çekim yöntemiyle elde edilir.

PET, iyi mekaniksel ve termodinamik özelliklere sahip, yarı aromatik poliesterlerdir. Etilen glikol (EG) ve tereftalik asitin (TPA) polikondenzasyonu ile oluşur. Ana zincirde ester grupları içerir. Lif oluşturabildikleri için, tekstil endüstrisinde çok fazla kullanılırlar. PET lifleri hem konvansiyonel hem de teknik uygulamalarda kullanılırlar.

PET lifleri mikrofibriler yapıya sahiptir, amorf ve kristalin kısımlardan oluşurlar (Rieckmann 2003, East 2009, Krishnan 2008).

PET, biyolojik olarak bozunmayan, toksik ve kanserojenik özellikler göstermeyen bir polimerdir. Bu nedenle, ameliyat iplikleri, medikal önlükler, ligamentler, damar greftleri, hastane çarşafı gibi medikal alanlarda iplik ve kumaş formunda kullanılırlar (Trail 1989, Viinikainen 2006, Amis 1988, Andrzejak 2005, Nair 1988). Ayrıca, filtrasyon ve medikal alanlardaki kullanımlarının artması ile lif yapısının ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesi üzerine araştırmalar yapılmaya başlanmıştır.

Günümüzde, elektro çekim yöntemi ile üretilen PET nanoliflerin kan damarlarında kullanımına yönelik çalışmalar vardır (Ma 2005).

İlaç taşınımı ve doku mühendisliği uygulamalarında, malzeme seçimi çok önemli rol oynamaktadır. İstenilen kimyasal ve biyolojik özelliklerin eldesi için malzeme seçimine dikkat etmek gerekmektedir. (Pillai 2001). Birçok araştırma biyoboyunur polimerler üzerine olmasına rağmen bazı durumlarda biyolojik bozunma istenmez. Kan damarlarının onarımı, kemik, deri ve yumuşak doku uygulamalarında ve ilaç taşıma sistemlerinde iyi mekanik özelliklere sahip, stabil ve biyouyumlu doku çatıları istenir. Bu nedenle biyoboyunur polimerler tercih edilmez.

Önceleri PET polimeri yapay kan damarlarında kullanılsa da, düşük fiyatı, iyi biyouyumluluğu ve mekaniksel özellikleri, stabilitesi sayesinde kullanım alanları artmaktadır.

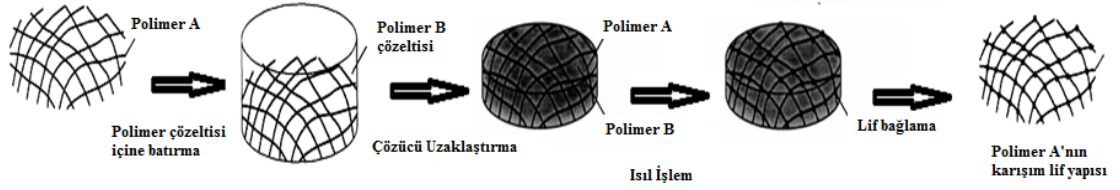
PET polimeri yüksek dayanımlı olmasına rağmen, hidrofobiktir ve serbest yüzey enerjisi düşüktür. Bu nedenle, doku çatısı olarak kullanılmak üzere PET polimerinden elektro çekim yöntemi ile nanolifli yüzeyler, bu özellikleri geliştirmek üzere modifiye edilmelidir. Bu çalışmanın amacı da PET polimerinden elektro çekim yöntemi ile nanolifli doku çatıları üretmek ve yüzeyleri modifiye ederek üzerindeki hücre tutunması ve çoğalmasını iyileştirmektir.

2.4. Doku Çatısı Üretim Teknikleri

Vücut içinde hücre ve dokular üç boyutlu yapılar oluşturarak bir araya gelmişlerdir. Bu yapılar hasar gördüğünde veya işlevini yerine getirememeye başladığında, geçici destek yapı olarak görev gören doku çatıları, bu dokuların fonksiyonel özelliklerini devam ettirecek şekilde tasarlanmalı ve hücre tutunma/çoğalmasını desteklemelidir. Başlıca doku çatısı üretim teknikleri aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Lif bağlama

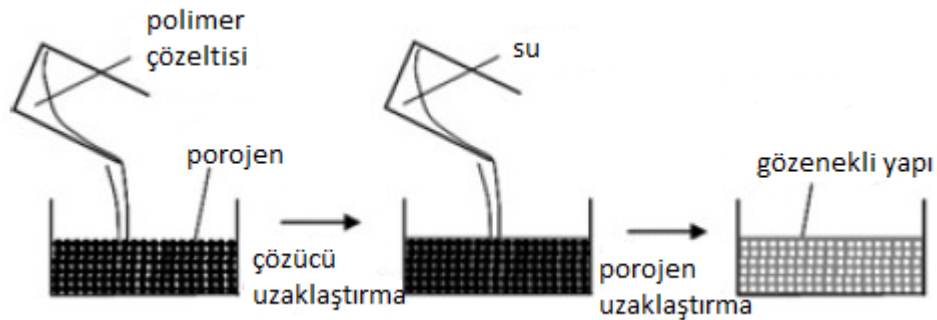
Bu yöntem Mikos ve arkadaşlarının geliştirdiği bir metottur. Yöntemin esası Şekil 2.22’de gösterilmiştir. İlk önce polimer A, polimer B’nin çözeltisi içine batırılır. Alternatif olarak polimer B çözeltisi, polimer A içeren kalıp içine de dökülebilir. Polimer A kullanılan çözücünde çözünmemelidir. Ayrıca, eriyik durumda birbiri ile karışmamaları gerekir. İkinci adımda, geriye polimer B matriksi içinde, polimer A liflerinden oluşan polimer-polimer kompoziti kalacak şekilde çözücü uzaklaştırılır. Üçüncü adımda, kompozit yapı -belirli noktalarda lifler çapraz noktalarda birbirine karışacak şekilde- polimer A’nın erime noktasının üzerinde bir sıcaklığa ısıtılır. Son adımda, polimer B’nin uzaklaştırılması vardır. Böylece geriye birbiri ile bağlanmış lifli yapı kalır. Ekibin çalışmasında, PGA ve PLLA polimerleri kullanılmıştır. PGA lifleri istenilen doku çatısı kalıbına yerleştirilmiş ve PLLA/metilen klorid çözeltisine batırılmıştır. Daha sonra çözücü uzaklaştırılmış ve PLLA-PGA kompozit yapısı her iki polimerin de erime sıcaklığının üzerinde bir sıcaklığa ısıtılmıştır. Soğutma yapıldıktan sonra PLLA, fiziksel olarak belirli noktalarda bağlantı yapmış olan PGA liflerini geride bırakarak seçmeli olarak ayrıştırılmıştır (Mikos ve ark. 1993). Bu yöntemde gözenekliliğin kontrolü çok mümkün olmamaktadır. Ayrıca, her iki polimerin birbiri içinde karışmaması zorunluluğu, çözücü seçimi gibi kriterler yöntemin kısıtlayıcı özelliklerindendir. Kullanılan çözücüler zararlı olduğu için, tam olarak uzaklaştırılamaması durumunda hücre ve organlara zarar verebilir (Yang ve ark. 2001).



Şekil 2.22. Lif bağlama yönteminin şematik gösterimi (Mikos ve ark. 1993)

2.4.2. Çözücü dökümü/parçacık uzaklaştırma

Bu yöntem ile uygun çözelti ile çözünen polimer içine belirli çaptaki porojen yapıların karıştırılmasını içerir. Daha sonra çözücü uzaklaştırılır ve geriye porojen partiküllerini içeren polimer matrisi kalır. Bu kompozit yapı porojen maddelerin uzaklaşacağı uygun çözücü içerisine batırılır. Böylece porojen partiküller uzaklaşmaya başlar ve %93 oranlarına kadar çıkan yüksek gözenekli ve 500 μm 'ye kadar gözenek çapına sahip yapılar oluşmuş olur (Şekil 2.23). Doku çatısının % gözenekliliği porojen/polimer (ağırlıkça) oranıyla ayarlanmaktadır. Porojenin bu özellikleri değiştirilerek farklı özelliklerde doku çatısı üretimi mümkündür. Örneğin, katı tuzun ve sıvı polimer çözeltisinin yoğunlukları arasındaki fark yüzünden, çözünebilen tuzun polimer çözeltisi içindeki dağılımı homojen olmaz. Ayrıca tuz ve polimer çözeltisi sıvı fazda karıştırıldığı için, tuz parçaları polimer çözeltisi tarafından tamamen sarmalanır. Bu nedenle, su ile etkileşime girdiğinde parçalar hemen uzaklaşamaz. Polimer çözücüsü uzaklaştıktan sonra, polimerin dış katmanında yoğun bir katı katman daha oluşur. Bu katman iç tuzların ve organik çözücülerin uzaklaşmasını engeller. Bu nedenle, bu metodla oluşturulan yüzeyler ya 500-2000 mikron kalınlığındaki iki boyutlu film tabakalarıdır, ya da istenilen şekle getirilinceye kadar bu yüzeylerin üst üste konulmasıyla oluşturulan yapılardır (Liao ve ark. 2002).



Şekil 2.23. Çözücü dökümü/parçacık uzaklaştırma yönteminin şematik gösterimi (Zhu ve ark. 2013)

2.4.3. Membran laminasyonu

Özellikle kırık ve kemik gibi sert dokuların onarımı için, üç boyutlu doku çatılarının üretilmesi gerekmektedir. Bu tip dokularda, fonksiyon kısmen geometrik şekilden de etkilenmektedir. Bu tip durumlarda membran laminasyonu yüksek gözenekli anatomik şekilli biyomateryallerin yapımı için alternatif bir methodur. Bu yöntemin esası, çözücü dökümü/parçacık uzaklaştırma metodu ile üretilen iki boyutlu film tabakalarının üst üste dizilmesine ve böylece üç boyutlu yapılar oluşturulmasına dayanır. Ancak üst üste dizilerek birbirine yapıştırılan membranların gözeneklilik özelliklerinin aynı olması gerekmektedir. Ayrıca yapıştırma bölgeleri de ayırt edilemeyecek kadar düzgün olmalıdır (Thomson ve ark. 2000).

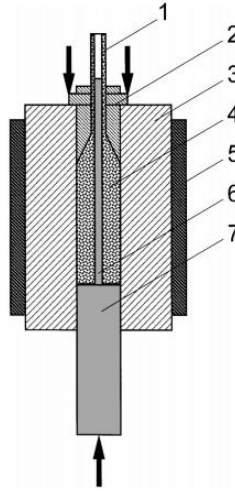
2.4.4. Eriyik kalıplama

Eriyik kalıplama metodu, üç boyutlu doku çatılarının üretilmesinde alternatif olarak kullanılan, membran laminasyonu metoduna göre birçok avantajı bulunan bir methodur. Bu yöntemde, çözücü kullanılmadan, polimer ve porojenin katı halde karıştırılmasının ardından, bu karışım istenilen geometriye sahip kalıba dökülmektedir. Kalıba ısıtılarak polimer eriyik hale getirilmektedir. Sonrasında, doku çatısı porojenin içinde çözüneceği çözücü ile etkileştirilerek porojen yapıdan uzaklaştırılmakta, böylece istenilen geometriye sahip, 3-boyutlu, gözenekli doku çatısı üretimi gerçekleştirilmektedir. Thomson ve arkadaşları geliştirdikleri bu metotta PLGA/jelatin mikrokürecikli kompozit yapılardan uzaklaştırarak PLGA doku çatılarını üretmişlerdir. İnce tanecikli PLGA tozu jelatin mikrokürecikli yapı ile karıştırılıp, polimerin camı geçiş sıcaklığının üzerinde ısıtılmış olan Teflon kalıba dökülmüştür. Daha sonra PLGA/jelatin mikrotanecikli kompozit yapı kalıptan çıkarılmış ve su ile muamele edilmiştir. Suda çözünen jelatin, yapıdan uzaklaştırılmıştır ve geride geometrik olarak kalıbın şekli ile aynı olan gözenekli PLGA doku çatısı kalmıştır. Bu metotta kalıp geometrisi değiştirilerek istenilen yapılar elde edilebilir. Gözeneklilik, kullanılan jelatinin miktarı değiştirilerek ayarlanabilir. Ayrıca gözenek boyutu kullanılan porojen maddenin boyutları değiştirilerek ayarlanabilir. Bu metodun dezavantajı, sıcaklık

uygulanmasıdır. Uygulanan sıcaklık özellikle ilaç taşınımı yapılması istenilen sistemlerde, ilaç yapısının bozulmasına neden olabilir (Thomson ve ark. 2000).

2.4.5. Ekstrüzyon

Widmer ve ark. Geliştirdikleri yöntemde, çözücü dökme ve ekstrüzyon tekniklerini biraraya getirmiştir. Çalışmalarında biyobozunur PLGA ve PLLA kullanarak, polimer/tuz kompozit yapısını çözücü dökme yöntemi ile oluşturmuşlar ve kurutma işleminden sonra ekstrüzyona beslemişlerdir (Şekil 2.24). Ekstruderin içinde bulunan vida, bir yandan polimer-porojen karışımını makinenin çıkışına doğru ilerletirken bir yandan da uyguladığı sıkıştırma hareketi ile polimerin eriyik hale geçmesini sağlamaktadır. Ekstruderin çıkışına gelen eriyik formdaki polimer ve porojen, başıncla dışarı atılır ve çıkışta projen madde uzaklaştırılarak yapı içinde kanallar oluşturulur (Widmer ve ark. 1998).

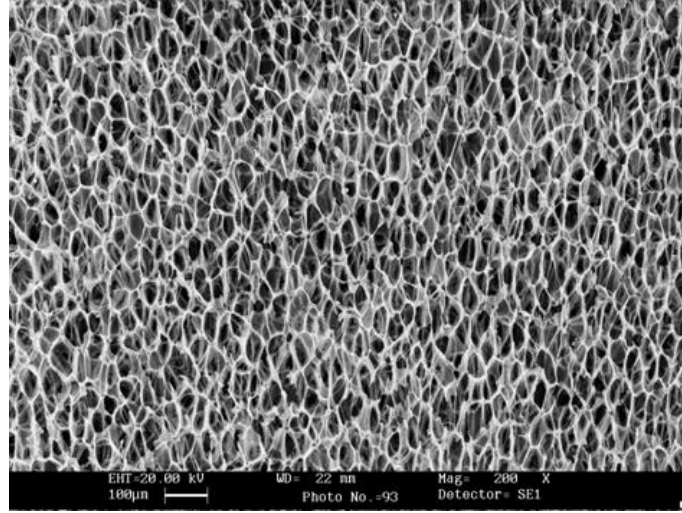


Şekil 2.24. Ekstrüder yapısı. 1. Ekstrüde borusu, 2. Borunu dış çapını oluşturan düze, 3. Gövde, 4. Erimiş karışım, 5. Sıcaklık kontrollü kafa, 6. Borunun iç çapını belirleyen çubuk, 7. Eriyik polimeri hareket ettiren piston (Widmer ve ark. 1998)

2.4.6. Gaz köpüklendirme

Göz köpüklendirme prosesi, organik çözücülerin kullanımı olmadan, yüksek gözenekli doku çatılarının üretilmesi için geliştirilmiştir. Organik çözücüler in vitro ve in vivo ortamlarda toksik etkilere neden olabilecek zararlı atıklar bırakabilir. Bu proses, polimer karışımının yüksek sıcaklık ve basınçlarda gaz ile doyurulması esasına dayanır. Daha

sonra, sıcaklık ve basıncın aniden düşürülmesi ile termodinamik kararsızlık ortamı yaratılır. Bu durum polimer içinde gazın gözeneklerinin çekirdekleşme ve büyümesine neden olur (Şekil 2.25). Gaz köpüklendirme metodu ile %93'e kadar gözenekli yapılar oluşturulabilir. Sıcaklık ve basınç değişimleri ile gözenek boyutları değiştirilebilir. Bu yöntemin dezavantajı, gözenekler arasındaki bağlantıların az olması, dolayısıyla yüzeyin daha az gözenekli olmasıdır (Ferrer 2007).



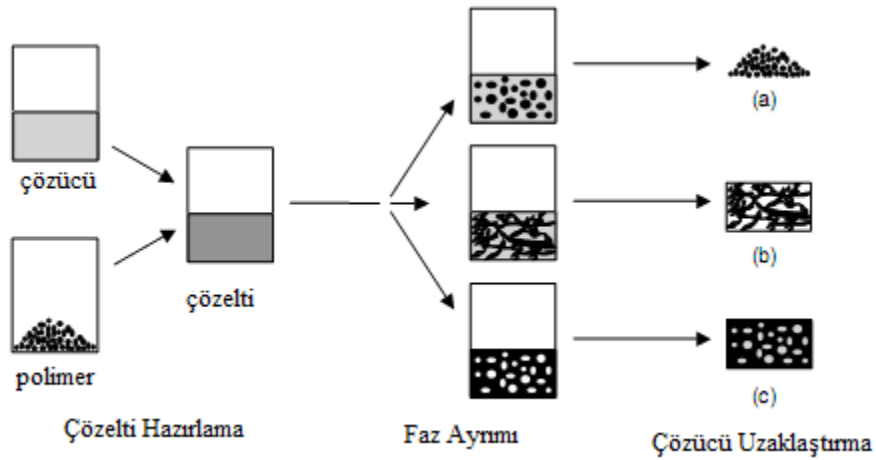
Şekil 2.25. Gaz köpüklendirme metodu ile üretilmiş bir doku çatısı (Ferrer 2007)

2.4.7. Faz ayrımı

Doku çatıları medikal uygulamalarda kullanılırken hücre tutunması ve çoğalmasını sağlamak için gözenekli ve üç boyutlu olmalı, besinlerin geçişine ve metabolik atıkların atılmasına yardımcı olmalıdır. Bu yapıları oluşturmada kullanılan yöntemlerden birisi de faz ayrımı metodudur. Bu metotta, polimer çözeltisinin sıcaklığı, bileşenlerden biri yüksek polimer konsantrasyonlu, diğeri düşük polimer konsantrasyonlu olacak şekilde ikiye ayrıştırılacak şekilde düşürülür. Bu prosesteki ana mekanizma fiziksel uyumsuzluktan dolayı fazların ayrımıdır. Daha sonra bu fazlardan biri (çözücü) çıkartılır ve geriye tek bir faz kalır. Yapılan araştırmalara göre proses; polimer çözünmesi, jelleşme, çözücü ekstrüzyonu, donma ve yüksek vakumda donarak kuruma adımlarından oluşur (Şekil 2.26). Polimer çözücünde çözünür ve termal yolla veya jel oluşturmak için polimer çözeltisine çözünmeyen madde eklenerek faz ayrımı gerçekleştirilir. Daha sonra jelden çözücüyu çıkarmak için su kullanılır. Jel polimerin

camsı geçiş sıcaklığının (T_g) altına soğutulur ve nanofibril sel skafold üretmek için yüksek vakum altında dondurularak kurutulur.

Faz ayırma prosesi sırasında çeşitli porojenler (şeker, inorganik tuz, parafin küreleri) eklenerek makrogözenekli yapı kontrol edilebilir. Polimer ve çözücü cinsi, polimer konsantrasyonu, faz ayırma sıcaklığı değiştirilerek polimerik köpüğün mikro ve makroyapısı değiştirilebilir (Chen ve Ma 2006).



Şekil 2.26. Faz ayırma prosesinin şematik gösterimi a) toz, b) sürekli ağ şeklindeki doku çatıları, c) kapalı gözenekli köpük yapılar (Chen ve Ma 2006)

2.4.8. IN SITU doku çatısı üretimi

Günümüze kadar kemik ve kıkırdak gibi sert dokuların tedavisinde metalik implantlar oldukça yaygın olarak kullanılmaktaydı. Ancak bu yapıların operasyon sonrası iyileşme sürecinde özellikle gerilim altındaki mekanik özelliklerinin kötü olması, paslanma nedeniyle kronik iltihaba neden olması, implantın yorulma davranışlarının kötü olması nedeniyle optimum tedavi şartlarını sağlamamaları bilim adamlarının yeni yapılar aramasına yol açmıştır. Biyolojik olarak bozunur polimerik implantların kullanımı ile ikinci bir ameliyatın yapılmasının önüne geçilmiş olur ve bu yapılara teröpatik ajanlar ile büyüme faktörlerinin eklenebilmesi ile yapılara iyileştirici özellik kazandırılmış olur. Bu metotta kemik çimentosu olarak da bilinen bozunur özellikte olmayan polimetilmetakrilatın (PMMA) mekanik özelliklerin acil geri kazanımı için hasarın bulunduğu bölgeye doldurularak kullanılmasına alternatif olarak, geçici bir destek

olarak görev yapıp yeni dokunun oluşmasını sağlayan biyobozunur bir polimer olan kitosan, hidroksiapetit veya polipropilenfumarat (PPF) gibi polimerler kullanılır. Operasyon sırasında çapraz bağlanarak jel formuna geçen ve hasarlı bölgeye doldurulan bu malzeme kısa bir süre içinde katılaşır, bu şekilde hasarın geometrisine uygun biyobozunur bir doku çatısı üretimi gerçekleştirilir (Hu ve ark. 2004).

2.4.9. Dondurarak kurutma

Dondurarak kurutma yönteminde, çözücü ve süspansiyon halindeki karışım düşük sıcaklıklarda kristalize edilir ve daha sonra katı fazdan gaz faza süblimleştirilir. Bu yöntem ile gözenekli ve üç boyutlu polimerik yapılar oluşturulabilir. Düşük sıcaklıklarda, vakum altında çalıştırılan cihaz donmuş olan çözücünün süblimleşmesini ve daha sonrasında cihazın iç duvarlarında kristallenmesini veya yoğunlaşmasını sağlamaktadır (Wu ve ark. 2010).

2.4.10. Elektro çekim (elektrospinning) metodu

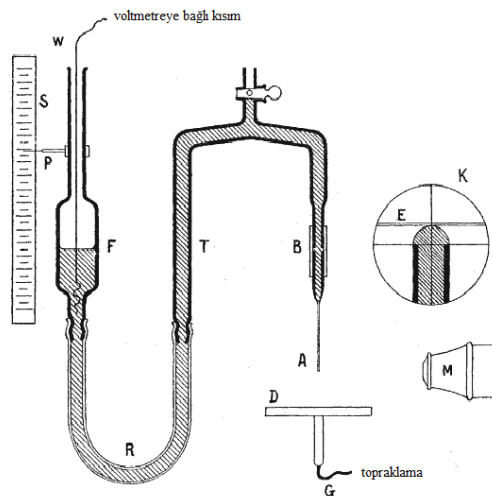
Günümüzde nanoliflerden oluşan yüzeylerden oluşan doku çatısı üretimi için kullanılan yöntemlerden birisi de elektro çekim (elektrospinning) metodudur. Elektro çekim yöntemi nanoliflerin üretilmesi için en basit yöntemdir. Elektro çekim; çoğunlukla polimerlerin solüsyonundan ya da eriyikten çekim ile çapları birkaç mikrometreden birkaç nanometreye kadar değişen kesiksiz lif üretimi için çok yönlü bir metottur. Bu yöntemin esası polimer çözeltisi veya eriğine yüksek potansiyel alanı kullanılarak çok küçük çaplı liflerin üretilmesine dayanır. Bu proseste iğnenin ucunda polimerin kendi yüzey gerilimi tarafından tutulan polimer çözeltisi elektriksel alana tabi tutulur. Elektriksel alanın gücü arttıkça çözelti iğnenin ucunda uzar ve Taylor konisi olarak bilinen konik bir şekil alır. Elektrostatik kuvvetler polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aştığında; polimer jeti topraklanmış toplama yüzeyine doğru akar. Çıkan jet ivmelendikçe büyük oranda çözücü buharlaşır ve toplama alanı yüzeyinde dokusuz yüzey formunda polimerik lifler oluşur (Frenot 2003, Zussman ve ark. 2003, Rutledge ve ark. 2007, Mei ve ark. 2008, Duzyer ve ark. 2011)

2.4.10.1. Elektro çekim prosesinin tarihçesi

Elektro çekim yönteminin temelleri çok eski zamanlara dayanmaktadır. 16. yüzyılın sonlarında William Gilbert manyetik ve elektrostatik davranışları açıklamaya çalışmıştır. Elektriksel olarak yüklenmiş kehribar parçalarının su damlasına yaklaştırıldığında, su damlasının konik bir şekil aldığını ve damlanın ucundan küçük su damlacıklarının ayrıldığını gözlemlemiştir. Bu durum elektrospray metodunun kaydedilen ilk gözlemleridir.

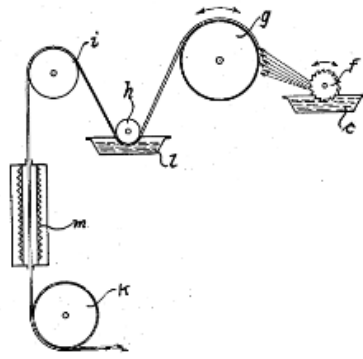
C. V. Boys (1887), doğada yaptığı gözlemlerden yola çıkarak, aslında çok eski fakat hakkında çok az bilinen elektriksel çekim olarak tanımladığı metod ile ince liflerin üretimi üzerine çalışmalar yapmıştır. Araştırmacının yaptığı düzenekte izole edilen elektrik makinesine bağlı küçük bir tabaktan oluşmaktadır. Sisteme konulan balmumu, kolodyon, zamk gibi viskozik materyaller tabağın ucuna geldiğinde, yüksek hızda ince lifler halinde saçıldıklarını gözlemlemiştir.

Daha sonra 1900 ve 1902 yıllarında J.F. Cooley ve 1902 yılında W.J.Morton tarafından elektro çekim prosesinin patenti alınmıştır. 1914 yılında John Zeleny metal kapilerlerden sıvı damlalarının davranışı üzerine bir yayın yapmıştır (Şekil 2.27). Bu çalışma elektrostatik yükler altında sıvıların davranışlarının matematiksel modellenmesi üzerine çalışmaların başlamasına öncülük etmiştir (Zeleny 1914).



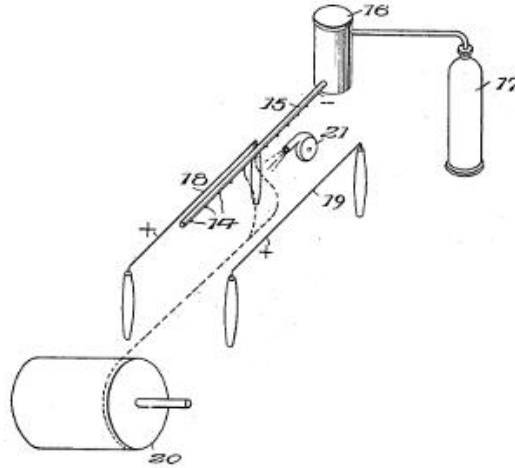
Şekil 2.27. J. Zeleny'in kurduğu sistemin şematik gösterimi (Zeleny 1914)

Uygulanabilir lif çekme tekniği olarak elektro çekim tekniğinin başlangıcı 1930ların başına dayanır. Elektroçekim sistemi üzerindeki değişiklikler ve ticari hale gelmesi Anton Formhals'ın 1934-1944 yılları arasında aldığı patentler ve çalışmalar ile gerçekleşmiştir. Formhals (1934) elektrik yükler kullanarak suni filament üretimi için proses ve düzeneğin ilk patentini almıştır (Şekil 2.28). Elektriksel alan kullanılarak suni ipliklerin üretimi çok uzun zamandır denenmesine rağmen, daha önceki çekim metodlarındaki çözelti uzaklaşması ve liflerin toplanması gibi zorluklar yüzünden önem kazanmamıştır. Formhals'ın çekim prosesinde iplikleri gerilmiş durumda toplamak için kullandığı hareketli toplama yüzeyi, konvansiyonel çekimdeki çekim davuluna benzer. Formhals'ın düzeneği iplikleri toplayıcı yüzey üzerinde paralel serilmiş olarak toplayabiliyordu. İlk patentinde Formhals, çözücü olarak aseton kullanarak selüloz asetat liflerini elde etmiştir.



Şekil 2.28. Formhals'ın düzeneğinin şematik görüntüsü (Formhals 1934)

Formhals (1944), ilk patentindeki polimer çekildikten sonra düze ve toplama yüzeyi arasındaki kısa mesafeden ötürü çözücünün uzaklaşmaması gibi teknik dezavantajları aşmak için düzenlemeler yapmıştır. Düzenlenen yeni proste; besleme düzesi ile lif toplama yüzeyi arasındaki uzaklık, elektro çekim liflere daha fazla kuruma süresi verecek şekilde değiştirilmiştir (Şekil 2.29).



Şekil 2.29. Formhals'in modifiye edilen düzeneğinin şematik görüntüsü (Formhals 1944)

Elektro çekim yönteminde polimer çözeltisi yerine polimer eriyiği kullanımı ilk kez C.L. Norton (1936) tarafından patent olarak alınmıştır.

1938 yılında Nathalie D. Rozenblum ve Igor V. Petryanov-Sokolov, elektro çekim yöntemi ile ürettikleri lifleri filtrasyon malzemesi olarak kullanmışlardır. Bu çalışma 1939 yılında elektro çekim yöntemi ile üretilen liflerin gaz maskelerinde kullanılmalarına öncülük etmiştir (Tucker ve ark. 2012).

1960lar'da jet oluşum prosesinde temel çalışmalar Taylor tarafından başlatılmıştır. Taylor elektriksel alan uygulandığında iğne ucunda oluşan polimer damlasının şeklini incelemiştir. Düze ucunda oluşturulan damlanın önce yarı küresel bir yüzeye sahip olduğunu, artan elektriksel kuvvet ile birlikte damlanın konik bir şekil aldığını ve daha sonra jetlerin bu koninin tepesinden çıktığını gözlemlemiştir. Jetin bu konik şekli diğer araştırmacılar tarafından “Taylor konisi” olarak adlandırılmıştır. Farklı viskozite akışkanların da detaylı incelenmesi ile Taylor; polimerin yüzey gerilimini elektrostatik kuvvetlerle dengelemek için $49,3^\circ$ bir açının gerekli olduğunu bulmuştur (Subbiah ve ark. 2005).

Daha sonraki yıllarda bilim adamları liflerin morfolojik özelliklerini incelemeye başlamışlardır. Araştırmacılar liflerin yapısal karakterizasyonu ve yapısal özellikleri ile proses parametreleri arasındaki ilişkiyi anlamaya çalışmışlardır. Geniş-açı- X ışını

difraksiyonu (WAXD), taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) cihazları nanolifleri karakterize etmek için kullanılmıştır. 1971’de Baumgarten çapları 500’den 1100 nm’ye kadar değişen akrilik mikroliflerin elektro çekim yöntemi ile çekilebildiğini bildirmiştir. Baumgarten poliakrilonitril/dimetilformamid (PAN/DMF)’ in çekilebilme limitlerini araştırmış ve çözeltinin viskozitesinin lif çapı üzerinde büyük etkisi olduğunu göstermiştir. Elektriksel alan içinde jet çapında başlangıçta bir artış olduğunu, daha sonra jet çapının azalıp bir minimum değere ulaştığını ve daha sonra artan elektrik alanla birlikte çapta tekrar genişleme olduğunu göstermiştir (Subbiah ve ark. 2005).

Bilim adamları, elektro çekim tekniği ile üretime bir süre ara verdikten sonra; yüksek etkinlikli filtrasyon, koruyucu giysiler gibi nanoliflerin farklı alanlarda uygulamalarının ortaya çıkmasından sonra bu konuda yapılan araştırmalara önem vermişlerdir.

Nanolifler üzerine araştırmalar Doshi ve Reneker’in çalışmaları ile hız kazanmıştır. Doshi ve Reneker farklı çözelti konsantrasyonları ve uygulanan farklı elektriksel potansiyel ile üretilen polietilen oksit (PEO) nanoliflerin karakteristiklerini incelemiştir. Jet çaplarını koninin tepesinden olan uzaklığın fonksiyonu olarak ölçmüş ve uzaklık arttıkça jet çapının azaldığı gözlemlemişlerdir (Subbiah ve ark. 2005).

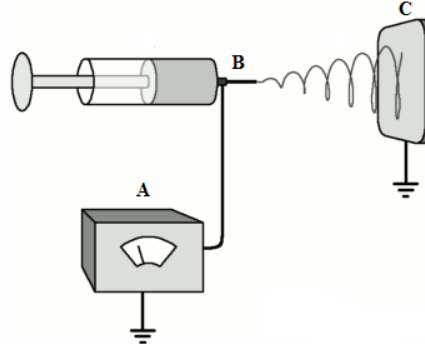
Günümüzde elektro çekim yöntemi ile nanoliflerin üretimi pek çok grup tarafından çalışılmaktadır. Üretilen nanoliflerin üstün özellikleri sayesinde, bu yüzeyler filtrasyondan doku mühendisliğine kadar çok geniş uygulama alanı bulmakta ve araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

2.4.10.2. Prosesin temelleri

Elektro çekim yöntemi, polimer çözeltisi veya eriyiğinin elektriksel olarak yüklenmesi yoluyla nanoliflerin oluşturulduğu bir prostestir. Bu yöntem, eriyebilen veya çözünebilen her polimere uygulanabilen bir yöntemdir. Ve bu yöntem ile pek çok farklı şekillerde, boyutlarda ve farklı özelliklerde lifler oluşturulabilir.

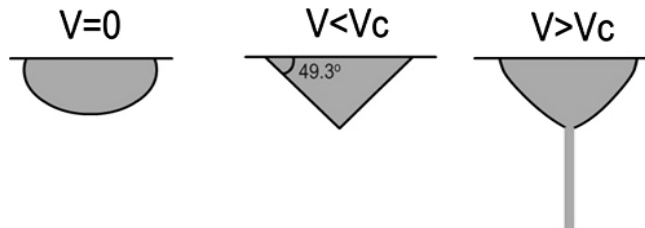
Elektro çekim yöntemi oldukça basit ve ekonomik bir yöntem olmasına rağmen, prosese etki eden ve kontrol edilmesi gereken pek çok parametre vardır.

En basit düzeyde bir elektro çekim düzeneği Şekil 2.30’da gösterildiği gibi, yüksek gerilim kaynağı (A), elektriksel olarak iletken düze (B) ve toplama yüzeyi (C) olmak üzere 3 ana bileşenden oluşur (Frenot 2003).



Şekil 2.30. Elektro çekim düzeneğinin şematik gösterimi (<http://www.neotherix.com> 2014)

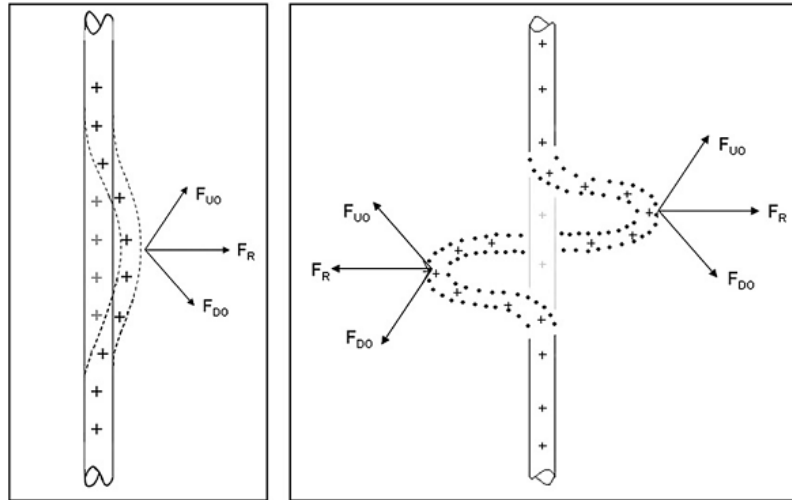
Elektro çekim yöntemi polimer akışkanın içinde bulunduğu kapiler tüp veya şırıngaya bir elektrot yardımı ile yüksek voltaj uygulanarak gerçekleştirilir. Besleme pompası yardımı ile kontrol edilebilir ve sabit oranda tutulan polimer çözeltisine yüksek gerilim uygulandığında, kendi yüzey gerilimi ile iğnenin ucunda duran polimer çözeltisi elektrostatik olarak yüklenir. Sonuç olarak, damla; benzer yüzey yüklerinin birbirini itmesi ve dış elektriksel alanın uyguladığı Coulomb kuvvet etkisi olmak üzere iki farklı tipte elektrostatik kuvvetin etkisi altına girer. Bu elektriksel kuvvetler nedeniyle damla uzamaya başlar ve Taylor konisi olarak bilinen şekli alır. Eğer, elektriksel alanın şiddeti, belirli bir kritik değeri geçerse, elektrostatik kuvvetler polimerin yüzey gerilimini aşar ve Taylor konisinin ucundan sıvı jet çıkmaya başlar (Şekil 2.31) (Doshi ve Reneker 1995).



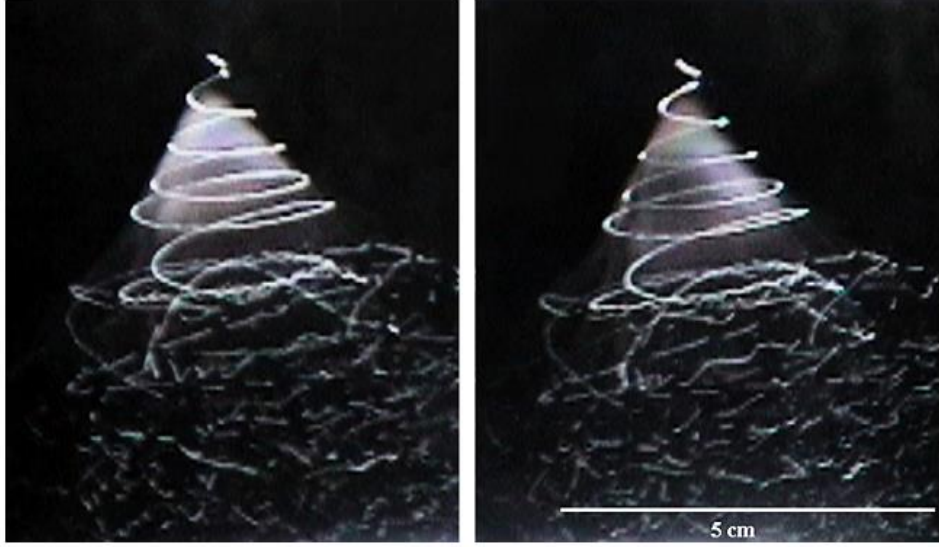
Şekil 2.31. Uygulanan elektriksel kuvvet ile polimer damlasında oluşan değişiklikler (Garg ve Bowlin 2011)

Sıvı jet, düzenli olarak çıkmaya devam eder ve yüzey gerilimleri damla şeklinin eski halini almasını sağlar. Çıkan sıvı polimer jeti, toplama yüzeyine ulaşmaya kadar aradaki mesafe boyunca yol alır ve uzar, bu sırada çözücü buharlaşır ve toplama yüzeyi üzerinde dokusuz yüzey formatında ince liflerden oluşan polimerik bir yüzey oluşur (Doshi ve Reneker 1995).

Polimer jeti, iğne ucundan ilk çıktığı anda lineer bir yol izler, fakat daha sonra düzeden kritik değerde uzaklaştıktan sonra jet, kaotik bir duruma girer ve kamçılama kararsızlığı adı verilen bir durum oluşur. Kamçılama kararsızlığı bölgesinde polimer jeti uzamaya başlar. Bu kararsızlık bölgesinin başlangıcında (Şekil 2.32), jet spiral bir yol izler. Jetin toplayıcıya doğru hareketi devam ettikçe, daha yüksek kararsızlıklar ortaya çıkar ve sonuç olarak jet tamamen kaotik bir yörünge izlemiş olur (Şekil 2.33) (Reneker ve Yarin 2008).



Şekil 2.32. Elektrospraying jetinin, jet ile taşınan uniform olarak dağılmış yükler ile itici elektriksel yüklere cevap olarak büyüme başladığı segmentin şematik gösterimi. F_{DO} : polimer jetini aşağı doğru çeken kuvvet, F_{UO} : itici kuvvet, F_R bu iki kuvvetin bileşkesi. F_R nedeniyle yörüngede bozulmalar gerçekleşir (Reneker ve Yarin 2008)



Şekil 2.33. Elektrospraying jetinin kararsızlık bölgesinde izlediği yol (Reneker ve Yarin 2008)

Elektro çekim yöntemi, yüksek hızlı non-lineer elektrodinamiklerin, kompleks reoloji ve jet içinde yük, kütle ve ısı transferinin gerçekleştiği bir süreçtir. Proses jet başlangıcı, jet incilmesi ve jetin katılaşması olmak üzere 3 aşamadan oluşur.

Jet Başlangıcı: Taylor, damlaya elektriksel alan uygulandığında, konik yüzeyin, 49.3°'lik bir açı oluşturduğu göstermiştir. Elektriksel alan uygulaması sayesinde, damlanın yüzeyinde bir yük oluşur. Bu yük yüzey gerilim yüklerini dengeler ve damla küreselden koniksel şekle dönüşür. Elektriksel alanın şiddeti (V), belirli bir kritik değer (V_C) ulaştığında, elektriksel kuvvetler, polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aşar ve Taylor konisi ucundan jet çıkışı olur. En yüksek yük yoğunluğu jetin çıktığı koninin ucundadır. Taylor, V_C 'nin (kilovolt olarak) Eşitlik 2.18 ile hesaplanacağını göstermiştir (Garg ve Bowlin 2011).

$$V_C^2 = 4 \left(\frac{H^2}{L^2} \right) \left(\ln \frac{2L}{R} - 1.5 \right) (0.117 \pi R \gamma) \quad (2.18)$$

Burada, H: hava boşluğu mesafesi, L: kapiler tübün uzunluğu. R: tübün yarıçapı (bütün birimler santimetredir) ve γ : sıvının yüzey gerilimidir (dyn/cm).

Jetin İncelmesi: Konsantrasyon, elektriksel alan gücü, besleme oranı, jet hızı, kayma gerilimi gibi parametreler elektro çekim sistemi üzerinde etkilidir. Düşük molekül ağırlıklı sıvılar ile çalışıldığında, elektrostatik kuvvetler ile hareket ettirilen jetin yarıçapındaki düşüş polimer çözeltisinin besleme oranına bağlıdır. Eğer besleme oranı çok fazla ise, jetin çapı yavaş yavaş düşer. Deitzel ve arkadaşları, bu durumu elektrosinning jetini temsil eden basit bir silindirik geometri varsayımı ile açıklamıştır. Eşitlik 2.19'dur. Bu nedenle, jet yarıçapındaki artış, spesifik yüzey alanında azalmaya neden olur. Eğer polimer çözeltisi ve yüzey yük yoğunluğu sabit olarak kabul edilirse, yük/ kütle oranı, artan jet yarıçapı ile birlikte azalacaktır. Eşitlik 2.20'de görüldüğü üzere, ivmelenme direkt olarak yük/kütle oranı ile orantılıdır. Böylece jet yarıçapındaki artış, sıvının ivmelenmesinde azalmaya neden olur (Garg ve Bowlin 2011).

$$\frac{A}{V} = \frac{2}{R} \quad (2.19)$$

Burada, A: silindirik elemanın yüzey alanı, V: hacmi, R: jetin yarıçapıdır.

$$a = E \left(\frac{q}{m} \right) \quad (2.20)$$

Burada, a: ivme, E: elektriksel alan şiddeti, q: silindirik elemandaki yük, m: silindirik elemanın kütesidir.

Burada unutulmaması gereken, bu basitleştirilmiş silindir modeli sadece çözelti besleme oranı, elektro çekim voltajı ve yük/kütle oranı arasındaki ilişkileri açıklama amacı ile yapılmıştır. Bu fikir, Baumgarten'in bulduğu sonuçlar ile de tutarlıdır. Baumgarten'in deneyleri polimer çözücüsü viskozitesinin düştükçe, damlanın küreselden konik şekle döndüğünü göstermiştir. Eşpotansiyel yaklaşımındaki eşitlikler kullanarak, Eşitlik 2.21'de verilen küresel damlanın çapını hesaplamak için eşitlik elde etmiştir (Garg ve Bowlin 2011).

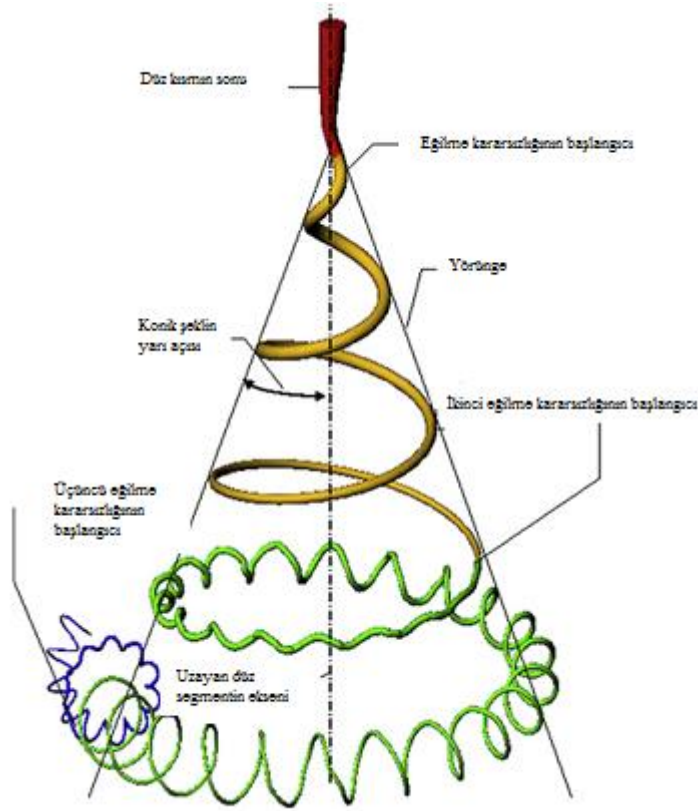
$$r_0^3 = \frac{4\epsilon m_0}{k\pi\sigma\rho} \quad (2.21)$$

Burada, ϵ : sıvının dielektirik sabiti (C/V cm), m_0 : r_0 'ın hesaplandığı andaki kütle akış oranı (g/s), k : elektrik akımına bağlı boyutsuz parametre, σ : elektrik iletkenliği (A/V cm) ve ρ : yoğunluktur (g/cm³).

Fakat elektrospining jetinin detaylı ve doğru sıvı akışını tanımlamak için, viskoelastik cevap, yük relaksasyon zamanları ve çözücü buharlaşma oranı gibi değişkenler göz önünde bulundurulmalıdır.

Jet Kararsızlığı: Hareket halindeki jet, birbirini iten kuvvetler yüzünden çeşitli kuvvetlere maruz kalır ve bu nedenle jet kararsızlığı oluşur. Bu bölgede jet, yayılma veya dallanma olarak adlandırılan çoklu olarak saçılır. Bu durum, çözücünün buharlaşması ve jetin uzamasından dolayı jette birim başına düşen yük ve jetin şekli değiştiği zaman oluşur. Yüzey gerilimi ve elektriksel kuvvetler arasındaki dengenin değişmesi jetin stabil halini bozar. Birim yüzey alanı başına düşen yükü azaltmak için, stabil olmayan jet, ilk jetin yüzeyindeki daha küçük jetten çıkar. Jetlerdeki dallanmalar daha yüksek konsantrasyonlu ve viskozik çözeltilerde ve çok yüksek elektriksel alan uygulamalarında oluşur (Garg ve Bowlin 2011).

Fakat jet çapını mikrometreden nanometreye düşürmede, jetin uzamasına ve gerilmesine neden olan non-asimetrik veya kamçılama kararsızlığı anahtar rol oynar. Polimer jeti çok uzun ve ince olduğu zaman, fazla yükü kendi içinde tekrar dağıtmak için gereken zaman uzar. Fazla yükün yeri, jetin uzaması ile değişme eğilimi gösterir. Jet içindeki birbirini iten Coulomb kuvvetleri, jet katılışına kadar, jeti kendi eksenini boyunca uzatır. Bu durum, düz giden jeti yönlendiren ucun çok yüksek hıza çıkmasına neden olur. Sonuç olarak, jet eğilir ve bir seri yanal değişimden sonra spiral yörünge oluşur (Şekil 2.34). Bu spirallerin her biri jet uzayıp inceldikçe artar (Reneker ve Yarin 2008).



Şekil 2.34. Eğilme kararsızlığının başlangıç ve oluşum diyagramı (Reneker ve Yarin 2008).

Hohman ve ark. (2001) ile Shin ve ark. (2001) elektrospinning sırasında PEO jetinin stabilitesini incelemişler ve 3 çeşit kararsızlık olduğu sonucuna varmışlardır. Birincisi Rayleigh kararsızlığı olarak adlandırılır ve jetin merkez çizgisine göre eksenel simetriktir. İkinci kararsızlık da eksenel simetriktir. Üçüncü kararsızlık ise eksenel simetrik değildir ve kamçılama kararsızlığı olarak adlandırılır. Rayleigh kararsızlığı jetin yüzeyindeki birbirine zıt kuvvetler yüzünden oluşur. Jetteki elektrostatik itme yükleri jetin toplam yüzey alanını azalma eğilimindedir. Bu nedenle, bu damlaların her biri küresel şekil alarak kendi yüzey alanını küçültür ve jetin damlalara ayrılmasına neden olan kararsızlık oluşur. Bu etki Rayleigh kararsızlığı olarak bilinir. Sıvının özellikle viskozitesi ve yüzey gerilimi gibi özelliklerine bağlı olarak bu iki zıt kuvvetten biri üstün gelir. Eğer, viskozite yüksek ve sıvı uzun-zincirli moleküller içeriyorsa, sıvı jet; toplama yüzeyi üzerine yerleşene kadar, sürekli olarak azalır. Fakat eğer düşük viskoziteli bir sıvı kullanılıyorsa, Rayleigh kararsızlığına çok fazla karşı koyamaz ve damlalar halinde saçılma eğilimi gösterir. Eğer molekül zincirleri kopmaya karşı koyacak kadar uzun değilse, farklı küresel damlalar oluşur. Yüklü damlacıkların

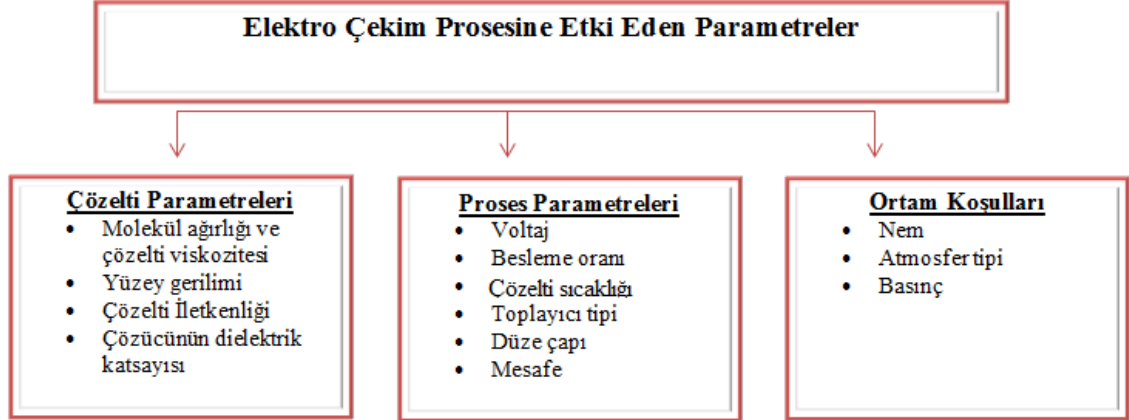
arasındaki zıt elektrostatik kuvvetler damlacıkların biraraya gelmesini engeller. Küçülen damlacıkların yüzeyindeki artan yük yoğunluğu nedeniyle, bu damlacıklar daha da küçük damlacıklara ayrılır. Bu proses elektrospraye neden olur.

Jet Katılaşması: Polimer jetinin katılaşması, toplama yüzeyi üzerinde kuru nanoliflerin yerleşmesine neden olur. Katılaşma oranı, polimer konsantrasyonu, elektrostatik alan ve mesafeye bağlı olarak değişir. Yarin ve arkadaşları, ilk jette herhangi bir dallanma olmadığını varsayarak, sözde-tek-boyutlu eşitlik ile buharlaşma ve katılaşma nedeniyle oluşan kütle azalmasını ve hacim değişimini açıklamışlardır. Ayrıca kuru lifin enine kesit yarıçapının, başlangıç sıvı jetinin $1,31 \times 10^{-3}$ katı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, kısmen kurumuş olan polimer jeti, toplama yüzeyine ulaştığında, liflerin birbirine değen kısımlarında yapışmalar olabilir. Kesişme noktalarındaki güçlü birleşmeler nanolifli yüzeyi sertleştirir. Bu durum dokusuz yüzey yapısının mekaniksel özelliklerini etkileyen önemli bir faktördür (Garg ve Bowlin 2011).

2.4.10.3. Elektro çekim prosesine etki eden parametreler

Elektro çekim yönteminde, polimer çözeltisine yüksek voltaj uygulanır ve sıvı içerisinde elektriksel yükler oluşur. Bu yükler sıvının yüzey gerilimini aştığında, iğnenin veya düzenin ucundaki damla, topraklanmış toplayıcı yüzeye doğru hareket etmeye başlar. Toplayıcı yüzeyinde oluşan dokusuz yüzey formatındaki yapının morfolojik özelliklerine etki eden pek çok parametre vardır. Elektro çekim prosesi polimer eriyiğine de uygulanabilmesine rağmen, literatürdeki araştırmalarda genellikle polimer çözeltisine uygulanmıştır. Bu nedenle, polimer çözeltisinin elektro çekim prosesine etki eden parametreler araştırmacılar tarafından ayrıntılı olarak incelenmiştir. Elektro çekim prosesine etki eden parametreler, çözelti parametreleri, proses parametreleri ve ortam koşulları olmak üzere 3 ana başlık altında incelenebilir (Çizelge 2.1). Bu parametrelerin değiştirilmesi ile çeşitli formlarda ve özelliklerde nanolifli yüzeyler elde etmek mümkündür (Veleirinho 2007).

Çizelge 2.1. Elektro çekim prosesine etki eden parametrelerin sınıflandırılması (Ramakrishna ve ark. 2005)



Polimer Çözeltisi Parametreleri: Lif morfolojisine ve elektro çekim yöntemine en çok etkiyi gösteren parametre çözelti parametreleridir. Yüzey gerilimi, lif uzunluğu boyunca boncukların oluşmasında etkilidir. Çözelti viskozitesi ve çözeltinin elektriksel özellikleri, çözeltinin uzama aralığını belirler ve bu durum elde edilen lif çaplarında önemli bir etkiye sahiptir (Ramakrishna ve ark. 2005).

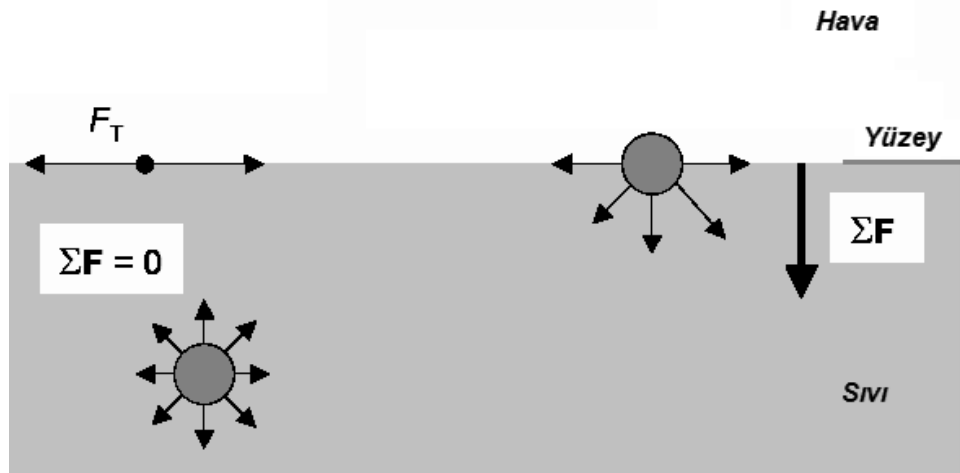
Molekül Ağırlığı ve Çözelti Viskozitesi: Elektro çekim yöntemi ile nanolif eldesinde gerekli şartlardan birisi çözeltinin yeterli molekül ağırlığında polimerden oluşması ve yeterli viskoziteye sahip olmasıdır. Elektro çekim sırasında, polimer jeti düzenin ucundan çıktığı zaman, polimer toplayıcı yüzeye ulaşınca kadar uzar. Polimer çözeltisinin uzaması sırasında, elektriksel olarak yüklü jetin bütünlüğünün bozulmasını engelleyen ve sürekli akışını sağlayan, molekül zincirlerinin karışıklığıdır (Buchko ve ark. 1999).

Polimerin molekül ağırlığı, polimer zincinin uzunluğunu gösterir. Ve polimerin uzunluğu çözelti içindeki polimer zincirlerinin karışıklığını belirlediği için, çözelti viskozitesi üzerinde etkilidir. Viskoziteyi arttırmanın diğer bir yolu çözelti içindeki polimer konsantrasyonunu arttırmaktır. Molekül ağırlığının artışına benzer şekilde, konsantrasyondaki artış, elektro çekim sırasında jetin sürekliliğini sağlayan polimer zincirinin daha fazla karışıklığına neden olur.

Polimer zinciri karışıklığının, elektro çekim sırasında polimer jetinin damlacıklara ayrılmasında veya elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olmasında önemli bir rolü oynadığı görülmüştür (Shenoy ve ark. 2005). Çok yüksek viskoziteli polimer çözeltilerinin düzeden beslenmesinde sorun çıkmaktadır (Kameoka ve ark. 2003). Ayrıca, viskozite çok yüksek olduğunda, elektro çekim işlemi gerçekleşmeden çözeltinin düzenin ucunda katılaşma riski bulunmaktadır (Zhong ve ark. 2002).

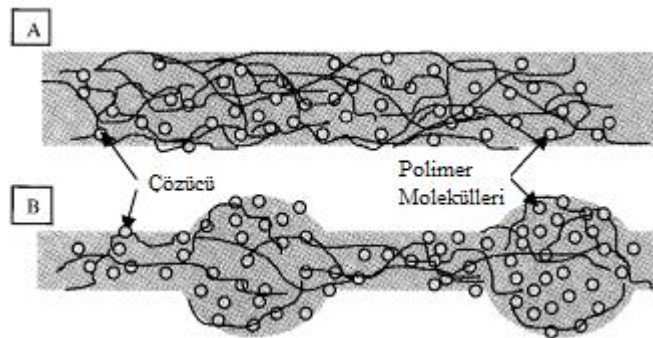
Düşük viskoziteli çözeltilerde yapılan çalışmalarda, toplama yüzeyi üzerindeki liflerde boncuk oluşumu gözlenmiştir. Viskozite arttırıldığında, boncukların küresel şeklinin bozulduğu ve lif şeklini almaya başladığı görülmüştür (Fong ve ark. 1999). Düşük viskozitelere, yüksek miktarda çözücü molekülü bulunur ve daha az zincir karışıklığı oluşur. Bu durum yüzey geriliminin polimer jeti boyunca etkin olmasına neden olur ve böylece oluşan lif boyunca boncuklar görülür. Viskozite arttırıldığında, çözelti içindeki polimer zinciri karışıklığı artar ve polimer jeti üzerindeki yükler çözeltiyi tamamıyla gerdirebilir. Artan viskozite ile birlikte, lif çapı da artar (Baumgarten 1971, Jarusuwannapoom ve ark. 2005). Bu durum, jet üzerinde çözeltiyi gerdirmeye çalışan yüklere karşı, çözeltinin gösterdiği direncin çok daha fazla olması ile açıklanabilir (Jarusuwannapoom ve ark. 2005).

Yüzey Gerilimi: Çözelti içindeki moleküller bir yönünden diğer moleküller ile sarılmıştır ve onlarla etkileşim halindedir. Denge halindeki çözeltide birbirini sarmalayan moleküllerin birbirlerine uyguladıkları çekim her yönden birbirine eşittir. Fakat yüzeyde bir kuvvet dengesizliği vardır ve yüzeyde bulunan bir moleküle uygulanan kuvvet her yönden aynı değildir. Hava ve sıvı etkileşiminde havanın sıvı ile etkileşimi çok düşüktür ve bu nedenle kuvvet neredeyse kendi maksimumundadır. Yüzey gerilim kuvvetleri etkisi altındaki sıvı, yüzey alanını minimum yapmak için küresel bir şekil alır (Erbil 2006). Şekil 2.35, sıvı moleküllerinin maruz kaldığı kuvvet etkileşimlerini göstermektedir.



Şekil 2.35. Sıvı içindeki moleküllerin maruz kaldığı kuvvetlerin şematik gösterimi (<http://web.utk.edu> 2014)

Elektro çekimin gerçekleşmesi için, elektriksel olarak yüklü çözelti, kendi yüzey gerilimini aşması gerekmektedir. Fakat polimer jeti toplama yüzeyine doğru hareket ederken, yüzey gerilimi nedeniyle jet boyunca boncuk oluşumu gözlenebilir. Yüzey gerilimi, birim sıvı kütlesi başına yüzey alanını düşürmeye yönelik çalışır. Bu durumda, serbest çözücü moleküllerinin konsantrasyonu yüksek olduğunda, çözücü moleküllerinin bir araya gelme ve yüzey gerilimi nedeniyle küresel şekil alma eğilimi daha fazla olur. Daha yüksek viskozitelerde, çözücü ve polimer molekülleri arasındaki etkileşim daha fazla olur ve böylece çözücü molekülleri, yüzey gerilimlerinin etkisini azaltmak için, çözelti elektriksel yüklerin etkisi altında gerdirilirken, karışmış polimer molekülleri arasına girer. (Şekil 2.36). Yüzey gerilimlerinin etkisini azaltmak için, düşük yüzey gerilimine sahip çözücüler veya çözeltiye yüzey aktif maddeler kullanılabilir (Ramakrishna ve ark. 2005).



Şekil 2.36. A) yüksek viskozitede, çözücü moleküllerinin, polimer molekülleri arasına dağılımı, B) düşük viskozitede çözücü moleküllerinin yüzey gerilimleri etkisi altında biraraya gelmesi (Ramakrishna ve ark. 2005)

Çözelti İletkenliği: Elektro çekim yöntemi polimer çözeltisi yüzeyindeki zıt yüklerin birbirini itmesi sonucu, çözeltinin gerdirilmesi esasına dayanır. Bu nedenle, eğer çözeltinin iletkenliği artarsa, polimer jeti tarafından daha fazla yük taşınmış olur.

Eğer çözelti yeterince iletken değilse, lif oluşumu görülmeyebilir. Çözelti iletkenliği; polimer/çözücü sisteminin, çözelti konsantrasyonunun değiştirilmesi veya çözeltiye tuz gibi iyonların eklenmesi eklenmesi ile artırılabilir. Net yük yoğunluğu (toplayıcıda oluşan yüzeyin birim hacmi başına düzeden toplayıcıya taşınan yükün miktarı), boncuk oluşumu ve lif kalınlığında etkilidir. Yüksek elektriksel akım, daha ince ve boncuksuz liflerin oluşuna neden olmaktadır. Genel olarak, çözeltinin diğer karakteristiklerini etkilemeden çözelti iletkenliğini değiştirmek zordur. Böyle durumlarda, elektriksel alan şiddetini, çözelti besleme oranını veya diğer parametreleri değiştirmek daha kolaydır (Robb ve Lennox 2011).

Çözücünün Dielektrik Katsayısı: Çözelti dielektrik katsayısının hem materyalin toplayıcı üzerinde toplanma hızında, hem de lif çapında etkili olduğu belirtilmektedir. Genel olarak, daha büyük dielektrik özellikleri olan çözeltilerde boncuk oluşumu daha az görülür ve daha ince çaplı lifler elde edilir Elektro çekim esnasında polimer jeti kararsızlığı daha yüksek dielektrik özelliklerine sahip çözeltilerde artar ve jetin izlediği yolun artması nedeniyle hem daha ince lifler elde edilir hem de liflerin toplayıcı yüzey üzerindeki yerleşim alanı artar (Ramakrishna ve ark. 2005, Robb ve Lennox 2011).

Proses Parametreleri: Elektro çekim prosesini etkileyen polimer jeti üzerinde etkili olan dış etkenlerdir. Bu etkenler uygulanan voltaj, polimer besleme oranı, çözeltinin sıcaklığı, toplayıcı tipi, düze ve toplayıcı arasındaki mesafe ve düze çapıdır.

Voltaj: Elektro çekim prosesindeki en önemli parametrelerden birisi de polimer çözeltisine uygulanan voltajdır. Polimer çözeltisinden bir jet oluşturmak için gerekli voltaj, çözelti/atmosfer arayüzeyindeki çözeltinin yüzey enerjisinden daha yüksek potansiyele sahip olmalıdır (Doshi ve Reneker 1995). Yüksek voltaj, çözelti üzerindeki yükler ile elektriksel alanı ve çözeltinin kendi yüzey gerilimini aşması için gerekli olan elektrostatik kuvveti oluşturur. Polimer jetindeki itici Coulomb kuvvetleri viskoelastik

çözeltiyi gerdirir. Eğer uygulanan voltaj değeri daha fazla arttırılırsa, daha fazla miktarda yük polimer jetini ivmelendirir ve düzenin ucundan hacimsel olarak daha fazla çözelti çekilir (Zhong ve ark. 2002).

Voltaj değeri ve dolayısıyla elektriksel alan polimer çözeltisinin gerdirilmesi ve jetin ivmelenmesinde etkili olduğu için, toplama yüzeyi üzerinde elde edilen nanoliflerin morfolojisi üzerinde de etkilidir. Birçok durumda, yüksek voltaj, daha fazla Coulomb kuvveti ve daha güçlü elektriksel alan nedeniyle çözeltinin daha fazla gerdirilmesine neden olur. Bu durum, daha ince liflerin elde edilmesine neden olur (Lee ve ark. 2004, Buchko ve ark. 1999, Megelski ve ark. 2002).

Lif çapını etkileyen bir diğer faktör, polimer jetinin elektriksel alanda kalma süresidir. Polimer jetinin elektriksel alanda daha uzun süre hareket etmesi, liflerin gerilmesine ve lifler toplayıcı yüzeye yerleşmeden önce daha fazla uzamasına neden olur. Böylece, daha düşük voltaj değerlerinde, daha az etkili elektriksel alan oluşur ve polimer jeti daha az ivmelenir. Bu durumda, polimer jetinin elektriksel alanda kalma süresi artar ve daha ince lifler oluşur (Zhao ve ark. 2004).

Daha yüksek voltaj değerlerinde, boncuk oluşma eğiliminin daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan araştırmalarda, artan voltaj ile oluşan boncukların çubuk şeklinden küresel şekle doğru değiştiği görülmüştür (Zhong ve ark. 2002).

Yüksek voltaj sadece lifin fiziksel görünüşünü değil, lifin kristalinitesini de değiştirir. Elektriksel alan polimer moleküllerinin daha düzenli olmasına böylece lif içinde daha yüksek kristallenmeye neden olur. Fakat belirli bir voltaj değerinin üzerinde, lifin kristalinitesi düşer. Artan voltaj ile liflerin ivmelenmesi de artar. Bu durum liflerin elektriksel alanda kalma süresini azaltır. Polimer moleküllerinin kristallenmesi için zaman gerektiğinden, azalan süre ile birlikte, polimer molekülleri yeterince kristallenmeden toplama yüzeyine yerleşir. Bu durumda, eğer polimer jeti yeterli süre elektriksel alanda kalırsa, liflerin kristalinitesi artar (Zhao ve ark. 2004).

Besleme Oranı: Besleme oranı, elektro çekim için gerekli olan çözelti miktarını belirler. Belirli voltaj değerinde, Taylor konisinin oluşması için gerekli olan belirli bir besleme oranı vardır. Besleme oranı arttırılırsa, düze ucundan daha fazla miktarda çözelti çekildiği için, lif çapında veya boncuk boyutlarında artış görülür. Bazı durumlarda, besleme oranı nanolif oluşturmaya yetecek kadar olsa bile, damlama problemi gibi sorunlar oluşabilir. Yüksek kaliteli lif oluşumunu sağlamak için, besleme oranı; polimer/çözücü seçimi ve konsantrasyona bağlı olarak belirlenmelidir (Ramakrishna ve ark. 2005, Robb ve Lennox 2011).

Eğer besleme oranı çok düşük olursa, çözelti düzenin ucunda katılaşabilir veya düze yüzeyinde yeterli çözelti miktarı olmadığı için Taylor konisi oluşmayabilir. Düze ucundan çekilen çözelti hacmi daha fazla olduğu zaman, polimer jetinin kuruması daha fazla zaman alır. Eğer besleme oranı artarsa, çözelti içindeki çözücünün uzaklaşması için yeterli zaman kalmaz ve toplama yüzeyi üzerinde yerleşen lifler içinde bir miktar çözücü kalabilir. Bu durum liflerin yüzey içinde birbirlerine değdikleri noktalarda yapışmasına neden olur. Bu nedenle daha düşük besleme oranları daha fazla tercih edilir (Ramakrishna ve ark. 2005).

Çözelti sıcaklığı: Çözelti sıcaklığı hem buharlaşma süresi hem de polimer çözeltisinin viskozitesinin düşürülmesinde etkilidir. Yapılan araştırmalarda, daha yüksek çözelti sıcaklığında çalışıldığında, çözelti viskozitesi daha düşük olduğu ve polimerin çözücü içindeki çözünürlüğü arttığı için, daha üniform lifler elde edilmiştir. Düşük viskozite değerlerinde, Coulomb kuvvetleri, çözelti üzerinde daha fazla gerilmesine neden olur. Dolayısıyla daha ince lifler oluşur. Fakat özellikle biyolojik numuneler ile çalışıldığında, sıcaklık biyolojik yapılara zarar verebilir (Ramakrishna ve ark. 2005).

Toplayıcı Tipi: Elektro çekimin gerçekleşmesi için, düze ve toplama yüzeyi arasında elektriksel bir alan oluşmalıdır. Bu nedenle, elektro çekim sisteminde, iletken bir malzemedan yapılan veya alüminyum folyo gibi iletken bir malzeme ile kaplanan topraklanmış bir toplama yüzeyi kullanılır (Ramakrishna ve ark. 2005)..

Elektro çekim sisteminde kullanılan toplayıcı tipi düz plaka, çubuk, döner silindir, keskin kenarlı disk vb. gibi pek çok farklı şekilde olabilir. Farklı tipteki toplayıcılar, lif morfolojisi üzerinde de etkili olur (Teo ve ark. 2006).

Toplayıcı tipinin yanı sıra, toplayıcının hızı da lif morfolojisi üzerinde etkilidir. Araştırmacılar, artan devir sayısı ile liflerin toplama yüzeyi üzerine daha paralel yerleştiğini, daha az boncuk oluşumu olduğunu ve liflerin kristalinitesinde germeye bağlı olarak artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Ramakrishna ve ark. 2005).

Düze Çapı: Yapılan araştırmalarda, küçük düze çaplarında hem düzenin tıkanmasının hem de boncuk oluşumunun azaldığı görülmüştür. Küçük çaplı düzelerde, elektro çekim sırasında atmosfere çıkan çözeltinin daha az olması nedeniyle tıkanma azalır. Düze çapındaki azalma, oluşan liflerin çapında da azalmaya neden olur. Düze ucunda oluşan damlanın hacmi küçüldüğünde, damlanın yüzey gerilimi artar. Aynı voltaj değerinde, jetin düzeden çıkmaya başlaması için daha fazla Coulomb kuvveti gerekir. Sonuç olarak, jetin ivmelenmesi azalır ve çözeltinin gerdirilmesi için daha uzun süre geçer. Fakat düze çapı çok küçük olursa, çözeltiyi düze ucuna pompalamak mümkün olmayabilir (Ramakrishna ve ark. 2005).

Mesafe: Mesafe değişimi ile birlikte toplayıcıya ulaşma süresi, çözücünün uzaklaşma süresi ve polimer jetinin karasız bölgede kalma süreleri değişir. Bu nedenle, Elektro çekim yöntemi ile üretilen nanoliflerin yapı ve morfolojisi, düze-toplayıcı mesafesinin değişiminden oldukça etkilenir (Subbiah ve ark. 2005).

Düze ucu ile toplama yüzeyi arasındaki mesafe değiştirilerek, polimer jetinin elektriksel alanda kalma süresi ve elektriksel alanın gücü değiştirilir. Düzgün liflerin oluşması için, çözücünün elektriksel alan içinde tamamen uzaklaşması gereklidir. Düze ucu ile toplama yüzeyi arasındaki mesafe azaltıldığında, jetin hareketi daha kısa mesafede gerçekleşir. Aynı zamanda elektriksel alanın şiddeti arttırılmış olur. Bu durum, jetin ivmelenmesini arttırır ve çözücünün uzaklaşması için yeterli süre sağlanamaz. Sonuç olarak, toplama yüzeyi üzerinde birbirine yapışmış liflerden oluşan bir yüzey elde edilir (Ramakrishna ve ark. 2005).

Ortam Koşulları: Polimer çözeltisi ve onu çevreleyen ortam arasındaki etkileşim elde edilen yapının morfolojisi üzerinde etkilidir. Bu koşullar, başlıca nem, atmosfer tipi ve basınç başlıkları altında incelenir.

Nem: Ortamın nemi, kullanılan çözücü tipine ve polimer çözeltisinin hidrofilitesine göre, her bir polimer çözeltisini farklı olarak etkiler. Sulu çözeltiler, nemden en fazla etkilenen çözeltilerdir. Bu çözeltilerde çözeltideki suyun ve atmosferin etkileşime girmesi olağandır. Yüksek nem oranlarında, su molekülleri lifin yüzeyi üzerinde yoğunlaşabilir. Sonuç olarak, özellikle uçucu çözücülerle hazırlanan polimer çözeltilerinde lif morfolojisi çok etkilenir. Yapılan araştırmalarda, artan nem ile lif yüzeylerinde gözenekler oluştuğu gözlenmiştir (Ramakrishna ve ark. 2005, Robb ve Lennox 2011).

Ortamın nemi, çözücünün buharlaşması üzerinde de etkilidir. Bazı durumlarda, çözücünün buharlaşması, çözelti düze ucundayken gerçekleşir ve bu durum düzede tıkanmaya neden olur (Ramakrishna ve ark. 2005).

Atmosfer Tipi: Elektro çekim ortamının gerçekleştirildiği atmosferdeki havanın kompozisyonu prosesi etkiler. Yüksek gerilim altında farklı gazlar farklı davranışlar gösterir. Örneğin, helyum gazı yüksek gerilim altında bozulur ve elektro çekim gerçekleşmez (Ramakrishna ve ark. 2005, Robb ve Lennox 2011).

Basınç: Kapalı bir ortamda çalışıldığında, elektro çekim prosesine basıncın etkisini araştırmak mümkün olur. Genel olarak, polimer jetine etki eden ortamın basıncındaki düşüş, elektro çekimi iyileştirmez. Kapalı ortam içindeki basınç, atmosfer basıncının altına düştüğünde, polimer çözeltisi düzeden daha fazla çıkma eğilimi gösterir ve bu durum stabil olmayan jet başlangıcına neden olur. Basınç düşmeye devam ettikçe, düzenin ucunda çözelti baloncuk yapmaya başlar ve elektriksel yüklerin aniden boşalması nedeniyle, elektro çekim mümkün olmaz (Ramakrishna ve ark. 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada PET nanolifli yüzeylerin medikal alanda kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, PET nanolifli yüzeylerin bağ dokusu ve deri yaralanmalarında doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise PET nanoliflerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Bu amaçla elektro çekim yöntemi ile vitamin katkılı ve gözenekli PET nanolifler oluşturulmuştur. Bu araştırmalar kapsamında yapılan çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

3.1. Materyal

Bu çalışmanın ilk aşaması PET nanolifli yüzeylerin doku çatısı (scaffold) olarak kullanılabilirliklerinin araştırılmasıdır. Çalışmada, solüsyondan elektro çekim ile nanoliflerin üretiminde, viskozitesi 0,645 poise olan, ticari olarak elde edilmiş Polietilen tereftalat (PET) cipsler kullanılmıştır. Çalışmanın ilk adımında PET cipsler ile çözelti hazırlanırken literatürde çözücü sistemi olarak önerilen (DCM) ve trifluoroasetik asit (TFA) kimyasalları kullanılmıştır (Velerinho ve ark. 2007). Farklı konsantrasyonlardaki PET çözeltileri, PET cipslerinin TFA (%50) ve DCM (%50) çözelti karışımında çözünmesi ile hazırlanmıştır. Çözücüler sıvı formda Bursa Teknik Kimya Tic. ve Pazarlama Ltd. Şti.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

Doku çatısı olarak kullanılmak üzere üretilen nanolifli yüzeylere fibroblast (Normal Human Dermal Fibroblasts (NHDF, LONZA)) ve keratinosit (Normal Human Epidermal Keratinocytes Adult NHEK, LONZA)) hücrelerinin ekimleri yapılmıştır. Hücre hatları Aka Biyoteknoloji Mühendislik ve Danışmanlık San. Tic. Ltd. Şti.'den temin edilmiştir.

Literatürde yapılan araştırmalarda, nanolifli yüzeylere uygulanan modifikasyon işlemlerinin, protein ve vitamin katkılı nanolifli yüzeyler üzerindeki hücre tutunmasının daha fazla olduğu görülmüştür. Bu amaçla nanolifli yüzeyler sodyum hidroksit (NaOH),

argon ve oksijen plazma işlemleri ile modifiye edilmiştir. Çalışmada kullanılan NaOH granül halinde Sigma Aldrich Co.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır. Ayrıca, farklı miktarlarda “soya proteini” ve vitamin içeren PET çözeltiler hazırlanmıştır. Soya proteini (PRO-FAM 955 (SP 955)) ADM Specialty Food Ingredients firmasından toz formda temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır. Vitamin olarak vitamin B2 (Riboflavin) kullanılmıştır. Vitamin, toz formda Sigma Aldrich Co.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşaması ise elektro çekim yöntemi ile üretilen PET nanoliflerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirliklerinin araştırılmasıdır. Çalışmanın bu adımında ticari olarak elde edilen PET cipsleri çözmek için, diklormetan (DMC) veya kloroform ve trifluoroasetik asit (TFA) kimyasalları kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki PET çözeltileri PET cipslerinin TFA (%50) ve DMC veya kloroform (%50) çözelti karışımında çözünmesi ile hazırlanmıştır. Çözücüler sıvı formda Sigma Aldrich Co.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

İlaç yüklenmesi ve salınımı çalışmalarında PET polimeri bünyesine su almadığı için, boyarmadde ve vitamin salınımını sağlamak üzere yüzeylere porojen madde eklenerek yapılar gözenekli hale getirilmiştir. Bu amaçla, molekül ağırlığı 3400 Da polietilen glikol (PEG) ve farklı molekül ağırlıklarında (200, 400 ve 600 kDa) polietilen oksit (PEO) eklenmiştir. Polimerler katı formda Sigma Aldrich Co.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

İlaç taşıyım sistemlerinin modellenmesi için öncelikle model ilaç olarak boyarmadde ile çalışmalar yapılmıştır. Boyarmadde olarak floresan özellikli Rhodamin B kullanılmıştır. İlaç salınım çalışmalarında ise vitamin B2 (Riboflavin) ile üretimler yapılmıştır. Boyarmadde ve vitamin toz formda Sigma Aldrich Co.'den temin edilmiştir ve herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada PET nanolifli yüzeylerin medikal alanda kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışmada, elektro çekim yöntemi ile elde edilen nanoliflerin;

- Bağ dokusu ve deri yaralanmalarında doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri ve
- İlaç salınım sistemlerinde kullanılabilirlikleri araştırılmıştır.

Bu amaçla,

- Elektro çekim yöntemi ile doku çatısı olarak kullanılmak üzere PET nanolifli yüzeyler üretilmiştir.
- Bu yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücreler ekilip hücre çoğalması incelenmiştir.
- Hücre tutunma ve çoğalmasını arttırmak için elde edilen yüzeylere çeşitli yüzey modifikasyonları uygulanmıştır:
 - Sodyum hidroksit (NaOH) ile kimyasal yüzey modifikasyonu,
 - Argon ve oksijen plazma ile yüzey modifikasyonu
 - Soya proteini katkılı PET nanolifli yüzey üretimi
 - Vitamin katkılı PET nanolifli yüzey üretimi
- Modifiye edilen yüzeylere hücre ekimi gerçekleştirilmiştir ve yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalması incelenmiştir.
- PET nanolifli yüzeylerin ilaç salınım sistemlerindeki kullanılabilirliklerini incelemek amacı ile katkılı PET nanolifli yüzeyler üretilmiştir. PET nanoliflerden salınım gerçekleştirmek için lifler porojen madde katkısı ile gözenekli hale getirilmiştir. Üretimlerde salınımı modellemek amacı ile boyarmadde ve vitamin kullanılmıştır.

3.2.1. Poliester nanolif üretimi

Elektro çekim yöntemi polimer çözeltisini elektriksel olarak yüklemek için yüksek elektrik kuvvetleri kullanır. Elektriksel kuvvet çözeltinin yüzey gerilimini aştığında çözeltiden bir çözelti jeti çıkar ve toplayıcıya doğru hareket ederken katılaşır. Sonuç olarak toplayıcı yüzey üzerinde ultra ince polimerik lifler oluşur.

Elektro çekim yöntemi ile nanolif üretiminde doğru parametrelerin belirlenmesi, uygun liflerin üretilmesi için en önemli adımdır. Bu parametreler, lif inceliği ve morfolojisi üzerinde çok etkilidir. Literatürde parametreler üzerine çok fazla çalışma yapılmış ve her bir parametrenin lif morfolojisi üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Fakat bu etkileri daha sistematik olarak ifade etmek gerekmektedir.

Bu nedenle doku çatısı olarak kullanılması düşünülen nanolifli yüzeylerin üretiminde, elektro çekim sistemine etki eden parametreler ve bu parametrelerin nanoliflerin inceliği üzerine etki derecelerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Hücre tutunması için önemli parametreler yüzey özellikleri yüzey kalınlığı, gözenek boyutu, yüzey gerilimidir. Özellikle gözenek boyutu önemlidir. Burada en önemli parametre lif inceliği ve kesit boyunca homojenliktir. Bu çalışmada farklı lif kalınlıkları, gözenek boyutu ve yüzey özellikleri değiştirilmiştir.

Elektro çekim yönteminde lif inceliğini değiştiren üretim parametreleri konsantrasyon, iğne-toplayıcı arası mesafe, uygulanan voltaj, besleme oranı ve sarım hızı olduğu literatür çalışmaları ile desteklenerek belirlenmiştir (Tan ve ark. 2005, Cui ve ark. 2007, Heikkilä ve Harlin 2008).

Yüzey üretimlerine ilk önce en önemli parametrelerden biri olan konsantrasyon değişimi ile başlanmış ve ön denemelerde ağırlıkça %10,15 ve 20 oranında PET içeren çözeltilerden yüzeyler üretilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri

Numune Kodu	Konsantrasyon (%)	Besleme Oranı (ml/sa)	Sarım Hızı (devir/dk)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)
P1	10	1	250	10	10
P2	15	1	250	10	10
P3	20	1	250	10	10

Ayrıca her bir parametre için 3 adet seviye belirlenerek uygun nanolif üretim parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çizelge 3.2’de bu değişkenlerin tümü seviyeleriyle birlikte verilmiştir.

Çizelge 3.2. Uygun nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri

Parametre	Birim	Seviye	Değerler
Konsantrasyon	%	3	10-15-20
Mesafe	cm	3	10-15-20
Voltaj	kV	3	10-12-18
Besleme oranı	ml/sa	3	1-1,5-3
Sarım hızı	devir/dk	3	250-500-750

Bu değişkenlerin tümü verilen seviyelerde tam etkensel tasarımla incelendiğinde, üretilmesi gereken yüzey sayısı $(3*3*3*3*3)= 243$ ’tür.

Bu kadar yüzey üretimi yapmak olanaklı olmadığı için, üretilecek yüzey sayısı anlamlı bir biçimde azaltılmıştır. Bu azaltım için “Taguchi Deney Tasarımı” yöntemi kullanılmıştır (Roy 2001).

Taguchi yöntemi, parametre tasarımı, sistem tasarımı ve tolerans tasarımı üzerine kurulmuş bir deney tasarım ve optimizasyon yöntemidir. Her bir parametrenin, her bir seviyesini içeren tüm kombinasyonlar için oldukça fazla deneysel çalışma yapılması gereken durumlarda, Taguchi yöntemi kullanılarak çok daha az sayıda deneysel çalışma ile sonuca ulaşmak mümkün olmaktadır.

Sistem tasarımı bu metodun ilk adımıdır. Bu adımda eldeki bütün materyaller değerlendirilir, aynı zamanda mevcut teknolojik yenilikler araştırılır. İkinci adım olan parametre tasarımında, üretimde kullanılan parametrelerin iyileştirilmesi sağlanır. Parametrelerde en iyi seviyeler seçilir. Üretim esnasında kontrol edilemeyen etkiler belirlenir. Bunlara kontrol edilemeyen parametreler adı verilir ve bu parametrelerin etkisi minimize edilir (Gökçe ve Taşgetiren 2009).

Bu çalışmada, nanolif üretimini etkileyen parametreler olarak konsantrasyon, iğne-toplayıcı arası mesafe, uygulanan voltaj, besleme oranı ve sarım hızı seçilmiştir. Bu parametrelerin üretilen nanolifler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Her bir parametre için 3 adet seviye belirlenmiştir. PET polimeri için; %10 PET konsantrasyonunun altındaki ve %30 PET konsantrasyonunun üzerindeki değerlerde lif oluşumu gözlenmemektedir (Velerinho ve ark. 2007). Çalışmada seçilen değerler, daha önce PET polimeri ile yapılan ön çalışmalarda en iyi sonuçları veren değerlerdir (Düzyer 2009, Düzyer ve ark. 2011).

Parametreler belirlendikten sonra Taguchi ortogonal dizisinden bir dizi seçmek gerekmektedir. Çalışmada, 5 parametre ve her bir parametrenin de 3 seviyesi olduğu için L18 dizisi en uygun dizi olarak seçilmiştir (Çizelge 3.3). Çizelge 3.4'te ise çalışmada belirlenen parametreler ve parametre seviyelerinin elektro çekim sistemine uyarlanmış hali verilmiştir.

Çizelge 3.3. Taguchi L18 ortogonal dizisi

Deney sayısı	P1	P2	P3	P4	P5
1	1	1	1	1	1
2	1	2	2	2	2
3	1	3	3	3	3
4	2	1	1	2	2
5	2	2	2	3	3
6	2	3	3	1	1
7	3	1	2	1	3
8	3	2	3	2	1
9	3	3	1	3	2
10	1	1	3	3	2
11	1	2	1	1	3
12	1	3	2	2	1
13	2	1	2	3	1
14	2	2	3	1	2
15	2	3	1	2	3
16	3	1	3	2	3
17	3	2	1	3	1
18	3	3	2	1	2

Çizelge 3.4. Taguchi L18 ortogonal dizisinin elektro çekim ile nanolif üretimine uyarlanması

Deney Sayısı	Konsantrasyon (%)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	Besleme Oranı (ml/sa)	Sarım Hızı (dev/dk)
1	10	10	10	1	250
2	10	15	12	1,5	500
3	10	20	18	3	750
4	15	10	10	1,5	500
5	15	15	12	3	750
6	15	20	18	1	250
7	20	10	12	1	750
8	20	15	18	1,5	250
9	20	20	10	3	500
10	10	10	18	3	500
11	10	15	10	1	750
12	10	20	12	1,5	250
13	15	10	12	3	250
14	15	15	18	1	500
15	15	20	10	1,5	750
16	20	10	18	1,5	750
17	20	15	10	3	250
18	20	20	12	1	500

Taguchi yöntemi ile deneysel tasarım yapıldıktan sonra, nanolifli yüzeylerin belirlenen parametreler ile üretimine başlanmıştır. Ön denemelerde üretilen numunelerin yüzey analizleri sonucu ağırlıkça %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerdeki lif çaplarının çok kalın olduğu ve ‘nano’ boyutların dışında olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu konsantrasyon ile devam etmeme kararı alınmıştır.

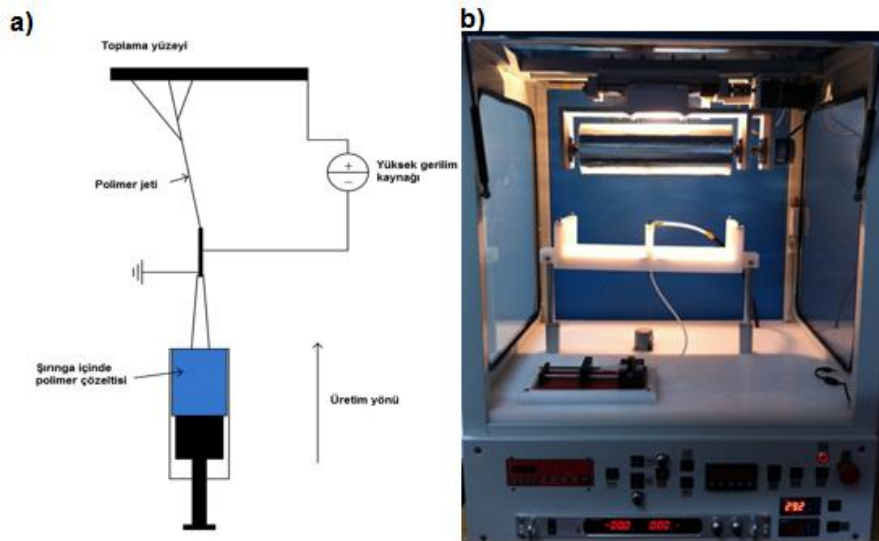
Daha sonra, mesafe değişimi ile üretimlere geçilmiştir. Bu üretimler sırasında mesafe ile voltaj parametrelerinin birbirleri ile bağımlı değişken oldukları gözlenmiştir. Birinin sabit tutularak diğerinin değiştirilmesi mümkün olmamıştır. Mesafenin değiştirilmesi yüklü polimerin taşınma mesafesini arttırdığı için voltaj ayarının yeniden yapılması gerekmektedir. Bu durumda bütün farklı konsantrasyonlarda çalışan mesafe-voltaj parametresi belirlenmiş ve bu değerlerin sabit tutulmasına karar verilmiştir. Sarım hızının değişimi ile yapılan üretimlerde 500 devir/dk hızın üzerine çıkıldığında lif sürekliliğinde bozulma ve kopmalar gözlenmiştir. Ayrıca besleme oranı olarak 3 ml/sa ile çalışıldığında, çözeltinin tamamının lif olarak çekilemediği ve damlamalar olduğu

görülmüştür. Bütün bu kriterler göz önünde bulundurularak yeni yüzey üretim parametreleri belirlenmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Doku çatısı olarak kullanılan nanoliflerin üretim parametreleri

Numune Kodu	Konsantrasyon (%)	Besleme Oranı (ml/sa)	Sarım Hızı (devir/dk)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)
P4	%10 PET	1	250	10	20
P5	%10 PET	1,5	250	10	20
P6	%10 PET	1	350	10	20
P7	%15 PET	1	250	10	20
P8	%15 PET	1	500	10	20
P9	%15 PET	1,5	250	10	20
P10	%15 PET	1	350	10	20
P11	%15 PET (ince yüzey)	1	250	10	20
P12	%15 PET (kalın yüzey)	1	250	10	20
P13	%20 PET	1	250	10	20

Doku çatısı olarak kullanılmak üzere oluşturulan nanoliflerin üretimi Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan NanoSpinner24 marka elektro çekim düzeneğinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Düzenek; iğne, besleme pompası, toplama yüzeyi ve yüksek voltaj kaynağından oluşmaktadır. Toplama yüzeyi olarak çapı 120 mm olan döner silindir kullanılmıştır.



Şekil 3.1 a) Elektro çekim sisteminin şematik görüntüsü, b) U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan elektrosinning düzeneği (<http://www.hindawi.com> 2014)

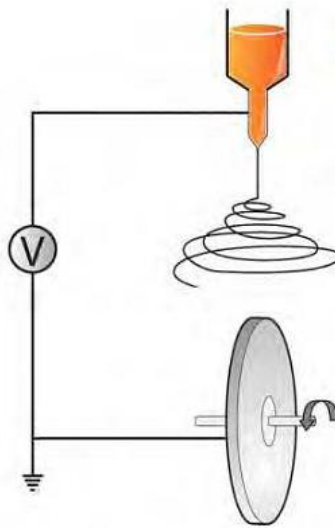
Üretimlere geçilmeden önce, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PET çözeltilerinin viskozite ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Laboratuvarları'nda bulunan Brookfield marka viskozimetre ile 100 devir/dk'de gerçekleştirilmiştir. Çözelti sıcaklıkları yaklaşık olarak 19 °C'dir.

Üretilen yüzeylerin kalınlık ölçümleri Electronic Digital Micrometer ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Nanolifli yüzeyler mikrometrenin çeneleri arasına yerleştirilerek ölçümler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan mikrometrenin görüntüsü

İlaç taşıma sistemi olarak kullanılmak üzere oluşturulan yüzeyler Chicago'da bulunan University of Illinois at Chicago, Makine Mühendisliği Laboratuvarları'nda bulunan elektro çekim düzeneğinde üretilmiştir. Düzenek, iğne, besleme pompası, toplama yüzeyi ve yüksek voltaj kaynağından oluşmaktadır. Toplama yüzeyi olarak döner disk kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. İlaç yükleme çalışmalarında kullanılan elektro çekim cihazının şematik görüntüsü (<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/10026.pdf> 2014)

3.2.2. Nanoliflerin sterilizasyonu

Hücre ekim işleminden önce, üretilen yüzeylerin sterilize edilmesi gerekmektedir. Literatürde konvansiyonel tekstil yüzeyleri için çeşitli sterilizasyon yöntemleri kullanılmasına rağmen, nanoliflerin sterilizasyonu ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle öncelikle uygun sterilizasyon yönteminin uygulanabilmesi için bir ön çalışma yapılmıştır. Bu çalışma sırasında nanolifli yüzeylere etilen oksit (EO), otoklav (AU) ve ultraviyole (UV) sterilizasyonu yöntemleri uygulanarak, sterilizasyon sonrası nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu yapılmıştır. Alınan sonuçlara göre nanoliflerin sterilizasyonu için en uygun yöntemin UV sterilizasyonu olduğu görülmüş ve çalışmalara bu sterilizasyon yöntemi kullanılarak devam edilmiştir.

3.2.2.1. Etilen oksit sterilizasyonu

Nanolifli yüzeyler, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi bünyesinde bulunan sterilizasyon ünitesinde etilen oksit ile sterilize olmuştur. Bu uygulamada nanolifli yüzeyler 55°C'de 4 saat süreyle etilen oksit ile muamele edilmiştir. İşlemin ardından numuneler 4 saat havalandırma koşullarında bırakılmıştır.

3.2.2.2. Otoklav sterilizasyonu

Otoklav sterilizasyonunda temel prensip doymuş ve basınç altındaki su buharında 100°C'nin üzerinde sterilizasyondur. Bu yöntemde; basınçlı su buharının taşıdığı yüksek enerji mikroorganizmaların proteinlerini hidroliz yoluyla denatüre eder ve kısa sürede etki oluşur.

Otoklav içindeki havanın uzaklaştırılması ya ortama direkt doymuş buhar verilip, buharla havanın yer değiştirmesi sağlanarak ya da ön vakumla hava alınarak sağlanır. Ön vakumla hava alındıktan sonra ortama doymuş buhar verilir. Sadece havanın buhar ile uzaklaştırılması tatmin edici bir sterilizasyon sağlamadığı için, buhar verilmeden

önce bir vakum ile havanın mekanik olarak alınması sterilizasyonun güvencesi konusundaki kuşkuları giderir (<http://www.das.org.tr/kitaplar/kitap2005/9-05.pdf>).

Nanolifli yüzeyler, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Prof. Dr. Şermin Paker Hücre ve Embriyo Kültür Laboratuvarı'nda bulunan B-sınıfı otoklav (Dentsan, Class B) kullanarak sterilizasyon yapılmıştır. Sterilizasyon sürecinde numuneler aşağıdaki prosedürlerden geçmiştir:

121 °C-1,1 bar (65 dk.)- Vakum I (4 dk.)- Vakum II (4 dk.)- Vakum III (4 dk.)- Sterilizasyon (15 dk.)- Kurutma (10 dk.)- Vakum IV (4 dk.)

3.2.2.3. Ultraviyole sterilizasyonu

Nanolifli yüzeylerin sterilizasyonu için, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Prof. Dr. Şermin Paker Hücre ve Embriyo Kültür Laboratuvarında bulunan yatay hava akımlı steril kabin (Thermo, Hera guard), model HPH) kullanılmıştır. Numuneler, önce etil alkol ile daha sonra 3 defa steril Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi (PBS) ile yıkanmıştır ve 1 saat UV ile kabin içinde sterilize edilmiştir. Numunelerin her iki yüzeyi için işlemler tekrar edilmiştir.

3.2.3. Nanoliflerin yüzey modifikasyonu

Hücre ekimi yapılan yüzeylerin yüzey karakterizasyonu sonucunda, ince liflerden oluşan yüzeyler üzerinde hücre tutunması ve çoğalmasının daha fazla olduğu, çaplar arttıkça hücre tutunması ve çoğalmasında azalma olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, hücre tutunması/çoğalmasının artırılması için yapıların yüzey özelliklerinin değiştirilmesine ve yüzey modifikasyonları yapılmasına karar verilmiştir. Bazik bir kimyasal olan NaOH, PET liflerinin yüzeylerini soyarak etki eder ve yüzey özelliklerini kimyasal olarak değiştirir. Argon plazma işleminde ise yüzeyler üzerinde aşınma oluşur ve bu durum yüzey alanını arttırarak, hücrelerin tutunması için yeni yerleşim noktaları oluşturur. Oksijen plazma yönteminde ise PET lifi yüzeyindeki C/O oranı değişir ve yeni fonksiyonel gruplar oluşur. Bu nedenle farklı konsantrasyonlardaki

PET çözeltilerinden üretilen nanolifli yüzeylere sodyum hidroksit (NaOH) muamelesi ve plazma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Literatürde, protein kaplanmış yüzeylerde hücre tutunması ve çoğalmasının daha iyi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapılan araştırmalar ile polimer çözeltisine çeşitli katkı maddelerinin eklenmesinin hücre çoğalmasını olumlu yönde etkileyeceği görülmüştür. Bu kapsamda, University of Illinois at Chicago’da üretilen, bir protein kaynağı olan soya katkılı PET nanolifli yüzeylere ve ilaç salınım sistemi olarak kullanılması düşünülen vitamin içeren yüzeylere de hücre ekimleri yapılmıştır.

3.2.3.1. NaOH modifikasyonu

Ağırlıkça %10, %15 ve %20 oranında PET içeren yüzeyler 2x2 cm boyutlarında kesilmiştir ve oda sıcaklığında farklı molaritedeki (0,5-1-2-5 M) 100 ml NaOH çözeltilerinde farklı sürelerde (5-10-30 dk.) muamele edilmiştir. Çözeltiler saf su kullanılarak hazırlanmıştır. İşlem, Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Laboratuvarları’nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.2. Plazma modifikasyonu

Ağırlıkça %10, %15 ve %20 oranında PET içeren yüzeyler Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Laboratuvarları’nda bulunan Pico Diener (Ebhausen, Almanya) marka plazma cihazı ile modifiye edilmiştir. Deneyler sırasında 2x2 cm boyutlarında kesilen numuneler, 15x30 cm boyutlarındaki alüminyum plaka üzerinde, numune ile plazma arası mesafe 6 cm olacak şekilde cihaz içindeki silindirik vakum odasına yerleştirilmiştir. Plazma işlemleri sırasında gaz basıncı 2 mbar, güç 100 W, oksijen ve argon gazı besleme oranı 2,5 cm³/dk olarak kullanılmıştır. Farklı PET konsantrasyonlarındaki çözeltilerden üretilen yüzeyler Oksijen ve Argon gazları ile sırasıyla 30, 60 ve 90 saniye muamele edilmişlerdir.

3.2.3.3. Soya katkılı nanoliflerin üretimi

Hücre tutunması ve çoğalmasını arttırması amacıyla ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilere farklı oranlarda (0,15 gr ve 2 gr) soya proteini eklenerek elektro çekim yöntemi ile nanoliflerden oluşan yüzeyler üretilmiştir. Üretimler University of Illinois at Chicago'da Makine Mühendisliği Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Hücre ekim işlemi

Çalışmada, UV metodu ile sterilize edilen nanolifli yüzeylere ve modifiye edilmiş yüzeylere hücre ekimi yapılmıştır. Çalışma sırasında kullanılacak keratinosit ve fibroblast olmak üzere 2 farklı hücre tipini içeren hücre dizileri önce 50 cm²'lik doku kültür flasklarına üretilmek üzere ekimi yapılmıştır. Bir seri takip ve pasajlama işlemlerinden sonra çoğalan her bir hücre tipine ait hücreler flasklardan %3'lük tripsinle 7 dk. muamele edilerek kaldırılmıştır. Kaldırılan hücrelerin santrifüj yardımıyla dibe çökmesi sağlanmıştır. Daha sonra çöken hücreler her bir farklı hücre tipi için 6-kuyucuklu hücre kültür flasklarına yerleştirilen (Şekil 3.4) ve UV ile sterilizasyonu yapılmış olan nanolifli yüzeyler üzerine eşit sayıda hücre olmak üzere hücre ekimi yapılmıştır. Hücre ekim işlemleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Prof. Dr. Şermin Parker Hücre ve Embriyo Kültür Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan kültür flaskları (http://ooxis.com/wp-content/uploads/2014/01/Cell_Culture.jpg 2014)

3.2.5. Nanoliflere ilaç yüklenmesi

İlaç salınım sistemi olarak tasarlanan polimerik yapılarda mekanik özelliklerin iyi olması, kullanım yerinde yeterli mukavemeti göstermesi önemlidir. Ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin mekanik özelliklerinin daha iyi olduğu yapılan çekme deneyleri ile belirlenmiştir. Bu nedenle ilaç salınım çalışmalarında bu konsantrasyonda çalışılmasına karar verilmiştir.

Ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltiler, 1,5 g PET'in 8,5 g TFA ve kloroform (50:50) içinde çözünmesiyle hazırlanmıştır. Çözelti 55°C'deki manyetik karıştırıcı üzerinde 4 saat bekletilmiştir. Daha sonra 0,03 g Rhodamine B çözeltiye eklenmiştir ve homojen karışım elde etmek için 30 dk. ultrasonik dalga ile titreştirilmiştir.

PET polimeri tek başına ilaç salınım sistemi olarak kullanıldığında, sıfıra yakın bir salınım mertebesi göstermektedir. Bu nedenle PET yapının porojen madde kullanımı ile gözenekli hale getirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, gözenekliliği sağlamak için suda çözünen polietilen glikol (PEG) ve farklı molekül ağırlıklarında polietilen oksit (PEO) porojen madde olarak kullanılmış ve porojen katkılı PET nanolifli yüzeyler üretilmiştir. PET/PEG çözeltisi hazırlamak için, ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözelti, TFA/kloroform içinde yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Daha sonra, 0,15g PEG eklenmiştir ve çözelti 55 °C'deki manyetik karıştırıcı üzerinde 30 dk. karıştırılmıştır. Son olarak, model ilaç olarak 0,03 g floresan özellikli boyar madde (Rhodamine B) çözeltiye eklenmiştir ve homojen karışım elde etmek için 30 dk. ultrasonik dalga ile titreştirilmiştir.

PET/PEG/PEO çözeltileri yukarıda anlatılan PET/PEG çözeltisine 0,15 g PEO eklenmesi ve 55°C'deki manyetik karıştırıcı üzerinde 1 saat karıştırılması ile elde edilmiştir. PEO'nin molekül ağırlığına göre (200, 400, and 600 kDa) 3 farklı çözelti hazırlanmıştır. Bu işlemlerde PEG ve PEO iki farklı tipte porojen olarak kullanılmıştır. Çözeltiler hazırlandıktan sonra 0,03 g Rhodamine B her bir çözeltiye eklenmiş ve 30 dk. ultrasonik dalga ile titreştirilmiştir.

Literatürde vitamin katkısının nanolifli yapılar üzerindeki hücre tutunması ve çoğalmasını artırıcı yönde etki ettiği belirtilmektedir (Taepaiboon ve ark. 2007). Bu nedenle vitamin B2 (Riboflavin) içeren çözeltileri hazırlamak için PET bazlı çözeltiler yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Her bir çözeltiye Rhodamine B yerine 0,03 g Riboflavin eklenmiştir ve 30 dk. boyunca ultrasonik dalga ile titreştirilmiştir.

Ayrıca Rhodamin B ve Riboflavin katkılı bütün çözeltiler alüminyum folyo ile kaplanarak ışığa maruz kalması engellenmiştir.

Rhodamin B ve Riboflavin katkılı yüzeylerin üretimi University of Illinois at Chicago Makine Mühendisliği Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Nanoliflerden ilaç salınım değerlendirmesi

Rhodamine B floresan boyarmadde içeren nanolifli yüzeyler dikdörtgen olarak 5-10 mg ağırlıklarında kesilmiş ve içinde 5 ml saf su bulunan cam şişelere konmuştur. Cam şişeler, numunelerin ışığa maruz kalmasını engellemek için alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Salınım mekanizmasını anlamak yapılan deneylerde nanolifli numuneler suda bekletilmiştir. Deneyler sırasında, boyarmadde nanoliflerden suya salınım yapmıştır ve suyun floresan şiddeti salınan boyarmadde miktarını bulmak için periyodik olarak ölçülmüştür. Bunu gerçekleştirmek için, şişeden periyodik olarak 200 µl su örneği alınmıştır ve 96-kuyucuklu mikro plakalara konmuştur. Plakadaki dört kuyucuk 200 µl numune ile eş zamanlı olarak doldurulmuş ve suda bulunan boyanın floresan şiddeti, Rhodamine B için uygun olan 553 nm eksitasyon dalga boyu ve 627 nm emisyon dalga boyu ile Gemini SpectraMax spectrofluorometer (Molecular Devices) kullanılarak ölçülmüştür.

Riboflavin içeren yüzeylerin salınım deneyleri de yukarıda anlatılan prosedür ile 268 nm eksitasyon dalga boyu ve 373 nm emisyon dalga boyu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Dört kuyucuktaki ortalama floresan şiddeti boyarmadde veya vitaminin belirli zamandaki floresan şiddeti olarak verilmiştir. Daha sonra şişedeki su yeniden doldurulmuştur. Bu proses, periyodik olarak belirli zaman aralıklarında tekrar edilmiştir. Floresan şiddeti, su içine salınan kütleyle orantılıdır. Bu nedenle, salınım yapan floresan maddenin (boyarmadde veya vitamin) kütlesini belirli zaman aralığı süresince kaydetmek mümkün olmuştur. Sonuç olarak, zamanın fonksiyonu olarak salınan kümülatif kütleyi ölçmek mümkün olmuştur.

Bütün numuneler için, salınım deneyleri aynı numuneden kesilen nanolif yüzeyi ile 3 kere tekrar edilmiştir. Bütün deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. Nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu testleri

3.2.7.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri

Nanoliflerin çapları, incelik dağılımı, yüzey morfolojisi gibi özellikleri ile ilgili bilgi edinmek amacı ile nanolif üretim aşamasından sonra, sterilizasyon işleminden sonra, hücre ekiminden işlemlerinden sonra, modifikasyon işlemlerinden sonra ve boyarmadde/vitamin yüklü nanolifleri incelemek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri yapılmıştır.

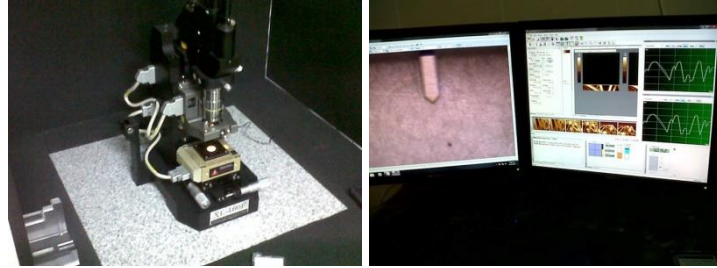
SEM analizleri için numuneler silikon plaka üzerine yerleştirilerek hazırlanmıştır. Yüzeylerin morfolojisi altın kaplamadan sonra, hücre ekilen yüzeyler ise kritik nokta kurutucusu ile kurutulduktan ve kaplandıktan sonra SEM ile incelenmiştir. SEM analizlerinde, Gebze-TÜBİTAK MAM'da bulunan JEOL marka 840JXA model, Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi bünyesinde bulunan Carl Zeiss Evo 40 model (SEM) ve University of Illinois at Chicago'da bulunan Hitachi S-3000N model taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır.

3.2.7.2. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizleri

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) çok yüksek çözünürlüklü bir taramalı kuvvet mikroskobudur. Atomik boyutlara kadar sivriltilmiş bir iğne ucu yardımıyla, yüzeyin yüksek çözünürlükte, üç boyutlu görüntülenmesini sağlar. Görüntüleme, iğne ucunun yüzey ile etkileşiminin incelenmesi sonucunda gerçekleştirilir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri ile görülemeyen detayları gözlemlemek ve nanoliflerin yüzey özellikleri ile ilgili daha detaylı bilgi edinmek amacı ile nanoliflerin üretim aşamasından sonra, sterilizasyon işleminden sonra ve modifikasyon işlemlerinden sonra Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) analizleri yapılmıştır.

AFM analizleri, Afyon Kocatepe Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (TUAM)'da bulunan PARKSİSTEM marka atomik kuvvet mikroskobu ile yapılmıştır (Şekil 3.5). Analizler, sırasında atomik boyutlara kadar sivriltilmiş bir iğne ucu, yüzeye yeterince yaklaştırılmış ve iğne-yüzey arasındaki atomik etkileşimler vasıtasıyla yüzeylerin üç boyutlu görüntülenmesini gerçekleştirilmiştir. Deneyler, numune üzerindeki $5\mu\text{m}^2$ lik alanın temassız modda taranması ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.5. PARKSİSTEM marka atomik kuvvet mikroskobu

3.2.7.3. Yüzey gözenekliliği

Doku çatılarının en önemli parametrelerinden birisi de yüzeylerin gözenek boyutudur. Bu amaçla, modifiye edilmemiş P6 (%10 PET) ve P10 (%15 PET) ile NaOH, Argon plazma, Oksijen plazma ile yüzeyleri modifiye edilen yapılar ve farklı yöntemlerle sterilize edilmiş numunelerin “yüzey gözenekliliği” Image J yazılımı kullanılarak incelenmiştir. Analizler sırasında yazılıma yüzeylerin SEM görüntüleri yüklenmiş ve

görüntülerin siyah-beyaz görüntüleri alınmıştır. Siyah-beyaz görüntüler üzerindeki siyah bölgelerin alanları gözenek boyutu olarak hesaplanmıştır (Heydarkhan-Hagvall ve ark. 2008, Yang ve ark. 2009). Her bir numune için 10 ölçüm alınmış ve ortalama değerler kaydedilmiştir.

3.2.7.4. Hava geçirgenliği testleri

Yüzey gözenek boyutlarının bilgisayar yazılımı ile analizinden sonra, nanolifli yapıların gözenekliliği ile bilgi edinmek amacı ile hava geçirgenliği testleri gerçekleştirilmiştir. Hava geçirgenliği testleri Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Laboratuvarları'nda bulunan SDL Atlas M021A Hava Geçirgenliği Test Cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Hava geçirgenliği ölçümleri BS 5'636 (İngiltere) standardına uygun olarak yapılmıştır. Deney 98 Pa basınç değeri ve 5 cm²'lik test başlığı kullanılarak cm³/cm²/sn cinsinden yapılmıştır. Deneyler her bir numune için 5 kere tekrar edilmiş ve ortalama değerler alınmıştır.



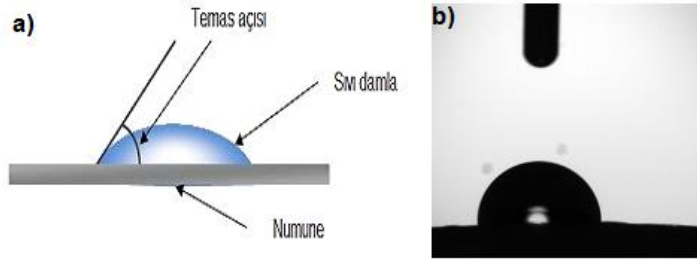
Şekil 3.6. U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan hava geçirgenliği cihazı

3.2.7.5. Temas açısı ölçümleri

Temas açısı katı bir yüzeyin bir sıvı tarafından ıslatılabilmesinin nicel ölçüsüdür. Numunelerin temas açısı ölçümleri Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği bünyesinde bulunan KSV- The Modular CAM 200 system marka cihaz ile yapılmıştır. Temas açısı ölçümleri, numune üretiminden sonra, sterilizasyon işleminden sonra, modifikasyon işlemlerinden sonra ve boyarmadde/vitamin yüklü nanoliflerin ıslanabilirliklerini incelemek için her aşamada gerçekleştirilmiştir.

Ölçümler “yerleştirilen damla (sessile drop) tekniği” kullanılarak damla şekli analizi ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel düzenek kamera, bilgisayar ve monitörden oluşmaktadır.

Her bir numune üzerine sıvı damlalar mikrometre pipet ile yerleştirilmiş ve her damlanın şekli bilgisayar tabanlı resim yakalama sistemine bağlı kamera ile çekilmiştir (Şekil 3.7). Çekilen resimler monitörde görüntülenmiştir. Resimler sıvı damlalar numune yüzeyine yerleştirildikten sonra mümkün olan en kısa süre içinde çekilmiştir. Her bir numune için 3 adet ölçüm yapılmış ve ortalama değerler alınmıştır.



Şekil 3.7. a) Temas açısı ölçümünün şematik gösterimi, b) U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan temas açısı ölçüm cihazı ile yapılan ölçümlerden bir görüntü.

3.2.7.6. Çekme testleri

Çekme deneyleri Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Laboratuvarları'nda bulunan 4301 model Instron çekme cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8). Bu deneylerde, numuneler 5x50 mm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır. Numuneler üretim yönüne paralel olacak şekilde yüzeylerden kesilmiş ve testler nanoliflerden oluşan yüzeyler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deneyler sırasında literatürdeki çalışmalardan faydalanılarak çeneler arası mesafe 20 mm ve çene hızı 20 mm/dk olarak belirlenmiştir (Jeon ve ark. 2008, Vondran ve ark. 2008). Çekme testleri nanoliflerin üretim aşamasından sonra, sterilizasyon işlemlerinden sonra ve modifikasyon işlemlerinden sonra gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. U.Ü. Tekstil mühendisliği Laboratuvarı'nda bulunan Instron cihazı

3.2.7.7. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizleri

Ağırlıkça %10 ve %15 oranında PET içeren nanolifler ile etilen oksit, otoklav ve ultraviyole yöntemleri ile sterilize edilen numunelerin ısı özelliklerini belirlemek amacı ile diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri yapılmıştır. Nanoliflerin termal analizleri Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı'nda (BUTAL) bulunan Perkin-Elmer marka Sapphire model bir diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) cihazı ile incelenmiştir. Test esnasında oda sıcaklığından 300 °C sıcaklığa 10 °C/dk çalışma hızı kullanılarak çıkılmıştır.

3.2.7.8. Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) analizleri

Nanolifli yüzeylere uygulanan işlemler, yüzeyler üzerinde yeni bağlar oluşmasına neden olabilir. Çalışma kapsamında, doku çatısı olarak kullanılmak üzere üretilen ağırlıkça %10 ve 15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeyler EO, AU ve UV yöntemleri ile sterilize edilmiştir.

Uygulanan işlemlerin yüzeyler üzerindeki kimyasal etkilerini görmek amacı ile ağırlıkça %10 ve 15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeyler ile EO, AU ve UV ile sterilize edilen yüzeyler üzerinde Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) analizleri gerçekleştirilmiştir.

Deneyler TÜBİTAK Bursa Analiz ve Test Laboratuvarları'nda (BUTAL) bulunan Perkin-Elmer marka Spectrum 2000 model bir FTIR cihazı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.7.9. İlaç salınımlarında floresan madde takibi

Nanoliflerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri araştırılırken model ilaç olarak suda çözünen floresan boyarmadde olan Rhodamine B ve vitamin B2 (Riboflavin), porojen maddeler içeren PET polimer çözeltisi içine katılarak boyarmadde/PET/porojen ve vitamin/PET/porojen katkıları nanolifli yüzeyler elde edilmiştir.

Model ilaçların salınım deneyleri University of Chicago, Makine Mühendisliği Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Salınım mekanizmasını anlamak için yapılan deneylerde nanolifli numuneler suda bekletilmiştir. Deneyler sırasında, boyarmadde nanoliflerden suya salınım yapmıştır ve suyun floresan şiddeti salınan boyarmadde miktarını bulmak için periyodik olarak ölçülmüştür. Bunu gerçekleştirmek için, şişeden periyodik olarak 200 µl su örneği alınmıştır ve 96-kuyucuklu mikro plakalara konmuştur. Plakadaki dört kuyucuk 200 µl numune ile eş zamanlı olarak doldurulmuş ve suda bulunan boyanın floresan şiddeti, Rhodamine B için uygun olan 553 nm eksitasyon dalga boyu ve 627 nm emisyon dalga boyu ile Gemini SpectraMax spectrofluorometer (Molecular Devices) (Şekil 3.9) kullanılarak ölçülmüştür.

Riboflavin içeren yüzeylerin salınım deneyleri de yukarıda anlatılan prosedür ile 268 nm eksitasyon dalga boyu ve 373 nm emisyon dalga boyu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Dört kuyucuktaki ortalama floresan şiddeti boyarmadde veya vitaminin belirli zamandaki floresan şiddeti olarak verilmiştir. Daha sonra şişedeki su yeniden doldurulmuştur. Bu proses, periyodik olarak belirli zaman aralıklarında tekrar edilmiştir. Floresan şiddeti, su içine salınan kütleyle orantılıdır. Bu nedenle, salınım yapan floresan maddenin (boyarmadde veya vitamin) kütlesini belirli zaman aralığı süresince kaydetmek mümkün olmuştur. Sonuç olarak, zamanın fonksiyonu olarak salınan kümülatif kütleyi ölçmek mümkün olmuştur.



Şekil 3.9. Gemini SpectraMax marka spektrofotometre

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının amacı PET nanolifli yüzeylerin medikal alanda kullanılabilirliklerinin incelenmesidir. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, PET nanolifli yüzeylerin bağ dokusu ve deri yaralanmalarında doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu kapsamda elektro çekim yöntemi kullanılarak farklı proses parametreleri ile nanolifli yüzeyler oluşturulmuş ve yüzeyler üzerine hücre ekimi yapılmıştır. Yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalması sonuçlarından yola çıkılarak, hücre ekimine en uygun yüzeyler belirlenmiş ve bu yüzeylere sodyum hidroksit (NaOH), argon ve oksijen plazma uygulamaları ile yüzey modifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca literatürde hücre çoğalmasına katkıda bulunduğu belirtilen protein ve vitamin katkılı yüzeyler üretilmiştir. Daha sonra modifiye edilen ve katkılı yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalma davranışı incelenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise PET nanoliflerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Bu amaçla elektro çekim yöntemi ile vitamin katkılı ve gözenekli PET nanolifler oluşturulmuştur. Bu araştırmalar kapsamında yapılan çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

4.1. Nanoliflerin Karakterizasyonu

Nanolifli yüzeylerin doku çatısı olarak kullanılabilirlikleri incelenirken, öncelikle ağırlıkça %10, 15 ve 20 oranında PET içeren çözeltiler hazırlanmış ve çözeltilerin viskozite ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerin viskozite değerleri

Malzeme (PET)	Viskozite (cP)
%10	38,40
%15	115,20
%20	278,40

Çalışmanın ilk adımında, lif inceliğine etki eden en önemli parametre konsantrasyon olduğu için uygun konsantrasyon ve uygun üretim parametreleri belirlenmiştir. PET polimeri için; %10 PET konsantrasyonunun altındaki ve %30 PET konsantrasyonunun üzerindeki değerlerde lif oluşumu gözlenmediği için %10 ve %20 aralığında çalışılmasına karar verilmiştir. Ancak %20 PET konsantrasyonu ile çalışıldığında mikron boyutlarında lifler üretildiği için bu değer ile sınırlı çalışılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 4.2. Nanoliflerden oluşan yüzeylerin üretim değişkenleri

Numune Kodu	Konsantrasyon (%)	Besleme Oranı (ml/sa)	Sarım Hızı (devir/dk)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)
P1	10	1	250	10	10
P2	15	1	250	10	10
P3	20	1	250	10	10

Daha sonra, mesafe değişimi ile üretimlere geçilmiştir. Bu üretimler sırasında mesafe ile voltaj parametrelerinin birbirine bağımlı değişken oldukları gözlenmiştir. Birinin sabit tutularak diğerinin değiştirilmesi mümkün olmamıştır. Mesafenin değiştirilmesi yüklü polimerin taşınma mesafesini arttırdığı için voltaj ayarının yeniden yapılması gerekmektedir. Bu durumda bütün farklı konsantrasyonlarda çalışan mesafe-voltaj parametresi belirlenmiş ve bu değer sabit tutulmasına karar verilerek, yüzey üretim parametreleri tekrar belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Doku çatısı olarak kullanılan nanoliflerin üretim parametreleri

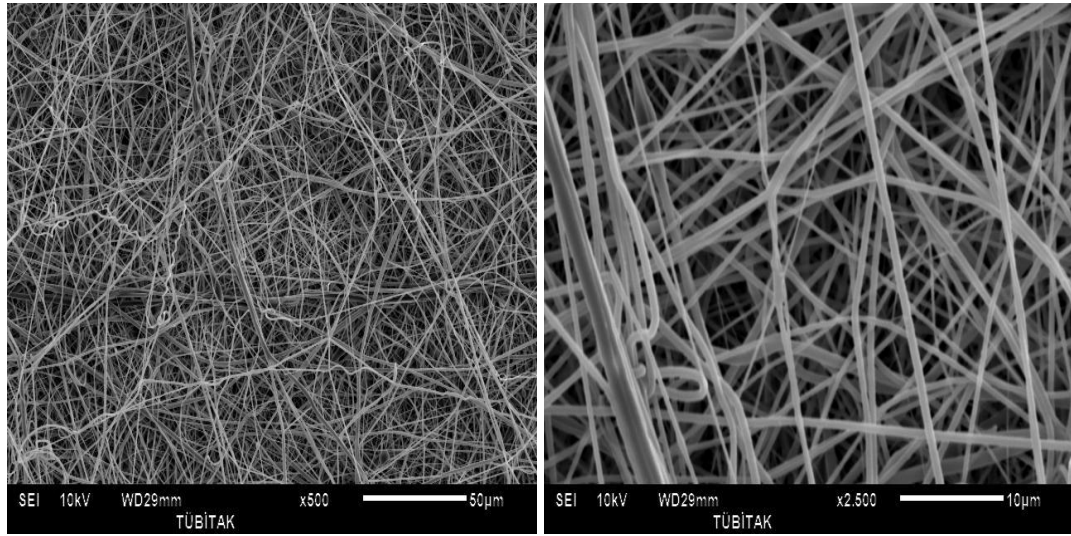
Numune Kodu	Konsantrasyon (%)	Besleme Oranı (ml/sa)	Sarım Hızı (devir/dk)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)
P4	%10 PET	1	250	10	20
P5	%10 PET	1,5	250	10	20
P6	%10 PET	1	350	10	20
P7	%15 PET	1	250	10	20
P8	%15 PET	1	500	10	20
P9	%15 PET	1,5	250	10	20
P10	%15 PET	1	350	10	20
P11	%15 PET (ince yüzey)	1	250	10	20
P12	%15 PET (kalın yüzey)	1	250	10	20
P13	%20 PET	1	250	10	20

4.1.1. SEM analizi sonuçları

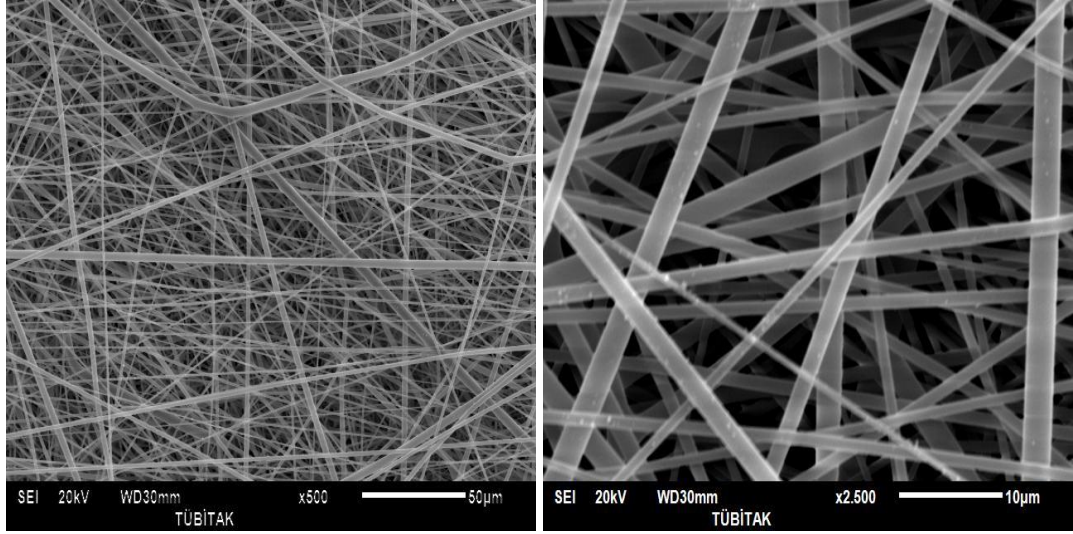
Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'te P1, P2 ve P3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri verilmektedir. Farklı konsantrasyonlarda (%10,15,20) aynı parametreler ile üretilen P1, P2 ve P3 kodlu PET nanolifler; polimer konsantrasyonuna bağlı olarak farklı çaplardan oluşan ve farklı yapılar gösteren yapı içinde rastgele yerleşim gösteren dokusuz yüzeyler oluşturmuştur. Polimer konsantrasyonu arttıkça çözelti viskozitesi de artmakta ve böylece daha büyük çaplı ve daha az hatalı lifler oluşmaktadır.

SEM analizleri sonucunda P1 kodlu yüzeylerde, yapı içindeki liflerin lif eksenı boyunca lif kesitinin ünıform olmadığı gözlenmiştir. Artan polimer konsantrasyonu ile lif kesitinin ünıform hale geldiğı gözlenmektedir.

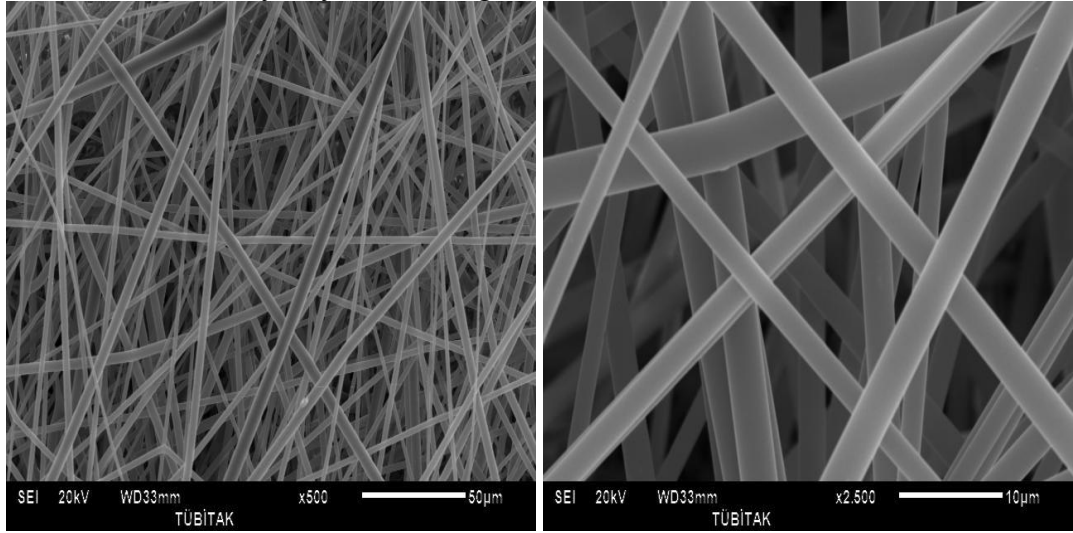
P3 kodlu yüzeylerin görüntülerinde ise daha kalın lifler elde edilmesine rağmen; lif çapları çoğunlukla lif eksenı boyunca ünıformdur.



Şekil 4.1. P1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.2. P2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



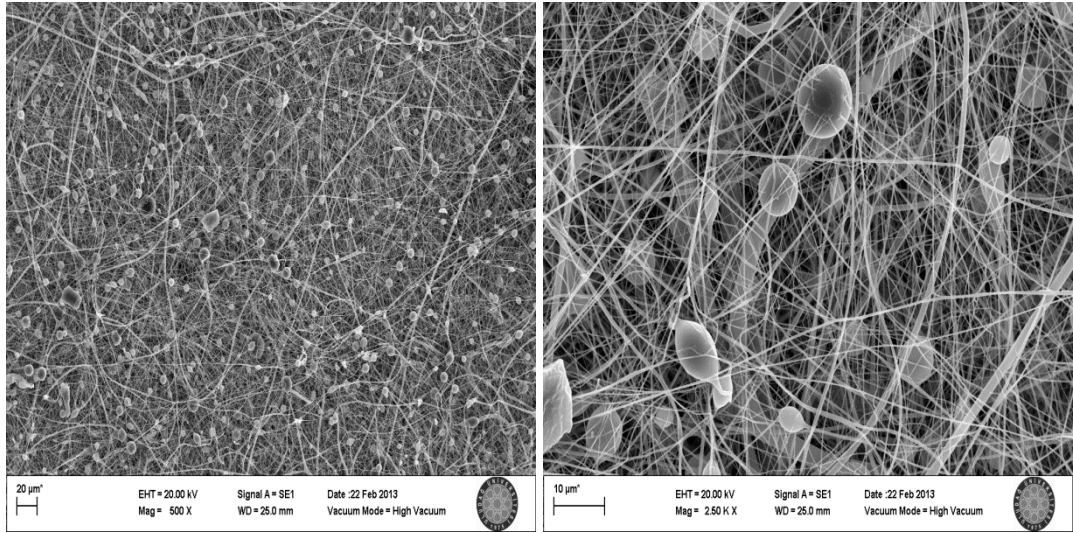
Şekil 4.3. P3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri

P4-P13 kodlu yüzeylerin üretimindeki başlıca değişkenler sarım hızı, besleme oranı ve konsantrasyon değişimidir. P4, P5 ve P6 kodlu yüzeyler %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerdir. P4 ve P5 kodlu yüzeylerde diğer bütün parametreler sabit tutularak besleme oranı değiştirilmiştir. Genel olarak her iki yüzeyde de boncuk oluşumu vardır. Fakat besleme oranının daha fazla olduğu P5 kodlu yüzeylerde daha kalın çaplı lifler elde edilmiştir ve bu yüzeylerde boncuk oluşumu daha fazladır. Sarım hızının artması liflerin incelmesine ve boncuklu yapının azalmasına neden olmuştur (Şekil 4.4-4.6).

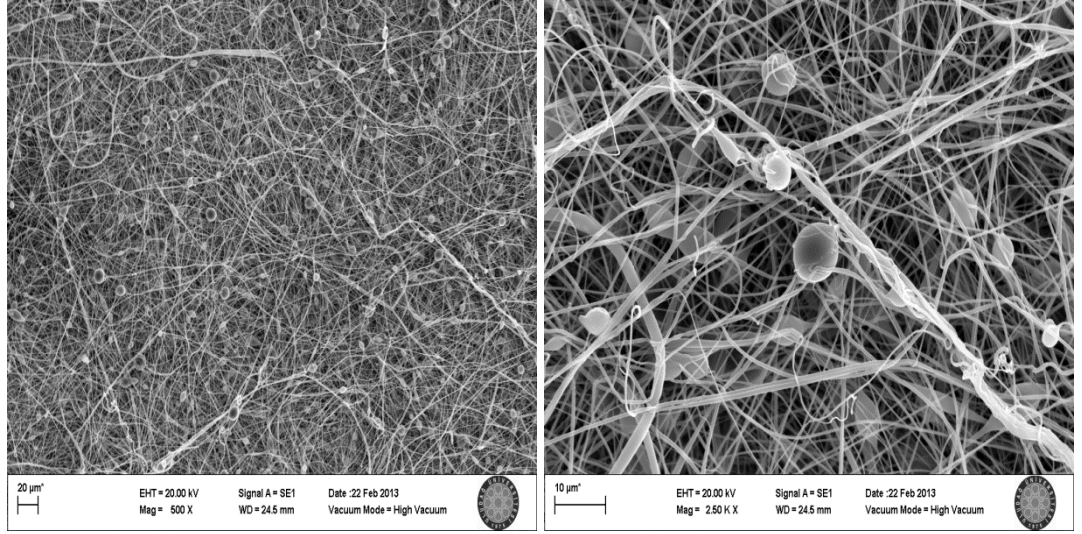
P7-P10 kodlu yüzeyler %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerdir. Besleme oranı ve sarım hızı değişimi bu yüzeylerde de benzer değişimlere neden olmuştur. Ancak sarım hızının 500 devir/dk olduğu P8 kodlu yüzeylerde lif oluşumunun kesintiye uğradığı, lif sürekliliğinin bozulduğu gözlenmiştir. Bu nedenle optimum sarım hızı olarak 350 devir/dk olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7-4.10).

Ayrıca, hücre tutunması ve çoğalması üzerinde yüzey kalınlıklarının etkisini görmek amacıyla üretim parametreleri sabit tutularak, P11 ve P12 kodlu, ince ve kalın yüzeyler üretilmiştir. Bu yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde benzer inceliklerde nanolifler oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.11 ve 4.12).

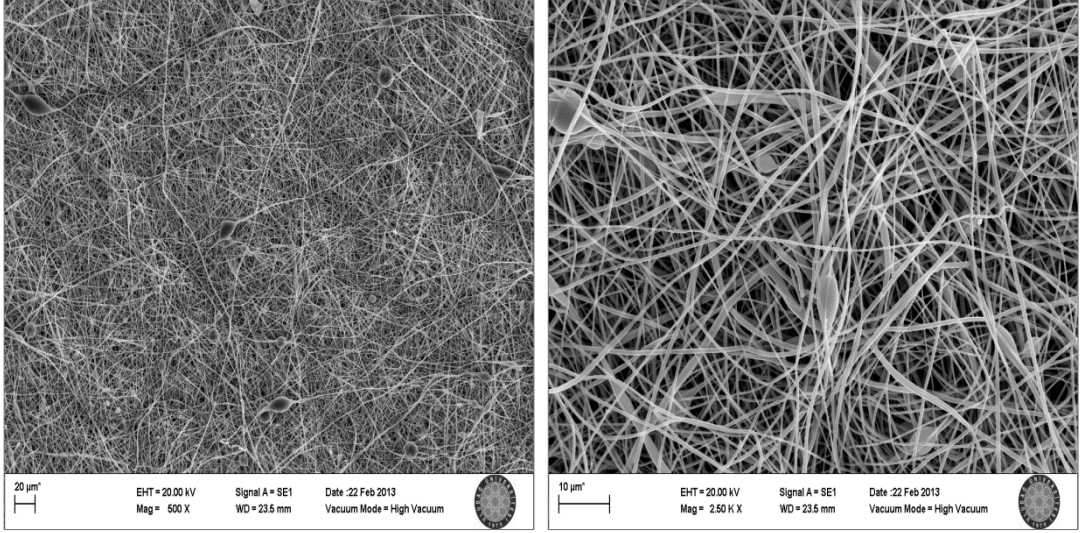
%20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen P13 kodlu yüzeylerde daha kalın nanoliflerden oluşan yüzeyler elde edilmiştir. Ayrıca bu yüzeyde lif çapı lif eksenı boyunca ünıformdur (Şekil 4.13). Çizelge 4.4 ve 4.5 incelendiğinde düşük konsantrasyonlu çözeltilerden elde edilen lif çaplarının ve yüzey kalınlıklarının daha az olduğu, artan konsantrasyon ile çap ve yüzey kalınlıklarında artış olduğu görülmektedir.



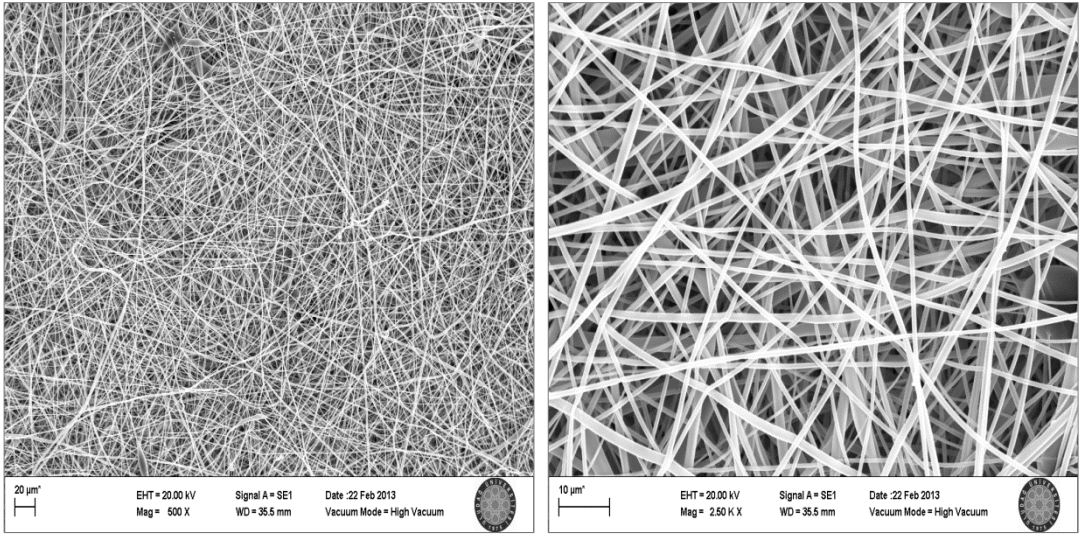
Şekil 4.4. P4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



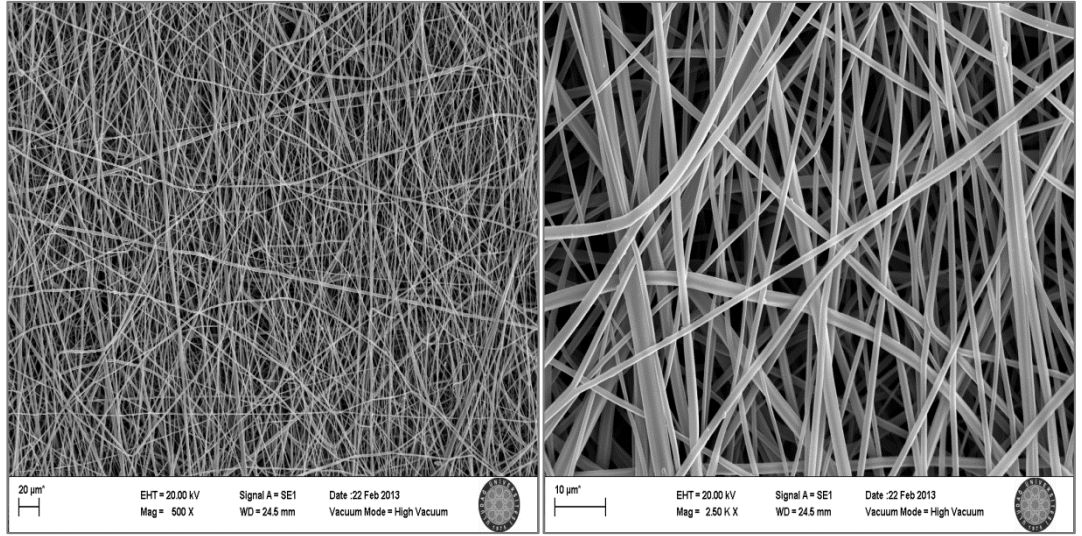
Şekil 4.5. P5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



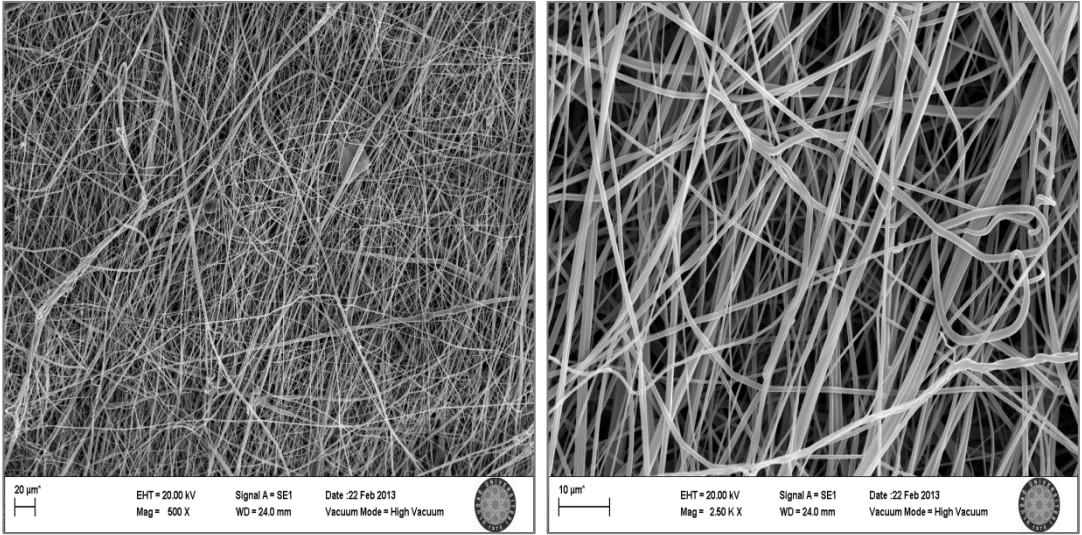
Şekil 4.6. P6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



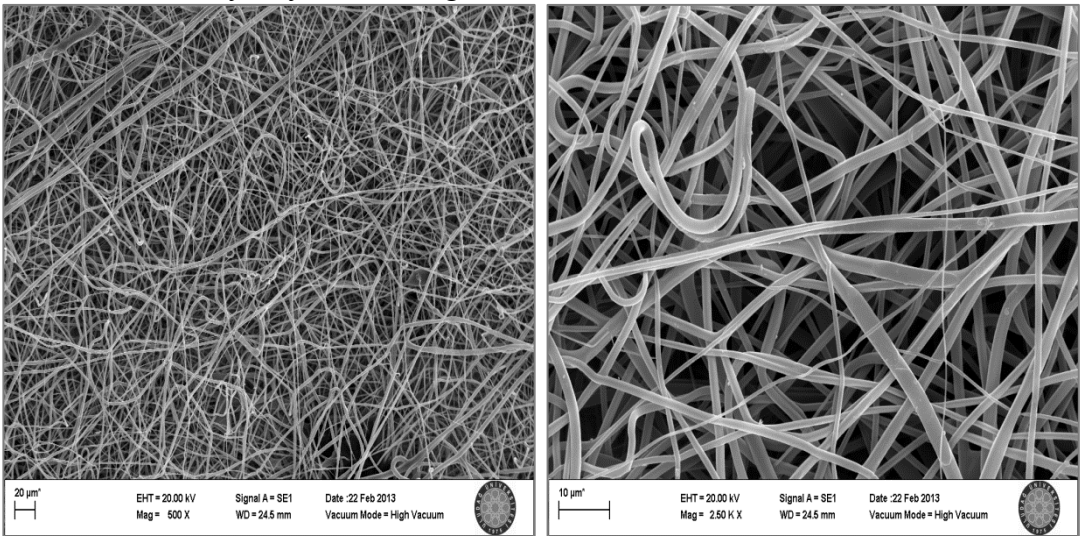
Şekil 4.7. P7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



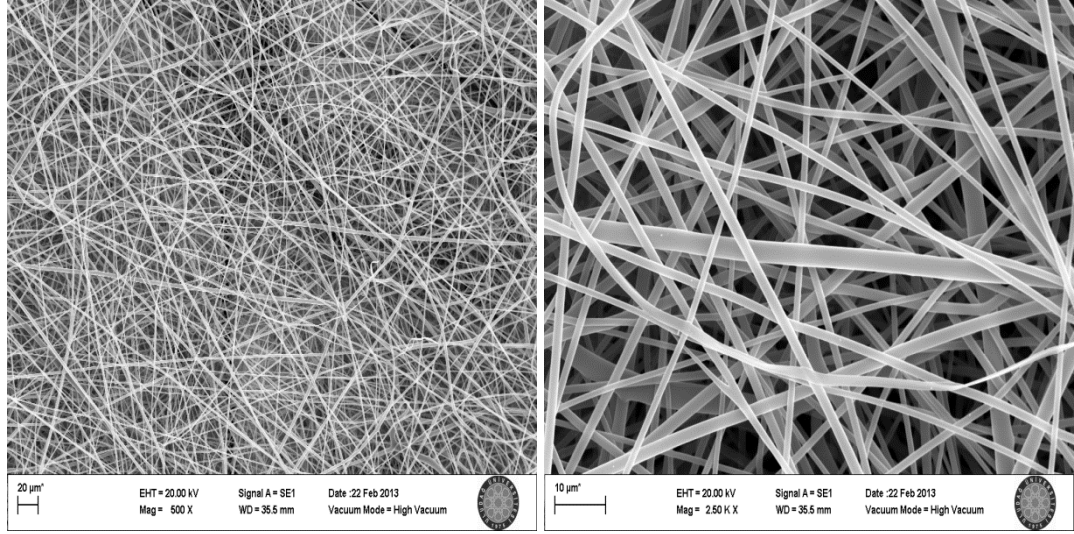
Şekil 4.8. P8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



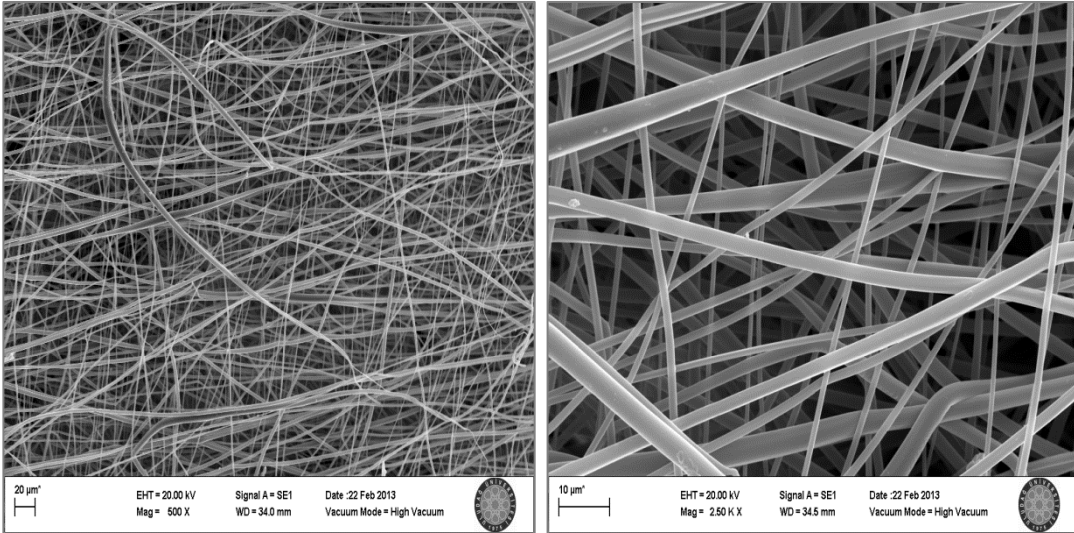
Şekil 4.9. P9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



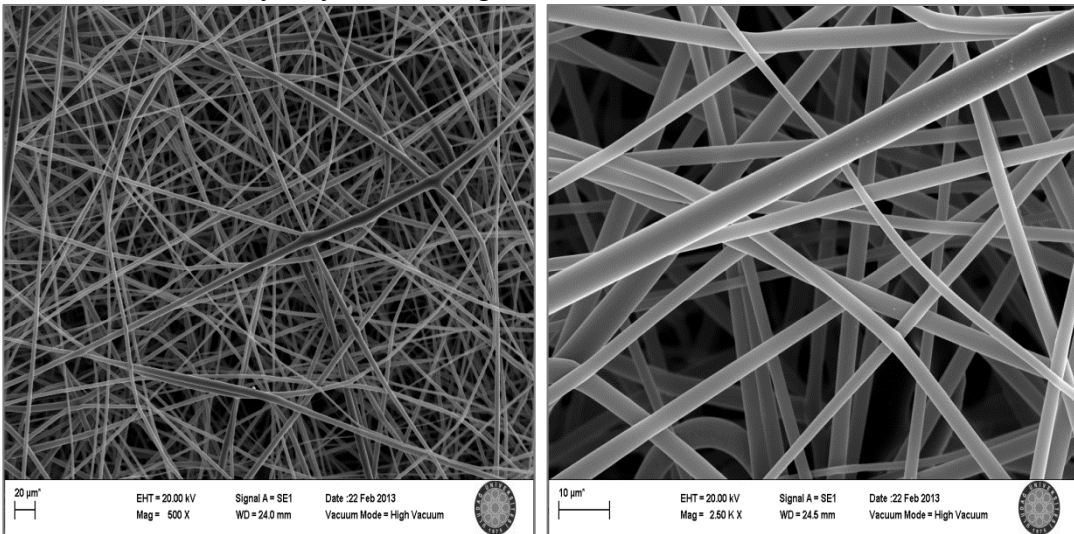
Şekil 4.10. P10 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.11. P11 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.12. P12 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.13. P13 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri

Çizelge 4.4. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin çapları

Numune kodu	Çap (µm)	%CV
P1	0,660	46,97
P2	0,870	27,59
P3	2,360	27,80
P4	0,587	47,10
P5	0,600	52,70
P6	0,575	43,72
P7	1,375	32,36
P8	0,900	39,72
P9	1,684	54,72
P10	1,368	48,65
P11	1,525	32,28
P12	1,575	30,90
P13	2,825	28,00

Çizelge 4.5. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerden oluşan yüzeylerin kalınlık ölçümleri

Numune kodu	Kalınlık (mm)
P1	0,110
P2	0,220
P3	0,420
P4	0,121
P5	0,298
P6	0,352
P7	0,281
P8	0,349
P9	0,568
P10	0,365
P11	0,149
P12	0,656
P13	0,386

4.1.2. Temas açısı ölçüm sonuçları

Liflerin serbest yüzey enerjileri liflerin çevre şartlarıyla etkileşimini belirleyen önemli özelliklerden biridir. Liflerin serbest yüzey enerji değerlerini bilmek, ıslanabilirlik,

adhezyon, absorpsiyon gibi yüzey karakteristiklerini anlamada yardımcı olur (Hsieh 2001).

Çizelge 4.6 farklı polimer konsantrasyonlarından üretilen ve farklı sterilizasyon yöntemleri ile işlem görmüş PET nanoliflerin temas açılarını göstermektedir.

Çizelge 4.6. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerden oluşan yüzeylerin temas açısı değerleri

Numune kodu	Temas Açısı (°)	%CV
P1	132,71	0,80
P2	140,02	1,33
P3	141,71	1,38
P4	116,37	2,92
P5	119,78	1,00
P6	115,87	2,53
P7	128,86	3,42
P8	128,98	1,19
P9	126,33	0,99
P10	128,80	1,66
P11	131,85	1,01
P12	130,71	0,87
P13	132,94	1,24

Polimer konsantrasyonundaki artış nanoyüzeylerin temas açılarında, az bir artışa neden olmuştur. Konvansiyonel PET liflerinin düşük yüzey enerjileri ile bağlantılı olarak 70-75 °C aralığında temas açısı değerleri gösterdiği bilinmektedir (Hsieh 2001). Genel olarak, PET nanoliflerin lif çapındaki azalma, nanoyüzeylerin süper hidrofobik yüzey özelliği kazanmasına neden olmuştur. Lif incilmesi nanolifli yüzeyin daha pürüzlü bir yüzeye sahip olmasına neden olur. Bu nedenle temas açıları artmaktadır.

4.1.3. Çekme testi sonuçları

Her ne kadar hücre tutunması ve büyümesi için nanoyüzeylerin mekanik özellikleri en önemli parametre olmasa da kullanım yerindeki performansı açısından önemli olabileceği için mekanik analizler yapılmıştır. Elektro çekim yolu ile üretilen PET nanoyüzeylerin mekanik analizleri için kopma mukavemeti ve uzaması testleri yapılmıştır. Çizelge 4.7 Young modülü ve kopma uzaması değerlerini göstermektedir. %20 konsantrasyon nanoyüzeyin yüksek modül verdiği ve düşük uzama gösterdiği görülmüştür.

Nanolifli yüzeylere yapılan Instron testlerinde nanolifli yüzeyin performansına nanolifin yapısı ve nanolifin yüzey içerisindeki yerleşimi etkilidir. Homojen lif çapı, lif kalınlığı, lifin içerisinde moleküllerin yerleşimi gibi lif özelliklerinin yanı sıra liflerin paralel ya da karışık yerleşimi de yüzeyin mekanik özelliklerine etki eder. Kalın ve homojen lifler ve liflerin yüzey içerisine paralel yerleşimi mekanik performansı iyileştirir.

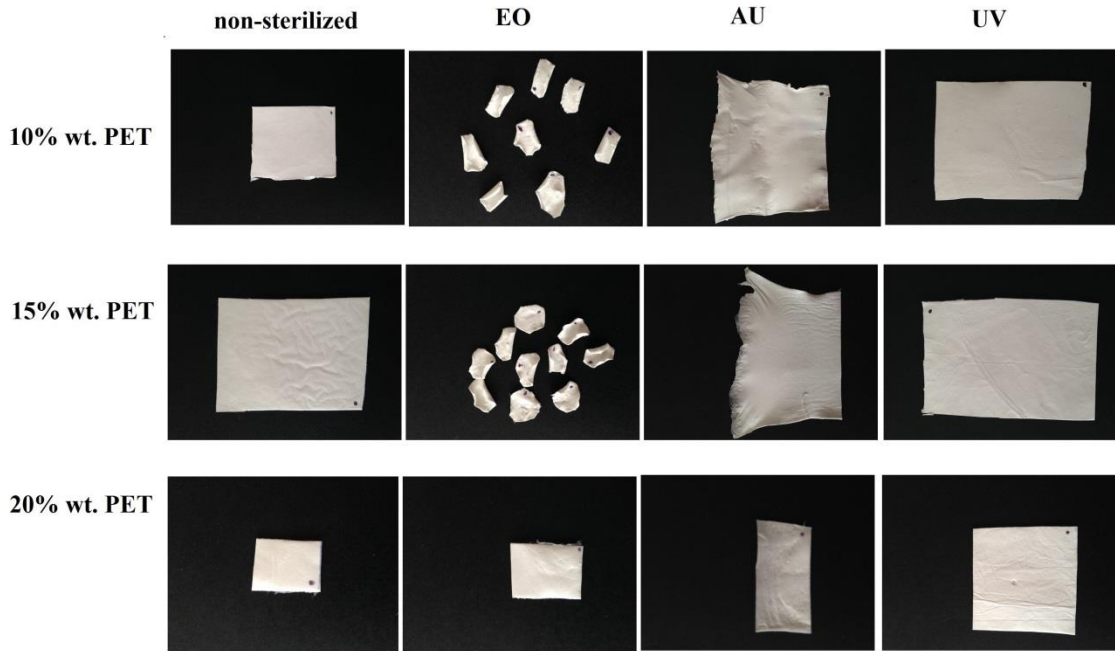
Çizelge 4.7. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerin Young modülü ve kopma uzaması değerleri

Numune kodu	Young Modülü (MPa)	Kopma uzaması (%)
P1	100,9	78,74
P2	172,0	108,5
P3	224,1	55,95
P4	39,87	70,57
P5	51,78	97,26
P6	47,39	101,38
P7	174,60	90,08
P8	265,72	91,19
P9	179,70	71,84
P10	199,10	111,90
P11	169,50	100,50
P12	171,20	112,70
P13	332,20	64,24

4.2. Sterilize Edilen Nanoliflerin Karakterizasyonu

4.2.1. SEM ve AFM analizi sonuçları

Hücre ekimleri öncesi nanolifli yüzeylerin sterilize edilmesi gerekmektedir. Ancak farklı sterilizasyon yöntemlerinin, numunelerin yüzey ve mekanik özelliklerinde olumsuz etkileri olmaktadır. Numunelerin yüzey bütünlüğünü bozmayan ve mekanik özelliklerini etkilemeyen sterilizasyon yöntemini bulmak için, ağırlıkça %10, 15 ve 20 oranında PET içeren (P1, P2 ve P3) numuneler; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde uygulanan standart sterilizasyon yöntemleri (EO, AU ve UV) ile sterilize edilmiştir. Nanolifli yüzeylerin farklı sterilizasyon işlemleri sonrası morfolojileri (lif inceliği, lif düzgünlüğü, lif yüzeyi) SEM ve AFM analizleri ile incelenmiştir. SEM ve AFM analizleri öncesi yüzeylerin fiziksel görüntüleri kamera ile görüntülenmiştir (Şekil 4.14).

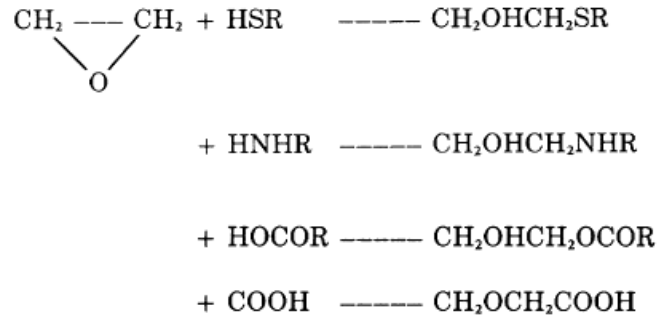


Şekil 4.14. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası fiziksel görüntüleri

EO, AU ve UV yöntemleriyle sterilize edilen ağırlıkça %10,15 ve 20 oranlarında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerin SEM ve AFM görüntüleri incelendiğinde, polimer konsantrasyonuna bağlı olarak farklı etkiler görülmüştür (Şekil 4.15-4.16). Bütün sterilizasyon metodları arasında, UV sterilizasyonunun lif yüzeylerine

en az hasarı verdiği görülmüştür. Çizelge 4.8 incelendiğinde sterilizasyon yöntemine bağlı olarak lif çaplarında değişimler olduğu görülmektedir. Düşük polimer konsantrasyonlarında özellikle EO ve AU sterilizasyonu lif çaplarında önemli bir artışa neden olmuştur.

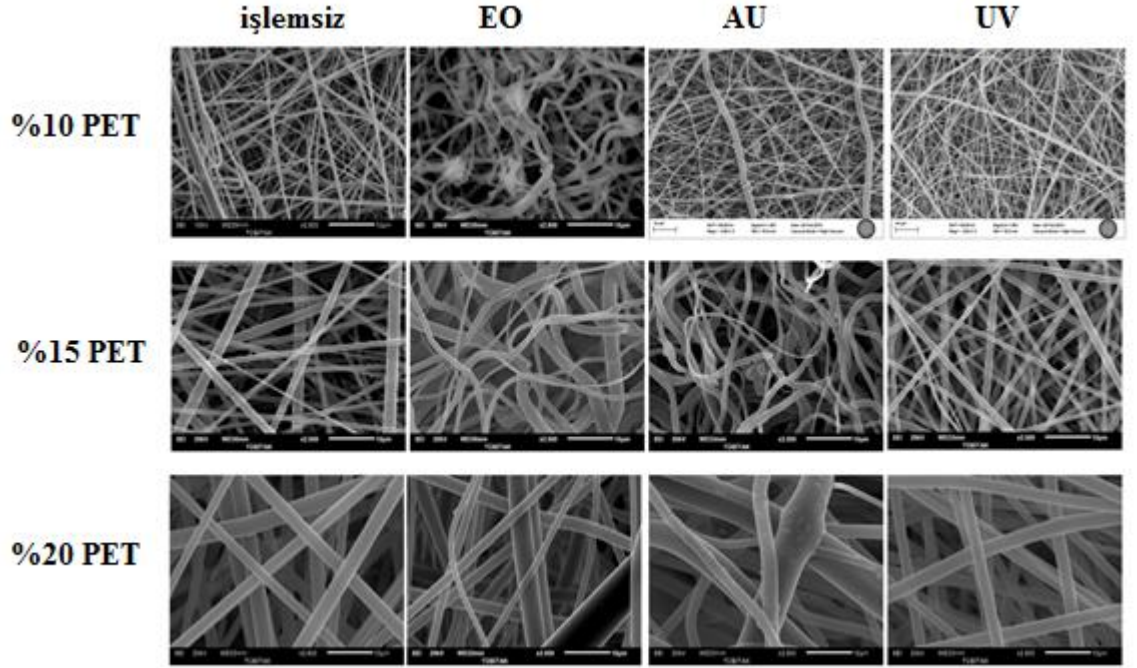
EO ve AU sterilizasyonunun lif yüzeylerine hasar verdiği ve özellikle düşük konsantrasyonlarda EO ve AU yöntemi ile sterilize edilen yüzeylerin pürüzlü, iç içe geçmiş ve erimiş yüzeyler oluşturduğu; ancak artan polimer konsantrasyonu ile bu etkinin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca sterilizasyon yöntemleri nanolifli yüzeylerin kalınlıklarında da değişikliklere neden olmuştur. EO sterilizasyonunun yüzeyleri en çok etkileyen yöntem olduğu görülmüştür. Bu durum literatürde etilen oksitte bulunan stabil olmayan üç halka yapı ile ilişkilendirilmiştir. Etilen oksit, stabil olmayan üçlü halka yapı içinde birbirine bağlı iki tane karbon atomu ve bir tane oksijen atomundan oluşmaktadır. Bu yapı, aşağıda belirtildiği üzere, çeşitli fonksiyonel gruplar ile etkileşime girebilir (Nair 1995):



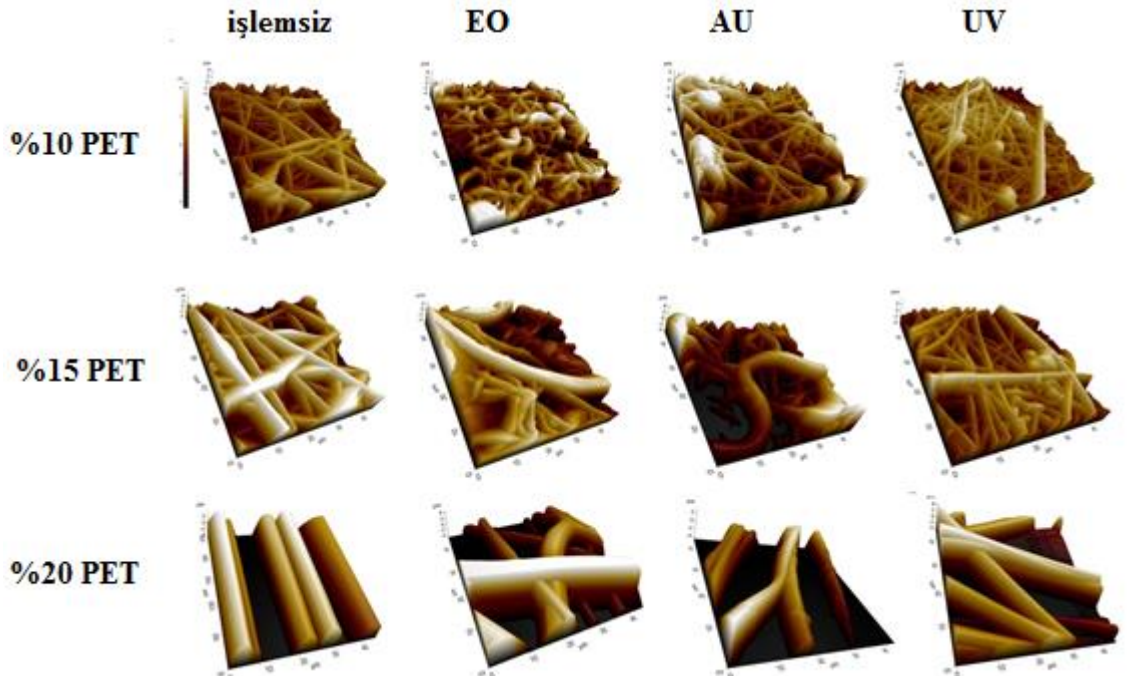
Bu gruplar sülfürhidril (-SH), amino (-NH), karboksil (-COOH) ile proteinlerin ve nükleik asitlerin hidroksil (-OH) gruplarıdır.

Birçok araştırma, lif çapı azaldıkça, düşük işlem sıcaklıklarında bile T_g ve T_m sıcaklıklarında değişimler olduğunu göstermiştir (Cho ve ark. 2007, Greenfeld ve Zussman 2013) Bu nedenle, nanolifler, makroliflere kıyasla ısı içeren işlemlerden daha fazla etkilenebilir. AU sterilizasyonu ile lif kalınlıklarında görülen değişim, sterilizasyon esnasında uygulanan yüksek sıcaklık nedeni ile oluşmuştur. Isı uygulaması ile lif eksenine paralel olan moleküler oryantasyonun bozulmuş olabileceği

düşünülmektedir. EO ve UV sterilizasyonları sonrası yüzey kalınlıklarında önemli bir değişim görülmemiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.15. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası SEM görüntüleri (skala 10µm'yi göstermektedir.)



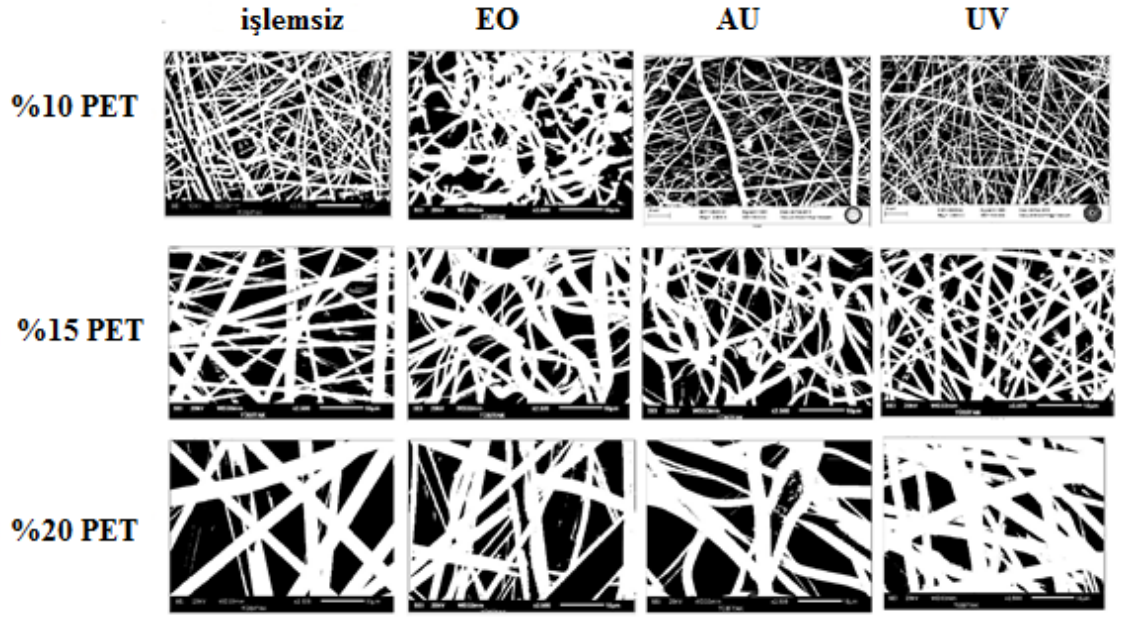
Şekil 4.16. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası AFM görüntüleri

4.2.2. Yüzey gözenekliliği ölçüm çalışmaları

Yüzey gözeneklilik boyutu ve dağılımı doku çatısı uygulamaların önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle farklı yöntemlerle sterilize edilen PET nanolifli yapıların yüzey gözenekliliği incelenmiştir. Şekil 4.17 ve Çizelge 4.8 SEM görüntüleri çekilen numunelerin siyah-beyaz görüntülerini ve yüzey gözenek boyutlarını göstermektedir. Ağırlıkça %10 oranında PET içeren numunelerde, UV metodu ile sterilizasyonda yüzey gözenek boyutları değişmezken; yüzey gözenek boyutları EO ve AU sterilizasyonları ile artış göstermiştir. Yüzey gözenekliliğinin fazla olması ve gözenek boyutlarının küçük olması hücre tutunması için gerekli tutunma yüzeyini arttırdığı için hücre çoğalmasında olumlu yönde etkileyebilir.

Çizelge 4.8. PET nanolifli yüzeylerin çap, yüzey kalınlığı ve gözenek boyutları

Malzeme (PET)	Çap (µm)	CV(%) (çap)	Yüzey Kalınlığı (mm)	CV(%) (yüzey kalınlığı)	Gözenek Boyutu (µm ²)	CV(%) (gözenek boyutu)
P1	0,66	46,97	0,110	5,44	5,287	37,62
P1(EO)	0,91	20,88	0,103	1,85	10,810	33,95
P1(AU)	0,94	34,47	0,204	0,72	17,809	23,45
P1(UV)	0,66	45,76	0,119	1,17	5,346	29,42
P2	0,87	27,59	0,220	2,00	24,439	41,25
P2(EO)	1,88	42,55	0,275	0,52	17,215	59,31
P2(AU)	1,46	21,37	0,406	0,39	16,186	36,48
P2(UV)	1,34	25,37	0,224	0,60	13,155	16,62
P3	2,36	27,80	0,420	1,02	52,154	52,39
P3(EO)	2,92	77,81	0,400	0,36	51,014	81,21
P3(AU)	2,33	37,39	0,596	0,27	62,641	62,30
P3(UV)	2,48	16,61	0,438	0,51	23,990	59,46



Şekil 4.17. Farklı PET konsantrasyonu içeren çözeltilerden üretilen nanoliflerin (P1, P2, P3) sterilizasyon öncesi ve farklı sterilizasyon işlemleri sonrası yüzey gözenekliliği görüntüleri (skala 10µm’yi göstermektedir.)

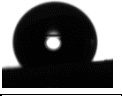
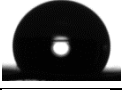
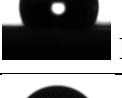
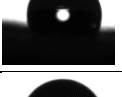
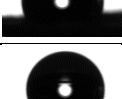
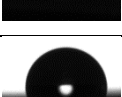
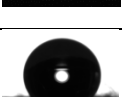
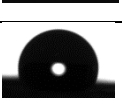
4.2.3. Temas açısı ölçüm sonuçları

Sterilizasyon öncesi ve sonrası temas açısı ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 4.9). Temas açısı değeri; adhezyon, ıslanabilirlik ve absorpsiyon gibi lif yüzey özelliklerinin nicel ölçümüdür (Duzyer ve ark. 2011). Temas açısı değeri, yüzey pürüzlülüğü, gözenek boyutu, yüzey üzerinde bulunan yapıların şekillerinden etkilenir (Darmanin ve Guittard 2013).

Temas açısı değerleri incelendiğinde, sterilize edilememiş yüzeylerde artan polimer konsantrasyonu ile lif çapında ve temas açısı değerlerinde artış olduğu görülmektedir. Lif kalınlıkları arttıkça birbiri içine geçmiş demetler halinde ve daha pürüzlü yüzeyler oluşmuştur ve bu durum temas açısı değerlerinde artışa neden olmuştur. Fakat temas açısı değerlerindeki bu artış çok önemli bir değişim değildir. Bütün yüzeyler 3 boyutlu pürüzlü yüzeyler oluşturdukları için temas açısı değeri 90°nin üzerindedir ve bu nedenle numuneler süper hidrofobik özellik göstermektedir.

Farklı sterilizasyon yöntemleri ile işlem sonrası, yüksek temas açıları elde edilmiştir. Fakat, özellikle UV metosu ile sterilizasyon sonrası temas açılarında belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş, küçük yüzey gözenek boyutu ile ilişkilendirilmiştir.

Çizelge 4.9. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilmiş ve farklı sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilmiş nanoliflerden oluşan yüzeylerin temas açısı değerleri

Numune kodu	Temas Açısı (°)	%CV
 P1	132,71	0,80
 P1 (EO)	122,90	2,58
 P1 (AU)	127,41	1,56
 P1 (UV)	97,05	2,27
 P2	140,02	1,33
 P2 (EO)	122,67	0,80
 P2 (AU)	124,12	1,53
 P2 (UV)	115,21	3,03
 P3	141,71	1,38
 P3 (EO)	109,02	0,97
 P3 (AU)	136,12	1,67
 P3 (UV)	112,53	3,98

4.2.4. Çekme testi sonuçları

Sterilizasyon yöntemlerinin nanolifli yüzeylerin mekanik özellikleri üzerindeki etkisini görmek için yüzeylere sterilizasyonlar öncesi ve sonrası çekme testleri uygulanmıştır. Çizelge 4.10, sterilizasyonlar öncesi ve sonrası yüzeylerin Young modülü ve uzama değerlerini göstermektedir.

Sterilize edilmemiş farklı polimer konsantrasyonlarından elde edilen yüzeylerin mekanik özellikleri incelendiğinde, ağırlıkça %20 oranında PET içeren çözeltilerden elde edilen yüzeylerin, lifin kalınlığı ve paralel yerleşimi nedeniyle, en yüksek modüle ve en düşük uzamaya sahip olduğu görülmüştür.

Sterilizasyonlar sonrası, yüzeylerin mekanik özellikleri incelendiğinde; farklı sterilizasyon yöntemleri ile mekanik özelliklerin değiştiği görülmüştür. Bu değişim özellikle AU sterilizasyonu ile sterilize edilen numunelerde çok belirgindir. AU sterilizasyonu ile modül ve uzama değerleri düşmüştür. AU sterilizasyonu ile yüzeyler görünüm olarak daha sert hale geldiğinden, modül değerleri düşmüştür.

Çizelge 4.10. Ağırlıkça farklı oranlarda PET içeren çözeltilerden üretilmiş ve farklı sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilmiş nanoliflerden oluşan yüzeylerin mekanik özellikleri

Numune Kodu	Young Modülü (MPa)	Kopma Uzaması (%)
P1	137,4	104,68
P1(EO)	218,1	99,12
P1(AU)	125,7	36,83
P1(UV)	132,8	121,72
P2	154,7	99,35
P2(EO)	148,7	62,86
P2(AU)	79,68	32,08
P2(UV)	124,8	84,87
P3	224,1	55,95
P3(EO)	222,5	53,37
P3(AU)	85,3	23,12
P3(UV)	219,6	78,52

4.2.5. DSC analizi sonuçları

Uygulanan sterilizasyon yöntemlerinden EO ve AU sterilizasyonu ısı içermektedir. Bu nedenle yüzeylerin davranışını anlamak ve iç yapılarını analiz etmek için diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılmıştır.

PET lifi için, tipik bir DSC termogramında 3 önemli pik vardır. Bunlardan birincisi, endotermik bir piktir ve lifin camsı geçiş sıcaklığını verir (T_g). İkinci pik ekzotermik bir pik olan ve soğuk kristalizasyon sıcaklığını (T_c) veren piktir. Üçüncü pik ise yine endotermik bir pik olan erime pikidir. Bu pik lifin erime sıcaklığını verir (T_m) (De Clerck ve ark. 2003, Duzyer ve ark. 2011.).

Şekil 4.18, 4.19 ve 4.20 sterilize edilmeyen yüzeyler ile EO, UV ve AU ile sterilize edilmiş yüzeylerin DSC termogramlarını göstermektedir. Sterilize edilmemiş yüzeyler için DSC termogramları tipik PET eğrisi vermektedir.

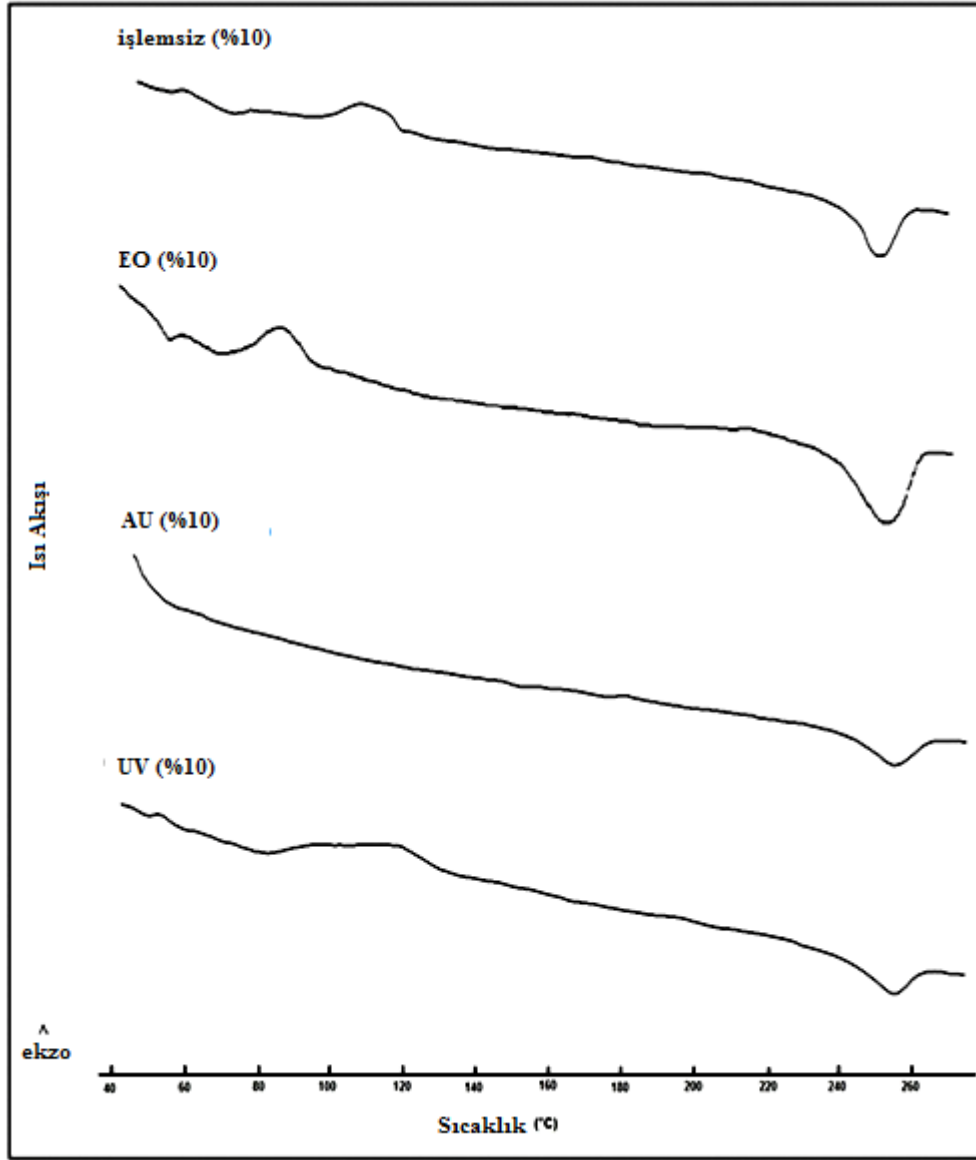
Çizelge 4.11. DSC termogramlarından alınan verileri göstermektedir. Farklı yöntemlerle sterilize edilen yüzeylerin her bir piki ayrı ayrı incelendiğinde T_g değerlerinin artan polimer konsantrasyonu ile çok az değiştiği ve ısı içeren EO ile AU metodlarında daha yüksek T_g değerlerinin elde edildiği görülmüştür.

Soğuk kristalizasyon pikinin varlığı ve büyüklüğü yapı içinde tekrar kristallenebilen molekül zincirleri olduğunu göstermektedir. Bu durum, elektro çekim prosesinden sonra lif içinde kristallenebilir molekül zincirleri kaldığını ve DSC taraması sırasındaki sıcaklıktan dolayı bu molekül zincirleri kristalin bölgelere dönüştüğünü gösterir. Bu pik AU yöntemiyle sterilize edilen numunelerde gözükmemektedir. AU sterilizasyonunda uygulanan sıcaklık 120°C civarındadır. Bu nedenle, bu bölgedeki tekrar kristallenebilen molekül zincirlerinin sterilizasyon sırasında kristallendiği düşünülmektedir. Soğuk kristalizasyon piki diğer sterilizasyon metodlarında görülmektedir ve farklı polimer konsantrasyonlarında pikin yer değişmemektedir. Fakat kristallebilir serbest amorf bölgelerin miktarını gösteren kristalizasyon entalpisi (ΔH_c) polimer konsantrasyonuna bağlı olarak birbirinden biraz farklıdır.

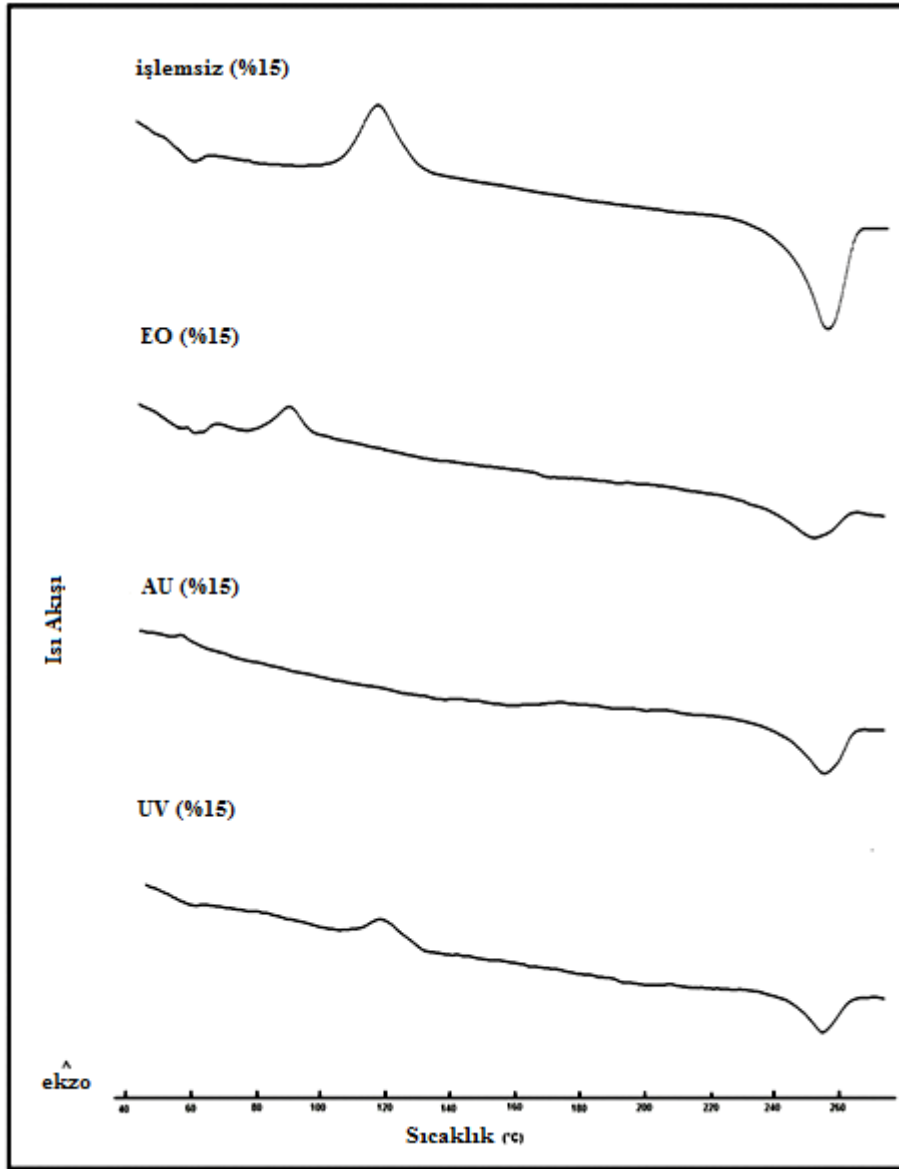
Her bir numune için 250-260°C civarında tek bir erime piki gözlenmiştir ve pikin yeri her bir numune için aynıdır. Genel olarak erime entalpilerinde (ΔH_m) değerlerinde biraz farklılıklar vardır. Sterilize edilmemiş yüzeylerde soğuk kristalizasyon ve erime pikleri arasında belirgin pik yoktur. Isı uygulaması, EO ve AU yöntemlerinde sterilizasyon sırasında moleküler hareketliliğe neden olabilir fakat bu değişiklikler önemli değildir.

Çizelge 4.11. DSC analizi sonuçları

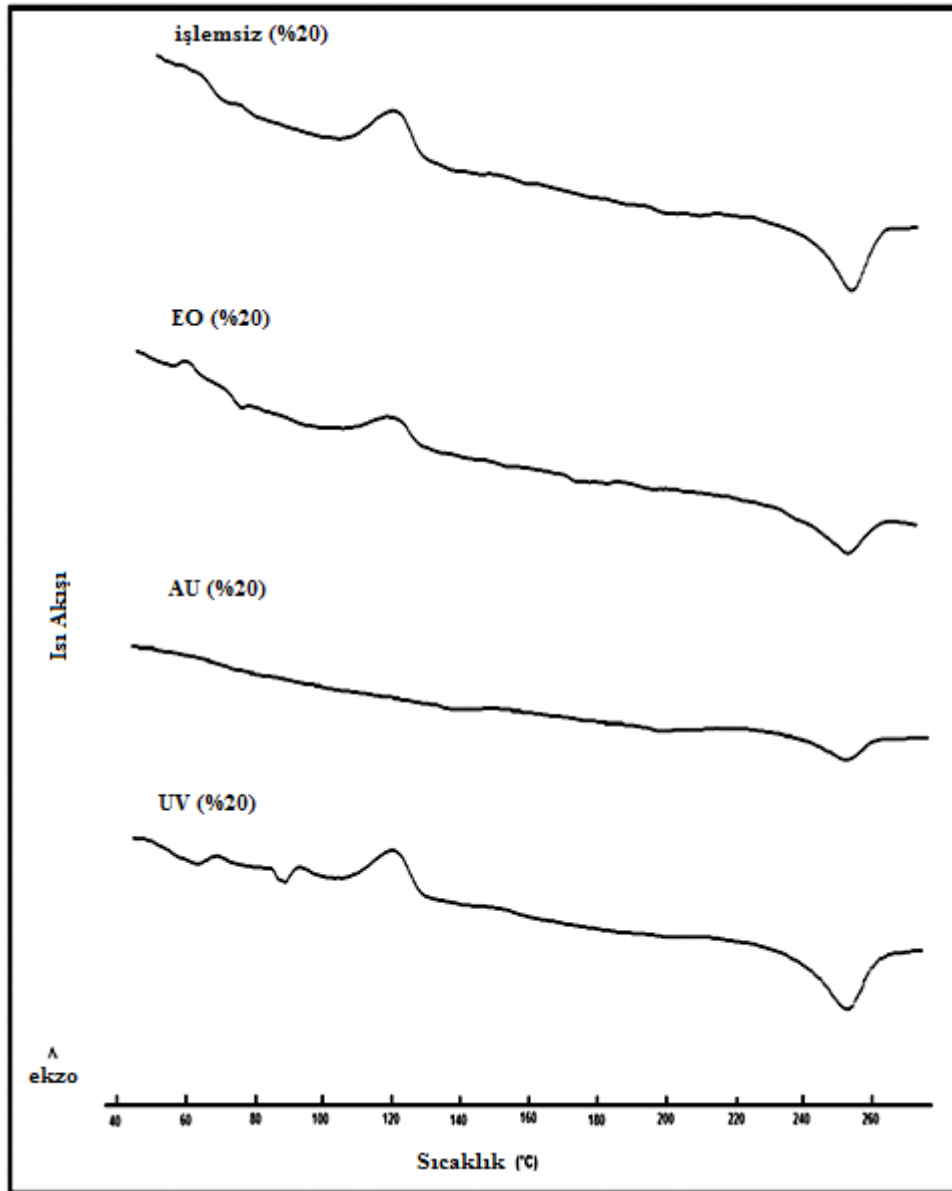
Malzeme	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (mj/mg)	T_m (°C)	ΔH_m (mj/mg)
P1	58	114	-21.4	256	41,3
P1(EO)	57	94	-21.2	253	65,7
P1(AU)	57	-	-	257	42,4
P1(UV)	50	121	-21.2	255	44,8
P2	60	118	-33.4	255	53,8
P2(EO)	59	91	-28.8	242	51,4
P2(AU)	61	-	-	257	40,1
P2(UV)	60	120	-19.1	256	34,7
P3	75	122	-29.9	256	49,2
P3(EO)	74	127	-27.5	255	40,1
P3(AU)	78	-	-	255	31,1
P3(UV)	61	124	-27.4	256	50,2



Şekil 4.18. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları



Şekil 4.19. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları



Şekil 4.20. Farklı sterilizasyon metodları ile işlem görmüş, %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin DSC termogramları

4.2.6. FTIR analizi sonuçları

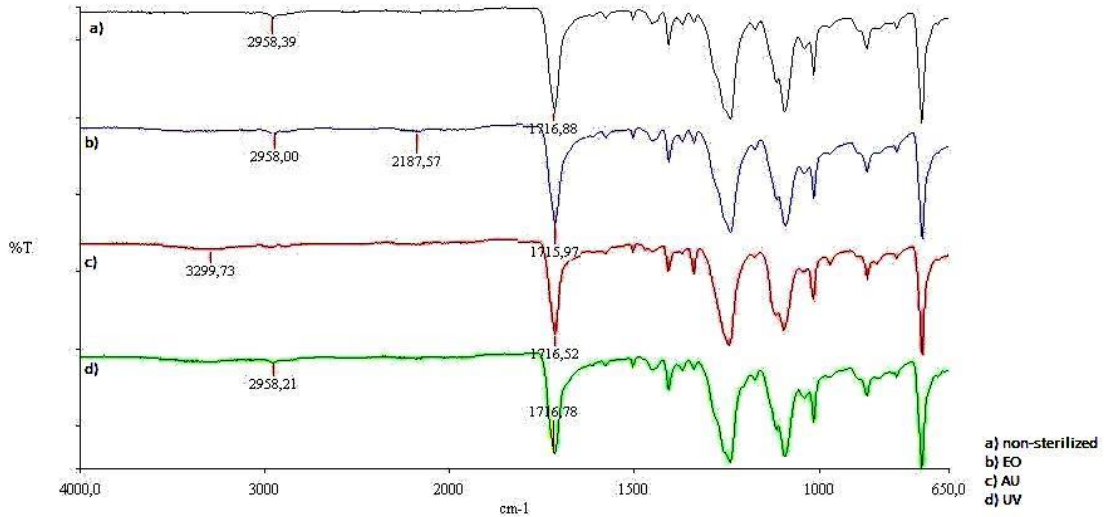
Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23, P1, P2 ve P3 kodlu yüzeylerin sterilizasyon öncesi ve sonrası, FTIR spektrumlarını göstermektedir. PET liflerinin IR spektrasında 3100-2800 cm^{-1} arasındaki bant -C-H bağındaki aromatik ve alifatik gerilmeye, 1720 cm^{-1} bandı ester karbonil bağındaki gerilmeye, 1470-1350 cm^{-1} bandı etilen glykol segmentinin makaslama ve salınma titreşim modlarına, 1235 cm^{-1} bandı ester grubu

gerilimine, 1090 cm^{-1} metilen grup ve 1016 ile 725 cm^{-1} bantları aromatik bantlardaki gerilmeye işaret eder.

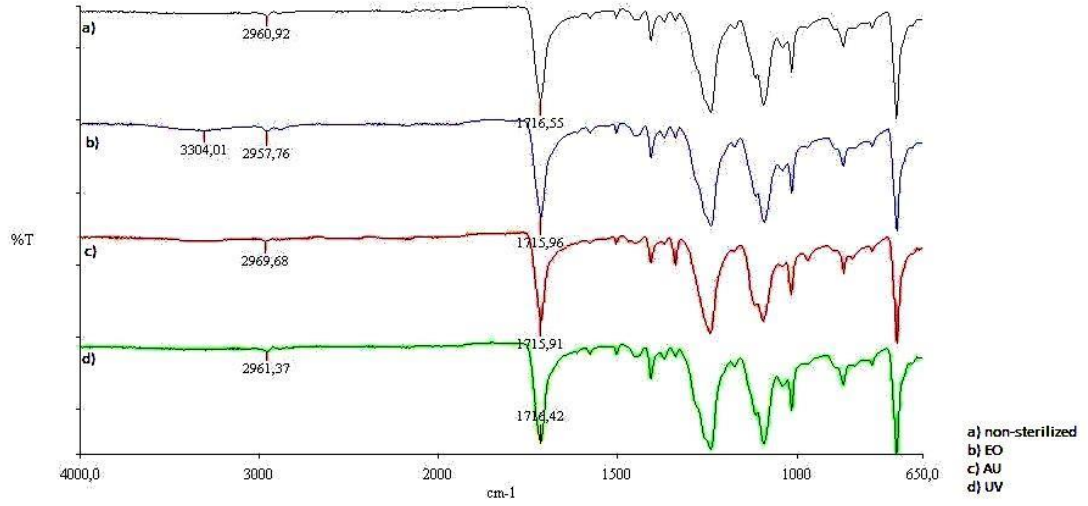
Spektrumdaki orta ve zayıf şiddetli bantlar zincir konfigürasyonlarını gösterir ve numunenin amorf, oryante veya kristalin olmasına duyarlıdır. Farklılıklar etilen glikol grubunun konfigürasyonuna (cis/trans izomerler) ve fenil karbonil bağına (cis/trans izomerler) bağlı olarak oluşur (Chen ve ark. 2013).

FTIR spektrumları incelendiğinde ana piklerin oluşum ve pozisyonlarında önemli bir farklılık olmadığı görülür. 1720 cm^{-1} bandında ve $3100\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ bandında farklı sterilizasyon metodları ile küçük değişiklikler görülmüştür. Bu nedenle, sterilizasyon yöntemlerinin moleküler oryantasyon ve liflerin ince yapısında değişikliğe neden olabileceği düşünülmüştür.

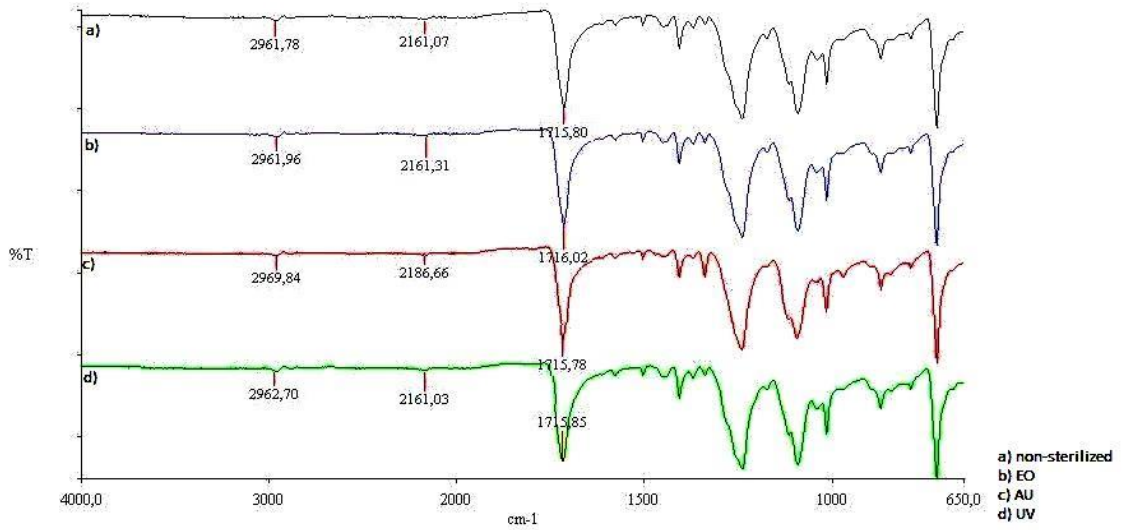
1720 cm^{-1} bandı kristalizasyondaki değişiklikleri, moleküler yapı ve kristaliniteyi gösterir. P1 kodlu yüzeylerde -C-H bandında bazı değişiklikler vardır (Şekil 4.21). Bu bant malzemenin kristalin veya amorf olması ile ilgilidir. Artan konsantrasyon ile bu etki azalmıştır.



Şekil 4.21. P1 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler



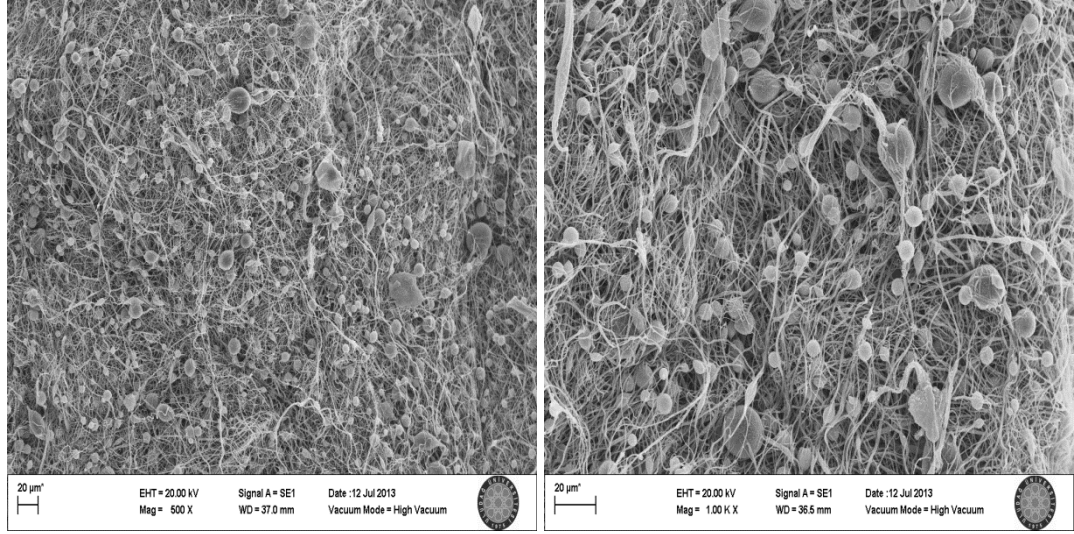
Şekil 4.22. P2 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler



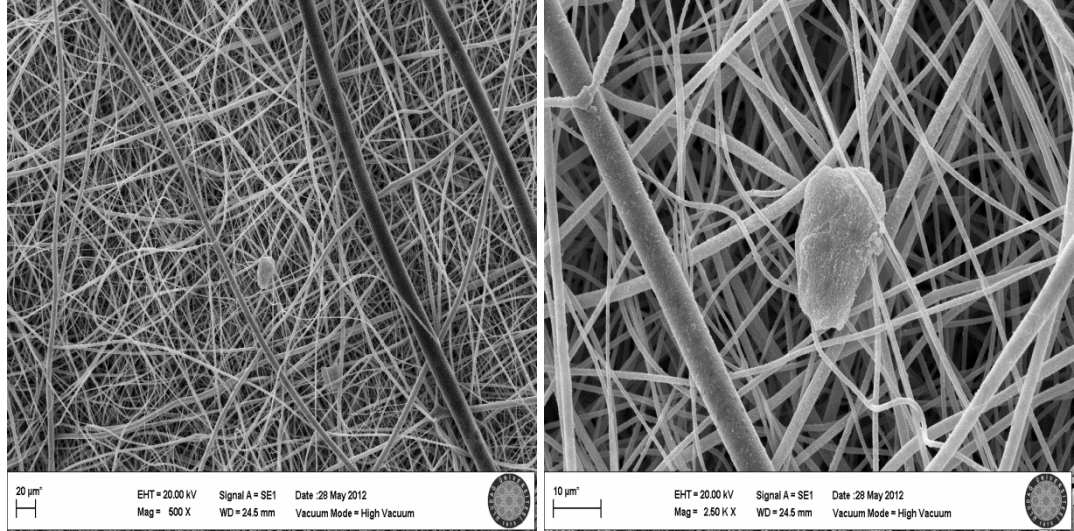
Şekil 4.23. P3 kodlu yüzeylerin FTIR analizleri, a) sterilize edilmemiş, b) EO, c) AU, d) UV sterilize yüzeyler

4.3. Hücre Tutunması ve Çoğalması Sonuçları

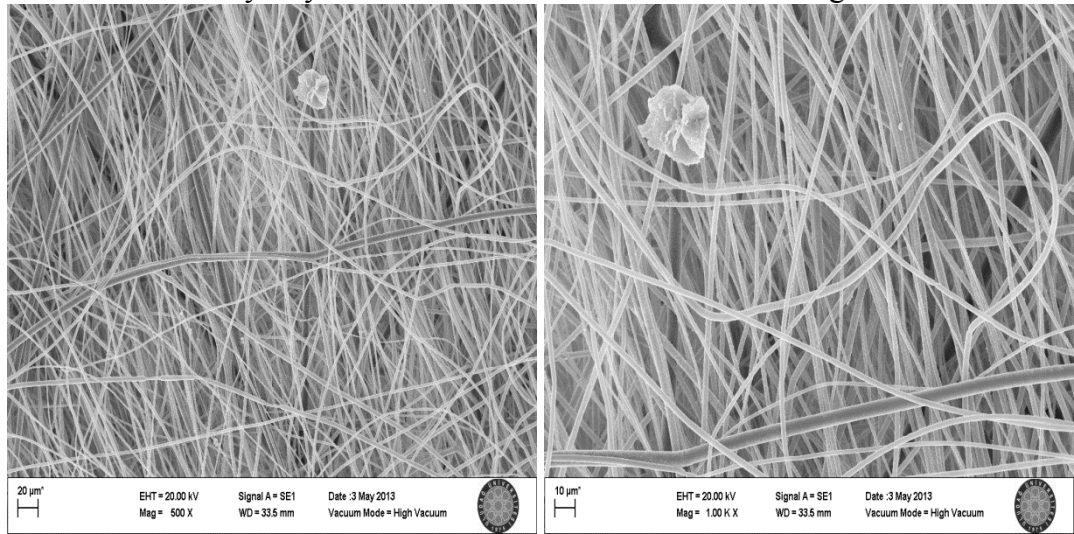
Farklı sterilizasyon yöntemleri ile yapılan yüzey ve mekanik analizlerden sonra, nanoliplere en az zarar veren metodu UV metodu ile sterilizasyon olduğu görülmüştür. Bu nedenle hücre ekimi çalışmalarına bu yöntem ile devam edilme kararı verilmiştir. Şekil 4.24-4.26'de UV metodu ile sterilize edilen P1, P2 ve P3 kodlu yüzeylere hücre ekimi sonrası yüzeyler üzerindeki hücre çoğalması görülmektedir.



Şekil 4.24. P1 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



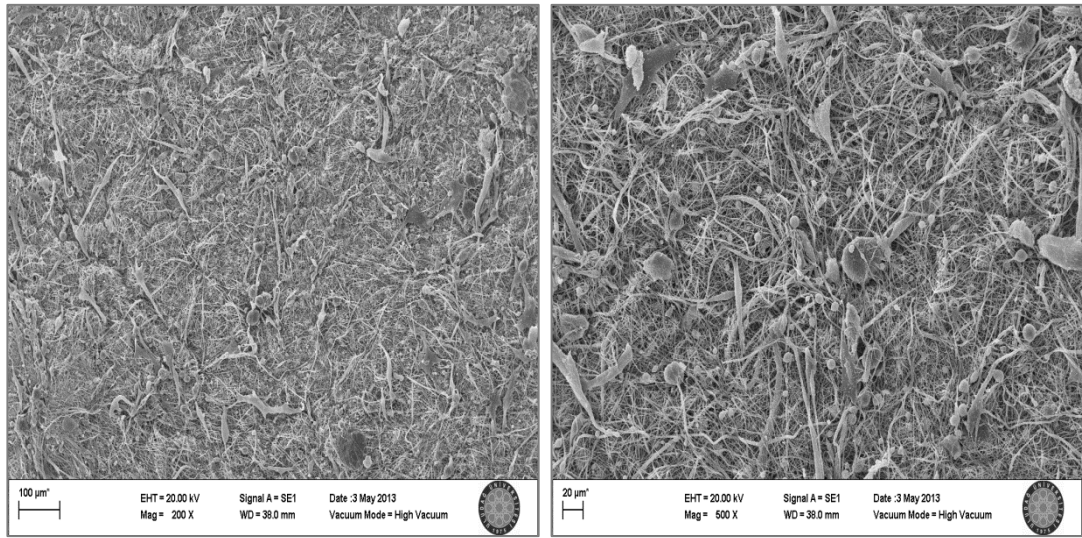
Şekil 4.25. P2 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



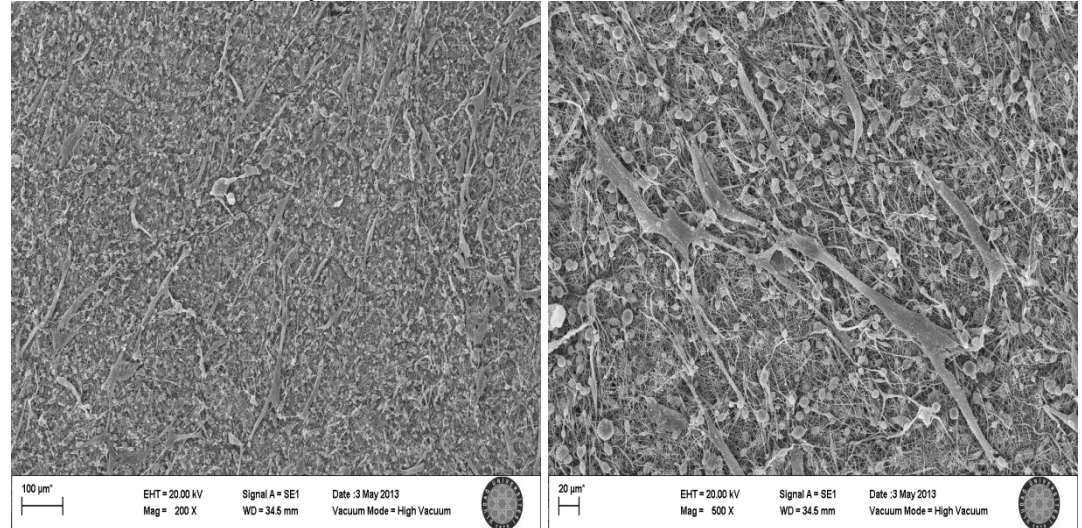
Şekil 4.26. P3 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü

SEM analizleri sonucunda, ağırlıkça %10 ve %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerde hücre tutunması ve çoğalmasının olduğu görülmüştür. Bu durumun lif çapı ve üretilen numunelerin yüzey kalınlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

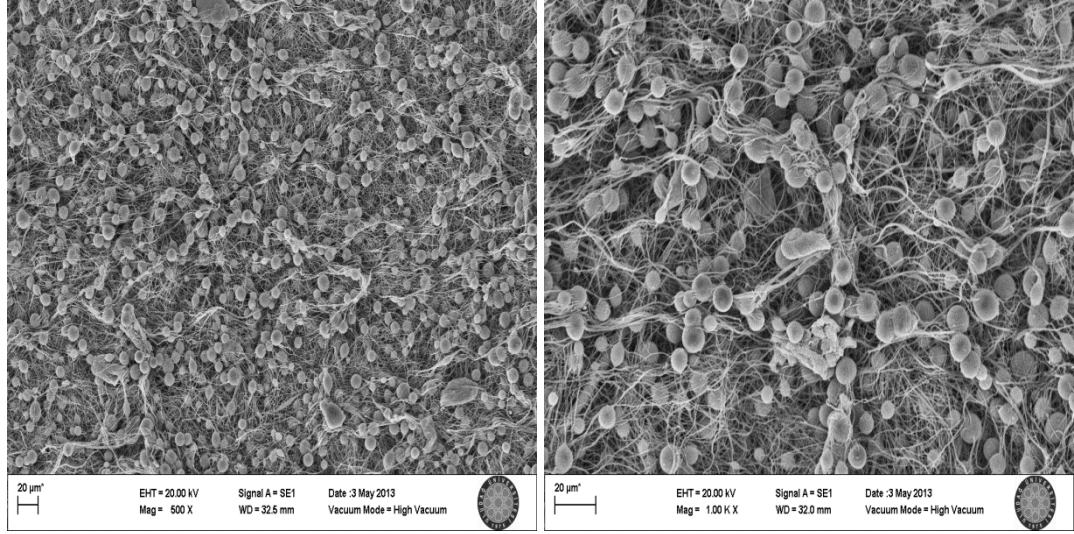
Hücre tutunması ve çoğalması değerlendirmelerinden sonra ağırlıkça %10 ve 15 oranında PET içeren çözeltilerden, belirlenen yeni parametrelerle üretilmeye geçilmiştir (Çizelge 4.3). Ve yeni parametrelerle üretilen yüzeylere fibroblast hücresi ekimi yapılarak, hücre tutunması/çoğalması değerlendirmeleri yapılmıştır (Şekil 4.27-4.36).



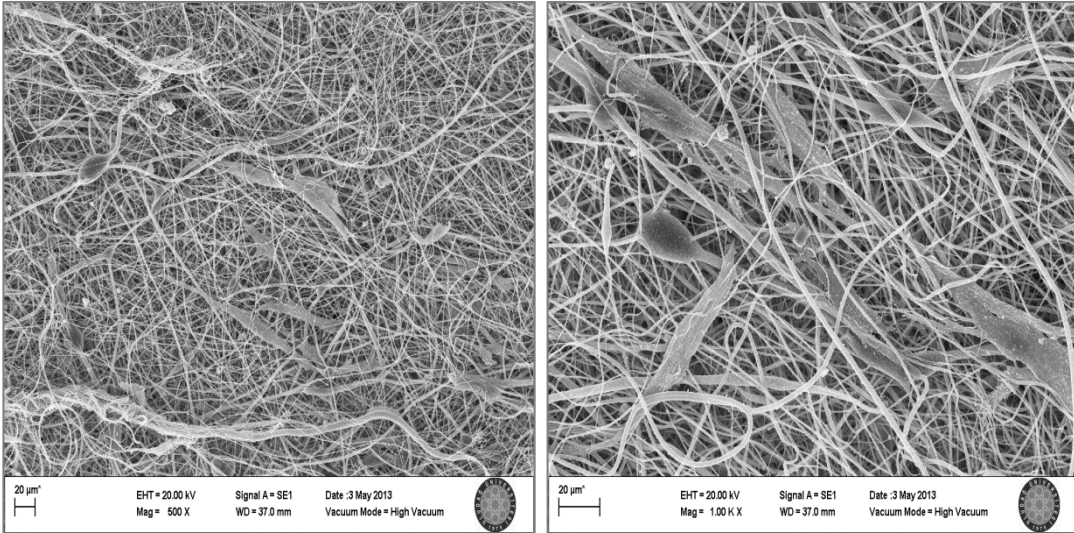
Şekil 4.27. P4 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



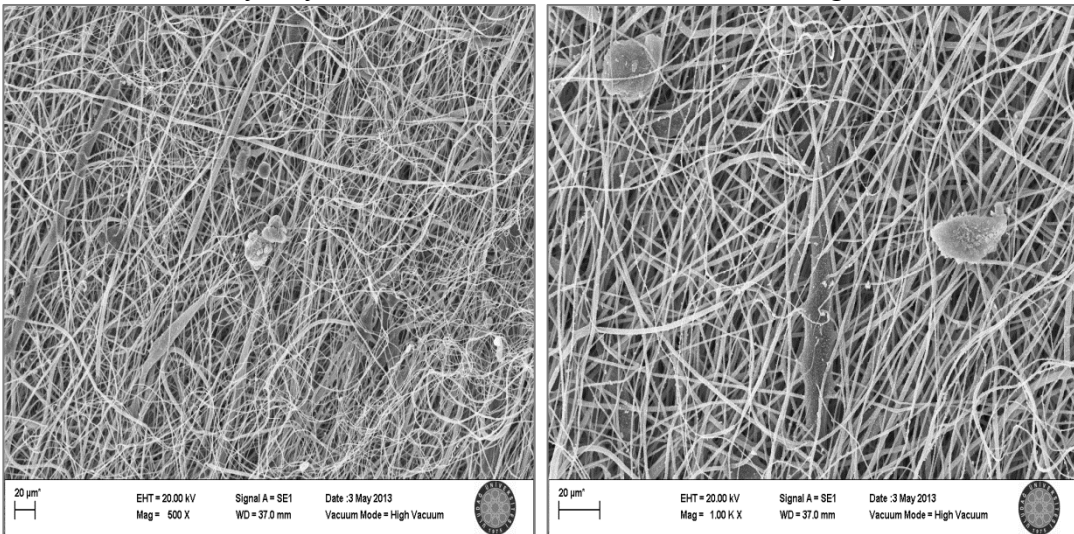
Şekil 4.28. P5 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



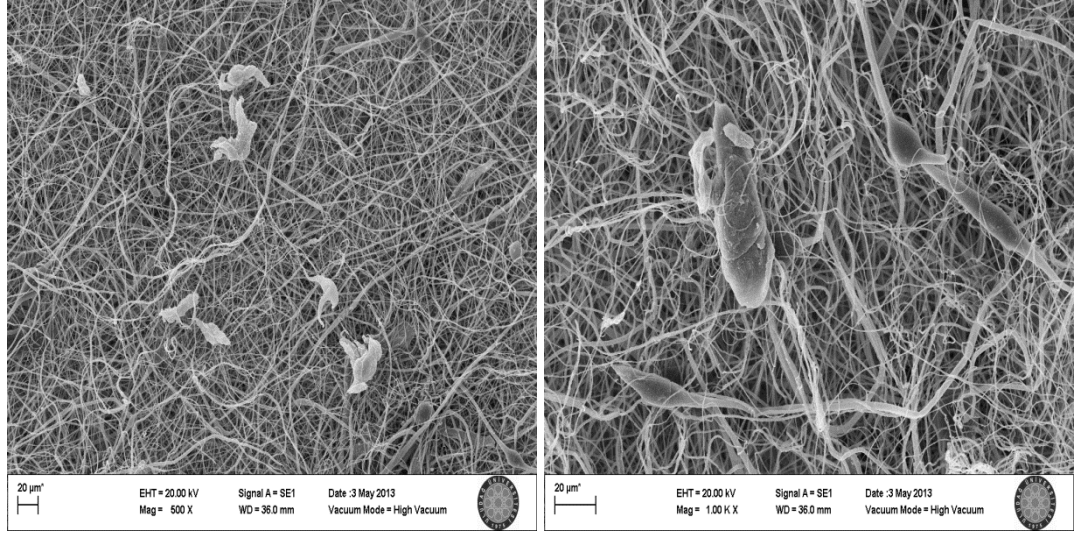
Şekil 4.29. P6 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



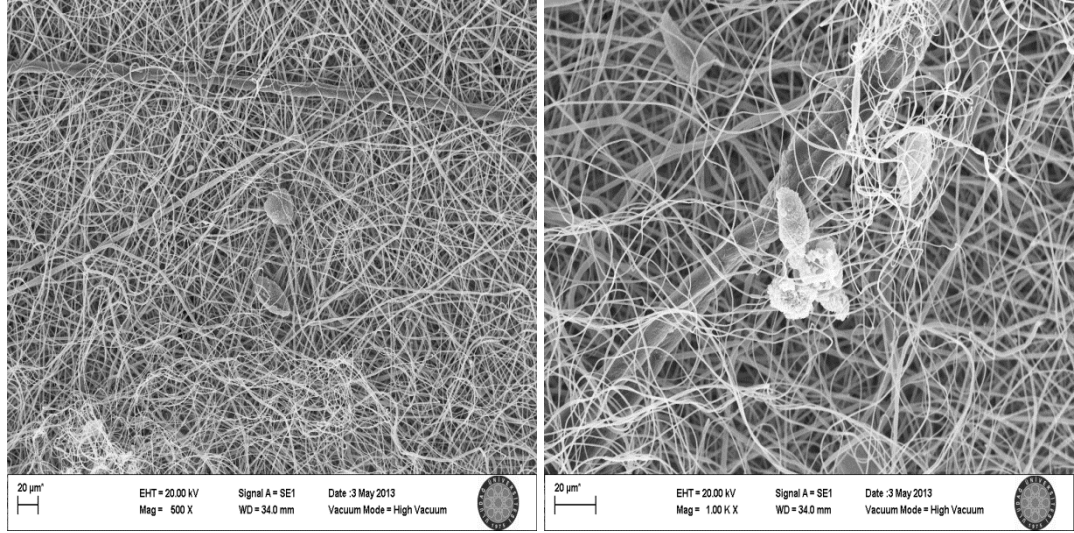
Şekil 4.30. P7 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



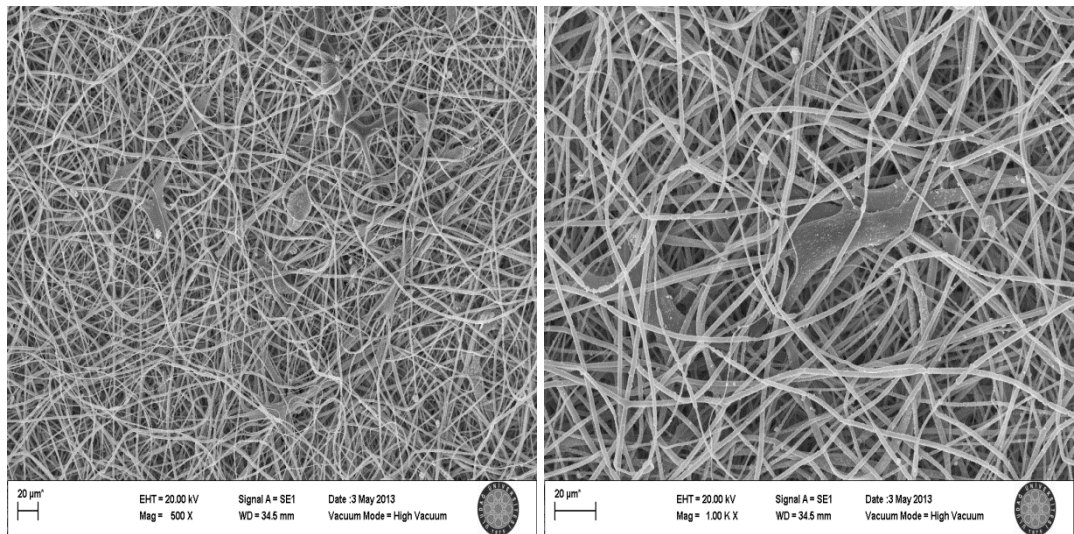
Şekil 4.31. P8 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



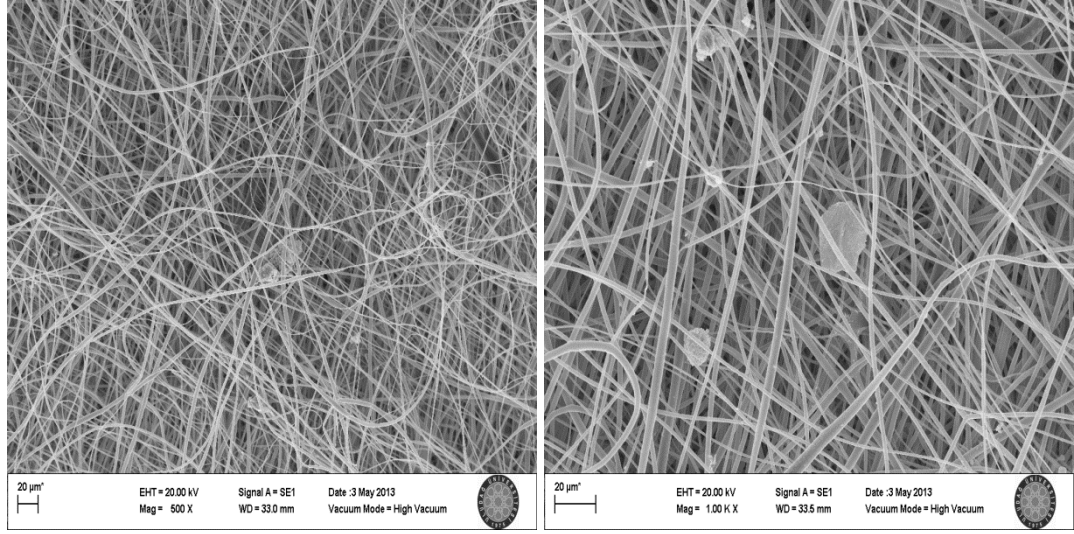
Şekil 4.32. P9 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



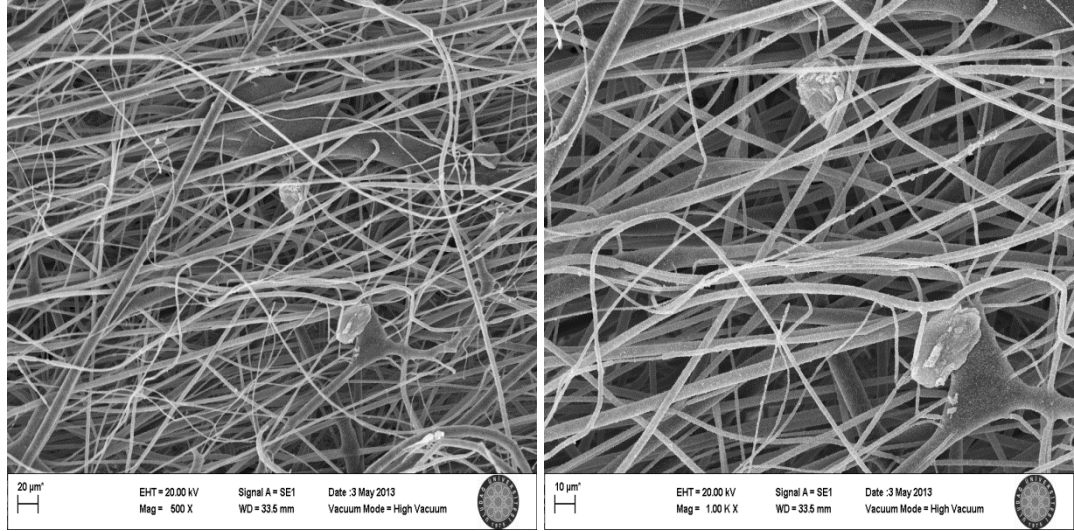
Şekil 4.33. P10 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



Şekil 4.34. P11 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



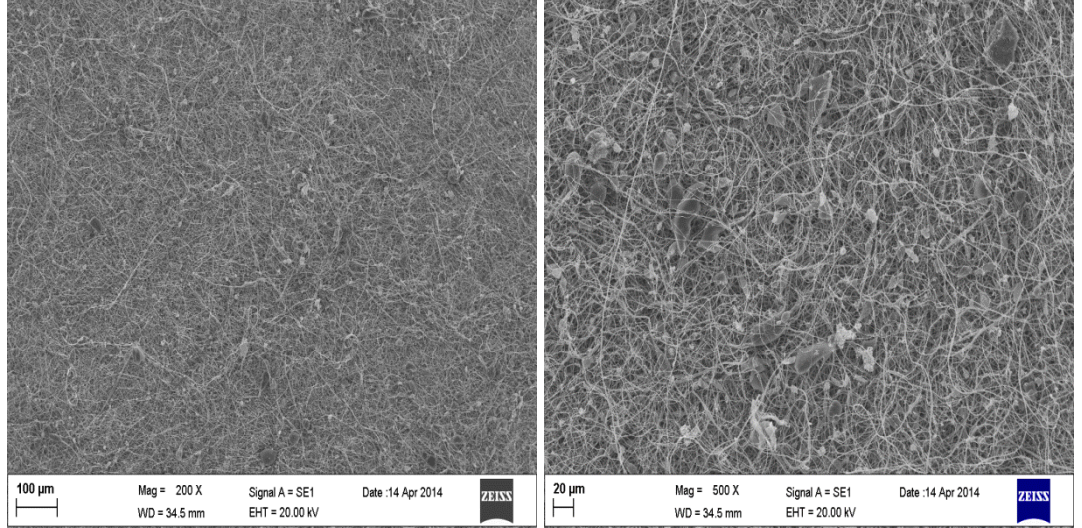
Şekil 4.35. P12 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü



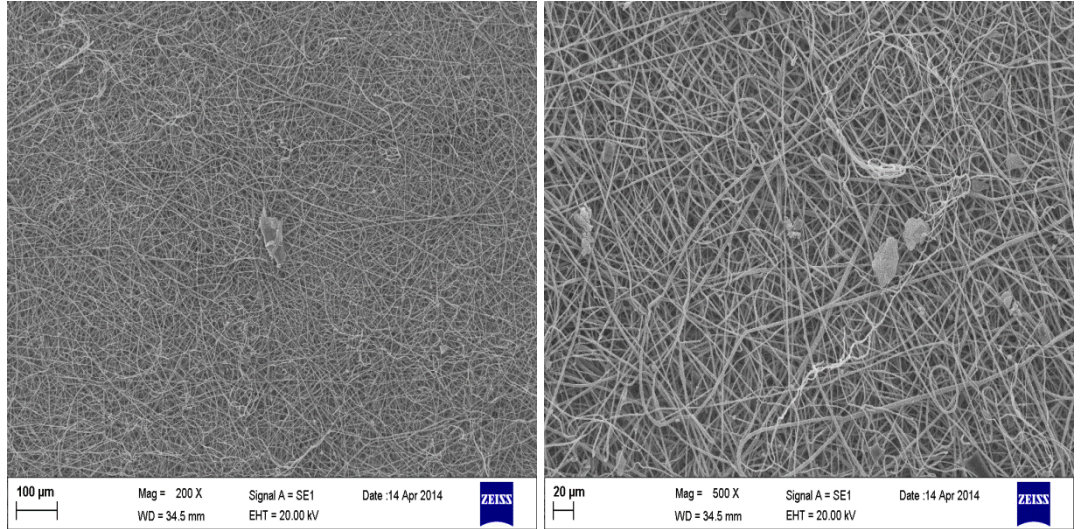
Şekil 4.36. P13 kodlu yüzeylere ekilen fibroblast hücrelerinin SEM görüntüsü

Şekil 4.27-4.36’da farklı üretim parametreleri ile oluşturulan bütün yüzeyler üzerindeki fibroblast hücrelerinin tutunma ve çoğalma davranışı incelenmiştir. Ve ağırlıkça %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeyler arasında en ince lif çaplarına sahip olan P6 kodlu yüzeyler üzerinde hücre çoğalmasının daha fazla olduğu, fibroblast hücrelerinin yüzeyi kapladığı gözlenmiştir. Ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerde ise hücre tutunması/çoğalması artan lif çapları nedeniyle düşük konsantrasyonda üretilen yüzeylere göre çok daha azdır. Ancak, bu yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasını artırmak amacı ile P6 kodlu yüzeyler ile aynı üretim parametrelerine sahip, mekaniksel performansı iyi olan P10 kodlu yüzeyler ile çalışmaya devam edilmiştir.

Bu nedenle keratinosit hücrelerinin ekimi sadece P6 ve P10 kodlu yüzeyler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.37 ve 4.38 P6 ve P10 kodlu yüzeyler üzerindeki keratinosit hücre tutunma ve çoğalmasını göstermektedir.



Şekil 4.37. P6 kodlu yüzeylere ekilen keratinosit hücrelerinin SEM görüntüsü



Şekil 4.38. P10 kodlu yüzeylere ekilen keratinosit hücrelerinin SEM görüntüsü

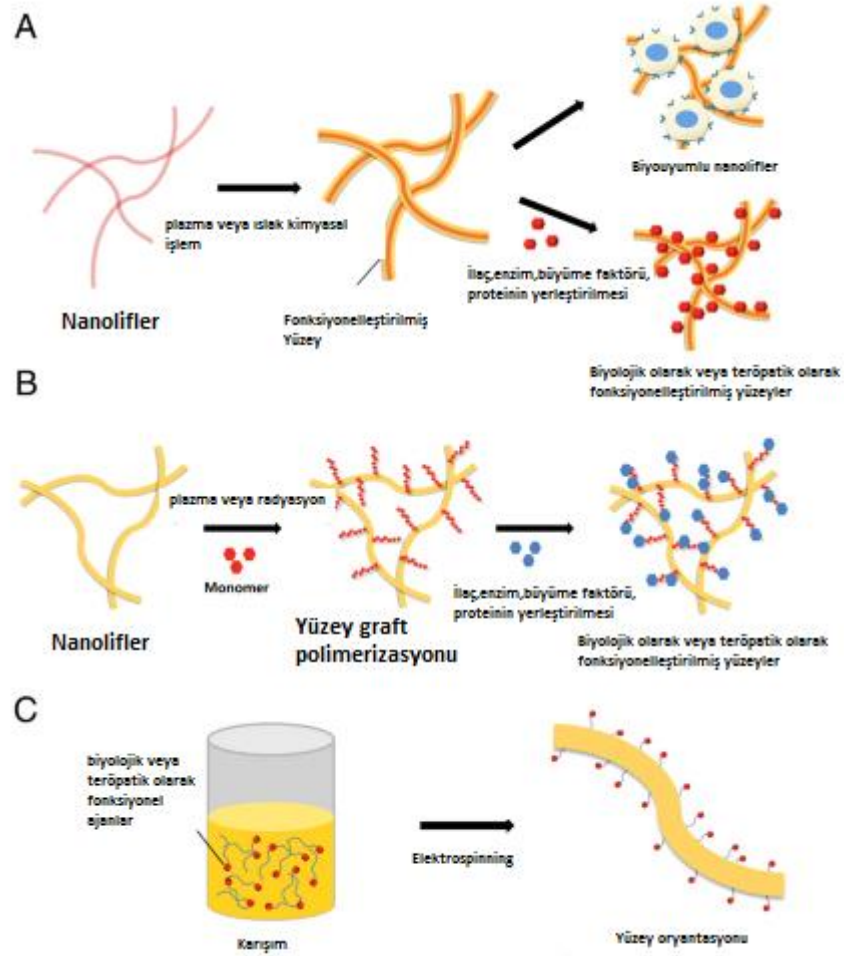
Şekil 4.37 ve 4.38 incelendiğinde keratinosit hücrelerinin, fibroblast hücrelerine benzer şekilde daha ince lif çaplarına sahip olan P6 kodlu yüzeylere daha iyi tutunma gösterdiği ve bu yüzeyler üzerindeki çoğalmanın daha fazla olduğu görülmektedir.

Üretilen yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücre ekimleri gerçekleştirilip, hücre tutunması/çoğalması değerlendirmelerinden sonra yüzeylerin modifikasyonu işlemlerine geçilmiştir.

4.4. Nanoliflerin Modifikasyonu Sonrası Karakterizasyon Sonuçları

HücreSEL davranışı etkileyen faktörlerden birisi yüzey topografisidir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, yüzey pürüzlülüğünün arttırıldığı yüzeylerde daha düz topografiye sahip yüzeylere göre hücre tutunmasının ve osteoblastik fonksiyonların arttığı ve deri implantlarında entegrasyonunun daha iyi olduğu görülmüştür (Xie ve ark. 2002).

Biyomateryal ve canlı doku arasındaki etkileşim çok dar bir ara yüzeyde gerçekleşmektedir. Bu etkileşim büyük oranda, yüzeyin kimyasal kompozisyonu, yüzey topografisi, ıslanabilirlik ve biyomateryalin fiziksel yapısından etkilenir (Gupta ve ark. 2000). Polimerik malzemeler arasında çok iyi fiziksel özelliklere sahip olmalarına rağmen, biyomoleküllerin yerleşimi için aktif yüzeye sahip olmayan malzemeler vardır. Bu yüzeylere biyomoleküllerin bağlanması ve hücrelerin kültüre edilebilmesi için yüzeyde bazı fonksiyonel gruplar oluşturulacak şekilde yüzey modifikasyon yöntemleri ile modifiye edilmelidir. Nanoliflerin yüzey modifikasyonu için literatürde bazı yöntemler denenmiştir (Şekil 4.39). Bu yöntemlerden en yaygınları plazma işlemi ve ıslak kimyasal işlemlerden NaOH modifikasyonudur.



Şekil 4.39. Elektrosinning ile üretilen nanoliflerin yüzey modifikasyon yöntemleri a) plazma uygulaması veya ıslak kimyasal metod, b) yüzey graft polimerizasyonu, c) co-elektrosinning (Yoo ve ark. 2009)

4.4.1. NaOH modifikasyonu sonrası karakterizasyon sonuçları

Yüzeyleri hücre tutunması ve büyümesi için fonksiyonel hale getirme yöntemlerinden birisi de kısmi hidroliz-sodyum hidroksit (NaOH) ile muameledir. Bu metod ile hem yüzey topografisi değiştirilir, hem de yeni fonksiyonel gruplar oluşturulur (Yoo ve ark. 2009). Denemeler sırasında diğer üretim parametrelerinin sabit tutularak sadece konsantrasyon değişimi ile üretilen yüzeyler, 0,5-1-2 ve 5M NaOH çözeltilerinde 5,10 ve 30 dk işlem sürelerinde muamele edilmişlerdir (Çizelge 4.12). Denemeler sırasında 1 ve 3 saat sürelerle de çalışılmıştır. Fakat bu sürelerde yüzeylerin oldukça zarar gördüğü, yüzey formunun gözle görülür şekilde bozulduğu görülmüştür (Şekil 4.40-4.44).

Özellikle 5M 3 saat yapılan denemelerde %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeyler tamamen hidroliz olmuşlardır (Şekil 4.47). Bu nedenle bu sürelerde çalışılmamaya karar verilmiştir. Çizelge 4.12’de NaOH çözeltisi ile muamele edilen yüzeylerin işlem parametreleri ve numune kodları verilmiştir.



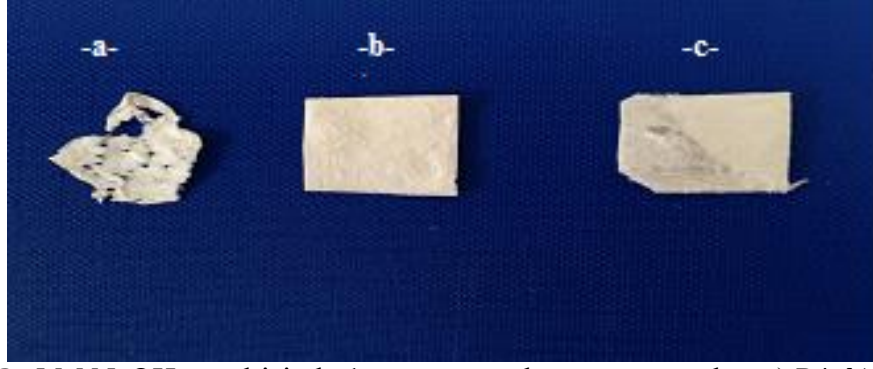
Şekil 4.40. 1 M NaOH çözeltisinde 10 dk muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler



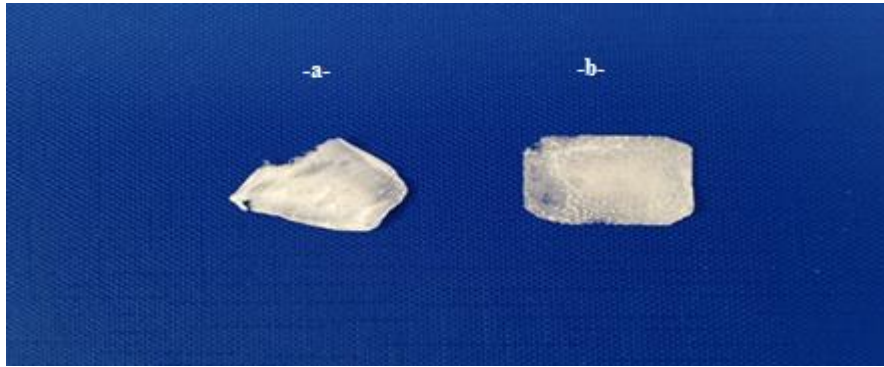
Şekil 4.41. 0,5 M NaOH çözeltisinde 1 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler



Şekil 4.42. 0,5 M NaOH çözeltisinde 3 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler



Şekil 4.43. 5 M NaOH çözeltisinde 1 saat muamele gören yüzeyler, a) P4, b) P7, c) P13 kodlu yüzeyler



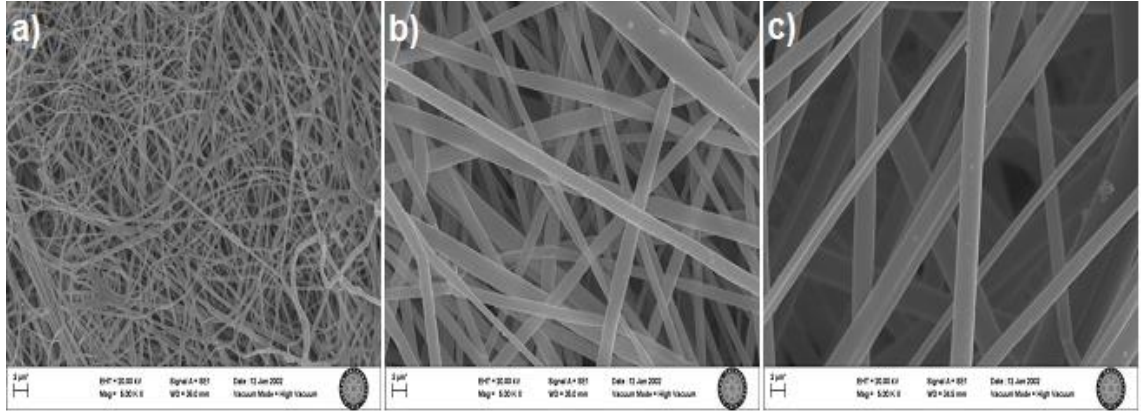
Şekil 4.44. 5 M NaOH çözeltisinde 3 saat muamele gören yüzeyler, a) P7, b) P13 kodlu yüzeyler

Çizelge 4.12. NaOH çözeltisi ile muamele edilen yüzeylerin işlem parametreleri

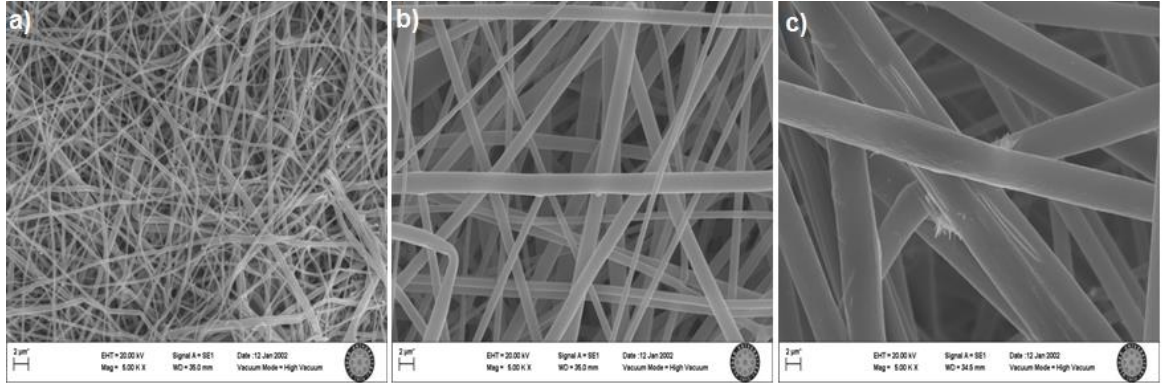
Molarite (M)	Süre (dk)	Malzeme	Numune kodu
0,5	5	%10	N1
		%15	N2
		%20	N3
	10	%10	N4
		%15	N5
		%20	N6
	30	%10	N7
		%15	N8
		%20	N9
1	5	%10	N10
		%15	N11
		%20	N12
	10	%10	N13
		%15	N14
		%20	N15
	30	%10	N16
		%15	N17
		%20	N18
2	5	%10	N19
		%15	N20
		%20	N21
	10	%10	N22
		%15	N23
		%20	N24
	30	%10	N25
		%15	N26
		%20	N27
5	5	%10	N28
		%15	N29
		%20	N30
	10	%10	N31
		%15	N32
		%20	N33
	30	%10	N34
		%15	N35
		%20	N36

Şekil 4.45-4.56 arasında 0,5-1-2 ve 5M NaOH çözeltilerinde 5-10 ve 30 dakika işlem görmüş yüzeylerin SEM görüntüleri verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde düşük konsantrasyon ve düşük sürelerde işlem gören yüzeylerin daha az zarar gördüğü, işlem

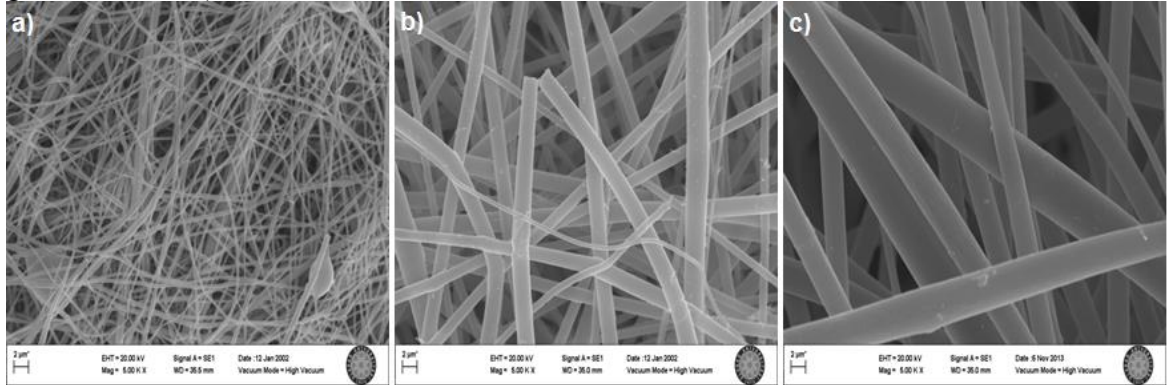
süresi ve konsantrasyon arttıkça lif formunun bozulduğu ve yüzeylerin tahrip olduğu görülmüştür.



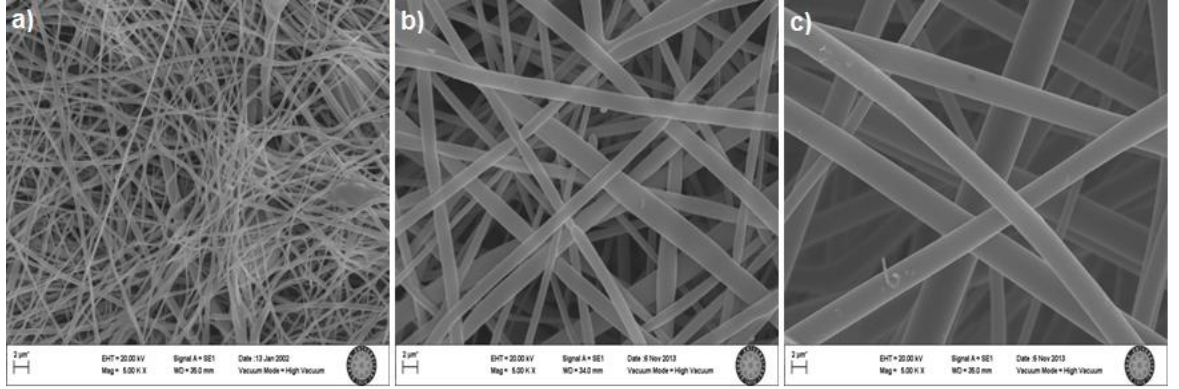
Şekil 4.45. a) N1, b) N2, c) N3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



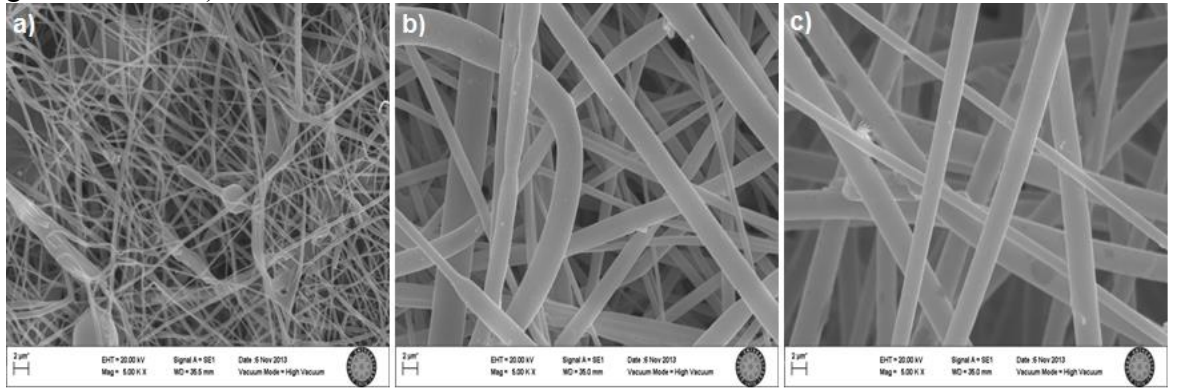
Şekil 4.46. a) N4, b) N5, c) N6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



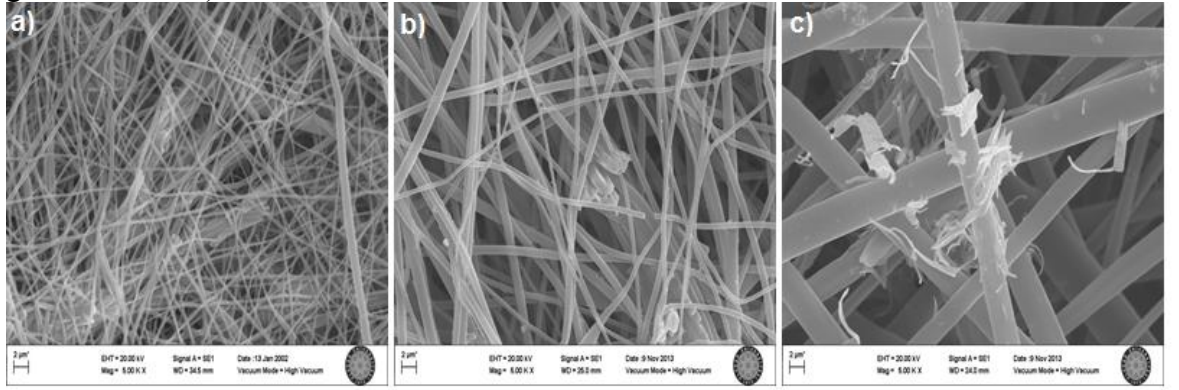
Şekil 4.47. a) N7, b) N8, c) N9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



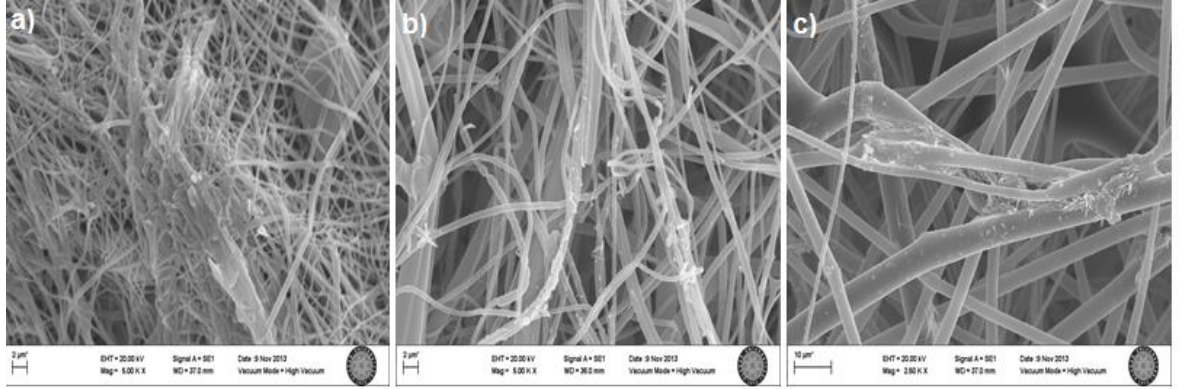
Şekil 4.48. a) N10, b) N11, c) N12 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



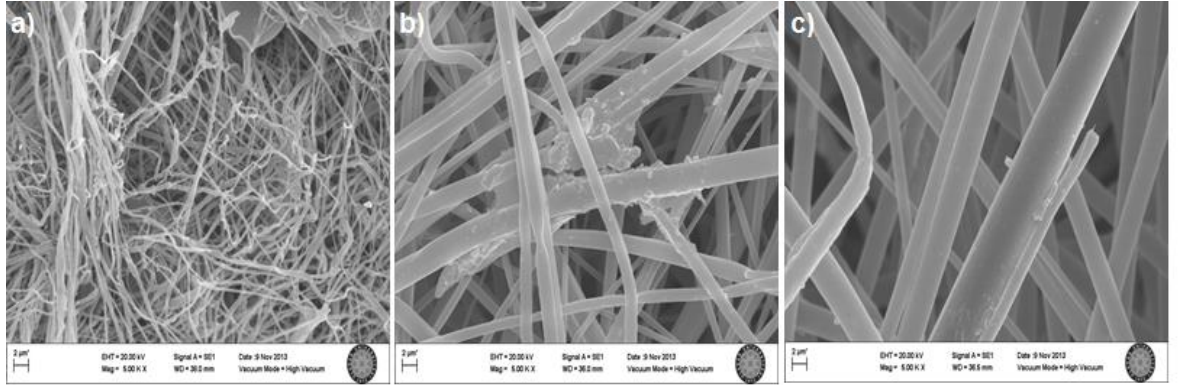
Şekil 4.49. a) N13, b) N14, c) N15 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



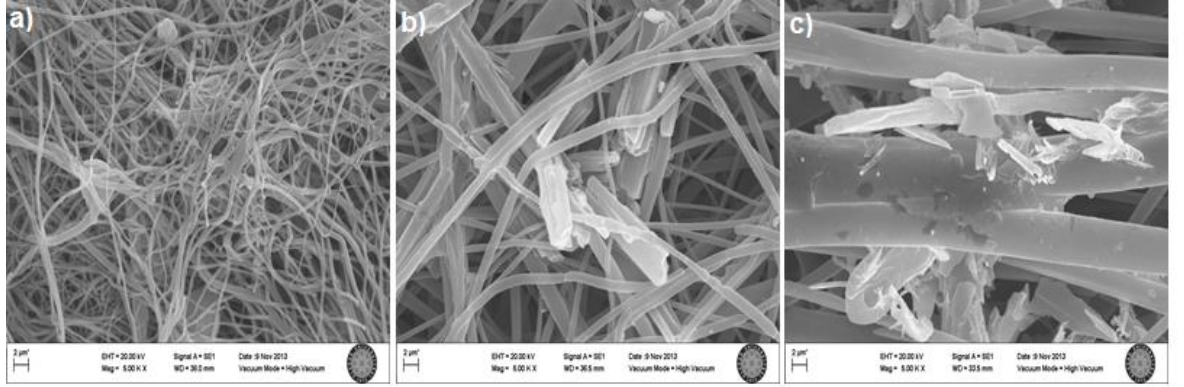
Şekil 4.50. a) N16, b) N17, c) N18 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



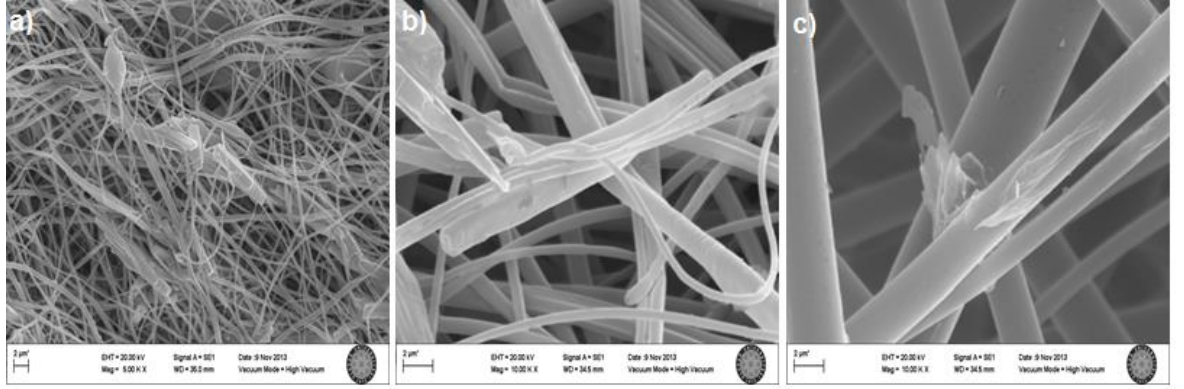
Şekil 4.51. a) N19, b) N20, c) N21 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



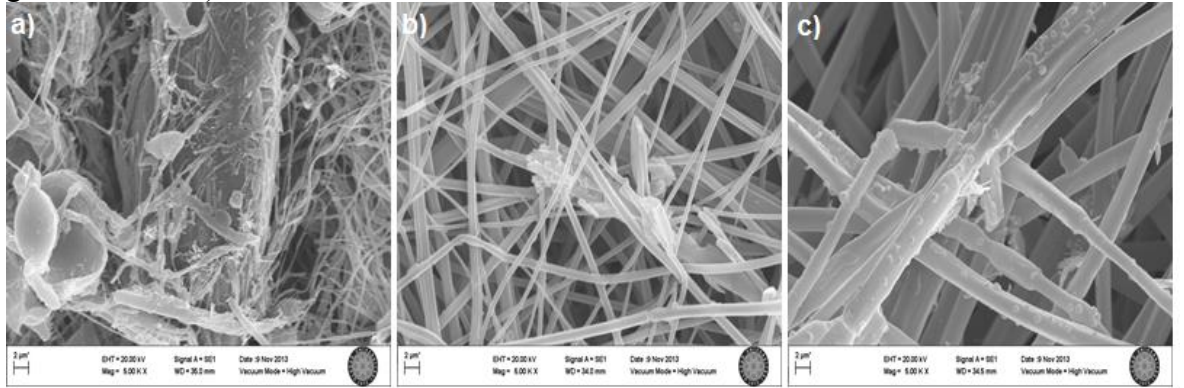
Şekil 4.52. a) N22, b) N23, c) N24 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



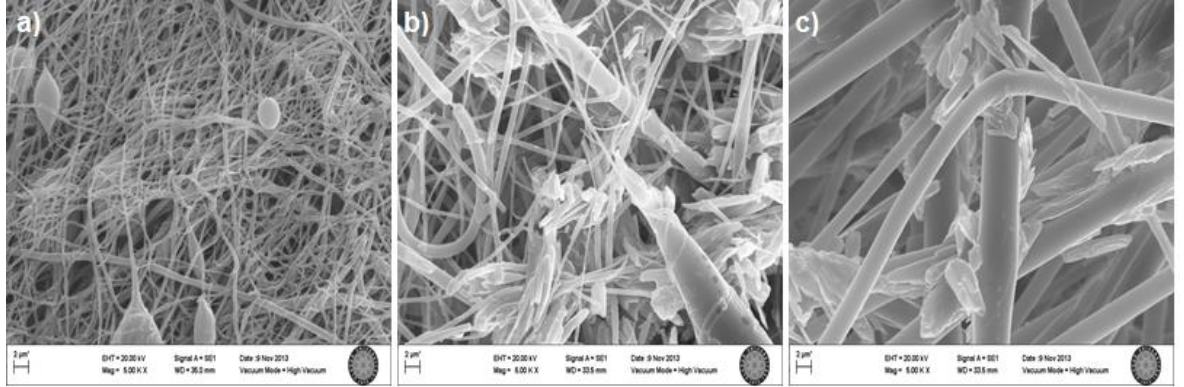
Şekil 4.53. a) N25, b) N26, c) N27 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm'yi göstermektedir.)



Şekil 4.54. a) N28, b) N29, c) N30 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm’yi göstermektedir.)



Şekil 4.55. a) N31, b) N32, c) N33 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm’yi göstermektedir.)



Şekil 4.56. a) N34, b) N35, c) N36 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri (skala 2µm’yi göstermektedir.)

Çizelge 4.13’te NaOH modifikasyonu yapılmış yüzeylerin, işlem sonrası temas açıları verilmiştir. Tablo değerleri incelendiğinde temas açılarının NaOH muamelesi sonrası oldukça düştüğü görülmüştür. Artan işlem süresi temas açılarındaki düşüşün artmasına neden olmuştur. Modifikasyon işlemi özellikle yüksek konsantrasyonlu yüzeylerde daha fazla etkili olmuştur. Ağırlıkça %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeyler

üzerine su damlatıldığında, damla yüzey üzerinde görüntülenemeden emilmiştir. Bu nedenle bu yüzeylerin temas açıları ölçülememiştir. Artan işlem süresi de yüzeylerin temas açılarının düşmesine neden olmuştur.

Çizelge 4.13. NaOH modifikasyonu sonrası yüzeylerin temas açıları

Numune kodu	Temas Açısı (°)	CV (%)
P4 (modifikasyon öncesi)	116,37	2,92
P7 (modifikasyon öncesi)	128,86	1,19
P13 (modifikasyon öncesi)	132,44	1,24
N1	65,26	5,80
N2	64,36	5,33
N3	-	-
N4	64,57	3,95
N5	59,17	6,61
N6	68,78	4,56
N7	49,36	11,33
N8	55,07	12,77
N9	-	-
N10	45,49	11,68
N11	60,98	6,29
N12	64,84	6,75
N13	47,64	7,61
N14	62,44	4,26
N15	62,86	4,06
N16	45,58	5,92
N17	58,26	5,31
N18	-	-
N19	37,39	14,95
N20	51,42	5,72
N21	55,50	5,70
N22	39,26	10,85
N23	41,46	11,63
N24	50,56	6,13
N25	39,72	9,89
N26	40,31	11,06
N27	49,81	6,82
N28	32,88	13,30
N29	36,20	14,40
N30	43,69	4,94
N31	29,69	15,33
N32	33,00	12,60
N33	33,23	14,51
N34	29,27	19,74
N35	29,36	16,52
N36	-	-

4.4.2. Plazma modifikasyonu sonrası karakterizasyon sonuçları

Plazma, maddenin dördüncü hali olup, temel veya uyarılmış halde bulunan elektronlardan, iyonlardan gaz atomlarından ve moleküllerinden oluşan ve toplam yükü nötr olan iyonize gaz olarak tanımlanabilmektedir (Kutlu 2008). Fizikokimyasal modifikasyonlardan olan plazma, materyalin temel özelliklerini değiştirmeden sadece yüzeyde çeşitli modifikasyonların meydana gelmesini sağlamaktadır.

Polietilen tereftalat (PET) polimerinin moleküler yapısında $-\text{COOH}$ ve $-\text{OH}$ gibi polar gruplar eksik olduğu için polimerin düşük serbest yüzey enerjisine ve düşük ıslanabilirliğe sahip olmasına neden olur.

PET'in ıslanabilirliğini arttırmak için hidrofilite prosesi gereklidir. Plazma yöntemi ile modifikasyon bu proseslerden birisidir. Plazma yöntemi ile sadece materyalin yüzeyine temas ederek, materyalin orijinal özellikleri korunur ve yeni fonksiyonel özellikler eklenmiş olur (Jie-Rong ve ark. 1999, Gupta ve ark. 2000, Junkar ve ark. 2010)

Literatürde plazma uygulamaları üzerine pek çok çalışma vardır. Hsieh ve arkadaşları PET filmler üzerine argon plazma uygulamışlar ve filmlerin ıslanabilirliğinin oldukça arttığını gözlemlemişlerdir (Hsieh ve Wu 1989).

Gupta ve arkadaşlarının çalışmasında da polyester film tabakalarına RF plazma uygulaması incelenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında, yüzey topografisinde pürüzlülüğün arttığını ve temas açısı değerlerinde önemli bir düşüş gözlemlemişlerdir. Temas açısındaki bu düşüşü yüzeydeki kimyasal değişim ile açıklamışlardır. Yüzeyler argon ile yapılan plazma işleminden sonra dış ortamdaki oksijene maruz kaldığından, plazma sırasında oluşan radikallerin oksijen ile etkileşime girebileceğini ve yüzeyde hidrofilik gruplar oluşturabileceğini belirtmişlerdir (Gupta ve ark. 2000). Çizelge 4.14'te plazma ile modifiye edilen yüzeylerin işlem parametreleri ve numune kodları verilmiştir.

Çizelge 4.14. Plazma ile modifiye edilen yüzeylerin işlem parametreleri

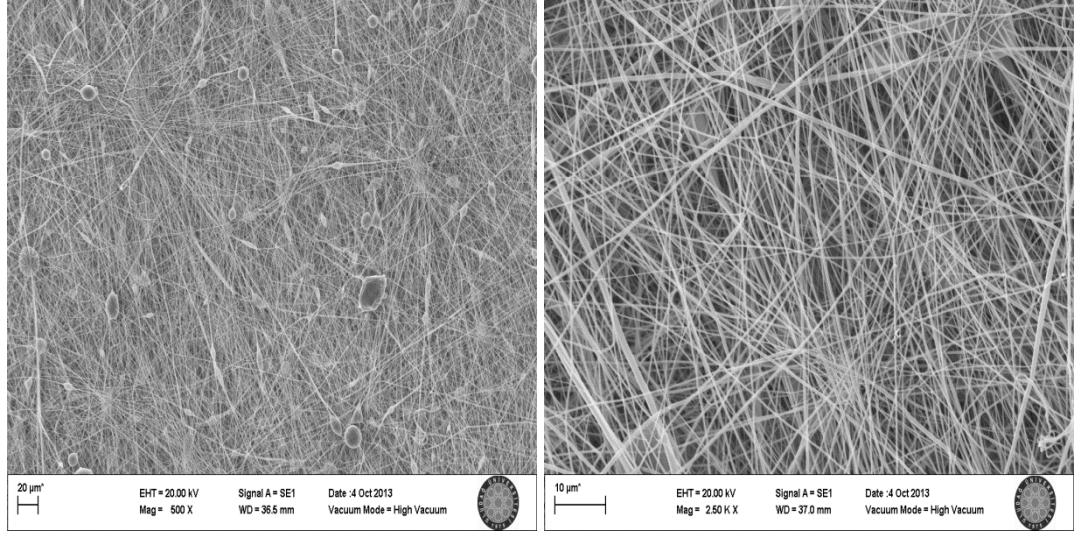
Gaz cinsi	Süre (sn)	Malzeme	Numune kodu
ARGON	30	%10	Ar1
		%15	Ar2
		%20	Ar3
	60	%10	Ar4
		%15	Ar5
		%20	Ar6
	90	%10	Ar7
		%15	Ar8
		%20	Ar9
OKSİJEN	30	%10	O1
		%15	O2
		%20	O3
	60	%10	O4
		%15	O5
		%20	O6
	90	%10	O7
		%15	O8
		%20	O9

Şekil 4.57-4.65 arasında Argon plazma ile Şekil 4.66-4.74 arasında Oksijen plazma ile işlem görmüş yüzeylerin SEM görüntüleri verilmiştir. Çizelge 4.15’te Argon ve Oksijen plazma modifikasyonu sonrası yüzeylerin temas açıları verilmiştir. Nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde Argon plazma ile işlem görmüş yüzeylerde çok önemli değişiklik görülmemiştir. Ancak nanoliflerin çapları çok düşük olduğu ve SEM ile daha fazla büyütmelede numuneler zarar gördüğü için 10.000 büyütmeden daha yüksek büyütmelelere çıkılamamıştır. Temas açısı hem yüzey topografisinden, hem de yüzeydeki fonksiyonel gruplardan etkilenir. Temas açısı değerleri incelendiğinde görülen düşüş, plazma işleminin etkili olduğunu ve yüzeylerin ıslanabilir hale geldiğini göstermektedir. İşlem süresi arttıkça temas açıları daha da azalmıştır.

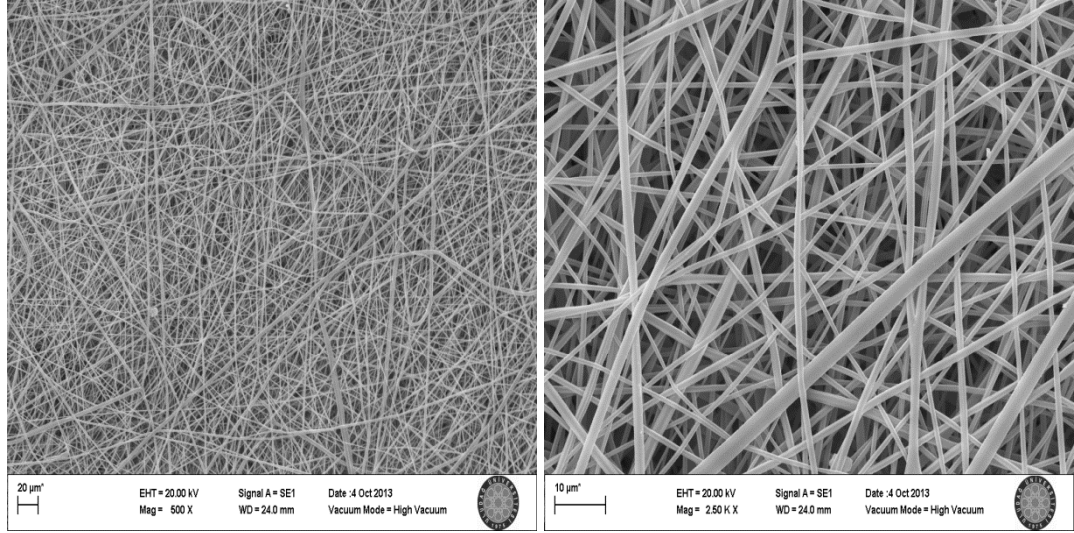
Plazma işlemi sırasında soygazlar (ör. Argon) polimer yüzeylerinde yeni kimyasal gruplar bağlamazlar fakat bazı bağları kırarak ve zarar vererek çeşitli kısa zincirlerin oluşumuna neden olurlar (Mozetic ve Zalar 2008). Soygazlar dışındaki gazlarla yapılan plazma işlemlerinde ise yüzeyde yeni fonksiyonel gruplar oluşur. Plazma işlemi sırasında modifikasyon yüzeyde olur ve malzemenin hacimsel özellikleri etkilenmez. Fakat plazma ile işlem görmüş polimer yüzeylerdeki işlem genellikle stabil değildir ve zaman içerisinde yeni oluşan fonksiyonel gruplar degrade olma eğilimi gösterir. Bu nedenle plazma işlemi sonrasında mümkün olan en kısa sürede ard işlem yapılmalıdır (Mozetic ve Zalar 2008).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, oksijen plazma ile işlem gören PET yüzeyler XPS ile yüzeyde yeni fonksiyonel gruplar oluştuğu görülmüştür. XPS analizleri sonunda yüzeydeki O-C=O fonksiyonel grupların konsantrasyonunun ve C-O fonksiyonel grupların sayısının belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir (Gupta ve ark. 2000, Cioffi ve ark. 2003, Mozetic ve Zalar 2008).

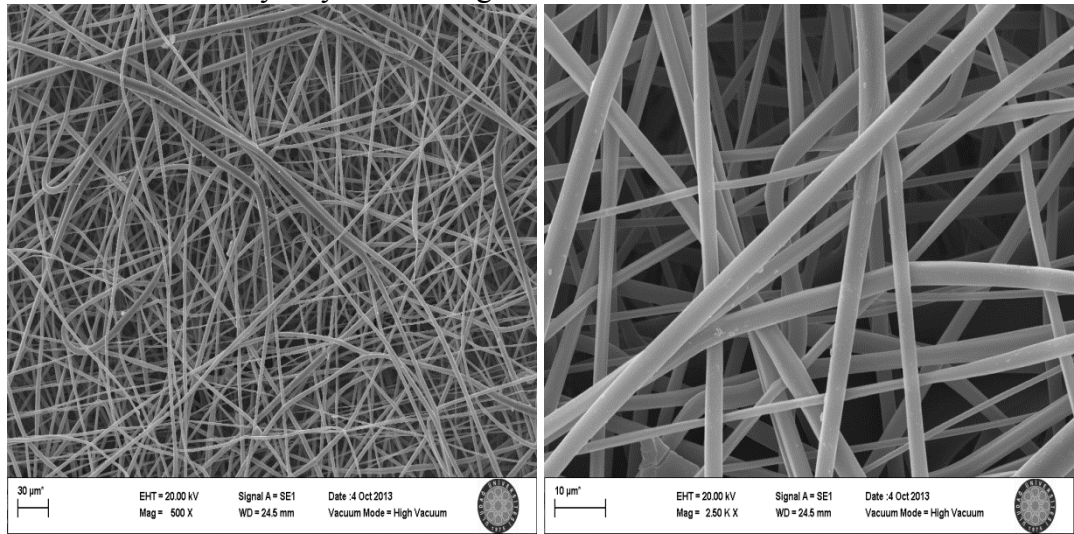
Bu çalışmada PET nanolifli yüzeylerin ıslanabilirliğini arttırmak amacı ile Oksijen plazma işlemi uygulanmıştır. Şekil 4.66-4.74 ve Çizelge 4.15 incelendiğinde, yüzey topografisinde değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Temas açısı değerlerinde görülen düşüş, plazma işleminin etkili olduğunu ve yüzeylerin ıslanabilir hale geldiğini göstermektedir. Artan işlem süresi ile temas açıları daha fazla düşmüştür. Özellikle 90 saniyelik oksijen plazma işleminden sonra yüzeyler çok emici hale gelmiş ve yüzey temas açıları ölçülememiştir.



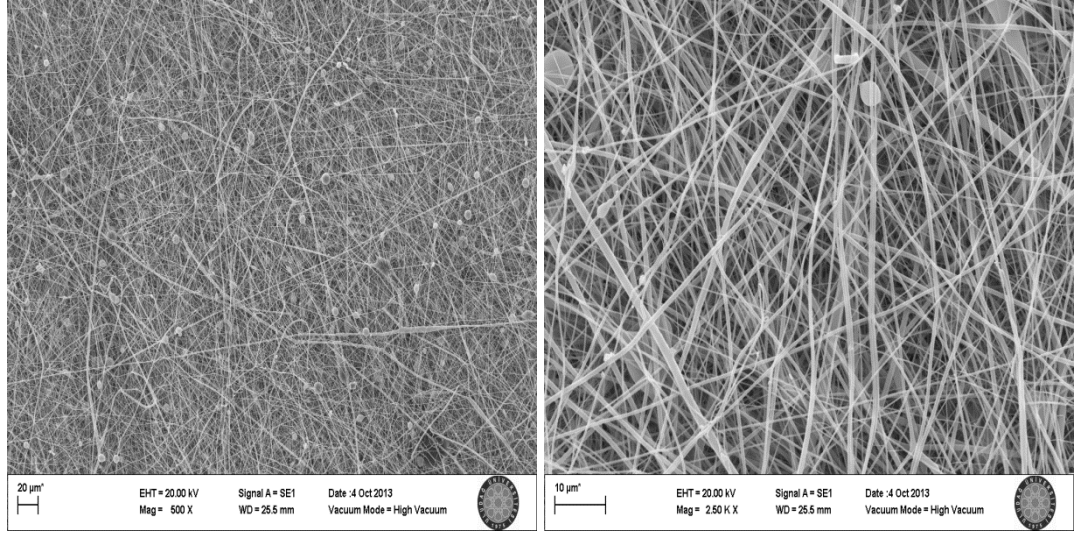
Şekil 4.57. Ar1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



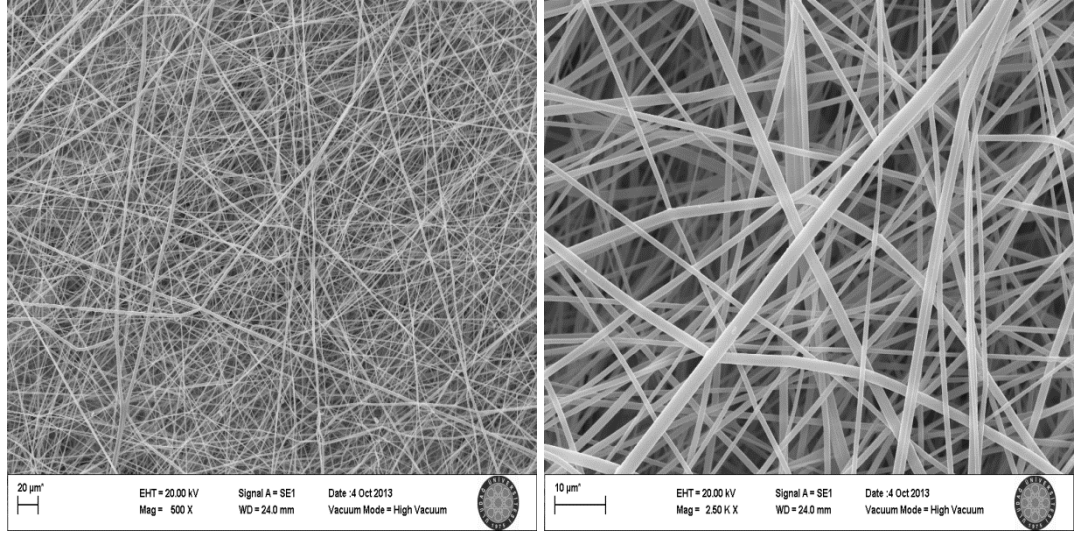
Şekil 4.58. Ar2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



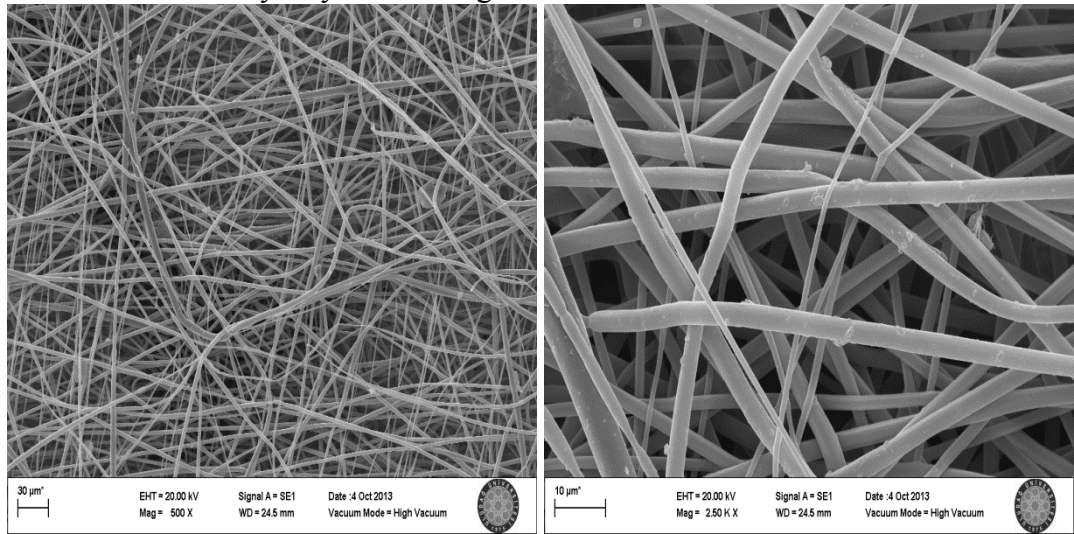
Şekil 4.59. Ar3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



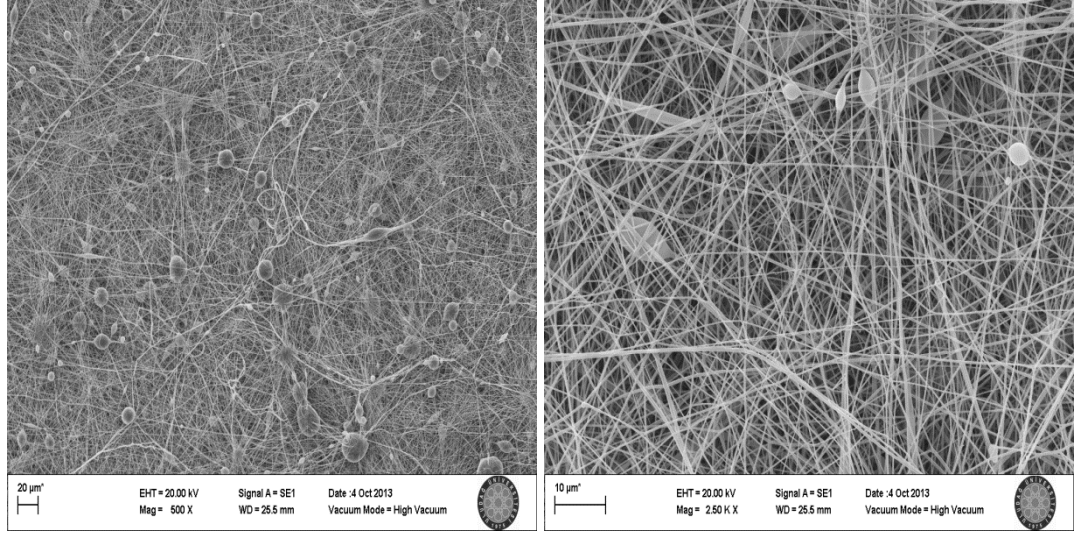
Şekil 4.60. Ar4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



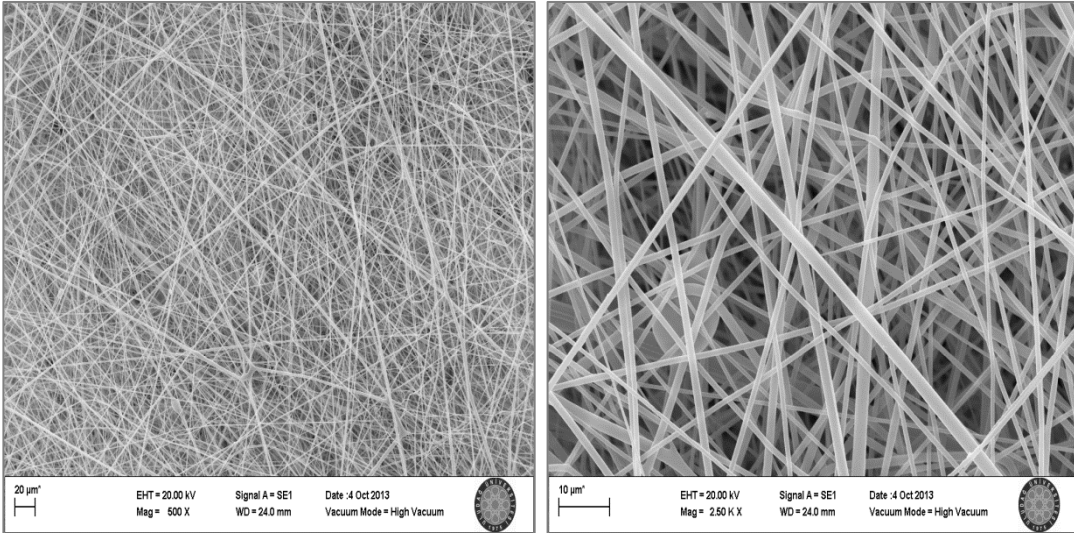
Şekil 4.61. Ar5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



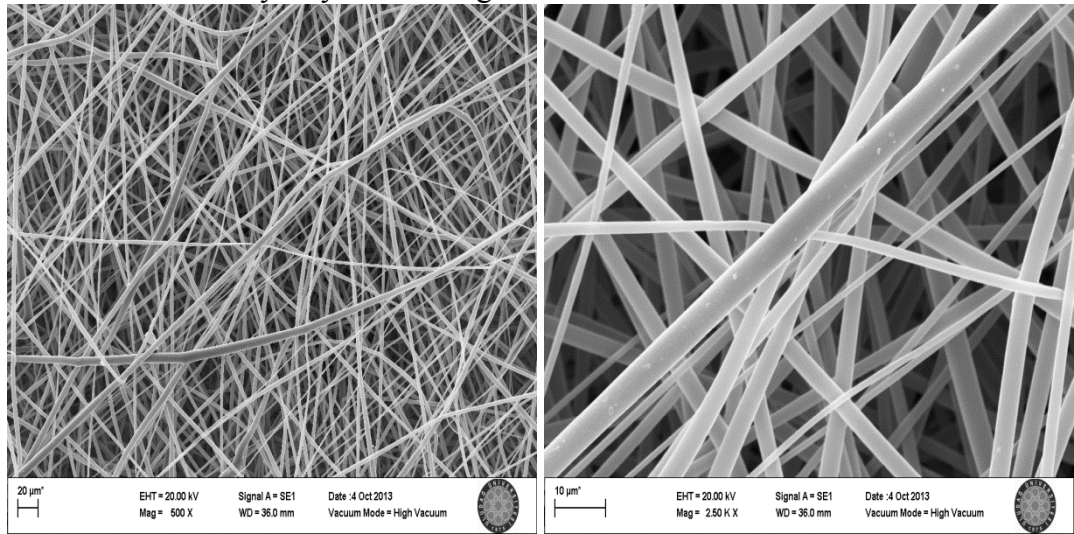
Şekil 4.62. Ar6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



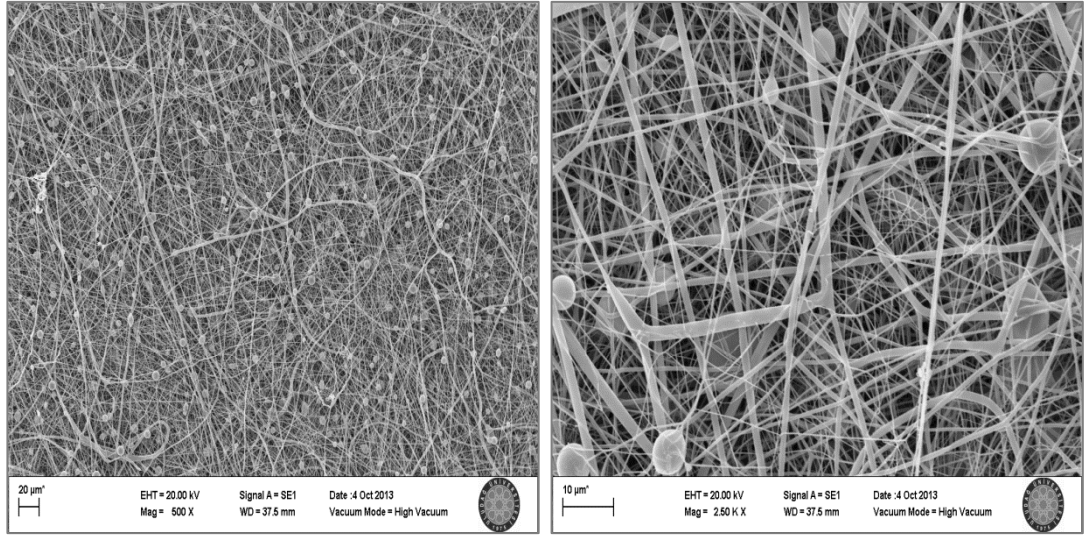
Şekil 4.63. Ar7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



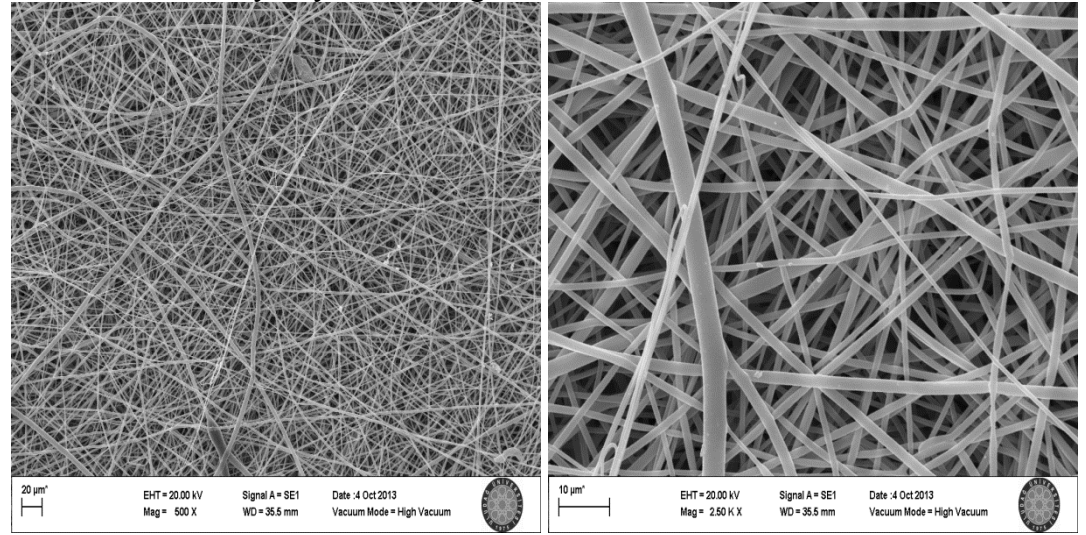
Şekil 4.64. Ar8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



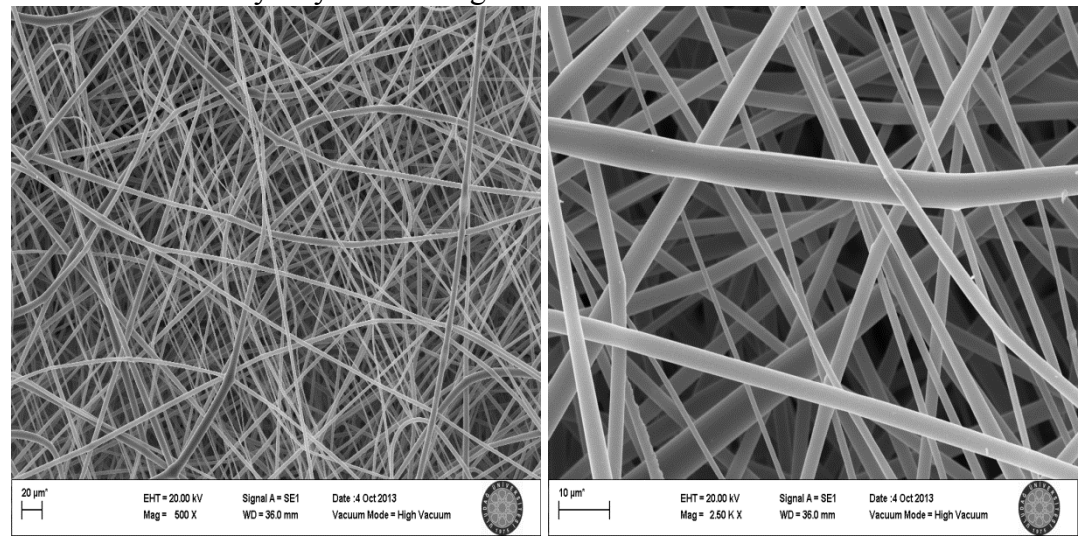
Şekil 4.65. A9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



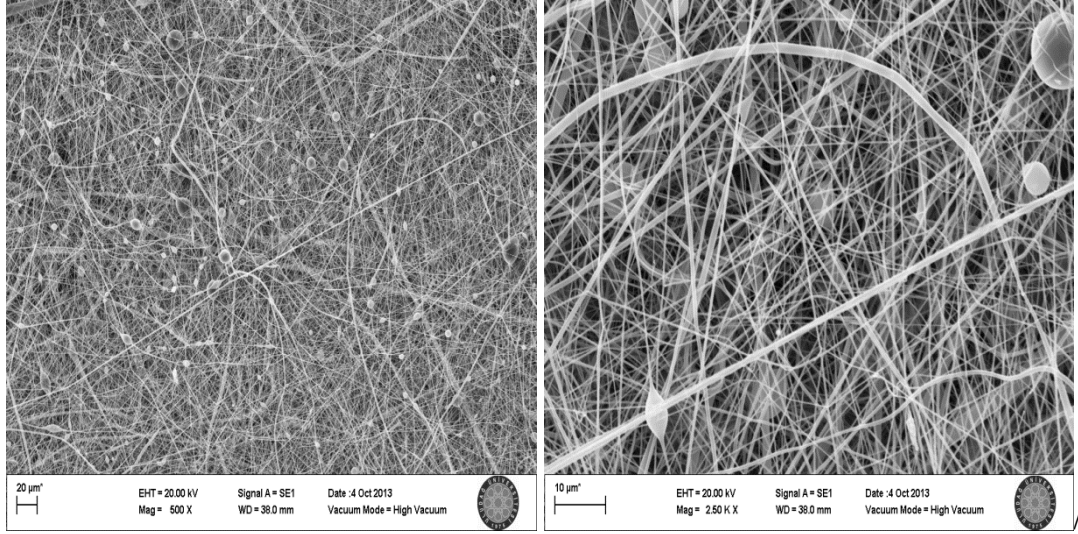
Şekil 4.66. O1 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



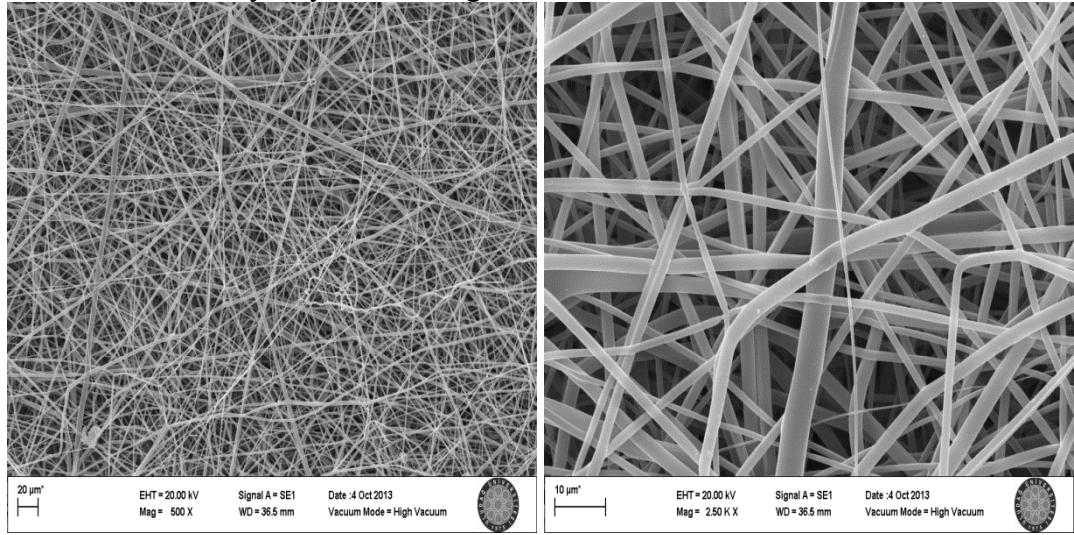
Şekil 4.67. O2 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



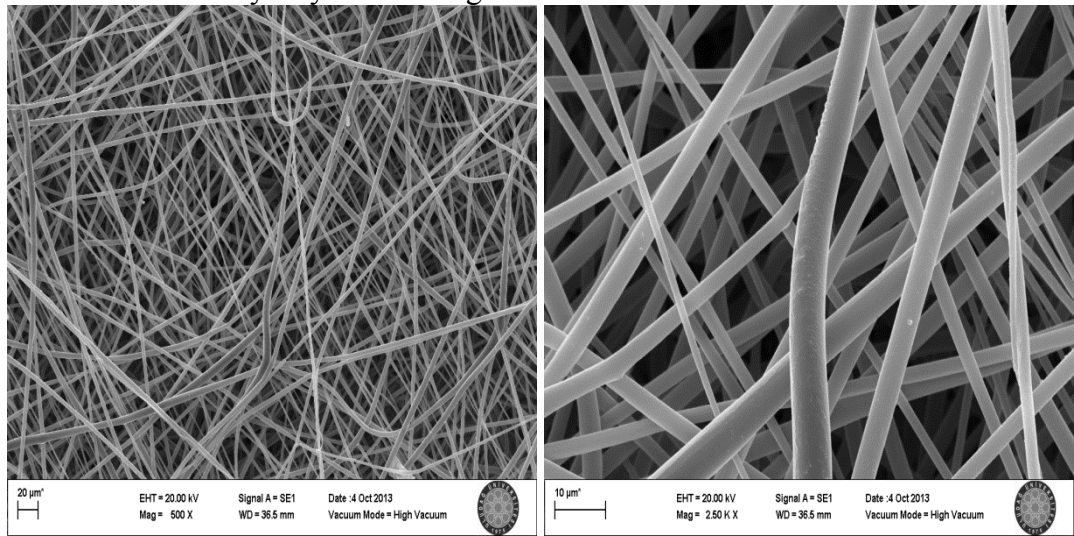
Şekil 4.68. O3 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



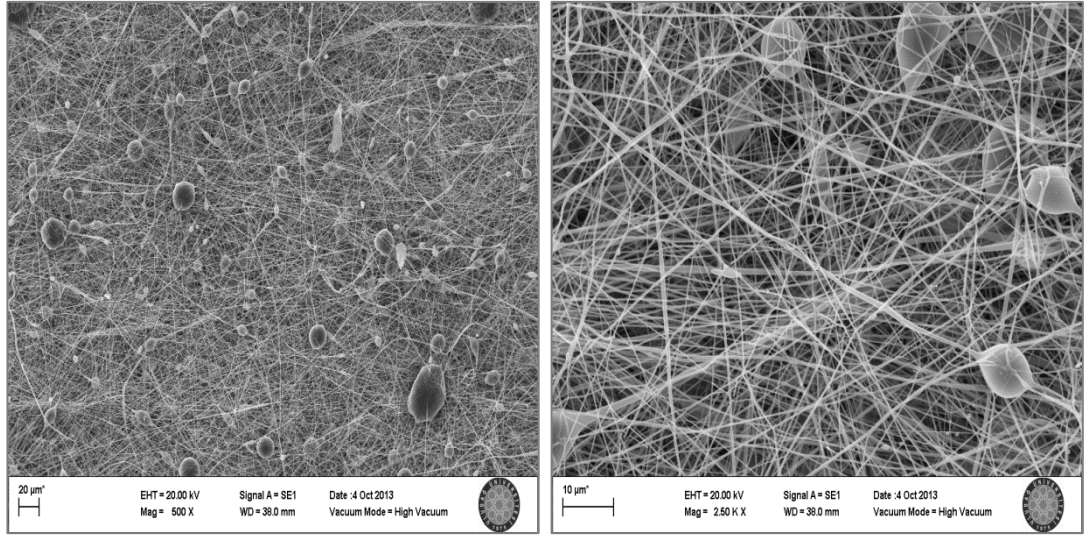
Şekil 4.69. O4 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



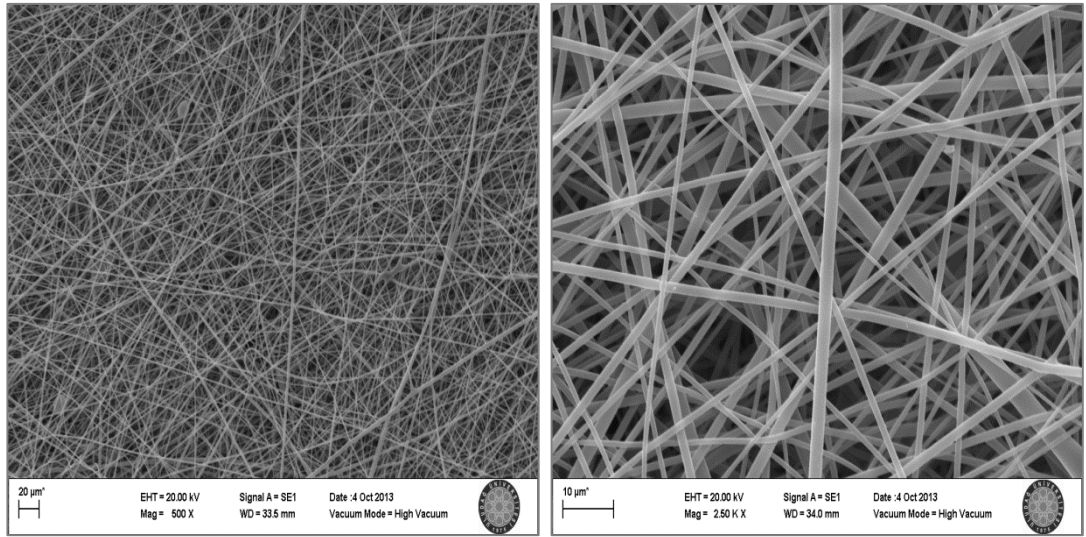
Şekil 4.70. O5 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



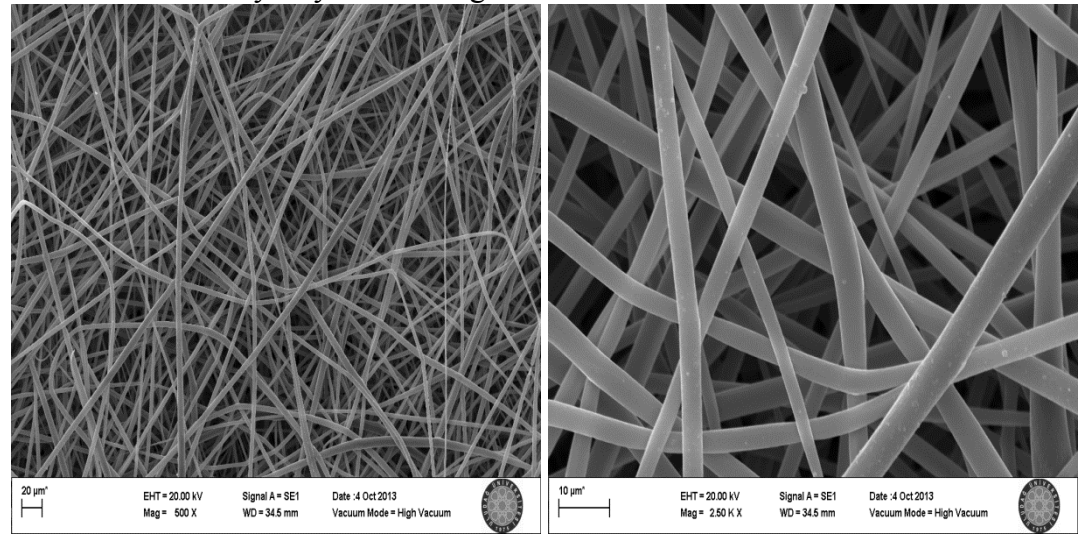
Şekil 4.71. O6 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.72. O7 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.73. O8 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.74. O9 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri

Çizelge 4.15. Plazma işlemi sonrası yüzeylerin temas açıları

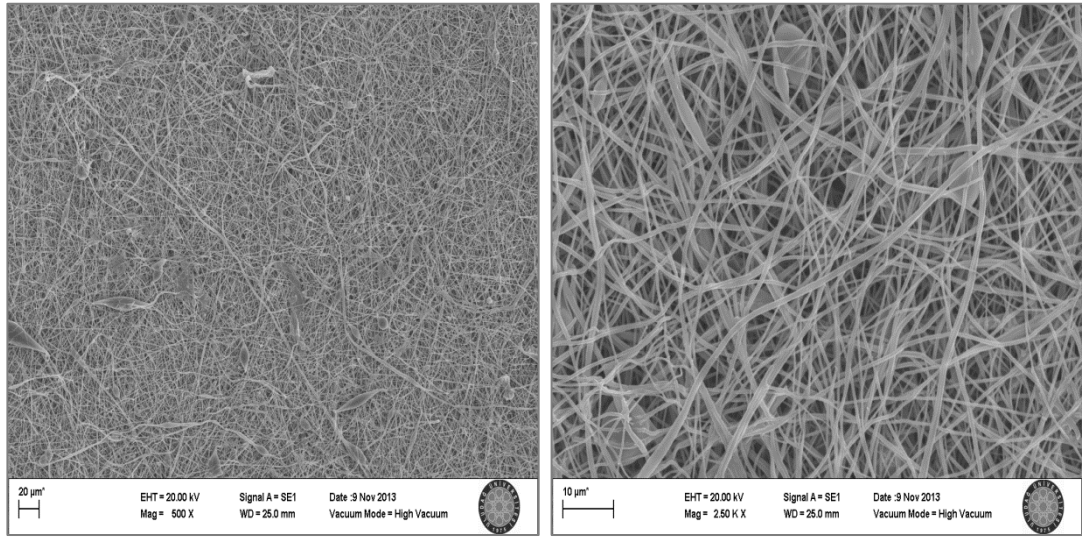
Numune kodu	Temas Açısı (°)	CV (%)
P4 (modifikasyon öncesi)	116,37	2,92
P7 (modifikasyon öncesi)	128,86	1,19
P13 (modifikasyon öncesi)	132,44	1,24
Ar1	31,44	6,17
Ar2	26,59	13,96
Ar3	24,53	13,80
Ar4	21,36	19,54
Ar5	20,25	18,81
Ar6	17,70	22,36
Ar7	20,34	15,42
Ar8	17,95	22,96
Ar9	13,89	25,97
O1	34,54	5,98
O2	20,00	25,02
O3	-	-
O4	31,00	7,86
O5	-	-
O6	-	-
O7	20,66	22,69
O8	-	-
O9	-	-

Yapılan denemeler sonunda Argon plazma, Oksijen plazma ve NaOH modifikasyonunun nanolifli yüzeyler üzerinde çok etkili olduğu, temas açılarında büyük düşüşler görüldüğü ve ıslanabilir hale geldiği görülmüştür. Oksijen plazma ile işlem gören, özellikle ağırlıkça %15 ve %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeyler, artan işlem süresi ile fazla emici hale gelmiştir ve yüzeylere su damlatıldığında, damla yüzey üzerinde görüntülenemeden yüzey tarafından emiştir. Bu nedenle, bu yüzeylerdeki temas açısı değerleri ölçülememiştir.

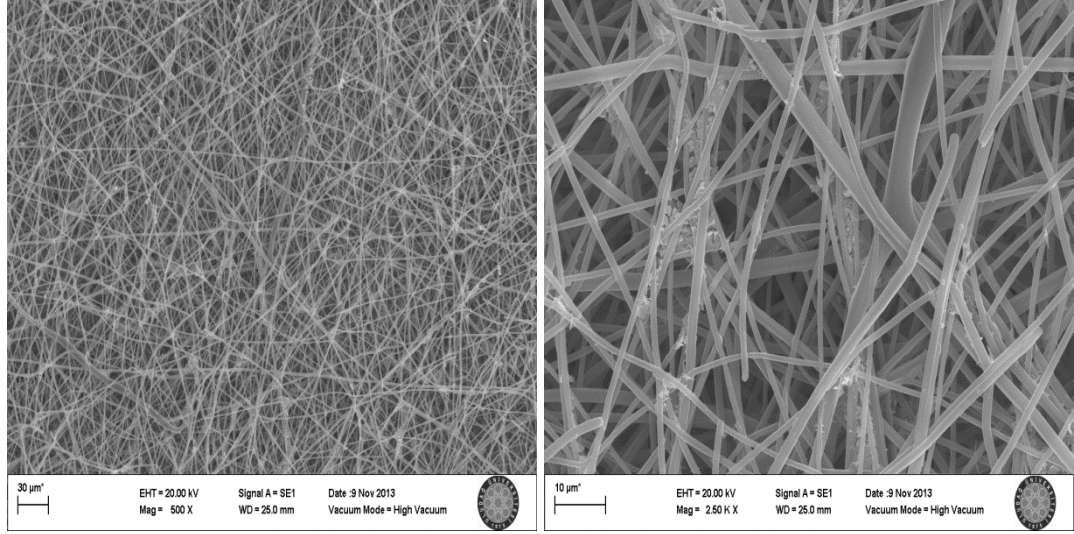
Ön denemelerde yapılan modifikasyon çalışmalarının amacı, yüzeylerin özelliklerini kaybetmeden ıslanabilir hale getirmek ve optimum yüzey modifikasyon parametrelerini belirlemektir.

Denemelerin sonunda, yüzeyler için en uygun modifikasyon parametrelerinin 60 sn. boyunca Argon ve Oksijen plazma ile 10 dakika boyunca 1M NaOH konsantrasyonundaki çözeltideki işleminin olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle,

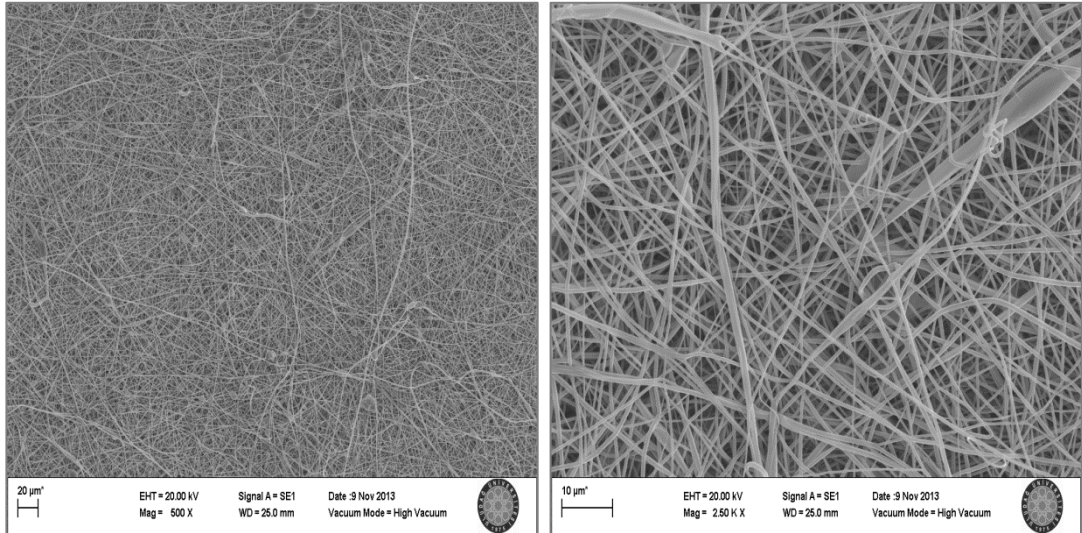
belirlenen bu parametreler ile daha önceki çalışmalarla hücre tutunması ve çoğalmasına uygunluğu bulunan, ağırlıkça %10 oranında PET içeren çözeltilerden, 1ml/sa besleme oranında ve 350 devir/dk sarım hızında üretilen yüzeyler (P6) ile aynı parametreler ile üretilen ve mekanik özellikleri daha iyi olan ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylere (P10) Argon ve Oksijen plazma ile NaOH uygulamaları yapılmıştır. Daha sonra numunelerin yüzey özellikleri SEM, AFM, yüzey gözenek boyutu analizleri ve temas açısı ölçümleri ile karakterize edilmiştir. Şekil 4.75-4.80 P6 ve P10 kodlu yüzeylere yapılan modifikasyon işlemleri sonrası SEM görüntülerini, Şekil 4.81 modifikasyonlar sonrası AFM görüntülerini ve Şekil 4.82 ile Çizelge 4.17 modifikasyonlar sonrası yüzey gözenek boyutlarını göstermektedir. AFM görüntüleri incelendiğinde argon plazma işleminin nanolif yüzeyleri üzerinde nano boyutlarda aşınmalara neden olduğu görülmektedir. Ayrıca modifikasyonlar sonrası temas açılarında önemli düşüş elde edilmiştir (Çizelge 4.16). Daha sonra bu yüzeylere fibroblast ve keratinosit hücre ekim işlemleri gerçekleştirilmiştir.



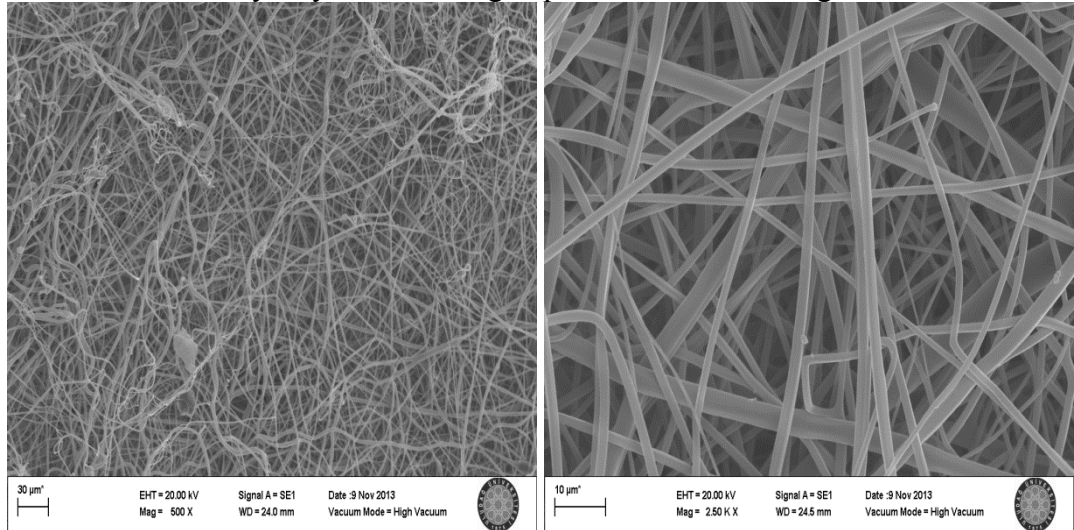
Şekil 4.75. P6 kodlu yüzeylerin 1M NaOH çözeltisinde 10 dk uygulama sonrası SEM görüntüleri



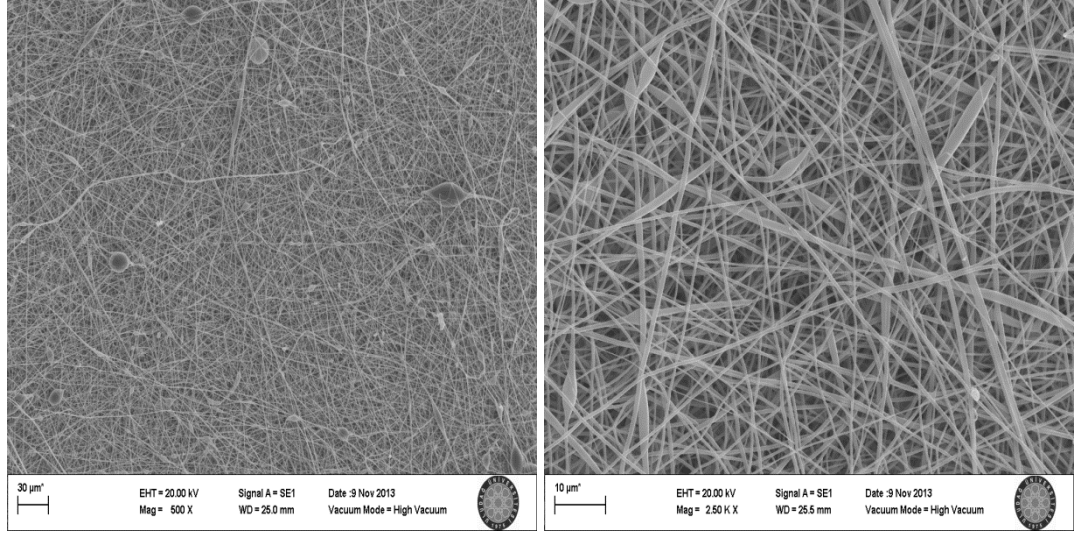
Şekil 4.76. P10 kodlu yüzeylerin 1M NaOH çözeltisinde 10 dk uygulama sonrası SEM görüntüleri



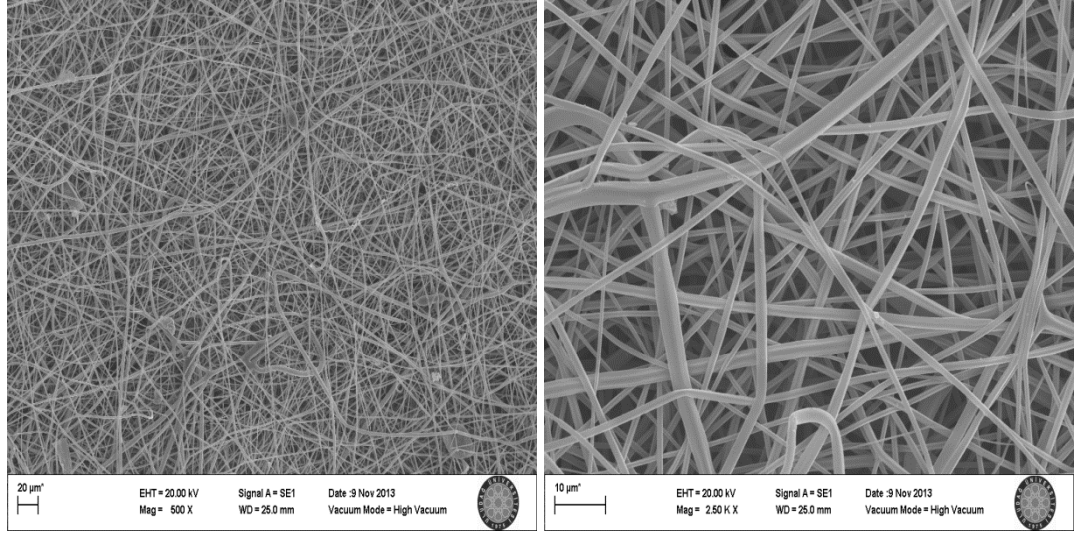
Şekil 4.77. P6 kodlu yüzeylerin 60sn argon plazma sonrası SEM görüntüleri



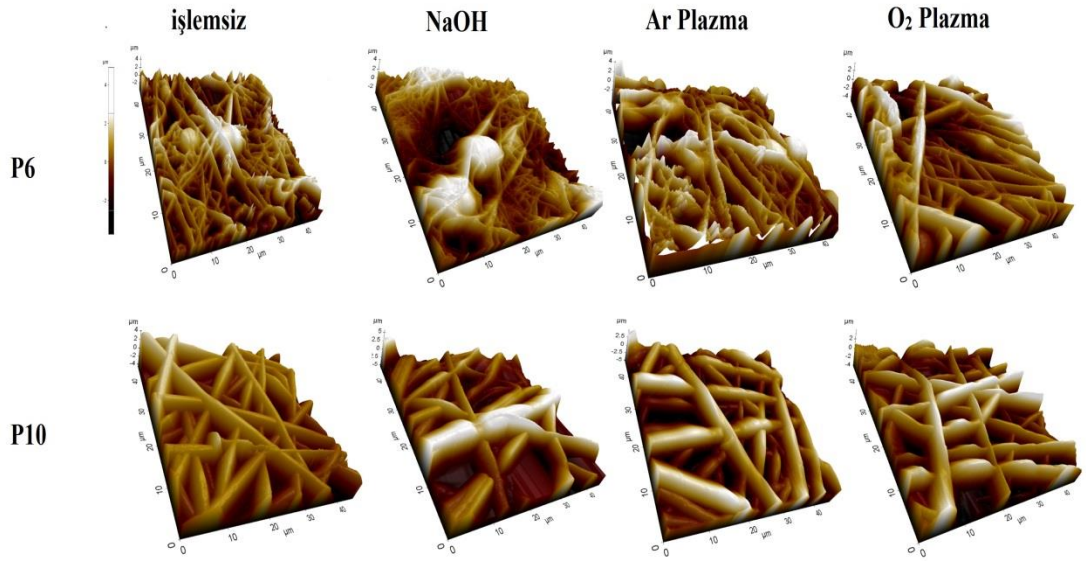
Şekil 4.78. P10 kodlu yüzeylerin 60sn argon plazma sonrası SEM görüntüleri



Şekil 4.79. P6 kodlu yüzeylerin 60sn oksijen plazma sonrası SEM görüntüleri



Şekil 4.80. P10 kodlu yüzeylerin 60sn oksijen plazma sonrası SEM görüntüleri

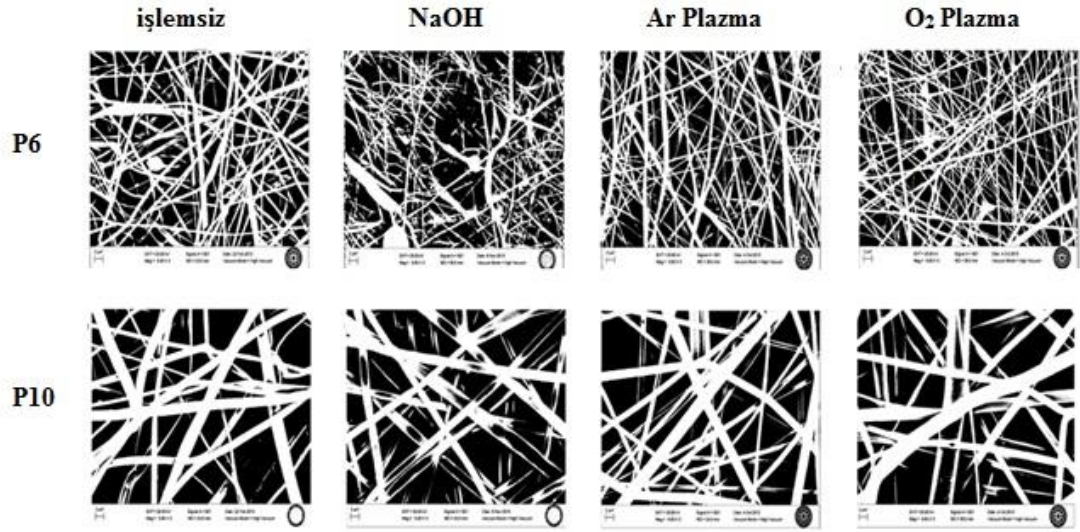


Şekil 4.81. P6 ve P10 kodlu yüzeylerin modifikasyonlardan önce ve sonraki AFM görüntüleri

Çizelge 4.16. P6 ve P10 kodlu yüzeylerin modifikasyon öncesi ve sonrası temas açıları

Numune Kodu	Modifikasyon Tipi	Temas açısı (°)	CV (%)
P6	İşlemsiz	115,87	2,53
P6	Argon plazma	26,47	16,04
P6	Oksijen plazma	24,10	22,35
P6	NaOH çözeltisi	30,08	12,19
P10	İşlemsiz	128,80	1,66
P10	Argon plazma	32,93	9,24
P10	Oksijen plazma	30,11	9,88
P10	NaOH çözeltisi	42,26	6,17

Tez çalışmasının amacı, doku çatısı olarak kullanılmak üzere üretilen PET nanolifli yüzeyler üzerinde hücre tutunması ve çoğalmasını arttırmaktır. Doku çatılarının en önemli parametrelerinden birisi de yüzeylerin gözenek boyutudur. Bu amaçla, uygun bir yazılım kullanılarak modifiye edilmemiş P6 (%10 PET) ve P10 (%15 PET) ile NaOH, Argon plazma ve Oksijen plazma ile yüzeyleri modifiye edilen yapıların “yüzey gözenek boyutu” analizi yapılmıştır. Yazılım ile SEM görüntüleri çekilen yüzeylerin siyah-beyaz görüntüleri alınmış ve görülen boşlukların alan hesaplaması yapılmıştır. Şekil 4.82 yüzeylerin modifikasyonlar öncesi ve sonrası siyah-beyaz görüntülerini, Çizelge 4.17 numumelerin modifikasyonlar öncesi ve sonrası ortalama yüzey gözenek boyutlarını göstermektedir.



Şekil 4.82. Nanolifli yüzeylerin modifikasyonlar öncesi ve sonrası siyah-beyaz görüntüleri

Çizelge 4.17. Numunelerin yüzey gözenek boyutları

Malzeme	Yüzey Gözenek Boyutu(μm^2)	CV(%)
P6	5,58	43,47
P6-NaOH	4,11	28,49
P6-Argon plazma	4,88	56,58
P6-Oksijen plazma	5,43	30,14
P10	50,20	36,17
P10-NaOH	44,51	50,19
P10-Argon plazma	37,24	47,52
P10-Oksijen plazma	41,97	38,99

Gözenek boyutlarının bilgisayar yazılımı ile analizinden sonra, yüzeylerin hacimsel gözenekliliği ile bilgi edinmek amacı ile hava geçirgenliği testleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.18 işlem görmemiş ağırlıkça %10 ve %15 oranlarında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerin (P6 ve P10 kodlu yüzeyler) hava geçirgenliği değerleri verilmektedir. Analiz sonuçlarının, gözenek boyut analizleri ile uyumlu olduğu, daha büyük gözenek boyutlarına sahip olan ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylerin hava geçirgenliğinin de ağırlıkça %10 oranındaki PET içeren çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylere göre üç kat daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.18. Nanolifli yüzeylerin hava geçirgenliği değerleri

Malzeme	Hava geçirgenliği (cm ³ /cm ² /sn)
%10 PET	0,405
%15 PET	1,277

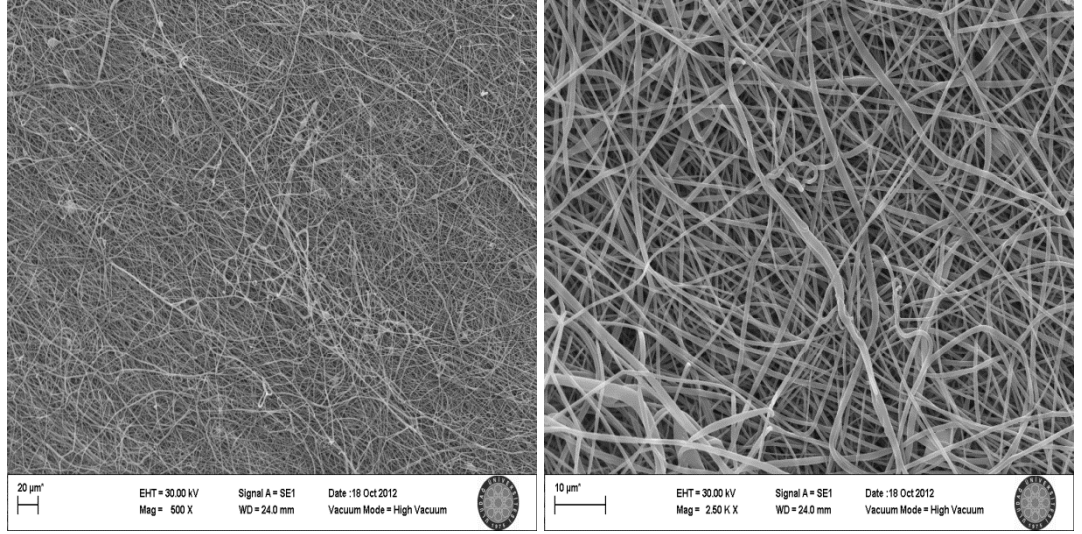
Çizelge 4.19’da modifiye edilen yüzeylerin mekanik analizlerinin sonuçları verilmiştir. Analizler sonunda NaOH modifikasyonu sonrası yüzeylerin modül değerlerinde bir miktar düşüş görülmüştür. Plazma işlemi gören yüzeylerin mekanik özelliklerinde beklendiği üzere, önemli bir değişiklik görülmemiştir.

Çizelge 4.19. Modifiye edilen yüzeylerin mekanik analiz verileri

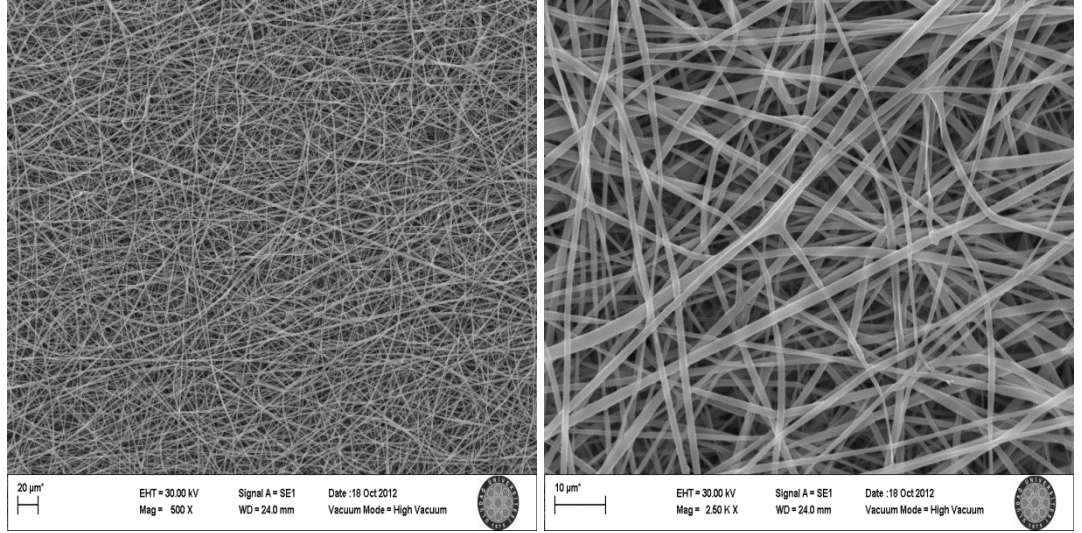
Malzeme	Kopma uzaması (%)	Modül (MPa)	Dayanım (MPa)
%10 PET	101,380	47,390	2,305
%10 PET-NaOH	32,867	106,66	2,322
%10 PET-Argon plazma	87,353	43,660	2,223
%10 PET-Oksijen plazma	143,883	42,965	2,440
%15 PET	111,900	199,100	3,797
%15 PET-NaOH	57,703	141,667	3,376
%15 PET-Argon plazma	138,667	100,553	3,511
%15 PET-Oksijen plazma	146,600	141,200	3,620

4.4.3. Soya katkılı pet nanoliflerin karakterizasyon sonuçları

Literatürde yüzeyler üzerine protein kaplamasının yüzey üzerindeki hücre tutunma ve çoğalmasını arttırdığı belirtilmiştir. Bu bilgilerden yola çıkılarak ağırlıkça %15 oranında PET içeren çözeltilere, farklı miktarlarda soya proteini eklenerek soya/PET karışımı nanolifli yüzeyler elektro çekim yöntemi ile elde edilmiştir. Bu yüzeyler SEM analizleri ile incelendiğinde (Şekil 4.83-4.84), artan soya proteini miktarı ile daha kalın fakat lif çap dağılımının lif eksenini boyunca daha üniform olduğu yapılar elde edilmiştir (Çizelge 4.20).



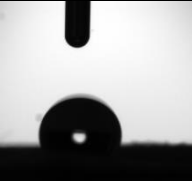
Şekil 4.83. P14 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri



Şekil 4.84. P15 kodlu yüzeylerin SEM görüntüleri

SEM analizlerinden sonra, farklı ağırlıklarda soya proteini içeren yüzeylerin temas açıları ölçülmüştür (Çizelge 4.20). Ölçümler sonucunda artan soya proteini miktarının yüzey temas açılarında düşüşe neden olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni yüzeydeki suyu seven amino grup miktarının fazla olmasıdır.

Çizelge 4.20. Soya katkılı PET nanolifli yüzeylerin temas açısı değerleri

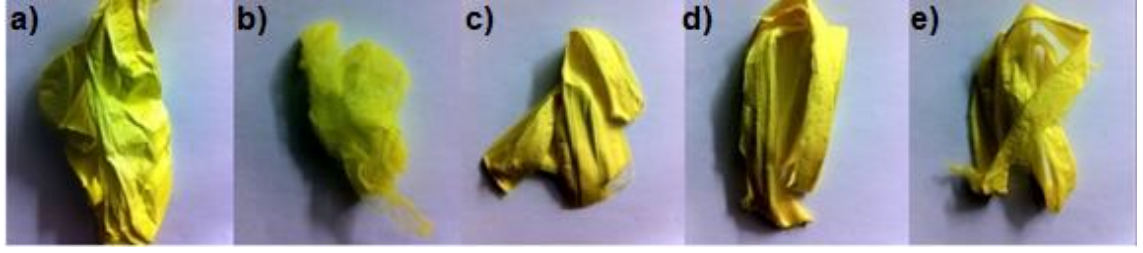
Numune Kodu	Malzeme	Çap (µm)	%CV (çap)	Ort. temas açıları (°)	%CV (temas açısı)
 P14	%15 PET/soya (0,15 gr)	0,90	30,09	129,14	0,83
 P15	%15 PET/soya(2 gr)	1,58	22,68	79,77	5,61

4.4.4. Vitamin katkılı pet nanoliflerin karakterizasyon sonuçları

Bu çalışmada, PET nanolifli yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalmasını arttırmak amacı ile yapılan modifikasyon işlemlerinden birisi de vitamin B2 (Riboflavin) katkılı PET nanolifli yüzeylerin üretimidir. Ancak PET lifleri bünyesine su almadığı için, lif içerisine hapsolan vitamin ortama geçememektedir. Bu nedenle yüzeylerin gözenekli hale getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla elektro çekim için hazırlanan polimer çözeltisi içine farklı molekül büyüklüklerinde ve farklı molekül ağırlıklarında porojen madde eklenmiştir. Oluşturulan yüzeylerin kodları ve üretim parametreleri Çizelge 4.21’de, kamera ile çekilen görüntüleri Şekil 4.85’te verilmiştir. Bu kapsamda oluşturulan yüzeyler Chicago’da bulunan University of Illinois at Chicago, Makine Mühendisliği Laboratuvarları’nda bulunan elektro çekim düzeneğinde üretilmiştir. Düzenek, iğne, besleme pompası, toplama yüzeyi ve yüksek voltaj kaynağından oluşmaktadır. Toplama yüzeyi olarak döner disk kullanılmıştır.

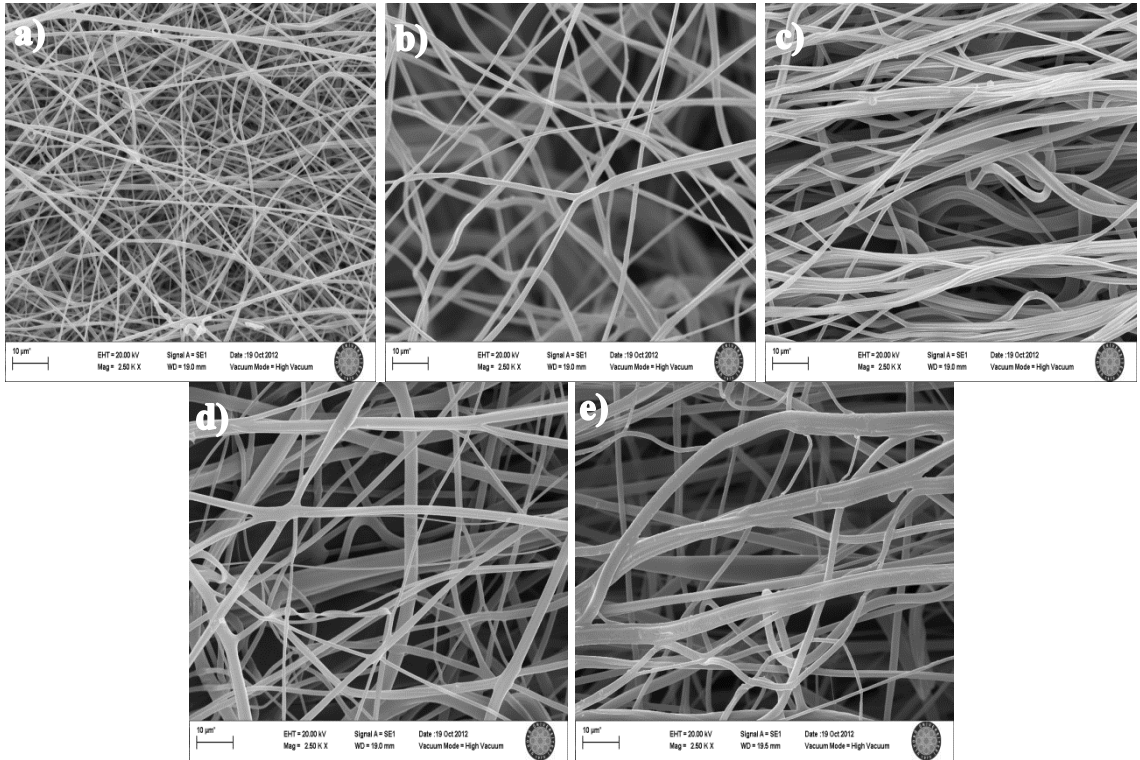
Çizelge 4.21. Katkılı nanoliflerin üretim parametreleri

Numune Kodu	Malzeme
P21	%15 PET/vitamin
P22	%15 PET/ vitamin/ PEG
P23	%15 PET/ vitamin/ PEG/PEO(200)
P24	%15 PET/ vitamin/ PEG/PEO(400)
P25	%15 PET/ vitamin/ PEG/PEO(600)



Şekil 4.85. Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin görüntüleri, a) P21, b) P22, c) P23, d) P24, e) P25 kodlu yüzeyler

Şekil 4.86 farklı molekül ağırlıklarında porojen maddeler içeren Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin SEM görüntüsünü göstermektedir. Görüntüler incelendiğinde, porojen madde katkısının olmadığı sadece vitamin katkısı ile üretilen PET yüzeylerin (Şekil 4.86a), daha düzgün yüzeyler oluşturduğu görülmüştür. Bu yüzeylerde lif eksenı boyunca lif çapları daha ünıfırmıdır. Porojen madde eklenmesi ile birlikte, yüzey içerisindeki liflerin ünıfırmıtesi bozulmuştur. Ayrıca sadece vitamin katkısı ile üretilen PET yüzeyler daha ince çaplı liflerden oluşmaktadır (Çizelge 4.22). Porojen madde katkısı lif çaplarında artışa neden olmuştur. Artan molekül ağırlıklarındaki porojen madde katkısı ile lif çaplarında artış olmuştur (Çizelge 4.22).



Şekil 4.86. Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri, a) P21, b) P22, c) P23, d) P24, e) P25 kodlu yüzeyler (skala 10µm'yi göstermektedir.)

Çizelge 4.22’de Riboflavin katkılı numunelerin ortalama temas açısı değerleri de verilmektedir. Riboflavin suda az çözünen bir vitamin çeşididir. Bu nedenle vitamin katkısı temas açılarında önemli bir düşüşe neden olmuştur. Elektro çekim çözeltisine eklenen porojen maddeler de suda çözündüğü için, porojen madde ilavesi temas açılarındaki düşüşe katkıda bulunmuştur.

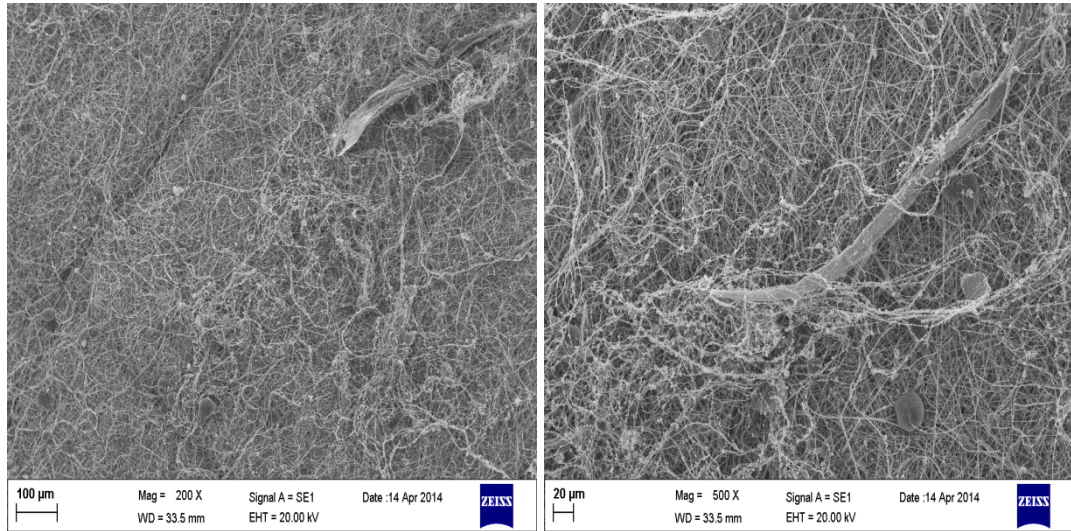
Çizelge 4.22. Riboflavin katkılı numunelerin çap ve temas açısı değerleri

Görüntü	Numune Kodu	Çap (μm)	%CV (çap)	Ort, temas açıları (°)	%CV (temas açısı)
	P21	0,68	34,52	133,68	1,10
	P22	1,30	30,12	75,08	19,23
	P23	0,94	30,17	124,17	22,57
	P24	1,54	62,75	78,00	49,01
	P25	1,68	47,68	50,60	56,30

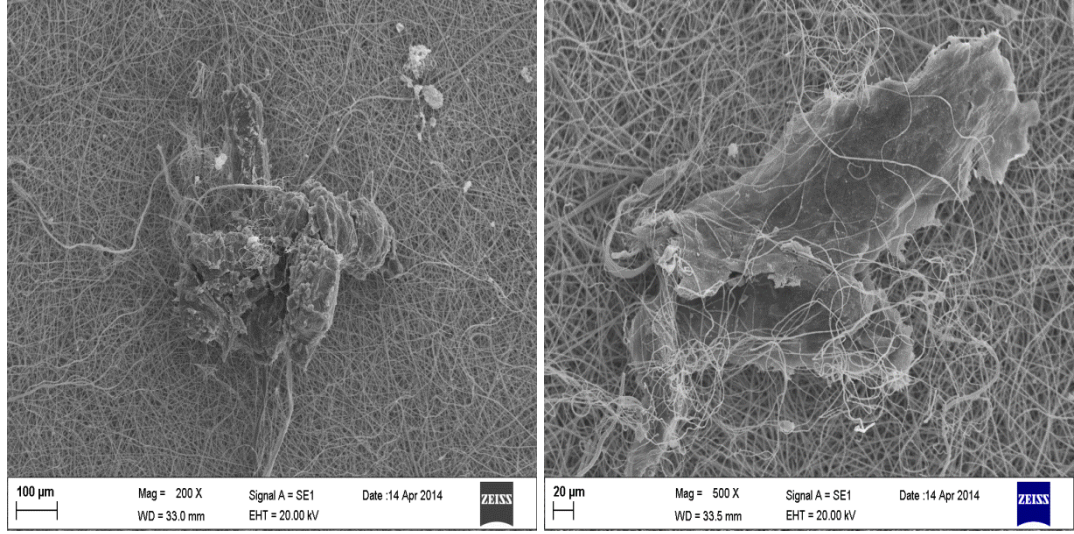
4.5. Modifikasyon Sonrası Hücre Tutunması ve Çoğalması Sonuçları

4.5.1. NaOH uygulaması sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları

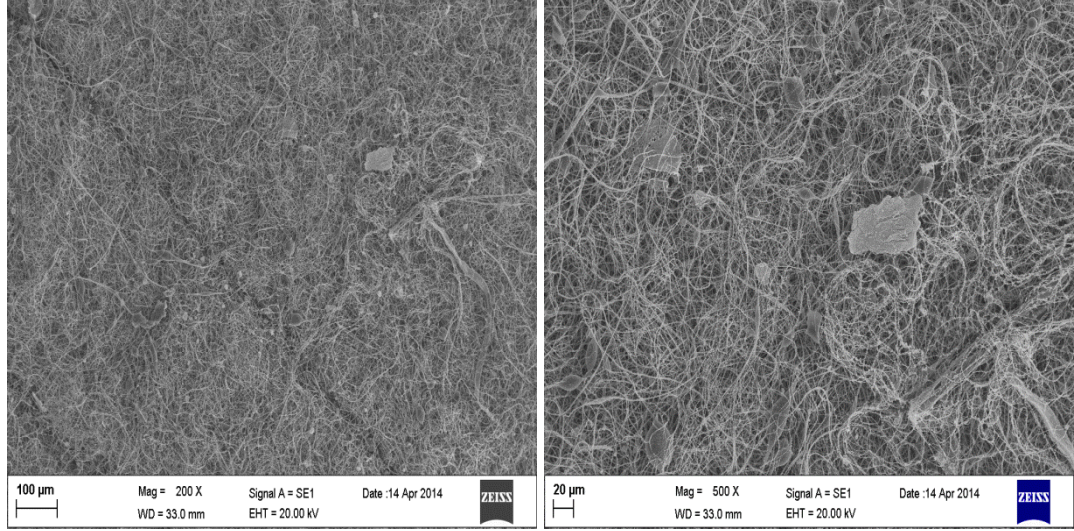
P6 ve P10 kodlu yüzeyler, NaOH ile modifiye edildikten sonra yüzeylerin üzerine fibroblast ve keratinosit hücrelerinin ekimi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.85-4.88 NaOH ile modifiye edilen yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalmasını göstermektedir. Görüntüler incelendiğinde, genel olarak yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasının yer yer gerçekleştiği fakat yüzeylerin bütününe kaplamadığı görülmüştür. Bunun nedeninin NaOH ile işlem sonrasında, yüzeylerden NaOH fazlasının tamamiyle uzaklaştırılamaması ve kalan NaOH fazlasının toksik etki yaratarak hücre çoğalmasını bloke ettiği düşünülmektedir.



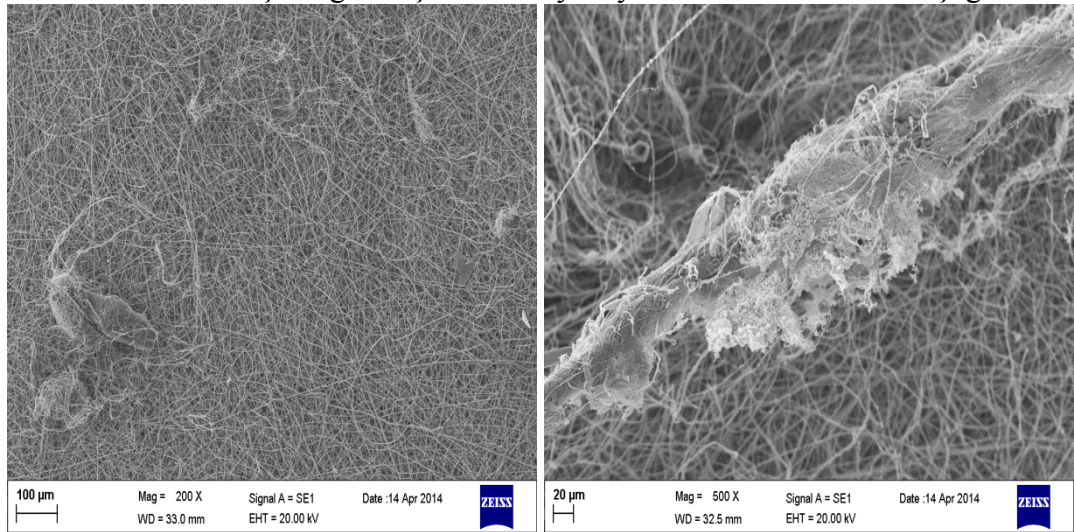
Şekil 4.87. NaOH ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



Şekil 4.88. NaOH ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



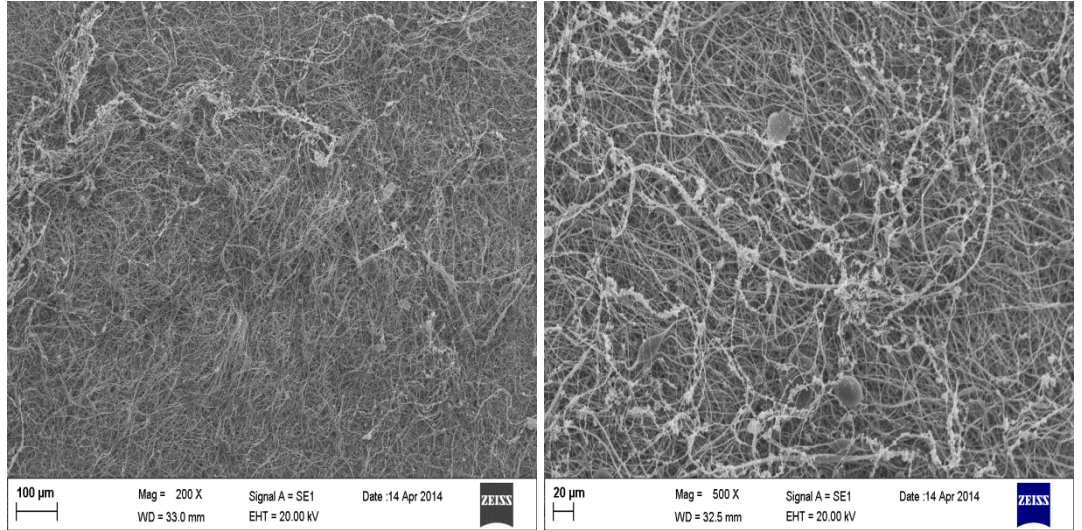
Şekil 4.89. NaOH ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması



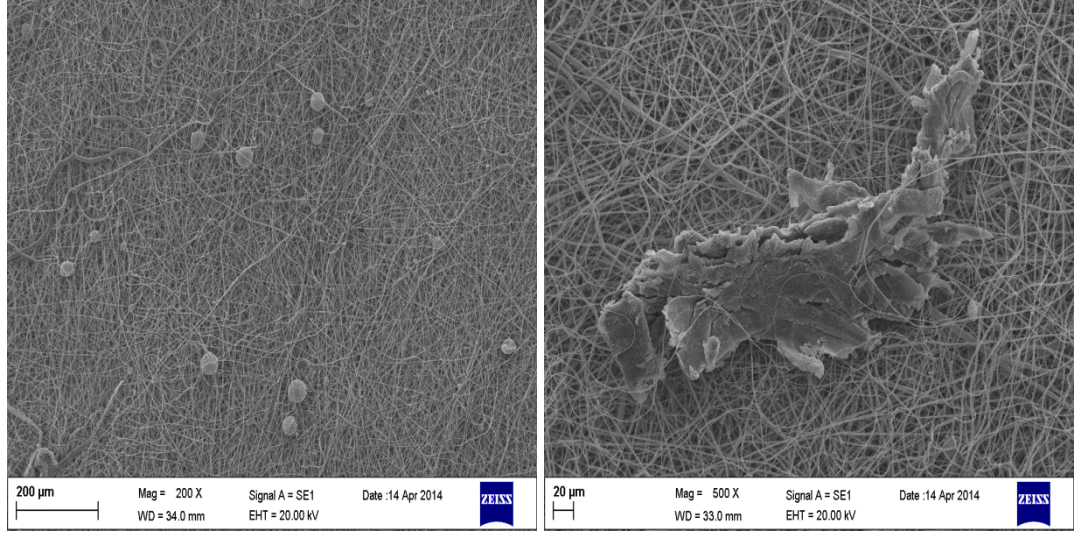
Şekil 4.90. NaOH ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması

4.5.2. Argon plazma sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları

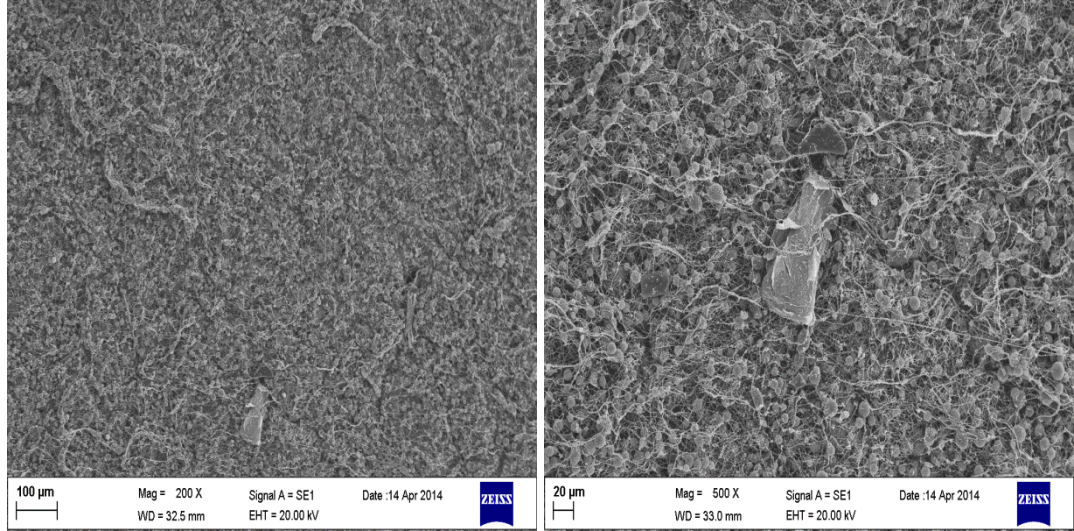
Argon plazma işlemi ile P6 ve P10 kodlu yüzeylerin modifikasyonu sonrası, yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücrelerinin ekimi gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.89-4.92 hücre ekimi sonrası yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalması sonuçlarını göstermektedir. Görüntüler incelendiğinde P6 ve P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast hücrelerinin yer yer büyüdüğü fakat yüzeyleri tamamen kaplamadığı görülmüştür (Şekil 4.89-4.90). Hücre büyümesi nanolifli yüzeylerin topografisinden etkilendiği gibi hücre tipinden de etkilenebilir. Fibroblast çoğalmasının sınırlı alanda olmasının hücre tipi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Argon plazma işlemi ile nanolif yüzeyleri üzerinde nano boyutlarda aşınma oluşmuştur ve böylece hücrelerin tutunabileceği yüzey alanı artmıştır. Yüzeyler üzerindeki keratinosit hücrelerinin tutunma ve çoğalması incelendiğinde argon plazma ile işlem görmüş olan ve ince liflerden oluşan P6 kodlu yüzeylerde keratinosit hücrelerinin tutunduğu ve yüzeyi kapladıkları gözlenmiştir. P10 kodlu yüzeyler ise daha kalın liflerden oluşmaktadır ve bu yüzeylerde modifiye edilmemiş yüzeylerdeki hücre tutunma ve çoğalma davranışına benzer olarak hücre çoğalması yeterince gözlenmemiştir.



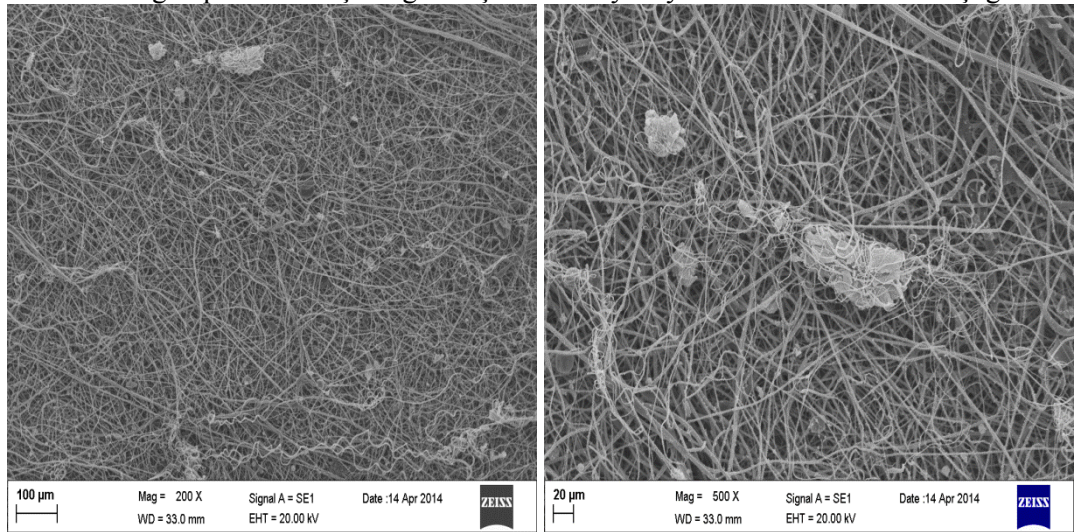
Şekil 4.91. Argon plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



Şekil 4.92. Argon plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



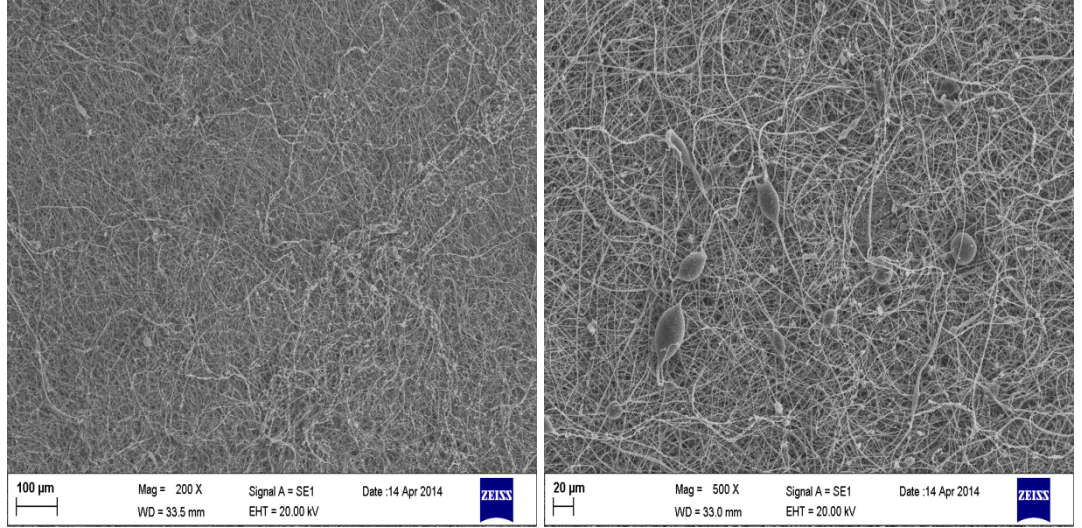
Şekil 4.93. Argon plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması



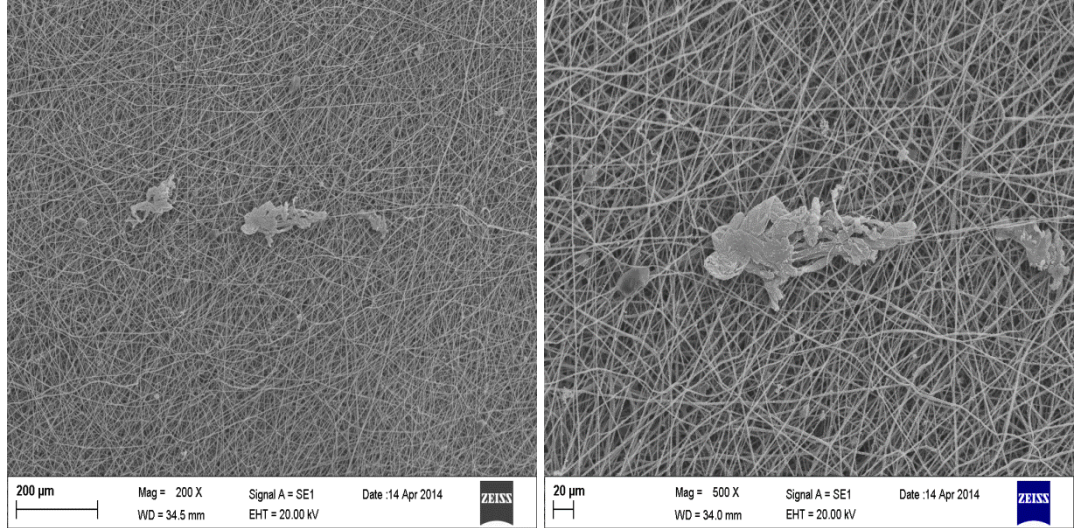
Şekil 4.94. Argon plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması

4.5.3. Oksijen plazma sonrası hücre tutunması ve çoğalması sonuçları

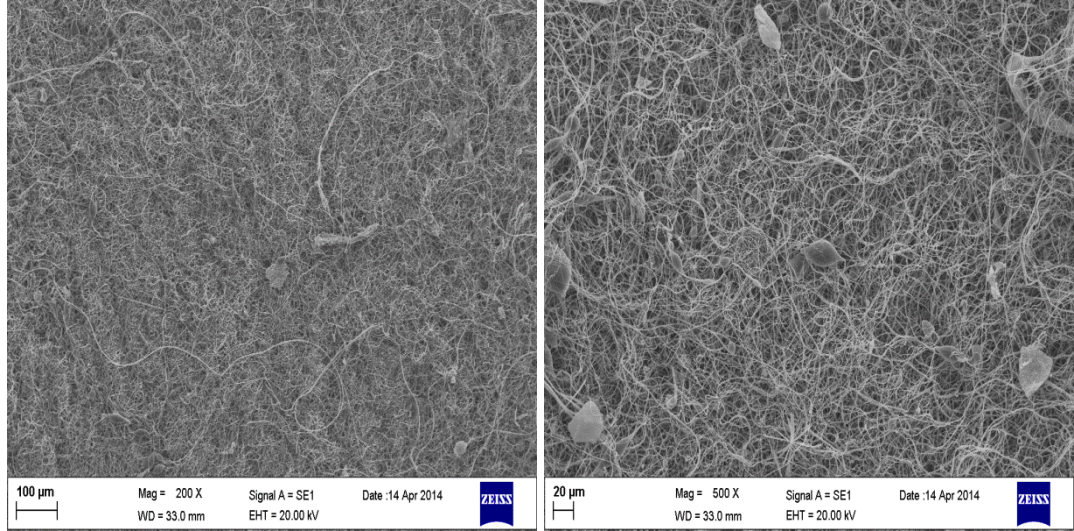
Şekil 4.93-4.96 Oksijen plazma ile modifiye edilen P6 ve P10 kodlu yüzeyler üzerindeki fibroblast ve keratinosit hücrelerinin tutunma ve çoğalma davranışını göstermektedir. Görüntüler incelendiğinde, genel olarak yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasının yer yer gerçekleştiği fakat yüzeylerin bütününe kaplamadığı görülmüştür.



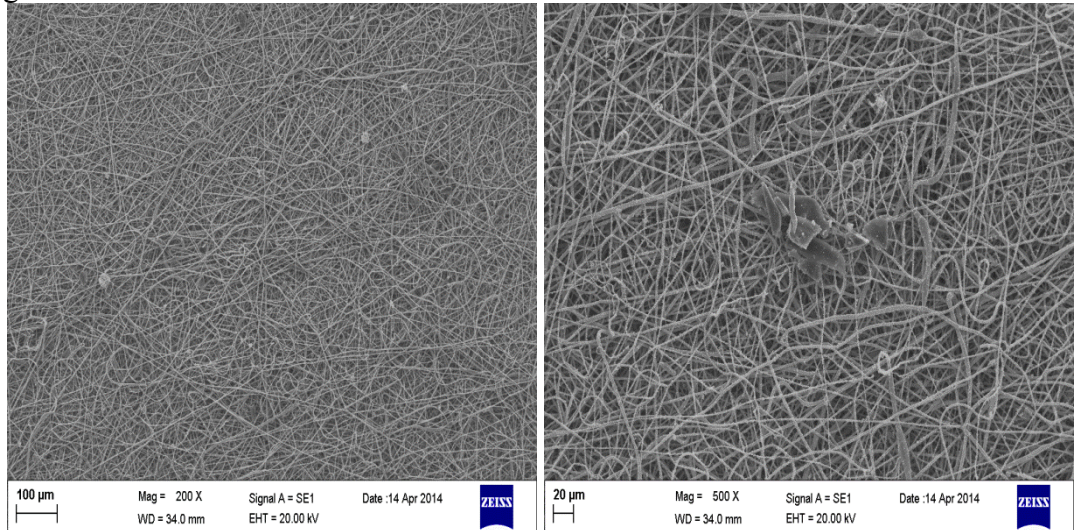
Şekil 4.95. Oksijen plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



Şekil 4.96. Oksijen plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde fibroblast çoğalması



Şekil 4.97. Oksijen plazma ile işlem görmüş P6 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması

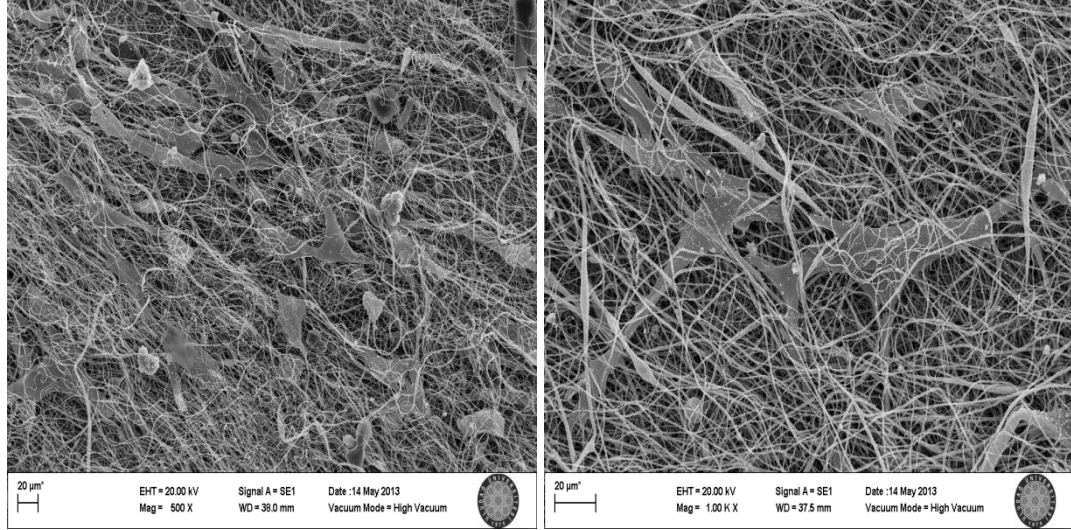


Şekil 4.98. Oksijen plazma ile işlem görmüş P10 kodlu yüzeyler üzerinde keratinosit çoğalması

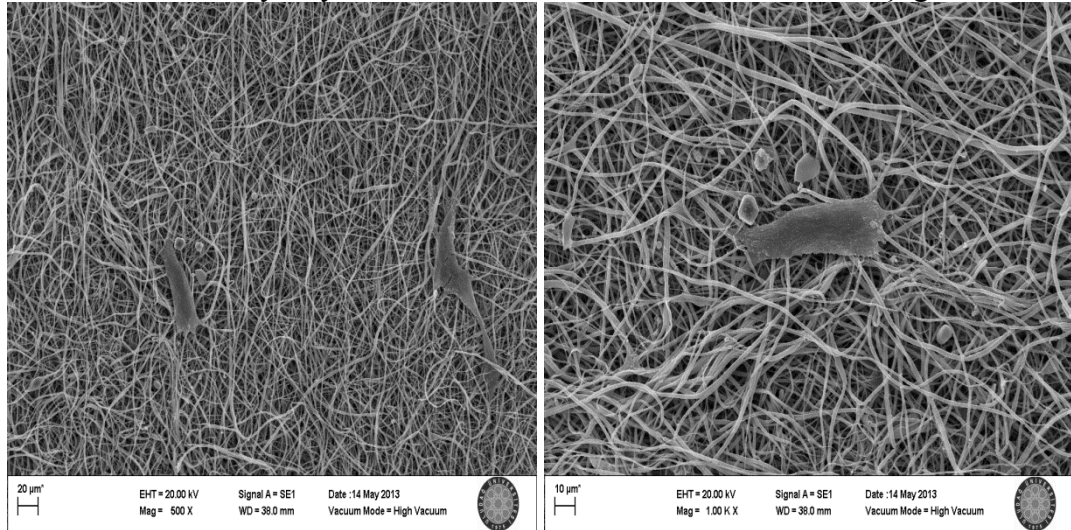
4.5.4. Soya katkılı PET yüzeyler üzerine hücre tutunması ve çoğalması sonuçları

P14 ve P15 kodlu yüzeyler, PET çözeltisi içine soya katkısı ile üretilen yüzeylerdir. Düşük miktarda soya proteini içeren nanolifli yüzeyler üzerindeki hücre tutunması çoğalmasının, yüksek miktarda soya proteini içeren nanolifli yüzeylere göre daha iyi olduğu görülmüştür (Şekil 4.97-4.98). Herhangi bir katkı maddesi içermeyen %15 konsantrasyonlu PET yüzeyler ile karşılaştırıldığında, düşük miktarda soya katkısının hücre tutunması ve çoğalması üzerine olumlu etkisi vardır. Yüksek miktarda soya

katkısının, optimum katkı oranının üzerinde olduğu ve hücre çoğalması üzerinde olumsuz etkisi olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.99. P14 kodlu yüzeyler üzerine fibroblast hücresi tutunması ve çoğalması

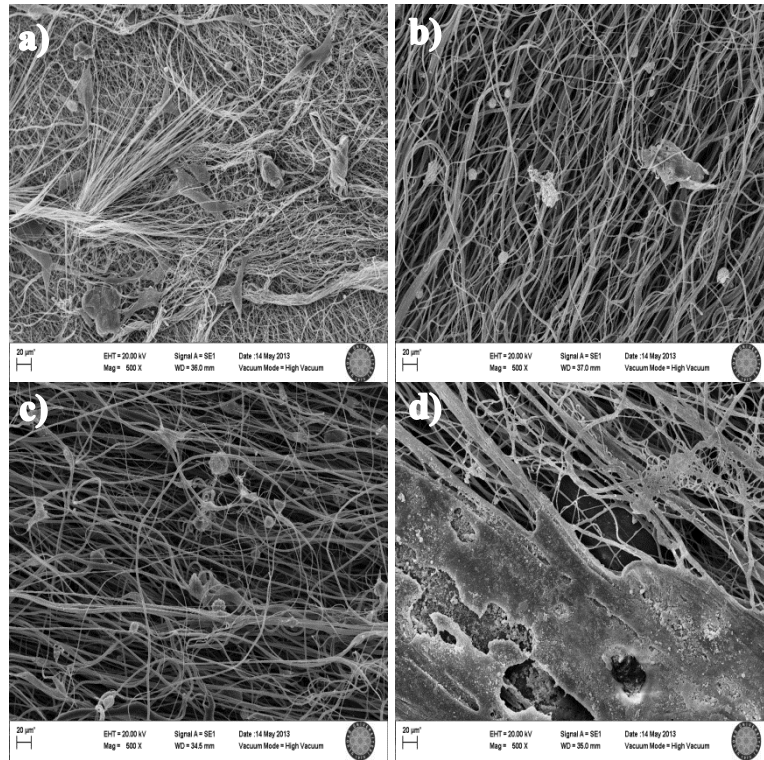


Şekil 4.100. P15 kodlu yüzeyler üzerine fibroblast hücresi tutunması ve çoğalması

4.5.5. Vitamin yüklü PET yüzeyler üzerine hücre tutunması ve çoğalması sonuçları

Şekil 4.101’de University of Illinois at Chicago’da oluşturulan vitamin katkılı PET nanolifli üzerinde fibroblast hücrelerinin tutunma ve çoğalma davranışları gösterilmiştir. %10 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen liflerde başarılı sonuçlar elde edilmesine rağmen %15 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerin mekanik performansları daha iyi olduğu için, vitamin katkısı çalışmaları %15 konsantrasyon PET

konsantrasyonu ile yapılmıştır. P21 kodlu yüzeyler üzerinde hücre tutunması ve çoğalmasının yer yer gerçekleştiği görülmüştür (Şekil 4.101a). Bu yüzeylerde porojen madde olmadığı için vitamin, PET içerisinde hapsolmuş haldedir ve çok az bir salınım göstermektedir. P23, P24 ve P25 kodlu yüzeylerde PET çözeltisi içine porojen maddeler katılmış ve vitaminin kontrollü salınımı gerçekleştirilmiştir. P23 kodlu yüzeyde hücreler ekildikleri gibi kalmış, herhangi bir büyüme göstermemişlerdir (Şekil 4.101b). Bu durum, vitaminin ani salınım değerinin yüksek olması ile açıklanmaktadır. Alkol ile sterilize edilen ve besi yerinde bekletilen yüzeylerden ani vitamin salınımı gerçekleşmiş ve bu durum hücre tutunması ve çoğalmasını olumsuz etkilemiştir. P24 kodlu yüzeylerde porojen madde eklenmesi ile vitaminin ani salınımı kontrollü yapılmaya çalışılmıştır. Bu yüzeylerde hücrelerin büyümesi başlamış, hücreler yüzeye yapışmış fakat büyüme daha sonra bloke olmuştur (Şekil 4.101c). P25 kodlu yüzeylerde ise farklı porojen eklenmesi ile ani salınım kontrol altına alınmıştır. Şekil 4.101d'de görüldüğü üzere, bu yüzeylerde hücre çoğalması gerçekleşmiş, hücreler bütün yüzeyi kaplamışlardır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, vitamin katkısının hücre büyümesi üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüştür.



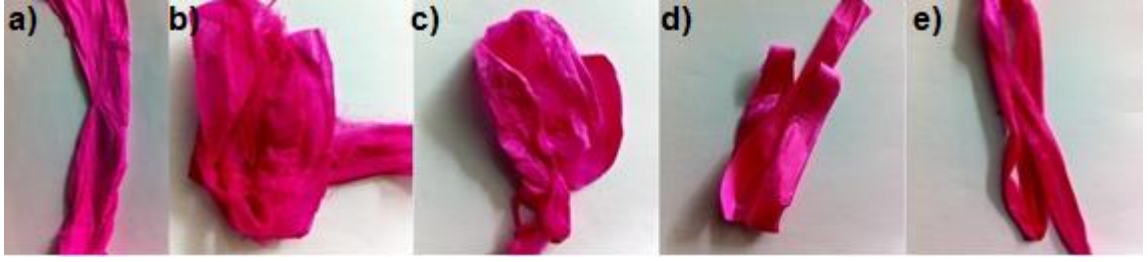
Şekil 4.101. Vitamin katkılı yüzeyler üzerine fibroblast hücre tutunması ve çoğalması, a) P21, b) P23, c) P24, d) P25 kodlu yüzeyler (skala 20µm'yi göstermektedir.)

4.6. Boyarmadde Yüklü Nanoliflerin Karakterizasyonu

Bu tez çalışmasının ikinci adımı nanolifli yüzeylerin ilaç salınım sistemi olarak kullanılabilirliklerinin incelenmesidir. Bu amaçla, polietilen glikol (PEG) ve polietilen oksit (PEO) gibi farklı molekül ağırlıklarında porojen maddeler kullanılarak PET nanoliflerden floresan boyarmadde veya Vitamin B2 (Riboflavin)’nin kontrollü salınımı gerçekleştirilmiştir. Ancak PET lifleri bünyesine su almadığı için, lif içerisine hapsolan boyarmadde/vitamin ortama geçememektedir. Bu nedenle yüzeylerin gözenekli hale getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla elektro çekim için hazırlanan polimer çözeltisi içine farklı molekül büyüklüklerinde ve farklı molekül ağırlıklarında porojen madde eklenmiştir. İlaç taşıma sistemi olarak kullanılmak üzere oluşturulan yüzeyler Chicago’da bulunan University of Illinois at Chicago, Makine Mühendisliği Laboratuvarları’nda bulunan elektro çekim düzeneğinde üretilmiştir. Düzenek, iğne, besleme pompası, toplama yüzeyi ve yüksek voltaj kaynağından oluşmaktadır. Toplama yüzeyi olarak döner disk kullanılmıştır. Oluşturulan yüzeylerin kodları ve üretim parametreleri Çizelge 4.23’de, kamera ile çekilen görüntüleri Şekil 4.102’de verilmiştir. Riboflavin ve porojen katkılı PET nanoliflerin SEM analizi, çap analizleri ve temas açısı analiz sonuçları Bölüm 4.4.4 “Vitamin Katkılı PET Nanoliflerin Karakterizasyon Sonuçları” bölümünde verilmiştir.

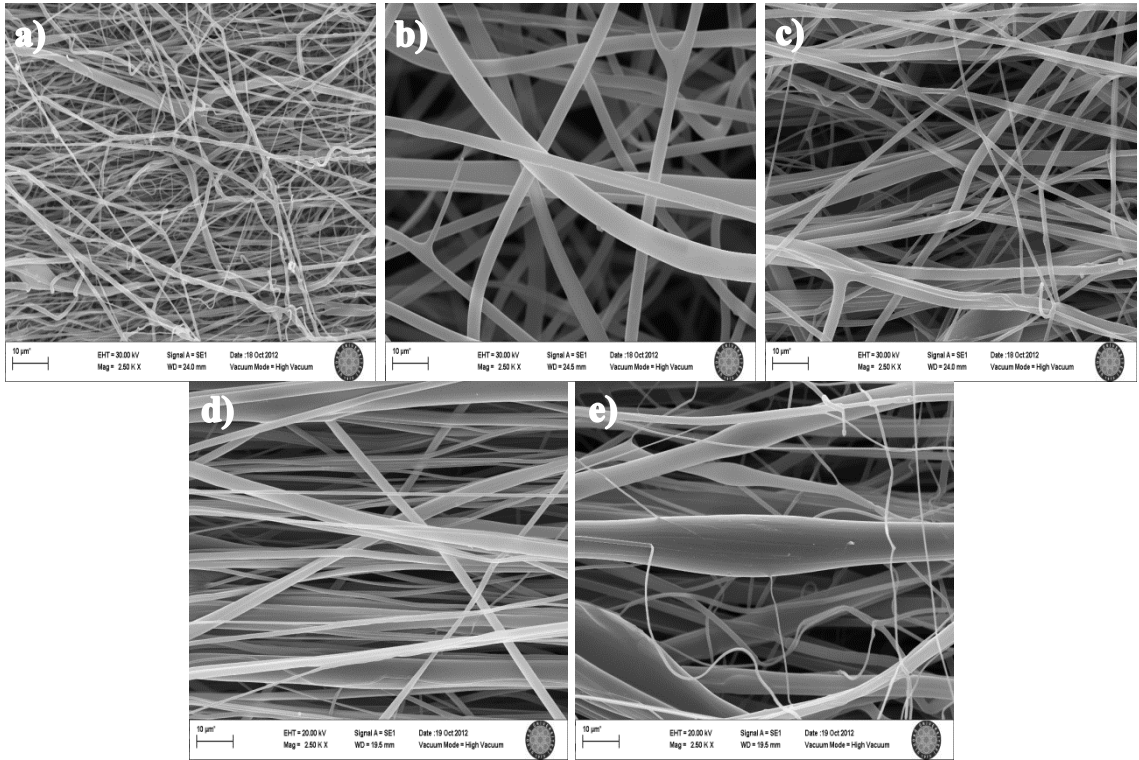
Çizelge 4.23. Katkılı nanoliflerin üretim parametreleri

Numune Kodu	Malzeme
P16	%15 PET/boyarmadde
P17	%15 PET/ boyarmadde/ PEG
P18	%15 PET/ boyarmadde/ PEG/PEO(200)
P19	%15 PET/ boyarmadde/ PEG/PEO(400)
P20	%15 PET/ boyarmadde/ PEG/PEO(600)



Şekil 4.102. Rhodamin B katkılı PET nanolifli yüzeylerin görüntüleri, a) P16, b) P17, c) P18, d) P19, e) P20 kodlu yüzeyler

Boyarmadde katkılı PET nanoliflerin SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 4.103), bütün yüzeyler için, lif çaplarının lif eksenı boyunca düzgün olmadığı görülmektedir. Çizelge 4.24'te ortalama lif çapları ve çap dağılımları verilmiştir. En düşük lif çapının herhangi bir porojen madde katkısı olmayan sadece Rhodamin B katkısı içeren PET nanoliflerde olduğu görülmektedir. Porojen madde katkısı ile lif çaplarında artış gözlenmiştir.

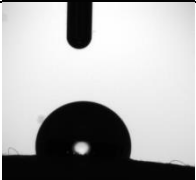


Şekil 4.103. Rhodamin B içeren soldan sağa sırasıyla, a) P16, b) P17, c) P18, d) P19, e) P20 kodlu yüzeyler (skala 10µm'yi göstermektedir.)

Elektro çekim çözeltisine eklenen Rhodamin B ve porojen maddeler suda çözünür özelliğe sahiptir. Bu yüzeyler üzerindeki temas açısı değerleri Çizelge 4.24'te verilmiştir. Porojen madde katkısı temas açılarında düşüşe neden olmaktadır. Özellikle

porojen madde molekül ağırlığının en büyük olduğu P20 kodlu yüzeylerin temas açılarında büyük düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.24. Rhodamin B katkılı numunelerin çap ve temas açısı değerleri

Görüntü	Numune Kodu	Çap (μm)	%CV (çap)	Ort. temas açıları (°)	%CV (temas açısı)
	P16	0,64	33,91	130,75	2,59
	P17	3,6	29,16	105,77	3,57
	P18	1,12	28,17	108,48	7,98
	P19	1,36	42,05	98,41	8,11
	P20	3,64	70,54	88,53	27,73

4.7. Nanoliflerden İlaç Salınım Değerlendirmesi

Polimerik nanolifler gibi yüksek yüzey alanı/hacim özellikleri gösteren biyomalzemeler, ilaç taşıma sistemi çalışmalarında önemli rol oynamaktadır. Vücut içinde hedef organ veya hücreye, ilacın etkin olarak iletimini sağladıkları için araştırmacıların ilgisini çekmektedirler (Gombotz ve Pettit 1995). Ayrıca, birçok durumda, ilaç taşıma sistemlerinin, yaralı veya görevini yerine getiremeyen dokuya, doku çatısı ile implant edilmesi gerekmektedir. Genel olarak, daha küçük boyutlardaki ilaç taşıyıcılar, vücuda

iletileen ilaç taşınım oranını arttırır ve sonuç olarak hedef organın ilaç absorbansını olumlu yönde etkiler (Ma ve ark. 2005).

Genel olarak, ilaç taşıma sistemi olarak kullanılmak üzere polimerik nanolif üretirken, ilaç polimer çözeltisine önceden karıştırılır. Daha sonra lif oluşturulur. Bu sırada ilaç nanopartikülleri yüzeye çıkabilir. Bazı durumlarda, ilaç çözelti içinde disperse olur. Ayrıca ilacı nanoliflerin içine hapsetmek de mümkündür (Cancedda ve ark. 2003).

Kontrollü ilaç taşınımının amacı, salınım profilini optimize etmek, belirli hücre dokuları hedefleyerek, yan etkileri azaltmak ve vücut içinde ilaç uyumluluğunu arttırmaktır (Burgess ve ark. 1987, Li ve ark. 2003). Hedefli ilaç taşınımları özellikle anti kanser ajanlar gibi toksik ilaçlar ile çalışırken çok avantajlıdır (Fung ve ark. 1997).

Kontrollü ilaç salınımı için de literatürde pek çok model sunulmuştur (Narasimhan 2001, Srikar ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009). Genel olarak, ilaç taşınımı difüzyon, desorpsiyon, kimyasal reaksiyon (veya çözücü aktivasyonu) ve iletim ile gerçekleşmektedir (Langer ve Peppas 2003). Biyolojik olarak bozunmayan polimerlerden ilaç salınımı söz konusu olduğunda, baskın mekanizma desorpsiyondur (Srikar ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009). Biyobozunur polimerler için söz konusu olan ilaç salınım mekanizmaları ise, difüzyon, ozmos ve polimer degradasyonudur (Anderson ve Shive 1997).

Bazı durumlarda, ilaç salınımını arttırmak için, materyal suya konuğunda yapıdan uzaklaşabilen, porojen maddeler kullanılabilir. Porojen olarak $M_w = 10kDa$ olan Poli(etilen glikol) (PEG), lif oluşturabilen polimerler ile karıştırılarak kullanılabilir (Liao ve ark. 2006). Porojen madde kullanılmadan üretilen ve biyobozunur olmayan nanoliflerin ilaç salınım oranları incelendiğinde, salınım oranlarının %100'n çok altında olduğu görülmüştür. Bu durum, desorpsiyon limitli salınım mekanizması ile açıklanır.

İlaç taşıma sistemlerinde ve doku mühendisliği uygulamalarında malzeme seçimi kritik rol oynamaktadır (Pillali ve Panchagnula 2001). Uygulama alanına bağlı olarak,

biyobozunur veya biyobozunmaz polimerler kullanılabilir. Literatürde ve uygulamalarda biyobozunur polimerler çoğunlukla kullanılsa da, bazı durumlar biyolojik olarak bozunmayan polimerlerin kullanımını gerektirir. Örneğin, kan damarı, kemik, deri, yumuşak doku onarım veya değişiminde, mekanik özellikleri iyi olan, stabil ve biyoyumlu malzeme seçilmesi gerekmektedir ve biyolojik olarak bozunmayan polimerlerin kullanımı uygundur. Bu nedenle, pahalı olmayan ve biyoyumlu PET kullanım alanı bulmaktadır.

PET, iyi mekaniksel ve termal özellikler gösteren yarı aromatik bir polyesterdir. Lif oluşturabilmesi nedeniyle tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. PET polimerinden üretilen lifler biyolojik olarak bozunmazdır, toksik değildir, kanserojen değildir ve bu nedenle medikal alanda ameliyat ipliği, kan damarı gibi kullanımları vardır (Ma ve ark. 2005, Veleirinho ve ark. 2008, Duzyer ve ark. 2011)

Tez çalışmasının ikinci kısmında, iyi mekaniksel özelliklere sahip olması, toksik ve kanserojen olmaması nedeniyle, biyolojik olarak bozunmayan PET polimerinden model ilaç yüklü nanolifler üretilmiş ve salınım mekanizmaları incelenmiştir.

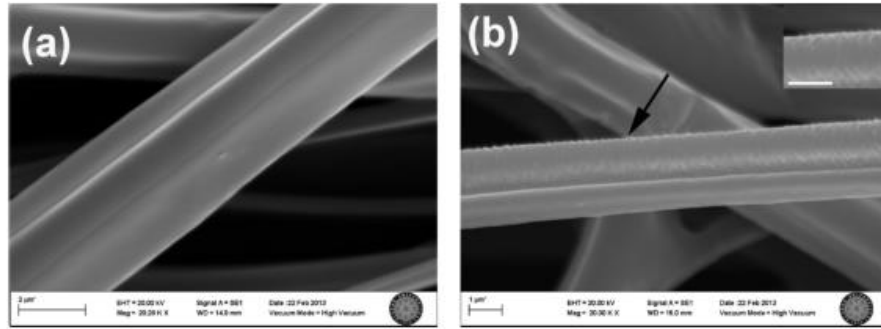
PET hidrofobik ve serbest yüzey enerjisi çok düşük olan bir polimerdir. Bu nedenle, salınım oranlarını arttırmak amacı ile PET çözeltisine porojen maddeler (PEG ve farklı molekül ağırlıklarında PEO) eklenmiştir.

PET nanolifli yüzeyler, oda sıcaklığında elektro çekim yoluyla üretilbildikleri için, ilaç taşıma sistemleri için ilgi çekici duruma gelmiştir. Pratikte, kontrollü salınımı istenen ilaçlar, konak polimerin çözücüsünde kısmen veya tamamen çözünmektedir.

Tez çalışmasında, PET nanolifli yüzeyler, floresan özellikte boya olan Rhodamin B ve floresan özellikte bir vitamin olan Riboflavin (vitamin B2) katkılı olarak üretilmişlerdir. Çözücüde ve sulu ortamda az çözünen Riboflavin, model ilaç olarak kullanılmıştır. Ayrıca, PEG ve farklı molekül ağırlıklarında PEO porojen maddeleri çözeltiye eklenerek, salınım oranları arttırılmaya ve kontrollü salınım eldesine çalışılmıştır.

Rhodamin B ve Riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri Şekil 4.86 ve 4.103'te verilmiştir.

Şekil 4.104'te Rhodamin B ve Riboflavin katkılı nanoliflerin suda bekletildikten sonraki SEM görüntüleri verilmektedir. Şekil 4.104a'da görüldüğü üzere, P16 kodlu yüzeylerde, suda bekledikten sonra bile herhangi bir morfolojik görülmemektedir ve lifler düz olarak kalmıştır. Fakat P21 kodlu yüzeylerde, lif yüzeylerinde yivler oluşmuştur. Riboflavin lif üretiminde kullanılan çözücünde kısmen çözünürdür ve karıştırılan Riboflavin liflerde yivler oluşturmaktadır. Riboflavin'in salınımı yivlerin olduğu yerlerde mikroçatlaklar oluşturarak, bu yerlerin daha belirgin olmasını sağlamaktadır (Şekil 4.104b). Bu yivlerin olması aynı zamanda ilaç salınım profilini de etkilemektedir. P22-P25 kodlu yüzeylerde de benzer yivler oluşmuştur fakat bu yüzeylerdeki porojen katkısı nedeniyle yivlerin görünürlüğü bozulmuştur.

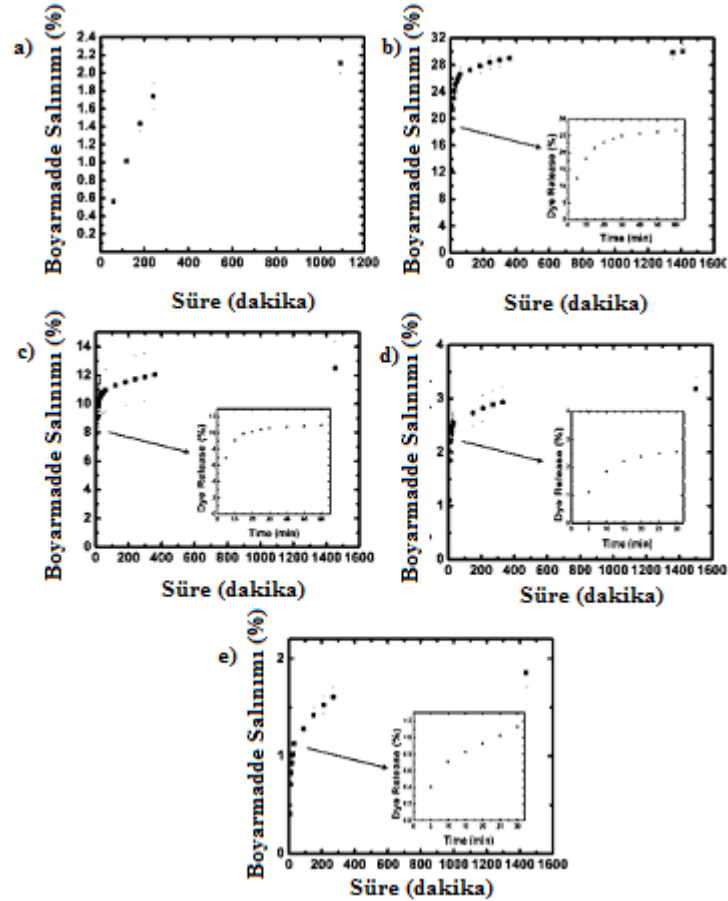


Şekil 4.104. Elektro çekim yöntemi ile üretilen yüzeylerin 24 saat suda bekletildikten sonraki SEM görüntüleri a) P16, b) P21 kodlu yüzeyler (sağ üst köşede büyütülmüş olan resimdeki skala 1µm'yi göstermektedir.)

Salınım deneyleri: Rhodamin B katkılı PET nanoliflerin (P16-P20) salınım kinetikleri Şekil 4.105'te ve salınımın doygunluğa ulaştığı değerler Çizelge 4.25'te verilmiştir. Değerler incelendiğinde, PET nanoliflere porojen madde olarak PEG eklenmesi (P17) ile boyarmadde salınımında çok fazla artışa neden olmuştur. İkinci bir porojen madde eklenmesi (PEO), PET/PEG nanolifli yüzeylerde salınım doygunluk değerinin azalmasına neden olmuştur. Daha yüksek molekül ağırlıklı PEO eklendiğinde doygunluk salınım oranları daha da düşmüştür.

Çizelge 4.25. Rhodamin B katkılı PET nanoliflerin doygunluk salınım oranları

Numune Kodu	Doygunluk salınımı (%)
P16	2,1±0,11
P17	30,07±1,03
P18	12,50±1,87
P19	3,18±0,21
P20	1,85±0,15

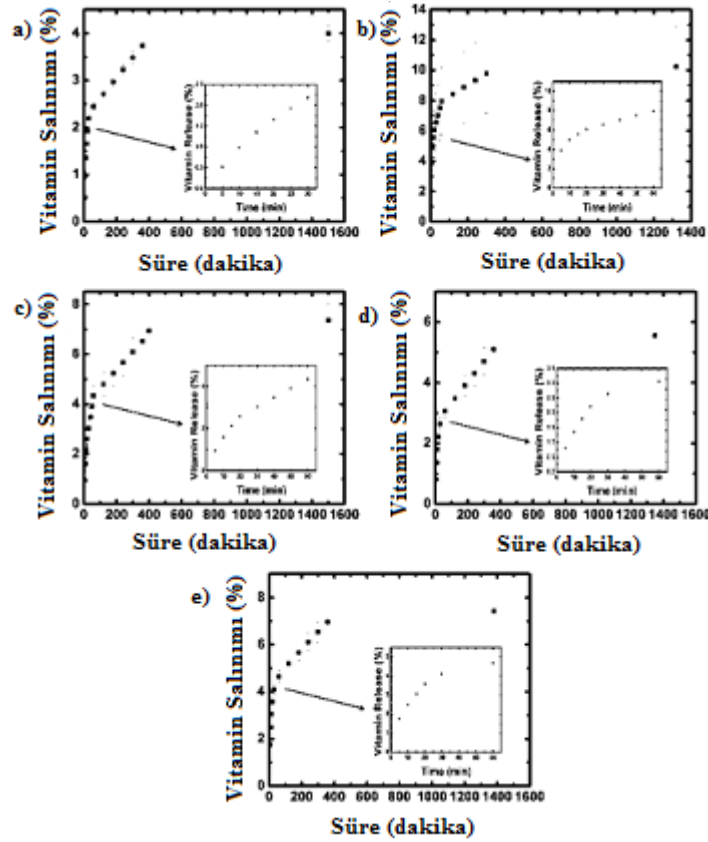


Şekil 4.105. Rhodamin B katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri a)P16, b)P17, c)P18, d)P19, e)P20 kodlu yüzeyler

PET ve PEO'nun porojen madde olarak kullanıldığı Riboflavin katkılı PET nanoliflerin (P21-P25) salınım grafikleri Şekil 4.106 ve Çizelge 4.26'da verilmiştir. Boyarmadde ile olan salınım çalışmalarında olduğu gibi PEG katkısı salınım değerlerinde artışa neden olmuştur. PEO katkısı ise genel olarak salınım değerlerinde bir düşüşe neden olmuştur.

Çizelge 4.26. Riboflavin katkılı PET nanoliflerin doygunluk salınım oranları

Numune Kodu	Doygunluk salınımı (%)
P21	3,99±0,16
P22	10,23±2,66
P23	7,35±0,67
P24	5,55±0,53
P25	7,42±0,55



Şekil 4.106. Riboflavin katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri a)P21, b)P22, c)P23, d)P24, e)P25 kodlu yüzeyler

Teori ve deneysel çalışmanın karşılaştırılması: Nanoliflere gömülen ilaçlar, lifin içinde moleküler seviyede veya liflerin yüzeylerinde (silindirik dış yüzey, büyük boşlukların yüzeyleri ve dışarıya açılan gözeneklerden) disperse olabilir. Srikar ve arkadaşları (2008) çalışmalarında, biyolojik olarak bozunmayan nanoliflerde ilacın sadece su ile etkileşimde olan serbest yüzeylerden (silindirik dış yüzey ve dışarıya açılan gözeneklerden) salındığını ortaya koymuşlardır. Salınım da doygunluk oranının

%100'ün altında kalması bunu desteklemektedir. Bu durum sadece, salınımın katı-hal difüzyonundan ziyade ilacın yüzeyin açık yerlerinden desorpsiyonu ile yönlendirilmesi ile oluşur.

Gerçekten de, %100 oranında salınımın gerçekleşmesine neden olabilecek tek proses katı-hal difüzyonudur. Fakat bu proses çok yavaştır. Biyobozunur olmayan nanoliflerdeki salınım oranlarını arttırmak ve salınım kinetiklerini değiştirmek için, porojen kullanımı gereklidir. Porojen maddeler, nanolifleri bozunur hale getirir ve salınım prosesi sırasında yeni ilaç oranlarının açığa çıkmasına yardımcı olur.

Sinha-Ray ve arkadaşlarının çalışmasında floresan boyarmadde olan Rhodamin B'nin sudaki çözünürlüğünün %0,1 mertebelerinde olduğu belirtilmiştir (Sinha-Ray ve ark. 2010). Bu nedenle, bu çalışmadaki maksimum Rhodamin B konsantrasyonu ağırlıkça %0,00002 oranını geçememiş ve salınım prosesinde boyarmaddenin maksimum çözünürlüğüne ulaşamamıştır. Bu nedenle, Şekil 4.105'te görülen salınım prosesinin doygunluğu, sudaki Rhodamin B'nin maksimum çözünürlüğü ile ilişkili değildir. Bu durum, nanoliflerdeki nanogözenek yüzeylerinden olan boyarmadde desorpsiyonu ile ilişkilidir. Sinha-Ray ve arkadaşları, çözelti-üfleme ile soya proteinli monolitik ve merkez/kabuk lifler üretmişlerdir ve yüksek-çözünürlüklü SEM incelemesinde yüzeylerde çok sayıda nano-ölçekli gözenekler olduğunu göstermişlerdir (Sinha-Ray ve ark. 2011). Bu gözenekler lifin içine de nüfuz edebilir. Nanolifli yapılardaki birçok gözenek nanolif yüzeyinden içeri doğru artar. Bu nedenle, bu numuneler suya batırıldığında, nanogözenekler suya tamamen açılır ve boya desorpsiyon mekanizması salınımın doygunluğa ulaşmasından sorumlu olur (Srikanth ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009). Şekil 4.105a-e'de bu durum görülmektedir. Boyarmadde desorpsiyonu iki basamaktan oluşmaktadır olur (Srikanth ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009). İlk basamakta, boyarmadde nanogözenekli yüzeylerden desorpsiyon ile salınır.

Bu basamak kısmen yavaş ve boyarmadde/ilâç salınımını kısıtlayan bir basamaktır. Daha sonra, salınan boyarmadde, su içinde difüzyon ile tekrar dağılır. Bu basamaktaki difüzyon, ilk basamak ile karşılaştırıldığında çok daha hızlıdır. Salınım deneylerinde salınımın doygunluk oranının %100'ün çok altında kalması, salınımın nanoliflerin

içindeki boyarmaddenin katı-hal difüzyonu ile olmadığını kanıtlar. Çünkü difüzyon prosesi hiçbir zaman %100'ün altında kalmaz. Benzer şekilde, nanolifin içinde gömülü olan boyarmadde hiçbir zaman salınmaz. Salınan boyarmadde, nanogözeneklerden veya liflerin dış yüzeylerinden salınan boyarmaddeyi. Aynı durum, vitamin B2 (Riboflavin) yüklü nanolifler için de geçerlidir (Şekil 4.106 a-e).

Desorpsiyon limitli basamaktaki salınım kinetikleri aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır (Eşitlik 4.1) (Srikan ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009):

$$\frac{G_t}{M_{d0}} = \alpha \left[1 - \exp \left(\frac{-\pi^2 t}{8 \tau_r} \right) \right] \quad (4.1)$$

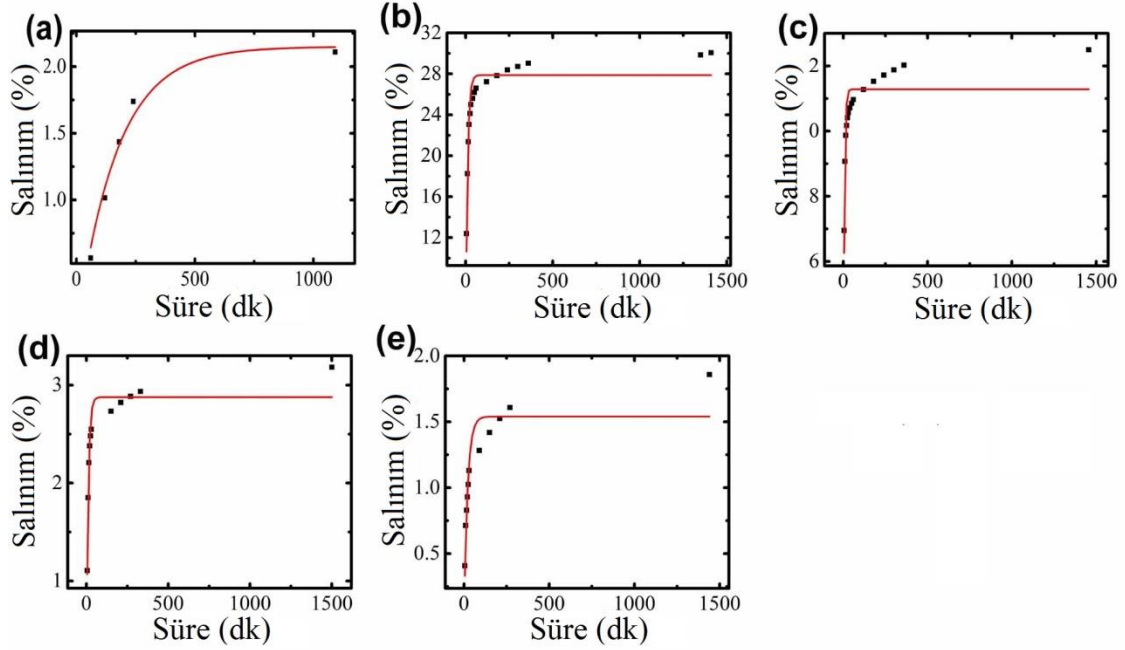
Burada, G_t ; zaman (t) süresinde salınan boyarmadde miktarıdır. α ; nanogözeneklilik faktörüdür ve

$$\alpha = M_{sd0} / (M_{sd0} + M_{bd0}) \text{ ile ifade edilir} \quad (4.2)$$

Burada, M_{sd0} (başlangıçtaki nanogözenek yüzeylerindeki boyarmadde/ilaç miktarıdır. M_{bd0} başlangıçtaki lif içindeki boyarmadde/ilaç miktarıdır. Dolayısıyla, $(M_{sd0} + M_{bd0})$ başlangıçtaki toplam boyarmadde/ilaç miktarını ifade eder. Nanogözeneklilik faktörü, çözeltideki polimer konsantrasyonu ve molekül ağırlıkları ile belirlenir. Eşitlik 4.1'deki τ_r , salınım prosesinin karakteristik süresidir ve desorpsiyon kinetikleri olan ön-eksponensiyel (k_0), aktivasyon enerjisi (E) ve polimer yoğunluğu ile elde edilir. Eşitlik 4.1'e göre, boyarmadde/ilaç salınımı $\alpha \times \%100$ seviyesinde doygunluğa ulaşmalıdır (Srikan ve ark. 2008, Gandhi ve ark. 2009).

Yalnız, Srikan ve arkadaşlarının çalışmaları ile Gandhi ve arkadaşlarının çalışmalarında, salınım prosesi boyunca nanoliflerin çözünmesi ve yeni oluşan yüzeylerin ortaya çıktığı hesaba katılmamıştır. Diğer bir deyişle, orijinal teoride suda-çözünebilen porojen maddelerin (PEG ve PEO) varlığı yer almamaktadır. Ayrıca, orijinal teori sadece monolitik, tek polimerli nanoliflere uygulanabilir. Bu nedenle, bu teori, projen içeren liflerin deneysel verilerini açıklamada yetersiz kalır.

Şekil 4.107, Eşitlik 4.1'in deneysel veri ile uyumunu göstermektedir. Buradan da görüldüğü gibi, bu teori deneysel verileri temsil etmemektedir. Fitting, nanogözeneklilik faktörü, karakteristik süre ve desorpsiyon prosesi kinetiklerini çok kabaca bir yaklaşımla bulmaktadır. Bu parametreler Çizelge 4.27'de verilmiştir. Bu değerler, yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı güvenilir değildir. Tabloda ayrıca salınım yarı-süresi, doygunluk oranı ve doygunluk süresi gibi deneysel parametreler verilmiştir.



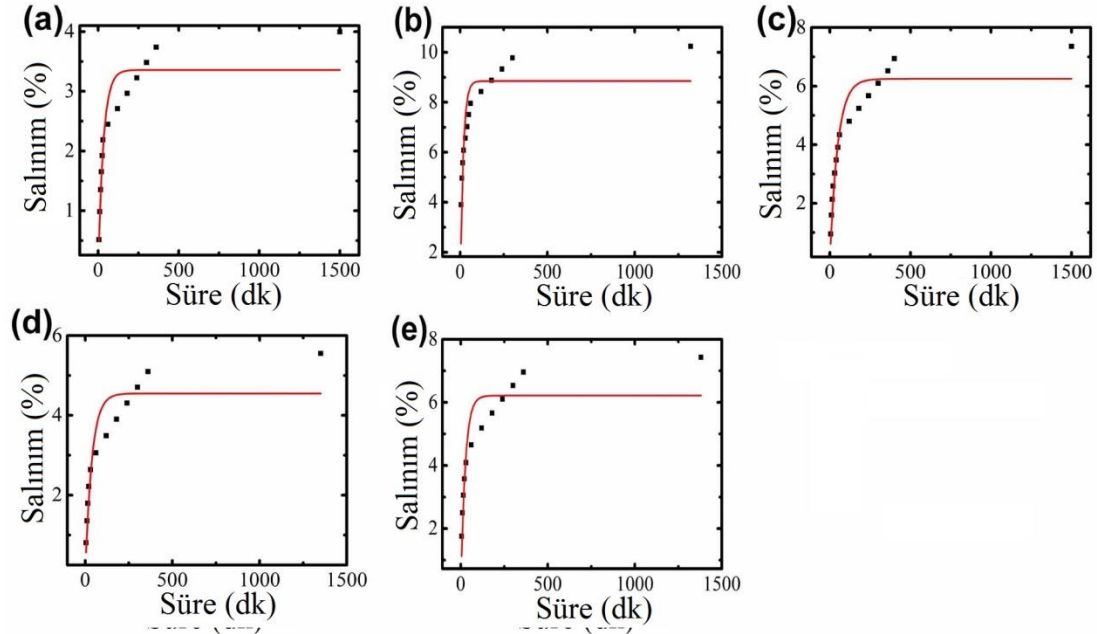
Şekil 4.107. Rhodamin B içeren numunelerin (P16-P20) Şekil 4.105'e karşılık gelen salınım kinetikleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.1'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.

Çizelge 4.27. Şekil 4.107'ye uygulanan fitting ile Eşitlik 4.1'den elde edilen parametreler

Numune Kodu	Ortalama α (%)	Salınım yarı süresi (dk)	Doygunluk süresi (dk)	Doygunluk Oranı (%/dk)	Ortalama τ_r (min)	Ortalama E (kJ/mol)
P16	2,14	120	950	0,002	208,29	23,59
P17	27,88	8,34	1090	0,028	12,8	28,05
P18	11,28	<5	1120	0,011	7,61	26,76
P19	2,87	8,34	1030	0,003	13,25	28,14
P20	1,53	20	1230	0,00151	25,35	29,76

Riboflavin katkılı PET nanoliğerlerdeki salınım da Şekil 4.108, Çizelge 4.27'de görüldüğü gibi aynı trendi izlemektedir. Rhodamin B'deki durum ile kıyaslandığında, Eşitlik 4.1

burada daha da yetersiz kalmaktadır. Bu durum büyük olasılıkla, Riboflavin'in yivlerde yerleşmesi ve Şekil 4.104'te gösterildiği gibi, salınımı esnasında mikroçatlaklar oluşturması nedeniyledir. Riboflavin'in ek bir porojen gibi davranması nedeniyle mikroçatlakların oluşumu, daha etkili olmuştur. Bu sayede salınım prosesi sırasında sulu ortama daha fazla Riboflavin çıkmaktadır.



Şekil 4.108. Riboflavin içeren numunelerin (P21-P25) Şekil 4.106'ya karşılık gelen salınım kinetikleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.1'den elde edilen en uygun fit'e karşılık gelmektedir.

Çizelge 4.28. Şekil 4.108'e uygulanan fitting ile Eşitlik 4.1'den elde edilen parametreler

Numune Kodu	Ortalama α (%)	Salınım yarı süresi (dk)	Doygunluk süresi (dk)	Doygunluk Oranı (%/dk)	Ortalama τ_r (min)	Ortalama E (kJ/mol)
P16	3,35	6,67	952	0,004	39,43	30,86
P17	8,85	11,43	1080	0,009	20,08	29,18
P18	6,24	44,81	850	0,009	59,50	31,88
P19	4,54	60	900	0,007	46,30	31,26
P20	6,21	26,85	1100	0,007	30,71	30,23

Srikar ve arkadaşlarının teorisi, sadece boyarmaddenin değil aynı zamanda projen maddeler ve yivlerdeki Riboflavin'in de salındığı ve mikroçatlaklar oluşturduğu düşünülerek iyileştirilebilir.

PEG ve PEO'nun moleköl boyutları boyarmaddeninkinden çok daha fazladır. Bu nedenle bu maddelerin boyarmaddeye göre daha yavaş salınması beklenir. Riboflavin salınımı durumunda, mikroçatlaklar baskın salınım prosesinde canlanmaya neden olur. Yeni gözenek veya mikroçatlakların açılması ile porojen madde salınımı veya çatlak oluşumu olur ve ek bir boyarmadde veya vitamin salınımı olur. Boyarmadde/riboflavin zamanla (t) salınımı, Eşitlik 4.1'deki iki terimin süper pozisyonlanması ile açıklanabilir:

$$\frac{G_t}{M_{d0}} = \alpha_1 \left[1 - \exp\left(-\frac{\pi^2}{8} \frac{t}{\tau_{r1}}\right) \right] + \alpha_2 \left[1 - \exp\left(-\frac{\pi^2}{8} \frac{t}{\tau_{r2}}\right) \right] \quad (4.3)$$

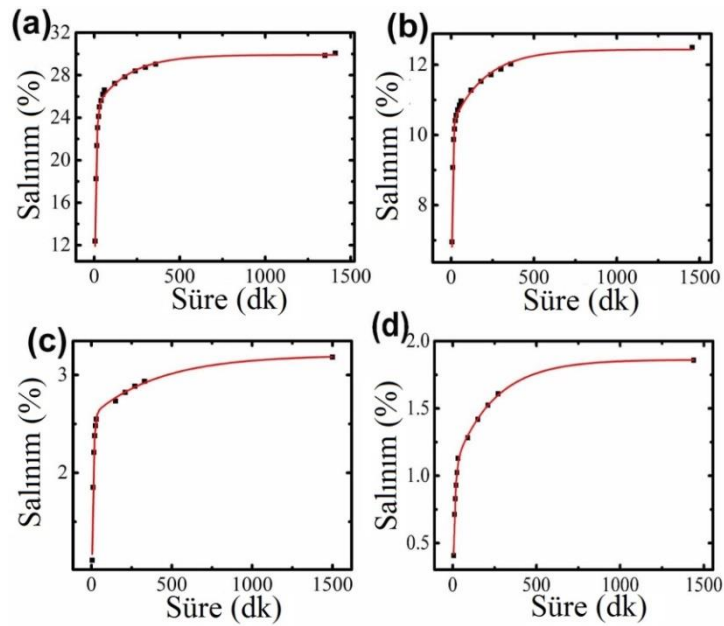
Burada α_1 ve τ_{r1} var olan gözeneklerden boyarmadde/riboflavin salınımına karşılık gelir. α_2 ve τ_{r2} ise, liflerden uzaklaşabilen bileşenlerin oluşturduğu (porojen maddeler/riboflavin/boyarmadde) gözenek veya mikroçatlak oluşumu ile ortaya çıkan yeni çatlaklar nedeniyle olan salınımına karşılık gelir.

Srikar ve arkadaşlarının (2008) çalışmasında; $\tau_{r1}=L^2/[Dc_{w01}b/\rho_{sd0}]$ olarak verilmiştir. Burada, L gözenek uzunluğu, D, boyarmaddenin suya difüzyon katsayısıdır. Sudaki gözenek yüzeyi yakınındaki başlangıç boyarmadde/riboflavin konsantrasyonu $c_{w01}=k_{01} \exp(-E_1/RT)\rho_{sd0}/\rho_{sp}$ ile ifade edilir. Burada k_{01} ; ön-eksponansiyel katsayısı, E_1 boyarmadde/riboflavin desorpsiyon entalpisi, R evrensel gaz sabiti, T mutlak sıcaklık, ρ_{sd0} ; t=0 anında, boyarmadde/riboflavin yüzey konsantrasyonu, ρ_{sp} ; -uzaklaşan polimer dahil- polimer matriksin yüzey konsantrasyonudur.

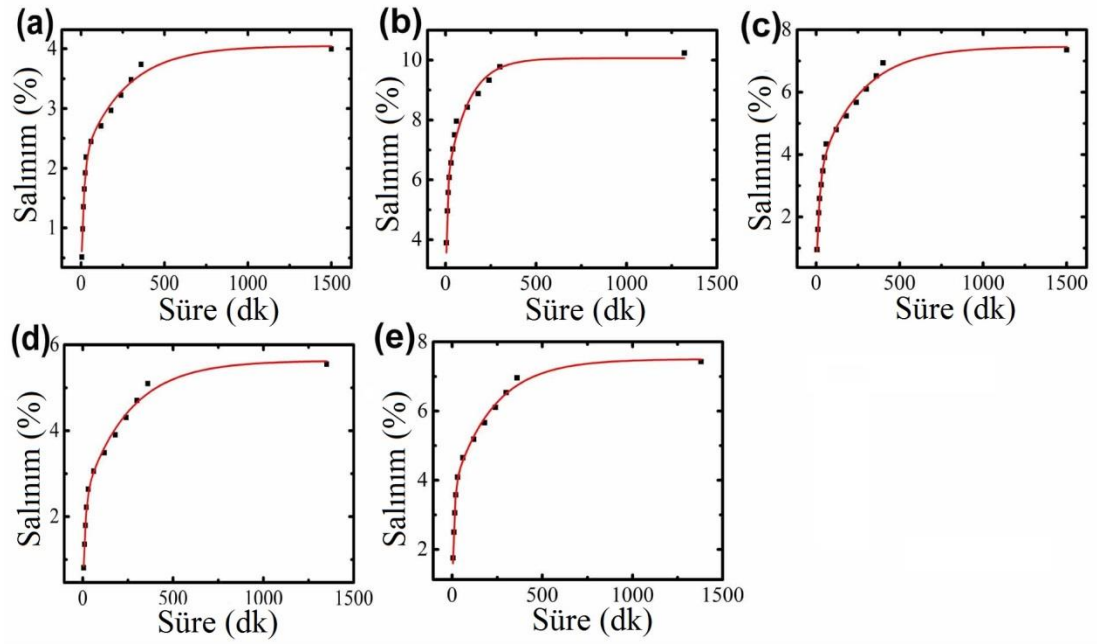
Benzer şekilde, $\tau_{r2}=L^2/[Dc_{w02}b/\rho_{s10}]$ eşitliğinde D; suda uzaklaşan bileşenin difüzyon katsayısıdır (basitleştirmek için boyarmaddeninki ile aynı kabul edilebilir). Ve gözenek yüzeyi yakınında, uzaklaşan bileşenin sudaki başlangıç konsantrasyonu $c_{w02}=k_{02} \exp(-E_2/RT)\rho_{s10}/\rho_{spn}$ ile ifade edilir. Burada k_{02} ; ön-eksponansiyel katsayısı, E_2 ; uzaklaşan bileşenin desorpsiyon entalpisi, ρ_{s10} ; t=0 anında, uzaklaşan bileşenin yüzey konsantrasyonu ve ρ_{spn} uzaklaşmayan polimer matriksin yüzey konsantrasyonudur.

Desorpsiyon ile boyarmadde salınımının, uzaklaşan bileşenin molekül ağırlığı çok daha yüksek olduğu için, uzaklaşan bileşenin salınımından çok daha kolay olması beklenir. Riboflavin içeren yüzeylerde, uzaklaşabilen polimerin rolü, riboflavin ile de ilişkilidir.

Şekil 4.109, Eşitlik 4.3'ün boyarmadde katkılı PET nanolifli yüzeylerden olan salınımını deneysel veri ile karşılaştırılmasını (P17-P20 kodlu yüzeyler), Şekil 4.110 ise, riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerden olan salınımını deneysel veri ile karşılaştırılmasını göstermektedir (P21-P25 kodlu yüzeyler). Çizelge 4.29 ve 4.30, sırasıyla boyarmadde ve riboflavin salınım parametrelerini göstermektedir.



Şekil 4.109. Eşitlik 4.3 kullanılarak Rhodamin B içeren numunelerden (P17-P20) elde edilen salınım profilleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.3'den elde edilen uygun fit'e karşılık gelmektedir.



Şekil 4.110. Eşitlik 4.3 kullanılarak Riboflavin içeren numunelerden (P21-P25) elde edilen salınım profilleri. Semboller deneysel verilere, eğriler ise Eşitlik 4.3’ten elde edilen un uygun fit’e karşılık gelmektedir.

Çizelge 4.29. Şekil 4.109’a uygulanan fitting ile Eşitlik 4.3’ten elde edilen parametreler (boyarmadde salınımı için)

Numune Kodu	Ortalama α (%)	Salınım yarı süresi (dk)	Doygunluk süresi (dk)	Doygunluk Oranı (%/dk)	Ortalama τ_r (min)	Ortalama E (kJ/mol)
P17	24,77	5,13	9,54	235,96	25,77	35,32
P18	10,24	2,19	5,71	247,90	23,65	35,44
P19	2,58	0,62	10,27	519,61	20,50	37,29
P20	1,04	0,81	12,72	295,06	21,17	35,88

Çizelge 4.30. Şekil 4.110’a uygulanan fitting ile Eşitlik 4.3’ten elde edilen parametreler (vitamin salınımı için)

Numune Kodu	Ortalama α (%)	Salınım yarı süresi (dk)	Doygunluk süresi (dk)	Doygunluk Oranı (%/dk)	Ortalama τ_r (min)	Ortalama E (kJ/mol)
P21	2,08	19,05	1,96	315,53	29,04	36,05
P22	5,70	6,82	4,35	142,78	26,48	34,07
P23	3,28	21,40	4,18	311,74	29,33	36,02
P24	2,33	15,14	2,33	303,87	28,47	35,95
P25	3,66	11,56	3,83	274,46	27,80	35,70

Sonuçlar: Suda çözünen floresan bir boya olan Rhodamin B ve floresan bir vitamin olan riboflavin (vitamin B2), PET nanolifli yüzeylere gömülü olarak elektro çekim yöntemi ile üretilmiş ve salınım kinetikleri suya batırılarak ölçülmüştür. Bu çalışmadaki başlıca sonuçlardan biri PEO ve PEG maddelerinin projen olarak görev alması ve boyarmadde salınım prosesi sırasında gözenek oluşumunu kolaylaştırmasıdır. Bu durum salınım kinetiklerini etkiler.

Kısmen çözünür olan riboflavin katkılı PET nanolifli yüzeylerde, riboflavin üniform olarak disperse olmaz fakat yivler oluşturur. Salınım prosesi sırasında, bu yivler mikroçatlakların oluşumunu kolaylaştırır. Bu durum, riboflavinin, diğer porojen maddelerin yanında, kendi başına bir porojen gibi davranması anlamını taşır.

Yapılan salınım çalışmaları ile porojen katkılı ve katkısız nanolifli yüzeylerden boyarmadde salınım prosesinin Srikar ve arkadaşlarının (2008) çalışmalarındaki gibi desorpsiyon sınırlamalı mekanizma olduğu görülmüştür. Bu çalışmada salınım prosesi iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta, boyarmadde/vitamin daha önceden oluşmuş olan gözeneklerden salınır. İkinci basamakta ise, boyarmadde/vitamin projen maddenin uzaklaşması veya lifin vücut içinde bozunması ile/mikroçatlakların oluşması nedeniyle oluşan gözenek/mikroçatlaklardan salınır. Bu nedenle desorpsiyon limitli mekanizmada kullanılan teori, bu çalışmaya uygun olarak modifiye edilmiştir.

5. SONUÇ

Bu doktora tez çalışması kapsamında, biyolojik olarak bozunmayan polietilen tereftalat polimerinden elektro çekim yöntemi ile üretilen nanoliflerin medikal alanda kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışma, PET polimerinden üretilen nanoliflerin bağ dokusu ve deri yaralanmalarında doku çatısı olarak kullanımı ve PET nanoliflerin ilaç salınım sistemlerinde kullanılabilirliklerinin araştırılması olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

1. Aşama: PET polimerinden üretilen nanoliflerin bağ dokusu ve deri yaralanmalarında doku çatısı olarak kullanımı:

- Nanolif yüzey üretim parametrelerinin belirlenmesi

Doku çatısı olarak kullanılması düşünülen nanolifli yüzeylerin üretiminde, elektro çekim sistemine etki eden parametreler (yüzey özellikleri, yüzey kalınlığı, gözenek boyutu) ve bu parametrelerin nanoliflerin inceliği üzerine etki dereceleri belirlenmiştir. Bu amaçla, lif incelikleri, yüzey gözenek boyutları ve yüzey özellikleri değiştirilmiştir.

Literatürde (Tan ve ark. 2005, Cui ve ark. 2007, Heikkila ve Harlin 2008), elektro çekim yönteminde lif inceliğini değiştiren üretim parametreleri çözelti konsantrasyonu, iğne-toplayıcı arası mesafe, uygulanan voltaj, besleme oranı ve sarım hızı olarak belirtilmiştir. Bu nedenle, nanoliflerin üretiminde her bir üretim parametresi için 3'er adet seviye belirlenmiştir. Ancak, bu değişkenlerin tümü için üretilmesi gereken yüzey sayısının çok fazla (243 adet) olması nedeniyle, üretilecek yüzey sayısı "Taguchi Deney Tasarımı" yöntemi ile anlamlı bir biçimde azaltılmıştır.

Taguchi yöntemi ile deneysel tasarım yapıldıktan sonra, nanolifli yüzeylerin belirlenen parametreler ile üretimine başlanmıştır. Mesafe değişimi ile yapılan üretimler sırasında mesafe ile voltaj parametrelerinin birbirleri ile bağımlı değişken oldukları gözlenmiştir. Birinin sabit tutularak diğerinin değiştirilmesi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, her üç çözelti konsantrasyonu için de lif üretiminin yapılabildiği mesafe (10 cm) – voltaj

(20 kV) parametresi belirlenmiş ve bu değerlerin sabit tutulmasına karar verilmiştir. Sarım hızının değişimi ile yapılan üretimlerde 500 devir/dk hızın üzerine çıkıldığında lif sürekliliğinde bozulma ve kopmalar gözlenmiştir. Ayrıca besleme oranı olarak 3 ml/sa ile çalışıldığında, çözeltinin tamamının lif olarak çekilemediği ve damlamalar olduğu görülmüştür. Bütün bu kriterler göz önünde bulundurularak yeni yüzey üretim parametreleri belirlenmiştir. Böylelikle; sabit voltaj-mesafe değerlerinde 3 farklı çözelti konsantrasyonu (%10-15-20), 2 farklı besleme oranı (1-1,5 ml/sa), 3 farklı sarım hızı (250-350-500 d/dk) ve ince-kalın olmak üzere 2 farklı yüzey kalınlığı parametreleri kullanılarak nanolifli yüzey üretim yapılmıştır.

- Nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu

Üretilen yüzeylerin yüzey karakterizasyonu, taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri ve temas açısı ölçümleri, mekanik karakterizasyonu ise kopma mukavemeti ve uzaması testleri ile gerçekleştirilmiştir.

SEM analizleri sonucunda, artan polimer konsantrasyonu ile çözelti viskozitesinin de arttığı ve böylece daha büyük çaplı ve daha az hatalı lifler oluştuğu görülmüştür. Artan polimer konsantrasyonu ile lif kesitinin üniform hale geldiği tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyonlu çözeltilerden elde edilen lif çaplarının ve yüzey kalınlıklarının daha az olduğu, artan konsantrasyon ile çap ve yüzey kalınlıklarında artış olduğu görülmüştür. Besleme oranının değişimi ile lif inceliklerinde artış olduğu ve ayrıca yüzeylerde boncuk oluşumu meydana geldiği görülmüştür. Sarım hızının artması liflerin incelmeye ve boncuklu yapının azalmasına neden olmuştur. Ayrıca, hücre tutunması ve çoğalması üzerinde yüzey kalınlıklarının etkisini görmek amacıyla üretim parametreleri sabit tutularak, ince ve kalın yüzeyler üretilmiştir. Bu yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde benzer inceliklerde nanolifler oluştuğu gözlenmiştir. Ön denemelerde üretilen numunelerin yüzey analizleri sonucu ağırlıkça %20 oranında PET içeren çözeltilerden üretilen yüzeylerdeki lif çaplarının çok kalın olduğu ve ‘nano’ boyutların dışında olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu konsantrasyon ile devam etmeme kararı alınmıştır.

Temas açısı ölçüm sonuçları incelendiğinde, polimer konsantrasyonundaki artış ile nanolifli yüzeylerin temas açılarında artış olduğu tespit edilmiştir. Lif incilmesi, nanolifli yüzeylerin daha pürüzlü bir yüzeye sahip olmasına neden olduğu için temas açıları artmış ve dolayısıyla da nanolifli yüzeylerin süper hidrofobik yüzey özelliği kazanmasına neden olmuştur.

Nanolifli yüzeylere yapılan çekme testlerinde, nanolifli yüzeyin performansına nanolifin yapısı ve nanolifin yüzey içerisindeki yerleşiminin etkili olduğu belirlenmiştir. Homojen lif çapı, lif kalınlığı, lifin içerisinde moleküllerin yerleşimi gibi lif özelliklerinin yanı sıra liflerin paralel ya da karışık yerleşimi de yüzeyin mekanik özelliklerine etki etmiştir. Kalın ve homojen lifler ile liflerin yüzey içerisine paralel yerleşiminin mekanik performansı iyileştiği tespit edilmiştir. Çekme deneyleri sonucunda, en yüksek konsantrasyona sahip çözeltilerden üretilen yüzeylerin yüksek modül verdiği ve düşük uzama gösterdiği görülmüştür.

- Sterilizasyon işlemleri

Hücre ekim işleminden önce yüzeylerin sterilize edilmesi gerekmektedir. Nanolifli yüzeylerin özelliklerini değiştirmeden sterilize etmek için en uygun yöntem araştırılmıştır. Bu amaçla yüzeyler en çok kullanılan sterilizasyon metodları olan etilen oksit (EO), otoklav (AU) ve ultraviyole (UV) yöntemleri ile sterilize edilmiş ve sterilize edilen yüzeyler SEM, AFM, temas açısı, yüzey gözenekliliği, kopma mukavemeti ve uzaması testleri, diferansiyel taramalı kalorimetri analizleri (DSC) ve Fourier transform infrared spektrometresi (FTIR) analizleri ile karakterize edilerek yüzeyler için en uygun sterilizasyon yöntemi araştırılmıştır.

Sterilizasyon işlemleri öncesinde ve sonrasında yapılan SEM, AFM, yüzey gözenekliliği, temas açısı, DSC, FTIR ve mekaniksel analizi sonuçları incelendiğinde, EO ve AU ile sterilizasyon işlemlerinin özellikle düşük konsantrasyonlu çözeltilerden üretilen nanolifli yüzeylere hasar verdiği tespit edilmiştir. Artan çözelti konsantrasyonu ile bu etki azalmaktadır. EO ve AU sterilizasyon yöntemleri ısı işlem içeren (55 ve 121°C) yöntemlerdir. PET nanolifli yüzeylerin camsı geçiş sıcaklıkları, çözelti

konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte 55-75°C'dir. Bu nedenle uygulanan ısı ısı ısımlerin üretilen nanolifli yüzeylerin hasara uğramasına neden olduğu düşünölmektedir.

UV yöntemi ise herhangi bir ısı ısımler içermemektedir. Bu nedenle, UV ile sterilizasyon işlemleri numunelerin yüzey özelliklerini değiştirmediği görölmüşür. Ancak bu yöntem ile sterilize edilen numunelerin temas açılarındaki belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Diğer iki sterilizasyon yöntemi ile kıyaslandığında, UV ile sterilize edilen numunelerin yüzey gözenek boyutları daha küçüktür. Bu nedenle, bu düşüş küçük yüzey gözenek boyutu ile ilişkilendirilmiştir.

Yapılan genel değerlendirme sonucunda, nanolifli yüzeylere hasar vermemesi nedeniyle, doktora çalışmasının devam eden aşamalarında sterilizasyon yöntemi olarak UV metodunun uygulanmasına karar verilmiştir.

- Hücre ekim işlemleri

UV metodu ile sterilize edilen yüzeyler üzerine bağ dokusu hücresi olan fibroblast ve deri hücresi olan keratinosit hücrelerinin ekimleri gerçekleştirilmiştir. Yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalması SEM analizleri ile değerlendirilmiştir. SEM sonuçları incelendiğinde, düşük konsantrasyonlu çözeltilerden üretilen yüzeylerdeki hücre tutunma ve çoğalmasının daha fazla olduğu, artan çözelti konsantrasyonu ile yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasının azaldığı gözlenmiştir. İnce liflerden üretilen yüzeylerdeki hücre tutunma ve çoğalmasının daha iyi olduğu görölmüşür. Bu durum lif incelikleri ile ilişkilendirilmiştir. Daha ince çaplı nanoliflerden oluşan yüzeylerdeki lif-lif kesişimi daha fazladır. Bu nedenle hücrelerin tutunma yüzeylerinin arttığı düşünölmektedir.

- Yüzey modifikasyon işlemleri ve hücre ekim işlemleri

Modifikasyon çalışmalarına en ince liflerden oluşan yüzey ile devam edilmesine karar verilmiştir. Ayrıca, daha yüksek çözelti konsantrasyonu ile üretilen (daha kalın liflerden

oluşan) ve mekaniksel özellikleri daha iyi olan yüzeylerin de modifikasyon çalışmaları kapsamında incelenmesine karar verilmiştir. Nanolifli yüzeylerin modifikasyon işlemleri; sodyum hidroksit (NaOH) ile kimyasal yüzey modifikasyonu, argon ve oksijen plazma ile yüzey modifikasyonu, soya proteini katkılı PET nanolifli yüzey üretimi ve vitamin katkılı PET nanolifli yüzey üretimi metodları ile gerçekleştirilmiştir. Modifiye edilen yüzeyler SEM, AFM, yüzey gözenekliliği, temas açısı, hava geçirgenliği testleri ve mekaniksel analizler ile incelenmiştir.

NaOH ile kimyasal yüzey modifikasyonu işlemleri kapsamında farklı molaritelerde (0,5-1-2-5M) ve farklı sürelerde (5-10-30dk) yüzey modifikasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. SEM analizleri sonucunda yüksek molariteli ve uzun süreli NaOH ile muamelenin yüzeylere hasar verdiği görülmüştür. Ayrıca modifikasyon işlemlerinin yüzey temas açılarında önemli düşüşe neden olduğu görülmüştür. Yüzeylere fazla hasar vermeden, temas açılarında düşüşe neden olan 1M ve 10 dk işlem parametreleri ile yüzeyler modifiye edilen yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücrelerinin ekimi gerçekleştirilmiş ve yüzeylere hücre tutunması ve çoğalması sonuçları SEM analizleri ile değerlendirilmiştir. Görüntüler incelendiğinde, genel olarak yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasının yer yer gerçekleştiği fakat yüzeylerin bütününe kaplamadığı görülmüştür. Bunun nedeninin NaOH ile işlem sonrasında, yüzeylerden NaOH fazlasının tamamıyla uzaklaştırılamaması ve kalan NaOH fazlasının toksik etki yaratarak hücre çoğalmasını bloke etmesi olduğu düşünülmektedir.

Argon ve oksijen plazma ile yüzey modifikasyonu işlemleri kapsamında farklı sürelerde (30-60-90sn) yüzey modifikasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan SEM değerlendirmeleri sonrasında yüzeyler için en uygun plazma işlem süresi olan 60 sn işlem parametresi olduğu görülmüş ve bu parametre ile modifiye edilen yüzeyler üzerine fibroblast ve keratinosit hücrelerinin ekimi gerçekleştirilmiştir. Yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalması sonuçları SEM analizleri ile değerlendirilmiştir. SEM analizleri sonucunda argon plazma işlemi ile yüzeylerin modifikasyonu sonrası, fibroblast hücrelerinin yer yer büyüdüğü fakat yüzeyleri tamamen kaplamadığı görülmüştür. Yüzeyler üzerindeki keratinosit hücrelerinin tutunma ve çoğalması incelendiğinde ise ince liflerden oluşan yüzeylerde keratinosit

hücrelerinin tutunduğu ve yüzeyi kapladıkları gözlenmiştir. Daha kalın liflerden oluşan yüzeylerde ise modifiye edilmemiş yüzeylerdeki hücre tutunma ve çoğalma davranışına benzer olarak hücre çoğalması yeterince gözlenmemiştir. Oksijen plazma ile modifiye edilen yüzeyler üzerindeki fibroblast ve keratinosit hücrelerinin tutunma ve çoğalma davranışı incelendiğinde, genel olarak yüzeyler üzerindeki hücre çoğalmasının yer yer gerçekleştiği fakat yüzeylerin bütününe kaplamadığı görülmüştür.

Soya katkısı ile üretilen yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalma davranışı incelendiğinde, düşük miktarda soya proteini içeren nanolifli yüzeyler üzerindeki hücre tutunması ve çoğalmasının, yüksek miktarda soya proteini içeren nanolifli yüzeylere göre daha iyi olduğu görülmüştür. Yüksek miktarda soya katkısının, optimum katkı oranının üzerinde olduğu ve hücre çoğalması üzerinde olumsuz etkiye neden olduğu düşünülmektedir.

Vitamin B2 (Riboflavin) katkılı PET nanolifli yüzeyler üzerinde fibroblast hücrelerinin tutunma ve çoğalma davranışları incelendiğinde, porojen maddelerin katıldığı, vitaminin kontrollü salınımının gerçekleştirildiği ve ani patlama salınımının kontrol altına alındığı yüzeylerde, hücre çoğalmasının gerçekleştiği ve hücrelerin bütün yüzeyi kapladığı görülmüştür. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, vitamin katkısının hücre büyümesi üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüştür.

2. aşama: PET polimerinden üretilen nanoliflerin ilaç salınım sistemlerinde kullanılabilirliklerinin araştırılması:

- İlaç salınım miktarlarının araştırılması

PET nanolifli yüzeylerin ilaç salınım sistemlerindeki kullanılabilirliklerini incelemek amacı ile katkılı PET nanolifli yüzeyler üretilmiştir. Nanoliflerden salınım gerçekleştirmek amacıyla, lifler porojen madde (PEG ve farklı molekül ağırlıklarında PEO) katkısı ile gözenekli hale getirilmiştir. Araştırma kapsamında, porojen madde katkısı içermeyen PET nanolifli yüzeyler de karşılaştırma numunesi olarak

incelenmiştir. Üretimlerde ilaç salınımını modellemek amacıyla boyarmadde (Rhodamin B) ve vitamin B2 (Riboflavin) kullanılmıştır.

Boyarmadde katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri incelendiğinde, nanoliflere porojen madde olarak PEG eklenmesinin, boyarmadde salınımında çok fazla artışa neden olduğu görülmüştür. Kontrollü salınımı gerçekleştirebilmek amacıyla ikinci bir porojen madde eklenmesi (PEO), salınım doygunluk değerinin azalmasına neden olmuştur. Daha yüksek molekül ağırlıklı PEO eklendiğinde doygunluk salınım oranları daha da düşmüştür.

PEG ve PEO'nun porojen madde olarak kullanıldığı vitamin katkılı PET nanoliflerin salınım kinetikleri incelendiğinde ise, boyarmadde ile olan salınım çalışmalarında olduğu gibi PEG katkısı salınım değerlerinde artışa neden olmuştur. PEO katkısı ise genel olarak salınım değerlerinde bir düşüşe neden olmuştur.

- İlaç salınım mekanizmasının araştırılması

Literatürde yapılan ilk çalışmalarda ilaç salınım mekanizması difüzyon teorisi ile açıklanmıştır (Higuchi 1961, Roseman 1972). Fakat difüzyon teorisi, kullanılan ilaç katkısının %100 oranında salınmamasını açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu durum desorpsiyon sınırlamalı mekanizma ile açıklanmıştır (Srikanth ve ark. 2008). Ancak desorpsiyon sınırlamalı mekanizma ile açıklanan teoremden, porojen maddelerin suda çözündüğü ve bu nedenle yeni salınım yüzeyleri oluşturduğu göz önünde bulundurulmamaktadır. Bu doktora tez çalışması kapsamında yapılan salınım çalışmalarında kullanılan porojen maddeler (PEG ve PEO) suda çözünür özelliktedir. Araştırmalar kapsamında yapılan salınım çalışmalarında, porojen katkılı ve katkısız nanolifli yüzeylerden boyarmadde/vitamin salınım prosesinin desorpsiyon sınırlamalı mekanizma olduğu görülmüştür. Ancak, porojen maddelerin suda çözünür özellikte olmaları nedeniyle desorpsiyon limitli salınım mekanizmasının literatürdeki çalışmalardan farklı olarak iki basamaktan oluştuğu görülmüştür. İlk basamakta, boyarmadde/vitamin daha önceden oluşmuş olan gözeneklerden salınmakta, ikinci basamakta ise porojen maddenin uzaklaşması ve mikroçatlakların oluşması

nedeniyle salınmaktadır. Bu nedenle, desorpsiyon limitli mekanizmada kullanılan teori, bu çalışmaya uygun olarak modifiye edilmiştir.

Elektro çekim yöntemiyle üretilen nanoliflerin medikal alanda kullanılabilirliklerinin araştırılması başlığı altında yapılan araştırmalar neticesinde; elektro çekim yöntemi kullanılarak üretilen PET nanolifli yüzeyler arasında düşük konsantrasyonlu çözeltilerden üretilen (en ince çaplı yüzeyler) ve UV metodu ile sterilize edilen (yüzeylere en az hasarı veren) yüzeyler üzerine bağ dokusu hücresi olan fibroblast ve deri hücresi olan keratinosit hücrelerinin tutunma ve çoğalmasının incelenen diğer nanolifli yüzeylerden daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Yapılan modifikasyon işlemleri sonrası vitamin katkısının nanolifli yüzeyler üzerindeki hücre tutunma ve çoğalmasını arttırıcı yönde etki ettiği tespit edilmiştir. Elde edilen bilgiler ışığında; biyolojik bozunur ve bozunmayan polimerlerden bikomponent yapıların kullanımının, plazma ile yüzey modifikasyonundaki işlem sürelerinin uzatılmasının, in vivo çalışmaları (hayvan deneyleri) yapılmasının ve ilaç salınım materyali olarak anti kanser ilaçlarının kullanılmasının, bundan sonraki çalışmalar için önerilebilecek konu başlıkları olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Agarwal, S., J. H. Wendorff, A. Greiner. 2008.** Use of Electrospinning Technique for Biomedical Applications. *Polymer*, 49: 5603-5621.
- Agrawal, A.K., Jassal, M. 2008.** Manufacture of Polyamide Fibers: Polyester and polyamides. Editörler: Deopura, B.L., Alagirusamy, R., Joshi, M., Gupta, B. ., Cambridge, Woodhead Publishing Ltd, s. 97-139
- Amis, A.A., Kempson S.A., Campbell, J.R., Miller, J.H. 1988.** Anterior Cruciate Ligament Replacement, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 70-B(4):628-634.
- Anderson, J.M., Shive M.S. 2012.** Biodegradation and Biocompatibility of PLA and PLGA Microspheres. *Adv. Drug. Delivery Rev.*, 64:72–82.
- Andrady, A. L. 2008.** Biomedical Applications of Nanofibers: Science and Technology of Polymer Nanofibers. Editör: Andrady, A. L., John Wiley and Sons Inc., New Jersey, s. 183-223.
- Andrzejak, S., Fournuniak, J., Wrobel-Wisniewska, G., Zawirski, M. 2005.** Clinical Evaluation of the Polypropylene-Polyester Knit Used as a Cranioplasty Material, *Acta Neurochir (Wien)*, 147:973-976.
- Baumgarten, P.K. 1971.** Electrostatic Spinning of Acrylic Microfibers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 36:75-79.
- Blaschke, R.J., Howlett, A.R., Desprez, P-Y, Peterson, O.W., Bissell. M.J. 1994.** Cell Differentiation by Extracellular Matrix Components. *Methods Enzymol* 245:535-557
- Bazile, D., Ropert, C., Huve, P. 1992.** Body Distribution of Fully Biodegradable C-poly(lactic acid) Nanoparticles Coated with Albumin After Parenteral Administration to Rats. *Biomaterials*, 13:1039-1102.
- Bissell, M.J., Hall, H.G., Parry, G. 1982.** How Does the Extracellular Matrix Direct Gene Expression?, *J Theor Biol* 99:31-68
- Boys, C. V. 1887.** On the Production, Properties, and Some Suggested Uses of the Finest Threads. *Proceedings of the Physical Society* 9: 8.
- Buchko, C.J., Chen, L.C., Shen, Y., Martin, D.C. 1999.** Processing and Microstructural Characterization of Porous Biocompatible Protein Polymer Thin Films. *Polymer*, 40:7397-7407.
- Burgess, D.J., Davis, S.S., Tomlinson, E. 1987.** Potential use of Albumin Microspheres as a Drug Delivery Systems I. Preparation and in vitro Release of Steroids. *Int. J. Pharm.*, 39:129-136.

- Cancedda, R., Dozin, B., Giannoni, P., Quarto, R. 2003.** Tissue Engineering and Cell Therapy of Cartilage and Bone. *Matrix Biol.*, 22:81-91.
- Chen, C.S., Mrksich, M., Huang, S., Whitesides, G.M., Ingber, D.E. 1997.** Geometric Control of Cell Live and Death. *Science* 276:1425-1428
- Chen, V.J., Ma, P.X. 2006.** Polymer Phase Separation, In: Scaffolding in Tissue Engineering, Editors: Ma, P.X., Elisseeff, J., *Taylor and Francis Publishing*, London. pp.125-126.
- Chen, Z., Hay, J.N., Jenkins, M.J. 2013.** The Thermal Analysis of Poly(ethylene terephthalate) by FTIR spectroscopy, *Thermochimica Acta*, 552: 123-130.
- Chew, S. Y., Wen, J., Yim, E. K. F., Leong, K. W. 2005.** Sustained Release of Proteins from Electrospun Biodegradable Fibers, *Biomacromolecules*, 6(4): 2017 – 2024.
- Cho, D.H., Yu, W.R., Youk, J.H., Yoo, J.H. 2007.** Formation of Micro-Crystals in Poly(ethylene terephthalate) Fiber by a Short Heat Treatment and Their Influence on the Mechanical Properties, *European Polymer Journal*, 43:3562–3572.
- Cioffi, M.O.H., Voorwald, H.J.C, Mota, R.P. 2003.** Surface Energy Increase of Oxygen-Plasma Treated PET, *Materials Characterization*, 50:209-215
- Comyn, J. 1985.** Polymer Permeability. Elsevier Applied Science Publishers, New York.
- Coskun, G., Karaca, E., Ozyurtlu, M., Ozbek, S., Yermezler, A., Cavusoglu, I. 2014.** Histological Evaluation of Wound Healing Performance of Electrospun Poly(Vinyl Alcohol)/Sodium Alginate as Wound Dressing in vivo, *Bio-Medical Materials and Engineering*, 24(2): 1527-1536.
- Crank, J. 1980.** The Mathematics of Diffusion. Oxford University Press.
- Cui, W., Li, X., Zhou, S., Weng, J. 2007.** Investigation on Process Parameters of Electrospinning System through Orthogonal Experimental Design, *Journal of Applied Polymer Science*, 103:3105- 3112.
- Darmanin, T., Guittard, F. 2014.** Wettability of Conducting Polymers: From Superhydrophilicity To Superoleophobicity, *Progress in Polymer Science*, 39(4):656–682.
- Das, S., Hollister, S.F., Flanagan, C., Adewunmi, A., Bark, K., Chen, C., Ramaswamy, K., Rose, D., Widjaja, E. 2003.** Freeform Fabrication of Nylon-6 Tissue Engineering Scaffolds. *Rapid Prototyping Journal*, 9(1): 43-49.

- De Clerck K., Rahier, H., Van Mele, B. and Kiekens, P. 2003.** Thermal Properties Relevant to the Processing PET Fibers, *J. Appl. Polym. Sci.*, 89: 3840-3849.
- Doi, M., Edwards, S.F. 1986.** The Dynamics of Polymer Liquids, Clarendon Press, Oxford.
- Doi, K., Matsuda, T. 1997.** Significance of Porosity and Compliance of Microporous Polyurethane-based Microarterial Vessel on Neoarterial Wall Regeneration. *J. Bio. Mater. Res.*, 37:573-584.
- Dong, Y., Liao, S., Ngiam, M., Chan, C.K., Ramakrisna, S. 2009.** Degradation Behaviors of Electrospun Resorbable Polyester Nanofibers. *Tissue Engineering*, 15(3):333-351
- Doshi, J., Reneker, D.H. 1995.** Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics* Volume 35, Issues 2–3, August 1995, Pages 151–160
- Dror, Y., Salalha, W., Avharami, R., Zussman, E., Yarin, A.L., Dersch, R., Greiner, A., Wendorff, J.H. 2007.** One-Step Production of Polymeric Microtubes by Co-electrospinning. *Small*, 3(6):1064-1073.
- Duzyer, S., Hockenberger, A., Zussman, E. 2011.** Characterization of solvent-spun polyester nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 120(2):759-769.
- Duzyer, S. 2009.** Nanoliflerin Yüzey Özelliklerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- East, J., 2009.** The Structure of Polyester Fibers. In: Eichhorn, S.J., Hearle, J.W.S., Jaffe, M., Kikutani, T., editors. *Handbook of Textile Fibre Structure*, UK: Woodhead Publishing, pp. 181-231
- Erbil, Y.H., 2006.** Thermodynamics of Interfaces: Surface Chemistry of Solid and Liquid Interfaces, Blackwell Publishing, sf. 62-114.
- Ferrer, M.C. 2007.** Development and characterization of completely degradable composite tissue engineering scaffolds. PhD thesis. Barcelona pp39
- Folkman J., Moscona A. 1978.** Role of Cell Shape in Growth Control. *Nature*, 273:345-349
- Fong, H., Chun, I., Reneker, D.H. 1999.** Beaded nanofibers formed during electrospinning, *Polymer*, 40:4585-4592.
- Formhals, Anton et al.** "Process and apparatus for preparing artificial threads" U.S. Patent 1,975,504 Issue date: October 2, 1934

Formhals, Anton ve ark. "Method and apparatus for spinning" U.S. Patent 2,349,950
Issue date: May 30, 1944

Frenot, A., Chronakis. I.S. 2003. Polymer Nanofibers Assembled by Electrospinning, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 8: 64-75.

Fung, L.K., Saltzman, W.M. 1997. Polymeric Implants for Cancer Chemotherapy. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 28:5-24.

Gandhi, M. Srikar, R., Yarin, A.L., Megaridis, C.M., Gemeinhart, R.A. 2009. Mechanistic Examination of Protein Release from Polymer Nanofibers, *Mol. Pharmaceutics*, 6(2):641-647

Garg K., Bowlin, G.L. 2011. Electrospinning jets and nanofibrous structures. *Biomicrofluidics*, 5(1): 2-19.

Giancotti, F.G. 2000. Complexity and Specificity of Integrin Signaling. *Nat Cell Biol*, 2:E13-E14

Gombotz, W.R., Pettit, D.K. 1995. Biodegradable Polymers for Protein and Peptide Drug Delivery. *Bioconjugate Chem.*, 6:332-351.

Gökçe, B., S. Taşgetiren. 2009. Kalite için Deney Tasarımı, *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 6(1): 71-83.

Greenfeld, I., Zussman, E. 2013. Polymer Entanglement Loss in Extensional Flow: Evidence from Electrospun Short Nanofibers, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 51(18):1377–1391.

Greiner, A., Wendorff, J. H. 2007. Electrospinning: A Fascinating Method for the Preparation of Ultrathin Fibers. *Angewandte Chemie*, 46(30): 5670-5703.

Gualandi, C. 2011. Porous Polymeric Bioresorbable Scaffolds for tissue Engineering. *Doktora Tezi*, University of Bologna, Italy.

Gupta, B., Hilborn, J., Hollenstein, C.H., Plummer, C.J.G., Houriet, R., Xanthopoulos, N. 2000. Surface Modification of Polyester Films by RF Plasma, *Journal of Applied Polymer Science*, 78: 1083-1091.

Heikkila, P., A. Harlin. 2008. Parameter Study of Electrospinning of Polyamide-6, *European Polymer Journal*, 44:3067-3079.

Hench, L.L., Polak, J.M. 2002. Third-Generation Biomedical Materials. *Science*, 295:1014-1017.

Heydarkhan-Hagvall, S., Schenke-Layland, K., Dhanasopon, A.P., Rofail, F., Smith, H., Wu, B.M., Shemin, R., Beygui, R.E. and MacLellan, W.R. 2008. Three-

Dimensional Electrospun ECM-Based Hybrid Scaffolds for Cardiovascular Tissue Engineering, *Biomaterials*, 29(19):2907–2914.

Higuchi, T. (1961). Rate of Release of Medicaments from Ointment Bases Containing Drugs in Suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50 (10):874 – 875.

Hintzer, K., Zipplies, T., Carlson, D.P., Schmiegel, W. 2014. Fluoropolymers, Organic. *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, pp. 1-55

Hohman, M.M., Shin, M., Rutledge, G.C., Brenner, M.O. 2001. Electrospinning and electrically forced jets: stability theory. *Phys. Fluids*, 13(8):2201-2220

Hsieh, Y.L., Wu, M. 1989. Solvent and glow discharge induced surface wetting and morphological changes of poly (ethylene terephthalate)(PET), *J Appl Polym Sci*, 38:1719-1737.

Hsieh, Y. 2001. Surface Characteristics of Polyester Fibers: Surface Characteristics of Fibers and Textiles, Editörler: Pastore, C. M., Kiekens, P., Markel Dekker Inc., USA, p.33-57

<http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/10026.pdf> (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US5800512.pdf> (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<http://fibroblast.org/> (Erişim tarihi: 17.01.2014)

http://gunainternational.com/docs/news/12562/Art_Milani (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<http://keratinocyte-transfection.com/index.html>, 2014 (Erişim tarihi: 16.02.2014)

<http://med-stud.narod.ru/med/immunology/skin.html>, 2014 (Erişim tarihi: 03.01.2014)

<http://users.ece.cmu.edu/~dwg/photos.html> (Erişim tarihi: 08.01.2014)

http://web.utk.edu/~cnattras/Physics221Spring2013/modules/m9/surface_tension.htm (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<http://www.das.org.tr/kitaplar/kitap2005/9-05.pdf> (Erişim tarihi: 21.03.2014)

<http://www.cancer.gov/PublishedContent/MediaLinks/657700.html> (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<http://www.hindawi.com/journals/isrn/2011/851317/fig2/> (Erişim tarihi: 17.01.2014)

<http://www.lookchem.com> (Erişim tarihi: 06.04.2014)

<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-are-Fibroblasts.aspx> (Erişim tarihi: 06.04.2014)

<http://www.news-medical.net/health/Fibroblasts-What-do-they-do.aspx> (Erişim tarihi: 06.04.2014)

http://www.savillex.com/Content.aspx?PageName=SIS_Fluoropolymers&DisplayCategory=SIS (Erişim tarihi: 03.02.2014)

<http://www.sciencephoto.com/media/101434/view> (Erişim tarihi: 03.02.2014)

<http://www.whatispolyester.com/history.html> (Erişim tarihi: 06.04.2014)

<http://www.zen-bio.com/products/cells/keratinocytes.php> (Erişim tarihi: 06.04.2014)

Hu, Q., Li, B., Wang, M., Shen, J. 2004. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials*, 25(5):779-785.

Huber, A., Pickett, A. Shakesheff, K.M. 2007. Reconstruction of Spatially Oriented Myotubes In Vitro Using Electrospun, Parallel Microfibre Arrays. *European Cells and Materials*, 14:56-63.

Jarusuwannapoom, T., Hongrojjanawiwat, W., Jitjaicham, S., Wannatong, L., Nithitanakul, M., Pattamaprom, C., Koombhongse, P., Rangkupan, R. and Supaphol, P. 2005. Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. *Euro. Polym. J.*, 41:409-421.

Jeon H.J., Kim, J.S., Kim, T.G., Kim, J.H., Yu, W., Youk, J.H. 2008. Preparation of poly(ϵ -caprolactone)-based polyurethane nanofibers containing silver nanoparticles, *Applied Surface Science*, 254:5886–5890.

Jiang, H.L., Fang, D.F., Hsiao, B., Chu, B., Chen, W. 2004. Preparation and Characterization of Ibuprofen-Loaded Poly(Lactide-Co-Glycolide)/Poly(Ethylene Glycol)-g-Chitosan Electrospun Membranes. *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition*, 15(3):279 – 296.

Jie-Rong, C., Xue-Yan, W., Tomiji, W. 1999. Wettability of Poly(ethylene Terephthalate) Film Treated with Low-Temperature Plasma and Their Surface Analysis by ESCA, *J Appl Polym Sci*, 72:1327-1333.

Junkar, I., Vesel, A., Cvelbar, M.M., Strnad, S. 2010. Influence of oxygen and nitrogen plasma treatment on polyethylene terephthalate (PET) polymers, *Vacuum*, 84:83–85.

Katti, D. S., K. W. Robinson, F. K. Ko, C. T. Laurencin 2004. Bio resorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 70B(2):286 – 296.

Kameoka, J., Orth, R., Yang, Y., Czaplewski, D., Mathers, R., Coates, G. and Craighead, H. G. 2003. A scanning tip electrospinning source for deposition of oriented nanofibres. *Nanotechnology*, 14:1124-1129.

Kenawy, E.R., Bowlin, G.L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson, D.G., Sanders, E.H., Wnek, G.E. 2002. Release of Tetracycline Hydrochloride from Electrospun Poly(Ethylene-co-Vinylacetate), Poly(Lactic Acid), and a Blend. *Journal of Controlled Release*, 81 (1-2):57 – 64.

Kissel, T., Rummelt, M. A., Bier, H. P. 1993. Wirkstofffreisetzung aus Bio Abbaubaren Mikropartikeln. *Deutsche-Apotheker-Ztg*, 133:29 – 32.

Krishnan, P.S.G., Kulkarni, S.T. 2008. Polyester Resins. In: Deopura, B.L., Alagirusamy, M.J., Gupta, B., editors. Polyesters and Polyamides, England: Woodhead Publishing, pp. 3-40

Kun, M., Chan, C., Ramakrishna, S. 2009. Textile-based Scaffolds for Tissue Engineering, In: Advanced Textiles for Wound Care. Editör: Rajendran, S., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 289-321.

Kutlu, B., 2008. Plazma Teknolojisi Kullanılarak Çeşitli Doğal ve Sentetik Liflerin Buruşmazlık ve Güç Tutuşurluk Özelliklerinin Geliştirilmesi, *Doktora Tezi*, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.

Langer, R., Vacanti, J.P. 1993. Tissue engineering. *Science*, 260:920–926.

Langer, R., Peppas, N.A. 2003. Advances in Biomaterials, Drug Delivery and Bionanotechnology. *AIChE J.*, 49:2990-3006.

Lee, J.S., Choi, K.H., Ghim, H.D., Kim, S.S., Chun, D.H., Kim, H.Y., Lyoo, W.S. 2004. Role of molecular weight of atactic poly(vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning, *J. Appl. Polym. Sci.*, 93:1638-1646.

Li, W. J., Laurencin, C. T., Caterson, E. J., Tuan, R. S., Ko, F. K. 2002. Electrospun Nanofibrous Structure: A Novel Scaffold for Tissue Engineering. *J. Biomed. Mater. Res.*, 60:613-621.

Li, W.J., Danielson, K.G., Alexander, P.G., Tuan, R.S. 2003. Biological Response of Chondrocytes Cultured in Three Dimensional Nanofibrous Poly(ε-caprolactone) Scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, 67:1105-1114.

Liao, C., Chen, C., Chen, J., Chiang, S., Lin, Y., Chang K. 2002. Fabrication of porous biodegradable polymer scaffolds using a solvent merging/particulate leaching method. *Journal of Biomedical Materials Research*, 59(4): 676–681.

Liao, I.C., Chew, S.Y., Leong, K.W. 2006. Aligned Core-Shell Nanofibers Delivering Bioactive Proteins. *Nanomedicine*, 1:465-471.

Linde, A., Hedner, E. 1995. Recombinant Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Bone Healing, Guided By Osteopromotive e-PTFE Membranes: An Experimental Study in Rats. *Calcified Tissue International*, 56(6):549-553.

Luong-Van, E., L. Grondahl, K. N. Chu a, K. W. Leong, V. Nurcombe, S. M. Cool (2006). Controlled Release of Heparin from Poly(1-caprolactone) Electrospun Fibers. *Biomaterials*, 27(9): 2042 – 2050.

Lutolf, M.P., Hubbell, J.A. 2005. Synthetic Biomaterials as Instructive Extracellular Microenvironments for Morphogenesis in Tissue Engineering. *Nat Biotechnol*, 23:47-55.

Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R., Ramakrishna, S. 2005. Potential of Nanofiber Matrix as Tissue-Engineering Scaffolds. *Tissue Eng.*, 11:101-109.

Ma Z., Kotaki, M., Yong, T., He, W., Ramakrishna, S. 2005. Surface Engineering of Electrospun Polyethylene Terephthalate (PET) Nanofibers towards Development of a New Material for Blood Vessel Engineering, *Biomaterials*, 26:2527-2536.

Megelski, S., Stephens, J.S., Chase, D.B., Rabolt, J.F. 2002. Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers, *Macromolecules*, 35:8456-8466.

Mei, F., Chen, D. 2008. Operational Modes of Dual-capillary Electrospraying and the Formation of the Stable Compound Cone-jet Mod, *Aerosol and Air Quality Research*, 8 (2): 218-232

Milani, L. 2013. The Collagen Medical Devices in the Local Treatment of the Algic Arthro-Rheumopathies. *Physiological Regulating Medicine*, pp. 3-18

Mikos, A.G., Bao, Y., Cima, L.G., Ingber, D.E., Vacanti. J.P., Langer, R. 1993. Preparation of poly(glycolic acid) bonded fiber structures for cell attachment and transplantation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 27:183-189.

Mozetic, M., Zalar, A. 2008. XPS study of oxygen plasma activated PET, *Vacuum*, 82:248-251.

Nair, P.D., Sreenivasan K., Jayabalan, M. 1988. Multiple Gamma Radiation Sterilization of Polyester Fibres, *Biomaterials*, 9:335-338.

Nair, P.D. 1995. Currently Practised Sterilization Methods-Some Inadvertent Consequences, *J Biomater Appl*, vol. 10 no. 2 121-135

Narasimhan, B. 2001. Mathematical Models Describing Polymer Dissolution: Consequences for Drug Delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 48:195-210.

Nierstrasz, V. A. 2007. Textile-based Drug Release Systems, Editor: Langenhove, L. V., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 50-73.

Norton, C.L. 1936. Method and apparatus for producing fibrous or filamentary material, U.S. Patent 2,048,651.

Oetjen, G.W. 2008. Foundations and process engineering. In: Freeze-Drying editors: Oetjen, G.W., Wiley-VCH, Germany pp 1-57.

Pham, Q. P., Sharma, U., Mikos, A.G. 2006. Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue Engineering*, 12(5):1197-1211

Pillai O., Panchagnula R. 2001. Polymers in Drug Delivery, *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(4):337-470.

Ramakrishna S., K. Fujihara, W. Teo, T. Lim, Z. Ma. 2005. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore p.90-116

Reese, G. 2003. Polyester Fibers: Fiber Formation and End-Use Applications. In: J. Scheirs, T. E. Long (Editors), *Modern Polyesters Chemistry and Technology of Polyesters and Copolyesters*, John Wiley and Sons Ltd., England, p. 401-433

Reneker, D.H., Yarin, A.L. 2008. Electrospinning jets and polymer nanofibers, *Polymer*, 49:2387-2425.

Rieckmann T.H., Volker S., 2003. Poly(ethylene Terephthalate) Polymerization, Mechanism, Transfer and Reactor Design. In: John Scheirs and Timotyh E. Long, editors. *Modern Polyesters- Chemistry and Technology of Polyesters and Copolyesters*, England: John Wiley & Sons; pp. 31-17

Ritger, P. L., Peppas, N. A. 1987. A Simple Equation for Description of Solute Release. I. Fickian and Non-fickian Release from Non-Swellable Devices in the Form of Slabs, Spheres, Cylinders or Discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1): 23 – 36.

Robb, B., Lennox, B., 2011. The Electrospinning Process, Conditions and Control: Electrospinning for Tissue Regeneration, Editörler: Boswrth, L.A., Downes, S., Woodhead Publishing, sf. 51-66.

Roseman, T. J. 1972. Release of Steroids from a Silicone Polymer. *Journal of Pharmaceutical Science*, 61 (1):46 – 50.

Roy, R.K., 2001. Design of Experiments Using the Taguchi Approach, John Wiley&Sons Inc.,USA

Rutledge, G.C., Fridrikh, S.V. 2007. Formation of fibers by electrospinning, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59: 1384–1391

- Shenoy, S.L., Bates, W.D., Frisch, H.L., Wnek, G.E. 2005.** Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit. *Polymer*, 46:3372-3384.
- Shin, Y.M., Hohman, M.M., Brenner, M.P., Rutledge, G.C. 2001.** Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities. *Polymer*, 42(5): 9955–9967.
- Sill, T.J., Recum, H.A. 2008.** Electrospinning: Applications in Drug Delivery and Tissue Engineering. *Biomaterials*, 29:1989-2006
- Sinha-Ray, S., Zhang, Y., Placke, D., Megaridis, C.M., Yarin, A.L. 2010.** Resins with Nano-Raisins, *Langmuir*, 26:10243-10249.
- Sinha-Ray, S., Zhang, Y., Yarin, A.L., Davis, S., Pourdeyehimi, B. 2011.** Solution Blowing of Soy Protein Fibers, *Biomacromolecules*, 12:2357-2363.
- Slack, J. 2007.** Molecular Biology of The Cell. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J (eds) Principles of Tissue Engineering. Elsevier, San Diego, pp 53–66
- Srikar, R., Yarin, A.L., Megaridis, C.M., Bazilevsky, A.V., Kelley, E. 2008.** Desorption-Limited Mechanism of Release from Polymer Nanofibers, *Langmuir*, 24, pp.965-974.
- Streuli, C.H., Bailey, N., Bissell, M.J. 1991.** Control of Mammary Epithelial Differentiation: Basement Membrane Induces Tissue-Specific Gene Expression in the Absence of Cell-Cell Interaction and Morphological Polarity. *J Cell Biol* 115:1383-1395
- Subbiah, T., G. S. Bhat, R. W. Tock, S. Parameswaran, S. S. Ramkumar. 2005.** Electrospinning of Nanofibers, *Journal of Applied Polymer Science*, 96: 557-569.
- Tan, S.H., Inai, R., Kotaki, M., Ramakrishna, S. 2005.** Systematic Parameter Study for Ultra-Fine fiber Fabrication via Electrospinning Process, *Polymer*, 46:6128-6134.
- Taepaiboon, P., Rungsardthong, U., Supaphol, P. 2007.** Vitamin-loaded Electrospun Cellulose Acetate Nanofiber mats as Transdermal and Dermal Therapeutic Agents of Vitamin A Acid and Vitamin E, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67(2): 387–397
- Teo, W. E., S. Ramakrishna. 2006.** A Review on Electrospinning Design and Nanofibre Assemblies, *Nanotechnology*, 17: 89-106.
- Thomson, R.C., Shung, A.K., Yaszemski, M.J., Mikos, A.G. 2000.** Polymer scaffold processing, In: *Principles of Tissue Engineering*. Robert Lanza, Robert Langer, Joseph P. Vacanti (editors), Academic Press, pp. 255-256.

Trail, I.A., Powell, E.S., Noble, J. 1989. An Evaluation of Suture Materials Used in Tendon Surgery, *The Journal of Hand Surgery: British & European Volume*, 14(4): 422–427.

Tucker, N., Stanger, J., Staiger, M.P., Razzaq, H., Hofman, K. 2012. The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, Special Issue:63-73.

Vacanti, J.P., Vacanti, C.A. 2007. The History and Scope of Tissue Engineering. In: Lanza R, Langer R, Vacanti J (eds) *Principles of Tissue Engineering*. Elsevier, San Diego, pp 3–6. Langer R, Vacanti JP (1993) *Tissue engineering*. *Science* 260:920

Veisheh, M., Turley, E.A., Bissell, M.J. 2008. Top–Down Analysis of a Dynamic Environment: Extracellular Matrix Structure and Function. In: Laurencin CT, Nair LS (eds) *Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold*. CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp 33–51

Velerinho, B., M. F. Rei, J. A. Lopes-Da-Silva. 2007. Solvent and Concentration Effects on the Properties of Electrospun Poly(ethylene) Nanofiber Mats, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 46:460-471.

Verreck, G., Chun, I., Rosenblatt, J., Peeters, J., Van Dijck, A., Mensch, J., Noppe, M., Brewster, M. E. 2003. Incorporation of Drugs in an Amorphous State into Electrospun Nano Fibers Composed of a Water-Insoluble, Nonbiodegradable Polymer. *Journal of Controlled Release*, 92 (3):349 – 360.

Viinikainen, A., Goransson, H., Huovinen, K., Kellomaki, M., Tormala, P., Rokkanen, P. 2006. Material and Knot Performances of Braided Polyester (Ticron) and Bioabsorbable Poly-L/D-lactide (PLDA) 96/4 Sutures, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17:169-177.

Vondran J. L., Sun, W., Schauer, C.L. 2008. Crosslinked, Electrospun Chitosan–Poly(ethylene oxide) Nanofiber Mats, *Journal of Applied Polymer Science*, 109:968–975.

Wang, Y. P., Yong, T., Ramakrishna, S. 2005. Nanofibers and Their Influence on Cells for Tissue Engineering. *Aust. J. Chem.*, 58:704-712.

Widmer, M.S., Gupta, P.K., Lichun, L., Meszlenyi, R.K., Evans, G.R.D., Brandt, K., Savel T., Gurlek, A., Patrick. C.W., Mikos, A.G. 1998. Manufacture of porous biodegradable polymer conduits by an extrusion process for guided tissue generation. *Biomaterials*. 19:1945-1955.

Wu, X., Liu, Y., Li, X., Wen, P., Zhang, Y., Long, Y., Wang, X., Guo, Y., Xiing, F., Gao, J. 2010. Preparation of aligned porous gelatin scaffolds by unidirectional freeze-drying method. *Acta Biomaterial*, 6(3):1167-1177.

- Xie, Y., Sproule, T., Li, Y., Powell, H., Lannutti, J.J., Kniss, D.A. 2002.** Nanoscale modifications of PET polymer surfaces via oxygen-plasma discharge yield minimal changes in attachment and growth of mammalian epithelial and mesenchymal cells in vitro. *J Biomed Mater Res.*, 61(2):234-45.
- Yang, S., Leong, K., Du, Z., Chua, C. 2001.** The design of scaffolds for use in tissue engineering. *Tissue Engineering*, 7(6):679-689.
- Yang, F., Both, S.K., Yang, X., Walboomers, X.F., Jansen, J.A. 2009.** Development of an Electrospun Nano-Apatite/PCL Composite Membrane for GTR/GBR Application, *Acta Biomaterialia*, 5(9):3295–3304.
- Yoo, H.S., Kim, T.G., Park, T.G. 2009.** Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61:1033–1042.
- Zeleny, J. 1914.** The Electrical Discharge from Liquid Points, and a Hydrostatic Method of Measuring the Electric Intensity at Their Surfaces. *Physical Review* 3 (2): 69.
- Zeng, J., Chen, X.S., Xu, X.Y., Liang, Q.Z., Bian, X.C., Yang, L.X., Jing, and X.B. 2003a.** Ultrafine Fibers Electrospun from Biodegradable Polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(4):1085 – 1092.
- Zeng, J., Yang, L.X., Liang, Q.Z., Zhang, X.F., Guan, H.L., Xu, X.L., Chen, X.S., Jing, X.B. 2005.** Influence of the Drug Compatibility with Polymer Solution on the Release Kinetics of Electrospun Fiber Formation, *Journal of Controlled Release*, 105(1-2):43-51.
- Zhang, C. X., Yuan, X. Y., Wu, L. L., Sheng, J. 2005.** Drug-loaded Ultrafine Poly(vinyl alcohol) Fibre Mats Prepared by Electrospinning. *e-Polymers*, 072.
- Zhao, S.L., Wu, X.H., Wang, L.G., Huang, Y. 2004.** Electrospinning of EthylCyanoethyl Cellulose/Tetrahydrofuran Solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 91:242-246.
- Zhong, X.H., Kim, K.S., Fang, D.F., Ran, S.F., Hsiao, B.S., Chu, B. 2002.** Structure and process relationship of Electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, 43:4403-4412.
- Zhu, N., Chen, X. 2013.** Biofabrication of tissue scaffolds, *In: Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*, Rosario Pignatello (editors), InTech, pp. 316-317.
- Zong, X. H., Kim, K., Fang, D., Ran, S. F., Hsiao, B. S., Chu, B. 2002.** Structure and Process Relationship of Electrospun Bioabsorbable Nanofiber Membranes. *Polymer*, 43(16):4403 – 4412.
- Zussman, E., A. Theron, A. L. Yarin. 2003.** Formation of Nanofiber Crossbars in Electrospinning, *Applied Physics Letters*, 82 (6): 973-975

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şebnem DÜZYER
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa - 19.01.1984
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lise : Gemlik Celal Bayar Anadolu Lisesi (1995 - 2002)

Lisans : Uludağ Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi,
Tekstil Mühendisliği Bölümü (2002 - 2006)

Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı (2006 - 2009)

Doktora : Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı (2009 - 2014)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Uludağ Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fak., Tekstil Müh. Bölümü (2006 - ...)

İletişim (e-posta) : sebnemduzyer@uludag.edu.tr

URL : <http://tekstil.uludag.edu.tr/akademik/sebnemduzyer.htm>

Yayınları:

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan / Yayımlanmaya Kabul Edilen Makaleler:

Duzyer, S., A. Hockenber, E., Zussman, “Characterization of Solvent-Spun Polyester Nanofibers“, Journal of Applied Polymer Science, Vol.120, Issue:2, p. 759-769 (2011)

Koc, S. K., **S. Duzyer**, R. Berger, A. Hockenberger, “Effect of Cross-Sectional Shape on the Behaviour of Cationic Dyeable Poly(ethylene terephthalate) Fibres”, Textile Research Journal, 82(13) 1355–1362 (2012)

Duzyer, S., S. K. Koc, A. Hockenberger, E. Evke, Z. Kahveci. Effects of Different Sterilization Methods on Polyester Surfaces. Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi, 24(3), 2013

Khansari S, **S., Duzyer**, S. Sinha-Ray, A. Hockenberger, A.L. Yarin, B. Pourdeyhimi. Two-stage desorption-controlled release of fluorescent dye and vitamin from solution-blown and electrospun nanofiber mats containing porogens. Mol Pharm. 2013, 10(12):4509-26

Koc, S. K., **S. Duzyer**, A. Hockenberger, “A New Approach to Determination of the Instability of Air-jet Textured Yarns”, The Journal of Engineered Fibers and Fabrics (JEFF), 2014 (basım aşamasında)

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan/ Yayımlanmaya Kabul Edilen Makaleler :

Duzyer, S. ve A. Hockenberger, “Elektro Çekim (Elektrospinning) Yöntemi ile Üretilen Polyester Nanoliflerin Karakterizasyonu”, Tekstil Maraton Dergisi, Vol:99, p. 57-66 (2008)

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sözlü Olarak Sunulan Bildiriler:

Duzyer, S., A. Hockenberger, “Effect of Polymer Concentration on the Properties of Electrospun Polyester Nanosurfaces”, AUTEX 2009 World Textile Conference, İzmir, Turkey, 2009

Hockenberger, A., M. Sezen, S.K. Koc, **S. Duzyer**, “Effect of Cross-Section on the Behaviour of Polyester (PET) Fibers”, Polymer Processing Society Congress, October, İstanbul, 2010

S. Duzyer, S. K. Koc, E. Evke, Z. Kahveci, İ. Cavusoglu, A.Hockenberger, Growth And Proliferation of Human Cells on Electrospun Polyester Nanofiber Mats, 14. Ulusal & 1. Uluslararası Tekstil Teknolojisi ve Kimyasındaki Son Gelişmeler Sempozyumu, Mayıs 2013, Bursa

S. Duzyer, A. Hockenberger, E. Evke, Z. Kahveci, A. Uguz, Effects of Different Sterilization Methods on Electrospun Polyester Nanofibers, The International Istanbul Textile Congress 2013, May 2013, Istanbul, Turkey. (sözlü sunum)

S. Duzyer, S. K. Koç, A. Hockenberger, E. Evke, Z. Kahveci, A. Uğuz, Cell Proliferation on Modified PET Nanofiber Mats, 14th AUTEX World Textile Conference, May 2014, Bursa, Turkey. (sözlü sunum-kabul edildi)

S. Duzyer, A. Hockenberger, S. Sinha-Ray, A.L. Yarin, Controlled Release of Fluorescent Dye and Vitamin Loaded PET Nanofibers, 6th International Istanbul Conference on the Future Technical Textile, October 2014, Istanbul, Turkey. (sözlü sunum-kabul edildi)

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Poster Olarak Sunulan Bildiriler:

A. Hockenberger, S. K. Koç, **Ş. Düzyer**, M. Acar, Hava Filtrasyonunda Kullanılan Dokusuz Yüzey Filtrelerin Nanolifler Yardımıyla Etkinliğinin Arttırılması, III. Ar-Ge Proje Pazarı, Bursa Tekstil ve Konfeksiyon Ar-Ge Merkezi, 2011, Bursa, Türkiye.

E.Karaca, Ş. Şafak, **Ş. Düzyer**, İpek-fibroin esaslı nanolifli yüzeylerden suni deri üretim olanaklarının araştırılması, UTİB IV. Ar-Ge Proje Pazarı, 2012, Bursa, Turkey.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Poster Olarak Sunulan Bildiriler:

Hockenberger A., E. Karaca, S.K. Koç, **Ş. Düzyer**, “Nanoyüzey üretimi ve karakterizasyonu laboratuvarı”, Uludağ Üniversitesi I. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2011, Bursa, Türkiye

Karaca, E., Ş. Şafak, **Ş. Düzyer**, “Elektro çekim yöntemi ile ipek-fibroin esaslı nanolifli yüzey üretimi ve in vivo deneylerle suni deri olarak kullanımının araştırılması”, Uludağ Üniversitesi I. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2011, Bursa, Türkiye

Hockenberger A., Z. Kahveci, İ. Çavuşoğlu, A. Uğuz, **Ş. Düzyer**, “Elektrospinning Yöntemiyle Üretilen Polietilen Tereftalat Nanoyüzeylerin Doku Çatısı Olarak Kullanılabilirliklerinin Araştırılması”, Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2012, Bursa, Türkiye

Hockenberger A., Y. Kavuşturan, S.K. Koç, **Ş. Düzyer**, “Hibrit ipliklerden elde edilen otomotiv döşemelik kumaşların performanslarının incelenmesi”, Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2012, Bursa, Türkiye

Düzyer, Ş., S.K. Koç, A. Hockenberger, E. Evke, Z. Kahveci, A. Uğuz, “Farklı polimer konsantrasyonlarından üretilen nanoliflerin hücre tutunması ve çoğalması üzerine etkisi”, Uludağ Üniversitesi III. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2013, Bursa, Türkiye

Düzyer, Ş., S.K. Koç, A. Hockenberger, E. Evke, Z. Kahveci, A. Uğuz, “Farklı sterilizasyon yöntemlerinin nanoliflerin özellikleri üzerine etkisi”, Uludağ Üniversitesi III. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Kasım 2013, Bursa, Türkiye

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

Düzyer S., A.S. Hockenberger “Characterization of Solvent-Spun Polyester Nanofibers”, IV. Nanoscience and Nanotechnology Conference (NanoTR IV), 2008, İstanbul, Turkey.

Düzyer, S., A. Hockenberger, Elektro Çekim (Elektrospinning) Parametrelerinin Lif İnceliği Üzerine Etkisi, XII. Tekstil Teknolojisi ve Kimyasındaki Son Gelişmeler Sempozyumu“, 2009, Bursa, Türkiye (Makale olarak bildiri kitabında basıldı).

Düzyer, S., A. Hockenberger, I. Karacan, “Characterization of the Crystallization and the Molecular Orientation of Polyester Nanofibers” VI. Nanoscience and Nanotechnology Conference NanoTR-VI, 2010, İzmir, Turkey

Araştırma Projeleri:

“Hava-jetli Tekstüre Yöntemi ile Yüzey Özellikleri Değiştirilmiş Poliester İpliklerinin Kauçuğa Yapışma Özelliklerinin İncelenmesi” TÜBİTAK Projesi Proje No:106M131 (2006-2009) **Araştırmacı** (Proje Yürütücüsü:Prof. Dr. Aslı HOCKENBERGER)

“Poliester Nanoyüzeylerin Karakterizasyon Çalışmaları” Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Hızlı Destek Projesi, Proje No: HDP(M) 2010/19 (2010-2011) **Araştırmacı** (Proje Yürütücüsü:Prof. Dr. Aslı HOCKENBERGER)

“Elektrospinning Yöntemiyle Üretilen Polietilentereftalat (PET) Nanoyüzeylerin Doku Çatısı (Scaffold) Olarak Kullanılabilirliklerinin Araştırılması” TÜBİTAK Projesi Proje No:110M793 (2010- devam ediyor) **Bursiyer** (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Aslı HOCKENBERGER)

“Hibrit İpliklerden Elde Edilen Otomotiv Döşemelik Kumaşların Performanslarının İncelenmesi” Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Proje No:UAP(M)-2010/53 (2010-devam ediyor) **Araştırmacı** (Proje Yürütücüsü:Prof. Dr. Aslı HOCKENBERGER)

“Elektro Çekim Yöntemi İle İpek-Fibroin Esaslı Nanolifli Yüzey Üretimi ve In Vitro Deneylerle Suni Deri Olarak Kullanımının Araştırılması” Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Proje No: UAP(M)-2011/66 (2011-devam ediyor) **Araştırmacı** (Proje Yürütücüsü: Prof. Dr. Esra KARACA)

Araştırma Bursları:

Yükseköğretim Kurulu (YÖK) - Yurtdışı Araştırma Desteği- Department of Mechanical and Industrial Engineering - University of Illinois at Chicago (UIC) / USA - 01.06.2012-31.09.2012

Yurtdışı Eğitimler:

Department of Mechanical Engineering- Technion – Israel Institute of Technology- Haifa/Israel- Aralık 2007- Ocak 2008
/Israel- Aralık 2007- Ocak 2008