T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN EKSTRÜZYON PROSESİ KULLANILARAK HİBRİT BİYONANOKOMPOZİTLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Behris KILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Mualla ÖNER

Kasım, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN EKSTRÜZYON PROSESİ KULLANILARAK HİBRİT BİYONANOKOMPOZİTLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Behris KILIÇ tarafından hazırlanan tez çalışması xx.yy.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mualla ÖNER
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mualla ÖNER, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Perviz SAYAN, Üye
Marmara Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Mualla ÖNER sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Biyomedikal Uygulamalar için Ekstrüzyon Prosesi Kullanılarak Hibrit Biyonanokompozitlerin Geliştirilmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Behris KILIÇ

İmza

Bu çalışma, “Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü’nün FYL-2023-5824” numaralı projesi ve “Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı” ile desteklenmiştir.

Aileme

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca tez çalışması ve diğer akademik konularda engin bilgi birikimi ve tecrübesi ile bana yol gösteren, araştırmaya, bilime karşı olan hiç bitmeyen heyecanı ile bana ilham olan ve her zaman desteğini hissettiğim danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mualla ÖNER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin bir bölümü olan biyolojik çalışmaları Biyomühendislik Bölümü Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarında yürüten Sayın Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR, Buşra AKGÜL ve Bükre KIRAN ÜNER'e kıymetli zamanlarını ayırdıkları, bilgi ve tecrübelerini paylaştıkları için teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde sevgisiyle, ilgisiyle bana kol kanat geren, beni sabırla dinleyen varlığıyla her zaman güç bulduğum sevgili anneme maddi ve manevi desteğini her daim hissettiğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmamı destekleyen Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne (FYL-2023-5824) ve tez çalışmamı 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu sağladıkları maddi destekten dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Behris KILIÇ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR v
SİMGE LİSTESİ ix
KISALTMA LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xi
TABLO LİSTESİ xiii
ÖZET xiv
ABSTRACT xvi
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti ... 1
1.2 Tezin Amacı ... 5
1.3 Hipotez ... 5
2 BİYONANOKOMPOZİTLER 6
3 POLİHİDROKSİALKANOATLAR 9
3.1 PHA'ların Temel Yapısı ve Genel Özellikleri ... 10
3.2 PHA'ların Mekanik Özellikleri ... 11
3.3 Poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV) ... 12
3.4 PHA'ların Biyomedikal Uygulamaları ... 13
3.4.1 Dikişler 14
3.4.2 Yara iyileştirici yamalar/pansumanlar 14
3.4.3 Kalp yamaları 15
3.4.4 Kalp kapakçıkları 15
3.4.5 Stentler 15
3.4.6 Kan damarları 16
3.4.7 Kemik iskeleleri 17
3.4.8 Kıkırdak iskeleleri 17
3.4.9 Sinir kılavuz kanalları 18
3.4.10 İlaç dağıtımı 18
4 HİDROKSİAPATİT (HAP) 20
4.1 Hidroksiapatit (HAP) ... 20
4.1.1 Silisyum (Si) Katkılı Hidroksiapatit (HAP) 21
4.1.2 HAP Katkılı Kompozitlerle İlgili Çalışmalar 22
5 ÇİNKO OKSİT (ZnO) 24

5.1 Çinko Oksit (ZnO)'nun Temel Özellikleri 24
5.2 Çinko Oksit (ZnO)'nun Kristal Yapısı 25
5.3 Çinko Oksit (ZnO)'nun Antibakteriyel Özelliği 26
5.4 Çinko Oksit (ZnO) Katkılı Kompozitlerle İlgili Çalışmalar 27
6 DENEYSEL YÖNTEMLER 29
6.1 Kullanılan Malzemeler 29
6.2 Biyonanokompozitlerin Hazırlanması 30
6.3 Nanokristal ve Biyonanokompozitlerin Karakterizasyonu 33
6.3.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 33
6.3.2 X–Işınları Difraksiyon Spektroskopisi (XRD) 34
6.3.3 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT–IR) 34
6.3.4 Termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TGA–DTA) 34
6.3.5 Dinamik mekanik analiz (DMA) 35
6.4 Biyolojik Analizler 35
6.4.1 Hücre Kültürü 35
6.4.2 MTT tahlili 36
6.4.3 DAPI boyama 36
6.4.4 Antibakteriyel analiz 36
7 BULGULAR ve DEĞERLENDİRME 38
7.1 Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi 38
7.1.1 Nanokristallerin Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi 38
7.1.2 Biyonanokompozitlerin Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi 40
7.2 X Işını Kırınımı (XRD) Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi 44
7.2.1 Nanokristallerin XRD Bulgularının Değerlendirmesi 44
7.2.2 Biyonanokompozitlerin XRD Bulgularının Değerlendirmesi 45
7.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi 47
7.4 Termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TGA–DTA) Bulgularının Değerlendirilmesi 51
7.5 Dinamik Mekaniz Analiz (DMA) Bulgularının Değerlendirilmesi 54
7.6 Biyolojik Analizler 65
7.6.1 Sitotoksisite Taraması Bulgularının Değerlendirilmesi 65
7.6.2 DAPI Bulgularının Değerlendirilmesi 66
7.6.3 Antibakteriyel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi 67

8 SONUÇLAR **70**
KAYNAKÇA **74**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **90**

SİMGE LİSTESİ

θ	Bragg Açısı
T_g	Camsı Geçiş Sıcaklığı
σ	Çekme dayanımı
λ	Dalga Boyu
E'	Depolama Modülü
T_m	Erime Sıcaklığı
GPa	Gigapascal
E"	Kayıp Modülü
tanδ	Kayıp Modülünün Depolama Modülüne Oranı (E"/ E') θ
ε	Kopma Anındaki Uzama
D	Kristal Çapı
T_c	Kristalizasyon Sıcaklığı
M_w	Molekül Ağırlığı
nm	Nanometre
Pa	Pascal
B	Pikin Yarı Yükseklikteki Genişliği (Full Width at Half Max.)
k	Şekil Faktörü

KISALTMA LİSTESİ

DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DMA	Dinamik Mekanik Analiz
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DMEM	Dulbecco'nun Modifiye Edilmiş Eagle Besiyeri
DTA	Diferansiyel Termal Analiz
EDX	Enerji dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FT–IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GRAS	Genellikle Güvenli Olarak Kabul Edilen
HAP	Hidroksiapatit
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
OTR	Oksijen İletim Hızı
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
PCL	Poli (ϵ-kaprolakton)
PHA	Poli(hidroksialkanoat)
PHBV	Poli (hidroksibütirat-ko-hidroksivalerat)
PLA	Poli (laktik asit)
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik asit)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SiHAP	Silisyım Katkılı Hidroksiapatit
TGA	Termogravimetrik Analiz
WVTR	Su Buharı İletim Hızı
XRD	X–Işını Difraksiyon Spektroskopisi
ZnO	Çinko Oksit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3. 1 PHA granüllerinin mikroskobik görüntüsü [84] 9
Şekil 3. 2 PHA'ların genel yapısı [85] 10
Şekil 3. 3 PHBV'nin kimyasal yapısı [91] 12
Şekil 3. 4 PHA'ların biyomedikal uygulamaları 13
Şekil 5. 1 ZnO kristal yapılarının çubuk ve top gösterimi: a) kübik kaya tuzu, b) kübik çinko blend ve c) hekzagonal Wurtzite [140] 25
Şekil 5. 1 ZnO kristal yapılarının çubuk ve top gösterimi: a) kübik kaya tuzu, b) kübik çinko blend ve c) hekzagonal Wurtzite [140] 25
Şekil 5. 2 ZnO'nun hekzagonal Wurtzite yapı modeli [141] 26
Şekil 6. 1 Çift vidalı ekstrüder ve kesiciden elde edilen numuneler 31
Şekil 6. 2 Presleme işleminden elde edilen numune 32
Şekil 7. 1 SiHAP kristallerinin SEM görüntüsü 38
Şekil 7. 2 ZnO ve UNI ZnO kristallerinin SEM görüntüsü 39
Şekil 7. 3 a) PHBV-ZnO5SiHAP0.1, b) PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerine ait SEM görüntüleri 40
Şekil 7. 4 PHBVZnO5SiHAP0.1 biyonanokompozitinin elemental analiz grafiği 41
Şekil 7. 5 PHBVZnO5SiHAP0.1 biyonanokompozitinin elemental analiz görüntüleri 42
Şekil 7. 6 PHBVZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitinin elemental analiz grafiği 43
Şekil 7. 7 PHBVZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitinin elemental analiz görüntüleri.....
Şekil 7. 8 PHBV, SiHAP ve ZnO'ya ait XRD desenleri 45
Şekil 7. 9 PHBV; PHBV-ZnO5, PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerinin XRD desenleri 46
Şekil 7. 10 PHBV ve PHBV-ZnO biyonanokompozitlerinin FT-IR spektrumları 49
Şekil 7. 11 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP biyonanokompozitlerinin FT-IR spektrumları 50
Şekil 7. 12 PHBV ve biyonanokompozitlerin TGA eğrileri. 52
Şekil 7. 13 PHBV ve biyonanokompozitlerin TGA eğrileri. 53
Şekil 7. 14 PHBV ve PHBV-ZnO kompozittlerinin depolama modülü 55
Şekil 7. 15 PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modülünün PHBV'nin depolama modülüne oranı grafiği 56
Şekil 7. 16 20, 37 ve 80 °C için PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerin depolama modülülü 57

Şekil 7. 17 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modülü 59
Şekil 7. 18 PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modülünün PHBV'nin depolama modülüne oranı grafiği 60
Şekil 7. 19 20, 37 ve 80 °C için PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerin depolama modülülü 60
Şekil 7. 20 PHBV ve PHBV-ZnO kompozittlerinin kayıp modülü 61
Şekil 7. 21 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozittlerinin kayıp modülü..... 62
Şekil 7. 22 PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin tan delta eğrileri 63
Şekil 7. 23 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP ve kompozitlerinin tan delta eğrileri 64
Şekil 7. 24 Kompozitlerin hücresel canlılık oranları (%) 66
Şekil 7. 25 Kompozitlerin yüzeylerine ekilen fibroblast hücrelerinin DAPI boyama görüntüleri 67
Şekil 7. 26 Sentezlenen kompozitlerin *E. coli* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin in vitro belirlenmesi 68
Şekil 7. 27 Sentezlenen kompozitlerin *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin in vitro belirlenmesi 69

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1 Çeşitli biyanonokompozitlere ve biyomedikal uygulamalarına örnekler 7

Tablo 3. 1 PHA'ların temel özellikleri [87] 11

Tablo 3. 2 Bazı ticarileşmiş PHA ürünleri 19

Tablo 6. 1 ADmajoris Company (Fransa) tarafından temin edilen PHBV'ye ait özellikler [157] 30

Tablo 6. 2 Pres cihazının çalışma koşulları 32

Tablo 6. 3 Üretilen biyonanokompozitler ve içerikleri 33

Tablo 7. 1 PHBV ve biyonanokompozitler için FWHM, d (Å), D (nm) ve (020)/(040) değerleri 47

Tablo 7. 2 Karşılaştırmalı PHBV FT-IR pikleri 48

Tablo 7. 3 Kristallik indeksi 51

Tablo 7. 4 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP Biyonanokompozitlerinin TGA ve DTA Değerleri. 52

Tablo 7. 5 Farklı sıcaklıklarda ZnO-SiHAP içeren kompozitler için depolama modülündeki yüzde değişim 58

Tablo 7. 6 Farklı sıcaklıklarda Farklı yüzdelerde ZnOSiHAP içeren kompozitler için yüzde kayıp modülü 62

Tablo 7. 7 Kompozitlerin T_g değerleri 64

ÖZET

Biyomedikal Uygulamalar İçin Ekstrüzyon Prosesi Kullanılarak Hibrit Biyonanokompozitlerin Geliştirilmesi

Behris KILIÇ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mualla ÖNER

PHBV poli(3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat), polihidroksialkanoat tipi termoplastik lineer poliesterdir. Bakteriler tarafından doğal olarak üretilir; biyobozunurdur, biyouyumludur ve toksik değildir. PHBV, ambalajlarda, biyomedikal cihazlarda ve kontrollü ilaç salınımında kullanılmaktadır. Hidroksiapatit (HAP), kemiğin ana mineral bileşenidir; biyolojik olarak örneğin mercan, sığır veya deniz yosunundan veya sentetik olarak elde edilir. Mükemmel biyouyumluluk ve biyoaktiviteye, osteokondüktif ve osteoindüktif özelliklere sahiptir. Çinko oksit (ZnO) nanokristalleri, yüksek hacim/alan oranı, yüksek kristal yapısı, yüksek termal iletkenlik, düşük termal genleşme katsayısı, iyi mekanik özellikleri ve antibakteriyel aktivite özelliklerine sahiptir.

Bu çalışmada, ZnO ve silisyum katkılı hidroksiapatit (SiHAP) parçacıklarını içeren PHBV matrisli hibrit biyonanokompozitler eriyik işleme yöntemi ile hazırlanmıştır. ZnO ve SiHAP katkılarının PHBV'nin kristalizasyonu, termal ve mekanik

özellikleri üzerindeki etkileri SEM, XRD, FTIR, TGA ve DMA analizleri ile incelenmiştir. Ayrıca kompozitlerin biyouyumluluk ve antibakteriyel özellikleri de incelenmiştir. Sadece ZnO içeren kompozitlerde, konsantrasyon ağırlıkça %5'e ulaşana kadar depolama modülünde doğrusal bir artış gözlenmiştir. Hibrit kompozitler içinde en yüksek depolama modülü ağırlıkça %5 ZnO ve %0.1 SiHAP içeren nanokompozitlerde görülmüştür.

Biyonanokompozitlerdeki ZnO katkısındaki artış ile antibakteriyel etki artmıştır. Ayrıca ZnO katkısı ile PHBV-SiHAP kompozitlerinin biyouyumluluğunun da arttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada üretilen hibrit biyonanokompozitler mükemmel biyouyumlu, biyoaktif ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalar için umut verici yeni malzeme adayı olarak önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat), hidroksiapatit, çinko oksit, biyomalzeme, biyonanokompozit.

ABSTRACT

Development of Hybrid Bionanocomposites Using Extrusion Process for Biomedical Applications

Behris KILIÇ

Department of Chemical Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mualla ÖNER

PHBV,poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), is a polyhydroxyalkanoate-type thermoplastic linear polyester. Naturally produced by bacteria, it is biodegradable, biocompatible, and non-toxic. PHBV finds applications in packaging, biomedical devices, and controlled drug release.

Hydroxyapatite (HAP), the main mineral component of bone, can be obtained biologically (from coral, bovine, or seaweed sources) or synthetically. It boasts excellent biocompatibility and bioactivity, along with osteoconductive and osteoinductive properties. Zinc oxide nanocrystals possess a high surface area-to-volume ratio, well-defined crystal structure, high thermal conductivity, low thermal expansion coefficient, good mechanical properties, and antibacterial activity.

This study presents a melt processing method for preparing a PHBV matrix hybrid bionanocomposite containing ZnO and silicon-doped hydroxyapatite (SiHAP) particles.

The effects of ZnO and SiHAP additives on the crystallization, thermal, and mechanical properties of PHBV were investigated using SEM, XRD, FTIR, TGA, and DMA analyses. Additionally, biocompatibility and antibacterial properties of

the composites were also investigated. In composites containing only ZnO, a linear increase in storage modulus was observed up to a concentration of 5 wt%. Among the hybrid composites, the highest storage modulus was observed in nanocomposites containing 5 wt% ZnO and 0.1 wt% SiHAP.

The antibacterial effect of the bionanocomposites increased with higher ZnO content. Additionally, the biocompatibility of PHBV-SiHAP composites improved with the addition of ZnO. Consequently, the hybrid bionanocomposites produced in this study show promise as new material candidates for biomedical applications, owing to their excellent biocompatible, bioactive, and antibacterial properties.

Keywords: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), hydroxyapatite, zinc oxide, biomaterial, bionanocomposite.

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Günümüzde artan çevresel kaygı, dünyadaki sürdürülebilirlik kapsamındaki anlaşmalardan doğan baskılar diğer sektörlerde olduğu gibi biyomedikal sektöründe de çevre dostu, sürdürülebilir malzemelere olan talebi arttırmıştır. Bunun sonucu olarak da biyobozunur polimerlere olan ilgi de gün geçtikçe artmaktadır. Küresel biyobozunur tıbbi plastik pazarı, 2020'de yaklaşık 3.1 milyar ABD doları değerine varmıştır. Sektördeki büyümede 2023-2028 yılları arasında %11.9'luk yıllık büyüme oran artışı beklenmektedir [1]. Biyobozunur polimerler, kullanım ömrünü tamamladıktan sonra doğada aerobik ve anaerobik şartlara maruz kalıp mikroorganizmalar ile parçalandığında suya, karbondioksite ve biyokütleye ayrışırlar ve çevreyi kirletmezler. Ayrıca bu polimerlerin in vivo enzimatik ve enzimatik olmayan bozunması insan vücudunda yabancı bir madde bırakmazlar [2,3]. Özellikle implant gibi biyomedikal uygulamalarda biyobozunur polimerler, biyokararlı malzemelerin yerini almaya devam etmektedir. Biyobozunur polimerler, vücuttaki görevlerini yerine getirdikten sonra belli bir sürede bozunarak vücuttan uzaklaştırılmış olurlar ve implantasyon bölgesinde herhangi bir kalıntı izi bırakmazlar. Bununla birlikte malzeme tamamen kaybolduğu için revizyon cerrahisine ihtiyaç duyulmaz. Bu da hastalar için olumlu bir durumdur. Ayrıca biyobozunur malzemeden imal edilen implantlar kademeli olarak bozunurlar; böylece implantasyon bölgesinde uygulanan stresler kademeli olarak iyileşen dokuya aktarılır. Sonuç olarak sabit dokunun zayıflaması önlenir [4]**.** Doğal polimerler, yenilenebilir kaynaklardan elde edilen ekoloji dostu polimerlerdir [5]. Biyouyumluluk, biyobozunurluk, düşük toksisite ve hücre sinyali gibi özellikleriyle biyomedikal uygulamalar için potansiyel oluştururlar. Sentetik polimerlerle karşılaştırıldığında doğal polimerler organize yapıya sahiptir. Bu durum geliştirilmiş hücre canlılığı ve doku iç büyümesi gibi spesifik özelliklerle ilgilidir. Ayrıca, doğal polimerler, daha fazla kimyasal ve enzimatik modifikasyon veya

diğer moleküllerle konjugasyon için mevcut olan birçok fonksiyonel gruba sahiptir; bu özellikleri de işlevselleştirilmeye imkan sağlar [6].

Doğal kaynaklı bir biyobozunur polimer ailesi olan polihidroksialkanoatlar (PHA), hücre mikroorganizmalarında hücre içi karbon ve enerji depolama malzemesi olarak biriken alkanlar, alkenler, alkanoik asitlerin fermantasyonu; lipitler ve şekerlerden çok sayıda Gram pozitif ve Gram negatif bakteri vasıtasıyla üretilen lineer poliesterlerdir [7-9]. Şu zamana kadar 90'ın üzerinde sayıda farklı monomerlerden oluşan PHA türü rapor edilmiştir ve sayısı artmaya devam etmektedir [10]. Sadece PHA'lar %100 biyoparçalanır polimerleri içermektedir. PHA'lar mikroorganizmalar aracılığıyla aerobik şartlarda toprak, deniz, göl ve atık sularda karbondioksit ve suya kadar tamamen parçalanabilmektedirler [8,11]. Tüm biyoplastiklerin üretimi ve kullanımı geleneksel plastiklere göre enerji talebi ve gaz emisyonları açısından daha avantajlı olsa da örneğin; nişasta ve mısır bazlı biyoplastikler, ham maddeleri yetiştirmek için kullanılan gübreler ve kimyasallar nedeniyle toprak asitlenmesi ve yüzey sularının ötrofikasyonuna neden olmaları yüzünden çevre üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Buna karşın PHA'lar, atık malzemelerden üretilebilir ve bu durum onları belirtilen olumsuz etkinin dışında tutar [12-15]. PHA'lar biyouyumlu, biyobozunur olmaları ve güçlü mekanik dayanımla üretilmeleri ve işlevselleştirilmeleri kolay olduğundan, potansiyel biyomalzemeler olarak kabul edilmektedir [16]. Bu biyopolimerler iyi bariyer özelliğine sahiptir ve krem, şampuan gibi kozmetiklerin paketlemesinde, bebek bezlerinde nem bariyeri olarak kullanılır. Biyomedikal uygulamalarına ise dikiş iplikleri, doku bağlayıcı yamalar, implantlar, ortopedik iğneler, yara örtü uygulamaları örnek verilebilir [17-20]. PHA'ların ilk keşfedilen, en yaygın ve en basit formu poli-3-hidroksibutirat (PHB)'dir. PHB'nin kırılganlık, zayıf işlenebilirliği, yüksek kristallik ve erime aşamasındaki kararsızlık gibi düşük fiziksel özellikleri yaygın kullanımını engellemektedir. Bu uygulama sınırlılığını çözmek için geliştirilen 3-hidroksibutirat (3-HB) ve 3- hidroksivaleratın (3-HV) kopolimeri, yani poli (3-hidroksibutirat-ko -3-hidroksivalerat) (PHBV) daha iyi termal davranış, plastisite, tokluk ve biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi üstün özellikleri sebebiyle ilgi çekici PHA üyesi biyoplastik olarak dikkat çekmektedir [9,21-22]. PHBV'nin yapısındaki 3-hidroksibutirat (HB) ve 3-hidroksivalerat (HV)

oranlarının ayarlanmasıyla malzemenin kristal yapısı, mekanik, termal, bozunma özellikleri değiştirilebilmektedir [23]. PHBV'nin PHB'ye göre avantajlı özelliklerine rağmen, zayıf işlenebilirlik ve yüksek kristallik gibi aşılması gereken sınırlamaları da bulunmaktadır. Buna çözüm olarak PHBV'nin özelliklerini geliştirmek ve üretim fiyatını düşürmek amacıyla özellikle nano boyutlu dolgular akademi ve endüstride büyük ilgi çekmektedir. Günümüzde bu dolgu maddeleri ile üretilen PHA nanokompozitleri, petrol bazlı plastiklerin özellikleri ile rekabet edebilecek seviyeye ulaşmıştır [24-26].

Kemiğin ana mineral bileşeni olan $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ formülüne sahip hidroksiapatit (HAP), biyolojik (mercan, sığır veya deniz yosunu türevli) veya sentetik olarak elde edilir. Hidroksiapatit (HAP), biyouyumluluk ve biyoaktivite özelliği istenen polimer nanokompozitlerde kullanılabilecek biyoaktif kalsiyum fosfat dolgu maddelerinden biridir [27]. Mükemmel biyouyumluluk ve biyoaktiviteye sahiptir. Osteokondüktif ve osteoindüktif özellikleri ile allogreftlerin ya da metalik implantların yerine kullanılması durumunda kemik büyümesine ve yenilenmesine destek olmaktadır. HAP, kemik onarımı ve kemik rejenerasyonu için granüller, bloklar ve yapı iskeleleri şeklinde, kendi başına veya polimerlerle veya kompozit olarak kullanılmaktadır. Poli (laktik asit) (PLA), poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi biyolojik olarak parçalanabilen ve biyolojik olarak uyumlu polimerlerin kompozitleri ile sentetik hidroksiapatit nanokristallerinin kemik hücre dışı matrisinin geliştirilmesinde kullanılması ilgi çekmektedir. HAP metal implant yüzeylerini pürüzlendirmek için aşındırıcı olarak; ortopedik ve diş implantları üzerinde biyoaktif kaplamalar oluşturmak için kaynak malzeme olarak; gen taşıma ajanları, ilaç taşıyıcıları ve deri yoluyla kullanılan cihazlar olarak da kullanılabilir [28-32]. Hidroksiapatit ve bozunmayan polimerik malzemelerin (polietilen, polisülfon) kompozitleri iyi mekanik özelliklere sahip olmasına rağmen, hidroksiapatit nanokristallerinin biyouyumluluğunu önemli ölçüde azaltır. Buna çözüm olarak biyobozunur, doğal kaynaklardan sentezlenmiş polimerik malzemeler araştırılmaya başlamıştır [33]. Hidroksiapatitin polimerik yapılara eklenmesinin osteokondüktif özellikleri arttırdığı gözlenmiştir [34]**.** Literatürde hidroksiapatit/polimer içeren birçok kompozit çalışması bulunmaktadır. Hidroksiapatit aljinat, kollajen, kitosan, kitin, polilaktikasit, ipek, selüloz, jelatin

gibi biyopolimer ve polikaprolakton, polivinilalkol gibi sentetik polimerlerle oluşturulan kompozitlerde inorganik faz olarak kullanılmıştır [35-39].

PHBV biyobozunur ve biyouyumlu yeşil bir polimer olarak bu çalışmada üretilen hibrit biyonanokompozitlerin matrisini oluşturmuştur. HAP mükemmel biyouyumlu olmasına rağmen, biyoaktif davranışı, yapısına silisyumun eklenmesiyle daha da geliştirilebilir [40].

Nano boyutlu ZnO, yüksek hacim/alan oranı, yüksek kristal yapısı, yüksek termal iletkenlik, düşük termal genleşme katsayısı, iyi mekanik özelliklere, mükemmel UV engelleme, antimikrobiyal ve antibakteriyel aktivite özelliklerine [41-47]; geniş bir gram-pozitif ve gram-negatif bakteri spektrumuna karşı mükemmel bir antibakteriyel etkiye sahiptir [48]. ZnO, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından "GRAS" (genellikle güvenli olarak kabul edilen) bir madde olarak derecelendirilmiştir. Diğer nano boyuttaki metal oksitlerle karşılaştırıldığında daha az toksik ve daha ucuzdur ve antibakteriyel ve anti-inflamatuar uygulamalarda, antikanser, ilaç salımı, yara iyileşmesi ve biyogörüntüleme gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmıştır [49,50]. Araştırmalara göre nano boyuttaki ZnO mikro boyuttakine kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermektedir [51]. Zhang ve ark., *E. coli* bakterisine karşı yaptıkları çalışma sonucunda çalışmada hem nano boyutlu hem de mikron boyutlu ZnO süspansiyonlarının, her ikisinin de bakteri büyümesini engellediğini ancak nano boyutlu ZnO süspansiyonun, mikron boyutlu ZnO süspansiyonundan çok daha yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [52].

Literatürde nano boyutlu çinko oksit ve polilaktik asit [53-55], ipek fibroin [56], sodyum aljinat [57,58],kitin [59],kitosan [60], gellan ve ksantan sakızı [61], keratin [62], jelatin [63], arap zamkı [63],bakteriyel selüloz [64] gibi biyomalzemelerle; nano boyutlu çinko oksit ve poli(fenilen sülfit) [65], poli(N-İzopropilakrilamid) [66], poliüretan [67],yüksek yoğunluklu polietilen [68],düşük yoğunluklu polietilen [69], polivinil klorür [70] sentetik polimerlerle hazırlanmış birçok kompozit çalışması bulunmaktadır. Yapılan tüm çalışmalarda nano boyutlu çinko oksit için antibakteriyel özellikler (gram pozitif ve/veya gram negatif) kanıtlanmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tezin amacı biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere yenilikçi, faydalı hibrit biyonanokompozitlerin geliştirilmesidir. Geliştirilmiş hibrit biyonanokompozitlerde biyobozunurluk, biyouyumluluk ve antibakteriyel özellikler hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında biyomedikal malzeme geliştirmek amacıyla biyobozunur, biyouyumlu ve antibakteriyel özellik kazandırılmış PHBV/HAP/ZnO hibrit biyonanokompozitleri üretilmiştir.

Hedefe ulaşabilmek amacıyla biyobozunur polimer matris PHBV, biyouyumluluk özelliği ve bu özelliği daha da arttırabilmek için silisyum ile doplanmış hidroksiapatit nanokristalleri ve antibakteriyel özellik için ise çinko oksit nanokristalleri kullanılmıştır.

Üretilen kompozitlerin mekanik ve yapısal özelliklerinin belirlenebilmesi için DMA, EDX, XRD, FTIR, TG, DSC, SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Kompozitlerin toksisitelerinin incelenmesi, biyouyumluluk ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi aşaması için çalışmalar Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarında Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR danışmanlığında Büşra AKGÜL ve Bükre KIRAN ÜNER tarafından gerçekleştirilmiştir. Üretilen kompozitlere maruz bırakılan osteoblast hücrelerinin canlılık oranları MTT yöntemiyle belirlenmiştir. Kompozitlerin yüzeyine ekilen osteoblast hücrelerin malzemeye tutunma kapasiteleri incelenmiş ve hücre morfolojileri DAPI yöntemi ile analiz edilmiştir. *E. coli* ve *S. aureus*, numunelerin antibakteriyel aktivitesini (veya mikrobiyal yapışma önleyici aktivitesini) değerlendirmek için kullanılmıştır.

2
BİYONANOKOMPOZİTLER

Polimer nanokompozitler, doğal veya sentetik bir matris ve matrise gömülü, en az bir tane nanometrik boyutlara sahip ikinci bir fazdan veya katkı/dolgu/takviye maddesinden oluşan malzemelerdir [71,72].

Kompozit malzemelerin ana bileşenini oluşturan sürekli ve esnek faz matristir. Matris malzeme takviye edici malzemeyi bir arada tutar, bu malzemeyi dış etkilerden korur, kompozit yapıyı bütün halinde tutar ve kompozite şekil verir. Matris bileşen, takviye elemanına yük ve kuvvet aktarımında köprü görevi görür, uygulanan yükün dağıtılmasını sağlar; kompozit malzemelerin yapısında meydana gelen gerilmelerin karşılanmasına yardımcı olarak, liflerde meydana gelen çatlama ve kopmaları önleyerek tok bir yapı oluşturur. Ayrıca matris fazı, kompozit yapının fiziki, kimyasal, ısıl özelliklerini ve mukavemetini belirler [73].

Biyonanokompozitler, biyopolimer matris(ler) ve genellikle 1-100 nm boyutunda nanopartiküller, nanotüpler veya nanofiberler şeklinde takviyelerden oluşan kompozit malzemelerdir. Bu kompozitlerde hem biyopolimer matrisin hem de nano boyuttaki katkı malzemelerinin özelliklerini birleştirerek iyileştirilmiş ve yeni geliştirilmiş malzeme özellikleri hedeflenir. Nano dolgular vasıtasıyla geliştirilmiş mekanik mukavemet, antimikrobiyal ve antioksidan özellikler elde edilebilir [74]. Tablo 2.1'de çeşitli biyopolimer ve dolgu malzemelerinden oluşan biyonanokompozit ve biyomedikal uygulamalarına örnekler verilmiştir.

Tablo 2. 1 Çeşitli biyanonokompozitlere ve biyomedikal uygulamalarına örnekler

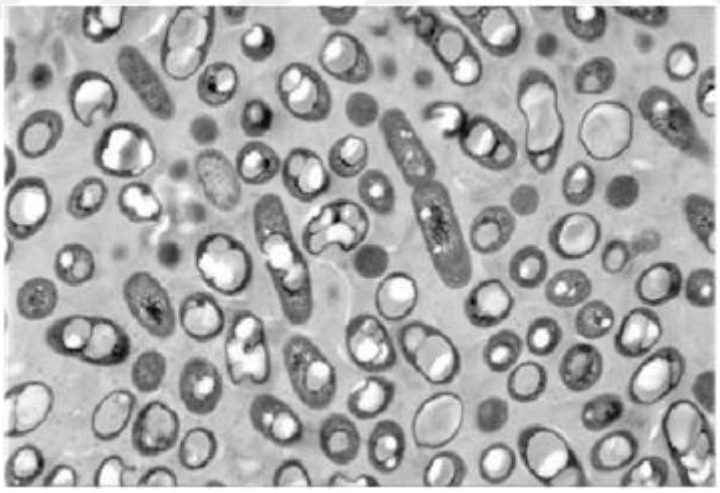
Üretim yöntemi	**Biyopolimer**	**Dolgu Malzemesi**	**Uygulamalar**	**Referans**
Eriyik harmanlama	Poli (ϵ-kaprolakton) (PCL)	Triklosan yüklü polilaktik asit (PLA) nanopartikülleri	Kontrollü ilaç salımı sırasında uzun vadeli antibakteriyel özellik	[75],[76]
Elektro-eğirme	Poli (laktik asit) (PLA)	Amino modifiyeli halloysit nanotüpler	Hemostatik yara iyileşmesi	[75], [77]
Ultrasonikasyon	Polimid	Çinko oksit nanopartiküller	Antibakteriyel aktivite	[75], [78]
Elektron-eğirme, çöktürme	Kitosan	Nano hidroksiapatit	İnsan alveolar bazal epitel hücreleri (A549 hücre hattı) için biyouyumluluk	[75], [79]
Eriyik harmanlama	P (3HB- ko - 4HB)	Montmorillonit (MMT) ve Sepiolit (Sep)	Kontrollü ilaç salınımı	[80]
Elektro-eğirme	(P3HB-ko-12 mol.% HHx)	Yeşil sentezlenmiş grafenle modifiye edilmiş gümüş nanopartiküller	Antibakteriyel uygulamalar, yara örtüsü	[81]
Çözücü dökümü parçacık uzaklaştırma	Poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat)	Grafen oksit nanolevhalar ve karbon nanofiberler	Kontrollü ilaç dağıtımı ve doku mühendisliği	[82]

Bu çalışmada hibrit biyonanokompozit üretimi için matris olarak Poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) takviye olarak silisyum katkılı hidroksiapatit (Si-HAP) ve çinko oksit (ZnO) nanokristalleri kullanılmıştır.

3

POLİHİDROKSİALKANOATLAR

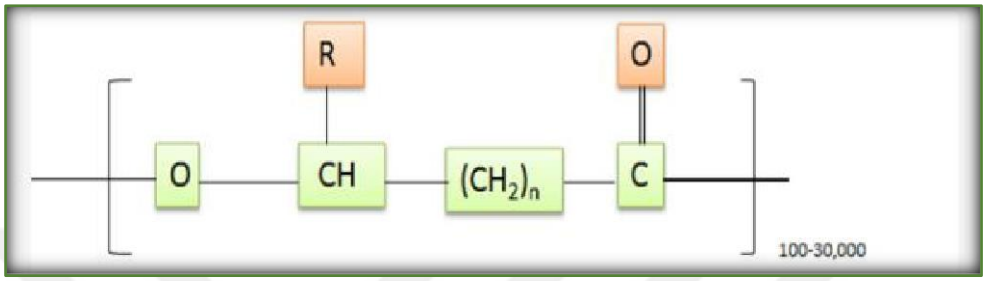
Mikroplar doğada strese maruz kaldıklarında metabolik aktivitelerini manipüle ederek vücutta enerji üretiminde önemli bir rolü olan asetil koenzim A (asetil KoA)'yı polihidroksialkanoatların (PHA'lar) sentezine sebep olacak şekilde yönlendirebilirler [83]. Polihidroksialkanoatlar (PHA), karbon fazlalığı (veya potasyum, oksijen, magnezyum, fosfor) ve diğer besin eksikliği durumunda granüller şeklinde farklı mikroorganizmalar (arkea ve gram pozitif bakteriler, gram negatif bakteriler, fotosentetik bakteriler ve farklı mikroorganizmaların karışımı içeren çeşitli bakteri suşları) tarafından aerobik veya anaerobik olarak biriktirilen biyopolimerlerdir. Şekil 3.1'de polihidroksialkanoat granüllerinin mikroskobik görüntüsü verilmiştir [84].



Şekil 3. 1 PHA granüllerinin mikroskobik görüntüsü [84]

3.1 PHA’ların Temel Yapısı ve Genel Özellikleri

Bir PHA molekülü (R)-hidroksi yağ asidinin monomer ünitelerinden oluşur. PHA'nın temel yapısı Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Birbirine ester bağı ile bağlı olan her bir monomerik ünite bir yan zincir R grubu (doymuş alkil grubu veya doymamış alkil grupları, ikame edilmiş alkil grupları ve dallanmış alkil grupları) içerir [84].



Şekil 3. 2 PHA’ların genel yapısı [85]

PHA'lar, zincire dahil edilen karbon atomu sayısına göre sınıflandırılabilirler: Kısa zincir uzunluğuna sahip PHA'lar 1-5 karbon atomlu monomer; orta zincir uzunluklu PHA'lar 6-14 karbon atomlu monomer ve uzun zincir uzunluklu PHA'lar 14 üzerinde karbon atomlu monomer ihtiva eder. Kısa zincir uzunluklu PHA'lar polietilen veya polipropilen ile benzer özellikler gösterir; yüksek (%60–80) kristalliğe sahiptir; sert ve gevrektir. Orta zincir uzunluklu PHA’lar ise elastomerler ve kauçuklara yakın özellikler gösterir; düşük kristalliğe, düşük cam geçiş sıcaklığına, düşük çekme mukavemetine ve yüksek kopma uzamasına sahiptir [86].

PHA'ların bazı genel özellikleri Tablo 3.1’de verilmiştir ve diğer özellikleri aşağıda sıralanmıştır [84,85,87]:

– Suda çözünmez ve hidrolitik bozunmaya karşı nispeten dirençlidir.

– Geri dönüştürülebilir.

– İyi ultraviyole direnci; zayıf ancak asit ve baz direncine sahiptir.

– Kloroform ve diğer klorlu hidrokarbonlarda çözünür.

– Biyouyumludur.

– Biyolojik olarak parçalanabilirdir.

– Suda çökerek tortularda anaerobik biyolojik parçalanmasını kolaylaştırır.

– Toksik değildir.

– Eritildiğinde geleneksel polimerlere göre daha az 'yapışkandır'.

– Küçük gözenek boyutu, yüzey oranına göre yüksek hacim özelliği gösterir.

Tablo 3. 1 PHA'ların temel özellikleri [87]

Özellik [birim]	**Değer**
T_m [°C]	160–175
X_{cr} [%]	40–60
E [GPa]	1–2
σ [MPa]	15–40
ε [%]	1–15
WVTR [g·mm/m^2 ·gün]	2.36
OTR [cc·mm/m^2 ·gün]	55.12

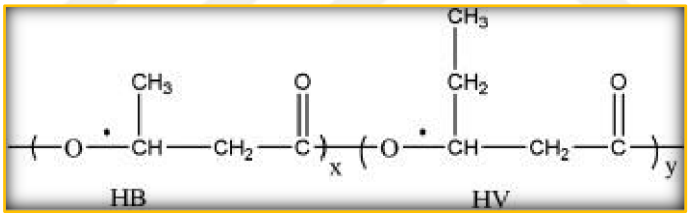
3.2 PHA'ların Mekanik Özellikleri

PHA'ların mekanik özellikleri monomerik bileşime, zincir uzunluğuna ve R grubu ile ester bağı arasındaki mesafeye bağlıdır. Poli (3-hidroksibutirat), kısaltılmış gösterimi P3HB, kısa zincir uzunluğuna sahiptir. Ekstrüde edilebilir, kalıplanabilir, elyaf ve film haline getirilebilir. Çekme modülü 3.5 GPa, çekme mukavemeti ise 40 MPa'dır. Kopma uzaması %6'dır ve sert olarak tanımlanabilir. Oksijen bariyeri özelliği iyidir [86]. Poli (4-hidroksibutirat)'ın çekme modülü 0.15 GPa, çekme dayanımı 104 MPa'dır ve polietilene eşdeğer çekme dayanımına sahiptir. Esnek, dövülebilir bir malzemedir. Her ikisi de kısa zincir uzunluğuna sahiptir ve zincirlerinde eşit sayıda karbon bulunmasına rağmen, R grubundaki pozisyon farklılıklarından dolayı 3B yapılarında, polimer kristalliğinde ve mekanik özelliklerinde farklılık gösterir [86].

3.3 Poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV)

Bilim insanları kopolimerler oluşturarak PHB'nin özelliklerini iyileştirmeyi hedeflemişlerdir. Buna örnek poli(3-hidroksioktanoat) kopolimeri verilebilir. PHBV, (3HV) monomerlerinin P(3HB) biyopolimerine dahil edilmesiyle ortaya çıkan bir kopolimerdir. Bir kopolimerin özgül özellikleri, içerdiği monomerlerin miktarları tarafından belirlenir. Bununla ilintili olarak PHBV'nin mekanik ve termal özellikleri kopolimerdeki 3-Hidroksivalerat (3HV) birimlerinin konsantrasyonuna bağlı olarak değişebilir. 3HV'nin monomer içeriği daha yüksek olduğunda, daha düşük kristalliğe dolayısıyla artan esnekliğe, mukavemete ve kopmada uzamaya ve erime noktasında düşüşe neden olur [88,89].

PHBV, PHB'ye kıyasla daha düşük erime noktası ve iyileştirilmiş mekanik özellikler daha düşük kristallik, daha az kırılganlık özelliklerine sahiptir. Ayrıca PHB'ye göre PHBV valerat yüzdesi arttıkça daha fazla biyobozunurluk, daha düşük erime ve cam geçiş sıcaklığı özellikler göstermiştir [90]. Şekil 3.3'te PHBV'nin kimyasal yapısı gösterilmiştir.



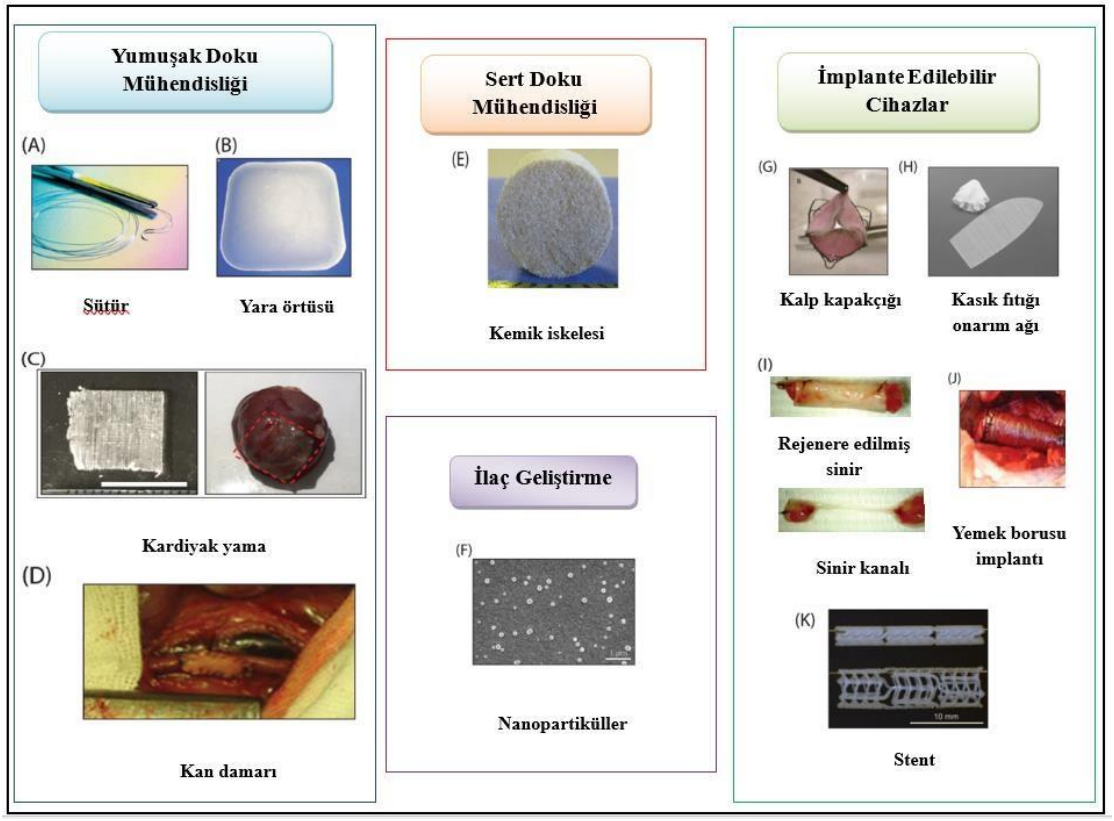
Şekil 3. 3 PHBV'nin kimyasal yapısı [91]

PHBV biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir polimerdir. Biyolojik kökenli oluşu, emilim yeteneği, düşük sitotoksisite, piezoelektriktik ve termoplastisite gibi özellikleri PHBV'yi özellikle biyomedikal uygulamalarda; kardiyovasküler stentlerin üretimi , ilaç salınımı ve taşıma sistemleri , emilebilir cerrahi dikişler ve tıbbi ambalajlar, doku mühendisliği , doku yamaları, biyolojik olarak parçalanabilir implantlar, biyosensörler gibi uygulama alanlarında ilgi çekici malzeme adayı kılar. Tüm bu özelliklerine rağmen yüksek üretim maliyeti, toksik çözücülerin kullanımı ve mikrobiyal kontaminasyon riski bu polimerin kullanımını

sınırlandırmaktadır. Bilim insanları PHBV'nin pazardaki payını büyütmek için daha yüksek miktarlarda PHBV biriktirebilen yeni mikrobiyal suşlar bulmak, daha verimli fermantasyon yolları geliştirmek ve üretim maliyetleri düşürecek diğer parametreler üzerinde çalışmaktadır [90]. PHBV'nin diğer dezavantajları hidrofobikliği, yüksek kırılganlığı, düşük darbe direnci ve zayıf termal kararlığıdır. Bilim insanları bu polimeri diğer polimerler, doğal lifler, nanometaller, nano-selüloz, karbon nanotüpler ve diğer dolgu malzemeleri ile bir araya getirerek PHBV'nin özelliklerini iyileştirmeyi amaçlamışlardır [88,90].

3.4 PHA'ların Biyomedikal Uygulamaları

PHA'ların biyomedikal uygulamaları Şekil 3.4'te gösterildiği gibi dört ana alt grupta toplanabilir: yumuşak doku, sert doku, ilaç dağıtımı ve tıbbi cihazlar [92].



Şekil 3. 4 PHA'ların biyomedikal uygulamaları

3.4.1 Dikişler

PHA bazlı dikişler biyouyumlu ve biyobozunurdur. Bununla birlikte yüksek çekme mukavemetleri ve iyi kavrama ile kolayca bağlanabilmeleri gibi özellikleri sebebiyle de tercih edilmektedir.Ticarileşmiş PHA bazlı cerrahi dikiş malzemesine örnek olarak 4-hidroksibutirat bazlı emilebilir sütür (TephaFlex) , PHB bazlı Phantom Fiber™ (Tornier Co., Amsterdam, Hollanda), MonoMax® (Braun Surgical Co., Melsungen, Almanya)) ve TephaFlex® (Tepha Inc., Lexington, MA, ABD), GalaFLEX (Galatea Corp., Lexington, MA, ABD) ve Tornier® (Tornier Co., Amsterdam, Hollanda) verilebilir [92-94].

3.4.2 Yara iyileştirici yamalar/pansumanlar

Yapılan çalışmalarda in vitro testler sonucunda, PHA'ların fibroblast ve epidermal hücre çoğalması ve göçünü teşvik ederek daha iyi yara iyileşmesini desteklediği görülmüştür [92]. PHA'ların yara örtüsü olarak kullanımına poli (3-hidroksibutirat-ko -4-hidroksibutirat) /kollajen peptit yapısı ile yapılan çalışma örnek gösterilebilir. Bu yapının üzerinde büyütülen fare fibroblast hücreleri (L929) kullanılarak yapılan in vitro çalışma sonuçları hücre çoğalmasında artış olduğunu göstermiştir. Hayvan modeli (Sprague Dawley sıçanları) kullanılarak yapılan in vivo çalışma test sonucunda ise nanofiber bu peptit yapısının yara kasılmaları üzerinde etkili olduğu ve yara kapanma yüzdesinin %79'e ulaştığı gözlenmiştir [95]. Kalakoğlu Altan ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmada poli (3-hidroksibutirat) ve poli (3-hidroksioktanoat- ko -3-hidroksi dekanoat) karışımı elektro-eğirme tekniğiyle nanofiberler şeklinde üretilmiştir. Elde edilen nanofiberlerin yüzeyi daldırma kaplama yöntemi ile gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) ile modifiye edilmiştir. Modifiye edilmiş nanofiberler insan cildinin dış tabakasını oluşturan hücrelerde (HaCaT hücreleri) cildin doğal bağışıklık yanıtında önemli bir antimikrobiyal peptid olan beta defensin 2'nin ve sitokeratinin (keratine ait yapısal protein) hücre içinde işlevselleştirilmesi sürecini uyarma yeteneğini göstermiştir. Bu protein epitel hücrelerin şekil, dayanıklılık ve stabilitesini sağlaması açısından önemlidir. Bununla birlikte nanofiberlerin in vitro iyi hücresel uyumluluk ve bağışıklık sistemini düzenleme veya değiştirme özellikleri de gösterdiği bildirilmiştir [96]. Tüm bu sonuçlar poli (hidroksialkanoat)ları yara örtüsü uygulamaları için dikkat çekici adaylar yapmıştır.

3.4.3 Kalp yamaları

Yetişkin insan kalp kası dokusunu taklit eden PHA bazlı bu yamalar özellikle kalp krizinden sonraki tedavi sürecinde umut vaat etmektedir [92]. Yenidoğan sıçanlardan izole edilen ve kalbin karıncıklarından elde edilen kalp kası hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmanın sonucu katkısız poli(3-hidroksi oktanoat) kalp yamalarının hücre canlılığı, çoğalması ve yapışması bakımından biyouyumluluğunun kolajen kadar iyi olduğunu göstermiştir. Sonuçlara göre yamalara gözenekli ve lifli yapılar dahil edildiğinde gelişmiş hücre yapışması ve çoğalma özellikleri gözlenmiştir. Ayrıca gözeneklilik arttıkça vücut sıcaklığında (37 °C) 1.5 ± 0.4 MPa olan Young modülü 0.41 ± 0.03 MPa 'ya düşerek yetişkin insan miyokardının aralığına (0.02 ± 0.05 MPa) yerleşmiştir. Gözenekli yama için %447 ± 5'lik bir kopma uzaması ile kalp kasının sürekli kasılması ve gevşemesine dayanabilme yeteneği kazanmıştır [97].

3.4.4 Kalp kapakçıkları

Kaplama olarak kullanılan PHA'lar, doğal doku kullanılarak aynı türler içerisinde farklı bireyler arasında ya da farklı türler arasında yapılan organ/doku nakli sonrasında gözlenen bağışıklık tepkilerini önler [92]. Sodian ve çalışma arkadaşları yaptıkları bir çalışmada üçlü yaprakçık kalp kapakçığı iskeleleri uygulamalarında kullanılmak üzere gözenekli matris oluşturmak amacıyla poli (hidroksialkanoat) (PHA) ve poli-4-hidroksibutiratı (P4HB)'yi tuz süzme tekniğiyle modifiye etmişlerdir [98]. Elde edilen sonuçlara göre PHA ve P4HB bazlı dokular cerrahi uygulamalar için dikkate değer fizyolojik sınırların üstünde mekanik dayanıklılık göstermiştir. Ayrıca PHA ve P4HB'nin önemli miktarda hücre bağlanması ve hücre dışı matris oluşumu gösterdiği bildirilmiştir.

3.4.5 Stentler

PHA stentlerinde, biyolojik olarak emilebilirlikleri nedeniyle damar tıkanıklığı tedavisi sonrası tekrar daralma veya tıkanma derecesi daha düşük oranlardadır [92]. Yapılan bir çalışmada poli-L-laktit/poli-4-hidroksibutirat (PLLA/P4HB) stentler ve kalıcı 316L stentler 10 evcil domuzun beyne oksijenli kan taşıyan iki ana arter olan karotid arterine cerrahi kesi yapılmadan (endovasküler olarak) implante edilmiştir.

İmplantasyondan 4 hafta sonra sonuçlar değerlendirildiğinde PLLA/P4HB stentlerinin kalıcı 316L paslanmaz çelik stentlerle aynı koşullara kıyasla oral atorvastatin ilacıyla birlikte kullanıldığında daha düşük derecede damar daralması ile sonuçlandığı belirtilmiştir [99]. Basnett ve ark. çözücü döküm yöntemi ile hazırladıkları poli (3-hidroksioktanoatat) / poli(3-hidroksibutirat) karışım filmleri katkısız P(3HO) ile karşılaştırdıklarında kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan vasküler endotel hücre hattı olan HMEC-1 hücreleriyle artan biyouyumluluk gösterdiklerini not etmişlerdir [100]. Ayrıca bu karışım filmlerin mekanik özelliklerinin, kopma anındaki uzama değerinin koroner arterin kopma anındaki uzama değeri olan %10 aralığında olduğu görülmüştür. Endotel hücrelerinin yeni damarlar veya hasar görmüş damarların yüzeyinde yeniden büyümesi ve düzenlenmesi sürecini doğrulamak için yüzey hücresi çoğalması ve hayvan çalışmalarını sürdürmüşlerdir. Young modülü ve çekme mukavemeti değerlerinin lifler veya dolgu maddeleriyle güçlendirilmesini tavsiye ederek bu P(3HO) /P(3HB) karışım filmleri stent implantasyonu için potansiyel ilgi çekici malzeme adayı olarak sunmuşlardır [100].

3.4.6 Kan damarları

PHA bazlı bu yapılar eriyik ekstrüzyon yöntemiyle üretilir; doku mühendisliği ile üretilen kan damarları veya doğuştan gelen hastalıklarda veya damar duvarında oluşan baloncuk şeklindeki genişleme onarımında kan damarı kanalları olarak uygulamaları gelecek vadetmektedir [92]. Poli(3-hidroksioktanoat) /bakteriyel selüloz nanofiber biyonanokompozitlerinin eriyik harmanlama yöntemi ile hazırlandığı çalışmada PHO'ya ağırlıkça %3 BC eklenmesi ile polimerin 25°C'de termal kararlılığının iyileştirildiği ve Young modülünün %76 ve çekme mukavemetinin %44 arttığı gözlenmiştir. Ek olarak, biyouyumluluk çalışmasında, ağırlıkça %3 oranında BC içeren PHO/BC nanokompoziti için bağışıklık tepkisinin görülmediği belirtilmiştir. Buna göre bu biyonanokompozitin doku mühendisliğiyle üretilen kan damarlarının in vivo uygulaması için yüksek uygulanabilirliğini kanıtlamıştır [101].

3.4.7 Kemik iskeleleri

PHA'lar, osteoblast yapışmasını ve çoğalmasını destekler. Böylelikle kemik rejenerasyonunu destekleyerek büyük kemik kırıklarındaki kaynamama sorununu çözer [92]. Kemik rejenerasyonu uygulamaları için yapılan bir çalışmada P(3HB) ve (3-hidroksioktanoat, 3-hidroksiheksanoat ve 3-hidroksidodekanoat) monomerlerinin ko-polimerleşmesi sonucu oluşan kopolimer matrisli selenyum ve stronsiyum katkılı hidroksiapatit ile yüklenmiş (Se-Sr-HAP) kompozitler çözücü dökümü yöntemi ile hazırlanmıştır. Burada HAP, doku uyumunu, osteoblast yapışmasını ve çoğalmasını desteklemektedir. HAP'nın fiziko-kimyasal, biyolojik ve mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla yapıya selenyum dahil edilmiştir. Literatürde selenyumun kullanımı sitotoksik etkilerle de ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada kompozitlerin toksisitesini dengelemek için stronsiyum ile ikili dolgu malzemesi olarak kullanılmıştır.

Takviye ile hem poli (3HB) hem de poli (3HO-ko-3HD-ko-3HDD) matrisli kompozitlerde doku uyumunun, osteoblast yapışması ve çoğalmasının desteklendiği görülmüştür. Ayrıca takviyeli kompozitlerde 24 saate kadar *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivitete gösterdiği bildirilmiştir [102]. Galego ve ark. çalışmalarında temin ettikleri farklı miktarlarda hidroksivalerat (HV) (%0, %8, %12 ve %24) içeren beta-hidroksibütirat beta-hidroksivalerat poli (βHB -ko- βHV) kopolimeri ve 0.1 mm parçacık çapındaki sentetik hidroksiapatit (HAP)'ı kullanarak ve belirli işlemlerden geçirerek toz PHAs/HAP kompozitleri elde etmişlerdir. Çalışma sonuçları kompozit poli (β HB-ko-8% β HV) /HAP'nın (%30 ağ. /ağ.) insan kemiğine benzer büyüklükte mekanik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara göre poli (β HB-ko-8% β HV) /HAP (%30 ağ. /ağ.) kompozitinin kırık fiksasyonunda implant malzemesi olarak dikkat çekici biyomalzeme olabileceğini vurgulamışlardır [103].

3.4.8 Kıkırdak iskeleleri

Mevcut bir çalışmada poli(3-hidroksibutirat) /poli(3-hidroksioktanoat)'ın farklı karışımları içeren iskeleler elektroeğirme yöntemi ile hazırlanmıştır. Sertlik, bozunma oranları ve biyouyumluluk açısından kompozitler optimize edildiğinde 1:0.25 poli(3-hidroksibutirat) /poli(3-hidroksioktanoat) oranına sahip iskelelerin

eklem kıkırdağını en iyi taklit eden kompozit bileşim oranı olduğu sonucuna varılmıştır [92].

3.4.9 Sinir kılavuz kanalları

P(3HO) gibi orta uzunlukta zincire sahip PHA'lar doğal sinir dokusuna yakın mekanik özellikler sergiler. Kısa zincir uzunluğuna sahip PHA'lar ise iyi ölçüde biyouyumluluk, işlenebilirlik ve biyolojik geri emilim gösterirler. Her iki zincir uzunluğuna sahip PHA'ların ile sinir kılavuz kanalları olarak kullanımı konusunda yapılan çalışmalar 30 mm'den büyük boşluklara sahip sinir yaralanmaları için umut verici sonuçlar doğurmuştur [92]. 75:25 poli (3-hidroksioktanoat) /poli(3-hidroksibutirat) karışımından elde edilen içi boş sinir kılavuz kanalları ile ilgili bir çalışmada üretilen sinir kılavuz kanalları hasar görmüş periferik sinirlerin (merkezi sinir sisteminin dışında bulunan sinirler) onarımı için uygun esnekliğe sahip bulunmuştur. RT4-D6P2T sıçan Schwann hücre hattı (sıçanların periferik sinir sistemi hücrelerinden türetilmiş bir hücre hattı) kullanılarak yapılan in vitro hücre çalışmaları, malzemenin hücre çoğalmasını ve yapışmasını devam ettirebildiğini doğrulamıştır. Ayrıca üretilen bu malzemenin 7. haftadan itibaren otogreft ile benzer motor iyileşme gösterdiğini gösterdiği gözlenmiştir. Bu malzeme gelecekte daha uzun sinir boşluklarını onarmak amacıyla sinir greftlerini tasarlamak ve geliştirmek için mükemmel bir iskele sağlayabilir [104].

3.4.10 İlaç dağıtımı

Seçilen bir terapötik ajanı kapsüllemek veya kontrollü bir şekilde vücuda salınmasını sağlamak için PHA bazlı mikroküreler/nanoküreler kullanılabilir. Ayrıca vücuttaki belirli bölgeleri hedefleyecek şekilde modifiye edilebilirler [92]. Yapılan bir çalışmada β-trikalsiyum fosfat (β-TCP) ve poli (3HO)'dan oluşan kompozite anti-inflamatuar ilaç diklofenak ile yüklenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre diklofenak yüklü kompozitlerin kontrollü ve sürekli ilaç salınımı göstermekle beraber gelişmiş mekanik özelliklere de sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kompozit iskeleler, MC3T3-E1 fare pre-osteoblast hücreleri (kemik yapıcı hücrelerin erken aşaması) ile mükemmel biyouyumluluk gösterdiği gözlenmiştir [105]. Tablo 3.2'de ticarileşmiş bazı PHA ürünlerine ve biyomedikal uygulamalarına örnekler gösterilmiştir [92,106,107].

Tablo 3. 2 Bazı ticarileşmiş PHA ürünleri

Cihaz adı	Genel isim	Biyomedikal uygulama	Şirket	Referanslar
TephaFLEX® emilebilir sütür	Emilebilir dikiş	Dikiş atma	Tepha A.Ş.	[92]
TephaFLEX® cerrahi Film	Ameliyat filmi	Çeşitli cerrahi prosedürler için doku destek membranı	Tepha A.Ş.	[92]
Model 3000 AxyaLoop™ titanyum kemik ankrajı	Kemik çapası	Yumuşak dokuyu kemiğe bağlamak, örneğin rotator manşet onarımı	Axya Tıbbi A.Ş.	[106]
Aesculap®/MonoMax® emilebilir sütür	Biyoemilebilir dikiş	Dikiş atma	Braun A.Ş.	[106]
TephaFLEX® ağ	PHA malzeme ağı	Rekonstrüktif cerrahide kullanım için yumuşak doku takviyesi Fıtık onarımı Geçici yara desteği	Tepha A.Ş.	[106]
Phasix™ tamamen emilebilen ağ	Poli-4-hidroksibutirat (P4HB)	Fıtık onarımı, yumuşak doku onarımı	CR Bard A.Ş.	[106]
BioFiber ™ iskele	Poli-4-hidroksibutirat (P4HB)	Omuz kas (Rotator Manşet) yırtığı manşet onarımını güçlendirme	Tornier A.Ş.	[107]
MonoMax ® sütür	Poli-4-hidroksibutirat (P4HB)	Ekstra uzun süreli sentetik emilebilir monofilament bir dikiş	B. Braun Surgica	[106]
GalaFLEX ™ ağ iskele	Poli-4-hidroksibutirat (P4HB)	Plastik ve rekonstrüktif cerrahide kullanım dahil olmak üzere yumuşak doku takviyesi,güçlendirilmesi,yükseltilmesi	(Galatea Surgical, Inc., Lexington, MA)	[106]

4
HİDROKSİAPATİT (HAP)

Kalsiyum fosfat esaslı malzemeler, 0.5–2 aralığında Ca/P mol oranına sahiptir. Bu tür biyomalzemeler diş hekimliği, ortopedi ve kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu uygulamalarında ihtiyaç duyulan malzemelerdir [108].

4.1 Hidroksiapatit (HAP)

Hidroksiapatit, ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2)}$ formülüne ve 1.67'lik bir Ca/P oranına sahip kalsiyum fosfat içeren bir hidroksittir [109]. Apatit, kalsiyum fosfat sınıfı mineraller için kullanılan genel isimdir ve genel formülü $A_4B_6(MO_4)6X_2$'dir. Burada A ve B canlı dokuda kalsiyum, MO_4 fosfat grubu ve X apatit yapısındaki OH^- grubunu gösterir [107]. HAP'ın en sık karşılaşılan kristal yapısı altıgendir ve a = b = 9.432, c = 6.881 A˚ ve 120° açılı kafes parametreleriyle P63/m uzay grubu simetrisine sahiptir [110].

Sentetik HAP stokiyometrik bir malzeme iken; kemiğin mineral bileşeni ise Ca (~%24 ağırlık), P (~% 10 ağırlık), proteinler (~% 22 ağırlık) eser miktarda Na^+, Zn^{2+}, Mg^{2+}, K^+, Si^{2+}, Ba^{2+} F^-, CO_3^{2-} gibi iyonları içerir ve stokiyometrik değildir [107]. Bu iyonlar kemik metabolizmasıyla bağlantılı çeşitli biyokimyasal reaksiyonları doğrudan etkiler; kemiğin biyolojik özelliklerini iyileştirmede önemli etkiye sahiptir. Ayrıca HAP'ın antibakteriyel aktivitesini arttırmada da önemli role sahiptir [108,111].

Sentetik HAP katı hal sentezi, kimyasal çökeltme, hidrotermal işlem, mikrodalga ışınlaması, sol-jel yaklaşımını içeren çeşitli yöntemlerle üretilebilir. Sentez yöntemleri safsızlık içerme, nispeten yüksek maliyet gibi dezavantajlara sahiptir. Bununla birlikte doğal HAP'daki kemik metabolizmasında önemli role sahip eser minerallerden de yoksun olması sebebiyle araştırmacılar HAP'ı doğal kaynaklardan elde etmenin yolunu aramışlardır. Balık kılçıkları, sığır kemikleri gibi doğal kaynaklar doğal HAP elde etmek için araştırma kaynağı olmuştur. Doğal olarak elde edilen hidroksiapatit sentetik yöntemlerle elde edilene göre daha ekonomik ve çevre dostudur. Ayrıca biyolojik kökenli bu kaynaklar, malzemenin hayvan kemik

dokusunun doğal mimarisini muhafaza etme imkanı tanır [111,112]. Doğal olarak elde edilen HAP, üstün biyouyumluluk özelliği ve toksik olmaması sebebiyle; biyoaktivite, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve osteokondüktivite özellikleriyle; doku mühendisliği için iskeleler, kemik ve diş dolgu malzemeleri, metalik implantlar için kaplamalar gibi uygulamalar için ilgi çekici malzemelerdir. HAP kompozitlerde biyouyumlu faz/takviye, metal implantlar üzerindeki kaplamalar ve insan dokularına doğrudan dahil edilmek üzere granüler dolgu olarak kullanılabilir [111]. Hem doğal kaynaklardan hem de sentetik yöntemlerle elde edilen hidroksiapatit biyoaktif ve biyouyumludur [108,113]. HAP ayrıca gaz sensörleri, katalizörler, lazerler için konak malzemesi ve bitki yetiştirme substratları gibi farklı uygulamalar için de detaylı bir şekilde araştırılmıştır [114].

Sentetik HAP'ın biyolojik etkinliğini geliştirmek için iyon ile ikamesi yapılabilir. Metalik tek değerlikli (Na^{+}, K^{+}, Ag^{+}, Li^{+}), iki değerlikli (Mg^{2+}, Sr^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}) ve üç değerlikli katyonlar (Al^{3+}, Ga^{3+}, Bi^{3+}, Fe^{3+}, Y^{3+}, La^{3+}) kalsiyum iyonlarının yerine geçebilirken metalik olmayan anyonlar F^{-}, Cl^{-}, CO_3^{2-} SiO_4^{4-}, CO_3^{2-}, BO_3^{3-}, HPO_4^{2-}, SO_4^{2-}, SeO_3^{2-}, SeO_4^{2-}, ve PO_4^{-3} HAP'ın fosfat ve hidroksil gruplarını ikame edebilir. Hidroksiapatit Ag^{-}, Li^{-}, Cu^{-}, Mn^{-}, Se^{-} ve Ce^{-} ikameleri ile antibakteriyel özellik; Co, Cu, Sr, Mg, B ve Si katkıları ile yeni kan damarlarının oluşumunu destekleme özelliği; Co^{-} ve Fe^{-} takviyeleri ile de manyetik özellikler kazanabilir. Fazla büyük iyonlar genellikle kafes parametrelerini genişletir ve HAP yapılarını dengesizleştirir [115].

4.1.1 Silisyum (Si) Katkılı Hidroksiapatit (HAP)

Silisyum, hayvanlarda bulunan eser elementtir. Doğal kemik için 15–500 ppm silisyum konsantrasyonu iyi değer aralığıdır [116]. Bazı araştırmacılar Si veya SiO_4^{4-}'ün P veya PO_4^{3-} ile yer değiştirmesi neticesinde yük dengesinin kaybolduğunu varsaymışlardır. Bununla ilintili olarak silisyum katkılamasının hidroksiapatitin biyoaktivitesini artırmanın bir yolu olduğu söylenmiştir [117]. Yapılan birçok çalışma Si katkısının HAP'ın in vitro veya in vivo biyoaktivitesini iyileştirdiğini; stokiyometrik HAP'a nispeten in vitro ve in vivo kemik rejenerasyon özellikleri ve hücre çoğalma kabiliyetinin arttığını göstermiştir. Silisyum katkısı kemik oluşumunu ve kalsifikasyonunu destekleyebilir. Bununla birlikte silisyumun kemikle ilgili dokuların büyümesi ve gelişimi için gerekli olduğu bildirilmiştir

[118,119]. Burada dikkat edilmesi gereken nokta silisyum katkılı hidroksiapatitin termal dengesizliğe uğramaması gerektiğidir. Termal stabilite, sinterleme sırasında Si-HAP'ın istenmeyen ikinci fazlara ayrışmasını önlemek amacıyla önemlidir [117,118]. Ayrıca daha yüksek oranda Si katkısı Si katkılı HAP'ın kristalliğini etkileyebilir ve amorf faz miktarını arttırabilir [116].

Gibson ve ark. yaptıkları çalışmada [120] stokiyometrik HAP ve ağırlıkça %0.8 ve %1.6 oranında silisyum katkılı hidroksiapatit (Si-HAP)'ların apatit oluşturma yeteneğini incelemek amacıyla bu numuneleri Simüle Edilmiş Vücut Sıvısına (SBF K-9) daldırmıştır. AlamarBlueTM testi sonuçlarına göre, osteoblast hücre aktivitesinin ağırlıkça %0.8 ve %1.6 oranında Si katkısı içeren ikameli HAP'larda stokiyometrik hidroksiapatite nispeten daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [120,121].

Patel ve ark. tarafından yürütülen in vivo çalışmada [122] katkısız HAP ve ağırlıkça %0.8 oranında silisyum ikameli HAP (Si-HAP) karşılaştırıldığında Si-HAP için kemik büyüme yüzdesinin yaklaşık %37.5 saf faz HAP'tan %22.0 daha fazla olduğu, ayrıca kemik/implant kaplama yüzdesinin SiHAP için %59.8 HAP'a %47.1 kıyasla önemli ölçüde daha fazla olduğu tespit edilmiştir [121,122].

4.1.2 HAP Katkılı Kompozitlerle İlgili Çalışmalar

Sultana ve Khan'ın yürüttüğü bir çalışmada [123], PHBV'ye osteokondüktif özellikler kazandırmak amacıyla nano boyutlu hidroksiapatit (nHAP) katkısı içeren nanokompozit emülsiyon dondurma/dondurarak kurutma yöntemi ile üretilmiştir. Analiz sonuçlarına göre hem PHBV hem de nHAP/PHBV iskeleler 37°C'de hidrolitik bozunmaya uğramıştır. Ayrıca kompozit iskelelerin kontrollü gözenekliliğe ve osteokondüktif özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir. Raşoga ve arkadaşları, çalışmalarında [124] matris destekli darbeli lazer buharlaştırma (MAPLE) tekniği ile PHBV ve ticari bazlı kalsiyum fosfatlar, hidroksiapatit ve β-trikalsiyum fosfat bazlı kompozitler üretmişlerdir. Çalışma sonucunda mezenkimal kök hücrelerin (MSC'ler) herhangi bir morfolojik değişime uğramadan PHBV/HAP kompozit kaplamalarına başarılı bir şekilde yapışıp yayıldığı görülmüştür. Bununla birlikte bu kompozitin kaplamanın in vitro osteojenik farklılaşma sırasında hücre büyümesini desteklediği de bildirilmiştir. Öner ve ark.'nın çalışmasında [125]

poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalat) ve farklı yüzdelerde hidroksiapatit (HAP) içeren kompozitler eriyik harmanlama tekniği ile film halinde elde edilmiştir. Kompozitler hem katkısız hem de yüzeyi silan ile modifiye edilmiş hidroksiapatit ile hazırlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, %5' e kadar artan silan modifiyeli hidroksiapatit takviyeli kompozitlerin çekme dayanımı ve Young modülü artış göstermiştir. Ayrıca silan modifiyeli HAP'ın, katkısız HAP'a kıyasla çekme özelliklerinde daha fazla iyileşmeye katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Silan modifikasyonunun, matris PHBV ile dolgu maddesi HAP arasındaki etkileşimi geliştirdiği ve böylece mekanik özellikleri iyileştirdiği bildirilmiştir. Jack ve arkadaşlarının çalışmalarında nano boyutlu hidroksiapatit (HAP)/(PHBV) polimer kompozit iskeleler modifiye edilmiş termal olarak indüklenen faz ayırma tekniği ile üretilmiştir [126]. Elde edilen sonuçlara göre, nano HAP ile HAP polimerin mukavemeti ve sertliğinin artış gösterdiği ve biyoaktivitenin iyileştiği bildirilmiştir. Cool ve ark.'larının çalışmasında [127] PHBV'nin nano boyutlu hidroksiapatit (HAP), kalsine hidroksiapatit (cHAP) ve β-trikalsiyum fosfat (β-TCP) ile kompozitleri hazırlanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, HAP/PHBV kompozitleri cHAP/PHBV ve β -TCP/PHBV kompozitleriyle kıyaslandığında daha gelişmiş biyolojik aktivite göstermiştir. Bu durumun, nano boyutlu hidroksiapatitin daha büyük yüzey alanına sahip olması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca osteoblastların farklılaşması açısından incelendiğinde tüm kompozitlerde osteoblastların farklılaşmasının gözlendiği ancak HAP katkılı kompozitlerin diğer kompozitlerden daha güçlü farklılaşma gösterdiği bildirilmiştir. Lü ve çalışma ark.'larının çalışmalarında [128], hizalanmış ve rastgele yönlendirilmiş nanofiberlerden yapılmış 3D PHBV/HAP iskeleleri elektron döndürme tekniğiyle üretilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sıçan kemik iliğinden türetilen bağ dokusu kök hücrelerinin osteoblastlara farklılaşmasının desteklediği bildirilmiştir.

5

ÇİNKO OKSİT (ZnO)

Bu bölümde üretilen biyonanokompozitlere antibakteriyel özellik kazandıran çinko oksidin temel ve antibakteriyel özelliklerine yer verilmiştir.

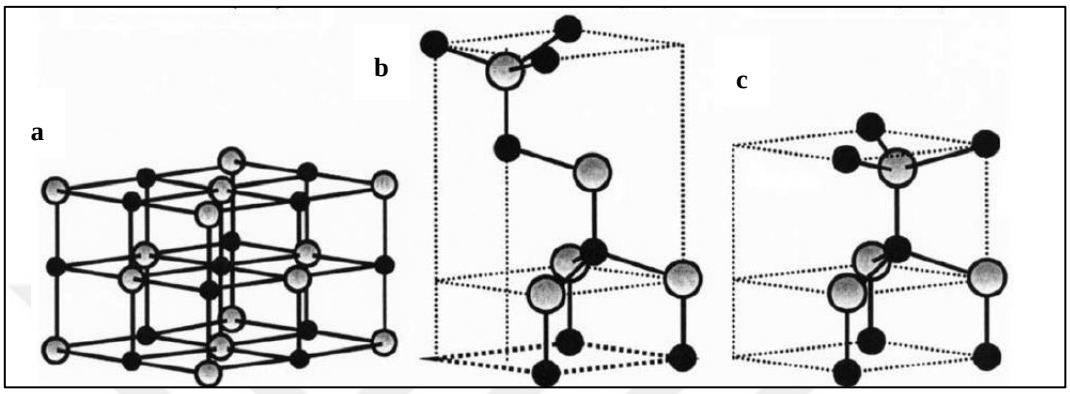
5.1 Çinko Oksit (ZnO)'nun Temel Özellikleri

Çinko, deri, sert diş dokularında, kas ve kemikte bulunan temel bir eser elementtir. Çinko oksit (ZnO), doğada çinkoit minerali olarak bulunur. Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP), beyaz renkli kokusuz bir tozdur. Ticari olarak kullanılan ZnO ise sentetik yolla elde edilir. [129,130]. Çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri; biyouyumlu ve iyi biyolojik olarak parçalanabilir bir malzemedir. Düşük toksisitelidir, genellikle güvenli kabul edilirler. İyi iletkenlik, kimyasal kararlılık, katalitik özellikler gösterir. Bu özelliklerinin yanı sıra mükemmel antibakteriyel, antiviral ve antifungal ve antikanser aktivite özelliği gösterir. ZnO, yüzey çözelti ile doğrudan temas halindeyse hem asidik (örneğin tümör hücreleri/mikroçevre) hem de kuvvetli bazik koşullarda yavaşça çözünebilir. Bu özellikler ZnO'yu tıp ve biyomedikal uygulamalar için ilgi çekici kılar [131-134]. Çinko oksit antimikrobiyal özelliği ile merhemlerde, losyonlarda ve topikal kremlerde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır. Buna ek olarak atık su dezenfeksiyonunda, herbisitlerin ve pestisitlerin ayrıştırılmasında da kullanılmaktadır [131-133]. ZnO nanopartikülleri güneş kremlerinde ve çok sayıda tıbbi uygulamalarda UV engelleyici olarak da kullanılmaktadır [133,135].

Çinko oksit (ZnO), oda sıcaklığında 3.37 eV'lik bir enerji aralığına ve büyük bir elektron-pozitif boşluk çifti enerjisine (60 meV) sahip n tipi yarı iletken bir davranışa sahiptir. Bu özelliği ile ışık yayma, kapasitörler, güneş hücreleri uygulamaları için önemlidir. ZnO nanoyapıları geniş yüzey alanları ve yüksek katalitik aktiviteleri nedeniyle katalitik; ayırt edici optik ve elektriksel özellikleri nedeniyle optoelektronik uygulamalar için de ilgi çekicidir olmuştur [131,135,136]. Çinko oksit nanopartikülleri, biyosensörler, etanol gaz sensörleri, ekranlar için pencere malzemeler gibi farklı birçok uygulamalarda kullanılmaktadır [133-137].

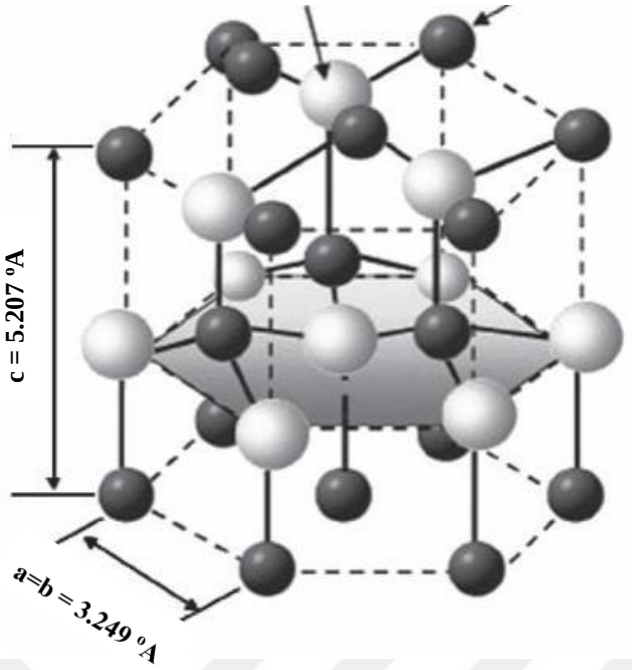
5.2 Çinko Oksit (ZnO)'nun Kristal Yapısı

ZnO'nun Şekil 5.1'de gösterildiği gibi üç çeşit kristal yapısı vardır: kübik kaya tuzu, kübik çinko blend ve hekzagonal Wurtzite yapılarıdır. Gölgeli gri ve siyah küreler sırasıyla Zn ve O atomlarını göstermektedir [137-140].



Şekil 5. 1 ZnO kristal yapılarının çubuk ve top gösterimi: a) kübik kaya tuzu, b) kübik çinko blend ve c) hekzagonal Wurtzite [140]

Wurtzite yapısı ortam koşullarında termodinamik olarak en yaygın ve kararlı yapıdır [137-140]. ZnO Wurtzite yapısı, a ve c olan iki kafes parametresine ve altıgen bir birim hücreye sahiptir. Şekil 5.2'de gösterildiği gibi iki iç içe geçmiş altıgen kapalı paketlenmiş (hcp) alt kafesten oluşur. Bu alt kafeslerde her biri üç katlı c ekseni ve bu eksenler boyunca birbirine göre yer değiştirmiş (Zn veya O) atomları bulunur. O atomları daha büyük beyaz küreler olarak gösterilirken, Zn atomları daha küçük siyah kürelerdir [141].



Şekil 5. 2 ZnO'nun hekzagonal Wurtzite yapı modeli [141]

Wurtzite ZnO nanoyapısı, termal buharlaştırma tekniği, kimyasal indirgeme gibi farklı yöntemler kullanılarak nanotaraklar, nanohalkalar, nanoheliksler, nanokemerler, nanoteller ve nanokafesler gibi farklı morfolojilerde bulunabilir [142]. Çinko blende ZnO yapısı ise bir mineral bileşiği ZnS'den türetilmiş metastabil bir durumdur; yalnızca kübik substratlar üzerinde büyüme ile stabilize edilebilir. Çinko ve oksit merkezleri hem çinko blend hem de wurtzite yapılarında tetrahedraldir [137,138,143]. Kaya tuzu yapısı yalnızca yaklaşık 10 GPa'da daha yüksek basınçlarda gözlenir [140].

5.3 Çinko Oksit (ZnO)'nun Antibakteriyel Özelliği

Çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NP'ler), antibakteriyel ajan olarak farmasötik ilaçlarda, kozmetikte, gıda paketleme ve dezenfektanlarda kullanılsa da ana etki mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır [144]. ZnO NP'lerinin antibakteriyel toksisite mekanizmalarının, süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit üretimi ile ilintili aşırı miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin indüklemesi olduğu düşünülmektedir. Reaktif oksijen türleri, bakterilerin hücre duvarlarının bozulmasına sebep olur. ZnO NP'lerden salınan Zn^{2+} iyonlarının bakteri hücre duvarına yapışarak duvara zarar vermesi ya da bakteri hücre zarının,

protein şeker ve lipit tabakasını parçalaması ve buna ek olarak saldırısıyla bakteri DNA'sını bozup bakterilerin büyümesini engelleyerek bakteri ölümüne sebep olabildiği düşünülmektedir [145].

ZnO nanoparçacıklarının terapötik farmakolojik etkisi boyutlarına ve konsantrasyonlarına bağlıdır. Bununla ilgili olarak antibakteriyel aktivitesi de nano boyut ile artan yüzey alanı sonucu artmaktadır. Ayrıca ZnO nanoparçacıklarının sentezinde kullanılan yüzey aktif madde de antibakteriyel aktivite oranlarını etkiler. Kristal yapı ve parçacık formunu ise terapötik farmakolojik aktivitesini çok az etkiler [145,146].

ZnO nanoparçacıklarının antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için model olarak Gram-negatif *E. coli* [49,146,147] ve *S. aureus* [42,49,140] bakterileri kullanılmaktadır. *P. aeruginosa* [49,146,148], P. *vulgaris* [49,146,149], *V. cholerae* [49,146,150] gibi diğer bazı Gram-negatif bakteriler ve *B. Subtilis* [49,146,151] ve *E. faecalis* [49,146,152] gibi diğer Gram-pozitif bakterilerin de kullanıldığı ZnO nanoparçacıklarının antibakteriyel aktivitesininin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır.

5.4 Çinko Oksit (ZnO) Katkılı Kompozitlerle İlgili Çalışmalar

Râpă ve ark. tarafından yapılan çalışmada [153], gıda ambalajlama uygulaması için poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV) ve ağırlıkça yüzde oranı 0-1 arasında değişen Fe içeren ZnO nanopartiküllerini elektroeğirme yönetemiyle polilaktik asit (PLA) film üzerine biriktirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre özellikle PLA/PHBV/ZnO: Fe0.3 elektroeğirilmiş nanosistemin, *P. aeruginosa* (ATCC-27853) bakteri suşuna karşı dikkate değer bir antimikrobiyal etki gösterdiği not edilmiştir. Shuai ve çalışma arkadaşları [154] kemik iskele malzemesi elde etmek için seçici lazer sinterleme tekniği ile üretilen PHBV ile ağırlıkça % 1.3 ve % 5 ZnO içeren PHBV/ZnO kompozitlerini hazırlamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre ağırlıkça % 3 ZnO içeren kompozitte düzgün dağılım görülmüştür. Ayrıca polimer matrisin kristalliğinin arttığı; PHBV/3nZnO iskelesinin bağıl kristalliğinin, katkısız PHBV iskelesine kıyasla % 38'den % 64'e dikkate değer ölçüde arttığı raporlanmıştır. Díez-Pascual ve Díez-Vicente tarafından yapılan bir çalışmada [155] poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV)'nin ağırlıkça %1, %2,

%4 ve %8 ZnO katkılı kompozitleri çözelti döküm tekniği ile hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, ZnO nanoparçacıkları, bağlayıcı ajan kullanılmadan PHBV içinde düzgün bir şekilde dağılmıştır. Polimer matrisin kristalleşme sıcaklığını ve kristallik seviyesi artmıştır ve kristallik boyutu da azalmıştır. Ayrıca matrisin depolama modülünde ve camsı geçiş sıcaklığında önemli ölçüde artış görülmüştür. Antibakteriyel değerlendirme sonuçları ise kompozitlerin antibakteriyel aktivitesinin *S. Aureus*'a kıyasla *E. Coli* için daha etkili olduğunu göstermiştir. Figueroa-Lopez ve çalışma arkadaşlarının çalışmasında [156] kekik esansiyel yağı (OEO) ve çinko oksit nanoparçacıklarını farklı kombinasyonlar oluşturacak şekilde PHBV çözeltisine eklenmiştir. Bu kompozitler daha sonra elektro-eğirme tekniği ile ~130 µm'lik homojen ve sürekli filmlere dönüştürülmüştür. Sonuçlara göre optimum aktiviteyi ağırlıkça %2.5 OEO + %2.25 ZnO NP katkılı elektro eğrilmiş PHBV malzemeleri *S. aureus* ve *E. Coli* 'ye karşı kısa ve uzun süreler boyunca etkili bir şekilde göstermiştir.

PLA ile yapılmış bir çalışmada ağırlıkça %1 ZnO nano lifleri içeren (PLA/n-ZnO) kompozit filmleri elektro-eğirme yöntemi ile üretilmiştir. Üretilen kompozit filmler solvent döküm yöntemi ile üç boyutlu (3D) baskıda kalıplanmıştır. Mekanik yorulma testlerinin insan vücut sıcaklığında (36.5 ^{o}C'de) döngüsel stres izotermi uyarlaması yapılmıştır. Sıcaklığın artmasıyla beraber (30 ^{o}C'nin üzerindeki sıcaklıklarda) polimer zincirlerinin hareketlendiği; n-ZnO'ya bağlandığı ve kristalliğin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca ZnO nanoliflerinin ve PLA/ZnO kompozitinin bakterilere (*S. aureus, Salmonella* ve *E. coli*) antibakteriyel ve mayaya (*C. albicans*) uygulandığında antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [54].

6

DENEYSEL YÖNTEMLER

Bu bölümde biyonanokompozitlerin üretiminde kullanılan malzemeler, üretim metotları ve üretim sonrası yapılan karakterizasyon çalışmalarıyla ilgili bilgi verilmiştir.

6.1 Kullanılan Malzemeler

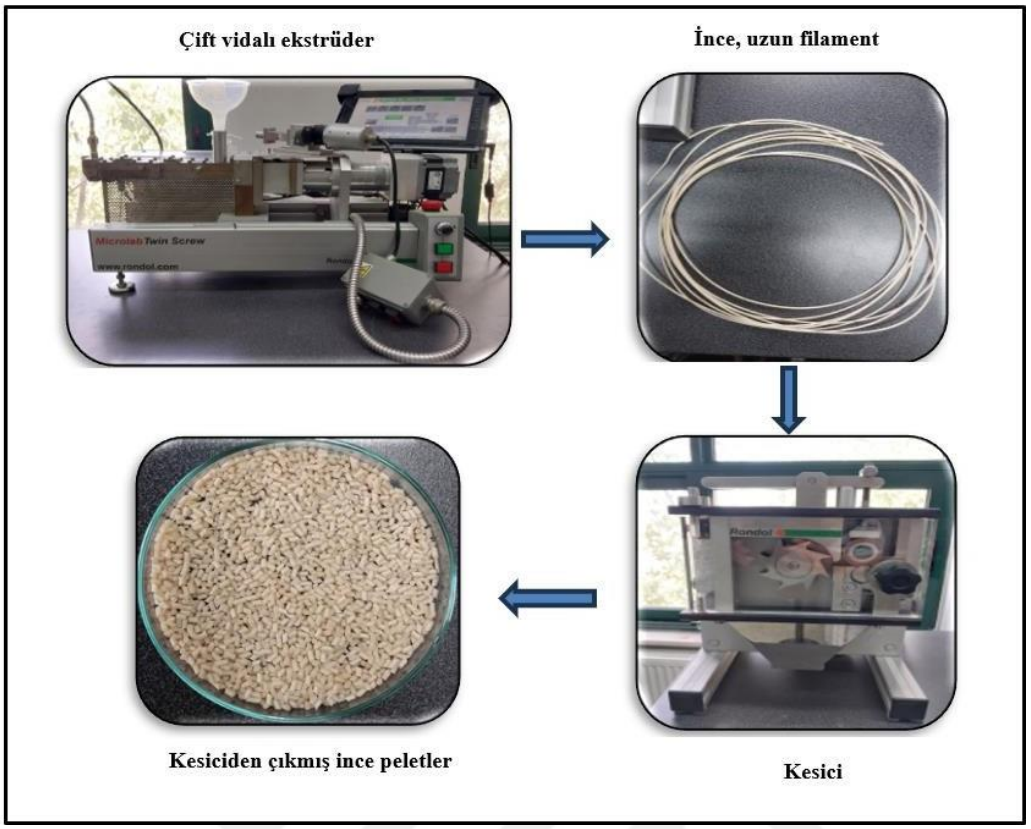
PHBV (%8 mol hidroksivalerat içeren) MAJ'ECO FN000HA ticari adı altında ADmajoris Company (Fransa) tarafından pelet halinde tedarik edilmiştir. Biyopolimere ait özellikler Tablo 6.1'de verilmiştir [157]. Dolgu malzemelerinden biri olan silisyum katkılı hidroksiapatit (Si-HAP) Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır (693863-ALDRICH; nanotoz, <200 nm parçacık boyutu (BET), ağırlıkça %5 Si içerir. Dolgu malzemelerinden diğeri olan ZnO nanotoz Sigma-Aldrich firmasından tedarik edilmiştir (544906-50g; nanotoz, <100 nm parçacık boyutu). İnsan osteoblastik osteosarkom (SaOs-2) hücre hattı, American Type Culture Collection (ATCC) (Amerika) firmasından temin edilmiştir. 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) ve 4',6-Diamidin-2'-fenilindol dihidroklorür (DAPI), Sigma-Aldrich Chemicals (St. Louis, ABD) firmasından satın alınmıştır. Dulbecco'nun modifiye edilmiş kartal ortamı ve Fetal Sığır Serumu Gibco Life Technologies (Paisley, İngiltere) ve penisilin/streptomisin Capricorn Scientific (Ebsdorfergrund, Almanya) firmasından tedarik edilmiştir.

Tablo 6. 1 ADmajoris Company (Fransa) tarafından temin edilen PHBV'ye ait özellikler [157]

ÖZELLİK	**DEĞER**
Yoğunluk	1.25 g/cm^3
Hidroksivalerat içeriği	%8
Erime Sıcaklığı	145-155 ^oC
Bozunma Sıcaklığı	200 ^oC
Eriyik Akış Hızı (190^oC/2.16 kg)	15-30 g/10 dk
Elastiklik modülü (GPa)	2.38 GPa

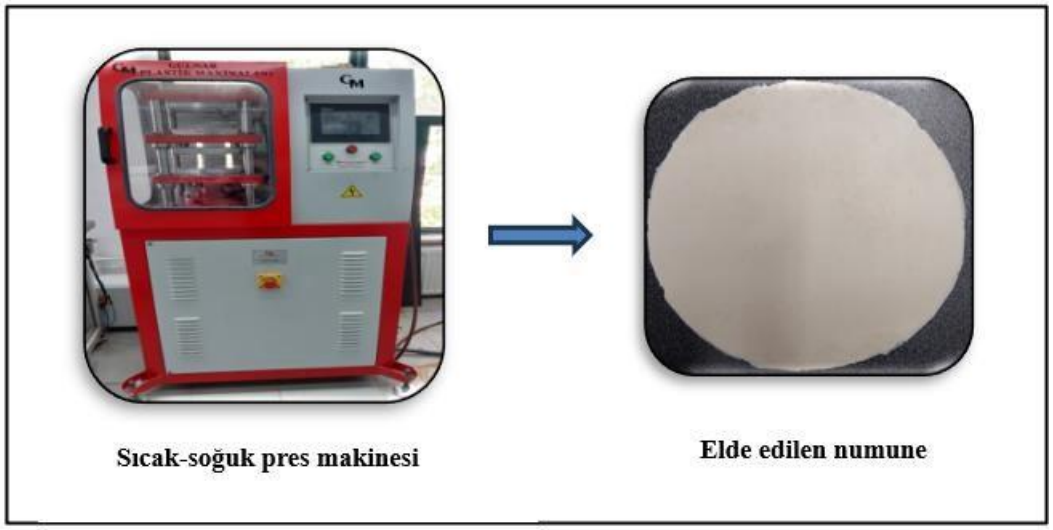
6.2 Biyonanokompozitlerin Hazırlanması

Polimer ve nanodolgular üretimden önce 2 gün boyunca vakumlu etüvde 50 °C'de kurutulmuştur. Toz katkı malzemeleri istenilen orana ve kombinasyona göre pelet polimer ile bir havanda dövülerek peletlerin yüzeyinin toz nanodolgular ile iyice kaplanması sağlanmıştır ve Şekil 6.1'de gösterilen çift vidalı ekstrüdere (Rondol Microlab England; L/D:20) beslenmiştir. Vida dönme hızı 80 rpm olan ekstrüderin çalışma sıcaklığı beslemeden çıkışa 90-135-160-160-155 °C'dir. Ekstrüderden çıkan sıcak ince uzun filamentler oda sıcaklığında kendiliğinden soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra bu filamentler Şekil 6.1'de gösterilen kesiciden (Rondol Microlab England) geçirilmiştir. Kesiciden çıkan peletler PHBV peletlerine kıyasla daha incedir. Homojenliği arttırmak amacıyla bu elde edilen peletler tekrar ekstrüdere beslenmiştir; ince uzun filamentler elde edilmiştir ve yine kesiciden geçirilerek daha ince peletler elde edilmiştir. Pelet halindeki numunelerin ağırlığı 25 gramdır. Presleme işlemi için 18.44 gram pelet kullanılmıştır.



Şekil 6. 1 Çift vidalı ekstrüder ve kesiciden elde edilen numuneler

Şekil 6.2'de gösterildiği gibi peletlerin basılmasında sıcak-soğuk pres makinesi (Gülnar makine, Türkiye) kullanılmıştır. Pres makinesi 168 °C'ye ve Tablo 6.2'deki çalışma koşullarına ayarlanmıştır. Ön hazırlık aşaması olarak teflon dikdörtgen plakalar arasındaki metal kare kalıba yerleştirilen peletlere 5 sn boyunca 168 °C'de sıcak pres işlemi uygulanmıştır. Pres makinesinden dikkatli bir şekilde çıkarılan sıcak tabakalar arasındaki numune, kare kalıptan kendiliğinden çıkacak duruma gelene kadar soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra yuvarlak kalıba alınan numuneye aynı plakalar arasında kalacak şekilde Tablo 6.2'deki çalışma koşullarında sıcak ve hemen ardından da soğuk pres işlemi uygulanmıştır. Presleme işlemi sonrasında yuvarlak şekilli ve yaklaşık 0.75 mm saç kalınlığında numuneler elde edilmiştir.



Şekil 6. 2 Presleme işleminden elde edilen numune

Farklı miktarlarda ZnO ve/veya SiHAP nanodolgularını içeren biyonanokompozitler aynı ekstrüzyon ve pres şartlarında üretilmiştir. Tablo 6.2'de press koşulları gösterilmiştir. Tablo 6.3'te üretilen biyonanokompozitler ve içerikleri verilmiştir.

Tablo 6. 2 Pres cihazının çalışma koşulları

Pres Tipi	**Basınç (bar)**	**Kademe**	**Presleme Süresi (sn)**
Sıcak	30	1	90
	70	2	30
	90	3	30
Soğuk	90	1	60

Tablo 6. 3 Üretilen biyonanokompozitler ve içerikleri

Biyonanokompozit	PHBV (g)	ZnO(g)	SiHAP (g)
PHBV	25	0	0
PHBV-ZnO0.1	24.975	0.025	0
PHBV-ZnO3	24.250	0.750	0
PHBV-UNIZnO3 (UNI ZnO)	24.250	0.750	0
PHBV-COMZnO3 (Commercial ZnO)	24.250	0.750	0
PHBV-ZnO5	23.750	1.250	0
PHBV-ZnO7	23.250	1.750	0
PHBV-SiHAP0.1	24.975	0	0.025
PHBV-SiHAP0.5	24.875	0	0.125
PHBV-ZnO0.1SiHAP0.1	24.950	0.025	0.025
PHBV-ZnO3SiHAP0.1	24.225	0.750	0.025
PHBV-ZnO3SiHAP0.5	24.125	0.750	0.125
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	23.725	1.250	0.025
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	23.625	1.250	0.125

6.3 Nanokristal ve Biyonanokompozitlerin Karakterizasyonu

SiHAP ve ZnO kristallerinin, üretilen biyonanokompozit numunelerin karakterizasyonu için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), X–Işınları Difraksiyon Spektroskopisi (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT–IR); PHBV ve biyonanokompozit numuneler için Elemental Analiz (EDX); Termogravimetrik Analiz (TGA), Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Dinamik Mekanik Analiz (DMA); sitotoksisite analizi, biyouyumluluk değerlendirmesi için DAPI boyama ve *E. coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel analizi yapılmıştır.

6.3.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

SiHAP ve ZnO nanokristallerin yüzey morfolojisini, boyut dağılımını; biyonanokompozitler içerisinde farklı oranlarda bulunan nanokristallerin polimer

matriste dağılımını karşılaştırmalı incelemek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskopu Analizi (SEM) yapılmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi 5 kV hızlanma voltajında bir FEI-Philips XL 30 ESEM-FEG (Thermo Fisher Scientific, Nederlands) taramalı elektron mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üretilen biyonanokompozitlerden alınan numuneler kriyojenik olarak kırılmıştır. Numuneden gelen elektronlar yük birikmesine sebep olabilir ve görüntü kalitesini düşürebilir. Bu durumu önlemek ve numuneye elektrik iletkenliği kazandırmak amacıyla numuneye altın kaplanmıştır.

6.3.2 X–Işınları Difraksiyon Spektroskopisi (XRD)

X-Işını Kırınımı (XRD) ölçümü, dalga boyu tipi K–Alfa bakır (Cu) dalga boyu (λ =0,15418 nm) olan X'Pert Pro (Philips difraktometre, PANalytical, Denver, Colorado) cihazı kullanılarak 40 kV ve 20 mA'da gerçekleştirilmiştir. Desenler, 4° ila 80° arasındaki 2θ aralığı için kaydedilmiştir. Kristal boyutunu belirlemek için Scherrer denklemi kullanılır. XRD analizi sonucunda difraksiyon piklerinin dereceleri (2θ), nanokristaller ve polimer düzlem arasındaki mesafe d(Å), eksen üzerinde ölçülen maksimum genliğin yarısı olan noktalar arasında meydana gelen spektrum eğrisinin maksimum yarısı tam genişliği (FWHM) ve relatif şiddet (%) verileri elde edilmiştir.Elde edilen verilerle çizilen diyagramlarda geniş difraksiyon pikleri küçük kristallerin varlığına işaret ederken ; daha keskin ve belirgin pikler ise daha iyi kristallik derecesine işaret etmektedir.

6.3.3 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT–IR)

PHBV ve biyonanokompozitlerin fonksiyonel gruplarını görmek ve karşılaştırmak amacıyla 500 ile 4000 cm^{-1} arasında değişen dalga boylarında geçirgenliğe sahip Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (FTIR, BRUKER Alpha-P, Toronto) analizi gerçekleştirilmiştir.

6.3.4 Termogravimetrik ve diferansiyel termal analiz (TGA–DTA)

Biyonanokompozitlerin sıcaklık değişimi ile gerçekleşen küte değişimini görmek için Termogravimetrik Analiz (TGA) hal değişimi veya reaksiyon sonucu açığa çıkan enerji değişimlerinin ölçülmesi için Diferansiyel ise Termal Analiz (DTA) Perkin Elmer Pyris Diamond marka cihaz ile uygulanmıştır. Termogravimetrik analiz yaklaşık 10 mg ağırlığındaki numuneler üzerinde ile gerçekleştirilmiştir. Her

numune, sıcaklık ortam ila 800 °C arasında değiştiğinden, nitrojen altında 10 mL/dakika akış hızında 10 °C/dakika hızla ısıtılmıştır.

6.3.5 Dinamik mekanik analiz (DMA)

Biyonanokompozitlerin dinamik ve mekanik özelliklerini değerlendirebilmek için Perkin Elmer DMA8000 (ABD)cihazı kullanılarak Dinamik mekanik analiz (DMA)gerçekleştirilmiştir. Analiz -30ºC ile 150ºC sıcaklık aralığında, 2ºC dk^{-1} ısıtma hızında, film uzatma modu kullanılarak 1 Hz'de tek konsol modunda uygulanmıştır. DMA analizi sonucunda numunelerin depolama modülü (E'), kayıp modülü (E") ve tan Delta (tanδ =E"/E') değerleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak kaydedilmiştir.

6.4 Biyolojik Analizler

Bu bölümde kompozit numunelerin toksisite, biyouyumluluk ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlere yer verilmiştir. Bu analizler Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarında Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR danışmanlığında Buşra AKGÜL'ün ve Bükre KIRAN ÜNER'in destekleriyle gerçekleştirilmiştir.

6.4.1 Hücre Kültürü

Hücre kültürü çalışmalarında kullanılacak iskeleler ilk olarak 5 mm x 5 mm boyutlarında birkaç kareye kesilmiştir. İskele parçalarına sterilizasyon işlemi 30 dakika boyunca %70 etanol çözeltisinde uygulanmıştır. Daha sonra iskele parçaları gece boyunca UV ışığına maruz bırakılmıştır.

Sterilizasyondan sonra iskeleler, %10 FBS ile desteklenmiş 3 mL DMEM ortamı içeren test tüplerine aktarılmıştır. İnsan osteoblastik osteosarkom (SaOs-2) hücreleri, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin ile desteklenmiş Dulbecco'nun değiştirilmiş kartal ortamında (DMEM) 37 °C'de %5 CO_2 ile zenginleştirilmiş bir inkübatörde yetiştirilmiştir. Kültür ortamı her iki günde bir yenilenmiştir.

6.4.2 MTT tahlili

Osteoblast hücrelerinin hücre canlılığı oranlarını ölçmek için 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT tahlili) kullanılmıştır. Nihai hacmi 100 µl olan 1 x 10^4 osteoblast hücresi, 96 oyuklu mikro plakanın her bir oyuğuna aktarılmış ve gece boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra her kuyucuğa 10 µl iskele ekstraktı eklenmiştir. Ekstraktlara maruz bırakılmayan kuyucuklar kontrol olarak kullanılmıştır. Daha sonra mikro plakalar 37°C'de 96 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, mikro plakaların her bir oyuğuna fosfat tampon çözeltisi (PBS) içerisinde çözündürülmüş 10 µl MTT çözeltisi (10 mg/ml) ilave edilmiştir. Daha sonra mikro plakalar 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra her kuyucuktaki formazan kristalleri 100 µl dimetil sülfoksit (DMSO) ilavesiyle çözülmüştür. Daha sonra plaklar oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Son olarak her bir kuyucuğun absorbansı bir ELISA okuyucusunda 570 nm'de okunmuştur. Kontrol ve test gruplarındaki absorbans değerleri karşılaştırılarak, doku iskelelerine maruz bırakıldıktan sonra hücre canlılık oranları değerlendirilmiştir.

6.4.3 DAPI boyama

Biyouyumluluğunun değerlendirilmesi için DAPI boyama yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, 24 yuvalı plakanın her bir oyuğuna sterilize edilmiş iskeleler yerleştirilmiş ve 1 x 10^4 osteoblast hücresi ile tohumlanmıştır. Plakalar 37°C'de bir hafta süresince inkübe edilmiştir. Ortam iki günde bir yenilenmiştir. İnkübasyondan sonra hücreler 10 dakika boyunca %4 para formaldehit ile sabitlenmiş ve PBS ile yıkanmıştır. Son aşamada hücreler ve yapı iskeleleri 20 dakika boyunca DAPI lekesine maruz bırakılmıştır. Maruz kaldıktan sonra hücre tohumlu iskeleler iki kez PBS ile yıkanmış ve bir floresan mikroskobu kullanılarak hücre bağlanması değerlendirilmiştir.

6.4.4 Antibakteriyel analiz

Antibakteriyel analiz için *E. Coli* hücre hattı (NCTC 9001) ve *S. aureus* hücre hattı (NCTC 10788) kullanılmıştır. Kültürleme işleminden önce 1 cm çapında daireler halinde kesilmiş numuneler %70 etanol ile sterilize edildikten sonra 2 saat boyunca UV ışığına maruz bırakılmıştır. Daha sonra PBS ile üç kez yıkandıktan sonra örnek

24 kuyulu bir kültür plakasına yerleştirilmiştir. Bakteriler L. Bertani Broth'ta kültürlenmiştir. Bakteri kültürü 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra bakteri sayımı için sıvı ortamdan 20 µL numune alınmıştır ve üzerine 980 mL sıvı ortam ilave edilmiştir. Bakteriler UV-Vis Spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda sayılıp her deney grubu için 10^7 CFU/mL olacak yoğunlukta 1 mL olarak plakalara aşılanmıştır. 1 OD değeri $1x10^9$ bakteriye karşılık gelir. Bakteri sayısı, (cfu/mL) absorbans değerine bağlı olarak Denklem (1) kullanılarak hesaplanmıştır. Bakteriyel canlılık yüzdeleri kontrol gruplarına bağlı olarak değerlendirilmiştir.

$$\text{Bakteri sayısı } \left(\frac{\text{cfu}}{\text{mL}}\right) = \frac{1\times10^9 \times \text{Absorbans değeri}}{0.02} \quad (1)$$

7
BULGULAR ve DEĞERLENDİRME

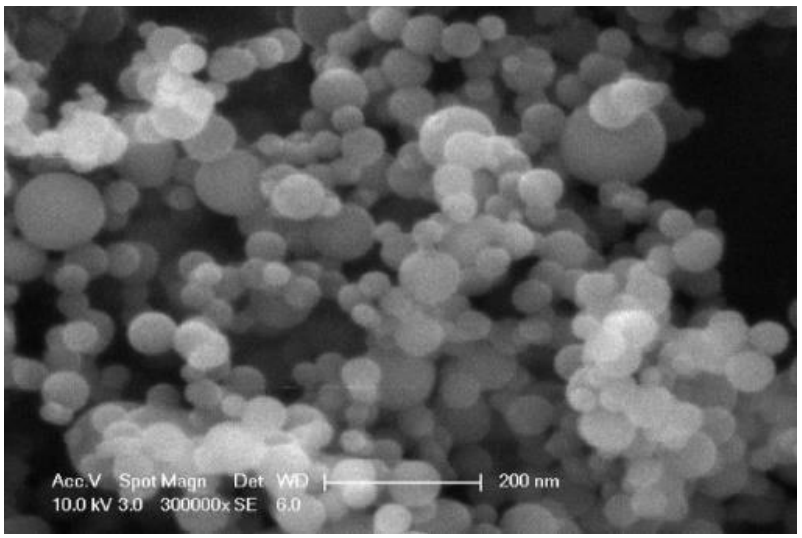
Bu bölümde karakterizasyon için yapılan SEM, EDX, XRD, FT–IR, TGA–DTA, DMA analizleri bulgularına; bununla birlikte sitotoksisite, biyouyumluluk ve antibakteriyel değerlendirmeler için yapılan analizlerden elde edilen bulgulara yer verilmiştir.

7.1 Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), bir numunenin parçacık boyutu, şekli, mikro pürüzlülüğü ve boşlukları, bileşimi, kristalografiği hakkında mikroskobik ölçekte bilgi sağlar [158]. Bu çalışmada SEM analizi, parçacık boyutu, morfolojisi hakkında bilgi toplamak amacıyla yapılmıştır.

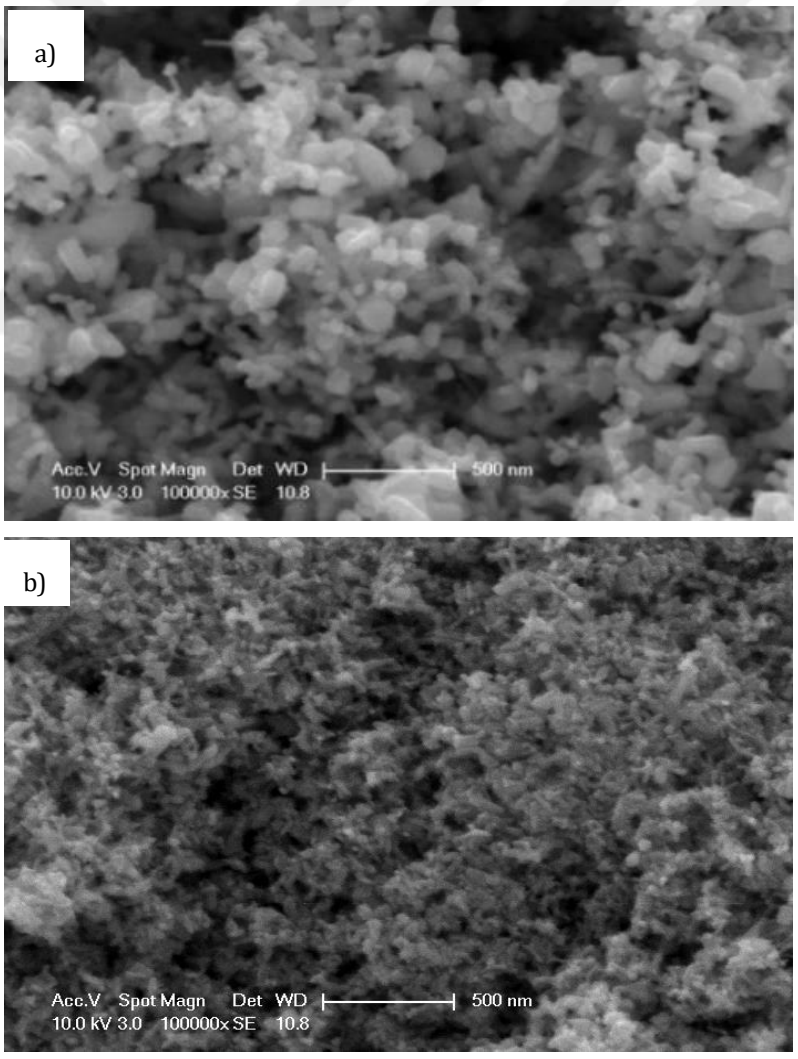
7.1.1 Nanokristallerin Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi

Şekil 7.1'de SiHAP ait bir SEM fotomikrografisi gösterilmektedir. SiHAP'a ait SEM görüntüleri incelendiğinde küresel olarak en düzgün şekle sahip nanokristallerin çapının 35-75 nm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Nadir de olsa çapı 470 nanometreden büyük parçacıklar da görülmüştür [159].



Şekil 7. 1 SiHAP kristallerinin SEM görüntüsü

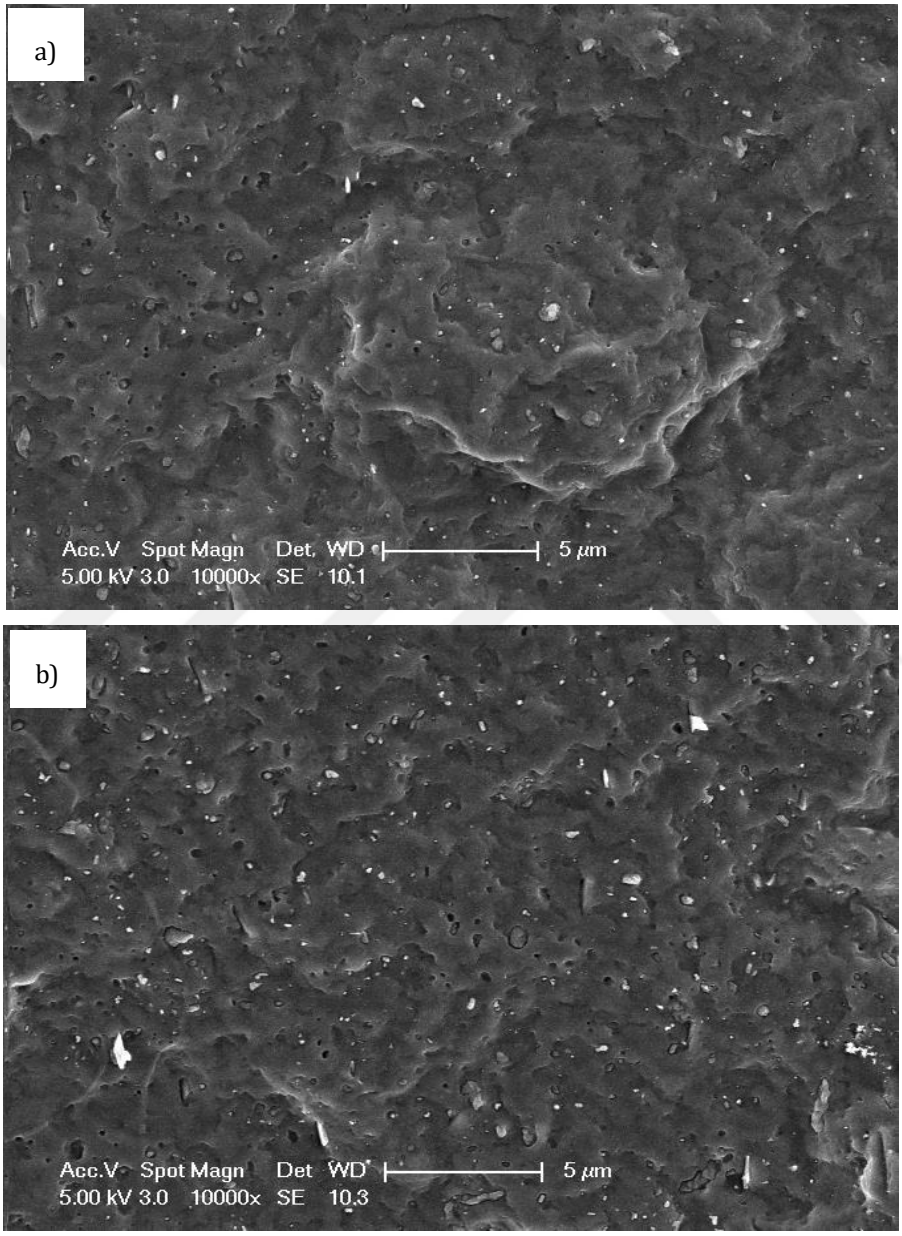
Şekil 7.2'de ZnO'ya ve UNI kodlu ZnO'ya (Belçika Mons Üniversitesi tarafından hibe edilmiştir) ait SEM görüntüleri verilmiştir. Mikrograflar incelendiğinde ZnO nanokristallerinin altıgen prizmatik bir yapıda olduğu ve morfolojik yapılarının düzgün olduğu görülmüştür. SEM mikro graflarından alınan örnekler Image J programında incelendiğinde ZnO için ortalama kristal genişliği 64 nm ve uzunluğu 115 nm; UNIZnO için ortalama kristal genişliği 47 nm ve uzunluğu 71 nm hesaplanmıştır. Aynı oranda yakınlaştırılmış ZnO ve UNIZnO'nun SEM görüntüleri karşılaştırıldığında UNIZnO'ya ait kristallerin daha küçük boyutta olduğu görülmüştür.



Şekil 7. 2 a) ZnO; b) UNIZnO kristallerinin SEM görüntüsü

7.1.2 Biyonanokompozitlerin Morfolojik Karakterizasyon Bulgularının Değerlendirilmesi

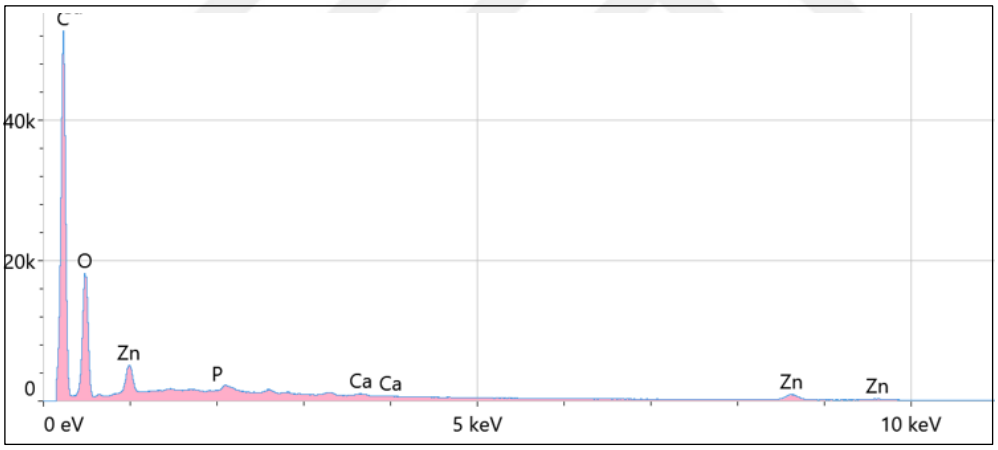
Şekil 7.3'te biyonanokompozitler 10.000x büyütmede gösterilmektedir. Her iki biyonanokompozitte de parçacıkların biyopolimer matriste iyi dağıldığı görülmektedir.



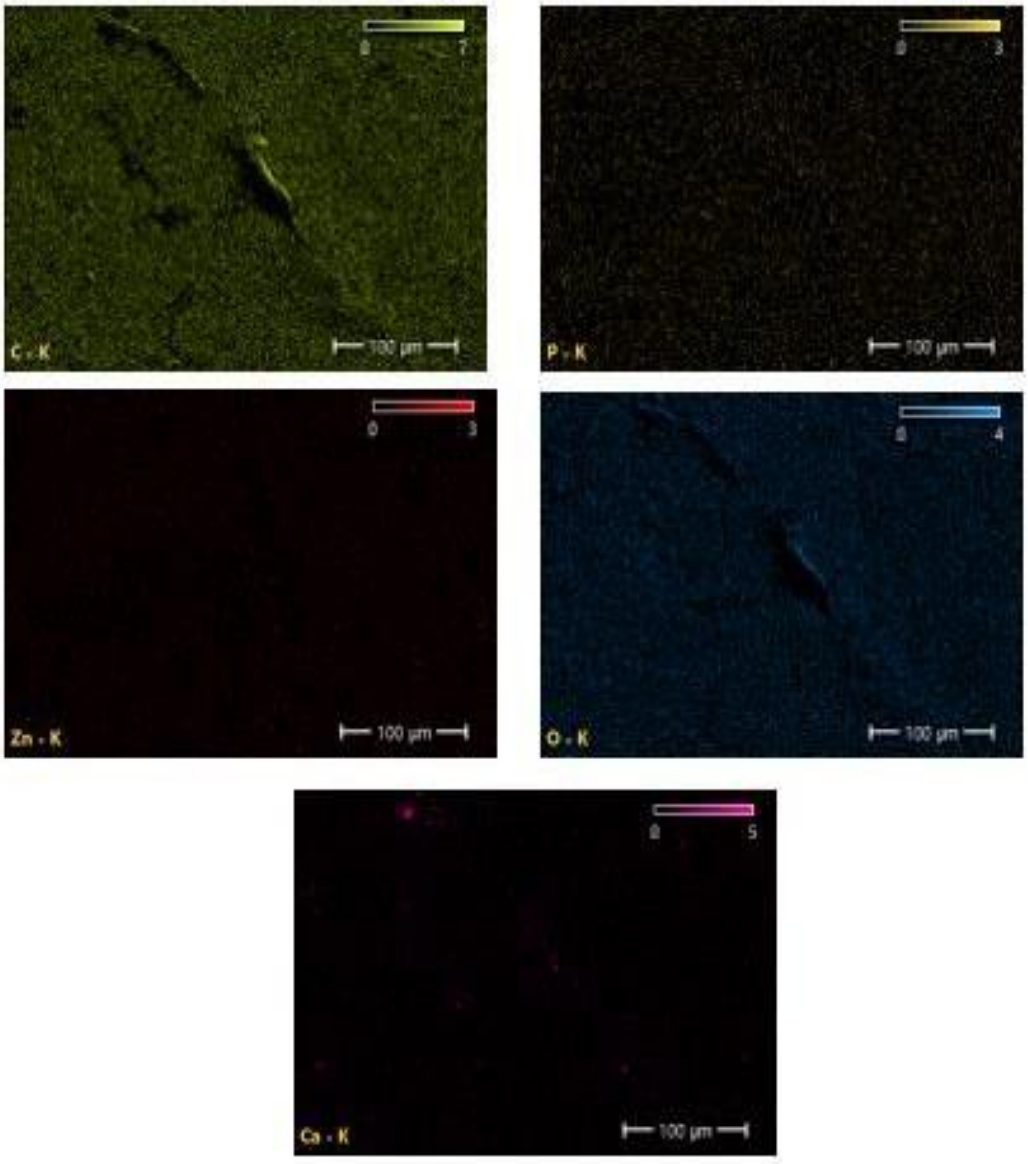
Şekil 7. 3 a) PHBV-ZnO5SiHAP0.1, b) PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerine ait SEM görüntüleri

Şekil 7.4’te PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve Şekil 7.6’da PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerine ait elemental analiz grafikleri; Şekil 7.5 ve 7.7’de ise elemental analiz görüntüleri verilmiştir. PHBV biyopolimerinden gelen C, O; silisyum katkılı hidroksiapatitten gelen Ca,P,O ;ZnO’den gelen Zn ve O elementleri analiz ile doğrulanmıştır. Silisyum elementi görülmemiştir.

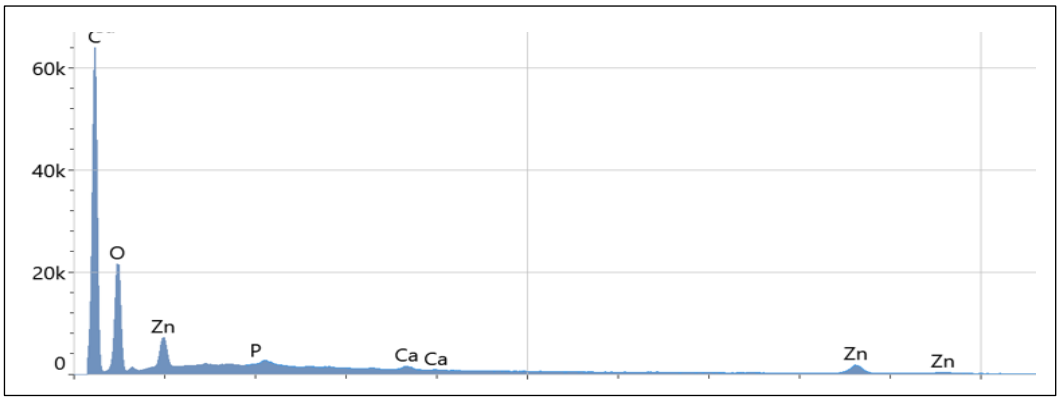
PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerindeki farklı SiHAP oranı Ca’nın elemental analiz haritası ile ilişkilendirilmiştir. SiHAP içeriği ağırlıkça %0.1’den %0.5'e yükseldiğinde Ca element haritasında daha yüksek bir kümeleşme eğilimi saptanmıştır. Bu durumun PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitinin depolama modülünde gözlenen azalmaya katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.



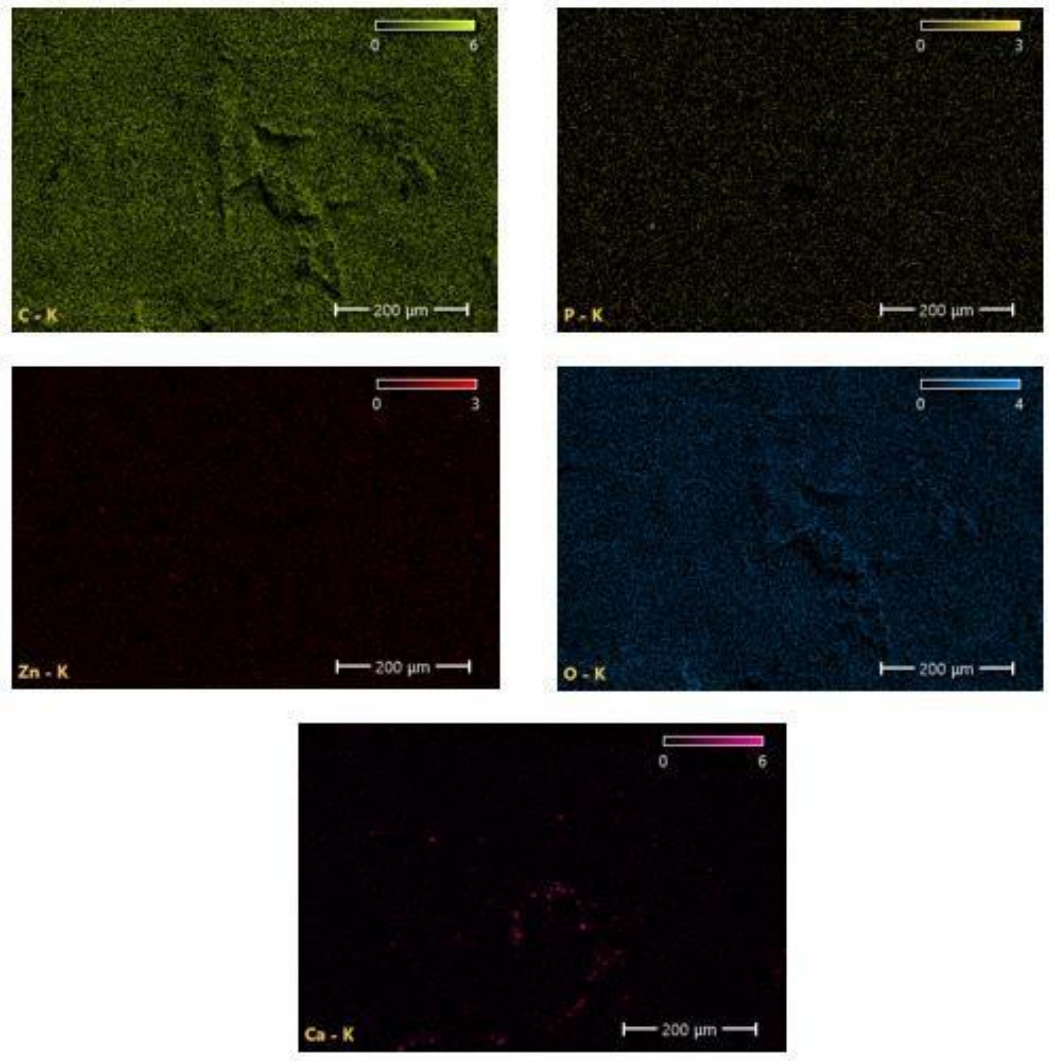
Şekil 7. 4 PHBVZnO5SiHAP0.1 biyonanokompozitinin elemental analiz grafiği



Şekil 7. 5 PHBVZnO5SiHAP0.1 biyonanokompozitinin elemental analiz görüntüleri



Şekil 7. 6 PHBVZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitinin elemental analiz grafiği



Şekil 7. 7 PHBVZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitinin elemental analiz görüntüleri

7.2 X Işını Kırınımı (XRD) Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi

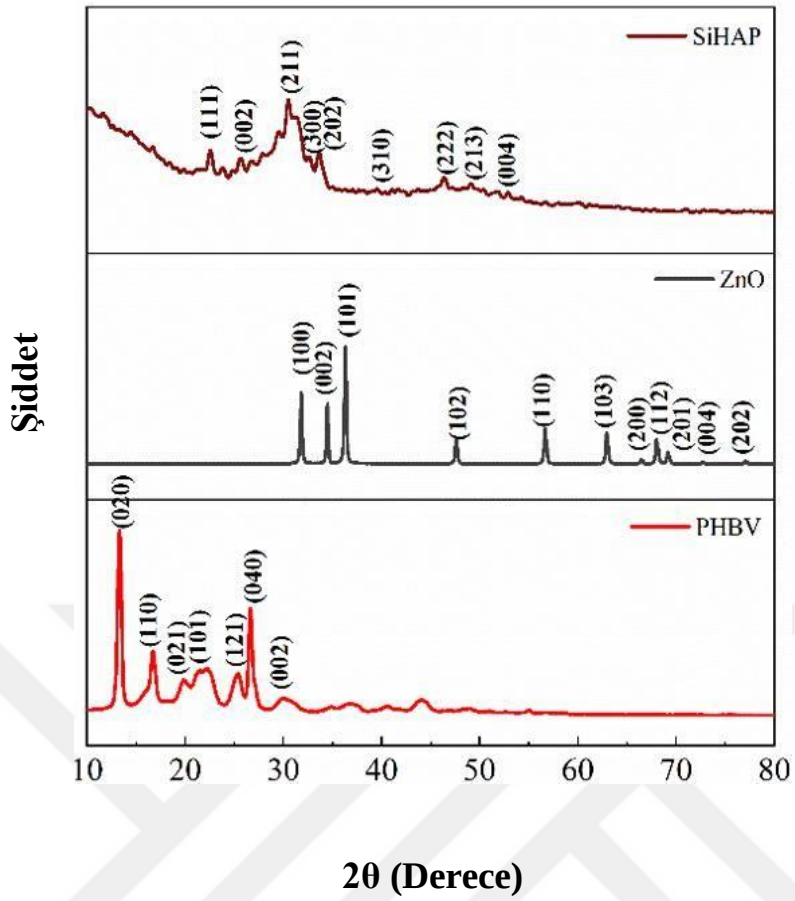
Nanodolguların yönelimi, kristalliği, kafes parametreleri, saflığı ve boyutunun belirlenmesi amacıyla X-ışını kırınımı (XRD) analizi gerçekleştirilir [160]. Bu çalışmada ZnO ve SiHAP nanokristallerinin; PHBV ve biyonanokompozitlerin XRD analizi ayrı başlıklar altında incelenmiştir.

7.2.1 Nanokristallerin XRD Bulgularının Değerlendirmesi

Kristal yapıları karakterize edilen ZnO ve SiHAP nanoparçacıklarının ayrıca PHBV matrisinin XRD desenleri Şekil 7.8'de verilmiştir. SiHAP'ın karakteristik kırınım tepeleri 2θ = 22,6°, 25.6°, 30.4°, 32.7°, 33.6°, 39.7°, 46.2°, 49.1,° ve 52.8°'de görünmektedir ve (111), (002), (211), (300), (202), (310), (222), (213) ve (004) düzlemlerini işaret etmektedir. JCPDS 98-028-9993 standartlarıyla karşılaştırıldığında, desenlerdeki her tepe, hidroksiapatit fazına karşılık gelir. HAP'ın üç önemli tepesi, (211), (300) ve (202) düzlemleriyle temsil edilmektedir [159].

Katkısız PHBV polimerinin karakteristik pikleri = 13.3, 16.7, 19.9, 21.2, 25.4, 26.7 ve 29.8°'da görülmektedir ve ortorombik bir kafese sahip (020), (110), (021), (101), (121), (040), (002) düzlemlerine karşılık gelmektedir [159].

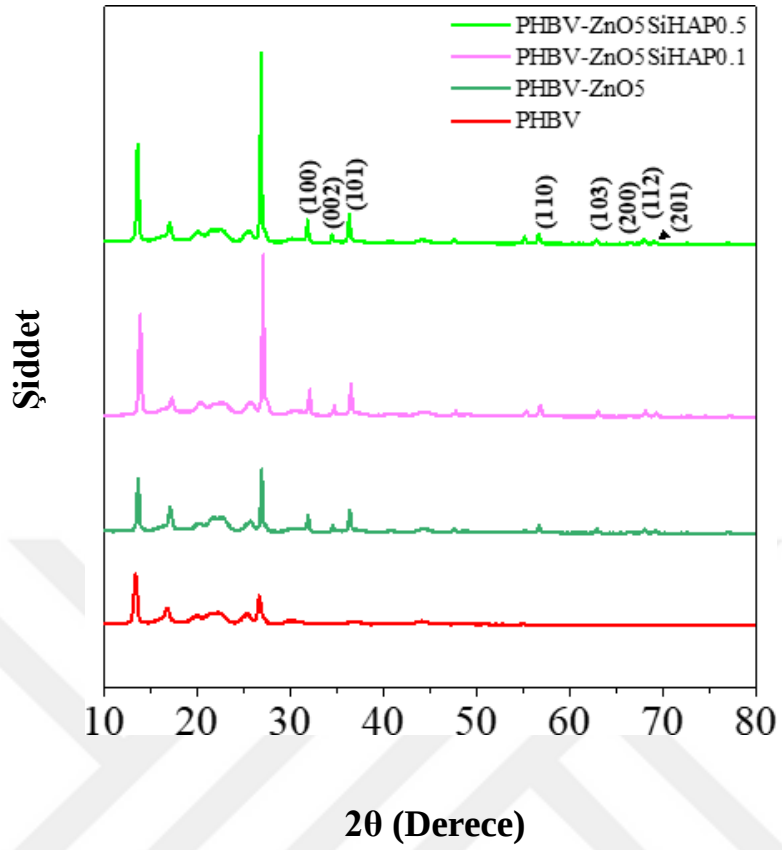
Bu çalışmadaki ZnO'nun karakteristik kırınım tepeleri 2θ = 31.82°, 34.48°, 36.31°, 47.59°, 56.65°, 62.91°, 66.42°, 68.00°, 69.13°, 72.64° ve 76.99°'da görünmektedir ve (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004) ve (202) düzlemlerine karşılık gelmektedir. Gözlemlenen kırınım tepeleri, JCPDS 36-1451 standardında [161] belirtildiği gibi, ZnO'nun hekzagonal fazıyla hizalanmaktadır.



Şekil 7. 8 PHBV, SiHAP ve ZnO'ya ait XRD desenleri

7.2.2 Biyonanokompozitlerin XRD Bulgularının Değerlendirmesi

Katkısız biyopolimer PHBV ve kompozitlerin XRD desen karşılaştırması Şekil 7.9'da verilmiştir. Kompozitlerde PHBV'ye ait karakteristik 2θ =13.3°, 16.8°, 26.7°kırınım zirveleri görülmektedir ve bu zirveler sırasıyla (020), (110) ve (040) kristal düzlemlerine denk gelmektedir. 2θ = 31.7°-36.2° ve 56.5°-69.1° aralığındaki kırınım zirveleri ise kompozitlerdeki ZnO katkısına işaret etmektedir. Şekil 7.9 dikkatle incelendiğinde PHBV'ye ait 2θ = 13.4° ve 2θ = 26°'daki kırınım zirvelerinin varlığı daha keskin ve belirgin haldedir bu durum nanopartiküllerin PHBV'nin moleküler zincir düzenlemesini indüklediğine işarettir [159]. Bununla birlikte (020) ve (040) kristal düzlemlerindeki tepe yoğunluğunda görülen artış, nanopartikül katkısıyla kristalinitenin arttığını doğrulamaktadır.



Şekil 7. 9 PHBV; PHBV-ZnO5, PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerinin XRD desenleri

Kırınım düzlemleri D_{hkl}'ye dik olan kristalin boyutları Scherrer denklemi (Denklem 2) kullanılarak belirlenebilir.

$$D_{hkl} = \frac{0.9\,\lambda}{\beta_{1/2}\cos\theta} \qquad (2)$$

Nanopartiküllerin eklenmesinin kristalin lamel boyutu, d(Å) ve (020) yansımaları için tam genişlikte yarı maksimum (FWHM) üzerindeki etkisi Tablo 7.1'de gösterilmiştir. (020) tepe noktası için kristalit boyutu, D_{020}, katkısız PHBV için 20.32 nm iken PHBV-ZnO5SiHAP0,5 kompozitinde 32.89 nm'ye yükselmiştir. (020/(040) oranı PHBV için 1.82 nm iken ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitinde

0,51nm'ye düşmüştür. Nanopartiküllerin eklenmesi her iki pikin de yoğunluğunu artırmaktadır; ancak (040) pikinin yoğunluğu (020) pikinin yoğunluğundan daha fazla artmaktadır; bu durum (020/040) oranındaki azalma ile desteklenmektedir.

Tablo 7. 1 PHBV ve biyonanokompozitler için FWHM, *d* (Å), *D* (nm) ve (020)/(040) değerleri

Numune	(020)			(020)/(040)
	FWHM(2θ°)	d (Å)	D (nm)	
PHBV	0.3936	6.64829	20.32	1.82
PHBV-ZnO5	0.1663	6.50439	48.06	0.83
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	0.2814	6.39930	28.40	0.62
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	0.2430	6.52749	32.89	0.51

7.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Analizi Bulgularının Değerlendirilmesi

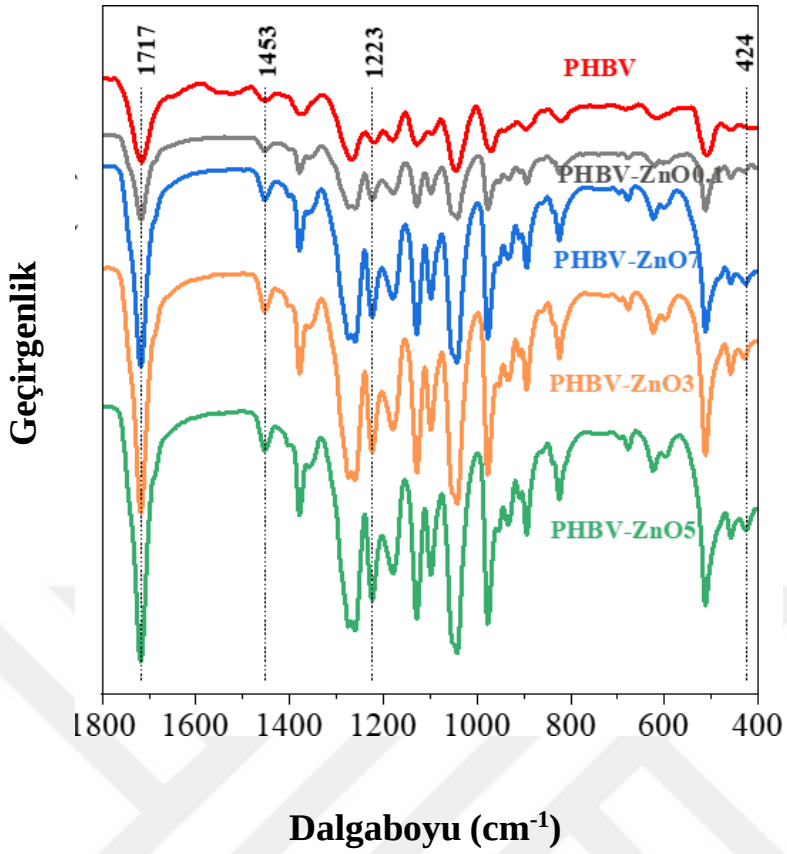
Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) numunenin fonksiyonel gruplarının belirlenmesinde kullanılan bir karakterizasyon tekniğidir. IR spektrumunda absorbans veya geçirgenlik yoğunluğuna; frekansa (dalga sayısı) göre bir dizi absorbans bandı çizilir. Farklı dalga boyları farklı fonksiyonel grupları temsil etmektedir [162].

Nano dolguların ve nanokompozitlerin kimyasal fonksiyonel grupları, 4000-400 cm^{-1} aralığında FTIR kullanılarak karakterize edilmiştir ve kıyaslama yapmak amacıyla birlikte verilmiştir. Tablo 7.2'de PHBV' ye ait belirli dalga boylarında meydana gelen titreşim türleri ve temsil ettiği fonksiyonel grup literatürdeki karşılaştırması birlikte verilmiştir.

Tablo 7. 2 Karşılaştırmalı PHBV FT-IR pikleri

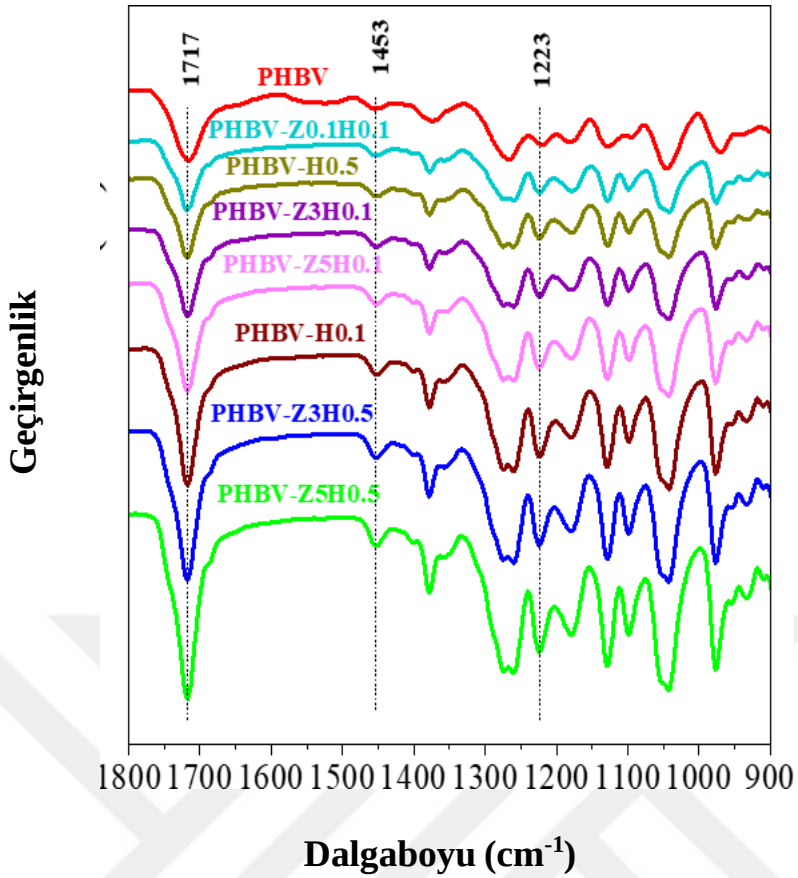
PHBV numunesinin dalga boyu (cm^{-1})	**Referans dalga boyu (cm^{-1})**	**Titreşim türü ve fonksiyonel grup**	**Referanslar**
2977	3015 - 2960	CH_3 asimetrik gerilme	[163]
2928	2945 - 2925	CH_2 antisimetrik gerilme	[163]
2859	2885 - 2865	CH_3 simetrik gerilme	[163]
1717	1720	C=O kristal bölgede moleküler zincirde bulunan ester grubunun gerilmesi	[164]
821,890,972	800- 975	Simetrik –C–O–C– gerilmesi	[164]
1128	1060 -1150	Antisimetrik –C–O–C–gerilmesi	[164]
1374	1378	CH_3 gruplarının simetrik salınımı	[164]
1453	1453	CH_2 gruplarının asimetrik deformasyonu	[164]

Şekil 7.10'da PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerine ait FTIR spektrumlar gösterilmektedir. Kompozitlere ait spektrumlar incelendiğinde 424 cm^{-1}'de görülen emilim bandının PHBV'deki bantlardan farklı olarak ZnO ile ilişkili olduğu açıkça görülmektedir. Sharma ve Jha ve ark. nın yaptıkları çalışmada da [165] yaklaşık 424 – 428 cm^{-1}'de belirgin Zn-O gerilme bantları gözlenmiştir.



Şekil 7. 10 PHBV ve PHBV-ZnO biyonanokompozitlerinin FT-IR spektrumları

FTIR spektrumunda PHBV için 1717, 1267, 1223 ve 972 cm^{-1}'de kristalin bölgeler için; 740, 1453, 1176 cm-^{1}'deise amorf bölgeler için emilim bantları oluşmaktadır [166]. PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin karakteristik piklerinin örtüşmesi sebebiyle aralarındaki farkı gözlemlemek zor olmuştur. Bununla beraber Şekil 7.11 incelendiğinde 1717 cm^{-1}'deki bant yoğunluğunun nanopartiküllerin katkısı ile birlikte kademeli olarak arttığı görülmektedir.



Şekil 7. 11 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP biyonanokompozitlerinin FT-IR spektrumları

Nanoparçacık katkısı ile polimer matristeki kristalinite değişimlerini görebilmek amacıyla kristalleşme indeksi kristalin ve amorf bölgedeki alanların oranı olarak (Denklem 3)'teki gibi hesaplanmıştır. 1223 cm^{-1} dalga boyu civarındaki tepe, PHBV'nin C-O bağına ait kristalin bölgeyi temsil eder; 1453 cm^{-1} dalga boyu civarındaki tepe aynı bağın amorf bölgesini gösterir [166,167]. Hesaplanan kristallik indeksi değerleri Tablo 7.3'te gösterilmektedir. Elde edilen veriler nanoparçacıkların çekirdekleştirici madde olarak hareket ettiğini ve böylece PHBV matrisinin kristalliğinin arttığını göstermektedir.

$$I_{PHBV/C-O} = \frac{A_{1223}}{A_{1453}} \quad (3)$$

Tablo 7. 3 Kristallik indeksi

Numune	A_{1223}/A_{1453}	Numune	A_{1223}/A_{1453}
PHBV	0.703	PHBV-SiHAP0.5	1.748
PHBV-ZnO0.1	0.968	PHBV- ZnO3SiHAP0.1	1.757
PHBV-ZnO3	2.164	PHBV- ZnO5SiHAP0.1	1.918
PHBV-ZnO5	2.216	PHBV-SiHAP0.1	2.295
PHBV-ZnO7	1.933	PHBV- ZnO3SiHAP0.5	1.930
PHBV-ZnO0.1SiHAP0.1	1.561	PHBV- ZnO5SiHAP0.5	2.627

7.4 Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analiz (TGA–DTA) Bulgularının Değerlendirilmesi

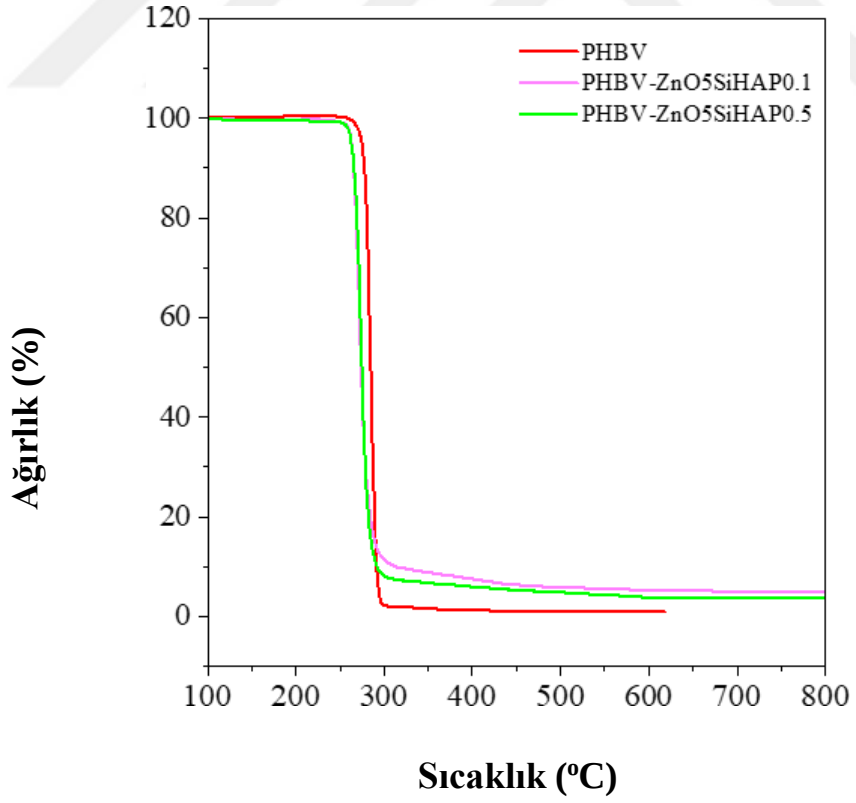
Kompozitlerin termal davranışlarını karakterize etmek ve polimer matris içerisinde dağılmış halde bulunan nanopartiküllerin varlığının termal özelliklerle ilişkisini tespit etmek için termal analiz yöntemleri uygulanmaktadır. TGA, numunelerin sıcaklıkla kütle değişimi arasındaki ilişkiyi belirleyerek termal dayanıklılıkları hakkında bilgi sunmak için kullanılmaktadır [168]. Diferansiyel termal analiz (DTA) ısı emilimi ve emisyonu olaylarını incelemek için kullanılır. DTA, bir numune ile inert bir referans malzeme arasındaki sıcaklık farkının, ikisi bilinen (doğrusal) bir oranda ısıtılırken veya soğutulurken ölçülmesine dayanır. Numune saflığı ve kristalliği, faz geçiş sıcaklıkları, nem ve uçucu madde içeriği, termal ve oksidatif kararlılık bu teknikle değerlendirilir. [169]. PHBV, PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitlerinin termal kararlılığı TGA/DTA kullanılarak incelenmiştir. SiHAP ve ZnO nano katkılarının PHBV biyopolimerinin termal bozunması üzerindeki etkisini incelemek amacıyla kompozitlere TGA analizi yapılmıştır. Analiz 20 °C – 800 °C sıcaklık aralığında nitrojen gazı varlığında uygulanmıştır. PHBV polimerinde ve üretilen biyonanokompozit numunelerde ilk yüzde ağırlık kaybının yaşandığı T_i, %10 ağırlık kaybının yaşandığı T_{10}, %50 ağrılık kaybının yaşandığı T_{50} ve en fazla ağırlık kaybının yaşandığı T_{max} değerlerine karşılık gelen sıcaklık (°C) verileri ve DTA pikleri Tablo 7.4'te yer almaktadır. DTA tepe noktası, nanokompozitin türev

eğrisinin tepe noktasıyla tanımlanan maksimum ağırlığını kaybettiği sıcaklıktır. DTA pikleri Tablo 7.4'te verilmiştir.

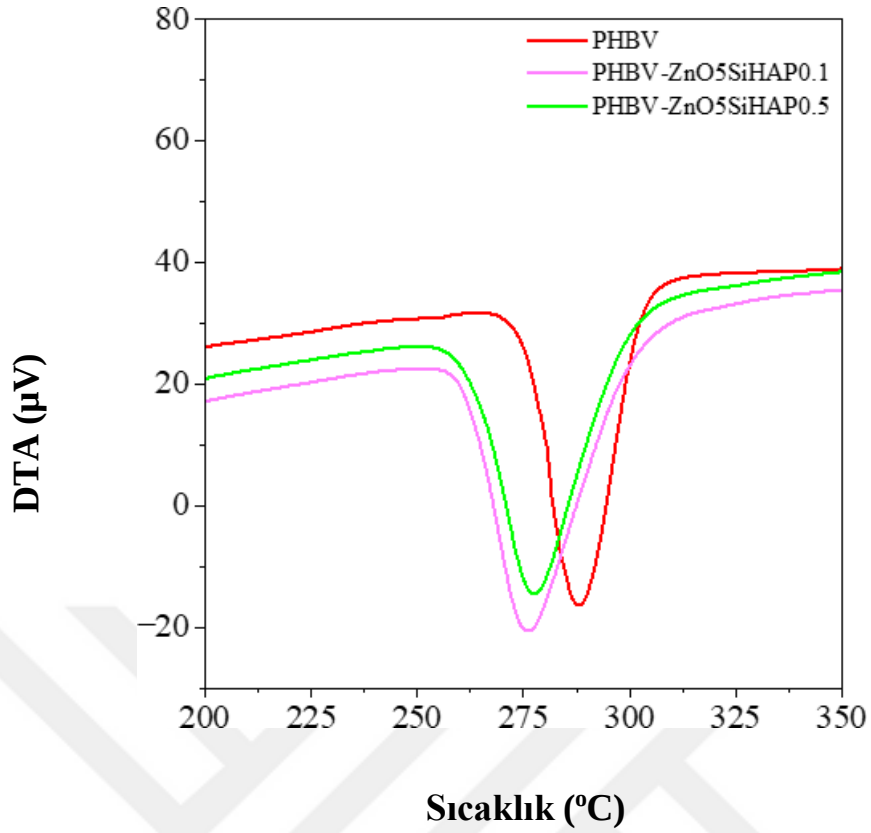
Tablo 7. 4 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP Biyonanokompozitlerinin TGA ve DTA Değerleri

Numune	T_i [°C]	T_{10} [°C]	T_{50} [°C]	T_{max} [°C]	DTA_{pik} [°C]
PHBV	271.14	277.29	284.56	297.53	288.05
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	260.53	265.42	273.72	293.00	276.51
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	259.87	265.74	274.60	292.90	277.42

PHBV'nin ve ZnOSiHAP kompozitlerinin TGA eğrileri Şekil 7.12'de ve DTA eğrileri Şekil 7.13'te gösterilmiştir. TGA eğrileri tüm numunelerin PHBV'nin termal bozunmasıyla ilişkili olan tek, önemli bir ağırlık kaybı adımına sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 7. 12 PHBV ve biyonanokompozitlerin TGA eğrileri



Şekil 7. 13 PHBV ve biyonanokompozitlerin TGA eğrileri

DTA eğrisi incelendiğinde PHBV'nin bozunma sürecinin 270 °C'den sonra hızla ilerlediği ve 297.5 °C'de tamamen bozunduğu ayrıca kompozitler için termal bozulma eğrilerinin de PHBV ile benzer şekilde olduğu görülmektedir. TGA eğrilerine bakıldığında ise nano katkıların bir etkisi olarak polimer matrisinin ayrışma sıcaklığının (maksimum ağırlık kaybı oranı) 288 °C'den 277 °C'ye düştüğü görülmektedir. Kompozitler polimer matrise göre daha düşük bir sıcaklıkta bozunmaya başlamıştır. Kompozitler 260 °C'de termal bozunmaya başlamış en yüksek bozunma 277 °C'de gerçekleşmiş ve bozunma 293 °C'de tamamlanmıştır.

Castro-Mayorga ve çalışma ark. yaptığı çalışmalar [170] sonucunda ZnO katkısının PHBV'nin T_{max} değerini ve dolayısıyla termal kararlılığı azalttığı görülmüştür. Bu durum eklenen ZnO parçacıklarının termal iletkenliği arttırması ile ilişkilendirmiştir. Chen ve ark. da [171] nano-HAP katkısı ile PHBV'nin Ti değerinin, katkısız duruma göre 5 °C azaldığını bildirmişlerdir. Braga ve ekibi PHBV-TiO_2 ile yaptıkları çalışmada [172] nanopartiküllerin fiberlerde kümelenmesinin termal bozunma sıcaklığını düşürdüğü sonucuna varmışlardır. Bu

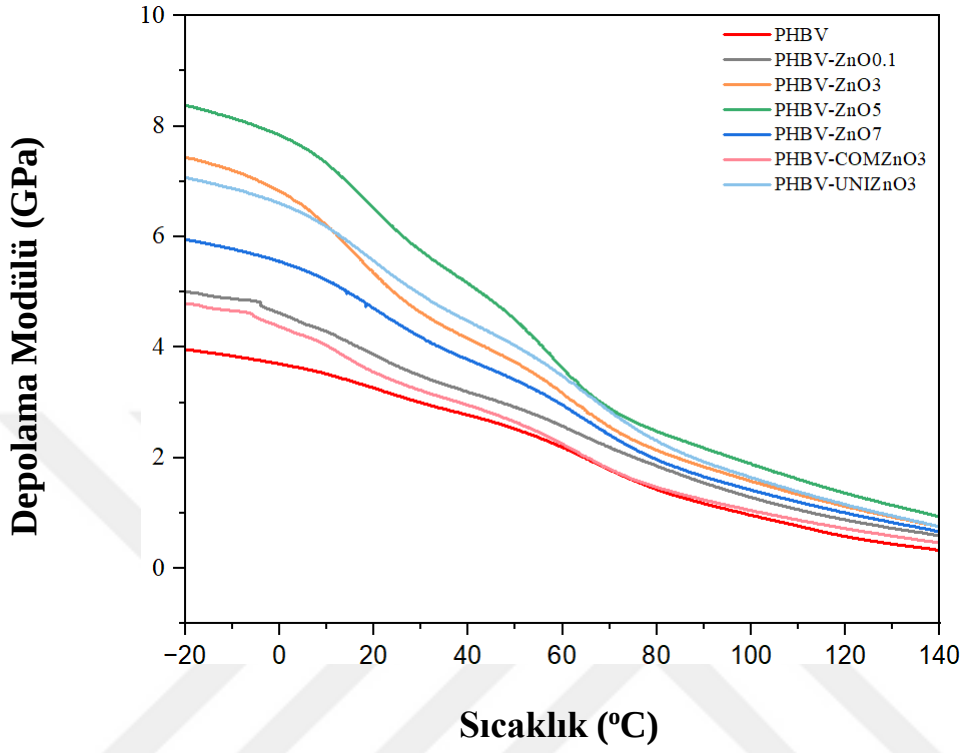
çalışmada da ZnO ve HAP parçacıklarının kümeleşme eğilimlerinin PHBV ile aralarındaki bağın zayıflamasına yol açtığı ve bununla ilintili olarak termal kararlılığın azaldığı düşünülmektedir.

7.5 Dinamik Mekaniz Analiz (DMA) Bulgularının Değerlendirilmesi

Dinamik mekanik analiz yöntemi, elastik modülü (veya depolama modülü, E'), viskoz modülü (veya kayıp modülü, E″) ve sönümleme katsayısını (tan δ) sıcaklık, frekans veya zamana bağlı olarak belirler. Sonuçlar genellikle G', G" ve tan δ 'nın sıcaklık veya gerinime bağlı olarak grafiksel çizimi biçimindedir [173].

Şekil 7.14'te -20 ila 140 °C arasında nanopartikül konsantrasyonlarının depolama modülü üzerindeki etkisini gösterilmektedir. PHBV ile karşılaştırıldığında nanopartikül katkısının depolama modülünde artışa yol açtığı gözlenmiştir. Şekil 7.14 incelendiğinde depolama modülündeki maksimum artışın ağırlıkça %5 ZnO katkılı kompozitte olduğu görülmektedir. PHBV-ZnO5 kompozit numunesi, -20 °C'de (PHBV'nin T_g'sinin 40 °C altında) depolama modülünde %111'lik bir artış ve 40 °C'de (PHBV'nin T_g'sinin 20 °C üzerinde) %86'lık bir artış göstermiştir. 140 °C'de, PHBV-ZnO5 depolama modülü, saf polimerle karşılaştırıldığında %183 artmıştır. Ağırlıkça %7 ZnO katkılı kompozit numunesinin ağırlıkça %3 ve %5 numunelerinden daha düşük bir depolama modülü artışı göstermesi bu konsantrasyonda artan aglomerasyon ile ilintili bulunmuştur. Nanopartiküllerin konsantrasyonunu arttırdıkça, polimer matris boyunca daha fazla partikül dağıtılır ve bu durum topaklanmaya sebep olabilir. Kompozitlerdeki FTIR ve XRD'den elde edilen veriler nanoparçacıkların konsantrasyonunun polimerin kristalliğini etkileyebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, kompozitlerdeki depolama modülündeki (E') değişimlerin matris kristalliğindeki değişimlerle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Ağırlıkça % 3 COM kodlu ZnO içeren kompozit ağırlıkça aynı oranda diğer tüm kompozitlerde bulunan ZnO içeren kompozitten oldukça düşük depolama modülü gösterdiği için çalışmanın diğer aşamaları için COM kodlu ZnO elenmiştir. Ağırlıkça aynı oranda UNI kodlu ZnO ve ZnO içeren kompozitlerin depolama modülleri karşılaştırıldığında UNIZnO içeren kompozitin depolama modülünün aynı sıcaklıklarda daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum SEM

sonuçları ile birlikte göz önüne alındığında UNIZnO'nun ZnO'ya kıyasla daha küçük boyutta kristaller içermesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. UNIZnO içeren kompozitin depolama modülü iyi sonuç vermesine rağmen antibakteriyel

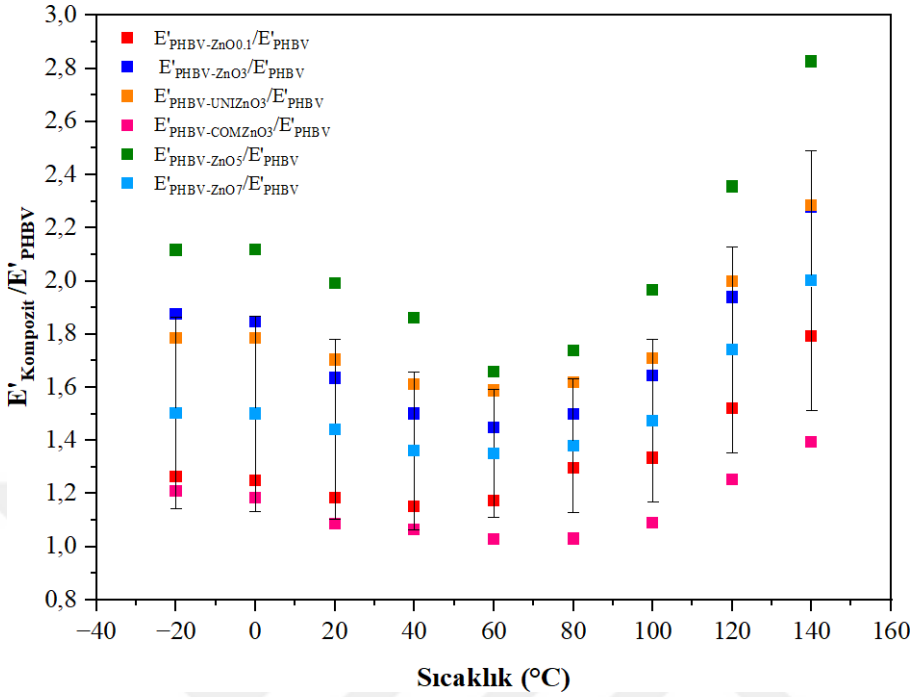


analizlerde beklenen sonucu vermemesi nedeniyle çalışmaya UNİZnO ile devam edilmemiştir.

Şekil 7. 14 PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modülü

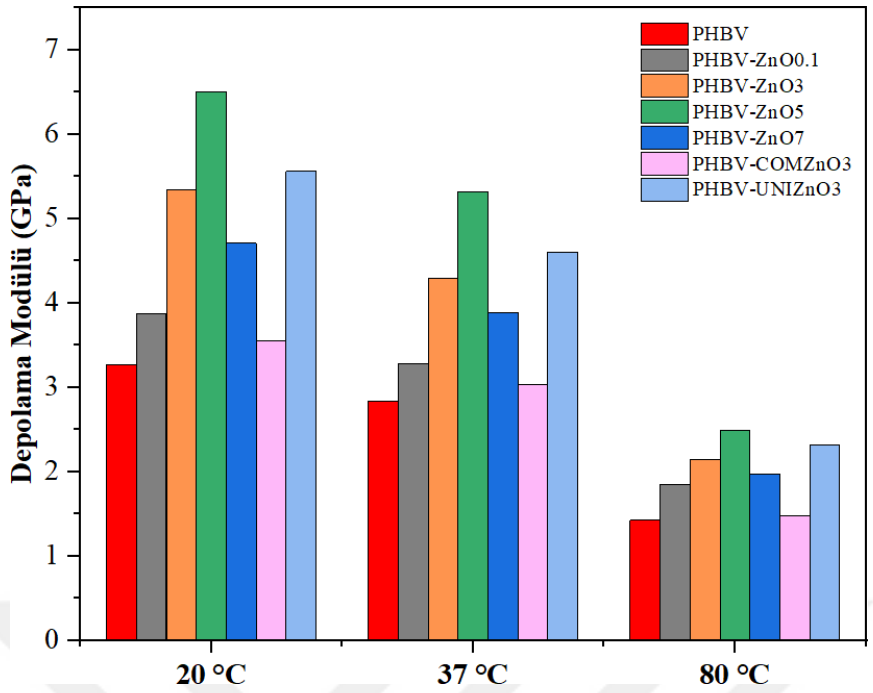
PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modülünü daha rahat karşılaştırabilmek amacıyla kompozitlerin modülünün PHBV'nin modülüne oranı cinsinden oluşturulan grafik Şekil 7.15' te verilmiştir. E'_{PHBV}/ E'_{PHBV} oranının 1 olduğu göz önüne alındığında PHBV-ZnO5 kompozitinin 37ºC'de PHBV'nin depolama modülünün yaklaşık 2 katı olduğu görülmektedir. Ayrıca bu kompozit tüm sıcaklıklarda PHBV'den ve PHBV-ZnO kompozitlerinin tümünden daha yüksek depolama modülü göstermiştir. 37ºC'de PHBV-ZnO3 kompoziti PHBV'nin yaklaşık 1.5 katı depolama modülüne sahipken; ağırlıkça aynı oranda farklı bir ZnO türü içeren PHBV-UNIZnO3 kompoziti PHBV'nin yaklaşık 1.7 katı depolama

modülüne ve PHBV-COMZnO3 kompoziti ise PHBV'nin yaklaşık 1.1 katı depolama modülüne sahiptir.



Şekil 7. 15 PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modülünün PHBV'nin depolama modülüne oranı grafiği

Şekil 7.16 'da 3 farklı sıcaklık için PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin depolama modüllerini karşılaştıran bar grafik verilmiştir.



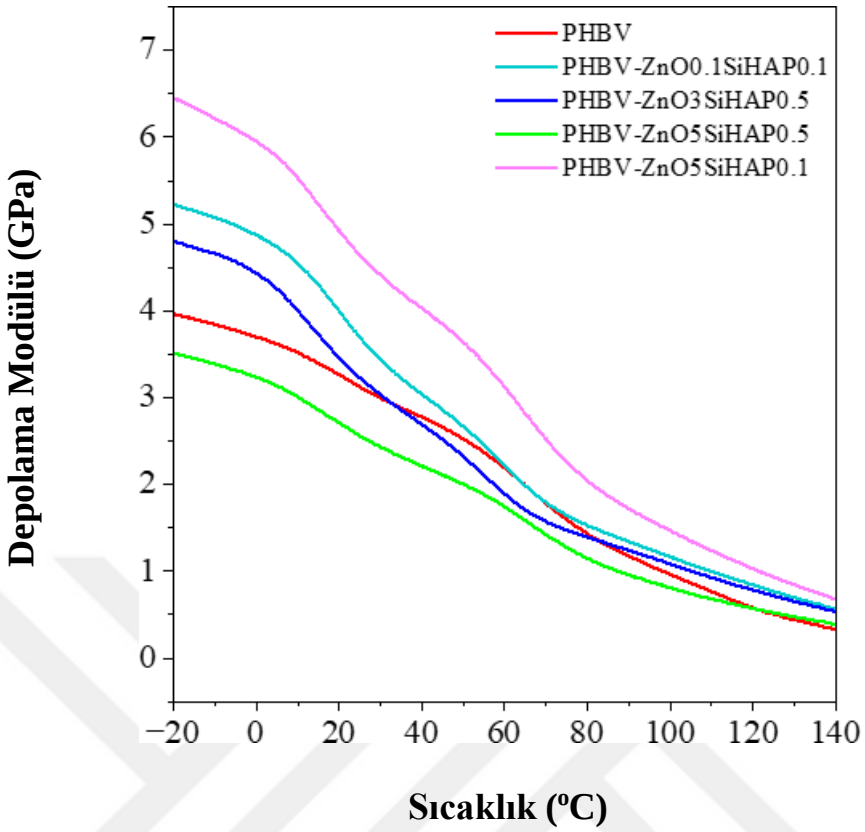
Şekil 7. 16 20, 37 ve 80 °C için PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerin depolama modülü

Şekil 7.17'de PHBV ve PHBV-SiHAPZnO kompozitlerinin depolama modülü grafiği ve Tablo 7.5' te farklı sıcaklıklarda ağırlıkça farklı yüzdelerde ZnOSiHAP içeren kompozitlerin PHBV'ye kıyasla depolama modüllerindeki yüzde değişim gösterilmektedir.

Tablo 7. 5 Farklı sıcaklıklarda ZnO-SiHAP içeren kompozitler için depolama modülündeki yüzde değişim

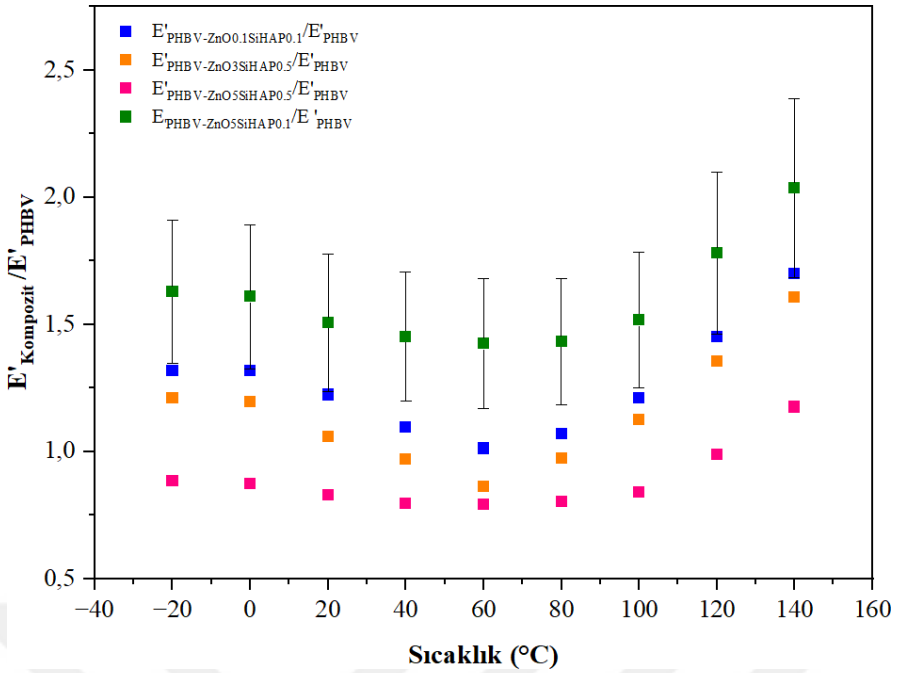
% E'(% Depolama Modülü Değişimi)= E'$_{PHBV}$- E'$_{Kompozit}$)/ E'$_{Kompozit}$										
Numune	**-20°C**	**0°C**	**20°C**	**37°C**	**40°C**	**60°C**	**80°C**	**100°C**	**120°C**	**140°C**
PHBV-SiHAP0.1	46.56	43.24	26.27	18.94	17.77	6.51	15.30	29.04	54.66	83.47
PHBV-SiHAP0.5	86.29	86.72	78.40	68.52	67.18	69.62	66.55	69.39	97.92	131.13
PHBV-ZnO0.1SiHAP0.1	31.81	31.77	22.40	10.99	9.79	1.25	7.12	20.99	45.09	70.09
PHBV-ZnO3SiHAP0.5	21.16	19.76	5.87	1.73	3.07	13.57	2.61	12.67	35.53	60.84
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	62.89	60.97	50.78	45.63	45.26	42.44	43.33	51.83	78.14	103.66
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	11.38	12.51	17.03	19.89	20.28	20.64	19.72	15.83	1.24	17.56

Tablo 7.5’ e göre PHBV-ZnO5SiHAP0.1 kompozit numunesinin depolama modülü PHBV’ye kıyasla 37 °C'de yaklaşık %46'lık bir artış göstermiştir. 37 °C'de PHBV-ZnO5 kompozitinin depolama modülü 5.323 GPa iken PHBV-ZnO5SiHAP0.1 kompozitinin depolama modülü 4.136 GPa’ya düşmesi iki katkı arasındaki etkileşimle ilgili olarak aglomerasyonun ve matris kristalliğinin artmasıyla açıklanabilir. Matris sertliği arttıkça ıslanan etkin yüzey alanı azalır böylece takviyenin depolama modülü üzerindeki güçlendirici etkisi düşer [159].



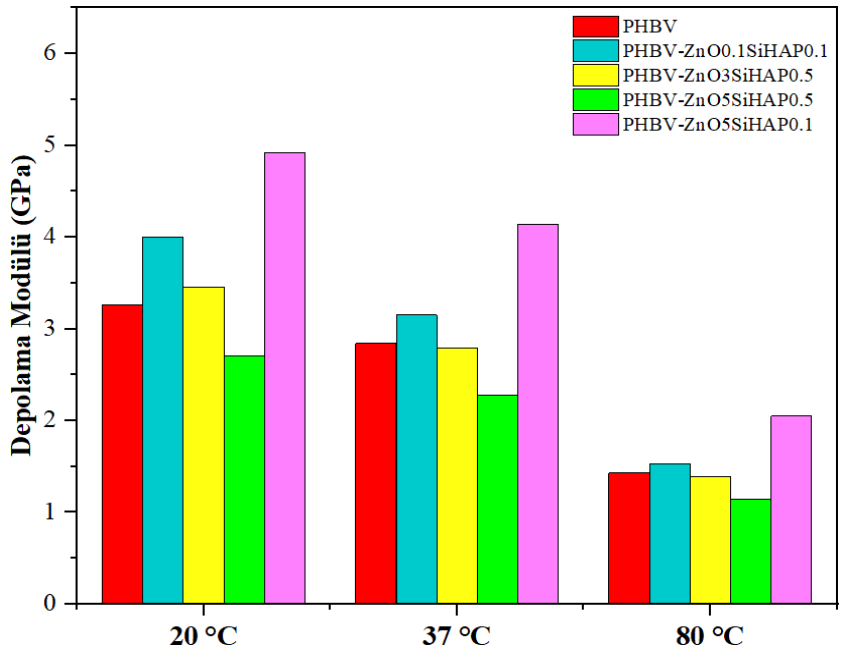
Şekil 7. 17 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modülü

PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modülünü daha rahat karşılaştırabilmek amacıyla kompozitlerin modülünün PHBV'nin modülüne oranı cinsinden oluşturulan grafik Şekil 7.18'de verilmiştir. E'_{PHBV}/ E'_{PHBV} oranının 1 olduğu göz önüne alındığında PHBV-ZnO5SiHAP0.1 kompozitinin 37ºC'de PHBV'nin depolama modülünün yaklaşık 1.7 katı olduğu görülmektedir. Ayrıca bu kompozit tüm sıcaklıklarda PHBV'den ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin tümünden daha yüksek depolama modülü göstermiştir.



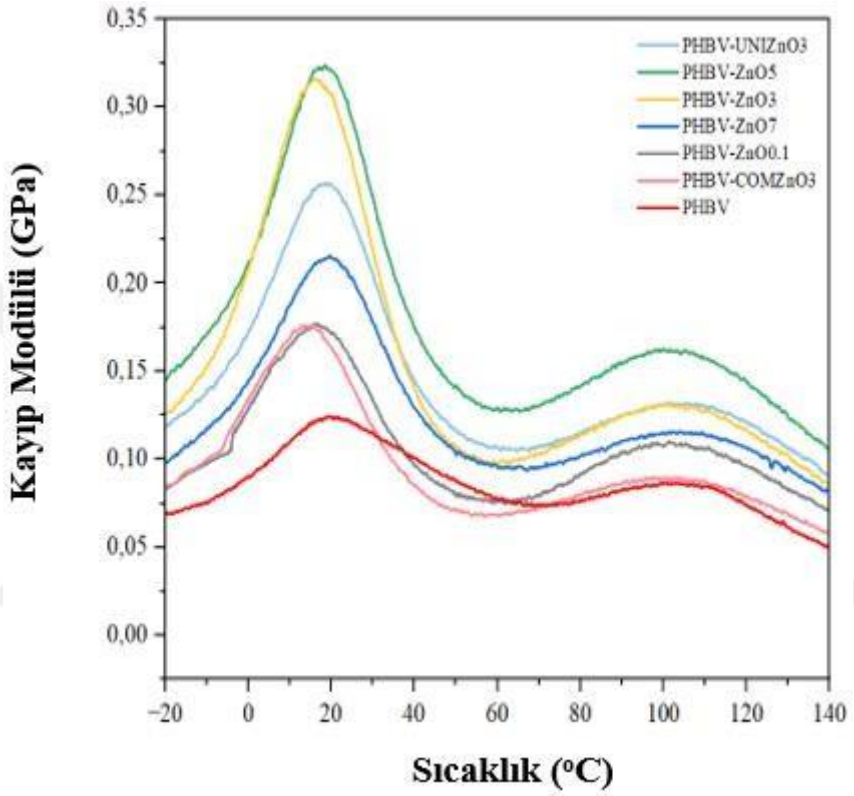
Şekil 7. 18 PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modülünün PHBV'nin depolama modülüne oranı grafiği

Şekil 7.19'da 3 farklı sıcaklık için PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modüllerini karşılaştıran bar grafik verilmiştir.



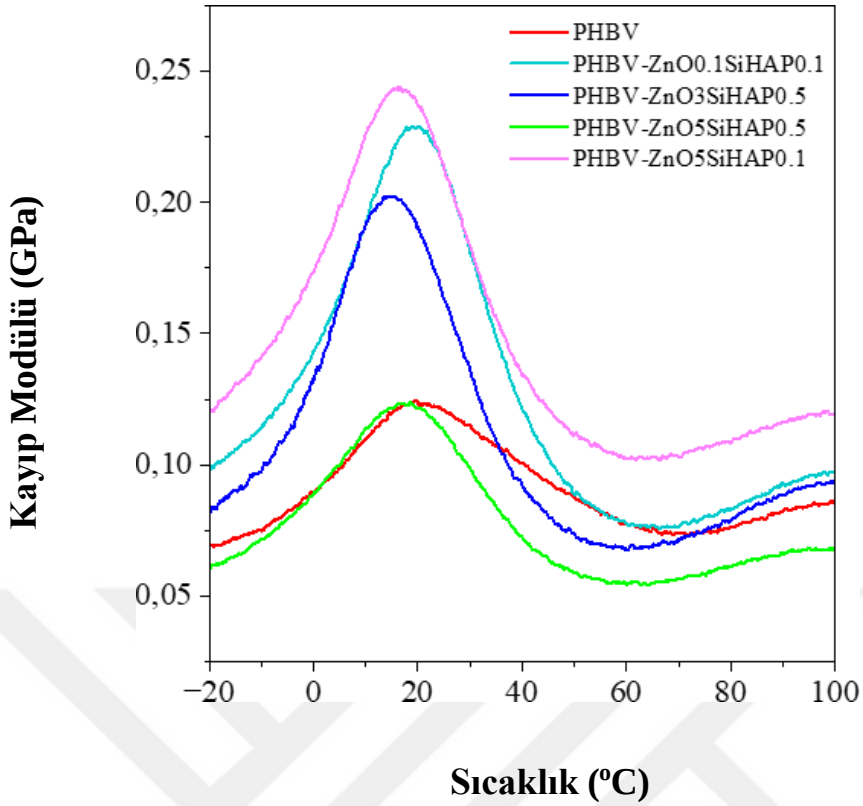
Şekil 7. 19 20, 37 ve 80 °C için PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin depolama modülü

PHBV ve PHBV-ZnO nanokompozitlerin kayıp modülü Şekil 7.20'de gösterilmiştir. PHBV-ZnO kompozitleri için, tüm kompozitler PHBV'ye kıyasla daha yüksek E" göstermiştir. E" değeri parçacık konsantrasyonu arttıkça yükselmektedir. PHBV-ZnO5 kompoziti en yüksek artışı göstermiştir ve cam geçiş sıcaklığına (20 °C) yakın E" değerlerinde PHBV'ye kıyasla kayıp modülünde yaklaşık %160 artış göstermiştir.



Şekil 7. 20 PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin kayıp modülü

PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP nanokompozitlerin kayıp modülü Şekil 7.21'de gösterilmiştir. PHBV-ZnOSiHAP kompozitleri incelendiğinde ise PHBV-ZnO5SiHAP0.1 kompoziti en yüksek artışı göstermiş ve 20 °C'de E" değerlerinde yaklaşık %92 artış sağlamıştır.



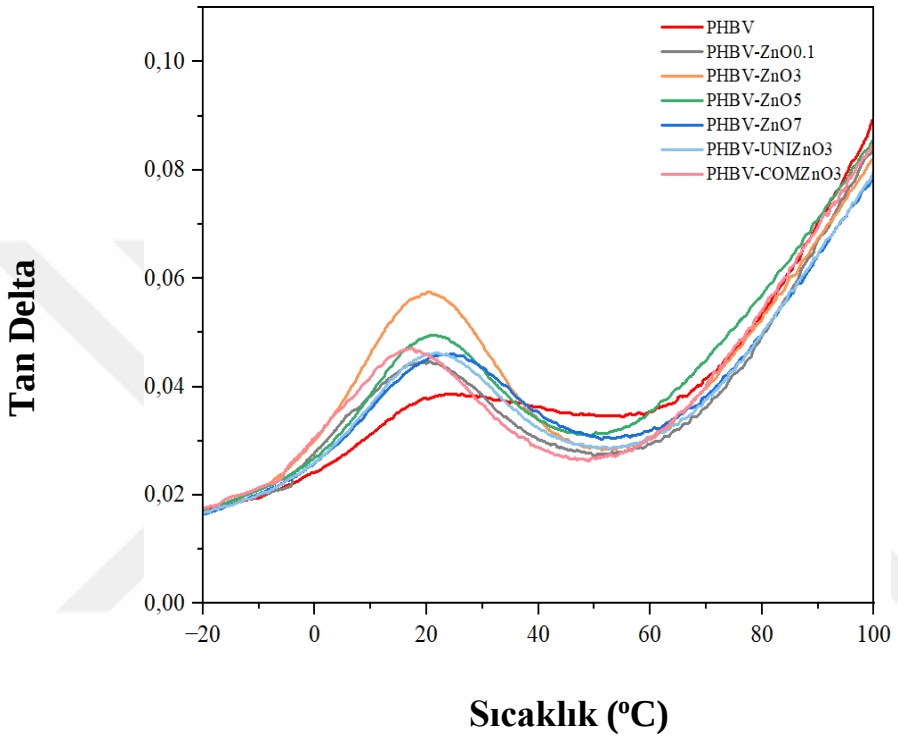
Şekil 7. 21 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP kompozitlerinin kayıp modülü

Tablo 7.6'da farklı sıcaklıklarda ZnOSiHAP içeren kompozitlerin PHBV'ye kıyasla kayıp modüllerindeki yüzde değişim gösterilmektedir.

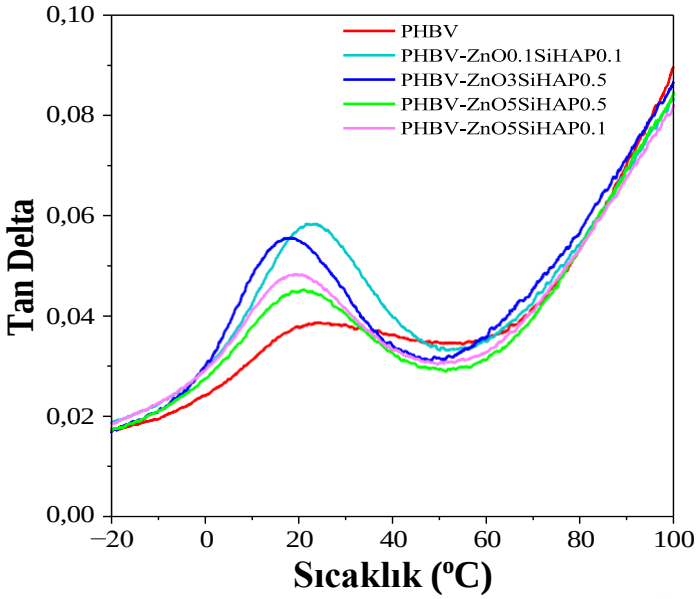
Tablo 7. 6 Farklı sıcaklıklarda Farklı yüzdelerde ZnOSiHAP içeren kompozitler için yüzde kayıp modülü

% E'' (% Depolama Modülü Değişimi)= E''$_{PHBV}$- E''$_{Kompozit}$)/ E''$_{Kompozit}$										
Numune	**-20°C**	**0°C**	**20°C**	**37°C**	**40°C**	**60°C**	**80°C**	**100°C**	**120°C**	**140°C**
PHBV-ZnO0.1SiHAP0.1	40.97	58.39	85.74	31.43	21.94	0.50	9.00	11.84	17.82	26.84
PHBV-ZnO3SiHAP0.5	16.83	46.80	54.10	4.76	8.91	13.92	3.05	7.59	11.33	20.93
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	71.81	92.56	92.03	40.95	35.14	31.87	40.83	37.80	46.72	65.59
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	14.23	1.50	1.30	24.76	31.87	30.24	21.52	21.45	19.58	9.50

Kayıp modülün (E") depolama modüle (E') oranını şeklinde ifade edilen tan delta (tan δ=E"/E') polimerin elastik ve viskoz davranışının bir ölçüsüdür. Camsı geçiş sıcaklığını (T_g) tan delta grafiğinin tepe pik noktasından yararlanılarak bulunabilir. Şekil 7.22'de PHBV-ZnO ; Şekil 7.23'te PHBV-ZnOSiHAP numunelerinin tan delta eğrileri, Tablo 7.7'de numunelerin camsı geçiş sıcaklığı değerleri verilmiştir.



Şekil 7. 22 PHBV ve PHBV-ZnO kompozitlerinin tan delta eğrileri



Şekil 7. 23 PHBV ve PHBV-ZnOSiHAP ve kompozitlerinin tan delta eğrileri

Hem PHBV-ZnO hem de PHBV-ZnOSiHAP kompozitleri için, tan delta tepe noktasından yalnızca bir geçiş şeklinde oluşmuştur.

Tablo 7. 7 Kompozitlerin T_g değerleri

Numune	**T_g (ºC)**
PHBV	26
PHBV-ZnO0.1	19.4
PHBV-ZnO3	20.6
PHBV-COMZnO3	17.5
PHBV-UNIZnO3	22.1
PHBV-ZnO5	21.7
PHBV-ZnO7	21.4
PHBV-ZnO0.1SiHAP0.1	21.6
PHBV-ZnO3SiHAP0.5	19.4
PHBV-ZnO5SiHAP0.1	19.4
PHBV-ZnO5SiHAP0.5	21.1

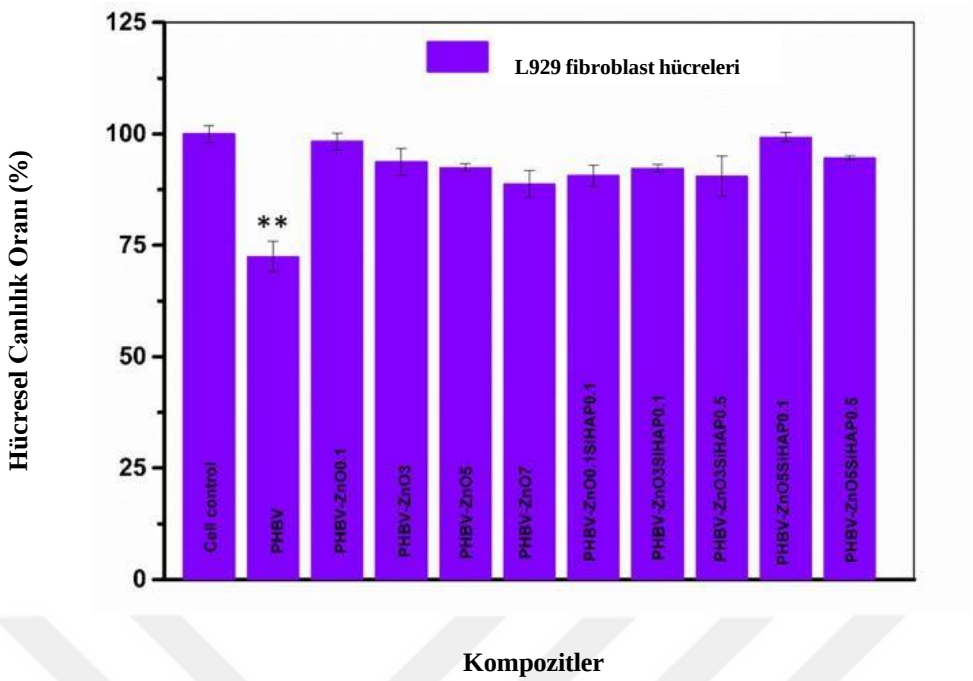
Camsı geçiş sıcaklığı, parçacıkların varlığında hafifçe daha düşük bir sıcaklığa kayma göstermiştir. Bulgular, polimerin zincirlerinin moleküler hareketliliğinin PHBV ve nanokristaller arasındaki etkileşim tarafından hafifçe sınırlandırıldığını düşündürmektedir. Daha yüksek (tan δ) tepe değeri genellikle malzemelerde daha büyük bir enerji dağılımı potansiyeli anlamına gelmektedir [174].

7.6 Biyolojik Analizler

Bu bölümde kompozit numunelerin toksisite, biyouyumluluk ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerin sonuçlarının değerlendirilmesine yer verilmiştir. Bu analizler Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği Laboratuvarında Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR danışmanlığında Buşra AKGÜL'ün ve Bükre KIRAN ÜNER'in destekleriyle gerçekleştirilmiştir.

7.6.1 Sitotoksisite Taraması Bulgularının Değerlendirilmesi

Biyolojik aktivite testlerinin ilk aşamasında üretilen biyonanokompozit numunelerin biyouyumluluk özellikleri incelenmiştir. Şekil 7.24'te PHBV ve kompozitlerin özütlerine maruz bırakılan fibroblast hücrelerinin hücresel canlılık oranları gösterilmektedir. Kontrol ile karşılaştırıldığında PHBV'ye maruz kalan hücrelerin hücresel canlılık oranı %75 iken kompozitlere maruz kalma sonrası hücresel canlılık oranları %90'ın üzerine çıkmıştır. Test edilen kompozitlerin hiçbiri fibroblastlar üzerinde herhangi bir toksisite göstermemiştir. Bununla birlikte hücresel canlılık oranı açısından en iyi gelişme ağırlıkça %5 ZnO ve %0.1 SiHAP içeren kompozit içindir ; bu kompozit özütüne maruz bırakılan hücrelerin canlılık oranları yaklaşık %100'e ulaşmıştır. Elde edilen bu bilgilere göre kullanılan ZnO ve SiHAP nanokatkıları PHBV'nin biyouyumluluğunu geliştirmiştir.

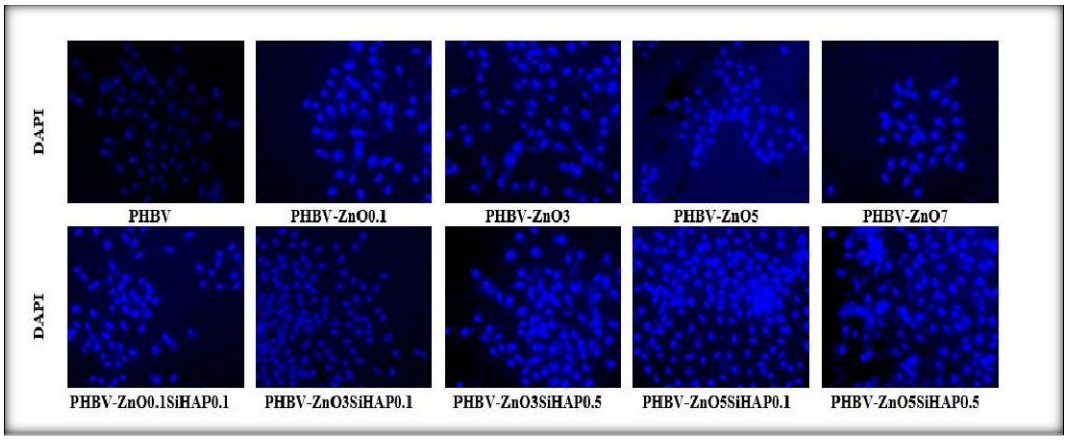


Şekil 7. 24 Kompozitlerin hücresel canlılık oranları (%)

($p<0,05$, $p<0,1$: *, $p<0,01$: **, $p<0,001$: ***)

7.6.2 DAPI Bulgularının Değerlendirilmesi

Fibroblast hücreleri ikinci aşamada sentezlenen kompozitlere ekilmiştir ve inkübasyondan sonra, kompozitlerle etkileşimleri DAPI boyama ile incelenmiştir. Şekil 7.25'te kompozit numuneler üzerine tutturulmuş fibroblastların DAPI görüntülerini verilmiştir. Elde edilen görüntülere göre PHBV'ye kıyasla kompozitlerde tutunan hücre sayısının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, fibroblastların bağlanma ve çoğalma kabiliyetlerinin kompozitlerde PHBV ile kıyaslandığında önemli ölçüde gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Fibroblastların hücresel bağlanma ve çoğalma uyarımı açısından en önemi iyileşmeyi PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitleri göstermiştir.



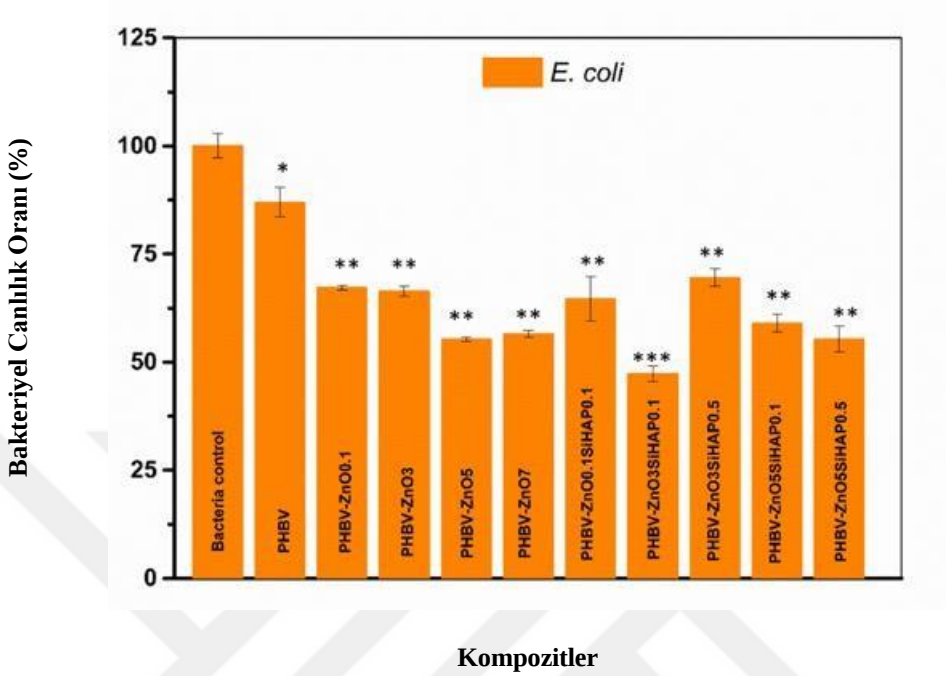
Şekil 7. 25 Kompozitlerin yüzeylerine ekilen fibroblast hücrelerinin DAPI boyama görüntüleri

Fibroblast hücrelerinin bağlanma oranlarını açısından kıyaslandığında PHBV-ZnOSiHAP kompozitleri genel olarak PHBV-ZnO kompozitlerinden daha gelişmiş özellik sergilemişlerdir. Bu durum gelişmiş biyouyumluluk özelliği bulunan SiHAP katkısının kompozit biyouyumluluğunda pozitif etki yaratması ile açıklanabilir.

7.6.3 Antibakteriyel Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

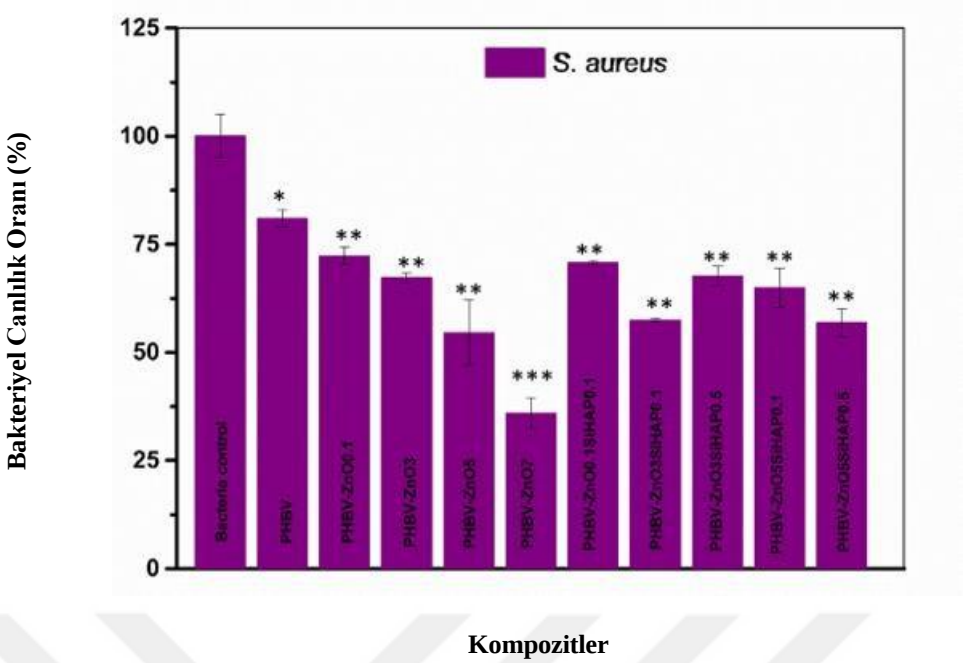
Üretilen kompozitlerin antibakteriyel performansları *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı incelenmiştir. Sonuçlara göre numunelerin *E. coli* ve *S. aureus* için kısmi büyüme inhibisyonuna neden olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte kompozitlerin *S. aureus*'a kıyasla *E. coli*'ye karşı daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Şekil 7.26'da kompozitlere maruz bırakılan *E. coli* bakterilerinin, Şekil 7.27'de ise kompozitlere maruz bırakılan *S. aureus* bakterilerinin hücresel canlılık yüzdeleri gösterilmektedir. Şekilde görüldüğü gibi, tüm kompozitler kontrole kıyasla bakteri hücresi büyüme oranlarını düşürmüştür. Kompozitlerde ZnO miktarının artışı ile bakteri büyüme oranlarında dikkat çekici bir azalma meydana geldiği açıkça görülmektedir. Bu durum ZnO'nun antibakteriyel aktvite özelliğiyle ilgilidir. En etkili antibakteriyel özelliğe sahip kompozit PHBV-ZnO3SiHAP0.1'dir; bu kompozitin canlı *E. coli* bakterilerinin %55'inden fazlasını öldürdüğü gözlenmiştir.

Ayrıca PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5, antibakteriyel özellik açısından etkili diğer iki kompozittir; bakteri hücresi büyümesinin neredeyse yarısını engellemişlerdir.



Şekil 7. 26 Sentezlenen kompozitlerin *E. coli* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin in vitro belirlenmesi

($p<0,05$, $p<0,1$: *, $p<0,01$: **, $p<0,001$: ***)



Şekil 7. 27 Sentezlenen kompozitlerin *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerinin in vitro belirlenmesi

($p<0,05$, $p<0,1$: *, $p<0,01$: **, $p<0,001$: ***)

Ağırlıkça en yüksek ZnO yüzdesine sahip PHBV-ZnO7 kompoziti yaklaşık % 65 oranında yaşayabilir bakteri hücresini inhibe ederek *S.aureus* üzerinde en güçlü antibakteriyel etkinliği göstermiştir.

Kompozitlerin *S.aureus*'tan daha çok *E.coli* üzerinde etkili olması gram pozitif *S.aureus* bakterilerinin daha kalın hücre duvarı yapısına sahip olması ve böylece Zn iyonlarının penetrasyonunu zorlaştırması; sitoplazma ve membranda bulunan temel bakteriyel bileşiklerle doğrudan temasını engelleyebilmesi ile açıklanabilir [68]. Bununla birlikte bu çalışma için literatürdeki çalışmalara benzer olarak Gram-negatif bir bakteri *E. coli'nin* daha ince hücre duvarı sayesinde Zn iyonlarının inhibitör parçacıklarının birikiminin bakteri sitoplazması içinde artmış olabileceği düşünülmektedir [175,176].

8
SONUÇ

Bu tez çalışmasında, silisyum katkılı hidroksiapatit (SiHAP) ve çinko oksit (ZnO) nanokristal katkılı PHBV matrisli biyonanokompozitler eriyik harmanlama yöntemi ile çift vidalı ekstrüderde üretilmiştir. Üretilen kompozitler sıcak-soğuk presleme işleminden geçirildikten sonra ağırlıkça farklı yüzdelerde ZnO ya da ZnOSiHAP içeren yuvarlak filmler halinde elde edilmiştir. Kompozit numunelerin karakterizasyonu için; Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Elemental Analiz (EDX); X–Işınları Difraksiyon Spektroskopisi Analizi (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT–IR), Termogravimetrik Analiz (TGA), Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Dinamik Mekanik Analiz (DMA);biyolojik analizler için sitotoksisite analizi, biyouyumluluk değerlendirmesi için DAPI boyama ve *E. coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel analiz yapılmış ve bulgular değerlendirilmiştir.

Nano dolgu malzemeleri SiHAP ve ZnO'ya ait SEM görüntüleri Image J programında incelendiğinde her iki nanokristalin de istenildiği gibi nano boyutta olduğu doğrulanmıştır. UNI kodlu ZnO ve kompozitlerde kullanılan ZnO'nun aynı oranda yakınlaştırılmış SEM görüntüleri karşılaştırıldığında UNIZnO'ya ait kristallerin daha küçük boyutta olduğu görülmüştür. PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerine ait SEM görüntüleri incelendiğinde her iki biyonanokompozitte de parçacıkların biyopolimer matriste iyi dağıldığı kanıtlanmıştır.

PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 biyonanokompozitlerine ait elemental analiz grafikleri ve görüntüleri ile C, O ve elementleri ile PHBV'nin Ca,P,O elementleri ile hidroksiapatitin ; Zn ve O elementleri ile de ZnO kompozitlerdeki varlığı doğrulanmıştır.

Ca element haritasında SiHAP içeriğinin ağırlıkça %0.1'den %0.5'e artışıyla ilişkili olarak daha yüksek bir kümeleşme eğilimi saptanmıştır. Bu durumun PHBV- ZnO5SiHAP0.5 kompozitinin depolama modülünde gözlenen azalmaya

sebep olabileceği düşünülmüştür. PHBV ve PHBV-ZnO5, PHBV-ZnO5SiHAP0.1, PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitlere ait XRD grafikleri incelendiğinde nano dolgu miktarı arttıkça PHBV karakteristik pikleri ile karşılaştırıldığında PHBV'ye ait 2θ = 13.4° ve 2θ = 26°'daki kırınım zirvelerinin daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu durum nanopartiküllerin PHBV'nin moleküler zincir düzenlemesini indüklemesiyle açıklanmaktadır. Bununla birlikte (020) ve (040) kristal düzlemlerindeki tepe yoğunluğunda görülen artış, nanopartikül katkısıyla kristalinitenin arttığını doğrulamaktadır. FT-IR analiz grafiklerine bakıldığında kompozitlerde artan nanodolgu miktarı ile PHBV'nin 1717 cm-1'deki karakteristik pikinde kademeli olarak artış görülmüştür. Buna göre XRD ve FT-IR sonuçları birbirleriyle örtüşmektedir. Kompozitlerin hesaplanan kristalinite indekslerine göre nanoparçacıkların çekirdekleştirici ajan olarak etki ettiği ve PHBV'nin kristalliğini arttırdığı görülmüştür.

PHBV'nin ve kompozitlerin DTA eğrisi incelendiğinde kompozitlerin PHBV ile benzer termal bozunma eğrilerine sahip olduğu görülmüştür. TGA eğrileri karşılaştırıldığında nanoparçacıkların etkisi ile PHBV'nin ayrışma sıcaklığının (maksimum ağırlık kaybı oranı) 288 °C'den 277 °C'ye düştüğü görülmüştür. Nanoparçacıkların varlığı kompozitlerin PHBV'ye göre daha düşük bir sıcaklıkta bozunmaya başlamasına sebep olmuştur. Kompozitler 260 °C'de termal bozunmaya başlamış en yüksek bozunma 277 °C'de gerçekleşmiş ve bozunma 293 °C'de tamamlanmıştır. ZnO ve SiHAP nano katkılarının kümeleşme eğilimiyle ilgili bu kümeleşmelerin kompozitlerdeki nanoparçacıklar ile PHBV arasındaki bağı zayıflatması sebebiyle termal kararlılığı kısmen azalttığı sonucuna varılmıştır.

PHBV ve kompozitlerin depolama modülleri incelendiğinde nanopartikül katkısının depolama modülünde artışa yol açtığı görülmüştür. Depolama modülündeki maksimum artış ağırlıkça %5 ZnO katkılı kompozitte meydana gelmiştir. PHBV-ZnO5 kompozit numunesi, -20 °C'de depolama modülünde %111'lik bir artış ve 40 °C'de %86'lık bir artış göstermiştir. 140 °C'de, PHBV-ZnO5 depolama modülü, katkısız polimerle karşılaştırıldığında %183 artmıştır. Buna karşılık ağırlıkça %7 ZnO katkılı kompozit numunesi ağırlıkça %3 ve %5 numunelerinden daha düşük bir depolama modülü artışı göstermiştir. Bu durum ağırlıkça %5'lik optimal değerin üzerine çıkılması ile artan aglomerasyon ile ilgili

bulunmuştur. FTI-R ve XRD'den elde edilen sonuçlara göre nanoparçacıkların konsantrasyonu polimerin kristalliğini etkilemektedir. Buna göre kompozitlerin depolama modülündeki (E') değişimlerin matris kristalliği ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Ağırlıkça aynı oranda ZnO ve UNIZnO içeren kompozitlerin aynı sıcaklıklardaki depolama modülleri karşılaştırıldığında genel olarak UNIZnO içeren kompozitin daha yüksek depolama modülüne sahip olduğu görülmüştür. SEM sonuçları ile değerlendirme yapıldığında bu durumun UNIZnO'nun daha küçük boyutta parçacık içermesi ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

PHBV ve kompozitlerin camsı geçiş sıcaklıkları karşılaştırıldığında kompozitlerin camsı geçiş sıcaklığı, hafifçe daha düşük bir sıcaklığa kayma göstermiştir. Polimer zincirlerinin moleküler hareketliliğinin matris ve nano dolgular arasındaki etkileşim tarafından hafifçe sınırlandırıldığını düşündürmüştür.

Sitotoksisite çalışmaları sonucunda hiçbir kompozitin fibroblastlar üzerinde toksik etkiye sahip olmadığı görülmüştür. En iyi hücresel canlılık oranı %5 ZnO ve %0.1 SiHAP içeren kompozitte görülmüştür; bu kompozit özütüne maruz bırakılan hücrelerin canlılık oranları yaklaşık %100'e ulaşmıştır. Sonuç olarak ZnO ve SiHAP nanokatkıları PHBV'nin biyouyumluluğunu geliştirmiştir. DAPI bulguları ile beraber incelendiğinde fibroblastların hücresel bağlanma ve çoğalma uyarımı destekleme yönünden en iyi kompozitler PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5 kompozitleri olarak seçilmiştir. PHBV-ZnOSiHAP kompozitleri genel olarak PHBV-ZnO kompozitlerinden daha gelişmiş biyouyumluluk sergilemişlerdir. Bu durumun gelişmiş biyouyumluluk özelliğine sahip SiHAP katkısı ile ilgi olduğu düşünülmektedir.

Antibakteriyel analiz sonuçlarına göre tüm kompozitler kontrole kıyasla E. coli ve S. aureus bakterilerinin hücresel büyüme oranlarını düşürmüştür. Kompozitlerde ZnO miktarının artışı ile beraber genel olarak bakteri büyüme oranlarında fark edilir bir düşüş görülmüştür. Bu durum beklenildiği gibi ZnO'nun antibakteriyel özelliği ile açıklanmıştır. En etkili antibakteriyel özelliğe sahip kompozitler PHBV- ZnO3SiHAP0.1, PHBV-ZnO5SiHAP0.1 ve PHBV-ZnO5SiHAP0.5dir.

PHBV-ZnO7 kompoziti yaklaşık % 65 oranında yaşayabilir bakteri hücresini inhibe ederek S.aureus üzerinde en güçlü antibakteriyel etkinliği göstermiştir.

Kompozitler S.aureus'tan daha çok E.coli üzerinde etkili olmuştur. Bu durum Gram pozitif S.aureus bakterilerinin daha kalın hücre duvarı yapısına sahip olmasıyla açıklanmıştır. Böylece Zn iyonlarının sitoplazma ve membranda bulunan temel bakteriyel bileşiklerle doğrudan temasını engelleyebilecek bir zorluk oluşmaktadır.

Sonuç olarak SiHAP ve ZnO nano kristal katkıları ile PHBV'nin mekanik özellikleri iyileştirilmiş ve çalışmanın amacına uygun olarak biyouyumlu ve antibakteriyel özellik kazandırılmış biyonanokompozitler elde edilmiştir.

KAYNAKÇA

[1] Expertmarketresearch, “Global Biodegradable Medical Plastics Market Outlook,” Sheridan, WY, USA, Expert Market Research,2022.

[Online]. Available https://www.expertmarketresearch.com/reports/biodegradable-medical-plastics-market

[2] S. Lambert and M. Wagner, “Environmental performance of bio-based and biodegradable plastics: The road ahead,” Chemical Society Reviews, vol. 46, no. 22. Royal Society of Chemistry, pp. 6855–6871, Nov. 21, 2017. doi: 10.1039/c7cs00149e.

[3] L. Yang, J. Hu, S. Jiang, H. Mao, and H. S. Nanda, Eds., Biodegradable Polymers for Biomedical Applications. in Frontiers Research Topics. Frontiers Media SA, 2022. doi: 10.3389/978-2-88976-571-3.

[4] T. Niemelä and M. Kellomäki, “Bioactive glass and biodegradable polymer composites,” in Bioactive Glasses: Materials, Properties and Applications, Elsevier Inc., 2011, pp. 227–245. doi: 10.1533/9780857093318.2.227.

[5] B. S. Thorat Gadgil, N. Killi, and G. V. N. Rathna, “Polyhydroxyalkanoates as biomaterials,” MedChemComm, vol. 8, no. 9. Royal Society of Chemistry, pp. 1774–1787, 2017. doi: 10.1039/c7md00252a.

[6] I. Vasile Antoniac Editor, “Handbook of Bioceramics and Biocomposites.”

[7] A. A. Khardenavis, M. Suresh Kumar, S. N. Mudliar, and T. Chakrabarti, “Biotechnological conversion of agro-industrial wastewaters into biodegradable plastic, poly β-hydroxybutyrate,” Bioresour Technol, vol. 98, no. 18, pp. 3579–3584, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.11.024.

[8] S. Khanna and A. K. Srivastava, “Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates,” Process Biochemistry, vol. 40, no. 2, pp. 607–619, 2 005, doi: 10.1016/j.procbio.2004.01.053.

[9] P. J. Strong et al., “The opportunity for high-performance biomaterials from methane,” Microorganisms, vol. 4, no. 1, Mar. 2016, doi: 10.3390/microorganisms4010011.

[10] R. Petkewich, “Technology Solutions: Microbes manufacture plastic from food waste,” Environ Sci Technol, vol. 37, no. 9, pp. 175A-176A, May 2003, doi: 10.1021/es032456x.

[11] M. Öner, G. Keskin, G. Kızıl, C. Pochat-Bohatier, and M. Bechelany, “Development of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/boron nitride bionanocomposites with enhanced barrier properties,” Polym Compos, vol. 40, no. 1, pp. 78–90, Jan. 2019, doi: 10.1002/pc.24603.

[12] F. Gironi and V. Piemonte, “Bioplastics and petroleum-based plastics: Strengths and weaknesses,” Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects, vol. 33, no. 21, pp. 1949–1959, 2011, doi: 10.1080/15567030903436830.

[13] Z. Li, J. Yang, and X. J. Loh, “Polyhydroxyalkanoates: Opening doors for a sustainable future,” NPG Asia Materials, vol. 8, no. 4. Nature Publishing Group, Apr. 22, 2016. doi: 10.1038/am.2016.48.

[14] G. Policastro, V. Luongo, and M. Fabbricino, “Biohydrogen and poly-β-hydroxybutyrate production by winery wastewater photofermentation: Effect of substrate concentration and nitrogen source,” J Environ Manage, vol. 271, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111006.

[15] G. Policastro, A. Panico, and M. Fabbricino, “Improving biological production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) co-polymer: a critical review,” Rev Environ Sci Biotechnol, vol. 20, no. 2, pp. 479–513, Jun. 2021, doi: 10.1007/s11157-021-09575-z.

[16] B. S. Thorat Gadgil, N. Killi, and G. V. N. Rathna, “Polyhydroxyalkanoates as biomaterials,” Medchemcomm, vol. 8, no. 9, pp. 1774–1787, 2017, doi: 10.1039/C7MD00252A.

[17] R. M. Da Silva Moreira Thiré, L. C. Arruda, and L. S. Barreto, “Morphology and thermal properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3. hydroxyvalerate)/attapulgite nanocomposites,” Materials Research, vol. 14, no. 3, pp. 340–344, Jul. 2011, doi: 10.1590/S1516-14392011005000046.

[18] T. Keshavarz and I. Roy, “Polyhydroxyalkanoates: bioplastics with a green agenda,” Current Opinion in Microbiology, vol. 13, no. 3. pp. 321–326, Jun. 2010. doi: 10.1016/j.mib.2010.02.006.

[19] T. Bekat and M. Öner, “Effects of surface modification and ultrasonic agitation on the properties of PHBV/ZnO nanocomposites,” in Pure and Applied Chemistry, Walter de Gruyter GmbH, Nov. 2016, pp. 1027–1035. doi: 10.1515/pac-2016-0805.

[20] O. Colpankan Gunes et al., “Three-dimensional silk impregnated HAp/PHBV nanofibrous scaffolds for bone regeneration,” International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, vol. 68, no. 5, pp. 217–228, Mar. 2019, doi: 10.1080/00914037.2018.1443928.

[21] M. Zinn, B. Witholt, and T. Egli, “Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate,” 2001. [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/drugdeliv

[22] M. Avella, E. Martuscelli, and M. Raimo, “The fractionated crystallization phenomenon in poly(3-hydroxybutyrate) / poly (ethylene oxide) blends,” 1993.

[23] W. J. Liu, H. L. Yang, Z. Wang, L. S. Dong, and J. J. Liu, “Effect of nucleating agents on the crystallization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate),” J Appl Polym Sci, vol. 86, no. 9, pp. 2145–2152, Nov. 2002, doi: 10.1002/app.11023.

[24] W. Yu, C. H. Lan, S. J. Wang, P. F. Fang, and Y. M. Sun, “Influence of zinc oxide nanoparticles on the crystallization behavior of electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanofibers,” Polymer (Guildf), vol. 51, no. 11, pp. 2403–2409, 2010, doi: 10.1016/j.polymer.2010.03.024.

[25] I. Zembouai, M. Kaci, S. Bruzaud, A. Benhamida, Y. M. Corre, and Y. Grohens, “A study of morphological, thermal, rheological and barrier properties of Poly(3-hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate)/polylactide blends prepared by melt mixing,” Polym Test, vol. 32, no. 5, pp. 842–851, 2013, doi: 10.1016/j.polymertesting.2013.04.004.

[26] G. Keskin, G. Kizil, M. Bechelany, C. Pochat-Bohatier, and M. Öner, “Potential of polyhydroxyalkanoate (PHA) polymers family as substitutes of petroleum based polymers for packaging applications and solutions brought by their composites to form barrier materials,” in Pure and Applied Chemistry, Walter de Gruyter GmbH, Nov. 2017, pp. 1841–1848. doi: 10.1515/pac-2017-0401.

[27] P. Calvert, “Biomimetic Ceramics and Composites,” MRS Bull, vol. 17, no. 10, pp. 37–40, Oct. 1992, doi: 10.1557/S0883769400046467.

[28] R. Z. Legeros, J. P. Legeros, “Hydroxyapatite,” in Bioceramics and their Clinical Applications, T. Kokubo,Ed., Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 2008, ch.16, pp. 367-394.

[29] V. Saxena and L. M. Pandey, “Synthesis and Sintering of Calcium Hydroxyapatite for Biomedical Applications,” Encyclopedia of Materials: Plastics and Polymers, pp. 859–870, Jan. 2022, doi: 10.1016/B978-0-12-820352-1.00136-X.

[30] L. M. Muresan, “Corrosion Protective Coatings for Ti and Ti Alloys Used for Biomedical Implants,” Intelligent Coatings for Corrosion Control, pp. 585–602, Jan. 2015, doi: 10.1016/B978-0-12-411467-8.00017-9.

[31] H. Zhou and J. Lee, “Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering,” Acta Biomaterialia, vol. 7, no. 7. Elsevier Ltd, pp. 2769–2781, 2011. doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.019.

[32] Y. Ito et al., “A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissue engineering material,” J Biosci Bioeng, vol. 100, no. 1, pp. 43–49, 2005, doi: 10.1263/jbb.100.43.

[33] I. Armentano, M. Dottori, E. Fortunati, S. Mattioli, and J. M. Kenny, “Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review,” Polym Degrad Stab, vol. 95, no. 11, pp. 2126–2146, Nov. 2010, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.007.

[34] C. Isikli, T. Endogan, A. Kiziltay, V. Hasirci, and N. Hasirci, “Preparation and characterization of natural polymer-based composite films for hard tissue engineering approaches,” in 2010 15th National Biomedical Engineering Meeting, IEEE, Apr. 2010, pp. 1–2. doi:10.1109/BIYOMUT.2010.5479749.

[35] J. D. Flores Valdez, A. Sáenz Galindo, C. M. López Badillo, . A. O. Castañeda Facio, and P. Acuña Vazquez, “Hydroxyapatite and Biopolymer Composites with Promising Biomedical Applications”, Rev Mex Ing Biom, vol. 43, no. 2, pp. 6–23, May 2022. doi: https://doi.org/10.17488/RMIB.43.2.1

[36] Q. T. Easter, “Biopolymer hydroxyapatite composite materials: Adding fluorescence lifetime imaging microscopy to the characterization toolkit,” Nano Select, vol. 3, no. 4, pp. 751–765, Apr. 2022, doi: 10.1002/nano.202100014.

[37] M. Rajan and M. Sumathra, “Biomedical Applications of Hydroxyapatite Nanocomposites,” in Lecture Notes in Bioengineering, Springer, 2019, pp. 167–204. doi: 10.1007/978-3-030-04741-2_6.

[38] R. Murugan and S. Ramakrishna, “Development of nanocomposites for bone grafting,” Composites Science and Technology, vol. 65, no. 15-16 SPEC. ISS. pp. 2385–2406, Dec. 2005. doi: 10.1016/j.compscitech.2005.07.022.

[39] W. Yue and R. K. Roeder, “Micromechanical model for hydroxyapatite whisker reinforced polymer biocomposites,” J Mater Res, vol. 21, no. 8, pp. 2136–2145, Aug. 2006, doi: 10.1557/jmr.2006.0263.

[40] M. Manzano et al., “Comparison of the osteoblastic activity conferred on Si-doped hydroxyapatite scaffolds by different osteostatin coatings,” Acta Biomater, vol. 7, no. 10, pp. 3555–3562, 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2011.06.004.

[41] W. J. Chong et al., “Biodegradable PLA-ZnO nanocomposite biomaterials with antibacterial properties, tissue engineering viability, and enhanced biocompatibility,” Smart Materials in Manufacturing, vol. 1, p. 100004, 2023, doi: 10.1016/j.smmf.2022.100004.

[42] K. M. Reddy, K. Feris, J. Bell, D. G. Wingett, C. Hanley, and A. Punnoose, “Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems,” Appl Phys Lett, vol. 90, no. 21, 2007, doi: 10.1063/1.2742324.

[43] T. Ohira, O. Yamamoto, Y. Iida, and Z. E. Nakagawa, “Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation,” J Mater Sci Mater Med, vol. 19, no. 3, pp. 1407–1412, Mar. 2008, doi: 10.1007/s10856-007-3246-8.

[44] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, “Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles,” ACS Nano, vol. 6, no. 6, pp. 5164–5173, Jun. 2012, doi: 10.1021/nn300934k.

[45] G. Colon, B. C. Ward, and T. J. Webster, “Increased osteoblast and decreased Staphylococcus epidermidis functions on nanophase ZnO and TiO2,” J Biomed Mater Res A, vol. 78, no. 3, pp. 595–604, Sep. 2006, doi: 10.1002/jbm.a.30789.

[46] K. Mohan Kumar, B. K. Mandal, E. Appala Naidu, M. Sinha, K. Siva Kumar, and P. Sreedhara Reddy, “Synthesis and characterisation of flower shaped Zinc Oxide nanostructures and its antimicrobial activity,” Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, vol. 104, pp. 171–174, Mar. 2013, doi: 10.1016/j.saa.2012.11.025.

[47] Y. W. Wang et al., “Superior antibacterial activity of zinc oxide/graphene oxide composites originating from high zinc concentration localized around bacteria,” ACS Appl Mater Interfaces, vol. 6, no. 4, pp. 2791–2798, Feb. 2014, doi: 10.1021/am4053317.

[48] Zarrindokht Emami-Karvani, “Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on Gram-positive and Gram-negative bacteria,” Afr J Microbiol Res, vol. 5, no. 18, Jun. 2012, doi: 10.5897/ajmr10.159.

[49] J. Jiang, J. Pi, and J. Cai, “The Advancing of Zinc Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications,” Bioinorganic Chemistry and Applications, vol. 2018. Hindawi Limited, 2018. doi: 10.1155/2018/1062562.

[50] P. K. Mishra, H. Mishra, A. Ekielski, S. Talegaonkar, and B. Vaidya, “Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications,” Drug Discovery Today, vol. 22, no. 12. Elsevier Ltd, pp. 1825–1834, Dec. 01, 2017. doi: 10.1016/j.drudis.2017.08.006.

[51] S. Nair et al., “Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells,” in Journal of Materials Science: Materials in Medicine, Dec. 2009. doi: 10.1007/s10856-008-3548-5.

[52] L. Zhang et al., “Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against E. coli,” Journal of Nanoparticle Research, vol. 12, no. 5, pp. 1625–1636, Jun. 2010, doi: 10.1007/s11051-009-9711-1.

[53] A. Marra, C. Silvestre, D. Duraccio, and S. Cimmino, “Polylactic acid/zinc oxide biocomposite films for food packaging application,” Int J Biol Macromol, vol. 88, pp. 254–262, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.03.039.

[54] R. C. Nonato et al., “Nanocomposites of PLA/ZnO nanofibers for medical applications: Antimicrobial effect, thermal, and mechanical behavior under cyclic stress,” Polym Eng Sci, vol. 62, no. 4, pp. 1147–1155, Apr. 2022, doi: 10.1002/pen.25913.

[55] R. Pantani, G. Gorrasi, G. Vigliotta, M. Murariu, and P. Dubois, “PLA-ZnO nanocomposite films: Water vapor barrier properties and specific end-use characteristics,” Eur Polym J, vol. 49, no. 11, pp. 3471–3482, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2013.08.005.

[56] V. Singh et al., “Improved antimicrobial activity of Zinc-Oxide Nanoparticles in peritoneal dialysis fluid using Silk Fibroin Protein coating,” Materials Research Innovations, 2022, doi: 10.1080/14328917.2022.2157984.

[57] K. Varaprasad, G. M. Raghavendra, T. Jayaramudu, and J. Seo, “Nano zinc oxide-sodium alginate antibacterial cellulose fibres,” Carbohydr Polym, vol. 135, pp. 349–355, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.08.078.

[58] M. Abbas, M. Buntinx, W. Deferme, and R. Peeters, “(Bio)polymer/ZnO Nanocomposites for Packaging Applications: A Review of Gas Barrier and Mechanical Properties,” Nanomaterials, vol. 9, no. 10, p. 1494, Oct. 2019, doi: 10.3390/nano9101494.

[59] P. T. S. Kumar, V. K. Lakshmanan, R. Biswas, S. V. Nair, and R. Jayakumar, “Synthesis and biological evaluation of chitin hydrogel/nano ZnO composite bandage as antibacterial wound dressing,” J Biomed Nanotechnol, vol. 8, no. 6, pp. 891–900, 2012, doi: 10.1166/jbn.2012.1461.

[60] M. M. AbdElhady, “Preparation and Characterization of Chitosan/Zinc Oxide Nanoparticles for Imparting Antimicrobial and UV Protection to Cotton Fabric,” International Journal of Carbohydrate Chemistry, vol. 2012, pp. 1–6, May 2012, doi: 10.1155/2012/840591.

[61] B. Rukmanikrishnan, F. R. M. Ismail, R. K. Manoharan, S. S. Kim, and J. Lee, “Blends of gellan gum/xanthan gum/zinc oxide based nanocomposites for packaging application: Rheological and antimicrobial properties,” Int J Biol Macromol, vol. 148, pp. 1182–1189, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.155.

[62] M. Zhai, Y. Xu, B. Zhou, and W. Jing, “Keratin-chitosan/n-ZnO nanocomposite hydrogel for antimicrobial treatment of burn wound healing: Characterization and biomedical application,” J Photochem Photobiol B, vol. 180, pp. 253–258, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.02.018.

[63] Ö. F. Cengiz, I. Erkale, S. Özkayalar, S. Alay Aksoy, and B. Boyaci, “Characterization and textile application of microcapsules containing /n-octadecane and produced from nano zinc oxide dopped gelatin/ gum arabic and chitosan/gum arabic,” Tekstil ve Muhendis, vol. 25, no. 110, pp. 86–95, 2018, doi: 10.7216/1300759920182511003.

[64] M. Ul-Islam, W. A. Khattak, M. W. Ullah, S. Khan, and J. K. Park, “Synthesis of regenerated bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposite films for biomedical applications,” Cellulose, vol. 21, no. 1, pp. 433–447, Feb. 2014, doi: 10.1007/s10570-013-0109-y.

[65] A. M. Díez-Pascual and A. L. Díez-Vicente, “High-Performance Aminated Poly(phenylene sulfide)/ZnO Nanocomposites for Medical Applications,” ACS Appl Mater Interfaces, vol. 6, no. 13, pp. 10132–10145, Jul. 2014, doi: 10.1021/am501610p.

[66] V. B. Schwartz et al., “Antibacterial surface coatings from zinc oxide nanoparticles embedded in poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel surface layers,” Adv Funct Mater, vol. 22, no. 11, pp. 2376–2386, Jun. 2012, doi: 10.1002/adfm.201102980.

[67] K. K. Jena, R. Narayan, and K. V. S. N. Raju, “Investigation of the effect of ZnO nanoparticles on the thermomechanical and microbial properties of hyperbranched polyurethane-urea hybrid composites,” Polym Int, vol. 61, no. 8, pp. 1309–1317, Aug. 2012, doi: 10.1002/pi.4209.

[68] S.-C. Li and Y.-N. Li, “Mechanical and antibacterial properties of modified nano-ZnO/high-density polyethylene composite films with a low doped content of nano-ZnO,” J Appl Polym Sci, p. NA-NA, 2010, doi: 10.1002/app.31802.

[69] J. Ahmed, Y. A. Arfat, H. Al-Attar, R. Auras, and M. Ejaz, “Rheological, structural, ultraviolet protection and oxygen barrier properties of linear low-density polyethylene films reinforced with zinc oxide (ZnO) nanoparticles,” Food Packag Shelf Life, vol. 13, pp. 20–26, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.fpsl.2017.04.005.

[70] X. Li, Y. Xing, Y. Jiang, Y. Ding, and W. Li, “Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens,” Int J Food Sci Technol, vol. 44, no. 11, pp. 2161–2168, Nov. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02055.x.

[71] J. Puiggalí and R. Katsarava, “Bionanocomposites,” in Elsevier eBooks, 2017, pp. 239–272. doi: 10.1016/b978-0-323-46153-5.00007-0.

[72] Passador, A. Ruvolo-Filho, and L. A. Pessan, “Nanocomposites of Polymer Matrices and Lamellar Clays,” in Elsevier eBooks, 2017, pp. 187–207. doi: 10.1016/b978-0-323-49782-4.00007-3.

[73] M. Saçak, “Polimer Kompozitleri,” in Polimer Teknolojisi, 5th ed., Türkiye: Gazi Kitabevi, 2020, pp. 277–307.

[74] S. Shankar and J.-W. Rhim, “Bionanocomposite Films for Food Packaging Applications,” in Elsevier eBooks, 2018. doi: 10.1016/b978-0-08-100596-5.21875-1.

[75] J. Nandhini, E. Karthikeyan, and S. Rajeshkumar, “Eco-friendly bio-nanocomposites: pioneering sustainable biomedical advancements in engineering,” Discover Nano, vol. 19, no. 1, May 2024, doi: 10.1186/s11671-024-04007-7.

[76] B. Kaffashi, S. Davoodi, and E. Oliaei, “Poly(ε-caprolactone)/triclosan loaded polylactic acid nanoparticles composite: A long-term antibacterial bionanocomposite with sustained release,” International Journal of Pharmaceutics, vol. 508, no. 1–2, pp. 10–21, Jul. 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.05.009.

[77] M. Delyanee, A. Solouk, S. Akbari, and M. D. Joupari, “Engineered hemostatic bionanocomposite of poly(lactic acid) electrospun mat and amino-modified halloysite for potential application in wound healing,” Polymers for Advanced Technologies, vol. 32, no. 10, pp. 3934–3947, May 2021, doi: 10.1002/pat.5399.

[78] S. Esmaielzadeh and H. Ahmadizadegan, “Preparation and characterization of novel polyimide/functionalized ZnO bionanocomposite for gas separation and study of their antibacterial activity,” Solid State Sciences, vol. 78, pp. 46–57, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.solidstatesciences.2018.02.008.

[79] M. S. Mohammadnia, S. Hemmati, M. Fasihi-Ramandi, and M. Bahari, “Synthesis of novel surface-modified nanohydroxyapatite containing chitosan-functionalized graphene oxide decorated with glycidyl methacrylate (GO–CS–GMA) via ATRP for biomedical application,” Polymer Bulletin, vol. 79, no. 11, pp. 9833–9858, Nov. 2021, doi: 10.1007/s00289-021-03968-4.

[80] D. Khandal, E. Pollet, and L. Avérous, “Elaboration and behavior of poly(3-hydroxybutyrate- co -4-hydroxybutyrate)- nano-biocomposites based on montmorillonite or sepiolite nanoclays,” European Polymer Journal, vol. 81, pp. 64–76, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2016.05.025.

[81] A. Mukheem et al., “Fabrication and Characterization of an Electrospun PHA/Graphene Silver Nanocomposite Scaffold for Antibacterial Applications,” Materials, vol. 11, no. 9, p. 1673, Sep. 2018, doi: 10.3390/ma11091673.

[82] A. L. Rivera-Briso, F. L. Aachmann, V. Moreno-Manzano, and Á. Serrano-Aroca, “Graphene oxide nanosheets versus carbon nanofibers: Enhancement of physical and biological properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films for biomedical applications,” International Journal of Biological Macromolecules, vol. 143, pp. 1000–1008, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.034.

[83] S. Ray and V. C. Kalia, “Biomedical Applications of Polyhydroxyalkanoates,” Indian Journal of Microbiology, vol. 57, no. 3, pp. 261–269, Apr. 2017, doi: 10.1007/s12088-017-0651-7.

[84] V. Sharma, R. Sehgal, and R. Gupta, “Polyhydroxyalkanoate (PHA): Properties and Modifications,” Polymer, vol. 212, p. 123161, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.polymer.2020.123161.

[85] N. Sharma, “Polyhydroxybutyrate (PHB) Production by Bacteria and its Application as Biodegradable Plastic in Various Industries,” Academic Journal of Polymer Science, vol. 2, no. 3, Feb. 2019, doi: 10.19080/ajop.2019.02.555587.

[86] R. Dwivedi, R. Pandey, S. Kumar, and D. Mehrotra, “Poly hydroxyalkanoates (PHA): Role in bone scaffolds,” Journal of Oral Biology and Craniofacial Research, vol. 10, no. 1, pp. 389–392, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.jobcr.2019.10.004.

[87] E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, and V. Alvarez, “Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging,” eXPRESS Polymer Letters, vol. 8, no. 11, pp. 791–808, Jan. 2014, doi: 10.3144/expresspolymlett.2014.82.

[88] A. I. Rodríguez -Cendal, I. Gómez-Seoane, F. J. De Toro-Santos, I. M. Fuentes-Boquete, J. Señarís-Rodríguez, and S. M. Díaz-Prado, “Biomedical Applications of the Biopolymer Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV): Drug Encapsulation and Scaffold Fabrication,” International Journal of Molecular Sciences, vol. 24, no. 14, p. 11674, Jul. 2023, doi: 10.3390/ijms241411674.

[89] A. Rivera-Briso and Á. Serrano-Aroca, “Poly(3-Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate): Enhancement Strategies for Advanced Applications,” Polymers, vol. 10, no. 7, p. 732, Jul. 2018, doi: 10.3390/polym10070732.

[90] M. I. Ibrahim, D. Alsafadi, K. A. Alamry, and M. A. Hussein, “Properties and Applications of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Biocomposites,” Journal of Polymers and the Environment, vol. 29, no. 4, pp. 1010–1030, Nov. 2020, doi: 10.1007/s10924-020-01946-x.

[91] Y.-X. Weng, Y. Wang, X.-L. Wang, and Y.-Z. Wang, “Biodegradation behavior of PHBV films in a pilot-scale composting condition,” Polymer Testing, vol. 29, no. 5, pp. 579–587, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.polymertesting.2010.04.002.

[92] D. A. Gregory et al., “Polyhydroxyalkanoates and their advances for biomedical applications,” Trends in Molecular Medicine, vol. 28, no. 4, pp. 331–342, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.molmed.2022.01.007.

[93] C. C. Chu, “Materials for absorbable and nonabsorbable surgical sutures,” in Elsevier eBooks, 2013, pp. 275–334. doi: 10.1533/9780857095602.2.275.

[94] I. Manavitehrani, A. Fathi, H. Badr, S. Daly, A. N. Shirazi, and F. Dehghani, “Biomedical Applications of Biodegradable Polyesters,” Polymers, vol. 8, no. 1, p. 20, Jan. 2016, doi: 10.3390/polym8010020.

[95] S. Vigneswari, V. Murugaiyah, G. Kaur, H. P. S. A. Khalil, and A. A. Amirul, “Simultaneous dual syringe electrospinning system using benign solvent to fabricate nanofibrous P(3HB-co-4HB)/collagen peptides construct as potential leave-on wound dressing,” Materials Science and Engineering C, vol. 66, pp. 147–155, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.03.102.

[96] O. I. Kalaoglu-Altan et al., “Silver Nanoparticle-Coated Polyhydroxyalkanoate Based Electrospun Fibers for Wound Dressing Applications,” Materials, vol. 14, no. 17, p. 4907, Aug. 2021, doi: 10.3390/ma14174907.

[97] A. V. Bagdadi et al., “Poly(3-hydroxyoctanoate), a promising new material for cardiac tissue engineering,” Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, vol. 12, no. 1, pp. e495–e512, Aug. 2017, doi: 10.1002/term.2318.

[98] R. Sodian et al., “Evaluation of Biodegradable, Three-Dimensional Matrices for Tissue Engineering of Heart Valves,” ASAIO Journal, vol. 46, no. 1, pp. 107–110, Jan. 2000, doi: 10.1097/00002480-200001000-00025.

[99] S. Kischkel et al., “Biodegradable polymeric stents for vascular application in N. Galego, C. Rozsa, R. Sánchez, J. Fung, N. A. Vázquez, and J. S. Tomás, “Characterization and application of poly(β-hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials,” Polymer Testing, vol. 19, no. 5, pp. 485–492, Aug. 2000, doi: 10.1016/s0142-9418(99)00011-2.

[100] P. Basnett et al., “Novel Poly(3-hydroxyoctanoate)/Poly(3-hydroxybutyrate) blends for medical applications,” Reactive and Functional Polymers, vol. 73, no. 10, pp. 1340–1348, Oct. 2013, doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.03.019.

[101] D. M. Panaitescu et al., “Medium Chain-Length Polyhydroxyalkanoate Copolymer Modified by Bacterial Cellulose for Medical Devices,” Biomacromolecules, vol. 18, no. 10, pp. 3222–3232, Sep. 2017, doi: 10.1021/acs.biomac.7b00855.

[102] E. Marcello et al., “Antibacterial Composite Materials Based on the Combination of Polyhydroxyalkanoates With Selenium and Strontium Co-substituted Hydroxyapatite for Bone Regeneration,” Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, vol. 9, Apr. 2021, doi: 10.3389/fbioe.2021.647007.

[103] N. Galego, C. Rozsa, R. Sánchez, J. Fung, N. A. Vázquez, and J. S. Tomás, “Characterization and application of poly(β-hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials,” Polymer Testing, vol. 19, no. 5, pp. 485–492, Aug. 2000, doi: 10.1016/s0142-9418(99)00011-2.

[104] L. R. Lizarraga-Valderrama et al., “Preclinical study of peripheral nerve regeneration using nerve guidance conduits based on polyhydroxyalkanaotes,” Bioengineering & Translational Medicine, vol. 6, no. 3, May 2021, doi: 10.1002/btm2.10223.

[105] S. Skibiński et al., “Functionalized tricalcium phosphate and poly(3-hydroxyoctanoate) derived composite scaffolds as platforms for the controlled release of diclofenac,” Ceramics International, vol. 47, no. 3, pp. 3876–3883, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.ceramint.2020.09.248.

[106] S. F. Williams, D. P. Martin, and A. C. Moses, “The History of GalaFLEX P4HB Scaffold,” Aesthetic Surgery Journal, vol. 36, no. suppl 2, pp. S33–S42, Oct. 2016, doi: 10.1093/asj/sjw141.

[107] S. Barbash, C. Denny, P. Collin, T. Reish, J. M. Hart, and S. F. Brockmeier, “Clinical Outcomes and Structural Healing After Arthroscopic Rotator Cuff Repair Reinforced With A Novel Absorbable Biologic Scaffold: A Prospective, Multicenter Trial,” Orthopaedic Journal of Sports Medicine, vol. 3, no. 7_suppl2, p. 2325967115S0007, Jul. 2015, doi: 10.1177/2325967115s00071

[108] M. Akram, R. Ahmed, I. Shakir, W. A. W. Ibrahim, and R. Hussain, “Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources,” Journal of Materials Science, vol. 49, no. 4, pp. 1461–1475, Nov. 2013, doi: 10.1007/s10853-013-7864-x.

[109] M. Kalpana and R. Nagalakshmi, “Nano Hydroxyapatite for Biomedical Applications Derived from Chemical and Natural Sources by Simple Precipitation Method,” Applied Biochemistry and Biotechnology, vol. 195, no. 6, pp. 3994–4010, May 2022, doi: 10.1007/s12010-022-03968-8.

[110] N. A. A. Majhooll et al., “A Brief Review on Biomedical Applications of Hydroxyapatite Use as Fillers in Polymer,” Journal of Chemistry and Chemical Engineering, vol. 13, no. 3, Mar. 2019, doi: 10.17265/1934-7375/2019.03.004.

[111] M. Mathina, E. Shinyjoy, L. Kavitha, P. Manoravi, and D. Gopi, “A comparative study of naturally and synthetically derived bioceramics for biomedical applications,” Materials Today Proceedings, vol. 26, pp. 3600–3603, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.matpr.2019.08.222.

[112] P. A. F. Sossa, B. S. Giraldo, B. C. G. Garcia, E. R. Parra, and P. J. A. Arango, "Comparative study between natural and synthetic Hydroxyapatite: structural, morphological and bioactivity properties," Matéria (Rio De Janeiro), vol. 23, no. 4, Dec. 2018, doi: 10.1590/s1517-707620180004.0551.

[113] W. L. Suchanek, P. Shuk, K. Byrappa, R. E. Riman, K. S. TenHuisen, and V. F. Janas, "Mechanochemical–hydrothermal synthesis of carbonated apatite powders at room temperature," Biomaterials, vol. 23, no. 3, pp. 699–710, Feb. 2002, doi: 10.1016/s0142-9612(01)00158-2.

[114] W. L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R. E. Riman, V. F. Janas, and K. S. TenHuisen, "Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical–hydrothermal method," Biomaterials, vol. 25, no. 19, pp. 4647–4657, Aug. 2004, doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.12.008.

[115] S. Tabassum, "Role of substitution in bioceramics," in Elsevier eBooks, 2020, pp. 117–148. doi: 10.1016/b978-0-08-102834-6.00005-7.

[116] T. Sun, M. Wang, Y. Shao, L. Wang, and Y. Zhu, "The Effect and Osteoblast Signaling Response of Trace Silicon Doping Hydroxyapatite," Biological Trace Element Research, vol. 181, no. 1, pp. 82–94, Apr. 2017, doi: 10.1007/s12011-017-1031-1.

[117] K. Nakata, T. Kubo, C. Numako, T. Onoki, and A. Nakahira, "Synthesis and Characterization of Silicon-Doped Hydroxyapatite," MATERIALS TRANSACTIONS, vol. 50, no. 5, pp. 1046–1049, Jan. 2009, doi: 10.2320/matertrans.mc200808.

[118] A. Balamurugan, A. H. S. Rebelo, A. F. Lemos, J. H. G. Rocha, J. M. G. Ventura, and J. M. F. Ferreira, "Suitability evaluation of sol–gel derived Si-substituted hydroxyapatite for dental and maxillofacial applications through in vitro osteoblasts response," Dental Materials, vol. 24, no. 10, pp. 1374–1380, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.dental.2008.02.017.

[119] M. Tavafoghi, J. M. Kinsella, C. G. Gamys, M. Gosselin, and Y. F. Zhao, "Silicon-doped hydroxyapatite prepared by a thermal technique for hard tissue engineering applications," Ceramics International, vol. 44, no. 15, pp. 17612–17622, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.ceramint.2018.06.071.

[120] I. R. Gibson, J. Huang, S. M. Best, and W. Bonfield, "ENHANCED IN VITRO CELL ACTIVITY AND SURFACE APATITE LAYER FORMATION ON NOVEL SILICON-SUBSTITUTED HYDROXYAPATITES.," Oct. 1999, doi: 10.1142/9789814291064_0046.

[121] A. E. Porter, N. Patel, J. N. Skepper, S. M. Best, and W. Bonfield, "Comparison of in vivo dissolution processes in hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics," Biomaterials, vol. 24, no. 25, pp. 4609–4620, Nov. 2003, doi: 10.1016/s0142-9612(03)00355-7.

[122] N. Patel et al., "A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules.," Journal of Materials Science Materials in Medicine, vol. 13, no. 12, pp. 1199–1206, Jan. 2002, doi: 10.1023/a:1021114710076.

[123] N. Sultana and T. H. Khan, “In VitroDegradation of PHBV Scaffolds and nHA/PHBV Composite Scaffolds Containing Hydroxyapatite Nanoparticles for Bone Tissue Engineering,” Journal of Nanomaterials, vol. 2012, pp. 1–12, Jan. 2012, doi: 10.1155/2012/190950.

[124] O. Rașoga et al., “Biocomposite coatings based on Poly(3-hydroxybutyrate-co -3-hydroxyvalerate)/calcium phosphates obtained by MAPLE for bone tissue engineering,” Applied Surface Science, vol. 417, pp. 204–212, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2017.01.205.

[125] M. Öner and B. İlhan, “Fabrication of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) biocomposites with reinforcement by hydroxyapatite using extrusion processing,” Materials Science and Engineering C, vol. 65, pp. 19–26, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2016.04.024.

[126] K. S. Jack, S. Velayudhan, P. Luckman, M. Trau, L. Grøndahl, and J. Cooper-White, “The fabrication and characterization of biodegradable HA/PHBV nanoparticle–polymer composite scaffolds,” Acta Biomaterialia, vol. 5, no. 7, pp. 2657–2667, Sep. 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.03.017.

[127] S. M. Cool et al., “Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) composite biomaterials for bone tissue regeneration: In vitro performance assessed by osteoblast proliferation, osteoclast adhesion and resorption, and macrophage proinflammatory response,” Journal of Biomedical Materials Research Part A, vol. 82A, no. 3, pp. 599–610, Feb. 2007, doi: 10.1002/jbm.a.31174.

[128] L.-X. Lü et al., “Effects of Hydroxyapatite-Containing Composite Nanofibers on Osteogenesis of Mesenchymal Stem Cells In vitro and Bone Regeneration In vivo,” ACS Applied Materials & Interfaces, vol. 5, no. 2, pp. 319–330, Jan. 2013, doi: 10.1021/am302146w.

[129] C. Pushpalatha et al., “Zinc Oxide Nanoparticles: A Review on Its Applications in Dentistry,” Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, vol. 10, May 2022, doi: 10.3389/fbioe.2022.917990.

[130] H. Mirzaei and M. Darroudi, “Zinc oxide nanoparticles: Biological synthesis and biomedical applications,” Ceramics International, vol. 43, no. 1, pp. 907–914, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2016.10.051.

[131] G. Dutta and A. Sugumaran, “Bioengineered zinc oxide nanoparticles: Chemical, green, biological fabrication methods and its potential biomedical applications,” Journal of Drug Delivery Science and Technology, vol. 66, p. 102853, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.jddst.2021.102853.

[132] B. A. Aderibigbe, “Zinc Oxide Nanoparticles in Biomedical Applications: Advances in Synthesis, Antimicrobial Properties, and Toxicity Considerations,” in Nanotechnology in the life sciences, 2024, pp. 119–149. doi: 10.1007/978-3-031-50093-0_6.

[133] S. Akbar et al., “An overview of the plant-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles and their antimicrobial potential,” Inorganic and Nano-Metal Chemistry, vol. 50, no. 4, pp. 257–271, Jan. 2020, doi: 10.1080/24701556.2019.1711121.

[134] H. Hong et al., “Cancer-Targeted Optical Imaging with Fluorescent Zinc Oxide Nanowires,” Nano Letters, vol. 11, no. 9, pp. 3744–3750, Aug. 2011, doi: 10.1021/nl201782m.

[135] S. S. Kumar, P. Venkateswarlu, V. R. Rao, and G. N. Rao, “Synthesis, characterization and optical properties of zinc oxide nanoparticles,” International Nano Letters., vol. 3, no. 1, May 2013, doi: 10.1186/2228-5326-3-30.

[136] Q. P. Pham et al., “Calcination-dependent microstructural and optical characteristics of eco-friendly synthesized ZnO nanoparticles and their implementation in analog memristor application,” Ceramics International, vol. 49, no. 12, pp. 20742–20755, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.ceramint.2023.03.206.

[137] Y. Han, J. Guo, Q. Luo, and C.-Q. Ma, “Solution-Processable Zinc Oxide for Printed Photovoltaics: Progress, Challenges, and Prospect,” Advanced Energy and Sustainability Research, vol. 4, no. 10, Jul. 2023, doi: 10.1002/aesr.202200179.

[138] I. Ayoub et al., “Advances in ZnO: Manipulation of defects for enhancing their technological potentials,” Nanotechnology Reviews, vol. 11, no. 1, pp. 575–619, Jan. 2022, doi: 10.1515/ntrev-2022-0035.

[139] A. Rahman, M. H. Harunsani, A. L. Tan, and M. M. Khan, “Zinc oxide and zinc oxide-based nanostructures: biogenic and phytogenic synthesis, properties and applications,” Bioprocess and Biosystems Engineering, vol. 44, no. 7, pp. 1333–1372, Mar. 2021, doi: 10.1007/s00449-021-02530-w.

[140] Ü. Özgür et al., “A comprehensive review of ZnO materials and devices,” Journal of Applied Physics, vol. 98, no. 4, Aug. 2005, doi: 10.1063/1.1992666.

[141] J. Malik, “ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Applications,” SMU Scholar. https://scholar.smu.edu/centers_maguireethics_research/2

[142] A. Król, P. Pomastowski, K. Rafińska, V. Railean-Plugaru, and B. Buszewski, “Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism,” Advances in Colloid and Interface Science, vol. 249, pp. 37–52, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.cis.2017.07.033.

[143] H. Rai, N. Prashant, and N. Kondal, “A review on defect related emissions in undoped ZnO nanostructures,” Materials Today Proceedings, vol. 48, pp. 1320–1324, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2021.08.343.

[144] C. R. Mendes et al., “Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens,” Scientific Reports, vol. 12, no. 1, Feb. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-06657-y.

[145] K. Kalra, V. Chhabra, and N. Prasad, “Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles: a mini review,” Journal of Physics Conference Series, vol. 2267, no. 1, p. 012049, May 2022, doi: 10.1088/1742-6596/2267/1/012049.

[146] I. Abd-Elmaqsoud, H. Elsaadawi, A. Ahmed, A. AbdelKhalek, and A. Arisha, “The Vast Biomedical Applications of Zinc Oxide Nanoparticles,” Zagazig Veterinary Journal/Zagazig Veterinary Journal (Online), vol. 50, no. 3, pp. 201–218, Sep. 2022, doi: 10.21608/zvjz.2022.144910.1182.

[147] R. K. Dutta, B. P. Nenavathu, M. K. Gangishetty, and A. V. R. Reddy, “Antibacterial effect of chronic exposure of low concentration ZnO nanoparticles onE. coli,” Journal of Environmental Science and Health Part A, vol. 48, no. 8, pp. 871–878, Jul. 2013, doi: 10.1080/10934529.2013.761489.

[148] H. Valadbeigi, N. Sadeghifard, V. H. Kaviar, M. H. Haddadi, S. Ghafourian, and A. Maleki, “Effect of ZnO nanoparticles on biofilm formation and gene expression of the toxin-antitoxin system in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa,” Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, vol. 22, no. 1, Oct. 2023, doi: 10.1186/s12941-023-00639-2.

[149] M. S. E.-D. Salem, A. Y. Mahfouz, and R. M. Fathy, “The antibacterial and antihemolytic activities assessment of zinc oxide nanoparticles synthesized using plant extracts and gamma irradiation against the uro-pathogenic multidrug resistant Proteus vulgaris,” BioMetals, vol. 34, no. 1, pp. 175–196, Nov. 2020, doi: 10.1007/s10534-020-00271-z.

[150] S. Sarwar, S. Chakraborti, S. Bera, I. A. Sheikh, K. M. Hoque, and P. Chakrabarti, “The antimicrobial activity of ZnO nanoparticles against Vibrio cholerae : Variation in response depends on biotype,” Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine, vol. 12, no. 6, pp. 1499–1509, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.nano.2016.02.006.

[151] S. Djearamane, A. Sundaraji, P. T. Eng, S. X. T. Liang, L. S. Wong, and B. Senthilkumar, “Susceptibility of Bacillus subtilis to Zinc Oxide Nanoparticles Treatment.,” PubMed, vol. 174, no. 1, pp. 61–66, Jan. 2023, doi: 10.7417/ct.2023.2498.

[152] J. Pawar, G. R. Pathade, and E. A. Singh, “Investigation of the antibacterial efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) based Irrigant against Enterococcus faecalis Concerning Root Canal Disinfection,” Ecology Environment and Conservation, vol. 29, pp. 70–74, Jan. 2023, doi: 10.53550/eec.2023.v29i03s.015.

[153] M. Râpă et al., “Electrospun Nanosystems Based on PHBV and ZnO for Ecological Food Packaging,” Polymers, vol. 13, no. 13, p. 2123, Jun. 2021, doi: 10.3390/polym13132123.

[154] C. Shuai et al., “Enhanced Crystallinity and Antibacterial of PHBV Scaffolds Incorporated with Zinc Oxide,” Journal of Nanomaterials, vol. 2020, pp. 1–12, Jul. 2020, doi: 10.1155/2020/6014816.

[155] A. M. Díez-Pascual and A. L. Díez-Vicente, “ZnO-Reinforced Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bionanocomposites with Antimicrobial Function for Food Packaging,” ACS Applied Materials & Interfaces, vol. 6, no. 12, pp. 9822–9834, Jun. 2014, doi: 10.1021/am502261e.

[156] K. J. Figueroa-Lopez et al., “Electrospun Active Biopapers of Food Waste Derived Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with Short-Term and Long-Term Antimicrobial Performance,” Nanomaterials, vol. 10, no. 3, p. 506, Mar. 2020, doi: 10.3390/nano10030506.

[157] R. Seydioğlu, “Biyonanokompozitlerin bariyer ve termal özelliklerine bor nitrürün etkisi,” Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul,2018.

[158] J. I. Goldstein, D. E. Newbury, J. R. Michael, N. W. M. Ritchie, J. H. J. Scott, and D. C. Joy, Scanning electron microscopy and X-Ray microanalysis. 2018. doi: 10.1007/978-1-4939-6676-9.

[159] M. Öner, S. Kirboga, E. S. Abamor, K. Karadas, and Z. Kral, "The influence of silicon-doped hydroxyapatite nanoparticles on the properties of novel bionanocomposites based on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)," eXPRESS Polymer Letters, vol. 17, no. 4, pp. 417–433, Jan. 2023, doi: 10.3144/expresspolymlett.2023.30.

[160] J. Abraham, B. Jose, A. Jose, and S. Thomas, "Characterization of green nanoparticles from plants," in Elsevier eBooks, 2020, pp. 21–39. doi: 10.1016/b978-0-12-822348-2.00002-4.

[161] S.-Y. Pung, W.-P. Lee, and A. Aziz, "Kinetic Study of Organic Dye Degradation Using ZnO Particles with Different Morphologies as a Photocatalyst," International Journal of Inorganic Chemistry, vol. 2012, pp. 1–9, May 2012, doi: 10.1155/2012/608183.

[162] M. Ernstsson and T. Wärnheim, "Surface Analytical Techniques Applied to Cleaning Processes," in Elsevier eBooks, 2007, pp. 747–789. doi: 10.1016/b978-044451664-0/50023-1.

[163] S. Singh, A. K. Mohanty, T. Sugie, Y. Takai, and H. Hamada, "Renewable resource based biocomposites from natural fiber and polyhydroxybutyrate-co-valerate (PHBV) bioplastic," Composites Part a Applied Science and Manufacturing, vol. 39, no. 5, pp. 875–886, May 2008, doi: 10.1016/j.compositesa.2008.01.004.

[164] Q.-S. Liu, M.-F. Zhu, W.-H. Wu, and Z.-Y. Qin, "Reducing the formation of six-membered ring ester during thermal degradation of biodegradable PHBV to enhance its thermal stability," Polymer Degradation and Stability, vol. 94, no. 1, pp. 18–24, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.10.016.

[165] D. Sharma and R. Jha, "Transition metal (Co, Mn) co-doped ZnO nanoparticles: Effect on structural and optical properties," Journal of Alloys and Compounds, vol. 698, pp. 532–538, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.12.227.

[166] S. Luo, J. Cao, and A. G. McDonald, "Interfacial Improvements in a Green Biopolymer Alloy of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Lignin via in Situ Reactive Extrusion," ACS Sustainable Chemistry & Engineering, vol. 4, no. 6, pp. 3465–3476, May 2016, doi: 10.1021/acssuschemeng.6b00495.

[167] L. Wei, A. G. McDonald, and N. M. Stark, "Grafting of Bacterial Polyhydroxybutyrate (PHB) onto Cellulose via In Situ Reactive Extrusion with Dicumyl Peroxide," Biomacromolecules, vol. 16, no. 3, pp. 1040–1049, Feb. 2015, doi: 10.1021/acs.biomac.5b00049.

[168] K. Pielichowski and K. Pielichowska, "Polymer nanocomposites," in Handbook of thermal analysis and calorimetry, 2018, pp. 431–485. doi: 10.1016/b978-0-444-64062-8.00003-6.

[169] J. Runt and I. R. Harrison, “9. Thermal Analysis of Polymers,” in Methods of experimental physics, 1980, pp. 287–337. doi: 10.1016/s0076-695x(08)60760-7.

[170] J. L. Castro-Mayorga, M. J. Fabra, A. M. Pourrahimi, R. T. Olsson, and J. M. Lagaron, “The impact of zinc oxide particle morphology as an antimicrobial and when incorporated in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films for food packaging and food contact surfaces applications,” Food and Bioproducts Processing, vol. 101, pp. 32–44, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.fbp.2016.10.007.

[171] D. Chen et al., “Dynamic mechanical properties and in vitro bioactivity of PHBHV/HA nanocomposite,” Composites Science and Technology, vol. 67, no. 7–8, pp. 1617–1626, Oct. 2006, doi: 10.1016/j.compscitech.2006.07.034.

[172] N. F. Braga et al., “PHBV-TiO2 mats prepared by electrospinning technique: Physico-chemical properties and cytocompatibility,” Biopolymers, vol. 109, no. 5, Apr. 2018, doi: 10.1002/bip.23120.

[173] S. Ebnesajjad and P. R. Khaladkar, “Failure Analysis,” in Elsevier eBooks, 2005, pp. 315–357. doi: 10.1016/b978-081551502-9.50013-2.

[174] N. Nammakuna, S. A. Barringer, and P. Ratanatriwong, “The effects of protein isolates and hydrocolloids complexes on dough rheology, physicochemical properties and qualities of gluten-free crackers,” Food Science & Nutrition, vol. 4, no. 2, pp. 143–155, Sep. 2015, doi: 10.1002/fsn3.266.

[175] B. Jubeh, Z. Breijyeh, and R. Karaman, “Resistance of Gram-Positive Bacteria to Current Antibacterial Agents and Overcoming Approaches,” Molecules, vol. 25, no. 12, p. 2888, Jun. 2020, doi: 10.3390/molecules25122888.

[176] A. Singh, K. Reshma, and A. K. Dubey, “Combined effect of surface polarization and ZnO addition on antibacterial and cellular response of Hydroxyapatite-ZnO composites,” Materials Science and Engineering C, vol. 107, p. 110363, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.msec.2019.110363.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. B., Kılıç, M., Öner. ‘‘Biyomedikal Uygulamalar İçin Ekstrüzyon Prosesi Kullanılarak Hibrit Biyonanokompozitlerin Geliştirilmesi’’. 15. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 4 – 7 Eylül, 2023.

Projeler

1. Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü, FYL–2023–5824 Biyomedikal Uygulamalar İçin Ekstrüzyon Prosesi Kullanılarak Hibrit Biyonanokompozitlerin Geliştirilmesi.