T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOBİYOMALZEMELERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARI

Sedef KAPTAN USUL

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. Didem BALKANLI

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ASLAN CANPOLAT

Aralık, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOBİYOMALZEMELERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARI

Sedef KAPTAN USUL tarafından hazırlanan tez çalışması 08.12.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Didem BALKANLI Yıldız Teknik Üniversitesi Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ASLAN CANPOLAT Gebze Teknik Üniversitesi Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Didem BALKANLI, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Melek Mümine EROL TAYGUN, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Bengü ERGÜDEN, Üye
Gebze Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Benan İNAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Didem BALKANLI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Nanobiyomalzemelerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyoteknolojik Uygulamaları" 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.

Sedef KAPTAN USUL

İmza

Aileme,

Eşime,

ve

Kızıma

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşıp yol gösteren, akademik alanda çalışma azmi aşılayan, çalışma prensibi ve hem bilimsel hem iş disipliniyle örnek olan değerli hocam Prof. Dr. Didem Balkanlı'ya,

Lisansüstü hayatımda tanışma fırsatı yakaladığım, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, akademik ve sosyal yaşamımda her zaman yanımda olup destek olan, akademik faaliyetlere katılmamı teşvik edip bilimsel ortamlara katılarak farklı bakış açıları kazanmamı sağlayan, pek çok konuda yetişmeme fırsat sağlamış değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Aslan Canpolat'a,

Tez çalışması sürecinde tez izleme komitesi olarak tezime katkıda bulunan Prof. Dr. Melek Mümine Erol Taygun ve Prof. Dr. Cem Bülent Üstündağ'a, tasarlanan nanobiyokompozitlerin antimikrobiyal etkisinin araştırılması konusunda yardımcı olan ve laboratuvar imkanlarından faydalanmış olduğum Doç. Dr. Bengü Ergüden ve öğrencisi Hatice Büşra Lüleci'ye, enzim üretimi ve immobilizasyon deneylerinde laboratuvar imkanlarından faydalanmış olduğum Prof. Dr. Barış Binay'a,

Sağlamış oldukları destekten dolayı TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na,

Çalışmalarım süresince sabır, destek ve sevgileriyle yanımda olup bana güç veren eşim Cihan Usul'a ve doğduğu günden bu yana hayatıma ışık olan kızım İnci Usul'a, anlayış ve desteklerinden dolayı değerli aileme, hoşgörülerinden dolayı mesai arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Sedef KAPTAN USUL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR v
SİMGE LİSTESİ ix
KISALTMA LİSTESİ x
ŞEKİL LİSTESİ xii
TABLO LİSTESİ xv
ÖZET xvi
ABSTRACT xvii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.1.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 1
1.1.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması 5
1.1.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları 7
1.2 Tezin Amacı 11
1.3 Orijinal Katkı 12
2 MATERYAL ve YÖNTEMLER 14
2.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 14
2.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 14
2.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 17
2.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması 20
2.2.1 Malzemeler 20
2.2.2 Fonksiyonel Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi 20
2.2.3 *E. coli* BL21 (DE3) Suşundan α-amilaz İzolasyonu 21
2.2.4 α-amilaz Enziminin Fe_3O_4-PGMA-5A Taşıyıcısına İmmobilizasyonu 23
2.2.5 Karakterizasyon 26
2.2.6 pH ve Sıcaklığın, Serbest ve İmmobilize Enzim Üzerindeki Etkisi 26
2.2.7 İmmobilize α-amilazın Yeniden Kullanılabilirliği 26
2.2.8 Depolama Kararlılığı 26
2.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları 27
2.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu 27

2.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması 29
2.3.3 Mekanik Özellikler 32
2.3.4 Dental Kompozitlerin Antibakteriyel Aktivitesi 33
3 DENEYSEL BULGULAR **34**
3.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 34
3.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 34
3.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 45
3.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması 54
3.2.1 FTIR Analizi 54
3.2.2 XRD Analizi 55
3.2.3 SEM Analizi 56
3.2.4 EDS Analizi 58
3.2.5 Termogravimetrik Analiz 60
3.2.6 pH ve Sıcaklığın Serbest ve İmmobilize Enzim Üzerindeki Etkisi 60
3.2.7 Depolama Kararlılığı ve Yeniden Kullanılabilirlik 62
3.3 Nanobiyomalzemelerin diş kompoziti uygulamaları 64
3.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu 64
3.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması 79
4 SONUÇLAR VE ÖNERİLER **94**
4.1. Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 94
4.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 94
4.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları 95
4.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması 96
4.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları 97
4.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu 97
4.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması 97
KAYNAKÇA **99**

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **119**

SİMGE LİSTESİ

α	Alfa
dk	Dakika
°	Derece
gr	Gram
keV	Kiloelektronvolt
%	Yüzde
MPa	Megapaskal
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mm^3	Milimetre küp
nm	Nanometre
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
θ	Teta

KISALTMA LİSTESİ

3A	3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitler
5A	5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitler
B	Benzimidazol içerikli dental kompozitler
BisGMA	Bisfenol-A glisidil metakrilat
CQ	Kamforokinon
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
DMF	N,N-dimetilformamid
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNS	Dinitrosalisilik asit
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
E. coli	*Escherichia coli*
E. faecalis	*Enterococcus faecalis*
EDMAB	Etil 4-(dimetilamino)benzoat
EDS	Elemental analiz
e-SiO_2	Epoksi silika nanopartiküller
e-SiO_2-B	Epoksi silika-benzimidazol
e-SiO_2-I	Epoksi silika-imidazol
Fe_3O_4	Manyetik nanopartikül
FTIR	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi
GMA	Glisidil metakrilat
HaCat	İnsan derisi keratinositleri
HSS	İçi boş silika nanopartiküller
I	İmidazol içerikli dental kompozitler
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyon
MFK	Minimum fungisidal konsantrasyon
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MSN	Gözenekli silika nanopartiküller
P. aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*
PGMA	Poli (glisidil metakrilat)
PTMS	Trimetoksimetilsilan
PVTri	Poli(1-Vinil-1,2,4-triazol)
S. aureus	*Staphylococcus aureus*

S. cerevisiae	*Saccharomyces cerevisiae*
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
T	Triazol içerikli dental kompozitler
TEGDMA	Trietilen glikol dimetakrilat
TEOS	Tetraetil ortosilikat
TGA	Termogravimetrik analiz
VTri	1-Vinil-1,2,4-triazol
XRD	X-ışını kırınımı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1 a)Fonksiyonel grupların ve b) nanokompozitlerin kimyasal yapıları....18

Şekil 2. 2 Hasat edilen hücrelerin lizozim ile sonikasyonu.....21

Şekil 2. 3 Ni-NTA agaroz kolonu ile enzimin saflaştırılması 23

Şekil 2. 4 DNS eklenen enzimlerin 100°C' de bekletilmesi ve aktivite ölçümlerinin gerçekleştirilmesi 25

Şekil 2. 5 Dental kompozitlerin suda çözünürlük ve absorpsiyon deneyi.....31

Şekil 2. 6 Dental kompozitlerin Fenton deneyi 32

Şekil 2. 7 Instron 5569 kompresyon test cihazı.....33

Şekil 3. 1 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin FTIR spektrumları ..……..……...35

Şekil 3. 2 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin SEM görüntüleri.....36

Şekil 3. 3 MSN-PVTri, HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri'nin EDS grafikleri 37

Şekil 3. 4 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin XRD grafikleri.....39

Şekil 3. 5 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin TGA grafikleri.....41

Şekil 3. 6 HaCaT keratinosit hücre hattı üzerinde hücre proliferasyon deneyi. (A) PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), (B) e-SiO_2'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), ve (C) HSS'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) HaCaT hücrelerine 24, 48 ve 72. saatlerde MTS testi kullanılarak uygulanmış ve absorbans bir mikroplaka okuyucu kullanılarak 490 nm'de ölçülmüştür. Veriler üç kez tekrarlanan deneylerin ortalamasını ± SD göstermektedir (***$P \leq 0.001$, *$P \leq 0.05$).....43

Şekil 3. 7 HaCaT keratinosit hücre hattı üzerinde hücre proliferasyon deneyi. (A) e-SiO_2-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), (B) HSS-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) ve (C) MSN-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) HaCaT hücrelerine 24, 48 ve 72. saatlerde MTS testi kullanılarak uygulanmış ve absorbans bir mikroplaka okuyucu kullanılarak 490 nm'de ölçülmüştür. Veriler üç kez tekrarlanan deneylerin ortalamasını ± SD göstermektedir (****$P \leq 0.0001$, **$P \leq 0.01$). 44

Şekil 3. 8 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in FTIR grafiği.....46

Şekil 3. 9 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in XRD grafiği 47

Şekil 3. 10 MSN, MP, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemelerin SEM görüntüleri 48

Şekil 3. 11 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in EDS grafiği.....49

Şekil 3. 12 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in TGA grafiği 50

Şekil 3. 13 MP, MT ve M3 nanobiyomalzemelerin su alımı 51

Şekil 3. 14 MP, MT, M3 ve M5 nanobiyokompozitlerinin fenton reaktifi ile muameleden sonraki formları 52

Şekil 3. 15 Maya ve bakteri suşları için 1 mg/mL ila 100 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda nanokompozitlerin MBK plakaları 53

Şekil 3. 16 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA, Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilaz partiküllerinin FTIR spektrumu 55

Şekil 3. 17 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA ve Fe_3O_4-PGMA-5A partiküllerinin XRD spektrumları 56

Şekil 3. 18 A)Fe_3O_4, B)Fe_3O_4-PGMA, C)Fe_3O_4-PGMA-5A ve D)Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilaz partiküllerinin SEM görüntüleri 57

Şekil 3. 19 A)Fe_3O_4-PGMA-5A ve B)Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilaz EDS görüntüleri ve spektrumları 59

Şekil 3. 20 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA ve Fe_3O_4-PGMA-5A partiküllerinin TGA grafiği 60

Şekil 3. 21 pH faktörünün serbest ve immobilize enzime etkisi 61

Şekil 3. 22 Sıcaklık faktörünün serbest ve immobilize enzime etkisi 62

Şekil 3. 23 Serbest ve immobilize enzimin saklama süresi 63

Şekil 3. 24 İmmobilize α-amilaz enziminin tekrar kullanılabilirliği 64

Şekil 3. 25 Epoksi silikanın FTIR grafiği 66

Şekil 3. 26 Dental kompozitlerin FTIR analizi 67

Şekil 3. 27 Epoksi silikanın SEM görüntüsü 68

Şekil 3. 28 a) Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino triazol içerikli dental kompozitlerin, c)5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin SEM görüntüleri 69

Şekil 3. 29 Azol içerikli nanopartikülerden oluşan dental kompozitlerin X-ışını kırınımları 70

Şekil 3. 30 a) Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino triazol içerikli dental kompozitlerin, c)5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin TGA grafikleri 72

Şekil 3. 31 Triazol içerikli dental kompozitlerin, 3-Amino triazol içerikli dental kompozitlerin ve 5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin DSC grafikleri. 74

Şekil 3. 32 a) Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino triazol içerikli dental kompozitlerin, c)5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin antifungal özelliği 78

Şekil 3. 33 I ve B dental kompozit serilerinin FTIR spekturumları 80

Şekil 3. 34 I ve B serisi dental kompozitlerin SEM görüntüleri 81

Şekil 3. 35 I ve B serisi dental kompozitlerin XRD görüntüleri 83

Şekil 3. 36 I ve B serisi dental kompozitlerin TGA grafikleri 84

Şekil 3. 37 B serisi dental kompozitlerin DSC eğrileri 86

Şekil 3. 38 I ve B serisi dental kompozitlerin suda emilimi ve çözünmesi 87

Şekil 3. 39 I ve B serisi dental kompozitlerin Fenton solüsyonunda malzeme kaybı.....88

Şekil 3. 40 Dental kompozitlerin kopma gerilimi, basma gerinimi ve elastisite modülü 90

Şekil 3. 41 Dental kompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri.....92

TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1 Tampon A bileşenleri ve miktarları 22

Tablo 2. 2 Tampon B bileşenleri ve miktarları 22

Tablo 2. 3 Dental kompozitlerin formülasyonu 28

Tablo 2. 4 Dental kompozitlerin içerikleri 30

Tablo 3. 1 Fonksiyonel nanoparçacıkların kütle atomik yüzdeleri..... 38

Tablo 3. 2 Maya suşu olarak *S. cerevisiae*, Gram-negatif bakteri olarak *E. coli* ve Gram-pozitifbakteri olarak *S. aureus* için MİK değerleri (mg/mL) 42

Tablo 3. 3 Nanokompozitlerin *S. cerevisiae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *E. faecalis'e* karşı MİK, MFK ve MBK değerleri (mg/mL) 54

Tablo 3. 4 Dental kompozitlerin T_g değerleri 75

Tablo 3. 5 Dental kompozitlerin suda emilimi ve çözünmesi 76

Tablo 3. 6 Antifungal analiz sonucunda elde edilen zon çapları 77

Tablo 3. 7 Antibakteriyel analiz sonucunda elde edilen zon çapları 79

Tablo 3. 8 DSC analizinin T_g değerleri 85

ÖZET

Nanobiyomalzemelerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyoteknolojik Uygulamaları

Sedef KAPTAN USUL

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Didem BALKANLI

Eş-Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ASLAN CANPOLAT

Bu araştırmada, nanobiyomalzemelerin sentezi, karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulamaları araştırılmıştır. İlk çalışmada fonksiyonel silika nanopartikül içerikli antimikrobiyal malzemeleri geliştirmek amaçlanmıştır. Çalışmada farklı özelliklere sahip silika nanopartiküllerin yüzeyi 1-Vinil-1,2,4-triazol monomeri ile aşılanmıştır. Nanobiyomalzemelerin morfolojik özellikleri, termal özellikleri analiz edilmiştir. Ayrıca minimum inhibitör konsantrasyon ölçümü kullanılarak *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı invitro antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilmiştir. Nanobiyomalzemeler yapılarına bağlı olarak farklı antibakteriyel, antifungal özelliklere sahiptir. Bu malzemelerin HaCaT hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri MTS deneyi ile gerçekleştirilmiştir. İkinci çalışmada; MSN, glisidil metakrilat monomeri ile işlevselleştirildikten sonra, 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol partikülleri yüzeye tutturularak nanobiyomalzemeler oluşturulmuştur. Nanobiyomalzemelerin yapısal karakterizasyonu için FTIR, XRD, TGA ve SEM-EDS analizleri gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin

antifungal ve antibakteriyel aktivitesini ortaya koymak için, maya suşu *Saccharomyces cerevisiae*'ya karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) ve bakteri suşları *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis* ve *Escherichia coli*'ye karşı minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri belirlenmiştir.

Nanobiyomalzemeleri ikinci olarak kullandığımız biyoteknolojik alan enzim immobilizasyonudur. Bu çalışmada *Bacillus licheniformis*'ten (*Bl*A) α-amilazın immobilizasyonu için azol fonksiyonelleştirilmiş nanopartiküllerin tasarımı, sentezi ve karakterizasyonu yer almaktadır. BCA testi ile immobilizasyonu oranı %47 olarak belirlenmiştir. Enzimatik aktivite DNS yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Amilazın tasarlanan nnanobiyomalzeme ile immobilizasyonu sonrasında termal stabilite, depolama kararılığının arttırdığı gözlemlenmiştir.

Dental kompozitler, nanobiyomalzemeleri kullanıldığı üçüncü çalışma alanıdır. İki farklı dental kompozit çalışması gerçekleştirilmiştir. 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol fonksiyonel SiO_2 nanopartiküller, reçine içerisine homojen olarak dağıtılarak polimerizasyon gerçekleştirilmiştir. Azol içerikli dental kompozitlerin karakterizasyonu için FTIR, SEM, XRD, TGA ve DSC analizleri yapılmıştır. İkinci uygulamada, imidazol ve benzimidazol içerikli dental kompozitlerin, fizikokimyasal ve mekanik özelliklerini ile antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Tasarlanan I10 ve B10 dental kompozitlerinin, diş çürüklerinin önlenmesi ve dental kompozitlerin uzun süreli kullanımı için mükemmel bir alternatif oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal nanobiyomalzemeler, Enzim, Azol fonksiyonel yapılar, Dental kompozitler

ABSTRACT

Synthesis, Characterization and Biotechnological Applications of Nanobiomaterials

Sedef KAPTAN USUL

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe ASLAN CANPOLAT

In this study, synthesis, characterization and biotechnological applications of nanobiomaterials were investigated. The first study aimed to develop functional silica nanoparticle-oriented antimicrobial materials. In the study, the surface of silica nanoparticles with different properties was grafted with 1-Vinyl-1,2,4-triazole. Morphological and thermal properties of nanobiomaterials were analyzed. They were also evaluated for in vitro antimicrobial activity against microorganism using minimum inhibitory concentration (MIC) measurement. The cytotoxic effects of these materials on HaCaT cells were realized by MTS assay. In the second study, MSN was functionalized with glycidyl methacrylate monomer, and nanocomposites were formed by attaching 1,2,4-Triazole, 3-Amino-1,2,4-triazole and 5-Aminotetrazole particles to the surface. FTIR, XRD, TGA and SEM-EDS analyses were performed for structural characterization of the nanocomposites. MIC measurement also was analysed these nanobiomaterials.

The second biotechnological area where we use nanobiomaterials is enzymes. Here we present the design, synthesis and characterization of azole functionalized nanoparticles for the immobilization of α-amylase from *Bacillus licheniformis* (*Bl*A). Enzymatic activity was measured using the DNS method. Immobilization of

amylase with the designed nanobiomaterial enhanced the thermal stability, and long-term storage.

Dental composites are the third field of study where we have used nanobiomaterials. Two different dental composites were studied. Azole functional SiO_2 nanoparticles were homogeneously dispersed into the resin and polymerization was carried out. FTIR, SEM, XRD, TGA and DSC analyses were performed to confirm the binding of azole-containing dental composites. In the second application, the effects of imidazole and benzimidazole derivatives on the physicochemical and mechanical properties and antibacterial activity of dental composites were investigated. Since the chemical, mechanical and antimicrobial properties of dental composites containing ten percent imidazole and benzimidazole functional nanoparticles are much more efficient.

Keywords: Antimicrobial nanobiomaterials, Enzyme, Azole functional structure, Dental composites

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

1.1.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

Bakteriler, biyofilm oluşturdukları katı biyotik veya abiyotik yüzeylere bağlanma eğilimindedir. Bakteriyel biyofilmler, proteinler, polisakkaritler ve DNA içeren bir matris içinde yer alan bakteri kümelerinden oluşmaktadır. Bu yapı, bağışıklık tepkisine karşı mükemmel bir savunma mekanizması sağlamaktadır (Magadla et al., 2023; Martins da Silva Filho et al., 2023; Rananaware et al., 2023). *Staphylococcus aureus (S. aureus)* ve *Escherichia coli (E. Coli)* hastanelerde en sık karşılaşılan bakteriler arasındadır. *S. aureus,* insan popülasyonun yaklaşık %20-40'ında burun mukozasının mikrobiyotasında bulunan gram-pozitif bir bakteridir. Deri enfeksiyonlarına, solunum yolu enfeksiyonlarına ve ameliyat sonrası yara enfeksiyonlarına neden olan potansiyel bir patojendir. (Alagha & Gülsoy, 2023). *E. coli* ise memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan, çubuk şeklinde gram negatif bakteridir.

Nanopartiküllerin geniş spektrumu içinde, silika nanopartiküller, bakteriyel enfeksiyonlara karşı rekabet gücü sunan çok çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip farklı bir inorganik nanopartikül sınıfı olarak öne çıkmaktadır. Silika nanopartiküller kararlılıkları, termal özellikleri, düşük yoğunlukları, toksisiteleri ve mükemmel biyouyumlulukları sayesinde birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca diğer aktif malzemeleri kimyasal olarak bağlamak için de kolayca işlevselleştirilebilmektedir (Lu et al., 2021; Zarafu et al., 2020). Silika nanopartiküllerin, gram-pozitif ve gram-negatif bakteri suşlarına karşı antibiyotikleri yükleme ve aktivitesini artırma ile bakterisidal proteinleri biyofilmlere iletme ile ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır (Zarafu et al., 2020).

Gözenekli silika nanopartiküller (MSN) geniş yüzey alanları, stabiliteleri ve biyouyumlulukları nedeniyle biyomedikal, farmasötik ve biyokimya

uygulamalarında kullanılmaktadır (Fuentes et al., 2021; Ribes et al., 2017). Ayrıca MSN'lerin yapısında bulunan siloksan bağları (Si-O-Si) sayesinde mekanik olarak kararlı ve mikrobiyal saldırılara karşı dirençlidirler. Ayrıca MSN' lerin sentezi uygun ve düşük maliyetlidir (Ndolomingo et al., 2020; Sun et al., 2020). Silika metabolik olarak parçalandığında, silisik asit yan ürünleri üretmektedir (Pongchaikul et al., 2023). Silisik asit, toksisiteyi ve hastalık direncini azaltan bir biyostimülan sistem olarak işlev görmektedir (Sattary et al., 2020).

İstenilen partikül şekline, gözenekliliğine ve boyuta sahip silika nanopartikülleri tasarlanarak üretilebilmektedir. Sol-jel ve şablon destekli sentez süreçleri, içi boş silika (HSS) oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. pH veya sıcaklık değişiklikleri nanopartiküllerin boyut ve şekli üzerinde farklılıklar yaratmaktadır (Aslan, Elanthikkal, et al., 2019; Derbalah et al., 2018).

Silika nanopartiküllerin yüzeyinin epoksi yapıları ile modifiye edilmesi partiküllerin fonksiyonelleşmesine imkan sağlamaktadır. Geleneksel organik polimer modifikasyonlarında olduğu gibi, epoksi ile modifiye edilmiş nanobiyomalzemeler mükemmel yapışma, yüksek korozyon direnci, termal stabilite ve yüksek safsızlıkları sayesinde olumlu bir etki yaratmaktadır. Bu nedenle, bu tür hibrit sistemler günümüzde birçok endüstriyel epoksi formülasyonunun kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Gómez-Laserna et al., 2021; Sprenger, 2013). Bu özelliklere ek olarak, nanopartiküller ve epoksiler bir araya geldiklerinde, yapıdaki mikro çatlakları ve kusurları doldurarak SiO_2 nanopartiküllerin kimyasal yapısını iyileştirmektedir. En önemlisi silika nanopartiküllerin yüzeylerinde oluşan epoksi halkalar (e-SiO_2) malzemenin kolaylıkla modifiye edilmesine olanak sağlamaktadır (Rosso & Ye, 2007; Xu et al., 2021).

Azol grupları bakteri suşlarına karşı iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Samrin et al., 2012). Sentezlenen silika nanopartiküller, azol grupları sayesinde sahip oldukları antimikrobiyal özelliklerini çeşitli biyolojik uygulamalarda kullanma avantajı sağlamaktadır (Peng et al., 2013). Tüm antimikrobiyal azoller öncelikle sitokrom P450 enzimi 14-alfa-demetilazı inhibe ederek çalışmaktadır. Azol grubunun serbest azot atomu, enzimin aktif bölgesindeki prostetik grubun demirine bağlanarak inhibisyona neden olmaktadır. Bu azol içeren yapıların benzersiz özellikleri, biyomedikal uygulamalarda, kimya ve gıda endüstrilerinde

kullanılmalarına olanak sağlamaktadır (Ermakova et al., 2012; Stingaci et al., 2020). 1-Vinil-1,2,4-triazol (VTri), antimikrobiyal etkisinin yanı sıra termal ve kimyasal olarak kararlı bir monomerdir. Ayrıca, yüksek biyouyumluluğa ve kontrol edilebilir bir moleküler ağırlığa sahiptir (Durmus et al., 2011; Pozdnyakov et al., 2020).

Bu çalışmanın amacı, fonksiyonelleştirilmiş silika nanopartiküllerin eldesi ve karakterizasyonu ile bakteri ve mantar suşlarına karşı antimikrobiyal yeteneklerini değerlendirmektir. Ayrıca tasarlanan nanoyapıların, sitotoksisiteleri insan derisi keratinositlerinde araştırılmıştır.

1.1.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

Kamusal ve özel yaşam alanlarında yüzeylerde bulunan bakteri ve mantarlar ciddi tıbbi riskler oluşturmaktadır. Bu tür bakteriyel ve fungal enfeksiyonları önlemek için çeşitli antibakteriyel ve antifungal malzemeler tasarlanmış ve geliştirilmiştir. Nano SiO_2, yüksek stabiliteleri, düşük sitotoksisiteleri ve modifikasyon kolaylıkları nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Sikorski & Hieter, 1989). Çok gözenekli silika nanopartiküller (MSN) geniş yüzey alanları, biyouyumlulukları, avantajlı morfolojik ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle ilgi görmektedir. Bu nanopartiküller çok çeşitli biyolojik uygulamalara olanak sağlamaktadır (Büşra Konuk & Ergüden, 2017). Ayrıca, tamamen biyouyumlu olan silika nanoyapılar FDA tarafından belirlenmiştir, ancak gıda ve kozmetik katkı maddelerindeki uygulamaları henüz sınırlıdır. Sonuç olarak, MSN' ler tıbbi uygulamalar için üretilme potansiyeline sahip nanopartiküllerdir (Doğan et al., 2017). Ayrıca, MSN'lerin yüzeyindeki silanol gruplarının yüksek yoğunluğu nedeniyle, olası fonksiyonelleştirme işlemlerinde kolaylık sağlayabilmektedir (Peng et al., 2013).

Geniş yüzey alanlarına ve uygun kimyasal yapılara sahip gözenekli silika nanopariküllerinin yüzeylerinin polimerler ile modifikasyonu daha fazla kontrol ve işlevsellik sağlamaktadır. Glisidil metakrilat (GMA), epoksi grubu açıldığında kolay kimyasal reaksiyonlara girebilen polar bir monomerdir. Epoksi grubu sayesinde malzemelerin karboksil ve hidroksil gruplarıyla reaksiyona girebilmektedir. Ayrıca diğer akrilat monomerlerine kıyasla GMA daha az toksik ve ucuzdur (Radabutra et al., 2022; Zhao et al., 2020). Akrilat bazlı polimerler

antibakteriyel uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır (J. Wang et al., 2017). Glisidil metakrilata bağlı azol grupları bu yapılara antibakteriyel ve antifungal özellikler kazandırmaktadır (Faria et al., 2019).

Azol gruplarına sahip nanobiyomalzemeler, çeşitli klinik malzemelerin yüzey kaplaması için kullanılabilmektedir (Doğan et al., 2017). Azol bileşikleri, çok sayıda elektrona sahip azot heterosiklik yapılardır. Heterosiklikler, antifungal, antibakteriyel ve diğer biyolojik aktiviteler gibi çoklu biyolojik farklılaşma sayesinde en aktif bileşikler arasında yer almaktadır (Khabnadideh et al., 2013; Peng et al., 2013). Beş üyeli bir azol heterosiklik olan 1,2,4-Triazol halkası, organik kimya ve polimer kimyasında önemli bir moleküldür (Nemallapudi et al., 2020). Bu nedenle, antikanser, antibakteriyel (Kassab et al., 2020), antifungal (Abdelli et al., 2021), antiviral ve anti-inflamatuar (Sharma et al., 2022) uygulamalarda kullanılmaktadır. Biyolojik olarak moleküllerin aktivitesini artırmak için yapıya 1,2,4-Triazol eklenmesiyle ilgili çalışmalar son yıllarda artan bir ivme kazanmıştır (H. R. Dong et al., 2022). 1,2,4-Triazol molekülü non-toksik özelliğinden dolayı öne çıkarmaktadır. Son yıllarda triazol materyalleri üzerine yapılan araştırmalarda, özellikle 1,2,4-Triazol' ün güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu gösteren çalışmalarda önemli bir artış olmuştur (Fallah et al., 2022; Nural et al., 2022).

Diğer bir heterosiklik azol yapısı olarak 3-Amino-1,2,4-triazol, yüksek biyoaktivitesi sayesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Aril grupları ile ikame edilmiş 3-Amino-1,2,4-triazol, yeni nesil antimikrobiyal malzemelerin sentezlenmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca yüksek çözünürlüğe, biyoyararlanıma, kimyasal stabiliteye ve düşük agregat oluşturma eğilimine sahiptir (Grytsai et al., 2020; Rohand et al., 2019).

Araştırmalar, tetrazolleri biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere yüksek potansiyele sahip bileşiklerden biri olarak tanımlamıştır; anti-enflamatuar (Nimnual et al., 2019), antibakteriyel (Gao et al., 2019) ve antifungal gibi çeşitli özelliklere sahip birçok farklı ilaç ve ajanın oluşturulması için uygun bir yapısal platforma sahiptirler (Staniszewska et al., 2018; S. Q. Wang et al., 2019). Aminotetrazol yapıları bazı mantarlarda 1,3-β-glukan sentezini inhibe etmektedir. Çeşitli çalışmalar, patojenik mantarlara karşı farklı organik moleküllerin antifungal aktivitesini arttırmak için tetrazol yapısının gerekli olduğunu göstermiştir (Radakovic et al., 2022). Ayrıca, tetrazol türevleri, karboksilik asit veya amid

fonksiyonel gruplarının etkin olduğu biyokimyasal reaksiyon gerektiren metabolik süreçlerde kimyasal olarak kararlıdır. Bu özelliklerinden dolayı, tetrazol yapısı FDA onaylı birçok ilaçta kullanılmaktadır. Bu faydaların yanı sıra, tetrazol halkası, ısıl kararlılığı yüksek enerjili malzemeler veya koordinasyon kimyası için yeni ligandlar hazırlanırken değerli bir iskelet yapı olarak da görülmektedir (Iravani et al., 2018; Nasrollahzadeh et al., 2022; Szulczyk et al., 2018).

MSN ve GMA literatürde büyük ilgi görmesine rağmen, glisidil metakrilat ve gözenekli silika nanopartiküllerin bir araya geldiği antimikrobiyal nanobiyokompozitler ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada, antimikrobiyal özellikli 1,2,3-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol yapıları kullanılarak farklı içeriklere sahip nanobiyomalzemeler hazırlanmıştır. Nanobiyomalzemelerin antimikrobiyal özellikleri gram-negatif bakteri suşu *Escherichia coli*, gram-pozitif bakteri suşları *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* ve maya suşu *Saccharomyces cerevisiae*' ye karşı test edilmiştir.

1.1.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması

Enzimler, kolay reaksiyon koşulları, ürün özellikleri, düşük çevresel ve fizyolojik toksisite gibi çeşitli özellikleri nedeniyle biyolojik ve kimyasal endüstriyel sistemlerde, kimyasal katalizörlerden daha fazla tercih edilmektedir. Enzimlerin endüstriyel uygulamalarında karşılaşılan sıkıntıların üstesinden gelebilmek için stabilite, tekrar kullanılabilme, saklama süresi ve farklı pH aralıklarında çalışma özelliklerinin geliştirilmesi için günümüzde uygulanan en yaygın yöntemlerden biri immobilizasyondur. Ayrıca enzim immobilizasyonu, yüksek enzim maliyetlerinin de önüne geçilmektedir (Ünal et al., 2022; K. Wang et al., 2021).

Amilazlar, gıda üretimi (meyve suyu rafinasyonu, ekmek, fırıncılık ve bira endüstrisi), tekstil, deterjan, ilaç, kâğıt, etanol ve biyoyakıt üretimi gibi çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılan en önemli hidrolitik enzimlerden biridir (Abdel-Nasser et al., 2022; Aghaei et al., 2022; Y. Wu et al., 2022). α-amilaz, nişasta moleküllerinin iç kısmında bulunan α-1,4-glikosidik bağlarını hidrolize ederek oligosakkaritleri üretmektedir (Y. Zhang et al., 2021).

Enzimlerin nanotaşıyıcılar üzerinde immobilizasyonu, enzim aktif bölgeleri ve substrat arasındaki ara yüzey reaksiyonlarını arttırmaktadır (Ulu et al., 2020).

Ayrıca bu nano ortam, enzim deaktivasyonunu da önlemektedir. Nanopartiküller, küçük boyutu, geniş yüzey alanı, kolay fonksiyonelleştirilmesi nedeniyle biyomedikal uygulamalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Demir nanopartiküller (Fe_3O_4), yüksek stabilitesi, tekrar tekrar kullanılabilirliği, mıknatıs ile solüsyondan kolay ayrılması ve elektron iletkenliği sayesinde immobilizasyon için önemli bir taşıyıcıdır (Ates et al., 2018; Ulu et al., 2018). Ayrıca süperparamanyetik özellikleri, düşük toksisiteleri, biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları sayesinde immobilizasyon için uygun taşıyıcılar olarak kabul edilmektedir. Polimer ile modifiye edilmiş manyetik nanopartiküller, aktif bölge sağladıkları için enzim yüzeyindeki serbest fonksiyonel gruplar için daha etkili olmaktadır (Dhavale et al., 2018a; Karatas, 2021).

Polimerik materyallere, biyolojik moleküllerin immobilizasyonu fonksiyonel gruplar sayesinde gerçekleştirilir. Örneğin, epoksi grupları, biyomolekül immobilizasyonu için çeşitli kimyasal gruplar arasında en ilginç olanıdır (Lei et al., 2011; Oktay et al., 2015). Epoksi grubu, deneysel koşullar altında farklı protein gruplarıyla (amino, tiyol, fenolik türler) kolayca ve kararlı kovalent bağlar oluşturabilmektedir (Bayramoglu et al., 2013). 5-Aminotetrazol, tetrazol yapısı sayesinde benzersiz yapısal ve elektronik özelliklerinden dolayı son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Bu yapı, anti-alerjik, antiviral ve anti-inflamatuar aktiviteler gösteren birçok biyoaktif yapıda mevcuttur. Ayrıca oligoribonükleotidlerin sentezinde, kanser ve AIDS tedavisinde aktivatör olarak kullanıldığından tetrazol içeren birçok yapı Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onay almıştır (Al-labban et al., 2020; Hassankhani & Mosaddegh, n.d.; Iravani et al., 2018). Ek olarak, tarımda bitki büyümesini düzenleyicilerde, herbisitler ve mantar öldürücülerin yapısında da kullanılmıştır (Mahmood et al., 2015).

Bu çalışmada *Bacillus licheniformis* (*Bl*A) α-amilazın fonksiyonel manyetik nanopartiküllere immobilizasyonu ile aktivitesinin ve stabilitesinin arttırılması amaçlanmıştır. Polimer-manyetik nanopartikül etkileşiminin yanı sıra, 5-Aminotetrazol moleküllerinin azol birimleri, enzimin immobilizasyon derecesi ile enzim aktivitesini arttırmaktadır. Molekül yapısı ve termal kararlılık FTIR, XRD, SEM ve TGA analizleri ile karakterize edilmiştir. İmmobilize ve serbest enzim özellikleri pH, sıcaklık, tekrar kullanılabilirlik ve depolama kapasitesi testleri ile belirlenmiştir.

1.1.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları

1.1.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Günümüzde, insanlar diş çürüğü, kanal enfeksiyonları, estetik diş problemleri gibi bazı yaygın diş sorunlarından mustariptir. Tüm bu sorunlar, dişlerin yapısına zarar veren bakteriyel enfeksiyondan kaynaklanmaktadır. Etkilenen dişin tedavisi için diş hekimleri, diş çürüklerinin çıkarılmasını ve boşlukların uygun malzemelerle doldurulmasını önermektedir. Uzun ömürlü dental restoratifler hem diş klinikleri hem de bilim camiası için ilgi çekicidir, çünkü hastaların fiziksel ağrılarını ve masrafları azaltabilmektedir. Klinik olarak diş dolgu restoratifleri, sadece doğal dişlerle karşılaştırılabilir mekanik ve fiziksel özelliklere sahip olmalarının yanı sıra aynı zamanda dişlerin ikincil çürük oluşturmasını engelleyebilecek antimikrobiyal özellik göstermektedir (Caneli et al., 2021).

Uzun yıllar boyunca kullanılan diş amalgamları çiğneme sırasında ve ilerleyen yıllarda cıva sızıntısı nedeniyle toksik etki göstermektedir. Bu sızıntılar şekilsel bütünlüğü bozduğu için dişin yapısına zarar verirken insan sağlığını da olumsuz etkilemektedir. Günümüzde polimer kompozitler, eski dolgu malzemelerine kıyasla biyouyumluluk, mükemmel estetik ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle dental restorasyon malzemeleri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Metakrilat bazlı reçine matrisler ile inorganik dolgulardan oluşan dental kompozitler, kolay kullanımları ve diş yapısına uyumlu estetik özellikleri nedeniyle diş restorasyonlarında amalgamların yerine yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Günümüzde biyo bazlı monomerler, dental materyaller olarak uygulandıklarında düşük sitotoksisite veya hiç olmaması nedeniyle ilgi görmektedir (Mirmohammadi, 2018). BisGMA (Bisfenol-A Glisidil Metakrilat) ve diğer metakrilat esaslı dental monomerlerden oluşan reçine bazlı dental kompozitler, çürük dişleri restore etmek için diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. BisGMA düşük polimerizasyon çekmesine ve yüksek viskoziteye sahiptir. Viskoziteyi azaltmak için, trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA), hidroksietil metakrilat, dental kompozitlerde kullanılmaktadır.

Restorasyon sınırında biriken bakteriyel biyofilmlerin neden olduğu ikincil (tekrarlayan) çürükler, diş restorasyonlarının başarısız olması ve değiştirilmesinin

önde gelen nedenidir. Bakteriyel biyofilmleri inhibe etmek ve tekrarlayan çürükleri azaltmak için, antibakteriyel aktivite sergileyen yeni nanobiyomalzemeler ve bağlama ajanları geliştirilmektedir (Hu et al., 2018). Son zamanlarda silan bazlı antimikrobiyal nanofiller takviyeler, dental polimer kompozitlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Yadav & Kumar, 2019). Bu çalışmada kullanılan azol fonksiyonel nano boyutlu silika nanoparçacıkları (SiO_2), nanoboyutlu yapıların artan yüzey alanı etkisiyle restoratif malzemeyle diş yüzeyi arasında maksimum etkileşim sağlayacak ve bu sayede sızıntıya, çatlak oluşumuna imkân vermeyecektir. Nano yapıların reçine içerisine katkılanmasının en büyük avantajının, sızıntılarda oluşacak biyofilmlerin önüne geçeceği düşünülmektedir (Habib et al., 2018).

SiO_2 nanopartiküller, kolay ve büyük ölçekli üretimi, düşük maliyeti, hidrofilik yapıları, biyouyumlulukları, geniş yüzey alanı ve gözenek hacmi, kolay yüzey modifikasyonu gibi özellikleri sayesinde yaygın olarak çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Diş kompozitlerinde silika nanopartiküller, dolgu malzemesi olarak tercih edilmektedir. Bunun sebebi SiO_2'lerin kolay modifikasyonu ve biyouyumluluğunun yanı sıra az toksisiteye sahip olması, iyi antimikrobiyal özelliği ve biyoaktif davranış göstermesidir (Catel et al., 2021).

Azol içerikli yapılar, doğada bulunan en önemli kimyasal yapılardan biridir ve aynı zamanda çok sayıda sentetik yapının da bir parçasıdır. Aynı zamanda peptitlerin, proteinlerin, biyoaktif bileşiklerin, ticari ilaçların, tarımsal kimyasalların ve polimerlerin omurgasını oluşturmaktadır. Kimya ve ilaç endüstrisinde en çok uygulanan prosedürler arasındadır. Atom ekonomisi ve çevresel sürdürülebilirlik açısından, operasyonel olarak basit, verimli, çevre dostu ve kemoselektif metodolojilerle azol içerikli moleküllerin yapımı büyük talep görmektedir (Moreno-Fuquen et al., 2021). Farmasötik kimyada ayrıcalıklı yapılar olarak kabul edilen triazoller ve türevleri (3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-aminotetrazol monohidrat) beş üyeli heteroaromatik yapılardır. Triazol ve türevleri geniş biyolojik aktiviteye ve düşük toksisiteye sahiptir. Ayrıca birçok alanda antibakteriyel, antifungal ve antitümör ajanlar olarak kullanılmaktadır. Triazollerin çoğu çevre dostu malzemeler olarak rapor edilmektedir (Grytsai et al., 2020). Günümüzde bakteriler antibiyotik varlığında bile büyüyerek hastalığa neden olabilmektedir. Bakterilerde mutasyon sonucu antibiyotiklere direnç oluşur ve antibiyotik kullanımı arttıkça

direnç sorunu da doğal olarak artmaktadır (Djemoui et al., 2020; Gökalp et al., 2020; Kaushik et al., 2021). Triazol ve türevlerinin tıbbi kimyadaki ve çeşitli ilaçların sentezindeki etkinliği, aromatik stabilizasyonlarını doğrulamak için çeşitli pH aralığında metabolik bozulmalarına direnen oksidoredüktaz ortamlarında asidik ve bazik hidrolize karşı stabilitelerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, yüksek dipol momenti, dipol-dipol etkileşimi gösterme eğilimi ve hidrojen bağı, bu moleküllerin farklı biyolojik hedeflere etkin bir şekilde bağlanmasına imkan vermektedir (Naveen et al., 2020).

Bu çalışmada, 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol fonksiyonel SiO_2 nanopartiküllerin antibakteriyel etkisinin avantajını kullanarak BisGMA/TEGDMA reçineleri ile dental kompozitler sentezlenmiştir. Tasarlanan dental kompozitlerin fiziksel özelikleri karakterize edilerek antifungal ve antibakteriyel özelliği incelenmiştir.

1.1.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması

Dişlerde görülen bakteriyel enfeksiyonlar, çocuklar ve yetişkinler için sıklıkla diş kaybına neden olmaktadır (Nikam & Milani, 2022). Bunun yanı sıra ağız ortamındaki bakteriyel hastalıklar insan hayatını olumsuz etkilemektedir (Aminoroaya et al., 2021). Son yıllarda restoratif diş hekimliğinde amalgamın yerini BisGMA içeren dental kompozitler almıştır. Kompozit yapılar, ömürleri amalgama göre daha sınırlı olmasına rağmen estetik görünümleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle daha çok tercih edilmektedir (De Nys et al., 2021, 2022). Dental kompozit restorasyonlarda önemli sorun, yüksek mekanik dayanım gerektiren alanlarda malzemelerin dayanımıdır. Bu nedenle, dental kompozitlerin ağızdaki uzun ömürlülüğünü ve mekanik özelliklerini korumak için inorganik kısım ile rezin matrisi arasında, kararlı ve sağlam bir adezyon gereklidir (Aminoroaya et al., 2022a).

Dental kompozitler genellikle bir organik polimer matriks, inorganik mikro/nanofiller ve başlatıcı maddeden oluşmaktadır (Cho et al., 2022; Y. Wang et al., 2021). Matris genellikle bisfenol-glisidil metakrilat (BisGMA) monomerlerinin, trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) veya üretan dimetakrilat (UDMA) gibi monomerlerle seyreltilmesiyle oluşturulan üç boyutlu çapraz bağlı bir ağdır. Rezin matrisine eklenen inorganik dolgu maddeleri (SiO_2, Al_2O_3, TiO_2,

ZrO_2), polimerizasyon büzülmesini azaltabilir ve dental kompozitin mukavemeti ile aşınma direncini artırabilmektedir. Estetik kaliteyi, mukavemeti ve aşınma direncini arttırmak için inorganik dolguların boyutları nano boyutlara düşürülmektedir (Yadav & Meena, 2021).

Dental kompozitlerin yaygın kullanımına rağmen, güvenlik ve biyouyumluluklarına ilişkin hala bazı belirsizlikler bulunmaktadır (Bijelic-Donova et al., 2016).

Nanoteknolojik gelişmelerle birlikte dental kompozitlerde kullanılan nanopartiküller, malzemenin performansını iyileştirmektedir. Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar nedeniyle, antimikrobiyal ajanlarla ilgili önceki çalışmalara benzer etki mekanizmalarına sahip yeni antibakteriyel ve antifungal bileşiklerin geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır (El-Shahat et al., 2022; Ma et al., 2022). Konvansiyonel malzemelerle karşılaştırıldığında nanomalzemelerin oral biyofilm oluşumunu azaltmada ve remineralizasyonu artırmada daha etkili olduğu literatürde gösterilmiştir. Nanoparçacıklar bakterilerle daha kolay etkileşime girebildiği için kompozite yapışmalarını belli ölçüde sınırlamaktadır (Mitwalli et al., 2021).

Heterosiklik bileşiklerin bir üyesi olan imidazol, çeşitli biyolojik ve klinik uygulamaları nedeniyle akademik araştırmalarda ve ilaç endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Biyomedikal uygulamalarda imidazol bazlı antibakteriyel ve antifungal ajan kullanılmaktadır (Zhu et al., 2022). Benzimidazol, biyoaktif bileşiklerin geliştirilmesinde kullanılan azol içeren bir heterosiklikdir. Benzimidazol ve türevleri, azol içeren heterosiklik bileşiklerin bir sınıfını oluşturmaktadır. Kapsamlı biyokimyasal ve farmakolojik çalışmalarda, benzimidazol türevlerinin antikanser, sitotoksik ve antitümör, DNA bağlama, antifungal ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Alzahrani et al., 2021; G et al., 2022; Raka et al., 2022).

Dental kompozitlerde antibakteriyel özelliklerin iyileştirilmesi ikincil çürük oluşumunu azaltmaktadır (Chen et al., 2018). Nanoteknolojinin gelişmesiyle (Anagha et al., 2022) antibakteriyel monomer ve rezin kompozitin kimyasal kombinasyonu ile dental materyallere antibakteriyel özellikler kazandırılabilmektedir. Benzimidazol yapılarının doğrudan matrise eklenmesi durumunda, zamanla moleküller kompozit sistemden sızabilmektedir. Ancak bu çalışmada, nanoparçacıkların yüzeyinin fonksiyonelleştirilmesi amacıyla

antibakteriyel özellikli azol molekülleri kullanılmıştır. Nanoparçacıkların fonksiyonelleştirilmesi, polimerik birimler ile nano dolgu maddelerin yüzeyi arasındaki etkileşime katkıda bulunmaktadır (Laxmikeshav et al., 2021). Yapılan çalışmalarda benzimidazolün yapısal özellikleri ve moleküler etkileşimleri nedeniyle yeni çalışmalarda sıklıkla tercih edildiği görülmektedir (W. Akhtar et al., 2017; Cong et al., 2021).

Kompozit rezin restorasyonlarını sınırlayan ana sebeplerden biri sızıntı meydana gelmesidir (Drummond, 2008). Kompozit reçine-diş arayüzündeki mikro boşluklar, biyofilmde asit üretimi ile birlikte bakteri istilasına neden olur (Cramer et al., 2011). Biyofilm, hücre dışı bir matrise gömülmüş birkaç bakteri türünden oluşan heterojen bir bakteri kümesidir (Bai et al., 2020). Bu bakteriler, karbonhidratları asitlere metabolize edebilir, bu durum diş ve biyofilm altındaki diş restorasyon kenarlarında demineralizasyona neden olur (Yao et al., 2020). Bu nedenle klasik uygulamalarda reçine içerisine bazı partiküllerin katılarak antimikrobiyal etki kazandırılması ve böylece ikincil çürüklerin önlenmesi amaçlanmaktadır. Bu konuda birçok çalışmada klorheksidin ve gümüş partikülleri kullanılmıştır (Fan et al., 2011; Z. Wang et al., 2014). Bu sistemlerin dezavantajı, antimikrobiyal maddelerin salınımının kısa süreli olması ve zamanla azalmasıdır. Bu çalışmada izlediğimiz yenilikçi yaklaşımda, kompozit resinlere immobilize edilen ve salınmayan antimikrobiyal ajanlar olan imidazol ve benzimidazol fonksiyonel grupları ile bu problem ortadan kaldırılmıştır. Bakteri hücreleri bu gruplarla temasa geçtiğinde bakterinin hücre zarının hızla bozulacağı öngörülmektedir. Böylece sitoplazmik materyalin dağılmasına ve hücre ölümüne neden olacaktır.

Bu çalışmdaa karakterizasyon sonuçları dikkate alındığında uygulanabilir bir kompozit yapı oluşturduğumuz görülmüştür. Ayrıca dental kompozitler antibakteriyel aktivitelerini stabil bir şekilde koruyabilmektedir (Cheng et al., 2012; Y. Yang et al., 2021). Böylece diş hekimliğinde dolgu uygulamalarında azol fonksiyonel dental kompozit ürünlerinin kullanımı hedeflenmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının temel amacı, nanobiyomalzemelerin farklı yöntemlerle sentezlenmesi, fonksiyonelleştirilmesi, karakterizasyonu ile antimikrobiyal, enzim ve diş uygulamalarında kullanılmasının araştırılmasıdır. Birinci kısımda

fonksiyonel silika nanopartikül odaklı antimikrobiyal malzemeleri geliştirmek amaçlanmıştır. Çalışmada farklı özelliklere sahip silika nanopartiküller oluşturmak için üç farklı yöntem kullanılarak yüzeyi Poli(1-Vinil-1,2,4-triazol) (PVTri) ile aşılanmıştır. Nanobiyomalzemelerin morfolojik özellikleri, termal özellikleri ve antimikrobiyal özellikleri ve antimikrobiyal özellikte olduğu gösterilmiştir. Ayrıca gözenekli silika nanopartiküller glisidil metakrilat monomeri ile işlevselleştirildikten sonra, 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol partikülleri yüzeye tutturularak nanobiyomalzemeler oluşturulmuştur. Nanobiyomalzemelerin yapısal karakterizasyonu ile antifungal ve antibakteriyel aktivitesini ortaya koymak için MİK deneyi yapılmıştır. Sentezlenen nanobiyomalzemeler üzerindeki epoksi ve azol grupları antimikrobiyal özellik sağlamaktadır.

Tezin ikinci kısmında manyetik nanobiyomalze α-amilaz enziminin immobilizasyonunda kullanılmıştır. İmmobilize enzimlerin kullanımı, serbest enzime göre termal stabilite, geniş pH aralığında çalışma ve uzun süreli depolama özelliği ile tekrar tekrar kullanılma avantajı sağlanmıştır. Böylece immobilize enzimin farklı endüstriyel uygulamalarda ve koşullarda kullanılmasına imkan sağlanarak, yüksek maliyetlerin düşürülmesi amaçlanmıştır.

Tezin üçüncü kısmında ise epoksi fonksiyonel silika nanopartiküllerine birinci çalışmada 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol, ikinci çalışmada ise imidazol ve benzimidazol yapıları bağlanarak fonksiyonel hale getirilmiştir. Bu fonksiyonel yapılar diş dolgu malzemelerinin inorganik kısmını oluşturarak yapıya antimikrobiyal özellik kazandırılması amaçlanmıştır. Fonksiyonel azol içeren nanobiyomalzemeler dental kompozitlerin yapısına eklenmesiyle mekanik, fizyokimyasal ve antibakteriyel özelliklerinin olumlu yönde geliştiği gözlemlenmiştir.

1.3 Orijinal Katkı

Literatürde silika nanopartiküller ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen tasarlanan nanobiyomalzemeler ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu tezde elde edilen veriler ile özgün sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte tez çalışması ile elde edilen nanobiyomalzemelerin farklı uygulama alanlarında kullanılması, literatüre orjinal katkılar sunmaktadır. Nanobiyomalzemelerin üretimi aşamasında kullanılan

yeni yöntemler ve kullanılan malzemeler sayesinde antimikrobiyal uygulamalar, enzim immobilizasyonu ve diş hekimliği gibi alanlarda değerlendirilebileceği görülmüştür.

2
MATERYAL ve YÖNTEMLER

2.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

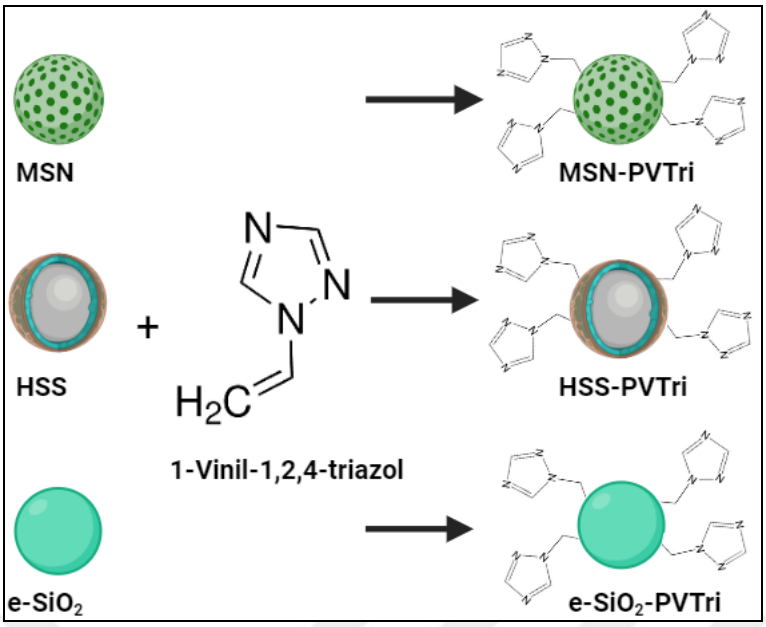
2.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

2.1.1.1 Malzemeler

1-Vinil-1,2,4-triazol (VTri, >%97), toluen (>%99), Trimetoksimetilsilan (PTMS, %95), Tetraetil ortosilikat (TEOS,%98), Dimetil sülfoksit (DMSO, >99), Setil trimetil amonyum bromür (CTAB), Etil 4-(dimetilamino)benzoat (EDMAB, ≥98), Kamforkinon (CQ) Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Maya ve bakteri suşları için D-Glikoz, maya ekstraktı tozu, pepton ve agar tozu HIMEDIA'dan alınmıştır.

2.1.1.2 Gözenekli Silika Nanopartiküllerin Sentezi ve Modifikasyonu

MSN'ler, TEOS ve katyonik yüzey aktif madde CTAB'ın sol-jel reaksiyonu ile sentezlenmiştir (Hachemaoui et al., 2020; Son & Lee, 2021). MSN ve VTri, toluen içinde çözülür. CQ eklenerek reaksiyon azot atmosferi ve 80°C sıcaklık altında 2 saat boyunca inkübe edilmiştir (Şekil 2.1). MSN-PVTri nanobiyomalzemesi, THF ile çöktürüldükten sonra birkaç kez toluen ile yıkanmıştır (Çelik et al., 2008).



Şekil 2. 1 1-Vinil-1,2,4-triazol fonksiyonel nanobiyomalzemelerin sentezi

2.1.1.3 İçi Boş Silika Nanopartiküllerin Sentezi ve Modifikasyonu

Bu çalışmada içi boş silika partikülleri oluşturmak için iki aşamalı sol-jel yöntemi kullanılmıştır. Asidik koşullar altında PTMS, HNO_3 ($0.66*10^{-2}$ M) çözeltisinde hidrolize edilerek bir su banyosuna yerleştirilmiştir. İkinci adımda, çözeltiye NH_4OH eklenmiştir. Süt rengine dönüşen şeffaf reaksiyon 1 saat boyunca karıştırılmıştır (Aslan, Elanthikkal, et al., 2019). HSS-PVTri nanobiyomalzemesi, MSN-PVTri nanobiyomalzemesinin sentezi ile aynı şekilde gerçekleştirilmiştir (Aslan, Çelik, & Bozkurt, 2009).

2.1.1.4 Epoksi Silika Nanopartiküllerin Modifikasyonu

Epoksi silika nanopartiküller (e-SiO_2) Sky Spring Nanomaterials (Houston, ABD) markasından temin edilmiştir ve 10-20 nm boyutlarındadır. e-SiO_2-PVTri nanobiyomalzemesi, e-SiO_2 ve VTri monomerinin toluen içinde (80°C, 2 saat) dağıtılmasıyla sentezlenmiştir (Aslan, Çelik, Şen, et al., 2009).

2.1.1.5 Hazırlanan Nanobiyomalzemelerin Karakterizasyonu

MSN, HSS ve e-SiO_2 sentezi ile VTri'nin yüzey polimerizasyonunu araştırmak için kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve X-ışını kırınımı yöntemi (XRD) kullanılmıştır. MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri, 4000-400 cm^{-1} için kaydedilen FTIR spektrumları karşılaştırılıp değerlendirilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2, ve e-SiO_2-

PVTri partiküllerinin gözenekli yapıları ve modifikasyonları incelenmiştir. Nanobiyomalzemelerin atomik içerikleri enerji dağılım spektroskopisi (EDS) ile incelenmiştir. Termogravimetrik analiz (TGA), nanopartiküllerin ve nanobiyomalzemelerin termal kararlığını belirlemek için yapılmıştır.

2.1.1.6 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Ölçümü

Sentezlenen nanobiyomalzemelerin antifungal ve antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için MİK ölçümü yapılmıştır. MİK ölçümleri maya *S. cerevisiae* (MATa ura3-52 lys2-801_amber ade2-101_ochre trp1-Δ63 his3-Δ200 leu2-Δ1 (Sikorski & Hieter, 1989)), gram-negatif *E. coli* (ATCC® PTA-5976TM) ve gram-pozitif *S. aureus* (ATCC® 25923™) bakteri hücrelerinde gerçekleştirilmiştir (BÜŞRA KONUK & ERGÜDEN, 2017; Ergüden, 2021). İnhibisyon konsantrasyonlarını belirlemek için DMSO içinde dağılmış nanobiyomalzemelerin 1, 5 ve 10 mg/mL'lik farklı konsantrasyonları plağa eklenmiştir. Maya veya bakteri hücrelerinin gözle görülür şekilde büyümediği, en düşük fonksiyonel nanobiyomalzemenin MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Örnekleme her konsantrasyon için üç kopya olarak hazırlanmış ve deney üç kez tekrarlanmıştır.

2.1.1.7 Hücre Kültürü

Bu çalışma için insan derisi keratinositleri (HaCat, ATCC® HB-241TM) kullanılmıştır. HaCat hücreleri %10 FBS ve %1 Penisilin/Streptomisin/Amfoterisin (PSA, Invitrogen, Gibco, UK) ile desteklenmiş DMEM (Gibco BE12- 702F, Thermo Fisher Scientific, ABD) içinde kültürlenmiştir. Hücreler inkübatörde 37°C, %95 hava ve %5 CO_2 koşullarında kültüre edilmiştir (Değirmenci et al., 2022).

2.1.1.8 Hücre Sitotoksisite Deneyi

HaCaT hücreleri 96 kuyulu plakalara (TPP, İsviçre) 5000 hücre/kuyu yoğunluğunda ekilmiştir. Nanobiyomalzemelerin çeşitli konsantrasyonları, DMEM ortamında hazırlanmıştır. Hücreler 24, 48 ve 72 saat boyunca belirtilen konsantrasyonlarda nanobiyomalzemeler (1, 0,5 ve 0,25 mg) ile muamele edilmiştir. Hücre canlılığı, üreticinin talimatlarına göre MTS reaktifi (G3582, CellTiter96 Aqueous One Solution; Promega, Southampton, UK) ile ölçülmüştür. 490 nm'deki absorbans bir ELISA plaka okuyucu (Biotek, Winooski, VT) kullanılarak tespit edilmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi kontrol hücrelerine göre

hesaplanmıştır (nanobiyomalzemeler için muamele edilmemiş) (Gong et al., 2017). Tüm çalışmalar üç tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

2.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

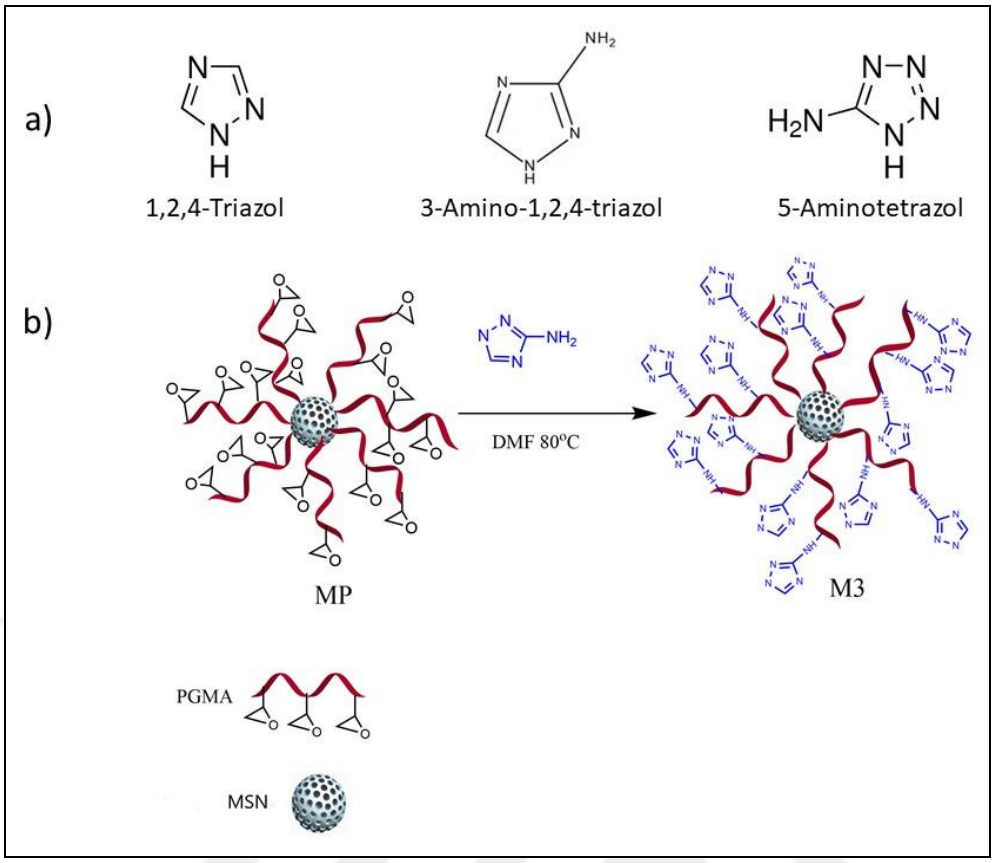
2.1.2.1 Malzemeler

N,N-Dimetilformamid (DMF, ACS reaktifi, ≥99.8), Trimetoksimetilsilan (PTMS, %95), Tetraetil ortosilikat (TEOS, %98), Dimetil sülfoksit (DMSO, >99), Etil 4-(dimetilamino)benzoat (CTAB), Dimetildodesiletilamonyum bromid (EDMAB, ≥98), Kamforkinon (CQ), Glisidil metakrilat (GMA, ≥97%), Tetrahidrofuran (THF, ≥99.9), 1,2,4-Triazol (%98), 3-Amino-1,2,4-triazol (≥95), 5-Aminotetrazol monohidrat (%97) Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır. D-Glikoz, pepton, maya özü tozu ve agar tozu HIMEDIA'dan satın alınmıştır.

2.1.2.2 Nanobiyomalzemelerin Sentezi

Gözenekli silika nanopartiküller (MSN'ler) daha önce belirtildiği gibi sol-jel yöntemi ile sentezlenmiştir (Gounani et al., 2019; Hasany et al., 2019). Daha sonra, başlatıcı olarak CQ (%1 mol) ve EDMAB (%1 mol) kullanılarak GMA'nın fotopolimerizasyonu ile PGMA aşılanmıştır. Reaksiyon azot atmosferinde 80°C'de 24 saat boyunca gerçekleştirilmiştir (Verma & Raghav, 2021).

MSN ve PGMA partikülleri DMF içinde çözüldüğünde, PGMA partikülleri halka açılma reaksiyonu ile MSN yüzeylerine bağlanmıştır. DMF içinde MSN-PGMA (MP) yapısına 1,2,4-Triazol eklenmiştir. MSN-PGMA-1,2,4-Triazol (MT) nanobiyomalzemelerini karışımdan ayırmak için santrifüj kullanılmış ve daha sonra 50 °C'de vakum altında kurutulmuştur (Yek et al., 2020). MSN-PGMA-3-Amino-1,2,4-triazol (M3) ve MSN-PGMA-5 Aminotetrazol (M5) de aynı yöntem kullanılarak sentezlenmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2. 2 a) Fonksiyonel grupların, b) Nanobiyomalzemelerin kimyasal yapıları

2.1.2.3 Nanobiyomalzemelerin Karakterizasyonu

MSN, MP, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemleri 4000-400 cm^{-1} için kaydedilen FTIR spektrumları karşılaştırılmış ve fonksiyonel grup absorpsiyonuna göre değerlendirilmiştir (Perkin Elmer Spectrum 100). Nanobiyomalzemelerin yüzey modifikasyonunu araştırmak için X-ışını kırınımı yöntemi (XRD, Bruker Smart Apex II Quazar) kullanılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI (PHILIPS) XL30 SFEG) MP, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemelerin yüzey özelliklerini gözlemlemek için kullanılmıştır. Nanobiyomalzemelerin termal kararlılığını ve modifikasyonunu değerlendirmek için bir termogravimetrik analiz (TGA, Q600 SDTTA INSTRUMENTS) gerçekleştirilmiştir.

2.1.2.4 Su Emilimi ve Kimyasal Stabilite

Su alımı ve Fenton reaksiyonu deneyleri önceki çalışmalarımıza göre uygulanmıştır (Aslan & Bozkurt, 2014; Erkartal et al., 2016; Usul et al., 2022). Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

2.1.2.5 Maya ve Bakteri Suşları

Maya hücresi olarak *S. cerevisiae* suşu kullanılmıştır. Maya hücreleri 28°C'de maya özütü, pepton, glukoz ortamında büyütülmüş ve ardından 24 saat boyunca taze YPD ortamında ön kültüre alınmıştır. Gram-negatif bakteri suşu *E. coli* (ATCC® PTA-5976TM); gram-pozitif bakteri suşları olarak *S. aureus* (ATCC® 25923™) ve *E. faecalis* (ATCC® 29122TM) kullanılmış ve bunlar 37°C'de Lizojen suyu (LB) ortamında büyütülmüştür.

2.1.5.6 Antifungal ve Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

MİK analizi literatüre göre gerçekleştirilmiştir (BÜŞRA KONUK & ERGÜDEN, 2017). *S. cerevisiae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *E. faecalis* hücreleri bir gecelik inkübasyondan sonra YPD ve LB içinde 1×10^6 CFU/mL yoğunlukta süspanse edilmiştir (A. Dong et al., 2014; Zaoui, Elhadj Daouadji, et al., 2023)

Nanobiyomalzemeler (MP, MT, M3 ve M5) nihai konsantrasyon olarak 1 ila 100 mg/mL arasında değişen çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanarak 24 kuyucuklu mikrotitre plakasındaki her bir kuyucuğuna 20 µL DMSO ile konulmuştur. Ardından, maya veya bakteri hücreleri her bir kuyucuğa ayrı ayrı eklenmiştir. Maya ve bakteri hücrelerinin nanobiyomalzeme içermeyen ortamdaki süspansiyonu konularak pozitif kontol olarak test edilmiştir. 24 kuyucuklu mikrotitre plakaları *S. cerevisiae* için 28°C'de 48 saat, *E. coli*, *S. aureus* ve *E. faecalis* hücreleri için 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Kubo et al., 2018). İnkübasyondan sonra MİK değerleri, kuyucuklardaki maya veya bakteri hücrelerinin görsel büyümesini tamamen engelleyen en düşük nanobiyomalzeme konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Dört farklı nanobiyomalzeme için deneysel hataları azaltmak amacıyla tüm hücre tipleriyle deney üç kez tekrarlanmıştır.

Nanobiyomalzemelerin MİK ölçümlerinden sonra, maya ve bakteri hücreleri için sırasıyla minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ölçümleri belirlenmiştir. MFK veya MBK, agar plakalarında gözle görülür bir büyümenin gözlenmediği en düşük nanobiyomalzemenin konsantrasyonudur (Ergüden, 2021; Kunicka-Styczyńska, 2011; Parvekar et al., 2020). MFK ölçümü için 48 saat sonra MİK mikrotitre plakasının tüm kuyucuklarından gözle görülür bir büyüme göstermeyen maya hücrelerinden 10 µL alınmış ve agar plakalarına ekilmiştir. MBK ölçümü için benzer adımlar 24 saat

sonra 5 µL bakteri hücresi ile gerçekleştirilmiş ve agar plakalara ekilmiştir. Maya hücreleri 24 saat boyunca 28°C'de, bakteri hücreleri ise 18 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. Tüm deneylerde numuneler her konsantrasyon için üç kopya olarak hazırlanmış ve deneyler en az üç kez tekrarlanmıştır.

2.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması

2.2.1 Malzemeler

Demir klorür hekzahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, %99), Ferrik sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, %99), Glisidil metakrilat (GMA, >%97,0), 5-Aminotetrazol (5A, %97), N,N-dimetilformamid (DMF, %99,8), Etil 4-(dimetilamin) benzoat (EDMAB, >%99), Kamforokinon (CQ, %97), 3,5-Dinitrosalisilik asit (DNS, %98), Patates nişastası (toz) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Otoindüksiyon ortamı, Formedium'dan satın alınmıştır.

2.2.2 Fonksiyonel Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi

Fonksiyonel manyetik nanopartiküller, basit bir üç aşamalı yöntemle sentezlenmiştir. Başlangıçta $FeCl_3.6H_2O$ ve $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ tuzları 1:2 molar oranlarda 50 ml suda çözülmüştür. Nihai koyu turuncu çözelti, 25°C'de 30 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra sulu bir NH_4OH (%25) çözeltiye damla damla ilave edilmiştir. Çözelti partikül oluşumu ile koyu turuncudan siyaha dönüştükten sonra karıştırmaya 30 dakika daha devam edilmiştir (Kurtan et al., 2017). Manyetik nanoparçacıkları kalıntılardan arındırmak için etanol-su karışımı ile birkaç kez yıkanmıştır.

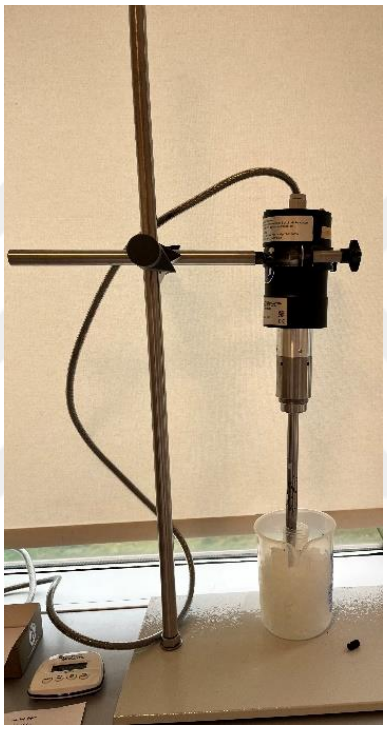
İkinci aşamada, Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıkları DMF içinde çözülmüştür. Daha sonra, başlatıcı olarak CQ (%1 mol) ve EDMAB (%1 mol) kullanılarak glisidil metakrilatın fotopolimerizasyonuyla Poli(glisidil metakrilat) (PGMA) aşılanmıştır. Reaksiyon karışımı, bir azot atmosferinde ve 80°C sıcaklıkta 24 saat bırakılmıştır. Fe_3O_4-PGMA, THF ile çöktürüldükten sonra birkaç kez su ile yıkanmıştır. Daha sonra malzeme çözeltiden harici bir mıknatısla ayrılarak koyu kahverengi polimerler elde etmek için 70°C'de vakum altında kurutulmuştur (Soydan et al., 2015).

Son aşamada azol fonksiyonel manyetik nanoparçacıklar (Fe_3O_4-PGMA-5A) hazırlamak için Fe_3O_4-PGMA, DMF içinde çözülerek çözeltiye 5-Aminotetrazol

eklenmiştir. Sıcaklık 100°C'ye ayarlanıp karışım bir azot atmosferi altında 36 saat karıştırılmıştır. Nihai katı karışım, bir mıknatıs ile çözeltiden ayrılarak 50°C'de vakum altında kurutulmuştur (Aslan, Gümüşdereli, et al., 2019).

2.2.3 *E. coli* BL21 (DE3) Suşundan α-amilaz İzolasyonu

E.coli suşu *Bl*21 (DE3) hücreleri, LB besi yeri ortamında kültürlenmiştir. Hücreler daha sonra 4°C'de 45 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edilerek toplanmıştır. α-amilaz enzimi, hasat edilen hücrelere lizozim eklenerek sonikasyon yoluyla elde edilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3 Hasat edilen hücrelerin lizozim ile sonikasyonu

Üreticinin talimatlarına göre enzim saflaştırması için Ni-NTA agaroz kolonları (5 mL) (Thermo Sciencetific, Pierce HisPur Ni-NTA Spin Columns, ABD) kullanılmıştır.

Prosedür:

Tampon A (1L):

1) 20 mM NaH_2PO_4, 500 mM NaCl ve 30 mM imidazol hazırlanmıştır (Tablo 2.1).

2) Bu çözelti için gerekli miktarlar aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

Tablo 2. 1 Tampon A bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Miktar (g)
20 mM NaH_2PO_4	2,76
500 mM NaCl	29,22
30 mM imidazol	2,04

3) Bileşenlerin üzerine 800 mL damıtılmış su eklenerek pH değeri 7,4'e ayarlanmıştır.

4) Distile su hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

5) Vakum pompası yardımı ile çözelti süzülmüştür.

Tampon B (1L):

1) 20 mM NaH_2PO_4, 500 mM NaCl ve 500 mM imidazol hazırlanmıştır (Tablo 2.2).

2) Bu çözelti için gerekli miktarlar aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

Tablo 2. 2 Tampon B bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Miktar (g)
20 mM NaH_2PO_4	3,12
500 mM NaCl	29,22
30 mM imidazol	34,04

3) Bileşenlerin üzerine 800 mL damıtılmış su eklenerek pH değeri 7.4'e ayarlanmıştır.

4) Distile su hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

5) Vakum pompası yardımı ile çözelti süzülmüştür.

100 mM imidazol içeren Tampon A (50 mL):

42,55 mL Tampon A ve 7,45 mL Tampon B

200 mM imidazol içeren Tampon A (50 mL):

31,9 mL Tampon A ve 18,1 mL Tampon B

400 mM imidazol içeren Tampon A (50 mL):

10,6 mL Tampon A ve 39,4 mL Tampon B

His-Trap Kolon Kromotografisi:

1) Kolon 10 mL distile su ile yıkanmıştır.

2) 5 mL Tampon A kolondan geçirilmiştir.

3) Hücre lizatı 0.45 µm şırınga filtresi ile süzülmüştür.

4) Berraklaştırılmış hücre lizatı kolona yüklenmiştir.

5) 5 mL Tampon A ile kolon yıkanmıştır.

6) 3 mL 100 mM imidazol tamponu ile elüe edilmiştir. Elüsyonu ayrı ayrı toplanmıştır.

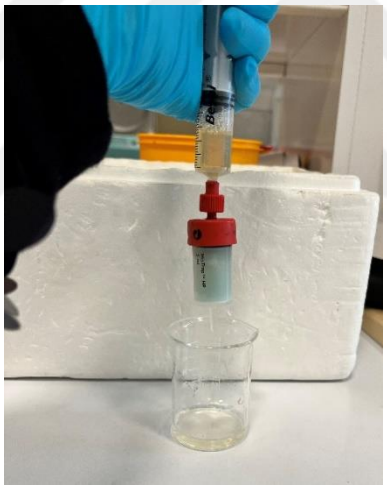
7) 5 mL 200 mM imidazol tamponu ile elüe edilmiştir. Elüsyonu ayrı ayrı toplanmıştır.

8) 3 mL 400 mM imidazol tamponu ile elüe edilmiştir. Elüsyonu ayrı ayrı toplanmıştır.

9) 3 mL tampon B ile yıkandı ve bir tüpte toplanmıştır.

10) Kolon 10 mL distile su ile yıkanmıştır.

11) Kolon 10 mL %20 etanol ile yıkanmış ve 4°C'ye saklanmak için kaldırılmıştır (Kalyanpur, 2002).



Şekil 2. 4 Ni-NTA agaroz kolonu ile enzimin saflaştırılması

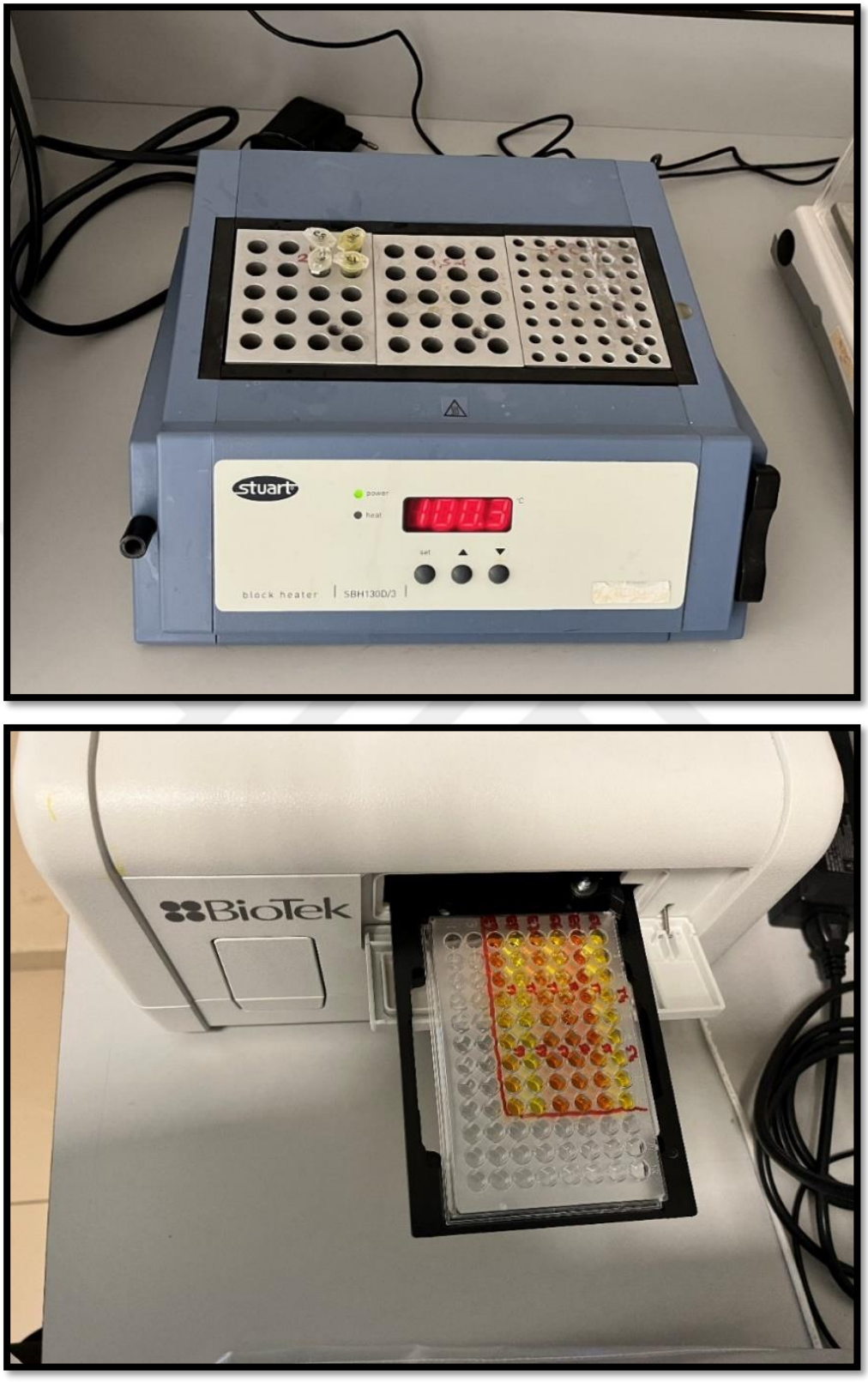
İmmobilize α-amilaz enzimi 100-400 mM imidazol içeren solüsyonlarla yıkanarak ayrılmıştır (Şekil 2.4). İzole edilen α-amilaz enzimi, bir Amicon Ultra-15 santrifüj ünitesi (30,000 MW shear, Milipore, ABD) ile 20 dakika (4°C) için 4000 rpm'de tekrarlanan santrifüj ile daha da konsantre edilmiştir (Alkan-tas et al., 2021; Bulut et al., 2021).

2.2.4 α-amilaz Enziminin Fe_3O_4-PGMA-5A Taşıyıcısına İmmobilizasyonu

E. coli suşu-*Bl*21'den saflaştırılmış α-amilaz, Fe_3O_4-PGMA-5A nanoparçacıkları üzerinde kovalent bağlanma ile immobilize edilmiştir. Bu saflaştırılmış 100 µL

enzim, 4 mg taşıyıcı ve tampon solüsyonu ile karıştırarak immobilizasyon gerçekleştirilmiştir. Karışım çalkalayıcıda 4°C'de 400 rpm'de çalkalandı ve ardından immobilize α-amilaz taşıyıcıları mıknatıs aracılığıyla toplanmıştır (Leila et al., 2015; Milani et al., 2017). Süpernatant çözeltisine Bradford yöntemi uygulanarak, immobilize olmayan enzim miktarı belirlenmiştir (Lowry O H, Rosebrough N J, 2014). Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmıştır. Optimum koşullar altında tekrarlanan deneyler sonucunda ortalama immobilizasyon %56 olarak bulunmuştur.

Serbest ve immobilize α-amilaz enzimi, 0.1 M sodyum asetat tamponu pH=5,5 içinde karıştırılmıştır. Üzerine %1 nişasta çözeltisi eklenerek 25°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra DNS eklenmiş ve 100°C'de 5 dakika tutulmuştur (Şekil 2.5). α-amilaz aktiviteleri mikroplate okuyucu üzerinde 540 nm'de okunmuştur (Dhavale et al., 2018b). Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 2. 5 DNS eklenen enzimlerin 100°C'de bekletilmesi ve aktivite ölçümlerinin gerçekleştirilmesi

2.2.5 Karakterizasyon

Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA, Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilaz'ın FTIR absorpsiyon spektrumları Perkin Elmer Spectrum 100 ile ölçülmüştür. 4000-650 cm^{-1} dalga boyunda karakteristik pikler elde edilmiştir. Ayrıca taramalı elektron mikroskobu (SEM; Philips XL 30 SFEG) ve elementel analiz (EDS; EDAX) ile nanoparçacıklarının yüzey morfolojisi incelenerek enzim immobilizasyonunun doğruluğu için de kullanılmıştır. Bu analizlerin yanı sıra nanoparçacıkların yapısını incelemek için termogravimetrik analiz (TGA; Linseis PT 1600 Instruments) ve X-ışını kırınım (XRD; Bruker D-8 Advance X-Ray Device) yapılmıştır.

2.2.6 pH ve Sıcaklığın, Serbest ve İmmobilize Enzim Üzerindeki Etkisi

Serbest ve immobilize α-amilaz enziminin optimum pH'ı, farklı pH'larda (4,5 ile 8,5 arasında) 0,1 M tamponlarda test edilmiştir. Kullanılan tamponlar sodyum asetat (pH 4,5; 5,5), sodyum fosfat (pH 6,5; 7,5) ve Tris-HCl (pH 8,5) idi. Serbest ve hareketsizleştirilmiş enzimin termal stabilitesi, sodyum asetat tamponu (0,1 M, pH= 5,5) içinde ve 30-80°C aralığında 30 dakika inkübasyondan sonra enzim aktivitesinin ölçülmesiyle belirlenmiştir.

2.2.7 İmmobilize α-amilazın Yeniden Kullanılabilirliği

İmmobilize α-amilaz enziminin tekrar kullanılabilirliği araştırılmıştır. İmmobilize enzimin aktivite ölçümü, optimum koşullar altında on kez tekrarlanmıştır. Her reaksiyon döngüsünde hazırlanan 250 µl reaksiyon karışımına, 250 µl nişasta çözeltisi ilave edilerek, 25°C'de 30 dakika tutulmuştur. Her döngüden sonra immobilize enzim karışımdan harici bir mıknatıs ile ayrılarak uygun tampon solüsyonu ile birkaç kez yıkanarak solüsyona taze hazırlanmış substrat ilave edilmiştir. Daha sonra elde edilen süpernatant solüsyonlarına DNS eklenerek 100°C'de 5 dakika tutulmuştur. Aktivite değerleri, bir Epoch mikroplate spektrofotometresinde 540 nm'de ölçülmüştür. İlk döngünün spesifik aktivitesi %100 olarak tanımlanmıştır.

2.2.8 Depolama Kararlılığı

Serbest ve immobilize enzimin depolama stabilitesi, 0,1 mol/L sodyum asetat tampon tamponunda, pH 5,5'te 4 °C'de 21 gün boyunca 3 günde bir enzim aktiviteleri ölçülerek belirlenmiştir.

2.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları

2.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

2.3.1.1 Kimyasallar

Bisfenol A glisidil metakrilat (BisGMA, >%85), Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA, %95), Kamforokinon (CQ, %99), Etil 4-(dimetilamino)benzoat (EDMAB, %99), 1,2,4-Triazol(%98), 3-Amino-1,2,4-triazol (>%95), 5-Aminotetrazol monohidrat (%98) ve Silikondioksit (>%99.9) Sigma-Aldrich Co'dan satın alınmıştır.

2.3.1.2 Fonksiyonel Silika Nanopartiküllerinin Hazırlanması

Fonksiyonel SiO_2 sentezi, için 1 g SiO_2 50 ml DMSO içerisinde ultrasonik banyoda 10 dk disperse edildikten sonra azot atmosferinde damla damla epiklorohidrin eklenerek 70°C 24 saat karıştırılmaktadır. Elde edilen epoksi silika (e-SiO_2), etil alkol/distile su ile yıkanarak 80°C'de etüvde kurutulmuştur (ASLAN & KAPTAN USUL, 2021; Usul et al., 2022).

2.3.1.3 Fonksiyonel Silika Nanopartiküllerinin Azollü Bileşikler ile Modifikasyonu

Yüzeyi epoksi grupları ile kaplanan SiO_2'ye azolik organik birimlerin bağlanması için kuruyan örnek 30 ml DMSO içerisinde ultrasonik banyoda 5-10 dk homojen olarak dağıtılmıştır. Homojen olarak dağılan nanopartikül solüsyonunun içerisine 5 gr 1,2,4-Triazol eklenerek 100°C'de 72 saat karıştırılmaktadır. Sentez sonrası safsızlıkların giderilmesi için SiO_2-1,2,4-Triazol (t-SiO_2) nanopartiküllerin etil alkol/distile su karışımı ile yıkanmıştır. t-SiO_2 son olarak 72 saat etüvde bekletilerek konjugasyon basamağına geçilmektedir. 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol monohidrat ile SiO_2'nin modifikasyonunda t-SiO_2 sentezi ile aynı prosedür kullanılmıştır (Aslan et al., n.d.; ASLAN & KAPTAN USUL, 2021; Usul et al., 2022).

2.3.1.4 Dental Kompozitlerin Hazırlanması

Dental kompozitler, fonksiyonel SiO_2 ile hazırlanan azollü bileşikler, farklı ağırlık yüzdeleri ile BisGMA/TEGDMA reçineleriyle oluşturulmuştur. İlk olarak, monomerler BisGMA ve TEGDMA (ağırlıkça, %50:50) karıştırılarak 50°C'de

homojenleştirilmiştir. Daha sonra, farklı ağırlık yüzdelerinde SiO_2 ve azollü bileşikler eklenerek 25 dakika elle spatülasyon gerçekleştirilmiştir. Tablo 2.3'de dental kompozitlerin bileşim oranları yer almaktadır. Bu işlemi, CQ (ağırlıkça %0.1) ve EDMAB'dan (ağırlıkça %0.4) oluşan bir başlatıcı/inhibitör sisteminin eklenmesi takip etmiştir. Viskoz malzemeler teflon kalıbına yerleştirilerek karışıma 60 saniye boyunca dalga boyu 450-500 nm ve güç yoğunluğu 1000 mW cm^2 olan LED ışık kaynağı tutulmuştur (Yushau et al., 2019).

Tablo 2. 3 Dental kompozitlerin formülasyonu

Dental kompozit		**Azollü birleşik (%)**	**SiO_2 (%)**	**BisGMA (%)**	**TEGDMA (%)**
Triazol içerikli dental kompozitler	T0	0	50	25	25
	T10	10	40	25	25
	T20	20	30	25	25
	T30	30	20	25	25
3-Amino-1,2,4-triazol triazol içerikli dental kompozitler	3A0	0	50	25	25
	3A10	10	40	25	25
	3A20	20	30	25	25
	3A30	30	20	25	25
5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitler	5A0	0	50	25	25
	5A10	10	40	25	25
	5A20	20	30	25	25
	5A30	30	20	25	25

2.3.1.5 Karakterizasyon

Fonksiyonel yapıların varlığı, FTIR Pelkin Elmer Spectrum kullanılarak belirlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin morfolojisini gözlemlemek ve boyutu ile ilgili bilgi sahibi olmak için Taramalı Elektron Mikroskobu FEI (PHILIPS) XL30 SFEG SEM kullanılmıştır. X-ışını kırınım analizi, Cu Kα radyasyonu

kullanılarak oda sıcaklığında Bruker Smart Apex II Quazar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dental kompozitlerin termal stabiliteleri, termogravimetrik analiz (TGA) cihazı Shimadzu TA-60 Ws ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) analizi Netzsch 404 C cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanobiyomalzemeler (5 mg), 10°C/dakika hızında oda sıcaklığından 700-800°C'ye kadar çıkarılmıştır. Dental malzemelerin su içerisinde emilimi ve çözünmesi ile ilgili deneyler yapılmıştır. Antifungal çalışmalar için, aynı boyutta kuyulara sahip agar içerisine *Saccharomyces cerevisiae* ekildikten sonra dental kompozitlerin diskleri (3 mm kalınlık ve 5 mm çap) yerleştirilerek 48 saat 28ºC'de bekletilmiştir. Antibakteriyel çalışmalar için, aynı boyutta kuyulara sahip agar içerisine *Escherichia coli* ekildikten sonra dental kompozitlerin diskleri (3 mm kalınlık ve 5 mm çap) yerleştirilerek 24 saat 37ºC'de bekletilmiştir.

2.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması

2.3.2.1 Kimyasal Ve Malzemeler

Bisfenol A glisidil metakrilat (BisGMA), Trietilen glikol dimetakrilat (TEGDMA), Etil 4-dimetilamino benzoat (EDMAB), Dimetil sülfoksit (DMSO), Epiklorohidrin, Kamforkinon (CQ), Titanyum (IV) oksit (TiO_2), Silika nanopartiküller (SiO_2), İmidazol (I) ve Benzimidazol (B) Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır. Himedia'dan, pepton, maya özü tozu ve agar tozunu (Mumbai, Hindistan) tedarik edilmiştir. Tüm deneylerde gram negatif suşlar *Escherichia coli* (ATCC® PTA-5976TM) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 15692 TM), gram pozitif suş *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29122TM) kullanılmıştır.

2.3.2.2 İmidazol ve Benzimidazol ile Modifiye Edilmiş SiO_2 Nanoparçacıkları

Silikanın epiklorohidrin ile reaksiyonu, Alzina ve diğ. (Alzina et al., 2011) çalışmasına göre gerçekleştirilmiştir. Epoksi silika (e-SiO_2), DMSO içerisinde dağıtılarak çözeltiye imidazol ilave edilmiştir. Reaksiyon azot atmosferinde 100°C'de 24 saat karıştırılmıştır. Solüsyon, etanol-su solüsyonu ile yıkanarak 100°C'de kurutulmuştur (Yushau et al., 2019). Epoksi silika-imidazol (e-SiO_2-I) için uygulanan sentez yöntemi, modifiye epoksi silika-benzimidazol (e-SiO_2-B) sentezlemek için de kullanılmıştır.

2.3.2.3 Diş Kompozitinin Hazırlanması

BisGMA ve TEGDMA'nın organik fazı kullanılarak kütlece eşit parçalarda sekiz diş kompoziti oluşturulmuştur. Dental kompozitin inorganik kısmına 0, 10, 20 ve 30 w/w oranlarında modifiye edilmiş imidazol ve benzimidazol nanopartikülleri eklenmiştir (Tablo 2.4). CQ ve EDMAB ikili fotopolimerizasyon sistemleri, her sekiz kompozit için sırasıyla ağırlıkça %0,2 ve %0,8 konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Kompozitleri karıştırmak için manuel spatulasyon işlemi uygulanmıştır (Boaro et al., 2019; D. L. Yang et al., 2020). Nihai karışım, yapışmaması için Teflon kalıplara konularak bir LED ışıkla sertleştirme ünitesi (430–490 nm, ART-L3 PRO) ile fotopolimerize edilmiştir.

Tablo 2. 4 Dental kompozitlerin içerikleri

Formülasyon	BisGMA %	TEGDMA %	I-SiO_2 %	SiO_2 %	TiO_2 %	Başlatıcı sistem	
						CQ %	EDMAB %
I0	30	30	0	20	20	0.2	0.8
I10	30	30	10	15	15	0.2	0.8
I20	30	30	20	10	10	0.2	0.8
I30	30	30	30	5	5	0.2	0.8
Formülasyon	**BisGMA %**	**TEGDMA %**	**B-SiO_2 %**	**SiO_2 %**	**TiO_2 %**	**Başlatıcı sistem**	
						CQ %	**EDMAB %**
B0	30	30	0	20	20	0.2	0.8
B10	30	30	10	15	15	0.2	0.8
B20	30	30	20	10	10	0.2	0.8
B30	30	30	30	5	5	0.2	0.8

2.3.2.4 I ve B Dental Kompozit Serilerinin Karakterizasyonu

I ve B dental kompozit serilerinin karakterizasyonu Perkin Elmer Spectrum 100 sistemi Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR) spektrumlarını 4000–400 cm^{-1} aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükle kullanılmıştır. Nanobiyomalzemelerin yüzey morfolojisi için; Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Philips XL 30 SFEG, Bruker D-8 Advance X-Ray Aleti ile X-ışını kırınımı (XRD), modifiye edilmiş malzemelerin oda sıcaklığından 10°C/dakika'da 700°C'ye termal stabilitesi Linseis PT 1600 Aletlerine (Termal Gravimetrik Analiz (TGA)) analizleri yapılmıştır. Malzemenin herhangi bir fiziksel özelliğinin (ağırlık, enerji, genleşme ve iletkenlik) sıcaklıkla değişimini incelemek için diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC,

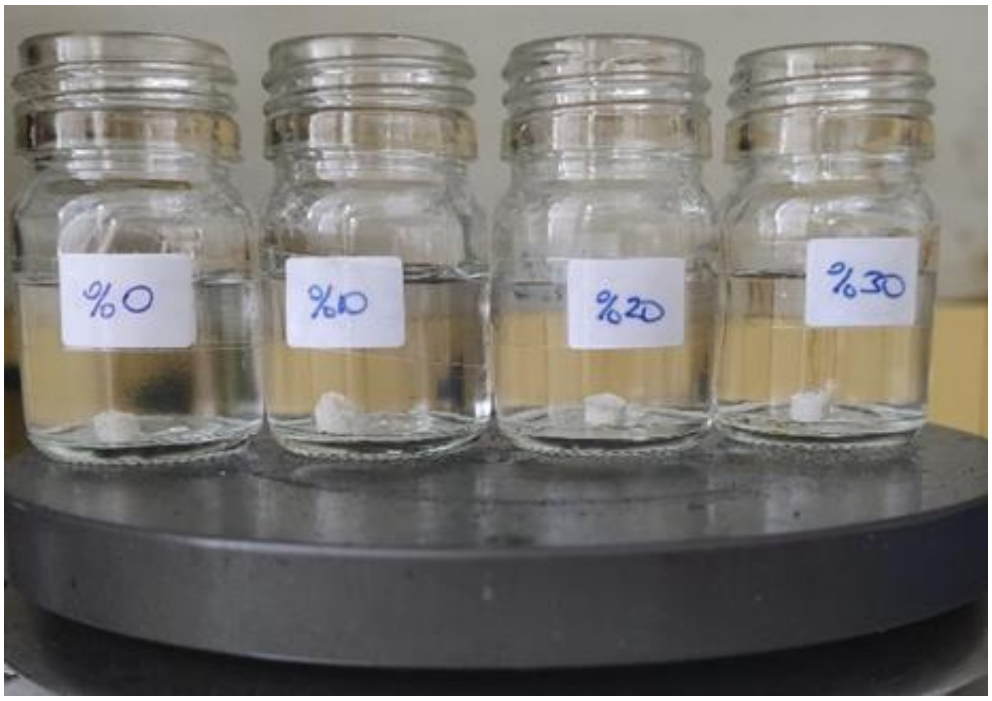
Netzsch DSC 404 C Pegasus) kullanılmıştır. 5 mm çapında ve 3 mm kalınlığındaki disk şeklindeki numunelerin mekanik özellikleri incelenmiştir.

2.3.2.5 Suda Emilim ve Çözünme

Kompozitlerin suda emilim ve çözünme deneyleri ISO-4049 Uluslararası Standart'ına göre yapılmıştır (Müller et al., 2017). Silindirik numuneler (5 mm çap 3 mm kalınlık) oluşturmak için bir fotopolimerizasyon ünitesi ile 60 saniye ışınlanmıştır. Numunelerin miktarları tartılarak su dolu kaplara yerleştirilmiştir (Şekil 2.6). Her örneğin ilk kuru ağırlığı (M_1), 0.0001 g hassasiyetle bir elektronik terazi ile ölçülmüştür. Daha sonra örnekler 10 ml distile suya batırılarak 37ºC'de tutulmuştur. Sabit zaman aralıkları ile numuneler sudan çıkarılıp fazla su uzaklaştırılarak yeniden tartılıp suya geri konulmuştur. Denge kütlesi (M_2), 21 günlük daldırma sırasında elde edilmiştir. Daha sonra numuneler 60ºC'de kurutularak ölçülen kütleler M_3 olarak kaydedilmiştir (Luo et al., 2019). Deneyler 3 tekrarlı yapılarak ortalama değerler tabloya işlenmiştir. Hesaplamada kullanılan denklemler aşağıda yer almaktadır (2.1) ve (2.2):

$$\text{Suda emilim} = \frac{M2 - M3}{V} \qquad (2.1)$$

$$\text{Suda çözünme} = \frac{M1 - M3}{V} \qquad (2.2)$$



Şekil 2. 6 Dental kompozitlerin su emilimi ve çözünürlük deneyi

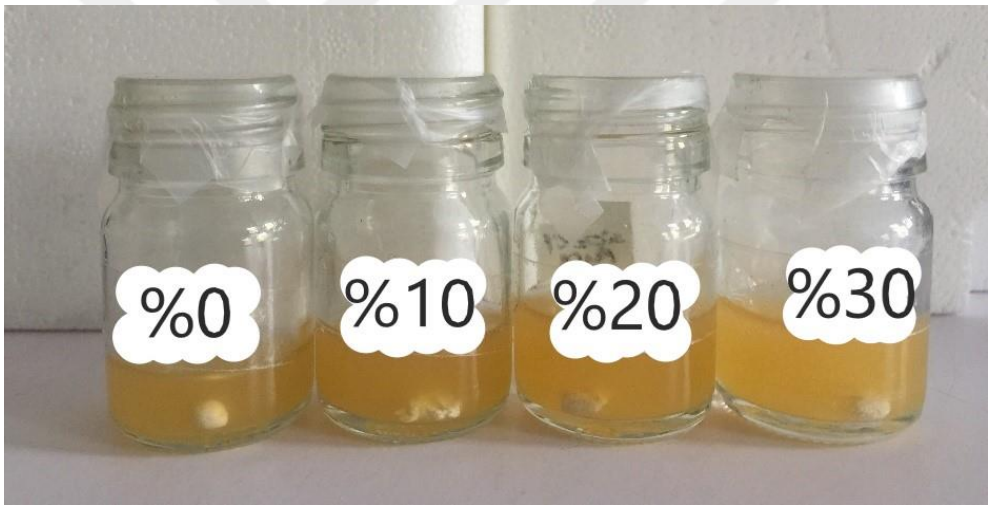
2.3.2.6 Kimyasal Stabilite

Organik materyallerin kimyasal stabiliteleri için en yaygın kullanılan, Fenton reaksiyon mekanizması (Şekil 2.7), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve demir (Fe) katyonları kullanılarak dental kompozitlerin stabiliteleri incelenmiştir. Fenton'un reaksiyon mekanizması, OH radikalleri ile kompozitlerin yan zincirlerine etki ederek bağların ayrılması esasına dayanmaktadır (Mujika et al., 2018; Tsuneda, 2020).

Malzeme kaybı aşağıdaki denge ile hesaplanmıştır:

$$\% = \frac{M_0 - M_1}{V} \tag{2.3}$$

Burada: M_0, malzemenin başlangıç ağırlığıdır. M_1, Fenton çözeltisine iki gün daldırıldıktan sonra numunenin kütlesidir ve V, mm^3 cinsinden numune hacmidir.



Şekil 2. 7 Dental kompozitlerin fenton deneyi

2.3.2.7 Mekanik Özellikler

I ve B serisi dental kompozitlerin mekanik özellikleri Şekil 2.8'de yer alan INSTRON 5569 kompresyon test cihazı kullanılarak incelenmiştir. Testlerde 5 mm çapında ve 3 mm kalınlığındaki silindirik numuneler 0,2 mm/dk kroşet hızı ile eksenel gerilime tabi tutulmuştur.



Şekil 2. 8 Instron 5569 kompresyon test cihazı

2.3.2.8 Dental Kompozitlerin Antibakteriyel Aktivitesi

I0, I10, I20, I30, B0, B10, B20 ve B30'un antimikrobiyal özelliği, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis*'e karşı değerlendirilmiştir (Y. Yang et al., 2021). İlk olarak, her bir bakteri suşu, Lizojen suyu (LB) ortamında tek bir koloni ile aşılanmıştır. Bakteri hücreleri, mL başına $1x10^6$ CFU nihai yoğunlukta LB içinde süspanse edilmeden önce gece boyunca 37°C'de kültürlenmiştir. Dental kompozitler, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL ve 12,5 µg/mL'lik nihai konsantrasyonlar elde etmek için LB ortamında dağıtılmıştır. Her bakteri kültürü, 0.3 mL'lik artışlarla farklı konsantrasyonlarda diş kompozitleri içeren bir agar plakasına eklenerek 24 saat inkübe edilmiştir.

MBK, bakteriyel koloni büyümesi olmadan en düşük seviyedir. Diş kompozitleri veya bakteri solüsyonları içermeyen ortam; negatif kontroldür. Bakteri solüsyonları içeren ancak her bir bakteri türü için dental kompozit içermeyen ortam; pozitif kontroldür. Her malzeme grubu için CFU testi, üç farklı bakteri türüyle en az üç kez gerçekleştirilmiştir.

3

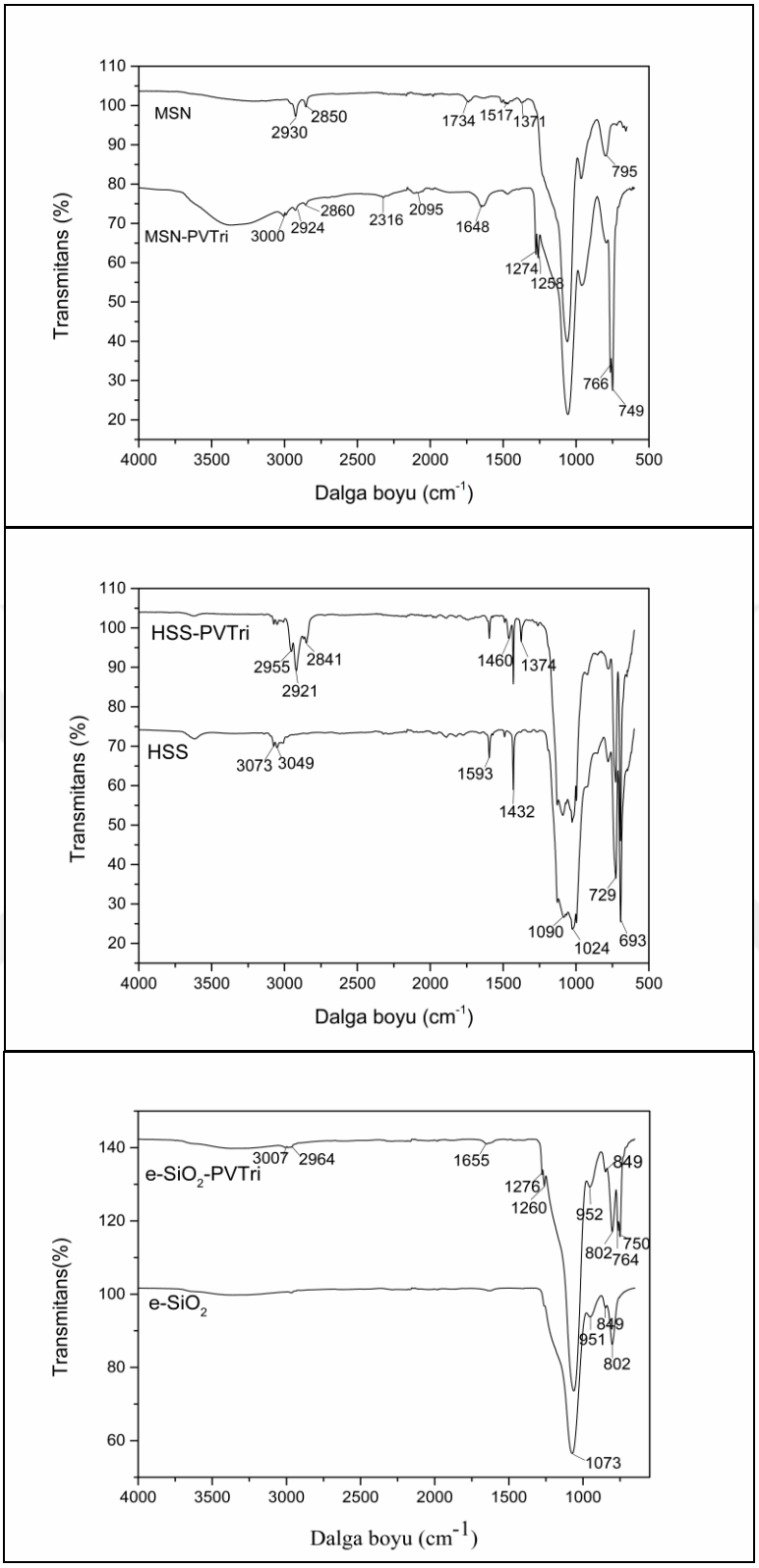
DENEYSEL BULGULAR

3.1 Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

3.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

3.1.1.1 FTIR Analizi

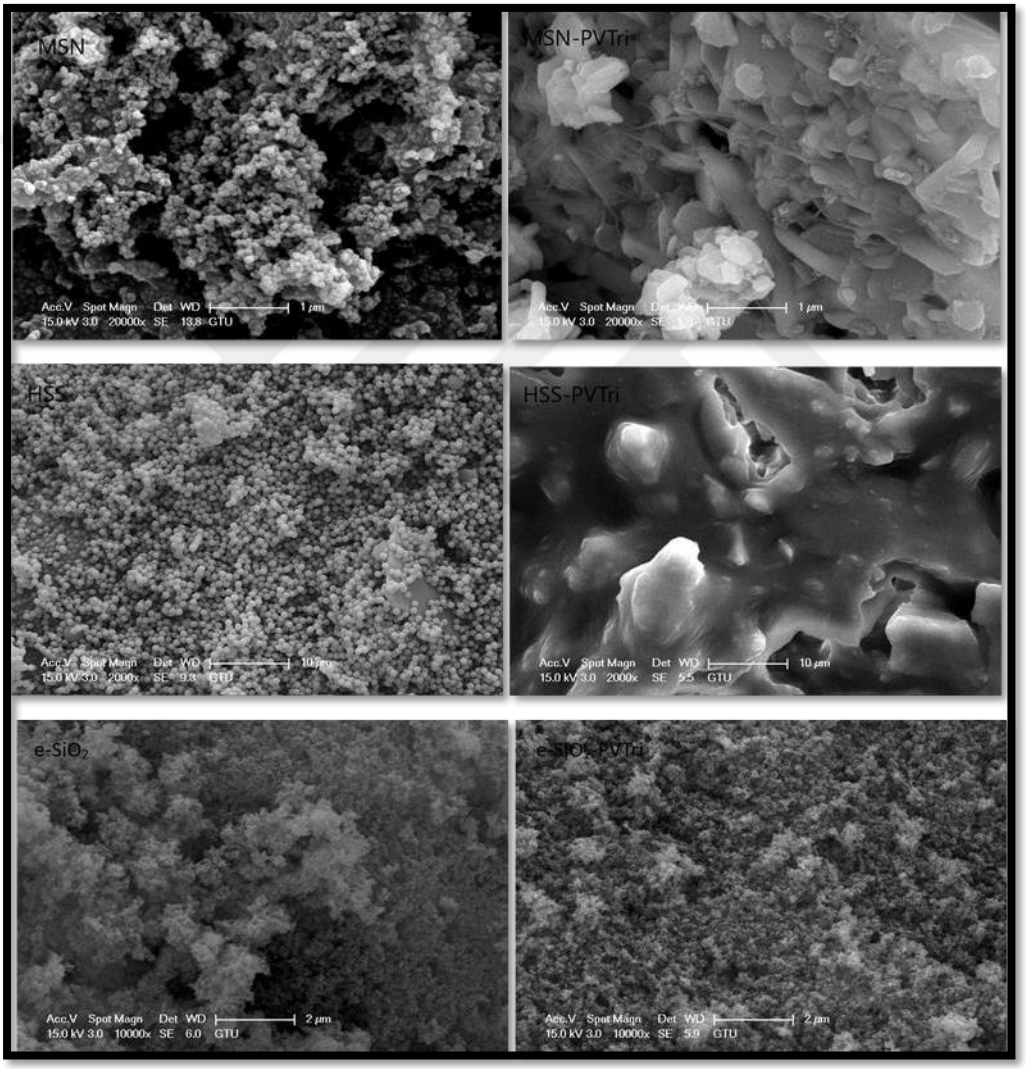
Analiz edilen numunelerin polimerizasyonu FTIR spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MSN ve MSN-PVTri nanopartiküllerinin kızılötesi spektrumları Şekil 3.1'de gösterilmiştir. 1064 ve 800 cm^{-1}'de, Si-O-Si bağlarının asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini göstermektedir. O-H ve Si-OH gruplarının gerilme titreşimleri sırasıyla 3300 ve 977 cm^{-1}'deki piklere atanmaktadır. 2900 ve 3300 cm^{-1}'deki pikler sırasıyla C-H ve OH bağlarının gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır ve büyük olasılıkla asitle aşındırma yoluyla giderilmeyen CTAB kalıntılarındandır. VTri'nin yüzeye polimerize edilmesiyle, triazol halkaları 1430-1650 cm^{-1} aralığında halka gerilme (C-N, C=N) titreşimleri nedeniyle birkaç orta derecede güçlü pik oluşturmuştur. 1274 cm^{-1}'deki pik N-N halkasının gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Merkezi 3430 cm^{-1} olan geniş pik, PVTri ile etkileşime giren suyun O-H titreşimine atanmıştır (Aslan, Çelik, & Bozkurt, 2009; Aslan, Şen, et al., 2009). HSS spektrumları 1090 cm^{-1}'de Si-O-Si asimetrik gerilmesinin güçlü bir absorpsiyon pikini göstermektedir. 782 cm^{-1}'deki pikler Si-O'nun simetrik gerilme titreşimini, 936 cm^{-1}'deki pik Si-OH'nin bükülme titreşimini göstermektedir. Yaklaşık 3600 cm^{-1}'de zayıf ama belirgin bir Si-OH gerilme titreşimi görülmektedir. 3073 cm^{-1}'de, HSS'ye bağlı aromatik fenil C-H gruplarının asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklanan bir pik görülmektedir. VTri'nin yüzeyde polimerize edilmesiyle, triazol halkalarının 1430-1650 cm^{-1} aralığında halka gerilme (C-N, C=N) titreşimleri nedeniyle birkaç orta derecede güçlü pik oluşturmuştur (Aslan, Çelik, Şen, et al., 2009). FTIR grafiğinde 1073 cm^{-1}'de görülen geniş bantlı pik epoksi halkasından kaynaklanmaktadır. Yüzeyde VTri ile modifikasyon sonrası 1655 cm^{-1}'de triazol yapısına ait bir pik oluşmuştur. Ayrıca 750 cm^{-1}'deki pikler VTri'ye özgüdür ve oluşan pikler N-N halka gerilmelerinden kaynaklanmaktadır (Aslan & Bozkurt, 2009; Kavas et al., 2010).



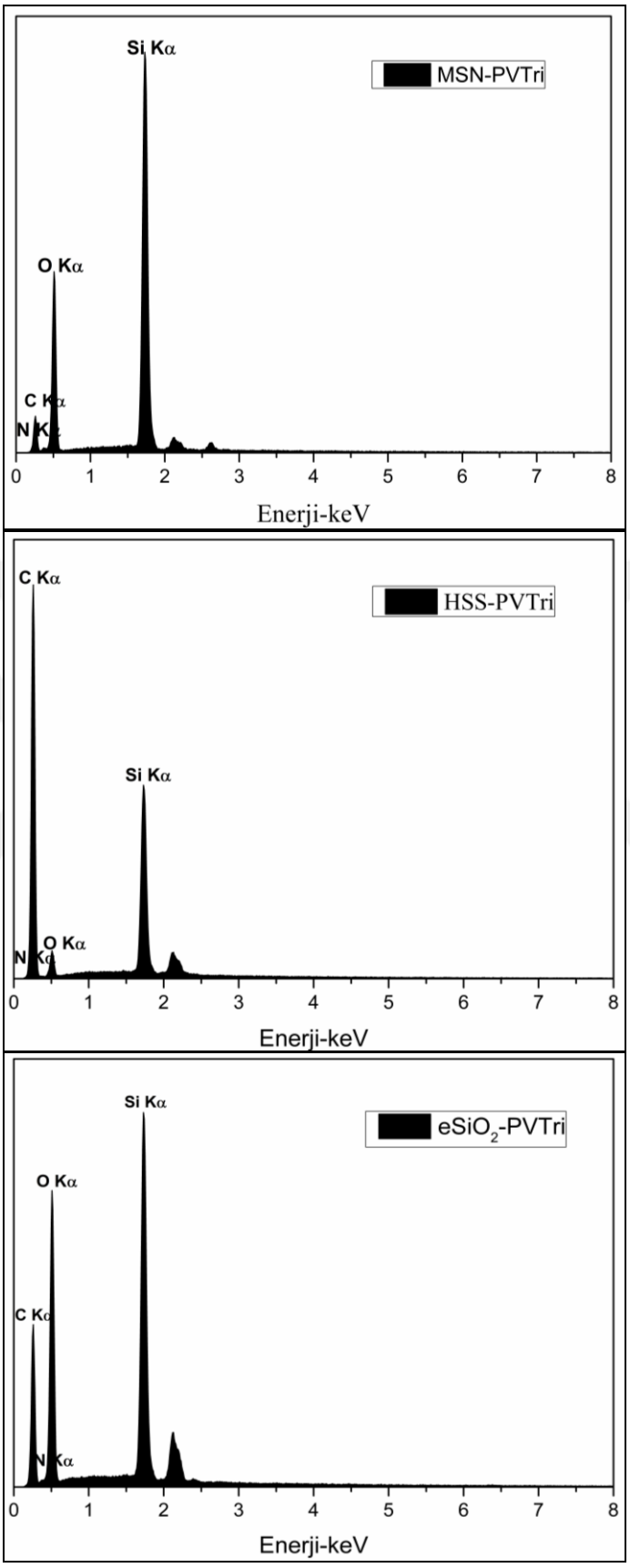
Şekil 3. 1 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin FTIR spektrumları

3.1.1.2 SEM ve EDS Analizi

MSN'nin yüzeyinde aşılama ile oluşan yapısal değişik Şekil 3.2'de görülmektedir. Ayrıca, HSS gözeneklerinde aşılamanın gerçekleştiği ve gözeneklilik sayısının arttığı da görülmektedir. HSS nanopartiküllerinin yüzeyinin bir VTri monomer ile kaplanmasıyla, küresel partiküller yığın polimer içinde hapsolmuştur. e-SiO_2 SEM görüntüsü, nano yapıda olması nedeniyle yüksek derecede yığın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, nanopartiküllerin boyutları 40-50 nm aralığında gözlenmiştir. Ayrıca yüzeyde modifikasyon ile boyutta önemli bir artış olmuştur.



Şekil 3. 2 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin SEM görüntüleri



Şekil 3. 3 MSN-PVTri, HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri'nin EDS grafikleri

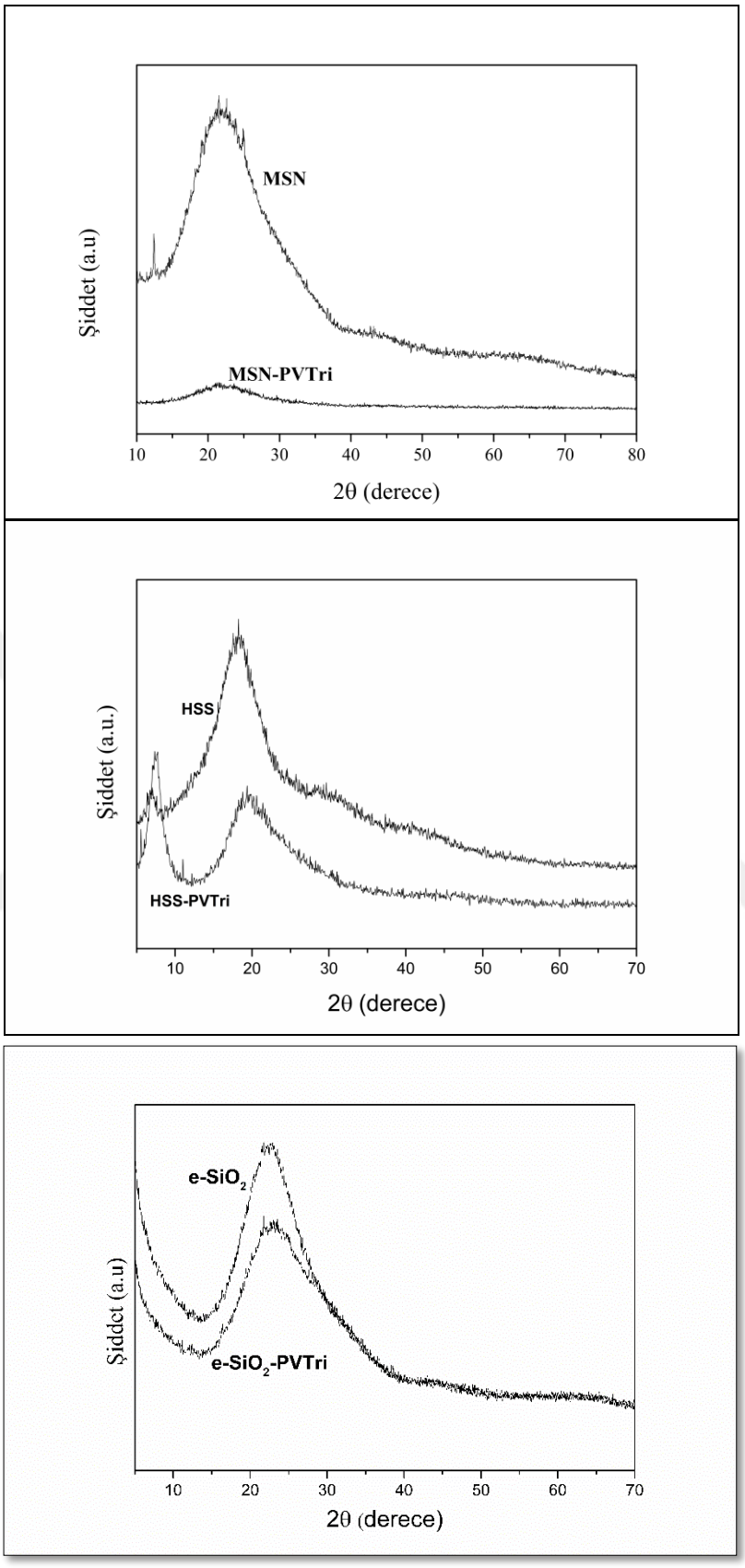
Şekil 3.3 ve Tablo 3.1 nanobiyomalzemelerin EDS analizinin sonuçlarını göstermektedir. Nanobiyomalzemelerin EDS şekillerinde görüldüğü gibi, içeriklerinde C, O, N ve Si atomlarının varlığı doğrulanmıştır. MSN-PVTri (%41,08) ve e-SiO_2-PVTri (%43,42) nanobiyomalzemeleri kütlece en yüksek Si atomu yüzdesine sahipken, kütlece en yüksek C atomu yüzdesi HSS-PVTri (%37,22) nanobiyomalzemelerinde görülmektedir. EDS sonuçlarından da görülebileceği gibi, en yüksek azot içeriğine sahip nanobiyomalzeme olan MSN-PVTri, yüzeyinde en fazla azol grubu içeren malzemedir.

Tablo 3. 1 Fonksiyonel nanoparçacıkların kütle atomik yüzdeleri

Element (Ağırlık %)	**C**	**N**	**O**	**Si**
MSN-PVTri	23,33	4,18	41,08	31,41
HSS-PVTri	79,17	1,89	8,44	10,51
e-SiO-PVTri	37,22	3,19	43,42	16,17

3.1.1.3 XRD Analizi

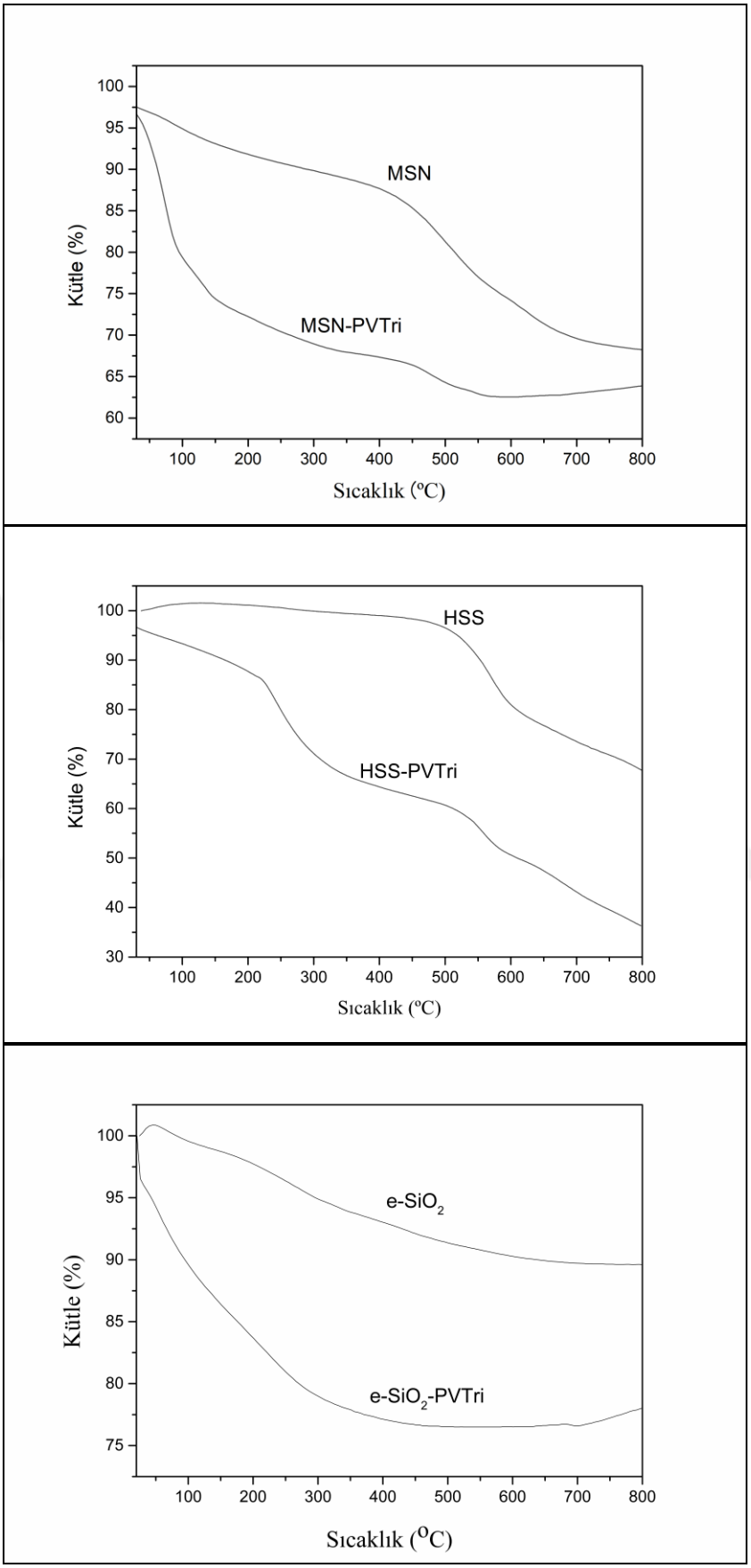
MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin XRD faz incelemesi yapılmış ve kırınım deseni Şekil 3.4'te sunulmuştur. MSN nanoparçacığı 21,6°'de 2θ civarında pik yaptığı ve amorf formda olduğu görülmektedir. Yüzey modifikasyonu ile 21,6°'de yoğunluğun azalması polimerleşmenin gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. HSS nanopartikülünün 18,2°'de 2θ civarında görülen bir piki vardır ve amorf formda olduğu görülmektedir. Yüzey modifikasyonu ile 19,4°'de yoğunluğun azalması polimerleşmenin gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. Ayrıca, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri 2θ civarında 22,5°'de amorf formdadır.



Şekil 3. 4 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin XRD grafikleri

3.1.1.4 TGA Analizi

TGA'nın ağırlık kaybı grafikleri nanopartiküllerden büyüyen polimerin varlığını kanıtlamaktadır (Şekil 3.5). PVTri polimerinin termal kararlılığı 300-350°C'dir (Sinirlioglu et al., 2013). Termal bozunma eğrileri, 1-Vinil-1,2,4-triazol monomerinin MSN nanoparçacık yüzeyinde büyütülmesinden sonra oluşan MSN-PVTri nanobiyomalzemesinin termal kararlılığının 400°C'ye yükseldiğini göstermektedir. HSS nanoparçacıkları yüzeyinde VTri polimerizasyonundan sonra toplam %40'lık bir ağırlık kaybı görülmektedir. Ayrıca, e-SiO_2-PVTri nanobiyomalzemesinin termal kararlılığının PVTri'ye göre arttığı ve 800°C'ye kadar yapısını %85 oranında koruduğu görülmüştür.



Şekil 3. 5 MSN, MSN-PVTri, HSS, HSS-PVTri, e-SiO_2 ve e-SiO_2-PVTri'nin TGA grafikleri

3.1.1.5 Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK)

Çalışmada, yüzeyleri 1-Vinil-1,2,4-triazol ile modifiye edilen silikaların antifungal ve antibakteriyel özellikleri MİK ölçümü ile test edilmiştir. MSN-PVTri nanopartikülünün MİK değerleri *S. cerevisiae* ve *E. coli* için 0-1 mg/mL iken, *S. aureus* bakterisi için 5-10 mg/mL'dir. HSS-PVtri ve e-SiO_2-PVTri nanopartiküllerinin MİK değerleri, aynı maya ve bakteri suşları için farklı değerler göstermiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3. 2 Maya suşu olarak *S. cerevisiae*, gram-negatif bakteri olarak *E. coli* ve gram-pozitifbakteri olarak *S. aureus* için MİK değerleri (mg/mL)

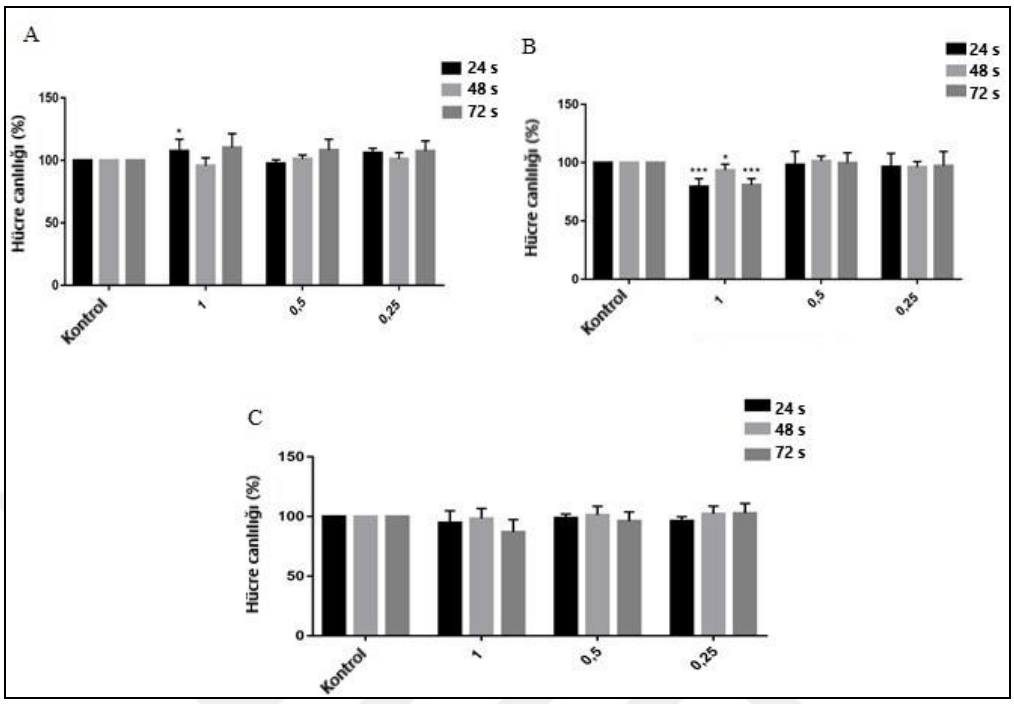
Nanobiyomalzemeler	***S. cerevisiae***	***E. coli***	***S. aureus***
MSN-PVTri	0-1	0-1	5-10
HSS-PVTri	>10	5-10	>10
e-SiO_2-PVTri	>10	1-5	>10

Her üç nanopartikülde de gram-negatif bakterilere karşı gram-pozitif bakterilere ve maya suşlarına göre daha etkilidir. MSN-PVTri, daha yüksek antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle daha küçük MİK değerlerine (*S. cerevisiae* ve *E. Coli* için 0-1 mg/mL ve *S. aureus* için 5-10 mg/mL) sahip olduğu görülmüştür. MSN nanopartikülünün, HSS ve e-SiO_2'ye kıyasla daha geniş gözenekli yüzey alanı sayesinde yüzeye daha fazla 1-Vinil-1,2,4-triazol monomeri bağlanması ile daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. HSS ve e-SiO_2 nanopartikülleri *S. cerevisiae* ve *S. aureus* hücreleri üzerinde benzer etkilere sahiptir (MİK: >10 mg/mL). e-SiO_2, *E. coli* hücrelerinde HSS nanopartiküllerine kıyasla daha etkilidir. e-SiO_2 nanopartikülü, HSS nanopartikülüne kıyasla epoksi halkası nedeniyle yüzeyinde daha fazla 1-Vinil-1,2,4-triazol monomer bağlayıcılığa sahiptir. Bu nedenle gram- negatif bakteriler üzerinde HSS nanopartiküllerinden daha etkili olduğu Tablo 3.2'de açıkça görülmektedir.

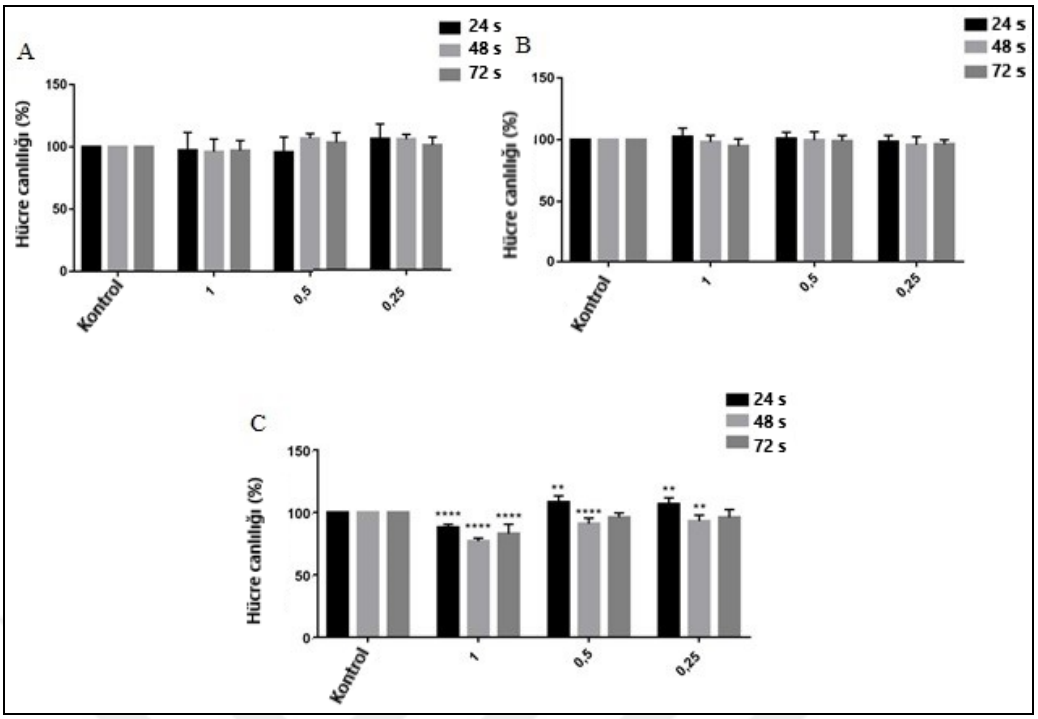
3.1.1.6 Silika Nanobiyomalzemelerin HaCaT Keratinositleri Üzerindeki Etkisi

Çeşitli silika nanobiyomalzemelerin HaCaT hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri belirlenmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. HaCat hücreleri 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca 1-0,25 mg arasında değişen farklı konsantrasyonlarda e-SiO_2,

HSS, PVTri, e-SiO_2-PVTri, HSS-PVTri ve MSN-PVTri ile muamele edilmiştir (Şekil 3.6 ve 3.7).



Şekil 3. 6 HaCaT keratinosit hücre hattı üzerinde hücre proliferasyon deneyi. (A) PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), (B) e-SiO_2'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), ve (C) HSS'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) HaCaT hücrelerine 24, 48 ve 72. saatlerde MTS testi kullanılarak uygulanmış ve absorbans bir mikroplaka okuyucu kullanılarak 490 nm'de ölçülmüştür. Veriler üç kez tekrarlanan deneylerin ortalamasını ± SD göstermektedir (***P ≤ 0.001, *P ≤ 0.05)



Şekil 3. 7 HaCaT keratinosit hücre hattı üzerinde hücre proliferasyon deneyi. (A) e-SiO_2-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg), (B) HSS-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) ve (C) MSN-PVTri'nin farklı konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) HaCaT hücrelerine 24, 48 ve 72. saatlerde MTS testi kullanılarak uygulanmış ve absorbans bir mikroplaka okuyucu kullanılarak 490 nm'de ölçülmüştür. Veriler üç kez tekrarlanan deneylerin ortalamasını ± SD göstermektedir (****P ≤ 0.0001, **P ≤ 0.01).

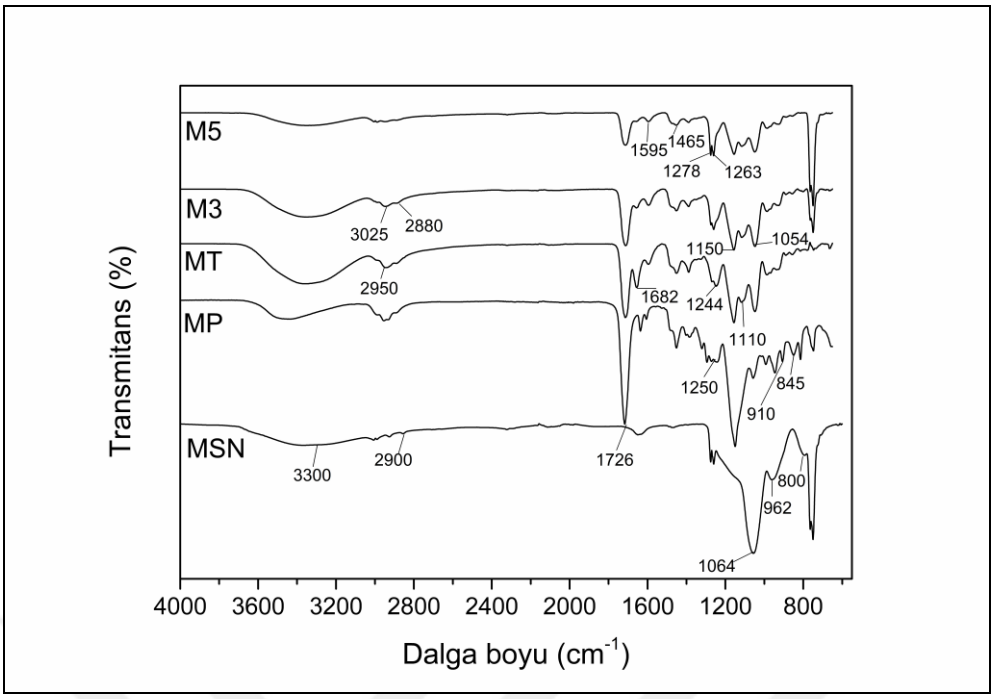
Bu çalışmada, PVTri'nin tüm konsantrasyonlarının HaCaT hücreleri üzerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca tek başına uygulandığında hücre proliferasyonunu artırdığı görülmüştür. 1 mg e-SiO_2 konsantrasyonu HaCaT hücrelerinde 24 saat ve 72 saat boyunca hücre proliferasyonunu önemli ölçüde azaltırken, e-SiO_2-PVTri'nin tüm konsantrasyonları (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) HaCaT hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca hücre proliferasyonunu artırmıştır. HaCaT hücreleri HSS nanopartiküllerinin çeşitli konsantrasyonlarında (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) muamele edilmiştir. Sonuçlarda, 1 mg HSS-PVTri nanobiyomalzeme konsantrasyonunun, 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca HaCaT hücreleri üzerinde HSS (1 mg) nanoparçacık eklendiğinde daha fazla hücre proliferasyonunu arttırdığını göstermiştir. HaCaT hücreleri ayrıca 24 saat, 48 saat ve 72 saat boyunca MSN-PVTri (1 mg, 0,5 mg ve 0,25 mg) nanobiyomalzemeleri ile muamele edilmiştir. Bu sonuçlara göre, diğer iki nanobiyomalzemenin aksine, MSN-PVTri muamelesinin tüm konsantrasyonları HaCaT hücreleri üzerinde hücre büyümesini

önemli ölçüde azaltmıştır. Bu çalışma, PVTri içeren tüm nanobiyomalzemelerin, MSN nanopartikülü hariç, HaCaT keratinosit hücreleri üzerinde hücre çoğalmasını arttırdığını göstermiştir.

3.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

3.1.2.1 FTIR Analizi

Şekil 3.8'de MSN, MP, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemelerinin kızılötesi spektrumları gösterilmektedir. 3300, 2900, 1064, 962 ve 800 cm^{-1}'deki bantlar gözenekli silika nanopartiküllerine ait olduğu literatür ile kıyaslandığında dıoğrulanmıştır (Hasany et al., 2019). Şekil 3.8, MP'nin FTIR spektrumunda 1726 cm'de karbonil gruplarına bağlı bir absorpsiyon piki, 1250, 910 ve 845 cm^{-1}'de ise epoksi halkasından kaynaklanan pikleri göstermektedir. Bununla birlikte, MP'nin FTIR spektrumda 845 ve 910 cm^{-1}'deki bantların neredeyse kaybolduğunu ortaya koymuştur (Han et al., 2021). NH ve NH_2 gruplarının ortaya çıkışı ile 2950 ve 1244 cm^{-1}'de yeni bantlar oluşmuştur. Ayrıca, MP nanobiyomalzemesinin yüzeyindeki epoksi halkaları azol gruplarının bağlanması ile açılmış ve 910 cm^{-1} civarındaki bant kaybolmuştur (Zaoui, Hachemaoui, et al., 2023). MP yüzeyine 3-Amino-1,2,4-triazol moleküllerinin eklenmesi 3025, 2880, 1150 ve 1054 cm^{-1}'de karakteristik pikler oluşmasına neden olmuştur. Amid bağı ve C=N, halka titreşimleri nedeniyle, triazol birimleri sırasıyla 1445, 1550 ve 1682 cm^{-1}'de birkaç orta ve güçlü pik göstermiştir. Alifatik C-H gerilmesi, 1380-1470 cm^{-1} ve 2800-3000 cm^{-1} bölgelerinde gözlenmiştir. Amid bağı ve tetrazol halkası titreşimleri nedeniyle, M5 sırasıyla 1595, 1465, 1278 ve 1263 cm^{-1}'de orta ve şiddetli pikler göstermiştir (Yek et al., 2020). Sonuç olarak, tüm nanobiyomalzemelerin sentezinin doğruluğu FTIR analizi ile teyit edilmiştir.

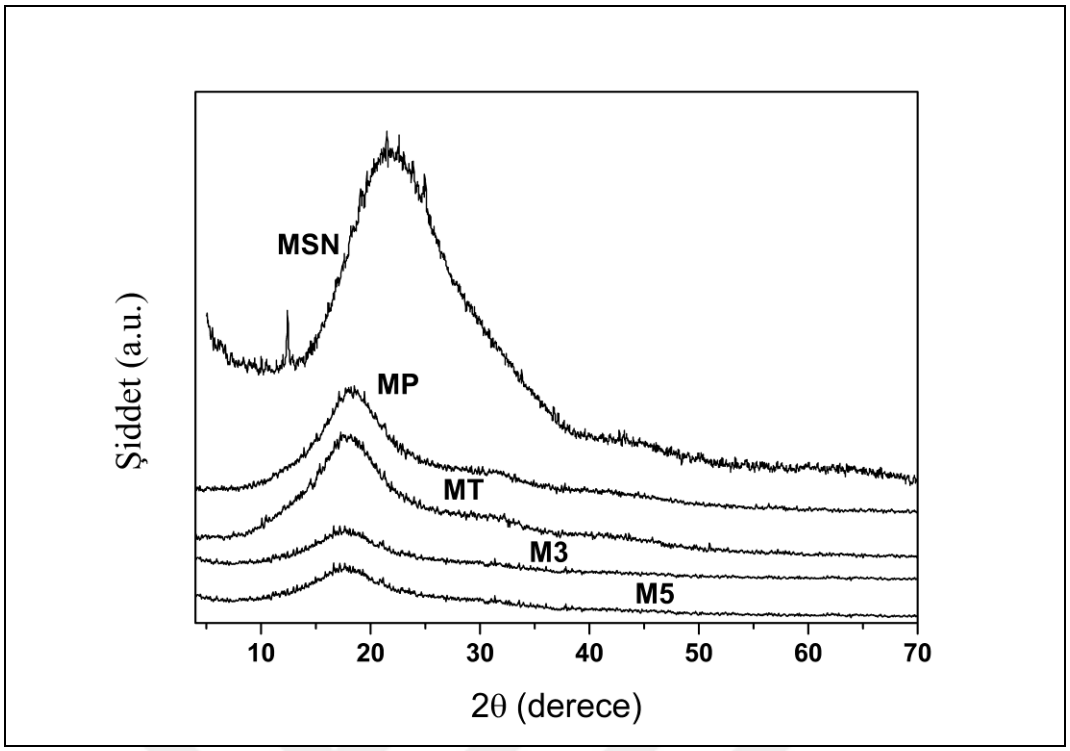


Şekil 3. 8 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in FTIR grafiği

3.1.2.2 XRD Analizi

X-ışını difraktometresi ile MP, MT, M3 ve M5 ile MSN'nin faz incelemesi yapılmıştır (Bruker D-8 Advance). 2Θ ile 0'dan 70'e kadar olan XRD desenleri kristal olmayan faz yapısını temsil etmektedir (Şekil 3.9). MSN nanoparçacık pikleri 22°'de 2θ civarında; amorf formda ortaya çıkmaktadır (Gounani et al., 2019). Yüzey modifikasyonu ile 22°'de yoğunluğun azalması, fonksiyonelleşmenin gerçekleştiğini kanıtlamaktadır.

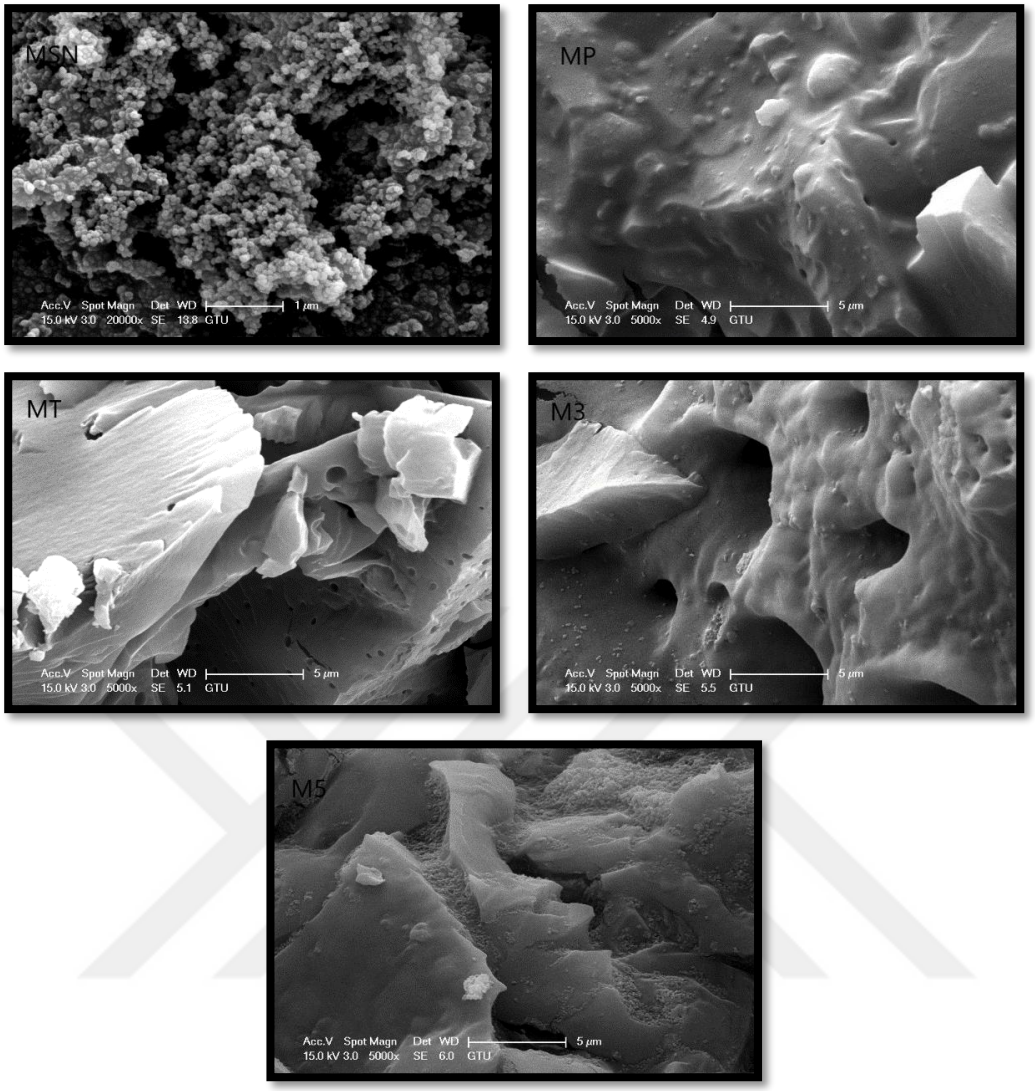
MSN'nin modifikasyonundan sonra, numunelerin kristal olmayan faz yapısı orijinal numuneye kıyasla kayda değer bir farklılık göstermemektedir. Amino fonksiyonel nanobiyomalzemelere sahip MP'nin XRD desenleri aynı kırınım piklerini göstermektedir, ancak daha düşük yoğunluktadır, bu sonuçlar literatür ile uyumludur (Zaoui et al., 2021). Bu yoğunluk azalması, MP yüzeyinin azol içeren yapılar tarafından geri kazanılmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 3. 9 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in XRD grafiği

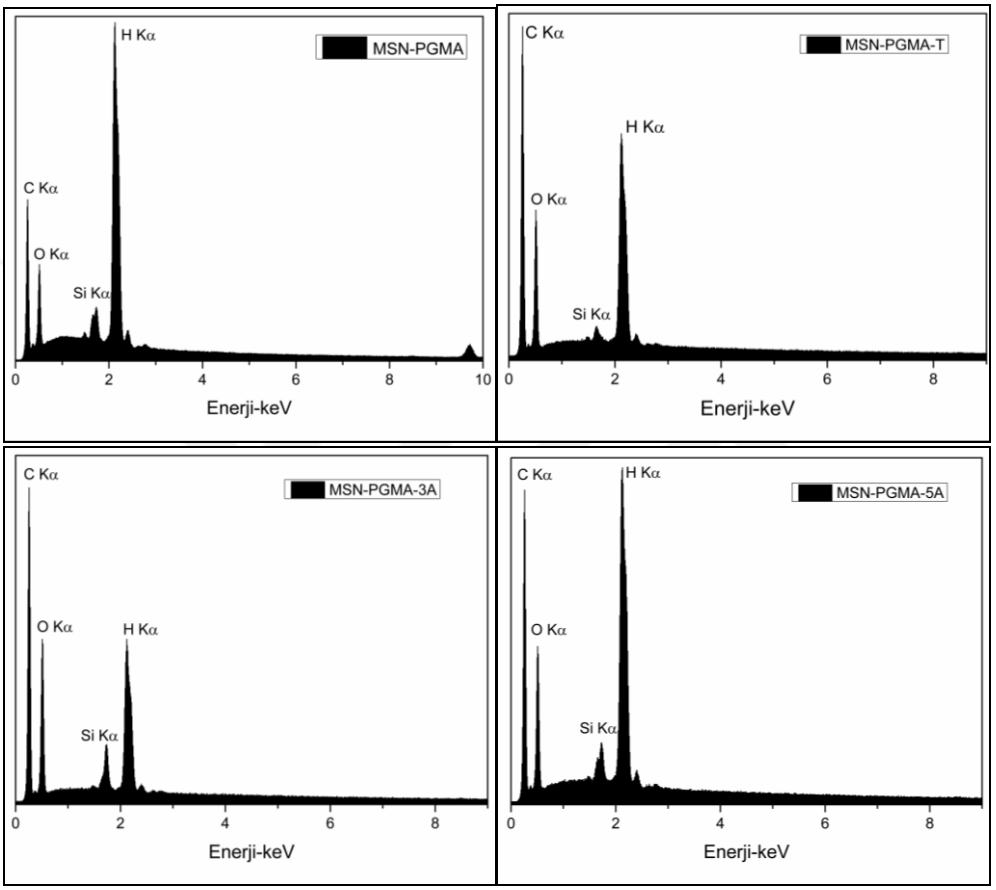
3.1.2.3 SEM-EDS Analizi

MSN, MP, MT, M3 ve M5'in morfolojik özellikleri SEM kullanılarak incelenmiştir. MSN nanopartiküllerinin SEM görüntüleri homojen küresel partikülleri göstermektedir. Şekil 3.10'da yüzeyin GMA monomerleri ile fonksiyonel hale geldiği görülmektedir. SEM görüntüleri, azol içerikli organik yapıların MP yüzeyinde yer alan epoksi halkalarına bağlandığını kanıtlamıştır. PGMA, önceki çalışmalara benzer şekilde yapışkan bir malzeme görümündedir (Cherifi et al., 2018; Zaoui et al., 2021). MP ile hazırlanan nanobiyomalzemeler, ana malzemelerine kıyasla farklı morfolojiler göstermektedir.



Şekil 3. 10 MSN, MP, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemelerinin SEM görüntüleri

EDS analizi MP'nin silisyum (kütlece %5,03), karbon (kütlece %47,82) ve oksijen (kütlece %37,18) gibi diğer elementler de tespit edilmiştir. MP yüzeyinde modifiye edilen azol içerikli organik yapıların EDS sonuçları incelendiğinde C, N, O ve Si elementlerinin oranlarının birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Sentezlenen nanobiyomalzemelerin azol içerikleri kütlece MT (%5,21), M3 (%6,06) ve M5 (%6,09) şeklindedir (Şekil 3.11).

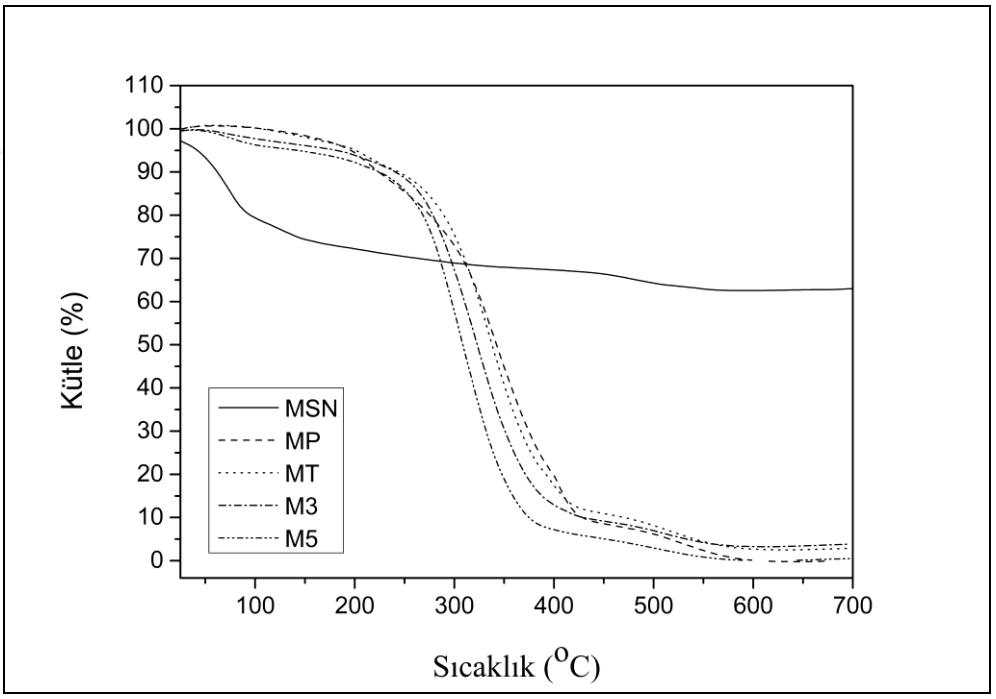


Şekil 3. 11 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in EDS grafiği

3.1.2.4 TGA Analizi

MSN, MP, MT, M3 ve M5'in termal kararlılığı TGA ile incelenmiştir. Şekil 3.12'de MSN nanopartikülünün 700°C'nin üzerindeki sıcaklıklara kadar kararlılığını koruduğu görülmektedir. Kalıntıda kalan termal olarak kararlı bileşikler (polimer bağlı silika) ağırlık kaybına katkıda bulunan bozunabilir polimer yapılarıdır. Yüzeyin polimer ile modifiye edilmesinden sonra termal kararlılık azalmış ve Poli(glisidil metakrilat) polimeri 283-418°C aralığında bozunmuştur (Zaoui et al., 2021). Azol gruplarına sahip yüzeye bağlı nanobiyomalzemeleri kendi aralarında değerlendirdiğimizde birbirine çok

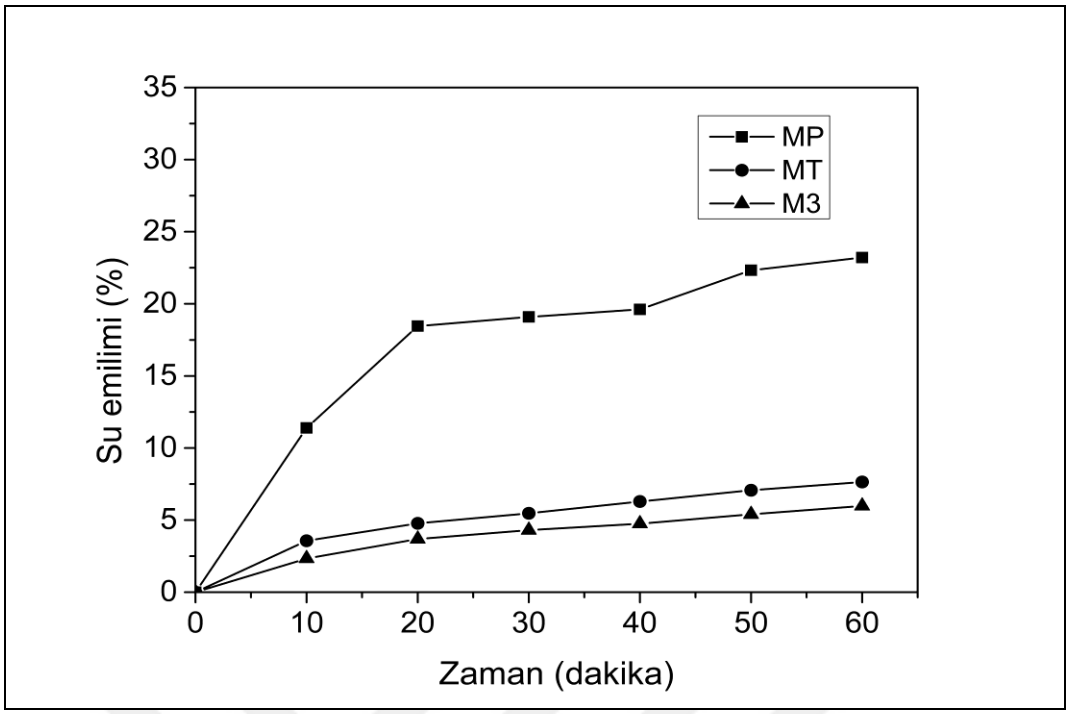
yakın değerler olduğu ve MT'nin (204°C) yapısının termal kararlılığının en yüksek olduğu görülmüştür. 200 ve 332°C arasında, MT'nin yaklaşık %40' ı triazol biriminin bozunması nedeniyle ayrışır ve 332°C'den sonra, polimer omurgasının ayrışmasının bir sonucu olarak ikinci bir ağırlık kaybı bölgesi oluşturmaktadır. TGA okumaları, MP nanobiyomalzemesini işlevselleştirmek için kullanılan azol kimyasallarından önemli ölçüde etkilenmemiştir. Nanobiyomalzemelerin mükemmel ısıl kararlılığı biyomedikal uygulamalarda kullanımlarını mümkün kılmaktadır.



Şekil 3. 12 MSN, MP, MT, M3 ve M5'in TGA grafiği

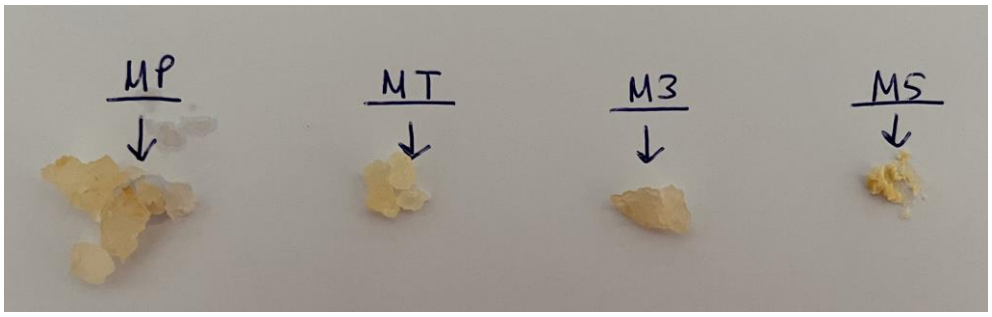
3.1.2.5 Su Emili ve Kimyasal Stabilite

Nanobiyomalzemelerin su emilimi, mekanik özelliklerini ve stabilitelerini etkileyen önemli bir parametredir. Nanobiyomalzemelerin su emilimi yüzdeleri Şekil 3.13'de gösterilmiştir. MT nanobiyomalzemesinin emilimi %7,64 iken MP'nin %23,21'dir. M3, %5,98 su emilimi ile yüzey kaplama için ideal bir nanobiyomalzemedir. M5 nanobiyomalzemesi suya yerleştirildiğinde 10. dakikanın sonunda parçalandığı için su emilimi deneyi gerçekleştirilememiştir. MT ve M3 nanobiyomalzemelerinin su emme oranı MP nanobiyomalzemesine göre azol gruplarıyla işlevselleştirilmesiyle önemli ölçüde azaltılmıştır. Bu çalışmada, fonksiyonel nanobiyomalzemelerin nemli ortamlarda şişme ve bozulma olasılığı da azaltılmıştır.



Şekil 3. 13 MP, MT ve M3 nanobiyomalzemelerin su emilimi

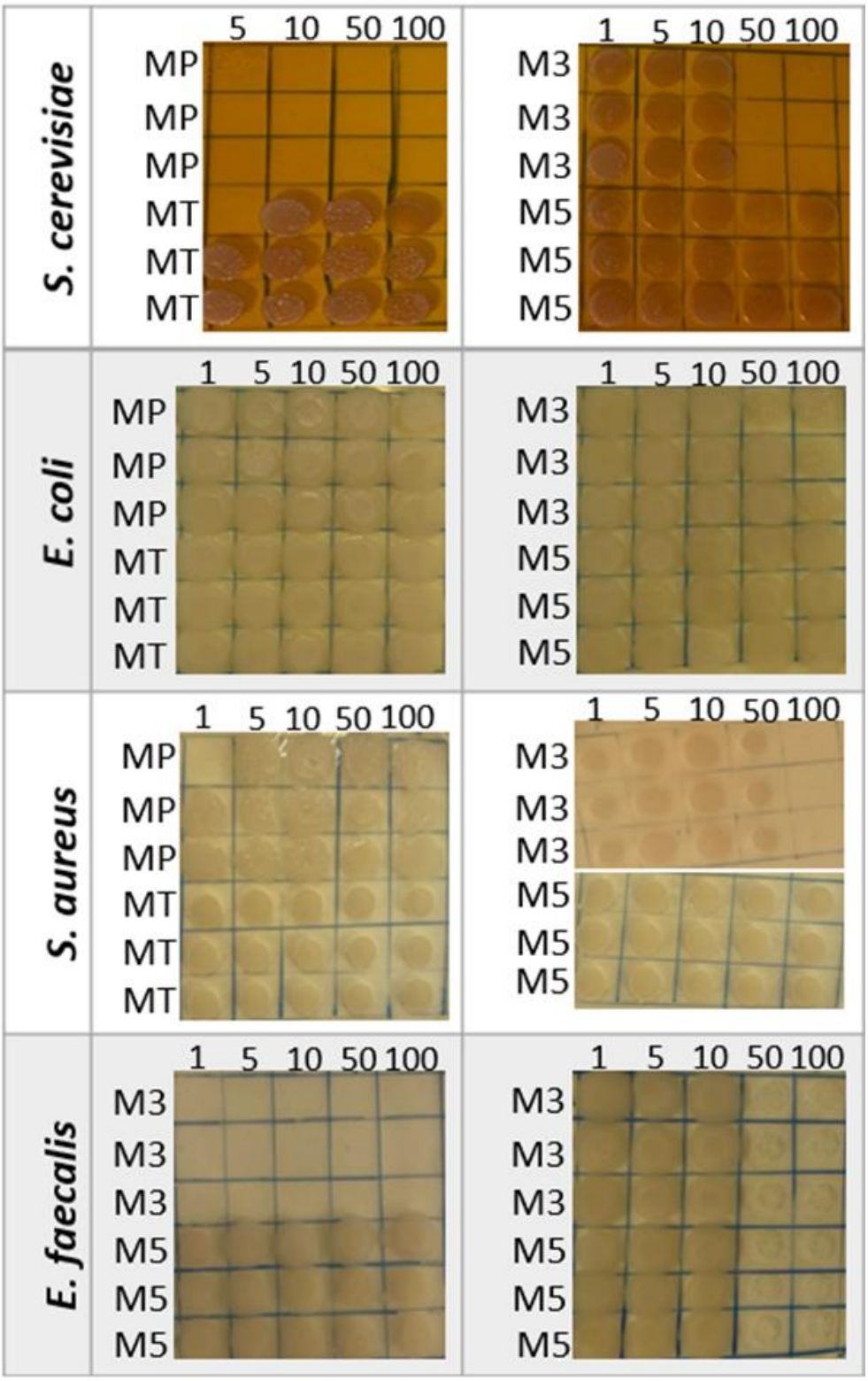
Fenton reaksiyonu ile azol fonksiyonel gözenekli silika nanobiyomalzemelerin kimyasal kararlılığını araştırılmıştır. Nanobiyomalzemelerin boyutları ve ağırlıkları aynı olacak şekilde deney üç kez tekrarlanmıştır. MP nanobiyomalzemeler, fenton reaktifi ile reaksiyona girerek malzeme boyutunda yaklaşık üç kat artışa neden olmuştur. Ancak malzemenin kimyasal yapısında herhangi bir dağılım söz konusu değildir. MT nanobiyomalzemeleri fenton reaktifi ile reaksiyonu sonrası malzeme kısmen parçalanırken, M3 nanobiyomalzemelerinde malzeme kaybıihmal edilebilir düzeydedir (<%1). M5 nanobiyomalzemeleri fenton reaktifi ile muameleden hemen sonra dağılmış ve toz formuna dönüşmüştür (Şekil 3.14). M3'ün kimyasal kararlılığı yüksektir ve yüzey kaplama malzemesi olarak kullanımının daha uygun olduğu görülmüştür.



Şekil 3. 14 MP, MT, M3 ve M5 nanobiyokompozitlerinin fenton reaktifi ile muameleden sonraki formları

3.1.2.6 Mikrobiyal Aktivite

Nanobiyomalzemelerin antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri *S. cerevisiae, E. coli, S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı MİK, MFK ve MBK ölçümleri ile test edilmiş ve değerler Tablo 1'de gösterilmiştir. Bakteri suşları için MBK sonuçları ve maya suşu için MFK sonuçları Şekil 3.15'de rapor edilmiştir. Çözünmeyen nanobiyomalzemelerin antimikrobiyal aktivitesinin çözünen standart test ilaçlarıyla doğrudan karşılaştırılmasının tam olarak bilgilendirici olmadığına inanmamıza rağmen, antifungal olarak amfoterisin B ve antibakteriyel ajan olarak ampisilin paralel olarak test edilmiş, değerleri de Tablo 3.3'de verilmiştir. MP, MİK değerlerine (0-1 mg/mL) göre *S. cerevisiae* maya hücreleri ve Gram-pozitifbakteri hücreleri, *S. aureus* ve *E. faecalis'e* karşı en yüksek aktiviteye sahiptir. Şaşırtıcı bir şekilde, *E. faecalis* üzerinde bakterisidal etkiye sahiptir (MİK değeri 0-1 mg/mL, MBK değeri 0-1 mg/mL), ancak *S. aureus*'a karşı bakteriyostatik olduğu görülmektedir (MİK değeri 0-1 mg/mL, MBK değeri >100 mg/mL). M3, *S. cerevisiae, S. aureus ve E. faecalis* için 10-50 mg/mL *ve E. coli için* 50-100 mg/mL MİK değerlerine sahip hem maya hem de bakteri hücreleri üzerinde MT ve M5'ten daha etkilidir. MT ve M5 nanobiyomalzemelerinin bu türlere karşı antimikrobiyal aktiviteleri çok düşüktür (MİK ve MBK değerlerine göre *E. faecalis'e* karşı M5 hariç, her ikisi için de 10- 50 mg/mL). MT'nin *S. aureus*'a karşı MİK ve MBK değerleri (>100 mg/mL) aynıdır, ancak MBKplakası, belirgin büyüme kusurları göstermektedir (Şekil 3.15). Tüm nanobiyomalzemeler gram-pozitif bakterilere karşı gram-negatiflere kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahipken, nanobiyomalzemelerin aktivitesi maya suşu ve gram-negatif bakteriler üzerinde benzer bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 3. 15 Maya ve bakteri suşları için 1-100 (mg/mL) arasında değişen konsantrasyonlarda nanobiyomalzemelerin MBK plakaları

Tablo 3. 3 Nanobiyomalzemelerin *S. cerevisiae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı MİK, MFK ve MBK değerleri (mg/mL)

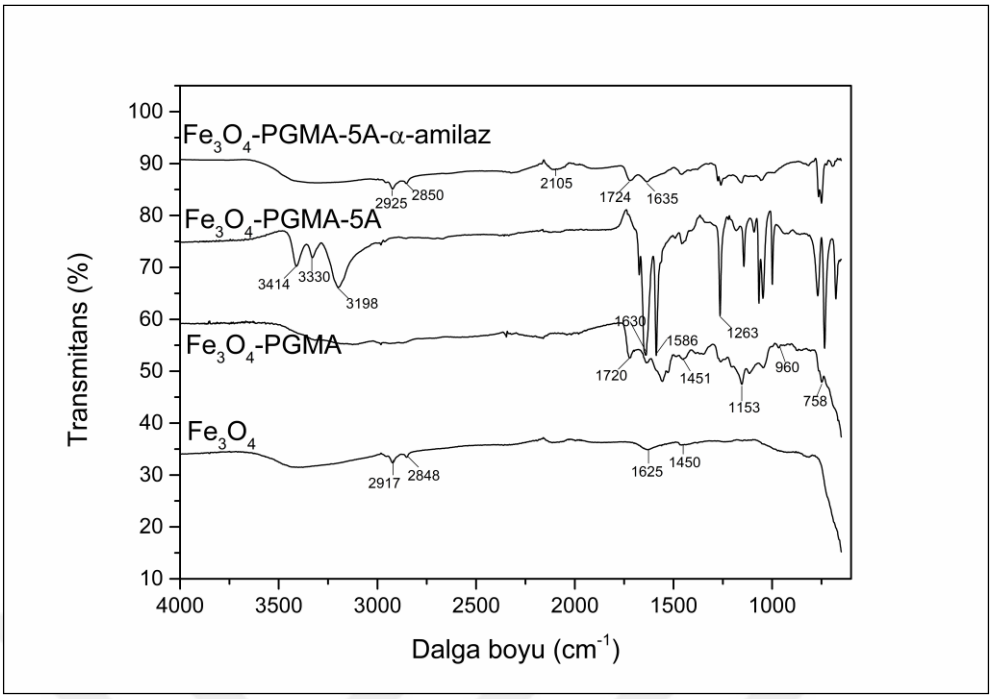
Nanobiyomalzemeler Antibiyotikler	***S. cerevisiae***		***E. coli* (gram-)**		***S. aureus* (gram+)**		***E. faecalis* (gram+)**	
(mg/mL)	MİK	MFK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
MP	0-1	0-1	>100	>100	0-1	>100	0-1	0-1
MT	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
M3	10-50	10-50	50-100	>100	10-50	50-100	10-50	10-50
M5	>100	>100	>100	>100	>100	>100	10-50	10-50
Amfoterisin B	0.1-0.2	0.1-0.2	-	-	-	-	-	-
Ampisilin	-	-	0.001-0.01	0.001-0.01	0.001-0.01	0.001-0.01	-	-

*MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyon), MFK (Minimum Fungisidal Konsantrasyon) ve MBK (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon)

3.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması

3.2.1 FTIR Analizi

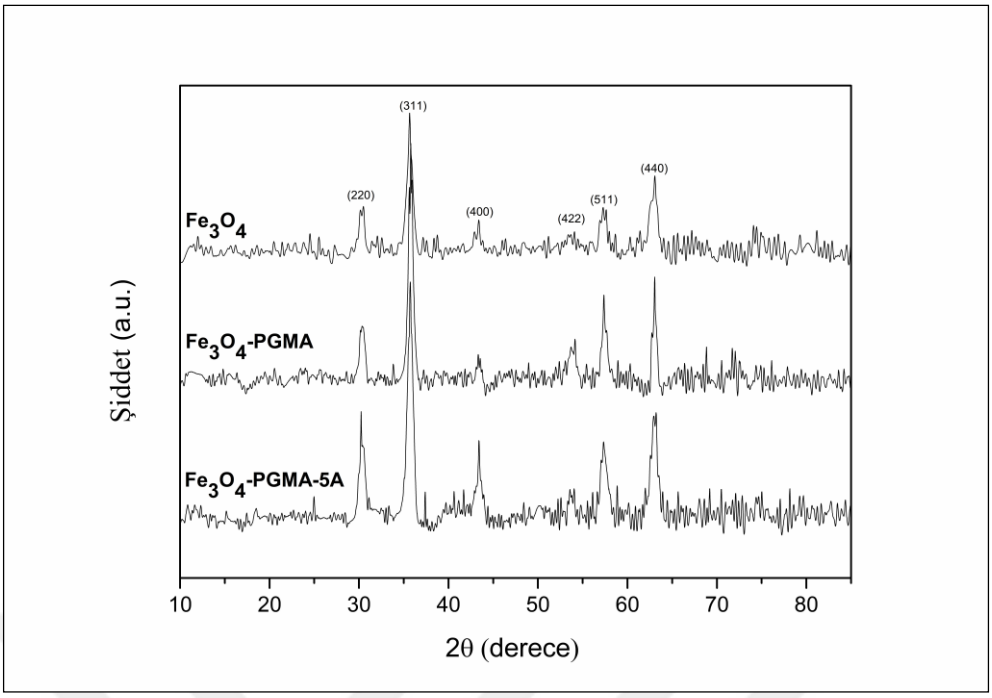
FTIR analizi grafiği Şekil 3.16'da yer almaktadır. Fe_3O_4'ün FTIR spektrumlarına göre 1200-1400 cm^{-1} bölgelerindeki karakteristik pikler Fe-O bağlarının deformasyonu ve gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Dört numunede de manyetit çekirdeklerin varlığı kanıtlanmıştır. Fe-O bağlarının germe titreşimine atfedilen bozulmamış Fe_3O_4'ün karakteristik zirvesi 1450 cm^{-1}'de ortaya çıkmıştır (Ates et al., 2018). Epoksi grubunun asimetrik C–O 960 cm^{-1}'de ve epoksi halkasının C–H bükülme titreşiminden 758 cm^{-1}'de spektrum zirvesinde iki karakteristik yoğun tepe noktası görülmektedir. Ayrıca 1730 cm^{-1}'de karbonil absorbansında bir artış gözlemlenmektedir (He et al., 2014; Oktay et al., 2015). 3414 ve 3198 cm^{-1}'deki iki spektrum bandı tepe noktası, organik bileşikler içindeki birincil amin grubunun (-NH_2) simetrik gerilme titreşimini göstermektedir. 1550, 1650 ve 3330 cm^{-1} absorpsiyon bantları, ikincil amin grubunun (–NH) düzlem içi eğilme titreşimine ve germe titreşimine atfedilmektedir (D. Zhang et al., 2019). FTIR spektrumunda, Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe3O4-PGMA-5A-α-amilaz ile karşılaştırıldığında, 1635, 1724, 2105, 2850 ve 2925 cm^{-1}'de yeni zirvelere sahip olduğundan taşıyıcı üzerine enzimin immobilizasyonu ispatlanmıştır.



Şekil 3. 16 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA, Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilazın FTIR spektrumu

3.2.2 XRD Analizi

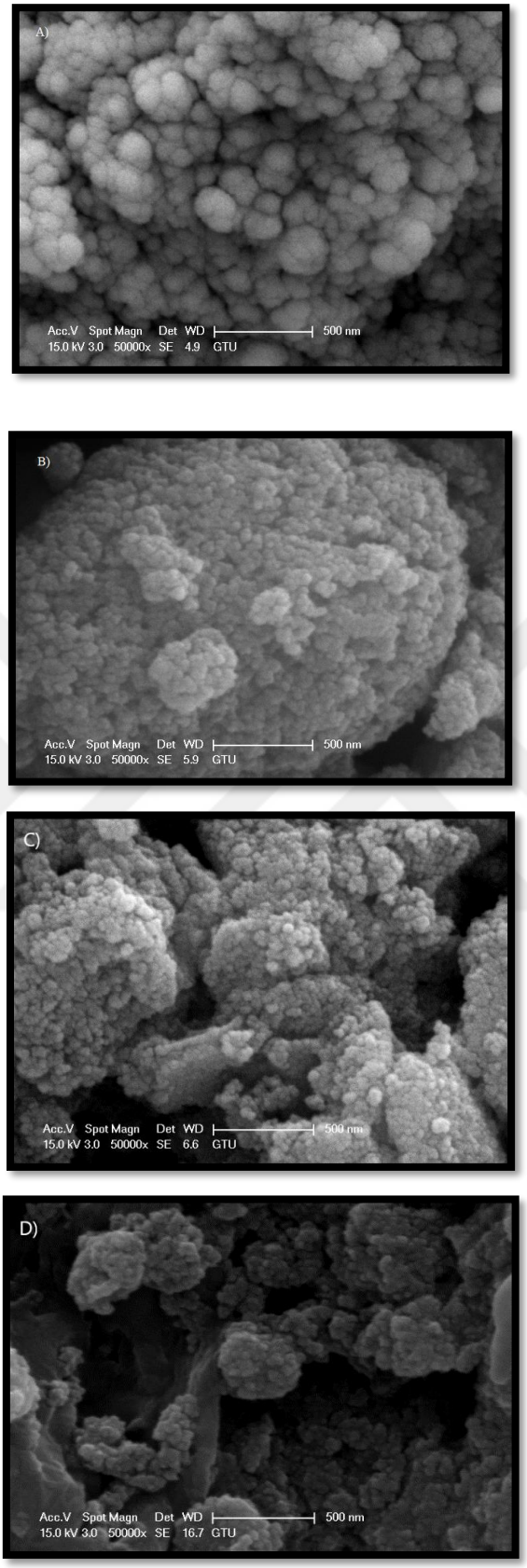
Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA, Fe_3O_4-PGMA-5A manyetik nanoparçacıklarının kristal yapısını tanımlamak için X-ışını kırınım (XRD) cihazı ile spektrumlar elde edilmiştir (Şekil 3.17). Fe_3O_4 nanoparçacıklarının 220°, 311°, 400°, 422°, 440° ve 511°'deki ayırt edici pikleri, literatür ile uyum sağlamakta ve modifikasyon sonrası kaybolmayarak malzemenin manyetik özelliğinin korunduğunu göstermektedir (H. Akhtar et al., 2022; Ulu et al., 2019).



Şekil 3. 17 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA ve Fe_3O_4-PGMA-5A nanobiyomalzemelerinin XRD spektrumları

3.2.3 SEM Analizi

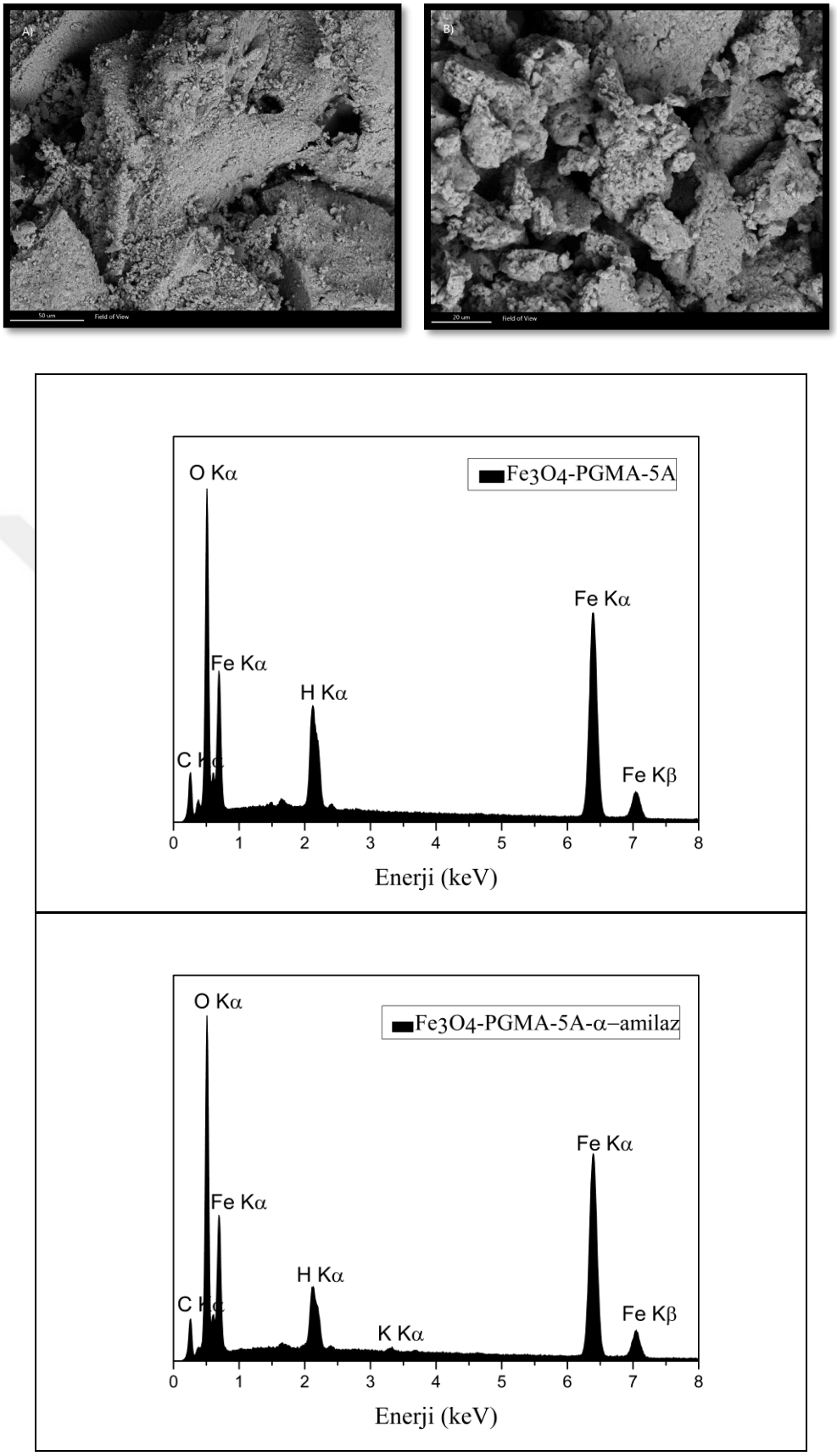
Morfoloji değişimini değerlendirmek için tüm nanoparçacıkların yüzeylerinin SEM mikrografları alınmıştır (Şekil 3.18). Elde edilen görsellerden küresel partiküllerin boyut çapı, polimerizasyondan sonra arttığı görülmektedir. Şekil 3(D), α-amilaz immobilize nanopartiküllerin SEM mikrografını göstermektedir. Nanoparçacık morfolojisi, enzime bağlı olmayan Fe_3O_4-PGMA-5A ile karşılaştırıldığında farklıdır. Açıkça görüldüğü gibi, a-amilaz enzimi nanoparçacık yüzeyine kovalent olarak bağlanmıştır.



Şekil 3. 18 A) Fe_3O_4, B) Fe_3O_4-PGMA, C) Fe_3O_4-PGMA-5A ve D) Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilazın SEM görüntüleri

3.2.4 EDS Analizi

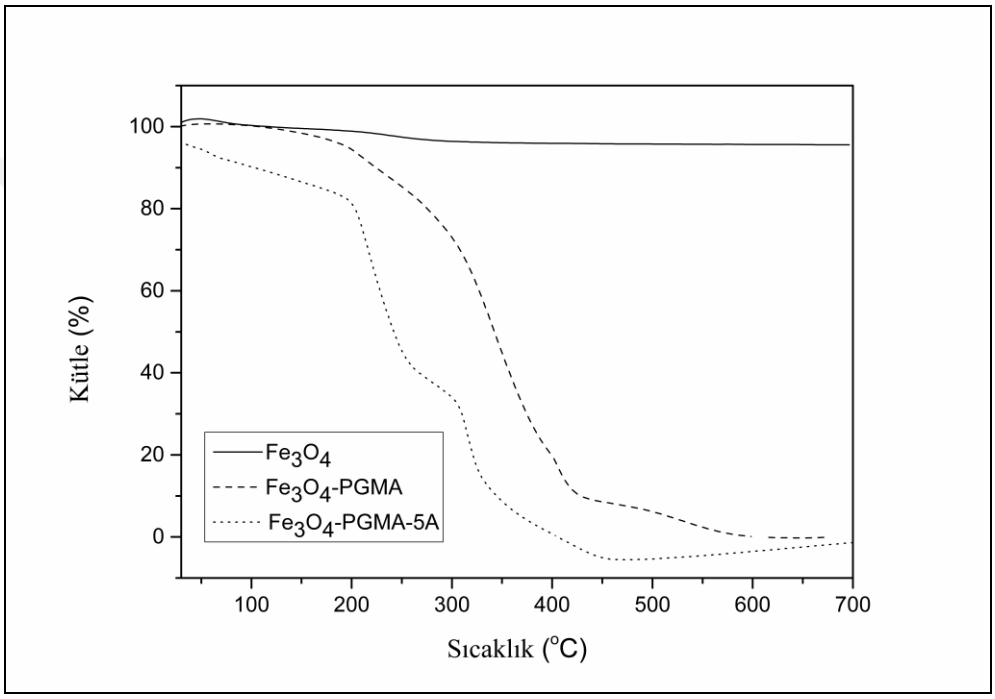
Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilazın EDS analizi Şekil 3.19'da gösterilmektedir. α-amilaz enziminin nanobiyomalzemenin yüzeyine immobilizasyonu ile yapısının değiştiği EDS görüntüleri ve spektrumlarından açıkça görülmektedir. Fe_3O_4-PGMA-5A ve Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilazın atom ağırlıkları sırasıyla C:N:O:Fe 15,16:3,3:19,47:62,08, C:N:O:Fe:K 12,61:2,02:16,31:67,89:1,18 olarak bulunmuştur. K (potasyum) atomunun piki, amilaz enziminin immobilizasyonu ile oluşmuştur.



Şekil 3. 19 A) Fe_3O_4-PGMA-5A, B) Fe_3O_4-PGMA-5A-α-amilazın EDS görüntüleri ve spektrumları

3.2.5 Termogravimetrik Analiz

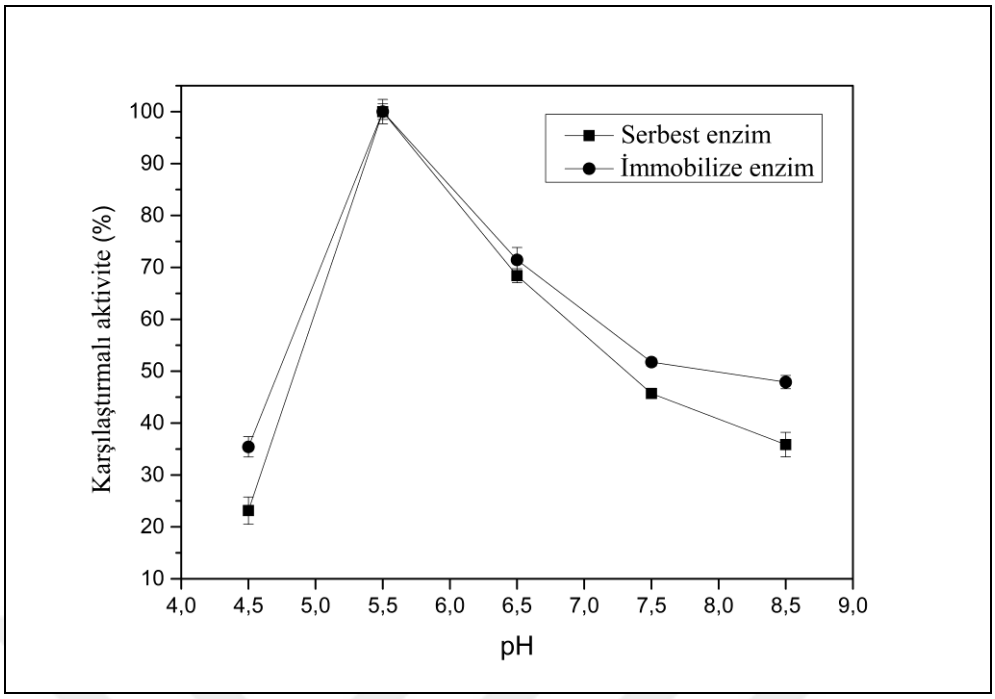
Nanobiyomalzemeler için uygulanan bir diğer analiz yöntemi de termogravimetrik analizdir. Sıcaklık artışı ile nanoparçacıkların ağırlık kaybı değişimi Şekil 3.20'de gösterilmektedir. Manyetik nanoparçacıkların yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, PGMA modifikasyonu ile %90 ağırlık kaybı, 130°C'den 425°C'ye sıcaklık artışı gözlemlenmiştir. Fe_3O_4-PGMA-5A nanoparçacıklarının ilk ağırlık kaybı 180 ile 298°C arasında (%53), ikinci ağırlık kaybı 298-437°C arasında (%15), üçüncü ağırlık kaybı 437 ile 513°C arasında (%28) oluşmuştur.



Şekil 3. 20 Fe_3O_4, Fe_3O_4-PGMA ve Fe_3O_4-PGMA-5A nanobiyomalzemelerinin TGA grafiği

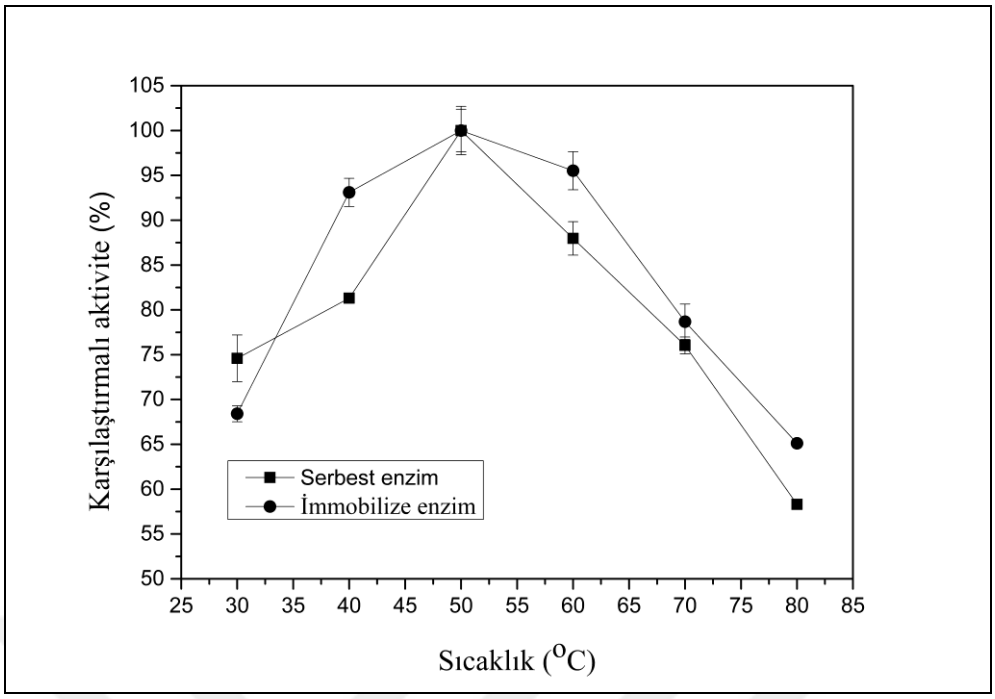
3.2.6 pH ve Sıcaklığın Serbest ve İmmobilize Enzim Üzerindeki Etkisi

Enzim aktivitelerinde varyasyonları içeren en önemli faktörlerden biri pH'dır. Şekil 3.21'de sunulan sonuçlar, pH'ın 4,5-8,5 aralığında hem serbest hem de immobilize α-amilaz üzerindeki etkisini göstermektedir. Serbest ve immobilize enzimlerin maksimum aktiviteleri pH 5,5'te bulunmuştur. İmmobilize bir enzim optimum pH'ı çoğunlukla değiştirebilmektedir; ancak sentezlediğimiz malzeme immobilizasyonu sonrası optimum pH'da değişikliğe yol açmamıştır (Singh et al., 2017). α-amilaz enziminin Fe_3O_4-PGMA-5A taşıyıcısına immobilizasyonu sonrası pH ile ilgili çalışmalar mevcut değildir, bu nedenle sonuçlarımızı diğer kaynaklardan elde edilen verilerle karşılaştırmak mümkün değildir.



Şekil 3. 21 pH faktörünün serbest ve immobilize enzime etkisi

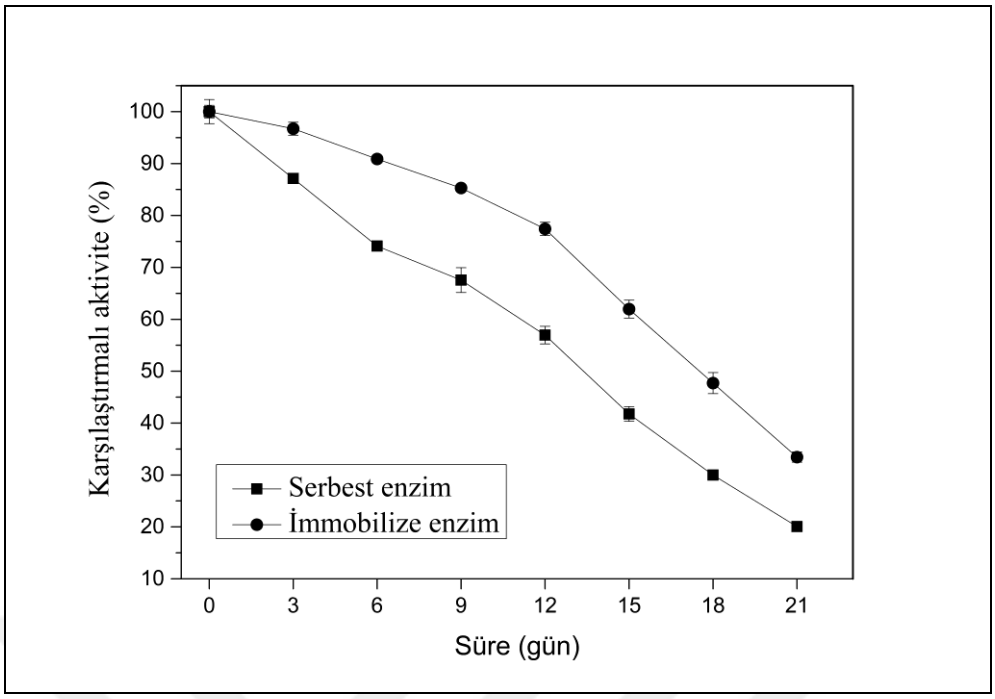
Enzimler ısıya duyarlı moleküller olduğundan optimum aktivite sıcaklığından daha düşük sıcaklıklarda inaktif kalırken, daha yüksek sıcaklıklarda denatüre olmaktadır. Hem serbest hem de immobilize α-amilazın aktiviteleri çeşitli sıcaklıklarda (30-80 °C) değerlendirilmiştir. Deney sonuçlarında serbest ve immobilize enzimlerin optimum aktivite sıcaklığının 50°C olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.22, 50°C'den yüksek sıcaklıklarda immobilize enzimin serbest enzimden daha kararlı olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni enzimin taşıyıcı yüzeye kovalent bağlanması ve aktif bölgesinin artan sıcaklıklara karşı korunması olduğu düşünülmektedir. Amilaz enziminin immobilizasyonu ile ısı direncinin arttığını ve protein moleküllerini termal deaktivasyondan koruduğunu göstermektedir (Hosseini et al., 2021; K. Wang et al., 2021).



Şekil 3. 22 Sıcaklık faktörünün serbest ve immobilize enzime etkisi

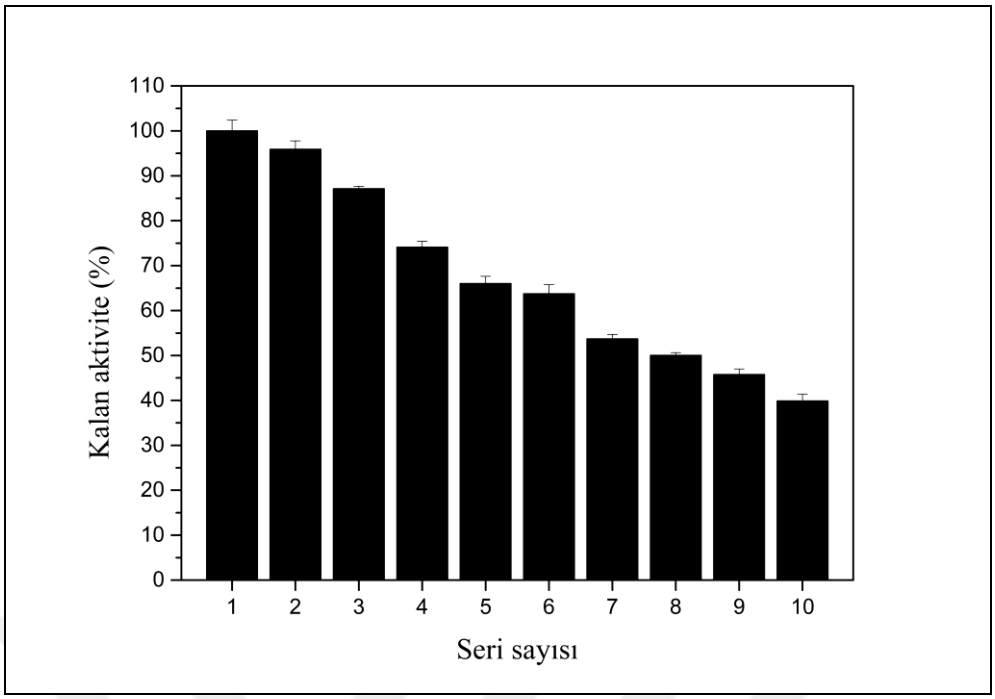
3.2.7 Depolama Kararlılığı ve Yeniden Kullanılabilirlik

Enzimlerin stabilitesi ve tekrar kullanılabilirliği immobilizasyon ile artmaktadır. Enzimlerin çevresel koşullara duyarlılığı çok yüksek olduğu için zamanla aktivitelerini kolayca kaybettiğinden immobilizasyonu ile bu aktivite kayıplarının azaltılması hedeflenmektedir (Leila et al., 2015). Serbest ve immobilize enzimlerin depolama kararlılığı, 4°C'de 0,1 M sodyum asetat tamponu (pH 5,5) içinde saklanarak 21 gün boyunca üç günde bir ölçüm alınmıştır. İmmobilize enzim 21 gün sonra başlangıç aktivitesinin %33,45'ini korurken, serbest enzim %20,06'sını korumuştur (Şekil 3.23). Bu çalışmanın sonucu, enzim aktivitesini daha uzun süre sürdürmek için nanotaşıyıcıların varlığının önemini kanıtlamıştır. Elde edilen sonuçlar, enzimin immobilizasyon işlemi ile daha kararlı bir yapıya kavuştuğunu göstermiştir.



Şekil 3. 23 Serbest ve immobilize enzimin saklama süresi

Çözeltiden serbest bir enzimi ayırıp tek kullanımdan sonra tekrar kullanmak mümkün değildir. Enzimlerin büyük ölçekli endüstriyel uygulamalarda tekrar tekrar kullanılmaması, daha yüksek üretim maliyetlerine yol açmaktadır (Papadopoulou et al., 2019). Fe_3O_4-PGMA-5A taşıyıcılarının sistemden güçlü bir dış mıknatıs ile kolay ayrılması, geri kazanılması ve yeniden kullanılabilir olması avantajı da yüksek üretim maliyetlerini azaltmasının yanı sıra enerji tüketimini azaltmasına da sağlayacaktır. Tasarladığımız Fe3O4-PGMA-5A-α-amilaz ile yaptığımız 10 tekrarlı aktivite ölçüm sonuçları, enzimin hala %39'un üzerinde bir aktivite gösterdiği görülmüştür (Şekil 3.24). Sonuçlar, immobilize amilaz enziminin dört döngüden sonra başlangıç aktivitesinin %70'inden fazlasını koruduğunu göstermiştir. Biyokatalitik aktivitedeki bu azalma, tekrarlanan kullanımdan sonra enzimin denatürasyonuna bağlı olabilmektedir (Khanpanuek et al., 2022).



Şekil 3. 24 İmmobilize α-amilaz enziminin tekrar kullanılabilirliği

3.3 Nanobiyomalzemelerin diş kompoziti uygulamaları

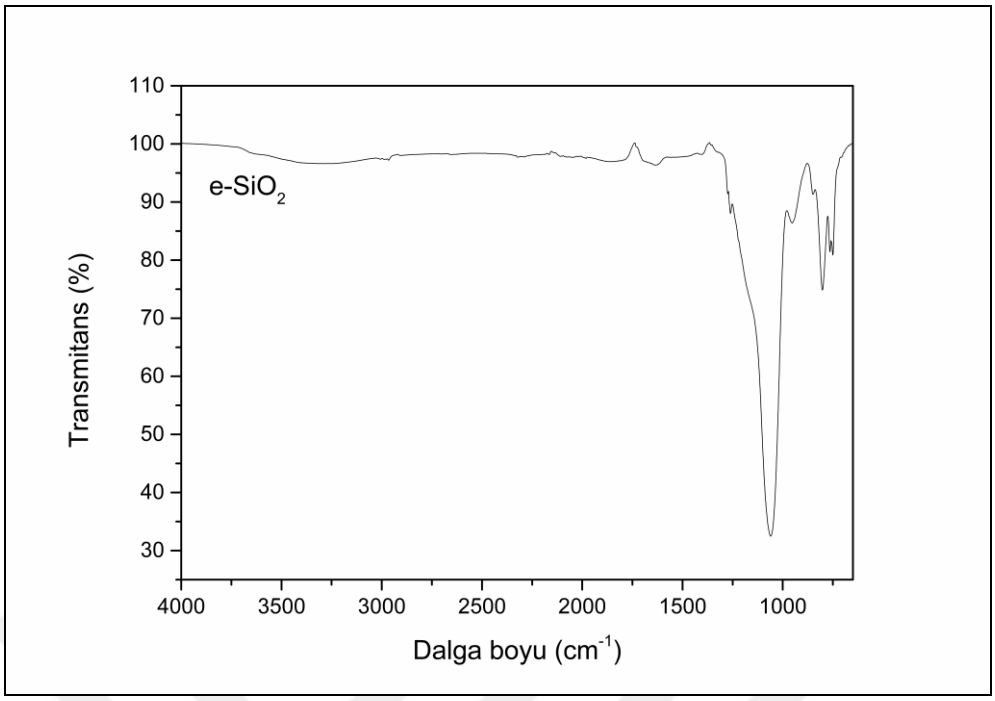
3.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

3.3.1.1 FTIR Analizi

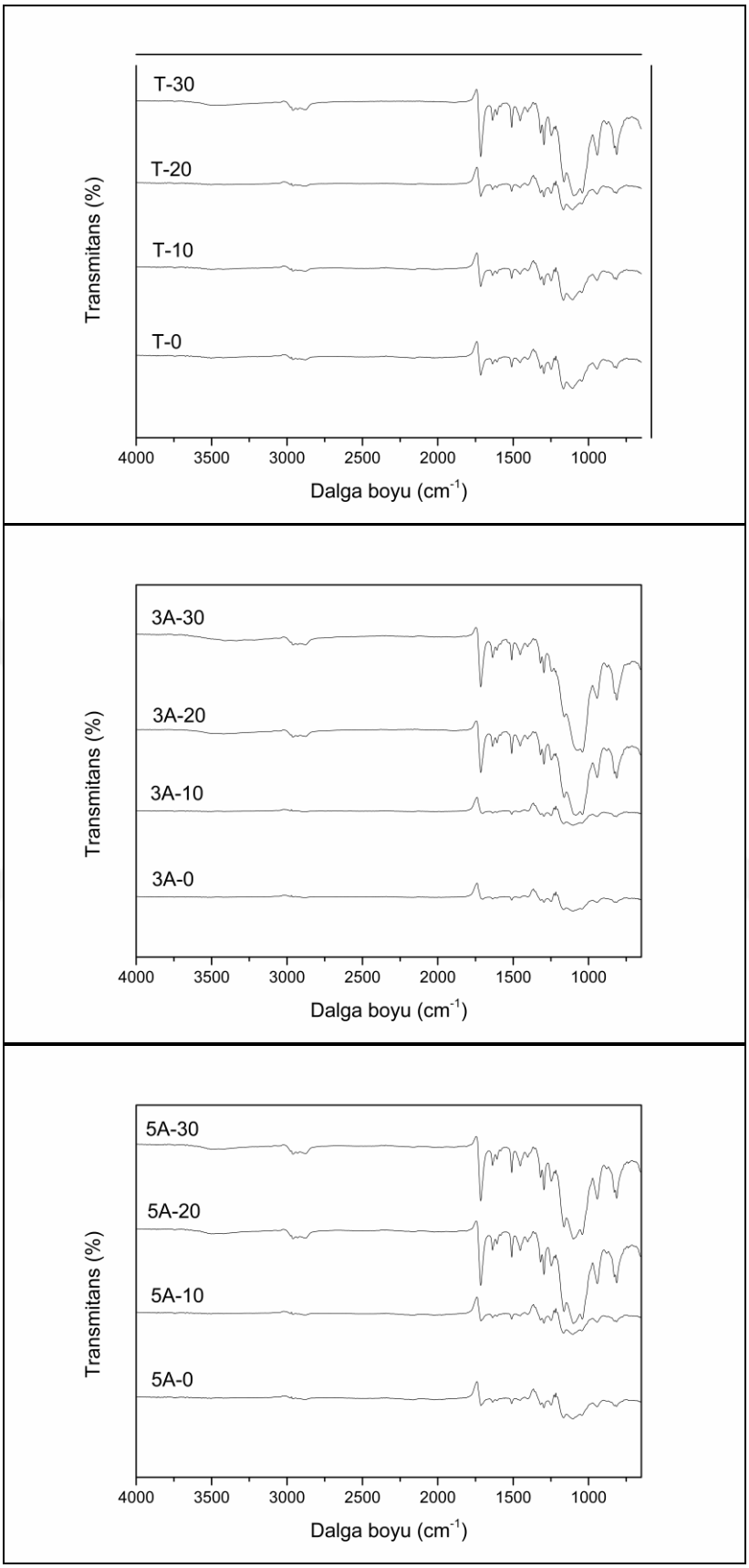
Epoksi silika nanopartikülünün FTIR grafiği incelendiğinde, SiO_2 nanopartikülüne özgü 1080 ve 786 cm^{-1}'de Si-O-Si bağının karakteristik asimetrik esneme, simetrik esneme ve eğilme titreşimleri görülmektedir (Şekil 3.25). Ayrıca, silis yüzeyinde bulunan aktif OH gruplarının gerilme ve bükülme titreşimlerine atanan 3383 ve 1604 cm^{-1}'de absorpsiyon zirveleri görülmektedir. Yüzey silanol gerilmesinden (ν (Si-OH)) kaynaklanan titreşim 943 cm^{-1}'de pik vermektedir (Farjadian et al., 2019). Silika parçacıkları epiklorohidrin ile muamele edildiğinde, epoksi gruplarının hidrojen bağı aracılığıyla nano boyuttaki silika ile etkileşime girmesi beklenmektedir. Literatür verileri ile Şekil 3.25 karşılaştırıldığında, epoksi gruplarının hidrojen bağı aracılığıyla silika nanopartikülleri ile etkileşime girerek, –OH grubunun konsantrasyonunun azaldığını göstermektedir (Aminoroaya et al., 2022b).

Dental kompozitlerin Şekil 3.26'da FTIR grafiği incelendiğinde, 2963 ile 2850 cm^{-1}'deki pikler, polimerin $-CH_3$ ve $-CH_2$ gruplarına (asimetrik ve simetrik esneme) karşılık gelmektedir. BisGMA'nın C-OH grupları nedeniyle zirvenin 3479 cm^{-1}'de ortalandığı, 3050-3038 cm^{-1}'lik küçük dorukların =C-H bağlarından kaynaklandığı görülmektedir. 1716 cm^{-1}'deki güçlü tepe noktaları tüm metakrilatların C=O grubuna bağlıyken, 1636 cm^{-1}'deki orta, dar tepe pik C=C'nin gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 1170 cm^{-1}'deki zirveler C-O bağlarına atfedilmektedir. 1610 cm^{-1}'de bir absorbans, BisGMA kompozit matrisin aromatik C=C bağlarına aittir. BisGMA absorpsiyon bantlarının düşük yoğunluğu, BisGMA ile azollü nanopartiküller ve silikon dioksitin arasındaki karışım oranına bağlı olarak değişiklik gösterdiği düşünülmektedir (B. Li et al., 2021).

1,2,4-Triazol içerikli dental kompozitin FTIR analizinde, 1,2,4-Triazol'e özgü karakteristik pikler, 3034 ve 3095 cm^{-1}'de C-H aromatik titreşimleri nedeniyle oluşmuştur. 1529 ve 1483 cm^{-1}'de -C=C (aromatik) gerilmesinden kaynaklanan titreşim zirveleri gözlemlenmiştir (Trivedi et al., 2015). 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitin FTIR analizinde 3-Amino-1,2,4-triazol'e özgü karakteristik pikler, 1700-600 cm^{-1} aralığında triazol halkasının ve dış amino grubunun karakteristik gerilme ve deformasyon titreşim bantlarından dolayı gözlemlenmiştir. 700-600 cm^{-1}'deki pik triazolün deformasyon titreşimlerinden, 1195 cm^{-1}'deki pik ekzosiklik N-N bağının gerilme titreşimlerinden ve 1632 cm^{-1}'deki pik NH_2'nin deformasyon titreşimleri nedeniyle oluşmuştur (Aslan & Bozkurt, 2014). 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitin FTIR analizinde 5-Aminotetrazol'e özgü karakteristik pikler, 1650-1500 cm^{-1} aralığındaki absorpsiyon bantları, ikincil amin grubunun (-NH) düzlem içi bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Zhou et al., 2019).



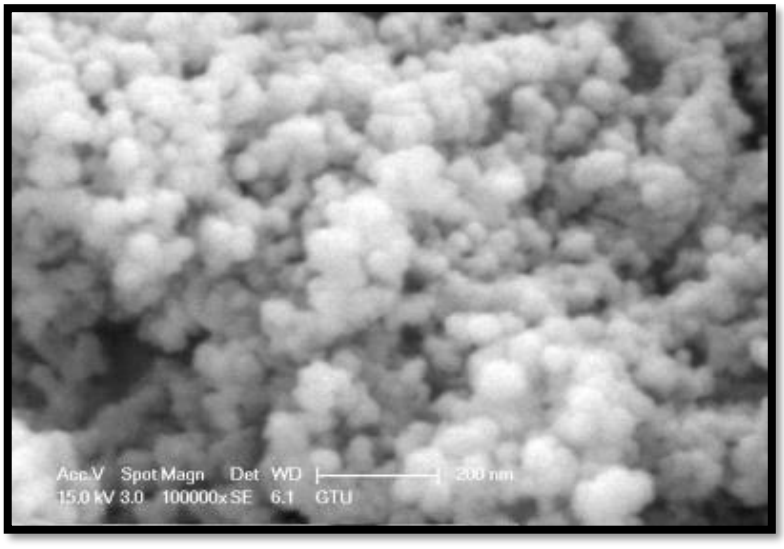
Şekil 3. 25 Epoksi silikanın FTIR grafiği



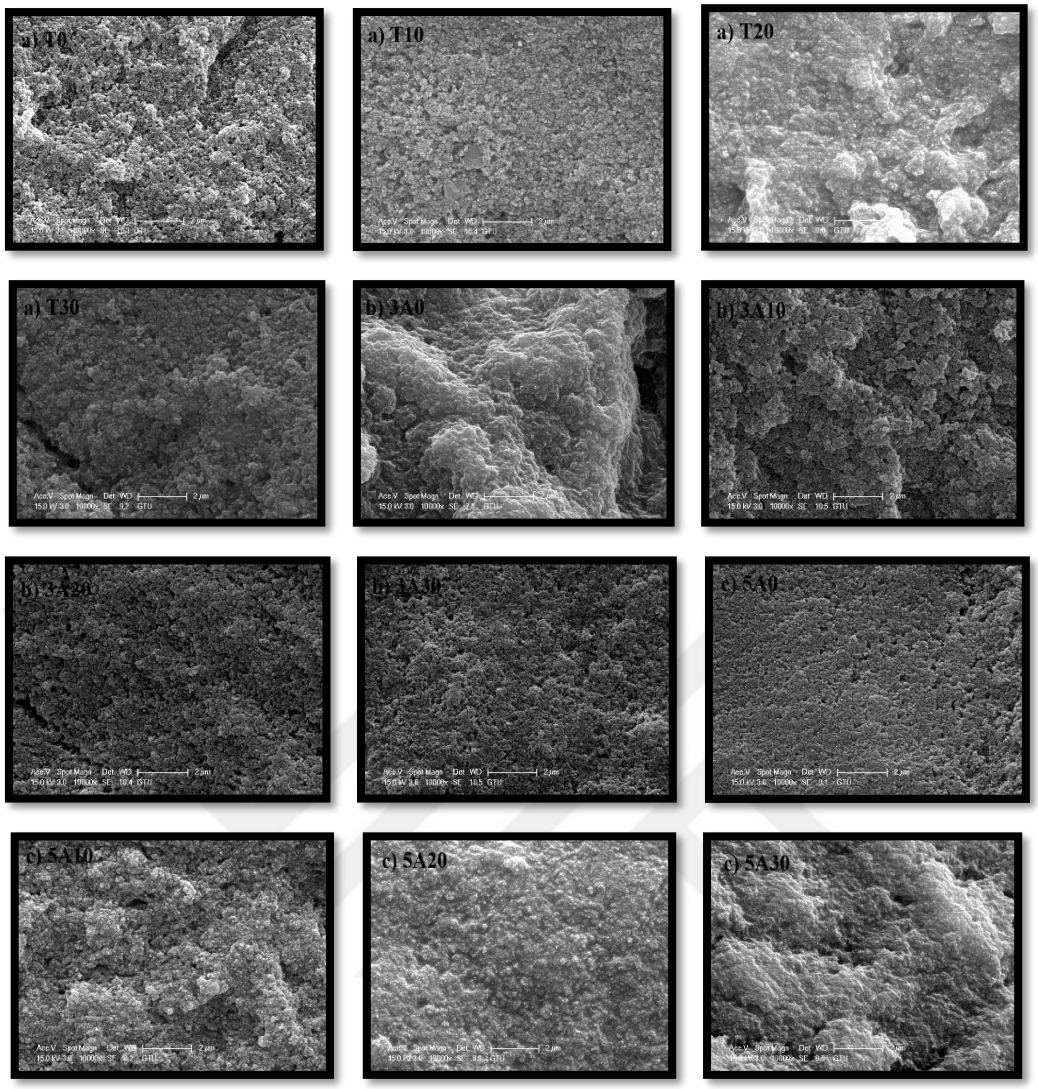
Şekil 3. 26 Dental kompozitlerin FTIR analizi

3.3.1.2 SEM Analizi

Epoksi silika nanopartiküllerinin SEM görüntüsü Şekil 3.27'de yer almaktadır. Ayrıca SEM görüntüsünde yer alan ölçek ile e-SiO_2'nın nanopartikül boyutu 40-50 nm civarında olduğu görülmüştür. 10-20 nm boyuta sahip SiO_2 nanopartikülllerinin boyutu BET analizi ile yapılmış olarak Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır. SEM görüntüsünden elde edilen nanopartikül boyutu ile SiO_2 nanopartikül boyutunu karşılaştırdığımızda, modifikasyonun gerçekleştiğini doğrulamaktadır. T, 3A ve 5A dental kompozit serilerinin yüzey morfolojileri, Şekil 3.28'de gösterildiği gibi SEM ile incelenmiştir. Dental kompozitlerin T0-T30, 3A0-3A30 ve 5A0-5A30 serilerinin resimleri, numunelerin iletken bir tabaka ile kaplanmasından sonra elde edilmiştir. Dental kompozitlerin hafif pürüzlü bir yüzeye sahip olduğu, dolgu maddelerinin matris içinde dağıldığı ve faz ayrışmasına neden olmadığı görülmektedir. Ek olarak nanopartikülllerin dental kompozit içerisinde dağılımı homojendir. Ayrıca, azollü nanopartikül miktarı arttıkça yüzey pürüzlülüğü artmış ve nanopartiküller iyi dağılım göstermektedir (Barot et al., 2020; Pérez-Mondragón et al., 2020). Sonuç olarak, nano katkı maddelerinin bu homojen dağılımı, dental kompozitlerin antimikrobiyal ve mekanik özelliklerini önemli ölçüde iyileştireceği düşünülmektedir.



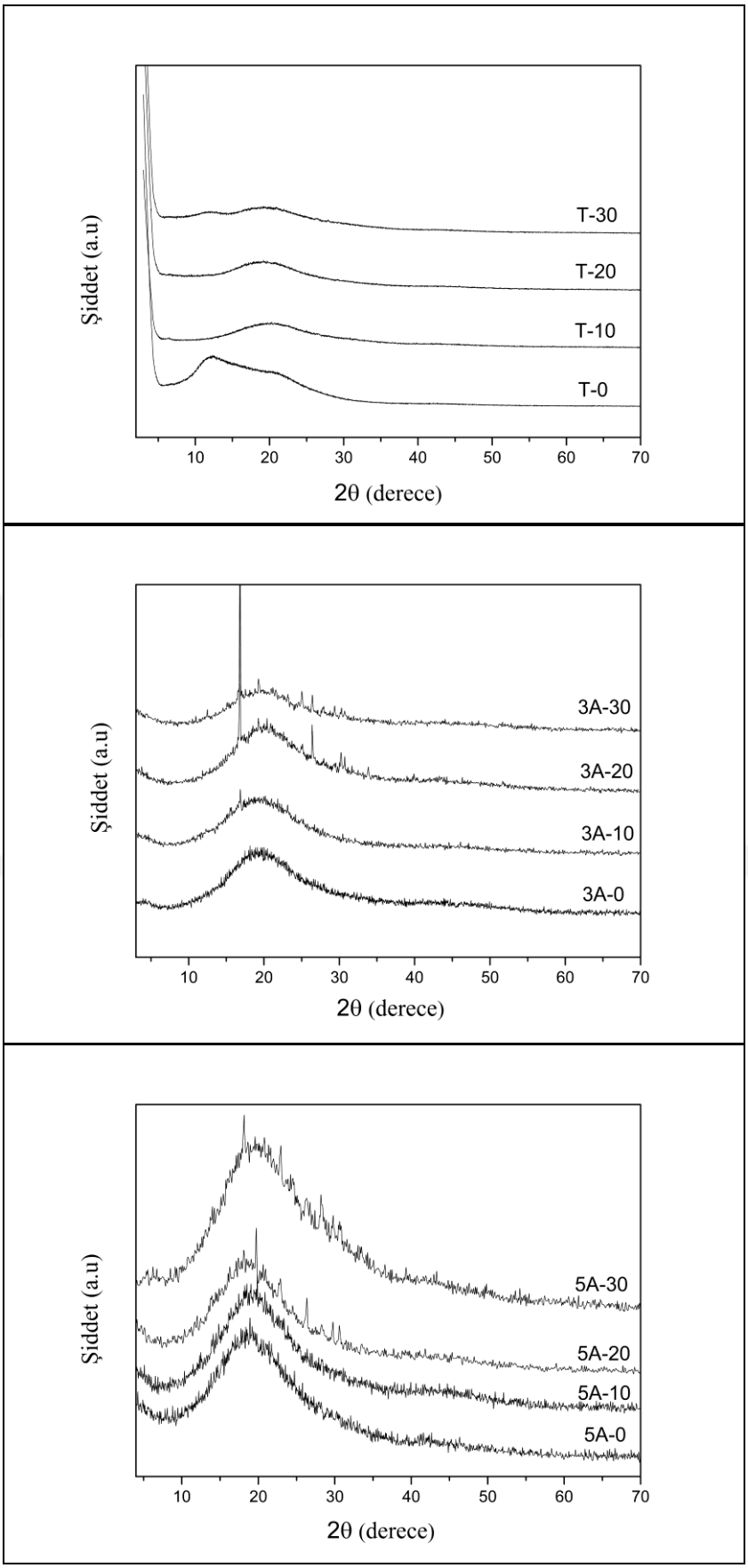
Şekil 3. 27 Epoksi silika SEM görüntüsü



Şekil 3. 28 a) Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerin, c) 5-amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin SEM görüntüleri

3.3.1.3 X-Işını Kırınımı

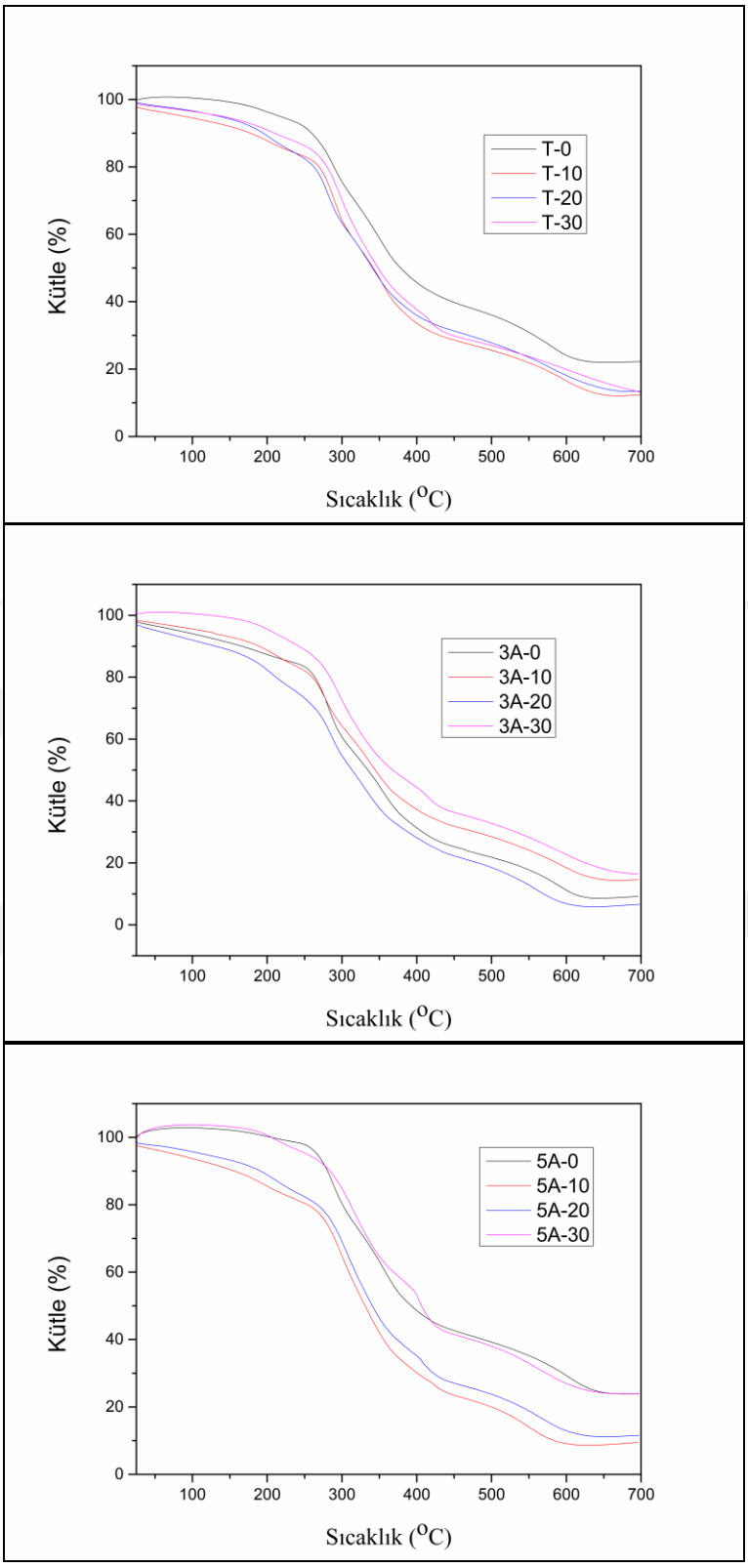
Nanobiyomalzemelerin kristal fazlarını analiz etmek için X-ışını kırınımı incelemesi sonuçları Şekil 3.29'da görülmektedir. Dental kompozit içerisinde yer alan azollü nanopartikül miktarı arttıkça, kompozit çeşitlerinde pikin yoğunluğunda genel bir artış gözlemlenmiştir. 1,2,4-Triazol içerikli dental kompozitin XRD pikleri: 22,57º, 24,67 º ve 28,10º, 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitin XRD pikleri: 16,80º, 19,26 º, 26,37º, 30,22º ve 33,86º, 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitin XRD pikleri: 18,10º, 22,94º, 26,36º, 28,24º ve 29,78º olarak Şekil 3.29'da gösterilmektedir. (Trivedi et al., 2015).



Şekil 3. 29 Azol içerikli nanopartikülerden oluşan dental kompozitlerin X-ışını kırınımları

3.3.1.4 Termogravimetrik Analiz (TGA)

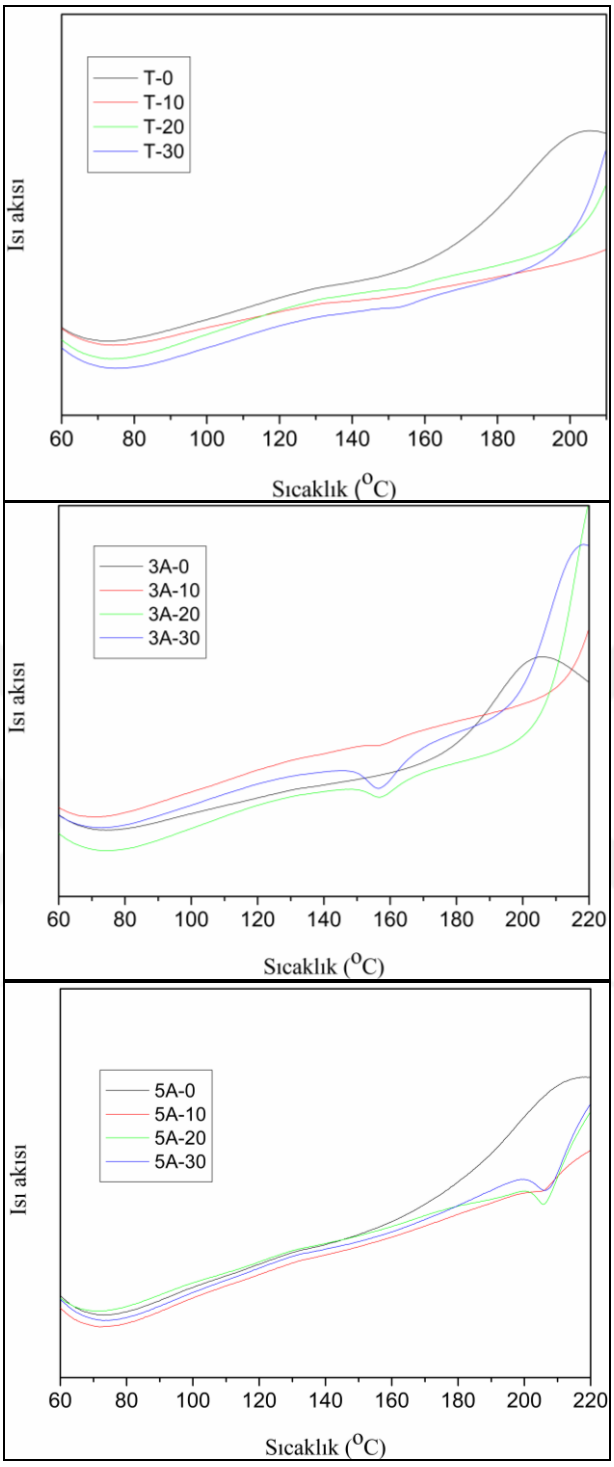
Dental kompozitleri temsil eden TGA eğrileri Şekil 3.30'da gösterilmektedir. Azol içerikli nanopartikül oranı kompozit içerisinde arttıkça termal karalılıklarında genel olarak bir artış görülmüştür. Kompozitlerin yapısı, inert bir atmosferde termal ayrışmaya karşı oldukça dayanıklıdır. Polimer bağını kırmak için çok fazla enerji gerekmektedir. Organik matris ve azollerin ayrışması, sıcaklık 400ºC'nin altında olduğunda meydana gelmektedir. Bununla birlikte, sıcaklık 400ºC'nin üzerinde olduğunda, kütle kaybı inorganik fazdan kaynaklanmaktadır. Monomerlerin (BisGMA ve TEGDMA) ayrışma davranışları kimyasal yapılarından önemli ölçüde etkilemektedir (M. Wu et al., 2014).



Şekil 3. 30 a) Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerin, c) 5-Amino tetrazol içerikli dental kompozitlerin TGA grafikleri

3.3.1.5 Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) analizi

Dental kompozitlerin termal davranışının belirlenmesi için örnekler azot atmosferinde 10ºC/dakika sıcaklık artışı ile 25ºC'den 100ºC'ye çıkılarak birinci döngünün tamamlanmasının arından ikinci döngüde 10ºC/dakika sıcaklık artışı ile 25ºC'den 220ºC'ye çıkarılmıştır. Şekil 3.31'de T_g değerleri, ısı akış eğrilerilerindeki bükülme noktalarını temsil eden zirvelerin sıcaklığı olarak rapor edilmiştir (Jin et al., 2020).



Şekil 3. 31 Triazol içerikli dental kompozitlerin, 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerin ve 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitlerin DSC grafikleri

Dental kompozitlerin Tablo 3.4'deki T_g değerleri ve Şekil 3.31'deki grafikleri incelendiğinde azollü nano parçacık oranı arttığında T_g sıcaklıklarında da artış olduğu tespit edilmiştir. Faz ayrışması ve erime olayları olmadığı da gözlenmiştir. DSC sonuçlarına göre tek bir T_g değerinin varlığı kompozitlerde herhangi bir faz ayrımı olmadığını, kompozitlerin homojen olduğunu doğrulamıştır.

Tablo 3. 4 Dental kompozitlerin T_g değerleri

Dental kompozit	**T_g (^oC)**
T0	136
T10	141
T20	148
T30	156
3A0	145
3A10	152
3A20	154
3A30	158
5A0	145
5A10	198
5A20	203
5A30	208

Dental nanokompozit sistemlerde artan nanoparçacık miktarı ile T_g noktasının artışı serbest hacim teorisi ile açıklanabilir. Nano yapıların üzerindeki azol grupları ile polimer zincirlerinin etkileşimlerinin olması ve nano parçacıkların boşlukları doldurması polimerik yapıların dönme hareketlerini engelleyeceğinden T_g noktasının üst sıcaklıklara kaymasına sebep olmuştur (Çelik et al., 2008).

3.3.1.6 Dental Kompozitlerin Su Emilimi ve Çözünürlüğü

Kompozit içerisindeki azollü nanopartikül miktarı arttıkça, Tablo 3.5'te gösterildiği gibi hem çözünürlük hem de emilim özelliğinin arttığı görülmektedir. İstisna olarak

5A serisi dental kompozitlerde azol içerikli nanopartikül miktarı arttıkça sudaki çözünürlükleri azalmıştır. Bileşiklerin sudaki emilim ve çözünürlük değerlerinin, dental uygulamalar için gerekli ISO 4049 değerine yakın olduğu görülmüştür.

Tablo 3. 5 Dental kompozitlerin suda emilimi ve çözünmesi

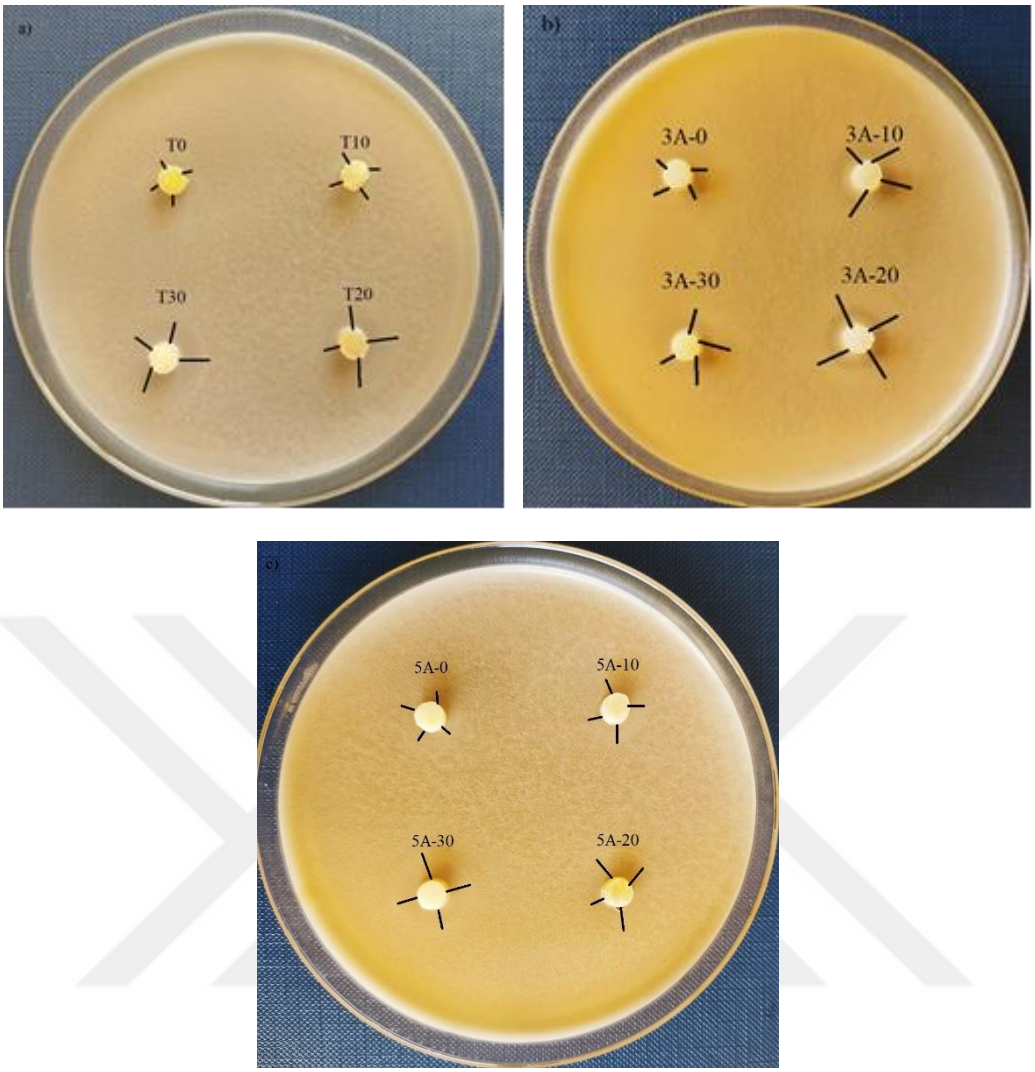
	Suda emilim (mg/mm^3)	**Suda çözünürlük (mg/mm^3)**
T0	0.05480226	0.028813559
T10	0.063841808	0.04180791
T20	0.085310734	0.053107345
T30	0.097175141	0.05480226
3A0	0.055932203	0.030508475
3A10	0.074576271	0.036723164
3A20	0.091525424	0.05480226
3A30	0.133898305	0.062711864
5A0	0.055367232	0.03220339
5A10	0.059322034	0.031638418
5A20	0.064971751	0.030508475
5A30	0.076836158	0.027118644

3.3.1.7 Antifungal Analiz

Dental kompozitlerin antifungal özellikleri, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 400 µl kültüre edilmiş *Saccharomyces cerevisiae (S. cerevisiae)* agar besiyerinin üzerine dökülerek kuruması beklendikten sonra kuyulara hazırlanan örnekler yerleştirilerek 48 saat 28ºC'de bekletilmiştir (Lee et al., 2017). Tablo 3.6'da ve Şekil 3.32'de *S. cerevisiae* fungisine karşı dental kompozitlerin gösterdiği antifungal özelliği sonucu oluşan zon bölgelerinin çaplarını göstermektedir.

Tablo 3. 6 Antifungal analiz sonucunda elde edilen zon çapları

Mikroorganizma	Örnek (%)	n	Minimum (mm)	Maksimum (mm)	Ortalama (mm)	Standart sapma
S. cerevisiae	T0	3	0.2	0.3	0.2467	0.05
	T10	3	0.45	0.55	0.5	0.05
	T20	3	0.6	0.85	0.73	0.12
	T30	3	0.55	0.7	0.63	0.05
	3A0	3	0.15	0.25	0.2	0.05
	3A10	3	0.5	0.6	0.56	0.06
	3A20	3	0.65	0.7	0.683	0.02
	3A30	3	0.3	0.5	0.43	0.12
	5A0	3	0.1	0.2	0.15	0.05
	5A10	3	0.4	0.5	0.45	0.05
	5A20	3	0.4	0.55	0.5	0.22
	5A30	3	0.6	0.7	0.63	0.06



Şekil 3. 32 a) 1,2,4-Triazol içerikli dental kompozitlerin, b) 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerin, c) 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitlerin antifungal özelliği

Tablo 3.6'da dental kompozitlerin antifungal özelliği incelendiğinde 1,2,4-Triazol içerikli dental kompozitlerde T-20 kompozitinde, 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerinde 3A-20 kompozitinde, 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitlerde ise 5A-30 kompozitinde maksimum antifungal özelliği görülmüştür.

3.3.1.8 Antibakteriyel analiz

Dental kompozitlerin antibakteriyel özellikleri, agar kuyusu difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. 200 µl kültüre edilmiş *Escheria coli (E. Coli)* agar besiyerinin üzerine dökülerek kuruması beklendikten sonra kuyulara hazırlanan örnekler yerleştirilerek 24 saat 37ºC'de bekletilmiştir (Almousa et al., 2019; Mohamed et al., 2021). Tablo 3.7'de *E. coli* fungisine karşı dental kompozitlerin gösterdiği antibakteriyel özelliği sonucu oluşan zon bölgelerinin çaplarını

göstermektedir. Tablo 3.7'de dental kompozitlerin antibakteriyel özelliği incelendiğinde triazol içerikli dental kompozitlerde T-10 kompozitinde, 3-Amino-1,2,4-triazol içerikli dental kompozitlerinde 3A-10 kompozitinde, 5-Aminotetrazol içerikli dental kompozitlerde ise 5A-100 kompozitinde maksimum antibakteriyel özelliği görülmüştür.

Tablo 3. 7 Antibakteriyel analiz sonucunda elde edilen zon çapları

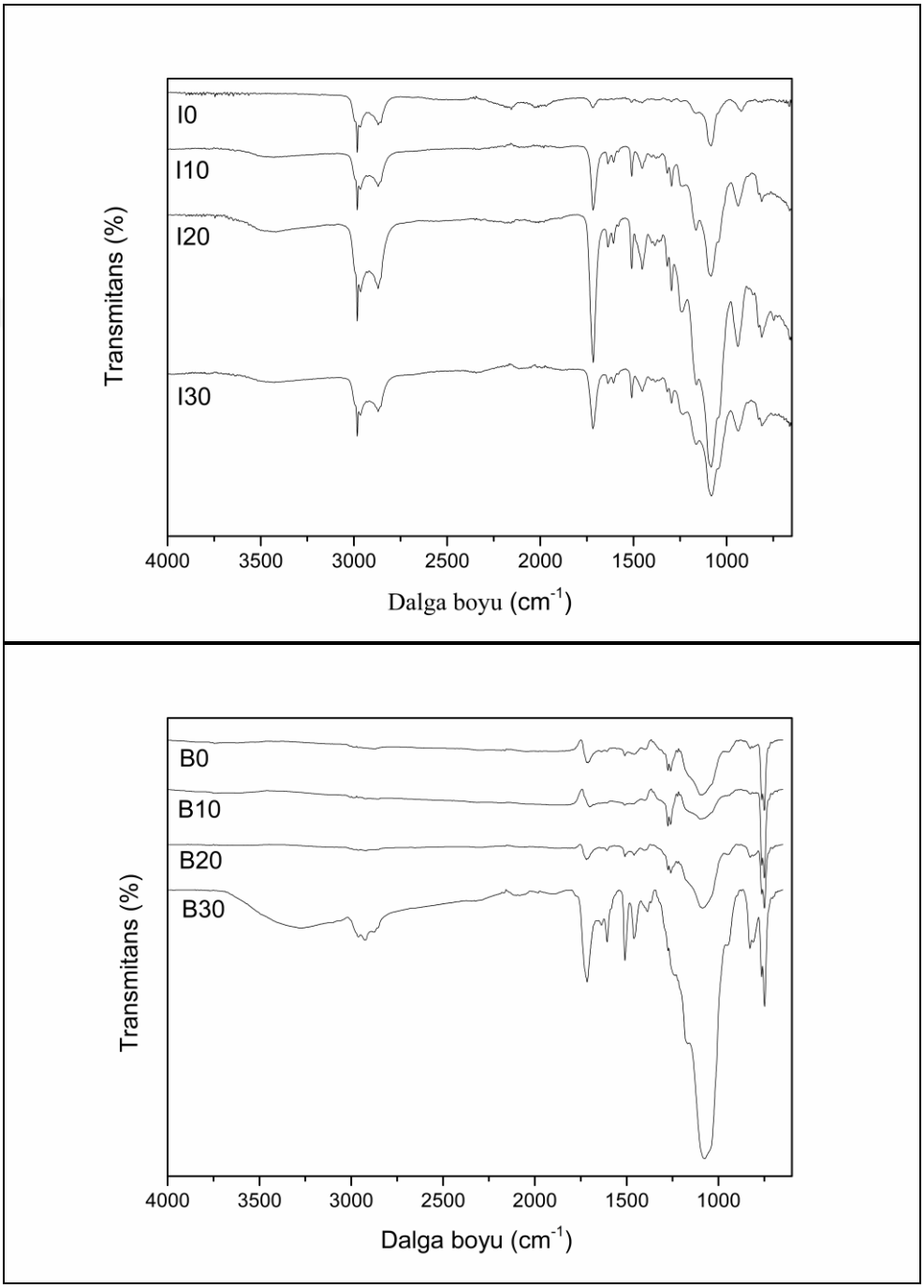
Mikroorganizma	Örnek (%)	n	Minimum (mm)	Maksimum (mm)	Ortalama (mm)	Standart sapma
E. coli	T0	3	0,2	0,4	0,3	0,1
	T10	3	0,7	1	0,83	0,15
	T20	3	0,4	0,7	0,53	0,15
	T30	3	0,3	0,4	0,33	0,06
	3A0	3	0,2	0,3	0,26	0,06
	3A10	3	0,8	0,9	0,83	0,06
	3A20	3	0,4	0,5	0,43	0,06
	3A30	3	0,3	0,5	0,37	0,12
	5A0	3	0,1	0,2	0,13	0,06
	5A10	3	0,4	0,6	0,5	0,1
	5A20	3	0,3	0,5	0,4	0,1
	5A30	3	0,3	0,4	0,33	0,06

3.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması

3.3.2.1 FTIR Spektroskopisi

Dental kompozitlerin karakteristik grup pikleri Şekil 3.33'de görülmektedir. İmidazol yapısındaki azol halkasının absorpsiyon pikleri 1446, 1503, 1596, 1632 ve 1718 cm^{-1}'de yer alırken (Hou et al., 2021); benzimidazol yapısındaki azol halkasının absorpsiyon pikleri 1459, 1540, 1597 ve 1720 cm^{-1}'de yer almaktadır (Huo et al., 2019). 2977 ile 2869 cm^{-1} arasındaki pikler, polimerin $-CH_3$ ve $-CH_2$ gruplarına karşılık gelmektedir (asimetrik ve simetrik esneme, katı ve keskin). 3477 cm^{-1} merkezli pik, BisGMA'nın C–OH gruplarına karşılık gelmektedir. Tüm

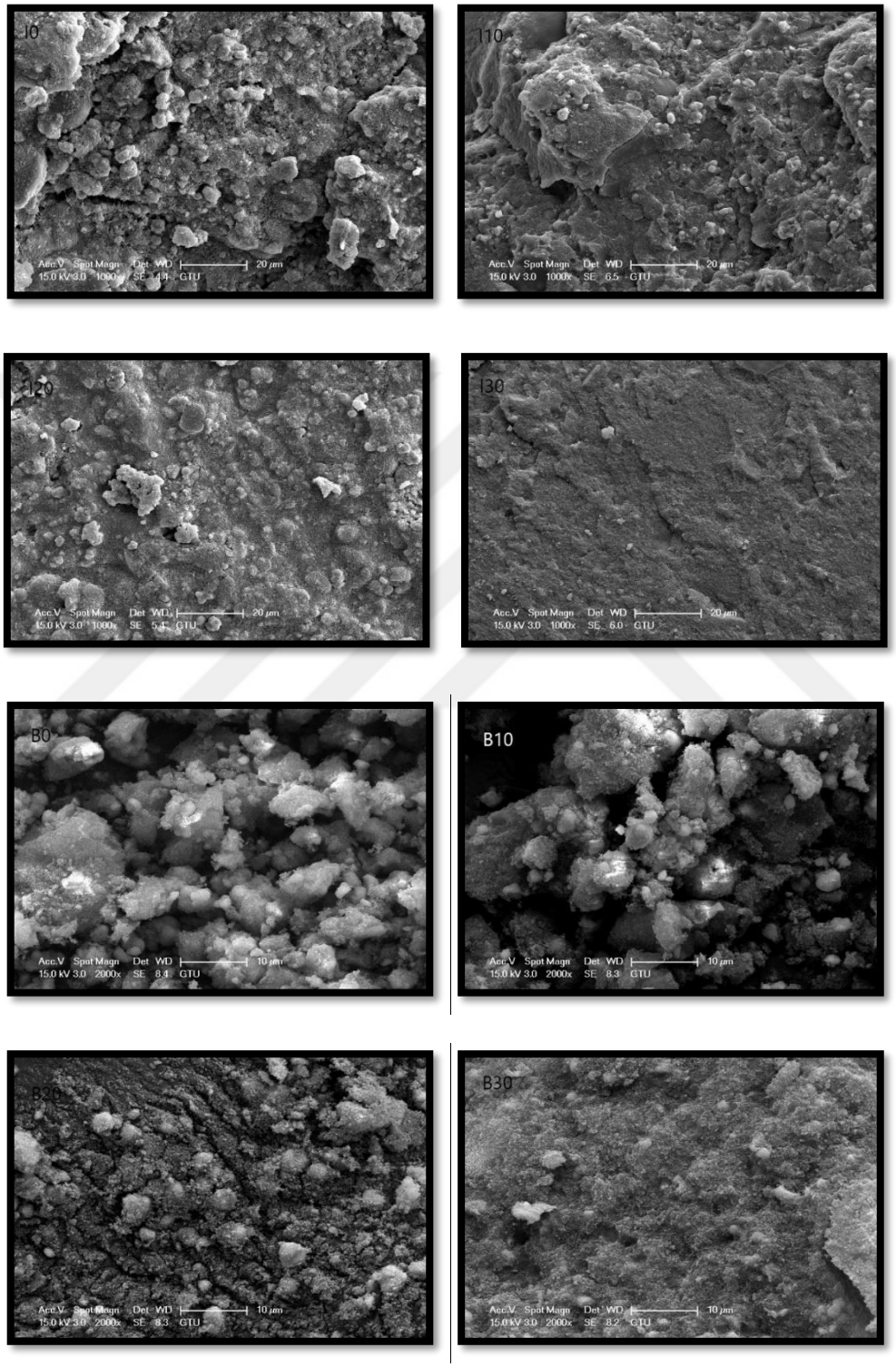
metakrilatların C=O grubu 1711 cm^{-1}'de güçlü zirveye neden olurken, C=C'nin çekme titreşimi 1630-1640 cm^{-1}'de orta, dar zirveye neden olmaktadır. C-O bağları 1087 cm^{-1}'de zirve yapmaktadır. BisGMA bileşik matrisinin aromatik C=C bağlarının absorbansı 1608 cm^{-1}'dir (Al-Odayni et al., 2019). FTIR spektrumları, dental kompozitlerin modifikasyonlarını onaylamaktadır.



Şekil 3. 33 I ve B dental kompozit serilerinin FTIR spekturumları

3.3.2.2 SEM Analizi

Şekil 3.34'da gösterildiği gibi, I ve B dental kompozit serilerinin yüzey morfolojilerini incelemek için SEM kullanılmıştır.

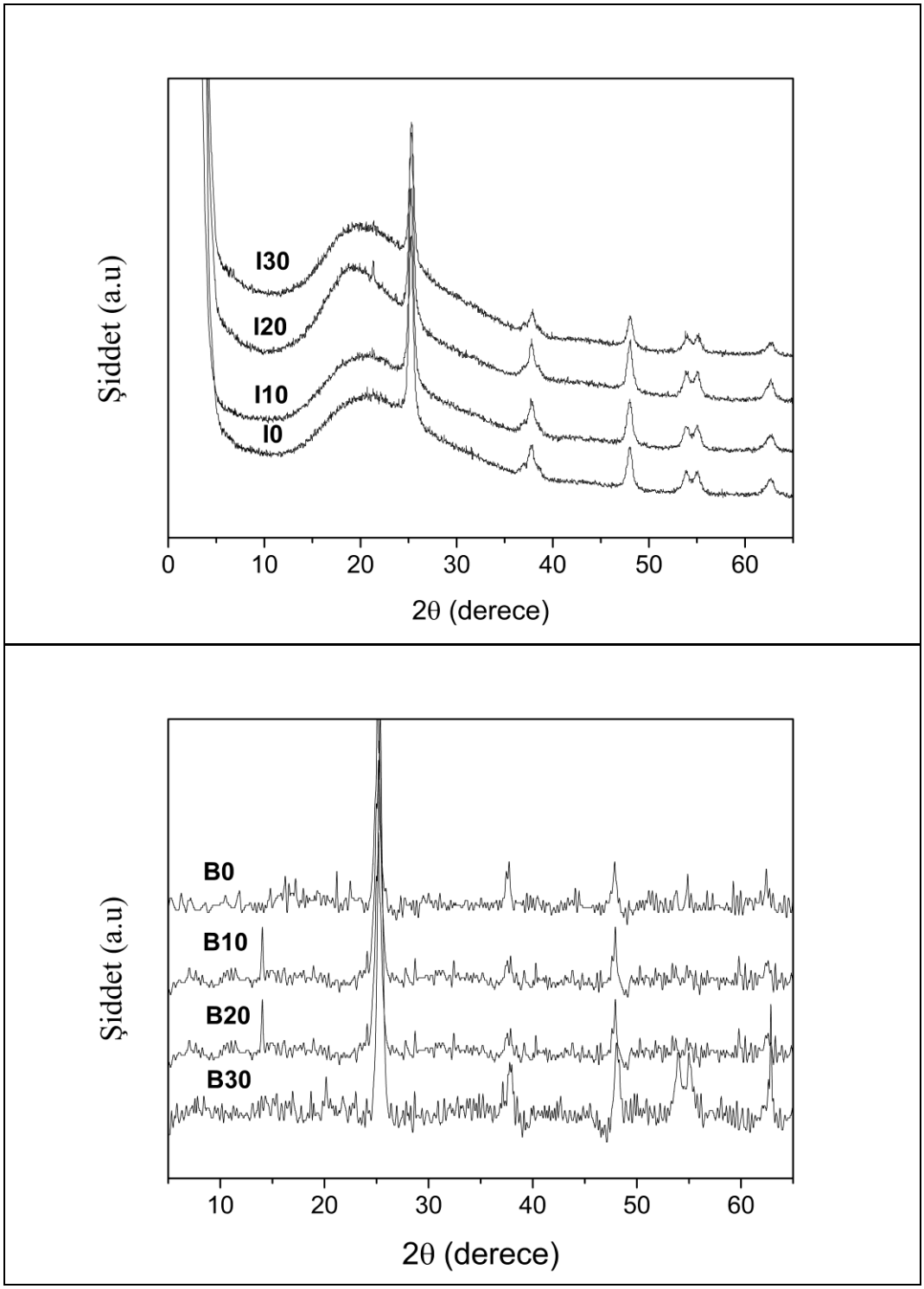


Şekil 3. 34 I ve B serisi dental kompozitlerin SEM görüntüleri

Numuneler iletken bir tabaka ile kaplandıktan sonra nanokompozit I0-I30 ve B0-B30 serisine ait görüntüler elde edilmiştir. I0 ve B0 hafif pürüzlü bir yüzeye sahiptir. Dolgu maddelerinin matris içinde homojen dağılması ile faz ayrımının önüne geçilmektedir. İçeriğindeki imidazol ve benzimidazol miktarı arttıkça yapı daha homojen hale gelmiştir.

3.3.2.3 XRD Analizi

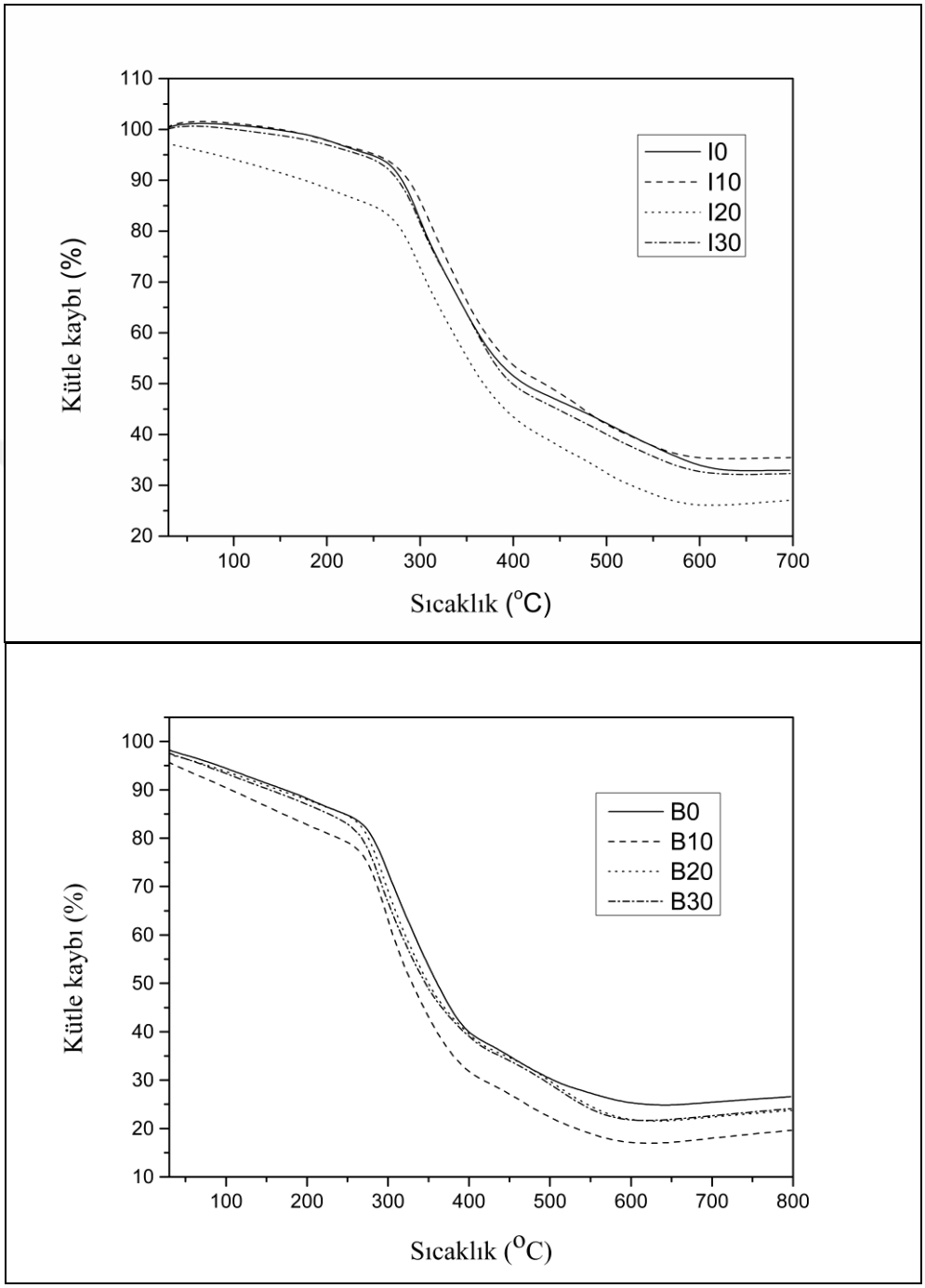
Şekil 3.35, I ve B dental kompozit serilerinin XRD sonuçlarını göstermektedir. İmidazol fonksiyonel diş kompozitlerinin 2Θ bölgesinde 19,14° ve 25,66°(Trivedi et al., 2015) karakteristik tepe noktalarına sahip olduğu görülürken; benzimidazol fonksiyonel kompozitlerin 21,87°'de (Dhinakaran et al., 2014; Nguyen et al., 2019) karakteristik bir tepe noktası bulunmaktadır.



Şekil 3. 35 I ve B serisi dental kompozitlerin XRD görüntüleri

3.3.2.4 TGA Analizi

Şekil 3.36, I ve B serilerindeki kompozitler için TGA eğrilerini göstermektedir.



Şekil 3. 36 I ve B serisi TGA grafikleri

TGA grafiklerinden dental kompozitlerin, termal bozunmaya karşı oldukça dirençli olduğu düşünülmektedir. Polimerin çapraz bağını kırmak çok daha fazla enerji gerektiği Şekil 3.36'da görülmektedir (Caneli et al., 2021). Sonuçlar karşılaştırıldığında, sıcaklığın 600°C civarına geldiğinde organik matriks ve azollerin (dental kompozit serisinin her ikisi de) ayrışmasının meydana geldiğini

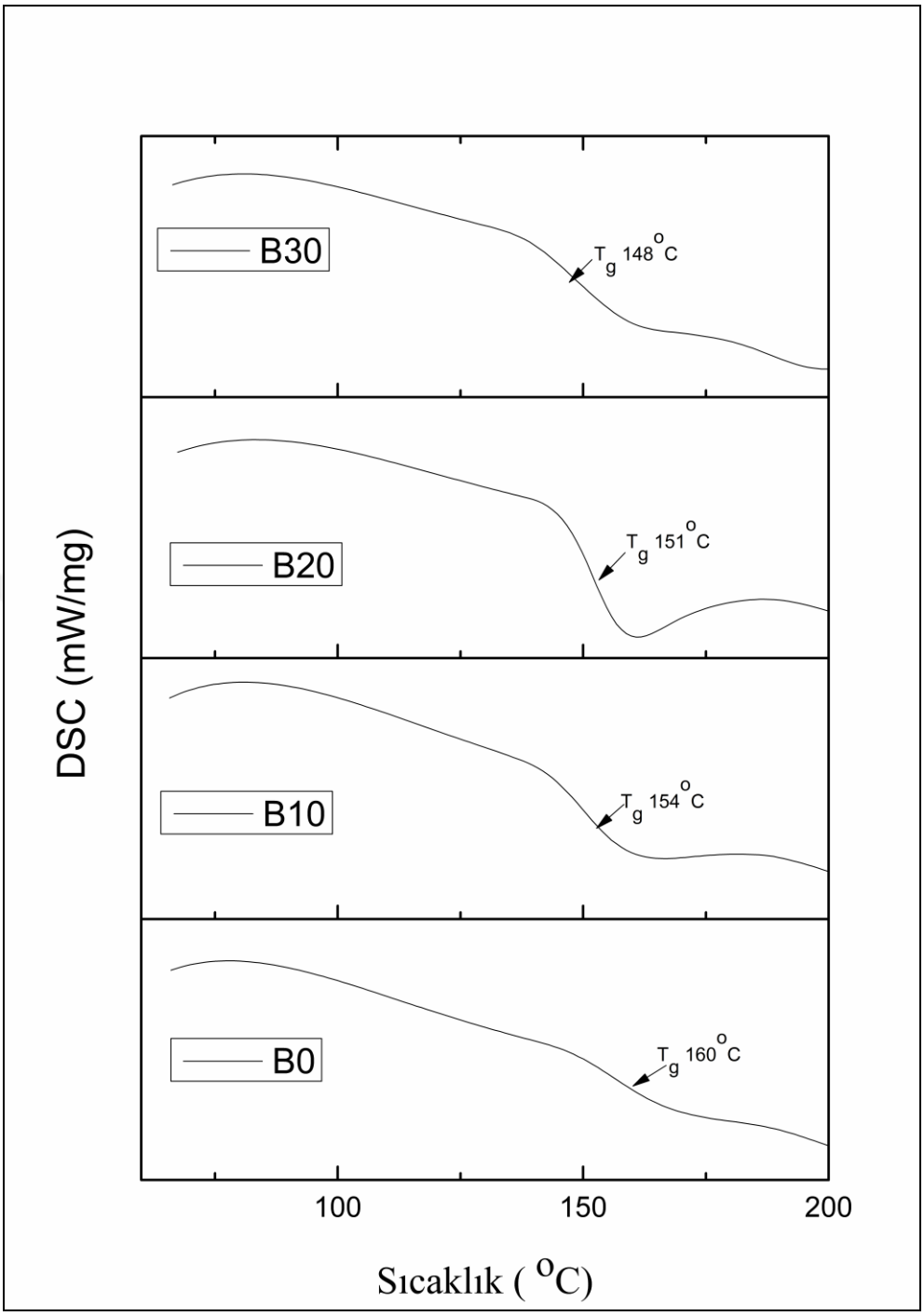
göstermektedir. Ancak sıcaklık 600°C'nin üzerine çıktığında kütle kaybının kompozitteki inorganik fazdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.3.2.5 DSC Analizi

Dental kompozitlerin DSC eğrileri incelendiğinde T_g değerlerinin 145 ile 185°C arasında olduğu görülmüştür (Tablo 3.8 ve Şekil 3.37).

Tablo 3. 8 DSC analizinin T_g değerleri

Formülasyon	**T_g**
I0	185
I10	174
I20	167
I30	162
B0	160
B10	154
B20	151
B30	148



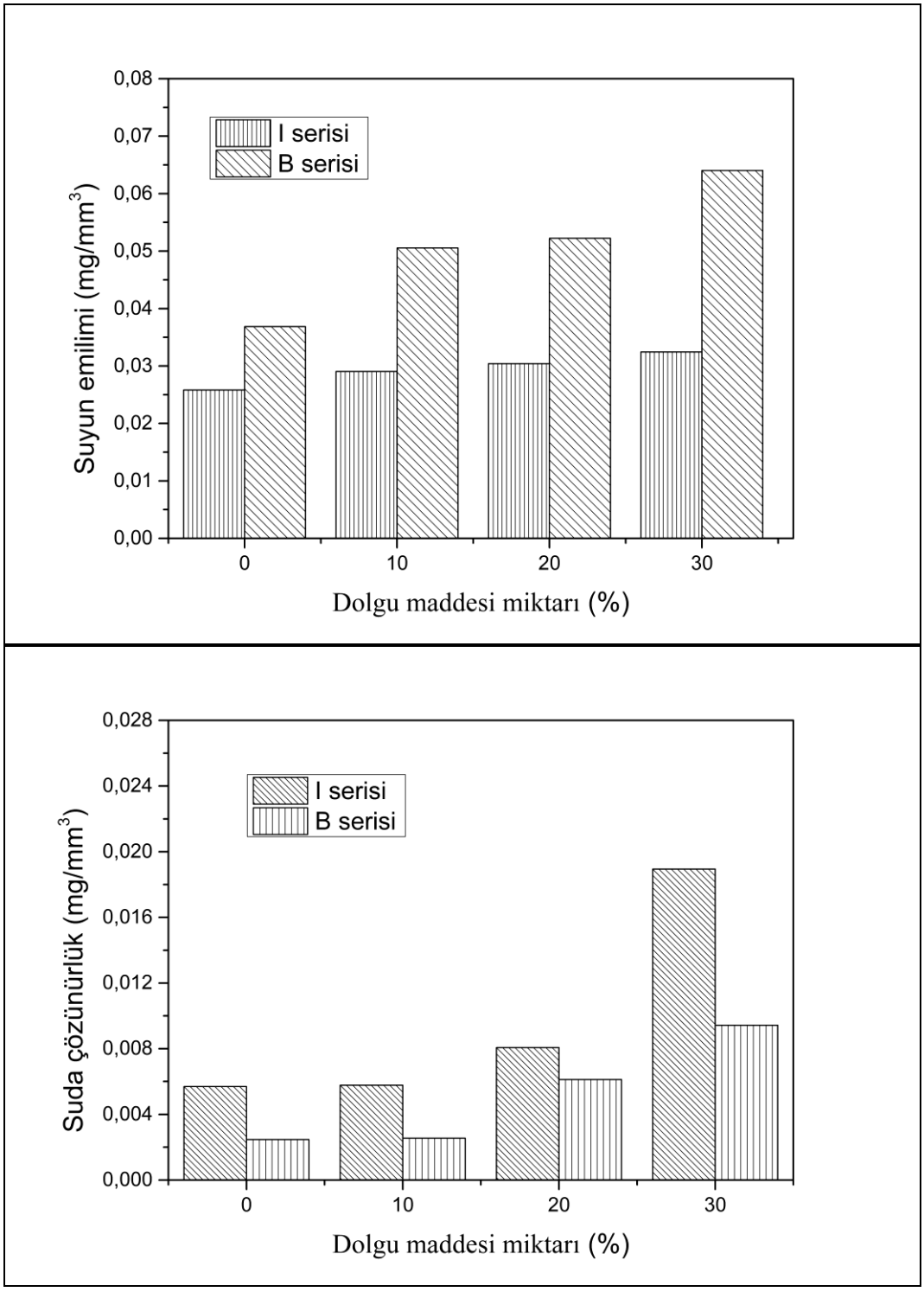
Şekil 3. 37 B serisi dental kompozitlerin DSC eğrileri

Kompozitlerin T_g değerleri Tablo 3.8'de karşılaştırıldığında, T_g değerlerinin fonksiyonel nanoparçacık içeriğindeki artışla birlikte düştüğü belirlenmiştir. DSC sonuçlarına göre tek bir T_g değeri olması, membranlarda faz ayrımının olmadığını ve kompozitlerin homojenliğini doğrulamıştır. Akrilat bazlı diş kompozitlerinin azalan T_g değerleri, intramoleküler hidrojen bağından ziyade SiO_2

nanoparçacıklarının fonksiyonel gruplarının dolgu-matris etkileşimlerinin artmasına bağlanabilir (Cherchali et al., 2020; Syed et al., 2020).

3.3.2.6 Su Emilimi ve Çözünürlük

Şekil 3.38, I ve B serisi kompozitlerin su emilimi ve çözünürlüğünden elde edilen sonuçları göstermektedir.

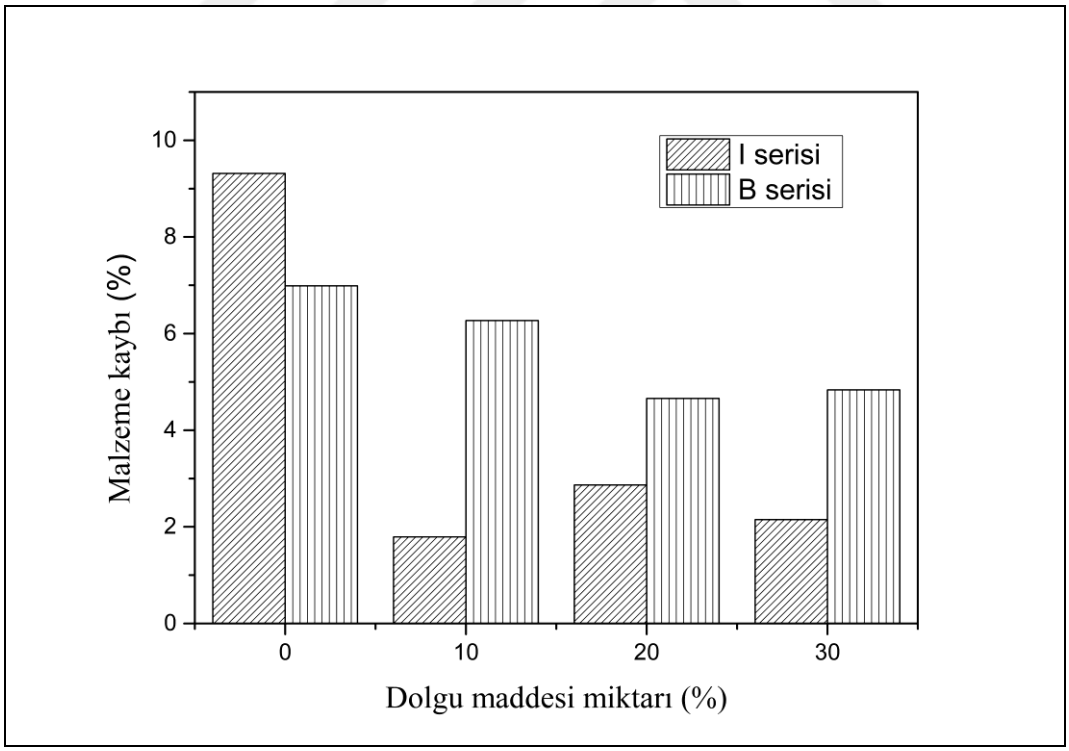


Şekil 3. 38 I ve B serisi dental kompozitlerin suda emilimi ve çözünmesi

Hem I kompozit serileri hem de B kompozit serileri suda emilim ve çözünürlük davranışı göstermiştir. Bununla birlikte, dental kompozitlerin suda emilimi ve çözünürlüğü, dental kompozitlerin hidrofobikliği ile uyumlu olarak, imidazol ve benzimidazol nanopartiküllerinin kompozit içerisindeki miktarının artması ile azalmıştır. BisGMA bazlı kompozitlerin yapısındaki hidroksil grubuna rağmen aşırı derecede su emme eğilimi gösterdiği görülmüştür (Z. Li et al., 2020). I0 ve B0 dental kompozitleri en düşük oranda suda emilim ve çözünürlük değerleri göstermişlerdir (I0 < I10 < I20 < I30; B0 <B10 < B20 < B30).

3.3.2.7 Kimyasal Stabilite

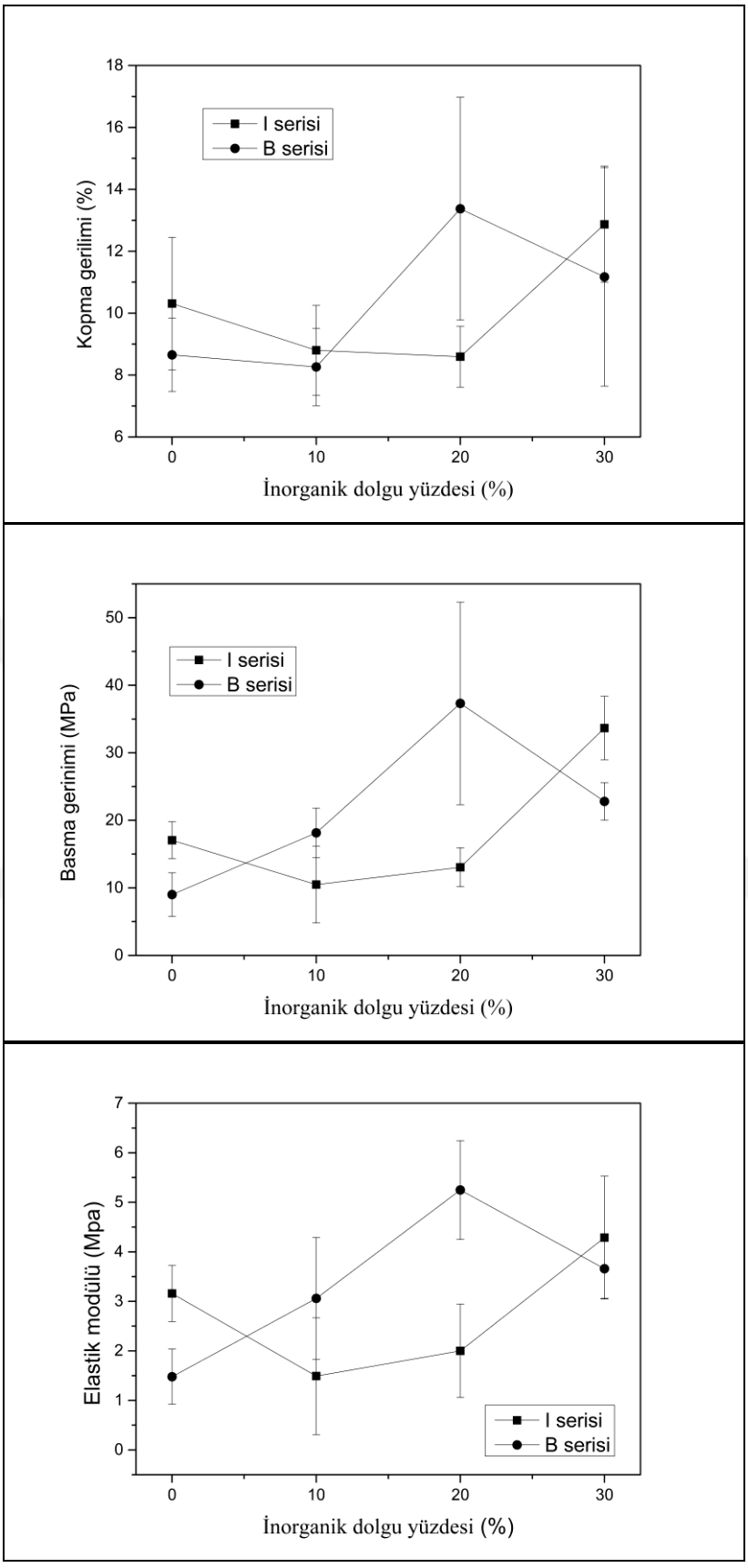
I ve B serisi dental kompozitlerin kimyasal stabilitelerini incelemek için nanobiyomalzemeler 40°C'deki fenton solüsyonunda iki gün bekletilmiştir. I ve B serisi dental kompozitlere İmidazol-SiO_2/Benzimidazol-SiO_2 nanopartikülleri eklenerek malzeme kayıpları azaltılmıştır. Dental kompozitler karşılaştırıldığında I serisi dental kompozitler arasında en ihmal edilebilir malzeme kaybı I10'da (%1,79); B serisinde ise B20'de (%4,65) olduğu görülmüştür (Şekil 3.39).



Şekil 3. 39 I ve B serisi dental kompozitlerin fenton solüsyonunda malzeme kaybı

3.3.2.8 Mekanik Özellikler

Şekil 3.40, Young modülü, sıkıştırma mukavemeti ile kırılma anındaki maksimum gerilme ve gerinim gibi mekanik özellikleri göstermektedir. B20 numuneleri, benzimidazol içeren numuneler arasında en yüksek sıkıştırma mukavemetine, kopmada gerinime ve elastik modüle sahip olduğu görülmüştür.

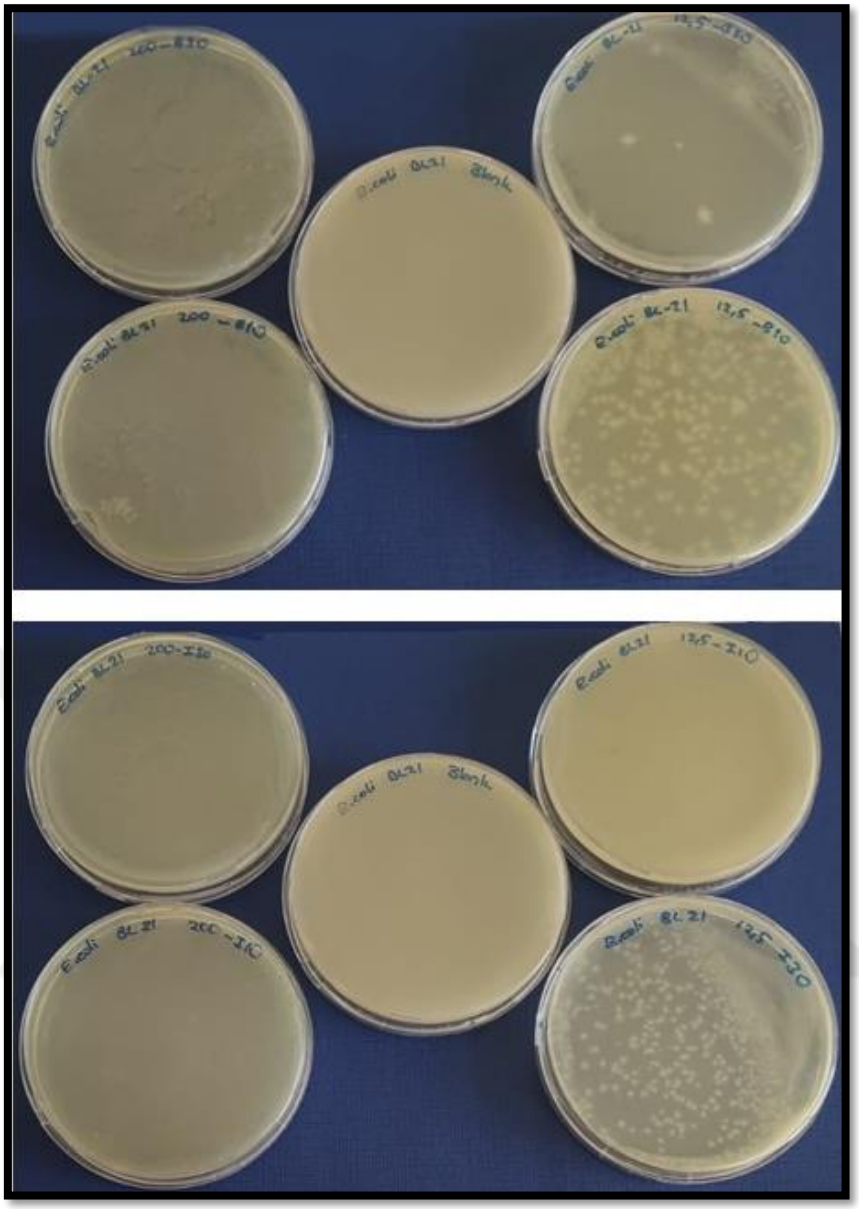


Şekil 3. 40 Dental kompozitlerin kopma gerilimi, basma gerinimi ve elastisite modülü

B20 örnekleri en yüksek sıkıştırma mukavemeti (37,31 ± 15,00 MPa), kopma gerilimi (13,37 ± 3,60%) ve elastik modül (5,25 ± 1,00 MPa) değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Artan benzimidazol konsantrasyonu ile %30 konsantrasyona ulaşana kadar sıkıştırma mukavemeti, kopmada gerinim ve elastik modül değerleri bağıntılı olarak artmıştır. İmidazol içeren numunelerin paterni benzimidazol içeren numunelerden farklıdır. I30 numuneleri en yüksek sıkıştırma mukavemetine (33,65 ± 4,70 MPa), kırılma anında gerinime (%12,87 ± 1,88) ve elastik modüle (4,29 ± 1,24 MPa) sahiptir. Basma mukavemeti, kopmada gerinim ve elastik modül değerleri, %10 konsantrasyona ulaşana kadar artan imidazol konsantrasyonu ile bağlantılı olarak azalmıştır. Artan imidazol konsantrasyonu ile, daha yüksek konsantrasyon seviyeleri artan mukavemet, kopmada gerinme ve elastik modül değerleri göstermiştir. Benzimidazol ve imidazol nanoparçacıklarının doldurucu fraksiyonunun etkisi karşılaştırıldığında, %10 ve %20 benzimidazol içeren numunelerin, %10 ve %20 imidazol içeren numunelere göre daha sağlam mekanik özelliklere sahip olduğu keşfedilmiştir. %30 konsantrasyonda, imidazol içeren numuneler, benzimidazol içeren numunelere göre biraz daha iyi mekanik özellikler göstermiştir (Yadav & Kumar, 2019; Yao et al., 2020). Sentezlenen nanopartiküllerin homojen bölünmesinin bir sonucu olarak, dental kompozitlerin mekanik özellikleri önemli ölçüde iyileştirilmiştir (Y. Wang et al., 2021; Yushau et al., 2019).

3.3.2.9 Dental kompozitlerin Antibakteriyel Aktivitesi

Bu çalışmada, gram-negatif *E. coli ve P. Aeruginosa,* gram-pozitif *E. faecalis* bakteri türleri kullanılmıştır (Abdulrazzaq Jerri Al-Bakhakh et al., 2020; Karatepe & Ozdemir, 2020; Kim et al., 2018). B0, B10, B20, B30 ve I0, I10, I20 ve I30 diş kompozitlerinden, I10, I30 ve B10, B30'un MBK değerleri Gram negatif *E. coli*' ye karşı 200 µg/mL'dir (Şekil 3.41).



Şekil 3. 41 Dental kompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri

Azol gruplarını içeren dental kompozitler antibakteriyel özellikler sergilemektedir (Gaba & Mohan, 2016); bu nedenle dental uygulamalarda kullanımları büyük önem taşımaktadır (Yushau et al., 2019). Çözünür antibakteriyel ajanların aksine, dental kompozitler hücre duvarı yapısından tam olarak geçemezler ve bu nedenle birincil olarak hücre duvarının dış katmanları ile etkileştiği düşünülmektedir (Beyth et al., 2014). Gram-pozitif bakteri hücre duvarları, kalın bir peptidoglikan tabakası ve büyük miktarda teikoik asit ile dekore edilmiştir. Öte yandan, gram-negatif türler, bir lipopolisakarit-fosfolipid dış zarına yapışık ince bir peptidoglikan tabakasına sahiptir. Hücre duvarı mimarisindeki bu farklılıklar nedeniyle, genellikle farklı antibakteriyel ajanlara farklı tepkiler vermektedirler. Bu nedenle I ve B serisi

Dental kompozitlerin antibakteriyel özelliği için %10 nanopartikül oranı yeterlidir. Şaşırtıcı bir şekilde, gram-negatif *P. aeruginosa* ve gram-pozitif *E. faecalis*'e karşı belirgin bir antibakteriyel etki gözlenmemiştir.

4
SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1. Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

4.1.1 1-Vinil-1,2,4-triazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

Bu çalışmada sentezlenen MSN-PVTri, HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri nanobiyomalzemelerinin karakterizasyonu, antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır.

- Nanobiyomalzemelerin modifikasyonu FTIR ve SEM-EDS analizleri ile gösterilmiştir.
- Polimerleşme sonrası, MSN-PVTri, HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri nanobiyomalzemelerinin termal kararlılığı azalmıştır.
- XRD analizi sonucunda, amorf yapıdaki nanobiyomalzemelerin piklerinin şiddetleri modifikasyondan sonra tüm nanobiyomalzemelerde azalmıştır.
- MSN-PVTri nanobiyomalzemesi, daha yüksek yüzey gözenekliliği ve fonksiyonel grupları nedeniyle HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri nanobiyomalzemelerinden daha fazla 1-Vinil-1,2,4-triazol ile etkileşime girmiştir.
- MİK ölçümü, MSN-PVTri'nin, HSS-PVTri ve e-SiO_2-PVTri'den daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, e-SiO_2-PVTri, yüzeyindeki epoksi halkası nedeniyle gram-negatif bakteriler için HSS-PVTri'den daha fazla antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.
- Sitotoksik analiz sonuçlarına göre, PVTri'nin, HSS ve e-SiO_2 nanopartikülleri ile fonksiyonelleşmesiyle HaCaT hücrelerinde hücre büyümesini arttırdığı görülmüştür.

Öngörülen yeni nanobiyomalzemelerin antimikrobiyal ve anti-toksik özellikleri nedeniyle biyolojik uygulamalar için mükemmel bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.

4.1.2 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol, 5-Aminotetrazol İçerikli Silika Nanobiyomalzemelerin Antimikrobiyal Uygulamaları

Bu çalışmada, 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol fonksiyonelliği gibi farklı içeriklere sahip nanobiyomalzemeler sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Azol grupları nanobiyomalzemelere antimikrobiyal etki sağlamaktadır. Bu nanobiyomalzemelerin antifungal ve antibakteriyel özellikleri MİK, MFKve MBK ölçümleri ile belirlenmiştir.

- FTIR spektrumu, gözenekli silikanın yüzeyinin glisil metakrilat monomeri ile polimerize olduğunu ve yüzeyde epoksi halkalarının oluştuğunu doğrulamaktadır. Ayrıca, MT, M3 ve M5 nanobiyomalzemelerinin 1,2,4-Triazol, 3-Amino-1,2,4-triazol ve 5-Aminotetrazol fonksiyonelleşmesi meydana gelmiştir.
- SEM analizleri, azol fonksiyonel yapıların epoksi halkalar aracılığıyla MP yüzeyine bağlandığını göstermektedir.
- Azol yapıları malzemelerin antibakteriyel ve antifungal özelliklerini mikroorganizma türüne bağlı olarak geliştirmektedir.
- Sentezlenen nanobiyomalzemelerin yapılarını ortalama 200ºC'ye kadar kararlı bir şekilde koruduğu görülmüştür.
- Nanobiyomalzemelerin su emilimi ve fenton reaksiyonu deneyleri sonucunda yüzey kaplama malzemesi olarak en uygun malzemenin M3 olduğu tespit edilmiştir.
- Sonuçlara göre, azol gözenekli silika bazlı nanobiyomalzemelerin antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip olduğu ve gram-pozitif bakteri hücrelerinin, gram-negatif hücrelere ve maya hücrelerine kıyasla

- daha etkili oldukları görülmüştür.

Bu sayede farklı biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek umut verici malzemeler olduğu düşünülmektedir.

4.2 Nanobiyomalzemenin Enzim Uygulaması

Bu çalışmada *Bacillus licheniformis* (*Bl*A) α-amilazının fonksiyonel manyetik nanopartiküllere immobilizasyonu yoluyla aktivitesinin ve stabilitesinin arttırılması amaçlanmıştır.

- FTIR grafiği, taşıyıcı nanobiyomalzemenin sentezini ve enzim immobilizayonunu doğrulamaktadır.
- Fe_3O_4 nanoparçacıklarının ayırt edici XRD pikleri modifikasyon ile kaybolmayarak malzemenin manyetik özelliğinin korunduğunu göstermektedir.
- İmmobilizasyon sonrası nanobiyomalzemenin morfolojisi, Fe_3O_4-PGMA-5A ile karşılaştırıldığında farklıdır. Bu nedenle α-amilaz enziminin nanobiyomalzemenin yüzeyine kovalent olarak bağlandığı düşünülmektedir.
- EDS grafiklerinde yer alan K atomunun piki, α-amilaz enziminin immobilizasyonu kanıtlamaktadır.
- Manyetik nanoparçacıkların yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir.
- Serbest ve immobilize enzimlerin maksimum aktiviteleri pH 5,5'te bulunmuştur.
- Deney sonuçlarında serbest ve immobilize enzimin optimum aktivite sıcaklığının 50°C olduğu tespit edilmiştir. Amilaz enziminin immobilizasyonu ile ısıl direncinin arttığını ve protein moleküllerini termal deaktivasyondan koruduğunu göstermektedir.
- Enzimlerin stabilitesi ve tekrar kullanılabilirliği immobilizasyon ile artmaktadır.

Bu çalışmanın sonucu, enzim aktivitesini daha uzun süre sürdürmek için nanotaşıyıcıların varlığının önemini kanıtlamıştır. Elde edilen sonuçlar, enzimin immobilizasyon işlemi ile daha kararlı bir yapıya kavuştuğunu göstermiştir.

4.3 Nanobiyomalzemelerin Diş Kompoziti Uygulamaları

4.3.1 Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanobiyomalzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada, azol içerikli SiO_2 nanopartikülleri ile BisGMA/TEGDMA reçinelerini ile tasarlanan yeni nesil dental kompozitlerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

- FTIR grafiği, diş kompozitlerinin sentezini doğrulamaktadır.
- SEM sonuçları, polimer matrisinde iyi bir dağılım işlevi gören azol içerikli nanobiyomalzemeleri göstermektedir.
- Nanobiyomalzemelerin termal bozunma sıcaklığının 280ºC civarında başladığını göstermiştir.
- Malzemeler ait T_g değerleri malzemenin homojen yapısını doğrulamış ve artan nanoparçacık miktarı ile T_g değerinin arttığını göstermektedir.
- Malzemelerin su içerisindeki emilimi ve çözünmesi ISO şartlarına uygun olduğu görülmüştür.
- T, 3A ve 5A serileri üzerinde yapılan antifungal ve antibakteriyel çalışmalarında, T-20, 3A-20 ve 5A3-0'un diğer örneklere kıyasla antifungal özelliğinin, T-10, 3A-10 ve 5A-10'un diğer örneklere kıyasla antibakteriyel özelliğinin daha iyi olduğu ortaya koyulmuştur.

Sonuç olarak, elde edilen dental kompozitler, diş hekimliğinde dolgu veya simantasyon malzemeleri olarak potansiyel uygulamalara sahip olduğu görülmüştür.

4.3.2 Yeni Nesil Dental Resin Kompozitlerin Antimikrobiyal ve Mekanik Etkilerinin Araştırılması

Bu çalışmada farklı oranlarda imidazol ve benzimidazol içeren silika nanoparçacıkları eklenerek I ve B dental kompozit serileri sentezlenmiştir.

- Azol grupları, dental kompozit sentezinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır.
- Dental kompozit serilerin sentezini doğrulamak için FTIR ve XRD uygulanmıştır.

- SEM görselleri, fonksiyonel nanoparçacıkların kompozit matrislerde belirsiz bir dağılımını doğrulamıştır.
- TGA, dental kompozit serilerin ayrışmasının yaklaşık 300°C'de başladığını göstermiştir.
- En düşük su emme (I0:0,02582 ve B0:0,03686 mg mm^{-3}) ve çözünürlük (I0:0,00569 ve B0:0,00246 mg mm^{-3}) elde edilmiştir.
- Dental kompozitlerin fenton solüsyonuna karşı kimyasal direnci, ihmal edilebilir kütle kaybıyla gösterilmiştir; sırasıyla I10:%1,7914 ve B20:%4,6576.
- En yüksek sıkıştırma mukavemeti (37,31 ± 15,00 MPa), kopma gerilmesi (% 13,37 ± 3,60) ve elastik modül (5,25 ± 1,00 MPa) değerleri B20 numunelerinde gözlenmiştir.
- Artan benzimidazol konsantrasyonu ile sıkıştırma mukavemeti, kopmada gerinim ve elastik modül değerleri %30 konsantrasyona ulaşana kadar bağıntılı olarak artmıştır. En yüksek sıkıştırma mukavemeti (33,65 ± 4,70 MPa), kopma anındaki gerinim (% 12,87 ± 1,88) ve elastik modül (4,29 ± 1,24 MPa) değerleri I30 numunelerinde gözlenmiştir.
- Artan benzimidazol konsantrasyonu ile sıkıştırma mukavemeti, kopmada gerinim ve elastik modül değerleri %30 konsantrasyona ulaşana kadar bağıntılı olarak artmıştır. En yüksek sıkıştırma mukavemeti (33,65 ± 4,70 MPa), kopmada gerinim (12,87 ± I30 numuneleri için % 1,88) ve elastik modül (4,29 ± 1,24 MPa) değerleri gözlenmiştir.
- Artan imidazol konsantrasyonu ile sıkıştırma mukavemeti, kopmada gerinim ve elastik modül değerleri %10 konsantrasyona ulaşana kadar korelasyonlu olarak azalmıştır.
- %10 imidazol ve benzimidazol nanoparçacıkları içeren dental kompozitler, 200 µg/mL'de *E. coli*'ye karşı antibakteriyel özellikler göstermiştir.

Bu çalışma, azol gruplarının dental kompozitlerin mekanik, fizyokimyasal ve antibakteriyel aktivite özellikleri üzerindeki etkisini belirlemek için hazırlanmıştır. Bu deneysel sonuçlar, endüstriyel uygulamalar için dental kompozit müdahalelerini geliştirebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

Abdel-Nasser, M., Abdel-Maksoud, G., Abdel-Aziz, M. S., Darwish, S. S., Hamed, A. A., & Youssef, A. M. (2022). Evaluation of the efficiency of nanoparticles for increasing α-amylase enzyme activity for removing starch stain from paper artifacts. *Journal of Cultural Heritage*, *53*, 14–23. https://doi.org/10.1016/j.culher.2021.11.004

Abdelli, A., Azzouni, S., Plais, R., Gaucher, A., Efrit, M. L., & Prim, D. (2021). Recent advances in the chemistry of 1,2,4-triazoles: Synthesis, reactivity and biological activities. In *Tetrahedron Letters* (Vol. 86). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153518

Abdulrazzaq Jerri Al-Bakhakh, B., Shafiei, F., Pourhajibagher, M., Shekofteh, K., Hashemian, A., Behroozibakhsh, M., Al-Bakhsh A, J. B., Hajibagher, P. M., & Bakhsh, B. (2020). The antibacterial activity of an epoxy resin-based dental sealer containing bioactive glass, hydroxyapatite, and fluorohydroxyapatite nanoparticles against Enterococcus Faecalis and Streptococcus mitis. *Nanomed. J*, *7*(1), 13–20. https://doi.org/10.22038/nmj.2020.07.02

Aghaei, H., Mohammadbagheri, Z., Hemasi, A., & Taghizadeh, A. (2022). Efficient hydrolysis of starch by α-amylase immobilized on cloisite 30B and modified forms of cloisite 30B by adsorption and covalent methods. *Food Chemistry*, *373*(PA), 131425. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131425

Akhtar, H., Pourmadadi, M., Yazdian, F., & Rashedi, H. (2022). Kosmotropic and chaotropic effect of biocompatible Fe3O4 nanoparticles on egg white lysozyme; the key role of nanoparticle-protein corona formation. *Journal of Molecular Structure*, *1253*, 132016. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132016

Akhtar, W., Khan, M. F., Verma, G., Shaquiquzzaman, M., Rizvi, M. A., Mehdi, S. H., Akhter, M., & Alam, M. M. (2017). Therapeutic evolution of benzimidazole derivatives in the last quinquennial period. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 126). Elsevier Masson SAS. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.12.010

Al-labban, H. M. Y., Abduljabbar, A., & Aljanaby, J. (2020). *An overview of some heterocyclic organic compounds ; synthesis , characterization , thermal properties and antibacterial activity . September*. https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.SP1.217

Al-Odayni, A. B., Alfotawi, R., Khan, R., Sharaf Saeed, W., Al-Kahtani, A., Aouak, T., & Alrahlah, A. (2019). Synthesis of chemically modified BisGMA analog with low viscosity and potential physical and biological properties for dental resin composite. *Dental Materials*, *35*(11), 1532–1544. https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.07.013

Alagha, H. Z., & Gülsoy, M. (2023). Inactivation of planktonic cells and inhibitory effect on post-treatment biofilm formation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by photodynamic treatment with IR780 iodide loaded mesoporous silica nanoparticles and near infrared light. *Journal of Microbiological Methods*, *211*(December 2022), 106773. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106773

Alkan-tas, B., Durmus-sayar, A., Duman, Z. E., & Sevinis-ozbulut, E. B. (2021). Progress in Organic Coatings Antibacterial hybrid coatings from halloysite-immobilized lysostaphin and waterborne polyurethanes. *Progress in Organic Coatings*, *156*(September 2020), 106248. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106248

Almousa, R., Wen, X., Anderson, G. G., & Xie, D. (2019). An improved dental composite with potent antibacterial function. *Saudi Dental Journal*, *31*(3), 367–374. https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.03.009

Alzahrani, H. A., Alam, M. M., Elhenawy, A. A., Malebari, A. M., & Nazreen, S. (2021). Synthesis, antiproliferative, docking and DFT studies of benzimidazole derivatives as EGFR inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, *1253*, 132265. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132265

Alzina, C., Sbirrazzuoli, N., & Mija, A. (2011). Epoxy-amine based nanocomposites reinforced by silica nanoparticles. Relationships between morphologic aspects, cure kinetics, and thermal properties. *Journal of Physical Chemistry C*, *115*(46), 22789–22795. https://doi.org/10.1021/jp2066259

Aminoroaya, A., Bagheri, R., Nouri Khorasani, S., Talebi, Z., Derakhshanfar, P., & Esmaeely Neisiany, R. (2022a). Mesoporous silica aerogel reinforced dental composite: Effects of microstructure and surface modification. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *125*(August 2021), 104947. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104947

Aminoroaya, A., Bagheri, R., Nouri Khorasani, S., Talebi, Z., Derakhshanfar, P., & Esmaeely Neisiany, R. (2022b). Mesoporous silica aerogel reinforced dental composite: Effects of microstructure and surface modification. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *125*(October 2021), 104947. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104947

Aminoroaya, A., Neisiany, R. E., Khorasani, S. N., Panahi, P., Das, O., Madry, H., Cucchiarini, M., & Ramakrishna, S. (2021). A review of dental composites: Challenges, chemistry aspects, filler influences, and future insights. *Composites Part B: Engineering*, *216*(March), 108852. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.108852

Anagha, N., Neetha, M., & Anilkumar, G. (2022). Iron-catalyzed synthesis of benzimidazoles: An overview. *Journal of Organometallic Chemistry*, *958*, 122174. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.122174

Aslan, A., & Bozkurt, A. (2009). Development and characterization of polymer electrolyte membranes based on ionical cross-linked poly(1-vinyl-1,2,4 triazole) and poly(vinylphosphonic acid). *Journal of Power Sources*, *191*(2), 442–447. https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.02.040

Aslan, A., & Bozkurt, A. (2014). Nanocomposite membranes based on sulfonated polysulfone and sulfated nano-titania/NMPA for proton exchange membrane fuel cells. *Solid State Ionics*, *255*, 89–95. https://doi.org/10.1016/j.ssi.2013.11.054

Aslan, A., Çelik, S. Ü., & Bozkurt, A. (2009). Proton-conducting properties of the membranes based on poly(vinyl phosphonic acid) grafted poly(glycidyl methacrylate). *Solid State Ionics*, *180*(23–25), 1240–1245.

https://doi.org/10.1016/j.ssi.2009.07.003

Aslan, A., Çelik, S. Ü., Şen, Ü., Haser, R., & Bozkurt, A. (2009). Intrinsically proton-conducting poly(1-vinyl-1,2,4-triazole)/triflic acid blends. *Electrochimica Acta*, *54*(11), 2957–2961. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.12.026

Aslan, A., Elanthikkal, S., & Bozkurt, A. (n.d.). *ARTICLE Chitosan/hollow silica sphere nanocomposites for wound healing application*. https://doi.org/10.1557/jmr.2018.430

Aslan, A., Elanthikkal, S., & Bozkurt, A. (2019). Chitosan/hollow silica sphere nanocomposites for wound healing application. *Journal of Materials Research*, *34*(2), 231–239. https://doi.org/10.1557/jmr.2018.430

Aslan, A., Gümüşdereli, E., & Soydan, A. M. (2019). Producing of imidazol functional SiO2 nanoparticles /Nafion nanocomposite membranes for PEMFC applications. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, *34*(1), 351–363. https://doi.org/10.17341/gazimmfd.416498

ASLAN, A., & KAPTAN USUL, S. (2021). Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanokompozitlerin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, *9*(3), 1027–1043. https://doi.org/10.33715/inonusaglik.850453

Aslan, A., Şen, Ü., & Bozkurt, A. (2009). Preparation, Properties, and Characterization of Polymer Electrolyte Membranes Based on Poly(1-vinyl-1,2,4 triazole) and Poly(styrene sulfonic acid). *Journal of The Electrochemical Society*, *156*(10), B1112. https://doi.org/10.1149/1.3176878

Ates, B., Ulu, A., Köytepe, S., Ali Noma, S. A., Kolat, V. S., & Izgi, T. (2018). Magnetic-propelled Fe3O4-chitosan carriers enhance l-asparaginase catalytic activity: A promising strategy for enzyme immobilization. *RSC Advances*, *8*(63), 36063–36075. https://doi.org/10.1039/c8ra06346j

Bai, X., Lin, C., Wang, Y., Ma, J., Wang, X., Yao, X., & Tang, B. (2020). Preparation of Zn doped mesoporous silica nanoparticles (Zn-MSNs) for the improvement of mechanical and antibacterial properties of dental resin composites. *Dental Materials*, *36*(6), 794–807. https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.03.026

Barot, T., Rawtani, D., Kulkarni, P., Hussain, C. M., & Akkireddy, S. (2020). Physicochemical and biological assessment of flowable resin composites incorporated with farnesol loaded halloysite nanotubes for dental applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *104*(December 2019), 103675. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103675

Bayramoglu, G., Senkal, B. F., & Arica, M. Y. (2013). Preparation of clay-poly(glycidyl methacrylate) composite support for immobilization of cellulase. *Applied Clay Science*, *85*(1), 88–95. https://doi.org/10.1016/j.clay.2013.09.010

Beyth, N., Farah, S., Domb, A. J., & Weiss, E. I. (2014). Antibacterial dental resin composites. *Reactive and Functional Polymers*, *75*(1), 81–88. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.11.011

Bijelic-Donova, J., Garoushi, S., Lassila, L. V. J., Keulemans, F., & Vallittu, P. K.

(2016). Mechanical and structural characterization of discontinuous fiber-reinforced dental resin composite. *Journal of Dentistry*, *52*, 70–78. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.07.009

Boaro, L. C. C., Campos, L. M., Varca, G. H. C., dos Santos, T. M. R., Marques, P. A., Sugii, M. M., Saldanha, N. R., Cogo-Müller, K., Brandt, W. C., Braga, R. R., & Parra, D. F. (2019). Antibacterial resin-based composite containing chlorhexidine for dental applications. *Dental Materials*, *35*(6), 909–918. https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.03.004

Bulut, H., Yuksel, B., Gul, M., Eren, M., Karatas, E., Kara, N., Yilmazer, B., Kocyigit, A., Labrou, N. E., & Binay, B. (2021). Conserved Amino Acid Residues that Affect Structural Stability of Candida boidinii Formate Dehydrogenase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *193*(2), 363–376. https://doi.org/10.1007/s12010-020-03429-0

BÜŞRA KONUK, H., & ERGÜDEN, B. (2017). Antifungal activity of various essential oils against Saccharomyces cerevisiae depends on disruption of cell membrane integrity. *Biocell*, *41*(1), 13–18. https://doi.org/10.32604/biocell.2017.41.013

Caneli, G., Chen, Y., Sungsoo, N., Anderson, G. G., & Xie, D. (2021). A dental filling composite resin restorative with improved antibacterial function and hardness. *Journal of Composite Materials*, *55*(2), 159–168. https://doi.org/10.1177/0021998320947144

Catel, Y., Angermann, J., Fässler, P., Fischer, U., Schnur, T., & Moszner, N. (2021). High refractive index monofunctional monomers as promising diluents for dental composites. *Dental Materials*, *37*(2), 351–358. https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.11.029

Çelik, S. Ü., Aslan, A., & Bozkurt, A. (2008). Phosphoric acid-doped poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) as water-free proton conducting polymer electrolytes. *Solid State Ionics*, *179*(19–20), 683–688. https://doi.org/10.1016/j.ssi.2008.04.033

Chen, L., Suh, B. I., & Yang, J. (2018). Antibacterial dental restorative materials: A review. *American Journal of Dentistry*, *31*(Sp Is B), 6B-12B.

Cheng, L., Weir, M. D., Xu, H. H. K., Antonucci, J. M., Kraigsley, A. M., Lin, N. J., Lin-Gibson, S., & Zhou, X. (2012). Antibacterial amorphous calcium phosphate nanocomposites with a quaternary ammonium dimethacrylate and silver nanoparticles. *Dental Materials*, *28*(5), 561–572. https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.01.005

Cherchali, F. Z., Attik, N., Mouzali, M., Tommasino, J. B., Abouelleil, H., Decoret, D., Seux, D., & Grosgogeat, B. (2020). Structural stability of DHMAI antibacterial dental composite following in vitro biological aging. *Dental Materials*, *36*(9), 1161–1169. https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.05.006

Cherifi, Z., Boukoussa, B., Zaoui, A., Belbachir, M., & Meghabar, R. (2018). Structural, morphological and thermal properties of nanocomposites poly(GMA)/clay prepared by ultrasound and in-situ polymerization. *Ultrasonics Sonochemistry*, *48*(March), 188–198. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.027

Cho, K., Rajan, G., Farrar, P., Prentice, L., & Prusty, B. G. (2022). Dental resin

composites: A review on materials to product realizations. *Composites Part B: Engineering*, *230*(November 2021), 109495. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109495

Cong, S., Wang, J., Wang, Z., & Liu, X. (2021). Polybenzimidazole (PBI) and benzimidazole-linked polymer (BILP) membranes. *Green Chemical Engineering*, *2*(1), 44–56. https://doi.org/10.1016/j.gce.2020.11.007

Cramer, N. B., Stansbury, J. W., & Bowman, C. N. (2011). Recent advances and developments in composite dental restorative materials. *Journal of Dental Research*, *90*(4), 402–416. https://doi.org/10.1177/0022034510381263

De Nys, S., Duca, R. C., Vervliet, P., Covaci, A., Boonen, I., Elskens, M., Vanoirbeek, J., Godderis, L., Van Meerbeek, B., & Van Landuyt, K. L. (2022). Bisphenol A release from short-term degraded resin-based dental materials. *Journal of Dentistry*, *116*(November 2021), 103894. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103894

De Nys, S., Putzeys, E., Duca, R. C., Vervliet, P., Covaci, A., Boonen, I., Elskens, M., Vanoirbeek, J., Godderis, L., Van Meerbeek, B., & Van Landuyt, K. L. (2021). Long-term elution of bisphenol A from dental composites. *Dental Materials*, *37*(10), 1561–1568. https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.08.005

Değirmenci, N. S., Uslu, M., Kırbaş, O. K., Şahin, F., & Önay Uçar, E. (2022). Lapatinib loaded exosomes as a drug delivery system in breast cancer. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *75*(July). https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103584

Derbalah, A., Shenashen, M., Hamza, A., Mohamed, A., & El Safty, S. (2018). Antifungal activity of fabricated mesoporous silica nanoparticles against early blight of tomato. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(2), 145–150. https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2018.05.002

Dhavale, R. P., Parit, S. B., Sahoo, S. C., Kollu, P., Patil, P. S., Patil, P. B., & Chougale, A. D. (2018a). α-amylase immobilized on magnetic nanoparticles: Reusable robust nano-biocatalyst for starch hydrolysis. *Materials Research Express*, *5*(7). https://doi.org/10.1088/2053-1591/aacef1

Dhavale, R. P., Parit, S. B., Sahoo, S. C., Kollu, P., Patil, P. S., Patil, P. B., & Chougale, A. D. (2018b). *α* -amylase immobilized on magnetic nanoparticles: reusable robust nano-biocatalyst for starch hydrolysis. *Materials Research Express*, *5*(7), 075403. https://doi.org/10.1088/2053-1591/aacef1

Dhinakaran, M. K., Soundarajan, K., & Mohan Das, T. (2014). Self-assembly of novel benzimidazole N-glycosylamines into nanofibers and nanospheres. *New Journal of Chemistry*, *38*(7), 2874–2883. https://doi.org/10.1039/c4nj00038b

Djemoui, A., Naouri, A., Ouahrani, M. R., Djemoui, D., Lahcene, S., Lahrech, M. B., Boukenna, L., Albuquerque, H. M. T., Saher, L., Rocha, D. H. A., Monteiro, F. L., Helguero, L. A., Bachari, K., Talhi, O., & Silva, A. M. S. (2020). A step-by-step synthesis of triazole-benzimidazole-chalcone hybrids: Anticancer activity in human cells+. *Journal of Molecular Structure*, *1204*, 127487. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127487

Doğan, İ. S., Saraç, S., Sari, S., Kart, D., Eşsiz Gökhan, Ş., Vural, İ., & Dalkara, S. (2017). New azole derivatives showing antimicrobial effects and their

mechanism of antifungal activity by molecular modeling studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *130*, 124–138. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.035

Dong, A., Xue, M., Lan, S., Wang, Q., Zhao, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Gao, G., Liu, F., & Harnoode, C. (2014). Bactericidal evaluation of N-halamine-functionalized silica nanoparticles based on barbituric acid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *113*, 450–457. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.048

Dong, H. R., Wu, J. G., & Huo, G. Y. (2022). Design, synthesis and biological studies of some new imidazole-1,2,3-triazole hybrid derivatives. *Journal of Molecular Structure*, *1256*, 132516. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132516

Drummond, J. L. (2008). Degradation, fatigue, and failure of resin dental composite materials. *Journal of Dental Research*, *87*(8), 710–719. https://doi.org/10.1177/154405910808700802

Durmus, Z., Unal, B., Toprak, M. S., Aslan, A., & Baykal, A. (2011). Synthesis and characterization of poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) (PVTri)barium hexaferrite nanocomposite. *Physica B: Condensed Matter*, *406*(11), 2298–2302. https://doi.org/10.1016/j.physb.2011.03.063

El-Shahat, M., El-Sofany, W. I., Soliman, A. G. A., & Hasanin, M. (2022). Newly synthesized imidazolotriazole, imidazolotriazine, and imidazole-pyrazole hybrid derivatives as promising antimicrobial agents. *Journal of Molecular Structure*, *1250*, 131727. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131727

Ergüden, B. (2021). Phenol group of terpenoids is crucial for antibacterial activity upon ion leakage. *Letters in Applied Microbiology*, *73*(4), 438–445. https://doi.org/10.1111/lam.13529

Erkartal, M., Usta, H., Citir, M., & Sen, U. (2016). Anhydrous proton conducting poly (vinyl alcohol) (PVA)/ poly (2-acrylamido-2- methylpropane sulfonic ... *Journal of Membrane Science*, *499*(May), 156–163. http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2015.10.032

Ermakova, T. G., Shaulina, L. P., Kuznetsova, N. P., Volkova, L. I., Pozdnyakov, A. S., & Prozorova, G. F. (2012). Sorption of noble metal compounds by cross-linked copolymer of 1-vinyl-1,2,4-triazole with acrylic acid. *Russian Journal of Applied Chemistry*, *85*(1), 35–40. https://doi.org/10.1134/S1070427212010077

Fallah, Z., Tajbakhsh, M., Alikhani, M., Larijani, B., Faramarzi, M. A., Hamedifar, H., Mohammadi-Khanaposhtani, M., & Mahdavi, M. (2022). A review on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationships of 1,2,3-triazole-based α-glucosidase inhibitors as promising anti-diabetic agents. *Journal of Molecular Structure*, *1255*, 132469. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132469

Fan, C., Chu, L., Rawls, H. R., Norling, B. K., Cardenas, H. L., & Whang, K. (2011). Development of an antimicrobial resin - A pilot study. *Dental Materials*, *27*(4), 322–328. https://doi.org/10.1016/j.dental.2010.11.008

Faria, M., Vilela, C., Mohammadkazemi, F., Silvestre, A. J. D., Freire, C. S. R., &

Cordeiro, N. (2019). Poly(glycidyl methacrylate)/bacterial cellulose nanocomposites: Preparation, characterization and post-modification. *International Journal of Biological Macromolecules*, *127*, 618–627. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.133

Farjadian, F., Roointan, A., Mohammadi-Samani, S., & Hosseini, M. (2019). Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, pharmaceutical applications, biodistribution, and biosafety assessment. *Chemical Engineering Journal*, *359*(June 2018), 684–705. https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.156

Fuentes, K. M., Onna, D., Rioual, T., Lago Huvelle, M. A., Britto, F., Simian, M., Sánchez-Domínguez, M., Soler-Illia, G. J. A. A., & Aldabe Bilmes, S. (2021). Copper upcycling by hierarchical porous silica spheres functionalized with branched polyethylenimine: Antimicrobial and catalytic applications. *Microporous and Mesoporous Materials*, *327*(August). https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.111391

G, A. C., Gondru, R., Li, Y., & Banothu, J. (2022). Coumarin–benzimidazole hybrids: A review of developments in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *227*(210), 113921. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113921

Gaba, M., & Mohan, C. (2016). Development of drugs based on imidazole and benzimidazole bioactive heterocycles: Recent advances and future directions. In *Medicinal Chemistry Research* (Vol. 25, Issue 2). Springer US. https://doi.org/10.1007/s00044-015-1495-5

Gao, F., Xiao, J., & Huang, G. (2019). Current scenario of tetrazole hybrids for antibacterial activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *184*, 111744. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111744

Gökalp, M., Dede, B., Tilki, T., & Karabacak Atay, Ç. (2020). Triazole based azo molecules as potential antibacterial agents: Synthesis, characterization, DFT, ADME and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure*, *1212*. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128140

Gómez-Laserna, O., Irizar, P., Lando, G., Kortazar, L., Irto, A., Ruiz-Rubio, L., Martinez-Arkarazo, I., Cardiano, P., & Olazabal, M. Á. (2021). Design of epoxy-silica hybrids based on cycloaliphatic diol of natural origin for conservation of lithic materials. *Progress in Organic Coatings*, *151*(December 2020), 1–11. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.106028

Gong, C., Yang, L., Zhou, J., Guo, X., & Zhuang, Z. (2017). Possible role of PAPR-1 in protecting human HaCaT cells against cytotoxicity of SiO2 nanoparticles. *Toxicology Letters*, *280*, 213–221. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.07.213

Gounani, Z., Asadollahi, M. A., Pedersen, J. N., Lyngsø, J., Skov Pedersen, J., Arpanaei, A., & Meyer, R. L. (2019). Mesoporous silica nanoparticles carrying multiple antibiotics provide enhanced synergistic effect and improved biocompatibility. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *175*(December 2018), 498–508. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.12.035

Grytsai, O., Valiashko, O., Penco-Campillo, M., Dufies, M., Hagege, A., Demange, L., Martial, S., Pagès, G., Ronco, C., & Benhida, R. (2020). Synthesis and biological evaluation of 3-amino-1,2,4-triazole derivatives as potential

anticancer compounds. *Bioorganic Chemistry*, *104*(September), 104271. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104271

Habib, E., Wang, R., & Zhu, X. X. (2018). Correlation of resin viscosity and monomer conversion to filler particle size in dental composites. *Dental Materials*, *34*(10), 1501–1508. https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.06.008

Hachemaoui, M., Boukoussa, B., Mokhtar, A., Mekki, A., Beldjilali, M., Benaissa, M., Zaoui, F., Hakiki, A., Chaibi, W., Sassi, M., & Hamacha, R. (2020). Dyes adsorption, antifungal and antibacterial properties of metal loaded mesoporous silica: Effect of metal and calcination treatment. *Materials Chemistry and Physics*, *256*(February), 123704. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123704

Han, X., Huang, L., Wei, Z., Wang, Y., Chen, H., Huang, C., & Su, S. (2021). Technology and mechanism of enhanced compatibilization of polylactic acid-grafted glycidyl methacrylate. *Industrial Crops and Products*, *172*(June), 114065. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114065

Hasany, M., Taebnia, N., Yaghmaei, S., Shahbazi, M. A., Mehrali, M., Dolatshahi-Pirouz, A., & Arpanaei, A. (2019). Silica nanoparticle surface chemistry: An important trait affecting cellular biocompatibility in two and three dimensional culture systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *182*(July), 110353. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110353

Hassankhani, A., & Mosaddegh, E. (n.d.). *c r v i h o e f*.

He, T., Tian, Y. Le, Qi, L., Zhang, J., & Zhang, Z. Q. (2014). Improved performance of α-amylase immobilized on poly(glycidyl methacrylate-co-ethylenedimethacrylate) beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, *65*, 492–499. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.066

Hosseini, A., Ramezani, S., Tabibiazar, M., Mohammadi, M., Golchinfar, Z., Mahmoudzadeh, M., & Jahanban-Esfahlan, A. (2021). Immobilization of α-amylase in ethylcellulose electrospun fibers using emulsion-electrospinning method. *Carbohydrate Polymers*, *278*(November 2021), 118919. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118919

Hou, Y., Zhu, L., He, K., Yang, Z., Ma, S., & Lei, J. (2021). Synthesis of three imidazole derivatives and corrosion inhibition performance for copper. *Journal of Molecular Liquids*, *348*, 118432. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118432

Hu, Y., Shen, Y., Wu, X., Tu, X., & Wang, G. X. (2018). Synthesis and biological evaluation of coumarin derivatives containing imidazole skeleton as potential antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *143*, 958–969. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.100

Huo, S., Liu, Z., Li, C., Wang, X., Cai, H., & Wang, J. (2019). Synthesis of a phosphaphenanthrene/benzimidazole-based curing agent and its application in flame-retardant epoxy resin. *Polymer Degradation and Stability*, *163*, 100–109. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.03.003

Iravani, K., Torkzadeh-mahani, M., & Mosaddegh, E. (2018). Materials Science & Engineering C Synthesis and characterization of aminotetrazole-

functionalized magnetic chitosan nanocomposite as a novel nanocarrier for targeted gene delivery. *Materials Science & Engineering C*, *89*(March), 166–174. https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.03.032

Jin, L., Liu, X., Bian, C., Sheng, J., Song, Y., & Zhu, Y. (2020). Fabrication linalool-functionalized hollow mesoporous silica spheres nanoparticles for efficiently enhance bactericidal activity. *Chinese Chemical Letters*, *31*(8), 2137–2141. https://doi.org/10.1016/j.cclet.2019.12.020

Kalyanpur, M. (2002). Downstream processing in the biotechnology industry. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, *22*(1), 87–98. https://doi.org/10.1385/mb:22:1:087

Karatas, E. (2021). *Food Bioscience Immobilization of Sporothrix schenckii 1099-18 exo-polygalacturonase in magnetic mesoporous silica yolk-shell spheres : Highly reusable biocatalysts for apple juice clarification*. *43*(August). https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101324

Karatepe, U. Y., & Ozdemir, T. (2020). Improving mechanical and antibacterial properties of PMMA via polyblend electrospinning with silk fibroin and polyethyleneimine towards dental applications. *Bioactive Materials*, *5*(3), 510–515. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.04.005

Kassab, R. M., Khalil, F. S. A. M., & Abbas, A. A. (2020). Synthesis and Antimicrobial Activities of Some New Bis(Schiff Bases) and Their Triazole-Based Lariat Macrocycles. *Polycyclic Aromatic Compounds*. https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1852272

Kaushik, C. P., Sangwan, J., Luxmi, R., Kumar, D., Kumar, D., Das, A., Kumar, A., & Singh, D. (2021). Design, synthesis, anticancer and antioxidant activities of amide linked 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles. *Journal of Molecular Structure*, *1226*, 129255. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129255

Kavas, H., Durmus, Z., Baykal, A., Aslan, A., Bozkurt, A., & Toprak, M. S. (2010). Synthesis and conductivity evaluation of PVTri-Fe3O4 nanocomposite. *Journal of Non-Crystalline Solids*, *356*(9–10), 484–489. https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2009.12.022

Khabnadideh, S., Rezaei, Z., Ghasemi, Y., & Montazeri-Najafabady, N. (2013). Antibacterial Activity of Some New Azole Compounds. *Anti-Infective Agents*, *10*(1), 26–33. https://doi.org/10.2174/2211362611201010026

Khanpanuek, S., Lunprom, S., Reungsang, A., & Salakkam, A. (2022). Repeated-batch simultaneous saccharification and fermentation of cassava pulp for ethanol production using amylases and Saccharomyces cerevisiae immobilized on bacterial cellulose. *Biochemical Engineering Journal*, *177*(June 2021), 108258. https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108258

Kim, S., Park, C., Cheon, K.-H., Jung, H.-D., Song, J., Kim, H.-E., & Jang, T.-S. (2018). Antibacterial and bioactive properties of stabilized silver on titanium with a nanostructured surface for dental applications. *Applied Surface Science*, *451*, 232–240.

Kubo, A. L., Capjak, I., Vrček, I. V., Bondarenko, O. M., Kurvet, I., Vija, H., Ivask, A., Kasemets, K., & Kahru, A. (2018). Antimicrobial potency of differently coated 10 and 50 nm silver nanoparticles against clinically relevant bacteria

Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *170*(April), 401–410. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.06.027

Kunicka-Styczyńska, A. (2011). Activity of essential oils against food-spoiling yeast. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, *26*(5), 326–328. https://doi.org/10.1002/ffj.2046

Kurtan, U., Guner, A., Amir, M. D., & Baykal, A. (2017). Enhanced antibacterial performance of Fe3O4-Ag and MnFe2O4-Ag nanocomposites. *Bulletin of Materials Science*, *40*(1), 147–155. https://doi.org/10.1007/s12034-016-1357-x

Laxmikeshav, K., Himaja, A., & Shankaraiah, N. (2021). Exploration of Benzimidazoles as Potential Microtubule Modulators: An Insight in the Synthetic and Therapeutic Evolution. *Journal of Molecular Structure*, *1253*, 132251. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132251

Lee, M. J., Kim, M. J., Kwon, J. S., Lee, S. B., & Kim, K. M. (2017). Cytotoxicity of light-cured dental materials according to different sample preparation methods. *Materials*, *10*(3), 1–12. https://doi.org/10.3390/ma10030288

Lei, L., Liu, X., Li, Y., Cui, Y., Yang, Y., & Qin, G. (2011). Study on synthesis of poly (GMA) -grafted Fe 3 O 4 / SiO X magnetic nanoparticles using atom transfer radical polymerization and their application for lipase immobilization. *Materials Chemistry and Physics*, *125*(3), 866–871. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.09.031

Leila, S., Mahmoud, H., Khiabani, S., Hamishehkar, H., & Salehi, R. (2015). Enhanced stability and catalytic activity of immobilized a -amylase on modified Fe 3 O 4 nanoparticles for potential application in food industries. *Journal of Nanoparticle Research*, *17*(9), 1–13. https://doi.org/10.1007/s11051-015-3174-3

Li, B., Tian, L., Pan, L., & Li, J. (2021). Molecular dynamics investigation of structural and mechanical properties of silica nanorod reinforced dental resin composites. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *124*(July), 104830. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104830

Li, Z., Zhang, H., Xiong, G., Zhang, J., Guo, R., Li, L., Zhou, H., Chen, G., Zhou, Z., & Li, Q. (2020). A low-shrinkage dental composite with epoxy-polyhedral oligomeric silsesquioxane. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *103*(November 2019), 103515. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103515

Lowry O H, Rosebrough N J, F. A. L. & R. R. J. (2014). Protein measurementwith the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.193:265, 1951. *Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research*, *1*, 921–921. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0753-5_100521

Lu, W., Chen, M., Cheng, M., Yan, X., Zhang, R., Kong, R., Wang, J., & Wang, X. (2021). Development of antioxidant and antimicrobial bioactive films based on Oregano essential oil/mesoporous nano-silica/sodium alginate. *Food Packaging and Shelf Life*, *29*(February), 100691. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100691

Luo, S., Liu, F., & He, J. (2019). Preparation of low shrinkage stress dental composite with synthesized dimethacrylate oligomers. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *94*(December 2018), 222–228. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.03.016

Ma, J. T., Du, J. X., Zhang, Y., Liu, J. K., Feng, T., & He, J. (2022). Natural imidazole alkaloids as antibacterial agents against Pseudomonas syringae pv. actinidiae isolated from kiwi endophytic fungus Fusarium tricinctum. *Fitoterapia*, *156*(October 2021), 105070. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2021.105070

Magadla, A., Openda, Y. I., Mpeta, L. S., & Nyokong, T. (2023). Evaluation of the antibacterial activity of gallic acid anchored phthalocyanine-doped silica nanoparticles towards Escherichia coli and Staphylococcus aureus biofilms and planktonic cells. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, *42*(March), 103520. https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103520

Mahmood, A., Ullah, I., Longo, R. L., & Irfan, A. (2015). Comptes Rendus Chimie Synthesis and structure of 1-benzyl-5-amino-1 H -tetrazole in the solid state and in solution : Combining X-ray diffraction , H NMR , FT – IR , and UV – Vis spectra and DFT calculations. *Comptes Rendus - Chimie*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.crci.2014.07.009

Martins da Silva Filho, P., Higor Rocha Mariano, P., Lopes Andrade, A., Barros Arrais Cruz Lopes, J., de Azevedo Pinheiro, A., Itala Geronimo de Azevedo, M., Carneiro de Medeiros, S., Alves de Vasconcelos, M., Gonçalvez da Cruz Fonseca, S., Barbosa Grangeiro, T., Gonzaga de França Lopes, L., Henrique Silva Sousa, E., Holanda Teixeira, E., & Longhinotti, E. (2023). Antibacterial and antifungal action of CTAB-containing silica nanoparticles against human pathogens. *International Journal of Pharmaceutics*, *641*(May), 123074. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123074

Milani, Z. M., Jalal, R., & Goharshadi, E. K. (2017). *Carbodiimide for Covalent - Amylase Immobilization onto Magnetic Nanoparticles*. *16*(3), 1–8. https://doi.org/10.1142/S0219581X17500156

Mirmohammadi, H. (2018). Resin-based ceramic matrix composite materials in dentistry. In *Advances in Ceramic Matrix Composites: Second Edition*. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102166-8.00030-X

Mitwalli, H., AlSahafi, R., Albeshir, E. G., Dai, Q., Sun, J., Oates, T. W., Melo, M. A. S., Xu, H. H. K., & Weir, M. D. (2021). Novel Nano Calcium Fluoride Remineralizing and Antibacterial Dental Composites. *Journal of Dentistry*, *113*(June), 103789. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103789

Mohamed, A., Hassan, T., Trzos-Grzybowska, M., Thomas, J., Quinn, A., O'Sullivan, M., Griffin, A., Rogers, T. R., & Talento, A. F. (2021). Multi-triazole-resistant Aspergillus fumigatus and SARS-CoV-2 co-infection: A lethal combination. *Medical Mycology Case Reports*, *31*(June), 11–14. https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2020.06.005

Moreno-Fuquen, R., Hincapié-Otero, M. M., Becerra, D., Castillo, J. C., Portilla, J., & Macías, M. A. (2021). Synthesis of 1-aroyl-3-methylsulfanyl-5-amino-1,2,4-triazoles and their analysis by spectroscopy, X-ray crystallography and theoretical calculations. *Journal of Molecular Structure*, *1226*, 129317.

https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129317

Mujika, J. I., Dalla Torre, G., & Lopez, X. (2018). Aluminum and Fenton reaction: How can the reaction be modulated by speciation? A computational study using citrate as a test case. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *20*(23), 16256–16265. https://doi.org/10.1039/c8cp02962h

Müller, J. A., Rohr, N., & Fischer, J. (2017). Evaluation of ISO 4049: water sorption and water solubility of resin cements. *European Journal of Oral Sciences*, *125*(2), 141–150. https://doi.org/10.1111/eos.12339

Nasrollahzadeh, M., Motahharifar, N., Sajjadi, M., Naserimanesh, A., & Shokouhimehr, M. (2022). Functionalization of chitosan by grafting Cu(II)-5-amino-1H-tetrazole complex as a magnetically recyclable catalyst for C-N coupling reaction. *Inorganic Chemistry Communications*, *136*(December 2021), 109135. https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.109135

Naveen, Tittal, R. K., Ghule, V. D., Yadav, P., Lal, K., & Kumar, A. (2020). Synthesis, antimicrobial potency with in silico study of Boc-leucine-1,2,3-triazoles. *Steroids*, *161*, 108675. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108675

Ndolomingo, M. J., Bingwa, N., & Meijboom, R. (2020). Review of supported metal nanoparticles: synthesis methodologies, advantages and application as catalysts. *Journal of Materials Science*, *55*(15), 6195–6241. https://doi.org/10.1007/s10853-020-04415-x

Nemallapudi, B. R., Guda, D. R., Ummadi, N., Avula, B., Zyryanov, G. V., Reddy, C. S., & Gundala, S. (2020). New Methods for Synthesis of 1,2,3-Triazoles: A Review. *Polycyclic Aromatic Compounds*, *0*(0), 1–19. https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1866038

Nguyen, V. T., Vu, V. T., Nguyen, T. H., Nguyen, T. A., Tran, V. K., & Nguyen-Tri, P. (2019). Antibacterial activity of TiO2-and zno-decorated with silver nanoparticles. *Journal of Composites Science*, *3*(2). https://doi.org/10.3390/jcs3020061

Nikam, D., & Milani, A. S. (2022). Effect of fiber orientation on the stresses generated in dental crowns made of glass fiber composites. *Composite Structures*, *279*(October 2021), 114790. https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2021.114790

Nimnual, P., Tummatorn, J., Boekfa, B., Thongsornkleeb, C., Ruchirawat, S., Piyachat, P., & Punjajom, K. (2019). Construction of 5-Aminotetrazoles via in Situ Generation of Carbodiimidium Ions from Ketones Promoted by TMSN3/TfOH. *Journal of Organic Chemistry*, *84*(9), 5603–5613. https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b00555

Nural, Y., Ozdemir, S., Yalcin, M. S., Demir, B., Atabey, H., Seferoglu, Z., & Ece, A. (2022). New bis- and tetrakis-1,2,3-triazole derivatives: Synthesis, DNA cleavage, molecular docking, antimicrobial, antioxidant activity and acid dissociation constants. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *55*(November 2021), 128453. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128453

Oktay, B., Demir, S., & Kayaman-Apohan, N. (2015). Immobilization of α-amylase onto poly(glycidyl methacrylate) grafted electrospun fibers by ATRP.

Materials Science and Engineering C, *50*, 386–393. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.02.033

Papadopoulou, A., Zarafeta, D., Galanopoulou, A. P., & Stamatis, H. (2019). Enhanced Catalytic Performance of Trichoderma reesei Cellulase Immobilized on Magnetic Hierarchical Porous Carbon Nanoparticles. *Protein Journal*, *38*(6), 640–648. https://doi.org/10.1007/s10930-019-09869-w

Parvekar, P., Palaskar, J., Metgud, S., Maria, R., & Dutta, S. (2020). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against Staphylococcus aureus . *Biomaterial Investigations in Dentistry*, *7*(1), 105–109. https://doi.org/10.1080/26415275.2020.1796674

Peng, X.-M., Cai, G.-X., & Zhou, C.-H. (2013). Recent developments in azole compounds as antibacterial and antifungal agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *13*(16), 1963–2010.

Pérez-Mondragón, A. A., Cuevas-Suárez, C. E., González-López, J. A., Trejo-Carbajal, N., Meléndez-Rodríguez, M., & Herrera-González, A. M. (2020). Preparation and evaluation of a BisGMA-free dental composite resin based on a novel trimethacrylate monomer. *Dental Materials*, *36*(4), 542–550. https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.02.005

Pongchaikul, P., Hajidariyor, T., Khetlai, N., Yu, Y. S., Arjfuk, P., Khemthong, P., Wanmolee, W., Posoknistakul, P., Laosiripojana, N., Wu, K. C. W., & Sakdaronnarong, C. (2023). Nanostructured N/S doped carbon dots/mesoporous silica nanoparticles and PVA composite hydrogel fabrication for anti-microbial and anti-biofilm application. *International Journal of Pharmaceutics: X*, *6*(August), 100209. https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2023.100209

Pozdnyakov, A. S., Ivanova, A. A., Emel'yanov, A. I., Bolgova, Y. I., Trofimova, O. M., & Prozorova, G. F. (2020). Water-soluble stable polymer nanocomposites with AuNPs based on the functional poly(1-vinyl-1,2,4-triazole-co-N-vinylpyrrolidone). *Journal of Organometallic Chemistry*, *922*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2020.121352

Radabutra, S., Khemthong, P., Saengsuwan, S., Chanthadand, C., Ponyut, N., & Pijarn, N. (2022). Preparation and characterization of wood-to-wood bonding adhesive by glycidyl methacrylate grafting natural rubber. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, *114*(December 2020), 103093. https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2022.103093

Radakovic, N., Nikolić, A., Jovanović, N. T., Stojković, P., Stankovic, N., Šolaja, B., Opsenica, I., & Pavic, A. (2022). Unraveling the anti-virulence potential and antifungal efficacy of 5-aminotetrazoles using the zebrafish model of disseminated candidiasis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *230*. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114137

Raka, S. C., Rahman, A., Hussain, F., & Rahman, S. M. A. (2022). Synthesis, characterization and in vitro, in vivo, in silico biological evaluations of substituted benzimidazole derivatives. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(1), 239–250. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.082

Rananaware, P., Brahmkhatria, V. P., Dasgupta, D., & Patel, A. (2023).

Functionalized mesoporous silica for drug delivery of poorly soluble polyphenols: Synthesis, characterization, and antimicrobial action. *Journal of Solid State Chemistry*, *326*(July), 124214. https://doi.org/10.1016/j.jssc.2023.124214

Ribes, S., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fuentes, A., Talens, P., Martínez-Máñez, R., & Barat, J. M. (2017). Eugenol and thymol immobilised on mesoporous silica-based material as an innovative antifungal system: Application in strawberry jam. *Food Control*, *81*, 181–188. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.006

Rohand, T., Mkpenie, V. N., El Haddad, M., & Markó, I. E. (2019). A Novel Iron-catalyzed One-pot Synthesis of 3-Amino-1,2,4-triazoles. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, *56*(2), 690–695. https://doi.org/10.1002/jhet.3450

Rosso, P., & Ye, L. (2007). Epoxy/silica nanocomposites: Nanoparticle-induced cure kinetics and microstructure. *Macromolecular Rapid Communications*, *28*(1), 121–126. https://doi.org/10.1002/marc.200600588

Samrin, F., Sharma, A., Khan, I. A., & Puri, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of new diaryldiamines. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, *49*(6), 1391–1397. https://doi.org/10.1002/jhet.1040

Sattary, M., Amini, J., & Hallaj, R. (2020). Antifungal activity of the lemongrass and clove oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles against wheat's take-all disease. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *170*(August), 104696. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104696

Sharma, M. K., Parashar, S., Chahal, M., Lal, K., Pandya, N. U., & Om, H. (2022). Antimicrobial and in-silico evaluation of novel chalcone and amide-linked 1,4-disubstituted 1,2,3 triazoles. *Journal of Molecular Structure*, *1257*, 132632. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132632

Sikorski, R. S., & Hieter, P. (1989). A system of shuttle vectors and yeast host strains designed for efficient manipulation of DNA in Saccharomyces cerevisiae. *Genetics*, *122*(1), 19–27. https://doi.org/10.1093/genetics/122.1.19

Singh, S., Singh, A. K., Singh, M. C., & Pandey, P. K. (2017). Immobilization Increases the Stability and Reusability of Pigeon Pea NADP+ Linked Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. *Protein Journal*, *36*(1), 49–55. https://doi.org/10.1007/s10930-017-9702-5

Sinirlioglu, D., Muftuoglu, A. E., & Bozkurt, A. (2013). 5-(Methacrylamido)tetrazole and vinyl triazole based copolymers as novel anhydrous proton conducting membranes. *Journal of Polymer Research*, *20*(9). https://doi.org/10.1007/s10965-013-0242-1

Son, M. J., & Lee, S. W. (2021). Antibacterial toxicity of mesoporous silica nanoparticles with functional decoration of specific organic moieties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *630*(August), 127612. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127612

Soydan, A. M., Bozkurt, A., & Introduction, I. (2015). *Synthesis and characterization of novel multifunctional polymer grafted hollow silica spheres*. https://doi.org/10.1557/jmr.2015.222

Sprenger, S. (2013). Epoxy resins modified with elastomers and surface-modified

silica nanoparticles. *Polymer*, *54*(18), 4790–4797. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2013.06.011

Staniszewska, M., Gizińska, M., Mikulak, E., Adamus, K., Koronkiewicz, M., & Łukowska-Chojnacka, E. (2018). New 1,5 and 2,5-disubstituted tetrazoles-dependent activity towards surface barrier of Candida albicans. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *145*, 124–139. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.089

Stingaci, E., Zveaghinteva, M., Pogrebnoi, S., Lupascu, L., Valica, V., Uncu, L., Smetanscaia, A., Drumea, M., Petrou, A., Ciric, A., Glamoclija, J., Sokovic, M., Kravtsov, V., Geronikaki, A., & Macaev, F. (2020). New vinyl-1,2,4-triazole derivatives as antimicrobial agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *30*(17), 127368. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127368

Sun, J., Fan, Y., Zhang, P., Zhang, X., Zhou, Q., Zhao, J., & Ren, L. (2020). Self-enriched mesoporous silica nanoparticle composite membrane with remarkable photodynamic antimicrobial performances. *Journal of Colloid and Interface Science*, *559*, 197–205. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.10.021

Syed, M. R., Bano, N. Z., Ghafoor, S., Khalid, H., Zahid, S., Siddiqui, U., Hakeem, A. S., Asif, A., Kaleem, M., & Khan, A. S. (2020). Synthesis and characterization of bioactive glass fiber-based dental restorative composite. *Ceramics International*, *46*(13), 21623–21631. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.05.268

Szulczyk, D., Dobrowolski, M. A., Roszkowski, P., Bielenica, A., Stefańska, J., Koliński, M., Kmiecik, S., Jóźwiak, M., Wrzosek, M., Olejarz, W., & Struga, M. (2018). Design and synthesis of novel 1H-tetrazol-5-amine based potent antimicrobial agents: DNA topoisomerase IV and gyrase affinity evaluation supported by molecular docking studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *156*, 631–640. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.041

Trivedi, M. K., Dahryn Trivedi, A. B., & Gunin Saikia, G. N. (2015). Physical and Structural Characterization of Biofield Treated Imidazole Derivatives. *Natural Products Chemistry & Research*, *03*(05). https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000187

Tsuneda, T. (2020). Fenton reaction mechanism generating no OH radicals in Nafion membrane decomposition. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-020-74646-0

Ulu, A., Abbas, S., Noma, A., Koytepe, S., & Ates, B. (2019). *Chloro-Modified Magnetic Fe 3 O 4 @ MCM-41 Core – Shell Nanoparticles for L-Asparaginase Immobilization with Improved Catalytic Activity , Reusability , and Storage Stability*. 938–956.

Ulu, A., Birhanli, E., Boran, F., Köytepe, S., Yesilada, O., & Ate, B. (2020). *International Journal of Biological Macromolecules Laccase-conjugated thiolated chitosan-Fe 3 O 4 hybrid composite for biocatalytic degradation of organic dyes*. *150*, 871–884. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.006

Ulu, A., Ozcan, I., Koytepe, S., & Ates, B. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Design of epoxy-functionalized Fe 3 O 4 @ MCM-41 core – shell nanoparticles for enzyme immobilization. *International*

Journal of Biological Macromolecules, *115*, 1122–1130. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.157

Ünal, A., Subaşı, A. S., Malkoç, S., Ocak, İ., Korcan, S. E., Yetilmezer, E., Yurdugül, S., Yaman, H., Şanal, T., & Keçeli, A. (2022). Potential of fungal thermostable alpha amylase enzyme isolated from Hot springs of Central Anatolia (Turkey) in wheat bread quality. *Food Bioscience*, *45*(November 2021), 101492. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101492

Usul, S. K., Aslan, A., Lüleci, H. B., Ergüden, B., Çöpoğlu, M. T., Oflaz, H., Soydan, A. M., & Özçimen, D. (2022). Investigation of antimicrobial and mechanical effects of functional nanoparticles in novel dental resin composites. *Journal of Dentistry*, 104180. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2022.104180

Verma, N. K., & Raghav, N. (2021). International Journal of Biological Macromolecules Comparative study of covalent and hydrophobic interactions for α -amylase immobilization on cellulose derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, *174*, 134–143. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.033

Wang, J., Chen, Y., An, J., Xu, K., Chen, T., Müller-Buschbaum, P., & Zhong, Q. (2017). Intelligent Textiles with Comfort Regulation and Inhibition of Bacterial Adhesion Realized by Cross-Linking Poly(n-isopropylacrylamide-co-ethylene glycol methacrylate) to Cotton Fabrics. *ACS Applied Materials and Interfaces*, *9*(15), 13647–13656. https://doi.org/10.1021/acsami.7b01922

Wang, K., Lv, R., Sun, S., Dong, F., Liu, M., Liu, J., & Nie, X. (2021). Nanobiocatalyst consisting of immobilized α-amylase on montmorillonite exhibiting enhanced enzymatic performance based on the allosteric effect. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *211*(December 2021), 112290. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112290

Wang, S. Q., Wang, Y. F., & Xu, Z. (2019). Tetrazole hybrids and their antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *170*, 225–234. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.023

Wang, Y., Zhu, M., & Zhu, X. X. (2021). Functional fillers for dental resin composites. *Acta Biomaterialia*, *122*, 50–65. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.12.001

Wang, Z., Shen, Y., & Haapasalo, M. (2014). Dental materials with antibiofilm properties. *Dental Materials*, *30*(2), e1–e16. https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.001

Wu, M., Zhang, F., Yu, J., Zhou, H., Zhang, D., Hu, C., & Huang, J. (2014). Fabrication and evaluation of light-curing nanocomposite resins filled with surface-modified TiO2 nanoparticles for dental application. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*, *23*(7), 513–524. https://doi.org/10.1007/s13726-014-0246-7

Wu, Y., Zhao, S., & Hu, L. (2022). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Identification of potent α -amylase inhibitors via dynamic combinatorial chemistry*. *55*(January).

Xu, Y., Gao, D., Dong, Q., Li, M., Liu, A., Wang, X., Wang, S., & Liu, Q. (2021).

Anticorrosive behavior of epoxy coating modified with hydrophobic nano-silica on phosphatized carbon steel. *Progress in Organic Coatings*, *151*(December 2020), 106051. https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.106051

Yadav, R., & Kumar, M. (2019). Dental restorative composite materials: A review. *Journal of Oral Biosciences*, *61*(2), 78–83. https://doi.org/10.1016/j.job.2019.04.001

Yadav, R., & Meena, A. (2021). Comparative investigation of tribological behavior of hybrid dental restorative composite materials. *Ceramics International*, *November*. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.11.220

Yang, D. L., Sun, Q., Niu, H., Wang, R. L., Wang, D., & Wang, J. X. (2020). The properties of dental resin composites reinforced with silica colloidal nanoparticle clusters: Effects of heat treatment and filler composition. *Composites Part B: Engineering*, *186*(December 2019), 107791. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2020.107791

Yang, Y., Xu, Z., Guo, Y., Zhang, H., Qiu, Y., Li, J., Ma, D., Li, Z., Zhen, P., Liu, B., & Fan, Z. (2021). Novel core–shell CHX/ACP nanoparticles effectively improve the mechanical, antibacterial and remineralized properties of the dental resin composite. *Dental Materials*, *37*(4), 636–647. https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.01.007

Yao, S., Li, T., Zhou, C., Weir, M. D., Melo, M. A. S., Tay, F. R., Lynch, C. D., Imazato, S., Wu, J., & Xu, H. H. K. (2020). Novel antibacterial and therapeutic dental polymeric composites with the capability to self-heal cracks and regain mechanical properties. *European Polymer Journal*, *129*(February), 109604. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109604

Yek, S. M. G., Azarifar, D., Nasrollahzadeh, M., Bagherzadeh, M., & Shokouhimehr, M. (2020). Heterogenized Cu(II) complex of 5-aminotetrazole immobilized on graphene oxide nanosheets as an efficient catalyst for treating environmental contaminants. *Separation and Purification Technology*, *247*(March), 116952. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116952

Yushau, U. S., Almofeez, L., & Bozkurt, A. (2019). Aminotriazole functional silica incorporated BisGMA/TEGDMA resins as dental nanocomposites. *Polymers and Polymer Composites*, *27*(8), 488–495. https://doi.org/10.1177/0967391119850366

Zaoui, F., Elhadj Daouadji, B., Beldjilali, M., Hachemaoui, M., Sebba, F. Z., Mokhtar, A., & Boukoussa, B. (2023). Classical and ultrasonic preparation of new dendrimer–Copper nanocomposites: Application in the catalytic reduction, antioxidant, and antimicrobial activities. *Applied Organometallic Chemistry*, *March*, 1–14. https://doi.org/10.1002/aoc.7099

Zaoui, F., Hachemaoui, M., Sebba, F. Z., Mokhtar, A., Bounaceur, B., Ould Kada, S., Cherifi, Z., & Boukoussa, B. (2023). Ultrasonic preparation of new nanocomposites poly(GMA)@amino-functionalized Fe3O4: structural, morphological and thermal properties. *Polymer Bulletin*, *80*(7), 7389–7406. https://doi.org/10.1007/s00289-022-04389-7

Zaoui, F., Sebba, F. Z., Liras, M., Sebti, H., Hachemaoui, M., Mokhtar, A., Beldjilali, M., Bounaceur, B., & Boukoussa, B. (2021). Ultrasonic preparation

of a new composite poly(GMA)@Ru/TiO2@Fe3O4: Application in the catalytic reduction of organic pollutants. *Materials Chemistry and Physics*, *260*(October 2020), 124146. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.124146

Zarafu, I., Jebur Al Taweel, A. A., Limban, C., Popa, M., Măruțescu, L., Chifiriuc, M. C., Pircalabioru, G. G., Culiță, D., Ghica, C., & Ionita, P. (2020). Aminopropyl-silica functionalized with halogen-reactive compounds for antimicrobial applications. *Materials Chemistry and Physics*, *241*(October 2019). https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122353

Zhang, D., Cao, C., Lu, S., Cheng, Y., & Zhang, H. (2019). Experimental insight into catalytic mechanism of transition metal oxide nanoparticles on combustion of 5-Amino-1 H -Tetrazole energetic propellant by multi kinetics methods and TG-FTIR-MS analysis. *Fuel*, *245*(February), 78–88. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.02.007

Zhang, Y., Chen, Y., & Chen, J. (2021). The starch hydrolysis and aroma retention caused by salivary α-amylase during oral processing of food. *Current Opinion in Food Science*, *43*, 237–245. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.014

Zhao, J., Pan, H., Yang, H., Bian, J., Zhang, H., Gao, G., & Dong, L. (2020). Study on miscibility, thermal properties, degradation behaviors, and toughening mechanism of poly(lactic acid)/poly (ethylene-butylacrylate-glycidyl methacrylate) blends. *International Journal of Biological Macromolecules*, *143*, 443–452. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.226

Zhou, J., Yang, D., Liu, K. A. I., Hou, L., & Zhang, W. (2019). Systematic review and meta-analysis of the protective effect of resveratrol on multiple organ injury induced by sepsis in animal models. *Biomedical Reports*, *10*(1), 55–62. https://doi.org/10.3892/br.2018.1169

Zhu, X. W., Luo, D., Zhou, X. P., & Li, D. (2022). Imidazole-based metal-organic cages: Synthesis, structures, and functions. *Coordination Chemistry Reviews*, *455*, 214354. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214354

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

Aslan, A., & Usul, S. K. (2021). Dental Uygulamalar İçin Yeni Nesil Fonksiyonel Nanokompozitlerin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, *9*(3), 1027-1043.

Kaptan Usul, S., Binay, B., Soydan, A. M., Yüzüak, O., & Aslan, A. (2022). Immobilization of the Bacillus licheniformis α-Amylase on Azole Functionalized Nanoparticle: More Active, Stable, and Usability. *The Protein Journal*, *41*(6), 671-680.

Usul, S. K., Aslan, A., Lüleci, H. B., Ergüden, B., Çöpoğlu, M. T., Oflaz, H., ... & Özçimen, D. (2022). Investigation of antimicrobial and mechanical effects of functional nanoparticles in novel dental resin composites. *Journal of dentistry*, *123*, 104180.

Usul, S. K., Aslan, A., & Özçimen, D. Azol fonksiyonel gözenekli ve içi boş silika nanokompozitlerin karakterizasyonu ve antifungal uygulamaları. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, *5*(Ek sayı 1)), 151-156.

Usul, S. K., Lüleci, H. B., Değirmenci, N. S., Ergüden, B., & Aslan, A. (2023). Differential silica nanoparticles functionalized with branched poly (1-Vinyl-1, 2, 4-triazole): antibacterial, antifungal, and cytotoxic qualities. (Ön baskı)

Usul, S. K., Lüleci, H. B., Ergüden, B. Aslan, A. (2023). Antimicrobial Properties of Azole Functional Silica Nanocomposites. *Chemistry Select*,8(43), e202303059.

Konferans Bildirileri

A. Aslan and S. Kaptan Usul. "As novel dental composites filler: Azol functional SiO_2" International Symposium on Industry 4.0 and Applications, Karabük, 12-14 October 2017.

S. Kaptan Usul and A. Aslan. "Novel Functional Nanoparticles/Polymers for Dental Composite Applications" 15th Nanoscience and Nanotechnology Conference, Antalya, 03-06 November 2019.

A. Aslan and S. Kaptan Usul. “Benzimidazol-SiO_2 nanobiyokompozitlerin dental uygulamaları” International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, Ankara, 16-18 December 2020 (Oral presentation).

A. Aslan and S. Kaptan Usul. “Amino fonksiyonel nanokompozitlerin sentezi ve karakterizasyonu” International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, Ankara, 16-18 December 2020.

S. Kaptan Usul and A. Aslan. “Preparation and Characterization of Azol Functionalized Nanoparticles for Amylase Immobilization” 13th International Conference On Protein Stabilization, Bulgaria, 07-09 October 2021 (Oral presentation).

S. Kaptan Usul, A. Aslan and D. Özçimen. “Azol fonksiyonel gözenekli ve içi boş silika nanokompozitlerin karakterizasyonu ve antifungal uygulamaları” 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, 24-26 November 2021 (Oral presentation).

Ödüller ve Burslar

1. TÜBİTAK BİDEB BURSU (2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı 2017/1).