

**GÜMÜŞ İÇEREN NANOPARTİKÜLLER / TUZLAR İLE YÜKLÜ  
MONTMORİLLONİT ESASLI NANOKOMPOZİTLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ**

**DEVELOPMENT AND ANTICANCER PROPERTIES OF  
NANOCOMPOSITES BASED ON MONTMORILLONIT LOADED WITH  
SILVER CONTAINING NANOPARTICLES / SALTS**

**SEVDA ZARGAROVA**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.

2013

*Sevgili Aileme*

# GÜMÜŞ İÇEREN NANOPARTİKÜLLER / TUZLAR İLE YÜKLÜ MONTMORİLLONİT ESASLI NANOKOMPOZİTLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ

Sevda ZARGAROVA

## ÖZ

PLA ve fonksiyonel kopolimer bazlı nanokompozitler polimer alanında pek çok araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu yüzden PLA, kontrollü salım ve doku kültürü gibi biomühendislik alanlarında önem taşımaktadır. PLA/kil nanoparçacıklarının çözeltide karıştırma yöntemi ile hazırlanması iyi bilinmekte ve kullanılmaktadır. Polimer/kil nanoparçacıklarının üretiminde en umut verici yöntem çeşitli fonksiyonel monomerlerin interkalasyon (ko)polimerizasyon yöntemi olarak bilinmektedir. Buna rağmen, laktik asit monomeri, organokil eşliğinde alternatif maleik anhidrit kopolimerleri ile graft kopolimerizasyonları araştırılmamıştır. Bunlara dayanarak bu konu grubumuz tarafından araştırılmış ve yayın yapılmıştır. Reaktif ve reaktif olmayan organokiller varlığında maleik anhidritin ve bütil metakrilat ile beraber itakonit asidin karmaşık radikal interlamellar çözelti kopolimerizasyonunu kapsamaktadır. Belirtilen tezde fonksiyonel kopolimer-*g*-biyopolimerin iki boyutlu silikon nanoparçacıklarda ve onların Ag<sup>+</sup> iyonların taşıyan nanohibritlerde sentezi ve karakterizasyonu yapılmıştır. Sonuç olarak, silikon tabakalı (oktadesilamin-montmorillonit, ODA-MMT; dimetildidodesil amonyum-montmorillonit, DMDA-MMT) yeni bio-fonksiyonel kopolimer olarak [poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen)-*g*-biopolymer (poli(L-laktik asit))] nanoparçacıklar ve onların Ag<sup>+</sup> iyonlu türevleri sentezlenmiştir. İşlem vakum altında 80 °C'de, katalizör olarak kalay oktoat, nanodolgu olarak ise önceden interkala olunmuş LA...MMT organokiller (ODA-MMT ve DMDA-MMT) kompleksi kullanılarak, L-laktik asit (LA) monomerini (veya LA-Ag<sup>+</sup>) reaktif matris polimeri gibi kullanılan kopolimer üzerine eklenerek katalitik interlamellar yığın kopolimerizasyonu olarak gerçekleştirildi. FTIR, <sup>1</sup>H (<sup>13</sup>C) NMR, XRD, SEM-TEM ve DSC-TGA gibi analiz metodlarını kullanarak, oluşan nanopartiküllerin kimyasal ve fiziksel yapıları, morfolojisi ve ısıl davranışları araştırılmıştır. Yapılan graft kopolimerizasyonu dört aşamaya bölünmüştür: (1) LA ve kopolimerin anhidrit kısmının esterleştirilmesi; (2) LA monomeri ile silika etkileşimi; (3) matris kopolimerinin silika tabakaları arasında eş-anlı amidleme etkileşimi ve kompleks ürün hazırlama reaksiyonu; (4) eş-anlı interkalasyon/eksfolye yöntemi kullanılarak kopolimer ile LA intermellar graft

kopolimerizasyonu. Nanopartiküllerin özellikleri ve morfolojisi MMT killerinin kökenine ve eş-anlı yönteminin modeline (amidizasyon, güçlü hidrojen bağı, hidrofobik/hidrofilik ara yüz bağlar) bağlıdır. Son aşama olarak üretilen nanokompozitlerin antikanser özellikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak nanokompozitlerin antimikrobiyel aktivesinin olmadığı, ama kanser hücreleri üzerinde seçici antikanser özellikler sergilediği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** : Lamellar arası graft kopolimerasyon, alternatif kopolimer, PLA, organokiller, nanoparçacıklar, Ag<sup>+</sup> yüklü nanohibritler, termal davranışlar, çekirdek-kabuk morfolojisi, biomühendislik aktivitesi, antikanser özellikleri.

**Danışman:** Prof. Dr. ERHAN BİŞKİN, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü ve Biyomühendislik Anabilim Dalı.

**Eş-danışman:** Prof. Dr. Zakir RZAYEV, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı.

# DEVELOPMENT AND ANTICANCER PROPERTIES OF NANOCOMPOSITES BASED ON MONTMORILLONIT LOADED WITH SILVER CONTAINING NANOPARTICLES / SALTS

Sevda ZARGAROVA

## ABSTRACT

Recently, the attentions of many researchers were focused on PLA and functional alternating copolymers based nanocomposites. PLA is of significant interest in bioengineering applications such as wound closure, tissue culture and controlled release. Preparation of PLA/clay nanocomposites by using solution blending method was also reported. Although the most promising reaction for the synthesis of polymer/clay nanocomposites is the intercalative (co)polymerization of various functional monomers, the interlamellar graft copolymerization of lactic acid monomer onto alternating copolymers of maleic anhydride in the presence of organoclay has been not investigated. Complex-radical interlamellar solution copolymerization of maleic anhydride and itaconic acid with butyl methacrylate in the presence of reactive and non-reactive organoclays was the subject of recent publications of our group.

This thesis presents a new approach for the synthesis and characterization of functional copolymer-*g*-biopolymer in two dimensional layered silicate nanocomposites and their Ag<sup>+</sup>-carried nano hybrids. Novel bioengineering functional copolymer [poly(maleic anhydride-alt-1-octadecene)-*g*-biopolymer (poly(L-lactic acid))] layered silicate (octadecylamine-montmorillonite, ODA-MMT and dimethyldidodecyl ammonium-MMT, DMDA-MMT) nanocomposites and their Ag<sup>+</sup>-carried derivatives were synthesized by catalytic interlamellar bulk graft copolymerization of L-lactic acid (LA) monomer (or LA-Ag<sup>+</sup>) onto alternating copolymer as a reactive matrix polymer in the presence of preintercalated LA...MMT organoclays (ODA-MMT and DMDA-MMT) complexes as nanofillers and tin octoate as a catalyst under vacuum at 80°C. Chemical and physical structures, morphology, and thermal behavior of nanocomposites were investigated by FTIR, <sup>1</sup>H (<sup>13</sup>C) NMR, XRD, SEM-TEM and DSC-TGA analysis methods. It was found that graft copolymerization includes the following steps: (1) esterification of anhydride units of copolymer with LA, (2) intercalation of LA monomer between silicate galleries, (3) intercalation of matrix copolymer into silicate layers through *in situ* amidization and complex-forming reactions, and (4)

interlamellar graft copolymerization of LA onto copolymer via *in situ* intercalating/exfoliating processing. The properties and morphology of nanocomposites significantly depend on the origin of MMT clays and type of *in situ* processing (amidization, strong H-bonding and self-assembled hydrophobic/hydrophilic interfacial interactions). As a final stage, anticancer properties of produced nanocomposites were investigated. It was found that nanocomposites demonstrate selective anticancer properties on the cancer cells.

**Key words:** Interlamellar graft copolymerization, alternating copolymer, PLA, organoclays, nanocomposites, Ag<sup>+</sup>-carried nanohybrids, thermal behavior, core-shell morphology, bioengineering activity, anticancer properties.

**Advisor:** Prof. Dr. Erhan BIŞKIN, Hacettepe University, Department of Chemical Engineering, Division of Bioengineering.

**Co-Advisor:** Prof. Dr. Zakir RZAYEV, Hacettepe University, Institute of Science & Engineering, Division of Nanotechnology and Nanomedicine.

## TEŐEKKÜRLER

*Kendisiyle tez çalışmamı yapabilmek için bana müsaade eden, eğitimimde bana her zaman yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Erhan Bişkin'e;*

*Yüksek lisans dönemi süresinde deneylerimle ilgilenen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam Prof.Dr. Zakir Rzayev'e;*

*Deneyler sırasında yapılan numunelerin antikanser analizleri için Kırıkkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü anabilim dalı yesi Doç.Dr. Mustafa Türk'e ve Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Araş. Gör. Demet Erdönmez'e;*

*Tezimin alışma süresinde bana her türlü yardımıyı esirgemeyen ve bilgilerini bana aktaran arkadaşım Kuroş'a;*

*Yüksek lisans boyunca bana destek veren ve her zaman yardımcı olan arkadaşlarım Araz, Mehmet, Behzat, Ayfer, Ebru'ya;*

*Tüm yaşamım boyunca her türlü yardımda bulunan, her zaman beni destekleyen sevgili aileme;*

*Sonsuz teőekkürlerimi sunarım.*

*Sevda Zargarova*

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Organik Killer ve Sınıflandırılması.....	4
2.2. Kil Tabakalarının Polimer İçende Dağılımı.....	5
2.2.1. Kil tabakalı polimerler sentezi.....	6
2.2.1.1. Eş-anlı (in-situ) polimerleşme yöntemi .....	6
2.2.1.2. Çözelti ortamında araya girme (intercalation from solution).....	7
2.2.1.3. Erime ortamında araya girme (melt intercalation).....	8
2.3. Laktik Asit.....	8
2.3.1. Laktik asitten (poli)laktik asit üretimi.....	9
2.3.2. (Poli)laktik asidin laktik aside indirgenmesi.....	11
2.3.3. Laktik ve (poli)laktik asit uygulamaları.....	11
2.4. Maleik Anhidrit.....	12
2.5. Nanoteknoloji.....	13
2.5.1. Nanopartiküller.....	14
2.5.1.1. Gümüş içeren nanopartiküller.....	14
2.5.1.2. Gümüş içeren nanopartiküllerin üretimi.....	15
2.6. Polimer Nanopartiküllerin İnceleme Analiz Yöntemleri.....	16
2.6.1. X-ışını difraksiyonu (XRD).....	16
2.6.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	17



## İÇİNDEKİLER DİZİNİ (Devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.6.3. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM).....	18
2.6.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR).....	19
2.6.5. Nükleer manyetik rezonans (NMR).....	20
2.6.6. Zeta ölçüm cihazları.....	21
2.6.7. DSC, TGA, DTG analizleri.....	21
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	23
3.1. Kullanılan Malzemeler.....	23
3.1.1. Montmorillonit (MMT).....	23
3.1.2. Laktik asit (LA).....	24
3.1.3. Poli(maleik anhidrit- <i>alt</i> -1-oktadesen).....	25
3.1.4. Gümüş nitrat.....	26
3.1.5. Kalay (II) oktoat.....	26
3.2. Montmorillonit Tabakalı Polimerlerin Sentezi.....	27
3.2.1. Laktik asidin kopolimer (poli(maleik anhidrit- <i>alt</i> -1-oktadesen)) üzerine aşılması.....	27
3.2.2. Gümüş nitrat etkileşimi.....	27
3.2.3. Laktik asidin montmorillonitler içerisinde dağılımı.....	27
3.2.4. Nanokompozitlerin sentez mekanizması.....	27
3.2.5. Polimer nanokompozitlerin ayırma işlemi.....	28
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR.....	29
4.1. FTIR Analizinin Sonuçları.....	29
4.2. Nanokompozitlerin NMR Analizinin Sonuçları.....	30
4.3. XRD Analizi ve Sonuçları.....	33
4.4. SEM Analizinin Açıklamaları.....	37
4.5. Nanokompozitlerin TEM Analizi.....	40
4.6. DSC, TGA ve DTG Analizlerinin Sonuçlarının İncelenmesi.....	44
4.7. Zeta ( $\zeta$ ) Boyutları ve Potansiyeli.....	50

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ (Devam ediyor)

### Sayfa

5.KOPOLİMER- <i>g</i> -ola VE Ag <sup>+</sup> İÇEREN KOPOLİMER- <i>g</i> -PLA/ORGANİK KİL NANOKOMPOZİTİNİN ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ.....	53
5.1.Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler.....	53
5.2.MCF-7 ve L929 Fibroblast Hücrelerinin İn Vitro Kültürünün Hazırlanması.....	54
5.3.Analiz Yöntemleri.....	54
5.3.1.xCELLigence RTCA ile (C- <i>g</i> -PLA) ve (C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT'nin MCF-7 (Meme Kanseri Hücreleri-7) ve Fibroblast hücreleri üzerindeki proliferasyon ve toksisitesinin belirlenmesi.....	54
5.3.2. (C- <i>g</i> -PLA) ve (C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT'nin MCF-7 ve L929 Fibroblast hücrelerinde ikili boyama metodu ile apoptozun ve nekrozun belirlenmesi.....	55
5.4.Sonuçlar ve Tartışmalar.....	56
5.4.1.Toksisite ve proliferasyon sonuçları.....	56
5.4.2.Apoptoz nekroz sonuçları.....	60
6.SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	69

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Tabakalı polimer nanokompozitler [5].....	6
Şekil 2.2. Eş-anlı polimerleşme [6].....	7
Şekil 2.3. Çözelti ortamında araya girme yöntemi [6].....	7
Şekil 2.4. Erime ortamında araya girme yöntemi [6].....	8
Şekil 2.5. Laktik asit izomerleri [9].....	9
Şekil 2.6. Laktik asit polimerizasyon yöntemleri [11].....	10
Şekil 2.7. Nanoteknolojide mikro- ve nanopartiküllerin boyut alanları.....	13
Şekil 2.8. X-ışın difraksiyonunun iş prensibi [6].....	17
Şekil 2.9. Taramalı elektron mikroskobunun şematiği [30].....	18
Şekil 2.10. Transmisyon elektron mikroskobu [31].....	19
Şekil 2.11. FTIR spektroskopisinin genel şeması [37].....	20
Şekil 2.12. Zeta potansiyelinde yüzeyde yüklerin dağılımı [36].....	21
Şekil 3.1. Montmorillonit yapısı.....	23
Şekil 3.2. a) Oktadesil aminin ve b) dimetildidodesil amonyumun yapısı.....	24
Şekil 3.3. Laktik Asidin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 3.4. Poli(maleik anhidrit- <i>alt</i> -1-oktadesen) polimerinin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 3.5. Montmorillonit tabakalı polimer nanokompozitinin sentezinin mekanizması.....	28
Şekil 4.1. a) C- <i>g</i> -PLA ve b) (C- <i>g</i> -PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin FTIR spektrumunun sonuçları.....	30
Şekil 4.2. Kopolimerin <sup>1</sup> H NMR analiz sonucu.....	31
Şekil 4.3. (a) C- <i>g</i> -PLA, (b) (C- <i>g</i> -PLA)-ODA-MMT, (c) (C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT ve (d) (C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT nanokompozitlerinin <sup>1</sup> H NMR analiz sonuçları.....	31
Şekil 4.4. Kopolimer- <i>g</i> -PLA'nın (a) <sup>13</sup> C NMR ve (b) <sup>13</sup> C-DEPT-135 NMR spektrumu.....	32
Şekil 4.5. (C- <i>g</i> -PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin (a) <sup>1</sup> H NMR, (b) <sup>13</sup> C NMR ve (c) <sup>13</sup> C-DEPT-135 NMR spektrumu.....	33
Şekil 4.6. (C- <i>g</i> -PLA) nanokompozitinin XRD sonucu.....	34

## ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam ediyor)

### Sayfa

Şekil 4.7. (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin XRD analiz sonucu.....	35
Şekil 4.8. (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT nanokompozitinin XRD analiz sonucu.....	36
Şekil 4.9. (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT nanokompozitinin XRD analiz sonucu.....	36
Şekil 4.10. (C-g-PLA) nanokompozitinin (A, B, C) ve (C-g-PLA)-ODA-MMT (D, E, F) nanokompozitinin SEM görüntüleri.....	38
Şekil 4.11. (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT (A,B,C) ve (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT (D, E, F) nanokompozitinin SEM görüntüleri.....	39
Şekil 4.12. TEM analiz sonuçları: (A) 100 nm ölçülü (C-g-PLA)-ODA-MMT, (B) 200 nm ölçülü (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT, (C) 200 nm ölçülü (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT, (D) 200 nm ölçülü poli(maleik anhidrit- <i>alt</i> -1- oktadesen) nanokompoziti.....	40
Şekil 4.13. (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) 200 nm, (D) 100 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.....	42
Şekil 4.14. (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) ve (D) 200 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.....	43
Şekil 4.15. (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) ve (D) 200 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.....	44
Şekil 4.16. a) (C-g-PLA), b) (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitlerinin 10 °C/min azot kullanımında DSC analizleri.....	45
Şekil 4.17. a) (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT ve b) (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT nanokompozitinin DSC analizleri.....	46
Şekil 4.18. a) (C-g-PLA) ve b) (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitlerinin TGA ve DTG analizleri.....	47
Şekil 4.19. a) (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT ve b) (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT nanokompozitlerinin TGA ve DTG analizleri.....	48
Şekil 5.1. Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu ve (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinin 77. saatte hücre sayısındaki artışı gösteren toksisite grafiği.....	56

## ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam ediyor)

### Sayfa

- Şekil 5.2. Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliverasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu ve (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinin 77. saatte hücre sayısındaki artışı gösteren toksisite grafiği.....57
- Şekil 5.3. Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen IC<sub>50</sub> değerlerini gösteren grafikleri: (A) (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT örneklerinin MCF-7 hücrelerindeki IC<sub>50</sub> değerleri, (B) aynı örneklerin Fibroblast hücrelerindeki IC<sub>50</sub> değerleri.....58
- Şekil 5.4. Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliverasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu, (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinin 77. saatte hücre sayısını gösteren toksisite grafiği.....58
- Şekil 5.5. Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri: (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu, (B) Farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinin 77. saatte hücre sayısını gösteren toksisite grafiği.....59
- Şekil 5.6. MCF-7 hücrelerinin Floresan mikroskop fotoğrafları: (A) antikanser polimerik örnekler uygulanmamış (kontrol grubu) Fibroblast hücrelerinin floresan mikroskop görüntüsü (mavi noktalar hücre çekirdeklerini göstermektedir); (B) 50 µg.mL<sup>-1</sup> (C-g-PLA) uygulanmamış ikili boyama ile renklendirilmiş MCF-7 hücrelerin floresan mikroskop görüntüsü (oklar apoptotik hücre çekirdeklerini göstermektedir); (C) polimer uygulanmamış (kontrol grubu) Fibroblast hücrelerinin floresan mikroskop görüntüsü (yeşil boyanmış çekirdekler nekroza uğramamış, kırmızı boyanmış çekirdekler nekrotik hücreleri göstermektedir); (D) 50 µg.mL<sup>-1</sup> (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 floresan mikroskop görüntüsü (Oklar nekroza uğramış hücrelerden birkaçını göstermektedir). Fotoğraflar Leica DMI6000 model inverted mikroskopta 100X büyütmede çekilmiştir. Bar = 200 µm.....61

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Killerin sınıflandırılması.....	5
Çizelge 2.2. Geleneksel ve geleneksel olmayan yöntemler.....	15
Çizelge 3.1. Laktik asidin fiziksel özellikleri.....	25
Çizelge 3.2. Poli(maleik anhidrit- <i>alt</i> -1-oktadesen) polimerinin fiziksel özellikleri...26	26
Çizelge 3.3. Gümüş nitratın fiziksel özellikleri.....	26
Çizelge 3.4. Kalay (II) oktoatın fiziksel özellikleri.....	26
Çizelge 4.1. Nanokompozitlerin erime, cam geçiş ve bozulma sıcaklıkları.....	48
Çizelge 4.2. Nanokompozitlerin belirli sıcaklıklarda bozulma oranları.....	50
Çizelge 4.3. Nanoparçacıkların $\zeta$ -boyutları ve potansiyelleri ölçüm tablosu.....	51
Çizelge 5.1. (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT bileşiklerinin farklı konsantrasyonda MCF-7 kanser ve Fibroblast hücrelerine karşı % apoptotik ve nekrotik etkisi. (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinde apoptoz (I), (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinde apoptoz (II), (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinde apoptoz (III), (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinde apoptoz (IV), (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (V), (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (VI), (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinde nekroz (VII), (C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (VIII). Sonuçlar $\pm$ SD ile birlikte verilmiştir.....	62

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CNT	Karbon nanotüp
C- <i>g</i> -PLA	Kopolimer- <i>g</i> -poli(laktik asit)
<i>d</i>	Tabakalar arası mesafe
DMDA-MMT	Dimetildidodesil-amonyum-montmorillonit
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
DTG	Termogravimetrik analizin türevi
FTIR	Fouries dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GO	Grafen oksit
LA	Laktik asit
MA	Maleik anhidrit
MeOH	Metanol
MMT	Montmorillonit
NMR	Nükleer manyetik rezonans
ODA-MMT	Oktadesil amin-montmorillonit
Organokil	Organik modifiye kil
PLA	Poli(laktik asit)
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
$T_d$	Bozulma sıcaklığı
$T_g$	Cam geçiş sıcaklığı
$T_m$	Erime sıcaklığı
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik analiz
XRD	X-ışını difraksiyonu
$\lambda$	Dalga uzunluğu
$\theta$	Açı
$\zeta$	Zeta ölçüm

## 1. GİRİŞ

Geniş aralıkta yaygın olan ve çeşitli nanopartiküllerle güçlendirilen biyopolimer kompozitler gibi sentetik ve doğal polimer malzemeler birçok akademik ve endüstriyel araştırmaların odak konusu olmaktadır. Polimer Nanobilim ve Nanomühendislik alanında fonksiyonelleştirilmiş nanopartiküllere veya organik killere ek olarak, fonksiyonlu grafen (grafen oksit, GO) ve karbon nanotüpler (CNT) gibi nanodolgular da son zamanlarda geniş araştırmaya alanını kapsamaktadır. Nanokompozitlerin üretiminde çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip nanopartiküller kullanılmaktadır. Fonksiyonel nanoparçacıklarla zenginleştirilmiş polimerler, nanopartikül içermeyen polimerlerle karşılaştırıldığında kendilerine özgün, üstün ve gelişmiş özelliklerine göre özel bir dikkat kazanmışlar.

Nanokiller, karbon nanotüpler, metal ve metal oksitleri ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  ve diğerleri) polimer matrisini güçlendirmek için en temel olan ve yaygın kullanılan katkı malzemelerdir. Son zamanlarda araştırmalar polimer/organakil, polimer/GO, polimer/CNT üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun için yeni çeşitli sentetik yollar ve polimer nanoparçacık-hibrid nonasistemlerde oluşan çeşitli mekanizmalar geliştirilmiştir.

Killer, özellikle de montmorillonit (MMT) minerali ve organik türevleri, polimerik matris içinde kolaylıkla dispersiyon olma yeteneği nedeni ile iyi nanodolgu maddeleri olarak kullanılmaktadır. MMT nano boyutlu alümina/silikat levha katmanlardan oluşur. Alümina levha iki silika levhalar arasında sıkıştığı için net negatif şarja neden olur. Bu şarj tabakaların yüzeyinde yer değişebilir metal iyonları ile dengelenmektedir. MMT killeri doğada genellikle hidrofilik olmaktadır. Gerektiğinde, değiştirilebilir metal iyonlarını alkilamonyum katyonu gibi katyonlarla değiştirildikte organofilik hale dönüştürülmektedir. Organik polimer matris içerisine küçük miktarda (kütlenin ~ %3 ile 5 aralığında) kil eklendiğinde, polimer matrisin mekanik, termal ve bariyer özelliklerinin gelişmesi sağlar.

Nanokillerin polimer matrisi içerisine polimer zincirlerin tabakalar arasına nüfuzu sonucunda iki farklı nanokompozit yapısı oluşabilir: faz ayrımı (intercalate) ve dağılan veya yapraklanan (exfoliated) nano yapılar. Polimer matrisinin nanokilin tabakaları arasındaki boşluklara girmesi, tabakalar arası mesafenin genişlenmesi, ama aynı zamanda nano tabakalar arasındaki paralel yerleşimi koruması



durumuna ara katkılı veya faz ayrımlı yapı denir. Killerin nano tabakalarının matris içerisinde rastgele dağılması durumu ise yapraklanan yapı olarak bilinmektedir. Uygulamada yapraklanan yapı mükemmel dispersiyon nedeniyle daha geliştirilmiş özellikler göstermektedir. MMT killerine herhangi bir yüzey işlemi yapılmadan polimer matrisi üzerine eklendiğinde, nano levhalar arasında hiçbir dispersiyon gerçekleşmemektedir. Böylece kil yetersiz özellikli, mikro ölçekli dolgu partikülü olarak işlev görür.

Son zamanlarda polimer sentezinde ve işleminde yeni nano yöntemler geliştirilerek çeşitli sentetik yollar ve mekanizmalar bulunmuştur. Sonuç olarak, polimer/nano filler hibritler ve çoğunlukla anhidrit/karboksil fonksiyonu içeren kopolimerler oluşturulmuştur. Örneğin, maleik anhidrit ve onun yapısal benzerlerinin alternatif, rastgele ve graft kopolimerleşme yöntemleri ile oluşturulan nano malzemeler söylenilebilir.

Poli(laktik asit) (PLA) ilaç salınım sistemleri, doku mühendisliği iskelesi, implante edilebilir tıbbi cihaz, yara örtüsü ve benzeri biyomedikal alanlarda yaygın kullanılan ve biyolojik olarak uyumlu polimerlerden biridir. Genellikle, PLA/organokil nanokompozitler eriyik halde işlemler, çözelti dökümü ve eş-anlı interkalasyon polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanmaktadır. PLA bazlı nanomalzemeler (nanofilmler, nanolifler) nanomühendislik ve biyomühendislik alanlarında da geniş çapta kullanılmaktadır.

Gümüş tabanlı çok katmanlı mikro ve nanokompozitler ve filmler, çok yönlülük ve farklı imkânlarda uygulamaları ile geniş bir alanı kapsamaktadır. Örnek olarak, optik uygulamalarda renk veya bant geçiren filtre, elektrik uygulamalarda dielektrik malzeme, biyomedikal uygulamalarda biosensörler ve antibakteriyel ürünler, ambalaj ve gıda sanayisinde çift yönlü odaklı çok katmanlı poliolefin filmlerin üretiminde antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır.

Polimer/kil nanokompozit sentezi için en umut verici reaksiyon çeşitli fonksiyonel monomerlerin lamellar arası (ko)polimerizasyonu olmasına rağmen, organokil varlığında maleik anhidrit alternatif kopolimer üzerine L-LA monomerinin lamellar arası aşırı kopolimerizasyonu incelenmemiştir. Son zamanlarda, grubumuzun Kimya Mühendisliği, Biyomühendislik, Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim dallarında fonksiyonlu monomer ile reaktif ve reaktif olmayan organokillerin ön

interkalar komplekslerin varlığında, maleik anhidrit / akrilik asit monomerlerinin (akrilik asit, akrilamid ve butil metakrilat) karmaşık radikal lameller arası çözelti kopolimerizasyonu ve fonksiyonel konusunda yayın yapılmıştır.

Tezin amacı poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) üzerine L-laktik asit (LA) lameller arası aşırı kopolimerizasyonu yolu ile katalizör kalay oktoat, reaktif ve reaktif olmayan iki nanodolgu eşliğinde fonksiyonel silika tabakalı kopolimer-*g*-biyopolimer nanokompozitlerin ve onların Ag<sup>+</sup>-içeren türevlerinin sentezi için yeni yaklaşımlar geliştirilmesidir. Nanokompozitlerin kimyasal, fiziksel, termal ve morfoloji analiz yöntemlerini kullanarak, kompozisyon-yapı-özellik ilişkilerinin karşılaştırmalı analizinin yapılması mümkündür. Bu yöntemin MMT kil kökeninin değiştirilmesi, ara yüzey etkileşimleri, eş anlı polimerizasyonu ve nanoparçacıkların yapı ve özellikleri üzerinde etkisini daha iyi anlamamıza yardımcı olacağı beklenilmektedir. Yapılan araştırmanın bir diğer yönü sentezlenen nanokompozitlerin, özellikle Ag<sup>+</sup> taşıyan nano yapıların sitotoksikite ve antikanser özelliklerinin incelemesi ve bu biyoparçacıklar üzerinde etkisini belirlemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Organik Killer ve Sınıflandırılması

Killer silika ve başka mineral tabakalarına sahip organik maddedir. Killer boyut olarak küçük, ama yüksek yüzey alanına sahip kum tanecikleri halinde olan parçacıklardır. Killerin olumlu yanlarından biri de yüzeylerinde genellikle organik ve inorganik kökenli yüklerin bulunmasıdır [1].

Killerin fiziksel yönleri, kimyasal yönlerine göre daha iyi bilinmektedir. Killerin fiziksel yönlerinin bazıları aşağıda belirtilmektedir.

- Killer mikroskobik kristaller halinde bulunmaktadırlar.
- Killer nem değişiklikleri sayesinde suyu emmek ve kaybetmek özelliklerine sahiptirler.
- Belli miktarda suyla karıştırıldıkta, killer plastik hale gelebilmektedirler.
- Suyu yutma yeteneği olduğundan killerin yoğunlukları değişkendir.
- Killer genellikle saf halde değil, diğer killerle veya kristallerle birlikte bulunmaktadırlar.

Killerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini göz önünde bulundurarak birçok sınıflara ayrılırlar. Bunun için 1958 yılında C.I.P.E.A. isimli komite kurulmuştur. Yapılan anlaşmaya dayanarak killer yedi ana gruba ayrılmaktadırlar: allopan, kaolin, montmorillonit/smektit, illit, vermikolit, klorit, sepolit ve paligrostik. Bunlarda en çok yaygın bulunan ve kullanılan guruplar kaolin, montmorillonit ve illit olmaktadır [2]. Bu nedenle gurupların üyeleri, genel formülleri ve kullanım alanları gibi genel özellikleri Çizelge 2.1'de belirtilmektedir.

Grup üyeleri genellikle aynı kimyasal formüle veya aynı kimyasal maddeye sahiptirler, ama tabakaların yapıları farklı olduğu için her bir kil grubu farklı fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedirler [1].

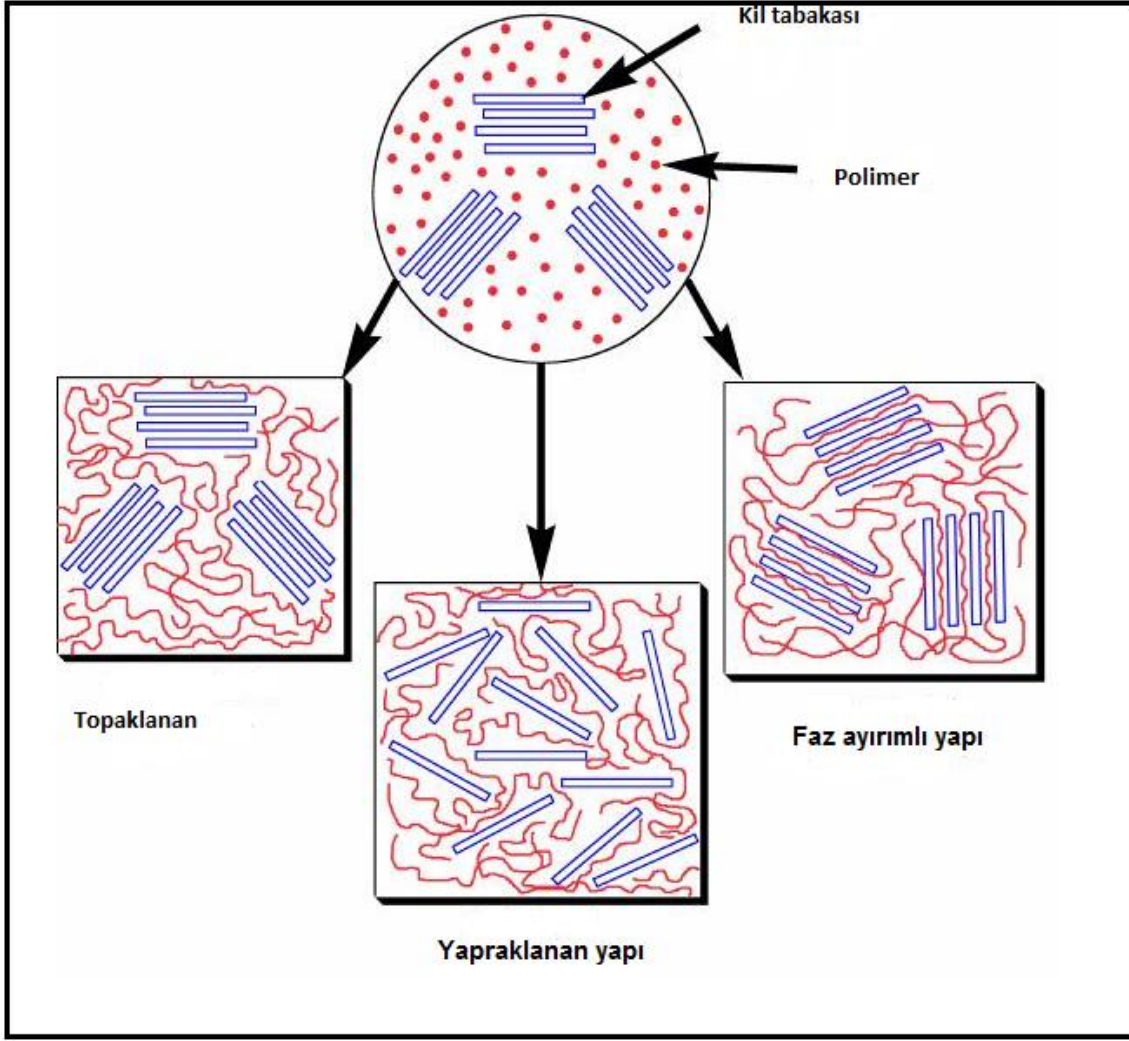
**Çizelge 2.1.** Killerin sınıflandırılması

	<b>Kaolin</b>	<b>Montmorillonit/ Smektit</b>	<b>İllit</b>
<b>Grup üyeleri</b>	Kaolin, dikit, Nakrit	Pyrophyllit, talk, saponit, Montmorillonite vd.	İllit
<b>Genel formülü</b>	$Al_2Si_2O_5(OH)_4$	$xM+(Al_{2-x}Mg_x)Si_4O_{10}(OH)_2$	$K_xAl_2(Si_{4-x}Al_x)O_{10}(OH)_2$
<b>Kullanımı</b>	Seramik, boya ve kağıt üretiminde vd.	Boyalar için filler olarak, elektrik ve ısıya dayanıklı porselen üretiminde vd.	Dolgu maddesi ve sondaj çamurları olarak

## 2.2. Kil Tabakalarının Polimer İçinde Dağılımı

Kil tabakaları polimer içinde dağılım şekline göre üç sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar faz ayrımlı, topaklanan ve yapraklanan (intercalated, flocculated, exfoliated) yapılar olarak bilinmektedirler. Faz ayrımlı yapıları nanokompozitlerde polimer parçacıkları kilin tabakaları arasına girmektedir. Sonuç olarak, tabakaları az bir miktarda genişletmekte ve düzenli bir yapı oluşmaktadır. Topaklanan nanokompozitlerde ise polimer kil tabakaları arasına girememektedir. Bu yüzden, polimer sadece tabakaları arasında dolgu olarak bulunmaktadır. Bu durumda polimer sadece tabakaların yüzeyleri ile etkileşimdedir. Yapraklanan yapıları nanokompozitlerde ise kil tabakaları polimer matris dâhilinde ortalama aynı mesafelerde bireysel katmanlara ayrılmaktadır. Tabakalar arasındaki mesafe kilin ve polimerin özelliklerine bağlıdır [3].

Yapılan araştırmalara göre yapraklanan yapıları nanokompozitlerin faz ayrımlı yapıları göre fiziksel özellikleri daha verimli olmaktadır. Her iki durum için de matrisin içine nano ölçülü filler katıldığında, tabakalar ve polimer arasında daha iyi bir etkileşim sayesinde nanokompozitler benzersiz özellikler göstermektedirler [4].



**Şekil 2.1.** Tabakalı polimer nanokompozitler [5].

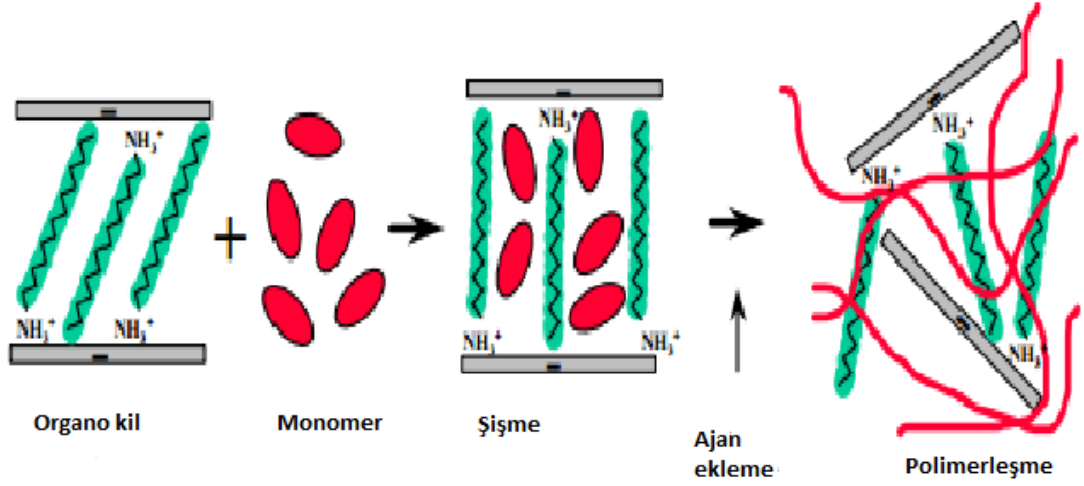
### **2.2.1. Kil tabakalı polimerler sentezi**

Kil tabakalı polimerlerin sentezi üç gruba ayrılmaktadır: eş-anlı (*in-situ*), çözelti ortamında araya girme (intercalation of polymer from solution) ve erime ortamında araya girme (melt intercalation).

#### **2.2.1.1. Eş-anlı (*in-situ*) polimerleşme yöntemi**

Bu yöntem ile ilk olarak poliamid 6 kil tabakalı polimerler hazırlanmıştır. Uzun süredir bilinmesine rağmen, Toyota'nın araştırma yaptığı N6/MMT nanokompozitlerinin başarısından sonra büyük bir ilgi görmüştür. Bu yöntemde ilk olarak organokil monomer içinde şişirtilir. Bu aşama monomer molekülünün polaritesi, organokilin yüzey muamelesi ve şişme sıcaklığından dolayı zaman

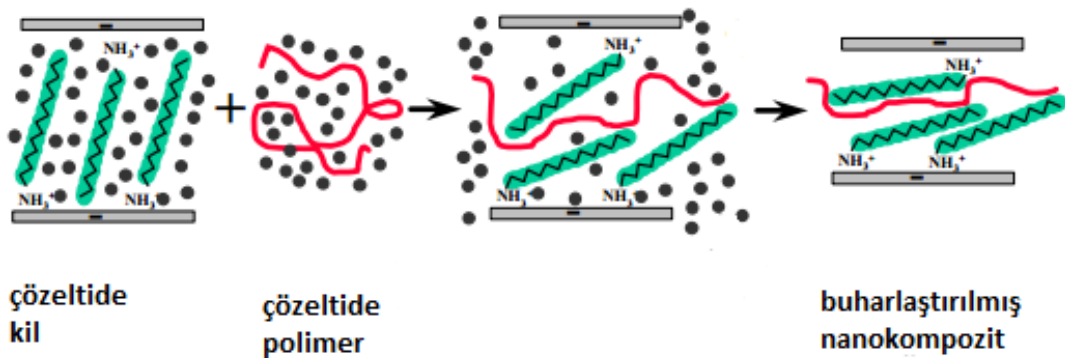
gerektirebilir [6]. Kil tabakaları ve monomer karıştırılarak, monomer parçacıklarının tabakalar arasına nüfus etmesine ve büyümesine izin verilir. Monomerin polaritesi, onun kil tabakalarının arasına eklenmesi için yardımcı olur. Yayılma belli bir dengeye ulaştığında, ısı, radyasyon veya katalizator kullanılarak polimerleşme başlatılıyor [4]. Şekil 2.2 eş-zamanlı polimerleşmeye misal olarak verilmiştir.



**Şekil 2.2.** Eş-anlı polimerleşme [6].

### **2.2.1.2. Çözelti ortamında araya girme (intercalation from solution)**

Bu yöntemde önce nanokil uygun bir çözelti içinde homojen olarak dağıtıldıktan sonra polimer üzerine eklenir. Killer arasında polimer zincirleri çözelti sayesinde oluşur. Bu işlem sırasında genellikle sıcaklık düşük olur [7]. Hem kil, hem de polimer çözeltide çözülebilecek şekilde seçilmelidir. Polimerleşme sonunda çözelti buharlaşma, bazen de çökme yöntemi ile oluşan polimerden uzaklaştırılır [4].



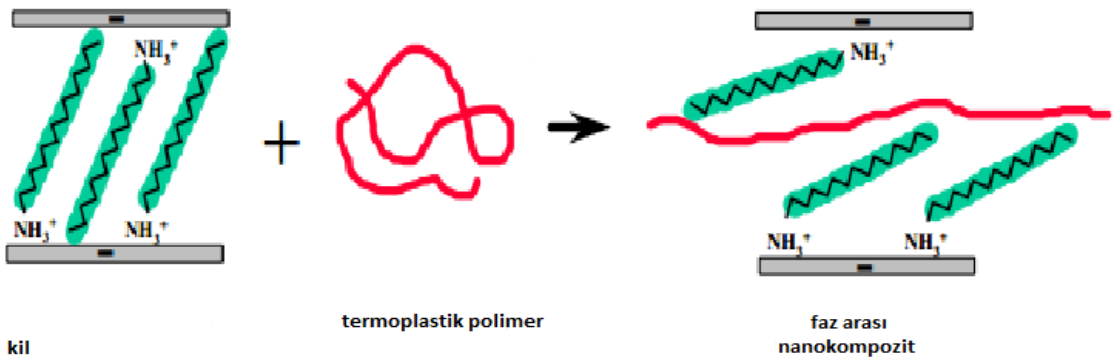
**Şekil 2.3.** Çözelti ortamında araya girme yöntemi [6].

### **2.2.1.3. Erime ortamında araya girme (melt intercalation)**

Bu yöntem ilk defa 1993 yılında Vaia ve arkadaşları tarafından çok tabakalı silikaların sentezinde kullanılmıştır. Son zamanlarda ise daha sade ve ekonomik olduğu için bu yöntem birçok nanokompozitlerin sentezinde yararlanılmaktadır [8].

Bu yöntemde kil ve polimer erimiş halde karıştırılmaktadır. Polimer önce camsı geçiş sıcaklığına kadar ısıtılır ve sonra kil tabakaları arasına dağıtılır. Tabakaların yüzeyi polimerle yeterince kaplanmışsa, polimer boşluklardan içeri nüfuz eder ve dağınık veya faz arası nanokompozit oluşturur [4]. Eriyik halde eş-anlı polimerleşme prosesinin modeli Şekil 2.4'da gösterilmiştir.

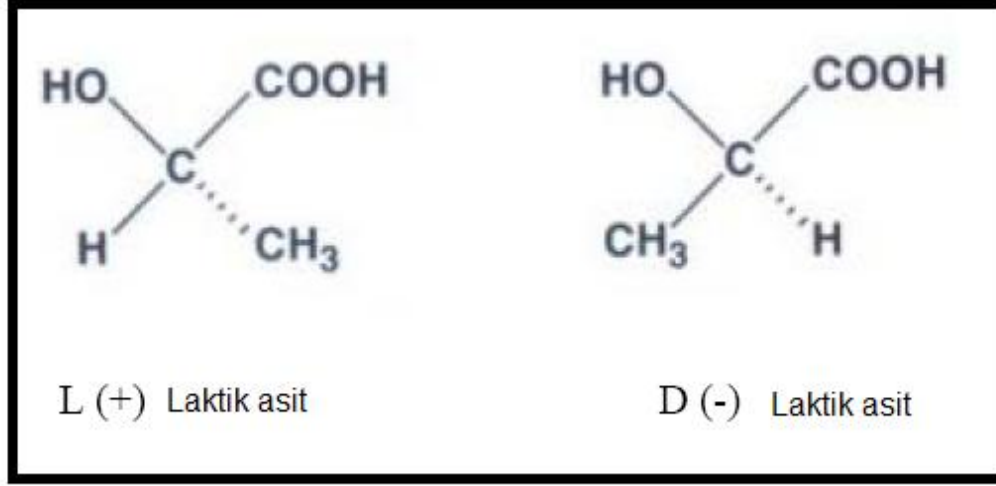
Erime ortamında araya girme yöntemi çevreye karşı çok duyarlıdır. Çünkü bu yöntemde çevreye zararlı olan sert organik çözeltiler kullanılmamaktadır [7]. Bu prosesler genelde çift-vidalı ekstrüzyon sistemleri kullanarak gerçekleştirilmektedir.



**Şekil 2.4.** Erime ortamında araya girme yöntemi [6].

### **2.3. Laktik Asit**

Laktik asit doğada en yaygın bulunan karboksilik asittir. Laktik asit ilk olarak İsveçli kimyager Scheele 1780 yılında keşfetmiştir, ama ilk ticari üretime 1881 yılında Charles Avey'i tarafından başlanmıştır. Laktik asit üç karbon atomundan oluşan organik asittir: ilk karbon atomu asidin veya karboksil grubunun bir parçasıdır, bir diğer karbon atomu metil veya hidrokarbon grubunun parçasıdır, merkezi karbon atomu ise alkol karbon grubuna sahiptir. Laktik asidin Şekil 2.5'de gösterildiği gibi iki optik olarak aktif izomeri mevcuttur [9].



**Şekil 2.5.** Laktik asit izomerleri [9].

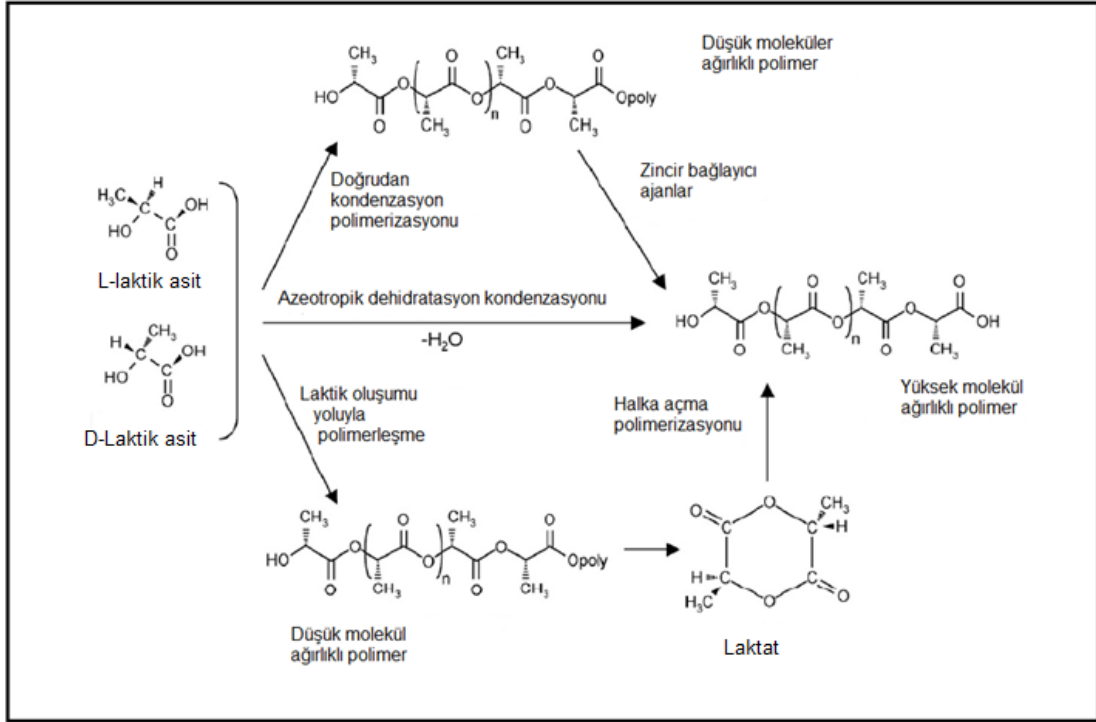
L-laktik asit izomeri insan ve diğer memelilerde ara karbohidrat metabolizmasında, her iki D- ve L-izomerleri ise bakteri üreten sistemlerde bulunmaktadır. Saf halde L- ve D-laktik asit izomerleri fermantasyon veya kültür teknikleri ile elde edilmektedir. Oysaki sentetik olan DL-laktik asit bir karışımdır ve optik açıdan aktif değildir.

### 2.3.1. Laktik asitten (poli)laktik asit üretimi

Yapısında hem hidroksil, hem de karboksil grubunun olması laktik asidin polikondenzasyon reaksiyonuna girerek doğrudan poliestere dönüşmesini sağlamaktadır. Fakat geleneksel bir yoğunlaşma laktik asit polimerine yeterli bir molekül ağırlığı vermez. Yeterli polimerleşme olması için yoğunlaşmış suyun azeotropik distilasyonu için organik çözelti kullanılmalı veya polimerizasyon süresi çok uzun tutulmalıdır [10].

Genel olarak, yüksek molekül ağırlıklı PLA üretmek için üç yöntem bilinmektedir: doğrudan kondenzasyon polimerizasyonu, azeotropik dehidratasyon kondenzasyonu ve halka açma yoluyla polimerleşme.





**Şekil 2.6.** Laktik asit polimerizasyon yöntemleri [11].

İlk yöntem laktik asit monomer olarak kullanılan doğrudan kondenzasyon polimerizasyon yöntemidir. Bu yöntem denge reaksiyonu olduğu için, reaksiyonu polimerleşme yönüne kaydırmak için ortamdan oluşan suyun yoğunlaşma veya vakum uygulamasıyla çıkarılması gerekmektedir. Suyun ortamdan uzaklaştırılması zor olabildiği için reaksiyonda denge sorunları oluşabilir. Buna ek olarak, oluşan ürünün ıslak olması polimerin molekül ağırlığını da sınırlamaktadır. Bu nedenle, kullanılan yöntemde sadece düşük ve orta molekül ağırlığında polimerler oluşmaktadır. Yüksek molekül ağırlıklı polimer elde edebilmek için reaksiyona ajanların eklenmesi şarttır. Sonuç olarak, daha fazla maliyet gerektiren reaktör ve donanım kullanılmaktadır [4,11].

Mitsui Toatsu Chemicals tarafından geliştirilen yöntem ise azeotropik dehidratasyon kondenzasyonu olarak bilinmektedir. Bu yöntem zincir uzatıcı kullanılmadan yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin üretimini sağlar. Yoğunlaşmış suyu ortamdan uzaklaştırmak için 130 °C sıcaklığında, azaltılmış basınç ortamında 2 veya 3 saat boyunca laktik asidin distilasyonu bu yöntemin genel prosedürüdür [12].

Son yöntem ise halka açma yöntemi olarak bilinmektedir. Yöntem ilk olarak 1932 yılında Carothers tarafından gerçekleştirilmiş, ama 1954 yılında deneyi gerçekleştiren DuPont' a kadar düşük molekül ağırlıklı polimer üretilmiştir. Sürecin ilk aşamasında, su gerekli koşullarda her hangi bir çözücü kullanmadan ortamdan kaldırılır ve düşük molekül ağırlıklı polimer üretilir. Oluşan polimer sonradan katalizör kullanılarak siklik ara dimer (laktat) karışımına çevrilir. Bir sonraki aşamada oluşan karışım damıtma yöntemiyle arıtılır. Saflaştırılmış laktat çözelti kullanılmadan halka açma yöntemiyle polimerleştirilir. Bu aşamada kalay içeren katalizör kullanılmaktadır. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra, kalan monomerler vakum ile alınarak yeniden sürekli işleme ilave edilir [4,12]. Tüm yöntemler Şekil 2.6' da gösterilmiştir.

### **2.3.2. (Poli)laktik asidin laktik aside indirgenmesi**

PLA polimerlerinin indirgenme mekanizması maruz kaldıkları biyolojik çevreye bağlıdır. Memelilerin vücudunda PLA başlangıçta hidrolizle parçalanır. Oluşan oligomerler hücre ve enzimler tarafından metabolize ve mineralize edilir. PLA polimerinin doğada mikrobiyal biyolojik bozulması meydana gelmeden önce, indirgemenin başlangıç aşamasında hidroliz olduğu bilinmektedir.

PLA'in çevresel indirgenmesi iki aşamalı işlemde oluşmaktadır. Bozulmanın ilk aşamasında, yüksek molekül ağırlıklı poliester zinciri düşük molekül ağırlıklı oligomere çevrilmektedir. Reaksiyonun hızı asit ve baz eklenerek hızlanabilir. Ayrıca, sıcaklık ve nem seviyesi de reaksiyonu etkileyen etkenlerdir. Yaklaşık 10000 ile 40000 g/mol aralığında, düşük molekül ağırlıklı mikro-organizmaların bozulma işlemi devam etmekte ve karbondioksit ve su gibi ürünlere dönüşmektedir [10].

### **2.3.3.Laktik ve (poli)laktik asit uygulamaları**

Günümüzde (poli)laktik asit polimerinin kullanımı yaygın uygulanmaktadır. İlk keşfedildiği dönemlerde neme karşı istikrarsızlığı ve yüksek maliyetini göz önünde bulundurarak, PLA çok kullanılmamaktaydı. Geçen yüzyılın 60. yıllarından itibaren laktik asit ilaç taşıyıcı ve dikiş sistemleri gibi tıbbi uygulamalarda eşsiz özellikler göstermektedir. Laktik asidin sanayi üretimi esasen bakteriyel fermantasyon sayesinde elde edilmiştir [4].

PLA tıbbi implant ve ilaç dağıtım sistemi gibi uygulamalarda kullanılmakta olan önemli biyolojik parçalanabilir polimerdir. Çevre için tasarım malzemelerine ihtiyaç arttıkça, biyolojik olarak parçalanabilen polimerler için yeni piyasa açılmasına fırsat yaratmıştır. PLA bertaraf ürün piyasasında ticari boyutta gelişmiştir. Doğal malzemeler ve sentetik polimerlerin PLA ile birleşiminden kombine özelliklere sahip maliyeti az olan polimerler oluşmaktadır. Sadece doğal malzemelerden oluşan PLA kompozitleri ara yüzey eksikliğinden zayıf özelliklere sahiptir. Yeni fonksiyonel grupların PLA üzerine eklenmesi kompozitlerin, laminatların, kaplama ürünlerinin gelişmiş özelliklerle ve düşük maliyetle oluşmasına yol açmaktadır [13].

(Poli)laktik asit endüstriyel olarak makul raf ömrüne sahiptir. (Poli)laktik asit tek kullanımlık ambalaj uygulamalarda iyi termoplastik olarak davranmaktadır. Gerektiği gibi kullanılmadığı zaman polimer hidrolize olmakta ve zararsız doğal ürüne çevrilmektedir. Bu özellik büyük miktarda kullanılan plastik paketlemenin bertaraf olmasına teknik ve ekonomik çözüm olabilir [12].

#### **2.4. Maleik Anhidrit**

Maleik anhidrit (MA) yaygın kullanılan hidrofilik monomerdir. MA yüzeylerin üzerine yerleştirilip ve daha fazla hidrolize edilirse, yüzeylerde daha yoğun  $-COOH$  grupları oluşacaktır. Ayrıca, reaktif anhidrit sayesinde çok sayıda diğer fonksiyonel gruplar da yüzeyler üzerine sokulabilirler. Son on yılda çeşitli termoplastik, elastomer ve biyobozunur (polisakkaritler, PLA, ve vb.) polimerlerin MA ile aşılması sonucunda elde edilen fonksiyonelleştirilmiş polimerler (MA-*g*-polymer), nanokompozitlerin ve özellikle polimer karışımlarının hazırlanmasında uyumlaştırıcı ajanlar olarak kullanılmaktadır. MA ile aşılama prosesleri çözelti ortamında, katı yüzeyde ve ekstrüderlerde gerçekleştirilmektedir. Bu polimerik uyumlaştırıcılar polimer nanomalzemelerin üretiminde yüksek performanslı mühendislik malzemelerinin ve nanokompozitlerin hazırlanmasında geniş çapta kullanılmaktadır [14].

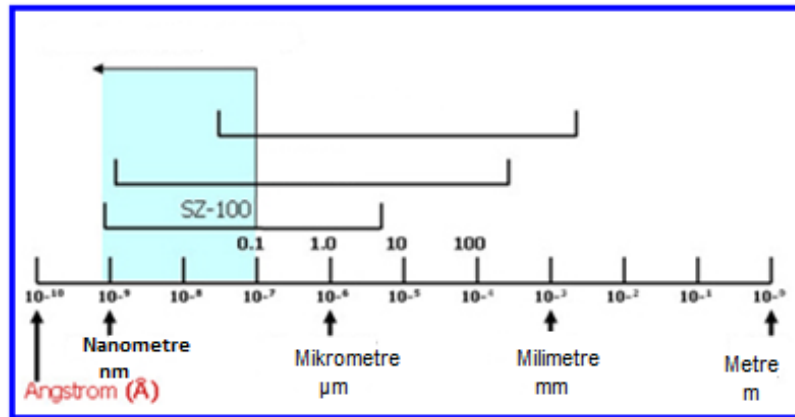
Maleik anhidrit ve benzer polifonksiyonel monomerler reaktif makromoleküllerin sentezinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kendilerine özgür yapılarıyla mühendislik ve biyomühendislik malzemeleri gibi alanlarda yüksek performans göstermektedirler. Fonksiyonel monomerlerden polimer/kil (veya silika) nanokompozitlerin sentezi için üç ana yöntem bilinmektedir: çeşitli mineral silikatlar

ve organo-silikatlar varlığında eş-anlı polimerizasyonu [15]; reaktif ekstrüzyon yardımıyla eritilebilir termoplastik polimerlerin tabakalar arası nüfuzu/dağılımı (intercalating/exfoliaton) ve sol (hidro)-jel yöntemleri, yani anhidrit içeren polimerle organosilanların (polimer/silika hibrit sentezi) reaksiyonları. Son iki yöntem, özellikle de polimerlerin tabakalar arası nüfuzu, maleik anhidrit graft kopolimerizasyonu bazında polimer/kil nanokompozitlerin sentezlerinde en çok kullanılan yöntemlerdendir.

## 2.5. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji kelimesi ilk olarak 1974 yılında Norio Taniguchi (Tokyo Üniversitesi) tarafından kullanılmıştır. Nanoteknoloji nanometre ( $1 \text{ nm}=10^{-9} \text{ m}$ ) ölçülü materyallerin üretilmesi, sistemin cihazlarla yönetilmesi ve kontrol altında tutulması gibi tanımlana bilinir. Malzemenin ölçülerinden dolayı nanoteknolojinin en önemli kısmı üretilen ürünün kontrolde tutulabilmesidir [16]. Nanoteknoloji son zamanlarda en çok kuantum fiziği, kimya, biyoloji, tıp, elektronik devrelerde kullanılmakta ve geliştirilmektedir.

Nanoteknolojide en yaygın bölüm nanopartiküller olduğu söylenilebilir. Nanopartiküllerin ölçüleri genellikle vücudumuzdaki proteinler gibi 10-100nm aralığında olmaktadır. Nanopartiküllerin önemli özelliklerinden biri yüzey alanının hacmine olan oranının yüksek olmasıdır. Bu özellik katalitik sanayide kullanılabilir. Aslında bazı nanoparçacıkların iyi bir katalizör oldukları kanıtlanmıştır [17]. Nanoteknolojide nanopartikül boyutları 100 nm ve altında olması standart olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.7. Nanoteknolojide mikro- ve nanopartiküllerin boyut alanları.

Yukarıda verilen şekilde 1 Angstrom'la 1 metre boyut aralığında oluşan sistemlerin dinamikleri gösterilmektedir. Uygulama alanlarına bağlı olarak, her sistemin kendine özgün avantajları vardır.

Atomik ölçekli malzemeleri öğrenen nanoteknolojinin bilim için bazı yeni yöntemler açığa çıkaracağı beklenmektedir. Nanomateryallerin boyutu ve yapıları çoğu biyolojik moleküler ile benzerdir. Bu nedenle, nanomalzemeler biyomedikal araştırmalarda hem vivo, hem de vitro olarak uygulanmaktadır. Nanomalzemelerin entegrasyonu biyoloji teşhis cihazlarının, tezat ajanlarının analitik gelişmesine yol açmıştır.

### **2.5.1. Nanopartiküller**

Nanometre boyutlarındaki inorganik bileşikler diğer maddelerden daha farklıdır, çünkü elektron tutucu etki gibi yapısal boyutlarına özgün özelliklere sahiptirler. Bu bileşikler "nanopartikül" olarak adlandırılırlar [18]. Nanopartiküller nanometre (nm) ölçülü mikroskobik parçacıklar olarak belirlenmiştir. Nanoteknoloji birkaç yıl içinde ilaç dağıtım, teşhis ve biyomateryal üretimi dâhil olmak üzere tüm yaşam bilimlerinde muazzam bir değişiklik yaratacağı beklenmektedir [19].

Nanopartiküller doğada var olan nadir varlıklardır. Nanopartiküllerin kendilerine has bazı özellikleri aşağıda belirtilmiştir:

- Parçacık boyutları 100nm-den küçük
- Yüksek yüzey alanı
- Sıvılarda kolay askıya olma
- Hücre ve organellere derin erişim
- Çeşitli optik ve manyetik özellikler

#### **2.5.1.1. Gümüş içeren nanopartiküller**

Gümüş bin yıllar önce Çin'de ve Hindistan'da Ayurvedik tıpta kullanıldığı bilinmektedir. Başlangıçta gümüş su kaplarında tıbbi amaçlar için kullanıldığı belgelenmiştir [20]. 1881 yılında göz enfeksiyonunun önlenmesi için gümüş ilk defa tıbbi kullanımı açıklayan bilimsel makalede yayınlanmıştır.

Nanoteknoloji ve nanopartikül üretimi geliştikçe, gümüş içeren nanopartiküller de bu gelişmenin önemli kısmında yer almaktadır. İlk nanopartiküllerin sentezlendiğinden itibaren, onların uygulanması bilimin birçok farklı alanlarında

kendi yerlerini almaktadır. Gümüş sanayide en çok kataliz, bakterisit ajan, gerçek zamanlı optik sensör gibi alanlarda yaygın kullanılmaktadır [17].

### **2.5.1.2. Gümüş İçeren Nanopartiküllerin Üretimi**

Gümüş içeren nanopartiküllerin üretiminde birçok yöntem bilinmektedir. Bilinen yöntemleri geleneksel ve geleneksel olmayanlar diye iki gruba ayırabiliriz. Lee-Meisel ve Creighton yöntemlerini geleneksel yöntemlere ait edilebilir [21]. Çizelge 2.2' de bu yöntemlerle ilgili detaylar verilmektedir.

**Çizelge 2.2.** Geleneksel ve geleneksel olmayan yöntemler.

<b>Yöntemin adı</b>	<b>Usul</b>	<b>Avantajları</b>	<b>Dezavantajları</b>
Geleneksel yöntemler	AgNO <sub>3</sub> ve diğer gümüş tuzlarının indirgenmesi	Yüzey alanının hacme olan oranının yüksek olması	Partikül boyutları 10nm'den küçük olması
Geleneksel olmayan yöntemler	Gözenekli katı matrislerde sıcaklık indirgemesi; metalin katı destek içine buhar faz yoğunlaşması; gümüş tuzu çözeltisinin elektrolizi	Yüksek enerji emmeliği	Geniş partikül boyutları; parçacıkta kristallik eksikliği

Gümüş içeren nanopartiküller genellikle kimyasal indirgeme yöntemi ile hazırlanmaktadır. Gümüş nitrat metal öncü olarak, hidrat ise indirgeyici ajan olarak kullanılmaktadır [22]. Sanayide en çok gümüş tuzlarının indirgeme yöntemi yaygın olmakta ve bu yöntem aynı zamanda geleneksel yöntem olarak da söylenmektedir. En yaygın yöntem olmasına rağmen, su ve reaktif saflığı, camların temizliği bu yöntem için kritik parametrelerdendir. Çözeltinin sıcaklığı, metal tuzlarının konsantrasyonu, indirgeyici ajan ve reaksiyon süresi nanopartiküllerin boyutunu etkilemektedir. Nanopartiküllerin boyutu ve şekli önemli parametreler olmaktadır. Nanopartiküller boyut ve şekillerinin farklılıkları sayesinde kataliz,

optik, mikro elektronik ve benzeri gibi birçok alanda farklı özellikler göstermektedirler [23].

Gümüş nanopartiküllerin fiziksel yöntemlerle üretilmesi aslında geleneksel olmayan yöntemlerle üretilmesi demektir. Çizelge 2.2' de gösterildiği gibi buraya lazer ablasyon, foto azaltma, gümüş tuzu çözeltisinin elektrolizi, metal vakum buharlaşma gibi yöntemler dahildir [24,25].

Nanopartiküllerin üretiminde bitkilerin kullanımı yeşil üretimin başlıca amacıdır. Çevre dostu olan yeşil üretimde, kimyasal ve fiziksel yöntemlerle üretilen nanopartiküller büyük ölçeklerde daha uygun maliyete üretilmektedir. Ayrıca, bu yöntemde yüksek basınca, enerjiye, sıcaklığa ve toksik kimyasal kullanımına gerek yoktur [26, 27,28].

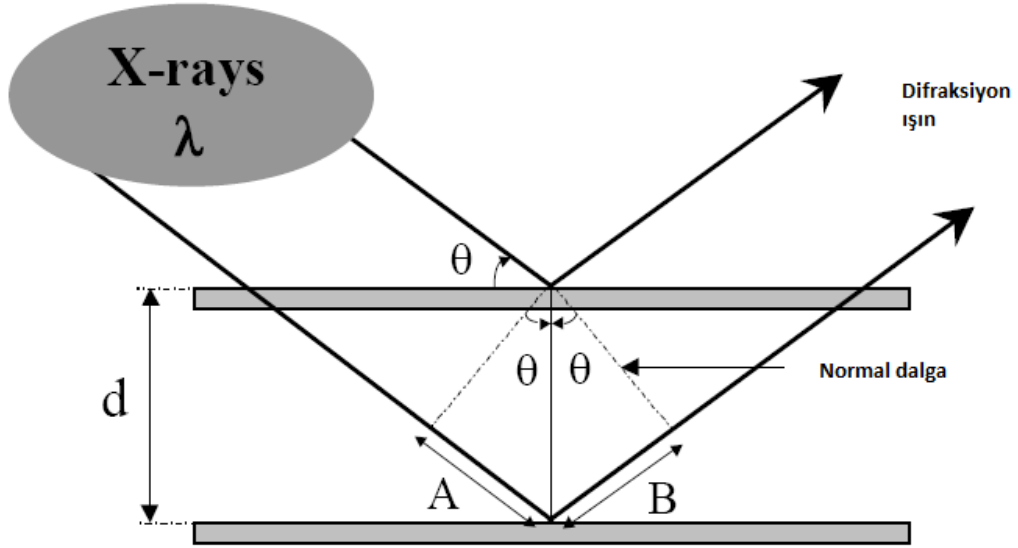
## **2.6.Polimer Nanopartiküllerin İnceleme Analiz Yöntemleri**

### **2.6.1. X-ışını difraksiyonu (XRD)**

X-ışını difraksiyonu kil tabakaları incelemeleri için en uygun yöntemlerden biridir. XRD yüksek gerilim alanı üzerinde hazırlanmış elektron demeti bir metalle çarpıştığında meydana gelen elektromanyetik radyasyondur. Çarpışma zamanı kullanılan metal anot rolünü almaktadır [7].

Numune hazırlanması ve analizin birkaç saat içinde hazır olması, yöntemin artı yönlerindedir. Ancak, analiz duyarlılığında eksiklik veya donanım sınırları nanokompozit yapısı hakkında yanlış sonuçlara yol açabilir. Bu yüzden X-ışınları ile yanı sıra, nanoparçacıkların yapısını daha kesinleştirmek için transmisyon elektron mikroskopunun da kullanılması tavsiye edilmektedir [6].

Şekil 2.8'de X-ışın difraksiyonun iş prensibi gösterilmiştir. İki ara tabaka arasındaki mesafe  $d$  olarak belirlenmiştir.  $\lambda$  dalga uzunluklu ışınlar yüzeye  $\theta$  açısıyla gelmektedir.



**Şekil 2.8.** X-ışın difraksiyonunun iş prensibi [6].

Matematiksel işlemlere dayanarak,

$$\sin \theta = A/d; \sin \theta = B/d \quad \longrightarrow \quad A = d \cdot \sin \theta \text{ ve } B = d \cdot \sin \theta$$

$$A + B = 2 \cdot d \cdot \sin \theta$$

Düzlemler arasında saçılma meydana gelmesi için  $(A+B)$  mesafesi  $n \cdot \lambda$  şeklinde bütün dalga boyu sayısına eşit olmalıdır.

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta \quad (2.1)$$

Bu denklem Bragg kanunu olarak bilinmektedir. Burada  $n$  tamsayı olmakta ve difraksiyon pik sayısını göstermektedir. Bu kanuna dayanarak, X-ışın difraksiyonunun pikleri atom mesafesi ile doğrudan bağlantılıdır [7].

X-ışını analizi sonucunda, silika tabakaları arasında uzaklıklar ( $d$  mesafesi) zamanla tekrarlanması ve piklerin belirlenmesi yapının faz ayırmalı olduğunu gösterir. Tabakalar arasındaki belirli  $d$  uzaklığının ve pik olmaması ise yapraklanan yapının özelliğidir.

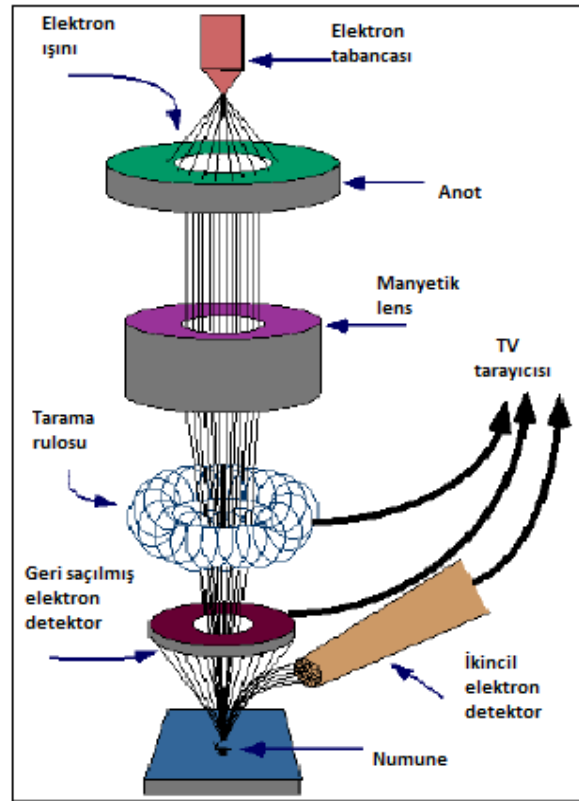
### 2.6.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu vakumda odaklanmış ve ince bir numunenin yüzeyi üzerine gönderilen elektron kaynağıdır. Elektron demeti objektif lenslerden yatay ve dikey olarak geçer. Bu zaman numunenin yüzeyi tamamen taranmış olur. SEM



yedi ana işletim parçasından oluşmaktadır: vakum, ışın üretimi, ışın manipülasyonu, ışın etkileşimi, algılama, sinyal işleme, görüntüleme ve kayıt [29].

Taramalı elektron mikroskobu 2 ile 50 kV gerilimde çalışmaktadır. Taranan numune ise çapı 5nm ile 2 µm aralığında olmalıdır. SEM tarafından üretilmiş görüntüler üçe ayrılmaktadır: ikincil elektron mikroskobu, geri saçılmış elektron mikroskobu ve X ışınları [30]. Taramalı elektron mikroskobuna numune olara Şekil 2.9'da verilmiştir.

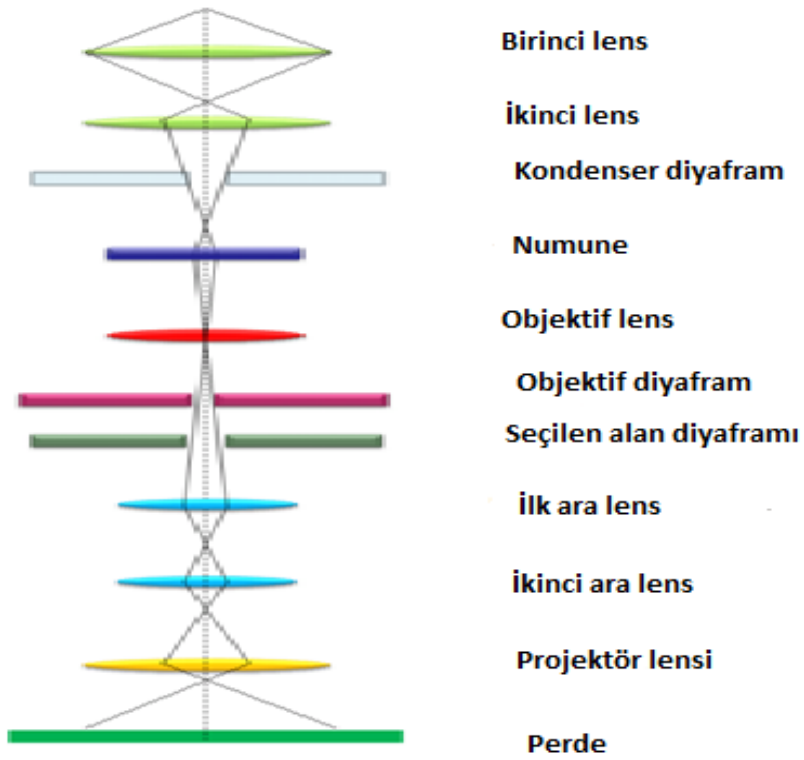


Şekil 2.9. Taramalı elektron mikroskobunun şematiği [30].

### 2.6.3. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM)

TEM çok ince numune üzerine elektron akımı sayesinde, elektron ve numune etkileşimi sayesinde numunenin şeklinin incelenmesidir. Bu yöntem numunenin yapılarının 0,2 nm ölçüde kesin çözünürlüğünü sağlar. Bu yüzden TEM nanoparçacıkların incelenmesinde vazgeçilmez yöntemdir [6]. Broglie dalga uzunluğu sayesinde 0.1 nanometre kadar inilerek daha yüksek çözünürlük elde edilebilmektedir [31].

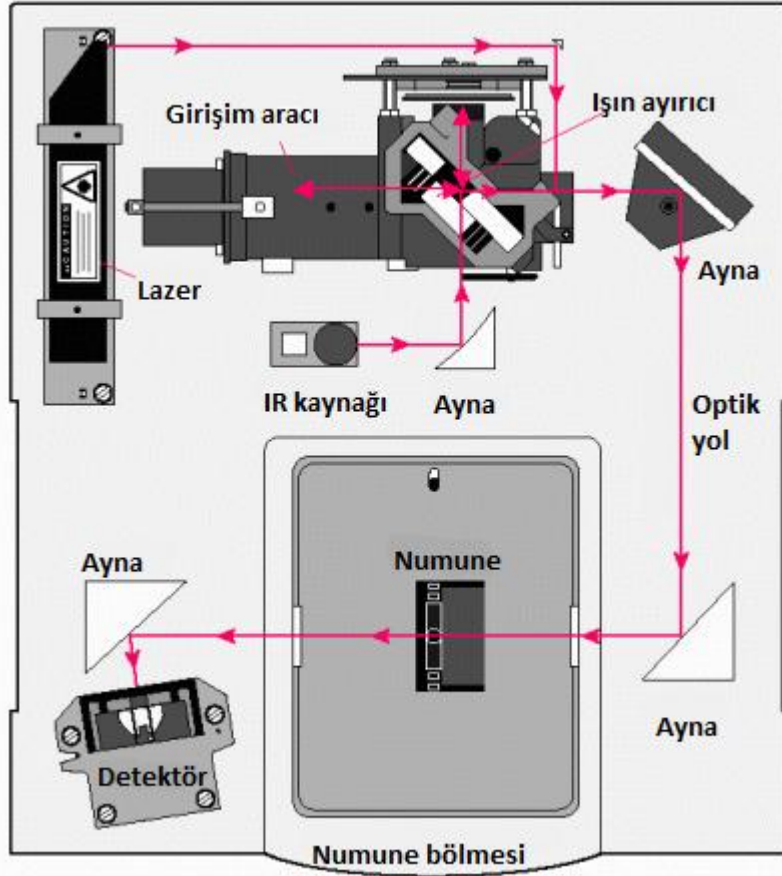
Tem optik görüntü gibi nitelendirilebilir, sadece bu yöntemde görünür ışık yerine odaklanmış elektron ışını kullanılmakta ve bu sayede malzemenin içeriği ve yapısı incelenmektedir. TEM dört ana aşamadan ibarettir. İlk aşamada pozitif yüklü potansiyeli kullanarak elektron akışı yaratılır ve numune üzerine ivmelenerek gönderilir. İkinci aşamada ince monokromatik ışının içinde metal bir diyafram ve manyetik lensler kullanılarak elektron akışı odaklandırılmaktadır. Bir sonraki aşamada odaklanmış ışın manyetik lens tarafından numuneyle çarpıştırılır. Son aşamada ise enerjik elektronlar daha sonra ışınlanmış örnek ile etkileşmektedir. Bu etkileşimler tespit edilir ve resim haline dönüştürülür [7].



**Şekil 2.10.** Transmisyon elektron mikroskobu [31].

#### 2.6.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi IR-aktif organik ve inorganik katı, sıvı ve gaz moleküllerinin nitelik ve nicelik özelliklerini belirlemek için kullanılan tekniktir. Özellikle katı halde olan kristallerin, mikrokristalin, amorf ve filmlerin yapıların incelenmesi hem hızlı, hem de ekonomik olmaktadır. Analiz yapılan numunenin boyutları mikronla kilometre aralığında olabilir. En iyi kızılötesi sonucu almak için, en uygun kızılötesi kaynağı ve algılama yöntemi bulunmalıdır [32].



**Şekil 2.11.** FTIR spektroskopisinin genel şeması [33].

Kimyasal bağlar kendilerine özgün bir karakteristik frekansla titreşim yaparlar. Bunun nedeni bağların yapısı, bağ açısı ve uzunluğunun farkı olmasıdır. Buna göre, belirli dalga boylarında bireysel moleküller ışınım ile etkileşime girerek radyasyon emekteler. FTIR spektroskopisi belli frekans aralığı üzerinde numunenin emdiği enerji miktarını kaydeder. Bireysel emilimi zirveleri sonradan tespit edilir ve bireysel kimyasal bağlarla karşılaştırılır. Böylece karmaşık sistemlerde bileşikler nitel ve nicel olarak tespit edilir [34].

### 2.6.5. Nükleer manyetik rezonans (NMR)

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi radyo dalgalarını kullanarak atomların bileşikler içinde nasıl bağlandıkları hakkında bilgi vermektedir. NMR spektroskopisinin çalışma özelliği atom çekirdeğinin kimyasal bilgi elde etmek için kullanılabilir manyetik özelliklere sahip olmasına dayanır. Kuantum mekanikli parçacıklar (proton ve elektron) spinlere sahiptirler. Çekirdekteki spin anlayışı temel olarak elektron spinini ile aynıdır. Bazı atomlarda (C,O,S) spinler eşleşmiş

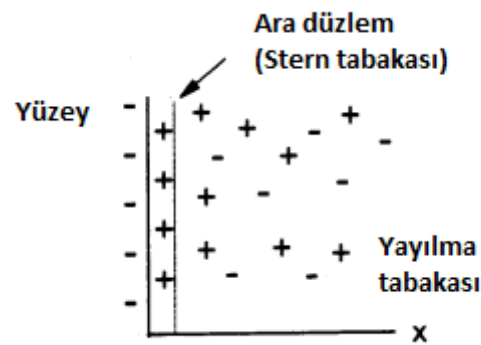
oldukları için birbirilerini nötrleştirmektedir. Bir çok atomlarda ise (H,P,N,F) çekirdek genel spine sahiptir [35].

NMR mıknatıs, radyo frekans kaynakları, amplifikatörler, kilit sistemi ve bilgisayar sistemi gibi ana bölümden ibarettir. NMR kovalent yapının, sis-trans izomerinin, moleküller arası etkileşimin, reaksiyonların kinetiklerinin belirlenmesinde uygulanan yöntemdir.

#### 2.6.6. Zeta ölçüm cihazları

Zeta ölçüm cihazı sıvı ortam içinde bulunan partiküllerin üç özelliğini ölçme yeteneğine sahiptir. Bu yöntemi kullanarak geniş konsantrasyon aralığında numunenin tanecik boyutunu, zeta potansiyelini ve moleküler ağırlığını ölçmek mümkündür. Partikül sıvı içinde rastgele hareket etmektedir. Parçacıkların hızı onların boyutunun belirlenmesinde yardımcı olmaktadır. Böyle ki, sıvı içerisinde küçük ölçülü parçacıklar hızlı, büyük ölçülü parçacıkların ise daha yavaş hareket ettiği bilinir.

Partikül yüzeyi ve sıvı dispersiyon arasında potansiyel var olmakta ve zeta potansiyel olarak bilinmektedir. Zeta potansiyeli, herhangi malzeme sıvı içerisine yerleştirildiğinde yüzey yükünün fonksiyonu olarak gelişmektedir. Bu potansiyel partikül yüzeyinden uzaklığına göre değişmektedir. Sıvı dâhilindeki partikülün yüzeyindeki yükün sonucu olarak elektriksel çift tabaka oluşmaktadır [36]. Yüzeye en yakın olan bölge Stern tabakası, diğer kısmına ise diffüz tabaka denir. Stern ve diffüz tabakaları arasında potansiyel Stern potansiyeli olarak bilinmektedir ve tam olarak ölçülmemektedir [37]. Tabakalar Şekil 2.12'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.12.** Zeta potansiyelinde yüzeyde yüklerin dağılımı [36].

#### 2.6.7. DSC, TGA ve DTG analizleri

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) yaygın kullanılan bir termo analitik tekniktir. İşlem sürecinde referansın ve örneğin sıcaklıklarını yükseltmek için

gereken ısı miktarlarının farklarının sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Yöntemi kullanabilmek için sadece birkaç miligram örnek yeterlidir. Genellikle DSC yöntemi ile oluşturulan grafikte zamanla ısı doğrusal olarak artmaktadır. DSC analiz yöntemini kullanarak malzemenin cam geçiş sıcaklığı, faz değişimi (erime, kristalleşme), erime ısı gibi birçok özelliklerini belirlemek mümkündür [38].

Termogravimetrik Analiz (TGA) numunenin kütesinin değişim miktarının veya hızının (kütle türevinin) zamana veya sıcaklığa karşı fonksiyonunu ölçer. Ölçümler nötr ortamlarda (helyum, azot) sıcaklık arttıkça ağırlığın değişimini kaydetmektedir. Kütle kaybı genellikle uçucu madde içeren termal olaylarda gerçekleşmektedir. Örnek olarak yanma gibi kimyasal reaksiyonlar kütle kayıplarına neden olur. Termogravimetrik analizin türevi sayesinde analiz edilen malzemenin bozulma sıcaklığını belirlemek mümkündür.

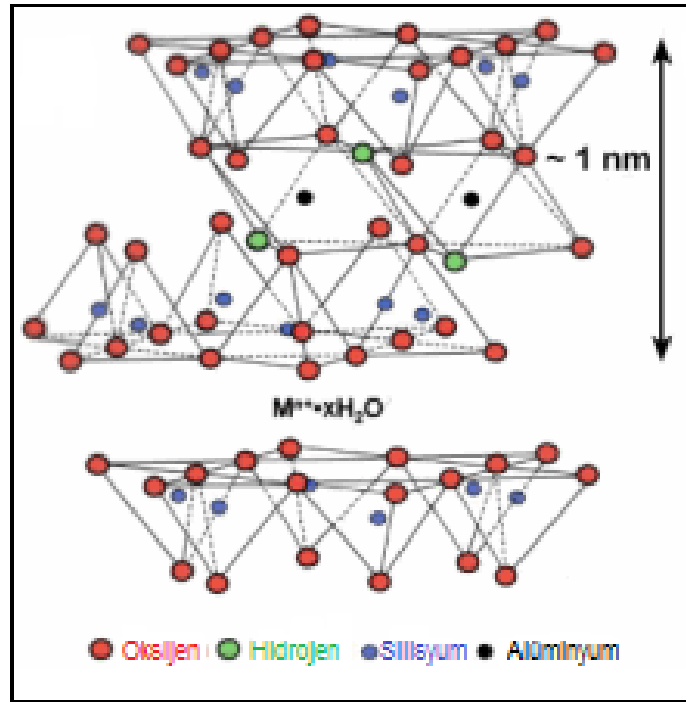
### 3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1. Kullanılan Malzemeler

Deneyisel çalışma süresinde yapılan araştırmalarda birçok kimyasallar kullanılmıştır. Bu kimyasalların her birinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini kapsayan bilgiler aşağıdaki bölümlerde verilmiştir.

##### 3.1.1. Montmorillonit (MMT)

Montmorillonit yüksek katyon değişim kapasitelerine sahip, suda şişen kil mineral grubunun üyesidir. Genel formülü  $Al_2Si_4O_{10}(OH)_2 \times nH_2O$  olarak bilinmektedir. İçerdiği metale uygun olarak MMT sarı, beyaz, yeşil ve gri renklerle bulunmaktadır. MMT iki tetrahedral silika tabakası arasında sıkıştırılmış bir oktahedral alümina yapraktan oluşmaktadır [39]. Montmorillonitin katyon değişim özelliği önemli ve yaygın kullanılmaktadır. Bunun nedeni tabakalar arasında var olan  $Al^{3+}$  ve  $Si^{4+}$  dengesiz iyonların olmasıdır [40].



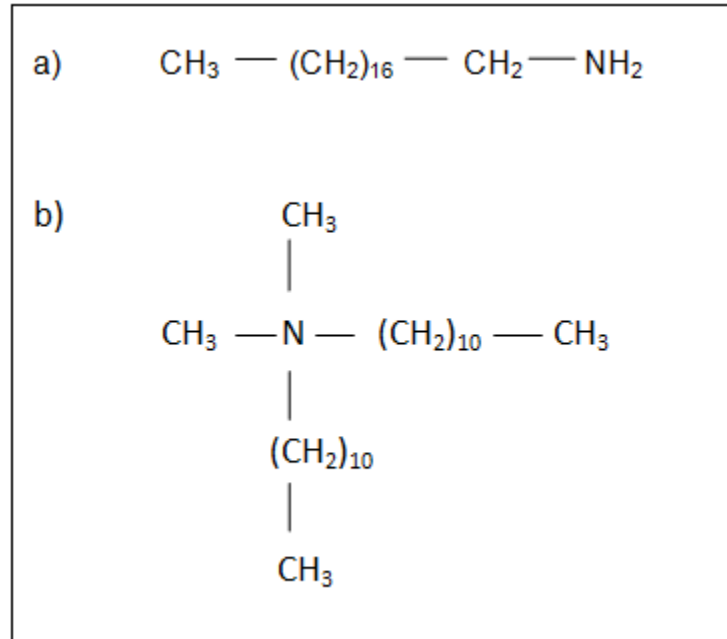
Şekil 3.1. Montmorillonit yapısı

Deneyler sırasında iki tür montmorillonit kullanılmıştır: oktadesil amin-montmorillonit (ODA-MMT:  $CH_3-(CH_2)_{16}-CH_2-NH_2$ ) ve dimetildidodesil amonyum-montmorillonit (DMDA-MMT:  $(CH_3)_2N[CH_2-(CH_2)_9-CH_3]_2$ ).

ODA'nın (Şekil 3.2) amin grubunun  $Na^+$ -MMT tabakaları arasına nüfusu ve iyon-değişimi sonucunda modife edilmiş organik kil (ODA-MMT) elde edilmektedir.

Aldrich- Sigma (Almanya) alınan organik kil %25-30 oktadesil amin içermektedir. Parçacık boyutu 8-10  $\mu\text{m}$ , yoğunluğu  $0.41 \text{ g/cm}^3$  ve kristalinitesi % 52.8 olmaktadır. Cam geçiş sıcaklığı  $108.4 \text{ }^\circ\text{C}$  (organik komplekse ait olan), bozulma sıcaklığı ise  $380 \text{ }^\circ\text{C}$  olarak belirlenmiştir [41].

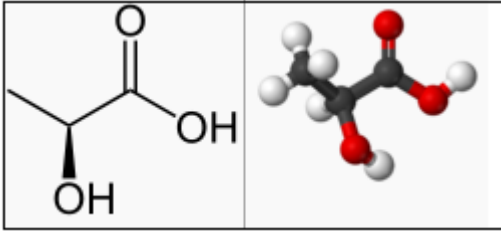
Çalışmalar sürecinde kullanılan diğer kil dimetildidodesil amonyum (Şekil 3.2) kullanarak modife edilen MMT'dir. XRD sonuçlarına göre DMDA-MMT'in kütle miktarı olarak azot 1.12%, karbon 32.56%, kristaliniti 58.2% oluşturmaktadır. Spesifik yüzey alanı  $43.6 \text{ m}^2/\text{g}$ , spesifik mezogözenek hacmi ise  $0.14 \text{ cm}^3/\text{g}$  olarak bilinmektedir. Erime sıcaklığı  $160 \text{ }^\circ\text{C}$  (organik fragmana ait), bozulma sıcaklığı ise  $361 \text{ }^\circ\text{C}$  olmaktadır. Bu bilgiler Viscobent SB-1, Bensan'dan (Enez, Türkiye) alınan bilgilere dayanmaktadır [15].



**Şekil 3.2.** a) Oktadesil aminin ve b) dimetildidodesil amonyumun yapıları.

### 3.1.2. Laktik asit (LA)

Laktik asit, başka sözle 2-hidroksipropanoyik asit, 1780 yılında keşfedilmesine rağmen, 1881 yılında ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan laktik asit, suda çözülebilir ve düşük uçuculuk özelliklerine sahiptir. Laktik asidin diğer fiziksel özellikleri Çizelge 3.1'de, kimyasal yapısı ise Şekil 3.1'de belirtilmektedir.



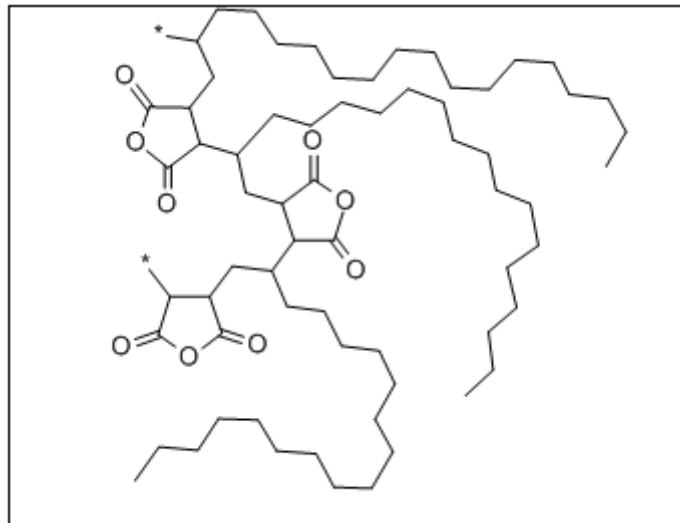
**Şekil 3.3.** Laktik Asidin kimyasal yapısı

**Çizelge 3.1.** Laktik asidin fiziksel özellikleri

Molekül formülü	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Molekül ağırlığı	90.08 g/mol
Yoğunluğu	1.206 g/mL
Erime noktası (D/L)	16.8 °C
Kaynama noktası	122 °C

### 3.1.3. Poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen)

Deneyler sürecinde kopolimer olarak poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) kullanılmıştır. Standart koşullarda katı halde bulunan polimer suda çözülmemektedir. Poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) polimerinin kimyasal yapısı Şekil 3.2'de, fiziksel özellikleri ise Çizelge 3.2'de verilmektedir.



**Şekil 3.4.** Poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) polimerinin kimyasal yapısı.



**Çizelge 3.2.** Poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) polimerinin fiziksel özellikleri.

Brut formülü ( tekrarlanan monomer birimi)	$-(C_{22}H_{38}O_3^-)_n$
Molekül ağırlığı	~40.000 g/mol
Yoğunluğu	0.97 g/mL
Cam Geçiş (softenig) sıcaklığı	120-130 °C
Kaynama noktası	314.4 °C
Alevlenme noktası	148.9 °C

#### 3.1.4. Gümüş nitrat

Gümüş nitrat  $AgNO_3$  formüllü inorganik bileşiktir. Bir oksitleyici olan gümüş nitrat kullanım süresinde ciltle temas halinde olunca, ciltte siyah, mor veya kahverengi lekeler bırakmaktadır. Ama fazla miktarda malzemeye maruz kalınca yanma gibi yan etkiler daha belirgin hale gelmektedir. Bu nedenle, gümüş nitrat organik bileşiklerden uzak, uygun şekilde muhafaza edilmelidir. Gümüş nitratin diğer fiziksel özellikleri Çizelge 3.3'de özetlenmiştir.

**Çizelge 3.3.** Gümüş nitratin fiziksel özellikleri

Molekül formülü	$AgNO_3$
Molekül ağırlığı	169.87 g/mol
Yoğunluğu	4.35 g/mL
Erime sıcaklığı	212 °C
Kaynama noktası	444 °C

#### 3.1.5. Kalay (II) oktoat katalizörü

Kalay (II) oktoat ( $Sn(Oct)_2$ ) oda sıcaklığında sarı sıvı halinde bulunmaktadır.  $Sn(Oct)_2$  genellikle polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılmaktadır. Bu madde deneyler sırasında polilaktik asit üretiminde katalizör olarak uygulandı.  $Sn(Oct)_2$  bileşiğinin diğer özellikleri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Kalay (II) oktoatın fiziksel özellikleri

Molekül formülü	$C_{16}H_{30}O_4Sn$
Molekül ağırlığı	405.12 g/mol
Yoğunluğu	1.251 g/ml
Alevlenme noktası	113 °C (kapalı ortamda)

### **3.2. Montmorillonit Tabakalı Polimerlerin Sentezi**

Montmorillonit tabakalı polimerlerin sentezi için birçok yöntemler denendi ve en iyi sonuç veren nanokompozitlerin fiziksel, kimyasal, termal ve morfoloji özellikleri analiz edildi.

#### **3.2.1. Laktik asidin kopolimer (poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen)) üzerine aşılması**

Deneyler sırasında laktik asidin kopolimer üzerine aşılması çok kullanılmıştır. Bunun için 3.5 g kopolimer 20 mL laktik asidin üzerine eklenir. Karışım 80 °C sıcaklığına kadar manyetik karıştırıcıda ısıtıldı. Yaklaşık 30 dakikalık işlemden sonra 24 µL hacminde katalizör (Sn(Oct)<sub>2</sub>) eklenerek aynı sıcaklıkta karıştırılmağa devam edilir. 10-15 dakika sonra kızdırıcı kapatılarak, çözeltinin 30-40 °C sıcaklığına inmesi beklenildi.

#### **3.2.2. Gümüş nitrat etkileşimi**

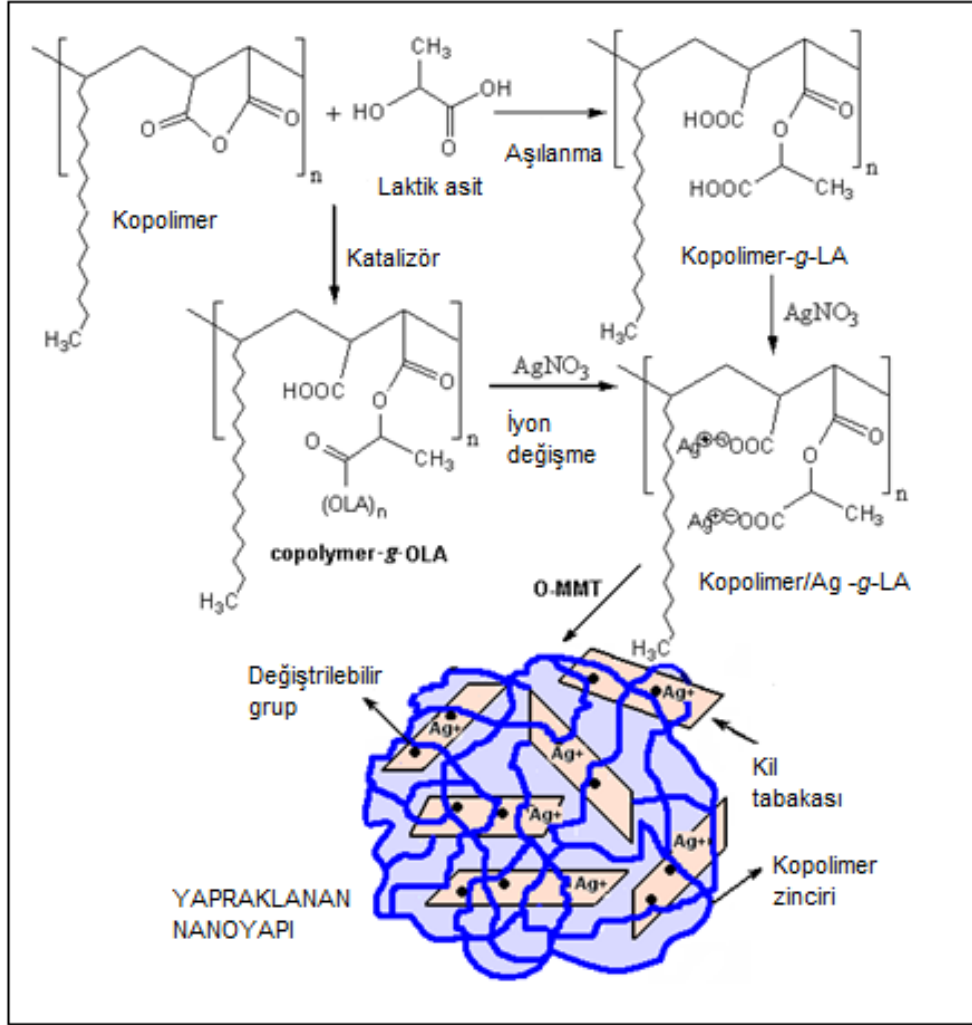
Deneyler sırasında gümüş nitratın dâhilinde var olan Ag<sup>+</sup> iyonları asit gurupları ile yer değişimi amaçlanmıştır. Bu nedenle çözelti halinde bulunan kopolimer-*g*-LA karışımının üzerine çeşitli deneylerde 0.1 veya 0.2 g AgNO<sub>3</sub> eklenmiştir. Oluşan çözelti yine manyetik karıştırıcıda 1 saat boyunca karışması için bırakılmıştır.

#### **3.2.3. Laktik asidin montmorillonitler içerisinde dağılımı**

Ön işlem olarak laktik asit her iki montmorillonit tabakası (ODA-MMT ve DMDA-MMT) arasında dağıtılmıştır. Montmorillonit killerin miktarının reaksiyon sürecinde ve oluşan nanokompozitlerin yapısında etkisini anlaya bilmek için ise montmorillonit hem 0.1 g, hem de 0.2 g olarak kullanılmıştır. Kilin miktarı aynı deneyde kullanılan AgNO<sub>3</sub> miktarıyla eşit olmaktadır. Laktik asidin kil tabakaları arasında polimerleşmesi için montmorillonit 5mL laktik asit üzerine eklenir. Çözelti manyetik karıştırıcıda yaklaşık 1 saat boyunca karıştırılır.

#### **3.2.4. Nanokompozitlerin sentez mekanizması**

Nanokompozitlerin sentezi için en önemli kısım sonda olmaktadır. Ön işlem olarak hazırlanmış olan MMT kil tabakaları arasında dağılan laktik asit, gümüş eklenmiş kopolimer-*g*-LA çözeltisi ile karıştırılır. Oluşan çözelti 30-40 °C sıcaklığında yaklaşık 1 saat süresinde manyetik karıştırıcıya bırakılır. Sonuç olarak katılaşmış, sarı renkte, homojen görünlü sıvı oluşmaktadır. Deneyler sırasında yapılan tüm kimyasal tepkimeler Şekil 3.4'te özetlenmiştir.



**Şekil 3.5.** Montmorillonit tabakalı polimer nanokompozitinin sentezinin mekanizması.

### 3.2.5. Polimer nanokompozitlerin ayırma işlemi

Üretilen polimer nanokompozitleri fazla kimyasallardan arındırılması gerekmektedir. Bunun için ilk aşamada metanol (MeOH) kullanılarak reaksiyona girememiş laktik asit çöktürülerek ortamdan alınmaktadır. İşlemi hızlandırmak için santrifüj kullanıldı. Süzgeç kâğıtların yardımıyla katı haldeki partiküller sıvıdan ayrıldılar.

Son işlem olarak ise metanol ile çöktürülerek elde edilen toz madde 40 °C sıcaklığına, vakum altında, 24 saat boyunca kuruması için bırakıldı. Bu süreçten sonra malzemenin kütlesinin sabitlendiği ve tamamen kuru halinde olduğu gözlemlendi. Sonra nanokompozitler 155 °C'de 5 dakika süresinde termal işleme tabi tutulmuştur. Bu son işlem, gümüş nanopartiküllerin oluşumunu sağlamaktadır.

#### 4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Yapılan deneyler sonucunda kopolimer ve gümüş nitrat kullanılarak montmorillonit tabakalarının arasında laktik asidin polimerleşmesinden yeni nanokompozit malzemeler elde edilmiştir. Üretilen polimerlerin fiziksel, kimyasal yapıları, morfoloji düzeni ve termal özellikleri analiz edilmiştir.

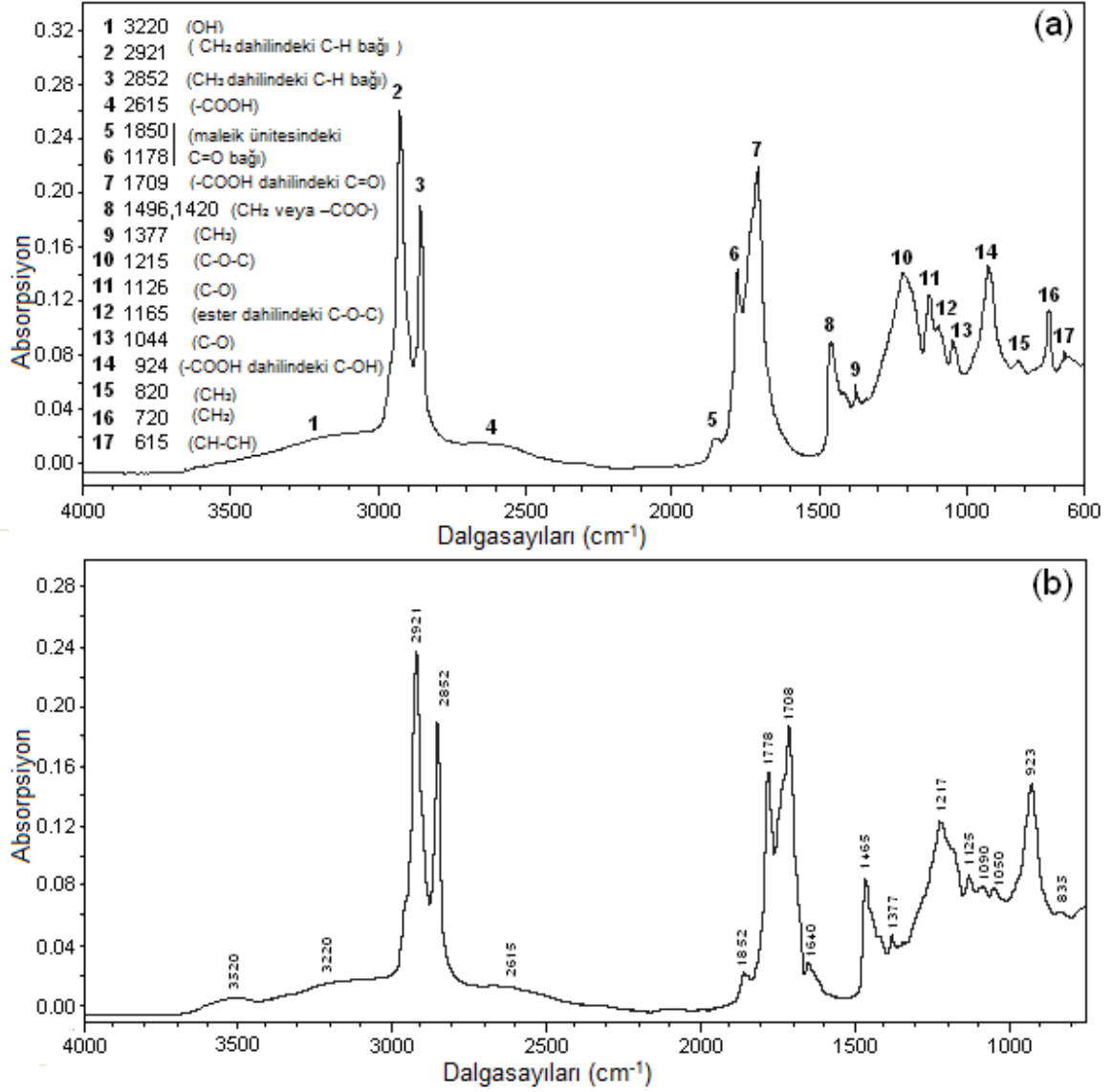
##### 4.1. FTIR Analizinin Sonuçları

Numunelerin içeriklerini incelemek için FTIR analizi standart KBr disk yöntemi ile 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  aralığında ve 4  $\text{cm}^{-1}$  çözünürlüğü ile FT-IR Nicolet 510 cihazında analiz edilmiştir.

FTIR analizi çeşitli fonksiyonel grupları belirlemek ve nanokompozitlerin kimyasal yapısını anlayabilmek için kullanılmaktadır. Kopolimer-*g*-LA ve onun çeşitli türevlerinin FTIR analizinin absorpsiyon bantları Şekil 4.1'de verilmektedir. İlk resimde kopolimer-*g*-LA, ikincide ise (kopolimer-*g*-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin FTIR sonuçları özetlenmiştir. Kopolimer-*g*-LA analizi sonucunda 1850, 1778 ve 1709  $\text{cm}^{-1}$  absorpsiyon bantları anhidritin ve maleik ünitesindeki bulunan C=O bağı sayesinde oluşmaktadır [42]. Geniş 3220 ve 2615  $\text{cm}^{-1}$ , ve güçlü 924  $\text{cm}^{-1}$  bantları -COOH ve -C-OH grupları dahilindeki OH bağına belirtmektedir [42, 43]. 2852 ve 2921  $\text{cm}^{-1}$  bantlarında meydana gelen güçlü titreşimler kopolimer-*g*-LA nanokompozitinde uygun olarak CH<sub>3</sub> ve CH<sub>2</sub> bağlarının olduğunu ispat etmektedir [44].

Şekil 4.1'in ikinci kısmında bulunan grafik genel olarak ilk kısma benzemektedir. Benzerliğin nedeni her iki kompozitte aynı bağların olmasıdır. İlk kısımdan farklı olan titreşimler ise kilin eklenmesi ile oluşan yeni bağların olduğunu göstermektedir. 1640  $\text{cm}^{-1}$  (amit bandı) absorpsiyon bandında oluşan titreşim C=O bağı sayesinde oluşmuştur. Bu noktada absorpsiyon bandı kompleks ara yüzeye sahip olan oktadesil amin ile serbest karboksilik grupların anhidrit ünitesi ile eş-anlı etkileşimli kimyasal reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır.

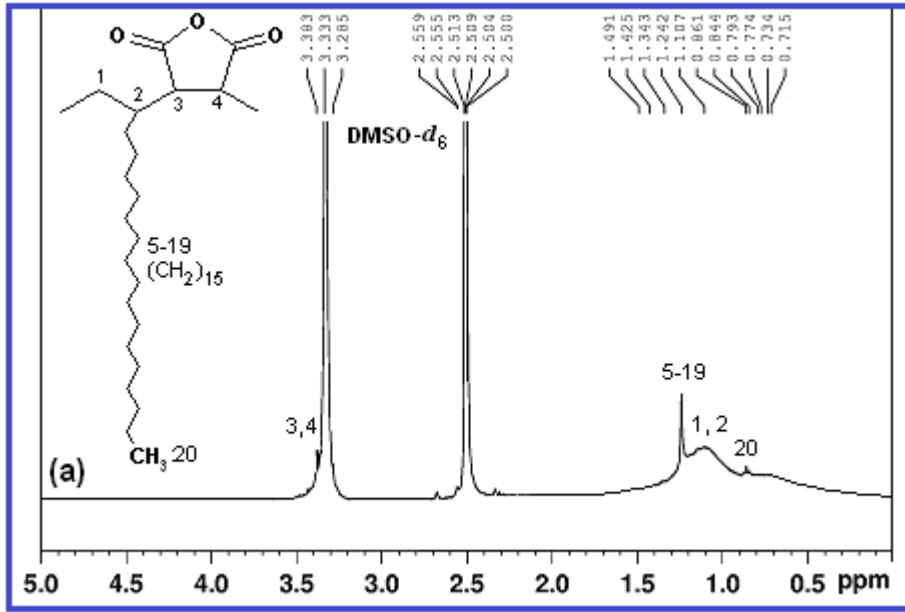
Kopolimer-*g*-PLA ile killerin etkileşime girmesi sonucunda silisyumun varlığını belirten yeni gerilmeler (Şekil 4.1b) oluşmuştur. 1050 ve 1090  $\text{cm}^{-1}$  bantlarında oluşan gerilmeler killerin içinde bulunan Si-O ve Si-O-Si bağlarını, 3520  $\text{cm}^{-1}$  bantında oluşan geniş gerilme ise Si-OH bağına varlığını belirletmektedir [45].



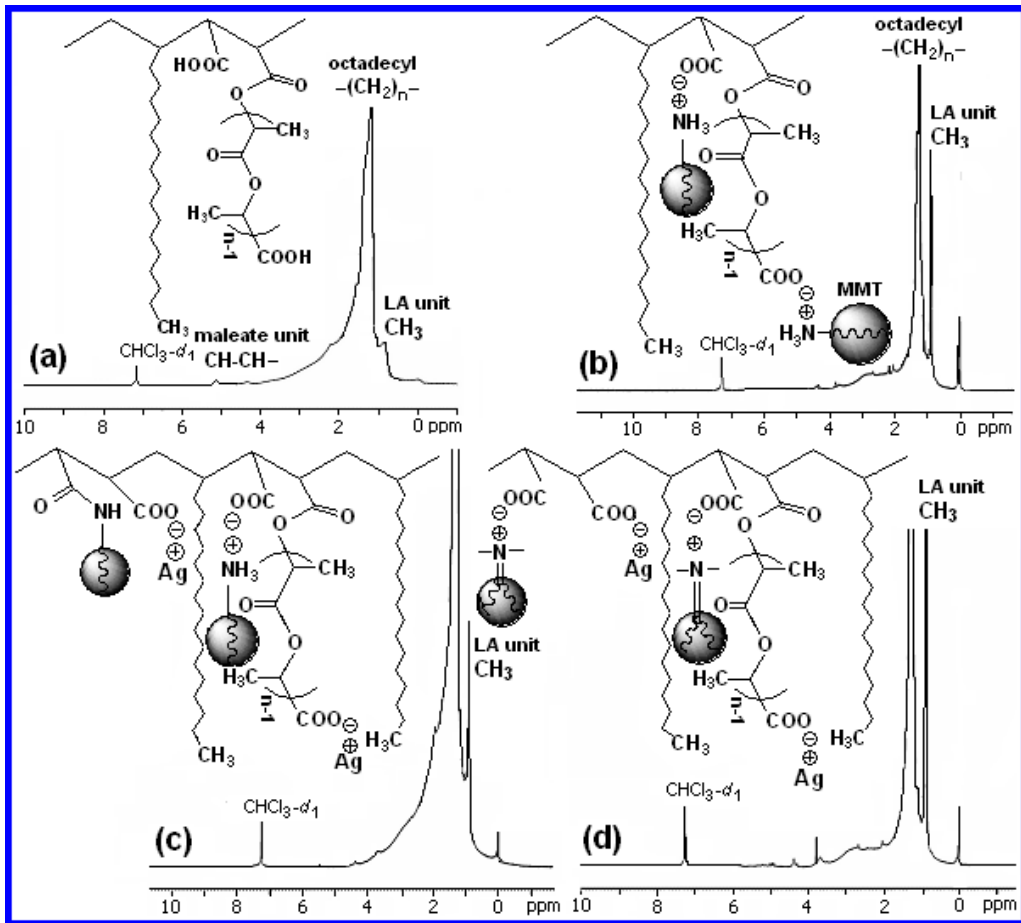
**Şekil 4.1.a)** C-g-PLA ve b) (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin FTIR spektrumunun sonuçları.

#### 4.2. Nanokompozitlerin NMR Analizinin Sonuçları

Deneyler sırasında üretilen nanokompozitlerin yapılarını belirlemek için JEOL 6X-400 (400 MHz) markalı cihazda <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve <sup>13</sup>C-DEPT-135 NMR analizleri yapılmıştır. İlk olarak saf halde olan kopolimerin <sup>1</sup>H NMR analizinin sonucu Şekil 4.2'de gösterilmektedir. Şekilde belirtildiği gibi 1.2-1.3 ppm aralığında oluşan pik, 5'ten 19'a kadar numaralanmış karbon atomları (CH<sub>2</sub>) belirtmektedir. 2.5 ppm değerinde oluşan yüksek çıkış oksijenlerle bağlı olan karbonları, 3.3 ppm değerinde olan ise 3 ve 4 olarak nitelendirilen karbon atomlarını göstermektedir [46].



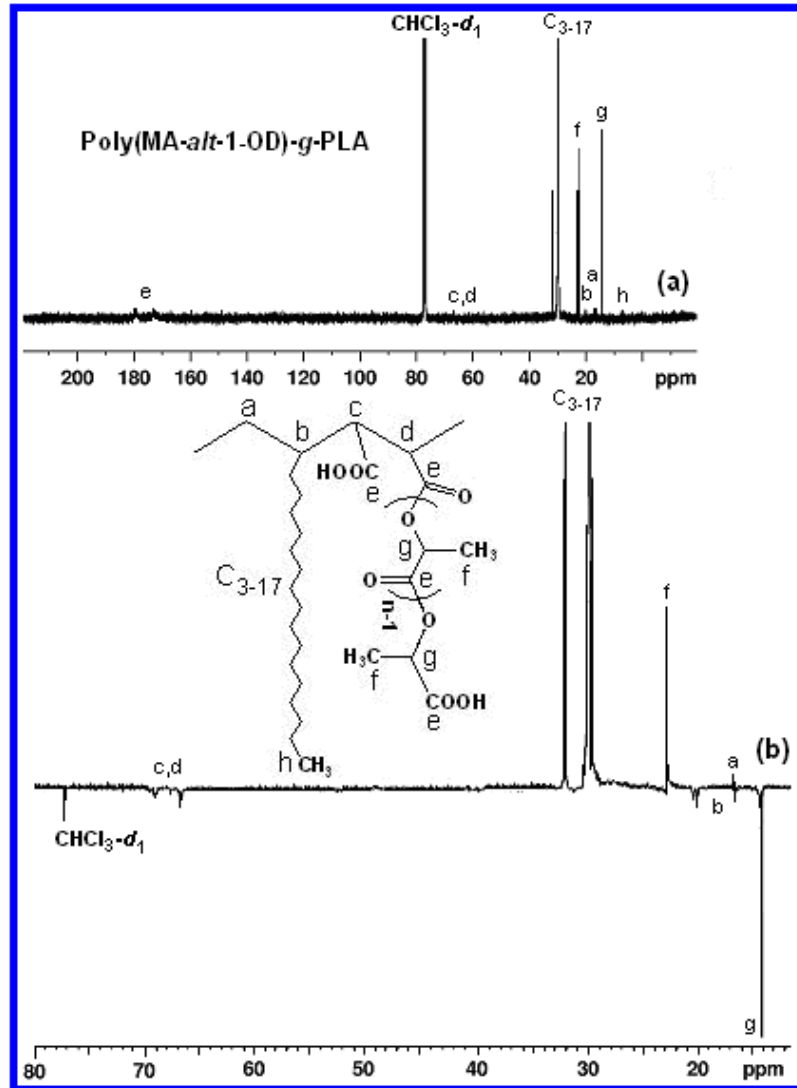
Şekil 4.2. Kopolimerin  $^1\text{H}$  NMR analiz sonucu.



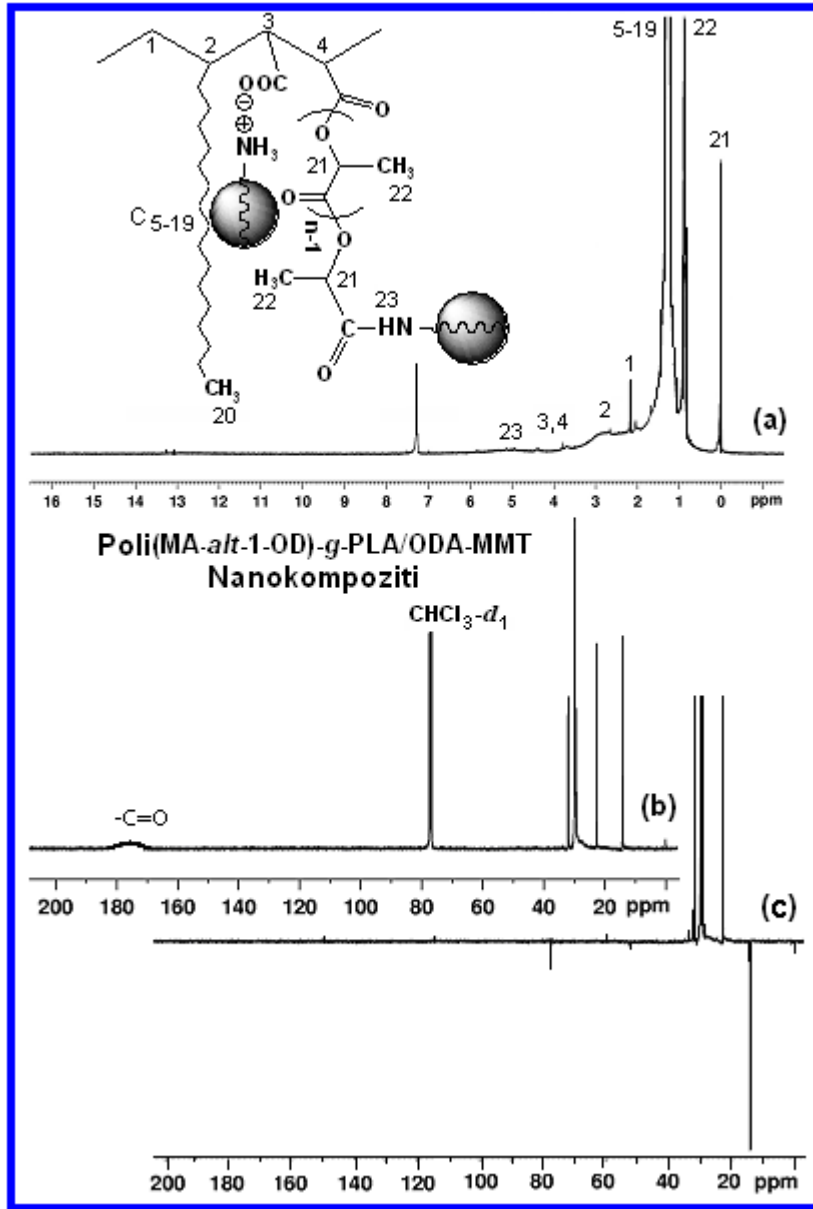
Şekil 4.3. (a) C-g-PLA, (b) (C-g-PLA)-ODA-MMT, (c) (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT, (d)(C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin  $^1\text{H}$  NMR analiz sonuçları.

Şekil 4.3'de C-g-LA, (C-g-PLA)-ODA-MMT, (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT nanokompozitlerinin <sup>1</sup>H NMR analizlerinin grafikleri verilmektedir. Dalgalanmaların oluştuğu ppm değerlerine dayanarak hangi bağların var oldukları belirlenmiştir. Analiz sırasında 25 °C sıcaklığında bulunan CHCl<sub>3</sub>-d<sub>1</sub> çözeltisi kullanıldı. Sistemlerde kullanılan organokil manyetik Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (~1.6.10<sup>-6</sup> g/mL) izler içermektedir. Bu izlerin NMR parametrelerini etkilemediği de bilinmektedir.

Nanokompozitlerin kimyasal yapılarını belirlemek için FTIR ve <sup>1</sup>H NMR analizlerine ek olarak <sup>13</sup>C NMR analizleri de yapılmış ve Şekil 4.4 ve 4.5'de verilmektedir.



**Şekil 4.4.** Kopolimer-g-PLA'nın (a) <sup>13</sup>C NMR ve (b) <sup>13</sup>C-DEPT-135 NMR spektrumu.



**Şekil 4.5.** (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin (a) <sup>1</sup>H NMR, (b) <sup>13</sup>C NMR ve (c) <sup>13</sup>C-DEPT-135 NMR spektrumu.

### 4.3. XRD Analizi ve Sonuçları

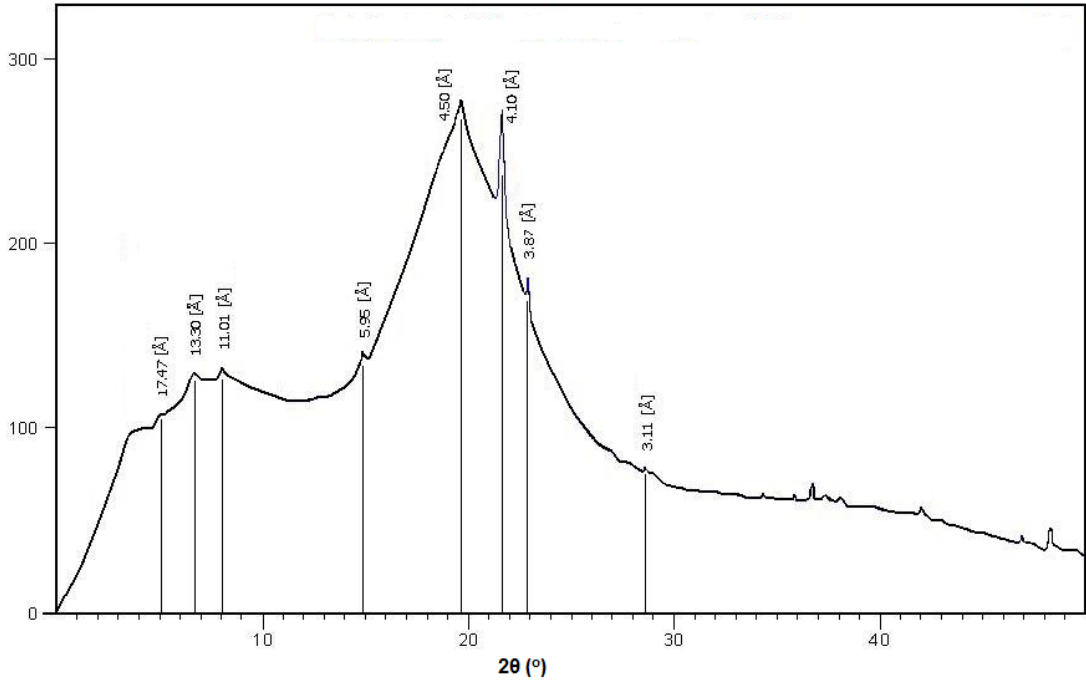
Sentezlenen polimer malzemelerin yapısı ile ilgili bilgi almak için toz halinde üretilen polimerler CuK<sub>α</sub> tüpleri ve Ni filtresi ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) olan PANANALYTICAL X-ray difraksiyon aletinde analiz edilmiştir. Bragg denklemindeki  $2\theta$  değerleri, 1-50° aralığında ölçülmüştür.

Nanokompozitlerin fiziksel yapıları XRD analiz yöntemi ile belirlenmektedir. Polimer/organokil nanosistemlerinde XRD analizi kil levhaları arasındaki tabakalar arası yığılma mesafesine erişimi sağlamakta olduğu bilinmektedir. Bu nedenle,

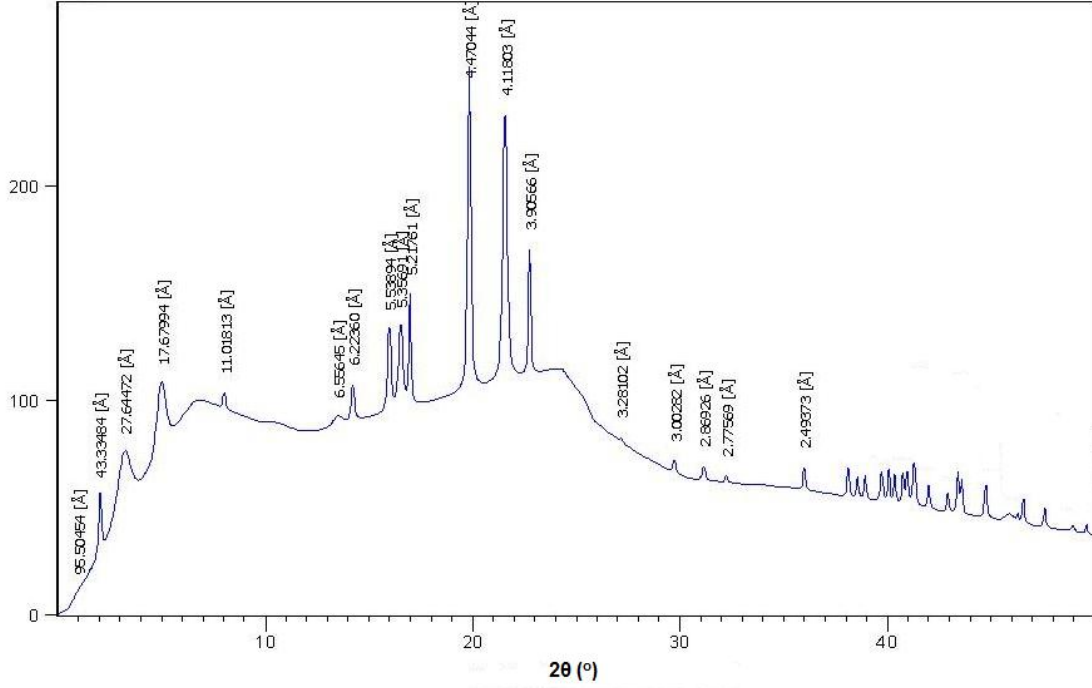


interkölasyon/eksfoliyasyon derecesi, kristalin ve amorf alanları gibi niceliksel özellikler belirlene bilmektedir. Organokillerin XRD modellerine göre yüzey modifikasyonu sadece yüzey özelliklerini değiştirmekte değil, aynı zamanda saf Na<sup>+</sup>-MMT kilinin tabakaları arasındaki *d* mesafesi 10.17 Å'dan 22.25 Å'a, ODA-MMT ( $2\theta = 3.52^\circ$ ) ve DMDA-MMT ( $2\theta = 3.45^\circ$ ) killeri ise 24.38 Å'a yükseltmektedir.

Kopolimer-g-PLA nanokompoziti  $2\theta$  değeri  $19-26^\circ$  aralığında zayıf kristal piklere sahip amorf yapı göstermektedir (Şekil 4.6). Ağırlığının %3.2'i ODA-MMT organokili olan nanokompozitin tabakalı silikat ve PLA dallı birimlerinin kırınım pikleri yarı-kristal yapı sergilemektedir (Şekil 4.7) [47,48].

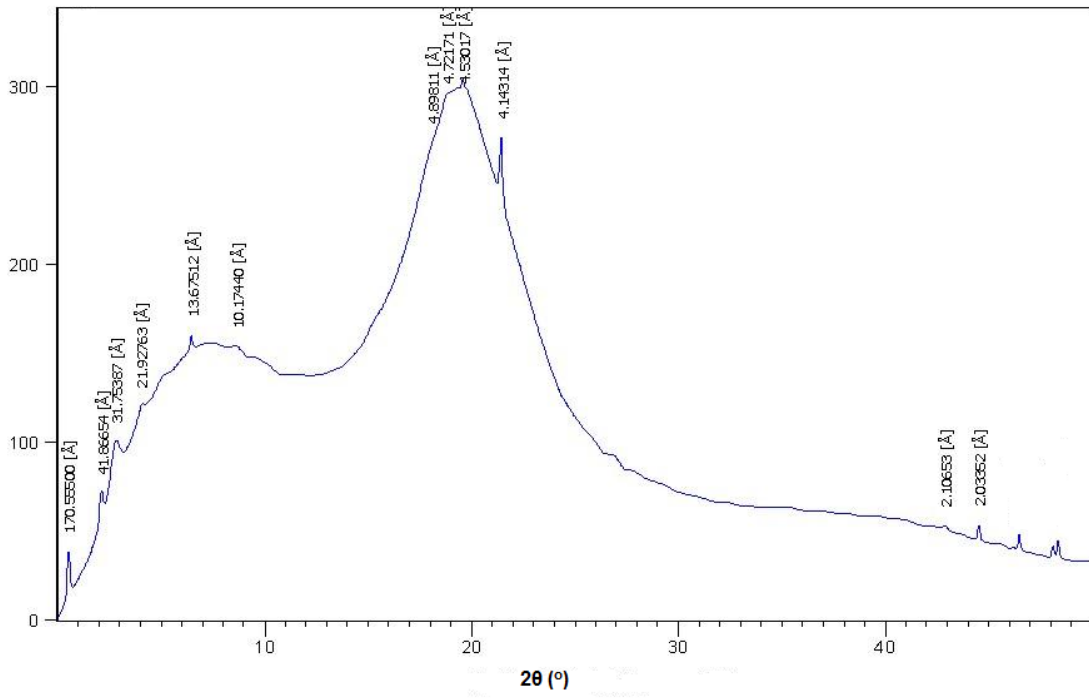


Şekil 4.6. (C-g-PLA) nanokompozitinin XRD sonucu.

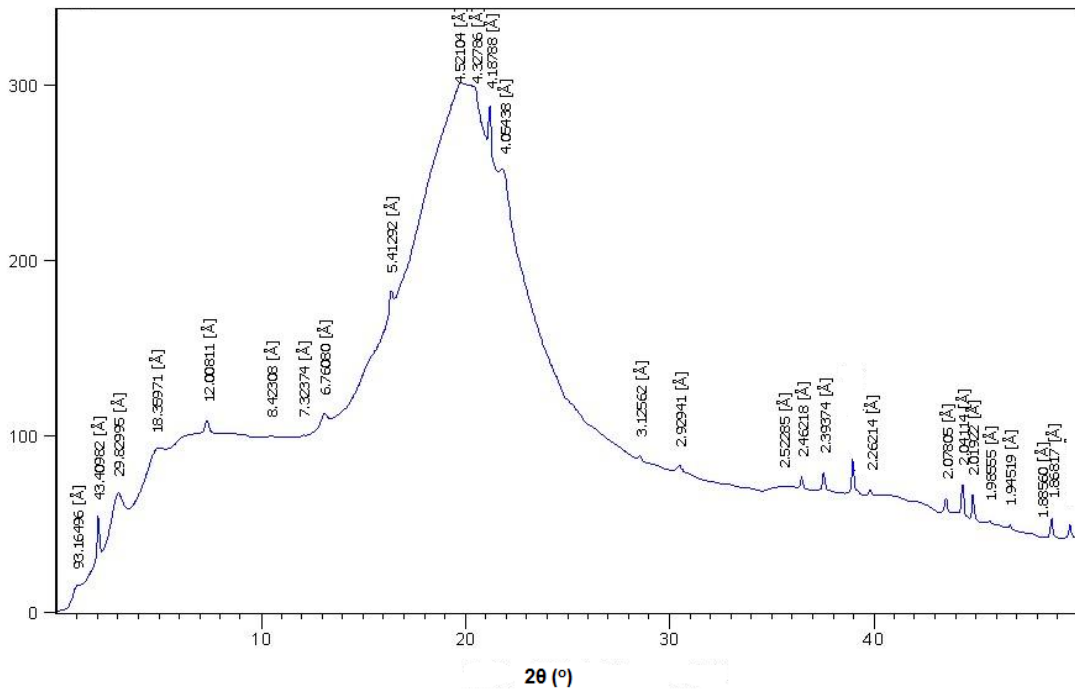


**Şekil 4.7.** (C-g-PLA)-ODA- MMT nanokompozitinin XRD analiz sonucu.

ODA-MMT, DMDA-MMT killeri ve  $Ag^+$  yükü taşıyan nanokompozitleri (Şekil 4.8 ve 4.9) tabakalı silika parçalarından zayıf difraksiyon pikleri göstermektedir. Bu nedenle, bazı organokillerin yapraklanan olması düşünülmektedir. Ancak bazı yapraklanan olmayan organokiller topakları polimer matrisi içinde hala kalmaktadır. Kopolimer-g-PLA/organokil nanokompozitlerinin TEM resimleri de polimer matrisi içerisinde katmanlı organokilin yapraklanan veya kısmen aglomere çekirdek-kabuk yapısı olduğunu onaylamaktadır.  $Ag^+$  yükü taşıyan iki farklı organokil içeren nanokompozitin XRD analiz sonuçlarını kıyaslayınca, reaktif olan ODA-MMT içeren nanokompozit (Şekil 4.8) reaktif olmayan DMDA-MMT içeren nanokompozite (Şekil 4.9) göre daha düşük kristal bölgeye sahiptir. Bu gözlem eş-anlı ara yüzey etkileşim sırasında nanosistemin kimyasal karakteri ile açıklanabilir. Eş-anlı polimerleşmede yapının araya girme/yapraklanma olması tabakalı levhaların ( $d_{(002)}$ ) d- aralık parametresini önemli şekilde değiştirmektedir. Üstelik kopolimer matrisinin anhidrit/karboksil fonksiyonel grupları ile fiziksel ve kimyasal ara yüzey etkileşimlere girebilen  $\equiv Si-OH$  gruplarını ( $d_{(003)}$ ) da etkilemektedir.



Şekil 4.8. (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA- MMT nanokompozitinin XRD analiz sonucu.



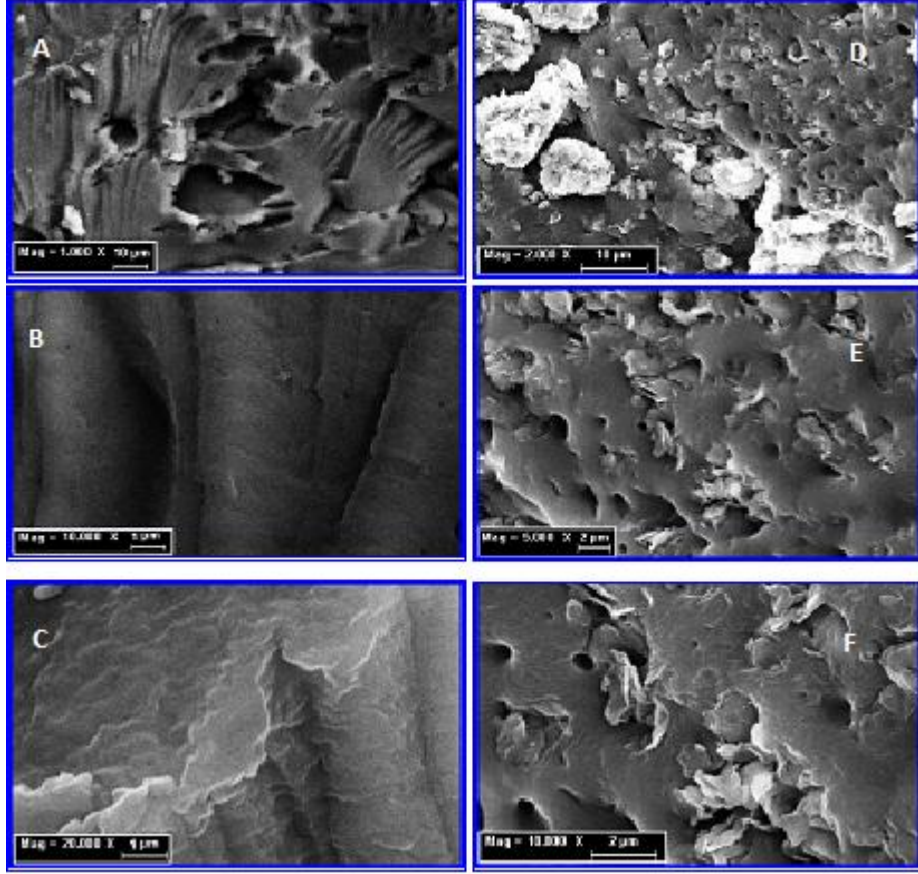
Şekil 4.9. (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA- MMT nanokompozitinin XRD analiz grafiki.

#### 4.4. SEM Analizinin Açıklamaları

Yapılan polimerlerin yapısının morfolojisini inceleme amacıyla ürünler ZEISS SUPRA 40 Field Emission Electron Microscope (FESEM) cihazında analiz edilmiştir. Analizler, 20 kV voltaj hızlandırılma kullanılarak 2 µm, x2000 ve 10 µm, 10.000 özçülü resimler oluşturulmuştur. Tüm numuneler test edilmeden önce dondurularak kurutulmuş ve QUORUM-Q150R ES yüzey kaplama cihazı ile ince platin tabakası ile kaplanmıştır.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM), parçacıkların boyutunun dağılımını, çapını, kalınlığını ve polimer/organokil nanosistemleri içinde dağılımının belirlenmesinde kullanılan tekniklerdir. Kullanılan kilin tipi ve içeriği, matris polimerinin yapısı ve reaksiyon ortamı nanokompozitlerin morfolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Analizler sonucunda poli(MA-*alt*-1-oktadesen) kopolimeri ve onun silika tabakalı nanokompozitleri benzer öz-örgütlenme davranışları sergilemektedirler. Bunun nedeni, eş-anlı işlemlerde hidrofilik-hidrofobik dengesini oluşturan yüzey ve yapısal özelliklerdir. Bu nanokompozitler çekirdek-kabuk morfoloji yapısına eğilimli oldukları tahmin edildi. Bu tahminleri kesinleştire bilmek için alkil amonyum katyonları ile modifiye edilmiş iki tip MMT killeri kullanarak sentezlenen silika katmanlı nanokompozitler ve onların Ag<sup>+</sup> yükü taşıyan türevlerinin yüzey ve iç morfolojileri SEM ve TEM analiz yöntemleri ile incelenmiştir.

Kullanılan organokil kökeninin nanokompozitlerin yüzey morfolojisine büyük ölçüde etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Reaktif ODA-MMT kil içeren nanokompozitlerin SEM görüntülerine dayanarak, çoğunlukla çift gözenekli (mikro- ve nano-gözenekli) ve bazı küçük kabuklu yapı sergilemektedir (Şekil 4.10 D, E, F). Kopolimer-*g*-PLA nanokompoziti ise gözenekli, lif gibi yüzey morfolojisi göstermektedir (Şekil 4.10 A, B, C).

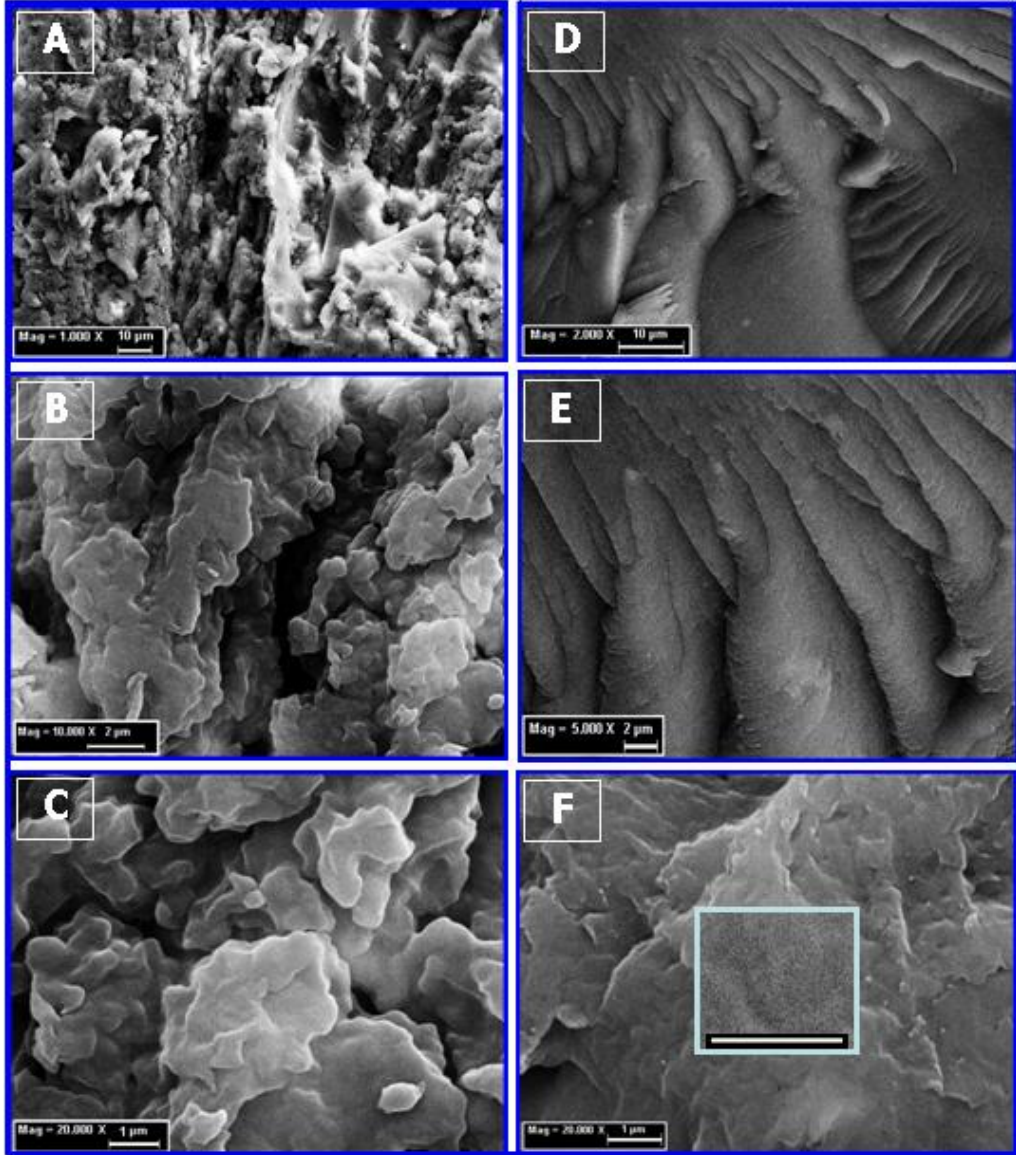


**Şekil 4.10.** (C-g-PLA) nanokompozitinin (A, B, C) ve (C-g-PLA)-ODA-MMT (D, E, F) nanokompozitinin SEM görüntüleri.

Şekil 4.11'den görüldüğü gibi tüm  $Ag^+$  içeren nanokompozitlerin numunelerinin SEM analizi sonucunda hem mikro, hem de nano-gözeneklerli karma biçiminde matris morfolojisine sahiptir. Bu çok gözenekli yüzey yapısının oluşmasının nedeni kil tarafından emilen suyun difüzyonu ve aşırı kopolimerizasyon reaksiyonu sonucu olarak su moleküllerinin ortamdaki yok olması (nano-gözenekli yapı) ve hızlı nano-gözenekli yapı oluşumu sırasında ortamda kalan LA monomerinin varlığı (mikro gözenekli yapı) olmaktadır. Bu tür nano-gözeneklerin oluşması vakumlu kurutma ile yapılan termal uygulamalar sırasında da devam edebilir. Nanosistemlerin yüzey gözeneklerinin boyutları yaklaşık olarak 15-20 nm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11F).

(C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinden farklı olarak, aynı bileşenin  $Ag^+$  yükü taşıyan nanokompozitinin ancak denetimli çoklu nano-gözenekli yüzey yapısı görünümünü göstermektedir (Şekil 4.11A, B, C). Bununla birlikte, reaktif olmayan

DMDA-MMT kili ve  $Ag^+$  yükü taşıyan nanokompozit ince yüzey üzerine çoklu nano-gözenekler dağıtılmış gibi katmanlı lifli yapı sergilemektedir (Şekil 4.11 D, E ve F). DMDA-MMT organokilinin iki uzun dodesil gruplarının komşu yan zincirlerdeki kopolimerin oktadesil gruplarının engellerinden kaçma tercihi olduğu söylenebilir. Diğer taraftan, gümüş katyonları aşırı kopolimerizasyonunda su moleküllerinin sistemden kontrollü giderilmesini sağlayarak ve çoklu nano-gözenekli yüzey morfolojisinin oluşumunu engelleyen eş-katalizör olarak yer alabilir. Bu sonuçlara dayanarak, eş-anlı kopolimerizasyonlarda gümüş katyonları ile zenginleştirilen ODA-MMT kili kimyasal, DMDA-MMT kili ise fiziksel olarak daha etkin ara yüzey etkileşimleri sağlamaktadırlar.



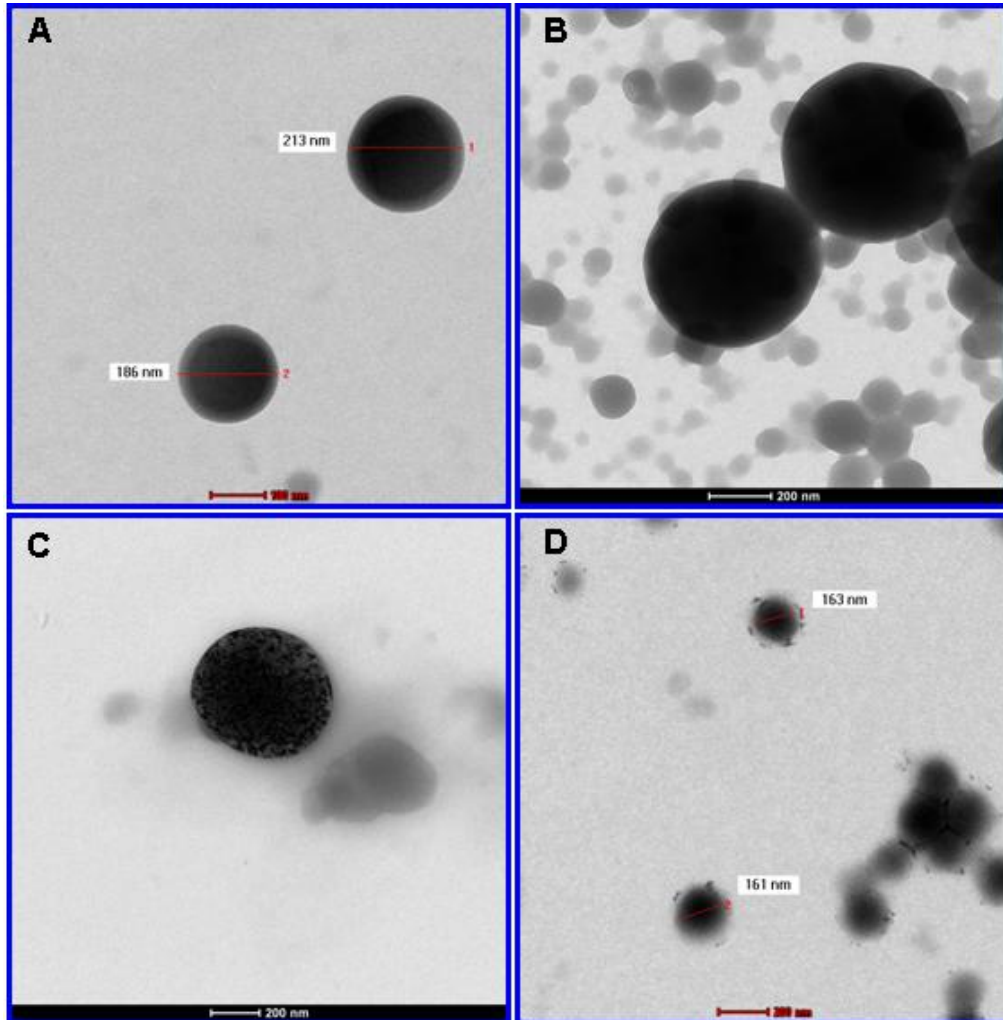
**Şekil 4.11.** (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT (A, B, C) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT (D, E, F) nanokompozitinin SEM görüntüleri.

#### 4.5. Nanokompozitlerin TEM Analizleri

Nanokompozitlerin dahili morfolojisi FEI Tecnia G<sup>2</sup> Spirit Biotwin Model High Contrast Transmission Electron Microscopy (CTEM) ile 120 kV olan Lantan Hexaboron Electron Gun cihazı ile analiz edildi. Toz şeklinde olan polimer numune % 0.1 yoğunluklu etanol çözeltisi içinde süspansiyon haline getirildi ve sonrasında daha homojen bir dağılım oluşması için sonike edildi. Test edilmeden önce hazırlanan çözelti (3-5  $\mu$ L) yüzeyi karbonla kaplanmış şebeke üzerine bırakıldı ve şebeke üzerinde tam katı faz oluşana kadar kurutuldu.

TEM yöntemi nanopartiküllerin içyapısının niceliğini, çeşitli fazlarda dağılımını ve kusurlu yapıların doğrudan görülmesini sağlamaktadır.

TEM analizi sonucunda elde edilen resimler Şekil 4.12-4.15'de verilmektedir.



**Şekil 4.12.** TEM analiz sonuçları: (A) 100 nm ölçülü (C-g-PLA)-ODA-MMT, (B) 200 nm ölçülü (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT, (C) 200 nm ölçülü (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT, (D) 200 nm ölçülü poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) nanokompozitleri.

Parçacıkların bireysel TEM görüntüleri ise Şekil 4.12 verilmektedir. (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompoziti D=186 nm ölçülü kuvvetli çekirdek-kabuk morfolojisi ve 15.7 nm ölçülü kabuk yapısına sahiptir (Şekil 4.12A). Bu durumun tersi olarak, saf halde olan kopolimer çoğunlukla kısmi halde aglomere olarak antisimetrik çekirdek-kabuk yapısı sergilemektedir (Şekil 4.12D). Ayrıca, Şekil 4.12C nanosistemde olan bazı bireysel parçacıklar 15-20 nm çapında nano-gözenekli yapı göstermektedir. Bunun nedeni ise parçacık oluşumu ve kurutma işlemi sırasında su moleküllerinin iç tabakalar arasından giderilmesi ile açıklanabilir.

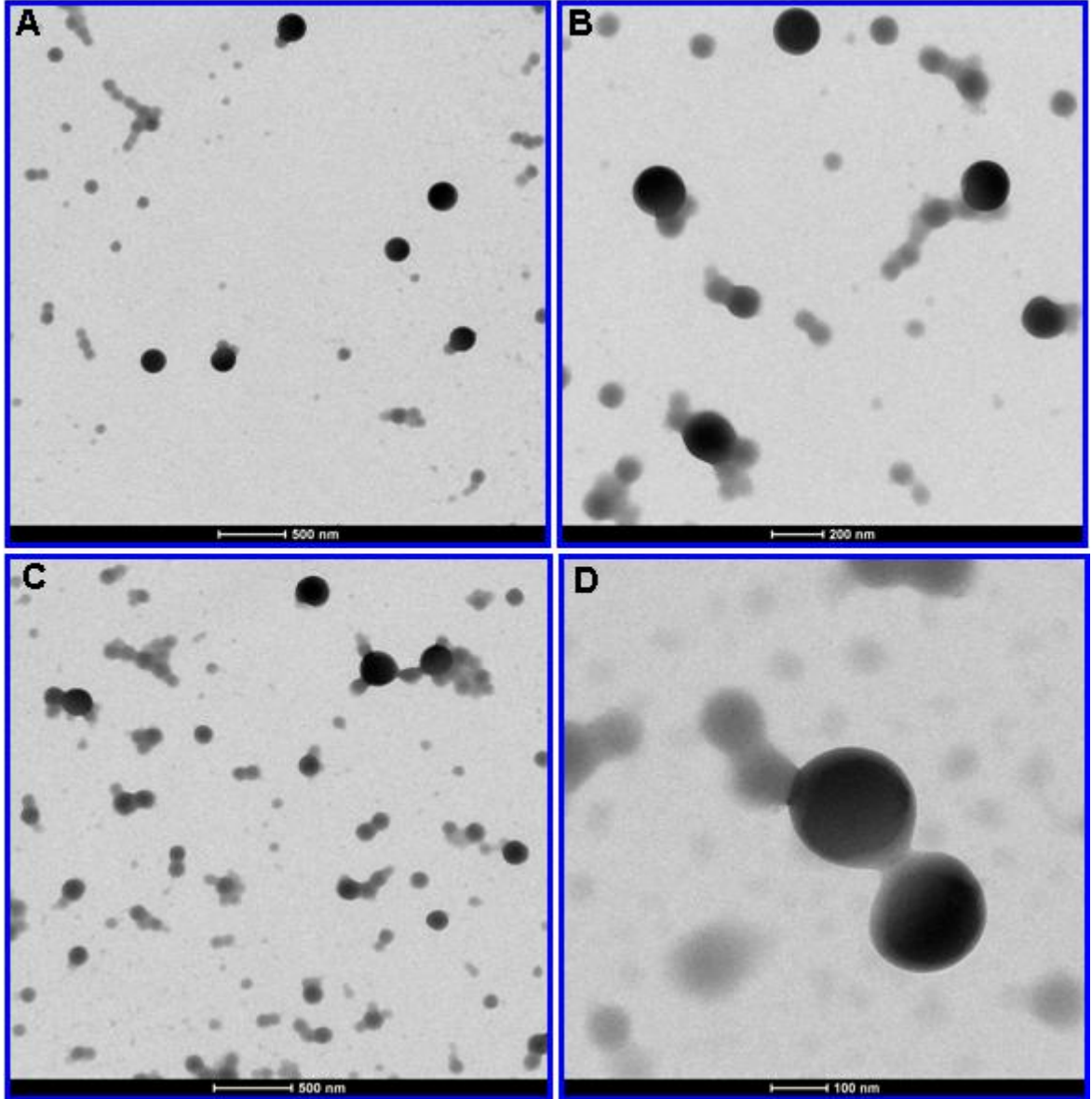
Görüntülerden belli olduğu gibi poli(MA-*alt*-1-oktadesen)-g-PLA/organo-MMT nanokompozitlerinin kil kristalleri düzenli olarak bir araya toplanarak, çekirdek-kabuk morfolojisi halinde aşırı kopolimeri ile kaplı küresel parçacıklar matrisi oluşturmaktadır. Bu durum kullanılan reaktif kopolimer-g-PLA/organokil karışımı içinde daha iyi oluşan hidrofobik/hidrofilik dengesi ile açıklanmaktadır. Bu nedenle, seçilen lamellar arası aşırı kopolimerizasyonu koşullarında kendi-kendine düzenlenen (self-assemble) eş-anlı fiziksel ve kimyasal arayüz etkileşimleri oluşmaktadır.

TEM görüntülerine dayanarak, kopolimer-g-PLA ve reaktif ODA-MMT kil (Şekil 4.13) arasında güçlü kimyasal arayüz etkileşimleri var olmaktadır. Çekirdek-kabuk morfolojili ince dağılmış polimer ve katmanlı organokil fazlarının oluşması eş-anlı interkülasyon/eksfoliyasyon polimerleşmenin oluşmasını sağlamaktadır (Şekiller 4.13 ve 4.14). Fakat reaktif olmayan DMDA-MMT kilinden ve onun Ag<sup>+</sup> taşıyan türeviden oluşan kopolimerler kısmen aglomere olarak antisimetrik çekirdek-kabuk yapısına yol açar (Şekil 4.15).

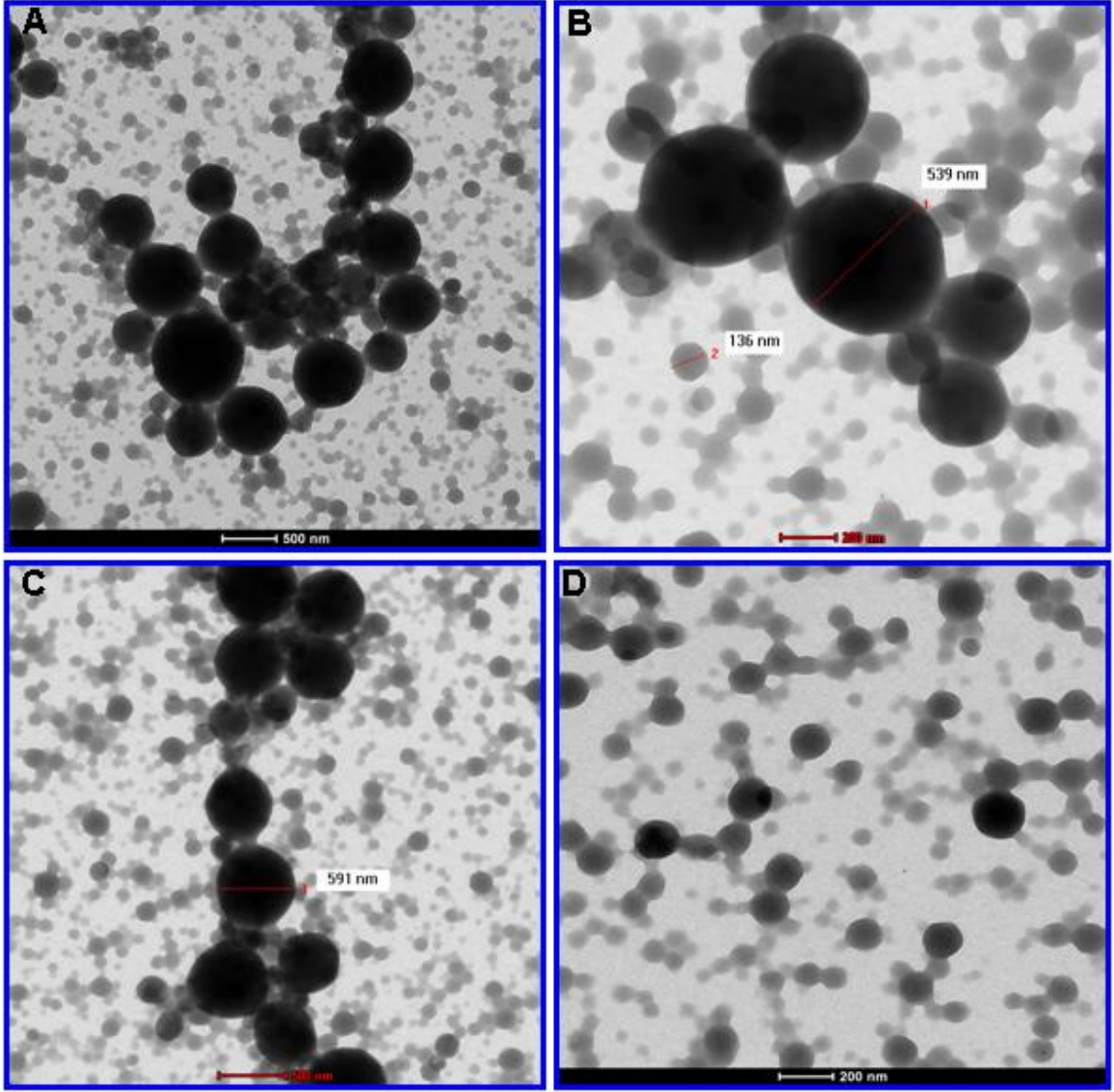
Kullanılan organokil kökeninin iç morfoloji üzerinde önemli etkisini anlayabilmek için (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin TEM görüntüleri yeterlidir. Ag<sup>+</sup> yükü kullanılan bazı nanokompozitlerin parçacıklarında nano-gözenekli yapı gözlemlenmektedir (Şekil 4.12C ve 4.15C). Bu olgu partiküllerinin çekirdek-kabuk yapısının oluşumunda su moleküllerinin iç tabakalarının arasına emilmesi ve vakum işleminde kurutma sonucunda ortaya çıkmaktadır. Boyutları 25-100 nm aralığında, aynı zamanda bazı 300-400 nm nano-ölçekli partiküller ilk nanosistemde tespit edildiği gibi (Şekil 4.15B), su emme-şişme işleminin sonucu olarak daha iyi öz-örgütlenme (self-assembled) morfoloji yapısına sahiptirler.



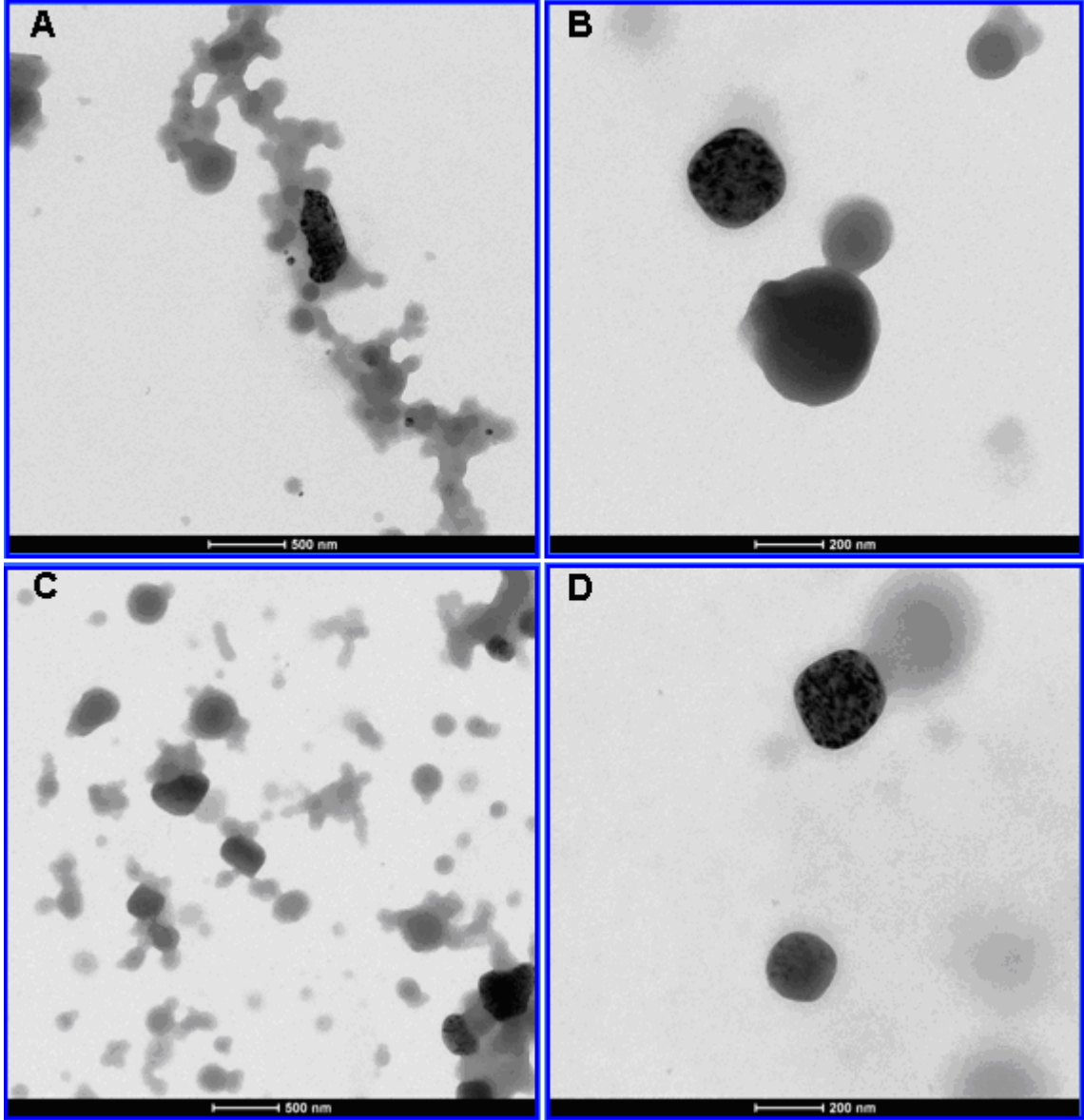
Kismen aglomere olan antisimetrik çekirdek-kabuk yapıları parçacıklar ikinci nanosistemi oluşturmaktadır (Şekil 4.15D). Bu nanosistemlerin morfolojileri arasında gözlemlenen önemli farklar eş-anlı işlemlerde kimyasal (ilk nanosistem) ve fiziksel (ikinci nanosistem) gibi çeşitli arayüzey etkileşimleri ile açıklanabilir.



**Şekil 4.13.** (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) 200 nm, (D) 100 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.



**Şekil 4.14.** (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) ve (D) 200 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.



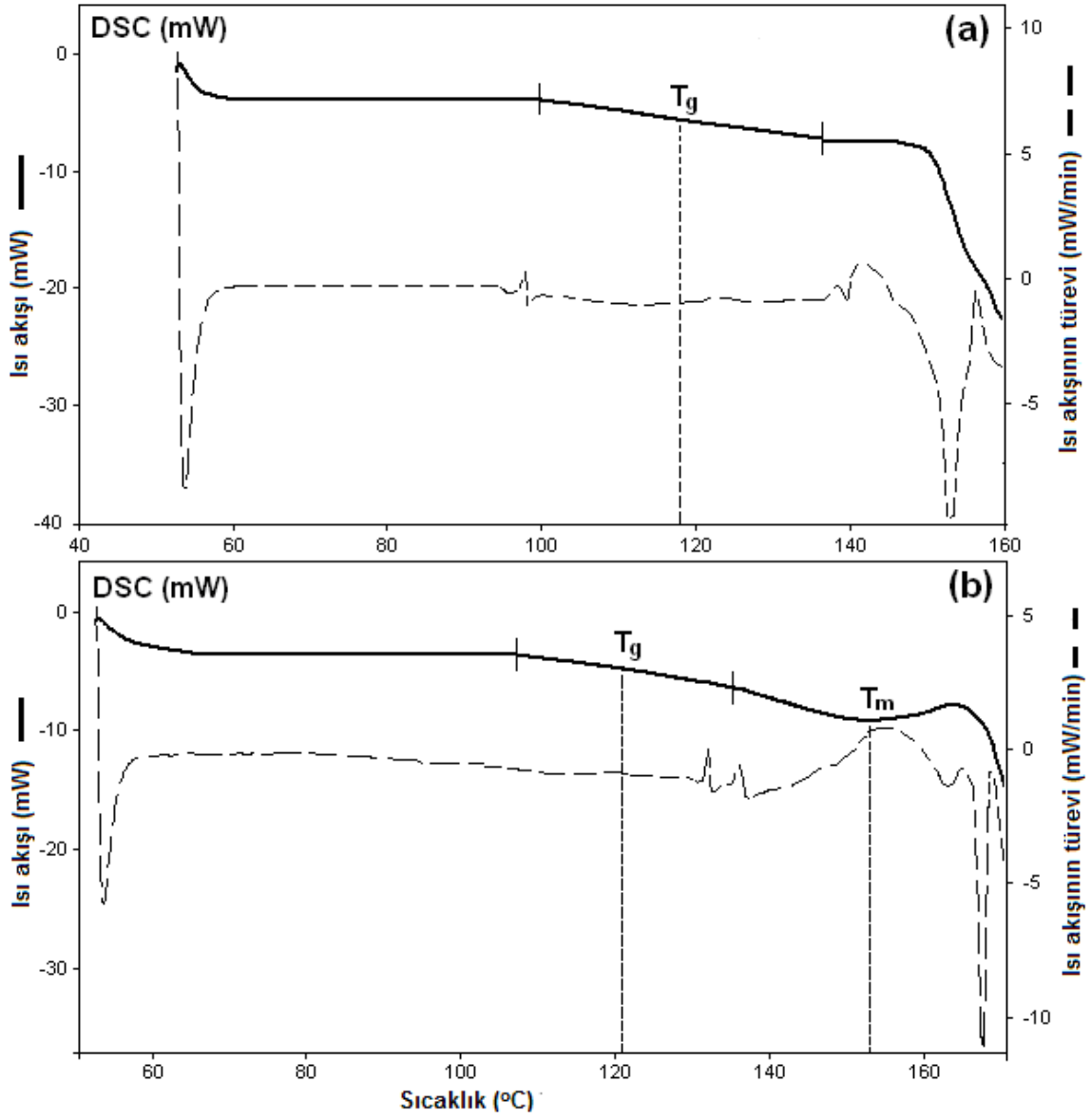
**Şekil 4.15.** (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitinin (A) ve (B) 500 nm, (C) ve (D) 200 nm ölçülerinde TEM analiz sonuçları.

#### **4.6. DSC, TGA ve DTG Analizlerinin Sonuçlarının İncelenmesi**

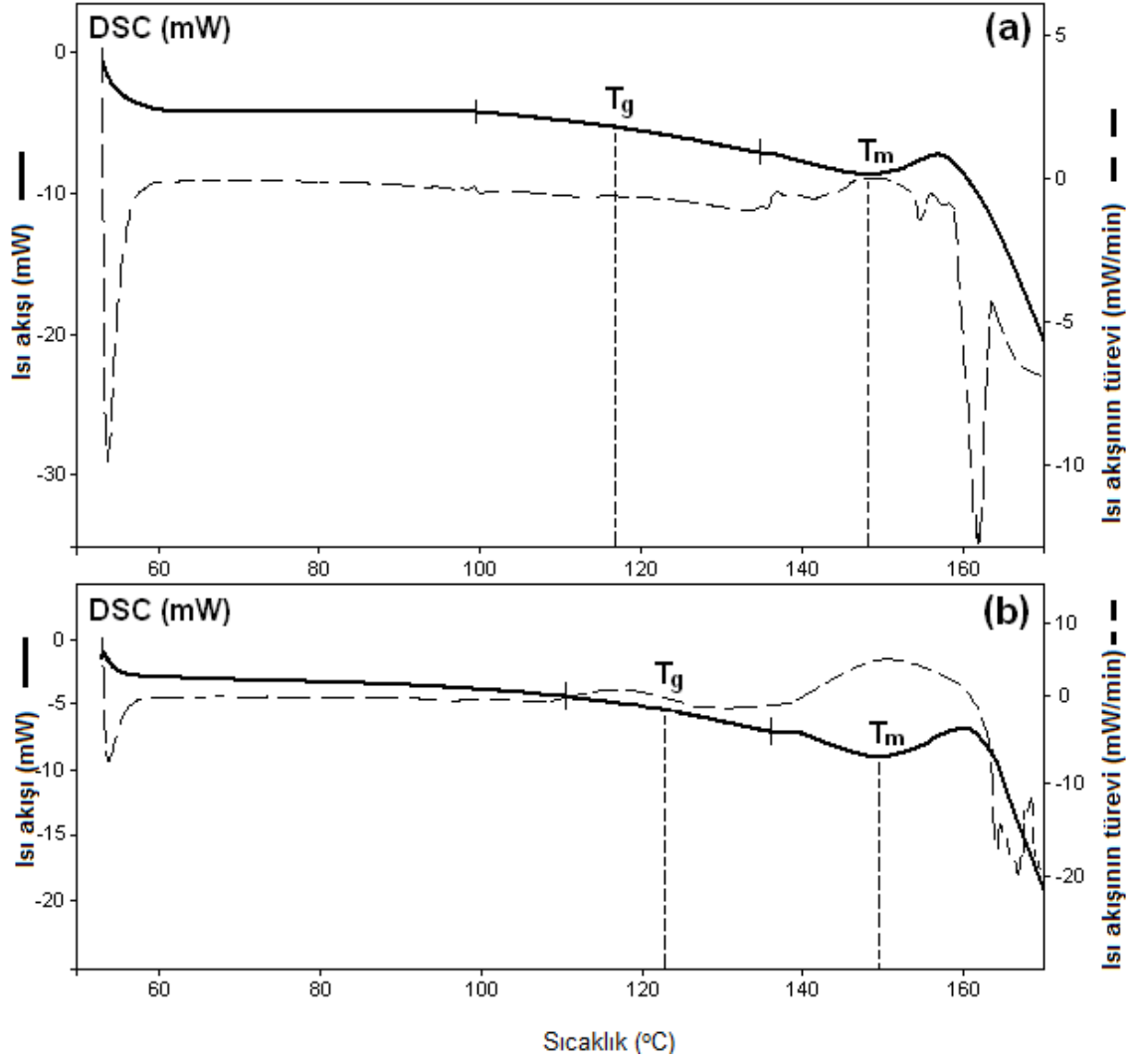
DSC, TGA ve DTG analizleri malzemenin özelliklerinin sıcaklık ve zamana göre değişimini inceleyerek cam geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ), erime noktası ( $T_m$ ), bozulma sıcaklığı ( $T_d$ ) gibi özelliklerini belirlemektedir. Deneylerin analizi sırasında EXTRAR600 TG-DTA6300 ve Diamond DSC Perkin Elmer Thermal Analyzers (ABD) cihazları kullanılmıştır. Numuneler yaklaşık 10 mg ağırlıklı alüminyum kaptaki üzerine 10 °C/min doğrusal ısıtma hızında azot akışı altında analiz edildi.

Üretilen nanokompozitlerin DSC sonuçları Şekil 4.16 ve 4.17 , TGA ve DTG sonuçları ise Şekil 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Analiz sonuçlarında oluşan grafiklere

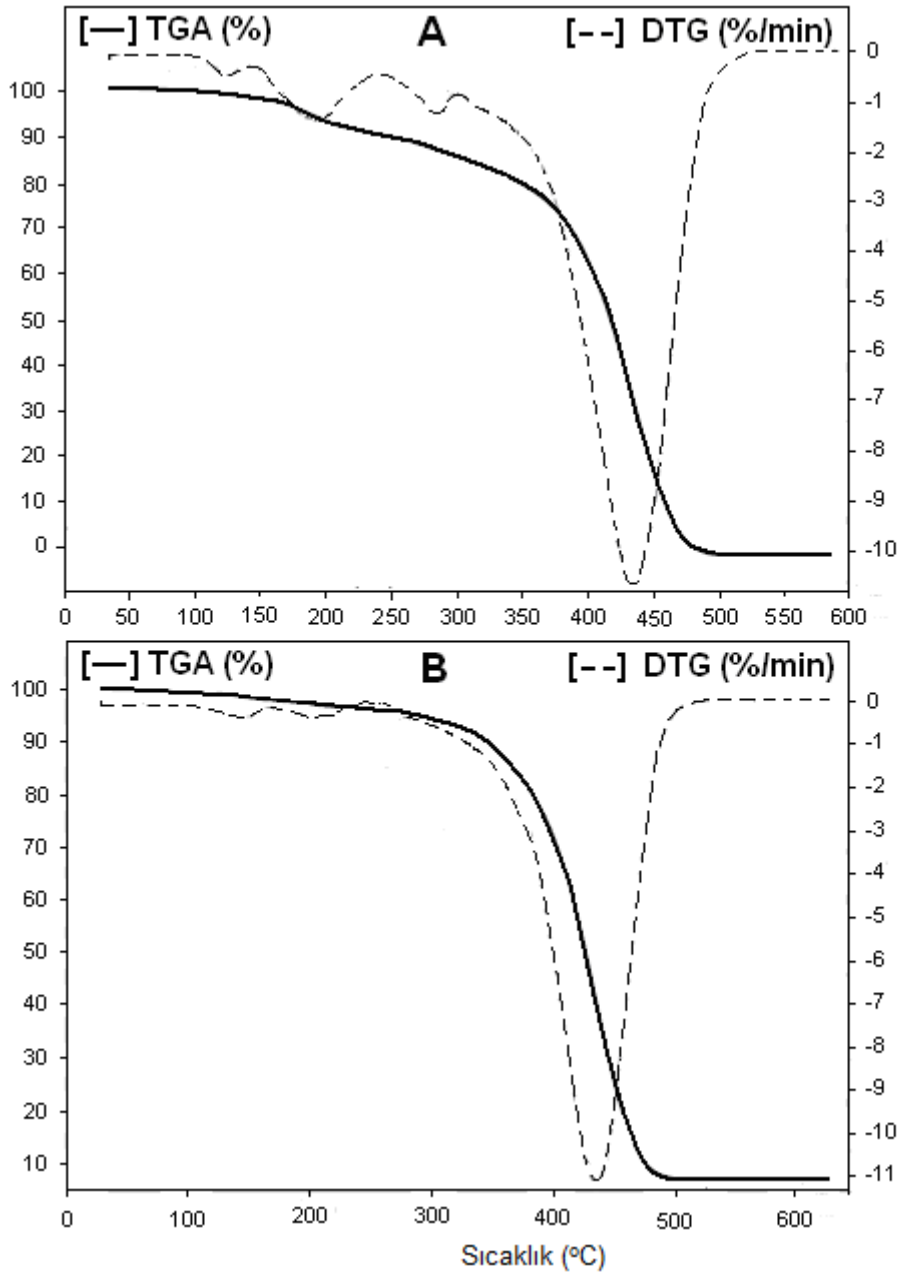
dayanarak nanokompozitlerin cam geçiş, erime ve bozulma sıcaklıkları hesaplanmış ve Çizelge 4.1’de özetlenmiştir.



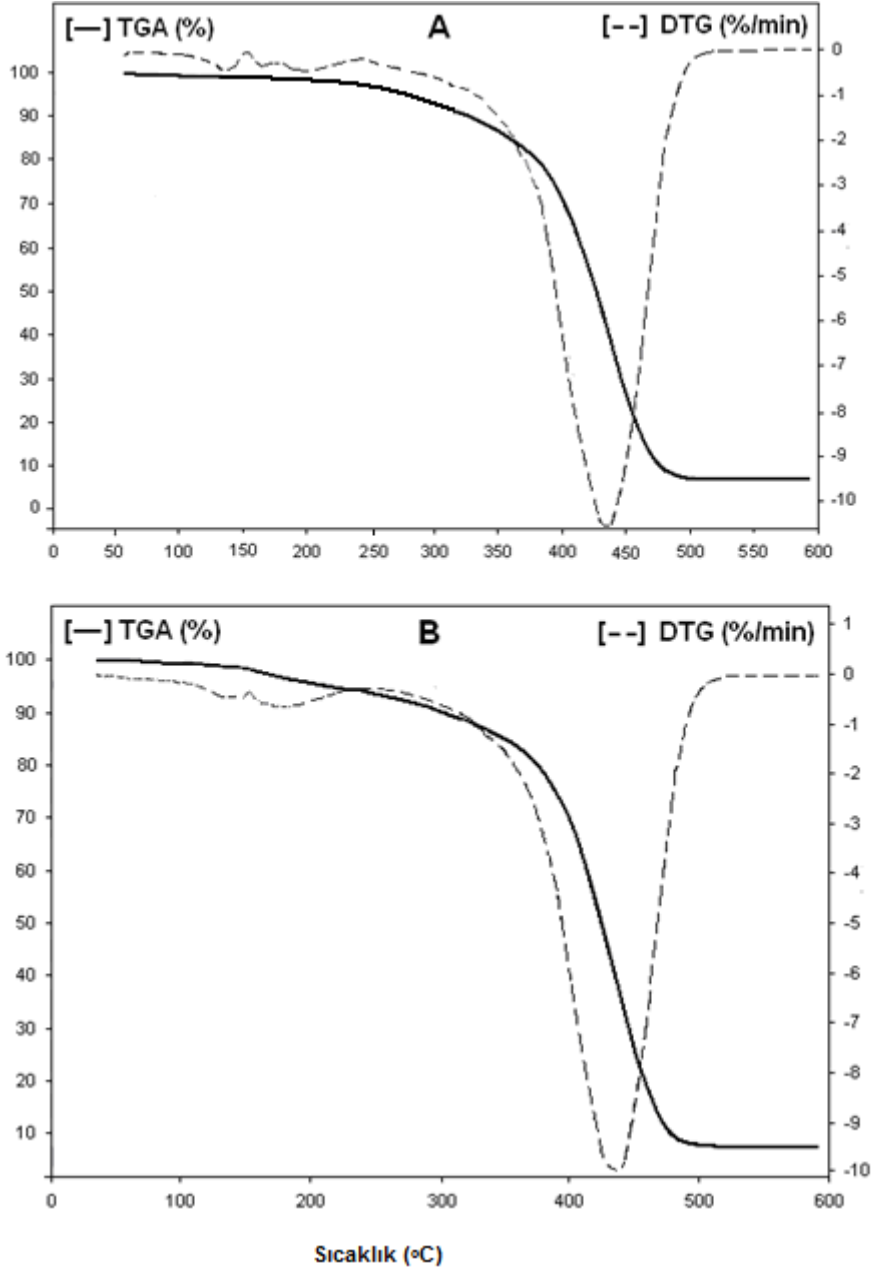
**Şekil 4.16.** a) (C-g-PLA), b)(C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitlerinin 10 °C/min azot kullanımında DSC analizleri.



**Şekil 4.17.** a) (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT ve b)(C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin DSC analizleri.



**Şekil 4.18.** a) (C-g-PLA) ve b)(C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompozitlerinin TGA ve DTG analizleri.



**Şekil 4.19.** a) (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT ve b)(C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin TGA ve DTG analizleri.

Şekil 4.16 ve 4.17'deki DSC grafiklerine göre grafikin türevinin sıfıra eşitlendiği sıcaklık noktası malzemenin erime noktasını göstermektedir. Grafikin bu kısmı dar halde değil de, geniş alan halinde bulunmaktadır. Bunun nedeni malzeme saf madde halde değil, birkaç malzemenin karışımı halinde olmasından kaynaklanıyor. DSC eğrisini erime noktasından önceki kısmında var olan doğrusal ise camsı geçiş alanını belirlemektedir. Camsı geçiş sıcaklığı bu eğrinin orta noktası olarak kabul

edilmektedir [49]. Bu bilgilere dayanarak nanokompozitlerin DSC analiz sonuçları Çizelge 4.1'in DSC kısmında özetlenmiştir.

TGA ve DTG analizlerine göre malzemenin bozulma sıcaklığını belirlemek mümkündür. Bozulmanın maksimum noktası DTG eğrisinin türevinin sıfıra eşitlendiği sıcaklık noktasıdır [49,50].

**Çizelge 4.1.** Nanokompozitlerin erime, cam geçiş ve bozulma sıcaklıkları.

Nanokompozitler	DSC analizi		TGA/DTG analizi
	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)	T <sub>d (max)</sub> (°C)
(C-g-PLA)	117.6		433
(C-g-PLA)-ODA-MMT	122.3	158.4	435
(C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT	116.7	148.3	434
(C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT	122.8	149.5	436

DSC, TGA ve DTG analizlerine dayanarak, laktik asitle graftlanan ve üretilen nanokompozitlerin analiz sonuçlarının kıyaslamasından organokillerin nanokompozitlerin termal özellikleri üzerinde etkisi incelenmiştir. Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi laktik asitle graflanan kopolimerin cam geçiş sıcaklığı 117.6 olurken, nanokompozitlerin camsı geçiş sıcaklıkları 122.3, 116.7, 122.8 °C olmaktadır. Elde edilen termal parametrelere göre graftlanan kopolimer amorf yapı sergilemekteyken, nanokompozitler ve onların Ag<sup>+</sup> yüklü türevleri yarı kristal yapısına sahiptir.

Kopolimer-g-LA ve tabakalı silikat nanokompozitlerin termal kararlılığı TGA ve DTG analizi ile değerlendirilmiştir. Grafiklere göre graftlanmış kopolimer kütlelerinin % 5 oranını 178 °C sıcaklıkta kaybetmektedir. Bunun üzerine kütlelerinin % 3.2 oranında organokil ve Ag<sup>+</sup> parçacıklar eklendiğinde, nanokompozitlerin bozulma sıcaklıkları yükselmektedir. Örnek olarak (C-g-PLA)-ODA-MMT, (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-ODA-MMT, (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin kütlelerinin %5 oranında azalması için uygun olarak 297, 264 ve 209 °C sıcaklık gerekmektedir.



Bu nedenle kopolimer-*g*-LA birleşenin iki aşamalı bozulması ile açıklanabilir. İlk aşamada kopolimer matrisi karboksil grupları dağılmakta ve ağırlığının % 7 oranını kaybetmektedir. İkinci aşamada ise matrisin genel zincirinin bozulması gözlenmektedir. Nanokompozitler ise ilk aşama olmadan, tek aşamada bozulmaktadır. Bunun nedeni ise bu grupların aktif yüzeye sahip organokillerle eş-anlı etkileşimleridir.

**Çizelge 4.2.** Nanokompozitlerin belirli sıcaklıklarda bozulma oranları.

Nanokompozitler	Bozulma oranları (%)		
	200 °C	300 °C	400 °C
(C- <i>g</i> -PLA)	92.5	83.7	61.2
(C- <i>g</i> -PLA)-ODA-MMT	97	94	71
(C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT	98.2	90.9	71.4
(C- <i>g</i> -PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT	95.6	90	70.4

#### 4.7. Zeta ( $\zeta$ ) Boyutları ve Potansiyeli

Zeta ölçüm cihazını kullanarak hem partiküllerin boyutlarını, hem de yüklerini belirlemek mümkündür. Bunun için 3000 HS<sub>A</sub> modeli MALVERN Instruments firmasında elde edilen alet kullanıldı.

Deneyler sırasında hazırlanan kopolimer-*g*-laktik asit polimeri, laktik asit içerisinde şişirilen dolgu malzemesi, gümüş iyonları ile etkileşen ve kil tabakaları (ODA-MMT ve DMDA-MMT) arasında dağılan polimerler analiz edilmiştir. Numunelerin her birinden 0.03 g alınarak 3 mL kloroformda (10 g/L oranında) çözerek analiz edilmiştir. Polimer nanoparçacıklar kloroformda tamamen çözülmektedir ve bu nedenle çözelti olarak kullanılmıştır. Aynı çözelti hem direk, hem de 120 saniye süresinde 30W gücünde sonikasyon yapılarak analiz edildi. Cihazla analiz edilerek elde edilen tüm nanokompozitlerin  $\zeta$ -boyut ve  $\zeta$ -potansiyel verileri Çizelge 4.3'de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.3.** Nanoparçacıkların  $\zeta$ -boyutları ve potansiyelleri ölçüm tablosu.

Nanoparçacıklar ve onların bireysel bileşenleri	AgNO <sub>3</sub> (%)	Organokil (%)	Sonikasyondan önceki ve sonraki $\zeta$ -boyutlar ( $\mu\text{m}$ )		$\zeta$ -potansiyel (mV)
(C-g-LA) <sup>a</sup> Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT	0.56	0.56	1.15	0.46	1.6
(C-g-LA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT	0.56	0.56	0.30	0.32	67.6
(C-g-LA)Ag <sup>+</sup> -Na <sup>+</sup> -MMT	0.56	0.56	0.50	0.40	1.6
(C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -ODA-MMT	0.71	0.71	0.24	0.26	42.5
(C-g-PLA)Ag <sup>+</sup> -DMDA-MMT	0.71	0.71	0.09	0.39	71.7
Poli(MA- <i>alt</i> -1-OD)-g-PLA	0.0	0.0	0.83	3.32	55.5
(C-g-PLA)-ODA-MMT	0.0	5.4	0.61	1.33	38.3
Poli(MA- <i>alt</i> -1-octadecene)	0.0	0.0	0.63	0.11	76.5
Na <sup>+</sup> -MMT	0.0	100	2.54	1.13	73.3
ODA-MMT	0.0	100	1.48	0.77	94.2
DMDA-MMT	0.0	100	0.37	1.00	36.5

<sup>a</sup> 3.5 g kopolimerin 20 mL laktik asit içerisinde polimerleşmesinin kısaltması.

Kopolimer ve killerin reaksiyona girmeden, saf hallerinde  $\zeta$ -boyutlarına göre ortalama büyüklükleri kopolimer için 0.63, Na<sup>+</sup>-MMT için 2.54, ODA-MMT için 1.48 ve DMDA-MMT için ise 0.37  $\mu\text{m}$  olmaktadır. Buna rağmen Na<sup>+</sup>-MMT, ODA-MMT ve DMDA-MMT killerinin poli(MA-*alt*-OD)-g-LA/Ag<sup>+</sup>-nandolugusu ile birleşmesinden oluşan yapraklanan yapı polimer nanoparçacıkların boyutları daha düşük zeta ölçülere sahip olmakta ve ortalama boyutları 0.5, 1.15 ve 0.3  $\mu\text{m}$  belirlenmektedir. Na<sup>+</sup>-MMT kili kullanıldıkta, parçacık boyutlarında iki defadan daha fazla azalma gözlemlenmektedir. Bunun nedeni serbest karboksil grupları ile silika polimer tabakalarında var olan gümüş katyonları arasında etkileşim ve katyon değişim

sayesine kolaylıkla açıklanabilir. Poli(MA-*alt*-OD)-*g*-poli(LA) sistemlerinden oluşturulan nanoparçacıklar daha iyi sonuç vermekteler. Reaktif ve reaktif olmayan organokiller kullanılarak hazırlanan nanoparçacıkların ortalama boyutları 0.24 ve 0.092  $\mu\text{m}$  olmaktadır ( $\Delta\zeta = 150 \text{ nm}$ ). Bu gözlem farklılığı eş-anlı polimerleşme sırasında ilk nanopartikülün kimyasal (amidleşme) yoluyla kısmen aglomere olması ve ikinci nanopartikülün fiziksel (hidrojen bağı) etkileşimi ile izah edilmektedir. Aynı farklılık  $\zeta$ -potansiyel ( $\Delta\zeta = 29.2 \text{ mV}$ ) için de geçerlidir. Böylece, düşük  $\zeta$ -boyutlu ve yüksek  $\zeta$ -potansiyelli ( $> 70 \text{ mV}$ ) parçacıklar makromoleküllü nanokompozitleri kendilerine bağlama eğilimini artırır.

Kopolimer,  $\text{Na}^+$ -MMT ve ODA-MMT killeri kullanılan nanosistemlerde sonikasyon yapıldıktan sonra parçacıkların ortalama boyutları azalmaktadır. Dolayısıyla, bu özellik killerin kendilerine has olmaktadır. DMDA-MMT ve kopolimer-*g*-LA içeren sistemin analizine göre sonikasyondan sonra ortalama parçacık boyutlarında büyümüştür. Bunun nedeni ise düşük zeta potansiyeli (36.5 mV) ile bağlıdır. Saf halde kopolimerin düşük zeta boyutu ve yüksek zeta potansiyeli (76.5 mV), çözelti içerisinde kopolimer makromoleküllerinin yüzey yapısı ve hidrofobik/ hidrofilik denge ile açıklanmaktadır.

## 5. KOPOLİMER-*g*-PLA VE Ag<sup>+</sup> İÇEREN KOPOPOLİMER-*g*-PLA/ORGANİK KİL NANOKOMPOZİTİNİN ANTİKANSER ÖZELLİKLERİ

Kemoterapi, meme kanseri tedavisinde uygulanan en yaygın ve etkili yöntemdir. Ancak, kemoterapi süresince, hastaların tedaviye cevap vermemesi veya tedavi sonrası kanserin tekrarlanması sıklıkla görülen bir durumdur [51]. Kanser tedavisinde başarıya ulaşmak için genellikle birden fazla antikanser ilacı uygulanmaktadır. Ancak, sonradan kazanılan ya da tedavi öncesi kişide var olan ilaç dirençliliği kanser kemoterapisinde başarıya ulaşmayı büyük ölçüde engellemektedir. Bu duruma “çoklu ilaç dirençliliği” (ÇİD, *multiple drug resistance*; MDR) denilmektedir [52]. Kars ve arkad. [53] göre, kemoterapiye karşı geliştirilen dirençlilik pek çok antikanser ilacın hastalar üzerinde beklenen etkisini gösterememesine ve hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır. Artırılan ilaç dozları ise hastalarda görülen yan etkilerin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca, dirençlilik nedeniyle zaman ve ilaç kaybı olmakta, hastaların tedavisi zorlaşmaktadır. Hücrelerdeki zararlı ve toksik maddeleri uzaklaştıran biyokimyasal sistemlerin olduğu bilinmektedir. Bu alanda yapılan araştırmalar sonucu [54-57] ilaç tedavileri sırasında bu sistemlerin güçlendiği ve kemoterapötik ilaçların etkili bir şekilde hücre dışına atıldığı görülmüştür. Çoklu ilaç dirençliliğine neden olan mekanizmalardan bazıları, ABC taşıyıcı gen ailesi proteinlerinin artışı, hücreleri programlanmış ölüme (apoptoz) götüren yollardan bazılarının engel olması ve ilaç hedef moleküllerindeki değişimlerdir.

Bu çalışmada amaç, sentezlenen poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen)-*g*-PLA graft kopolimerinin ve kopolimer-*g*-PLA-Ag<sup>+</sup>/dimetildidodesil amonium-montmorillonit nanokompozitinin antikanser aktivitesinin (sitotoksite, apoptoz ve nekroz) meme kanserine model hücre hattında (MCF-7’de) ve L929 fibroblast normal hücrelerde belirlenmesi ve yapı-antikanser özellikleri ilişkilerinin incelenmesidir. Ayrıca, MCF-7 hücre hattında ve L929 fibroblast normal hücrelerde yapılması öngörülen karşılaştırmalı analiz sonuçları kullanılan polimerlerin antikanser özelliklerine neden olan moleküler iletişimlerin değerlendirilmesini sağlayacaktır.

### 5.1 Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

Sodyum bikarbonat (Sigma, ABD), etil alkol (Sigma, ABD), tripan mavisi (Sigma, ABD), FBS (Föetal sıgır serumu, Serva, İsrail), Dulbeccos Modified Eagles Medium (DMEM, BD., USA), tripsin/10mM EDTA (Etilendiamintetraasetat) (Sigma, ABD), PBS (fosfat buffer saline) (Sigma, ABD), etüv (Ultralab U-120), santrifüj (Ultralab),

manyetik karıştırıcı (Şimşek Labortechnik), otomatik hücre sayacı (Invitrogen, USA), laminar akış kabin (II Laminar Flow Cabinet, Labor ildam, Türkiye), karbondioksitli etüv (Nüve, Türkiye), ters çeviren mikroskop (Leica, İsverç), hemasitometre (Bürker hemositometre, Almanya), 96 gözlü hücre kültür kabı (BD, USA), Hücre kültür şişeleri (BD, USA), 0,2 µm filtreler (Sartorius), Santrifüj tüpleri (Nunc, Almanya), L929 fibroblast hücre hattı (şap Enstitüsü, Ankara), xCELLigence RTCA (Almanya), mikropipetler (Scaltec, Almanya), pipetler (Costar steripipette, ABD), petri kapları (Orange Scientific) kullanılan malzemelerdir. Çeşitli cam malzemeler ve çeşitli plastik malzemeler analitik düzeyde kullanılmıştır.

## **5.2. MCF-7 ve L929 Fibroblast Hücrelerinin İn Vitro Kültürünün Hazırlanması**

Meme kanserinde model hücre hatlarından biri olan MCF-7 hücreleri, bir bayan hastanın meme epitel dokusundan elde edilmiştir. Tek katmanlı büyüyen yapışkan hücre hattıdır [53]. Dondurulmuş halde -80°C sıcaklığında derin dondurucuda bulunan kriyo tüplerdeki MCF-7 ve L929 fibroblast hücreleri derin dondurucudan alınarak çözülmüştür. Falkon tüp içerisine, çözülen fibroblast hücreleri koyulur ve üzerine 1 ml DMEM/F-12 eklenip santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında süpernatant atılır ve karışım 3,5 ml DMEM/F-12 medyumunu ile askıya alınarak 25cm<sup>2</sup>lik şişeye aktarılmıştır. Şişenin kapağı hafif gevşetilerek 37 °C'de % 5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre konulur. Her 24 saatte bir şişenin yüzeyinde hücrelerin çoğalmaları mikroskopik olarak incelenir. Hücrelerin çoğalmalarına bağlı olarak, yüzey kaplaması tamamlandığında kültür tripsinize edilerek hücreler yeni bir flaska aktarılmıştır.

## **5.3. Analiz Yöntemleri**

### **5.3.1. xCELLigence RTCA ile (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT'nin MCF-7 (meme kanser hücresi-7) ve fibroblast hücreleri üzerindeki proliferasyon ve toksisitesinin belirlenmesi**

Şişedeki hücrelerin yeterli sayıya ulaştığı mikroskopik incelemeyle belirlendikten sonra içerisindeki çözelti dökülür.0,5 ml tripsin-EDTA şişeye eklenir ve 3-4 dakika inkübatörde bekletilir. İnkübasyon sonrasında mikroskopik olarak hücrelerin şişe yüzeyinden ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edilir. Hücrelerin yüzeyden ayrıldıkları mikroskopik olarak gözlemlendikten sonra, şişeye medyum eklenerek hücreler falkon tüpe aktarılarak 2500 rpm'de 2 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı uzaklaştırılır ve tüpün dibinde kalan hücre topağının üzerine 1 ml DMEM/F-12 medyum eklenerek süspansiyon edilerek hücre sayımı yapılmıştır. 96

e-plate'in her kuyusunda  $10 \times 10^3$  hücre olacak şekilde hesaplama yapılmıştır. E-plate'in her kuyusunda 100'er  $\mu\text{L}$  medyum koyulmuştur. E-plate etüvde bulunan xCELLigence'e yerleştirildikten sonra levha ile cihazın aynı sıcaklığa ulaşması için 10 dakika bekletilmiştir. 1 dakika cihazda zemin okuması yapıldıktan sonra e-plate çıkarılır. Tüm kuyucuklara 100'er  $\mu\text{L}$  hücre eklenir. Tekrar e-plate etüve yerleştirilip 10 dakika beklenir. 10 dakika sonunda okuma başlatılmıştır. Hücrelerin plate'e tutunması ve çoğalması için 24 saat bekletilir. 24 saat sonunda hücreler büyüme fazına geçtiğinde, e-plate etüvden çıkarılır. Kuyulardaki medyumlar boşaltılır. İlk kuyucuklar hariç kalan tüm kuyucuklara 100'er  $\mu\text{L}$  medyum koyulur. 1mg/ml'lik her iki kompozitler stok çözeltilerinden (ortam içerisinde) 0.78 ile 100  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarda 3 tekrarlı olarak MCF-7 ve fibroblast hücrelerine uygulanmıştır. Levhadaki son 4 kuyuya kontrol grubu olarak medyum eklenmiştir. E-plate etüv içerisinde bulunan istasyona yerleştirilip 77 saat boyunca RTCA SP ile her on dakikada hücre proliferasyonu ve canlılığı takip edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca her on dakikada bir hücrelerin çoğalmasına bağlı olarak empedans ölümü yapılarak zamana karşı hücrelerin levhaya yapışması ve sayıca çoğalması takip edilmiştir.

### **5.3.2. (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT'nin MCF-7 ve L929 fibroblast hücrelerinde ikili boyama metodu ile apoptozun ve nekrozun belirlenmesi**

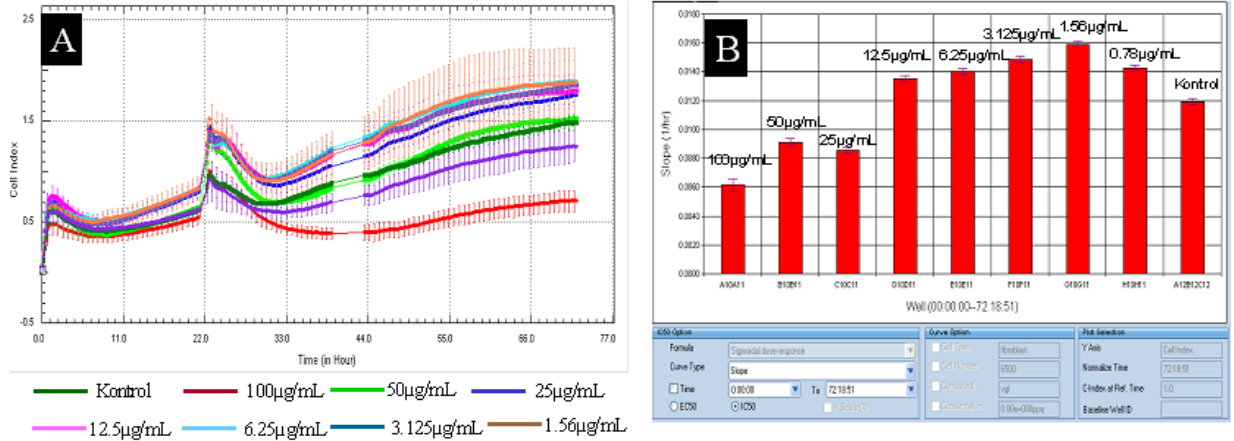
İkili boyama metodu çekirdeği boyamakta ve bu sayede apoptozu ve nekrozu göstermektedir. Ribonükleaz A kullanılmakta ve  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanmaktadır (Sigma R-500). Ribonükleaz A RNA'yı boyamaz. Bu sayede sitoplazmik RNA'yı yok eder. Hoechst boyama:  $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'da saklanır. Apoptotik hücreleri boyar. Bu sayede gerçek apoptotik hücreler belirlenir. Propidiumlodide  $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saklanır ve DNA'yı, RNA'yı boyadığı bilinmektedir. Çekirdeği kırmızıya boyayarak ikili nekrozu gösterir. İkili boyama için 48 kutu levha kullanılmıştır. Hücre sayımından sonra canlı hücre sayısına göre her kutuda  $10 \times 10^3$  hücre olacak şekilde hesaplama yapılmıştır. 48 levhanın her kuyucuğuna 200  $\mu\text{L}$  hücre eklenerek 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda hücrelerin levhanın yüzeyine tutunup tutunmadığı kontrol edilmiştir. Kuyucuklardaki medyum boşaltılır. İlk kuyular boş kalacak şekilde diğer kuyulara 100'er  $\mu\text{L}$  medyum koyulmuştur. 1mg/mL'lik nanokompozit örneklerinin stok çözeltilerinden (ortam içerisinde) 6.25 ile 100  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda 3 tekrarlı olarak MCF-7 ve fibroblast hücrelerine

uygulanmıştır. Kontrol grubuna sadece medyum koyulmuştur. 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki medyum boşaltılır ve her kuyucuğa 70 µL ikili çalışma solüsyonu eklenmiştir. 48 levha hiç ışık görmeyecek şekilde kapatılmış ve 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda floresan mikroskopta DAPI filtresi kullanılarak apoptoza uğramış hücrelerin ve FITC (480-520 nm dalga boyunda) nekroza uğramış hücrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

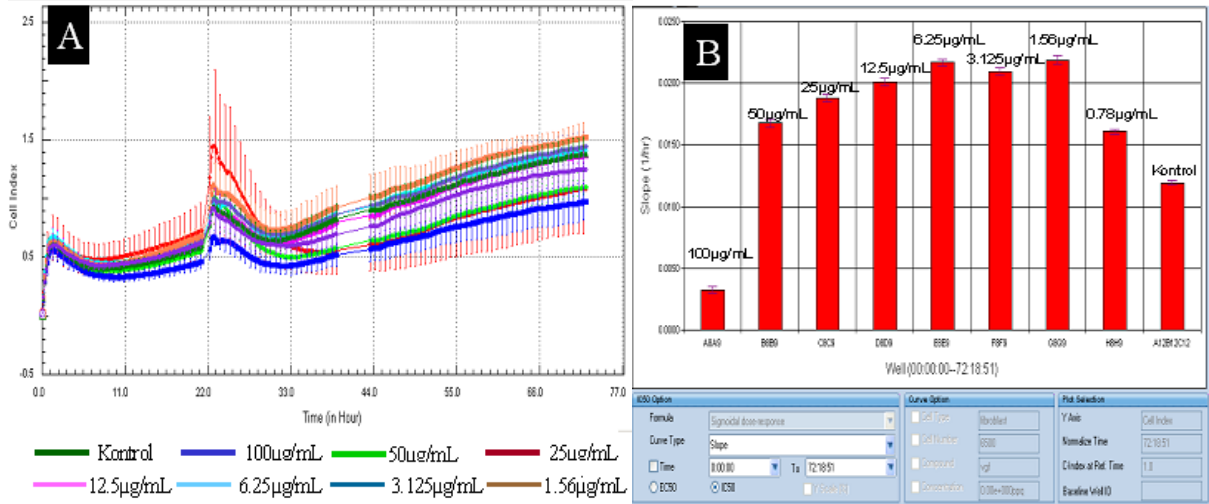
## 5.4. Sonuçlar ve Tartışmalar

### 5.4.1. Toksikite ve proliferasyon sonuçları

(C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT'nin MCF-7 ve fibroblast hücrelerinin anti proliferatif etkisi ve toksik etkisi gerçek zamanlı hücre analiz sistemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 5.1-5.6'da verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre gerek (C-g-PLA), gerekse (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitleri fibroblastlar üzerinde toksik etkisinin yok denecek kadar az olduğu görülmüştür (Şekil 5.1 ve 5.2). Sadece 100 µg/mL konsantrasyonda hücre proliferasyonunda (Şekil 5.1A) ve inkübasyon süresi sonunda hücre sayısında (Şekil 5.1B) daha az artış görülmektedir.



**Şekil 5.1.** Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu ve (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinin 77. saatte hücre sayısındaki artışı gösteren toksisite grafiği.

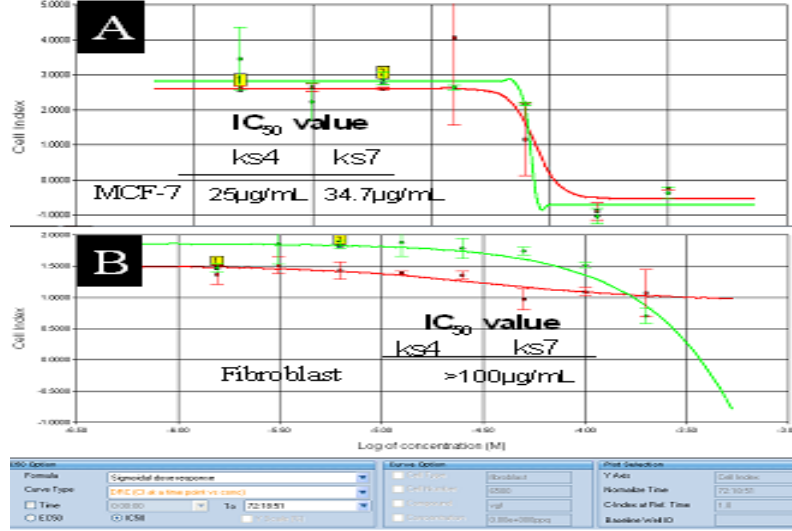


**Şekil 5.2.** Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu ve (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinin 77. saatte hücre sayısındaki artışı gösteren toksisite grafiği.

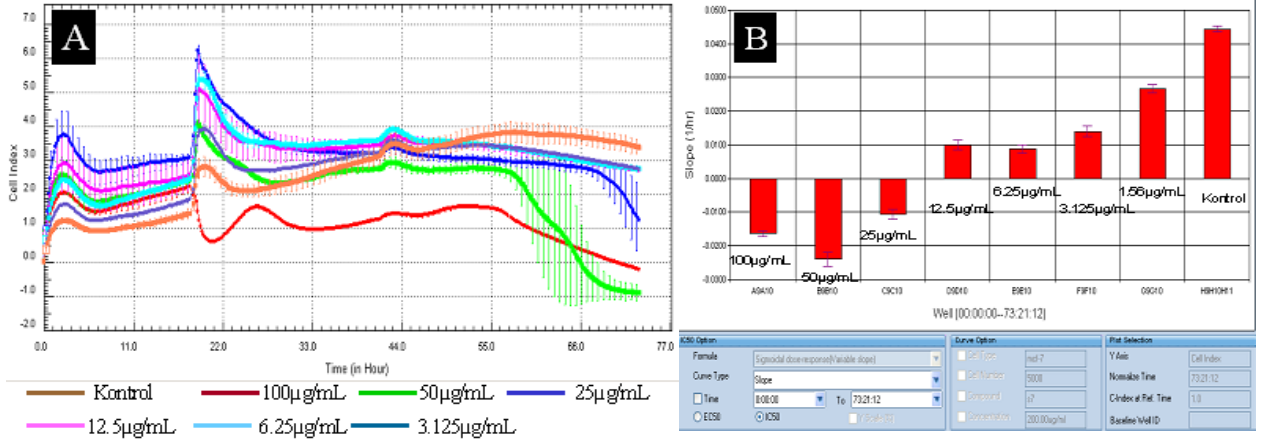
Diğer konsantrasyonlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre proliferasyonu ve sayısında göreceli bir artış görülmektedir. IC<sub>50</sub> (hücrelerin % 50'sini öldüren konsantrasyon değeri) değerlerine bakıldığında (Şekil 5.3) 100 µg/mL konsantrasyonundan büyük olduğu tesbit edilmiştir. Polimerler MCF-7 hücrelerine aynı konsantrasyonda uygulandığında konsantrasyona bağlı olarak proliferasyonun ve hücre sayısının düştüğü gözlemlenmektedir (Şekil 5.4 ve 5.5). (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT'nin etkileri fibroblast hücreleri ile kıyaslandığında MCF-7 hücreleri üzerinde daha etkili olduğu gözlenmiştir. Şekillere göre, (C-g-PLA) MCF-7 hücrelerinde 25 µg/mL konsantrasyondan itibaren hücre proliferasyonun azaldığı (Şekil 5.4A) ve hücre sayısının bu konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre negatif değerlere düştüğü hücrelerin tamamının 77 saatlik inkübasyonda öldüğü görülmektedir (Şekil 5.4B). IC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında 25 µg/mL olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.3). (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT MCF-7 hücrelerinde 50 µg/mL konsantrasyondan itibaren hücre proliferasyonu azaldığı (Şekil 5.5A) ve hücre sayısının bu konsantrasyon üzerinde kontrol grubuna göre negatif değerlere düştüğü hücrelerin tamamının 77 saatlik inkübasyonda öldüğü görülmektedir (Şekil 5.4B). IC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında 34.7 µg/mL olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.3). Sonuç olarak (C-g-



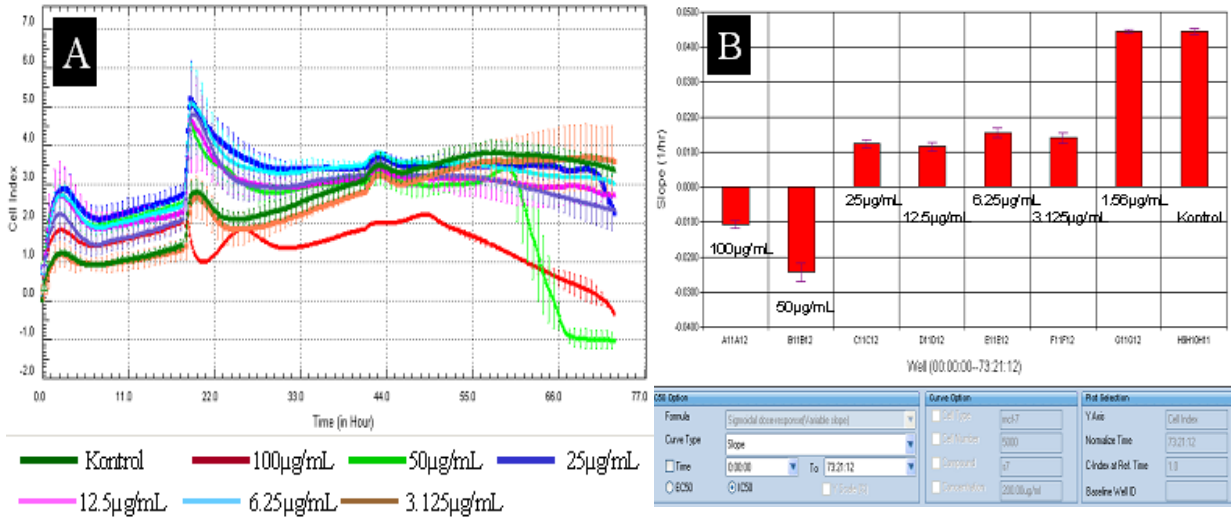
PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT kanser ve normal hücreler üzerine etkisine bakıldığında, normal hücrelerde toksik etkisinin tolere edilebilir iken kanser hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak kanser hücrelerinde etkili olduğu tesbit edilmiştir.



**Şekil 5.3.** Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen IC<sub>50</sub> değerlerini gösteren grafikleri: (A) (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT örneklerinin MCF-7 hücrelerindeki IC<sub>50</sub> değerleri, (B) aynı örneklerin Fibroblast hücrelerindeki IC<sub>50</sub> değerleri.



**Şekil 5.4.** Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri; (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu, (B) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinin 77. saatte hücre sayısını gösteren toksisite grafiği.



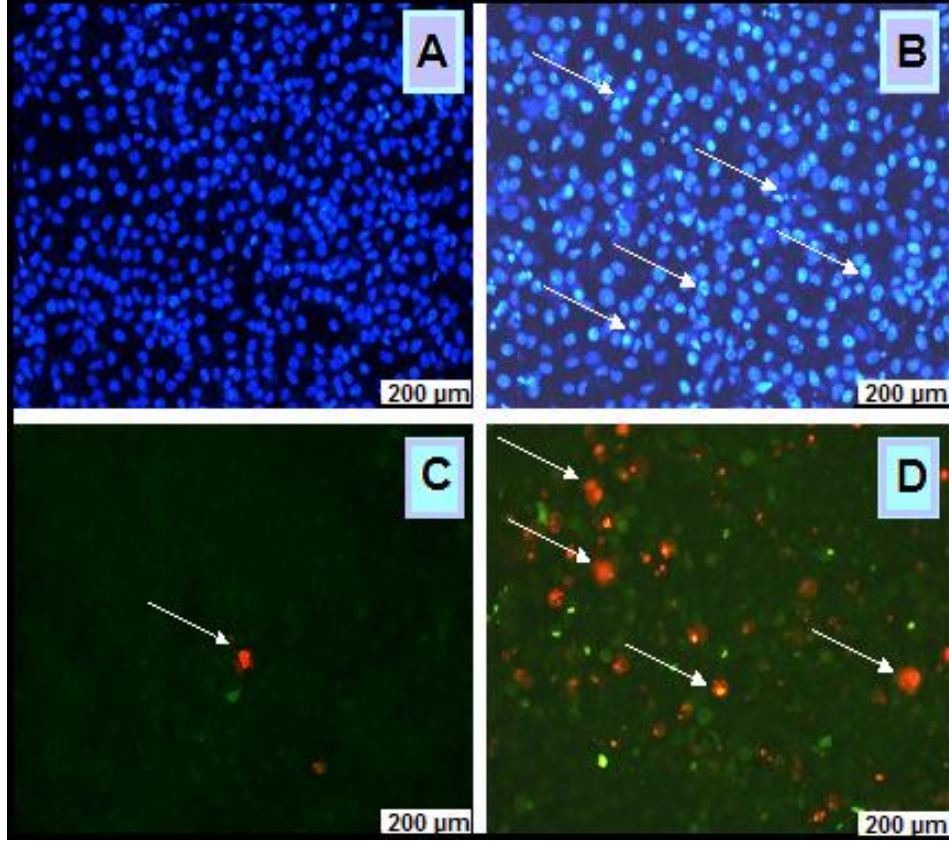
**Şekil 5.5.** Gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen proliferasyon grafikleri: (A) farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinin zamana karşı proliferasyonu, (B) Farklı konsantrasyonda (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinin 77. saatte hücre sayısını gösteren toksisite grafiği

Polimer örneklerinin gözlenen seçici antikanser ve toksite özellikleri bilinen organik antikanser ajantlardan farklı olarak graft kopolimerin ve nanokompozitin moleküler yapılarında kanser hücreleriyle konjugasyon iletişimlerde olabilen fonksiyonel grupların (karboksil/anhidrit, yüzey aktif alkil amonyum, tabakalar arası katyolar ve gümüş katyonu, biyoyumluluk sağlayan laktik asit birimleri ve hidrofilik/hidrofobik dengeli yapılar) varlığı, ve kendi-kendine düzenlenen (self-assemble) ve çekirdek-kabuk (core-shell) morfoloji yapılar (uzun zamanlı kontrollü ilaç salımı özelliğini sağlayan önemli faktör) sahip olduklarını dikkate alarak açıklanabilir. Fizyoloji ortamda çekirdek-kabuk nanoyapıların absorpsiyon-şişme prosesi sonucunda içyapılardan yüzey katmanlara nüfuz edebilen pozitif yüklü gümüş ve alkil amonyum katyonların ve yüzey katmanlardaki aşılınmış PLA makromoleküllerinin hidrolizi sonucunda daha aktif, düşük molekül ağırlıklı laktik asit birimlerinin oluşumunu da kanser hücreleriyle iletişimi ve DNA makromoleküllerin kendi-kendine düzenlenen yapılarının bozulmasını sağlayan önemli araçlar gibi değerlendirilebilir.

Ayrıca, incelenen polimer sistemlerin antimikrobiyal etki araştırmalarının (bakteri kùltürleri: *B.subtilis* 3610, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginasa* PA01, *Pseudomonas aeruginasa* PA14, *E.coli* DH5X, *A.tumefaciens* A136, *K.pneumoniae*, *V.harveyi* and *B.thuringiensis* polimer örnekleri eşliğinde 24 saat inkubasyona bırakılmıştır) sonuçlarına göre kullanılan polimer sistemlerin antibakteriyel aktivitesinin olmadığı saptanmıştır. Bu beklenen sonuçlar, çekirdek-kabuk morfoloji yapılarına sahip polimerlerin seçici antikanser ve toksite özelliklerini destekleyen önemli faktör gibi değerlendirilebilir. Bu araştırmalar, HÜ FBE Biyoloji Bölümünün elemanı Demet Erdönmez'in katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

#### **5.4.2. Apoptoz, Nekroz Sonuçları**

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre her iki polimerin apoptotik etkisinin önemsenecek değerde olmadığı gözlemlenmiştir. İekli boyamadan elde edilen apoptoz-nekroz fotoğrafları Şekil 5.6'da apoptotik ve nekrotik indeks sonuçları ise izelge 5.1 de verilmiştir. Sonuçlara göre; yüksek konsantrasyonda (100 µg/ml) her iki polimerin fibroblast hücrelerine uygulandığında en yüksek % 5 apoptotik etkiye neden olurken diğer konsantrasyonlarda bu oranın % 1-6 arasında olduğu gözlenmiştir. (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT MCF-7 kanser hücrelere uygulandığında apoptotik etkinin en yüksek %12 civarı olduğu ve diğer konsantrasyonlarda %1-10 arasında değiştiği görölmüştür (izelge 5.1). Yine bu boyama ile elde edilen bir diğer veri ise nekroza uğramış hücrelerin tesbitidir. Sonuçlara göre (C-g-PLA) en yüksek konsantrasyonda %46 oranında kanser hücrelerinde nekroza neden olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 5.6 ve izelge 5.1). Düşük konsantrasyonlarda ise toksitenin düşük olması ile nekrozun da düşük olduğu tespit edilmiştir. (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT kanser hücrelerine uygulandığında en yüksek konsantrasyonda %35 oranında nekroza neden olurken, konsantrasyon düştükçe nekroz oranları da düşmektedir. Fibroblast hücrelerine (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulandığında nekrotik indeksin %2-11 arasında düşük değerlerde değiştiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT nanokompozitlerinin kanser hücrelerindeki nekrotik ve apoptotik etkisinin normal hücrelerdekine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



**Şekil 5.6.** MCF-7 hücrelerinin Floresan mikroskop fotoğrafları: (A) antikanser polimerik örnekler uygulanmamış (kontrol grubu) Fibroblast hücrelerinin floresan mikroskop görüntüsü (mavi noktalar hücre çekirdeklerini göstermektedir); (B)  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (C-g-PLA) uygulanmış ikili boyama ile renklendirilmiş MCF-7 hücrelerin floresan mikroskop görüntüsü (oklar apoptotik hücre çekirdeklerini göstermektedir); (C) polimer uygulanmamış (kontrol grubu) Fibroblast hücrelerinin floresan mikroskop görüntüsü (yeşil boyanmış çekirdekler nekroza uğramamış, kırmızı boyanmış çekirdekler nekrotik hücreleri göstermektedir); (D)  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 floresan mikroskop görüntüsü (Oklar nekroza uğramış hücrelerden birkaçını göstermektedir). Fotoğraflar Leica DMI6000 model inverted mikroskopta 100X büyütmede çekilmiştir. Bar = 200  $\mu\text{m}$ .

**Çizelge 5.1.** (C-g-PLA) ve (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT bileşiklerinin farklı konsantrasyonda MCF-7 kanser ve Fibroblast hücrelerine karşı % apoptotik ve nekrotik etkisi. (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinde apoptoz (I), (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinde apoptoz (II), (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinde apoptoz (III), (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış Fibroblast hücrelerinde apoptoz (IV), (C-g-PLA) uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (V), (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (VI), (C-g-PLA) uygulanmış Fibroblast hücrelerinde nekroz (VII), (C-g-PLA)Ag<sup>+</sup>-DMDA-MMT uygulanmış MCF-7 hücrelerinde nekroz (VIII). Sonuçlar ± SD ile birlikte verilmiştir.

Nanopartiküllerin Miktarı (µg/mL)	Apoptotik indeks (%)				Nekrotik indeks (%)			
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
0	1±1	1±1	1±1	1±1	2±1	1±1	2±1	2±1
6.25	3±1	3±1	1±1	1±1	5±1	4±1	1±1	1±1
12.5	3±1	5±1	2±1	1±1	11±1	9±1	4±1	3±1
25	6±1	8±1	2±1	3±1	21±1	17±2	7±1	6±1
50	12±1	8±1	4±1	4±1	34±2	28±2	9±1	10±1
100	9±1	10±1	3±1	5±1	46±2	35±3	11±1	13±1

## 6. SONUÇ

- Tez araştırmalarında kopolimer-g-poli(L-laktik asit)/organokil ve onların Ag<sup>+</sup> yükü taşıyan türevli nanokompozitlerin sentezi için basit ve aynı zamanda etkili bir strateji geliştirilmiştir. Bu amaçla, kalay(oktoat)<sub>2</sub> katalizörü varlığında ve 80 °C sıcaklıkta poli(maleik anhidrit-*alt*-1-oktadesen) kopolimerinin üzerine laktik asit monomerinin lamellar arası aşı kopolimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bazı nanokompozitlerin üzerine AgNO<sub>3</sub> eklendi ve tuzun dahiline bulunan Ag<sup>+</sup> yüklü katyonlarla zenginleştirildi. Oluşan çözelti ODA-MMT ve DMDA-MMT organokillerle karıştırılarak tabakaları arasına dağılması sağlanmıştır.
- FTIR analizi sonucunda nanokompozitlerin kimyasal yapıları incelenmiştir. 1850, 1778 ve 1709 cm<sup>-1</sup> absorpsiyon bantlarında oluşan titremler kopolimer-g-PLA nanokompozitinde var olan C=O bağları belirlemektedir. –COOH ve –C-OH gruplarındaki OH gruplarını ise 3220, 2615 ve 924 cm<sup>-1</sup> bantları belirlemektedir. Kopolimer-g-PLA ile killerin etkileşiminden oluşan nanokompozitlerin FTIR sonuçlarında ise bu bağlara ek olarak 1640 cm<sup>-1</sup> bantında yaranan titreşim, oktadesil amin ile serbest karboksil grupların karşılamasında C=O bağının göstergesidir. Killerin büyük bir kısmını oluşturan Si, 1050 ve 1090 cm<sup>-1</sup> bantında Si-O ve Si-O-Si, 3520 cm<sup>-1</sup> bantında ise Si-OH bağları olarak ortaya çıkmaktadır.
- Nanokompozitlerin FTIR analiz sonuçlarına ek olarak NMR analiz sonuçları da incelenmiş ve kimyasal bağları tespit edilmiştir. Böylece karbon atomlarının yerleşim pozisyonları ve o pozisyondaki karbon atomlarının sayısı <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve <sup>13</sup>C-DEPT-135 NMR spektrumlarının sayesinde belirlenmiştir. <sup>1</sup>H NMR analizinin sonucuna dayanarak, gümüş katyonları ko-katalizör olarak kopolimerizasyonu önemli bir şekilde hızlandırmaktadır.
- Nanokompozitlerin tabakaları arasındaki mesafe, kristalin ve amorf alanları gibi fiziksel özellikleri NMR analizi sayesinde ortaya çıkmaktadır. Analiz sonucu olarak yüzey modifikasyonu sayesinde saf Na<sup>+</sup>-MMT kilinin tabakalar arası mesafesi 10.17Å'dan 22.25 Å'a, ODA-MMT (2θ = 3.52°) ve DMDA-MMT (2θ = 3.45°) killeri ise 24.38 Å'a yükselmiştir. C-g-PLA zayıf kristal piklere sahip amorf, (C-g-PLA)-ODA-MMT nanokompoziti ise yarı-kristal yapılara sahiptir. Ag<sup>+</sup> yükü taşıyan nanokompozitlerde ise DMDA-MMT kili içeren nanokompozitin kristal bölgesi ODA-MMT kili içeren nanokompozitin kristal bölgesinden daha yüksek olmaktadır.

- SEM analizi sonucunda poli(MA-*alt*-1-oktadesen) kopolimeri ve onun silika tabakalı nanokompozitlerinin benzer kendi-kendine düzenlenen yapı göstermesinin nedeni eş-anlı işlemlerde hidrofobik/hidrofilik dengesini oluşturan yüzey ve yapısal özelliklerin var olmasıdır. SEM görüntülerine göre kopolimer-*g*-PLA nanokompoziti gözenekli lifli yüzey morfoljisine sahiptir. Ag<sup>+</sup> katyonu ve reaktif ODA-MMT kili içeren nanokompozit ise çoklu nano-gözenekli yapı sergilemektedir. DMDA-MMT kili kullanılan nanokompozit ise yüzey üzerine çoklu nano-gözenekler dağıtılmış gibi katmanlı lifli yapıya sahiptir.
- TEM analizinin sonucu olarak saf halde olan kopolimer çoğunlukla aglomere olarak antisimetrik çekirdek-kabuk morfoloji yapısına sahiptir. Poli(MA-*alt*-1-oktadesen)-*g*-PLA/organo-MMT nanokompozitleri ise bir araya toplanarak küresel parçacıklar halinde çekirdek-kabuk matrisi oluşturmaktadırlar. Bunun nedeni kopolimer-*g*-PLA / organokil karışımı içinde oluşan hidrofobik/hidrofilik dengesidir. Ag<sup>+</sup> yükü taşıyan iki nanokilden oluşan nanokompozitleri kıyaslayınca, reaktif ODA-MMT kilinden oluşan nanokompozit ince dağılmış polimer ve katmanlı organokil çekirdek-kabuk yapısı oluşturmaktadır. Ayrıca, nanokompozitin dahilinde 25-100 nm aralığında, aynı zamanda 300-400 nm boyutlu parçacıklar tespit edilmiştir. Bu nanokompozitin su emme-şişme işlemi sonucunda kendi-kendine düzenlenen morfoloji yapısının varlığını belirtmektedir. DMDA-MMT kilinden oluşan nanokompozit ise kısmen aglomere olarak antisimetrik çekirdek-kabuk morfolojisi sergilemektedir.
- DSC, TGA ve DTG termal analizleri yöntemlerini kullanarak nanokompozitlerin erime, camsı geçiş ve bozulma sıcaklıkları belirlenmiştir. Elde edilen parametrelere göre kopolimer-*g*-PLA amorf, organokil ve gümüş içeren nanokompozitler ise yarı kristal yapıya sahipler. Bu bilgiler nanokompozitlerin XRD analiz sonuçlarını desteklemektedir. Ag<sup>+</sup> katyonu olmayan nanokompozitde, silika tabakalı organokillerin matrisin kristalleşme prosesinin hızlandırılması ile açıklanmaktadır. Kopolimer-*g*-PLA nanokompoziti ile kıyaslanınca Ag<sup>+</sup> içeren nanokompozitlerin bozulma sıcaklıkları da yükselmektedir. Bunun nedeni ise kopolimer-*g*-PLA diğerlerinden farklı olarak iki aşamalı bozulma sergilemektedir.
- Na<sup>+</sup>-MMT, ODA-MMT ve DMDA-MMT killerinin poli(MA-*alt*-OD)-*g*-LA/Ag<sup>+</sup>-nanofileri ile birleşmesinden oluşan yapraklanan yapılı polimer nanoparçacıkların  $\zeta$ -boyutları uygun olarak 2.54'ten 0.5, 1.48'ten 1.15 ve

1.48'ten 0.3  $\mu\text{m}$  boyutlarına kadar azalmıştır. Bunun nedeni serbest karboksil grupları ile silika polimer tabakalarında var olan gümüş katyonları arasında etkileşim ve katyon değişimidir. Kopolimer-*g*-LA ve  $\text{Na}^+$ -MMT ve ODA-MMT killeri kullanılan nanosistemlerde sonikasyon yapıldıktan sonra parçacıkların ortalama boyutları azalmaktadır. DMDA-MMT ve kopolimer-*g*-LA içeren sistemleri analiz edildikte ise sonikasyondan sonra ortalama parçacık boyutlarında büyüme gözlemlenmiştir. Saf hale kopolimerin düşük zeta boyutu ve yüksek zeta potansiyeli (76.5 mV), çözelti içerisinde kopolimer makromoleküllerinin yüzey yapısı ve hidrofobik/hidrofilik denge ile açıklanmaktadır.

- (C-*g*-PLA) ve (C-*g*-PLA) $\text{Ag}^+$ -DMDA-MMT nanokompozitlerinin antimikrobiyal ve antikanser analizleri yapılmıştır. Bu bileşenlerin antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı, sadece seçici antikanser etkisi gösterdiği saptanmıştır. Bileşenlerin fibroblastlar üzerinde toksik etkisinin yok denecek kadar az olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bu hücrelerin etkilerinin fibroblast hücreleri ile kıyaslandığında MCF-7 hücrelerine daha etkili olduğu gözlenmiştir. (C-*g*-PLA) MCF-7 hücresinde 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonunda kontrol grubuna göre negatif değerlere düştüğü ve 77 saatlik inkübasyonsa hücrelerin tamamını öldürdüğü görülmektedir. (C-*g*-PLA) $\text{Ag}^+$ -DMDA-MMT nanokompozitinde aynı sonucu almak için 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyon yeterli bulunmaktadır. Her iki nanokompozitin apoptotik etkisinin önemsenecek değerde olmadığı, en yüksek % 12 civarında olduğu belirlenmiştir. (C-*g*-PLA) en yüksek konsantrasyonda %46 oranında kanser hücrelerinde nekroza neden olduğu tesbit edilmiştir.



## KAYNAKLAR

1. Xi, Y., 2006, Synthesis, Characterisation and Application of Organoclays, Queensland University of Technology, School of Physical and Chemical Sciences.
2. Mackenzie, R.C., 1959, The Classification and Nomenclature of Clay Minerals, The Macaulay Institute for Soil Research.
3. Gacitua, W.E., Ballerini, A.A., Zhang, J., 2005, Polymer Nanocomposites: Synthetic and Natural Fillers a review, *Ciencia y tecnologia* 7(3), 159-178.
4. Cammarano, S., 2010, Study of Annealing and Orientation Effects on Physical Properties of PLA Based Nanocomposite Films.
5. Lofton, L., Clay/ Polymer Nanocomposites for Pressure Sensitive Adhesives, Rohm and Hass Company, PA.
6. Kornmann, X., Synthesis and Characterization of Thermoset-Clay Nanocomposites, Division of Polymer Engineering, Lulea University of Technology.
7. Galgali, G., 2003, Synthesis-Structure-Processing-Property Relationships in Polymer Nanocomposites.
8. Nguyen, Q.T., Baird, D.G., 2005, Preparation of Polymer-Clay Nanocomposites and Their Properties, Department of Chemical Engineering, Virginia Polytechnic Institute and State University, *Advances in Polymer Technology*, Vol.25, No.4, 270-285.
9. Narayanan, N., Roychoudhury, P.K., Srivastava, A., 2004, L(+) Lactic Acid Fermentation and its Product Polymerization, Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso, Chile, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 7, No.2.
10. Tuominen, J., 2003, Chain Linked Lactic Acid Polymers: Polymerization and Biodegradation Studies, Helsinki University of Technology, *Polymer Technology Publication Series*, No. 25.
11. Zhu, R., 2011, Preparation of Maleic Anhydrid Grafted Poly (Lactic Acid) (PLA) and its Compatibilization Effects on PLA / SOY Protein Composites, Washington State University.
12. Garlotta, D., 2001, A Literature Review of Poly(Lactic Acid), *Journal of Polymers and the Environment*, Vol. 9, No.2.
13. Carlson, D., Nie, L., Narayan, R., Dubois P., 1999, Maleation of Polylactide (PLA) by Reactive Extrusion, *Journal of Applied Polymer Sciences*, Vol.72, 477-485.
14. Rzayev, Z.M.O., 2011, Graft Copolymers of Maleic Anhydride and its Isostructural Analogues : High Performance Engineering Materials, Hacettepe University, *International Review of Chemical Engineering*, Vol. 3, No. 2, 153-215.
15. Söylemez, E., Çaylak, N., Rzayev, Z.M.O., 2008, Synthesis and Characterization of Functional Copolymer / Organo-Silicate Nanoarchitectures through Interlamellar Complex-Radical (Co)terpolymerization, *Turkey, Polymer Letters* Vol. 2, No. 9, 639-654.
16. Ramsden, J.J., 2005, What is nanotechnology? Department of Advanced Materials, Cranfield University, *Nanotechnology Perceptions* 1, 3-17.
17. Kildeby, N.L., Andersen, O.Z., Roge, R.E., Larsen, T., Petersen, R., Riis, J.F., 2005, Silver Nanoparticles, Institute for Physics and Nanotechnology, Aalborg University.

18. Portakal, O., 2008, Biyolojik Ölçümler ve Nanopartiküller, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Türk Biyokimya Dergisi, 33, 35-38.
19. Kanni, P., Nanoparticles and nanotechnology, Health Administrator Vol: XX Number 1&2, 26-28.
20. Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I.S., 2008, Nanotechnology in Medicine and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, Vol. 3, No. 3, 115-122.
21. Evanoff, D. D., Chumanov, G., 2005, Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays, Department of Chemistry, Clemson University, ChemPhysChem, 6, 1221-1231.
22. Guzman, M. G., Dille, J., Godet, S., 2008, Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity, World Academy of Science, Engineering and Technology 43.
23. Sileikaite, A., Prosycevas, I., Puiso, J., Juraitis, A., Guobiene, A., 2006, Analysis of Silver Nanoparticles Produced by Chemical Reduction of Silver Salt Solution, ISSN 1392-1320, Materials Science (Medziagotyra), Vol.12, No.4.
24. Porte, R. T., Moreno, D.S., Striano, M.C., Munoz, M.M., Garcia-Ramos, J.V., Cortes, S.S., Koudoumas, E., 2002, Laser Ablation Studies of Deposited Silver Colloids Active in Sers, Laser Chem., Vol. 20(1), 23-32.
25. Courrol, L.C., Rodrigues, F., Gomes, L., 2007, A simple method to synthesize silver nanoparticles by photo-reduction, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 305, 54-57.
26. Sharma, V.K., Yngard, R.A., Lin, Y., 2009, Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities, Chemistry Department, Florida Institute of Technology, Advances in Colloid and Interface Science, 145, 83-96.
27. Saxena, A., Tripathi, R.M., Singh, R.P., 2010, Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Onion (*Allium cepa*) Extract and Their Antibacterial Activity, Amity Institute of Nanotechnology, Amity University, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, Vol. 5, No.2, 427-432.
28. Parashar, U.K., Saxena, P.S., Srivastava, A., 2009, Bioinspired Synthesis of Silver Nanoparticles, Banaras Hindu University, Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, Vol. 4, No.1, 159-166.
29. Dunlap, M., Adaskaveg, J.E., 1997, Introduction to the Scanning Electron Microscope.
30. Voutou, B., Stefanaki, E.C., 2008, Electron Microscopy: The Basics, Aristotle University of Thessaloniki.
31. Bonsak, J., 2010, Chemical Synthesis of Silver Nanoparticles for Light Trapping Application in Silicon Solar Cells, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Oslo.
32. King, P.L., Ramsey, M.S., McMillan, P.F., Swayze, G., Laboratory Fourier Transform Infrared Spectroscopy Methods for Geologic Samples.
33. Martin, M.C., Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, Advanced Light Source Division.
34. Swann, G.E.A., Patwardhan, S.V., 2011, Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for Assessing Biogenic silica Sample Purity in Geochemical Analyses and Palaeoenvironmental Research, Clim. Past, 7, 65-74.
35. Edwards, J.C., Principles of NMR, Process NMR Associates.
36. Weiner, B.B., Tscharnuter, W.W., Fairhurst, D., 1993, Zeta Potential: A New Approach, Brookhaven Instruments Corporation Holtsville.

37. Elimelech, M., Chen, W.H., Waypa, J.J., 1994, Measuring the Zeta (Electrokinetic) Potential of Reverse Osmosis Membranes by a Streaming Potential Analyzer, *Desalination*, 95, 269-286.
38. Rawlinson, C., 2006, Differential Scanning Calorimetry "Cooking with Chemicals", University of Bradford.
39. Kaur, N., Kishore, D., 2012, Montmorillonit: An Efficient, Heterogeneous and Green Catalyst for Organic Synthesis, Banasthali University, India, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(2), 991-1015.
40. Nagendrappa, G., 2002, Organic Synthesis Using Clay Catalysts- Clays for 'Green Chemistry', *Resonance*.
41. Rzayev, Z.M.O., Şenol, B., Soylemez, E.A., 2010, Functional Copolymer/Organo-MMT Nanoarchitectures. VIII. Synthesis, Morphology and Thermal Behavior of Poly(maleic anhydride-*alt*-acrylamide)-Organo-MMT Clays Nanohybrids, Hacettepe University, Turkey, *Engineering*, 3, 73-82.
42. <http://www.chemistry.ccsu.edu/glagovich/teaching/316/ir/table.html>
43. <http://faculty.ccbcmd.edu/~cyau/203%20Appen%2004%20IR%20Absorptions%20Part%20I%202008.pdf>
44. [http://en.wikipedia.org/wiki/Infrared\\_spectroscopy\\_correlation\\_table](http://en.wikipedia.org/wiki/Infrared_spectroscopy_correlation_table)
45. <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.htm>
46. <http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/nmr/nmr1.htm>
47. Mitchell, S., Perez-Ramirez, X., X-Ray Diffraction, Institute for Chemical and Bioengineering, Switzerland.
48. Speakman, S., Introduction to X-Ray Power Diffraction Data Analysis, Massachusetts Institute of Technology.
49. Fröber, L., Thermal Analysis, Process Chemistry Center, Abo Akademi University.
50. Elmer, P., Thermogravimetric Analysis (TGA).
51. Krishan, A., Fitz, C.M., Andritsch, I., 1997, Drug Retention, Efflux and Resistance in Tumor Cells, *Cytometry*, 29 (4), 279-285.
52. Ueda, K., Cardarelli, C., Gottesman, M.M., Pastan, I., 1987, Expression of a Full-Length cDNA for the Human "MDR1" Gene Confers Resistance to Colchicine, Doxorubicin and Vinblastine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84 (9), 3004-3008.
53. Kars, M.D., İşeri, Ö.D., Aracı, F., Gündüzi, U., 2009, Meme Kanseri MCF-7 Hücre Hattında Paklitaksel ve Vinkristin'e Karşı Gelişmiş Çoklu İlaç Direnci Mekanizmalarının Mikrodizin Analizi ile Belirlenmesi, *Türk Onkoloji Dergisi*, 24 (4), 153-158.
54. Liu, Y., Peng, H., Zhang, J.T., 2005, Expression Profiling of ABC Transporters in a Drug-resistant Breast Cancer Cell Line Using AmpArray. *Mol Pharmacol*, 68(2), 430-438.
55. Reed, J.C., 1995, Bcl-2: Prevention of Apoptosis as a Mechanism of Drug Resistance. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 9 (2), 451-473.
56. Kavallaris, M., Tait, A.S., Walsh, B.J., He, L., Horwitz, S.B., Norris, M.D., et al., 2001, Multiple Microtubule Alterations are Associated with Vinca Alkaloid Resistance in Human Leukemia Cells, *Cancer. Res.*, 61 (15), 5803-5809.
57. Huzil, J.T., Luduena, R.F., Tuszynski, J., 2006, Comparative Modeling of Human  $\beta$  Tubulin Isoforms and Implications for Drug Binding. *Nanotechnology*, 17, 90-100.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevda Zargarova

Doğum Yeri : Bakü, Azerbaycan

Doğum Yılı : 1987

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : Fizik ve Matematik Lisesi, 1999-2004

Lisans : Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 2005-2010

Yabancı Dil : İngilizce, Türkçe, Rusça, İtalyanca