

## Silan Ajanları ile Modifiye Edilmiş Montmorillonit Katkılı Polimerik Kompozit Filmlerin Üretilmesi ve Karakterizasyonu

Şükran Melda ESKİTOROS TOGAY<sup>1\*</sup>, Esma Aleyna YEŞİLYURT<sup>2</sup>, Sema ÇÖRTOĞLU<sup>3</sup>  
<sup>1,2,3</sup> Eczane Hizmetleri Programı, Gülhane Sağlık Meslek Yüksekokulu, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara, Türkiye  
<sup>\*1</sup> melda.togay@sbu.edu.tr, <sup>2</sup> dtesmaaleyna@gmail.com, <sup>3</sup> semaacortoglu@gmail.com

(Geliş/Received: 11/01/2024;

Kabul/Accepted: 24/07/2024)

**Öz:** Bu çalışmada, dolgu maddesi olarak kullanılan montmorillonit (MMT), iki farklı silan ajanı ((3- aminopropil)trietoksisilan (APTES) ve (3-glisidoksiopropil)trimetoksisilan (GPTMS)) ile modifiye edilmiş, organik faz ile ara yüzey etkileşiminin artırılması ve polimer matrisi içerisinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Polimer matris olarak ise biyobozunur ve biyouyumlu özelliklere sahip sentetik polimerlerden polikaprolakton (PCL) ve biyouyumlu ve hidrofilik özelliğe sahip polivinilpirolidon (PVP) birlikte kullanılmış ve çözelti döküm yöntemiyle biyomalzemeler üretilmiştir. Kemik doku mühendisliğine yönelik doku iskelesi olarak kullanımı ön görülen biyomalzemelerin morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik özellikleri, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), Fourier transform kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), X-ışını difraktometresi (XRD), temas açısı analizi, su absorplama kapasitesi analizi ve mekanik analiz ile karakterize edilmiştir. AFM sonuçları, PCL/PVP polimer matrisinin 0,507 µm olan pürüzlülük değerinin modifiye edilmemiş MMT'nin eklenmesiyle 0,171 µm ve MMT-APTES eklenmesiyle ise 0,160 µm değerine düştüğünü göstermiştir. Pürüzlülük oranı en yüksek GPTMS ile modifiye edilmiş MMT katkıli biyomalzemelerde 0,530 µm olarak bulunmuştur. Temas açısı değerleri ve su absorplama kapasiteleri karşılaştırıldığında, 68,4° ve 59,7° temas açısı değerleri bulunan APTES ve GPTMS ile modifiye edilmiş MMT katkıli biyomalzemelerin, MMT katılmamış biyomalzemenin daha hidrofilik olduğu ve su absorplama kapasitesinin MMT katılmamış polimer matristen ve modifiye edilmemiş biyomalzemenin %125 ve %144 olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, ön değerlendirme niteliğindeki bu çalışmamız ile APTES ile modifiye edilmiş MMT katkıli PCL/PVP biyomalzemelerinin kemik doku hasarlarının tedavisinde doku iskelesi olarak kullanılabilceği ön görülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Montmorillonit, silan, polikaprolakton, polivinilpirolidon, doku iskelesi.

### Fabrication and Characterization of Montmorillonite Doped Polymeric Composite Films Modified with Silane Agents

**Abstract:** In this study, montmorillonite (MMT), used as filler, was modified with two different silane agents ((3-aminopropyl)triethoxysilane (APTES) and (3-glycidoxypropyl)trimethoxysilane (GPTMS)) to increase the interfacial interaction with the organic phase and ensure homogeneous distribution in the polymer matrix. As polymer matrix, polycaprolactone (PCL), a synthetic polymer with biodegradable and biocompatible properties, and polyvinylpyrrolidone (PVP), a biocompatible and hydrophilic polymer, were used together and biomaterials were produced by solution casting method. The morphological, physicochemical and mechanical properties of the biomaterials proposed for use as scaffolds for bone tissue engineering were characterized by atomic force microscopy (AFM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffractometry (XRD), contact angle analysis, water absorption capacity analysis and mechanical analysis. AFM results showed that the roughness of the PCL/PVP polymer matrix decreased from 0.507 µm to 0.171 µm with the addition of unmodified MMT and to 0.160 µm with the addition of MMT-APTES. The highest roughness ratio was found to be 0.530 µm in GPTMS-modified MMT doped biomaterials. When contact angle values and water absorption capacities were compared, it was observed that APTES and GPTMS-modified MMT doped biomaterials with contact angles of 68.4° and 59.7° were more hydrophilic than the biomaterial without MMT and the water absorption capacity was 125% and 144% higher than the polymer matrix without MMT and the unmodified biomaterial. In conclusion, this preliminary study suggests that APTES-modified MMT doped PCL/PVP biomaterials can be used as tissue scaffolds in the treatment of bone tissue damage.

**Key words:** Montmorillonite, silane, polycaprolactone, polyvinylpyrrolidone, tissue scaffold.

### 1. Giriş

Travmaya bağlı kırıklar, yaralanmalar veya yaşlanma ile gelişen deformasyon, ortopedik anlamda büyük bir endişe yaratmaktadır. Geleneksel kırık iyileşmesi ve kemik onarım işlemlerinin yanı sıra, karmaşık kemik rekonstrüksiyonu süreci, otogreftler veya allogreftlerin uygulanmasıyla gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, otogreftler, travma komplikasyonları ve donör hastalanması ile sınırlıyken allogreftler genellikle konakçıya karşı greft reddi süreci ile sonlanabilmektedir. Bu nedenle, biyoloji, tıp ve mühendislik ilkelerini içeren kemik doku

\* Sorumlu yazar: [melda.togay@sbu.edu.tr](mailto:melda.togay@sbu.edu.tr). Yazarların ORCID Numarası: <sup>1</sup> 0000-0002-7473-8417, <sup>2</sup> 0009-0007-5708-5630, <sup>3</sup> 0009-0002-6338-5713

mühendisliği, fonksiyonel greft ikameleri yoluyla hasarlı dokuların onarımı ve değiştirilmesi için kapsam sağlayan gelişmiş bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır [1]. İdeal bir kemik dokusu implantı, öncü hücrelerin büyümesi için uygun bir matris sağlamalı ve osteojenik farklılaşma sürecine aracılık etmelidir. Ek olarak, implante edilen iskele, konak dokunun yeniden şekillenme kinetiğini takiben biyolojik sistemde bozunmalı ve emilmelidir [2].

Malzeme seçimi, doku iskele tasarımında en önemli adımlardan biridir. Son zamanlarda doku mühendisliği alanında yapılan çalışmalarda, oldukça esnek ve vücuttan atılabilen bozunma ürünleri oluşturan biyolojik olarak bozunabilen farklı polimerlerin tercih edildiği görülmüştür. Ayrıca, vücutta iltihaplanma veya toksisiteye neden olmadan biyolojik olarak emilebilir olmaları da istenilen bir diğer özelliktir [3]. Polikaprolakton (PCL), kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile hazırlanan biyobozunur alifatik bir poliesterdir [4]. Gıda ve İlaç Ajansı (FDA) tarafından onaylı olan PCL, esnek olup erime noktası 65 °C'dir. Düşük camsı geçiş sıcaklığına (-61 °C) ve oldukça uzun biyolojik bozunma süresine sahiptir [5]. Kemik doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılan bir polimer olup hidrofobikliği, biyoaktif yüzeyin yokluğu ve düşük hücresel etkileşim, bu alandaki uygulamasını sınırlamaktadır [6]. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla hidrofilik polimerlerle bir arada kullanılmaktadır [7]. Bu çalışmada da PCL'nin hücre davranışını ve kemik mineralizasyonunu iyileştirmek için polivinilpirolidon (PVP) ile kullanılmıştır. PVP, yüksek viskoelastik mukavemete ve farklı solventlerde iyi çözünürlüğe sahip, biyoyumlu bir polimerdir [8]. PVP; polilaktik asit (PLA), PCL, jelatin, selüloz asetat gibi diğer sentetik ve doğal polimerlerle birleştirilerek yapı iskeleleri haline getirilmiştir [7]. Daha önce kemik doku mühendisliği uygulamaları için kullanılmıştır. Sruthi ve ark. [9], kemik dokusu mühendisliği için PCL/PVP ortak eksenli elektrospun doku iskeleleri içeren veratrik asit yüklü kitosan nanoparçacıklarını üretmişlerdir. PVP, biyo-mineralizasyon iyileştirmeleri ve osteojenik potansiyel için kullanılmıştır. Sonuçlar, hazırlanan iskelelerin, alkalın fosfataz, kolajen (COL) tip I ve osteokalsin gibi kemikle ilgili belirteçlerin daha yüksek ifadesini göstermiştir. Sonuç olarak, doku iskelelerinin başta kemik doku mühendisliği olmak üzere doku mühendisliğinin farklı alanlarında da kullanılabileceği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada Sadeghi-Avalshahr ve ark. [10], doku mühendisliği uygulamaları için COL/kitosan ile aşılana PCL/PVP iskelelerini önermiştir. PCL biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyoyumluluğu ve uygun mekanik özellikleri nedeniyle tercih edilmiştir.

Polimerler, özellikle doku mühendisliği alanında düşük termal kararlılıkları ve zayıf mekanik özellikleri gibi kısıtlayıcı yanlarından dolayı polimer matrisi içerisine nano ölçekli dolgu maddesinin katılmasıyla elde edilen polimer kompozit yapısında kullanılırlar [11]. Kompozit üretmek için organik ve inorganik nanodolgu maddelerinin biyolojik olarak parçalanabilen polimer matrislere nano ölçekli dağılımı, gelişmiş özelliklere sahip polimerik sistemler geliştirmek için kullanılmaktadır. Polimerler ve nanoyapıların bu kombinasyonu, doku mühendisliği uygulamaları için arzu edilen mekanik ve termal özelliklere sahip malzemelere erişim imkânı vermektedir [12]. Nanomalzeme türleri arasında nanokiller, doğada bol bulunan mineraller olup ekonomik ve çevre dostu olmaları kullanım alanlarında ivme kazandırmıştır. Polimer-nanokil kompozitler, biyomedikal uygulamalarda ve doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Nanokillerin benzersiz özellikleri sayesinde, küçük yüzdelerde matrise ilavesi ile geleneksel kompozitlere kıyasla dikkate değer mekanik ve termal gelişmeler sağlamaktadır [13]. Mineralojik bileşimlerine göre, özelliklerine bağlı olarak farklı uygulamalarda kullanılan yaklaşık otuz farklı nanokil türü mevcuttur. Nanokil, birbiri üzerine yığılmış tetrahedral/oktahedral tabakalardan oluşmaktadır ve bu tabakaların düzenlenmesi kil minerallerini kaolinit, hektorit, halloysit ve montmorillonit gibi farklı sınıflara ayırmaktadır [14]. Bu nanokillerden, montmorillonit (MMT), iki tetrahedral silika tabakasından ve her iki tabaka için ortak oksijen atomları ile birbirine bağlanan merkezi bir alümina oktahedron tabakasından oluşan [15] biyolojik olarak parçalanabilen bir monoklinik silikat mineralidir. MMT, birbiri üzerine yığılmış ve su ve/veya diğer polar moleküllerin nüfuz etmesine izin veren Van der Waals kuvvetleri tarafından gevşek bir şekilde bağlanmış bir nanometre kalınlığında katmanlara sahiptir [16]. Tipik bir kil minerali olarak kemik iskelelerinin mekanik olarak güçlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [17]. Diğer yandan, moleküler interkalasyon ve hedefe yönelik fonksiyonel modifikasyon yoluyla, MMT'nin ilaçların veya büyüme faktörlerinin kontrollü ve sürekli salınımlarını ve kemik iskelelerinin biyofonksiyonizasyonunu gerçekleştiren bir platform oluşturması beklenmektedir [18]. Ek olarak, MMT, iyi katyon değiştirme kapasitesi, yüksek spesifik yüzey alanı, polimer molekülleri için büyük adsorpsiyon kapasitesi, yüksek şişme kapasitesi, modifikasyon kolaylığı ve ilaç taşıma kabiliyeti gibi olumlu özellikleri nedeniyle implante edilebilir biyomalzemelerle ilişkilendirilmekte [19] ve ilaç salım sistemi, ağır metal adsorpsiyonu ve doku mühendisliği gibi farklı araştırmalarda kullanılmaktadır [20].

Kil minerali doğal haliyle hidrofilik bir karaktere sahiptir ve bir polimer matrisine eklendiğinde aglomerasyon oluşturma eğilimi gösterir. Bunun nedeni, kil mineralinin yüzey enerjisinin polimerinkinden daha büyük olması ve parçacık-polimer etkileşiminden daha güçlü bir parçacık-parçacık etkileşimi oluşturmasıdır [21]. MMT'nin polimerik matris içinde tamamen dağılmasını sağlamak için katmanların ayrı ayrı ayrılması veya pul pul dökülmesi gerekir. MMT katmanları arasındaki yüksek elektrostatik çekim kuvveti nedeniyle ve kil minerali polimerinkinden daha büyük bir yüzey enerjisine sahip olduğundan, ara katman aralığını artırmak için kil mineralinin organik olarak modifiye edilmesi gereklidir. Bu modifikasyon, polimerin, kil mineralinin ara katman boşluğu içinde araya

girmesine izin verir [16]. Bu nedenle, MMT'nin organosilanlar ile yüzey modifikasyonu ve elde edilen kil mineral-polimer kompozitleri, çevre teknolojisi, ilaç salım sistemleri ve doku mühendisliği uygulamaları gibi alanlarda büyük ilgi görmüştür [22].

Silanlama, modifiye edici bileşiğin molekülünün kil minerali katmanlarına kimyasal olarak bağlandığı ve bileşik için yeni işlevler sağladığı bir reaksiyon olup geri döndürülemez bir işlemdir. Bunun sebebi, kil mineral yüzeyi ile modifiye edici bileşiğin molekülleri arasında kovalent karakterli kimyasal bağlar oluşur [23]. Kil mineralinin yüzeyindeki suyun varlığı, yapıda bulunan silikon atomlarının yüzeyde adsorbe edilen hidroksil grupları ile kimyasal olarak bağlanmasına izin vererek silanol oluşumuna neden olur [24]. Kil mineralinin farklı silan türleri ile modifikasyonunu araştıran çalışmalar mevcut olup bu çalışma kapsamında en sık kullanılan (3-aminopropil)trietoksisilan (APTES) ve (3-glisidoksi)propiltrimetoksisilan (GPTMS) ile çalışılmıştır. Vuppaladadium ve ark., APTES' i en yaygın kullanılan silan öncüllerinden biri olduğunu ve hidroksiapatit, titanyum dioksit vb. içeren farklı biyomalzemelerin/yüzeylerin işlevselleştirilmesi için rutin olarak kullanıldığı için grafen oksidi (GO) silanlaştırmak amacıyla kullanmıştır. Silan ile işlevleştirilen GO'nun (SiGO) primer insan dermal fibroblast, murin embriyonik fibroblast ve insan osteosarkom hücre hatları olmak üzere üç farklı hücre hattı üzerindeki *in vitro* toksisitesinin incelenmesi ile SiGO'nun toksisitesinin GO'dan önemli ölçüde daha az olduğunu ortaya koymuşlardır. Ek olarak, SiGO, GO'ya kıyasla sitouyumlulukta iyileşme göstermiştir. SiGO, insan mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasını indüklemiş ve fare modelinde sistemik toksisitede azalma göstermiştir. Sonuçta, silanizasyon GO'nun biyoyumluluğunu geliştirmiştir [25]. Bir başka çalışmada, Verma ve ark., halloysit nanotüp kil minerallerini (HNT) sülfürik asit kullanılarak aşındırılmış ve ilaç moleküllerinin HNT yüzeyleriyle daha iyi etkileşime girmesi amacıyla (3-aminopropil) trietoksisilan (APTES) kullanılarak işlevselleştirilmişlerdir. Ardından, penisilin grubundan olan Augmentin, HNT'lere yüklenmiş ve antibakteriyel özellikleri, sitotoksitesi ve kümülatif ilaç salımı (%) değerlendirilmiştir. XRD ve FT-IR analizleri, Augmentin'in APTES@Asit HNT'lere yüklendiğini doğrulamıştır. İlaç enkapsülasyon verimliliği %40,89'u olarak bulunmuştur. Ayrıca, MTT testi ile Augmentin yüklü APTES@Asit HNT'ler, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı iyi antibakteriyel özellik ve düşük sitotoksite sergilemiştir [26].

Bu bilgiler ışığında, üretilen malzemelerin fizikokimyasal ve mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi, doğal kemiğin özel kimyasal konfigürasyonu ve hiyerarşik yapısına dayanarak çeşitli nanoparçacıkların eklenmesi, doğal kemiğin inorganik bileşenleriyle benzerliklerinin bir sonucu olarak ideal seçenekler sunabilmektedir. Bu kapsamda, bu çalışmanın amacı, iki farklı silan ajanı ile modifiye edilen montmorillonit katkılı PCL/PVP polimer kompozitlerinin üretilmesi, karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi ve üretilen filmlerin kemik dokusu mühendisliği çalışmaları için doku iskelesi olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesidir. Üretilen iskelelerin *in vitro* hücre davranışı üzerindeki etkisini izlemek için ileri çalışmalar devam etmektedir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Nanokil modifikasyonu

Belirli miktarda nanokil, 60 °C'de bir gün boyunca vakumlu etüvde kurutulmuştur. 100 mL etanol/su karışımına kurutulmuş MMT disperse edilerek 80 °C'de en az 8 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Diğer tarafta, APTES ve GPTMS, 10 mL etanol/su karışımında ayrı ayrı karıştırılmış ve çok yavaş yavaş MMT dispersiyonuna ayrı ayrı eklenmiştir. Modifikasyon için karışımlar en az 5 saat 80 °C'de karıştırılmıştır. En son basamakta reaksiyon ürünü süzülüş ve etanol/su karışımı ile tekrar tekrar yıkanmıştır. APTES ve GPTMS ile modifiye edilen MMT, 6-8 saat 80 °C'de vakumlu etüvde kurutulmuştur [16, 27-29].

### 2.2. Biyomalzemelerin üretilmesi

PCL/PVP biyomalzemesi, 10 mL'lik 8/2 (v/v) oranlarında hazırlanan diklorometan (DCM)/N,N-dimetilformamid (DMF) çözücüsünde %10 (w/v) PCL ve %2 (w/v) PVP çözeltilerinden 1/1 (v/v) oranında katılarak 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. MMT, MMT-APTES ve MMT-GPTMS içeren kompozit biyomalzemeleri için öncelikle 5 mL'lik DCM/DMF çözücü karışımında PCL/PVP çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından ayrı bir tarafta kütlece polimer oranına göre %0,3 oranında MMT, MMT-APTES ve MMT-GPTMS, aynı çözücü karışımında ultrasonik karıştırıcıda karıştırılmıştır [30]. Daha sonra polimer ve kil çözeltileri birleştirilerek 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve hazırlanan çözeltiler ayrı ayrı 13 cm çaplı petri kaplarına dökülerek oda sıcaklığında 2 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır.

### 2.3. Karakterizasyon çalışmaları

Saf MMT'nin, APTES ve GPTMS ile modifiye edilmiş MMT'nin ve polimer-kil biyomalzemelerinin FT-IR spektrumları, 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki dalga sayısı spektrumunda ve 4  $\text{cm}^{-1}$  çözünürlükte Thermo Fisher Scientific, Inc., (Waltham, MA, ABD) marka Nicolet Avatar 370 Spektrometre cihazı ile çalışılarak elde edilmiştir. Kırınım desenleri, 25  $^{\circ}\text{C}$ 'de 40 kV ve 30 mA parametrelerinde, 1 $^{\circ}$ /s tarama hızıyla kil mineralleri için 2 $\theta$  açısı değeri 2-20 $^{\circ}$  aralığında ve polimer-kil biyomalzemeleri için ise 0-50 $^{\circ}$  aralığında APD 2000 PRO difraktometre cihazı (GNR, USA) ile çalışılmıştır. Yüzey topografisi, 25  $^{\circ}\text{C}$ 'de, 0,5 Hz tarama hızında ve 25 x 25  $\mu\text{m}^2$  alanında AFM XE-100 Park Systems Corp. (Suwon, Kore) marka cihaz ile SmartScan programı kullanılarak elde edilmiştir. Biyomalzemelerin ıslanabilirlik özelliği, 25  $^{\circ}\text{C}$ 'de deiyonize su kullanılarak sessile drop metodu ile Krüss DSA 100 (Almanya) marka cihazda çalışılmıştır. Su absorplama kapasiteleri içinse öncelikle numunelerin kuru ağırlıkları tartılıp ( $W_d$ ) kaydedilmiştir. Daha sonra 37  $^{\circ}\text{C}$ 'de, pH 7,4 fosfat tampon çözeltisine daldırılan numunelerin ağırlıkları ( $W_w$ ) 24 ve 48. saatlerde tartılarak aşağıdaki Denklem (1) ile hesaplanmıştır [31]:

$$\text{Su absorplama kapasitesi (\%)} = \left( \frac{W_w - W_d}{W_d} \right) \times 100 \quad (1)$$

Biyomalzemelerin mekanik mukavemetinin analiz edilmesi için numuneler 6x2  $\text{cm}^2$  boyutlarında kesilerek üst ve alttan iki mengene arasına sıkıştırılmıştır. Numunelere çekme testi (Model AGS-J, Shimadzu, Japonya) uygulanmış ve çekme-dayanım grafiklerine göre kopma mukavemetleri elde edilmiştir.

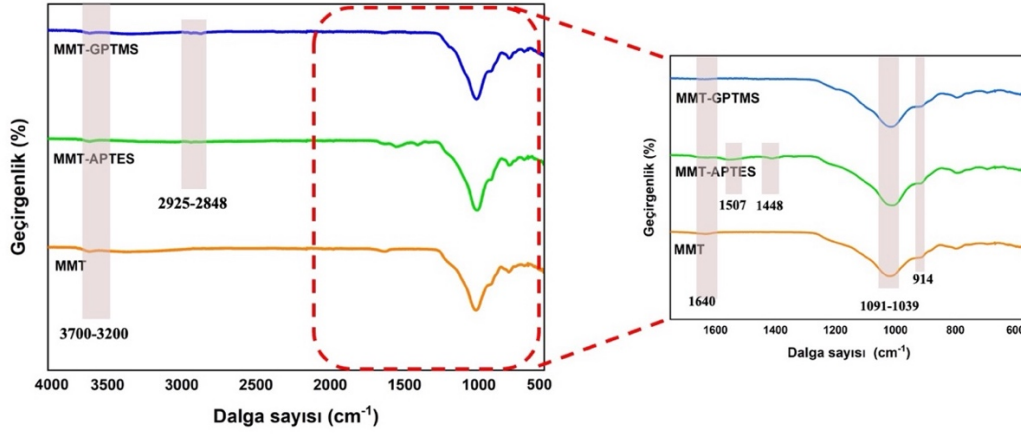
## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. Kil minarelleri

#### 3.1.1. FT-IR analizi

Geliştirilmiş özelliklere sahip kil-polimer kompozitlerini üretmek için, kil nanotabakalarının polimer matris boyunca geniş bir dağılımının yanı sıra fazlar arasında iyi ara yüzey etkileşimlerine de ihtiyaç vardır. Bu nedenle, kil nano katmanlarının modifikasyonu, termal olarak stabil silan birleştirme maddelerinin kil plakaları üzerine kimyasal olarak aşılmasını kapsayan kimyasal işlevselleştirme gibi ara katman boşluklarının boyutunu arttırmak için çok önemlidir [32].

Kilin yüzey modifikasyonu FT-IR ile gerçekleştirilen fonksiyonel grup analizi ile incelenmiştir. Saf MMT ile APTES ve GPTMS ajanlarıyla modifiye edilmiş MMT killerinin spektrumları Şekil 1'de verilmiştir. FT-IR sonuçları, 3700–3200  $\text{cm}^{-1}$  bölgesindeki (-OH) gruplarının titreşimlerini ortaya koyarken, 1300–440  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde silanol (Si-O) fonksiyonel gruplarının gerilmesine karşılık gelen bantlar gözlenmiştir.  $\text{Al}^{+3}$  kanyonları (Al-Al-OH) ile koordineli hidroksil gruplarının (-OH) titreşimi nedeniyle tüm killerde 3613-3621  $\text{cm}^{-1}$  civarında karakteristik bir bant gözlenmiştir. 3625  $\text{cm}^{-1}$ 'deki bant genişliği,  $\text{Al}^{+3}$  oktahedral tabakasında  $\text{Fe}^{+2}$  (Al-Fe-OH) veya  $\text{Mg}^{+2}$  (Al-Mg-OH) ile izomorfik bir yer değiştirmeyi göstermektedir. 3400  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki geniş bant, kil ara katman boşluklarına adsorbe edilen su moleküllerinin hidroksil grubunun (-OH) gerilmesine karşılık gelmektedir. Ek olarak, 1091-1039  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki çok yoğun bant, tetrahedral tabakaya karşılık gelen (Si-O) gerilme titreşimlerine atfedilmektedir. 519 ve 466  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki bantlar, montmorillonitin Al-O gerilmesi ve Si-O bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [33]. 2925  $\text{cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan yeni bant, üretilen filmde APTES'in varlığına işaret eden  $\text{CH}_2$  asimetrik gerilmesine atfedilebilir. Diğer yeni zirveler 1507  $\text{cm}^{-1}$  (N-H simetrik esneme), 1448  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}_3$  asimetrik esneme), 1414  $\text{cm}^{-1}$  (C-H esneme), 697  $\text{cm}^{-1}$  (O-Si-O asimetrik esneme) [34], 1562  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{NH}_3^+$  simetrik esneme) APTES'in kil ile modifiye edildiğini göstermektedir.

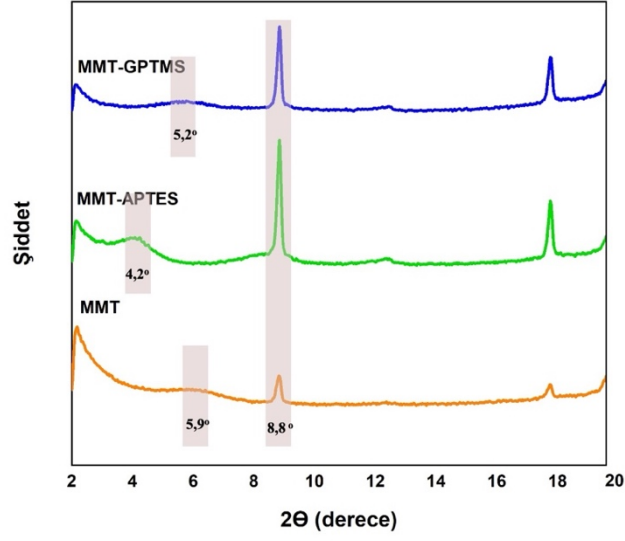


Şekil 1. Modifiye edilmemiş/edilmiş killerin FT-IR spektrumları.

Şekil 1'e göre, APTES/GPTMS ile modifiye edilmiş nanokil parçacıklarının spektrumları, silan birleştirme maddelerinin yanı sıra modifiye edilmemiş nanokil parçacıklarının spesifik piklerini de sergilemiştir. MMT'nin silan ajanları ile modifikasyonundan sonra, sırasıyla  $-CH_2$  asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri nedeniyle  $2933\text{ cm}^{-1}$  ve  $2865\text{ cm}^{-1}$ 'deki ek pikler izlemiştir. C-H alifatik zirvesi silan ajanlarından sonra ortaya çıkmış ve bu da silan moleküllerinin ve kilin SiC-O-SiC sayesinde bağlandığını kanıtlamıştır [33]. Ayrıca Raji ve ark. (2018),  $1553\text{ cm}^{-1}$ 'deki  $NH_2$  titreşimindeki deformasyonun MMT-APTES spektrumunda meydana geldiğini ifade etmiştir.  $NH_2$  gerilmesiyle örtüşmesi nedeniyle, APTES ile yapılan modifikasyondan sonra OH gerilme pikinde bir uzama gözlenmiştir [35]. FT-IR spektrumunda yaklaşık  $690\text{ cm}^{-1}$ 'deki N-H zirvesinin görünümü, silan moleküllerinin MMT yüzeylerine fiziksel veya kimyasal aşılınması için destekleyici kanıt sağlamıştır. Diğer taraftan, GPTMS'nin FT-IR eğrisinde  $CH_3$  ve  $CH_2$  tepe noktalarının simetrik uzaması ve epoksi halka titreşimi sırasıyla  $2926\text{ cm}^{-1}$ ,  $2869\text{ cm}^{-1}$  ve  $1254\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. MMT'nin GPTMS ile modifikasyonundan sonra -OH bandının yoğunluğu azalmıştır. Bu durum da modifikasyon ile silan moleküllerinin katıldığını göstermektedir. Ek olarak,  $2940$ ,  $1471$  ve  $1390\text{ cm}^{-1}$ 'deki yeni zirveler, sırasıyla  $CH_2$ 'nin titreşim uzamasına,  $CH_2$  ve  $CH_3$ 'ün titreşim bükülmesine atıfta bulunarak silandaki epoksi gruplarını oluşturur. Bu zirveler, modifiye edilmiş kilde GPTMS'nin varlığını göstermiştir.  $3455\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik emilimi, silanol gruplarını (Si-OH) oluşturmak için hidroksil gruplarının tüketilmesi nedeniyle azalmıştır. Bu sonuç ile montmorillonitin silan (GPTMS) tarafından başarıyla modifiye edildiği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle nanokiller APTES ve GPTMS silan birleştirme ajanları ile etkili bir şekilde modifiye edilmiştir.

### 3.1.2 XRD analizi

Kristal yapıyı ve ara katmanlarındaki değişimi araştırmak için, üç kil minerali üzerinde XRD analizleri yapılmıştır. Saf MMT'nin ve APTES ve GPTMS ajanları tarafından modifiye edilmiş MMT'nin XRD sonuçları Şekil 2'de gösterilmiştir. Saf MMT,  $2\theta = 5,9, 8,8, 12,4, 17,8, 19,8^\circ$ 'de bir kırınım zirvesi sergilemiştir. XRD deseni, MMT'nin tipik bir yansımasını göstermektedir. Bu da montmorillonitin dioktahedral bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir [33]. Saf MMT için  $1,48\text{ nm}$ 'lik bir bazal boşluğa karşılık gelen pik,  $5,9^\circ$ 'de gözlenmiştir. Ancak MMT-APTES ve MMT-GPTMS'nin bazal boşluk değerlerinin sırasıyla  $2,12\text{ nm}$ 'ye ( $2\theta = 4,2^\circ$ ) ve  $1,69\text{ nm}$ 'ye ( $2\theta = 5,2^\circ$ ) yükseldiği bulunmuştur. Diğer bir ifadeyle MMT-APTES ve MMT-GPTMS de ara katmanlar arası mesafe artmıştır. Bu durumda, MMT-APTES ve MMT-GPTMS'in yüzey modifikasyonlarının MMT'nin kristal yapısını değiştirmedikini [36] ve yalnızca MMT'in yüzey özelliklerini değiştirdiğini göstermiştir. Bazal aralıktaki genişleme, silan ajanlarının, daha önce Hua ve ark. tarafından raporlandığı gibi, modifiye edilmemiş kil minerallerinin katmanlarına ve MMT'nin genişletilmiş ara katman boşluklarına başarılı bir şekilde dahil edildiğini göstermiştir [37].

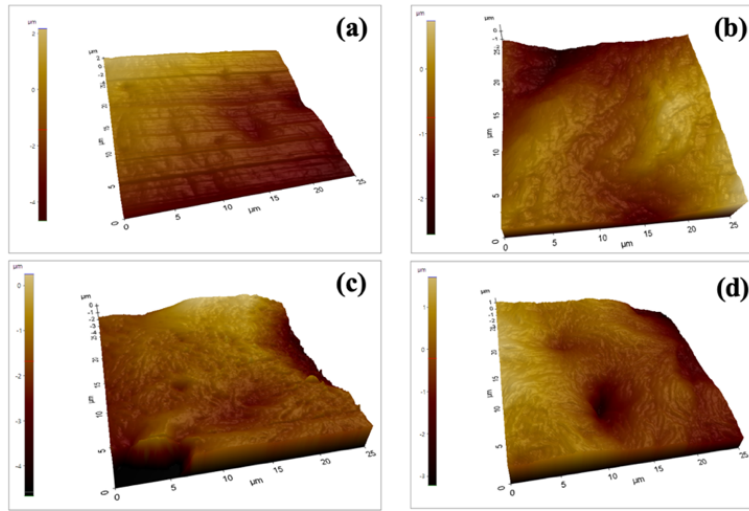


Şekil 2. Modifiye edilmemiş/edilmiş killerin XRD sonuçları.

### 3.2. Filmler

#### 3.2.1. AFM analizi

PCL/PVP, PCL/PVP/MMT, PCL/PVP/MMT-APTES ve PCL/PVP/MMT-GPTMS filmlerine ait AFM görüntüleri Şekil 3'te gösterilmektedir. Üretilen biyomalzemeler için elde edilen pürüzlülük değerleri sırasıyla PCL/PVP için 0,507  $\mu\text{m}$ , PCL/PVP/MMT için 0,171  $\mu\text{m}$ , PCL/PVP/MMT-APTES için 0,160  $\mu\text{m}$  ve PCL/PVP/MMT-GPTMS için 0,530  $\mu\text{m}$  olarak bulunmuştur. PCL/PVP' nin pürüzlülük parametresi PCL/PVP/MMT ve PCL/PVP/MMT-APTES filmlerine göre daha yüksek bulunurken PCL/PVP/MMT-GPTMS filmine göre daha düşüktür. MMT ve MMT-APTES ilavesiyle pürüzlülüğün azalması, PCL/PVP matrislerinde kil dağılımının iyi olduğunu göstermektedir. Ancak GPTMS ile yapılan modifikasyondan sonra yüzey daha pürüzlü hale gelmiştir. Bu durum, yüzeydeki kil agregatlarından kaynaklanıyor olabilir [38].

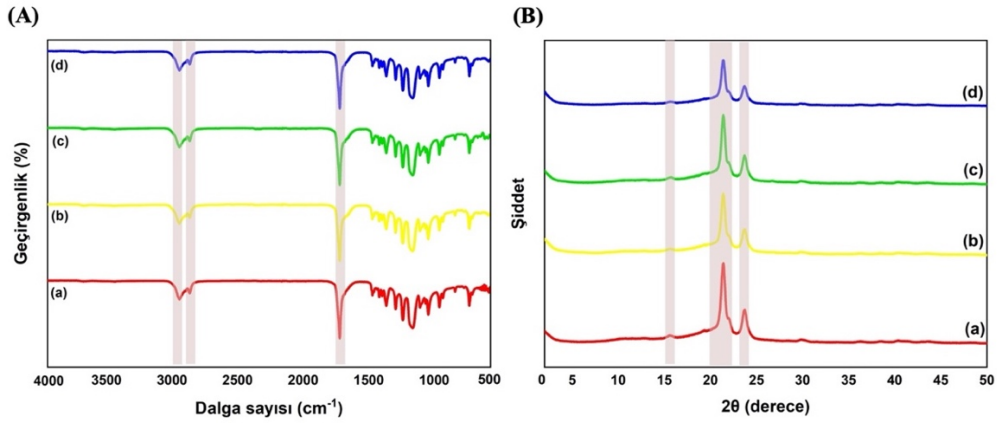


Şekil 3. AFM görüntüleri (a) PCL/PVP, (b) PCL/PVP/MMT, (c) PCL/PVP/MMT-APTES ve (d) PCL/PVP/MMT-GPTMS.

### 3.2.2. FTIR ve XRD analizleri

Kompozit filmlerin spektrumlarında (Şekil 4(A)), PCL'nin spesifik pikleri (asimetrik CH<sub>2</sub> gerilmesi için 2947 cm<sup>-1</sup>'de, simetrik CH<sub>2</sub> gerilmesi için 2870 cm<sup>-1</sup>, C=O karbonil için 1730 cm<sup>-1</sup>'de ve 1172 cm<sup>-1</sup> simetrik C-O-C germe için) ve PVP'nin karakteristik pikleri (C-H asimetrik için 2955 ve 2924 cm<sup>-1</sup> ve simetrik germe için 2894 cm<sup>-1</sup>, C=O gerilme titreşimi için 1646 cm<sup>-1</sup>, C-N gerilme titreşimleri 1494 cm<sup>-1</sup>, CH<sub>2</sub> grubunun CH deformasyonu ise 1461 ve 1422 cm<sup>-1</sup>, C-H bükülmesi 1373 ve 1318 cm<sup>-1</sup>, N-vinilpirolidon halkasındaki C-N gerilmesi ise 1287 ve 1274 cm<sup>-1</sup>, zayıf olan CH<sub>2</sub> bükülmesi 1229 ve 1170 cm<sup>-1</sup> ve C-H bükülmesi için 1075 cm<sup>-1</sup>), PCL/PVP membranlarında gözlenmiştir. MMT-APTES'in ve MMT-GPTMS'nin polimer matrisine dahil edilmesi durumunda, -CH<sub>2</sub> ve Si-CH gerilme titreşimleri sırasıyla 2923 cm<sup>-1</sup> ve 1323 cm<sup>-1</sup>'de gözlenmiştir. Bu nedenle polimerlerin ve modifiye edilmemiş/edilmiş MMT kollarının spesifik pikleri, PCL/PVP, PCL/PVP/MMT, PCL/PVP/MMT-APTES ve PCL/PVP/MMT-GPTMS kompozit membranlarının FT-IR spektrumlarında da görülmüştür.

PCL/PVP, PCL/PVP/MMT, PCL/PVP/MMT-APTES ve PCL/PVP/MMT-GPTMS biyomalzemelerinin XRD sonuçları Şekil 4(B)'de gösterilmektedir. PCL için sırasıyla 21,5° ve 23,8°deki (110) ve (200) düzlemleri gözlenmiştir [39]. Polimerlerin tipik kırınım tepe noktalarının yoğunluğu, polimerlerin kristallikliğindeki azalmaya bağlı olarak MMT'den sonra keskin bir şekilde azalmıştır [40].



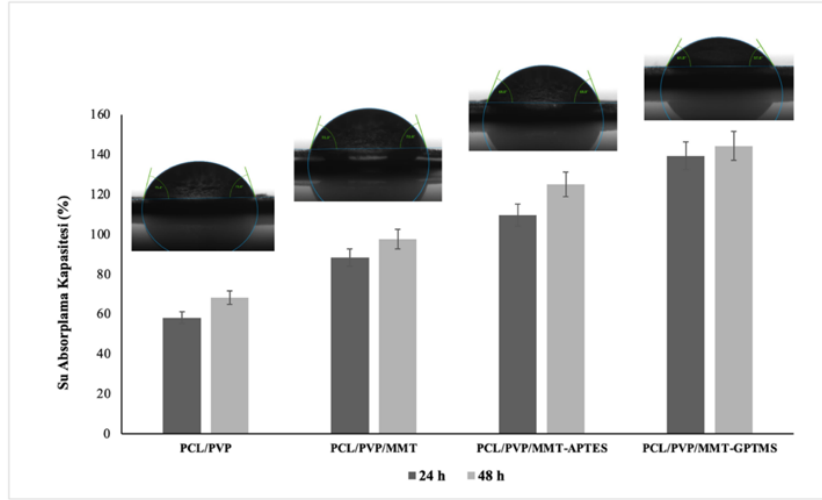
Şekil 4. Filmlerin (A) FT-IR spektrumları (a) PCL/PVP, (b) PCL/PVP/MMT, (c) PCL/PVP/MMT-APTES ve (d) PCL/PVP/MMT-GPTMS, (B) XRD sonuçları (a) PCL/PVP, (b) PCL/PVP/MMT, (c) PCL/PVP/MMT-APTES ve (d) PCL/PVP/MMT-GPTMS.

### 3.2.3. Temas açısı ve su absorplama kapasitesi

Kemik doku mühendisliği için kullanılacak film yüzeylerinin hidrofilik/hidrofobik yapısı, hücre yapışmasında ve çoğalmasında kritik bir rol oynamaktadır. Düşük temas açısı değeri, yüzeyin daha fazla hidrofilik olduğunu göstermektedir. PCL hidrofobik bir polimerdir [4]; ancak PVP ise oldukça hidrofildir [41].

Şekil 5'te verilen temas açısı değerleri sırasıyla PCL/PVP filmi için 74,2°, PCL/PVP/MMT filmi için 72,5°, PCL/PVP/MMT-APTES filmi için 68,4° ve PCL/PVP/MMT-GPTMS filmi için ise 59,7° olarak bulunmuştur. Su absorplama kapasiteleri 24 saatte PCL/PVP filmi için %58, PCL/PVP/MMT filmi için %88, PCL/PVP/MMT-APTES filmi için %110 ve PCL/PVP/MMT-GPTMS filmi için ise %139 olarak bulunmuştur. 48 saatin sonunda ise sırasıyla %68, %98, %125 ve %144 olarak bulunmuştur.

Polimer matrisine MMT, MMT-APTES ve MMT-GPTMS eklenmesiyle temas açısı değerlerinde düşme gözlenmiştir. MMT yüzeyindeki hidroksil grupları sayesinde hidrofilik karakter göstermektedir. Böylece filmlerin hidrofilikliği de artmıştır [42]. Su absorplama kapasiteleri karşılaştırıldığında ise temas açısı değerleri ile benzer sonuçlar gözlenmiştir. PCL/PVP matrisine APTES ve GPTMS modifiyeli MMT'nin eklenmesi ile su absorplama kapasitesi 24 saat sonunda PCL/PVP filmine göre sırasıyla yaklaşık olarak %188 ve %239 oranında artmıştır. 48 saatin sonunda ise artış daha da fazla olmuştur.

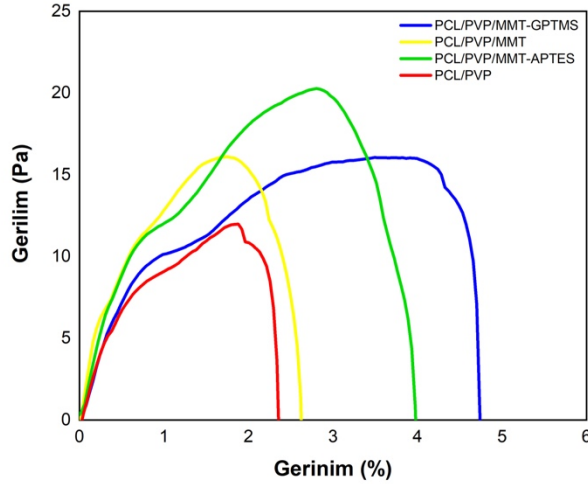


Şekil 5. Temas açı değerleri ve su absorplama kapasite.

### 3.2.4. Mekanik analiz

Polimerik matrislerde dolgu maddesi olarak kullanılan nano takviyeler mekanik davranışları arttırdıkları için tercih edilirler [43]. Takviye elemanlarının polimerik matrislere dahil edilmesi, nano takviye ve matris arasındaki arayüzey etkileşimleri yeterli olduğundan, uygulanan yükün büyük bir bölümünü stres parametreleri altında polimerik matrise taşıma kapasitesini kolaylaştırır [44].

Çekme-dayanım testi ile modifiye edilmemiş ve modifiye edilmiş kil katkılı biyomalzemelerin mekanik özellikleri incelenmiş ve sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Filmleri sırasıyla mekanik mukavemetleri PCL/PVP için 12 Pa, PCL/PVP/MMT için 15,4 Pa, PCL/PVP/MMT-APTES için 19,8 Pa ve PCL/PVP/MMT-GPTMS için ise 15,3 Pa olarak bulunmuştur. Gerilme dirençleri karşılaştırıldığında modifiyesiz/modifiyeli kil katılmamış saf malzemenin en düşük çıkmıştır. Modifiye edilmemiş kil katkılı malzemede (PCL/PVP/MMT) biraz daha yükselmiş olsa da en yüksek değer MMT-APTES katkılı doku iskelesinde gözlenmiştir.



Şekil 6. Mekanik analiz sonuçları.

## 4. Sonuç

Bu çalışmada, modifiye edilmemiş montmorillonit (MMT) ile APTES ve GPTMS ajanları ile modifiye edilmiş montmorillonit katkılı PCL/PVP film biyomalzemeleri çözelti döküm yöntemi ile üretilmiştir. MMT'nin APTES ve GPTMS ile modifikasyonu FTIR ve XRD analizleri ile karakterize edilmiştir. FTIR analizi ile silan ajanlarına ait spesifik piklerin varlığı kanıtlanmış ve XRD analizi ile MMT'nin bazal aralığındaki genişlemesi silan ajanlarının modifiye edilmemiş kil minerallerinin katmanlarına ve MMT'nin genişletilmiş ara katman



boşluklarına başarılı bir şekilde dahil edildiğini kanıtlanmıştır. Hazırlanan filmlerin FTIR analiz sonuçlarında, polimerlerin, modifiye edilmiş ve edilmemiş MMT'nin spesifik pikleri gözlenmiştir. AFM analizi ile yüzey pürüzlülükleri incelendiğinde PCL/PVP polimer matrisine MMT ile MMT-APTES eklenmesi ile yüzey pürüzlülüğünün azaldığı ancak MMT-GPTMS eklenmesi ile nanokil agregatlarının oluşmasından kaynaklı pürüzlülükte artış olduğu görülmüştür. Temas açısı değerleri karşılaştırıldığında ise kilin katılması ile PCL/PVP filminin temas açısı değerinde düşme gözlenmiştir. Modifiye nanokillerin katılması ile temas açısı değerleri PCL/PVP ve PCL/PVP-MMT filmlerine göre daha da düşerek filmlerin hidrofiliğinde artış gözlenmiştir. Su absorplama değerleri ise temas açısı sonuçları ile benzerlik göstermiş olup polimer matrisine modifiyesiz ve modifiyeli nanokilin katılması ile filmlerin 24 ve 48. saatlerdeki su absorplama değerleri yükselmiştir. Sonuç olarak, APTES ile modifiye edilmiş MMT katkılı PCL/PVP biyomalzemelerinin kemik doku hasarlarının tedavisinde doku iskelesi olarak kullanılabilirliği morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik olarak değerlendirilmiştir. Üretilen malzemelerin in vitro hücre davranışı üzerindeki etkisini izlemek için ileri çalışmalar devam etmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı tarafından 1919B012214355 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Şükran Melda Eskitoros-Togay, fikir sahibi, sonuçları yorumladı, makaleyi yazdı. Esmâ Aleyna Yeşilyurt ve Sema Çörtoğlu deneyleri gerçekleştirdi.

## Kaynaklar

- [1] Khan Y, Yaszemski MJ, Mikos AG, Laurencin CT. Tissue engineering of bone: material and matrix considerations. *J Bone Jt Surg* 2008; 90: 36-42.
- [2] Porter JR, Ruckh TT, Popat KC. Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol Prog* 2009; 25(6): 1539-1560.
- [3] Langer R, Tirrell DA. Designing materials for biology and medicine (Review). *Nature* 2004; 428(6982): 487-492.
- [4] Eskitoros-Togay ŞM, Bulbul YE, Tort S, Korkmaz Demirtaş F, Acartürk F, Dilsiz N. Fabrication of doxycycline-loaded electrospun PCL/PEO membranes for a potential drug delivery system. *Int J Pharm* 2019; 565: 83-94.
- [5] Eskitoros-Togay ŞM, Bulbul YE, Dilsiz N. Controlled release of doxycycline within core/shell poly (ε-caprolactone)/poly(ethylene oxide) fibers via coaxial electrospinning. *J Appl Polym Sci* 2020; e49273: 1-12.
- [6] Ghorbani F, Sahranavard M, Zamanian A. Immobilization of gelatin on the oxygen plasma-modified surface of polycaprolactone scaffolds with tunable pore structure for skin tissue engineering. *J Polym Res* 2020; 27: 1-12.
- [7] Ning W, Shang P, Wu J, Shi X, Liu S. Novel amphiphilic, biodegradable, biocompatible, thermo-responsive ABA triblock copolymers based on PCL and PEG analogues via a combination of ROP and RAFT: Synthesis, characterization, and sustained drug release from self-assembled micelles. *Polym* 2018; 10(2): 214.
- [8] Mishra R, Varshney R, Das N, Sircar D, Roy P. Synthesis and characterization of gelatin-PVP polymer composite scaffold for potential application in bone tissue engineering. *Eur Polym J* 2019; 119: 155-168.
- [9] Sruthi R, Balagangadharan K, Selvamurugan N. Polycaprolactone/polyvinylpyrrolidone coaxial electrospun fibers containing veratric acid-loaded chitosan nanoparticles for bone regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2020; 193: 111110.
- [10] Sadeghi-Avalshahr AR, Nokhasteh S, Molavi AM, Mohammad-Pour N, Sadeghi M. Tailored PCL scaffolds as skin substitutes using sacrificial PVP fibers and collagen/chitosan blends. *Int J Mol Sci* 2020; 21(7): 2311.
- [11] Mittal V. Nanocomposites with biodegradable polymers: synthesis, properties, and future perspectives. *Oxford Scholarship Online*, 2011.
- [12] Mkhabela V, Rat SS. Biodegradation and bioresorption of poly(ε-caprolactone) nanocomposite scaffolds. *Int J Biol Macromol* 2015; 79: 186-192.
- [13] Donmez F, Kandemir AC, Can HK. Biocompatible nanocomposite production via nanoclays with diverse morphology. *Int J Polym Anal Charact* 2022; 27(3): 158-179.
- [14] Khatoon N, Chu MQ, Zhou CH. Nanoclay-based drug delivery systems and their therapeutic potentials. *J Mater Chem B* 2020; 2020: 1-19.
- [15] Jayrajsinh S, Shankar G, Agrawal YK, Bakre L. Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *J Drug Deliv Sci Technol* 2017; 39: 200-209.
- [16] Bertuoli PT, Piazza, D, Scienza, LC, Zattera, AJ. Preparation and characterization of montmorillonite modified with 3-aminopropyltriethoxysilane. *Appl Clay Sci* 2014; 87: 46-51.
- [17] Peña-Parás L, Sánchez-Fernández JA, Vidaltamayo R. Nanoclays for biomedical applications, in handbook of ecomaterials. Springer International Publishing, 2019.
- [18] Li DY, Li P, Xu Y, Guo WM, Li MQ, Chen MG, Wang HY, Lin HM. Progress in montmorillonite functionalized artificial bone scaffolds: intercalation and interlocking, nanoenhancement, and controlled drug release. *J Nanomater* 2022; 2022(1): 1-20.
- [19] Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Caramella C. Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Appl Clay Sci* 2007; 36(1-3): 22-36.

- [20] Demir AK, Elçin AE, Elçin YM. Strontium-modified chitosan/montmorillonite composites as bone tissue engineering scaffold. *Mat Sci Eng-C* 2018; 89: 8-14.
- [21] Zulfiqar S, Kausar A, Rizwan M, Sarwar MI. Probing the role of surface treated montmorillonite on the properties of semi-aromatic polyamide/clay nanocomposites. *Appl Surf Sci* 2008; 255: 2080–2086.
- [22] Su L, He H, Zhu J, Yuan P. Locking effect: A novel insight in the silylation of montmorillonite surfaces. *Mater Chem Phys* 2012; 136 (2–3): 292-295.
- [23] Wypych F. Chemical modification of clay surfaces. In: Wypych F, Satyanarayana KG (eds) *Clay surfaces: fundamentals and applications*, Elsevier, Amsterdam, 2004, pp. 1–56.
- [24] Xie Y, Hill CAS, Xiao Z, Militz H, Mai C. Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review. *Compos – A* 2010; 41: 806–819.
- [25] Vuppaladadiam SSR, Agarwal T, Kulanthaivel S, Mohanty B, Barik CS, Maiti TK, Banerjee I. Silanization improves biocompatibility of graphene oxide. *Mater Sci Eng-C* 2020; 110: 110647.
- [26] Verma D, Okhawilal M, Senthilkumar N, Subramani K, Incharoensakdi A, Raja GG, Uyama H. Augmentin loaded functionalized halloysite nanotubes: A sustainable emerging nanocarriers for biomedical applications. *Environ Res* 2024; 242: 117811.
- [27] He H, Duchet J, Galy J, Gerard JF. Grafting of swelling clay materials with 3-aminopropyltriethoxysilane. *J Colloid Interface Sci* 2005; 288: 171–176.
- [28] He W, Yao Y, He M, Kai Z, Long L, Zhang M, Qin S, Yu J. Influence of Reaction Conditions on the grafting pattern of 3-Glycidoxypropyl trimethoxysilane on montmorillonite. *Bull Korean Chem Soc* 2013; 34(1): 112-116.
- [29] Shen W, He H, Zhu J, Yuan P, Frost RL. Grafting of montmorillonite with different functional silanes via two different reaction systems. *J Colloid Interface Sci* 2007; 313: 268–273.
- [30] Bulbul YE, Okur M, Demirtaş Korkmaz F, Dilsiz N. Development of PCL PEO electrospun fibrous membranes blended with silane-modified halloysite nanotube as a curcumin release system. *Appl Clay Sci* 2020; 186: 105430–105444.
- [31] Olad A, Hang HBK, Mirmohseni A, Azhar FF. Graphene oxide and montmorillonite enriched natural polymeric scaffold for bone tissue engineering. *Ceram Int* 2019; 45(12): 15609-15619.
- [32] Asgari M, Sundararaj U. Silane functionalization of sodium montmorillonite nanoclay: The effect of dispersing media on intercalation and chemical grafting. *Appl Clay Sci* 2018; 153: 228-238.
- [33] Saputra OA, Pujiasih S, Rizki VN, Nurhayati B, Pramono E, Purnawan C. Silylated-montmorillonite as co-adsorbent of chitosan composites for methylene blue dye removal in aqueous solution. *Commun Sci Technol* 2020; 5(1): 45-52.
- [34] Su L, Tao Q, He H, Zhu J, Yuan P, Zhu R. Silylation of montmorillonite surfaces: Dependence on solvent nature. *J Colloid Interface Sci* 2013; 391(0):16–20.
- [35] Raji M, Mekhzoum MEM, Rodrigue D, Bouhfid R. Effect of silane functionalization on properties of polypropylene/clay nanocomposites. *Compos B Eng* 2018; 146: 106-115.
- [36] Atmaja L, Purwanto M, Salleh MT, Mohamed MA, Jaafar J, Ismail AF, Santoso M, Widiastuti N. GPTMS-Montmorillonite-filled biopolymer chitosan membrane with improved compatibility, physicochemical, and thermal stability properties. *Mal J Fund Appl Sci* 2019; 15: 492–497.
- [37] Hua Q, Jing B, He M, Sun P, Zhao Q, Su S, Hu G, Pinh D ve diğerleri. Preparation of modified montmorillonite/graphene oxide composites to enhance the anticorrosive performance of epoxy coatings. *J Coat Technol Res* 2023; 20: 1111–1119.
- [38] Qaiss A, Bouhfid R, Essabir H. Characterization and use of coir, almond, apricot, argan, shells, and wood as reinforcement in the polymeric matrix in order to valorize these products. *Agri Biomass Based Potent Mater* 2015; 305-339.
- [39] Eskitoros-Togay ŞM, Bulbul YE, Dilsiz N. Combination of nano-hydroxyapatite and curcumin in a biopolymer blend matrix: Characteristics and drug release performance of fibrous composite material systems. *Int J Pharm* 2020; 590: 119933-119941.
- [40] Liu C, Wong H, Yeung K, Tjong S. Novel Electrospun Polylactic Acid Nanocomposite Fiber Mats with Hybrid Graphene Oxide and Nanohydroxyapatite Reinforcements Having Enhanced Biocompatibility. *Polymers (Basel)* 2016; 8: 287-296.
- [41] Tyagi B, Chudasama CD, Jasra RV. Determination of structural modification in acid activated montmorillonite clay by FT-IR spectroscopy. *Spectrochim Acta - A: Mol Biomol Spectrosc* 2012, 64(2): 273-278.
- [42] Ghosh SK, Das TK, Ganguly S, Nath K, Paul S, Ganguly D, Das NC. Silane functionalization of sodium montmorillonite and halloysite (HNT) nanoclays by ‘grafting to’ method to improve physico-mechanical and barrier properties of LLDPE/clay nanocomposites. *Polym Bull* 2023; 80(4): 4307-4335.
- [43] de Moraes Segundo JDP, de Moraes MOS, de Brito Soares AL, dos Santos GG, Silva RN, dos Santos Almeida R, Brito WR, d’Avila MA. Production and characterization of caffeic acid-loaded microfibrillar polycaprolactone mats obtained by electrospinning technology. *Int J Adv Eng Res Sci* 2021; 8(3): 17-25.
- [44] Zheng Y, Zaoui A. Wetting and nanodroplet contact angle of the clay 2:1 surface: The case of Na-montmorillonite (001). *Appl Surf Sci* 2017; 396: 717-722.