KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇAPRAZ BAĞLI POLİVİNİL ALKOL/SODYUM KAZEİNAT KARIŞIMLARINDAN NANOLİFLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

ÖZGE ŞENDİL

KOCAELİ 2022

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇAPRAZ BAĞLI POLİVİNİL ALKOL/SODYUM KAZEİNAT KARIŞIMLARINDAN NANOLİFLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

ÖZGE ŞENDİL

Prof. Dr. Ayşe AYTAÇ		
Danışman,	**Kocaeli Üniversitesi**	**.....**
Doç. Dr. Erdinç DOĞANCI		
Jüri Üyesi,	**Kocaeli Üniversitesi**	**.....**
Doç. Dr. Cahide Elif ÖZEN CANSOY		
Jüri Üyesi,	**Piri Reis Üniversitesi**	**.....**

Tezin Savunulduğu Tarih: 24.01.2022

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez/proje çalışmasında,

- Bu tezin/projenin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu,
- Çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi,
- Bu çalışmanın Kocaeli Üniversitesi'nin abone olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun olduğunu,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Tezin/Projenin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez/proje çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

☒ Bu tez/proje çalışmasının herhangi bir aşaması hiçbir kurum/kuruluş tarafından maddi/alt yapı desteği ile desteklenmemiştir.

☐ Bu tez/proje çalışması kapsamında üretilen veri ve bilgiler ..... tarafından ..... no'lu proje kapsamında maddi/alt yapı desteği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Özge ŞENDİL

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/projemin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda belirtilen koşullarla kullanıma açma izninin Kocaeli Üniversitesi'ne verdiğimi beyan ederim. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin/projemin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanımı bana ait olacaktır. Tezin/projenin kendi özgün çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin/projenin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim. Yükseköğretim kurulu tarafından yayınlanan "***Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge***" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi/ Kocaeli Üniversitesi Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

☐ Enstitü yönetim kurulu kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.

☐ Enstitü yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 6 ay ertelenmiştir.

☒ Tezim/projem ile ilgili gizlilik kararı verilmemiştir.

Özge ŞENDİL

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, elektroçekim yöntemiyle PVA/SC nanolifleri üretilmiş, nanoliflerin dayanım değerlerinin arttırılması için çapraz bağlanma işlemi uygulanmıştır. Çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerine antibakteriyel özellik sağlaması için Ag NP ve ZnO NP ilavesi gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanoliflerin yara örtüsü olarak kullanımı değerlendirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Ayşe AYTAÇ'a saygılarımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca her konuda yardımcı olan, bilgileriyle bana destek veren, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Sayın Doktora Öğrencisi Sema SAMATYA YILMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman bana güvenen, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, varlıklarıyla bana güç veren kıymetli anneme, babama ve ablama destekleri için teşekkür ederim. Ve son olarak her zaman yanımda olan ve beni desteklemekten vazgeçmeyen yol arkadaşım Hakan TAŞKAN'a teşekkür ederim.

Aralık- 2021 Özge ŞENDİL

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
TABLOLAR DİZİNİ viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ix
ÖZET xi
ABSTRACT xii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Poli(vinil Alkol)(PVA) 4
2.2. Kazein 5
2.3. Kazein ve PVA' nın Çapraz Bağlanması 7
2.4. Antibakteriyel Özellik Sağlayan Katkılar 10
2.5. Nanolif Üretim Yöntemleri 11
2.5.1. Lif Çekme Yöntemi 11
2.5.2. Arayüzey Polimerizasyonu Yöntemi 12
2.5.3. Şablon Sentezi Yöntemi 12
2.5.4. Faz Ayrımı Yöntemi 13
2.5.5. Kendiliğinden Birleşme Yöntemi 14
2.5.6. Bikomponent Eğirme Yöntemi 14
2.5.7. Eriyik Püskürtme Yöntemi (Meltblowing) 15
2.5.8. Spunbond Yöntemi 15
2.5.9. Fibrilasyon Yöntemi 15
2.5.10. Elektroçekim (Elektrospining) Yöntemi 15
2.5.10.1. Elektroçekim Yöntemine Etki Eden Parametreler 20
2.6. Nanoliflerin Uygulama Alanları 23
2.6.1. Nanoliflerin Kompozit Uygulamaları 24
2.6.2. Elektriksel Uygulamaları 24
2.6.3. Filtrasyon Uygulamaları 25
2.6.4. Biyomedikal Alanda Kullanımı 25
2.6.4.1. Yara Örtüsü Olarak Kullanımı 25
2.6.5. Sensör Alanında Kullanımı 28
2.6.6. Tarımsal Uygulamalarda Nanoliflerin Kullanımı 29
2.7. Nanolifler İçin Uygulanan Karakterizasyon Yöntemleri 29
2.7.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi 29
2.7.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi 30
2.7.3. Çekme Testi 31
2.7.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi 32
2.7.5. Nem Testi 33
2.7.6. In-Vitro Antibakteriyel Test 33
2.7.7. Sitotoksisite Testi 35
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI 36
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 42
4.1. Malzemeler 42

4.2. Yöntem 43
4.3. Karakterizasyon 49
4.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi 49
4.3.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi 50
4.3.3. Çekme Testi 50
4.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi 51
4.3.5. Nem Testi 52
4.3.6. In-Vitro Antibakteriyel Test 52
4.3.7. Sitotoksisite Testi 55
5. BULGULAR VE TARTIŞMA 58
5.1. PVA/SC Nanoliflerin Karakterizasyon Sonuçları 58
5.1.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları 58
5.1.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları 60
5.1.3. Çekme Testi Sonuçları 62
5.1.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları 64
5.2. Çapraz bağlı PVA/SC Nanoliflerin Karakterizyon Sonuçları 66
5.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları 66
5.2.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları 68
5.2.3. Çekme Testi Sonuçları 70
5.2.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları 72
5.2.5. Nem Testi Sonuçları 73
5.3. PVA/SC/25GLA Nanolifine Antibakteriyel Nanopartikül (Ag, ZnO) İlavesinin Etkisinin İncelenmesi 74
5.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları 74
5.3.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları 76
5.3.3. Çekme Testi Sonuçları 78
5.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları 80
5.3.5. Nem Testi Sonuçları 82
5.3.6. In-vitro Antibakteriyel Test Sonuçları 82
5.3.7. Sitotoksisite Test Sonuçları 89
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 93
KAYNAKLAR 97
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 104
ÖZGEÇMİŞ 105

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. PVA'nın kimyasal yapısı ... 4
Şekil 2.2. PVA'nın üretim taslağı ... 4
Şekil 2.3. a)Kazeinin molekül yapısı, b) Kazeinin misel yapısı ... 6
Şekil 2.4. PVA ve GLA ile farklı çapraz bağlama reaksiyonları a) Moleküller arası b) Molekül içi c) Bir zincirden eksik veya sarkık ... 9
Şekil 2.5. SC ve GLA arasındaki kimyasal reaksiyon ... 9
Şekil 2.6. Lif çekme yöntemiyle nanolif elde edilmesi ... 11
Şekil 2.7. Şablon sentezi yöntemi ile nanolif üretimi ... 12
Şekil 2.8. a) Faz ayrımı yöntemiyle nanolif elde edilmesi, b) ve c) bu yöntemle hazırlanan nanolifin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri ... 13
Şekil 2.9. Kendiliğinden birleşme yöntemi ile nanolif elde edilmesi ... 14
Şekil 2.10. Nanolif üretimi için çeşitli türlerde elektroçekim düzenekleri: a) Geleneksel tek iğneli solüsyonlu elektroçekim, b) Çift veya çoklu iğneli; c) Yan yana elektroçekim d) Eriyik elektroçekim ... 17
Şekil 2.11. a)Nanolif üretimi, b)Nanolif görüntüsü c)Nanolifin SEM görüntüsü ... 18
Şekil 2.12. Yara iyileşmesi için kullanılan malzemelerin sınıflandırılması ... 28
Şekil 2.13. SEM'in şematik görünümü ... 30
Şekil 2.14. FTIR'ın çalışma prensibi ... 31
Şekil 2.15. Çekme cihazı bileşenlerinin şematik görüntüsü ... 32
Şekil 2.16. DSC analizi şematik gösterimi ... 33
Şekil 4.1. Elektroçekim yöntemiyle üretilen 70PVA30SC nanolifi görüntüsü ... 44
Şekil 4.2. Liflenme gerçekleşmemiş nanolif görüntüleri ... 44
Şekil 4.3. GLA eklenen çözeltiler ... 45
Şekil 4.4. a) Çözelti içerisinde bekletilen nanolifler b) Etil alkolde bekletilen nanolifler ... 46
Şekil 4.5. Ag NP ilaveli PVA/SC çözeltileri ... 47
Şekil 4.6. Elektroçekim işleminde üretilen nanolif (7030-25GLA-2Ag) ... 48
Şekil 4.7. ZnO NP ilavesi yapılan PVA/SC çözeltileri ... 48
Şekil 4.8. a) Elektroçekim işlemi(7030-25GLA-6Zn), b) Elektroçekim işleminde üretilen nanolif (7030-25GLA-4Zn) ... 49
Şekil 4.9. Çalışmada kullanılan SEM cihazı ... 49
Şekil 4.10. Çalışmada kullanılan FTIR cihazı ... 50
Şekil 4.11. a)Çalışmada kullanılan çekme testi cihazı b)Çekme testi numuneleri ... 51
Şekil 4.12. Çalışmada kullanılan DSC cihazı ... 51
Şekil 4.13. *S. Aureus* ve *E. Coli* ekilmiş besiyerinde gerçekleştirilen alt kültürü ... 53
Şekil 4.14. Nanoliflerin UV sterilizasyon cihazında sterilizasyonları ... 53
Şekil 4. 15. 24 kuyulu kültür plaklarında bakteri süspansiyonu ile inkübe edilen nanolifler ... 54
Şekil 5.1. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 1000x) ... 58
Şekil 5.2. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 10.000x) ... 59
Şekil 5.3. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 50.000x) ... 59
Şekil 5.4. Saf SC ve Saf PVA'nın FTIR spektrumları ... 61
Şekil 5.5. PVA/SC nanoliflerinin FTIR spektrumları ... 62
Şekil 5.6. a) PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı verileri b) PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri ... 63

Şekil 5.7. Saf PVA nanolifi ve saf SC' nin DSC termogramı 64
Şekil 5.8. PVA/SC nanoliflerinin DSC termogramı 65
Şekil 5.9. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (10000x) 66
Şekil 5.10. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (50000x) 67
Şekil 5.11. Çapraz bağlı PVA/SC nanolifilerinin FTIR spektrumları 69
Şekil 5.12. Farklı yöntemlerle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifin FTIR Spektrumları 70
Şekil 5.13. a)Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı değerleri b) Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri..... 71
Şekil 5.14. a) PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı değerleri b) PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri 71
Şekil 5.15. Çapraz bağlı PVA/SC karışım nanoliflerinin DSC termogramı..... 72
Şekil 5.16. Ag Np ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifin 1000x görüntüsü 75
Şekil 5.17. ZnO ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri 76
Şekil 5.18. Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları 77
Şekil 5.19. ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları..... 78
Şekil 5.20. a) Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifi çekme dayanımı değerleri b) Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifleri maksimum yükteki uzama(%) yüzde değerleri 79
Şekil 5.21. a)ZnO NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin çekme dayanımı değerleri b) ZnO NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin maksimum yükteki uzama (%) değerleri 79
Şekil 5.22. a)Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin DSC termogramı b)ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifinin DSC termogramı 80
Şekil 5.23. Daldırma yöntemi için *E. Coli* ve *S. Aureus* üreme kontrolleri..... 83
Şekil 5.24. *E. Coli* ve *S. Aureus* üreme kontrolleri 84
Şekil 5.25. Daldırma yöntemi antibakteriyel test sonuçları (*E.Coli* ve *S. Aureus*)..... 84
Şekil 5.26. Antibakteriyel aktivite sonuçları (*E. Coli*-7030-25GLA-Ag)..... 85
Şekil 5.27. Antibakteriyel test sonuçları (*S. Aureus*- 7030-25GLA-Ag) 85
Şekil 5.28. Antibakteriyel test sonuçları (*E. Coli*-7030-25GLA-Zn) 86
Şekil 5.29. Antibakteriyel test sonuçları (*S. Aureus*- 7030-25GLA-Zn)..... 87
Şekil 5.30. İnkübasyon sırasında nanoliflerin görüntüsü 89
Şekil 5.31. %25 GLA ilaveli ve Ag NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin extract yöntemiyle sitotoksisite testi 90
Şekil 5.32. Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifinin extract yöntemiyle sitotoksisite testi 90
Şekil 5.33. Nanoliflerin hücre canlılığı sonuçları 91

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Deneysel çalışmada kullanılan malzemeler 42
Tablo 4.2. PVA/SC karışım nanoliflerin bileşimleri ve kodları 43
Tablo 4.3. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin bileşimleri ve kodları.....45
Tablo 4.4. Ag NP ve ZnO NP ilaveli nanoliflerin numune kodları ve bileşimleri.....47
Tablo 5.1. Saf PVA ve PVA/SC nanoliflerin lif çapı ortalamaları 60
Tablo 5.2. DSC sonuçlarıyla elde edilen PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri 66
Tablo 5.3. Çapraz bağlı PCA/SC nanoliflerinin lif çapı ortalamaları 68
Tablo 5.4. DSC sonuçlarıyla elde edilen çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri 73
Tablo 5.5. Çapraz bağlı nanoliflerin MC değerleri 74
Tablo 5.6. EDX Sonuçları 76
Tablo 5.7. DSC sonuçlarıyla elde edilen Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri 81
Tablo 5.8. DSC sonuçlarıyla elde edilen ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri 81
Tablo 5.9. Ag NP ve ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin MC değerleri 82
Tablo 5.10. Antibakteriyel test sonuçları tablosu (*E. Coli*).....88
Tablo 5.11. Antibakteriyel test sonuçları tablosu (*S. Aureus*).....88

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

v	:Hacim
w	:Ağırlık
sa	:Saat
kV	:Kilovolt
cm	:Santimetre
g	:Gram
J	:Joule
RPM	:Dakikadaki devir sayısı
T_g	:Camsı geçiş sıcaklığı (^oC)
T_m	:Erime sıcaklığı (^oC)
ΔH_m	:Erime entalpisi (J/g)
M_i	:İlk ağırlık (g)
M_f	:Son ağırlık (g)
µL	:Mikrolitre
µm	:Mikrometre
nm	:Nanometre
MPa	:Megapaskal

Kısaltmalar

PVA	: Poli(vinil alkol)
SC	: Sodyum Kazeinat
Ag NP	: Gümüş Nanopartikül
ZnO NP	: Çinko Nanopartikül
GLA	: Gluteraldehit
PVAc	: Polivinil asetat
UV	: Ultraviyole
UVA	: Ultraviyole A ışık
UVB	: Ultraviyole B ışık
UVC	: Ultraviyole C ışık
UPF	: Ultraviyole koruma faktörü
ATP	: Adenozin 3'-trifosfat
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
HEPA	: Yüksek verimli partikül hava
ULPA	: Ultra düşük penetrasyonlu hava
E. Coli	: Escherichia Coli
B. Subtilis	: Bacillus Subtilis
S. Aureus	: Staphylococcus Aureus
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
IR	: Kızılötesi
Ab	: Absorbans
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BET	: Yüzey Alanı Ölçümü
CaCAS	: Kalsiyum Kazeinat

CFU	: Koloni oluşturan ünite
CLSM	: Konfokal Lazer Tarama Mikroskobu
DMEM	: Dulbecco’s Modified Eagle Media (Hücre kültürü ortamı)
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EDX	: Enerji dağılım X ışını spektrometresi
EMB	: Eozin Metilen Mavisi Agar
EPMA	: Elektron Mikroprob Analiz
ES	: Elektrospun
FBS	: Fetal sığır serumu
KKA	: Koyun Kanlı Agar
MC	: Moisture Content (Nem içeriği)
MDI	: Metilen Difenil Diizosiyanat
MHA	: Mueller Hinton Agar
MMT	: Montmorillonit
ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
PAN	: Poliakrilonitril
PEO	: Polietilen Oksit
PULL	: Pullulan
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik Analiz
THF	: Tetrahidrofuran
WST 1	: Suda çözünen formazan 1

ÇAPRAZ BAĞLI POLİVİNİL ALKOL/SODYUM KAZEİNAT KARIŞIMLARINDAN NANOLİFLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

ÖZET

Elektrospinning (elektroçekim) yöntemiyle üretilen nanoliflerin yüksek yüzey/hacim oranına sahip olması ve sağlam lifler oluşturulması nedeniyle birçok alanda kullanımı mevcuttur. Nanoliflerin yara örtüsü olarak kullanımı son zamanlarda araştırılmaktadır. Kazein kan pıhtılaşmasında aktif bir bileşendir. Poli(vinil alkol) ise, suda çözünürlüğü olan sentetik biyouyumlu polimer olduğu için harmanlama polimeri olarak seçilir. Bu yüksek lisans çalışmasında, PVA ile Sodyum Kazeinat (SC) yapılarının çeşitli oranlarda karıştırılıp, elektroçekim yöntemiyle nanolif üretimlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Daha sonra yapılan karakterizasyon testleri sonucu en uygun PVA/SC karışım oranına gluteraldehit (GLA) eklenerek iki farklı yöntem ile çapraz bağlama işleminin uygulanması hedeflenmiştir. PVA/SC karışımlarına çapraz bağlanma işlemi, nanoliflerin kararlılığını ve dayanımını arttırmak amacıyla uygulanmıştır. Elde edilen çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin karakterizasyonu yapılmış, daha sonra çalışma kapsamında en uygun çapraz bağlanma oranı belirlenerek bu orana, farklı miktarlarda gümüş nanopartikül (Ag NP) ve çinko oksit nanopartikül (ZnO NP) ilavesi ile antibakteriyel özellikli çapraz bağlı PVA/SC yara örtüsü üretimleri de gerçekleştirilmiştir. Nanoliflerin karakterizasyonu için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizi, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi, Termogravimetrik Analiz (TGA) analizi, çekme testi, nem testi, antibakteriyel test ve sitotoksisite testi kullanılmıştır. Ag NP katkılı nanoliflerin suya dayanıklılığı söz konusuyken, ZnO NP katkılı olanların suda çözündüğü gözlemlenmiştir. %95,33 canlı hücre varlığı ve %100 antibakteriyel etkili özellikleri dolayısıyla %6 Ag katkılı matlar antibakteriyel yara örtüsü olarak kullanılabilir şekilde başarıyla üretilmiştir. Ayrıca daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerinin, mekanik test ve sitotoksisite testinin iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. İçerisindeki GLA miktarının az olması avantajıyla yara örtüsü veya fibroblast doku iskelesi olarak kullanılabilirliğinin olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elektroçekim, Kazein, Polivinil Alkol, Yara Örtüsü.

PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND EXAMINATION OF USAGE AS WOUND DRESSİNG OF NANOFIBERS FROM CROSS-LINKED POLYVINYL ALCOHOL/SODIUM CASEINATE MIXTURE

ABSTRACT

Nanofibers produced by electrospinning method are used in many fields due to their high surface/volume ratio and the formation of strong fibers. The use of nanofibers as a wound dressing has been investigated recently. Casein is an active ingredient in blood coagulation. Poly(vinyl Alcohol) (PVA) is chosen as the blending polymer because it is a water-soluble synthetic biocompatible polymer. In this study, it was aimed to produce nanofibers by mixing PVA and Sodium Caseinate (SC) structures in various proportions by electrospinning method. As a result of the later characterization tests, it was aimed to apply the cross-linking process with two different methods by adding glutaraldehyde (GLA) to the most suitable PVA/SC mixture ratio. Cross-linking of PVA/SC mixtures was applied to increase the stability and strength of nanofibers. The obtained cross-linked PVA/SC nanofibers were characterized, then the most appropriate cross-linking ratio was determined within the scope of the study, and the production of cross-linked PVA/SC wound dressing nanofibers with antibacterial properties was carried out by adding different amounts of silver nanoparticles and zinc oxide nanoparticles to this ratio. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis, Differential Scanning Calorimetry (DSC) analysis, Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis, Thermogravimetric Analysis (TGA) analysis, tensile test, moisture test, antibacterial test and cytotoxicity test were used for the characterization of nanofibers. PVA/SC mat, cross-linked by dipping method, and 6% Ag added mat have been successfully produced to be used as antibacterial wound dressing. The immersion method is more advantageous because the amount of GLA in it is less.

Keywords: Electrospinning, Caseinate, Polyvinyl Alcohol, Wound Dressing.

1. GİRİŞ

Yaraların iyileşmesi için pansuman önemli bir faktördür. Son yıllarda dirençli patojen suşlarının gelişmesi insan sağlığı için büyük bir sorun haline gelmiştir. Geliştirilmekte olan yara örtüleri enfeksiyon ve yaraların tedavisinde önemli rol oynar. (Rai ve diğ., 2009) Yaranın enfeksiyon kapması, bağışıklık sistemini endişe verici bir şekilde etkiler, bu nedenle uygun bariyer yardımı ile yara iyileşmesi için kontrol ortamı oluşturmak gereklidir. Bu noktada yara sargı bezi kullanımı önemlidir. (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019)

Nanoteknoloji iyi avantajlara sahip olması nedeniyle her alanda kullanılmaya başlanmıştır. Son ürün eldesi üretimi için çok daha az malzemeye, aynı zamanda çok daha az enerjiye ihtiyaç duyulması gibi avantajlarıyla bilinmektedir. (Çavuşoğlu, 2017) Nanolifler de aynı şekilde pek çok avantajı nedeniyle geniş kullanım alanına sahiptir. Lif çapları boyutları mikrometreden nanometreye düştüğünde çok yüksek yüzey alanı/hacim oranından kaynaklı olarak mekanik özelliklerde iyileşme gerçekleşir. (Supaphol ve Chuangchote, 2008)

Tez çalışmasında nanolif üretimi elektroçekim yöntemi ile gerçekleştirildi. Nanolif üretimi için en uygun yöntem elektroçekim yöntemidir. Elektroçekim yönteminin kullanılmasının nedeni hacmine oranla oldukça yüksek yüzey alanına sahip son derece sağlam liflerin elde edilebilmesidir. Aynı zamanda elde edilen liflerin nano gözeneklere sahip olması nedeniyle birçok uygulama alanında kullanılmaktadır ve nanoliflerin modifikasyona uğramasıyla istenilen özellikte nanolif üretimi gerçekleştirilebilmektedir.

Kazein lifleri ilk 1930 yılında piyasaya sürülmüştür. Kazein liflerinin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi ve çevre dostu üretim yapılabilmesi amacıyla araştırmalar yapılmaktadır. Kazein lifleri ekstrüzyon, çapraz bağlama ve elektroçekim yöntemleriyle üretilebilmektedir. (Minaei ve diğ., 2018) Kazein gibi doğal proteinlerin, lifli formlara dönüştürülmesi mümkün değildir. Kazein lifli formlara dönüştürülemediği için kazeine PVA eklenmesiyle lifli formlar elde edilmesi amaçlanmıştır. Kazein içerisindeki amino asitlerin %55'inden fazlası polar yan gruplar içermektedir. Bu gruplar, %26 –COOH (karboksilik asit), %15 $–NH_2$ (amin) ve %15 –OH (hidroksil) olarak verilebilir. Bu polar olan gruplar, kazein proteini içerisindeki moleküllerin, moleküller arası ve molekül içi

hidrojen bağı oluşmasına neden olurlar. Kazein çözeltilerinin bu şekilde lifli formda üretilememesinin nedeni polimerin küresel yapılarından ve protein moleküllerinin oldukça güçlü moleküler içi ve moleküller arasında olan kuvvetlerinden kaynaklanan yüksek elastikiyetine atfedilir. Moleküller arası ve moleküler içi bağ yoğunluğu azaltılabilirse, hazırlanan çözeltiler elektroçekimlenebilir hale gelir. 3 boyutlu yapıyı kesintiye uğratma ve protein moleküllerini ayırma işlemi, farklı bir yapıyla ve proteinlerle ikincil bağ oluşturma kapasitesine ve yeteneğine sahip başka bir polimer eklemekle gerçekleştirilebilir. (Xıe ve Hsıeh, 2003) PVA lif oluşturma ve moleküler dolanmayı artırma yeteneğine sahip olduğundan, kazein ile birleştirilmesiyle, homojen ve düzgün yapıda nanolifler elde edilmesi öngörülmüştür.

Bu tez çalışmasında öncelikle, PVA/SC yüzde bileşimleri 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50 ve 40/60 olacak şekilde karıştırılarak elektroçekim yöntemiyle nanoliflerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Üretilen nanoliflerin karakterizasyon testleri gerçekleştirilip, sonuçlar incelenerek çalışmanın amacına en uygun karışım oranına sahip PVA/SC nanolifi seçilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen nanoliflerin kararlılığını ve dayanımını arttırmak amacıyla çapraz bağlayıcı olarak gluteraldehit (GLA) ile PVA ve SC'nin çapraz bağlanması gerçekleştirilmiştir. Bu çapraz bağlanma iki farklı yöntem ile yapılmıştır. Daha sonra çapraz bağlı PVA/SC nanolifine antibakteriyel etkinlik için gümüş nanopartikül (Ag NP) ve çinko oksit nanopartikül (ZnO NP) ayrı ayrı ilave edilmiştir. Üretilen nanoliflerin yara örtüsü malzemesi olarak kullanılabilirliği incelenmiştir.

Bu tez çalışması 6 bölümden oluşmaktadır. Bölüm 1 giriş kısmıdır. Bölüm 2'de nanolifler ve çalışmada kullanılan malzemeler ile ilgili genel bilgilere yer verilmiştir. Nanolif üretim yöntemleri hakkında temel bilgiler, karakterizasyon teknikleri ve cihazları hakkında bilgiler sunulmuştur. Bölüm 3'de PVA ve kazein'nin elektroçekim yöntemiyle üretilmesi üzerine literatürde bulunan çeşitli araştırmalar özetlenmiştir. Bölüm 4'te tez çalışmasında kullanılan malzemelerin özellikleri ve temin edildikleri firmalara yer verilmiştir. Nanolif üretim koşulları, üretilen nanoliflerin görüntüleri ve çalışma kapsamında olan farklı şekillerde çapraz bağlanma yöntemleri belirtilmiştir. Bunlara ek olarak çalışmada gerçekleştirilen karakterizasyon test koşulları da verilmiştir. Bölüm 5'te çalışma sonucunda yapılan testlerin sonuçları ve değerlendirmeleri verilmiştir. Bölüm 5 kendi

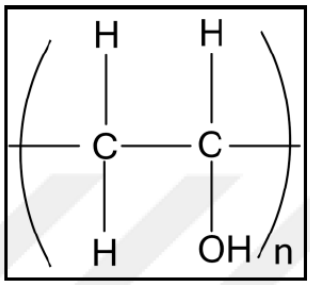
içerisinde 3'e ayrılmaktadır. Birinci bölümde PVA/SC nanoliflerinin karakterizasyon sonuçları, ikinci bölümde çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerinin karakterizasyon sonuçları ve üçüncü bölümde çapraz bağlı PVA/SC nanolifine antibakteriyel nanopartikül (Ag, ZnO) ilavesinin etkisinin incelenmesi yer almaktadır. Son bölümde ise yüksek lisans tez çalışmasında gerçekleştirilen testler ve incelemeler neticesinde ortaya çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir. Bundan sonraki yapılacak olan çalışmalar için önerilere yer verilmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı, yaraya faydalı olabilecek, yara örtüsü malzemesi olarak kullanılabilecek bir nanolif yüzey üretimi gerçekleştirmektir. Farklı oranlarda üretilen PVA/SC nanolifleri yapılan testler sonucu incelenmiş, en uygun özelliklere sahip nanolif çapraz bağlama işlemiyle daha mukavemetli nanolifler elde edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen dayanıklı PVA/SC nanolifine Ag NP ve ZnO NP ilavesiyle antibakteriyel özellik sağlaması ve antibakteriyel NP'lerin ilavelerinin gereklilikleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

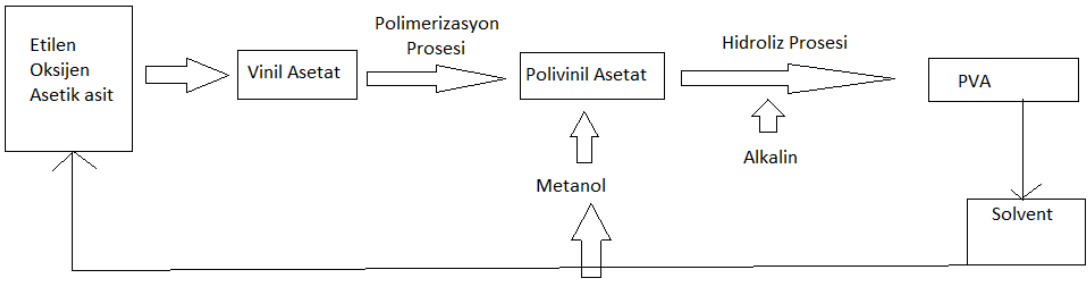
2.1. Poli(vinil Alkol)(PVA)

PVA, vinil asetat monomerinin polivinil asetata (PVAc) polimerizasyonu ve ardından PVAc'nin asetat gruplarının PVA'ya hidrolizi ile üretilir. 1924 yılında Herrmann ve Haehnel tarafından hazırlanan ilk sentetik kolloid polivinil alkoldür. Şekil 2.1, PVA'nın kimyasal yapısını göstermektedir. (Berber, 2016)



Şekil 2.1. PVA'nın kimyasal yapısı (Berber, 2016)

PVA elde edilmesinde kullanılan katalizöre bağlı olarak alkali hidroliz, aminoliz ve asidoliz olmak üzere üç hidroliz yöntemi vardır. PVAc'nin endüstriyel ölçekte PVA'ya dönüşümü, çoğu zaman asetat gruplarının, sodyum hidroksit varlığında metanol ile değiştirilen ester tarafından hidrolize edildiği alkalin alkoliz ile gerçekleştirilir. Şekil 2.2'de, PVA üretiminin şematik gösterimi verilmektedir. (Thong ve diğ., 2016)



Şekil 2.2. PVA'nın üretim taslağı (Thong ve diğ., 2016)

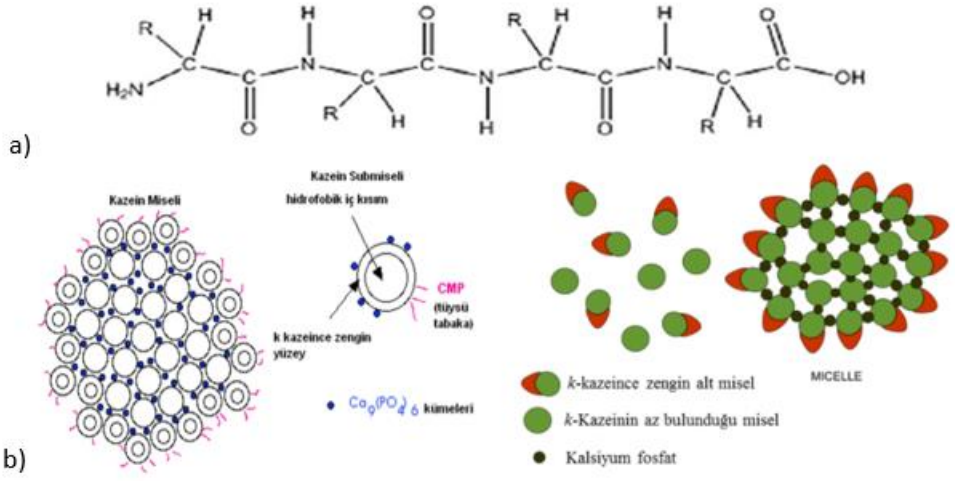
PVA, iyi kimyasal dirence ve fiziksel özelliklere sahip sentetik bir polimerdir. Tatsız, kokusuz, toksik olmayan ve iyi şeffaflığa sahip bir polimerdir. Toz ya da granül halde bulunur. Tehlikesizdir, bu nedenle kullanımı güvenli ve çevre dostu olarak kabul edilir. Yarı kristal bir yapıya sahiptir. Bu özellikleri ve iyi ısıl kararlılığa sahip olması nedeniyle endüstiriyel alanda kullanımı oldukça fazladır. Ayrıca biyolojik olarak parçalanabilmesi

ve biyouyumlu olması nedeniyle tercih edilmektedir. (Supaphol ve Chuangchote, 2008; Berber, 2016) PVA polimer zincirleri içerisinde çok sayıda bulunmakta olan hidroksil grubu nedeniyle yüksek hidrofilik özellik gösterir. Yüksek hidrofilikliğe sahip olması kullanım alanlarını kısıtlar ve bu özelliği nedeniyle suda çözünür. (Qin ve diğ., 2013) Nihai kimyasal ve fiziksel özellikleri hidroliz derecesi ve polimerin sentetik koşullarına bağlıdır. Genel olarak fiziksel özellikler hakkında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Çünkü, PVA'nın fiziksel özellikleri ve kimyasal özellikleri elde edilme yöntemine bağlıdır. PVA ve türevleri, kolay elde edilebilmesi ve ucuz olması sayesinde yapıştırıcılar, ilaç dağıtımı, membran, kağıt ve birçok uygulama alanında kullanılması nedeniyle çok fazla ilgi görmektedir. (Supaphol ve Chuangchote, 2008; Zhang ve diğ., 2010)

PVA'nın bu şekilde çok yönlü olmasından kaynaklı olarak, organik karışımlardan suyu uzaklaştırmak için kullanılan bir işlem olan pervaporasyon işlemi için üretilen membranlarda sıklıkla PVA tercih edilir. Aynı zamanda gaz geçirgenliği özelliği sayesinde kolaylaştırılmış taşımanın yanına kontrollü ilaç salınımında ve biyosensörlerde yaygın olarak kullanılır. (Figueiredo ve diğ., 2009) PVA, yapay kıkırdak, glikoz sensörleri, yapay pankreas ve böbrek, kontakt lensler ve protein geri kazanımı için biyomalzemeler olarak kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır. (Berber, 2016)

2.2. Kazein

Kazein, Latince "peyniri" ifade eden Caseus kelimesinden türemiştir. Kazein hem suda çözünür hem de suda çözünmez formlarda bulunabilir. (Minaei ve diğ., 2018) Kazein içerisinde yaklaşık olarak %94 protein ve %6 düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerden oluşan, kolloidal kalsiyum fosfat olarak bilinen bir süt proteinidir. Şekil 2.3a'da kazeinin moleküler yapısı gösterilmektedir. (Bajpai ve diğ., 2017) Süt proteinleri hakkında yapılan ilk araştırma makalesi Berzelius tarafından 1814'de yayınlanmıştır. Kazein terimini ilk olarak 1830 yılında Broconnet kullanmıştır. (Okur ve Güzel Seydim, 2007)



Şekil 2.3. a)Kazeinin molekül yapısı (Bajpai ve diğ., 2017), b) Kazeinin misel yapısı (Özdemir ve Özcan, 2019)

Kazein, sütün içerisindeki toplam protein içeriğinin yaklaşık olarak %80'ini oluşturmaktadır. α_s-kazein, κ-kazein, β-kazein, γ-kazein olmak üzere çeşitli elektroforetik fraksiyonlara ayrılabilen bir fosfoproteindir. Kazeinin protein fraksiyonları, birincil, ikincil, üçüncül yapılardır ve bu yapılar moleküler ağırlık bakımından farklılık gösterirler. (Ghosh ve diğ., 2009) Doğal halinde kazein partikülleri yüksek oranda fosfor ve kalsiyum içermektedir ve aynı zamanda daha az oranda magnezyum ve sitrat içermektedirler. Genellikle kazeinatfosfat ve kalsiyumfosfokazeinat partikülleri olarak adlandırılmaktadırlar. (Çetin ve diğ., 2011)

Fermente süt ürünlerinde pıhtılaşma, protein fraksiyonlarının stabilizasyonunun bozulmasıyla birlikte sütün sıvı halden jel hale geçmesiyle gerçekleşir. Taze sütte kazeinler stabil durumda bulunurlar ve net negatif elektriksel yük dağılımındadırlar. Misellerin yüzeylerindeki hidrofilik C-terminal ucu rennet ya da peynir mayası gibi malzemelerle ayrılırsa miseller çözünürlüğünü kaybederek kümeleşmeye başlamakta ve kazein pıhtısını oluşturmaktadır. Kazein misellerinin yapısı Şekil 2.3b'de verilmiştir. Misel yapısında önemli rolleri olan kalsiyum ve fosfatın misellerden ayrılması, miselleri oluşturan alt misellerin agregasyonunu zayıflatmaktadır. (Özdemir ve Özcan, 2019)

Sodyum kazeinat (SC), bir kazeinin suda çözünen formudur. Asit ile çökeltilmiş süt pıhtısının sodyum hidroksit çözeltisinin içerisinde çözülmesi ve sonrasında püskürtülerek kurutulmasıyla elde edilmektedir. (Lin ve diğ., 2020) Kazein, onu biyomedikal

uygulamalar için mükemmel bir aday yapan birçok olumlu özelliğe sahiptir. Bu özellikler hidrofiliklik, zarar vermeme, biyouyumluluk ve kimyasal modifikasyonlara duyarlı farklı fonksiyonel grupların varlığını içermektir. (Bajpai ve diğ., 2017)

Kazein bazlı ürünlerin medikal ürünler, tutkal ve elyaf endüstrisi gibi farklı uygulamalarda kullanışlı hale getiren farklı avantajları vardır. Bu avantajlı özelliklerden bazıları, amid varlığı nedeniyle yüksek nem aktarım kabiliyeti, ultraviyole (UV) direnci, küçük böcek ve mantarlara karşı iyi direnç özelliğidir. Bu özellikler uygulama alanına göre önemli bir faktör olan kumaş ömrünü uzatır. Aynı zamanda karboksilik grupların olmasından dolayı yüksek nem emilimi, boyama işlemi sırasında hızlı ve basit renklendirici tutunumu gibi önemli özellikleri vardır. Kazeinin pH'ı yaklaşık olarak 4.6'dır, cilt ile teması halinde pH eşitliğinden dolayı uyumluluk gösterir, özellikle alerjik sorunları olan insanlar için bu özellik dikkat çekmektedir. Ek olarak kazein liflerinin doğal antibakteriyel etkisi de birçok alanda hijyenik özelliğe sahip olmayı mümkün kılmaktadır. (Minaei ve diğ., 2018; Okur ve Güzel Seydim, 2007) Kağıt, deri, tekstil ve gıda endüstrilerinde kaplama, yapıştırıcı ve ambalaj malzemeleri olarak kazeinin bir çok uygulaması bulunmaktadır. (Ghosh ve diğ., 2009)

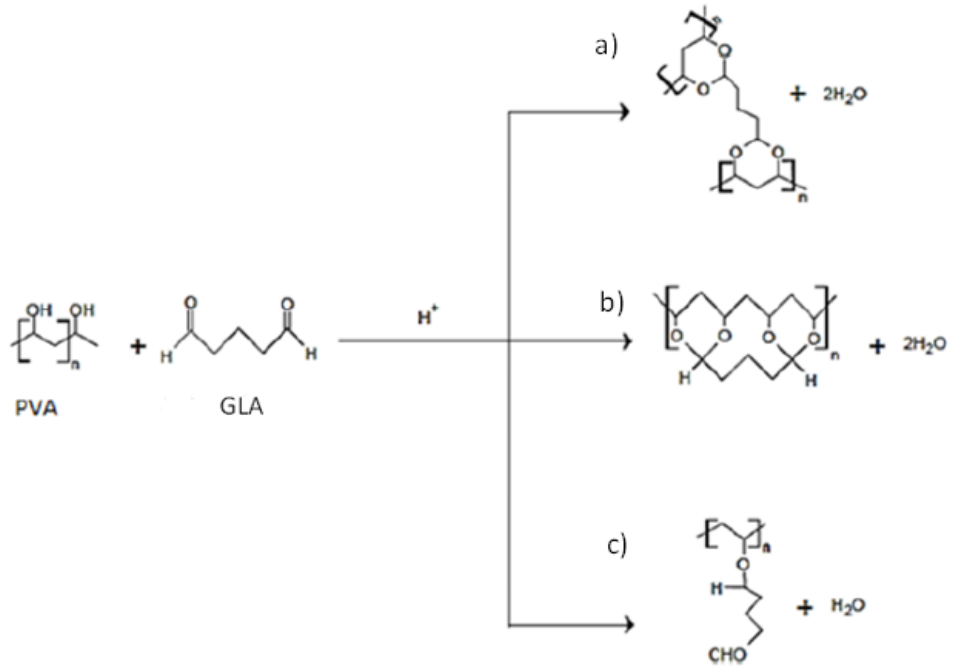
2.3. Kazein ve PVA' nın Çapraz Bağlanması

Kazein ve PVA lifinin düşük gerilme dayanımı ve suda yüksek çözünürlüğü nedeniyle çapraz bağlanması gereklidir. Mekanik özelliklerin iyileşmesi ve ısıl kararlılığın iyileşmesi çapraz bağlanma ile gerçekleşir. Çapraz bağlayıcı olarak GLA seçilmiştir. PVA'da bulunan hidroksil grupları hidrofiliktir ve su ile temas etmesinden sonra hidrojen bağları oluşturabilir ve böylece PVA mat suyu emebilir, şişme meydana gelebilir. GLA'daki aldehit grupları ile PVA'nın hidroksil gruplarının tepkimesi ile PVA nanolifinin kimyasal yapısı değişir ve PVA'nın hidrofilikliği azalır. Su ortamı yapının bütünlüğüne zarar verir ve performansını düşürür. PVA'nın çapraz bağlanması, zarın hidrofilikliğini azaltır ve biyomoleküllerin immobilizasyonu için dirençli bir destek ağı sağlar. GLA ile çapraz bağlandığında PVA molekülleri içerisindeki hidroksil grupları GLA ile birlikte tepkimeye girer ve makromolekül oluşturur. Bu sayede PVA/kazein mat suda çözünmez hale gelir. (Berber, 2016; Minaei ve diğ., 2018; Qin ve diğ., 2013)

Biyomedikal alanda kullanılan materyallerin yapımında çapraz bağlı PVA sıklıkla kullanılır. Çapraz bağlanma yoğunluğu PVA/kazein karışımının genel özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Eğer çapraz bağlanma tam olarak gerçekleşmemiş sadece bir kısmında çapraz bağlanma meydana gelmiş ise çapraz bağlanmayan kısım suda çözünür. PVA'nın yapısındaki hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağı sayesinde zincirler arasında iyi fiziksel etkileşimler vardır. Lineer polimer serttir ve bunun nedeni hidroksil gruplarındaki hidrojen bağlarıdır. Çapraz bağlayıcı eklenirse hidroksil grupları azalır yani hidrojen bağlama azalır bunun sonucu olarak da sertlikte azalma meydana gelir. (Supaphol ve Chuangchote, 2008; Qin ve diğ., 2013)

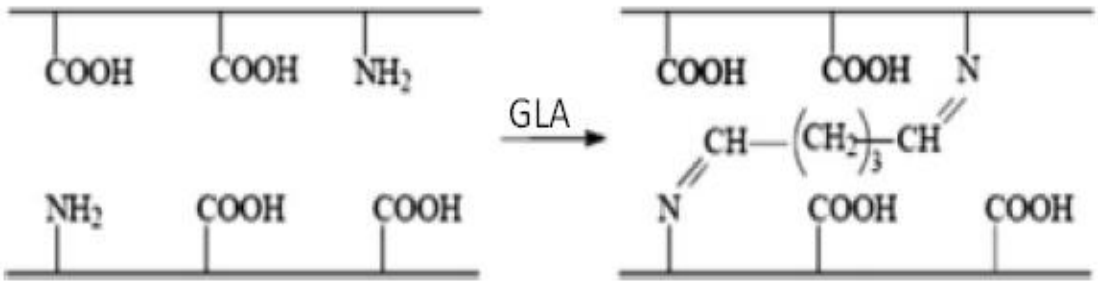
Polimerleri çapraz bağlamak için kullanılan başlıca teknikler kimyasal, fiziksel ve ısıl işlemlere dayalı olarak 3 çeşittir. Isıl işlemde, sağlanan ısı enerjisi, zincirlerin yapısı, organizasyonunu değiştirmek ve hidroksil grupları arasında daha da güçlü hidrojen bağları oluşturmak için kullanılır. Fiziksel çapraz bağlama işleminde, yapıya çapraz bağlayıcı görevi yapan kristal bölgeler eklenir. Fiziksel çapraz bağlama, kimyasal çapraz bağlama kadar kararlı ve güçlü değildir. Bunun nedeni artan kristalliktir, bu da polimerin su içeriğinde bir azalmaya neden olur. Kimyasal çapraz bağlama, PVA üzerindeki çapraz bağlayıcı ve hidroksil grupları arasındaki tepkimeye dayanır. PVA için kullanılabilen GLA, formaldehit ve maleik asit gibi farklı çapraz bağlama maddeleri vardır. Spesifik çapraz bağlayıcı kullanılarak ve proses koşulları kontrol edilerek, çapraz bağlama reaksiyonunun molekül içi ve moleküller arası modları ayarlanabilir. (Berber, 2016)

PVA ve GLA'nın çapraz bağlanma tepkimeleri üç farklı yolla gerçekleşir. Şekil 2.4'te bu tepkimeler gösterilmektedir. Birincisi, yüksek jelleşme eğilimine yol açan moleküller arası çapraz bağlanmadır (Şekil 2.4a). Farklı polimer zincirleri arasında gerçekleşir. İkincisi tek polimer zincirinde gerçekleşen molekül içi çapraz bağlanmadır (Şekil 2.4b). Bu yolla polimer zincirleri büzülüp daha akışkan polimer haline gelirler. Üçüncü yol ise bir polimer zincirinin tam olarak tamamlanmamış molekül içi çapraz bağlanmasıdır (Şekil 2.4c). (Marin ve Rojas, 2015)



Şekil 2.4. PVA ve GLA ile farklı çapraz bağlama reaksiyonları a) Moleküller arası b) Molekül içi c) Bir zincirden eksik veya sarkık (Marin ve Rojas, 2015)

Şekil 2.5'te SC ve GLA arasındaki kimyasal tepkime gösterilmiştir. GLA' nın avantajı, protein zincirlerini kovalent olarak bağlayan molekülde bulunan çok sayıda mevcut amino grubu ile hızlı reaksiyona girmesi ve reaksiyonu yürütmek için ısıl işlemin olmamasıdır. Nispeten düşük fiyat, hazır bulunabilirlik ve sulu çözeltilerde yüksek çözünürlük de tercih edilme nedenleri arasındadır. Ayrıca, kimyasal çapraz bağlama ajanları arasında, protein bazlı materyallerin (özellikle kolajen) stabilizasyonundaki yüksek etkinliği nedeniyle GLA, SC çapraz bağlanması için açık ara en yaygın kullanılan kimyasal ajandır. (Pereda ve diğ., 2010)



Şekil 2.5. SC ve GLA arasındaki kimyasal reaksiyon (Pereda ve diğ., 2010)

2.4. Antibakteriyel Özellik Sağlayan Katkılar

Antibakteriyel ajanlar, örneğin su dezenfeksiyonu, tekstil, inşaat, ilaç, gıda ve paketleme gibi çeşitli endüstrilerde büyük önem taşımaktadır. Dezenfeksiyon için sıklıkla kullanılan organik bileşikler, insan vücuduna toksisite ve birçok endüstriyel proseste mevcut olan yüksek sıcaklık ve basınçlara duyarlılık dahil olmak üzere birçok dezavantaja sahiptir. Bu nedenlerle metal oksitler gibi inorganik dezenfektanlara olan ilgi giderek artmaktadır. Bu inorganik bileşikler, düşük konsantrasyonlarda güçlü antibakteriyel aktivite gösterirler. Gümüş nanopartikül (Ag NP), çinko oksit nanopartikül (ZnO NP) ve kitosan gibi maddeler antibakteriyel özellik sağlanması için sıklıkla kullanılan antibakteriyel ajanlardır.

Hastalıkları tedavi etmek ve önlemek için biyomedikal endüstrisinde çeşitli antimikrobiyal ajanlar araştırılmakta ve geliştirilmektedir. Bunlar arasında, Ag iyonları ve Ag NP, etkili biyosidal yetenekleri ve insan hücrelerine toksik olmamaları nedeniyle mükemmel bir antimikrobiyal ajan olarak kabul edilmiştir. Mikroorganizmaları Ag iyonları tarafından öldürmenin mekanizması şu şekilde açıklanabilir, ilk olarak Ag iyonu hücre duvarındaki ATP sentez enzim moleküllerine bağlanarak ATP sentezini inhibe eder, sonra Ag iyonu hücreye girer ve DNA ile bağlanır, daha sonra Ag iyonu, sitokrom oksidaz ve NADH-süksinat-dehidrojenaz bölgesindeki mikroorganizmaların solunum zincirini bloke eder. Ag NP'lerin antibakteriyel etki modunun Ag iyonununkine benzer olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Ag NP'lerin etkin biyosidal konsantrasyonu, Ag iyonlarının mikromolar seviyesinin aksine nanomolar seviyededir. (Kong ve Jang, 2008)

Metal oksit tozları arasında ZnO NP, geniş bir bakteri spektrumunun önemli oranda büyümesi için inhibisyon özelliği gösterir. ZnO NP'nin antibakteriyel aktivitesi için önerilen mekanizma esas olarak su ve oksijenden reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun katalizine dayanmaktadır. (Krishna ve diğ., 2020)

Kitosan doğal olarak oluşan bir polisakkarit polimerdir. Hemostatik aktivite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, içsel antibakteriyel özellikler, toksik olmama nedeniyle kitosan ve türevleri, gıda, farmasötik ürünler, biyoteknolojik ve tarım dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. (Cai ve diğ., 2010)

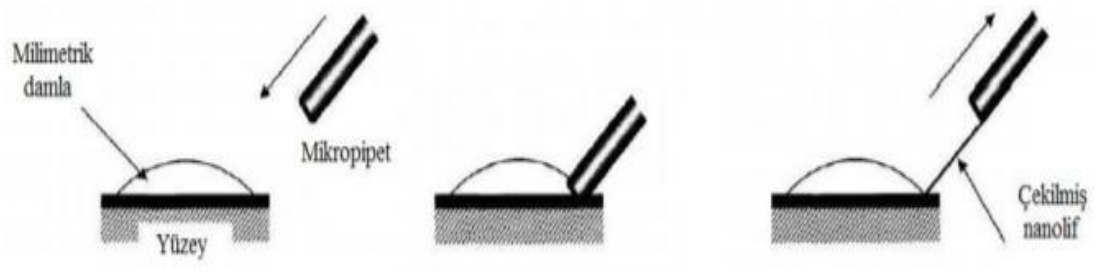
2.5. Nanolif Üretim Yöntemleri

Polimerik lif malzemelerin çapları mikrometrelerden mikron altı veya nanometrelere küçültüldüğünde, çok geniş yüzey alanı gibi birçok şaşırtıcı özellik ortaya çıkar. Bu özellikler sayesinde polimer nanolifleri birçok önemli uygulama için en uygun adaylardır. (Huang ve diğ., 2003)

Nanolif üretim teknikleri iki çeşittir. İlki laboratuvar ölçekli nanolif üretim teknikleridir. Bunlar çekim prosesi, yüzeyler arası polimerizasyon yöntemi, şablon sentezi, faz ayırma, kendiliğinden birleşmedir. İkincisi endüstriyel ölçekli nanolif üretim teknikleridir. Bunlarda, iki bileşenli (bikomponent), meltblowing, fibrilasyondur. Bu iki yöntemin içinde olduğu tek bir uygulama yöntemi vardır bu da elektroçekim (elektrospinning) yöntemidir. Elektroçekim yöntemi hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçekte çalışılabilecek bir nanolif üretim yöntemidir. (Eatemadi ve diğ., 2016)

2.5.1. Lif Çekme Yöntemi

Çekme yönteminde sıvı lifler olarak biriktirilmiş bir polimer çözeltisinin damlasını çekmek için keskin bir uç kullanılır. Şekil 2.6'da görüldüğü gibi çözeltinin yüzeyle temas ettiği noktaya mikromanipülatör kullanılarak mikropipet daldırılır ve hızla çekilir. Nanolif oluşumu esnasında buharlaşma ile çözücünün bir kısmı uçar ve viskozite artışı olur. Viskozite artışı ise nanoliflerin parçalanmasına neden olmaktadır. Kohesif kuvvetler sayesinde parçalanmanın önlenmesi amacıyla viskoelastik malzemelerin kullanılması gereklidir. Mikropipet kullanılması yöntemin önemli bir avantajıdır. Süreksiz bir işlem olması, nanoliflerin tek tek oluşturulması ve lif çapının kontrol edilememesi yöntemin dezavantajlarındandır. (Alghoraibi ve Alomari, 2018)



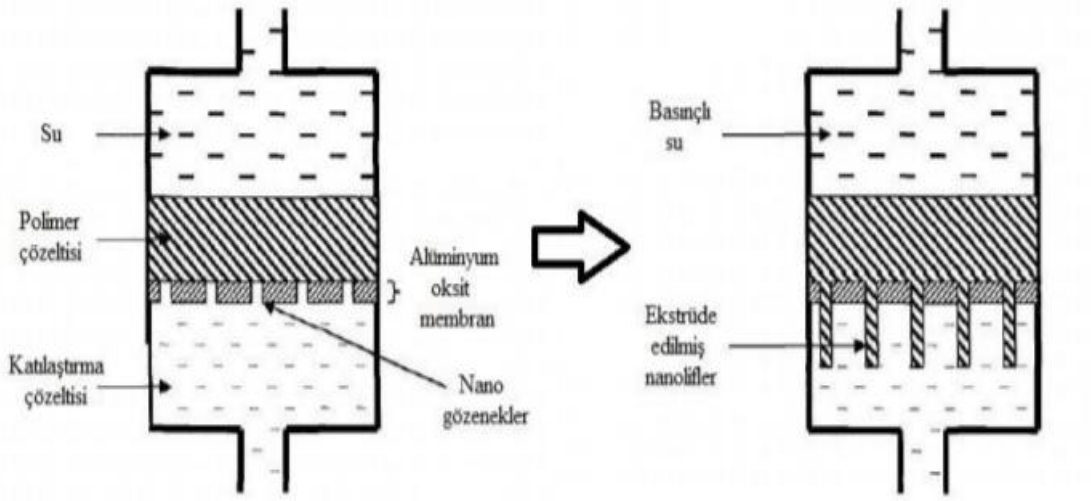
Şekil 2.6. Lif çekme yöntemiyle nanolif elde edilmesi (Çavuşoğlu 2017)

2.5.2. Arayüzey Polimerizasyonu Yöntemi

Arayüzey polimerizasyonunda iki farklı fazda (yağ ve su fazı gibi) çözünebilen iki farklı monomer kullanılmaktadır. Birbiriyle karışamayan iki çözeltinin arayüzeyinde yüksek konsantrasyonda bulunan monomerlerin ve anyonların birleşerek monomer-anyon agregatları oluşturulur. Bu bölgeler polimerizasyon ile birlikte nanolif oluşumunda nükleasyon bölgelerini ortaya çıkarır. Yöntemde kullanılan ekipmanlar kolaylıkla bulunabilir ve basittir. Yöntemin dezavantajı nanolif morfolojisinin kontrol edilememesidir. (Alghoraibi ve Alomari, 2018)

2.5.3. Şablon Sentezi Yöntemi

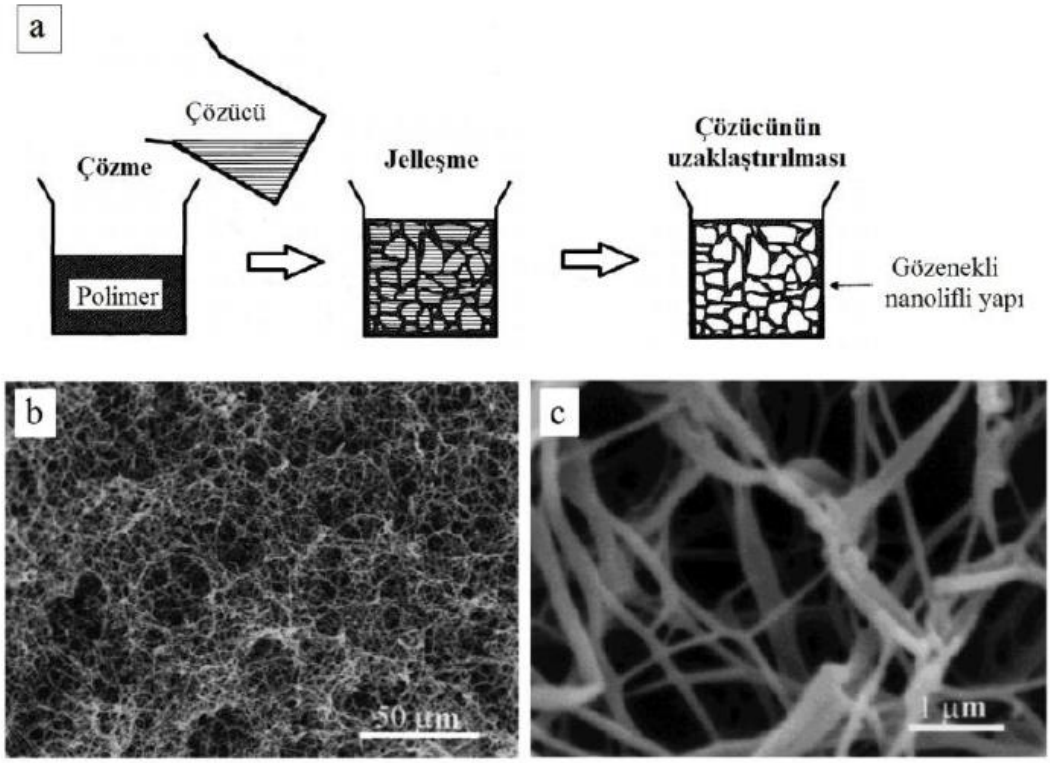
Şablon sentezi yönteminde, elektrokimyasal veya kimyasal oksidatif polimerizasyon kullanılmasıyla çok sayıda silindirik gözenek bulunan gözeneksiz membran kullanılarak polimerik, seramik, yarı iletkenler veya metalik nanolifler üretilebilir. İstenen özellikte malzeme veya yapınını elde edilmesi, nanolifler üretilmesi için bir kalıp ya da şablon kullanılır. Şekil 2.7'de görüldüğü gibi polimer çözeltisi su basıncıyla gözenekli membrandan geçip, katılaştırıcı çözeltiyle elektrokimyasal ya da kimyasal olarak etkileşime girer. En çok kullanılan membran alüminyum oksittir. Yöntem karmaşık olsa da düz yapılı ve homojen lifler elde edilir. Üretimi gerçekleşen liflerin çapları kullanılan şablon gözeneğinin çapı ile belirlenir. (Alghoraibi ve Alomari, 2018)



Şekil 2.7. Şablon sentezi yöntemi ile nanolif üretimi (Çavuşoğlu, 2017)

2.5.4. Faz Ayrımı Yöntemi

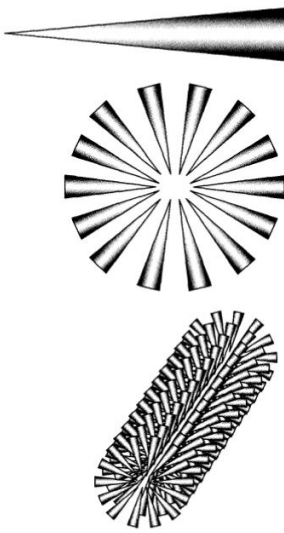
Faz ayrımı yönteminin temeli fiziksel farklılıktan yararlanarak faz ayrımına dayanır. Çözücünün donma noktasının altında söndürülen polimer çözeltisi, gözenekli bir yapı üretmek üzere dondurularak kurutulmaktadır. Gerçekleşen işlem sayesinde kinetik ve termodinamik faktörler değiştirilerek çeşitli nano gözenekli köpük eldesi gerçekleşir. Bu yöntem 5 temel adımdan oluşur. Bunlar polimerin çözülmesi, jelleşme, çözücünün jelden su yoluyla ekstraksiyonu, dondurma ve ardından vakum altında dondurarak kurutmadır. Şekil 2.8a'da faz ayrımı yöntemi ile nanolif eldesinin nasıl gerçekleştiği gösterilmiştir. Şekil 2.8b ve şekil 2.8c'de ise faz ayrımı yöntemiyle elde edilen nanolifin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri verilmiştir. Çözücü ve polimer türüne, polimer konsantrasyonuna, sıcaklığa bağlıdır. Lif çapını kontrol etmek çok zordur ve bu yöntem sadece belirli polimerler için uygundur. Birçok alanda kullanılabilen nano gözenekli köpüklerin üretimi için en iyi yöntemlerden biri faz ayırmadır, ancak tüm işlemin tamamlanması için gereken zaman uzundur. Bu nedenle bu yöntem çok fazla tercih edilmemektedir. (Eatemadi ve diğ., 2016)



Şekil 2.8. a) Faz ayrımı yöntemiyle nanolif elde edilmesi, b) ve c) bu yöntemle hazırlanan nanolifin farklı büyütmelerdeki SEM görüntüleri (Çavuşoğlu, 2017)

2.5.5. Kendiliğinden Birleşme Yöntemi

Kendiliğinden birleşme yönteminde çözelti içerisindeki maddelerin birbirleriyle tepkimeye girmesi ile kendiliğinden lif oluşumu gerçekleşir. Şekil 2.9'da kendiliğinden birleşme yöntemi ile nanolif üretimi örneği gösterilmiştir. Hidrojen bağı, hidrofobik kuvvetler sayesinde zayıf etkileşimlerle meydana gelen lifler düzen içerisine girerler. Bu yöntemle elde edilen lifler moleküler düzeyde gerçekleştiğinden elektroçekim yöntemiyle elde edilen liflerden daha ince olabilir, ama yöntemin üretim gücü düşük ve uzundur. Yöntemin karmaşık olması da yöntemin dezavantajları arasındadır. (Eatemadi ve diğ., 2016)



Şekil 2.9. Kendiliğinden birleşme yöntemi ile nanolif elde edilmesi (Eatemadi ve diğ., 2016)

2.5.6. Bikomponent Eğirme Yöntemi

İki bileşenli eğirme olarak tanımlanabilir. Küçük nanoliflerin imalatında ve ayrıca çok bileşenli nanolifler oluşturmak için kullanılır. İki polimerin, farklı bileşenleri ayırarak ya da bileşenlerden birini çıkararak nanoliflerin üretilebildiği, eğirme kalıbından geçirilmesini içeren iki aşamalı bir işlemdir. Nanoliflerin üretilebilmesi için yöntemde kullanılan bileşenlerin en az birinin nano boyutta bir kesite sahip olması gereklidir. İki bileşenli lif enine kesitinin şekilleri yan yana, denizdeki adalar, kılıf çekirdekli, parçalı şerit, parçalı pasta ve içi boş parçalı pastadır. Yöntemin dezavantajı malzeme seçiminin sınırlı olmasıdır. Sadece seçili polimerlerde kullanılabilmektedir. Pahalı bir makine olması da önemli bir dezavantajdır. (Alghoraibi ve Alomari, 2018)

2.5.7. Eriyik Püskürtme Yöntemi (Meltblowing)

Küçük çaplı lif üretimi için genellikle eriyik püskürtme yöntemi kullanılır. Çap olarak pratik değeri 2-7µm olan liflerin üretmesi mümkündür. Polimer ekstrudere beslenir, sıvı polimer çözeltisi haline gelir. Sıcak havanında yardımıyla püskürtülerek lif oluşumu sağlanır. Düzenekten çıkan lifler soğuk hava yardımıyla hareketli toplayıcı bant üzerine püskürtülür. Düzeden polimer geçerken yüksek basınçta sıcak hava verilerek düzeden çıkan filamentler inceltilir ve daha sonra hareketli bant üzerine dökülür. Filamentler taşıyıcı bantta uzunlamasına serilirler ve daha sonra silindirlerden geçirilerek sarılırlar. (Alghoraibi ve Alomari, 2018)

2.5.8. Spunbond Yöntemi

Spunbond yöntemi, eriyik püskürtme yöntemiyle teknik olarak fazlasıyla benzerdir. Ana farklılıklar, filamentlerin incelmesi için kullanılan havanın sıcaklığı ve hacmi ile ilgilidir. Bu farklılıklar, oluşan liflerin fiziksel özelliklerini doğrudan etkiler. Eriyik püskürtme metodunda çok daha fazla miktarda hava kullanılır. Hava soğuyup polimer katılaştığında germe uygulanmaktadır. Bu yüzden üretimleri esnasında liflere germe etki etmez. Bu sebeple üretilen lifler daha kalın olur. (Kozanoğlu, 2006)

2.5.9. Fibrilasyon Yöntemi

Fibrilasyon yöntemiyle üretilen lifler ortalama düzeyde bir dayanıma sahip olmalarına rağmen, nanolif boyutu ve oluşumda büyük değişiklikleri vardır. Fibrilasyon yöntemi lineer hücresel yapıdaki liflerin (örneğin selüloz) fibrile olmasıyla çapları nano boyuttaki liflere dönüştürülmesidir.

Bu yöntem jelleşme, çözünme, farklı çözücüler kullanarak üretim, dondurma ve nano boyuttaki gözeneklere sahip olan köpük oluşturacak şekilde kurutma işlemini içerir. Bu işlem uzun süre devam eden bir işlemdir ve üretilen nanoliflerin boyutlarında değişiklikler gözlemlenir. (Kozanoğlu, 2006)

2.5.10. Elektroçekim (Elektrospining) Yöntemi

Tekstil ve lif bilimi ile ilgili bilimsel literatürde, çapları 100 nm–500 nm aralığında olan liflere genel olarak nanolifler denir. (Subbiah ve diğ., 2005) Elektroçekim mikrolif ve

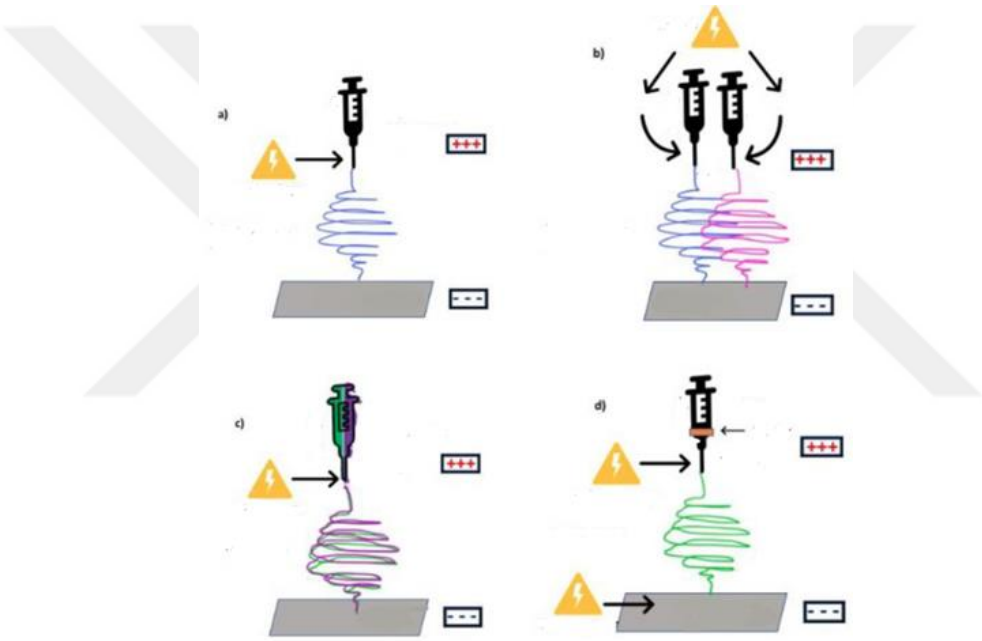
nanolif üretim tekniğidir. Lif oluşumunu sağlamak için elektrostatik kuvvetler kullanır. Oda sıcaklığında nanolifler üretebilir, bu nedenle aktif bileşiğin bozulması önlenebilir. Ayrıca, nano boyutlarda kapsüller üretmek mümkündür ve aktif bileşiklerin salınımı, değişen elektroçekim koşulları ile kontrol edilebilir. Elektroçekim teknolojisi 1990'larda Reneker ve çalışma arkadaşları tarafından icat edildi. Elektroçekim tekniği, basitlik, satın alınabilirlik, geniş malzeme seçimi, geniş bir boyut ve şekil yelpazesini benimseme esnekliği gibi benzersiz özelliklere sahiptir. (Eatemadi ve diğ., 2016)

Hem doğal hem de sentetik polimerlerin polimer çözeltilerini kullanarak çapları 2 nm ile birkaç mikrometre arasında değişen polimer lifler üretmek için elektrik kuvvetlerini kullanan elektrostatik lif oluşumu için yaygın olarak kullanılan bir teknolojidir. Bu yöntemle zamanla yüksek lif yoğunluğuna sahip bir ağ oluşumu meydana gelir. Elektroçekim, çok yönlülüğü ve çeşitli alanlardaki uygulama potansiyeli nedeniyle son yıllarda daha fazla ilgi görmüştür. Bu teknikle üretilen dokunmamış nanolifli matlar, geleneksel tekniklerle karşılaştırıldığında hücre dışı matris bileşenlerini çok yakından taklit eder. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Elektroçekim işlemi, polimer çözeltisinden veya eriyiklerden elektrik yüklü jetler üretmek için yüksek voltajlı bir elektrik alanı kullanır; bu jetler, çözücünün buharlaşması yoluyla kurutulduğunda nanolifler üretir. Yüksek yüklü lifler, lifleri toplamak için düz bir yüzey veya dönen bir tambur olabilen zıt yüklü toplayıcıya doğru yönlendirilir. Normal geleneksel eğirme tekniklerinde, elyaf bir grup çekme, yerçekimi, aerodinamik, reolojik ve atalet kuvvetlerine maruz kalır. Elektroçekim'de, liflerin eğrilmesi, esas olarak, bir elektrik alanının mevcudiyetinde indüklenen yükler tarafından polimerin akışının eksenel yönünde oluşturulan çekme kuvvetleri ile elde edilir. Elektroçekim lifleri küçük gözenek boyutuna sahiptir. Ayrıca, üç boyutlu yapılar üretmek için etkili bir şekilde ele alınabilecek elektroçekim liflerde oldukça büyük statik yükler olduğuna dair kanıtlar da vardır. (Subbiah ve diğ., 2005)

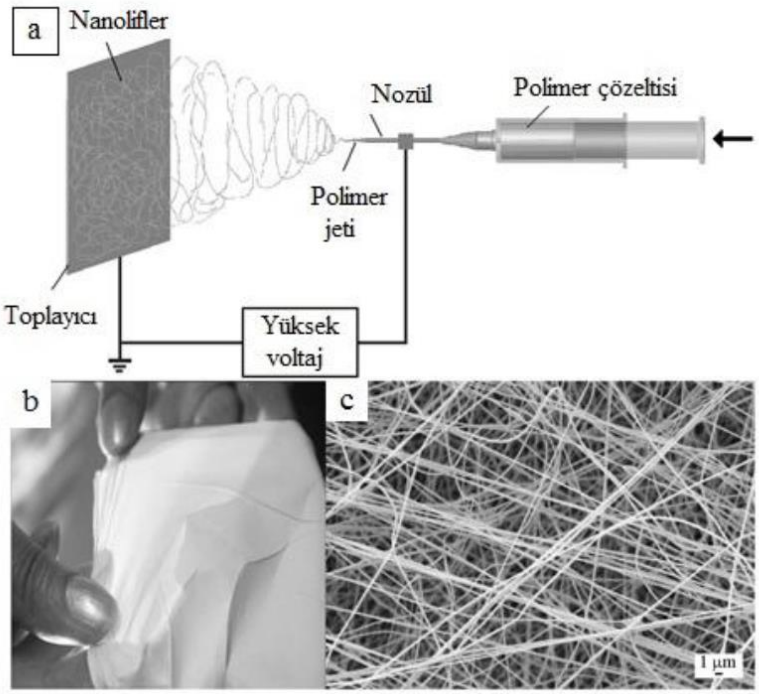
İğne ucu ve toplayıcının tipine ve tasarımına bağlı olarak birçok elektroçekim konfigürasyonu türü vardır. Nanolif üretimi için farklı türlerde elektroçekim düzenekleri mevcuttur, Şekil 2.10'da görüldüğü gibi iğne ucu, tek veya çoklu olabilir veya eş eksenli veya üç eksenli bir tasarıma sahip olabilir. Nozul sayısında ve eksenel birimlerin (koaksiyel, tek eksenli ve çok eksenli) yapısına ve sayısına bağlı olarak da varyasyonlar

olabilir. Kolayca çözülebilen çözeltiler için tek nozullu ekipman kullanılır ve çoklu nozullar büyük liff üretimi ve çok bileşenli üretim avantajına sahiptir. Farklı tipte toplayıcılar (örn., paralel plaka, tambur toplayıcı, plaka toplayıcı, koza ve disk toplayıcı) durumunda, seçim, üretilen nanolif ile ilişkili uygulamaya bağlıdır. Örneğin, hizalanmış nanoliflerin üretimi için yüksek dönme hızına sahip bir disk toplayıcı kullanılabilir. (Toriello ve diğ., 2020) Elektroçekim basit gibi görünse de süreç, moleküler ve teknik değişkenler gibi farklı parametrelere bağlı olan karmaşık bir süreçtir. (Mohammadi ve diğ., 2013) Elektroçekim parametrelerinde küçük bir değişiklikle, süreçde, basit rastgele düzenlenmiş nanolif ağlardan yüksek oranda yönlendirilmiş nanolifler elde edilebilir. (Aruchamy ve diğ., 2018)



Şekil 2.10. Nanolif üretimi için çeşitli türlerde elektroçekim düzenekleri: a) Geleneksel tek iğneli solüsyonlu elektroçekim, b) Çift veya çoklu iğneli; c) Yan yana elektroçekim d) Eriyik elektroçekim (Toriello ve diğ., 2020)

Elektroçekim yoluyla nanoliflerin hazırlanması, şekil 2.11a' da görüldüğü gibi yüksek voltajlı güç kaynağı, besleme ünitesi (şırınga ve pompa) ve toplayıcı olmak üzere üç ana kısmı içerir. İğne ucu ve çözelti jetinin ara yüzü, jetin iğne ucundan çıktığı ve Taylor Konisi olarak bilinen bir koni oluşturduğu taban bölgesi olarak bilinir. Taylor konisinin şekli, sıvının yüzey gerilimine ve elektrik alanın kuvvetine bağlıdır. Şekil 2.11b'de elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolif mat örneği görüntüsü verilmiştir. Şekil 2.11c'de ise üretilen nanolif matın mikroskop altındaki görüntüsü gösterilmektedir.



Şekil 2.11. a)Nanolif üretimi, b)Nanolif görüntüsü c)Nanolifin SEM görüntüsü (Çavuşoğlu, 2017)

Elektroçekim işleminde ilk olarak polimer çözeltisi veya eriyik, kılcal borunun ucunda asılı bir polimer damlası oluşturmak için bir şırınga pompasından geçirilir. Sonra daldırılmış bir elektrot aracılığıyla şırınga içindeki polimer çözeltisine yüksek voltaj potansiyeli uygulanır, böylece polimer çözeltisine serbest yükler indüklenir. Bu yüklü iyonlar, uygulanan elektrik alanına tepki olarak zıt kutuplu elektrota doğru hareket eder ve çekme kuvvetlerini polimer sıvısına aktarır. Kılcalın ucundaki, yani başlangıç yüzeyindeki damlacığın dengesini bozmak için kritik bir potansiyele ulaşıldığında, Taylor konisi olarak adlandırılan ve 49.3°C'lik bir açıya sahip konik şekilli bir yüzey oluşur. Çözeltiye yüksek bir potansiyel uygulandığında, elektrik kuvvetleri ve yüzey gerilimi, yüklerin biriktiği bir çıkıntı oluşturmaya yardımcı olur. Çıkıntıdaki birim alan başına yüksek yük, çözeltiyi daha fazla çekerek konik bir şekil oluşturur, bu da potansiyelde daha fazla artış olduğunda, jetleme ile elektroçekim işlemini başlatır. Yüksek yüklü jetler, iğne ile kollektör arasında bulunan elektrik alana bağlı olarak fırlatılır. Boşaltılan polimer çözeltisi jeti, jetin çok uzun ve ince olmasına izin veren bir kararsızlık ve uzama sürecinden geçer. Bu arada çözücü buharlaşarak geride yüklü bir polimer lif bırakır. Eriyik durumunda, boşaltılan jet havada hareket ederken katılaşır. (Huang ve diğ., 2003; Subbiah ve diğ., 2005)

Daha yüksek elektrik alanında jet, lif çapını azaltır ve daha uzun uzunlukları alır. Öte yandan, yüksek buhar basıncına sahip çözücüler, jet çapının azalması ve düşük uzama hızı ile sonuçlanan hızlı çözücü buharlaşmasına neden olabilir. Son aşamada, radyal yük itmeleri, jetin, jeti yaklaşık olarak eşit çapta ve birim uzunluk başına yükte birçok küçük life ayırmasına veya sarmasına neden olur. Elektroçekim liflerinin toplanma üzerine nihai çapı, kollektör gerilmesinin etkisi altında yaşanan jet bölünme sayısına bağlıdır. (Aruchamy ve diğ., 2018)

Elektroçekim işleminde, elektrik yüklü bir polimer çözeltisi jeti oluşturmak veya pipetten eriyik çıkarmak için yüksek bir voltaj kullanılır. Toplama ekranına ulaşmadan önce, çözelti jeti buharlaşır veya katılaşır ve birbirine bağlı küçük liflerden oluşan bir ağ olarak toplanır. Nanolif çözeltisine bir elektrot yerleştirilir ve diğeri toplayıcıya bağlıdır. Çoğu durumda, kollektör basitçe topraklanır. (Huang ve diğ., 2003) Dokunmamış lif mat ile nanolif matları karşılaştırsak nanolif matların hafif olması ve iyi koruma gibi önemli avantajları vardır. (Qin ve diğ., 2013)

Elektroçekim işleminin avantajları ise, teknik basitliği ve kolay uyarlanabilirliği ve işlevselliğidir. Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolifler ayrıca, son derece yüksek bir yüzey-hacim oranı, ayarlanabilir gözeneklilik, çok çeşitli boyut ve şekillere uyum sağlama ve nanolif bileşiminin özelliklerinden istenen sonuçları elde etmek için kontrol etme yeteneği gibi çeşitli avantajlar sunar. (Bhardwaj ve Kundu, 2010; Subbiah ve diğ., 2005)

Elektroçekim teknolojisi, yüksek dayanımlı kompozit malzemeler, elektronik cihaz yapımı, gıdaların paketlenmesi, membran filtrasyonu ve enerji uygulamaları gibi çeşitli alanlarda nano ölçekte liflerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak yara örtüsü, doku mühendisliği ve enzim immobilizasyonu gibi uygulama alanlarında da kullanılır. (Aruchamy ve diğ., 2018)

Elektroçekim uygulamasını etkileyen bazı faktörler vardır, bunlar çözücü özellikleri, uygulanan voltajın etkisi, öncü çözeltinin iletkenliği, eğirme çözeltilerinin viskoelastik özellikleri ve en önemlisi elektroçekim ünitesi tasarımıdır. (Aruchamy ve diğ., 2018)

2.5.10.1. Elektroçekim Yöntemine Etki Eden Parametreler

Çözeltinin Özellikleri

Konsantrasyon

Elektroçekim işlemi için optimum bir çözelti konsantrasyonu olmalıdır, çünkü düşük konsantrasyonlarda lifler yerine boncuklar oluşur ve yüksek konsantrasyonlarda ise iğne ucunda çözelti akışının sağlanamaması nedeniyle sürekli liflerin oluşumu engellenir ve daha büyük çaplı liflerin oluşumuyla sonuçlanır. Bunun nedeni düşük konsantrasyonlu çözelti, yüzey geriliminin etkisiyle damlacıklar oluştururken, daha yüksek konsantrasyon, daha yüksek viskozite nedeniyle lif oluşumunu engeller. Çözelti yüzey gerilimi ve viskozite, elektroçekimde sürekli liflerin elde edilebileceği konsantrasyon aralığının belirlenmesinde de önemli rol oynarlar. Polimer çözeltisinin konsantrasyonu liflerin bükülmesini etkiler ve lif yapısını ve morfolojisini kontrol eder. (Bhardwaj ve Kundu, 2010; Subbiah ve diğ., 2005)

Çözelti İletkenliği

Polimerler, çoğunlukla yalıtkandırlar. (Özbağ, 2010) Polimer çözeltisindeki yüklü iyonlar jet oluşumunda oldukça etkilidir. İyonlar jetin yük taşıma kapasitesini arttırır, böylece jeti uygulanan elektrik alanı ile daha yüksek gerilime maruz bırakır. Çözelti iletkenliği esas olarak polimer tipi, kullanılan çözücü ve iyonlaşabilir tuzların mevcudiyeti ile belirlenir. Çözeltinin elektriksel iletkenliğinin artmasıyla, elektroçekim nanoliflerin çapında önemli bir azalma olduğu, buna karşın çözeltinin düşük iletkenliği ile, düzgün lif üretmek için elektriksel kuvvetle bir jetin yetersiz uzamasına neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca boncuklar da görülebilmektedir. (Bhardwaj ve Kundu, 2010; Subbiah ve diğ., 2005)

Yüzey Gerilimi

Bir çözeltinin yüksek yüzey gerilimi, jetlerin kararsızlığı ve püskürtülen damlacıkların oluşumu nedeniyle elektroçekim işlemini engeller. Damlacıkların, boncukların ve liflerin oluşumu, çözeltinin yüzey gerilimine bağlıdır ve eğirme çözeltisinin daha düşük yüzey gerilimi, elektroçekimin daha düşük bir elektrik alanda gerçekleşmesine yardımcı

olur. Bununla birlikte, bir çözücünün daha düşük yüzey geriliminin elektroçekim için her zaman daha uygun olacağı anlamına gelmez. Temel olarak, diğer tüm değişkenler sabit tutulursa, yüzey gerilimi elektroçekim penceresinin üst ve alt sınırlarını belirler. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Viskozite

Çözelti viskozitesi, polimerik liflerin çekilmesi sırasında lif boyutunun ve morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Çok düşük viskozitede sürekli lif oluşumunun olmadığı ve çok yüksek viskozitede jetlerin polimer çözeltisinden püskürtülmesinde zorluk olduğu, dolayısıyla elektroçekim için optimal viskozite gerekliliği olduğu bulunmuştur. Polimerin viskozitesi, polimer konsantrasyonu ve moleküler ağırlığı ile birbiriyle ilişkilidir. Çok yüksek viskozitede polimer çözeltileri genellikle daha uzun stres gevşeme süreleri sergiler, bu da elektroçekim sırasında püskürtülen jetlerin kırılmasını önleyebilir. Çözelti viskozitesindeki veya konsantrasyonundaki bir artış, daha büyük ve daha düzgün bir lif çapına yol açar. Elektroçekimde, çözeltinin viskozitesi, sürekli liflerin elde edilebileceği konsantrasyon aralığının belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Düşük viskoziteli çözeltiler için yüzey gerilimi baskın faktördür ve kritik bir konsantrasyonun üzerindeyken sadece boncuklar veya boncuklu lifler oluşur, sürekli bir lifli yapı elde edilir ve morfolojisi çözeltinin konsantrasyonundan etkilenir. Elektroçekim için polimere özgü, optimal viskozite değerlerinin mevcut olduğunu ve bu özelliğin liflerin morfolojisi üzerinde dikkate değer bir etkisi olduğunu göstermektedir. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Moleküler Ağırlık

Polimerin moleküler ağırlığı, viskozite, yüzey gerilimi, iletkenlik ve dielektrik dayanım gibi reolojik ve elektriksel özellikler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu, elektroçekim liflerin morfolojisini etkileyen diğer önemli çözelti parametresidir ve lif üretimi için istenen viskoziteyi sağladıkları için elektroçekimde genellikle yüksek moleküler ağırlıklı polimer solüsyonları kullanılmıştır. Çok düşük moleküler ağırlıklı bir çözeltinin lif değil de boncuk oluşturma eğiliminde olduğu ve yüksek moleküler ağırlıklı bir çözeltinin daha büyük ortalama çaplara sahip lifler verdiği gözlemlenmiştir. Polimerin moleküler ağırlığı, bir çözeltideki polimer zincirlerinin dolaşıklık sayısını, dolayısıyla çözelti viskozitesini

yansıtır. Zincir dolaşıklığı, elektroçekimin işlenmesinde önemli bir rol oynar. Yeterli moleküller arası etkileşimler zincir dolanmaları yoluyla elde edilen zincirler arası bağlantı için bir ikame sağlanabiliyorsa, yüksek moleküler ağırlıkların elektroçekim işlemi için her zaman gerekli olmadığı gözlemlenmiştir. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Çözücünün Uçuculuğu

Elektroçekim, hızlı çözücü buharlaşmasını ve jet inceltme nedeniyle faz ayrımlarını içerdiğinden, çözücü buhar basıncı, buharlaşma oranını ve kuruma süresini kritik olarak belirler. Çözücü uçuculuğu, faz ayırma sürecini etkileyerek nano yapıların oluşumunda önemli bir rol oynar. (Subbiah ve diğ., 2005)

İşlem Parametreleri: Uygulanan gerilim, besleme/akış hızı, toplayıcı tipi, toplayıcı ile uç arasındaki mesafe ve ortam parametreleri olarak sıralanabilir. İşlem parametrelerinin etkileri aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan Gerilim

Elektroçekim işleminde çok önemli bir unsur, çözeltiye uygulanan voltajdır. Ancak eşik voltajına ulaşıldıktan sonra lif oluşumu meydana gelir, bu elektrik alanı ile çözelti üzerinde gerekli yükleri indükler ve elektroçekim işlemini başlatır. Başlangıç damlasının şeklinin elektroçekim koşulları (voltaj, viskozite ve besleme hızı) ile değiştiği deneysel olarak zaten kanıtlanmıştır. Çoğu durumda, daha yüksek bir voltaj, jetteki daha büyük kolombik kuvvetlerin yanı sıra daha güçlü bir elektrik alanı nedeniyle çözeltinin daha fazla gerilmesine neden olur ve bu etkiler lif çapında azalmaya ve ayrıca çözücünün liflerden hızla buharlaşmasına neden olur. Daha yüksek bir voltajda boncuk oluşumu olasılığı da daha yüksektir. Uygulanan elektrik alanını iki katına çıkararak lif çapının yaklaşık olarak yarı yarıya azaldığını gösterilmiştir. Bu nedenle voltaj, lif çapını etkiler, ancak önemlilik seviyesi, polimer çözeltisi konsantrasyonuna ve uç ile toplayıcı arasındaki mesafeye göre değişir. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Besleme/Akış Hızı

Polimerin şırıngadan akış (besleme) hızı, jet hızını ve malzeme transfer hızını etkilediği için önemli bir süreç parametresidir. Çözücü buharlaşma için yeterli zamana sahip

olacağından, daha düşük bir besleme hızı daha çok arzu edilir. Nanolif çözeltisinin her zaman minimum bir akış hızı olmalıdır. Yüksek akış hızları, toplayıcıya ulaşmadan önce uygun kuruma süresinin bulunmaması nedeniyle boncuklu liflere neden olur. (Bhardwaj ve Kundu, 2010)

Toplayıcı Tipi

Elektroçekim işleminin önemli bir yönü, kullanılan toplayıcı tipidir. Bu işlemde, bir toplayıcı, nanoliflerin toplandığı iletken bir substrat görevi görür. Genel olarak, alüminyum folyo toplayıcı olarak kullanılır, ancak toplanan liflerin aktarılmasındaki zorluk ve çeşitli uygulamalar için hizalanmış liflere ihtiyaç duyulması nedeniyle iletken kağıt, iletken kumaş, tel örgü gibi toplayıcılarda kullanılmaktadır. (Polat, 2020)

Toplayıcı ile Uç Arasındaki Mesafe

Uç ile toplayıcı arasındaki mesafe, lif çaplarını ve morfolojisini etkilemektedir. Fakat uç ve toplayıcı mesafesinin lif morfolojisi üzerine etkisi diğer parametreler kadar önemli bir faktör değildir. Liflerin toplayıcıya ulaşmadan önce polimerin kuruması için yeterli süre verilmesi gereklidir. Lifler için optimum bir mesafenin olması gerektiği bulunmuştur, aksi halde çok yakın ya da çok uzak mesafelerde boncuklar gözlenebilmektedir. (Polat, 2020)

Ortam Parametreleri

Çözelti ve işleme parametrelerinin yanında nem, sıcaklık gibi ortamın özelliklerinin de önemi vardır. Sıcaklık ile viskozite arasında ters orantılı bir ilişki vardır. Nemin artmasıyla birlikte liflerin yüzeyinde ufak dairesel gözenekler ortaya çıktığı bulunmuştur. Nemin artması gözeneklerin bütünleşmesine yol açacağı için iğne ucunun tıkanma ihtimali vardır. Çok düşük nem ortamında, çözücünün buharlaşması hızlı olacağı için uçucu olan çözücünün hızlı bir şekilde kuruyabileceği raporlanmıştır. (Polat, 2020)

2.6. Nanoliflerin Uygulama Alanları

Nanoteknoloji, gelecek için sürdürülebilir enerji ve ortamlar sağlamak için yeni çözümler ve fırsatlar sunuyor. Nanolifli morfolojiye sahip malzemeler, sayısız enerji ve çevre sorununu çözmek için ilgi çekicidir. (Thavasi ve diğ., 2008)

Nanoliflerin birçok uygulama alanı vardır. Kozmetik ürünlerde yüksek nüfuz hızı, cilt arındırma ve iyileştirme, ilaçla cilt terapisi uygulamalarında kullanılmaktadır. Koruyucu giysilerde kimyasal madde geçişini önleyen nefes alabilir kumaşlar geliştirilmektedir. Kompozitlerde, hafiflik, kırılma dayanımı, biyolojik ve kimyasal ajanlara karşı üstün koruma geliştirilmiştir. Elektriksel ve optik uygulamalar, elektrodlar, algılayıcılar, ultra küçük aygıtlar geliştirilmektedir. (Kozanoğlu, 2006)

2.6.1. Nanoliflerin Kompozit Uygulamaları

Saf nanolifler genellikle düşük mekanik dayanıma, ısıl kararsızlığa ve sınırlı işlevselliğe sahiptir. Bu nedenle, nanoliflerin avantajlarını geliştirmek ve dezavantajlarının üstesinden gelmek için elektroçekim nanoliflerin kompozit ve modifiye yapıları geliştirilmiştir. Elektroçekim teknolojisi ve yüksek kaliteli nano malzemelerin malzeme bilimi ilerlemeleri ve yeni modifikasyon teknikleri ile kombinasyonu, farklı uygulamalar için istenen özelliklere sahip kompozit ve modifiye nanoliflerin üretilmesine yol açmıştır.

Polimer matrisindeki çeşitli malzemelerin kombinasyonu, yüksek ısıl kararlılık ve dayanım gibi inorganik malzemelerin istenen mekanik ve kimyasal özelliklerini vererek işlevsellikler ekler. Membran ayırma ve su arıtımı gibi farklı uygulamaları vardır. Elektroçekim nanolif kompozit membranlar, membran ayırma, tuzdan arındırma, su ve atık su arıtma, yağ/su ayırma ve adsorpsiyon uygulamaları için son yıllarda artan bir ilgi görmüştür. Ayrıca enerji, sensör, fitrasyon, biyomedikal ve sağlık alanında da nanolif kompozitler tercih edilmektedir. (Toriello ve diğ., 2020)

2.6.2. Elektriksel Uygulamaları

Nanolif membranlar, doku rejenerasyonu için hücre dışı matrisi taklit etmede istenen kirleticiler için adsorban malzeme olarak nanopartikülleri hareketsiz hale getirmek için bir konakçı olarak rol oynama kapasiteleri nedeniyle piller ve enerji cihazları için elektrot olarak kullanılmaktadır.

Enerji sektörü, daha temiz ve uygun maliyetli enerji sağlamak için yıllardır, enerji teknolojisini araştırmakta ve geliştirmektedir. Nanolifler, farklı enerji teknolojilerinin geliştirilmesinin bir parçasıdır. Nanolif membranlar, yakıt hücreleri için yüksek aktivite, yüksek dayanıklılık ve yüksek zehirlenme direnci sağlamak için katalizör olarak

kullanılmıştır ve kapasitelerini, performanslarını geliştirmek için lityum iyon piller için elektrot olarak kullanılabilir. (Toriello ve diğ., 2020)

2.6.3. Filtrasyon Uygulamaları

Düşük temel ağırlık ve geniş yüzey alanı-hacim oranı gibi benzersiz özellikler nedeniyle, nano gözenekli yapılar ve aynı zamanda eşit boyutlu elektroçekim nanolif malzemeler, hava filtrasyon uygulaması için kullanılabilir. Lif çapının az olması, daha iyi filtrasyon verimliliğine yol açar. Bunun nedeni mikron altı parçacıkları yakalama yeteneği, nanolifler için daha büyük çaplı lifli olanlardan daha fazladır. Filtrasyon uygulamalarında sıvı, gaz ve molekül filtrasyonunda kullanılmaktadır. Elektroçekim nanoliflerin yüksek verimli partikül hava (HEPA) ve ultra düşük penetrasyonlu hava (ULPA) olarak ayrılan iki filtre çeşidi vardır. (Matulevicius ve diğ., 2014)

2.6.4. Biyomedikal Alanda Kullanımı

Polimer nanolifler tıp alanında çeşitli uygulamalara sahiptir. Biyopolimer bazlı nanolifler ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadır. Bu nanoliflere farklı ilaç türleri yüklenerek çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilir. İlaç yüklü nanolif yara iyileşmesini de hızlandırmak için kullanılabilir. (Bera, 2017) Kontrollü ilaç salınım uygulamalarında, hızlı çözünme hızı, iç içe girmiş ilaç nanolif sistemi geliştirilmiştir. Doku mühendisliği uygulamalarında, ayarlanabilir biyobozunma hızı, çok iyi hücre tutunması ve kontrol edilebilir hücre gelişmesi gibi önemli işlevlere sahiptir. Yara örtülerinde bakterilerin ve virüslerin geçişini önleyen, zarar görmüş dokunun hava almasını sağlaya filtrasyon özelliği kullanılmaktadır. Medikal protezlerde yüksek sürtünme dayanımı özelliği geliştirilmiştir. (Kozanoğlu, 2006)

2.6.4.1. Yara Örtüsü Olarak Kullanımı

Yara, deride travmanın gerçekleşmesine neden olan ekzojen bir laserasyon nedeniyle oluşan dokudaki bir süreksizliktir. Yara, cilde fiziksel, elektriksel, mekanik ve ısıl hasar nedeniyle oluşabilir. Normal anatomik yapı ve işlevi kesintiye uğrar. Dış hasar, üst dermiste yüzeysel yara ile sonuçlanır veya dermise, epidermise ve hipodermise ve bazen de ter bezlerine, kıl foliküllerine ve kan damarlarına zarar verebilecek derinde yatan bir yara olabilir.

Akut ve kronik yara olarak iki önemli çeşidi vardır. Akut yara daha hızlı iyileşen yaradır, kronik yara ise iyileşmesi zaman alan yaradır ve bu nedenle bakteriyel saldırı riski akut yaradan daha yüksektir. Yara iyileşmesi doğal olarak hemostaz, iltihaplanma, proliferasyon (çoğalma) ve yeniden şekillenme olarak dört aşamadır.

Yara iyileşmesi, birkaç bin yıldan beri önemli bir yere sahip olmuştur. MÖ 1550'de, eski bir Mısır belgesi olan Ebers Papyrus, yara tedavisi için yağ, bal ve tiftik içeren karışımdan bahsetmiştir. Yağın kullanımı bariyer özelliğinin olması nedeniyle, bal antibakteriyel özelliği nedeniyle, tiftik ise emici özellikte olduğu için kullanılmıştır. Daha sonra, MÖ 600'de Hintli doktor Sushruta, neem yaprakları, hardal tohumları, tuz ve inek yağının kullanıldığı yara iyileştirme yönteminden bahsetmiştir.

Daha sonra bilim adamları, hardal tohumlarının mantar önleyici ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu, Neem yapraklarının da iyi bir mantar önleyici özelliğe sahip olduğunu ve tuz ile inek yağı karışımının yara iyileşmesini hızlandırmak için gaz geçirgenliğini sağladığı açıklamıştır.

Kısa bir süre sonra, MÖ 460-380'de, Yunan doktor Hipokrat, balın gram-pozitif bakterilere karşı güçlü direnç gösterirken, şarap büyümeye karşı iyi bir dirence sahip olduğundan, bal, şarap ve sütle kronik yara tedavisini uygulamıştır. Sitokinleri kapsayan gram-negatif bakteri ve süt ürünleri, yara yatağının pH'ını kontrol etmek için bir tampon görevi görür.

Dr. Joseph Lister, yara pansuman için fenol ile sterilize edilmiş cerrahi gazlı bezin önemini ifade etmiştir. 1846-1890'da Rus askeri cerrahı Carl Reyher, yaranın yabancı cisimden temizlenmesinden bahsetmiştir. 1955'te Profesör Lim ve Wichterle, biyomedikal uygulama için ilk kez poli-2-hidroksietil metakrilat bazlı hidrojel sentezlemiştir. 1962'de Winter'ın deneysel verileri, nemli yaranın kuru yaradan daha hızlı iyileştiğini ortaya koymuştur. (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019)

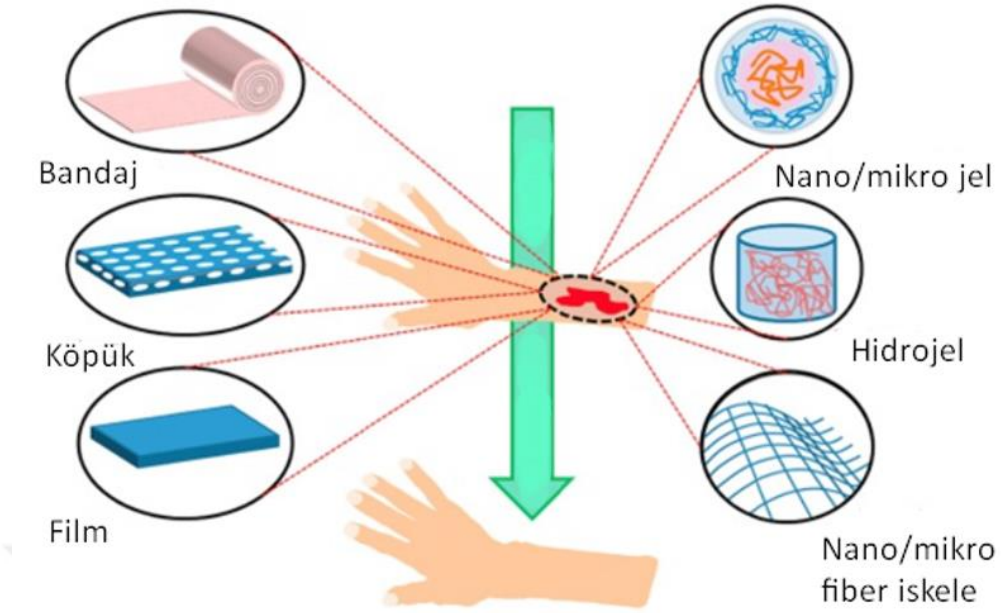
1980'den itibaren, topolojik formülasyonlar bandajlar, membranlar-süngerler, fimler, nano/mikro jeller, hidrojeller ve nano/micro lifler yara iyileşmesi için kullanılmaktadır. Bunların arasından yara örtüsü için en uygun özellikte olan nano/mikro liflerdir. Bunun nedeni yüksek yüzey alanı özelliği, oksijen geçirgenliği, modifikasyonla antibakteriyel

özelliğe sahip olabilme yeteneğidir. Önemli özellikleri sayesinde yara örtüsü için ilk olarak tercih edilmektedir. (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019)

Kronik yara iyileşmesi, bakteri (örn. *E. Coli, B. Subtilis, S. Aureus*) gibi harici biyolojik saldırılara karşı hassas olan karmaşık bir zaman alıcı süreçtir. İyileşme süresi yaklaşık olarak oniki haftadır. Yara enfeksiyonu, bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz bir etki sergiler, bu nedenle uygun bariyer yardımı ile yara iyileşmesi için kontrollü bir ortam oluşturmak gereklidir. Bu yüzden yara sargı bezi kullanımı önemlidir. Son birkaç yılda, hidrojeller, filmler, emülsiyonlar ve nanolifler gibi yara bariyerlerinin çeşitli formülasyonları araştırılmıştır. İlaca gömülü lifler, geniş spesifik yüzey alanı, %60-90 oranında oksijen geçirgenliği için mükemmel gözeneklilik ve ağsı nano-gözeneklilik nedeniyle bir bariyer olarak yara iyileşmesi için potansiyel adaydır. (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019)

Yara örtüsü, yarayı ağrıdan ve eksojen mikroorganizmalardan koruduğu için yara iyileşme sürecinde hayati bir rol oynar. Yara örtüsü, yara örtüsü değişikliği gerektiğinde ikincil travma ve hasarı önleyecek şekilde dikkatlice seçilmesi gereklidir. Pansuman yanık ve kronik yara durumunda eksüdaları emmek için kullanılır. Ayrıca yara yatağı ortamı da önemlidir, çalışmalar nemli yaranın kuru yaraya göre daha verimli iyileştiğini gösterir. Yaranın iyileşme süreci için oksijen gerektiğinden, yara örtüsünün oksijen geçirgenliği olmalıdır. Çok sayıda yara örtüsü mevcuttur, uygun örtünün seçilmesi, fibroblast proliferasyonunu desteklemek ve yeniden epitelizasyona izin vermek için esastır. Pansumanın işlevi, tam yara durumunda kanamayı durdurmak ve yara durumunda cilde yapısal destek sağlamaktır.

Yara pansumanında kullanılacak ideal bir malzeme, esnek ve elastik olmalı, ancak klinik kullanım için yeterli güçte olmalıdır. (Vargas ve diğ., 2010; Ambekar ve Kandasubramanian, 2019) İdeal yara örtüleri yarayı enfeksiyondan arındırmalı ve çok iyi bir biyouyumluluğa sahip olmalıdır. İçsel bakteriyostatik ve bakterisidal aktiviteye sahip polimerler, yara pansuman malzemeleri olarak daha fazla avantaja sahiptir. (Cai ve diğ., 2010) Şekil 2.12'de yara iyileşmesi için kullanılan malzemeler gösterilmiştir.



Şekil 2.12. Yara iyileşmesi için kullanılan malzemelerin sınıflandırılması (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019)

2.6.5. Sensör Alanında Kullanımı

Sensör alanında da termal sensörler, piezoelektrik sensörler, biyokimyasal sensörler ve floresan optik kimyasal sensör gibi kullanım alanları vardır. Yüksek esnekliğe sahip sensörler, yapay cilt, yumuşak robotik, giyilebilir cihaz ve yapısal sağlık izleme gibi çok çeşitli alanlardaki uygulamaları nedeniyle büyük bilimsel ilgi görmektedir.

Konvansiyonel metalik ve yarı iletken tabanlı sensörler, çeşitli şekillerde uyumsuzlukları ve kırılgan yapıları nedeniyle bu tür uygulamaların gereksinimlerini karşılamamaktadır. Ticari olarak alınan metalik gerinim ölçerler, düşük hassasiyetle yalnızca %5 maksimum gerilime kadar çalışmaktadır. Bu talepleri karşılamak için hem esnek hem de dış yüklere duyarlı yeni malzemelere ihtiyaç vardır. Algılama mekanizmalarına bağlı olarak bu malzemeler farklı şekilde sınıflandırılabilirken, piezodirençli ve kapasitif tabanlı sensörler en popüler yöntemlerdir. (Chowdhury ve diğ., 2019)

Geleneksel yöntemlerle üretilen biyosensörlerle karşılaştırıldığında, nanolif tabanlı biyosensörler, yüksek hassasiyet, yüksek yanıt, geniş algılama nesneleri ve uygun maliyet gibi avantajlara sahiptir. Ek olarak, biyopolimer katkılı elektroçekim malzemeler mükemmel bir biyouyumluluğa sahiptir. Elektroçekim teknolojisine dayalı gelişmiş

biyosensörler, polimer bazlı, polimer ile modifiye edilmiş biyosensörler, elektroçekim karbon ile modifiye edilmiş biyosensörler, metal/metalik oksit ile modifiye edilmiş biyosensörler olmak üzere farklı türleri vardır. (Liu ve diğ., 2020)

2.6.6. Tarımsal Uygulamalarda Nanoliflerin Kullanımı

Tarım uygulamalarında çoğunlukla bitki koruma örtüleri ve gübre vericiler gibi alanlarda kullanılmaktadır. Nanoteknolojide nanokapsülasyon, aktif bileşikleri korumak ve taşımak için yeni bir teknik olmuştur. Elektroçekim tekniğindeki kapsülleme, gözenek boyutunun, yüzey alanı oranının ve nanoliflerin hacminin izlenmesini kolaylaştıracaktır. Bitkilerin üzerini nanolif kaplayarak korumak, budanan yerlerini nanolif ile kapatmak, bitki tohumunu koruma amacıyla nanolif kaplamak tarım alanında yapılan nanolif uygulamalarındandır. (Meraz-Davila ve diğ., 2021)

2.7. Nanolifler İçin Uygulanan Karakterizasyon Yöntemleri

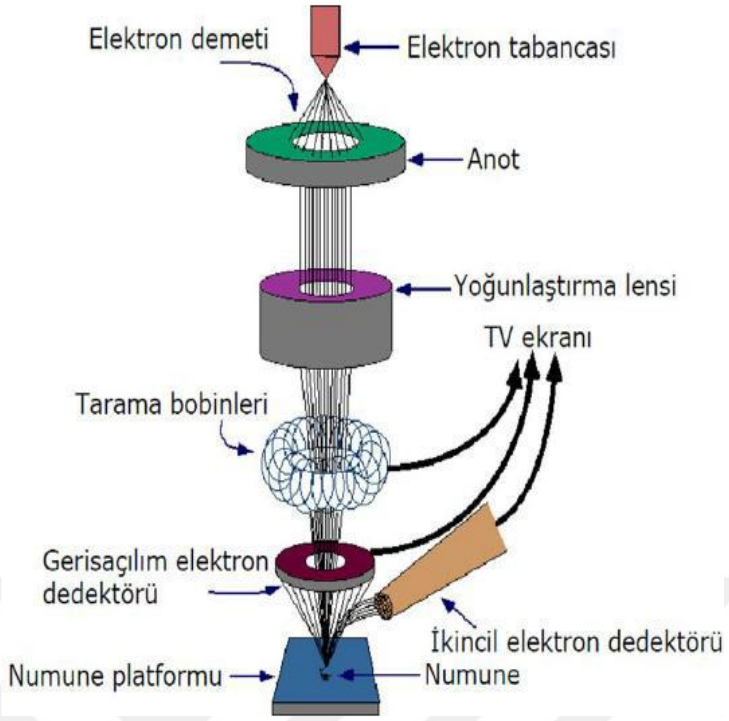
2.7.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. SEM ile malzemenin yüksek çözünürlüklü görüntüsü alınır. (Üçpınar, 2018)

Taramalı elektron mikroskobu, lif çaplarını değerlendirmek ve nanolifli yapıdaki olası artefaktları ortaya çıkarmak için kullanılır. Yapının, nanolifli numunenin çeşitli yerlerini doğrudan görselleştirilebilir. (Sirc ve diğ., 2012)

Şekil 2.13'te SEM'in şematik gösterimi vardır. SEM'de görüntünün elde edilmesi birkaç adımda şöyle gerçekleşir; ilk olarak yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronlar numune üzerine odaklanır, bu elektron demetinin numune yüzeyinin üzerinde taratılması esnasında elektron ve numune atomları arasındaki çeşitli girişimler sonucunda ortaya çıkan etkileri uygun algılayıcılarda toplanır ve sinyal güçlendiricilerinden geçirilir.

Daha sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Modern olan sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller çevrilip dijital sinyaller olarak bilgisayar monitörüne verilmektedir.



Şekil 2.13. SEM'in şematik görünümü (Karslı Yılmaz, 2014)

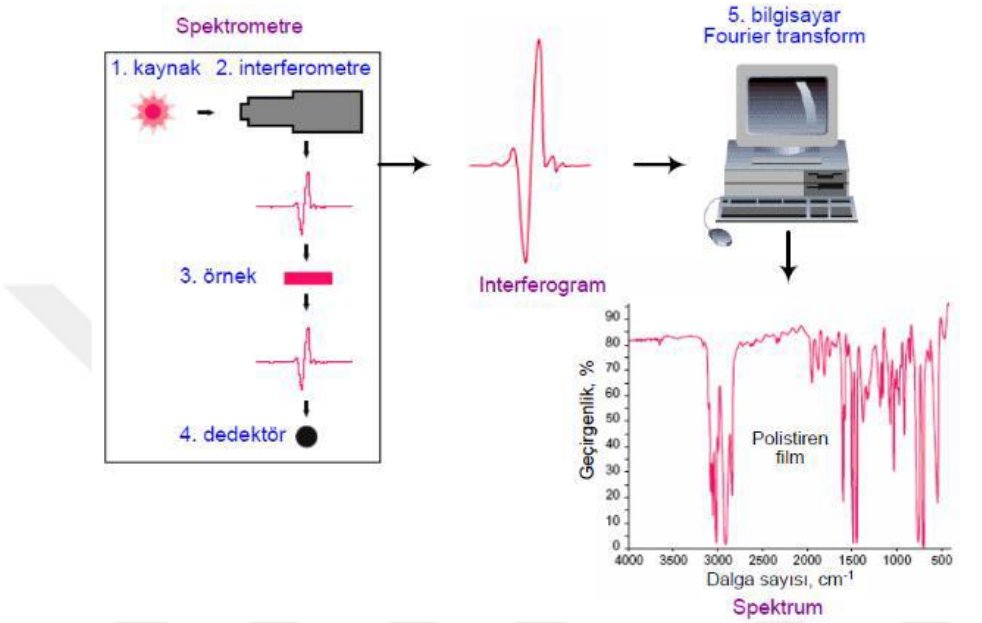
Taramalı elektron mikroskobu numune hücresi, optik kolon ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır. Optik kolon kısmında bulunanlar; elektron demetinin kaynağı elektron tabancası, ince elektron demeti elde edilmesini sağlayan kondenser mercekleri, elektronları numuneye doğru hızlandırılması için kullanılan yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, demeti numune üzerinde odaklamasını sağlayan objektif merceği, bu merceğe bağlı olan çeşitli çapta bulunan apertürler ve elektron demetinin numunenin yüzeyini taraması için gerekli olan tarama bobinleri yer almaktadır. (Kozanoğlu, 2006)

X-ışınlarının enerji dağılımlı analizi (EDX), ortam aerosollerinin boyutunu, morfolojisini ve elementel bileşimini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan elektron mikroprob analiz (EPMA) yöntemlerinden biridir. EDX ile malzemelerin içerisindeki elementler ve yüzdeleri belirlenir. (Laskin ve Cowin, 2001)

2.7.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, inorganik ve organik bileşiklerin yapısal karakterizasyonunu sağlayan bir araçtır. Malzemenin yapısında bulunan fonksiyonel gruplar ve malzemenin yapısının aromatik ya da alifatik olması gibi özellikler belirlenir.

Farklı IR spektrometreler de vardır, fakat en çok kullanılanı fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisidir. FTIR'ın temel prensibi, numunenin kızılötesi ışınlarına maruz bırakılarak, molekül veya atomların bağlarında olan değişikliklerin ve hareketlerin belirlenmesidir. FTIR cihazının çalışma prensibi Şekil 2.14'de gösterilmiştir. (Büyüksırıt ve Kuleasan, 2014; Üçpınar, 2018)



Şekil 2.14. FTIR'ın çalışma prensibi (Üçpınar, 2018)

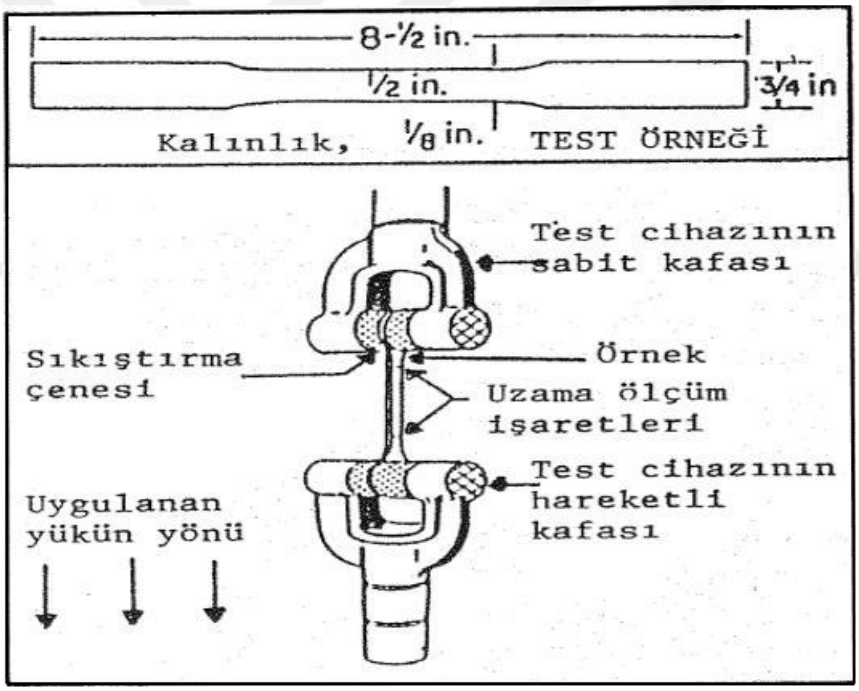
IR spektrumu, maddenin içindeki atomlar arasındaki bağların titreşimiyle meydana gelen frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri oluşturur. Malzemenin parmak izi olarak tanımlanabilir. Her maddenin kendine özel bir spektrumu vardır. Fakat optik izomerler istisnadır. Organik madde spektrumlarının 2000 cm^{-1} dalga boyundan sonra gelen kısım daha ayrıntılıdır. Her veri, farklı moleküler bağlarını temsil eden farklı titreşim frekanslarını gösterir. FTIR spektroskopisinde madde her halinde (katı, sıvı ve gaz) örnekleri analiz edebilmektedir. En büyük avantajı az miktarda örnekle çok kısa sürede sonuç verebilmesidir. (Büyüksırıt ve Kuleasan, 2014; Üçpınar, 2018)

2.7.3. Çekme Testi

Çekme testi, malzemelerin mekanik davranışlarıyla ilgili bazı ilgili elastik ve plastik değişkenleri karakterize etmek için yararlı olan önemli bir standart mühendislik yömtemidir. Yüksek eksenel deformasyon seviyeleri için boyunda bulunan tek biçimli olmayan gerilim ve gerinim dağılımları nedeniyle, malzeme tepkisini doğru bir şekilde

tanımlamak için numunenin kırılma aşamasına kadar olan tüm deformasyon sürecindeki geometrik konfigürasyonunda gerçekleşen önemli değişikliklerin dikkate alınması gereklidir. (Cabezas ve Celentano, 2004)

Şekil 2.15'te çekme test cihazının temel bileşenlerinin şematik görüntüsü gösterilmiştir. Çekme testi, malzemenin cihazın, biri sabit biri hareketli olmak üzere iki çenesi arasına yerleştirilmesi ve çenelerin birbirinden belirlenen sabit hızla uzaklaştırılmasıyla gerçekleştirilir. Çekme kuvveti uygulanan numune gerdirilerek kopması sağlanır. Çekme esnasında sistem uygulanan kuvvet ve bu kuvvete karşı gösterilen direnci, aynı zamanda buna karşılık gelen uzama değerlerini kaydeder. Kaydedilen verilere bakılarak, malzemenin çekme dayanımı, elastik modül ve kopma uzaması belirlenir. (Üçpınar, 2018)



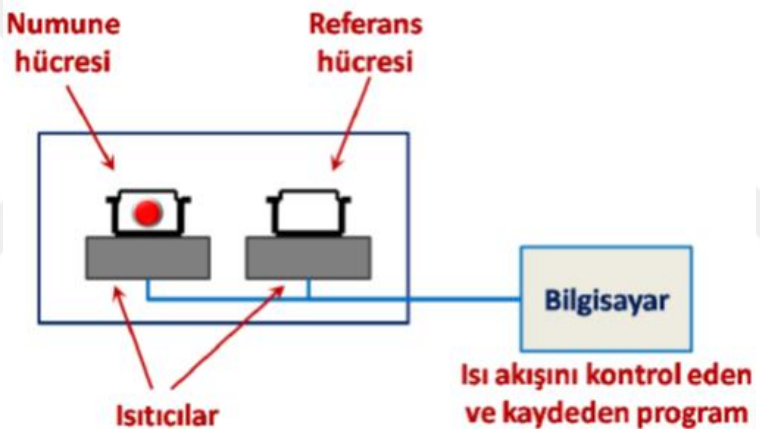
Şekil 2.15. Çekme cihazı bileşenlerinin şematik görüntüsü. (Üçpınar, 2018)

2.7.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), sıklıkla kullanılan bir ısıl analiz tekniğidir. DSC, aynı miktardaki sıcaklık farkı için verilen ısının ölçülmesiyle gerçekleşir. Numune ve referans olarak iki adet örnekle birlikte ölçüm yapılır. Numune, analiz yapılmak istenen örnektir. Referans ise numunenin analizi için gerekli olan içi boş örnek kabı olarak tanımlanabilir. Kontrollü bir şekilde sıcaklık arttırılır ve iki örnek içinde ısı akış hızları

farkı sıcaklığın fonksiyonu olarak kaydedilir. Örnekler aynı şekilde soğutulduğunda da salınan enerji miktarı ölçülür. (Üçpınar, 2018)

Şekil 2.16'da DSC analizi şematik gösterimi görülmektedir. Bir tanesinde numune diğerinde ise referans olmak üzere iki farklı fırın bulunmaktadır. Numune pan olarak adlandırılan krozeye konarak ölçüm yapılır. Her iki örnek eşit sıcaklıkta tutulur, örnekler arasında sıcaklık farkı gerçekleştiğinde numuneye verilecek olan sıcaklık değiştirilir. Bu şekilde faz değişimi sırasındaki ısı transfer miktarı belirlenir. Numuneyi düşük sıcaklıklardan itibaren ısıtıldığında, sahip olduğu kristalin ve amorf özelliklere bağlı olarak farklı ısıl geçişler gözlenebilir ve kaydedilir. DSC analizi ile polimerik malzemenin entalpi değişimleri, camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ve erime sıcaklığı (T_m) belirlenebilir. (Üçpınar, 2018)



Şekil 2.16. DSC analizi şematik gösterimi (Üçpınar, 2018)

2.7.5. Nem Testi

Nanolif matların nem emilimi (absorpsiyon) miktarının belirlenmesi için nem testi yapılır. Numuneler tartılarak kaydedilir, sonra etüvde bekletilerek içerisindeki su açığa çıkması sağlanır. Belli bir süre etüvde bekletilen numuneler çıkartılıp tekrar tartılır. Aralarındaki farka bakılarak nem yüzdesi bulunur. Bu şekilde içerisinde bulunan nem miktarı tayin edilmiş olur. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021)

2.7.6. In-Vitro Antibakteriyel Test

Yara örtüsü olarak kullanımına uygunluğu belirlenmesi için antibakteriyel etkinlik analizinin gerçekleştirilmesi gereklidir. Antibakteriyel etkinlik, mikroorganizmaların

canlılık faaliyetlerinin sona ermesine yardımcı olacak müdahale olarak tanımlanır. Antibakteriyel malzemeler mikroorganizmaların gelişimlerini durdurarak ya da öldürerek etkinliklerini gösterirler. Uygun ortam olduğunda bakteriler çok hızlı olarak yayılırlar. Örneğin *Escherichia coli (E. coli),* sıcaklık 36-40 °C, pH 5-9 olduğunda 20-30 dk'da yaklaşık iki kat hızlı bir şekilde artar. *E. coli* bu hızla artarken, sadece 7 saat içinde 1.048.576 hücre sayısına yükselir. Bu yayılmadan insan sağlığı olumsuz olarak etkilenebilir. Bakteri yoğunluğunun belirlenmesi için yapılan testler, mikroorganizmalara etki ederek, üremelerini engelleyerek azalmasına yol açan antibakteriyel etkinliği ölçer. Antibakteriyel testler kalitatif ve kantitatif olmak üzere iki kategoriye ayrılırlar. Kalitatif testler agar temeline dayanmakta olan engelleme bölgesi testleridir. Kantitatif testler ise bakteri sayımı yapılarak gerçekleştirilir. Bu yöntemlerin ikisinde de antibakteriyel test gerçekleştirilirken test edilen malzeme ile birlikte üremeyi kontrol etmek için gerekli olan kontrolün de aynı işlemlerden geçirilmesi gereklidir. Kalitatif olan testler, salınım yapan antimikrobiyal bitim kimyasallarının belirlendiği ön testlerdir. Bu yöntem tekstil materyalleri ve salınım yapmayan bitim kimyasalları için kullanılmaya çok uygun değildir. Tekstil materyalleri için sadece temel sonuçlar elde edilir. Kalitatif yöntemlerde değerlendirme engelleme bölgesinin boyutu ölçülerek yapılır. Test edilecek örnekler ve işlem görmemiş olan kontrol örnekleri nutrient agar plakasına yerleştirilir ve bakteri çözeltisi tekstil materyali üzerine eklenir. Mikroorganizmaların gelişmesi için nutrient agar plakalar, 37°C'de etüvde bekletilir.18-24 saat kadar bekletilen plakaların antibakteriyel etkinliği örneğin çevresinde oluşan engelleme alanının boyutu ölçülerek bulunur. Antimikrobiyal etkinlik değerlendirmesi, işlem gören ve işlem görmeyen materyallerdeki bakteri sayıları arasındaki farkın ölçülmesiyle yapılır. (Çaydamlı, 2012)

Bu çalışmada nanoliflerin antibakteriyel etkinlikleri, agar plak koloni sayım metodu ile AATCC 100 standardına uygun şekilde kantitatif bir yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde nanolifler 1x1 cm^2 olarak kesilerek hazırlanır. Hazırlanan nanolifler UV ışık ile steril hale getirilir. Kat çözeltisi ve bakteri besiyeri hazırlanır. Ekimi yapılacak olan bakteriler 48 saat inkübe edilir, sıcaklık olarak 37 °C 'de tutulur. İçerisinde 10^x CFU/ml yoğunluğuna sahip mikroorganizma bulunmakta olan belirli ml miktarında çözelti hazırlanır. Bu çözelti bakteri sayısını sayılabilecek şekilde olması için farklı dilüsyonlara seyreltilir. Bakteri çözeltileri belirli miktarlarda alınarak tüpler içine koyulur. Sonra, antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilecek olan nanolif numuneleri, içerisinde

mikroorganizma çözeltisi olan tüplere konulur. Bu şekilde 24 saat test süresince bekletilir. Belirlenen saatlerde yani 6 saatte bir olarak, içerisinde numune olan tüplerdeki çözeltiden bir miktar alınarak, önceden hazırlanan petri kabındaki katı besi yerine ekim yapılır. Ekim yapılan petri kapları 24 saat 37 °C sıcaklıkta etüvde bekletilir. Bu süre sonunda petri üzerinde bulunan bakterilerin sayımı gerçekleştirilir. (Palamutcu ve diğ., 2008)

2.7.7. Sitotoksisite Testi

Sitotoksisite, canlı olan hücreler üzerine etki eden toksik oran anlamına gelir. Sitotoksisite testleri, test edilmesi gereken maddenin uygun koşulları sağlayan hücre kültüründe, hücre çoğalma oranına bakılarak değerlendirilir. Hücre üzerindeki toksik etki belirlenir. Sitotoksisitenin belirlenmesi için birçok yöntem bulunur. Bu yöntemler boyama yöntemleri, florometrik yöntemler, luminometrik yöntemler, kolorimetrik yöntemler, apoptozun belirlenmesi için kullanılan farklı teknikler ve otofajinin belirlenmesi için kullanılan farklı tekniklerdir. (Erkekoğlu ve Baydar, 2021)

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Bu bölümde yapılan tez çalışmasında kullanılan malzemelerin elektroçekim metoduyla farklı alanlarda kullanılmak üzere üretilmesi üzerine daha önce yapılan araştırmalar incelenmiş ve özet olarak sunulmuştur.

Biranje ve diğ., yaptıkları çalışmada, medikal sektördeki uygulamalar, özellikle de yara pansuman malzemesi için faydalı olabilecek kazein nanofibröz mat geliştirmeyi amaçlamışlardır. Farklı karışım bileşimlerinde kazein/PVA sulu çözeltisinin elektroçekimlenmesi yoluyla nanofibröz matlar hazırlamışlar. Çözeltinin viskozitesini ve uygulanan potansiyel gibi elektroçekim parametrelerini, karışım liflerinde yüksek yüzey alanı ve maksimum kazein içeriğine sahip nano ölçekli ve boncuksuz lifli matlar elde etmek için optimize etmişlerdir. Üretilen nanolif matlara FTIR analizi, SEM, XRD analizi, TGA, şişme özelliği testi, biyouyumluluk, BET yüzey alanı ve gözenek boyutu analizi, trombin oluşturma deneyi yapılarak yara pansuman malzemesi olarak kullanımları değerlendirilmiştir. Karışımlardaki PVA oranının artması kazein/PVA nanolifli matın elektroçekimlenmesini kolaylaştırdığını göstermiştir. Uygulanan potansiyeldeki artışla birlikte (20kV – 25kV), ekstrüde jet üzerindeki elektrik yükü arttırdığı, bu da lif çapındaki azalma ile daha yüksek lif uzamasına neden olduğu bulunmuştur. Test sonuçları yorumlandığında Kazein / PVA (40/60) karışımı en uygun kombinasyon olarak kabul edildiği belirtilmiştir. Hazırlanan nanoliflerin, kan pıhtılaşma süresinin kısaltılması için en uygun şekilde çalıştığı, kanamayı durduran ve trombin oluşumunu hızlandıran stabil kan pıhtısı oluşturduğu, yara iyileşmesini hızlandırmaya yardımcı, gelişmiş şişme özelliklerine sahip ve biyouyumlu nanolifler elde edildiği sonucuna ulaşılmıştır. (Biranje ve diğ., 2019)

Minaei ve diğ., yaptığı çalışmanın amacı, kazein ve polietilen oksitten yapılan hibrit iplikte en yüksek protein içeriğine sahip kazein nanolif ipliğin üretim fizibilitesini değerlendirmek, uygun işlem koşullarını ve üretilen iplik için istenen özellikleri elde etmektir. Düşük gerilme dayanımı ve suda yüksek çözünürlükleri nedeniyle kazein lifinin çapraz bağlanması gerekli olduğu için lifler çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak toluen-diizosiyanat kullanılmış, %20 ve %40 oranlarında diizosiyanat/polimer çözeltileri hazırlanmıştır. SEM ve TEM analizi, mekanik test, biyobozunma testi yapılarak güçlendirmeden önce ve sonra kazein bileşeninin farklı fraksiyonlarını dikkate alarak

numunelerin dayanımları değerlendirilmiştir. SEM ve TEM analizlerinin sonucu olarak polietilen oksit (PEO) bileşeninin %26'ya kadar arttırılmasının %10 kazein varlığında bile tek tip nanoliflerin oluşumunu önemli ölçüde artıracağı görülmüştür. Fakat %26 konsantrasyonda PEO ile %10 oranında kazein ile oluşturulan nanolif iplik uygun olmayan dayanım değerine sahip olmuştur. Çapraz bağlanma PEO (26%) /Kazein(10%) 10:90 oranı olan numuneye uygulanmıştır. Ağırlıkça %40 oranında di-izosiyanat çapraz bağlama maddesinin eklenmesi, nanolif iplik dayanımını önemli ölçüde artırmıştır. Biyobozunma testi sonucu, on gün sonra numunenin çoğunlukla çözücüde bozunduğunu ve dayanımının büyük ölçüde azaldığını, böylece çevre dostu, biyolojik olarak parçalanabilir bir lif olarak kabul edilebileceğini göstermiştir. Kazein ve polietilen oksitten yapılan hibrit nanolif iplik üretimi ile farklı test yöntemlerinin uygulanmasıyla %90 kazein ve %10 PEO içeren nanolif ipliğin eğrilmesi için optimum koşulların elde edildiği sonucuna ulaşılmıştır. (Minaei ve diğ., 2018)

Xıe ve diğ., yaptıkları çalışmada önce elektroçekimin yöntemi ile bir süt proteini olan kazeinin elektroçekimlenmesi incelenmiş, ardından enzim proteinlerini içerecek şekilde çalışma genişletilmiştir. Amaç, enzim içeren çözeltilerin elektroçekimlenmesinin enzim moleküllerini nanolif membranlar üzerinde fiziksel olarak hareketsiz hale getirip getiremeyeceğini araştırmaktır. Kazein ve enzimler doğal proteinler gibi lifli formlara dönüştürülemez. PEO veya PVA gibi başka bir polimerin eklenmesiyle, doğal bir protein olan kazein, ultra ince lifli membranlara elektroçekimi yapılabilmiştir. Bu lifli membranlar, THF'de 4,4p-metilenbis (fenil diizosiyanat) (MDI) ile kimyasal çapraz bağlanma yoluyla çözünmez hale getirilmiştir. Bu çalışmada elektroçekim yöntemi, katı destek üzerinde enzim immobilizasyonu için de kullanılmıştır. SEM, DSC, TGA analizi ve enzim aktivitesi testi yapılmıştır. Ultra ince lifli membranlarda kapsüllenen lipaz enziminin, aynı solüsyondan döküm filmlere göre zeytinyağının hidrolize edilmesine karşı daha yüksek katalitik aktivite sergilediği sonucuna varılmıştır. PVA/kazein karışımında kazein %70 ve üzerine çıktığında, çözelti viskozitesi çok düşük hale geldiği ve oluşan liflerin düzensiz bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir. Toplam konsantrasyon %5 olduğunda PEO/kazein'de 80/20 oranından sonra kazein oranı artıkça liflerde boncuk oluşumu gözlenmiştir. PEO/kazein toplam konsantrasyonun 10% olduğunda, 20/80, PEO/kazein çözeltisinden elde edilen çapraz bağlanmış elektrospun(ES) membranı, homojen ve tamamen lifli bir yapı göstermişdir. Bununla birlikte, ES membranındaki

lipaz, aynı PVA / lipaz solüsyonundan elde edilen dökme membrandakinden 6 kat daha aktiftir. Bu sonuçlar, ES fibröz membranların, daha yüksek yüzey alanları ve gözenekli yapıları nedeniyle mükemmel enzim taşıyan substrat olarak hizmet edebildiğini göstermektedir. (Xıe ve Hsıeh, 2003)

Diestelhorst ve diğ., çalışmalarında, PAN (poliakrilonitril) elektroçekim solüsyonlarında farklı miktarlarda kazein ile harmanlanmasının sonucunda üretilen nanolif matların morfolojik ve kimyasal modifikasyonlarını incelemişlerdir. Elektroçekim PAN nanoliflerden karbon nanolifleri hazırlamak için, ilk olarak havada nano matı stabilize etmek gereklidir, bu da siklizasyon, oksidasyon, çapraz bağlanma ve dehidrojenasyonla sonuçlanır. İki farklı miktarda PAN (1.6 g ve 1.38 g), dört farklı miktarda kazein (0 g, 0.1 g, 0.2 g, 0.4 g) ile birleştirilip toplamda sekiz elektroçekim çözeltisi hazırlanmış ve elektroçekimlenmiştir. Tüm numunelerin parçaları önce stabilize edilip daha sonra karbonize edildi. Bu tür karbon nanolifler kompozitlerde dolgu olarak kullanılabilir, ancak iletken özelliklerinden dolayı pillerin, süper kapasitörlerin veya boya duyarlı güneş pillerinin parçaları olarak da kullanılabilir. Üretilen nanolif matlar konfokal lazer tarama mikroskobu (CLSM)'unda incelenmiş ve FTIR analizi yapılmıştır. PAN:Kazein oranını dikkatlice uyarlayarak (optimum koşullar 1,36 g PAN, 0,4 g kazein), nispeten kalın lifler oluşturulabilir ve açık bir şekilde stabilize edilebilir ve karbonize edilebilir. Biyopolimer kazeinin, PAN elektroçekim solüsyonuna eklenmesi ile nanofibröz mat morfolojisini modifiye etmek için kullanılabildiğini gösterilmiştir. (Diestelhorst ve diğ., 2020)

Tomasula ve diğ., tarafından yapılan çalışmanın amacı, sulu kalsiyum kazeinat (CaCAS) veya sodyum kazeinat (SC) solüsyonlarından gıda kullanımı için elektroçekim lifler oluşturmak, pullulan (PUL) gibi gıda sınıfı bir taşıyıcı polisakkarit içeren ve içermeyen sulu çözeltiden gıda proteinleri CaCAS ve SC'den lifler oluşturmanın fizibilitesini ve etkisini belirlemektir. Yetersiz zincir dolanmaları nedeniyle saf CaCAS veya SC solüsyonlarından lifler oluşturmak mümkün değildir, ancak kazeinata PULL eklenmesi lif üretimine olanak vermiş ve ayrıca lif oluşumu için gereken PULL konsantrasyonunu düşürmüştür. Çalışmada üretilen matlara TEM ve SEM analizleri yapılmıştır. Sonuçlara göre en düşük lif çapı boyutunu PUL/CaCAS (1: 2) lifleri, taramalı elektron mikroskobuyla belirlenerek, 172 ± 43 nm'lik çap boyutlarını göstermiştir. PULL /SC solüsyonları daha viskozdur ve daha yüksek SC içeriklerinde ara sıra dallanma ve daha

az homojen lif çapları ile lifler oluşturmuştur. Bu çözeltilerde SC'deki azalmalar, viskoziteyi düşürdü ve jet kararlılığını iyileştirdi, bunun sonucunda lif morfolojisinde daha düzgün lif çaplarına yol açan gelişme gözlenmiştir. Daha fazla CaCAS içeren PUL/CaCAS karışımlarından daha az kusurlu ve daha homojen lif çaplarına sahip lifler oluşturulmuştur. Bu da her kazeinatın PULL ile farklı şekilde etkileşime girdiğini ve farklı çözelti koşullarında en iyi lifleri oluşturduğunu göstermektedir. Çalışmada, kalsiyum veya sodyum kazeinatlardan yapılan filmler yiyeceklerle birlikte tüketilebilir, bileşenlerinin taşınmasını önlemek veya bağlamak, antimikrobiyal eklemek veya vitaminler ve probiyotikler gibi besinleri eklemek ve korumak için kullanılabildiği sonucuna ulaşılmıştır. (Tomasula ve diğ., 2016)

Islam ve diğ., çalışmalarında polimer konsantrasyonlarının ve karışım oranlarının PVA/PULL nanoliflerin morfolojileri ve özellikleri üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Bunun için farklı konsantrasyonlara ve karışım oranlarına sahip polimer çözeltileri kullanılmıştır. PVA/PULL, çeşitli kütle oranlarına ve toplam polimer konsantrasyonlarına sahip nanolifleri sulu çözeltilerinden elektroçekimlenmiştir. PVA/PULL karışım oranları 100/0, 80/20, 60/40, 40/60, 20/80 and 0/100 olarak belirlenmiş ve nanolifler üretilmiştir. Üretilen nanoliflere SEM, TGA, DSC, XRD, FTIR analizleri ve çekme testi yapılmıştır. PVA/PULL karışımı nanoliflerde daha yüksek PULL yüzdeleri ile 350 ° C' nin üzerinde daha iyi ısıl kararlılığı ve daha düşük gerilme dayanımı elde edilmiştir. PVA'nınkinden daha yüksek PULL içeriğine sahip PVA / PULL karışım çözeltileri, ortalama 150-300 nm çapında boncuklu nanolif oluşumuna neden olmuş ve yalnızca PULL çözeltisi, ağırlıklı olarak çok ince nanoliflerle bağlanan boncuklar oluşturmuştur. Ağırlıkça %12 toplam polimer konsantrasyonu ve 80/20 ve 60/40 (PVA/PULL) kütle oranlarının, ortalama çapları 400 ~ 800 nm olan tekdüze ve boncuksuz nanolif hazırlamak için uygun olduğu bulunmuştur. (Islam ve diğ., 2014)

Yeum ve diğ., çalışmalarında sulu çözeltilerden hazırlanan PULL/PVA/Ag kompozit nanolifler üzerindeki PVA ve Ag içeriklerinin etkilerinin değerlendirilmesini hedeflemişlerdir. Ayrıca, bu çalışmada PULL/PVA/Ag nanolif'in yeni bir koruyucu materyal geliştirme fırsatı sağlayan antibakteriyel performans özelliği göstermişlerdir. Toplam polimer konsantrasyondaki değişikliklerin lif çaplarına etkisi incelenmiştir. SEM, TEM, XRD, FTIR, TGA analizleri, antibakteriyel aktivite analizi ve mekanik

analiz yapılmıştır. Toplam polimer konsantrasyonunu %12, %14 ve %16 olarak PULL/PVA (60/40) karışım oranında incelenmiştir. Bu iki polimerin ağırlıkça %14'lük toplam polimer konsantrasyonunun, ince ve homojen nanolifler elde etmek için en iyi koşul olduğu bulundu. Mekanik test sonuçlarına göre PVA'nın ağırlık yüzdesi arttıkça hazırlanan hibrit nanoliflerin çekme dayanımı arttı. Optimum PULL-PVA ve Ag içeriğinin 60/40 (%4Ag) kütle oranındaki %14 toplam polimer konsantrasyonunda olduğu sonucuna varılmıştır. Ag içeriğinin ısıl kararlılığı artırabileceği ve harman nanoliflerin antibakteriyel aktivitesini yoğunlaştırabileceği de belirlenmiştir. PULL ve PVA suda çözünür ve biyouyumlu polimerler olduğundan, harmanlanmış sistem, hazırlanan malzemenin yeni bir koruyucu olarak uygun olduğunu gösteren bir koruma testi ile doğrulanan mükemmel antibakteriyel nanoliflerin hazırlanması için en iyi malzemelerden biri olarak düşünülebilir. (Islam ve Yeum, 2013)

Das ve diğ., yaptıkları çalışmanın amacı, çeşitli PULL / PVA karışım oranlarında montmorillonit (MMT) yapılarının etkilerini değerlendirmek ve MMT yapılarının termal sulu çözeltilerden hazırlanan elektroçekim PULL/PVA/MMT kompozit nanoliflerin kararlılığını incelemektir. Farklı oranlarda PULL/PVA/MMT nanolifler üretilmiştir. Nanokil, polimerin fiziksel özelliklerini iyileştirmek için çeşitli kompozitlerde yaygın olarak kullanılır. MMT, yararlı inorganik malzemelerden biridir. Polimerik kompozitlerin mekanik, ısıl, alev geciktirici ve bariyer özelliklerinde küçük miktarlarda (ağırlıkça%1-10) MMT dolgu eklenmesi ile dikkat çekici gelişmesi nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Düzenli olarak paketleme ve tıbbi uygulamalar için kullanılmaktadır. Çalışmada, FTIR, SEM, TEM, XRD ve TGA analizleri ve mekanik test yapılmıştır. Mekanik test sonuçlarına göre PULL/PVA karışımına MMT eklenmesinin daha dayanımlı bir yapıya neden olduğu gözlemlenmiştir. XRD desenleri ve FTIR verileri, PULL ve PVA arasında muhtemelen hidrojen bağlarının neden olduğu iyi etkileşimler olduğunu göstermiştir. PULL / PVA / MMT nanolifleri, sulu çözeltilerden elektroçekme yöntemi ile başarılı bir şekilde üretilebildiği sonucuna ulaşılmıştır. (Islam, Yeum ve Das, 2012)

Qian ve diğ., çalışmada, rutinin elektrospun PULL ve PVA nanoliflere eklenmesinin UV dirençli özellikler elde etmek için araştırılmasını amaçlamıştır. PULL ve PVA arasındaki ağırlık oranlarının ve rutin ilavesinin nanoliflerin morfolojisi ve çapları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada, SEM ve FTIR analizi ve UV performans testi yapılmıştır. FTIR

sonuçları, PULL ve PVA arasında ayrıca bu polimerler ve rutin arasında bir hidrojen bağının oluştuğunu göstermiştir. SEM sonuçları, PVA içeriği arttıkça ortalama çapın arttığını gösterdi. Rutin miktarı %8.54'ten fazla olduğunda boncuklu lifler oluştu. Rutin ilavesi, sert yapısı nedeniyle mekanik özellikleri artırabilir ve UVA ve UVB' nin geçirgenliğini %5'in altına düşürebilir; bu arada ultraviyole koruma faktörü (UPF) değeri rutin içeriği sırasıyla %4,46 ve %5,67 iken 40 ve 50'nin üzerine çıkmıştır. Bu nedenle, elektrospun PULL/PVA/Rutin nanofibröz matlar mükemmel UV direnci göstermiştir ve anti-ultraviyole paketleme ve kaplama malzemelerinde potansiyel uygulamalara sahip olduğu bildirilmiştir. (Qian ve diğ., 2016)

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan malzemeler poli(vinil alkol)(PVA), sodyum kazeinat(SC), gluteraldehit(GLA), gümüş nanopartikül (Ag NP) ve çinko oksit nanopartikül (ZnO NP)'dir. PVA/SC nanoliflerinin çapraz bağlanma işlemi için GLA kullanılmıştır. Nanoliflere antibakteriyel özellik sağlanabilmesi için Ag NP ve ZnO NP ilavesi yapılmıştır. PVA polimeri, Arkem Kimya şirketinden Kuraray Poval 49-88 ismiyle satın alınmıştır. Kullanılan PVA'nın hidroliz derecesi 87-89 (mol%)'dür. SC, Acros Organics firmasından temin edilmiştir. Alfa Aesar firmasından satın alınan GLA'nın, %50'lik sulu çözeltisi kullanılmıştır. Nanolif üretimi için kullanılacak olan çözeltilere eklenen Ag ve ZnO NP'ler Nanografi A.Ş' den temin edilmiştir. Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında kullanılan tüm malzemeler ve özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Deneysel çalışmada kullanılan malzemeler

Malzemeler	Temin Edildiği Firma	Özellikleri
PVA	Arkem Kimya	Vizkozite (mPas), 45-52 Kül içeriği, ≤ 0.4 % pH 5.0-7.0 Yoğunluk, 1,19 g/cm^3
SC	Acros Organics	Protein (kuru bazda), ≥90,00% Kül içeriği, ≤6.00% Nem, ≤6.00% Laktoz, ≤1.00% Viskozite, 200-3000mPa.s pH, 6.0-7.5
GLA	Alfa Aesar	%50 Sulu Çözeltisi Molekül Ağırlığı, 100.12 g/mol Yoğunluk, 1.123 g/cm^3
Ag NP	Nanografi A.Ş	Saflık: %99,995 Boyut: 35 nm Yoğunluk, 10,6 g/cm^3
ZnO NP	Nanografi A.Ş	Saflık: %99,995 Boyut: 20nm Yoğunluk, 5,5 g/cm^3

4.2. Yöntem

Tez çalışmasının deneysel bölümü üç ana kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısım farklı oranlarda PVA ve SC karışımından elektroçekim yöntemiyle nanolif oluşturulmasıdır. Biri saf PVA olmak üzere toplam 7 farklı oranda nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan karışım bileşimleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Nanoliflerin hazırlanması için %7 (w/v)'lik konsantrasyona sahip PVA çözeltisi, %10 (w/v)'luk konsantrasyona sahip SC çözeltisi kullanılmıştır. Konsantrasyon oranları ağırlık/hacim (w/v) olarak hazırlanmıştır. PVA ve SC toz halde bulunmaktadır. PVA çözeltisi 20 ml suya 1.4 g PVA eklenerek ve SC çözeltisi de 20 ml suya 2 g SC eklenerek hazırlanmıştır. Farklı oranlarda nanolif karışımları, hazırlanan çözeltilerden hacim olarak belirlenen yüzde oranlarında karıştırılarak hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan çözeltiler elektroçekim için hazır hale getirilmiştir. Elektroçekim işlem koşulları, besleme hızı 0.2 ml/sa, uygulanan voltaj 18 kV, toplayıcı iğne ucu arasındaki mesafe 15 cm olarak belirlenmiştir. Elektroçekim süresi 5 saat sürmüştür.

Tablo 4.2. PVA/SC karışım nanoliflerin bileşimleri ve kodları

Numune Kodu	Bileşen	%Bileşim
PVA	PVA	100
90PVA10SC	PVA/SC	90/10
80PVA20SC	PVA/SC	80/20
70PVA30SC	PVA/SC	70/30
60PVA40SC	PVA/SC	60/40
50PVA50SC	PVA/SC	50/50
40PVA60SC	PVA/SC	40/60

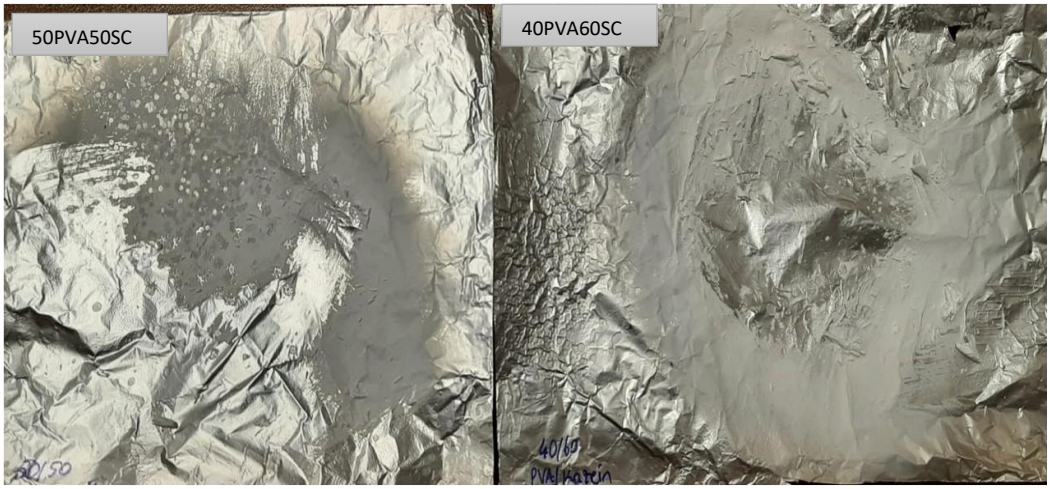
PVA moleküler dolanmayı arttırarak lif oluşturma yeteneğine sahip bir polimer olduğu için karışımdaki PVA oranı yükseldikçe daha iyi lifler elde edilmektedir. Kazein yapısı dolayısıyla lif oluşturma özelliğine sahip değildir. Yara örtü malzemesi olarak kullanımı araştırıldığı için kazein oranının en uygun seviyede tutulması gereklidir. Yapılan karakterizasyon testlerinin sonucunda bu tez çalışması için karışım oranı %70 PVA ile

%30 SC'nin olduğu nanolifin optimum özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.1'de elektroçekim yöntemiyle üretilen, alüminyum folyo üzerine biriktirilen, elektroçekim işlemiyle başarı bir şekilde üretilen 70PVA30SC nanolif görüntüsü verilmiştir.

Şekil 4.2'de 50PVA/50SC ve 40PVA60SC oranındaki elektroçekim sonucu liflenme gerçekleşmeyen, düzgün bir şekilde alüminyum folyodan ayrılmayan nanolif görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.1. Elektroçekim yöntemiyle üretilen 70PVA30SC nanolifi görüntüsü



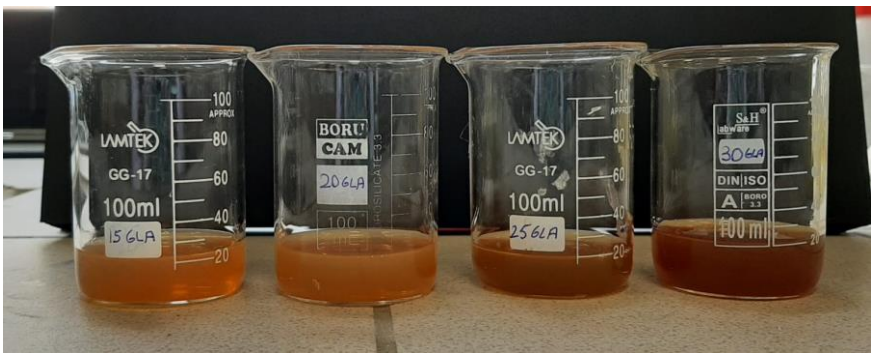
Şekil 4.2. Liflenme gerçekleşmemiş nanolif görüntüleri

Çalışmanın ikinci bölümü PVA/SC karışımının GLA ile çapraz bağlanmasından sonra elektroçekim işlemiyle nanolif üretimidir. PVA ve SC'nin çözücüsü su olduğu için suya dayanıklılığı bulunmamaktadır. Nemli ortamlara karşı su dayanımının olması amacıyla PVA/SC nanoliflerinin çapraz bağlanması gerekmektedir. Tablo 4.3'de çapraz bağlı PVA/SC karışımlarının bileşimleri verilmiştir. Birinci kısımda karakterizasyon test sonuçları değerlendirilerek karar verilen optimum karışım oranı olan 70PVA30SC nanolif çözeltisine 2 farklı yöntemle GLA çapraz bağlayıcısı eklenmiştir.

Tablo 4.3. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin bileşimleri ve kodları

Numune Kodu	**Bileşen**	**%Bileşim**
7030-15GLA	PVA-SC/GLA	85/15
7030-20GLA	PVA-SC/GLA	80/20
7030-25GLA	PVA-SC/GLA	75/25
7030-30GLA	PVA-SC/GLA	70/30
7030-D	PVA-SC/GLA	98,5/1,5

Birinci yöntemde PVA/SC çözeltisine GLA eklenip, karıştırılarak çapraz bağlanması sağlanmıştır. 4 farklı oranda çapraz bağlayıcı eklenmiştir. 70PVA30SC çözeltisine v/v olacak şekilde farklı oranlarda GLA eklenmiştir. Şekil 4.3'te %15, 20, 25 ve 30 olmak üzere eklenen GLA çözeltileri verilmiştir. Sırasıyla eklenen GLA miktarları 3 ml, 4 ml, 5 ml ve 6 ml'dir. Şekil 4.3'te GLA miktarı arttıkça çözelti renginin koyulaştığı görülmektedir. Hazırlanan 70PVA30SC çözeltisine GLA yavaşça ilave edilmiştir, 1 saat 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda 350 rpm'de karıştırılmıştır. Bu şekilde elektroçekim işlemi için hazır hale getirilmiştir.



Şekil 4.3. GLA eklenen çözeltiler

İkinci çapraz bağlama yöntemi ise daldırma yöntemidir. Daldırma yönteminde, önce PVA/SC nanolifi üretilmiş ve hazırlanan GLA çözeltisi içerisine PVA/SC nanolifleri daldırılarak (atılarak) çapraz bağlanma işlem gerçekleştirilmiştir. Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanma işlemi, literatürde Üstündağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre açıklanan şekilde gerçekleştirilmiştir. (Üstündağ ve diğ., 2010) Daldırma işlemi için, GLA çözeltisinin reçetesi; 0.15 M GLA %50 (0,3 ml), 0.05 M hidroklorik asit (HCl) %37 (0,034 ml) ve aseton (19,666 ml) karıştırılarak 20 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. PVA/SC nanolifinden 3x1 cm boyutunda kesilen parça 24 saat GLA çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Şekil 4.4a'da GLA çözeltisi içerisinde bekletilen nanoliflerin görüntüsü verilmiştir. 24 saat sonunda çözeltiden çıkarılan nanolif etil alkolde 5 dakika bekletildi. Şekil 4.4b'de ise 24 saat sonunda etil alkolde bekletilen nanoliflerin görüntüsü verilmiştir. Daha sonra PVA/SC nanolifi fosfat tampon çözeltisinde 3 kere yıkanmıştır. Yıkandıktan sonra etüvde 50 °C'de 1 saat kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra 30 ml saf suyun içerisine atılmıştır ve 24 saat bekletilmiştir. Daldırma yöntemiyle elde edilen çapraz bağlı PVA/SC nanolifinin %1,5 GLA içerdiği hesaplanmıştır. Daldırma yöntemiyle üretilen çapraz bağlı nanolife 7030-D kodu verilmiştir.



Şekil 4.4. a) Çözelti içerisinde bekletilen nanolifler b) Etil alkolde bekletilen nanolifler

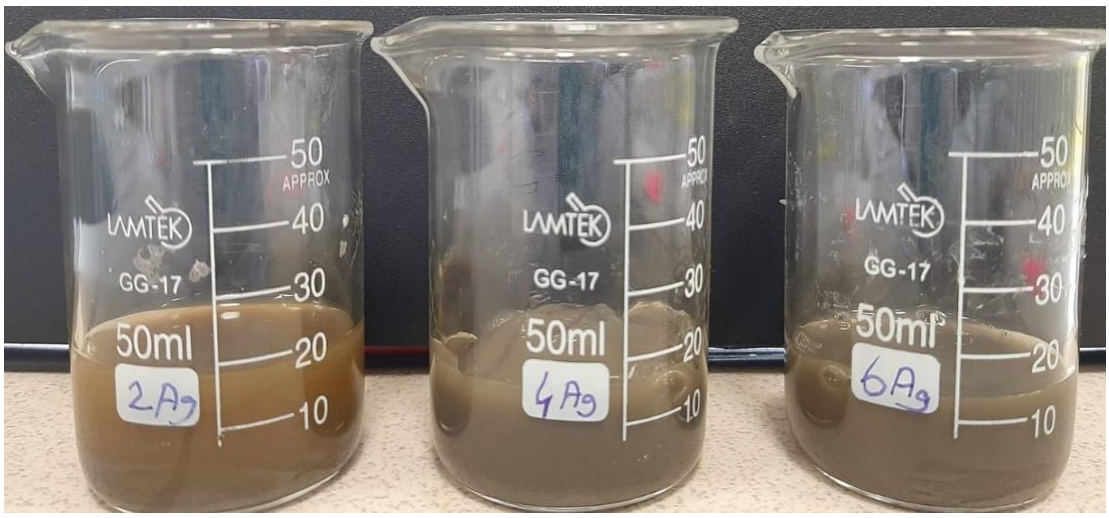
Karakterizasyon sonuçlarına bakıldığında en uygun sonuçlar 7030-25GLA nanolifinindir. Tez çalışmasına bu bileşim ile devam edilmiştir. Üçüncü kısım birinci yöntemle çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerine antibakteriyel etki sağlanması için Ag NP ve ZnO NP eklenmesidir.

Ag NP ve ZnO NP'nin antibakteriyel etkisini değerlendirmek için hazırlanan 7030-25GLA çözeltilerine NP'ler ilave edilerek nanolifler hazırlanmıştır. Ag NP ve ZnO NP, toplam katı miktarına göre eklenmiştir. Önce toplam katı miktarı hesaplanıp Ag NP ve ZnO NP miktarları belirlenmiştir. %2, %4 ve %6 olmak üzere 3 farklı oranda Ag NP ilavesi ve yine aynı şekilde %2, %4 ve %6 olarak 3 farklı oranda ZnO NP ilavesi yapılmıştır. Tablo 4.4'de antibakteriyel ajan olarak Ag NP ve ZnO NP eklendikten sonra üretilen karışımların bileşimleri verilmiştir.

Tablo 4.4. Ag NP ve ZnO NP ilaveli nanoliflerin numune kodları ve bileşimleri

NUMUNE KODU	BİLEŞEN	%BİLEŞİM
7030-25GLA-2Ag	PVA-SC-GLA/Ag	98/2
7030-25GLA-4Ag	PVA-SC-GLA/Ag	96/4
7030-25GLA-6Ag	PVA-SC-GLA/Ag	94/6
7030-25GLA-2Zn	PVA-SC-GLA/Zn	98/2
7030-25GLA-4Zn	PVA-SC-GLA/Zn	96/4
7030-25GLA-6Zn	PVA-SC-GLA/Zn	94/6

Şekil 4.5'te görüldüğü gibi Ag NP ilavesiyle birlikte çözelti renginde koyulaşma meydana gelmiştir. Şekil 4.6'da nanolif görüntüsü verilmiştir. Aynı şekilde nanolif görüntüsü de gri renklidir.

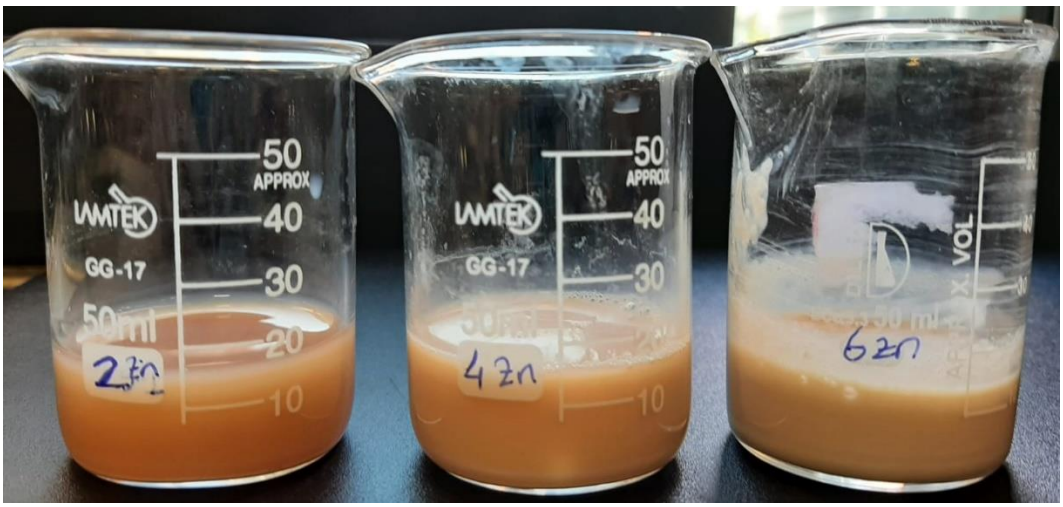


Şekil 4.5. Ag NP ilaveli PVA/SC çözeltileri



Şekil 4.6. Elektroçekim işleminde üretilen nanolif (7030-25GLA-2Ag)

7030-25GLA çözeltisine ZnO NP ilavesiyle birlikte şekil 4.7'de görüldüğü gibi çözelti renginde açılma meydana gelmiştir. 7030-25GLA çözeltisine %6 ZnO NP eklenmesiyle birlikte oluşturulan çözeltinin, şekil 4.8a'da elektroçekim işlemi sırasında çekilmiş bir görüntüsü verilmiştir. Elektroçekim işleminde kullanılan şırınganın iğne ucu %6'lık ZnO NP oranındaki fazlalık (çözeltideki yoğun viskozite) nedeniyle damlatma ve sonrasında tıkanma yapmıştır. Şekil 4.8b, 7030-25GLA çözeltisine %4 ZnO NP eklenmesiyle birlikte başarılı bir şekilde üretilen nanolif görüntüsüdür. Nanolif rengi turuncuya benzer bir renk vermektedir.



Şekil 4.7. ZnO NP ilavesi yapılan PVA/SC çözeltileri



Şekil 4.8. a) Elektroçekim işlemi(7030-25GLA-6Zn), b) Elektroçekim işleminde üretilen nanolif (7030-25GLA-4Zn)

4.3. Karakterizasyon

4.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Nanolif numunelerinin morfolojik olarak incelenmesi ve lif çapı dağılımının belirlenmesi için her bir nanolife ayrı ayrı SEM analizi yapılmıştır. SEM analizi şekil 4.9'da görülen Quanta 400F Field Emission markalı SEM cihazıyla gerçekleştirilmiştir. SEM analizleri ve EDX analizleri ODTÜ Merkez Laboratuvarından hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanolifler 1 x 1 cm^2 oranında kesilerek SEM analizi için hazırlanmıştır. SEM analizi için nanolif matları iletkenlik sağlanması için altın ile kaplanır.



Şekil 4.9. Çalışmada kullanılan SEM cihazı

4.3.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

FTIR analizleri Şekil 4.10'da görseli verilen, Perkin Elmer Spectrum 100 infrared spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Nanolif örnekleri için dalga boyu aralığı 650-4000 cm^{-1} olarak belirlenmiştir. Nanoliflerin FTIR analizi ile spektrumlar elde edilmiştir. Bu spektrumlar incelenerek moleküler yapı, kimyasal etkileşimler ve önemli karakteristik kimyasal bağlar belirlenmektedir.



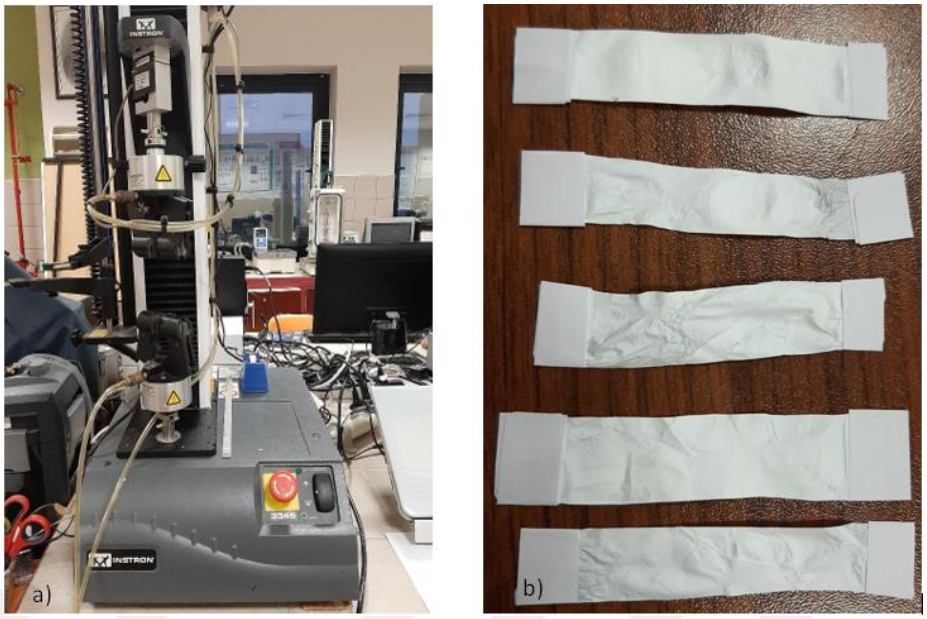
Şekil 4.10. Çalışmada kullanılan FTIR cihazı

4.3.3. Çekme Testi

Üretilen nanoliflerin çekme testleri ASTM D882 standardına göre Instron Universal çekme testi cihazında yapılmıştır. Şekil 4.11a'da kullanılan çekme testi cihazı verilmiştir. Çekme testi, 10 mm/dk çekme hızı ve 25 °C oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Üretilen her nanolif için 5 adet numune hazırlanıp, test edilmiştir. Çekme testi numuneleri boyu 7 cm ve eni 1,5 cm olacak şekilde hazırlanmıştır. Çekme testi numunelerinin boyutlarında farklılık olduğunda çekme testi cihazına bilgileri girilmiştir.

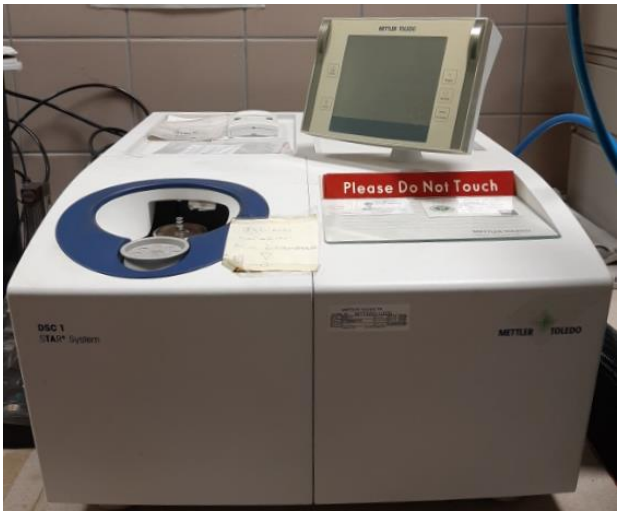
Şekil 4.11b'de çekme testi numune örnekleri gösterilmiştir. Çekme testiyle üretilen nanoliflerin çekme dayanımları ve kopma uzamaları yapılan 5 çekme testinin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.11. a) Çalışmada kullanılan çekme testi cihazı b) Çekme testi numuneleri

4.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Diferansiyel taramalı kalorimetre analizi nanoliflerin ısıl özelliklerinin belirlenmesi için yapılmıştır. DSC analizleri Metler Toledo DSC cihazında gerçekleştirilmiştir. Analiz için 25°C -350 °C sıcaklık aralığı belirlenmiştir. Analiz azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir, ısıtma hızı ise 10 °C/dk olarak uygulanmıştır. Analiz sonucunda her numune için camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklığı(T_m) ve entalpi değerleri elde edilmektedir. Şekil 4.12'de çalışmada kullanılan DSC cihazı verilmiştir.



Şekil 4.12. Çalışmada kullanılan DSC cihazı

4.3.5. Nem Testi

Nanolif numunelerinin içerisindeki nem miktarının belirlenmesi amacıyla nem testi yapılmıştır. Nanoliflerin nem içeriği yüzdesi (moisture content-MC) olarak tanımlanmıştır. Nanolifler 1 x 1 cm^2 oranında kesilerek nanolif numuneleri hazırlanmıştır. Numuneler ilk olarak tartılmaktadır (M_i) sonra etüvde 105 °C sıcaklıkta 24 saat kurutulmaktadır. Kurutulan nanolif numuneleri tekrar tartılmaktadır (M_f). Elde edilen veriler aşağıdaki denklem (4.1)'de yerine koyularak numunelerin nem içerikleri (MC) bulunmuştur.

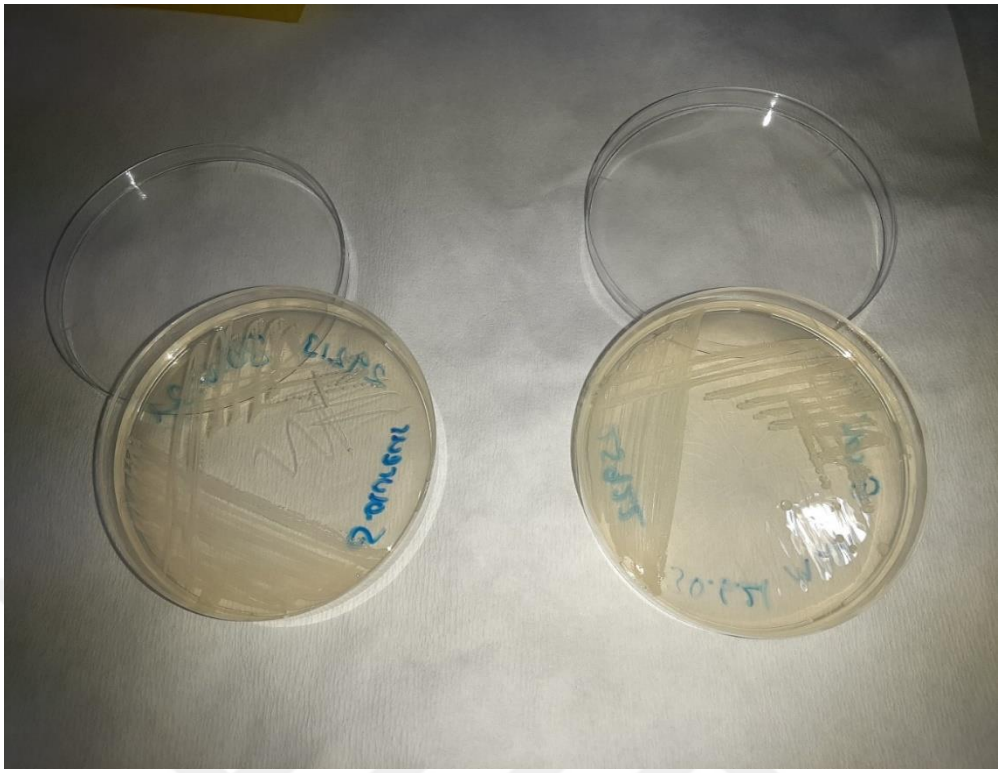
$$MC = [(M_i - M_f)/ M_i] x100 \quad (4.1)$$

4.3.6. In-Vitro Antibakteriyel Test

Tez çalışmasında gerçekleştirilen antibakteriyel test, Gram pozitif bakterisi *Staphylococcus aureus (S.aureus)* AATCC 29213 ve Gram negatif bakterisi *Escherichia coli (E.coli)* AATCC 25922 bakterileri için gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan bakteriler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Ag NP ve ZnO NP ilaveli nanoliflerin bu bakterilere karşı in vitro antibakteriyel etkinlik testleri Agar Plak Koloni Sayımı yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

Bakteri kütüphanesinde -80 °C'de tutulmakta olan bakteriler yeniden canlandırılmak için taze kültürü yapılmıştır. *S. aureus* için besiyeri olarak %5 (KKA) (RTA, Türkiye) *ve E. coli* için besiyeri Eosin Methylene Blue Agar (EMB) (MERCK, Almanya) kullanılmıştır.

Şekil 4.13'te bakterilerin ekildiği besiyerleri verilmiştir. Soldaki petri kabına ekilen bakteri S. Aureus, sağdaki petri kabına ekilen bakteri *E. Coli*'dir. Mikroorganizmaların alt kültürlerinin besiyerleri Mueller Hinton Agar (MHA) (MERCK, Almanya)'dir ve 37 °C sıcaklıkta 18-24 saat inkübe edilmiştir. Alt kültürü gerçekleştirilen bakteriler 10 ml MHB besiyerinde bulanıklık değeri 0.5 McFarland ($1,5x10^8$ CFU/ml) olarak ayarlanmıştır. Sonra bakteri süspansiyonu serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile 10'ar kat seyreltilmesiyle 10^{-4} CFU/ml konsantrasyona kadar seyreltilmiştir. Nanolif numuneleri 1x1 cm^2 boyutlarında kesilerek hazırlanmış, hazırlanan numunelerin iki yüzeyi de UV ışığında sterilize edilmiştir. Şekil 4.14'te UV strilizasyon cihazı verilmiştir.



Şekil 4.13. *S. Aureus* ve *E. Coli* ekilmiş besiyerinde gerçekleştirilen alt kültürü

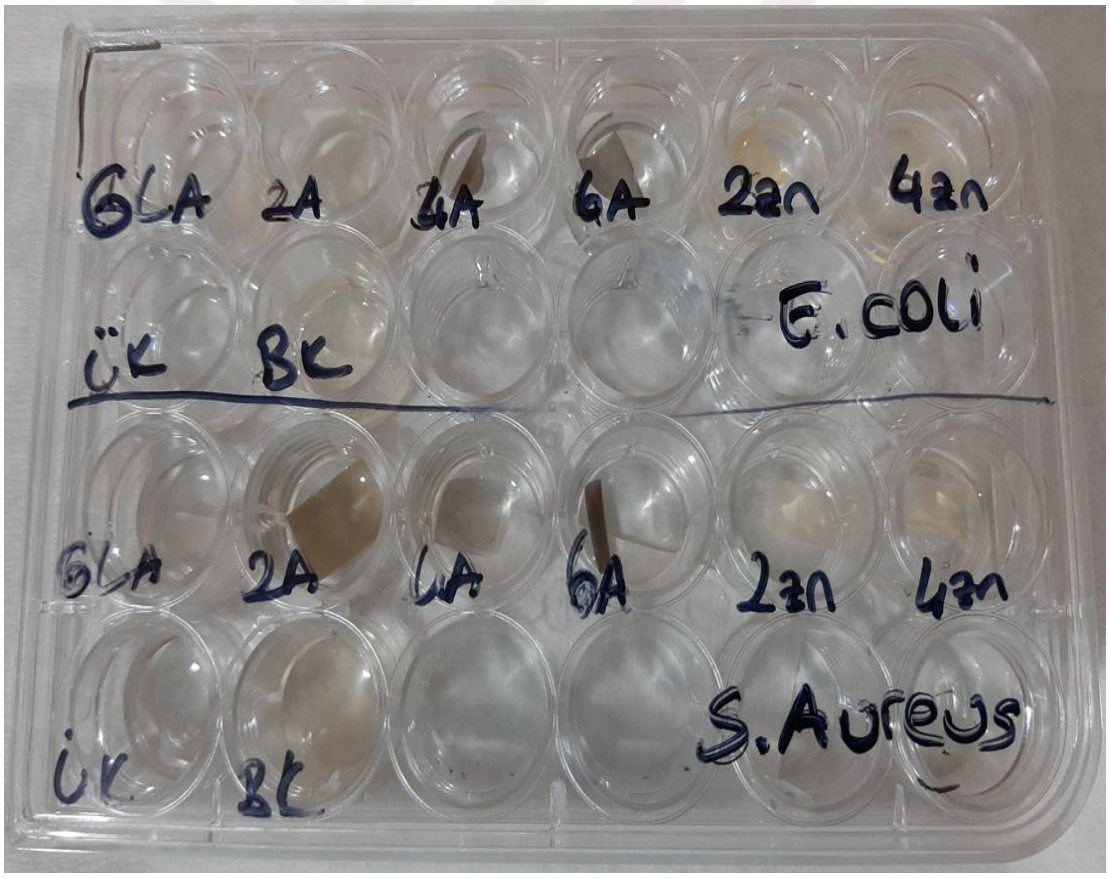


Şekil 4.14. Nanoliflerin UV sterilizasyon cihazında sterilizasyonları

Sterilizasyon işlemi gerçekleştirilen nanolifler 24 kuyulu bir kültür plağına yerleştirilmiştir. Hazırlanmış olan bakteri süspansiyonu (10^4 CFU/ml), yerleştirilen nanolif kuyularına 600 ml olacak şekilde konulup inkübe edilmiştir.

İşlem 37 °C'de 24 saat gerçekleştirilmiştir. Nanolif numunelerinin antibakteriyel etkinliklerinin 6 saat aralıklı olarak incelenmesi için, 0, 6, 12 ve 24. saatlerinde numune kuyularından 20 µL alınarak MHA besiyerine ekilmiştir. Üreme kontrol olarak 10^4 CFU/ml bakteri süspansiyonu kullanılmıştır.

Şekil 4.15'te 24 adet kuyu içeren kültür plaklarında bakteri süspansiyonu ile birlikte inkübe edilen numuneler görülmektedir. Nanolif numuneleri inkübe edildikten sonra MHA besiyerinde CFU/ml'nin bulunabilmesi için koloni sayımı yapılmıştır. Hata olmaması için testler 3 kez tekrarlanmıştır.



Şekil 4. 15. 24 kuyulu kültür plaklarında bakteri süspansiyonu ile inkübe edilen nanolifler

4.3.7. Sitotoksisite Testi

Fibroblast Hücrelerinin Üretilmesi

Nanoliflerin sitotoksik (biyouyumluluk) özelliklerinin araştırılması için fare fibroblast hücreleri (L929, ATCC, CCL-1) kullanılmıştır. Hücre stoğu sıvı azottan çıkarılarak önceden 37ºC'ye ayarlanmış su banyosunda (Nüve, Türkiye) çözülmüştür. Çözülen hücreler 10 ml hücre çözme besiyeri (%80 DMEM (Gibco, ABD)) + %20 FBS (Gibco, ABD) içeren tüp içerisine damla damla bırakılmıştır. Tüp, soğutmalı santrifüjde (Hettich, Almanya) +4ºC'de 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Bu esnada, hücrelerin pasajlanmasında kullanılacak olan besiyeri [DMEM besiyeri içerisine %10 FBS, %1,4 L-Glutamin (200 mM) (Gibco, ABD) ve %1 Penisilin/Streptomisin (100x) (Gibco, ABD)] hazırlanmıştır. Santrifüj sonrasında, hücreler üzerindeki üst faz uzaklaştırılmıştır. Hücre pasaj besiyerinden 1 ml alınıp hücreler üzerine bırakılmıştır ve pipetaj yapılarak hücreler süspanse edilmiştir. Hazırlanan besiyerinden 75 cm^2'lik hücre kültür flasklarına (Nest, Çin) 10 ml eklenmiştir. Süspanse edilen hücrelerden 1'er ml alınıp içerisinde besiyeri bulunan flasklara damla damla ilave edilmiştir. Flasklar %5 CO_2 içeren 37ºC'lik etüvde (N-Biotek, Güney Kore) inkübasyona bırakılmıştır. Hücrelerin çoğalma durumu her gün kontrol edilmiştir. Hücrelerin %80 konfluent olduğu durumda hücreler yeni flasklara pasajlanmıştır. Flasklar %5 CO_2 içeren 37ºC'lik etüvde %80 konfluent olana kadar (48-72 saat) inkübasyona bırakılmıştır.

Hücreler her gün etüvden çıkartılıp inverted mikroskopta (Zeiss, Almanya) incelenmiştir. Uygun durumdaki (%80 konfluent) hücrelere sayım işlemi yapılmıştır. Öncelikle hücrelerin üzerindeki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Sonrasında hücreler bir miktar fosfat tamponu (PBS) (Gibco, ABD) ile yıkandıktan sonra, hücrelerin flask yüzeyinden kalkması için üzerlerine 1 ml tripsin solüsyonu (Gibco, ABD) eklenmiştir. Flask 37ºC'lik etüvde 5 dakika bekletilmiştir. Sonra hücrelerin üzerlerine 10 ml PBS eklendi ve pipetleme yapılarak hücrelerin flask yüzeyinden iyice ayrılması sağlanmıştır. Pipet yardımıyla toplanan hücreler tüp içerisine alınmıştır ve 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz atıldıktan sonra hücreler 1 ml pasaj besiyeri ile süspanse edilmiştir. Eldeki hücre sayısının belirlenmesi için Neubauer lamı (Witeg, Almanya) ile sayım yapılmıştır. Hücreleri sayılabilecek miktara seyreltmek için 1 ml'lik hücre süspansiyonundan 50 µl alınıp üzerine 450 µl PBS eklenerek 10 kat sulandırma

yapılmıştır. Bu karışımdan 50 µl alınıp üzerine 50 µl %0,4'lük trypan mavisi boyası eklenmiştir ve karıştırılmıştır. Bu karışımdan 10 mikrolitre alınıp lam ile lamel arasına kenardan bırakılmıştır. Daha sonra 10x'lik objektifte dört farklı $1mm^2$'lik alanın sayımı yapılmıştır. Çıkan sayılar toplanıp dörde bölünerek ortalama hücre sayısı hesaplanmıştır. Aşağıdaki formüller kullanılarak, toplam canlı hücre sayısı belirlenmiştir:

n: Bir mililitredeki hücre sayısı
n= Ortalama hücre sayısı x seyreltme katsayısı (20) x 10^4

Sayım sonrasında hücreler üzerine uygun hacimde besiyeri ilave edilerek $1x10^4$ hücre/200 mikrolitre oranında hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Bu solüsyondan 96-kuyulu kültür pleytinin kuyularına 200'er mikrolitre bırakılmıştır. Pleyt %5 CO_2 içeren 37^oC'lik etüvde 24 saat inkübasyona için bekletilmiştir.

Ekstraksiyon İşleminin Gerçekleştirilmesi

Hücrelerin inkübasyonu esnasında bir yandan nanolifler steril edilmiştir. Bu amaçla biyogüvenlik kabininin UVC ışığı kullanılmıştır. Numunelerin her iki yüzü 30 dakika boyunca UVC ışığına maruz bırakılmıştır. Steril edilmiş numuneler, her bir numune ayrı bir tüpte olacak şekilde, 15 ml'lik steril tüplere transfer edilmiştir.

Ekstraksiyon işleminde kullanılmak üzere DMEM içerisinde %10 FBS, %1,4 L-Glutamin ve %1 Penisilin/Streptomisin içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinden numunelerin bulunduğu her bir tüpe 1 ml transfer edilmiştir. Tüpler %5 CO_2 içeren 37^oC'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlem ile nanoliflerde bulunan etken maddelerin besiyerine ekstrakte edilmesi sağlanmıştır.

Sitotoksisite Çalışması

Ekstraksiyon süresi tamamlandıktan sonra tüpler etüvden çıkarılmıştır ve pipetaj yapılmıştır. Bir gün önce inkübasyona bırakılan 96-kuyulu kültür pleyti inverted mikroskopta incelenmiştir. Hücrelerin %80 konfluent olduğu görüldükten sonra hücrelerin üzerindeki besiyerleri alınmıştır ve kuyulara ekstraksiyon sıvılarından 200'er mikrolitre eklenmiştir. Her bir numuneye ait ekstraksiyon sıvısı 3 farklı kuyuya ilave edilerek 3 tekrar çalışılmıştır. İçerisinde normal hücre kültür sıvısı bulunan 3 kuyu negatif

sitotoksisite kontrolü olarak kullanılmıştır. Pozitif sitotoksisite kontrolü olarak kullanılmak üzere, normal hücre kültür sıvısının içerisine %1 (hacim/hacim) olacak şekilde Triton X-100 (Sigma) ve 500 mikrogram/mililitre olacak şekilde Geneticin (Gibco) ilave edilmiştir. Bu sıvıdan 3 kuyuya 200'er mikrolitre ilave edilmiştir. Pleytler %5 CO_2 içeren 37^oC'lik etüvde 24 saat inkübe edilmiştir.

Canlı Hücre Miktarının Belirlenmesi

İnkübasyon süresi sonrasında WST-1 testi (BioVision, ABD) ile kuyulardaki canlı hücre sayısı belirlenmiştir. WST-1 testi üreticisinin önerisi doğrultusunda, hücre kültür ortamında bulunan hücreler üzerine, kültür sıvısının %10'u kadar WST-1 solüsyonu ilave edilmiştir. Bu amaçla, pleytteki tüm kuyulara WST-1 solüsyonundan 20 mikrolitre eklenmiştir. Pleytler %5- CO_2 içeren 37^oC'lik etüvde 2 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonrasında pleytler çalkalayıcıda 1 dakika boyunca çalkalanmıştır. Kuyulardaki sıvıların homojen şekilde karıştığından emin olunduktan sonra, tüm kuyulardan 100'er mikrolitre sıvı alınmıştır ve 96-kuyulu pleyt kuyularına bırakılmıştır. Her bir numunenin bulunduğu kuyudan 2 farklı ölçüm yapılmıştır. 96-kuyulu pleyt mikroplaka okuyucusuna yerleştirilmiştir ve 450 nanometre dalga boyunda absorbans (Ab) ölçümü yapılmıştır. Hücre canlılığı aşağıdaki formüle (denklem 4.2) göre hesaplanmıştır.

$$\text{Canlı hücre (\%)} = [Ab_{\text{numune}} - Ab_{\text{blank}}] / [Ab_{\text{negatif kontrol}} - Ab_{\text{blank}}] \times 100 \qquad (4.2)$$

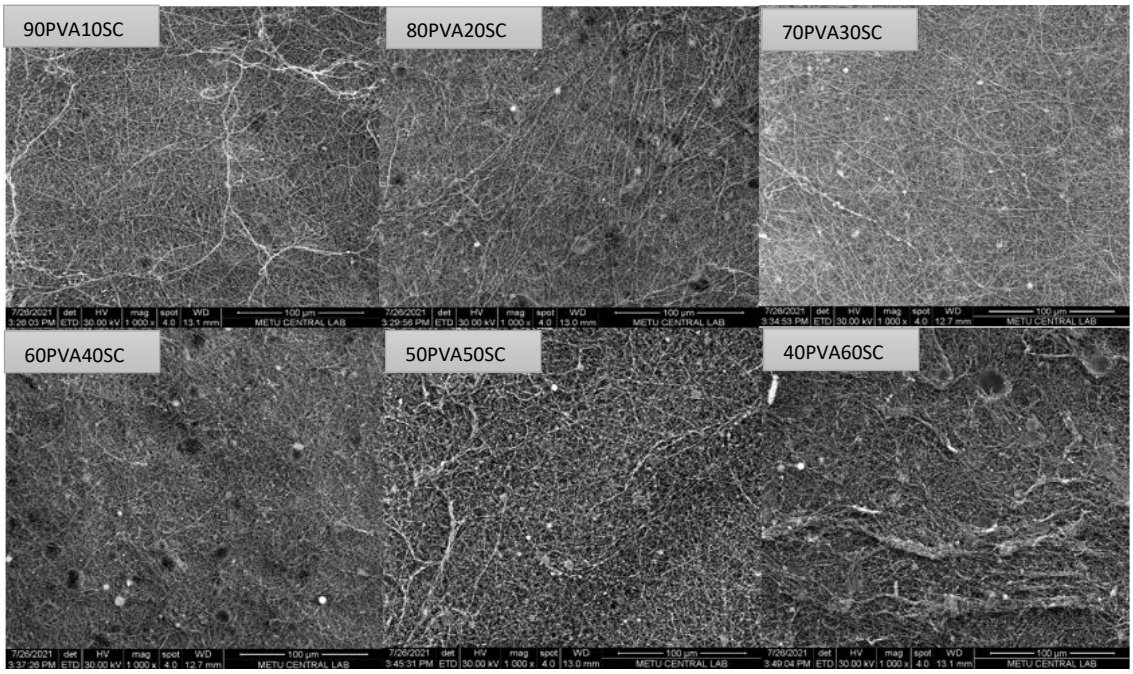
Her bir nanoliflere ait 2 farklı ölçümün ortalaması alınarak bir hücre canlılığı oranı elde edilmiştir. Nanolifler ve kontrol numuneleri arasındaki hücre canlılığı değerleri karşılaştırılmıştır.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

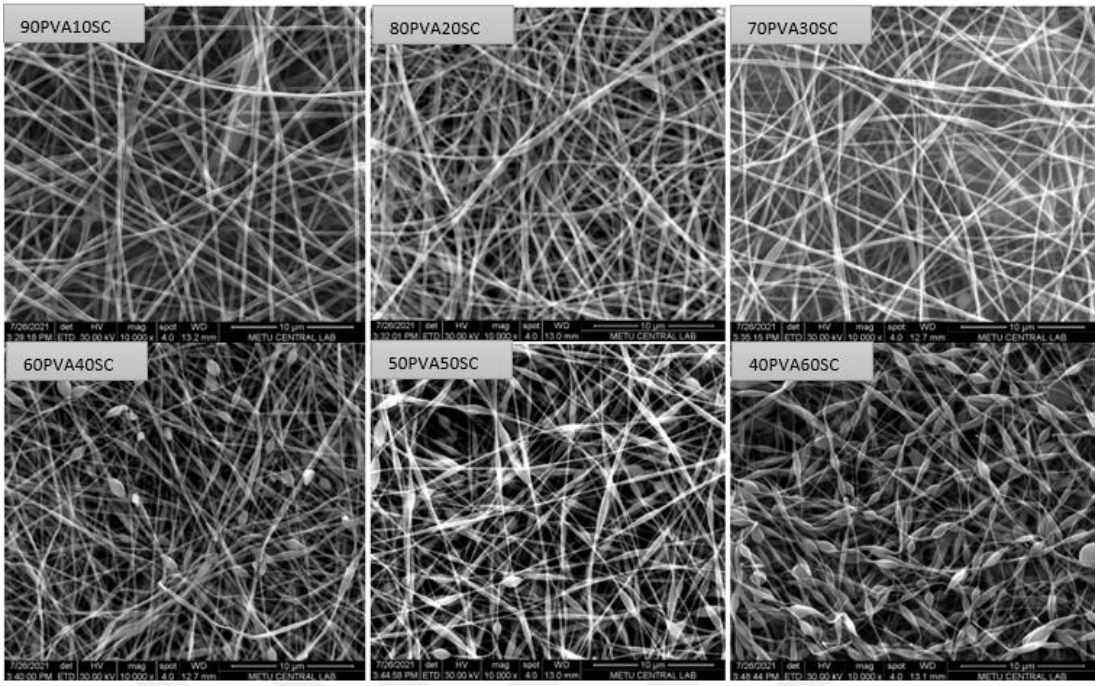
5.1. PVA/SC Nanoliflerin Karakterizasyon Sonuçları

5.1.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları

Şekil 5.1'de PVA/SC nanoliflerinin 1000x büyütmede SEM görüntüleri gösterilmiştir. Çok yakın olmayan bu SEM görüntülerine göre 50PVA50SC ve 40PVA60SC oranlarında üretilen nanoliflerin belirli bir şekilde kalın ve düzensiz lif bölgeleri olduğu söylenebilir. Şekil 5.2'de üretilen PVA/SC nanoliflerinin 10.000x büyütmedeki SEM görüntüleri gösterilmektedir. Bu SEM görüntülerde lifleri görmek daha kolaydır. 1000x yakınlaştırmada lif oluşumunun durumu belli olmayan 60PVA40SC nanolifinin boncuk oluşturduğu gözlemlenmiştir. Karışımdaki SC oranı %30'un üzerine çıktığında boncuk oluşumu gözlemlenmeye başlamış ve SC oranı arttıkça boncuk oluşumunda da artış meydana gelmiştir. 90PVA10SC, 80PVA20SC ve 70PVA30SC nanoliflerinin görüntülerinde düzgün ve homojen yapılı lifler meydana geldiği görülmektedir. Biranje ve diğ., yaptıkları çalışmada da karışımda PVA oranı arttıkça daha düzgün boncuksuz liflerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. (Biranje ve diğ., 2019) SEM görüntülerinde ince lif çaplarına sahip nanolifler elde edildiği söylenebilir.

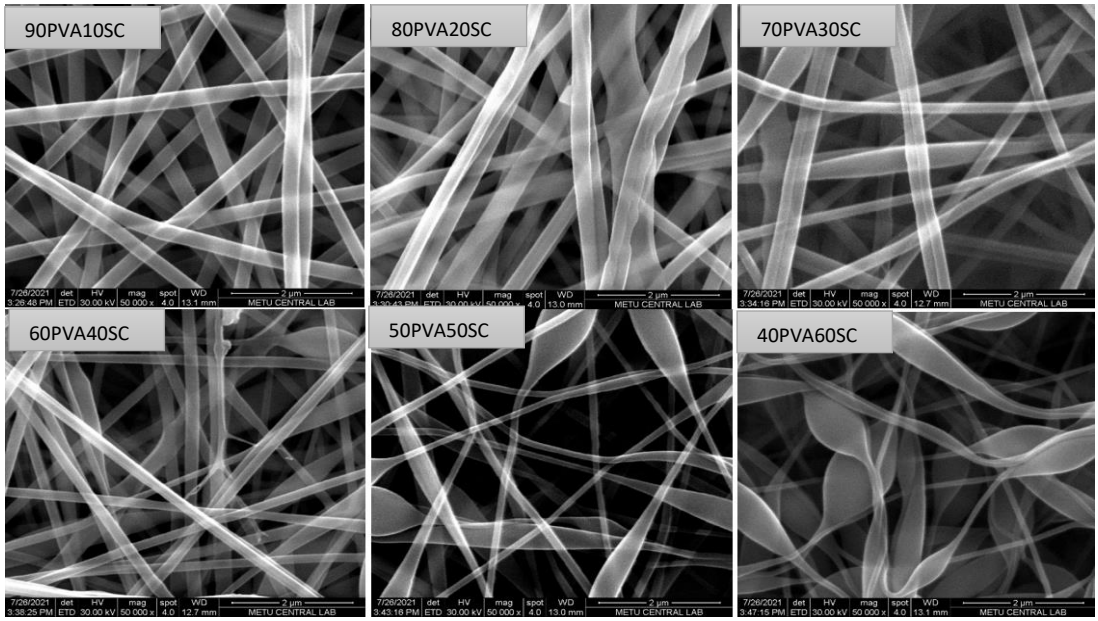


Şekil 5.1. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 1000x)



Şekil 5.2. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 10.000x)

PVA/SC nanoliflerin yakından görülmesi açısından şekil 5.3'te 50.000x büyütme ile elde edilen görüntüler verilmiştir. 90PVA10SC, 80PVA20SC VE 70PVA30SC nanoliflerinde düzenli ve homojen lifler meydana geldiği görülmektedir. 60PVA40SC nanolifinde oluşmaya başlayan boncuklar daha belirgin bir şekilde gözlemlenmiştir. PVA oranı %70'in altına düşmeye başladığında lifler düzensiz hal almaya başlamıştır.



Şekil 5.3. PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme 50.000x)

Tablo 5.1'de saf PVA(%100 PVA içeren nanolif) ve PVA/SC nanoliflerinin lif çapı ortalaması verilmiştir. Saf PVA'ya SC eklenmesiyle birlikte lif çapında artış meydana gelmiştir. Karışımdaki SC oranının artmasıyla birlikte lif çapı azalarak 40PVA60SC nanolifinde 100,6 nm'ye kadar düşmüştür. SC ilavesi daha ince liflerin elde edilmesini sağlamıştır.

Tablo 5.1. Saf PVA ve PVA/SC nanoliflerin lif çapı ortalamaları

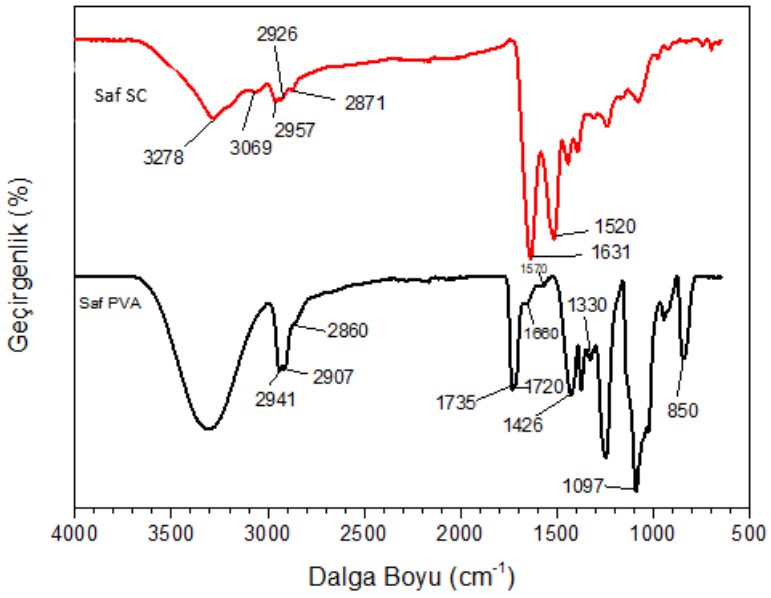
Numuneler	**Lif Çapı Ortalaması(nm)**
SAF PVA	232,7
90PVA10SC	254,6
80PVA20SC	236,3
70PVA30SC	203, 7
60PVA40SC	177,9
50PVA50SC	123,9
40PVA60SC	100,6

5.1.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları

PVA-SC ve çapraz bağlayıcı GLA arasındaki oluşan potansiyel etkileşimlerin gözlenmesi için FTIR analizi gerçekleştirildi. Üretilen nanoliflerin yapısındaki bileşenler arasındaki moleküler seviyedeki etkileşimler nedeniyle yeni piklerin oluşması, saf PVA'da ya da SC'de gözlenen piklerin kayması, pik yoğunluğundaki artış ve azalışlar meydana gelebilmektedir. Karışım oranları %50/50 ve %40/60 olan 50PVA50SC ve 40PVA60SC karışımları nanolif mat haline gelemediği için FTIR testi gerçekleştirilememiştir.

Şekil 5.4'te saf SC ve saf PVA'nın FTIR spektrumları verilmiştir. PVA'nın en karakteristik bantları 3500 ile 3200 cm^{-1} arasında gözlenir, sonuçlarda da görülen bu aralık moleküller içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının O-H gerilmesine atfedilir. (Marin ve Rojas, 2015) IR spektrumundaki O–H gerilme bandı, alkollerin en karakteristik özelliğidir. (Fathi ve diğ., 2011) Gerilme bandından sonra görülen ilk pik 2941 cm^{-1}'deki piktir ve PVA'nın yapısındaki CH'ların asimetrik gerilmesine atfedilmektedir. CH'ın

simetrik gerilmesini ifade eden 2907 cm^{-1}'de bir pik bulunmaktadır. (Zhang ve diğ., 2010) 2860 cm^{-1}'deki omuz -CH-'ın gerilmesini ifade eder. (Marin ve Rojas, 2015) 1735 cm^{-1}'deki nispeten yüksek absorbansa sahip pik karbonil bandıyla ilişkilendirilir. (Zhang ve diğ., 2010) 1720 cm^{-1}' deki bant ile 1660 cm^{-1}'deki bant, hidrolize olmamış asetat gruplarına karşılık gelir. 1720 cm^{-1} 'deki bant hidrolize olmayan asetat iyonunun karbonil grubu gerilmesinden kaynaklıdır. 1660 cm^{-1}'deki bant ise hidrolize olmayan asetatın karbonil grubu ile ilgili olan C-O'dur. 1570 cm^{-1} gözükmekte olan bant, asetattan (CH_3CO) ve karbonil gruplarından kaynaklıdır. 1450 cm^{-1} bant -CH_2- bükülmesi ile açıklanmaktadır. 1097 cm^{-1}'de bulunan bant C-O bağına karşılık gelmektedir, bu da PVA'nın kristalliği ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca 850 cm^{-1}' deki bant metilen gruplarının titreşimine atfedilir. (Marin ve Rojas, 2015)

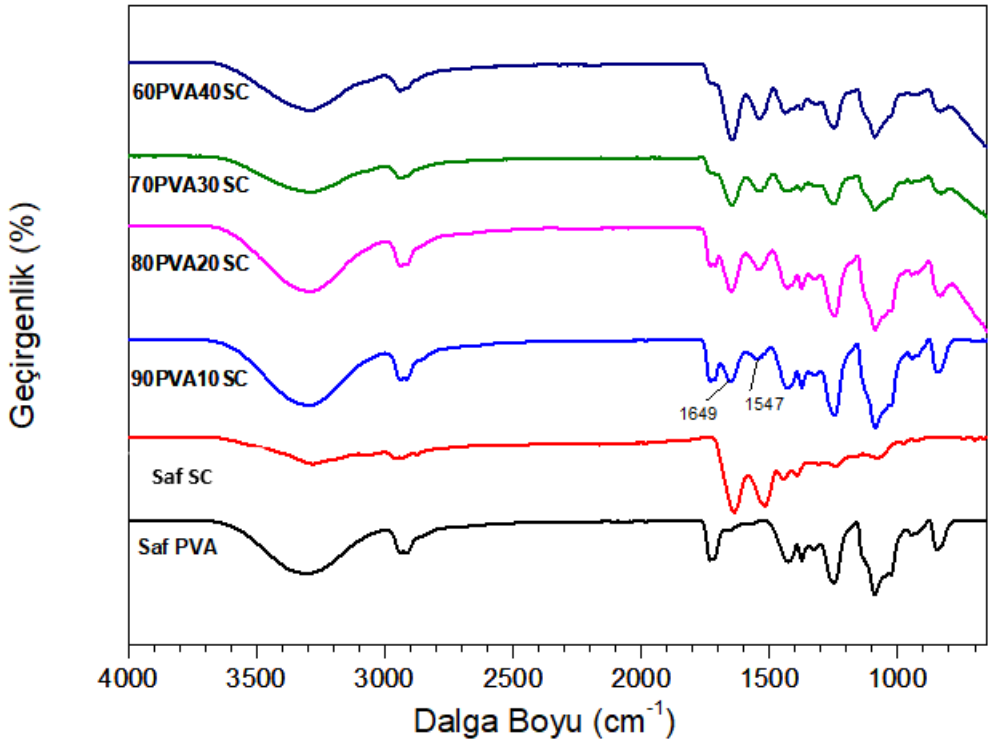


Şekil 5.4. Saf SC ve Saf PVA'nın FTIR spektrumları

SC, ilk olarak -OH germe titreşimine atfedilen 3278 cm^{-1}'de bir bant göstermiştir. Daha sonra 3069 cm^{-1}'de meydana gelen küçük omuz NH yapısıyla ilişkilendirilir. 2957 cm^{-1} ve 2926 cm^{-1}'deki pikler CH germe bölgelerinde sırasıyla CH_2 ve CH_3'e karşılık gelen pikler görülmektedir. 2871 cm^{-1}'de ise CH (üçüncül)'den kaynaklı küçük bir pik vardır. 1631 cm^{-1}'deki pik amid I bandına karşılık gelen karbonil grubunun (C=O) gerilmesini ifade etmektedir. 1520 cm^{-1}'deki pik amid II bandına karşılık gelen N-C=O bağlarının simetrik gerilmesiyle ilişkilendirilmiştir. FTIR spektrumunda görülen 1520 cm^{-1}'deki pik

Aloui ve diğ., yaptığı çalışmada 1535 cm^{-1} dalga boyunda verilmiştir. (Aloui ve diğ., 2019)

Şekil 5.5'te PVA/SC nanoliflerinin FTIR spektrumları verilmiştir. PVA'nın karakteristik piki olan 3500 cm^{-1} ile 3200 cm^{-1} dalga boyları arasındaki geniş bant PVA'ya SC eklendikçe derinlik olarak azalmıştır. PVA'ya SC eklendiğinde saf PVA'da bulunmayan 1649 cm^{-1}'de ve 1547 cm^{-1}'de pik oluşumu meydana gelmiştir. Bu pikler karışım içerisindeki SC'nin varlığından kaynaklanır. Karışımdaki SC oranı arttıkça pik yoğunluğunda da artış meydana gelir. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021) 1720 cm^{-1} dalga boyunda bulunan hidrolize olmamış asetat iyonunun karbonil grubuyla gerilmesiyle ilişkilendirilen, PVA'nın karakteristiği olan pik karışıma SC eklendikçe azalmıştır.



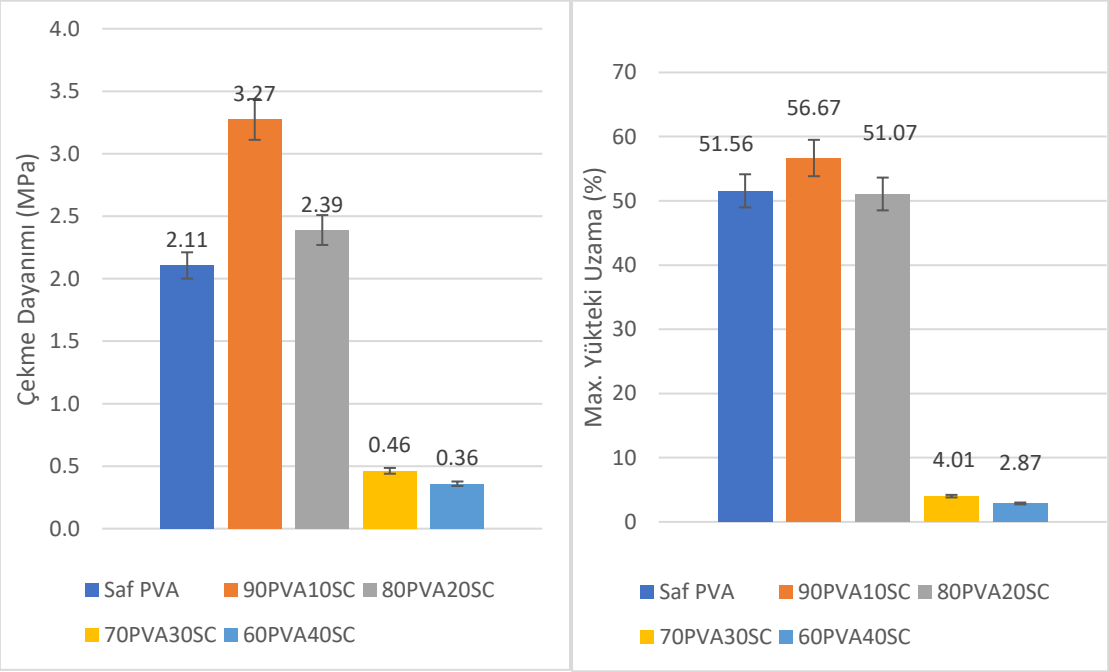
Şekil 5.5. PVA/SC nanoliflerinin FTIR spektrumları

5.1.3. Çekme Testi Sonuçları

Şekil 5.6a'da PVA/SC nanoliflerinin çekme testi ile elde edilen çekme dayanımı değerleri grafik olarak verilmiştir. Karışım oranları %50/50 ve %40/60 olan 50PVA50SC ve 40PVA60SC karışımları nanolif mat haline gelemediği için çekme testi de gerçekleştirilememiştir.

Saf PVA'ya %10 SC ilavesiyle çekme dayanımında artış gerçekleşmiştir. SC oranı arttırılıp %20'ye çıkarıldığında çekme dayanımında düşüş meydana gelmiştir. Düşüş gerçekleşse de çekme dayanımı değeri yine de saf PVA'dan daha yüksektir. 70PVA30SC nanolifinde çekme dayanımı değeri daha yüksek PVA oranına sahip diğer nanoliflere göre çok daha düşüktür.

Çalışmada yüksek biyobozunur özelliğe sahip yapı elde etmek istenildiği ve çapraz bağlanmanın mekanik özelliklerdeki etkinliğini değerlendirebilmek için %30 SC oranına sahip olan nanolife çapraz bağlayıcı eklenmesi için tercih edilmiştir.



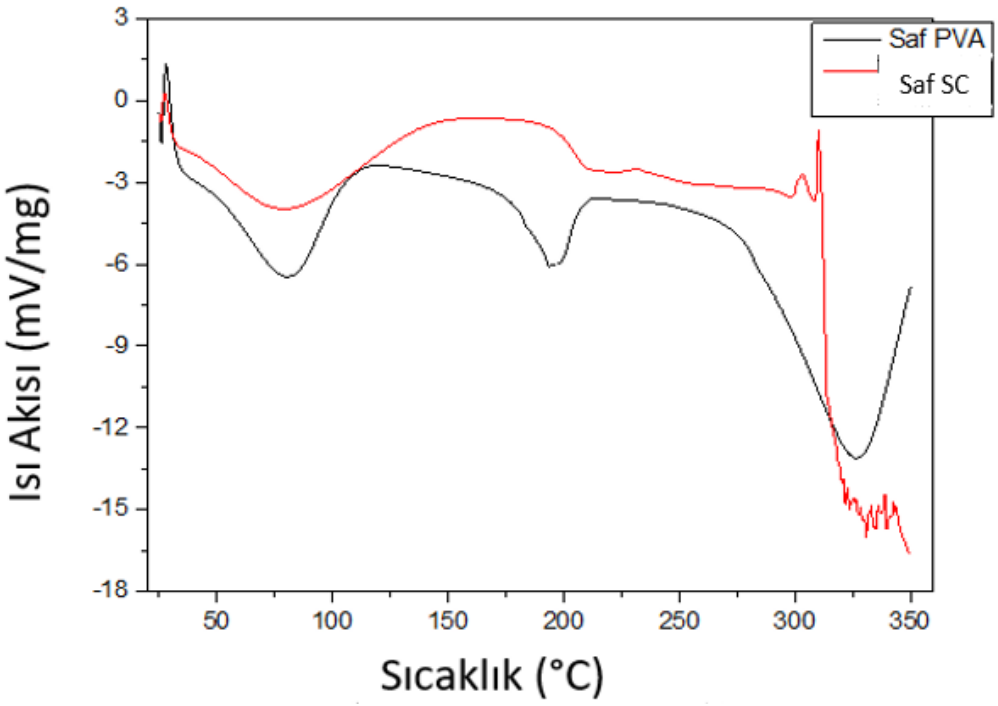
Şekil 5.6. a) PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı verileri b) PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri

Şekil 5.6b'de PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama yüzdeleri değerleri grafik olarak verilmiştir. Saf PVA'ya %10 SC eklendiğinde uzama değerinde yükselme meydana gelmiştir. SC oranı arttırılıp %20'ye çıkarıldığında uzama değerinde azalma gerçekleşmiştir. SC oranı biraz daha arttırılıp, %30'a yükseltildiğinde çekme dayanımı değerlerinde olduğu gibi büyük oranda düşüş gerçekleşmiştir. Maksimum yükteki uzama değerleri ile çekme dayanımı değerleri aynı sonucu göstermiştir, öncelikle artıp daha sonra azalmıştır.

5.1.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları

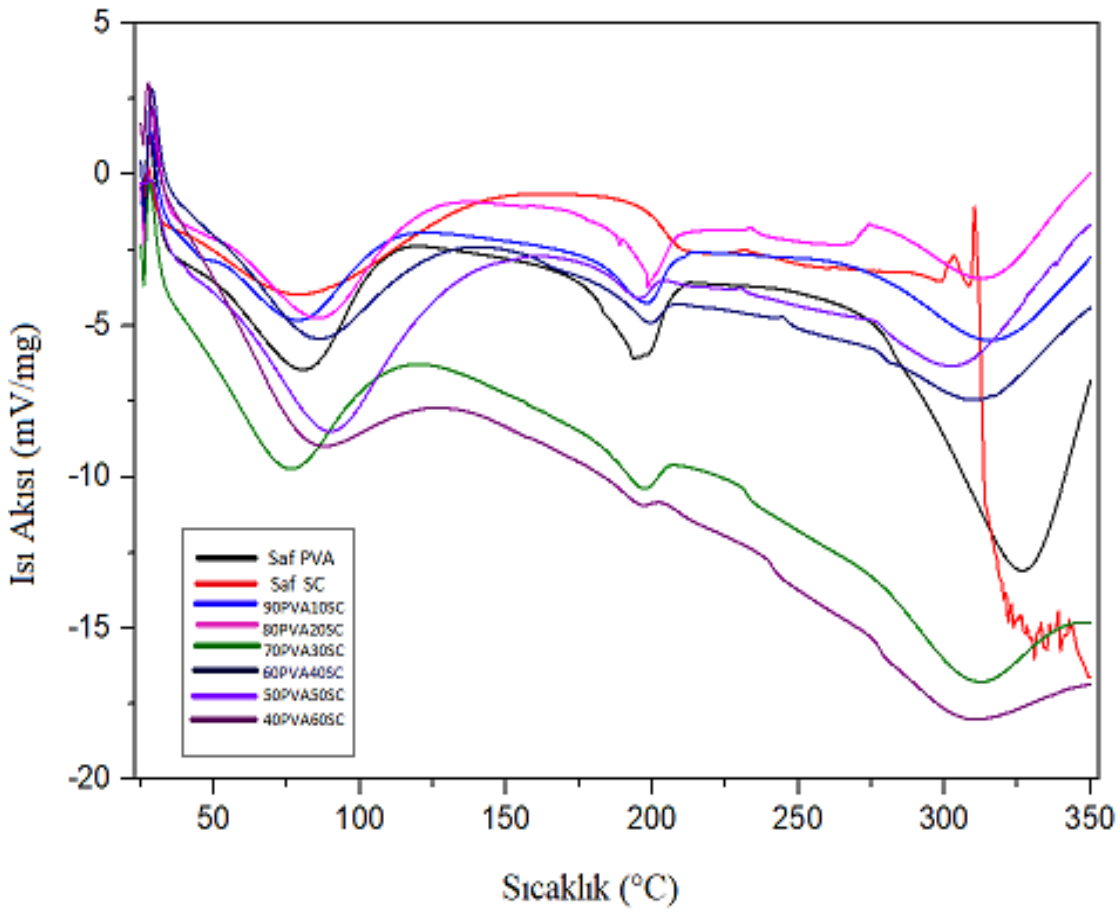
PVA/SC nanoliflerinin ısıl özelliklerinin belirlenmesi için DSC analizi yapılmıştır. Analizler sonucunda malzemelerin erime sıcaklığı (T_m), camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime entalpileri (ΔH_m), belirlenmiştir.

Şekil 5.7'de saf PVA nanolifi ve saf SC'nin DSC analiz eğrileri verilmiştir. Kazeinin DSC analizi, 129.9 J/g entalpi ile 45-134 °C sıcaklık aralığında gelişen nemden kaynaklanan endotermik bir süreci göstermiştir. Diğer fiziksel geçişler fark edilememektedir. Fiziksel bağlar için düşük entalpi değeri karakteristik olduğundan, kazeinde fiziksel olarak tutulan suyun bu işlem sırasında elimine edildiği anlamına gelmektedir. (Moldoveanu ve diğ., 2013) PVA'nın DSC eğrisinde yaklaşık 270 °C de meydana gelmeye başlayan düşüş görülmektedir. Bu pik daha önce yapılan çalışmalarda da görülmektedir. (Xu ve diğ., 2018) DSC eğrilerine göre saf PVA'nın T_g değeri 81.1°C'dir. Grafikte görülen ikinci ve üçüncü basamak, 194 °C ve 325 °C olmak üzere iki ayrı erime piki olduğu anlamına gelmektedir. Daha önce yapılan çalışmada Fathi ve ark. PVA'nın T_g değerini 85.99 °C, T_{m1} değerini 219 °C ve T_{m2} 258 °C olarak göstermişlerdir. (Fathi ve diğ., 2011)



Şekil 5.7. Saf PVA nanolifi ve saf SC' nin DSC termogramı

Şekil 5.8'de PVA/SC nanoliflerinin DSC analiz eğrileri verilmiştir. DSC eğrilerinden elde edilen sonuçlar Tablo 5.2'de tablo haline getirilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde PVA'ya SC eklendiğinde T_g değeri 1.61°C kadar azaldığı görülmüştür. Karışımda SC oranı %20'ye arttırıldığında T_g değeri 6.67°C artmıştır. Diğer değerlerde bu şekilde bir artıp bir azalarak devam etmiştir. Doğrusal bir şekilde artış veya azalış eğiliminden bahsedilemez. T_{m1} ve T_{m2} değerleri PVA'ya kazein artan oranlarda eklendikçe genel olarak azalmıştır. ΔH_{m1} değeri PVA'ya SC eklendiğinde yüksek bir artış göstererek 39.20 J/g'dan 78.51 J/g 'a çıkmıştır. Bu değer karışımdaki SC oranı arttıkça büyük miktarda azalmıştır. ΔH_{m2} değeri ise PVA'ya SC eklendikçe sürekli olarak düşmeye devam etmiştir. SC oranı %50 olduğunda bir artış göstermiş, %60'a çıktığında yine aynı şekilde düştüğü gözlenmiştir.



Şekil 5.8. PVA/SC nanoliflerinin DSC termogramı

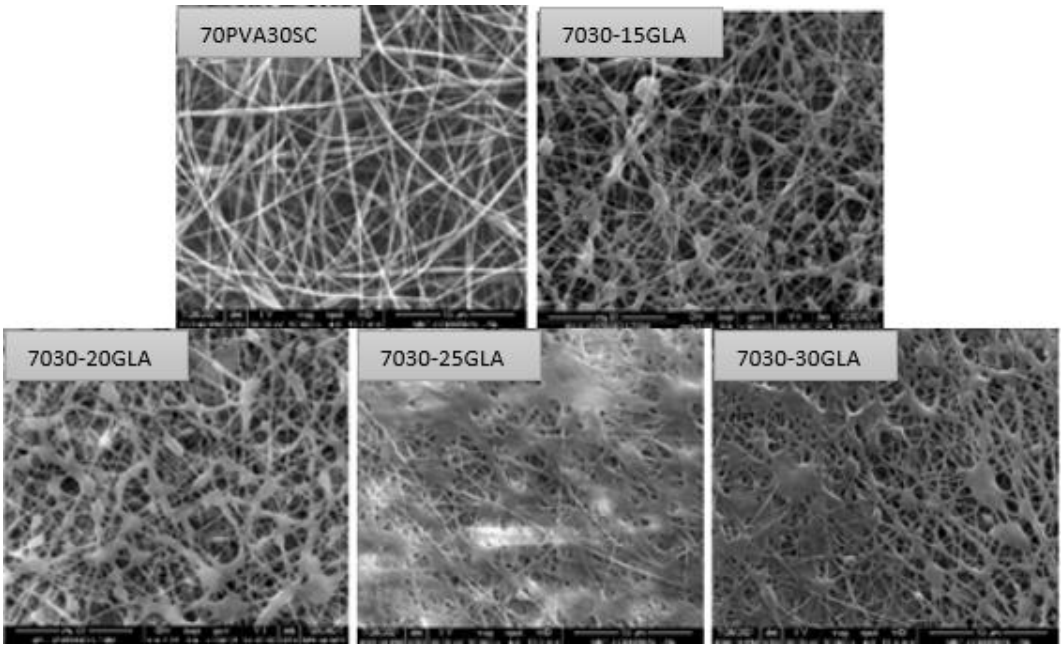
Tablo 5.2. DSC sonuçlarıyla elde edilen PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri

NUMUNE	T_g (°C)	T_{m1}(°C)	T_{m2}(°C)	ΔH_{m1}(J/g)	ΔH_{m2}(J/g)
SAF PVA	81.1	193.54	325.04	39.20	220.53
90PVA10SC	79.49	197.96	315.67	78.51	129.36
80PVA20SC	86.16	198.32	315.80	18.23	91.31
70PVA30SC	74.99	196.66	309.84	8.07	78.53
60PVA40SC	85.14	198.59	316.73	8.88	71.07
50PVA50SC	89.85	194.97	305.30	7.91	84.56
40PVA60SC	84.01	195.47	306.44	2.88	82.63

5.2. Çapraz bağlı PVA/SC Nanoliflerin Karakterizyon Sonuçları

5.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları

Şekil 5.9'da çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri 10000x büyütülmüş olarak verilmiştir. 70PVA30SC nanolifi yüzey görüntüsünde düzgün, homojen yapılı lifler görülmektedir.

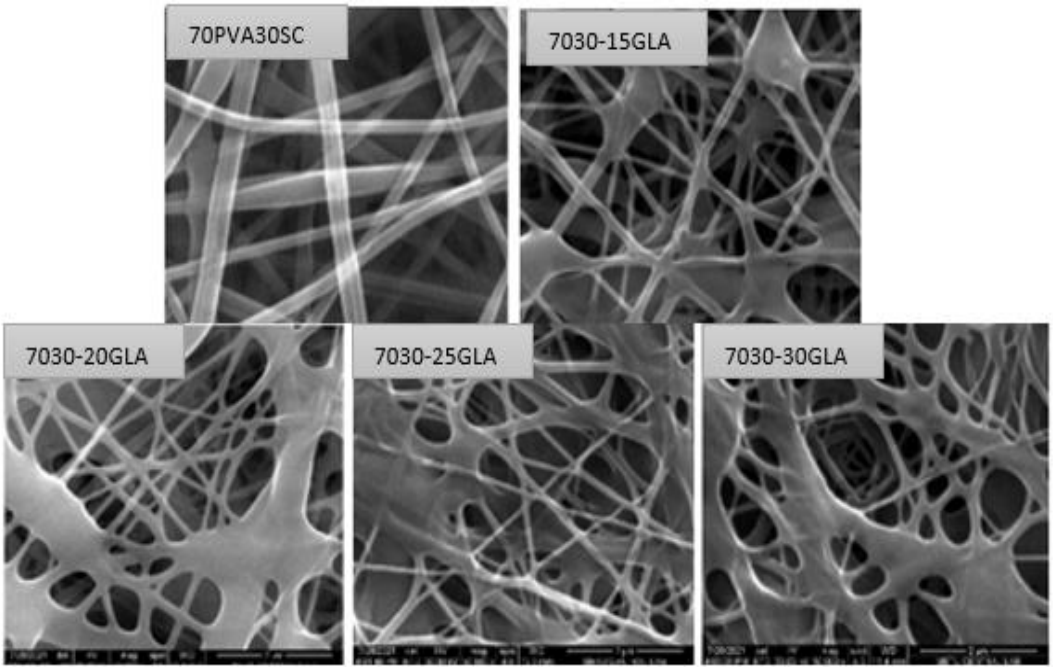


Şekil 5.9. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (büyütme10000x)

Çapraz bağlayıcı eklendiğinde üretilen nanoliflerin yapısında değişiklik meydana gelmiştir. Liflerin birbirine yapışmaya başladığı gözlenmiştir. Başlayan bu yapışmanın sebebi çözeltideki yoğunluk artışıdır. Dolayısıyla liflerin birbirine yapışmış bir hal aldığı SEM görüntülerinden görülmektedir. Polimerlerin molekül ağırlığı, polimer zincirlerinin uzunluğu belirtmektedir. Polimer zincirleri uzunluğu ise çözücüdeki polimer zincirlerinin karmaşıklığının ölçüsüdür. (Üstündağ ve Karaca 2009).

GLA ile çapraz bağlanan nanoliflerin moleküler zincir uzunluğu artar ve bu sebeple çözeltide daha yoğun hale gelir, viskozite artışı gerçekleşir. Polimerlerin molekül ağırlığının artmasıyla viskozite değerlerinin de arttığı bilinmektedir. (Ramakrishna ve diğ., 2005) Vizkozitenin artmasıyla kalın ve birbirine bağlı lifler oluşur. Optimum molekül ağırlığının üzerine çıkıldığı için nanoliflerde yapışma meydana gelmiştir. Elektroçekim işlem koşulları değişmediği için çözeltinin viskozitesi arttıkça yapışma da artar, çözeltinin yüzey gerilimi yükselir. (Samatya Yılmaz ve Aytaç, 2021a)

Yapışmaların GLA ilavesiyle birlikte daha çok arttığı görülmektedir. Şekil 5.10'da çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin 50000x büyütülmüş hali verilmiştir. SEM görüntülerinde 10000x büyütmede görülen yapışmalar daha yakından görülmektedir.



Şekil 5.10. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (50000x)

Tablo 5.3'de çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin lif çapı ortalamaları nanometre(nm) olarak verilmiştir. En yüksek lif çapı ortalaması %15 GLA içeren nanolifdedir. Çapraz bağlayıcı oranının artmasıyla birlikte lif çapın ortalamalarında azalma meydana gelmiştir.

Tablo 5.3. Çapraz bağlı PCA/SC nanoliflerinin lif çapı ortalamaları

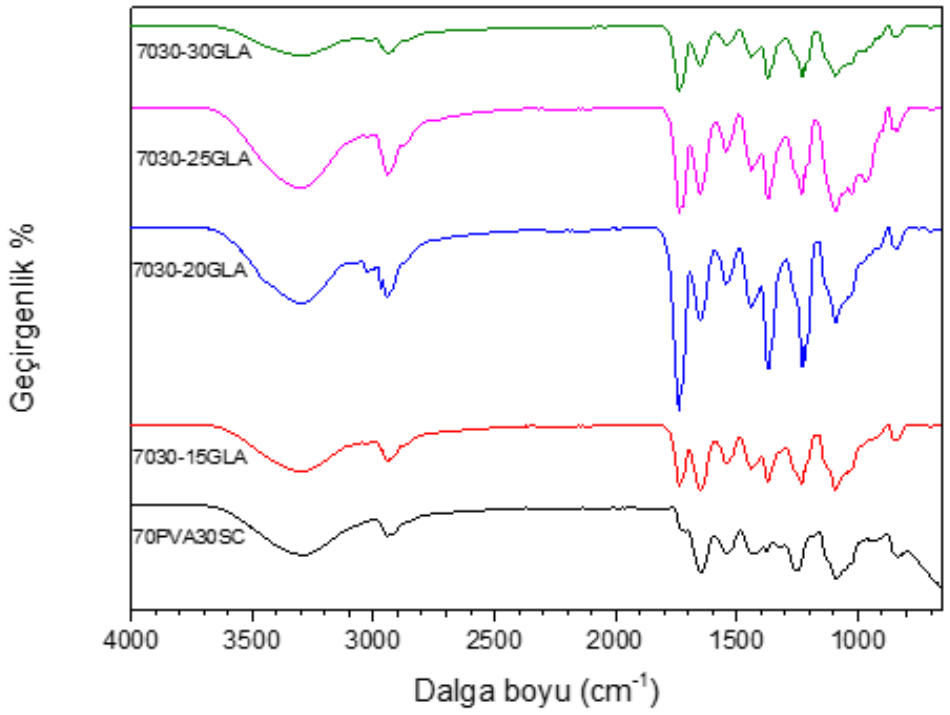
Numuneler	**Lif Çapı Ortalaması (nm)**
7030-15GLA	95,89
7030-20GLA	85,33
7030-25GLA	81,71
7030-30GLA	78,87

5.2.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları

Şekil 5.11'de Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin FTIR spektrumları verilmiştir. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin, çapraz bağlanmayla birlikte asetal köprüler oluşturmasıyla mevcut -OH gruplarının sayısının azaltması beklenmiştir. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021) PVA'daki karakteristik pik olan 3500 cm^{-1} ve 3200 cm^{-1} aralığındaki -OH bandı genişliği çapraz bağlayıcı etkisiyle azalma gösterir. IR spektrumları incelendiğinde bu durumun özellikle 70PVA30SC-30GLA'da belirgin bir şekilde ortaya çıktığı görülmüştür. Bu durum GLA miktarının fazla olması ile açıklanmaktadır.

Çapraz bağlanma sırasında PVA/SC çözeltisi yapısındaki hidroksil gruplar, asetal ve hemiasetal reaksiyon yoluyla olmak üzeri GLA'nın içerisindeki aldehit gruplarıyla reaksiyona girmektedir. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021) 2866 cm^{-1}'de GLA ilavesinden sonra oluşan pik gözlenmiştir. 1738 cm^{-1}'de 70PVA30SC'de bulunmayan, karışıma GLA eklendikten sonra belirginleşen bir pik gözlenmiştir. Bu pik %15 GLA nanolifinde küçük bir şekilde ortaya çıkmış, GLA oranı %20'ye arttırıldığında yüksek absorbansa sahip olmuştur. GLA oranı %25'e çıkarıldığında bu pik değerinin absorbansı biraz daha azalmış, oran %30'a çıkarıldığında çok daha azalmıştır. Bu pik değeri Leom ve Lee'nin yaptığı çalışmada 1720 cm^{-1} olarak gözlenmiştir. 2866 cm^{-1} ve 1738 cm^{-1}'de gözlenen bu değerler aldehitin özelliklerine atfedilir.

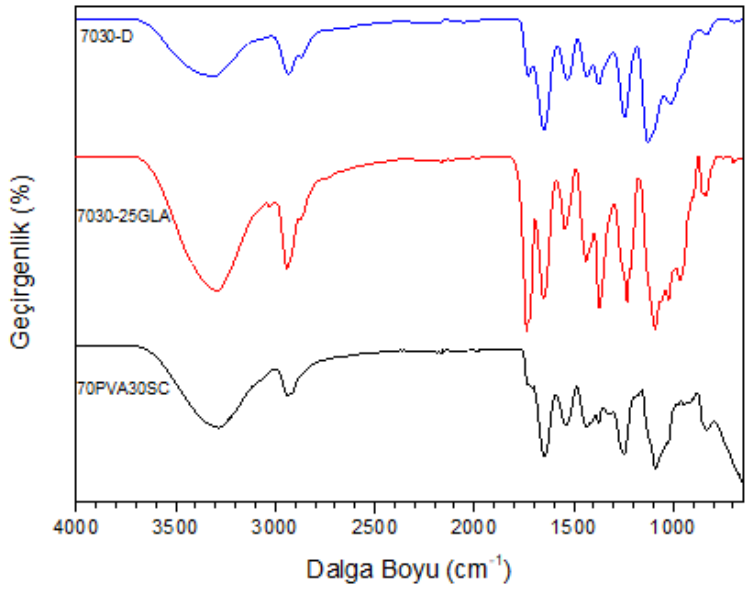
1385 cm^{-1}'de çapraz bağlanmadan önce çok küçük olan, %15 GLA ilavesinden belirginleşmeye başlayan, GLA %20'ye çıkarıldığında çok daha belirgin hale gelen ve GLA oranı %25 ve %30'a çıkarıldığında absorbans değeri azalan bir pik gözlenmiştir. 970 cm^{-1}'de 70PVA30SC ve 7030-15GLA'da bulunmayan, 7030-20GLA'da nanolif de görülmeye başlayan, 7030-25GLA nanolifinde çok daha belirginleşen, 70/30 -30GLA nanolifinde azalan pik gözlemlenmiştir. 970 cm^{-1} ve 1385 cm^{-1} arasındaki belirginleşen piklerin absorbanslarında artış söz konusudur. Bu artış hidroksil grupları ve aldehitler arasında meydana gelen reaksiyonun bir sonucu olarak ortaya çıkan asetal halkası ve eter bağlantısının oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. (Yeom ve Lee, 1996)



Şekil 5.11. Çapraz bağlı PVA/SC nanolifilerinin FTIR spektrumları

Şekil 5.12'de farklı yöntemlerle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifin FTIR Spektrumları verilmiştir. 3500 cm^{-1} ve 3200 cm^{-1} dalga boyları arasındaki PVA'nın karakteristik piki, -OH bandı genişliği çapraz bağlayıcı ilavesiyle azalma gösterdiği literatürde belirtilmiştir. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021) Bu bandın 7030-D nanolifinde belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. 2866 cm^{-1}'de GLA ilavesiyle birlikte belirgin şekilde görülen pik, 7030-D nanolifinde çok küçük bir halde görülmektedir. 1738 cm^{-1}'de 70PVA30SC'de bulunmayan, 7030-25GLA'da çok belirgin bir şekilde ortaya çıkan aldehitin özelliklerine atfedilen pik, 7030-D nanolifinde çok küçük bir şekilde

görülmektedir. 1385 cm^{-1} dalga boyunda 70PVA30SC nanolifinde çok küçük bir pik şeklinde görülen, %25 GLA ilavesiyle pik absorbansı artmış, pik belirgin hale gelmiştir. Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifinde ise bu pik çok küçük bir şekilde görülmektedir. Bu pik hidroksil grupları ve aldehitler arasında gerçekleşen tepkime sonucu olarak ortaya çıkan asetal halkaları ve eter bağlantısı oluşumuna atfedilir. (Yeom ve Lee, 1996)

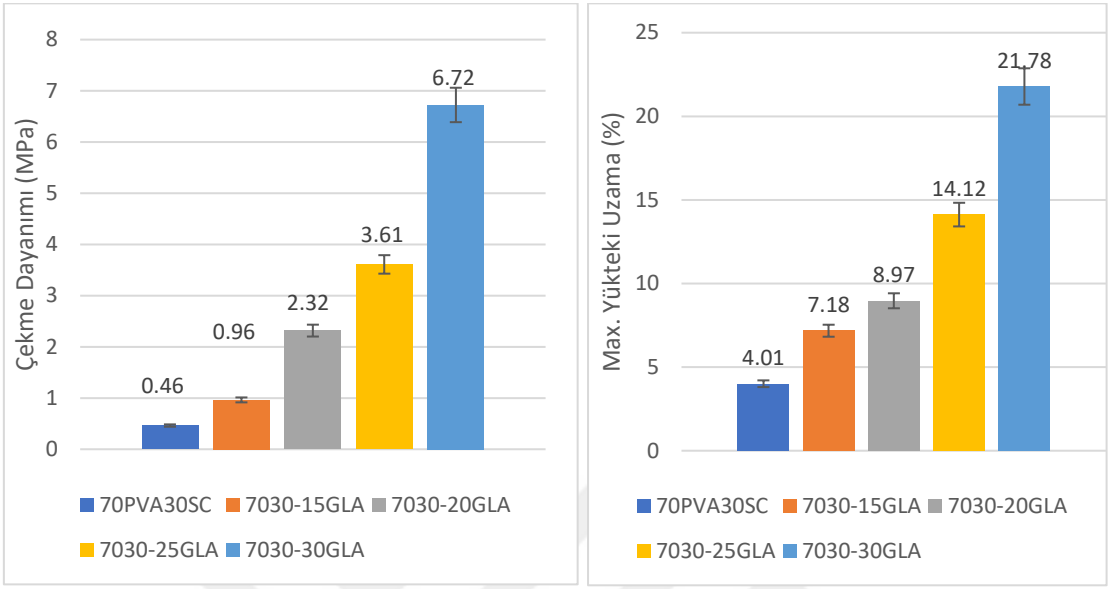


Şekil 5.12. Farklı yöntemlerle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifin FTIR Spektrumları

5.2.3. Çekme Testi Sonuçları

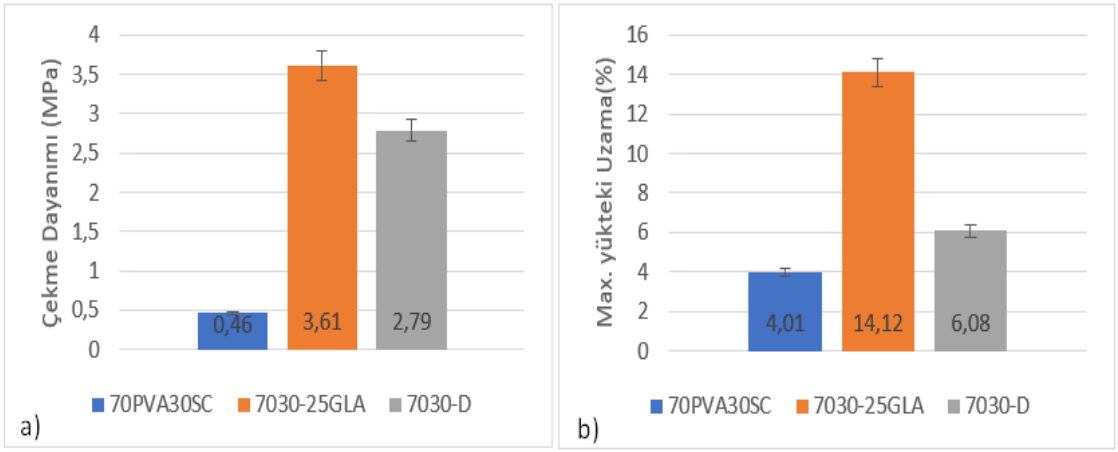
Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı değerleri şekil 5.13a'da verilmiştir. 70PVA30SC nanolifinde çekme dayanımı değeri 0,46 MPa'dır. Oldukça düşük olan bu değer %15 GLA ilavesiyle 0,96'ya yükselmiştir. GLA değeri %20'ye çıkarıldığında çekme dayanımı değeri yüksek bir artışla 2,32 MPa'a artmıştır. %25 GLA ilavesiyle birlikte de 3,61 MPa'a kadar yükselirken, GLA ilavesi %30 olduğunda 6,72 MPa'a gibi oldukça yüksek bir değer göstermiştir.Genel olarak, PVA/SC nanoliflerinin GLA ilavesi ve GLA oranının artmasıyla birlikte çekme dayanımında da artış meydana gelmiştir. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama değerleri grafik olarak şekil 5.13b'de verilmiştir. 70PVA30SC oranına sahip nanolif de uzama değeri %5'in altında, yani düşük değerdeyken %15 GLA ilavesiyle yaklaşık %7'lik bir değere sahip olur. GLA oranı %20'ye arttırıldığında uzama değerinde yine artış gerçekleşmiştir. %25 ve %30 oranlarında GLA ilavesiyle yine önemli miktarda yükseliş gözlemlenmiştir.

Çekme testi sonuçlarını genel olarak değerlendirdiğimizde GLA ilavesi hem çekme dayanımını hem de maksimum yükteki uzama miktarını arttırmıştır.



Şekil 5.13. a)Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı değerleri b) Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri

Şekil 5.14'te karşılaştırma yapılması amacıyla 70PVA30SC, 7030-25GLA ve 7030-D nanoliflerin çekme testi sonuçları verilmiştir. Çekme dayanımı 0,46 MPa olan 70PVA30SC nanolif, %25 GLA ilavesiyle 3,61 MPa'ya çıkmıştır.



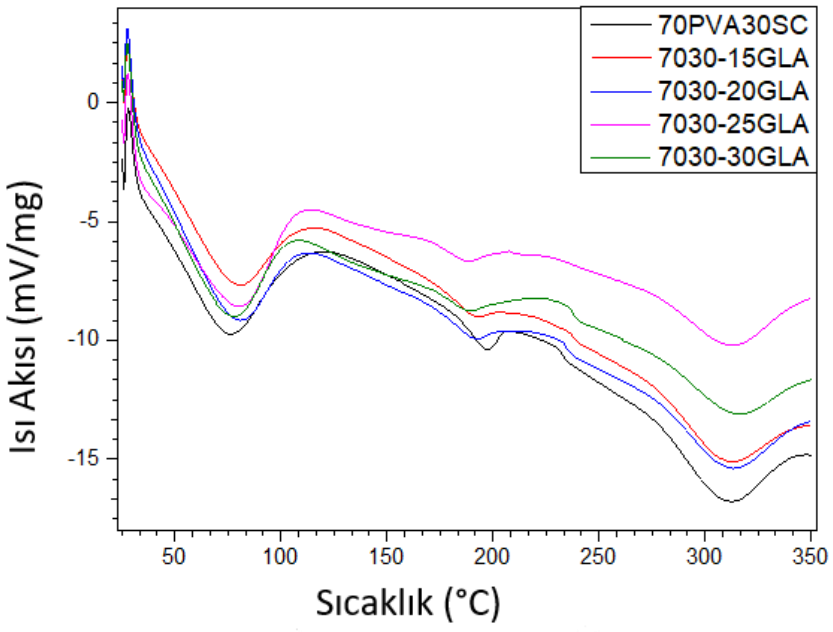
Şekil 5.14. a) PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı değerleri b) PVA/SC nanoliflerinin maksimum yükteki uzama (%) yüzde değerleri

Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan 7030-D nanolifi ise 2,79 MPa'ya çıkmıştır. Daldırma yönteminde GLA yüzdesi %1,5 olduğu halde çekme dayanımını oldukça arttırdığı ve 7030-25GLA nanolifine yakın iyi sonuç verdiği görülmektedir. Maksimum

yükteki dayanım ise %4,01 iken %25 GLA ilavesiyle %14,12'ye yükselmiştir. GLA'nın uzamaya etkisinin çok fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanmada ise %6,08'e yükselmiştir. Daldırma yönteminde GLA miktarının %1,5 olduğu göz önüne alındığında; uzama sonuçlarında da iyileşme gösterdiği söylenebilir.

5.2.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları

Şekil 5.15'de çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin DSC termogramları verilmiştir. Grafikte görülmekte olan düşük sıcaklık değerlerinde numuneler arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmemiştir. Yüksek sıcaklıklara çıkıldığında ısı akısı değerleri arasında bir genişleme söz konusudur. Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin DSC analiz termogramından elde edilen T_g, T_m ve erime entalpi değerleri tablo 5.4'de verilmiştir. 70PVA30SC nanolifinin T_g değeri 74.99 °C'dir. %15 GLA ilavesi ile 4.73 °C artarak 79.72°C'ye çıkmıştır. GLA ilavesinin arttırılmasıyla birlikte T_g değeri genel olarak karışıma göre daha yüksek değerlerdedir. T_{m1} değeri karışıma GLA ilavesi ve artışıyla birlikte azalmıştır. Sadece 7030-30GLA değerinde çok az artış meydana gelmiştir. T_{m2} değeri ise GLA ilavesi %25'e çıkarılana kadar nispeten aynı kalmıştır. %25GLA ilavesinden sonra çok az miktarda artış meydana gelmiştir. 1. erime entalpisi değeri ΔH_{m1} ve 2. erime entalpisi değeri ΔH_{m2} değerleri GLA ilavesiyle doğrusal olmayan artış ve azalışlar göstermiştir.



Şekil 5.15. Çapraz bağlı PVA/SC karışım nanoliflerinin DSC termogramı

Tablo 5.4. DSC sonuçlarıyla elde edilen çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri

NUMUNE	T_g (°C)	T_{m1}(°C)	T_{m2}(°C)	ΔH_{m1}(J/g)	ΔH_{m2}(J/g)
70PVA30SC	74.99	196.66	309.84	8.07	78.53
7030-15GLA	79.72	191.07	309.44	5.69	72.01
7030-20GLA	78.84	190.69	309.26	8.32	76.45
7030-25GLA	79.86	187.01	311.06	6.77	64.64
7030-30GLA	76.35	188.08	313.89	10.34	44.13

5.2.5. Nem Testi Sonuçları

Tablo 5.5'te çapraz bağlı nanoliflerin nem içeriği (MC) değerleri verilmiştir. PVA yüksek hidrofilik özellik göstermektedir, bu özellik PVA'nın yapısında bulunmakta olan hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. (Qin ve diğ., 2013) Nanoliflerin içerisindeki su molekülleri nem içeriğini belirlemektedir. Polimerlerin su tutma performansı çapraz bağlanma ile birlikte azaldığı bilinmektedir. Bunun nedeni çapraz bağlayıcı molekülleri polimerlerin yapısına eklendiğinde hidrofobik grup içeriğinin artmasından kaynaklanan polimerlerin hacminin azalmasıdır. (Sezek, 2015) Çapraz bağlayıcı ilavesiyle belli bir değere kadar su ve nem tutma % yüzdesi artar sonra hızlıca azalır. (Liu Xingli ve diğ., 2011) Genel olarak bakıldığında çapraz bağlanma derecesi ve çapraz bağlanmanın tamamen gerçekleşmesiyle ilgilidir. Tamamen çapraz bağlanma gerçekleştiğinde daha sıkı bir ağ yapısı oluşarak su moleküllerinin girmesi engellenir. 70PVA30SC oranına sahip nanolifin MC değeri %4,82'dir.

Çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin MC değerleri %25 GLA ilavesine kadar artarak ilerlemiştir. En yüksek MC değeri %25 GLA oranına sahip nanolif olduğu görülmüştür. GLA oranı %30'a çıktığında MC değeri ise %16,35'e kadar düşmüştür. Çapraz bağlanmayla beraber ağdaki yapısal değişiklik nedeniyle polimer zincirlerindeki hidrofilik gruplar daha az açığa çıkmaktadır. Bunun sonucu olarak su moleküllerinin ağlardan içeriye girerek hidrofilik kısımlara ulaşması zorlaşmaktadır. Çapraz bağlanma

esnasında aldehitler ile amino grupları reaksiyona girerek suyu bağlayamazlar. (Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021)

PVA'daki 4 hidroksil grubu ile 1 GLA molekülü reaksiyona girmesiyle çapraz bağlanma gerçekleşir. Yani çapraz bağlanmanın gerçekleşebilmesi için gerekli GLA miktarı PVA'nın yaklaşık 4 katı kadardır. (Marin ve Rojas, 2015) 70PVA30SC çözeltisi için 0.98 g PVA kullanılmaktadır. %25 GLA ilavesi için kullanılan GLA miktarı ise 2,8 g ve %30'un ise 3,4 g'dır. Tamamıyla çapraz bağlanma gerçekleşebilmesi için daha fazla GLA ilavesi gereklidir. Ancak GLA miktarı daha fazla kullanılamaz, bunun nedeni nedeni yüksek miktardaki GLA'nın toksik olmasıdır.

Yara tedavisi için kullanılacak ideal ürünler fazla toksinleri ve eksüdayı emmeli ve yarayla pansuman arasında nem tutmalıdır. Bu yüzden nem tutma özelliğinin de iyi olması nedeniyle çalışmaya, optimum özelliklere sahip 7030-25GLA nanolifi seçilerek devam edilmiştir.

Tablo 5.5. Çapraz bağlı nanoliflerin MC değerleri

BİLEŞİM	**MC (Nem İçeriği) (%)**
70PVA30SC	4,82
7030-15 GLA	6,96
7030-20 GLA	21,53
7030-25 GLA	33,25
7030-30 GLA	16,35

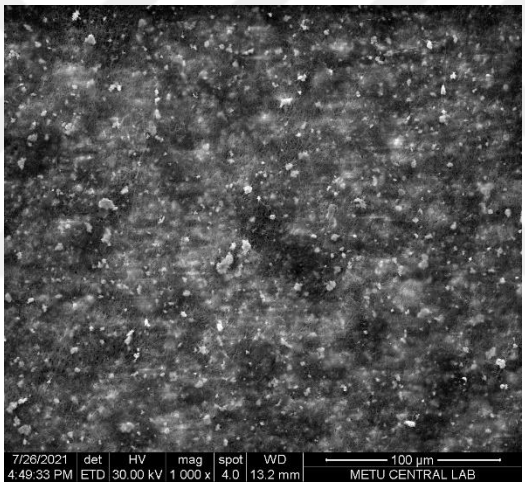
5.3. PVA/SC/25GLA Nanolifine Antibakteriyel Nanopartikül (Ag, ZnO) İlavesinin Etkisinin İncelenmesi

5.3.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi Sonuçları

Şekil 5.16'da %6 Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifinin 1000x büyütülmüş hali verilmiştir. Bir önceki bölümde çapraz bağlayıcı ilavesiyle birlikte yapışmaların oluştuğu gözlemlenmişti.

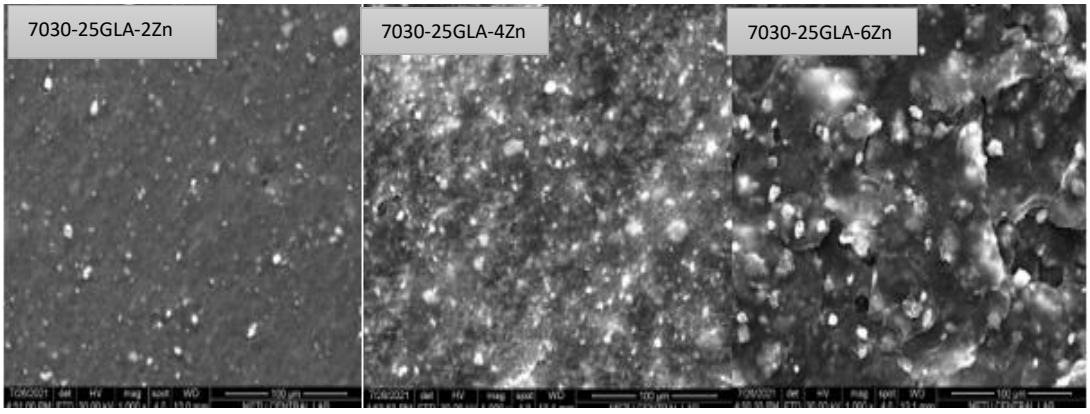
Bu bölümde de 7030-25GLA çözeltisinin üzerine Ag NP eklenerek elde edilen nano yapıların yine yapışmış haldeki lifler olduğu ve yapışan lifler arasındaki küçük beyaz parlak noktaların Ag NP'ler olduğu görülmektedir. Burada ilk bölüme göre daha yoğun yapışmalar mevcut olduğu gözlenmektedir. Bu durum, yine çözeltilerinin artan viskozitesine dayandırılmıştır.

PVA polimerinin yoğunluğu yaklaşık 1,2 g/cm^3, SC'nin yoğunluğu yaklaşık 1 g/cm^3 ve GLA'nın yoğunluğu yaklaşık 1,12 g/cm^3 olarak bilinmektedir. Ag NP'lerin yoğunluğu ise yaklaşık 10,6 g/cm$^{3'}$tür. İçeriği bu kadar yoğun olan bir çözeltide homojen dağılım oldukça zorlaşmaktadır. Bu sebeple, Ag NP'ler topaklaşma (aglomerasyon) etkisiyle yapışma eğiliminde davranış göstermektedir. (Samatya Yılmaz ve Aytaç, 2021a) SEM görüntüleri ile yapıdaki Ag NP'lerin varlığı kanıtlanmıştır.



Şekil 5.16. Ag Np ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifin 1000x görüntüsü (%6Ag)

Şekil 5.17'de ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri 1000x büyütmeyle verilmiştir. ZnO NP'leri de küçük beyaz parlak noktalar şeklinde görülmektedir. ZnO NP ilavesinin artışıyla birlikte partiküllerinde büyüklüklerinde artış meydana gelmiştir. Ag NP'lere benzer şekilde ZnO NP'lerin yoğunluğu da 5,5 g/cm^3 olduğundan yoğunluk artışına sebep olmaktadır. Bu durumda da nanolif yapıları arasında yapışmalar ve ZnO NP topaklaşmaları görülmeye devam etmektedir.



Şekil 5.17. ZnO ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin SEM görüntüleri (1000x)

Tablo 5.6'de Ag NP ve ZnO NP katkılarına ait EDX sonuçları verilmiştir. EDX sonuçları incelendiğinde hedeflenen yüzde değerinin yaklaşık iki katı oranda nanopartikül varlığı özellikle Ag NP kullanıldığında görülmüştür.

SEM analizi için, nanoliflerin pürüzsüz yüzey yerinden 1x1 cm^2 numune hazırlanmaktadır. Ancak, belirtilen yoğunluk farkları dolayısıyla eğer ki bu kısımlarda birikme ve topaklaşma (aglomerasyon) fazlalığı söz konusu ise, EDX sonuçları, çözelti esnasında yapıya katılan % miktarlarından daha fazla sonuç verebilmektedir.

SEM görüntülerinde bazı kısımlarda topaklaşma meydana geldiği görülmektedir. Bu topaklaşma EDX sonuçlarını etkilemiştir. Genel olarak EDX sonuçları yapıdaki Ag NP ve ZnO NP varlığını ispatlamıştır.

Tablo 5.6. EDX Sonuçları

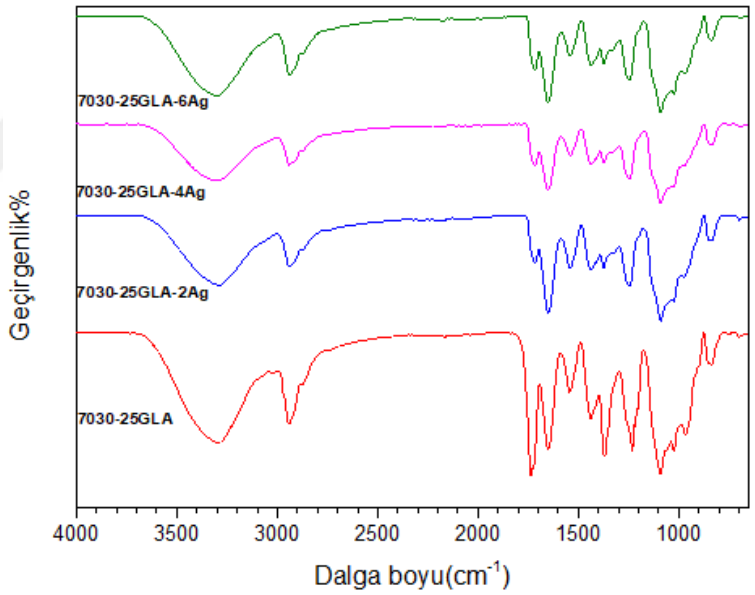
7030-25GLA-	**2Ag**	**4Ag**	**6Ag**	**2Zn**	**4Zn**	**6Zn**
EDX sonucu	3.85	8.74	11.60	3.36	8.04	6.71

5.3.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi Sonuçları

Şekil 5.18' de Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları grafik olarak verilmiştir. PVA'nın karakteristik piki olan 3200 cm^{-1} -3500 cm^{-1} aralığındaki bant tepe yoğunluğunun Ag NP ilavesiyle birlikte azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalma PVA ve Ag NP'lerin yan zincirleri arasında kimyasal bağ oluşumundan kaynaklanabilir. (Krishna ve diğ., 2021)

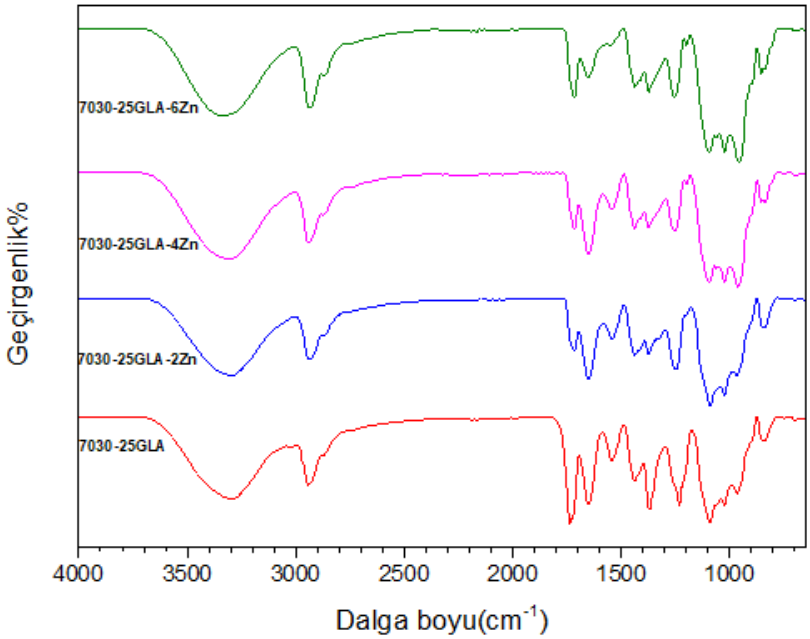
1738 cm^{-1} dalga boyunda 7030-25GLA nanolifinde keskin bir pik halinde görülen bant Ag NP ilavesiyle azalmıştır. Aldehit özelliklerine atfedilen bu pik 70PVA30SC nanolifinde gözlemlenmemiştir. Daha önceki bölümde SC'nin varlığına atfedilen 1649 cm^{-1} dalga boyuna sahip pik aynı kalmış, yine aynı şekilde SC'nin varlığına atfedilen 1547cm-1'de bulunan pikin absorbansı azalmıştır. 1097 cm^{-1}'de bulunan C-O bandına atfedilen pik ve 850 cm^{-1}'de görülen metilen gruplarının titreşimine atfedilen pik aynı kalmıştır. (Marin ve Rojas, 2015; Üçpınar Durmaz ve Aytaç, 2021) 7030-25GLA nanolifinde 1385 cm^{-1}'de görülen keskin pik Ag NP ilavesi ile birlikte azalmıştır. Bu pikin absorbansı 70PVA30SC nanolifinde çok küçüktür. Çapraz bağlanmanın sonucu olarak keskin bir hal aldığı ile ilişkilendirilmiştir.

Yine aynı şekilde 70PVA30SC nanolifinde absorbansı çok küçük olan, %25 GLA ilavesi ile çok daha keskin bir hal alan 1250 cm^{-1} dalga boyuna sahip bir pik, Ag NP ilavesiyle birlikte azalmıştır.



Şekil 5.18. Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları

Şekil 5.19'da ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Ag NP ile aynı şekilde 1738 cm^{-1} ve 1385 cm^{-1} dalga boyunda 7030-25GLA nanolifinde belirgin bir şekilde görülen pik ZnO NP ilavesiyle birlikte çok azalmıştır. 1384 cm^{-1} civarında keskin tepe noktası H–O–H eğilme titreşimine atfedilir. Ayrıca 2923 cm^{-1} dalga boyundaki küçük pik gözlemlenmiştir, bu pik Raja ve diğ. yaptığı çalışmada ek zayıf bant olarak verilmiştir. (Raja ve diğ., 2014)

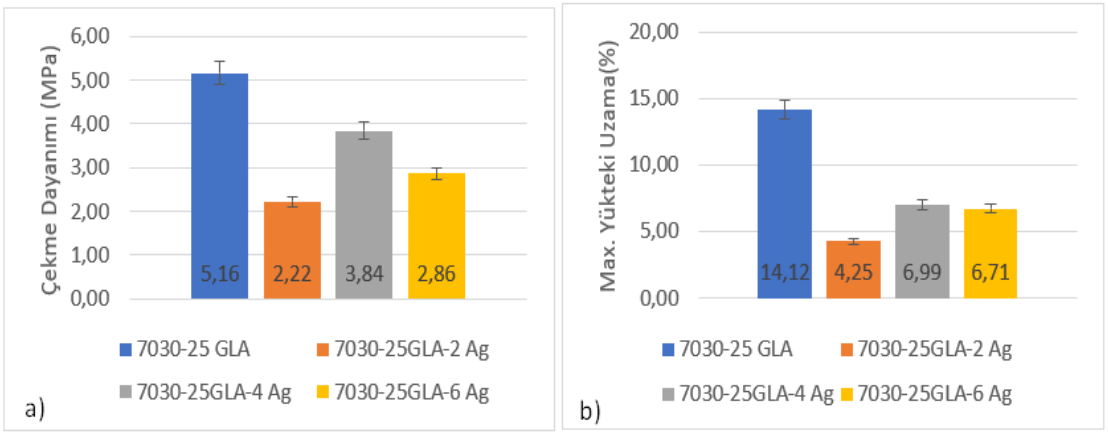


Şekil 5.19. ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin FTIR spektrumları

5.3.3. Çekme Testi Sonuçları

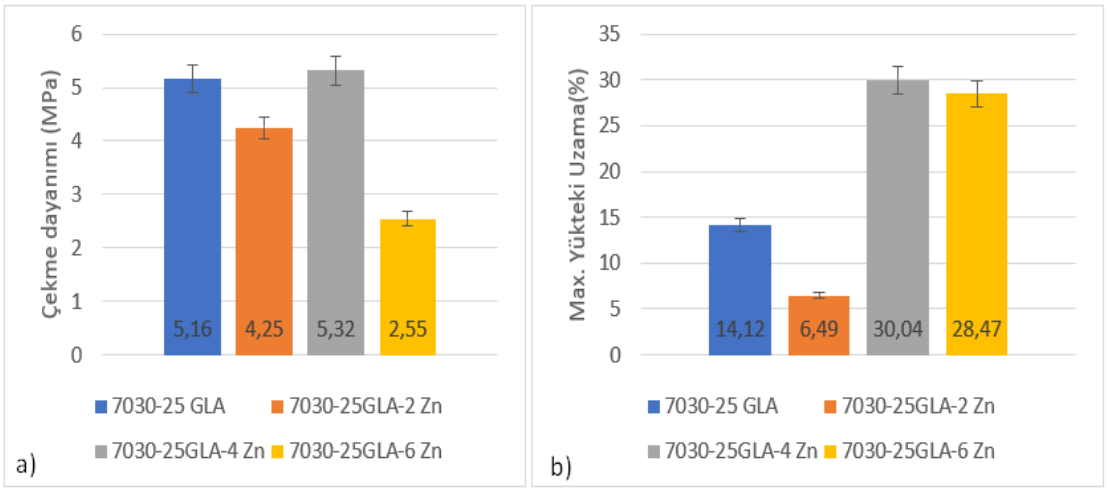
Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifi çekme dayanımı değerleri grafik olarak şekil 5.20a'da verilmiştir. %25 GLA içeren çapraz bağlı PVA/SC nanolifi 5,16 MPa çekme dayanımı değerine sahiptir. %2 Ag NP ilavesiyle yüksek düşüş gerçekleşmiş, çekme dayanımı değeri 2,22 MPa'a düşmüştür. Ag NP yükseltilip %4 ilave edildiğinde çekme dayanımı değeri 3,84 MPa'a yükselmiştir. Ag NP değeri %6'ya çıkarıldığında ise çekme dayanımı 2,86 MPa'ya kadar düşmüştür. Yani çekme dayanımı değerlerinde belirli bir şekilde artış ya da azalış söz konusu değildir. Çekme dayanımı sonuçlarına bakıldığında Ag NP ilavesinin dayanımı düşürdüğü söylenebilir.

Şekil 5.20b'de Ag NP ilaveli PVA/SC nanoliflerinde maksimum yükteki uzama % değerleri verilmiştir. 7030-25GLA nanolifi %14,12 gibi yüksek bir uzama değerine sahiptir. %2 Ag NP ilavesi ile bu değer %4,25 düşmüştür. Ag NP oranı arttırılıp %4'e yükseltildiğinde maksimum yükteki uzama yüzdesi değeri %6,99 çıkmış, oran %6'ya çıkarıldığında ise %6,71 düşmüştür. Genel olarak Ag NP eklenmesi ile uzama değerlerinde azalma meydana gelmiştir.



Şekil 5.20. a) Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifi çekme dayanımı değerleri b) Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifleri maksimum yükteki uzama(%) yüzde değerleri

ZnO NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin çekme dayanımı değerleri şekil 5.21a'da verilmiştir. %25 GLA ilavesinde çekme dayanımı değeri 5,16 MPa'dır. %2 ZnO NP ilavesi ile önce azalmış sonra ZnO NP oranı %4'e çıkarıldığında çekme dayanımı 5,32 MPa'ya yükselmiştir ve bu değer 7030-25GLA nanolifinin çekme dayanımı değerinden daha yüksektir. %6 ZnO NP ilavesiyle birlikte çekme dayanımı değerinde azalma gerçekleşmiştir. Çekme dayanımı değerlerine bakılarak çekme dayanımı değerleri, ZnO oranları %2 ve %4 olduğunda, %6 ZnO NP ilavesine göre yüksektir.



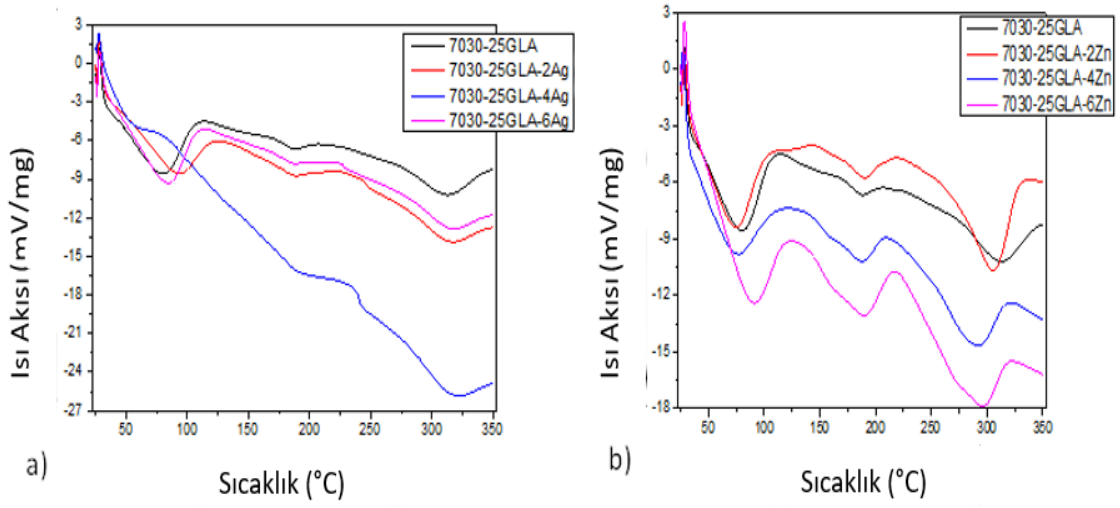
Şekil 5.21. a)ZnO NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin çekme dayanımı değerleri b) ZnO NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin maksimum yükteki uzama(%) değerleri

Şekil 5.21b'de ZnO NP ilavesiyle çekme testinden elde edilen PVA/SC nanoliflerin maksimum yükteki % uzama değerleri grafik olarak verilmiştir. %2'lik ZnO NP ilavesi ile birlikte uzama değerinde azalma meydana gelmiştir. ZnO NP oranı %4'e

yükseltildiğinde uzama değeri %30'a yükselmiştir. Bu uzama değeri çalışmadaki en yüksek % uzama değeridir. ZnO NP oranı %6 olduğunda çok az bir miktarda azalma gerçekleşmiş fakat bu değerde karışıma göre oldukça yüksektir. Bu bölümde çekme testi sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde Ag NP ilavesi maksimum yükteki uzamayı düşürürken; ZnO NP ilavesi nanoliflerin maksimum yükteki uzama değerlerinde belirgin bir artış sağlamıştır.

5.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Sonuçları

Şekil 5.22a'da Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin DSC termogramları gösterilmektedir. DSC eğrilerinde elde edilen veriler Tablo 5.7'de verilmiştir. Genel olarak, T_{m1}, T_{m2}, ΔH_{m1} ve ΔH_{m2} değerleri çok fazla değişmemiştir. %2'lik Ag NP ilavesiyle T_g değerinde artış meydana gelmiş, 91.51 °C'ye çıkmıştır. %4'lük Ag NP ilavesiyle DSC termogramında beklenmedik diğerlerinden farklı bir grafik meydana gelmiştir. T_g değeri 55.18 °C' ye düşmüştür. %6'lık Ag NP eklendiğinde Tg değeri 83.66 °C'ye çıkmıştır. 7030-25GLA-2Ag, 7030-25GLA-6Ag ve 7030-25GLA nanoliflerinin DSC termogramları benzer bir şekilde çıkmıştır. 7030-25GLA-4Ag nanolifi diğerlerinden farklıdır. 7030-25GLA-2Ag nanolifi T_g ve T_m değerleri Ananth ve diğ. yaptığı çalışmayla benzer çıkmıştır. Ananth ve diğ. Ag(ex sitü)/PVA kompoziti ile çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, T_g değerini 97.46 °C ve T_m değerini 187 °C olarak gözlemlemişlerdir. (Ananth ve diğ., 2011)



Şekil 5.22. a)Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin DSC termogramı b) ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifinin DSC termogramı

Tablo 5.7. DSC sonuçlarıyla elde edilen Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri

NUMUNE	T_g (°C)	T_{m1}(°C)	T_{m2}(°C)	ΔH_{m1}(J/g)	ΔH_{m2}(J/g)
7030-25GLA	79.86	187.01	311.06	6.77	64.64
7030-25GLA-2Ag	91.51	186.42	312.68	5.90	61.78
7030-25GLA-4Ag	55.18	187.56	313.63	6.66	74.67
7030-25GLA-6Ag	83.66	185.79	312.91	4.59	54.03

Şekil 5.22b'de ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin DSC termogramları verilmiştir. Tablo 5.8'de ise DSC sonuçlarından elde edilen veriler tablo haline getirilmiştir. %2 ve %4'lik ZnO NP ilavesiyle Tg değerinde düşüş meydana gelmiştir. ZnO NP oranı %6'ya çıkarıldığında T_g değeri 90.04 °C'ye çıkmıştır. T_{m1} değerlerinde genel olarak çok fazla bir farklılık gözlenmemiştir. T_{m2} değerlerinde ise ZnO NP ilavesiyle birlikte sıcaklık düşüşü gerçekleşmiştir. Bu gerçekleşen düşüşün nedeni ZnO'nun yüksek düzeyde polar matriks polimerleri ile etkileşimi, polimer zincirleri arasındaki moleküller arası etkileşimleri zayıflatabilmesi olduğu söylenebilir. ZnO NP'lerin eklenmesi, bileşeninin erime noktasını biraz düşürmektedir. (Lee ve diğ., 2008) ΔH_{m1} değeri ZnO NP ilavesiyle artış göstermiş, ZnO NP oranındaki farklılıklar nedeniyle önemli bir fark gözlenmemiştir. ΔH_{m2} ise ZnO NP ilavesiyle yüksek oranda artış göstermiş, ZnO NP oranı yükseldikçe azalmıştır.

Tablo 5.8. DSC sonuçlarıyla elde edilen ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklıkları T_{m1}, T_{m2} ve erime entalpileri ΔH_{m1}, ΔH_{m2} değerleri

NUMUNE	T_g(°C)	T_{m1}(°C)	T_{m2}(°C)	ΔH_{m1}(J/g)	ΔH_{m2}(J/g)
7030-25GLA	79.86	187.01	311.06	6.77	64.64
7030-25GLA-2Zn	73.87	190.05	305.21	15.23	126.81
7030-25GLA-4Zn	74.82	188.34	288.82	15.63	78.56
7030-25GLA-6Zn	90.04	190.37	293.46	16.85	87.74

5.3.5. Nem Testi Sonuçları

Nem testi sonuçları Tablo 5.9'da listelenmiştir. Çapraz bağlı PVA/SC nanolifine Ag NP eklenmesiyle birlikte nem tutma değerlerinde düşüş gerçekleşmiştir. Ag NP oranlarının değişmesiyle çok önemli bir fark elde edilmemiştir. %2,4 ve 6 oranlarda sonuçlar çok benzer çıkmıştır. Nanoliflere ZnO NP ilavesiyle birlikte Ag NP ilaveli nanoliflere göre çok az daha düşük nem tutma değeri göstermiştir. Sadece %6 ZnO NP içeren çapraz bağlı PVA/SC nanolifi %37,70 gibi yüksek bir değer göstermiştir.

Tablo 5.9. Ag NP ve ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerin MC değerleri

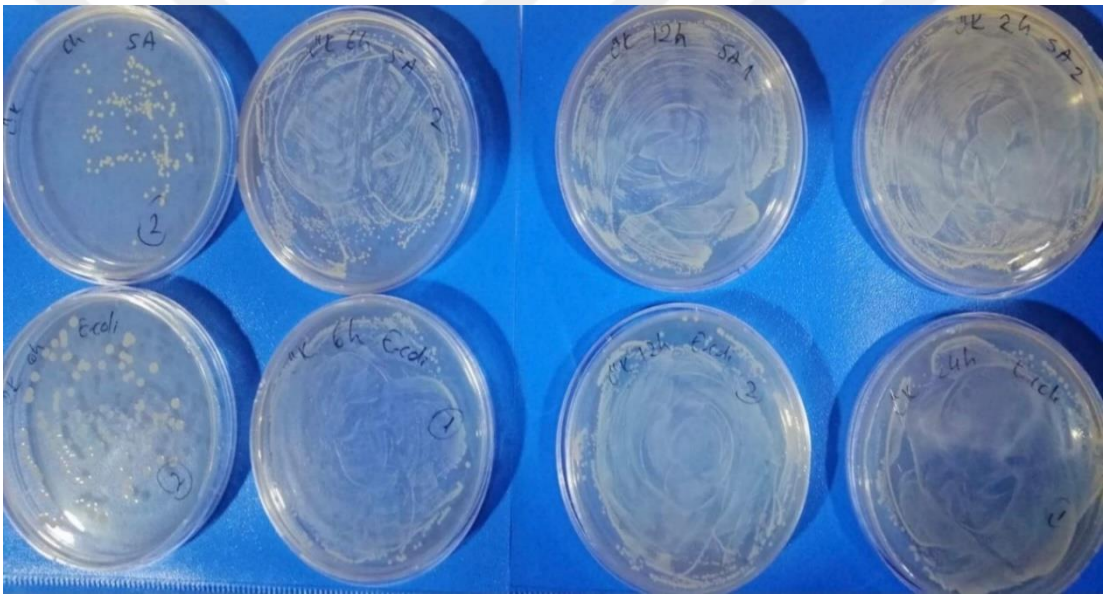
BİLEŞİM	**MC(Nem İçeriği)%**
7030-25GLA	33,25
7030-25GLA-2Ag	27,27
7030-25GLA-4Ag	25,45
7030-25GLA-6Ag	26,79
7030-25GLA-2Zn	23,90
7030-25GLA-4Zn	23,54
7030-25GLA-6Zn	37,70

5.3.6. In-vitro Antibakteriyel Test Sonuçları

GLA yüksek düzeyde dezenfektan olarak kabul edilir. Çoğunlukla ameliyathanelerde dezenfektan olarak kullanılır. Vejatatif bakterileri ve mantarları çok kısa zamanda öldürmektedir. Hatta en dirençli virüsleri de aynı şekilde ortadan kaldırır. Mikobakteri Tüberkülosis'i 60 dakikada tahrip eder, bakteri sporlarını 3-10 saat arasında yok eder.(Güder, 2005) Daha önceki araştırmalarda bildirildiği gibi toksisite, aldehit çapraz bağlayıcıların önemli bir sorunudur. (Bajpai ve diğ., 2017)

Antik çağdan beri Ag'nin bakteri ve virüs için yüksek bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bilinmektedir. (Li ve diğ., 2010) Çok eskiden beri Ag kronik yaraların ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda suların içilebilir hale gelmesi için kullanılmıştır. Ag NP'ler, mikroorganizmalarla çok daha iyi temas sağlaması ve geniş

yüzey alanları nedeniyle diğer tuzlarla kıyaslandığında çok daha etkili antimikrobiyal özellik gösterirler. (Rai ve diğ., 2009) Ag iyonları, muhtemelen farklı hassasiyetteki iki bölgede *E. coli*'nin solunum zincirini inhibe ederek antibakteriyel etki sağlamaktadır. (Schreurs ve Rosenberg 1982) Ag NP'ler bakteri hücresi içerisine girdiğinde düşük moleküler ağırlıklı bölge oluştururlar. Bakteri DNA'yı Ag NP'lerden korumak için kümelenme eğilimi gösterirler. Bu sırada Ag NP'ler solunum zincirine saldırarak, hücre bölünmesi yoluyla hücre ölümüne yol açarlar. (Li ve diğ., 2010) Literatürde Ag iyonlarının, *E. Coli*'de fosfat alımını ve değişimini engellediği ve birikmiş fosfatın yanında glutamin, mannitol, süksinat ve prolin akışına neden olduğu bildirilmiştir. (Schreurs ve Rosenberg 1982)



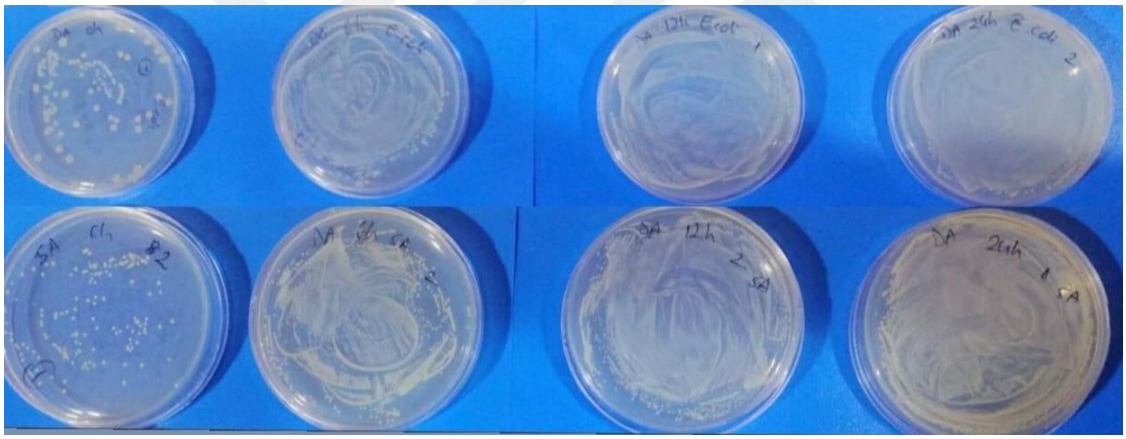
Şekil 5.23. Daldırma yöntemi için *E. Coli* ve *S. Aureus* üreme kontrolleri

Şekil 5.23'de üstteki petri kapları *S. Aureus* bakterisinin 0. saat, 6. saat, 12. Saat ve 24. Saat olmak üzere üreme kontrolleri verilmiştir. Alttaki petri kapları ise *E. coli* bakterisinin 0. saat, 6. saat, 12. saat ve 24. saat'teki üreme kontrolleri verilmiştir.

Şekil 5.24'de ise tam tersi üstteki petri kapları *E. coli* bakterisinin 0. saat, 6. saat, 12. saat ve 24. saat olmak üzere üreme kontrolleri verilmiştir. Alttaki petri kapları ise *S. Aureus* bakterisinin 0. saat, 6. saat, 12. saat ve 24. saat'teki üreme kontrolleri verilmiştir. Bu üreme kontroller testlerin doğru bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. 24. Saatin sonuna kadar MHA da bakteri üremesi artarak gözlenmeye devam etmiştir.



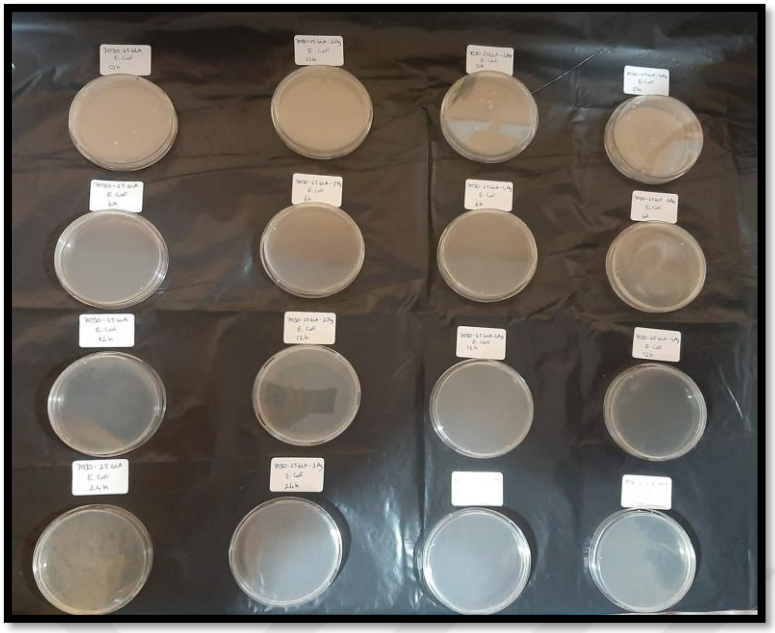
Şekil 5.24. *E. Coli* ve *S. Aureus* üreme kontrolleri



Şekil 5.25. Daldırma yöntemi antibakteriyel test sonuçları (*E.Coli* ve *S. Aureus*)

Şekil 5.25'de *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterileri için daldırma yöntemi test sonuçları verilmiştir. Daldırma yöntemi ile çapraz bağlanan, içinde Ag bulunmayan numune antibakteriyel özellik göstermemiştir.

Daldırma yönteminde GLA antibakteriyel özelliğini açığa çıkarmıyor, bu yüzden daha az toksik etki gösterdi denebilir. Bu haliyle sadece fibroblast doku iskelesi olarak kullanılabilir. Fakat numunelerin içerisine Ag NP'yi çözelti esnasına katıp sonra daldırma yöntemi ile çapraz bağlanırsa hem antibakteriyel hem toksik etkinliği az olarak antibakteriyel etkili yara örtüsü elde edilebileceği düşünülmektedir.



Şekil 5.26. Antibakteriyel aktivite sonuçları (*E. Coli*-7030-25GLA-Ag)

Şekil 5.26'te 7030-25GLA-Ag nanolifleri için 0. saat, 6. saat, 12. Saat ve 24. Saat boyunca *E.coli* bakterisine karşı gerçekleştirilen antibakteriyel test sonuçları verilmiştir. Şekil 5.27'de ise 7030-25GLA-Ag nanolifleri için 0. saat, 6. saat, 12. Saat ve 24. Saat boyunca *S. Aureus* bakterisine karşı gerçekleştirilen antibakteriyel test sonuçları verilmiştir. 7030-25GLA nanolifi kontrol numunesi olarak kullanılmıştır.



Şekil 5.27. Antibakteriyel test sonuçları (*S. Aureus*- 7030-25GLA-Ag)

Bu kontrol numunesinden beklenen etki tıp ki, üreme kontrolleri gibi, geçen süre ile bakteri sayısında artışın gözlemlenmesiydi ancak 7030-25GLA nanolifi dahil Ag NP katkılı nanoliflerin hepsi daha 6. Saatte %100 antibakteriyel etki göstermiştir. Çünkü GLA'nın antibakteriyel özelliği olduğundan kontrol numunesi de antibakteriyel etkili davranış sergilemiştir.

Bu test içerisinde, GLA katkısız 70PVA30SC nanolifinin değerlendirilememesinin sebebi; su içerisinde çözünüyor olmasından kaynaklanmıştır. Antibakteriyel test aşamalarında kullanılan serum fizyolojik dolayısıyla bahsedilen 70PVA30SC nanolifi test edilememiştir. Ancak bu nanolif antibakteriyel etki verebilecek bilinen bir doğal özellik veya bir katkı maddesi içermediğinden, geçen süre ile bakteri çoğalmasının gözleneceği ön görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda 7030-25GLA nanolifinde de bakteri artışı beklenmiştir.



Şekil 5.28. Antibakteriyel test sonuçları (*E. Coli*-7030-25GLA-Zn)

GLA'nın baskın gelen antibakteriyel özelliği dolayısıyla bu nanolifte ve Ag NP veya ZnO NP katkılı tüm nanoliflerde, hem *E.Coli* hem de *S.Aureus* bakterilerine karşı 6. Saatten başlayarak 24. Saatin sonuna kadar %100 antibakteriyel etki gözlenmiştir. 2Ag katkılı nanolifte *E.Coli* bakterisi ve *S.Aureus* bakterilerine karşı 0. Saatte %100 antibakteriyel etki görülmüştür. 2Ag NP katkılı nanolifin gram negatif *E. Coli* ve gram pozitif *S.Aureus*

bakterisine karşı 0.saatte olan antibakteriyel etkisi hariç, tüm Ag NP katkılı nanoliflerin GLA ve Ag NP varlığında 6. Saat itibariyle tüm bakterileri yok ettiği görülmüştür. 24 saat inkübasyon süresi içerisinde tüm bakterileri öldürmüştür.

Ag iyonları gibi, Zn iyonları da muhtemelen gümüş inhibisyonunun daha az hassas olan bölgesinde solunum zincirini inhibe eder, lösin ve galaktozun *E. Coli*'ye alınmasını büyük oranda engeller. (Schreurs ve Rosenberg 1982) ZnO, büyük bir kırılma indisi ve eksiton bağlanma enerjisi ile geniş bir bant aralığına sahiptir. Bu tür nanoparçacıklar, kauçuklarda, plastiklerde, liflerde ve diğer uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. (Lee ve diğ., 2008)

Şekil 5.28'de 7030-25GLA-Zn nanolifleri için 0. saat, 6. saat, 12. Saat ve 24. Saat boyunca *E.Coli* bakterisine karşı gerçekleştirilen antibakteriyel test sonuçları verilmiştir. Şekil 5.29'da ise 7030-25GLA-Zn nanolifleri için 0. saat, 6. saat, 12. Saat ve 24. Saat boyunca *S. Aureus* bakterisine karşı gerçekleştirilen antibakteriyel test sonuçları verilmiştir.



Şekil 5.29. Antibakteriyel test sonuçları (*S. Aureus*- 7030-25GLA-Zn)

Sonuçlar tablo 5.10 ve tablo 5.11'de tablo haline getirilmiştir. ZnO NP katkılı tüm nanolifler antibakteriyel test esnasında çözünmüştür. Bu sebeple GLA ve ZnO NP katkılı

nanoliflerin iyi çapraz bağlanmadığı görülmüştür. %2 ZnO NP katkılı nanolifin gram pozitif *S.Aureus* bakterisine karşı olan antibakteriyel etkisi hariç, tüm ZnO NP katkılı nanoliflerin GLA ve ZnO NP varlığında 0. Saat itibariyle tüm bakterileri yok ettiği görülmüştür. %2 Ag NP katkılı nanolif ile %2 ZnO NP katkılı nanolif karşılaştırıldığında ise %2 Ag NP katkılı nanolif 0.saatte *S.Aureus* bakterisine karşı daha etkili olduğu ve %100 antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Düşük katkı miktarı karşısında etkin bir antibakteriyel aktivite gösterdiği fark edilmiştir.

Tablo 5.10. Antibakteriyel test sonuçları tablosu (*E. Coli*)

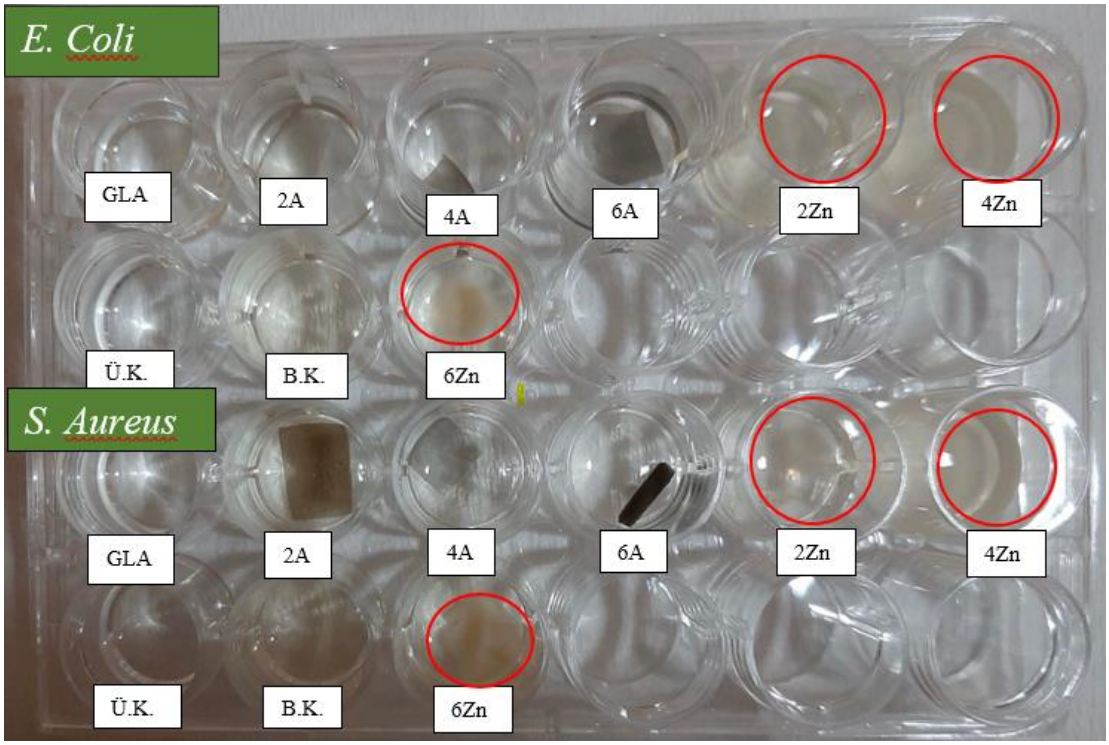
Bakteri Koloni Sayısı	**0. Saat**	**6. Saat**	**12. Saat**	**24. Saat**
Üreme Kontrol	11	Sayısız	Sayısız	Sayısız
D-7030	Sayısız	Sayısız	Sayısız	Sayısız
7030-25GLA	6	0	0	0
7030-25GLA-2Ag	0	0	0	0
7030-25GLA-4Ag	5	0	0	0
7030-25GLA-6Ag	10	0	0	0
7030-25GLA-2Zn	0	0	0	0
7030-25GLA-4Zn	0	0	0	0
7030-25GLA-6Zn	0	0	0	0

Tablo 5.11. Antibakteriyel test sonuçları tablosu (*S. Aureus*)

Bakteri Koloni Sayısı	**0. Saat**	**6. Saat**	**12. Saat**	**24. Saat**
Üreme Kontrol	21	Sayısız	Sayısız	Sayısız
D-7030	Sayısız	Sayısız	Sayısız	Sayısız
7030-25GLA	21	0	0	0
7030-25GLA-2Ag	0	0	0	0
7030-25GLA-4Ag	16	0	0	0
7030-25GLA-6Ag	11	0	0	0
7030-25GLA-2Zn	13	0	0	0
7030-25GLA-4Zn	0	0	0	0
7030-25GLA-6Zn	0	0	0	0

Şekil 5.30'da antibakteriyel test için inkübasyon sırasındaki nanoliflerin görüntüsü verilmiştir. 7030-25GLA numunesinin serum fizyolojik içerisinde tamamen çözüldüğü

görülmektedir. Ag NP ilaveli nanolifler çözünmemiştir. Kırmızı daire ile işaretlenmiş ZnO NP'lerin serum fizyolojik içerisinde çözülmeye başladığı gözlenmiştir. Sitotoksisite sonuçlarına göre hangi nanoliflerin yara örtüsü olarak kullanılıp kullanılamayacağı kararına varılmıştır.

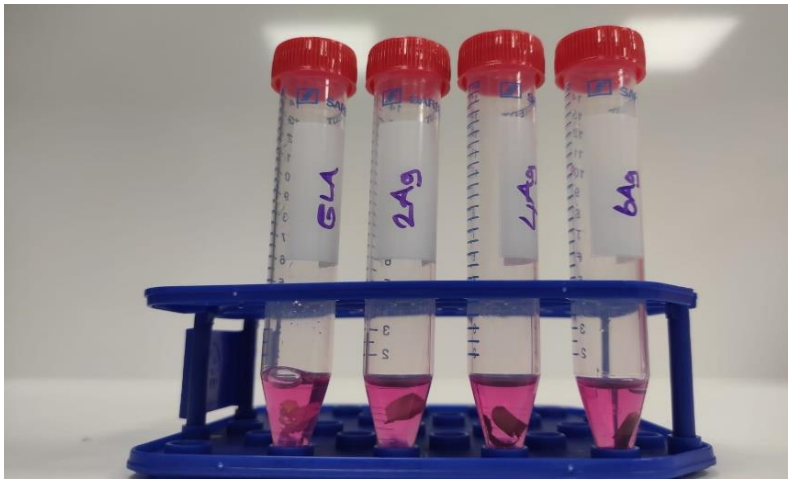


Şekil 5.30. İnkübasyon sırasında nanoliflerin görüntüsü

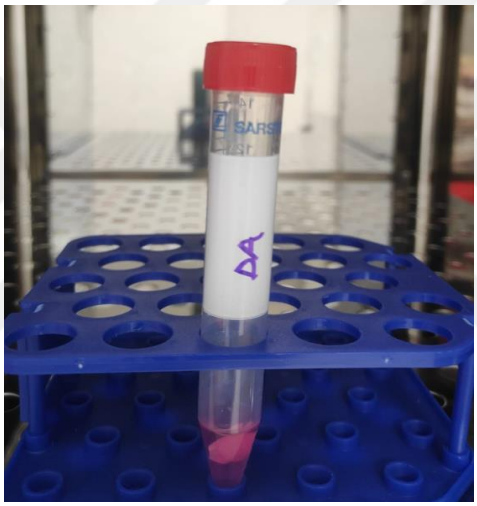
5.3.7. Sitotoksisite Test Sonuçları

Sitotoksisite testi extract yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntemde 1x1 cm^2 hazırlanmış nanolif numuneleri öncelikle hücre besiyerinde 24 saat bekletilmiştir. Hücre besiyerinde bekletilen %25 GLA ilaveli ve Ag NP ilaveli PVA/SC nanolifler Şekil 5.31'de, daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifi şekil 4.32'de gösterilmiştir.

Sonra bekletilen besiyeri sıvısından alınıp hücre sıvısı üzerine ekilmiştir. Burada 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübe edildikten sonra renkli sıvı (WST-1) damlatılarak sıvının UV'sine bakılarak renk ayrımı yapılmıştır, buradan hücrelerin canlılığına bakılarak toksik etkisi belirlenmiştir.



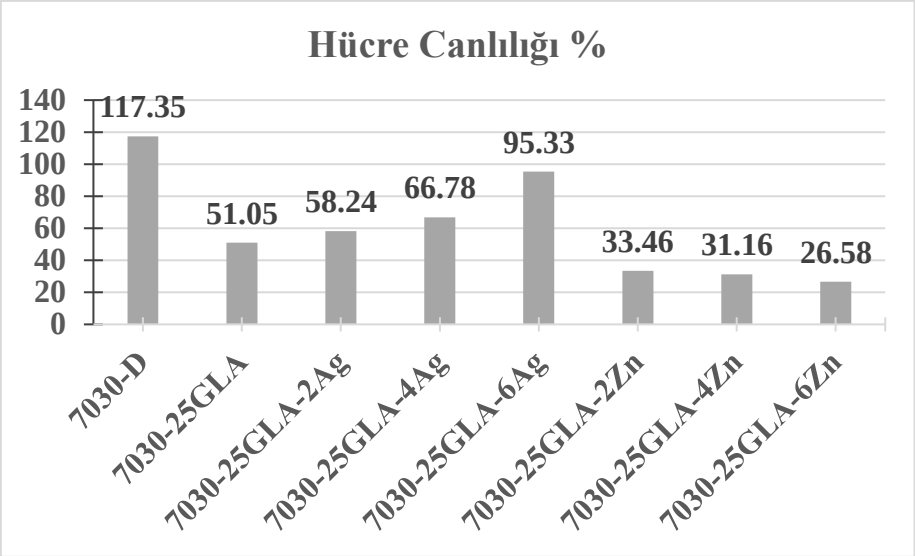
Şekil 5.31. %25 GLA ilaveli ve Ag NP ilaveli PVA/SC nanoliflerin extract yöntemiyle sitotoksisite testi



Şekil 5.32. Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifinin extract yöntemiyle sitotoksisite testi

Bir materyalin yara örtüsü veya doku iskelesi şeklinde kullanılıp kullanılamayacağı sitotoksisite testi ile belirlenmektedir. Tez çalışmasında sitotoksisite testi 24 saatin sonunda sonlandırılmıştır. Çünkü, nanoliflerin antibakteriyel etkinlik testide 24 saat gerçekleştirilmiştir. Bu sayede antibakteriyel aktiviteli yara örtüsü olarak kullanıldıklarında 24 saat sonunda değiştirilmesi önerilmektedir.

Tüm nanoliflerin hücre canlılığı (%) grafikleri Şekil 5.33'de verilmiştir. Sitotoksisite testi için, normal hücre kültür sıvısı, negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Normal hücre kültür sıvısının içerisine %1 (hacim/hacim) olacak şekilde Triton X-100 (Sigma) ve 500 mikrogram/mililitre olacak şekilde Geneticin (Gibco) ilavesiyle de hücrelerin ölümüne sebep olduğu bilinen pozitif kontrol hazırlanmıştır.



Şekil 5.33. Nanoliflerin hücre canlılığı sonuçları

Sitotoksisite testinde pozitif kontrol için toksik etki 24. Saatin bitiminde %27,53 olarak belirlenmiştir. Elde edilen nanolifler, hücre canlılığı sonuçlarının (%) belirlenen bu değer ve bu değerin üst değerlerinde olması koşuluyla toksik etki göstermeyen yapılar şeklinde değerlendirilmiştir. Fakat, pozitif kontrolün hücre canlılık sonucu %70 ve %70'in üstünde bir değer olmadıkça, üretimi yapılmış nanoliflerin yara örtüsü ya da doku iskelesi gibi tıbbi uygulama alanları için kullanılamayacağı literatürde belirtilmiştir. (Alippilakkottea ve diğ., 2017; Samatya Yılmaz ve Aytaç, 2021b) Bu bilgiler doğrultusunda, 7030-25GLA nanolif numunesi %51,05 değeri ile pozitif kontrole göre toksik olmayan değerde ancak, yara örtüsü olarak kullanılmayacak bir değerde sitotoksisite değeri göstermiştir.

Yapıya Ag NP eklenmesiyle yapıdaki toksik etki azalmaya başlamıştır. Yani Ag NP ilavesinin, yapıya hem düşük Ag NP oranında antibakteriyel özellik hem de toksik etki düşürücü olarak fayda sağladığı görülmüştür. Çünkü, diğer metallerle karşılaştırıldığında gümüş, mikroorganizmalara karşı daha yüksek toksisite etkisi sergilerken, memeli hücrelerine karşı çok daha düşük toksisite etkisi sergilemektedir (Li ve diğ., 2010). Bu sayede 2Ag, 4Ag ve 6Ag nanolifleri sırasıyla %58,24, %66,78 ve %95,33 değerlerde hücre canlılık etkinliği göstermişlerdir. %70'in altında kalan nanolifler yara örtüsü veya fibroblast doku iskelesi olarak kullanılamazken, başarıyla çapraz bağlı olarak üretilen 7030-25GLA-6Ag nanolifinin; %95,33 yüksek hücre canlılığı oranıyla fibroblast hücre büyümesini destekleyerek yaranın iyileşmesine katkı sağlayacağı ve böylece %100 antibakteriyel etkili yara örtüsü olarak güvenle kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca yapıya ZnO NP eklenmesiyle pozitif kontrolün hücre canlılık oranına oldukça yakın değerlerde sonuç verdiği gözlemlenmiştir. 2Zn, 4Zn ve 6Zn nanolifleri sırasıyla; %33,46, %31,16 ve %26,58 hücre canlılığı sonucu göstermiştir. Bu durumda yapıdaki ZnO NP miktarı arttıkça toksisite de orantılı şekilde artmıştır yorumu yapılabilir. Hatta %27,53'ün üstündeki değerler toksik olmayan etkide kabul edilirken; %6 ZnO NP katkılı nanolifin %26,58 değeri ile tamamen toksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu durum sitotoksisite testi esnasında çözünen ZnO kaktılı nanolifler dolayısıyla hücre ortamından dağılan yüksek toksik GLA miktarı ile ilişkilendirilmiştir. ZnO katkılı hiçbir nanolif, yara örtüsü veya doku iskelesi olarak kullanılamaz şeklinde yorumlanabilir.

Daldırma yöntemi ile çapraz bağlanan 70PVA30SC nanolifi hem içeriğindeki düşük GLA miktarı ile yüksek çapraz bağlanma etkisi gösterirken aynı zamanda %117,30 hücre canlılığı değeri ile hücre büyümesini oldukça desteklediği görülmüştür. Bu sayede daldırma yöntemi kullanılarak çapraz bağlanan nanolifin, fibroblast doku iskelesi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında, farklı karışım oranlarında PVA/SC nanolifleri elde edilmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde farklı karışım oranlarında PVA/SC nanolifleri üretilip, karakterizasyon testleri yapılmıştır. Üretilen nanoliflerin yüksek çözünürlüklü görüntüleri SEM ile görselleştirilmiştir. SEM mikrografları incelendiğinde yüksek PVA oranına sahip nanoliflerin homojen ve düzgün yapılı lif oluşturduğu gözlemlenmiştir. PVA oranı %70'in altına düştüğünde boncuk oluşumu gözlemlenmeye başlanmıştır. PVA oranı azaldıkça boncuk oluşumu artarak liflerin yapısı bozulmuştur. PVA/SC karışımında SC oranı arttıkça lif çapı ortalaması da azalmıştır.

FTIR sonuçlarında nanolif numunelerinin yapılarındaki bağlardan, molekül ve atomlardan kaynaklanan farklı titreşim frekansları ortaya çıkmıştır. 3500 cm^{-1} ve 3200 cm^{-1} dalga boyları arasındaki geniş bant PVA'ya ait bir piktir ve beklendiği üzere SC ilavesi ile derinliği azalmıştır. Yine bu şekilde PVA'ya ait piklerin SC ilavesiyle birlikte absorbansında azalma gerçekleştiği görülmüştür.

Çekme testiyle nanoliflerin mekanik davranışları ve dayanıklılıkları gözlemlenmiştir. Saf PVA'ya SC eklenmesiyle çekme dayanımı artmış, SC oranı yükseldikçe çekme dayanımı düşmüştür. Maksimum yükteki uzama değerleri de aynı şekildedir.

DSC analizi ile nanoliflerin ısıl özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi sağlanmıştır. DSC termogramlarından elde edilen bilgilere bakıldığında, T_g değerlerinde belli bir artış ya da azalış durumu söz konusu değildir. T_m değerlerinde ise önemli bir farklılık meydana gelmemiştir. Erime entalpileri de aynı şekildedir sadece ilk başta değerleri yüksekken SC ilavesiyle azalmıştır denebilir.

Yapılan karakterizasyon sonuçları değerlendirildiğinde bu çalışma için en uygun özelliklere sahip 70PVA30SC nanolifi seçilmiştir. Çekme testi sonuçlarına göre dayanımı düşük olan 70PVA30SC nanolifi, çapraz bağlanmanın etkilerinin daha iyi görülebilmesi için seçilmiştir. Yara örtüsü olarak kullanımı incelendiği üzere SC oranının yüksek olması gerekliliği düşünülmüştür. SEM görüntülerinde de görüldüğü gibi bu karışım oranında düzgün ve homojen lif oluşumu gerçekleşmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, üretilen PVA/SC nanoliflerin yüksek dayanımlı olması için GLA kullanılarak çapraz bağlanma işlemi yapılmıştır. Çapraz bağlanma işlemi iki şekilde gerçekleştirilmiş; Birincisi PVA/SC çözeltisi içerisine GLA eklenmesiyle, ikincisi ise daldırma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Çözelti içerisine GLA eklenmesiyle çapraz bağlanan nanoliflerin SEM görüntülerinde, yoğunluk artışı nedeniyle lifler birbirlerine yapışmış bir şekilde görülmüştür. GLA ilavesi arttıkça yapışmada doğru orantılı bir şekilde artmıştır. FTIR analizi sonucunda ortaya çıkan IR spektrumları çapraz bağlanmanın gerçekleştiğini kanıtlamıştır.

Daldırma yöntemiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanolifine yapılan FTIR analizi sonucunda hidroksil grupları ve aldehitler arasında gerçekleşen reaksiyonun kanıtı olarak ortaya çıkan asetal halkaları ve eter bağları görülmüştür. IR spektrumlarında görülen bu pikler sayesinde daldırma yönteminde de çapraz bağlanmanın gerçekleştiği FTIR sonuçlarıyla kanıtlanmıştır.

Çekme testi sonuçlarına bakılarak çözelti içerisine eklenen GLA'nın nanoliflerin dayanımı mükemmel derecede arttırdığı söylenebilir. Çekme testinde karşılaştırılma yapılacak olursa çözelti içerisine ilave edilen çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinin çekme dayanımı ve maksimum yükteki uzama % yüzde değerleri en yüksek değere sahiptir. Daldırma yönteminde ise dayanım değerleri PVA/SC nanolifinden biraz daha yüksek, çözelti içerisine eklenerek çapraz bağlanan PVA/SC nanolifinden daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak daldırma yönteminde kullanılan GLA oranının %1,5 olduğu göz önünde bulundurulunca daldırma yönteminin, çözelti içerisine eklenen yöntemden çok daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

Çözelti içerisine GLA ilavesiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerinin DSC sonuçlarına göre T_g değerleri artmıştır. T_m değerlerinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Çözeltiye GLA ilavesiyle çapraz bağlanan PVA/SC nanoliflerinin nem tutma değerlerinin incelenmesi için nem testi gerçekleştirilmiştir. GLA ilavesi arttıkça % nem içeriğide artmıştır, %30 GLA ilavesine geldiğinde ise % nem içeriğinde düşüş meydana gelmiştir. %25 GLA ilavesi için kullanılan GLA miktarı ise 2,8 g ve %30'un ise 3,4 g'dır. Tamamıyla çapraz bağlanma gerçekleşebilmesi için daha fazla GLA ilavesi gereklidir. Ancak GLA miktarı daha fazla kullanılamaz, bunun nedeni nedeni yüksek

miktardaki GLA'nın toksik olmasıdır. Çalışmaya, optimum özelliklere sahip 7030-25GLA nanolifi seçilerek devam edilmiştir.

Çalışmanın üçüncü bölümünde 7030-25GLA çözeltisine Ag NP ve ZnO NP ilave edilerek karakterizasyon testleri gerçekleştirilmiştir. SEM görüntülerinde Ag NP ve ZnO NP'ler görülmüş ve varlıkları kanıtlanmıştır. Aynı zamanda yoğunluk farkından dolayı topaklaşmalar meydana gelmiştir. Bu topaklaşmaların bir sonucu olarak EDX analizinde Ag NP ve ZnO NP'lerin yoğun olduğu bölgeler analiz edilmiş ve EDX sonuçları beklenen değerlerin üzerinde gelmiştir.

FTIR spektrumlarına bakıldığında çapraz bağlı 7030-25GLA nanolifi ile benzer sonuçlar çıkmıştır. NP ilavelerinin çapraz bağlanmayı engellemediği yorumu yapılabilir. Çekme testi sonuçlarında Ag NP ilaveli nanolifler 7030-25GLA nanolifine bakıldığında daha düşük mukavemet göstermiştir. ZnO NP ilaveli nanoliflerinin ise çekme dayanımı değerlerinin birbirine benzer çıktığı, maksimum yükteki uzama değerlerinin %4, %6 ZnO ilavesiyle mükemmel derecede yükselttiği sonucuna ulaşılmıştır.

DSC termogramlarından elde edilen verilere bakıldığında hem Ag NP hemde ZnO NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanoliflerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Nem testinde de aynı şekilde birbirine benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Antibakteriyel test sonuçlarına bakıldığında Ag NP ve ZnO NP ilaveli nanoliflerin 6. Saatten itibaren *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerinin tamamını yok ettiği görülmüştür. GLA da antibateriyel etkinliğe sahip olduğundan aynı şekilde 7030-25GLA'nın da bakterilerin tamamını yok ettiği görülmüştür. Daldırma yöntemiyle üretilen çapraz bağlı nanolifin antibakteriyel test sonucunda 0., 6., 12. ve 24. saat sonunda bakterilerin üremeye devam ettiği görülmektedir. GLA'nın antibakteriyel etkisi daldırma yönteminde açığa çıkmamakta, sadece çapraz bağlama etkisi görülmektedir. Daldırma yönteminde sonuçların bu şekilde çıkması, antibakteriyel madde ilavelerinin etkilerinin daha net değerlendirilebileceği düşündürmektedir.

Yara örtüsü olarak kullanılabilmesi için hücre canlılığının %70 ve %70'in üzerinde olması gerektiği bildirilmiştir. Sitotoksisite sonuçlarına bakıldığında ise hücre canlılığı değerleri daldırma yöntemiyle çapraz bağlı PVA/SC nanolifi %117,35 ve %6 Ag NP ilaveli çapraz bağlı PVA/SC nanolifinin %95,33 olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Diğer

nanolifler %70'in altında kaldığından dolayı yara örtüsü olarak kullanımı mümkün değildir. Daldırma yöntemi ile çapraz bağlanan nanolif antibakteriyel özellik göstermemiştir, fakat çapraz bağlanması ile daha iyi mekanik özelliklere sahip toksik etkisi az fibroblast doku iskelesi olarak kullanılabilir. Çözeltiye ilave edilmesiyle çapraz bağlanan 7030-25GLA-6Ag nanolifi yara örtüsü olarak kullanılabileceği öngörülmüştür.

Genel olarak sonuçlar incelendiğinde daldırma yöntemi ile çapraz bağlamanın yara örtüsü olarak kullanımı için antibakteriyel test harici daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. GLA miktarı %1,5 olduğu için yara örtüsü olarak kullanımı daha uygundur. Ag NP ve ZnO NP'ler çözelti içerisine eklenmesiyle oluşturulan karışım elektroçekim işlemi yapıldıktan sonra daldırma yöntemiyle çapraz bağlanma işleminin gerçekleştirilmesi önerilebilir. Bu şekilde üretilen nanoliflerin antibakteriyel ve sitotoksisite sonuçları iyi olduğunda yara örtüsü olarak kullanılabilir. Daldırma yönteminde farklı oranlarda GLA'nın etkisinin farklı oranlarda incelenmesi bundan sonraki yapılacak çalışmalarda önerilebilir.

KAYNAKLAR

Alghoraibi, I. ve Alomari, S. (2018). Different Methods for Nanofiber Design and Fabrication. Barhoum A., Bechelany M. ve Makhlouf A., Handbook of Nanofibers, 1-46, *Springer, Cham*.

Ambekar, R.S. ve Kandasubramanian, B. (2019). Advancements in Nanofibers for Wound Dressing: A Review. *European Polymer Journal*, *117*, 304-336.

Alippilakkottea, S., Kumar, S. ve Sreejith, L. (2017). Fabrication of PLA/Ag Nanofibers by Green Synthesis Method Using Momordica Charantia Fruit Extract For Wound Dressing Applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 529*, 771-782.

Aloui, H., Baraket, K., Sendon, R., Silva, A.S. ve Khwaldia, K. (2019). Development and Characterization of Novel Composite Glycerol-Plasticized Films Based on Sodium Caseinate and Lipid Fraction of Tomato Pomace by-Product. *International Journal of Biological Macromolecules, 139*, 128–138.

Ananth, A.N., Umapathy, S., Sophia, J., Mathavan, T. ve Mangalaraj, D. (2011). On the Optical and Thermal Properties of in Situ/Ex Situ Reduced Ag NP's/PVA Composites and its Role as a Simple SPR-Based Protein Sensor. *Applied Nanoscience, 1*(2), 87-96.

Aruchamy, K., Mahto, A. ve Nataraj, S.K. (2018). Electrospun Nanofibers, Nanocomposites and Characterization of Art: Insight on Establishing Fibers as Product. *Nano-Structures&Nano-Objects, 16*(3), 45-58.

Bajpai, S., Shah, F. ve Bajpai, M. (2017). Dynamic Release of Gentamicin Sulfate (GS) From Alginate Dialdehyde (AD)-Crosslinked Casein (CAS) Films for Antimicrobial Applications. *Designed Monomers and Polymers, 20*(1), 18-32.

Bera, B. (2017). Preparation of Polymer Nanofiber and its Application, *Asian Journal of Physical and Chemical Sciences, 2*(4), 1-4.

Berber, E. (2016). Glucose Bıosensor Applıcatıon of Electrospun Polyvınyl Alcohol (PVA) Fıbers. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 449150.

Bhardwaj, N. ve Kundu, S.C. (2010). Electrospinning: a Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnology Advances, 28*, 325–347.

Biranje, S., Madiwale, P. ve Adivarekar, R.V. (2019). Porous Electrospun Casein/PVA Nanofibrous Mat For İts Potential Application as Wound Dressing Material. *Journal Of Porous Materials, 26*(1), 29-40.

Büyüksırıt, T. ve Kuleasan, H. (2014). Fourıer Dönüsümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı. *GIDA, 39*(4), 235-241.

Cabezas, E.E. ve Celentano, D.J. (2004). Experimental and Numerical Analysis of the Tensile Test Using Sheet Specimens. *Finite Elements in Analysis and Design, 40*(5-6), 555-575.

Cai, Z., Mo, X., Zhang, K., Fan, L., Yin, A., He, C. ve Wang, H. (2010). Fabrication of Chitosan/Silk Fibroin Composite Nanofibers for Wound-Dressing Applications. *International Journal of Molecular Sciences, 11*(9), 3529-3539.

Chowdhury, S.A., Saha, M.C., Patterson, S., Robison, T. ve Liu, Y. (2019). Highly Conductive Polydimethylsiloxane/Carbon Nanofiber Composites for Flexible Sensor Applications. *Advanced Materials Technologies, 4*(1), 1800398.

Çavuşoğlu, H. (2017). Elektrospinning Yöntemi ile Gümüş Nanopartikül İçeren PVP Bazlı Antibakteriyel Nanolif Üretimi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 467132.

Çaydamlı, Y. (2012). Elektrospinning Yöntemi ile Biyopolimer Esaslı Nanoyapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 330547.

Çetin, B., Avşar, A. ve Ulusoy, A.T. (2011). Kazein İçerikli Besinler ve Dental Ürünler. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, *4*, 24-31.

Diestelhorst, E., Mance, F., Mamun, A. ve Ehrmann, A. (2020). Chemical and Morphological Modification of PAN Nanofibrous Mats with Addition of Casein After Electrospinning. Stabilisation and Carbonisation. *Tekstilec, 63*(1), 38-49.

Eatemadi, A., Daraee, H., Zarghami, N., Yar, H.M. ve Akbarzadeh, A. (2016). Nanofiber: Synthesis and Biomedical Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 44*(1), 111-121.

Erkekoğlu, P. ve Baydar, T. (2021). Güncel in Vitro Sitotoksisite Testleri. *Hacettepe University Journal Of The Faculty of Pharmacy, 41*(1), 45-63.

Fathi, E., Atyabi, N., Imani, M. ve Alinejad, Z. (2011). Physically Crosslinked Polyvinyl Alcohol–Dextran Blend Xerogels: Morphology and Thermal Behavior. *Carbohydrate Polymers, 84*(1), 145-152.

Figueiredo, K., Alves, T. ve Borges, C. (2009). Poly(Vinyl Alcohol) Films Crosslinked by Glutaraldehyde Under Mild Conditions. *Journal of Applied Polymer Science, 111*(6), 3074-3080.

Ghosh, A., Ali, M. ve Dias, G. (2009). Effect Of Cross-Linking on Microstructure and Physical Performance of Casein Protein. *Biomacromolecules, 10*(7), 1681-1688.

Güder, C., Dezenfeksiyon Sterilizasyon, Antisepsi ve Dezenfektanların Kullanım Politikaları. *Güncel Gastroenteroloji,* 2005, *9*(1), 80-86.

Huang, Z., Zhang, Y., Kotaki, M. ve Ramakrishna, S. (2013). A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications İn Nanocomposites. *Composites Science and Technology*, *63*(15), 2223-2253.

Islam, M.S., Rabbani, M.M., Yang, S.B., Choi, W. S., Choi, J. H., Oh, W., Shin, J.C, Lee, J.T. ve Yeum, J.H. (2014). Poly(Vinyl Alcohol)/Pullulan Blend Nanofibres Prepared From Aqueous Solutions Using Electrospinning Method. *Polymers & Polymer Composites*, *22*(9), 779-786.

Islam, M.S. ve Yeum, J.H. (2013). Electrospun Pullulan/Poly(Vinyl Alcohol)/Silver Hybrid Nanofibers:Preparation and Property Characterization for Antibacterial Activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, *436*(7), 279– 286.

Islam, M.S., Yeum, J.H. ve Das, A.K. (2012). Effect of Pullulan/Poly(Vinyl Alcohol) Blend System on the Montmorillonite Structure with Property Characterization of Electrospun Pullulan/Poly(Vinyl Alcohol)/Montmorillonite Nanofibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, *368*(11), 273–281.

Karslı Yılmaz, G.N. (2014). Farklı Kaplama Malzemeleri ile Kaplanmış Karbon Elyaf Takviyeli Poliamit 6,6 ve Poli(Bütilen Teraftalat) Karmalarının Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 360885.

Kong, H. ve Jang, J. (2008). Antibacterial Properties of Novel Poly(Methyl Methacrylate) Nanofiber Containing Silver Nanoparticles. *Langmuir*, *24*(5), 2051-2056.

Kozanoğlu, G.S. (2006). Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 222172.

Krishna, K., Harisha, K. S., Neelakandan, R. ve Sangappa, Y. (2021). Fabrication and Conductivity Study of Silver Nanoparticles Loaded Polyvinyl Alcohol (PVA-Agnps) Nanofibers. *Materials Today: Proceedings*, *42*(2), 515-520.

Laskin, A. ve Cowin, J.P. (2001). Automated Single-Particle SEM/EDX Analysis of Submicrometer Particles Down To 0.1 µm. *Analytical Chemistry*, *73*(5), 1023-1029.

Lee, J., Bhattacharyya, D., Easteal, A. J., ve Metson, J. B. (2008). Properties of Nano-Zno/Poly (Vinyl Alcohol)/Poly (Ethylene Oxide) Composite Thin Films. *Current Applied Physics*, *8*(1), 42-47.

Li, W.R., Xie, X.B., Shi, Q.S., Zeng, H.Y., You-Sheng, O.Y., ve Chen, Y.B. (2010). Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles on Escherichia Coli. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *85*(4), 1115-1122.

Liu, Y., Hao, M., Chen, Z., Liu, L., Liu, Y., Yang, W., ve Ramakrishna, S. (2020). A Review on Recent Advances İn Application of Electrospun Nanofiber Materials As Biosensors. *Current Opinion İn Biomedical Engineering*, *13*, 174-189.

Liu, X., Li, X., Lu, Z., Miao X. ve Feng, Y. (2011). Modified Acrylic-Based Superabsorbents With Hydrophobic Monomers: Synthesis, Characterization and Swelling Behaviors. *Journal of Polymer Research*, *18*(5), 897-905.

Lin, H., Wang, B. ve Weng, Y. (2020). Development and Characterization of Sodium Caseinate Edible Films Crosslinked with Genipin. *Food Science and Technology*, *118*, 108813.

Marin, E. ve Rojas, J. (2015). Preparatıon and Characterızatıon of Crosslınked Poly (Vınyl) Alcohol Fılms wıth Waterproof Propertıes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *7*(3), 242-248.

Matulevicius, J., Kliucininkas, L., Martuzevicius, D., Krugly, E., Tichonovas, M., ve Baltrusaitis, J. (2014). Design and Characterization Of Electrospun Polyamide Nanofiber Media For Air Filtration Applications. *Journal of Nanomaterials*, *14*, 859656.

Minaei, F., Ravandi, S.A.H., Hejazi, S.M. ve Alihosseini, F. (2019). The Fabrication and Characterization of Casein/PEO Nanofibrous Yarn Via Electrospinning. *E-Polymers*, *19*(1), 154-167.

Meraz-Davila, S., Garcia, C.E.P. ve Feregrino-Perez, A.A. (2021). Challenges and Advantages of Electrospun Nanofibers İn Agriculture: A Review, *Materials Research Express*, *8*, 042001.

Mohammadi, R., Bahrami, S.H., ve Joghataei, M.T. (2013). Fabrication of Novel Nanofiber Scaffolds From Gum Tragacanth/Poly (Vinyl Alcohol) for Wound Dressing Application: İn Vitro Evaluation and Antibacterial Properties. *Materials Science and Engineering: C*, *33*(8), 4935-4943.

Moldoveanu, C., Odochian, L., Paius, C.M., Lorela, I. ve Baiceanu, A. (2013). Study on the Thermal Behavior of Casein in Air. *Acta Chemıca Iası*, *21*, 31-46.

Okur, Ö.D. ve Güzel Seydim, Z. (2007). Kazeinin Yapısal ve Fizikokimyasal Özellikleri. *Akademik Gıda*, *4*(6), 11-14.

Özbağ, S. (2010). İletken Polimerlerin Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 266359.

Özdemir, T. ve Özcan, T. (2019). Süt Ürünlerinin Mikro Yapısının Oluşumunda Süt Proteinlerinin Önemi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *33*(2), 355-374.

Palamutcu, S., Şengül, M., Devrent, N. ve Keskin, R. (2008). Tekstil Ürünlerinde Antimikrobiyal Etkinlik Belirleme Testleri. Ulusal Ölçümbilim Kongresi, İzmir, Türkiye, 30 Ekim-01 Kasım 2008.

Pereda, M., Aranguren, M. ve Marcovich, N. (2010). Effect of Crosslinking on the Properties of Sodium Caseinate Films. *Journal of Applied Polymer Science*, *116*(1), 18-26.

Polat, H.K. (2020). Bakteriyel Keratit Tedavisine Yönelik Besifloksasin Yüklü Oküler İnsertlerin Elektro-Eğirme Yöntemi ile Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 639284.

Rai, M., Yadav, A. ve Gade, A. (2009). Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials. *Biotechnology Advances*, *27*(1), 76–83.

Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W., Lim, T. ve Ma, Z. (2005) An İntroduction To Electrospinning and Nanofibers. *World Scientific*.

Raja, K., Ramesh, P.S. ve Geetha, D. (2014). Structural, FTIR and Photoluminescence Studies of Fe Doped Zno Nanopowder by Co-Precipitation Method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 131*, 183-188.

Samatya Yılmaz, S. ve Aytaç, A. (2021a) The Effect Of Different Compatibilizers on the Properties of Prepared Poly(Lactic Acid)/ Polyurethane Nanofibers by Electrospinning. *Journal of Industrial Textiles*, 15280837211029051.

Samatya Yılmaz, S. ve Aytaç, A., Productıon of Wound Dressing Wıth Antıbacterial Effect From Bıcomponent Nanofıbers with Core Raw Pla-Shell Pu-Ag Nps, Ispec 11th International Conferences on Engineering & Natural Sciences, Muş, Türkiye, Eylül 18-19 2021b.

Sezek, N. (2015). Nem Tutma Performansı Yüksek Polimerik Malzemelerin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 398123.

Schreurs, W. J. ve Rosenberg, H. (1982). Effect of Silver İons on Transport and Retention of Phosphate by Escherichia Coli. *Journal of Bacteriology*, *152*(1), 7-13.

Sirc, J., Hobzova, R., Kostina, N., Munzarova, M., Juklıckova, M., Lhotka, M., Kubinova, S., Zajıcova, A. ve Michalek, J. (2012). Morphological Characterization Of Nanofibers: Methods and Application İn Practice. *Journal Of Nanomaterials*, 327369.

Supaphol, P., Chuangchote, S. (2008). On The Electrospinning of Poly(Vinyl Alcohol) Nanofiber Mats: A Revisit. *Journal of Applied Polymer Science*, *108*, 969–978.

Subbiah, T., Bhat, G.S., Tock, R.W., Parameswaran, S. ve Ramkumar, S.S. (2005). Electrospinning Of Nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, *96*, 557–569.

Thavasi, V., Singh, G. ve Ramakrishna, S. (2008). Electrospun Nanofibers in Energy and Environmental Applications. *Energy & Environmental Science*, *1*, 205–221.

Thong, C.C., Teo, D.C.L. ve Ng, C.K. (2016). Application Of Polyvinyl Alcohol (PVA) İn Cement-Based Composite Materials: A Review Of İts Engineering Properties and Microstructure Behavior. *Construction and Building Materials*, *107*, 172-180.

Tomasula, PM., Sousa, A.M.M., Liou, S.C., Li, R., Bonnaillie, L.M. ve Liu, L.S. (2016). Short Communication: Electrospinning of Casein/Pullulan Blends for Food-Grade Applications. *Journal of Dairy Science*, *99*(3), 1837-1845.

Toriello, M., Afsari, M., Shon, H.K. ve Tijing, L.D. (2020). Progress on The Fabrication and Application of Electrospun Nanofiber Composites. *Membranes*, *10*(9), 204.

Üçpınar, B. (2018). Karbon Elyaf Kaplama Türlerinin Ve Uyumlaştırıcıların Karbon Elyaf Takviyeli Poli(Fenilen Sülfid) Kompozitlerinin Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 494772.

Üçpınar Durmaz, B. ve Aytac A. (2021). Preparation and Properties Of Poly (Vinyl Alcohol)/Sodium Caseinate Blend Films Crosslinked With Glutaraldehyde and Glyoxal. *Journal Of Polymer Engineering*, *41*(9), 808-817.

Üstündağ, G.C., Karaca E., Özbek S. ve Çavuşoğlu İ. (2010). In Vıvo Evaluatıon of Electrospun Poly (Vınyl Alcohol)/Sodıum Algınate Nanofibrous Mat as Wound Dressıng. *Tekstil ve Konfeksiyon*, *20*(4), 290-298.

Üstündağ, G.C. ve Karaca, E. (2009). Poli (Vinil Alkol)/Sodyum Alginat Karışımlarından Elektro Çekim Yöntemi İle Elde Edilen Nanolifli Yüzeylerin İncelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, *14*(1), 159-172.

Vargas, E.T., Baracho, N.C., Brito, J. ve Queiroz, A.A.A. (2010). Hyperbranched Polyglycerol Electrospun Nanofibers For Wound Dressing Applications. *Acta Biomaterialia*, *6*(3), 1069-1078.

Yeom, C.K. ve Le, K.H. (1996) Pervaporation Separation Of Water-Acetic Acid Mixtures Through Poly (Vinyl Alcohol) Membranes Crosslinked With Glutaraldehyde. *Journal Of Membrane Science*, 1996, *109*(2), 257-265.

Zhang, Y., Zhu, P. ve Edgren, D. (2010). Crosslinking Reaction of Poly(Vinyl Alcohol) with Glyoxal. *Journal of Polymer Research*, *17*(5), 725-730.

Xie, J. ve Hsıeh, Y.L. (2003). Ultra-High Surface Fibrous Membranes from Electrospinning of Natural Proteins: Casein and Lipase Enzyme. *Journal of Materıals Scıence*, *38*, 2125 – 2133.

Xu, S., Shen, L., Li, C. ve Wang, Y. (2018). Properties and Pervaporation Performance of Poly (Vinyl Alcohol) Membranes Crosslinked with Various Dianhydrides. *Journal of Applied Polymer Science, 135*(17), 46159.

Qian, Y., Qi, M., Zheng, L., King, M.W., Lv, L., ve Ye, F. (2016). Incorporation of Rutin in Electrospun Pullulan/PVA Nanofibers for Novel UV-Resistant Properties. *Materials, 9*(7), 504-512.

Qin, X., Dou, G., Jiang, G. ve Zhang, S. (2013). Characterization of Poly (Vinyl Alcohol) Nanofiber Mats Cross-Linked with Glutaraldehyde. *Journal of Industrial Textiles, 43*(1), 34-44.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Şendil Ö., Samatya Yılmaz S. ve Aytaç A.,(2021) Çapraz Bağlı Polivinil Alkol/Sodyum Kazeinat Karışımlarından Nanolif Üretimi ve Karakterizasyonu, *Uluslararası Karadenize Kıyısı Olan Ülkeler Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu*, Bükreş, 27-29 Kasım.

ÖZGEÇMİŞ

2015 yılında Edremit Anadolu Lisesi'nden mezun olduktan sonra Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde üniversite eğitimine başladı. Hazırlık eğitimi ile birlikte 5 yıllık lisans eğitimini tamamlayıp, 2020 Haziran'da mezun oldu. Lisans eğitimi bittikten hemen sonra 2020 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.