

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**PATOJENLERİN TUTULMASI VE YOK EDİLMESİNİ
SAĞLAYAN MEDİKAL MASKELERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

HAZIRLAYAN

BETÜL ÇİMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA - 2022

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**PATOJENLERİN TUTULMASI VE YOK EDİLMESİNİ
SAĞLAYAN MEDİKAL MASKELERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

HAZIRLAYAN

BETÜL ÇİMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. EMİR BAKİ DENKBAŞ**

**EŞ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ TANSEL UYAR**

ANKARA- 2022

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde BETÜL ÇİMEN tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06 / 01 / 2022

Tez Adı: Patojenlerin Tutulması ve Yok Edilmesini Sağlayan Medikal Maskelerin Geliştirilmesi

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

Prof. Dr. İsmail Cengiz KOÇUM, Başkent Üniversitesi

.....

Prof.Dr.Ahmet ÇABUK, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

.....

Prof.Dr.Emir Baki DENKBAŞ, Başkent Üniversitesi

.....

Dr.Öğr. Üyesi Tansel UYAR Başkent Üniversitesi

.....

ONAY

Prof. Dr. Ömer Faruk ELALDI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tarih : ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 17 /01 / 2022

Öğrencinin Adı, Soyadı: BETÜL ÇİMEN

Öğrencinin Numarası: 21820229

Anabilim Dalı: Biyomedikal Mühendisliği

Programı: Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı: Prof.Dr. Emir Baki DENKBAŞ

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi TANSEL UYAR

Tez Başlığı: Patojenlerin Tutulması ve Yok Edilmesini Sağlayan Medikal Maskelerin Geliştirilmesi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 51 sayfalık kısmına ilişkin, 17 / 01 / 2022 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 6'dır. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

ONAY

Tarih: ... / 01 / 2022

Prof.Dr. Emir Baki DENKBAŞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımını ve desteğini esirgemeyen, her türlü imkânı bizlere sunan, bilgi ve birikimlerini her zaman bize “eğitimin bir parçası” olarak aktaran ve bizlere ışık tutan çok değerli hocam Prof.Dr. Emir Baki DENKBAŞ’a teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmam boyunca bana her zaman yardımcı olan ve yol gösteren, değerli fikirlerini benimle paylaşan çok değerli eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Tansel UYAR’a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamda değerli desteklerinden dolayı Prof.Dr. İsmail Cengiz KOÇUM’a teşekkürlerimi sunarım.

Hiçbir zaman destek ve yardımlarını eksik etmeyen çok değerli hocam Dr.Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL’a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımızda bize laboratuvarlarını açan BİYOTEK TEKMER Genel Müdürü Ali İhsan Ünlü’ye teşekkür ederim.

Güler yüzünü ve yardımlarını hiç eksik etmeyen Arzu YURTCU’ ya çok teşekkür ederim.

SEM görüntülerini çekmemizde bize yardımcı olan sayın Erdem BARIŞ’a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan, birlikte çalışmaktan keyif aldığım, varlığı ile beni hep mutlu eden canım kardeşim Rümeysa EKİCİ’ye çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca hep yanımda olan canım kardeşim Pelin EFEBAŞI’na çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini eksik etmeyen canım kardeşim Gamze ATA BÜYÜKTAVŞAN’a çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca ve hayatımın her aşamasında, beni her daim destekleyen çok sevdiğim biricik ailem; sevgili babam Ahmet ÇİMEN, sevgili annem Mehtap ÇİMEN, canım kardeşim Mahmut ÇİMEN, canım halam Arife ÇİMEN, amcam Mehmet ÇİMEN, dedem Mustafa ÇİMEN’e ve babaannem Saime ÇİMEN’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mutluluğumda olduğu gibi en zor ve stresli günlerimde daima yanımda olan, hayatımı her daim birlikte sürdürmek istediğim Berk YILDIZ’a çok teşekkür ederim.

ÖZET

BETÜL ÇİMEN

PATOJENLERİN TUTULMASI VE YOK EDİLMESİNİ SAĞLAYAN MEDİKAL MASKELERİN GELİŞTİRİLMESİ

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

2022

Covid-19 salgını gibi hastalığın/hastalıkların bulaşmasını engellemenin en etkin yollarından biri olarak maske kullanımı öngörülmektedir. Söz konusu maske uygulamaları arasında en yaygın olanlar genel olarak cerrahi (ya da medikal) maske ve N95 tipi maskelerdir. Bu maskeler onlarca yıldır benzer amaçlarla yoğun ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu maskelerden cerrahi maskeler özellikle sahip oldukları ekonomik avantajlardan dolayı en yaygın olarak kullanılan tür olmuş ve olmaya devam etmektedir.

Öte yandan cerrahi maskelerin yeni nesil olan türlerinde bazı antibakteriyel ya da antiviral ajanların bu maskelere ilave edilmesiyle bu maskelere, bakteri ve/veya virüsleri yok ederek sadece bu gibi ajanların tutulması fonksiyonunun ötesinde bulaşmayı engelleyici/hayat kurtarıcı fonksiyonlar kazandırılması üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaçla söz konusu yeni nesil maskelerde özellikle değişik biyosidal etkiye sahip ajanlarında kullanımı araştırılmaktadır.

Yeni nesil maskelerin hazırlanmasında sentetik polimerik malzemeler (örneğin; naylon, polivinil alkol, vb.) kullanılabildiği gibi biyopolimerik yapılar da (örneğin; mikrobiyal polyesterler, ipek proteinleri, aljinat vb.) fiber malzemesi olarak kullanılabilmektedir.

Maskelere biyosidal özellik kazandırılmak üzere değişik metal oksit nanoyapıların yukarıda belirtilen stratejilerden en uygun olan belirlenerek maske malzemelerine entegre edilmesi mümkün olabilmektedir. Biyosidal metal oksit malzemelere örnek olarak bakır ve çinko oksit yapıları sıklıkla değerlendirilen malzemelerdir.

Sunulan tez çalışmasında, ipek fibroin kullanılarak yeni nesil maskelerin tasarımları gerçekleştirilmiş ve hidroksi apatit ile bakır oksitlerin kullanımıyla maskelere biyosidal özellikler kazandırılmaya çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus*,

Pseudomonas aeruginosa, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus* bakterileri kullanılmış ve belirli oranda bakır oksidin *Pseudomonas aeruginosa* dışında tüm bakterilere karşı geliştirilen yapıların etkili olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca bakır derişimin artmasıyla antibakteriyel etkinliğin arttığı belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Medikal maske, Antibakteriyal, Antimikrobiyal



ABSTRACT

BETÜL ÇİMEN

DEVELOPMENT OF MEDICAL MASKS THAT ENSURE THE RETENTION AND DESTRUCTION OF PATHOGENS

Başkent University Institute of Science and Engineering

Department of Biomedical Engineering

2022

The use of masks is envisaged as one of the most effective ways to prevent the transmission of diseases/diseases such as the Covid-19 pandemic. Among the mask applications, the most common ones are surgical (or medical) masks and N95 type masks in general. These masks have been intensively and widely used for similar purposes for decades. Surgical masks from these masks have become and remain the most widely used type, especially due to the economic advantages they have.

On the other hand, the new generation of antibacterial or antiviral agents in the types of surgical masks to mask this mask with the addition of some bacteria and/or viruses by destroying the function of agents beyond keeping only such contamination prevention/life-saving functions to equip students with intensive research is being done on. For this purpose, especially in the new generation masks in question, agents with different biocidal effects

Synthetic polymeric materials (for example, nylon, polyvinyl alcohol, etc.) are used in the preparation of a new generation of masks.), as well as biopolymeric structures (e.g. microbial polyesters, silk proteins, alginate, etc.) it can be used as a fiber material.

In order to give biocidal properties to masks, it is possible to integrate various metal oxide nanostructures into mask materials by determining the most appropriate of the above-mentioned strategies. As an example of biocidal metal oxide materials, copper and zinc oxide structures are often considered materials.

In the presented study, the designs of new generation masks using silk fibroin were carried out and it was tried to impart biocidal properties to the masks by using hydroxy apatite and copper oxides. In antibacterial effectivity studies, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Micrococcus Luteus* have been used as bacterial lines and the mask material (fibers) have shown to be effective against all bacteria except

Pseudomonas Aeruginosa with a particular copper oxide concentration. Also, it was detected that when the copper concentration increases, antibacterial effectivity is increased either.

KEYWORDS: Medical Mask, Antibacterial, Antimicrobial



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLOLAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Enfeksiyon.....	3
2.1.2. Bakteri ve patogenezi	4
2.2. Kişisel Koruyucu Donanım Kitleri	5
2.2.1. Kişisel koruyucu donanımlarda nanoteknolojik yaklaşımlar	6
2.3. Kişisel Koruyucu Ekipmanlardan Olan Maske	7
2.3.1. Yüz maskelerinin yapısı.....	10
2.3.1.1.Cerrahi maskeler	10
2.3.1.2. Solunum maskeleri.....	11
2.3.2. Yüz maskesi üretim yöntemleri.....	11
2.4. Kişisel Koruyucu Donanımlara Biyosidal Özellikleri Kazandırılması	12
2.4.1. Bakır bazlı biyosidal ajanlar	13
2.4.1.1. Bakırın yüzeyler üzerindeki salınım mekanizması	15
2.4.1.2. Bakırın toksisitesi	16
2.5. Tekstilde Nanoteknoloji	16
2.5.1. Antimikrobiyal tekstiller	17
2.5.1.1. Antimikrobiyal yüz maskeleri.....	17
2.6. Nanofibriler Yapılar.....	17
2.6.1. Elektrostatik eğirme (Electrospinning)	18
2.6.1.1. Elektrostatik eğirmeyi etkileyen parametreler.....	19
2.7. Kullanılan Malzemeler Ve Yapısal Özellikleri	21
2.7.1. İpek böceğinden (Bombyx Mori) elde edilen ipek fibroinleri	21
2.7.1.1. İpek fibroinlerin yapısı ve özellikleri.....	22
2.7.2. Kalsiyum fosfat bileşikleri (CaP)	23

2.7.3. Kullanılan bakteriler.....	24
2.7.3.1. Pseudomonas aeruginosa.....	24
2.7.3.2. Staphylococcus aureus	24
2.7.3.3. Klebsiella Pneumoniae.....	25
2.7.3.4 Micrococcus Luteus.....	25
3. MATERYAL METOD	26
3.1. Kimyasallar ve Cihazlar	26
3.2. İpek Fibroin Nanofiber Matların Üretimi	26
3.2.1. İpek saflaştırma	26
3.2.2. Elektrostatik eğirme için çözelti hazırlama	28
3.2.3. Elektrostatik eğirme.....	28
3.3. Üretilen İpek Nanofiber Matlara Antibakteriyel Özelliklerin Kazandırılması	32
3.3.1. Hazırlanan ipek nanofiberlerin minerilizasyonu	32
3.3.2. Mineralize edilmiş ipek nanofiberler üzerine bakır oksit bağlama.....	32
3.4. Antibakteriyel Özellikli İpek Fibroin Nanofiber Matların Kimyasal ve Fiziksel Karakterizasyonu ile Antibakteriyel Etkinlik Testleri	34
3.4.1. Fiziksel ve kimyasal karakterizasyon	34
3.4.1.1. İpek fibroin nanofiber matların fiziksel karakterizasyonu.....	34
3.4.2.2. Mineralizasyonu gerçekleştirilen İpek fibroin nanofiberlerin karakterizasyonu	35
3.4.2.3. Mineralize edilen İpek fibroin nanofiberlerin karakterizasyonu	35
3.4.2. Antibakteriyel etkinlik testi.....	35
4. DENEYSEL BULGULAR	37
4.1. Fiziksel ve Kimyasal Karakterizasyon	37
4.1.1. İpek kozalarından üretilen ipek fibroin matların Fiziksel karakterizasyonu.....	37
4.1.2. Mineralize edilmiş ipek fibroin nanofiber matların karakterizasyonu	40
4.1.3. Mineralize edilen İpek fibroin nanofiber matlara bakır bağlandıktan sonra karakterizasyonu	42
4.2. Antibakteriyel Etkinlik Testi.....	45
5. SONUÇLAR.....	50
KAYNAKLAR.....	52

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Elektrostatik eğirme parametrelerinin elyaf morfolojisine etkisi [53]	19
Tablo 4.1. Fiber çap karakterizasyonu	38
Tablo 4.2. Farklı test mikroorganizmaları ve konsantrasyonlarda nanofiberlerin antibakteriyel etkinliği	46



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Topluma salgının yayılma mekanizması.....	4
Şekil 2.2. Patojenlerin iletim yolları.....	8
Şekil 2.3. Maskenin koruyucu etkisi	9
Şekil 2.4. Üç katlı cerrahi maskedeki katmanların özellikleri.....	10
Şekil 2.5. Dokunmamış kumaş üretim yöntemleri [1]	12
Şekil 2.6. Metal nanoparçacıkların antimikrobiyal davranışları ile ilgili mekanizmalar [35]	14
Şekil 2.7. Elektrostatik eğirme aparatının kurulumunun şematik diyagramı [52]	19
Şekil 2.8. Kalsiyum fosfat bileşikler ile divalent iyonlar arasındaki rekristalizasyon reaksiyonu [63].....	24
Şekil 3.1. İpek saflaştırma basamakları	27
Şekil 3.2. İpek saflaştırma basamakları A) Bombyx mori kozası, B) Kesilerek küçültülmüş kozalar, C) Saflaştırılan ipek fibroin, D) Uzaklaştırılan serisin.....	28
Şekil 3.3. Elektrostatik eğirme basamakları	29
Şekil 3.4. A) Elektrostatik eğirme cihazı ve düzeneği, B) Elektrostatik eğirme sonucunda elde edilen SF.....	31
Şekil 3.5. Mineralizasyon basamakları	32
Şekil 3.6. A) pH ölçüm cihazında pH ayarlama, B) Akıllı karıştırıcıdaki SF nanofiber matlar	33
Şekil 3.7. SEM-EDX cihazı.....	34
Şekil 3.8. Nutrient agar içeren petrilere bakterileri yayma ekimi	36
Şekil 4.1. İşlem görmemiş SF nanofiber matların SEM görüntüleri A) 10 µm (8 000 x), B) 30 µm (3 000 x)	37
Şekil 4.2. Fiberlerin çap analizi	38
Şekil 4.3. A) Image J programı üzerinden skaladan ölçüm alınması B) Image J programı üzerinden fiber çapı ölçülmesi	39
Şekil 4.4. Kalsiyum-fosfat bileşikler ile mineralize edilmiş ipek fibroinlerin SEM görüntüsü A) 10 µm (10 000 x), B) 40 µm (2 500 x)	40
Şekil 4.5. Hidroksiapatit kristallerine ait olan SEM-EDX görüntüleri A) Fosfor (2 400 x), B) Kalsiyum (2 400 x)	41

Şekil 4.6. Hidroksiapatit kristalleri.....	42
Şekil 4.7. SEM-EDX ile görüntülenen Bakır iyonlarının varlığı a) 50 µm (1 200 x), b) 40 µm (2 400 x)	43
Şekil 4.8. A) İşlem görmemiş SF nanofiber matlar(10 µm, 8 000 x) B) Hidroksiapatit ile kaplanmış SF nanofiber matlar (10 µm, 10 000 x), C) Hidroksiapatit kristalleri (20 µm, 4 000 x) SEM görüntüleri	45
Şekil 4.9. Bakteri içermeyen ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Negatif Kontrol)	46
Şekil 4.10. Bakteri içeren ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Pozitif Kontrol)	46
Şekil 4.11. 120 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O'de gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (mat içeren örnekler)	46
Şekil 4.12. Bakteri içermeyen ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Negatif Kontrol)	47
Şekil 4.13. Bakteri içeren ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Pozitif Kontrol)	47
Şekil 4.14. 30 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O'de gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri.....	47
Şekil 4.15. 120 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O'da hazırlan fiberlerin <i>Micrococcus luteus</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik	48
Şekil 4.16. 120 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O'da hazırlan fiberlerin <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik	48
Şekil 4.17. 120 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O'da hazırlan fiberlerin <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik	49

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Ag Np	Gümüş Nanopartikül
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
Ala	Alanin
Au Np	Altın Nanopartikül
B.Mori	Bombyx Mori
C ₂ H ₅ OH	Etanol
Ca	Kalsiyum
Ca ²⁺	Kalsiyum (2+) iyonu
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CaP	Kalsiyum fosfat
Cd ²⁺	Kadmiyum iyonu
CDC	Hastalık kontrol ve önleme merkezi
CH ₃ OH	Metanol
cm	Santimetre
Cu ⁺	Bakır (+) iyonu
Cu ²⁺	Bakır (2+) iyonu
Cu ₂ O	Bakır(I) Oksit
CuI	Bakır İyodür
CuO	Bakır (II) Oksit
CuO Np	Bakır oksit nanopartikül
CuSO ₄ .5H ₂ O	Bakır sülfat pentahidrat
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDX	Elektron Dağılım Spektroskopisi
ESOGÜ	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
FE	Filtrasyon verimliliği
Gly	Glisin
GO	Grafen Oksit
H1N1	İnfluenza Virüsü
H9N2	Kuş Gribi
HCl	Hidroklorik Asit
HSV	Herpes Simpleks Virüsü
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
kDa	Kilodalton
KKD	Kişisel koruyucu donanım
kV	Kilovolt
<i>M. Luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
MB	Melt-blown
ml/h	Mililitre/ saat
mm	Milimetre
mM	Millimolar
MΩ	Megaohm
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
(NH ₄) ₂ HPO ₄	Diamonyum fosfat
NIOSH	National Institute of Occupational Safety and Health
Ni ²⁺	Nikel (2+) iyonu
NP	Nanopartikül

OH-	Hidroksil
P	Fosfor
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pb ²⁺	Kurşun (2+) iyonu
PCL	Polycaprolactone
PGA	Poliglolid
pH	Power of hydrogen
PHB	Poli-3-hidroksibütirat homopolyesteri
PLA	Polilaktik asit
PO ₄ ³⁻	Fosfat
PP	Poli propilen
ppm	Parts per million
ROS	Reaktif oksijen türleri
RSV	Bronşit virüsü
<i>S.Aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SARS-CoV-2	Akut solunum yolu sendromu koronavirüsü 2
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
Ser	Serin
SF	İpek fibroin (Silk fibroin)
SiO Np	Silisyum oksit nanopartikül
SMS	Spunbond–meltbond–spunbond
Sr ²⁺	Strontium (2+) iyonu
TFA	Trifluoroasetik asit
w/v	Hacimde ağırlıkça yüzde
Zn ²⁺	Çinko (2+) iyonu
µm	Mikrometre

1. GİRİŞ

İnsan sağlığını tehdit eden ve başta enfeksiyon hastalıkları olmak üzere pek çok farklı rahatsızlığa neden olan havadaki kirleticiler hemen hemen her yerde karşımıza çıkmaktadır. Genel olarak hastane ortamları vb. ortamlar söz konusu olumsuzlukların kaynağı olarak en iyi bilinen ortamlardır. Öte yandan içinde bulunduğumuz dönemde yaşanmakta olan pandemi vb. durumlarda söz konusu olumsuzluk kaynakları hastaneler ile sınırlı olmayıp bulaşıcı hastalığa (özellikle solunum yolları ile bulaşan) sahip olan kişilerin bulundukları tüm ortamlar söz konusu kaynağı oluşturabilmektedir.

Konu ile ilgili olarak gerek geçmiş yıllarda yaşanan olumsuzluklar ve gerekse günümüzde yaşanan Covid-19 salgını gibi durumlarda kazanılan deneyimler söz konusu hastalığın/hastalıkların bulaşmasını engellemenin en etkin yollarından biri olarak insanların maske kullanmaları öngörülmektedir. Söz konusu maske uygulamaları arasında en yaygın olanlar genel olarak cerrahi (ya da medikal) maske ve N95 tipi maskelerdir. Bu maskeler onlarca yıldır benzer amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu maskelerden cerrahi maskeler özellikle sahip oldukları ekonomik avantajlardan dolayı en yaygın olarak kullanılan çeşit olmuş ve olmaya devam etmektedir.

Bu maskelerin kullanımı ile ilgili olarak öncelikle birtakım testlerden geçirilmeleri ve başarı göstermeleri gerekmektedir. Bu testlerden bazıları; bakteriyel filtrasyon etkinliği, basınç dayanımı, mikron büyüklüklerden daha küçük boydaki partikül filtrasyon verimi, geçirgenlik testleri ve alev almaya karşı dayanım testi gibi testlerdir.

Öte yandan cerrahi maskelerin yeni nesil olan türlerinde birtakım antibakteriyel ya da antiviral ajanların bu maskelere dekore edilmesiyle bu maskelere, bakteri ve/veya virüsleri yok ederek sadece bu gibi ajanların tutulması fonksiyonunun ötesinde bulaşmayı engelleyici/hayat kurtarıcı fonksiyonlar kazandırılması üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaçla söz konusu yeni nesil maskelerde özellikle değişik biyosidal etkiye sahip ajanlar (bir başka deyimle; zararlı organizmaların hareketlerini kısıtlayabilen, uzaklaştırabilen, zararsız kılabilen ya da yok edebilen ajanlar) çeşitli yollarla maske malzemelerine entegre edilmektedir.

Burada sözü edilen entegrasyon yöntemlerine göre, biyosidal ajanlar elektrospinleme esnasında fiberlerin içerisine yüklenebildiği gibi fiberler hazırlandıktan sonra bu fiberlerin yüzeyine de takılabilir ya da fiziksel olarak fiberler arasına yüklenebilir. Ayrıca söz konusu biyosidal ajanların fiberlere kimyasal bağlarla çapraz bağlanmaları da sağlanabilir. Yeni nesil maskelerin hazırlanmasında sentetik polimerik malzemeler (örneğin; naylon, polivinil

alkol vb.) kullanılabildiği gibi biyopolimerik yapılar da (örneğin; mikrobiyal polyesterler, ipek proteinleri, aljinat vb.) fiber malzemesi olarak kullanılabilmektedir.

Maskelere biyosidal özellik kazandırılmak üzere değişik metal oksit nanoyapıların yukarıda belirtilen stratejilerden en uygun olan belirlenerek maske malzemelerine entegre edilmesi mümkün olabilmektedir. Biyosidal metal oksit malzemelere örnek olarak bakır ve çinko oksit yapıları sıklıkla değerlendirilen malzemelerdir [1] [2] [3].

Sunulan tez kapsamında temel amaç; farklı enfeksiyonel hastalıklara yol açan patojenlerin solunum yolları ile vücuda alınmasını engelleyen en önemli koruyucu bariyerlerden olan maskelerin (cerrahi ya da medikal maske) yeni nesil olarak adlandırılan ve maskenin fiziksel engelleme özelliğinin ötesinde hastalık etkenlerinin yok edilmesine yönelik maskelerin tasarımı ve geliştirilmesidir. Bu amaçla, ipek proteinlerinden elde edilen ipek fibroin nanofiberler kullanılarak, kişisel koruyucu ekipmanlardan olan cerrahi maskenin meltblown orta katmanını destekleyici ve iyileştirici antibakteriyel nanofiber mat katmanların üretilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

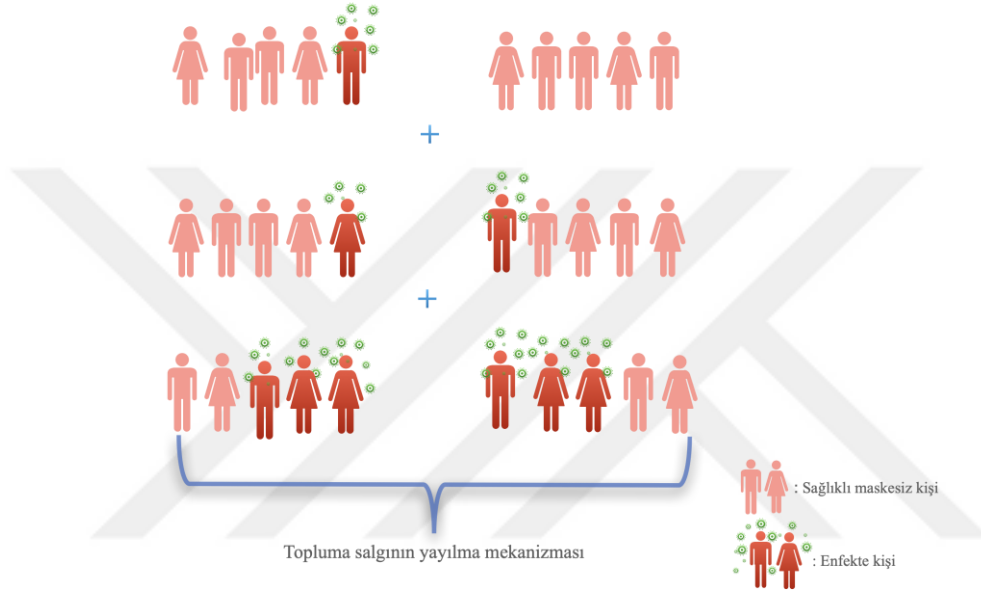
2.1. Enfeksiyon

Enfeksiyonlar, alıcı konağa farklı şekillerde bulaşan mikroorganizmalarla meydana gelir. Enfeksiyona vücuda yerleşen bakteri, virüs, mantar veya parazitler gibi mikroorganizmalar neden olur. Ancak içlerinde en sık karşılaşılan bakteri kaynaklı enfeksiyonlardır. Enfeksiyonun yayılması; solunum, kan, vücut sıvısı gibi çeşitli yollar aracılığıyla gerçekleşir [4] [5].

Soluduğumuz havanın içerisindeki maddeler, doğada yer alan toz ve polenler olduğu gibi aynı zamanda bakteri, virüs ve mantarlar da olabilir. Solunum yolu enfeksiyonları enfekte konaktan alıcı konağa doğrudan, dolaylı ve hava yoluyla bulaşır. Özellikle damlacık bulaşması, genellikle büyük partikül damlacıklarının ($>5 \mu\text{m}$) enfekte bir solunum yolundan kısa bir mesafe ($<1 \text{ m}$) üzerinden aktarılması olarak kabul edilir. Enfekte kişi öksürdüğünde, güldüğünde, hapşırdığında veya konuştuğunda meydana gelir ve bu da enfeksiyona neden olan başka bir kişinin oral, nazal ve göz mukozasına temas edebilen damlacıklar oluşur. Bu damlacıklar hava yoluyla iletilenlerden daha büyüktür ve bu nedenle yeterince uzun süre havada kalmazlar [5].

Tek kullanımlık cerrahi maskeler ya da N95 maskeler sağlık çalışanları için damlacık bulaşması ve herhangi solunum patojenlerine karşı koruyucudur [6]. Enfekte bir kişi, havadaki damlacıkları soluyarak veya damlacıklarla veya kontamine ellerle direkt temas yoluyla yakın çevresindeki diğer insanları enfekte edebilen canlı mikroorganizmalar içeren solunum sıvısı damlacıkları yayar. Bu damlacıklar dolaylı temas (el ve yüzey kombinasyonunu içeren) yoluyla insanları enfekte edebilir ve farklı yüzeyleri (fomitler) kontamine edebilir [7]. Damlacıklar enfeksiyon etkenlerini taşıdıktan sonra yüzeylere fomitler olarak yerleşmektedir. Bu nedenle, halka açık alanlarda kontamine bir yüzeye dokunduktan sonra ağız, burun veya gözler yüksek oranda enfeksiyonunun yayılmasına olanak sağlar. Hava yoluyla bulaşma, küçük partikülleri ($\leq 5 \mu\text{m}$) ifade eder. Bu bulaş yolu damlacık yoluyla iletilen patojen yüklü damlacıklara göre, daha küçük damlacık çekirdeklerinin havada uzun süre (2 saat veya daha fazla) asılı kalabildiği ve daha uzun süre asılı kaldıkları için uzak mesafelere gidebildiğini gösterir [6]. Bu nedenle enfekte kişi tarafından salınan patojenlerin konakçılara ulaşmadan engellemek önemlidir. Nesne ve yüzeyleri sterilize etmek, kontamine havayı filtrelemek, kişisel koruyucu donanımların giyilmesine özen göstermek, kişisel hijyene dikkat etmek enfeksiyon kaynağını engellemede

bulaş yollarının azaltılmasında ve konakçının kişisel sağlığı açısından önemlidir [8]. Enfekte bir kişi tarafından salınan patojenlerden korunma ve önlenmesindeki en önemli hususu kişisel koruyucu donanım (KKD) kullanımı, el hijyenini ve sosyal mesafe kurallarına uyum oluşturmaktadır [9]. Farklı boyutlardaki aerosol partikülleri, farklı bulaş yollarıyla ($<10\ \mu\text{m}$, alveolar bölgeler; $10 < \text{ila} < 100\ \mu\text{m}$, üst solunum yolu) alıcı konağın solunum yollarını enfekte edebilir [10]. Enfekte kişi tarafından maske kullanılması, dışarı atılan damlacıkların doğrudan yayılmasını engelleyerek, yakınındaki kişinin solumasını büyük ölçüde azaltabilir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Topluma salgının yayılma mekanizması

2.1.2. Bakteri ve patogenezi

Bakteri, tek hücreli mikroorganizma grubu şeklinde adlandırılır. Bakteriler mikrometre boyutta olup virgül (vibrio), spiral (spirillum), çubuksu (basil) ve küresel (kokuş) şekile sahip olabilirler. Yaşadığımız ortamda her yerde bakteriler mevcuttur. Tüm bakteriler patojen değildir ve hepsinde patogeneze yeteneği yoktur. Bakteriler, yararlı bakteriler ve patojen bakteriler şeklinde sınıflandırılabilir. Patojen bakteriler hastalık yapıcı etkiye sahip olmakla birlikte en yaygın bakteriyel hastalıklar solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Bakterilerde hücre zarının dışında hücre duvarı da bulunur. Gram-negatif ve gram-pozitif olmak üzere iki tip hücre duvarı mevcuttur [11][12].

Bakteriyel patogeneze, bakterilerin bir konakçıda enfekte olduğu ve hastalığa neden olduğu süreçtir. Bir patojenin hastalığa neden olması için, patogenezin dört adımını başarıyla tamamlaması gerekmektedir. Bakteriyel patogeneze dört basamaktan oluşur. Bunlar, maruz

kalma (temas), yapışma (adezyon), istila (invazyon) ve enfeksiyon şeklinde sınıflandırılabilir [13].

Maruz kalma, bakterilerin hastalık oluşturma mekanizması bakterinin vücuda girişi ile başlar; bakteri vücuda sindirim, solunum, direkt ve indirekt yollardan girer. Mukozal yüzeyler mikroplar için en önemli giriş kapılarıdır; bunlara solunum yolu, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistemler örnek olarak verilebilir [13].

Yapışma (Adezyon), konak-patojen etkileşiminde önemli bir rol oynar ve patojenin konak yüzeylere yapışması durumu olarak bilinmektedir. Bu yüzeyler arasında; deri, mukoza zarları (ağız boşluğu, nazofarenks) ve daha derin dokular (lenfoid doku, mide ve bağırsak epitel, alveolar astar, endotel dokusu) yer almaktadır. Adezin adı verilen moleküller (proteinler veya karbonhidratlar) patojenlerin yüzeyinde bulunur ve konak hücrelerdeki spesifik reseptörlere (glikoproteinler) bağlanır. Adezinler, bakterilerin fimbria ve flagellalarında yer almaktadır [14].

İstila (İnvazyon), bakterilerin konakçı hücreye girişini ve yayılmasını içeren aşamadır. Patojenler, vücudun daha derinlerine yayıldıkça konak dokulara kolonize olmalarına ve hasar vermelerine izin veren virülans faktörleri olarak hizmet eden eksoenzimler veya toksinler üretebilir. Ayrıca bakteriler virülans faktörleri sayesinde (kollajenaz, hyalurodinaz, koagülaz vb.) hücreleri istila ederler [14].

Enfeksiyon, istilayı takip eden bir basamaktır. Vücuttaki doku ve hücrelerin, patojenler tarafından istila edilmesi ve bu istilacı canlıların çoğalması ile enfeksiyon hastalıklarına neden olur.

2.2. Kişisel Koruyucu Donanım Kitleri

Enfeksiyonların hızla yayılmasının başlıca nedenlerinden biri, kişiden kişiye temas ve enfekte kişinin solunum damlacıklarıdır. Sağlık profesyonellerinin ve halkın kendilerini enfeksiyondan korumak için uygun Kişisel koruyucu donanım (KKD) kitleri, maskeler ve eldivenler kullanmaları gerekir. Nano-mühendislik yüz maskeleri, eldivenler ve KKD kitleri, bir kumaşın dokusunu değiştirmeden bile antimikrobiyal ve hidrofobik etki sağlar. KKD kitleri, havadaki damlacıklara karşı bir bariyer görevi görür. Nanomalzemelerin tekstil liflerine dahil edilmesi ile tekstilde antimikrobiyal özellikler kazandırılarak KKD'lerin koruyucu etkinliği artırılarak patojenlerin çevreye yayılarak insanlar üzerinde oluşturduğu risk en aza indirgenebilir [15].

2.2.1. Kişisel koruyucu donanımlarda nanoteknolojik yaklaşımlar

Kişisel koruyucu donanımlar, Covid-19 pandemisinin ortaya çıkmasıyla birlikte ilgi odağı haline gelmiştir. Mevcut Covid-19 pandemisinde, enfeksiyon riski en yüksek olan kişiler, yaşlılar, immün yetmezliği olanlar, özellikle günlük olarak SARS-CoV-2 virüsüne maruz kalan sağlık çalışanlarıdır. Sağlık çalışanlarını enfeksiyonlardan korumak ve enfeksiyonun hastadan hastaya yayılmasını önlemek için uygulamaların ve KKD'nin kullanılması oldukça önemlidir [16]. KKD'ler, patojenlere karşı ana savunmalardır; eldivenler, siperlikler, yüz maskeleri ve önlük malzemeleri, enfekte hastalardan patojenlerin aktarılmasını ortadan kaldırmak amacıyla kullanılır. Geleneksel KKD'lerde karşılaşılan zorluklar, zayıf antitoksisiteleri, nefes alıp vermedeki zorluklar, ısı dağılımı ve yeniden kullanılabilirlikleri ile ilişkilidir.

KKD veya çevresel enfeksiyonu kontrol etmek adına antimikrobiyal kişisel koruyucu donanımların geliştirilmesi, sağlık çalışanlarının ve genel olarak halkın güvenliğini sağlamak için çok önemlidir. Buna ek olarak, gelecekte viral salgınlarda bulaş riskini potansiyel olarak azaltacak ve etkili salgın önleme stratejilerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir [17]. SARS-CoV-2'nin sık dokunulan yüzeylerde (kapı kolları, umumi tuvaletler, ışık anahtarları, masalar vb.) viryon yüklü solunum sıvısı damlacıkları yüzey üzerinde saatlerce ve günlerce kaldığı literatürde bildirilmiştir [18]. Yüzey ve aerosol kontaminasyonu SARS-CoV-2'nin yayılmasında en önemli etkenlerden biridir. Bu nedenle, anti-viral yüzey kaplamalarının ve verimli hava filtreleme cihazlarının geliştirilmesi yukarıda belirtildiği gibi viral kontaminasyonun azaltılmasına yardımcı olabilir.

Üst düzeyde bulaşıcı hastalıkları olan hastaları tedavi eden sağlık çalışanları, Biyogüvenlik seviyesi 4' e göre patojenlere karşı çalışılan ortamlarda özel koruyucu ekipmanlar kullanmalıdır [19]. Bu nedenle, KKD'lerin etkinliğini artırmak için nanoteknolojik yaklaşımlar çözüm odağı haline gelmiştir.

Metal bazlı nanopartiküller, patojenlerin yüzeyden inaktive edilmesi için en verimli konsantrasyonlarda, düşük toksisiteleri nedeniyle patojenlere karşı savaşmada önemli rol oynamaktadır. Metalik nanopartiküllerin ya da metal oksit nanopartiküllerin KKD'lerin malzeme yüzeyine dahil edilmesi, metal iyonlarının kontrollü salınımı yüzeye biyosidal özellik kazandırır. Metal nanopartiküller, biyosidal yüzey kaplamaları geliştirmek için bir polimer matrisine de yüklenebilir [16]. Bakır nanopartiküller, bakır ve bakır oksit oldukça etkili biyosidal özelliğe sahip olduğu için kişisel koruyucu tekstillere ve antimikrobiyal, anti-viral özelliklere sahip diğer ürünlere dahil edilmiştir. Bakır nanopartiküllerin etki mekaniz-

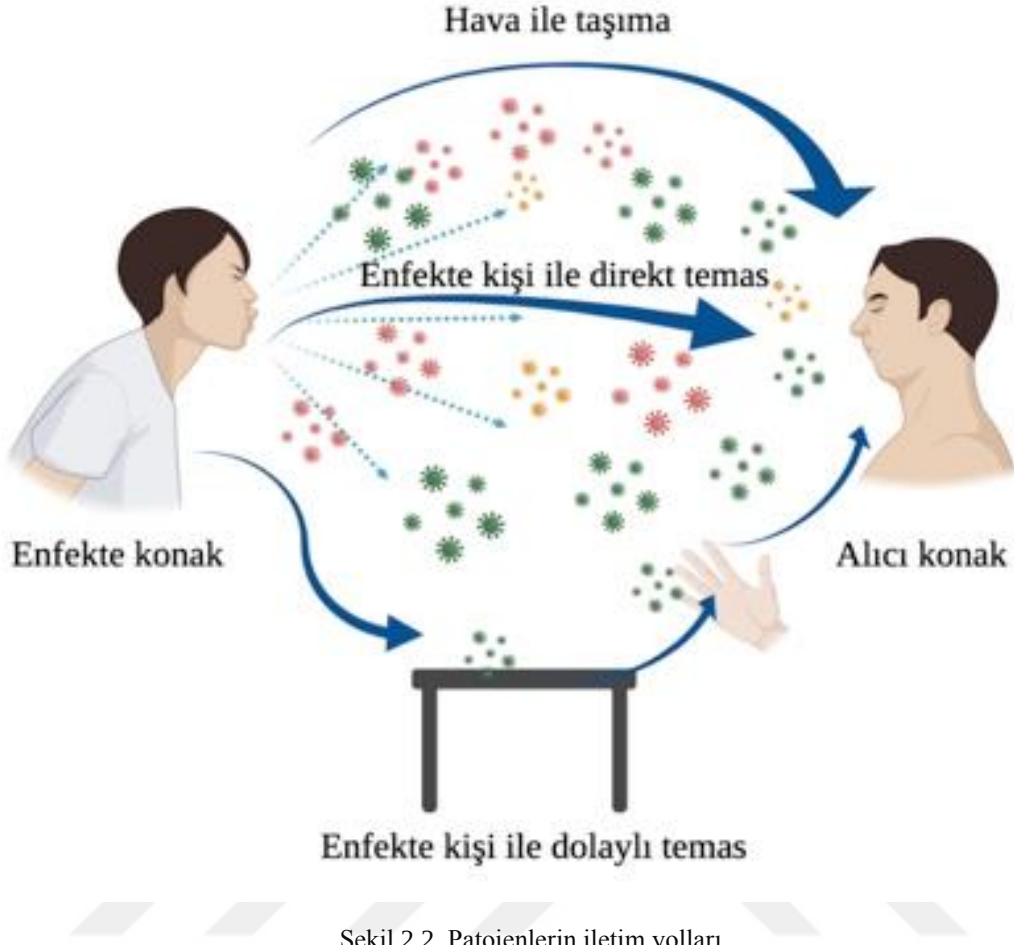
ması, viral yapılarda oksidatif strese neden olan durumlarda, Cu(I)'in oksidasyonu sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine dayanmaktadır [20]. Örneğin, bakır ve gümüş nanopartiküller sahip olduğu biyosidal özelliklerden dolayı yüzey kaplamalarında da kullanılabilir. Bakır nanopartiküllerinden gelen bakır iyonları, hücre duvarını yok eder ve sitoplazma ise daha sonra bozulur ve yok olur, bu da hücre ölümüyle sonuçlanır. Bu nanopartiküller, tıbbi cihazlarda, su arıtma gibi alanlarda uygulama için yüzeyler üzerinde sabitlenebilir veya kaplanabilir [21].

Borkow et al. çalışmasında, dış ve filtrasyon katmanlarında bakır oksit (Cu_2O ve CuO) NP'leri içeren N95 maske üretmiştir. Bakır oksidin, yüz maskelerine emprenye edilmesi, varolan filtrasyon özelliklerinin dışında oldukça etkili biyosidal özellikler kazandırdığını gösterilmiştir. Bakır emdirilmiş maskelerde influenza A ve kuş gribi virüslerinin maske üzerinde bu viral yapıların %99,9 azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca, maskelerin, soluma yoluyla cilt tahrişine veya zehirlenmeye neden olmadığı da belirtilmiştir [22].

2.3. Kişisel Koruyucu Ekipmanlardan olan Maske

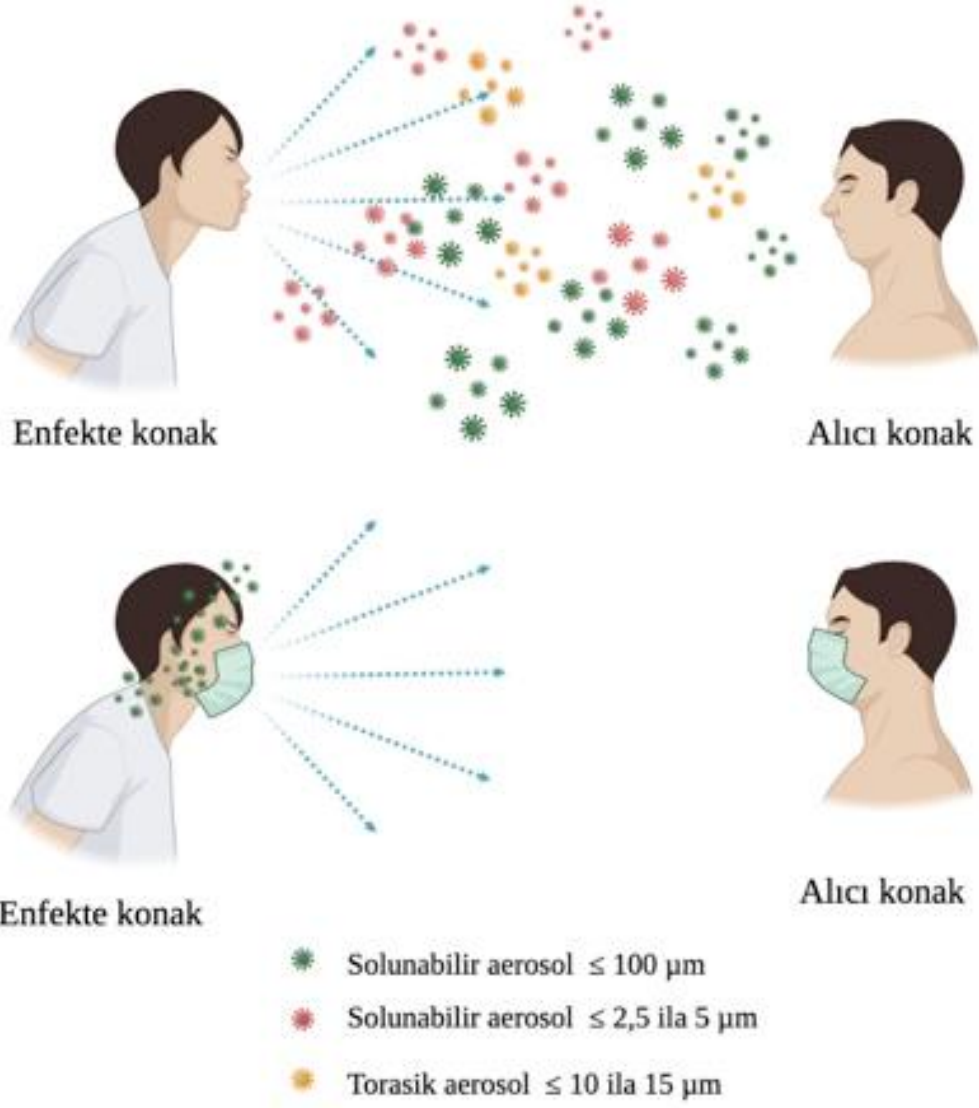
Yüz maskeleri, solunum yolu enfeksiyonlarının yayılmasını engellemek amacıyla kullanılan KKD'lerden biridir. Enfekte olan bir kişi öksürdüğünde, hapşırdığında veya konuştuğunda, havaya patojen yüklü damlacıkların salınmasına neden olur. Yüz maskesi ise, ağız ve burun yollarını kapatır. Dolayısıyla, enfekte kişi öksürürken, konuşurken veya hapşırdığında patojen yüklü damlacıkların havaya salınmasını engelleyebilir. Yüz maskelerinin kullanımıyla birlikte bulaşıcı hastalıkların topluma yayılması önlenmiş olur. Bulaşıcı hastalıkların yayılmasını engellemede yüz maskesinin önemi, enfeksiyonun kişiden kişiye yayılmasına ve bulaşma derecesine, bulaşma yollarına göre değişiklik göstermektedir. Bulaşma yolları üçe ayrılır (Şekil 2.2):

- (i) Doğrudan iletim – enfekte damlacık/aerosol iletimi,
- (ii) Hava yolu – enfekte solunum aerosollerinin solunması ve
- (iii) Dolaylı iletim- fomitler üzerindeki salgılar yoluyla temas bulaşması veya fiziksel temas.



Şekil 2.2. Patojenlerin iletim yolları

Mevcut COVID-19'da da görüldüğü gibi, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun hızla dünyaya yayılmasıyla kişisel koruyucu ekipmanlar özellikle de yüz maskeleri büyük önem ve ilgi görmektedir. Bu yüz maskeleri, solunum yollarının hava yoluyla, damlacıklar halinde bulaşan patojenlere karşı ilk savunma hattıdır. Yüz maskeleri, havadaki mikroorganizmaları taşıyan parçacıkları engelleyebilir veya filtreleyebilir (Şekil 2.3). Maske, kullanıcının oral ve nazal yollarını kapatacak şekilde takıldığı takdirde, solunum patojenlerinin yayılmasını engellemede potansiyel bir rol alacaktır [23].



Şekil 2.3. Maskenin koruyucu etkisi

Geleneksel maskelerdeki koruma etkinliğinin arttırılmasına ek olarak, eksikliklerin saptanması ve bu eksiklikler üzerinde çalışılması yüz maskelerini gelecekte etkinlik ve koruyuculuğun arttırılması açısından çok daha iyi bir seviyeye taşıyacaktır. Dolayısıyla, nefes alınabilirlik ve yüz ile uyum içinde olması, hidrofobik ve biyosidal etkiye sahip maske ve malzemelerin geliştirilmesi, yeniden kullanılabilirlik ve çevre dostu olması amaçlanarak yeni maske teknolojilerinin geliştirilmesi ana hedef haline gelmiştir [20]. Kişisel koruma seviyeleri birbirinden farklı olan yüz ve solunum maskeleri vardır. Maskeler ve solunum maskeleri yeniden kullanılabilir veya tek kullanımlık olabilir. Yeniden kullanılabilir maskelere örnek olarak, ekli ve ev yapımı maskeler verilebilir; Tek kullanımlık maskelere örnek ise, en basit haliyle cerrahi maskeler, N95 ve KN95 gibi solunum maskeleri şeklindedir [20].

Eikenberry et al. yapmış olduğu çalışmada, ABD'nin New York ve Washington eyaletlerinden elde edilen matematiksel model simülasyonlarına dayanarak, yüz maskesi takmanın enfeksiyonun topluma yayılmasının ve ölüm oranlarında azalmaya teşvik ettiğini rapor etmişlerdir [24]. Chan et al. yapmış olduğu çalışmada ise, maskelerin asemptomatik ya da klinik olarak enfekte olduğu tespit edilmemiş kişilerde bulaşmanın engellenmesinde öneminin büyük olduğu vurgulanmıştır [25].

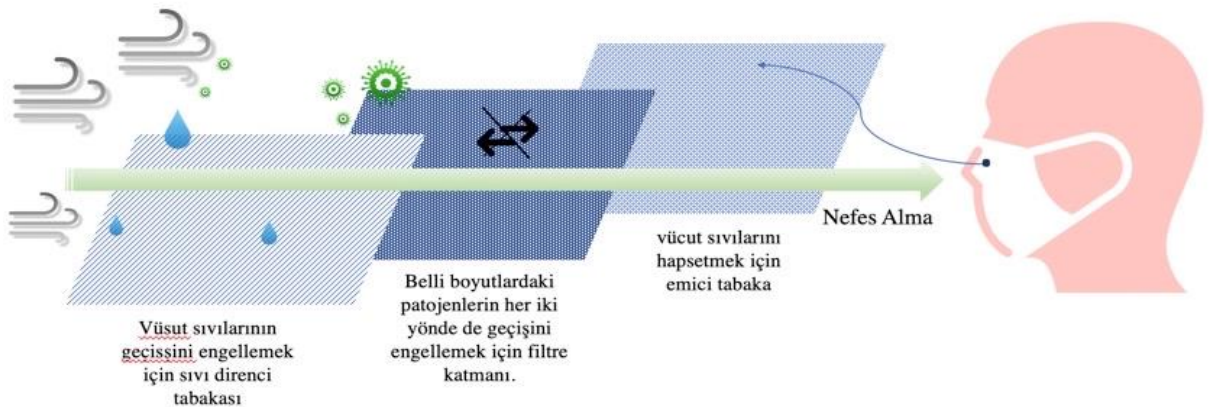
2.3.1. Yüz maskelerinin yapısı

N95 solunum maskeleri ve cerrahi maskeler, kullanıcıyı partiküllerden veya yüze bulaşan sıvılardan korumak için kullanılan kişisel koruyucu ekipman örnekleridir.

2.3.1.1. Cerrahi Maskeler

Tek kullanımlık cerrahi maskeler, sağlık çalışanları ve halk tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. 3 katlı cerrahi maske, 3 farklı dokunmamış kumaş katmanından oluşur. En dıştaki katman hidrofobikliği sağlar ve aerosoller gibi damlacıkları itmeye destek olur [26].

Orta katman, partikülleri veya patojenleri engelleyen filtre görevi görmektedir. En içteki katman, kullanıcıdan gelen damlacıkları yakalamaya yardımcı olur. Bu üç katman birlikte, partiküllerin ve patojenlerin her iki yönde nüfuz etmesini sınırlayarak hem kullanıcıyı hem de çevredeki insanları etkili bir şekilde korur. Kullanıcıları %98 bakteriden korumak ve hidrofobikliği sağlamak için tek kullanımlık cerrahi maskeler spunbond–meltbond–spunbond (SMS) yapıları şeklinde üretilmektedir. Orta katman mikro gözenekli ve nefes alabilen meltblown (MB) mikrofiberlere sahiptir (Şekil 2.4). Cerrahi maskenin filtrasyon verimliliği, fiber seçimi, üretim tekniği ve ağ yapısı gibi çeşitli parametrelerden etkilenmektedir [27][23].



Şekil 2.4. Üç katlı cerrahi maskedeki katmanların özellikleri

2.3.1.2. Solunum maskeleri

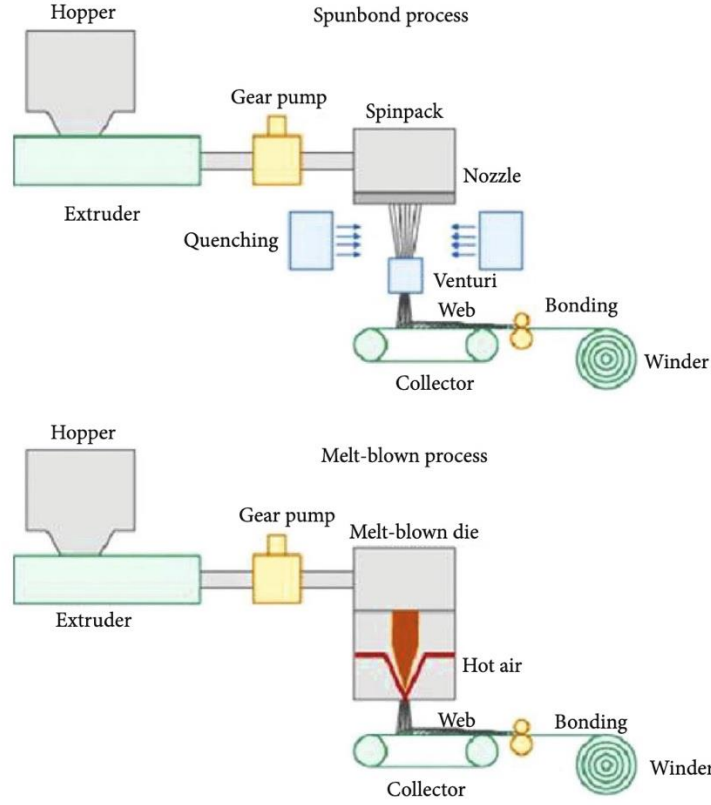
ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Departmanı bünyesindeki Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerinin (CDC) bir parçası olan Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü (NIOSH), N95'leri aslında maske değil, solunum cihazı olarak tanımlamaktadır. "N", yağa dayanıklı olmadığını ifade eder ve "95" sayısı, 0,1 ila 0,3 μm partikül çapı aralığında Sodyum Klorür (NaCl) partiküllerine karşı %95 filtrasyon verimliliğinde (FE) olduğunu gösterir. N95'in yapısal bileşenleri, dış katman, filtre katmanı ve iç katmandan oluşur. Filtre tabakası naylon, pamuk, polyester ve polipropilenden üretilen bir filtre kumaşıdır. N95'in dış tabakasının ve filtre tabakasının fiber çapları sırasıyla $27.07 \mu\text{m} \pm 3.64 \mu\text{m}$ ve $2.79 \mu\text{m} \pm 0.95 \mu\text{m}$ 'dir. Daha küçük fiberler, aynı çapa sahip daha büyük liflerden daha küçük bir gözenek boyutu oluşturduğundan, fiberlerin çapı filtrasyon özelliklerini etkiler. Ne kadar küçükse, mekanik filtrasyonu da o kadar yüksek olur. Tek kullanımlık cerrahi maskeler, kullanıcının yüzüne tam oturmeyen katlanmış kumaş yığını şekline sahiptir. N95 solunum maskesi ise kullanıcının yüzüne tam oturur kenarlarında sızdırmazlık özelliği mevcuttur [26]. N95 solunum maskeleri, yüzü sıkıca kapattıklarında mükemmel koruma sağlar. N95 solunum cihazı, üç PoliPropilen (PP) elyaf katmanından oluşur: dış (iki katman), filtre (bir katman) ve iç (yedi ila sekiz katman)'dan oluşmaktadır. Dış ve iç katmanlar spunbond yöntemiyle, filtre katmanı (orta katman) ise melt-blown yöntemiyle üretilmektedir [27][23].

2.3.2. Yüz maskesi üretim yöntemleri

Tek kullanımlık cerrahi maske, dokunmamış kumaştan yapılmış üç farklı katmandan oluşur. Cerrahi maskenin üretimi spunbond yöntemine veya melt-blown yöntemine bağlı olarak gerçekleşir (Şekil 2.5) [27].

Spunbond yöntemi, polimerin doğrudan sürekli filamentlere dönüştürülmesini ve rastgele dokunmamış kumaşlara dönüştürülmesini içeren bir yöntemdir [28]. Ekstrüzyon işlemi ile seçilen polimer ısı ve mekanik etki sayesinde eritilir. Eriyik polimer, şekillendirilir ve soğuk hava ile söndürülür. Spunbond yöntemi ile daha kalın fiber çapları elde edilir.

Melt-blown yönteminde kalıp işlemi vardır burada fiberlerin gözenek boyutu ve çapı ayarlanabilir. Bu yöntem ile çok daha ince fiberler ve daha küçük gözenek boyutu elde edilebilir. Bu özelliğinden dolayı tek kullanımlık cerrahi maskelerde filtrasyon katmanının (orta katman) üretilmesinde tercih edilen bir yöntemdir [1].



Şekil 2.5. Dokunmamış kumaş üretim yöntemleri [1]

2.4. Kişisel Koruyucu Donanımlara Biyosidal Özellikleri Kazandırılması

Bulaşıcı hastalıkların yayılmasını ve enfeksiyonları engellemek amacıyla kullanılan geleneksel kişisel koruyucu donanımların çoğu antimikrobiyal/ antiviral etkinliğe sahip değildir. Bu KKD'ler patojenlerin yayılmasını ve topluma bulaşmasını etkin bir şekilde azaltmasına rağmen tam anlamıyla yok edemez. Örneğin yüz maskelerinde, maske yüzeyinde patojenlerin hayatta kalabilmesi, maskesi yüzeyindeki aroseeoller, kullanılmış yüz maskelerinin çevresel kontaminasyonu ve yüzeydeki fomitlerin bulaşı gibi sorunları içerir [23]. Dolayısıyla, KKD'ler tarafından yakalanan bu patojenler çapraz kontaminasyona neden olarak enfeksiyonun yayılmasına sebebiyet verebilir. Bu dezavantajlardan yola çıkılarak, antiviral ya da antibakteriyel ajanların KKD'lere dahil edilmesiyle, bakteri ve/veya virüsleri yok ederek bulaşmayı engelleyici ve koruyucu teknolojiler, patojenlere karşı savunmada potansiyel bir rol oynayacaktır [29]. Bu amaçla yeni nesil maskeler, partiküllerin filtrelenmesinin yanı sıra patojenlerin maske yüzeyine temasıyla, maske yüzeyi üzerinde öldürme özelliği kazandırmak için biyosidal (zararlı organizmaların hareketini kısıtlayabilen ya da yok edebilen ajanlar) özelliklere sahip yüz maskelerinin geliştirilmesine teşvik etmiştir. Bu biyosidal etkiye sahip ajanlar ise farklı yöntemler kullanılarak maske malzemelerine dahil edilebilir [23].

KKD’de kullanılan tekstiller insan vücudu ile doğrudan temas halinde olduğu için, geniş yüzey alanı, oksijen, nem ve sıcaklık tutma kabiliyetinden dolayı mikrobiyal bir ortama aracılık eder. Antimikrobiyal/ antiviral özellikler, KKD tekstil malzemelerine, lifler veya kumaşlar üzerine kimyasal veya fiziksel olarak dahil edilen ajanlar ile kazandırılabilir [30].

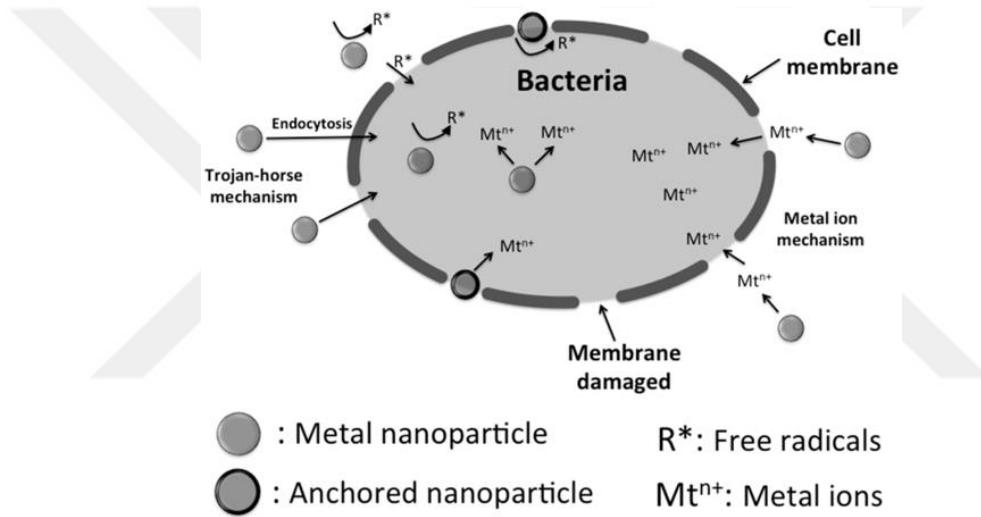
Nanopartiküller, yeniden kullanılabilir, kendi kendini temizleme ve biyosidal etki gibi özelliklere sahiptir. Bu nanoyapılar KKD malzemelerine dahil edilerek etkinliğini, verimliliğini ve koruyucu özelliğini artırabilir. Süper hidrofobiklik, su itici, fototermal ve kendi kendini temizleme etkilerini gösteren antiviral NP’ler, nanofiberler ve yüzey kaplamalarına uygulanabilir. Bu amaçla, metal ve metal oksit NP’leri (CuO NP’ler, Ag NP’ler, ZnO NP’ler, Au NP’ler, SiO NP’ler ve kuaterner amonyum katyonları), yüzeyde bulunan patojenleri yakalayıp öldürebilir [31]. Metal ve metal oksit gibi biyoaktif elementler, iyonlar veya kompleksler şeklinde çözündüklerinde geniş çapta antimikrobiyal/antiviral etkinliğe sahip olurlar. Nanomalzemeler kullanılarak geliştirilen tıbbi önlükler ve KKD’ler, hidrofobiklik, geniş çapta antimikrobiyal aktivite ve nefes alabilirlik gibi uygulamalar sunar [31].

2.4.1. Bakır bazlı biyosidal ajanlar

Bakır ve bileşikleri yüzyıllardır dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Bakırın dezenfektan özelliği Yunanlılar tarafından keşfedilmiştir. Bakır, Kıbrıs adasında kolaylıkla bulunabiliyordu bu durum bakırın kullanımı açısından kolaylık sağlamıştır. İçme suyunu bakırla arıtıp üst solunum yolları rahatsızlıklarında kullanmışlardır. Bakır, eski Mısırlılar tarafından yaraları temizleme ve içme suyunu sterilize etmede de kullanılmıştır. Aynı zamanda, İkinci Dünya Savaşında dizanteriyi engellemek amacıyla içme sularının içine bakır parçaları koyarak suyu dezenfekte etmişlerdir [32].Günümüzde bakır ve bakır oksit nanoyapıları, uygun maliyet, yüksek stabilite ve geniş biyosidal özelliklerinden dolayı antibakteriyel/antiviral malzemelerde kullanılmaktadır. Bakırın biyosidal aktivitesi, genetik materyalin yapısının bozulması veya nükleik asit zincirleri arasında ve içinde çapraz bağ oluşturarak nükleik asitlerin denatürasyonunu, biyolojik aktivitelerin engellenmesini ve membran lipid peroksidasyonunu içerir [33].

Bakır bazlı nanoyapılar, bakteriyofajlar, insan immün yetmezlik virüsü (AIDS), bronşit virüsü (RSV), çocuk felci virüsü, herpes simpleks virüsü (HSV), influenza virüsü (H1N1), zarflı ve zarfsız virüslerin inaktivasyonunda etkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [34].

Bakır ve bakır oksit nanopartiküller canlı hücrelerle etkileşime girdiğinde bakır iyonları bırakır. Bu nanoyapılar sahip oldukları geniş yüzey alanı ve küçük boyutları nedeniyle bakır iyonunun salınımını potansiyel olarak artırır. Bakır iyonları, elektrostatik etkileşimler sayesinde negatif yüke sahip olan bakteri hücre zarı ile etkileşime girer. Bu durum, Cu^{2+} ve Cu^+ arasındaki redoks döngüsü şeklinde meydana gelir. Serbest radikallerin oluşumu (örneğin; hidroksil radikalleri), bakteri ve virüslerin zar yapısını ve proteinlerin yapısını bozar. Bakırın antiviral aktivitesi ise, Cu^{2+} 'nın DNA ile etkileşimi ile gerçekleşir, redoks geri dönüşümü ile oluşan ROS viral proteini parçalayarak etkisiz hale getirir. Ayrıca bakır iyonlarının hücre geçirgenliği üzerindeki etkisiyle potasyum iyonlarının eksilmesine ve hücrenin ölümüne sebep olur [23]. Şekil 2.6.'da Metal nanoparçacıkların antimikrobiyal davranışıyla ilişkili mekanizmaların bir özeti yer almaktadır [35].



Şekil 2.6. Metal nanoparçacıkların antimikrobiyal davranışları ile ilgili mekanizmalar [35]

Biyosidal etkiye sahip nanoyapılarla kaplanmış solunum yüz maskelerinin geliştirilmesi için çeşitli tekstil ürünleri kullanılabilir. Tekstil ürünlerine nanoyapıların dahil edilmesiyle patojenlerin yayılması engellenerek etkin bir koruma sağlanır. Bu nanoyapıların kumaşın hidrofobikliği ya da nefes alıp verme üzerinde bir etkisi yoktur. Bakır bazlı nanoyapılar, biyosidal etkiyi sağlamak ve güçlendirmek amacıyla polyamid, polyester, pamuk, selüloz bazlı kumaşlara dahil edilmesi mümkündür [15].

Bakır ve bakır oksit nanoyapılar, kontamine yüzeylere uygulanmasıyla ya da tekstil malzemelerine dahil edilmesiyle (örneğin, maske, önlük, vb.) biyosidal özellik kazandırılarak virüsler etkisiz hale getirilebilir [36]. Dolayısıyla bakır bileşenlerinin kişisel koruyucu donanımlara dahil edilmesi biyosidal etki sağlayarak kişisel koruyucu etkiyi potansiyel olarak arttıracaktır. Buradan yola çıkarak, kişisel koruyucu ekipman olan yüz maskelerinin koruyucu özelliğini arttırmanın bir yolu da tekstil yüzeyinin değiştirilmesidir.

Gadi Barkow et al. yaptığı çalışmada; bakır oksiti yüz maskelerine dahil ederek filtrasyon özelliğinin yanı sıra maskeye biyosidal özellik kazandırmışlardır. Bakır oksit emdirilmiş bu maskeler, grip/ influenza virüsü (H1N1) ve kuş gribi virüsü (H9N2)'e maruz bırakıldığında virüslerin %99,85'inden fazlasını filtrelediği bildirilmiştir. Ayrıca, %2,2 oranında CuO partikülleri içeren dış katmanları, hayvan deneylerinde de belirlendiği gibi herhangi bir cilt hassasiyetine veya cilt tahrişine neden olmamıştır [22].

Ahmed et al. yaptığı çalışmada, viral partikülleri içeren aerosol damlacıklarının yayılmasını durdurmak için koruyucu solunum maskeleri üzerine çalışmışlardır. Sistem, elektrostatik-eğirme tekniği ile üretilen CuO NP'leri ve GO nano tabakalarını içeren nanolifli polilaktik asit ve selüloz matrisinden oluşan filtrasyon mekanizmasını içermektedir [37].

Marcus et al. yaptığı çalışmada, Bakır oksit emdirilmiş tekstillerin hastane enfeksiyonları üzerindeki etkisini araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Kontamine tekstil ürünleri (örneğin; çarşaf, yastık kılıfları, sağlık personeli kıyafetleri) patojenlerin yayılmasına (dolaylı temas, aerosoller vb. yollar aracılığıyla) sebebiyet verir. Bakır oksit emdirilmiş çarşaf, antimikrobiyal, antifungal, antiviral özellikler gösterir. Bu sayede kişisel koruyuculuğa sahip olmayan çarşaf, Bakır oksit emdirilmesiyle biyosidal etki kazandırılarak hastane enfeksiyonlarının önlenmesine önemli katkı sağlar. Yapılan çalışmada da hastane enfeksiyonlarının azalmasında %24 lük bir azalma gözlenmiştir [38] [39].

2.4.1.1. Bakırın yüzeyler üzerindeki salınım mekanizması

Nanoteknolojik bir yaklaşım olarak bakırın antimikrobiyal aktivitesinden yararlanarak oldukça etkili biyosidal nanopartiküller sentezlenmiştir ve bu nanopartiküller, daha büyük partiküllere göre çözelti hacminde daha da hızlı çözülebilir. Dolayısıyla, daha fazla metal iyonu serbest bırakılarak güçlü antibakteriyel aktivite sağlanmış olur [21]. Bakırın patojenler üzerindeki biyosidal etkisi çok çeşitlidir. Bakır patojenler ile etkileşime girdiğinde bu yapılarda hücre zarı geçirgenliği, zar lipid peroksidasyonu, protein ve nükleik asit denatürasyonu gibi değişimler meydana getirerek hücre ölümüne neden olabilir.

Yüzey üzerinden salınan bakır iyonları, enerjiye bağlı olarak hücre zarından taşınır ve yeterli hücre içi konsantrasyona ulaşıldığında zar yapısı dirayetinde azalma meydana gelir. Böylece, plazma zarı zamanla geçirgenleşerek nükleotidler, potasyum, aminoasitler gibi hücre iç yapısının sızması ile denatürasyonuna sebep olur [40]. Warnes et al. yaptığı çalışmada, metalik bakır yüzeylere tutturulduğunda serbest radikaller aracılığıyla membran

depolarizasyonu ve zar yapısının bozulduğunu göstermişlerdir. Bakırın sahip olduğu bir diğer aksiyon mekanizması ise, reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesidir. Bakır iyonları indirgenip yükseltgenebilir bu sayede bakırın sahip olduğu yük değişebilir. Oluşan hidroksil radikalleri reaktif oksijen türleri oluşumunu destekler ve sonuçta zar lipid peroksidasyonu, aminoasit ve nükleik asitlerde oksidatif stres meydana gelerek enzimlerin etkinliğini yitirmesine sebep olur. Bakır (I) ve (II) iyonik türlerinin şelasyonu, bakteri sağ kalımı üzerinde önemli etkiye sahiptir [41].

2.4.1.2.Bakırın toksisitesi

Nanoyapıların toksisitesi şekil, boyut, çekirdeğin kimyasal içeriği gibi fiziksel ve kimyasal özellikler ile ilgilidir. Organların yapısında değişimlere neden olabilir. Dolayısıyla, bazı nanoyapılar vücudun bağışıklık sistemini tanımayarak organ ve dokularda nanoyapılar birikerek toksisiteye sebep olur. Bu nedenle geleneksel nanoyapılara göre düşük toksisite içeren nanoyapıların tasarlanması önemlidir. Bakır metal bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesi membran ve bakterilerin iç yapısına atak yapan iyonların salınımı ile ilişkilidir. Bakır toksisitesi, reaktif oksijen türleri ve bakterilerin yapısındaki organik kompleksleri hedefleyen mekanizmalardan kaynaklıdır. Çoğu insanda vücuttaki aşırı miktarda bakır, iyonlarının emiliminin azalması veya vücuttan atılımının artmasıyla kontrol altına alınabilir. Dolayısıyla, tıbbi ürünler (yani dişilik ve rahim içi cihazlar) ve hatta kozmetik ürünler gibi mevcut günlük malzemelerde bulunan bakır zararlı değildir. Ayrıca bakır, belirli tıbbi koşullar altında hücre hasarına neden olabilir ve hastayı artan Cu konsantrasyonlarına yatkın hale getirebilir. Bu nedenle, Wilson hastalığı ve idiyopatik Cu toksikozu gibi spesifik hastalıkları olmayan veya tahmini öldürücü dozu yaklaşık 10 g olan yüksek miktarda metal tüketmeyen kişilerde bakır ile ilişkili toksik etkiler nadir olarak görülmektedir [21].

2.5. Tekstilde Nanoteknoloji

Nanoteknolojinin kişisel korumayı iyileştirmesine verilebilecek en iyi örneklerinden biri yüz maskelerinin üretimidir. Geleneksel yüz maskeleri, lifler arasındaki boşluk virüs ile temastan kaçınmak için yetersiz olan ortalama 10-30 µm'lik bir boşluğa sahip olmak ile birlikte lifler arasındaki boşluğun azaltılması, sıcaklık ve basınçtaki artışa ve nefes alıp verme güçlüğüne sebep olarak kişiyi rahatsız eder. Yüz maskelerinin, geleneksel yüz maskelerine göre kişisel koruyuculuğunu artırmak için kullanılan bir strateji ise tekstil yüzeyinin değiştirilmesidir. Bakır ve gümüş gibi nanopartiküllerin tekstil yüzeyinde kullanımı biyosidal etki oluşturur. Pamuk, polialken, polyester, poliamid, poliaramid ve selüloz bazlı polimerler gibi farklı tipte liflere veya malzemelere dahil edilebilir. Yüz mas-

kelerinde nanomalzemelerin kullanılmasının sunduğu bazı avantajları vardır; yüz maskesi koruması, filtre olarak çalıştığı gibi mikrobisidal ajan görev alır ve patojenleri girişini engelleyerek etkisiz hale getirir. Sunmuş olduğu bir diğer avantaj ise, maskenin kullanımından sonra, patojenlerin büyük oranda etkisiz hale geldiğinde daha güvenli olur yani çıkarılma işlemi sırasında fomitlerden kaynaklı olacak kontaminasyon olasılığı en aza indirgenir [42].

2.5.1. Antimikrobiyal tekstiller

Antimikrobiyal ajanların tekstile dahil edilmesiyle istenmeyen bazı etkilerin önüne geçilmesi hedeflenir. Bunlar; kumaşların karakteristik olarak bozunması (lekelenme, liflerin renklendirilmesi vb.), hoş olmayan kokular ve sağlık risklerinin artması ile ilgilidir. Tekstiller, insan vücudu ile temas ettiğinde, geniş yüzey alanı, oksijen, nem ve sıcaklık tutma kabiliyeti, uygun sıcaklık ve nemin yanı sıra dökülmelerden ve vücuttan atılan besinlerden dolayı mikrobiyal büyüme için uygun bir ortam sunar. Dolayısıyla, antimikrobiyal tekstillerin ve tekniklerin geliştirilmesi bu anlamda büyük rol oynar. Antimikrobiyal özellikler tekstil malzemelerine, lifler ve kumaşlar üzerine fiziksel ve kimyasal olmak üzere entegre edilerek kazandırılabilmiştir [30] .

2.5.1.1. Antimikrobiyal yüz maskeleri

Yüz maskesinin içinde solunum nedeniyle oluşan sıcak ve nemli koşullar ve tükürük, yakalanan mikroorganizmaların büyümesi ve gelişmesi için uygun bir ortam yaratır. Ayrıca yüz maskelerinin dışı fomitlerden kaynaklı potansiyel bir bulaş kaynağıdır. Bu nedenle, antimikrobiyal yüz maskeleri, geleneksel yüz maskelerine göre çok daha avantajlıdır. Yerinde gerçek zamanlı antimikrobiyal koruma sağlayarak tek kullanımlık yüz maskelerine göre büyük üstünlük sergiler. Antimikrobiyal özellikler metal oksit yapılar ile maske yapısına kazandırılarak kişisel koruma sağlanırken aynı zamanda kontaminasyona riski en aza indirgenmiştir [23].

2.6. Nanofibriler Yapılar

Nanofiberler, tekstil kompozitlerinde, hücrelerin doğal ortamını taklit ettikleri için doku iskelesi olarak, yara yanık örtü malzemesi olarak, ilaç salınım sistemlerinde ve nano liflerin sahip olduğu yüksek yüzey alanı/hacim ve yüksek gözeneklilik gibi özelliklerinden faydalanılarak filtrasyon uygulamalarında kullanılabilmektedir [43][44]. Polimerik nanoliflerin üretim ve sentezlenmesi için beş ayrı teknik kullanılabilmektedir [43]. Bu teknikler şu şekilde özetlenebilir; çekme (drawing) tekniği, kalıp sentezi, faz ayrımı,

kendiliğinden düzenleme (self-assembly) ve elektrostatik eğirme (electrospinning) şeklinde literatüre geçmiştir. Elektrostatik eğirme tekniğiyle üretilen yapıların küçük boyut oluşları ve yüksek yüzey/ hacim alanına sahip oluşları bu tekniğin tercih edilmesinde önemli bir etkindir.

Doku iskelelerinin oluşturulmasında doğal ve sentetik polimerler tercih edilir. Sentetik biyopolimerler; poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA), poli (ϵ - kaprolakton) (PCL), poli (hidroksi bütirat) (PHB) polimerlerini içermektedir. Doğal biyopolimerler ise; polisakkaritleri (nişasta, aljinat, kitin/kitosan, hialuronik asit türevleri) ve proteinleri (soya, kolajen, fibrin jel, ipek) içermektedir [45]. Doğal ipek lifi mekanik özellikleri yönünden güçlüdür. İpek fibroini etkin biyo-uyumluluk, iyi oksijen ve su buharı geçirgenliği, biyo-bozunurluk ve düşük sitotoksikite gibi birçok avantaja sahiptir [46].

2.6.1. Elektrostatik eğirme (Electrospinning)

Elektrostatik kuvvetlerden faydalanılarak ve polimer çözeltisine yüksek potansiyel uygulanmasıyla lif yapılarının oluşturulabileceğini 1934 yılında Formhals ifade ederek patentini almıştır [47]. Lif yapılarının üretilmesinde kullanılan Elektrostatik Eğirme tekniği olarak adlandırılan bu teknik, Norton tarafından geliştirilmiş ve ilk cihaz tasarımı gerçekleştirilmiştir [48].

Mikro veya nano ölçekli lif yapılarının üretilmesi için çeşitli eğirme teknikleri geliştirilmiştir. En yaygın kullanılan tekniklerden birisi de elektrostatik eğirme tekniğidir. Elektrostatik eğirme tekniği, sürekli nanolifler üretme ve lif boyutlarını gerektiği gibi değiştirme fırsatı sunar [49]. Elektrostatik eğirme tekniği ile yüzey gerilimine sahip olmayan polimer çözeltisine yüksek bir potansiyel uygulanarak polimer elektriksel olarak yüklenmektedir. Elektriksel alanın şiddeti arttırıldığında düzenin ucundaki yarı küresel haldeki sıvıda konik bir şekil meydana gelmektedir. Bu konik şekil “Taylor konisi” olarak adlandırılmaktadır. Elektrik alanı belirli bir değeri aştığında, yüzey yüklerinin elektrostatik itme kuvveti, yüzey gerilimini yendiğinde ve Taylor konisinin ucundan polimer jeti fırlatılır. Bu polimer jeti düzenin karşısına yerleştirilmiş olan topraklanmış hedefe doğru akmaktadır. Polimer jeti çok ince lifçikler halinde topraklanmış yüzey üzerinde birikmektedir. Bu sayede nano seviyede çapa sahip lifler elde edilmektedir [50] [51].

Tipik bir elektro eğirme düzeneği üç bileşenden oluşur, bir yüksek voltaj kaynağı, iletken bir kılcal boru ve bir toplama yüzeyi şeklindedir (Şekil 2.7) [52].

bileceğini dile getirmiştir. Çözücünün daha yüksek dielektrik sabiti, elektro eğirme jetlerinin daha yüksek bükülme kararsızlığına yol açar ve böylece lif biriktirme alanının artmasına neden olur. Ayrıca, bu artan jet yolu sayesinde elde edilen lif çapının azalacağını göstermişlerdir [54].

- Çözelti viskozitesinin etkisi

Eğirme solüsyonunun viskozitesi lif üretmede önemli bir rol oynar. Bunun nedeni, sürekli liflerin düşük viskoziteli bir çözelti ile ve yüksek çözelti viskozitesinde üretilmemesidir. Bu durum polimer çözeltisinin konsantrasyonunun değiştirilmesi ile belirlenebilir. Elektrostatik eğirme tekniğinde uygun viskoziteye ulaşmak için uygun çözücü polimer ile karıştırılarak bir çözelti hazırlanır. Elektrostatik eğirme esnasında bu çözeltinin iğne ucundan toplayıcıya ilerlemesi sırasında solvent uçar. Bu nedenle polimere uygun bir solventin seçimi çok önemlidir. Optimum viskoziteye sahip elektrostatik çekim çözeltileri mikro ölçekten nano ölçeğe kadar lif üretimini gerçekleştirebilmek için çok önemlidir [52] [55].

- Moleküler ağırlığın etkisi

Kullanılan polimerin molekül ağırlığı çözelti viskozitesi ve üretilen nanofiberlerin morfolojisini etkileyen bir parametredir. Ayrıca moleküler ağırlık, viskozite, yüzey gerilimi, yüzey yük yoğunluğu ve dielektrik mukavemeti gibi diğer faktörleri etkiler [56] Bu nedenle elektrospun edilecek polimer çözeltisinin yeterli molekül ağırlığına sahip olması gerekir.

- Polimer konsantrasyonu

Seçilen polimerin çözelti içinde miktarı (ağırlıkça%) viskoziteyi de etkilediği için önemli bir parametredir. Polimer çözeltisinin konsantrasyonu düşük olduğunda elektrostatik eğirme yerine elektro spreyleme meydana gelmektedir. Konsantrasyon yavaşça arttırıldığında ise boncuklar içeren ince çaplara sahip fiberler oluşmaktadır. Optimize edilen konsantrasyona ulaşıldığında ise düzgün fiberlerin oluştuğu gözlenmektedir. Polimer konsantrasyonun arttırılması lif çaplarının artmasına neden olur, çok yüksek konsantrasyonlarda lif elde edilemez [55].

- Yüzey geriliminin etkisi

Elektrostatik eğirme işleminin başlaması için elektrospin edilecek çözeltinin yüzey geriliminin üstesinden gelinmesi gerekir. Bu düzgün ve pürüzsüz nanofiberlerin oluşturulması için polimer çözeltisinin yüzey geriliminin düşük olması istenilir [55].

- İşlem Parametreleri:

Elektrostatik eğirme tekniği ile fiber üretiminde, fiberlerin morfolojisine etki eden parametreler; iğne ucu ile toplayıcı levha arasındaki mesafe, akış hızı ve çevresel faktörler olarak sınıflandırılabilir.

- Voltajın etkisi

Elektrostatik eğirmenin başlatılabilmesi için uygulanan voltaj oldukça önemlidir. Çünkü fiberler uygulanan gerilimin eşik değerini aştığı takdirde oluşmaktadır. Uygulanan elektrik alanının artması bazı polimerlerde boncuk oluşumuna sebep olmak ile birlikte bazı polimerlerde pürüzsüz ve ince çaplı fiber oluşumuna neden olmaktadır.

- Akış hızının etkisi

Elektrospun nanofiberin çapı, gözenekliliği, elektrospunlanacak polimer çözeltisinin akış hızından etkilenir. Boncuksuz tek düze lifler üretmek için, polimer çözeltisine polarizasyon için yeterli zaman verilmelidir, bu nedenle araştırmacılar tarafından yavaş akış hızı önerilmektedir [57][58] [52].

- İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafenin etkisi

İğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafe liflerin morfolojisini etkileyebilir. İğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafenin kısa olması boncuk oluşumuna sebebiyet verir aynı zaman da aradaki mesafe çözücünün buharlaşmasına yetecek kadar uzunlukta olmalıdır.

Çevresel faktörler:

- Sıcaklık ve Nem

Daha yüksek ortam sıcaklığı, daha düşük solvent buharlaşma hızına yol açmaktadır. Ayrıca polimer çözeltisinin viskozitesinde etkilemektedir. Çözeltinin viskozitesi ortam sıcaklığı ile ters orantılı bir şekilde değişmektedir. Elektrostatik eğirme esnasında artan nemin lif yüzeyinde küçük gözeneklerin oluşmasına sebebiyet vermektedir [59].

2.7.Kullanılan Malzemeler ve Yapısal Özellikleri

2.7.1. İpek böceğinden (Bombyx Mori) elde edilen ipek fibroinleri

İpek 2500'e yakın Çin ve İndus uygarlıklarında ilk keşfinden bu yana binlerce yıldır tekstil endüstrisinde kullanılan bir hammaddedir. İpekböceklerinin kozalarından ipek liflerini toplamak için dut yapraklarıyla beslendiği ve yetiştirildiği ipekböcekçiliğinin gelişmesi sebebiyle, Güney Asya ülkelerinde ipek kumaşlar büyük çapta üretilmektedir.

Eşsiz parlak görünümü, dokunsal özellikleri, dayanıklılığı, boyanabilirliği, mükemmel mekanik gücü, esnekliği, nefes alabilirliği ve sıcak veya soğuk havalarda sağladığı rahatlık nedeniyle ipek, tarih boyunca tekstildeki yeri büyüktür.

En verimli ipek kaynakları *Nephila clavipes* ve *Araneus diadematus* örümcekleri, *Bombyx mori*'dir. Ticari ipek endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan yerli *B. mori* filamentleridir [60]. *B. mori* kozalarından elde edilen ipek fibroin, iyi derecede biyouyumluluk, geçirgenlik, biyobozunum, düşük inflamatuvar potansiyeli ve morfolojik elastikiyet gibi üstün özellikleri ile biyomedikal uygulamalarda kullanılan önemli bir polimerdir.

2.7.1.1.İpek fibroinlerin yapısı ve özellikleri

Koza üretimi yaklaşık üç gün sürmekte ve ipek fibroinleri serisinin tutkal benzeri özelliği sayesinde bir araya gelerek kozayı oluşturmaktadır. Koza, boyutu 900 ila 1500 metre arasında değişen ipek fibroinlere sahiptir. Kozanın en büyük görevi ise çevresel olumsuzluklara karşı, kuşlar, böcekler ve bakterilerin saldırısına karşı ipek böceğini korumaktır. İpek kozasında bulunan ana proteinler olan serisin ve fibroin kozanın yapısının %98'ini oluştururken, ipek fibroini iki yapısal protein içerir: fibroin (ağırlıkça %72-81) ve serisin (ağırlıkça %19-28) ve ayrıca yağ/mum (%0,8-1) ve renk/kül (ağırlıkça %1-1.4). Ayrıca, ipek bezleri tarafından salgılanan ve kozanın mantarlara ve mikroorganizmalara karşı dirençli olmasını sağlayan p25 proteini ve seroin de bulunmaktadır. İpeğin ana bileşeni olan fibroin, iç çekirdek görevi görür ve mekanik mukavemet sağlarken, yapışkan tutkal benzeri olan serisin proteini fibroinin yapısını koruyan bir kaplamadır. Her ipek lifi serisin ile kaplanmış iki İpek fibroin (SF) filamenti içerir [60]. Serisin ve fibroin iki ayrı protein familyasıdır. Fibroin lifi, yaklaşık 350 kDa ağırlığında olan ağır zincir (H) ve 27 kDa ağırlığında olan hafif zincir (L) ve kovalent olmayan etkileşimlerle fibroine bağlı olan p25 olarak bilinen ve 25 kDa ağırlığında olan küçük glikoproteinden oluşmaktadır.

B. mori'den elde edilen ipek fibroinin amino asit bileşimi, temel olarak glisin (Gly) (%43), alanin (Ala) (%30) ve serin (Ser) (%12). Ağır zincir, tekrarlamayan ve dolayısıyla liflerde daha az organize alan oluşturan birincil sekansla serpiştirilmiş ipek liflerinde kristal bölgeleri oluşturan 12 alandan oluşur [61].

İpek fibroinde doğal bir protein olması sebebiyle proteinlerde bulunan birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılar görülür. *B.mori* ipek fibroinlerinin birincil yapısı temel olarak 4 bölgeye ayrılabilir. Tekrar eden dizilimler içeren kısım ise üç (1,2,3) küçük alan ve bir (4) amorf alan olarak gözlenir. Bölge (1), fibroinin kristalli kısmını (toplam zincirin %94'ü)

oluşturan yüksek oranda tekrarlayan GAGAGS dizisidir. Bölge (2), aşağıdakileri içeren yarı kristal parçalardan oluşan nispeten daha az tekrarlayan GAGAGY ve/veya GAGAGVGY dizileridir. Bölge 3 ise 1.bölüme ek olarak AAS zincirlerinin de içerir ve birbirine benzerlikler gösterir. Bölge (4), negatif yüklü, polar, hacimli hidrofobik ve aromatik tortular içeren amorf kısımdır. Yapıdaki tekrar eden dizilimli kristalin kısım proteinin ikincil yapısından sorumludur. Kristalin tekrarlayan bölge, proteinin ikincil yapısından (anti-paralel β kıvrımlı tabakalar) sorumludur. İkincil yapıya örnek olarak ipek fibroinde de bulunan α -heliks, β -tabaka ve β -döngü verilebilir. Kristalin alanlar, malzemenin mukavemetinden sorumludur. Amorf alanlar, kristalin alanların gerilme altında yönlendirilmesine izin verir, böylece esneklik sağlar ve malzemenin mukavemetini daha da artırır [60][62].

İpek proteininin özellikleri, benzersiz amino asit bileşiminden kaynaklanır. İpek proteinlerinin moleküler omurgası, her biri dört gruptan oluşan bir amino asit zincirinden oluşur. Gruplardan üçü, bir amin grubu ($-\text{NH}_2$), bir karboksil grubu ($-\text{COOH}$) ve bir hidrojen grubu ($-\text{H}$) içerir ve tüm amino asitlerde ortaktır ve α -karbon olarak adlandırılan bir karbon molekülüne bağlıdır [63]. İpek fiberlerinin yan zincirlerindeki aminoasitlerin polar ve iyonik grupları metal iyonları gibi özel divalent iyonları tutabilme yeteneği vardır. Ayrıca fiberlerin modifikasyonu ile ağır metallerin tutulumunda afinitenin artırılabilceğini göstermişlerdir [64].

2.7.2. Kalsiyum fosfat bileşikler (CaP)

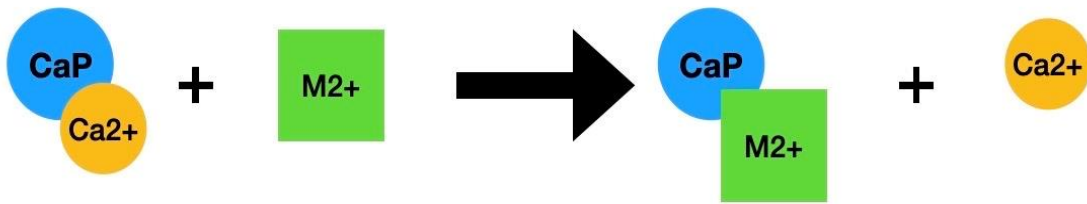
Kalsiyum fosfat kristali, hegzagonal bir yapıya sahiptir. Yapısında Ca^{2+} , PO_4^{3-} ve OH^- gruplarını içermektedir. Saf Hidroksiapatit (HAp), Ca/P molar oranı 1.66, Ca/P ağırlık oranı 2.151, ağırlıkça %18,35 P ve %39,48 Ca teorik kompozisyonuna sahiptir. Hidroksiapatit kemik ve dişin yapısında yer alırlar. CaP'ler iyon değişimi eğilimine sahiptirler, bu iyon değişimini CaP bileşiklerinin sahip olduğu yüksek yüzey alanı sayesinde sağlamaktadırlar [65].

Hidroksiapatitler +2 değerlikli divalent metal iyonlarının atık sulardan giderimi konusunda oldukça etkilidir. Bu nedenle atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılır. Bu amaçla hidroksiapatit Sr^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} iyonlarının uzaklaştırılmaları konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır [65].

Misra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ağır metallerden olan Cu^{2+} ile HAp yapısının etkileşimi üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmada, adsorban olarak HAp kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlardan HAp üzerine adsorpsiyonun iyon-değiştirme meka-

nizmasıyla olduğu belirtilmiştir. Adsorpsiyon kapasitesi 0,31 mmol/g HAp olarak tespit edilmiştir [66].

CaP ile ağır metallerin adsorpsiyonu sırasında CaP'nın yüzeyinde kısmi bir bozulma gerçekleşir, daha sonra metal iyonu CaP içerisine difüze olur. CaP içindeki Ca^{2+} iyonlarının diğer metal iyonları ile yer değiştirir ve metal iyonlarının CaP bünyesine tekrar yerleşmesi ile süreç tamamlanır. Kalsiyum fosfat tuzları ile divalent metallerin arasındaki kopresipizasyon olayı aşağıdaki reaksiyon ile tanımlanmaktadır. Bu reaksiyonda Ca^{2+} atomu ile M^{2+} olarak gösterilen iyonların yer değiştirmesi söz konusudur (Şekil 2.8) [63].



Şekil 2.8. Kalsiyum fosfat bileşikleriyle divalent iyonlar arasındaki rekristalizasyon reaksiyonu [63]

2.7.3. Kullanılan bakteriler

2.7.3.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, toprakta ve su habitatlarında gelişen, insan ve hayvan vücut yüzlerinde bulunan, yaşadığımız çevrede sıklıkla karşılaşacağımız bir gama-proteobakteridir. *P.aeruginosa*, aerob, Gram- negatif özellikte basildir. Düz veya hafif kıvrık yapıda, 0.5-0.8 μm eninde ve 1.5-3.0 μm uzunluğa sahip bakteridir. *P.aeruginosa* insanda, lokal ve sistemik enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda, mekanik ventilasyon desteğindeki hastalarda ve bir diyabetik hastalarda ve bağışıklık yetersizliği olan hastalarda solunum ve idrar yollarının, yanıkların ve açık yaraların fırsatçı patojenidir [67][68].

2.7.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, Staphylococcaceae ailesinden Gram-pozitiflerden olan bir bakteri türüdür. Hastane enfeksiyonlarına sebep olan bir bakteridir. 18-40 $^{\circ}\text{C}$ 'ler arasında üreme yeteneğine sahiptir. *S. aureus*, kanlı agar, nutrient agar, triptik soy agar veya beyin kalıp agar gibi besiyerlerinde 30-37 $^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat içinde 1-3 mm çapında koloni oluşturmaktadır [5][69].

2.7.3.3. **Klebsiella Pneumoniae**

Klebsiella pneumoniae, hareketsiz, Gram-negatif, kapsül içerisinde ve fermantasyon yapabilen bakteri türüdür. *K. pneumoniae* 1-2 µm boyunda ve 0.5-0.8 µm enindedir. Ağız, deri ve barsak mikrobiyotasında olmasına rağmen, aspire durumda akciğerde hasara nedene olmaktadır. *K.pneumoniae* hastane enfeksiyonlarında önemli bir patojendir. *K.pneumoniae* genel olarak pnömoni etkeni olarak bilinmektedir [69][70].

2.7.3.4 **Micrococcus Luteus**

Micrococcus luteus, Micrococcaceae familyasına ait Gram-pozitif ve hareketsiz bir bakteridir. *M. luteus* toprakta, tozda, suda ve havada ve memeli derisinin normal mikrobiyotasının bir parçası olarak bulunur. Bakteri ayrıca insan ağızı, mukoza, orofarenks ve üst solunum yollarını kolonize eder. 1928'de penisilini keşfetmeden önce Sir Alexander Fleming tarafından tanımlandı [71].

3. MATERYAL METOD

Sunulan tez çalışmasında kişisel koruyucu ekipmanlardan olan cerrahi maskenin melt-blown orta katmanını destekleyici ve iyileştirici antibakteriyel nanofiber mat katmanların üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, materyal metod bölümünde ipek fibroin (SF) fiberlerin saflaştırma ve fiberleştirilme adımları, üretilen fiber mata antibakteriyel özellik kazandırılması ile bu süreç içinde her bir adımda alınan çıktılar fiziksel ve kimyasal olarak karakterizasyon (SEM-EDX) ile antibakteriyel etkinlik adımları detaylandırılacaktır.

3.1. Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan ipek kozaları KOZA firmasından temin edilmiştir. Sodyum hidroksit (NaOH), etanol (C_2H_5OH), sodyum karbonat (Na_2CO_3) SIGMA-ALDRICH firmasından temin edilmiştir. Metanol (CH_3OH) TEKKİM LAB'dan temin edilmiştir. Trifloroasetik asit (TFA) Turalab'dan temin edilmiştir. Bakır sülfat pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), Kalsiyum klorür ($CaCl_2$) ve Diamonyum hidrojen fosfat ($(NH_4)_2HPO_4$) MERCK firmasından temin edilmiştir.

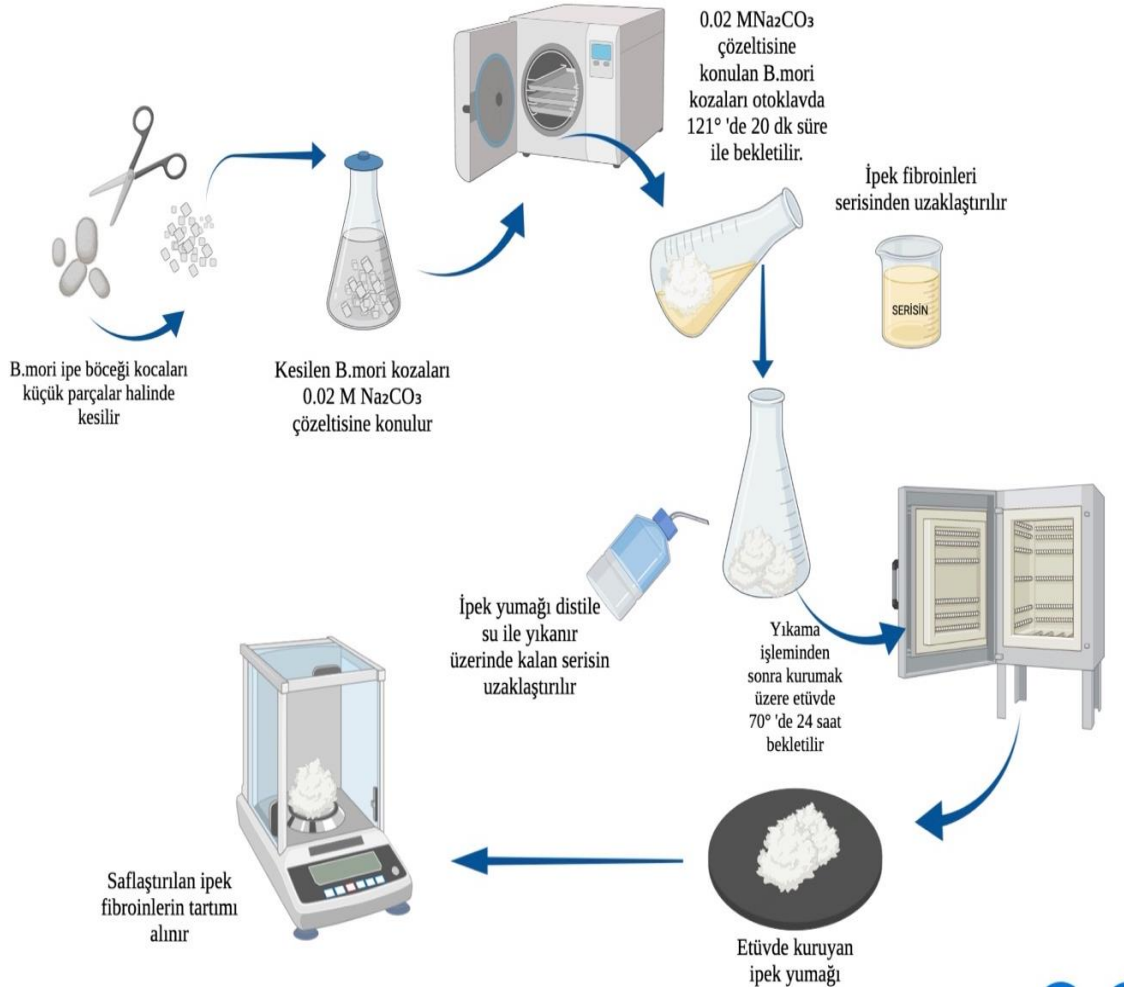
Çözelti hazırlama işlemleri için MERCK markalı Direct-Q modelinden alınan 18,2 MΩ direnç sahip ultra saf su kullanıldı. Tartım işlemleri için Wightlab Instruments markalı WL 303L modelli analitik terazi kullanıldı. pH ölçümleri için Milwaukee markalı Mi 180 Bench meter modelli pH ölçüm cihazı kullanıldı. Çözeltileri homojen bir şekilde karıştırmak için NEOLAB marka akıllı karıştırıcı kullanıldı. Çalışmada NUVE marka Fn 400 model Kuru Hava Sterilizatörü, NUVE marka NC 90M model buharlı sterilizatör, JMS marka SP-100s model şırınga pompası kullanıldı ThermoScientific markalı Quattro S modelli Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanıldı. Elektrostatik eğirme cihazı Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bünyesinde üretilmiştir. Antibakteriyel etkinlik testleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoteknoloji laboratuvarı bünyesine gerçekleştirilmiştir.

3.2.İpek Fibroin Nanofiber Matların Üretimi

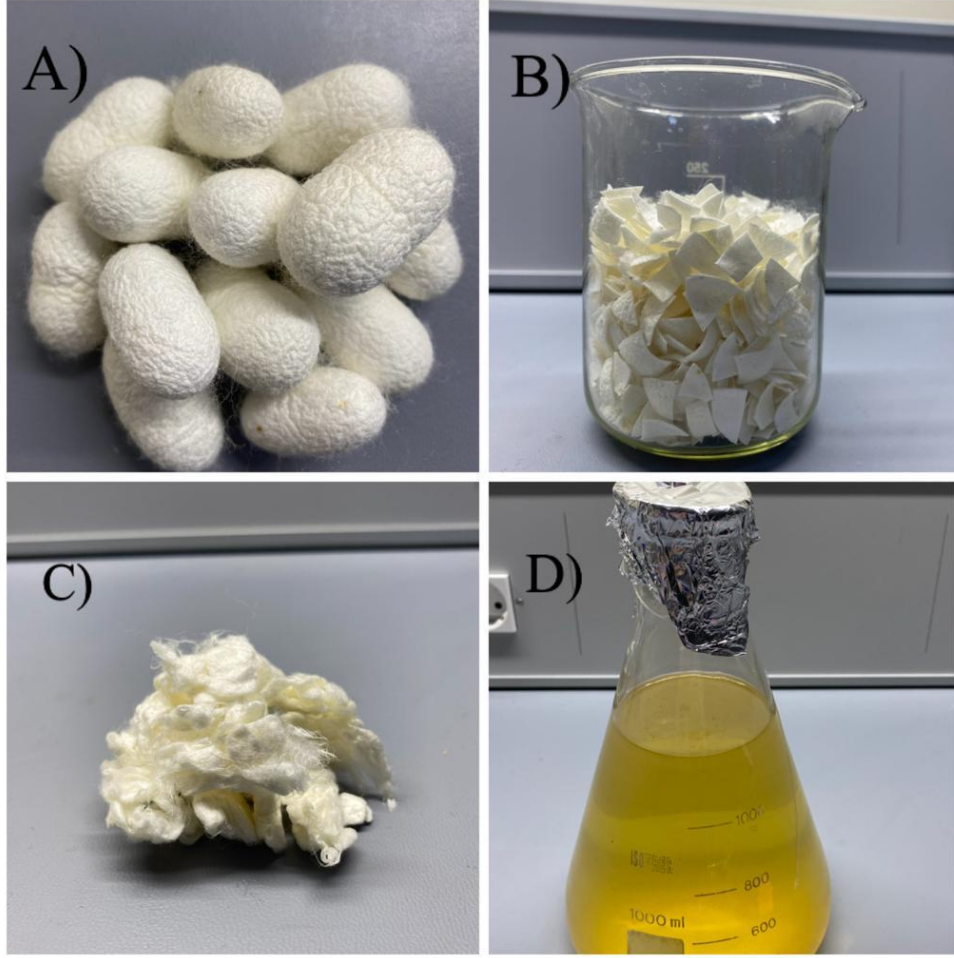
3.2.1. İpek saflaştırma

İpek böceği (*Bombyx mori*) kozaları temizlenerek kolay penetre olması amacıyla kesilerek küçültüldü. Kesilen ipek böceği kozaları 0.02 M Na_2CO_3 çözeltisine eklendi ve otoklavda 121°C de 20 dakika berrak bir sıvı edilinceye kadar 3-4 kez tekrarlanarak ipek fibroinleri (SF) serisinden uzaklaştırıldı [63]. Daha sonra oluşan ipek yumağı distile su ile yıkanarak üzerinde kalabilecek Serisin proteinleri uzaklaştırıldı. Distile su ile yıkanan

ipek 70°C’de etüvde 24 saat kurumaya bırakıldı. Kurutulduktan sonra tartım alındı kesilerek küçültülen 10 gram SF’den yaklaşık olarak 6,3 gram SF elde edildi (Şekil 3.1). Şekil 3.2.’de yukarıda bahsedilen ipek saflaştırma basamaklarından elde edilen görseller yer almaktadır.



Şekil 3.1 İpek saflaştırma basamakları



Şekil 3.2. İpek saflaştırma basamakları A) Bombyx mori kozası, B) Kesilerek küçültülmüş kozalar, C) Saflaştırılan ipek fibroin, D) Uzaklaştırılan serisin

3.2.2. Elektrostatik eğirme için çözelti hazırlama

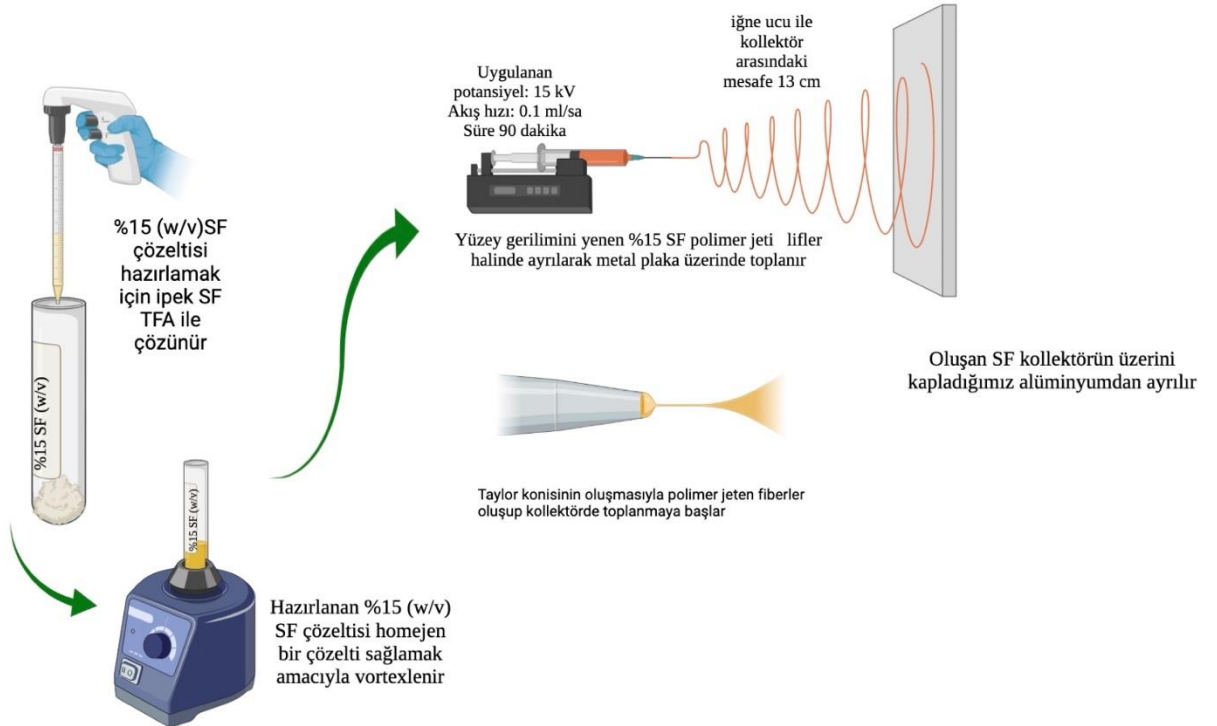
Nanofiber yapıların hazırlanmasında elektrospin tekniği kullanılmıştır. Bu tekniğe göre Serisin'den uzaklaştırılan İpek %15 (w/v) oranında Trifloraasetik asit (TFA) içerisinde çözülmüştür. Elektrostatik eğirme sırasında fiberlerin homojen olması amacıyla, hazırlanan polimerik ipek çözeltisi manyetik karıştırıcıda 1 saat karıştırıldı. Yapılan tüm işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi [63]

3.2.3. Elektrostatik eğirme

Elektrostatik eğirme sistemine ait bölümler; şırınga ve iğnesi, düşük akış hızı sağlayabilen pompa, toplayıcı, kablo tutucuları, mesafe ayarlamamızı sağlayan laboratuvar ayaklığı ve sistemin stabilitesini koruyabilmek amaçlı şeffaf koruyucu kaptan dış yüzeylerden oluşmaktadır. Sunulan tez çalışmasında elektrostatik eğirme sırasında kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir:

- Uygulan potansiyel: 15 kV
- Mesafe: 13 cm
- Akış hızı: 0.1 ml/h
- Süre: 90 dk
- Şırınga iğnesi kesit alanı ve uzunluğu: 0.82 mm, 2,7 cm (22 Gauge)

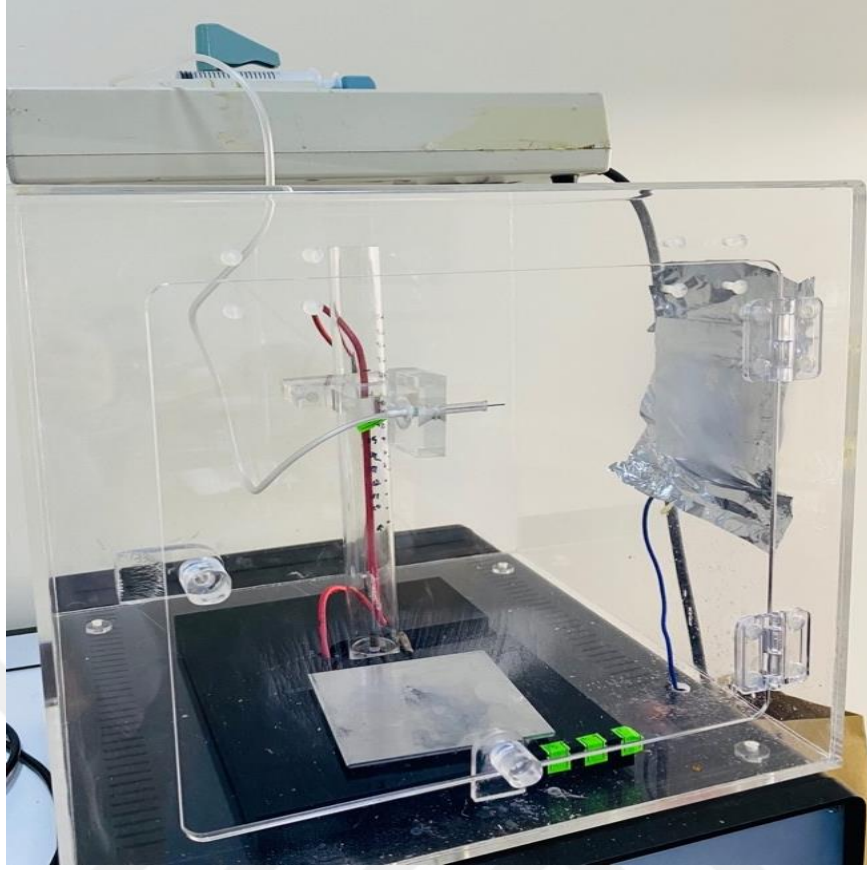
İpek nanofiber matların hazırlanmasında elektrostatik eğirme tekniği kullanılmıştır. Bu tekniğe göre Serisin'den uzaklaştırılan İpek fibroin (%15), Trifloraasetik asit (TFA) içerisinde çözülmüştür. %15 (w/v) hazırlanan ipek fibroin çözeltisi (SF), şırınga yardımıyla çekildi ve elektrostatik eğirmenin başlatılması amacıyla şırınga pompasına yerleştirildi. SF çözeltisi elektrik akımı verilerek elektriksel akım oluşturulmaktadır. Bu nedenle, SF çözeltisine 15 kV voltaj uygulanarak, 13 cm uzaklıkta, 0.1 ml/saat akış hızında, 90 dakika süreyle eğrilerek ipek nanofiber matlar elde edilmiştir. Kollektör üzerindeki alüminyuma toplanan ipek nanofiber matlar yavaşça alüminyum folyo üzerinden sıyrılmıştır. (Şekil 3.3.) Daha sonra 1'er cm² olacak şekilde kesilmiştir. Elde edilen ipek nanofiber matlar 30 dakika 75/25 (v/v) etanol/metanol içerisinde yatırılarak çapraz bağlanması sağlanmıştır. Böylece, ipek nanofiber matlarlar hidrofobik hale getirilmiştir.



Şekil 3.3. Elektrostatik eğirme basamakları

Tez çalışmasında kullanılan iğnenin iletken bir malzemeden üretilmesi polimerik ipek çözeltisinin yüksek gerilimle yüklenebilmesi için önemlidir. Ayrıca iğnenin kesit alanında polimerik ipek çözeltisinin akışını etkilemeyecek şekilde olması da önemli rol oynar. Bu amaçla, 0,82 mm kalınlığında ve iğnenin uzunluğu 2,7 cm olacak şekilde küt olarak kesilmiştir. Bahsedilen bu parametreler toplayıcıda birikecek olan ipek fiber matların homojenliğini etkilemektedir. Elektrostatik eğirme sistemimizde aşağı yönde fiber oluşturmak ve yatay yönde fiber oluşturmak amaçlı iki ayrı toplayıcı bulunmaktadır. Sunulan tez çalışmasında aşağı yönde fiber oluşturulması yer çekimi etkisiyle toplayıcı üzerine kaplanan alüminyum folyoda damlacıkların oluşmasına ve fiber matın yapısının bozulmasına sebebiyet verdiği için tercih edilmedi. Bu sebeple yatayda elektrostatik eğirme uygulayarak ipek fiber matlar oluşturuldu.

Elektrostatik eğirme tekniğinde üretilen ipek nanofiber matların özelliklerini SF konsantrasyonu, kılcal uç ve kollektör arasındaki mesafe, uygulanan potansiyel, akış hızı gibi parametreler etkilemektedir. Bu amaçla, polimerik ipek fibroin çözeltisinin konsantrasyonu, %15'ten daha düşük konsantrasyonlarda stabil bir fiber mat oluşumu gözlenememesi sebebiyle %15 (w/v) olarak belirlendi çünkü daha düşük konsantrasyonlarda stabil bir fiber mat oluşumu gözlenmedi. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise jelleşme meydana geldiği için etkili bir elektrostatik eğirme mümkün olmadı. Sunulan tez çalışmasında kılcal uç ile kollektör arasındaki mesafenin artmasıyla lif çapı azalmaktadır bu nedenle iğnenin kılcal ucu ile kollektör arasındaki mesafe 13 cm olarak belirlenmiştir. Akış hızı şırınga pompası ile 0.1 ml/saat olarak ayarlandı. Daha yüksek akış hızında iğnenin ucunda hava kabarcıkları oluşumu gözlemlendiği için oluşan ipek fiber matların üzerinde kabarcıkların meydana gelmesine sebep olmuştur. Şekil 3.4.'de Elektrostatik eğirme cihazı ve elektrostatik eğirme sonucunda elde edilen SF'in görüntüsü yer almaktadır.



(A)



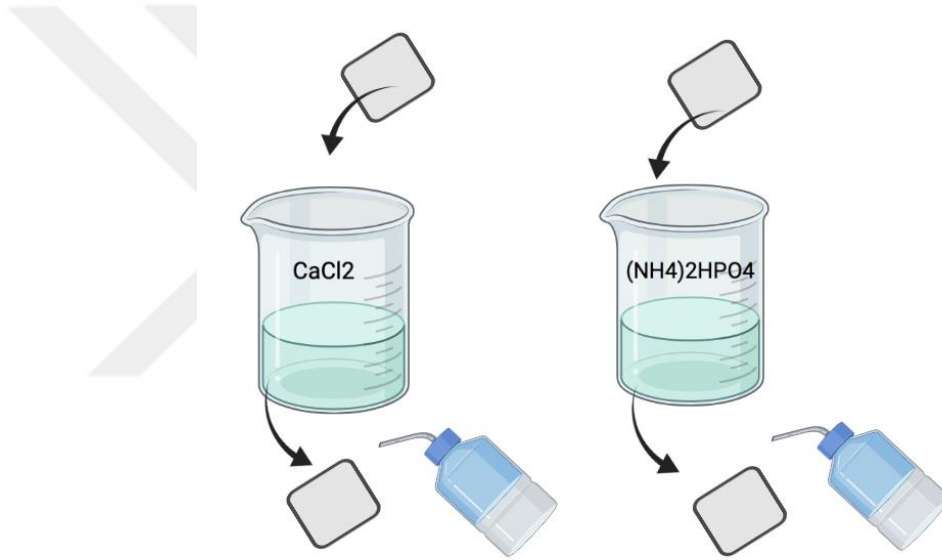
(B)

Şekil 3.4. A) Elektrostatik eğirme cihazı ve düzeneği, B) Elektrostatik eğirme sonucunda elde edilen SF

3.3.Üretilen İpek Nanofiber Matlara Antibakteriyel Özelliklerin Kazandırılması

3.3.1.Hazırlanan İpek nanofiberlerin minerilizasyonu

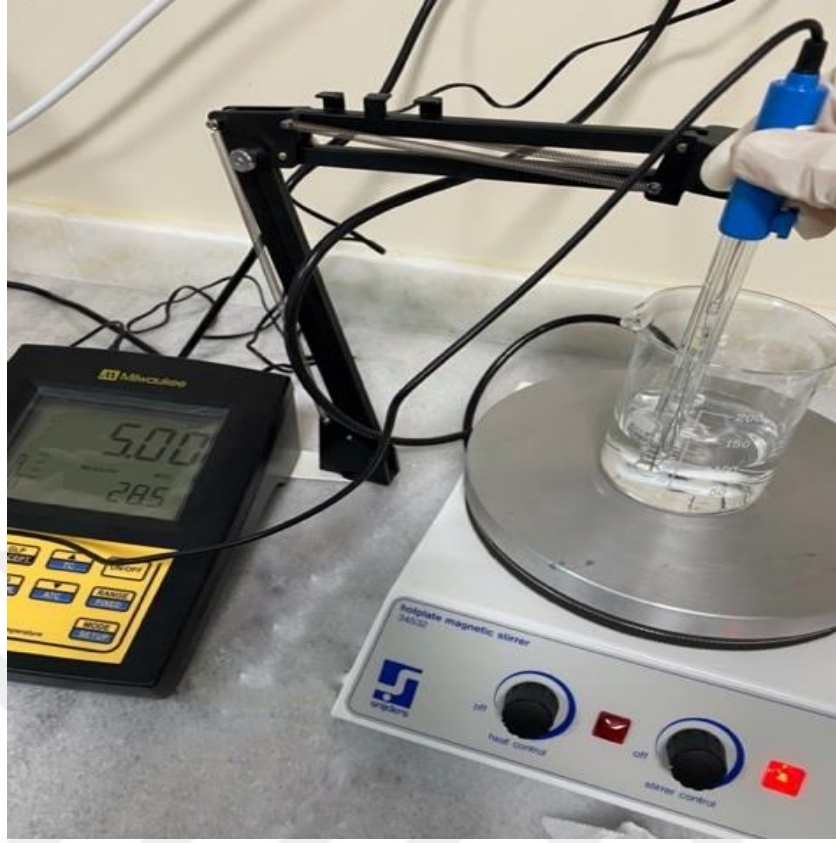
Bu aşamada İpek nanofiberler, ağır metallere afinitesinin olduğu bilinen Kalsiyum-Fosfat (CaP) bileşikleri ile mineralize edilmiştir. Bu amaçla elektrostatik eğirme ile hazırlanan ipek nanofiber matlar üzerine kalsiyum-fosfat bileşikleri çöktürülmüştür. CaP ile mineralize edilmek istenen ipek nanofiberler, 120 mM CaCl_2 çözeltisi içerisinde 1 saat süreyle, daha sonra 60mM $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ çözeltisi içerisinde 1 saat süre ile bekletilerek kalsiyum-fosfat tuzlarının mat üzerine kristaller oluşturarak çökmesi sağlanmıştır. Bu bekletme işlemleri 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. CaP çöktürülen ipek nanofiberler distile su ile yıkanarak çözünür tuzlar uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.5) [63][71].



Şekil 3.5. Mineralizasyon basamakları

3.3.2. Mineralize edilmiş ipek nanofiberler üzerine bakır oksit bağlama

Ağır metallere afinitesi olduğu bilinen CaP bileşikleri çöktürülmüş ipek nanofiber matlar, pH 5 olarak ayarlanmış 30 ppm ve 120 ppm olmak üzere iki ayrı konsantrasyona sahip bakır sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi içerisinde 120 dakika shaker’da karıştırılarak 120 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.6 B). pH ayarı manyetik karıştırıcı altında 1 M HCl ve 1 M NaOH ile sağlanmıştır. Şekil 3.6 A’da pH ayarlama ve hazırlanan SF’lerin $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ içerisinde shaker’daki görselleri yer almaktadır [58][63][73].



(A)



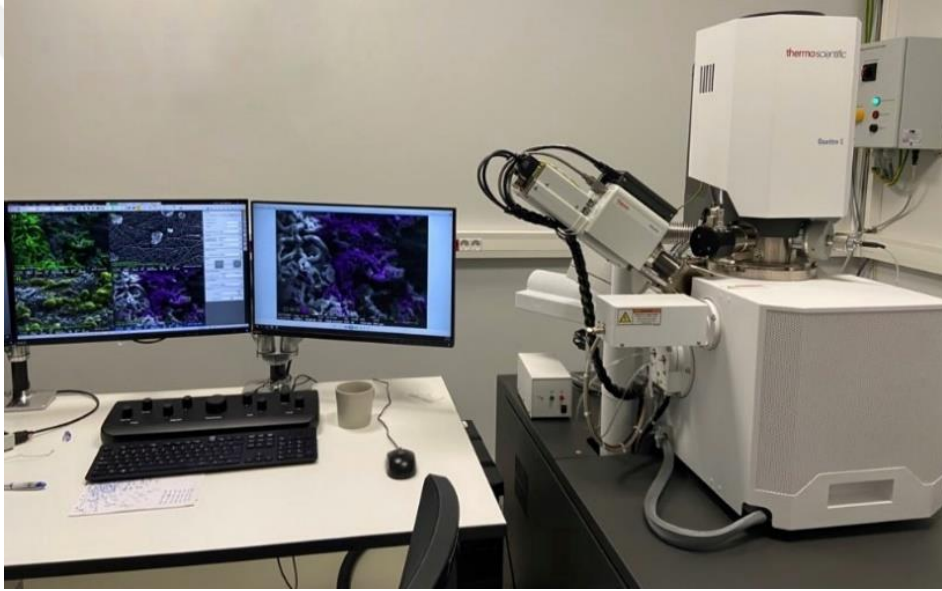
(B)

Şekil 3.6. A) pH ölçüm cihazında pH ayarlama, B) Akıllı karıştırıcıdaki SF nanofiber matlar

3.4. Antibakteriyel Özellikli İpek Fibroin Nanofiber Matların Kimyasal ve Fiziksel Karakterizasyonu ile Antibakteriyel Etkinlik Testleri

3.4.1. Fiziksel ve kimyasal karakterizasyon

İşlem görmemiş ipek fibroin nanofiber matlar, CaP tuzları ile mineralize edilmiş ipek fibroin nanofiber matlar ve mineralize edilmiş ipek nanofiberler üzerine bakır oksit nanoyapılar dahil edilmiş ipek fibroin nanofiber matların morfolojik özellikleri ThermoScientific markalı Quattro S modeli Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7). Ayrıca SEM' e bağlı olan Elektron Dağılım Spektroskopisi (EDX) ile kimyasal kompozisyon her element için renkli bir şekilde görsellenmiştir. Şekil 3.7.'te kullanılan SEM-EDX cihazına ait bir görsel yer almaktadır.



Şekil 3.7. SEM-EDX cihazı

3.4.1.1. İpek fibroin nanofiber matların fiziksel karakterizasyonu

%15 (w/v) SF çözeltisi hazırlandıktan sonra elektrostatik eğirme tekniği ile ipek fibroin nanofiber matlar hazırlanmış ve SEM incelemeleri ile fiziksel özellikleri karakterize edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında, SF nanofiber matların SEM görüntüleri çekildikten sonra Image J programına SEM görüntüleri yüklenerek fibroinler üzerinden 50 ölçüm alındı ve alınan ölçüm verileri kullanılarak fiber çap aralığı, ortalama fiber çapı ve standart sapmaları tespit edildi.

3.4.2.2. Mineralizasyonu gerçekleştirilen İpek fibroin nanofiberlerin

karakterizasyonu

%15 (w/v) SF çözeltisi hazırlandıktan sonra elektrostatik eğirme tekniği ile ipek fibroin nanofiber matlar hazırlanmıştır. Daha sonra SF nanofiber matların CaP tuzları ile mineralizasyonunda 3 tekrarlı, her tekrar için toplam 120 dk beklenerek CaP tuzlarının yüzeyde birikmesi sağlanmıştır. Hazırlanan mineralize edilmiş SF nanofiber matların SEM ve EDX ile fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.3. Mineralize edilen İpek fibroin nanofiberlerin karakterizasyonu

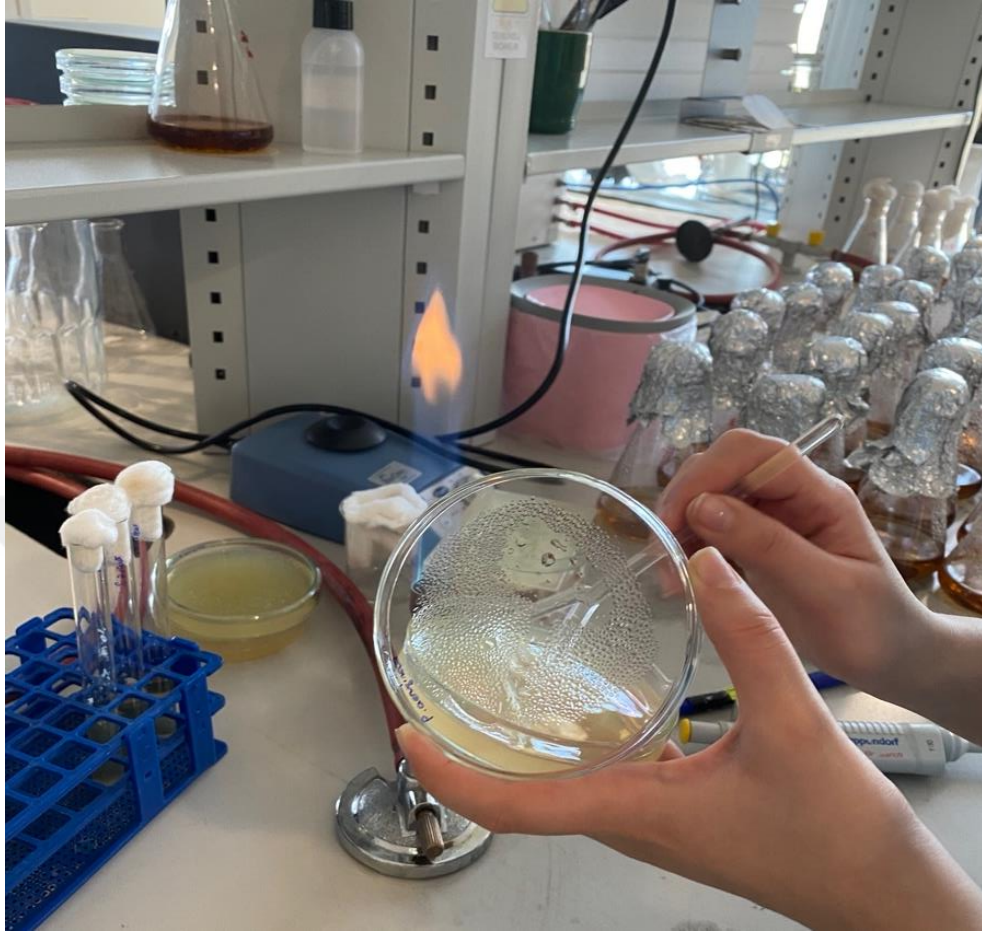
Ağır metallere afinitesi olduğu bilinen CaP çöktürülmüş SF nanofiber matlar, pH 5 olarak ayarlanmış 30 ppm bakır sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi içerisinde 120 dakika akıllı karıştırıcıda karıştırılarak 120 dakika bekletilmiştir. Hazırlanan bu SF nanofiber matların SEM ve EDX ile fiziksel ve kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.2. Antibakteriyel etkinlik testi

Tekstil ürünlerinde uygun sıcaklık, nem, besin maddesi temin ettiklerinde dolayı mikroorganizmalar kolayca çoğalarak kişiye zamanla zarar verebilir. Tekstil ürünlerine antibakteriyel özellik kazandırılmasıyla bakterilerin neden olduğu zararların azaltılması ya da tamamen ortadan kaldırılması önemli rol oynar. Antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde özellikle; *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* mikroorganizmaları üzerine test işlemleri gerçekleştirilmektedir.

Kalsiyum fosfat tuzları ile mineralize edilmiş ve Bakır oksit nanoyapılar dahil edilmiş SF nanofiber matların antibakteriyel aktivite testleri, test mikroorganizmaları olarak bilinen *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 538), *Micrococcus luteus* (ATCC-4698), *Klebsiella pneumoniae* (ESOGÜ biyoteknoloji laboratuvarından temin edilmiştir) ile gerçekleştirilmiştir. Kalsiyum fosfat tuzları ile mineralize edilmiş ve 30 ppm ve 120 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'den hazırlanmış SF nanofiber matların antibakteriyel etkinlik testleri yapılmıştır. Bakterilerin stok kültürlerinden Nutrient broth besiyerine ekim yapıp 37 °C de 1 gece inkübasyona bırakılarak canlandırılması sağlanmıştır. Canlandırılan bakteri kültürlerinden 100 µl alınıp Nutrient agar içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır (Şekil 3.7). Antibakteriyel aktivitelerine bakılacak numunelerden bakteri ekilmiş petrilerin ortalarına eklenmiştir. Pozitif kontrol grubu olarak Ampsilin (100mg/ml) antibiyotikinden 10 µl bakteri ekili petrilerin ortalarına eklenmiştir. Bakteri ekili

petriler 37 °C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir.



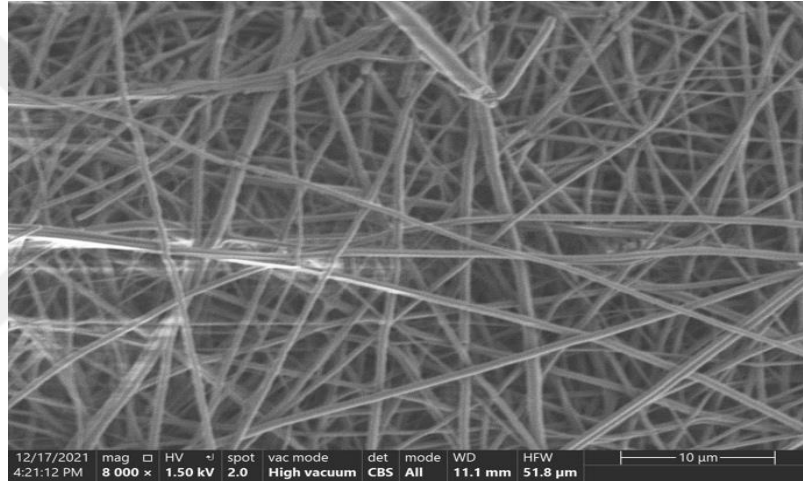
Şekil 3.8. Nutrient agar içeren petrilere bakterileri yayma ekimi

4. DENEYSEL BULGULAR

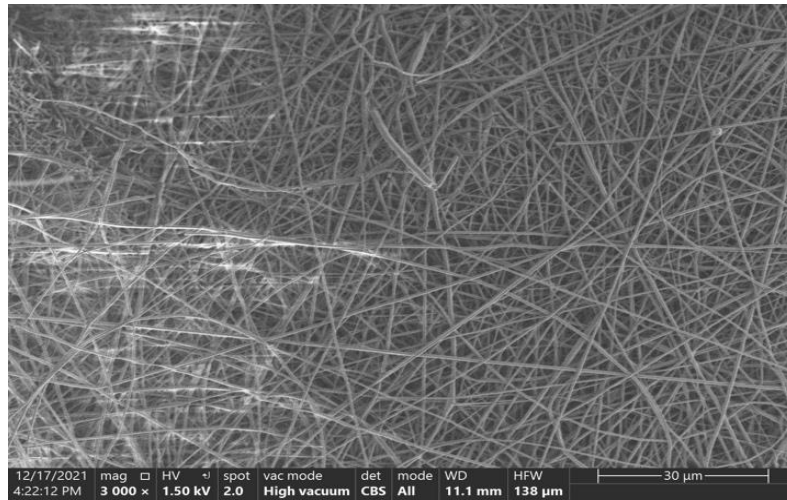
4.1. Fiziksel ve Kimyasal Karakterizasyon

4.1.1. İpek kozalarından üretilen ipek fibroin matların Fiziksel karakterizasyonu

İpek kozalarından elde edilen SF nanofiber matlar SEM ile görüntülenerek fiziksel karakterizasyonda kullanılacak görüntüler elde edilmiştir. Karakterize edildikten sonra elde edilen SEM görüntüleri Image J programına aktarıldı ve Image j üzerindeki analizlerde 50 ölçüm alındıktan sonra ölçüm verileri kullanılarak fiber çap aralığı, ortalama fiber çapı ve standart sapması tespit edilmiştir. Şekil 4.1’ de SF nanofiber matlara ait SEM görüntüleri yer almaktadır.



(A)



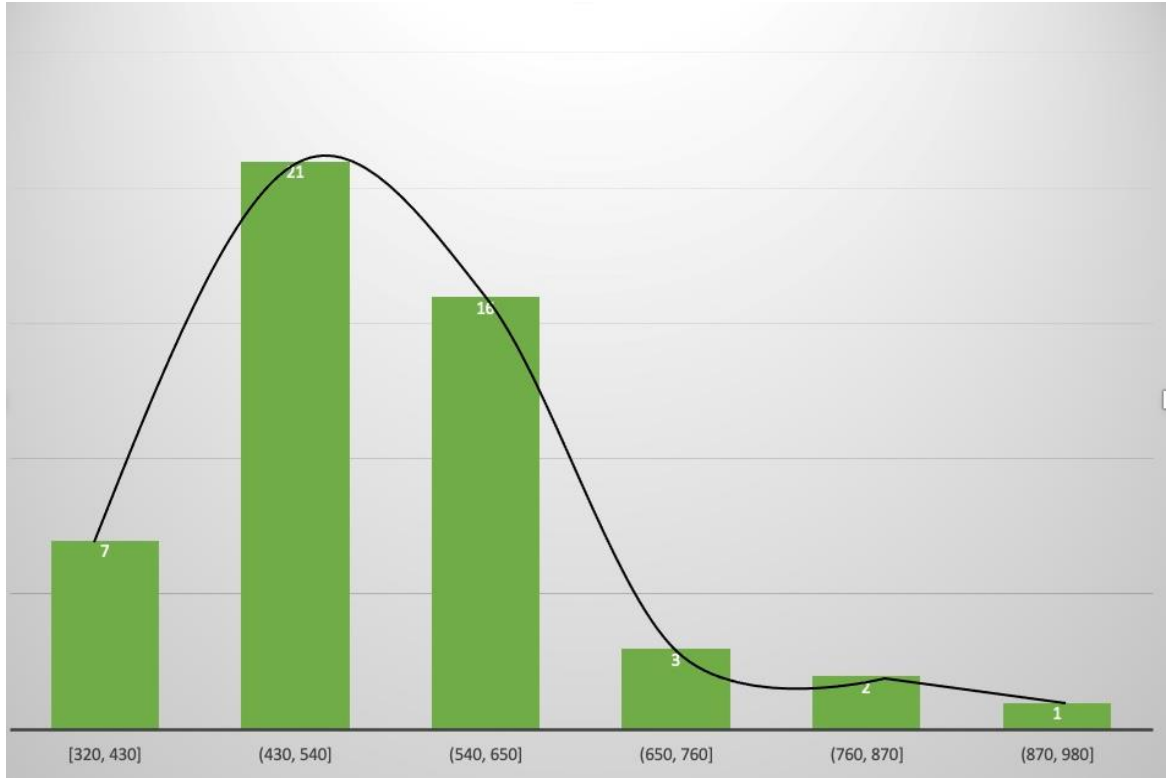
(B)

Şekil 4.1 İşlem görmemiş SF nanofiber matların SEM görüntüleri A) 10 µm (8 000 x), B)30 µm (3 000 x)

Image J programında uzunluk ölçüm modu içerisinde SEM görüntülerinin gerçek ölçek değeri üzerinden pixel değeri tespit edildi. Gerçek boyut analizi için skala üzerinden pixel değerleri bulundu ve orantı hesabı yapılarak görüntüde pixel değerine karşılık gelen fiber çapını elde etmemizi sağladı. (Şekil4.3.) Bu sayede, minimum fiber çapı, maksimum fiber çapı, ortalama standart sapma ve ortalama çap verilerine ulaşıldı (Şekil 4.2) (Tablo 4.1).

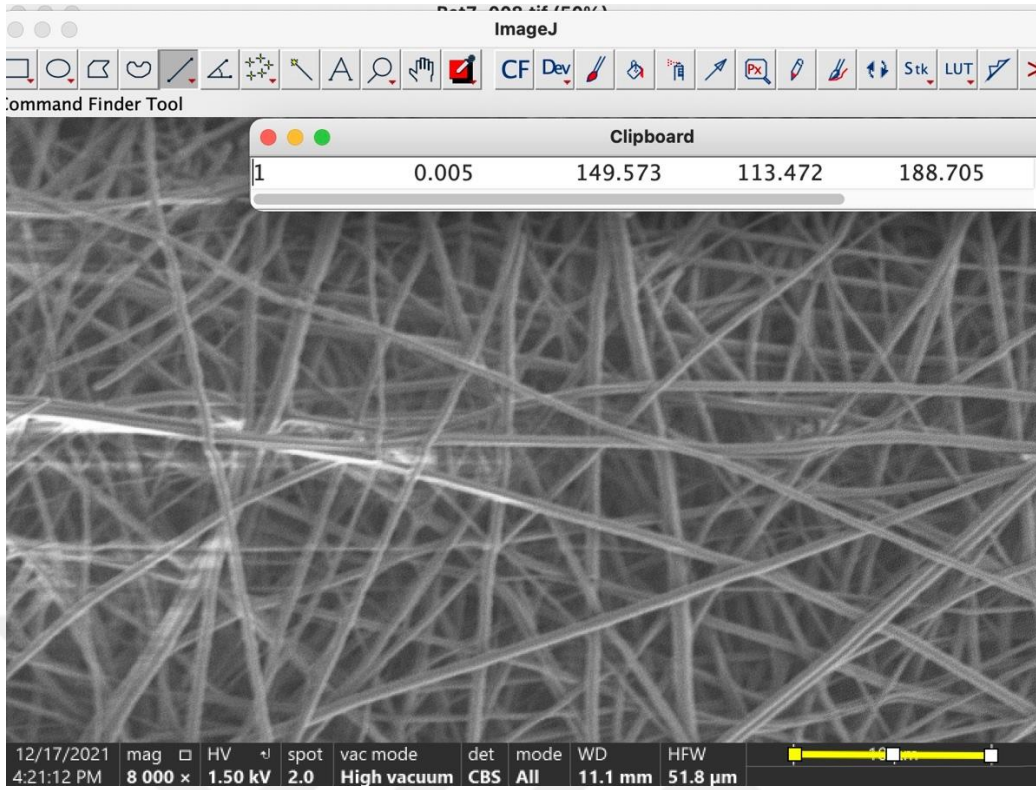
Tablo 4.1. Fiber çap karakterizasyonu

Min. Fiber Çapı (nm)	Max. Fiber Çapı (nm)	Fiberlerin Ortalama Çapı (nm)	Ortalama Standart Sapma
368,919	907,606	539,495	0,116482

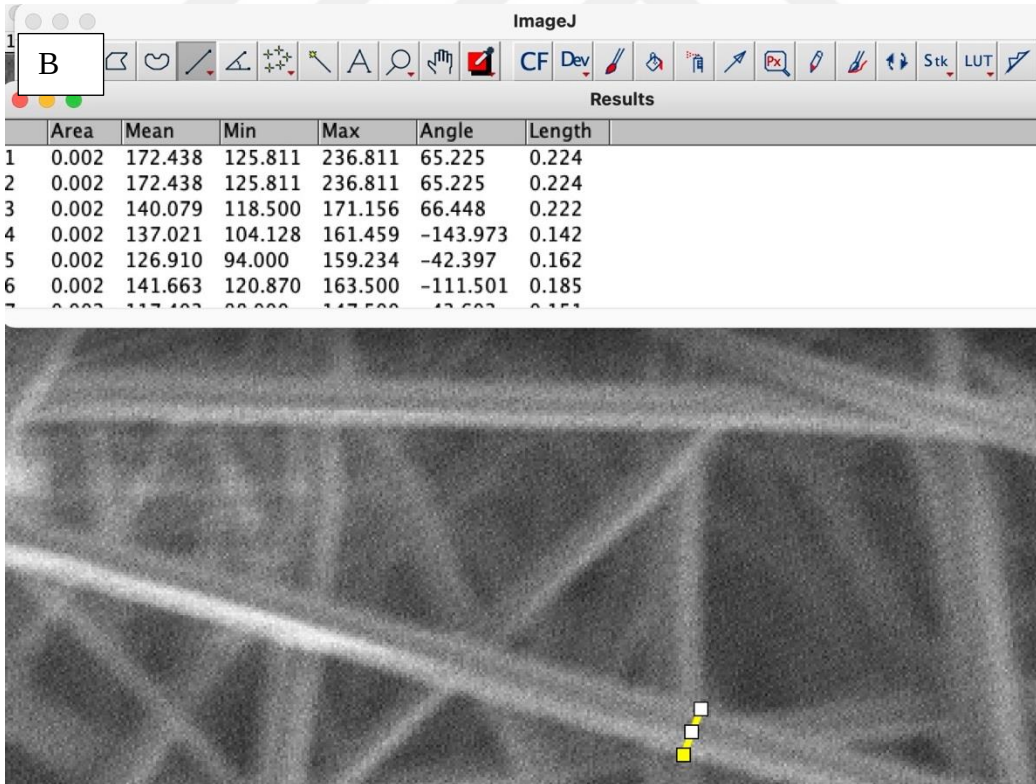


Şekil 4.2. Fiberlerin Çap analizi

Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi fiberlerin çap analizleri gerçekleştirildiğinde ortalama fiberlerin 430 nm ile 540 nm aralığında olduğu görülmektedir. 650'nm den daha büyük olan fiberlerin çapları ihmal edilebilir düzeyde az olduğu görülmektedir.



(A)

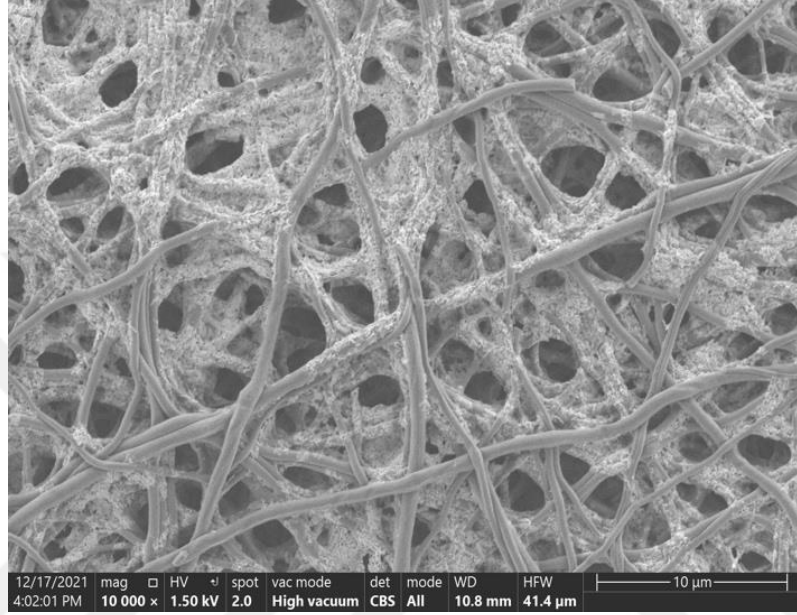


(B)

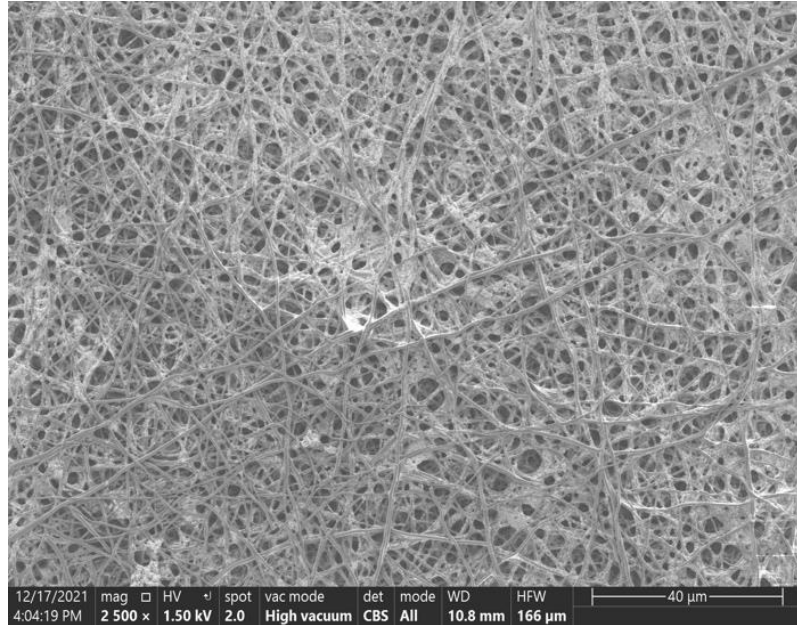
Şekil 4.3. A) Image J programı üzerinden skaladan ölçüm alınması B) Image J programı üzerinden fiber çapı ölçülmesi

4.1.2. Mineralize edilmiş ipek fibroin nanofiber matların karakterizasyonu

SF nanofiber matlar üzerine CaP bileşiklerinin 3 tekrarlı çöktürülmesiyle elde edilen ipek nanofibriler matların morfolojik incelemeleri SEM ile karakterize edilmiştir. Kalsiyum fosfat bileşiklerinin nanofibriler matlar üzerindeki varlığı ise EDX kullanılarak tespit edilmiştir. Şekil 4.4'te CaP bileşikleri ile mineralize edilmiş SF nanofiber matların görüntüsü yer almaktadır.

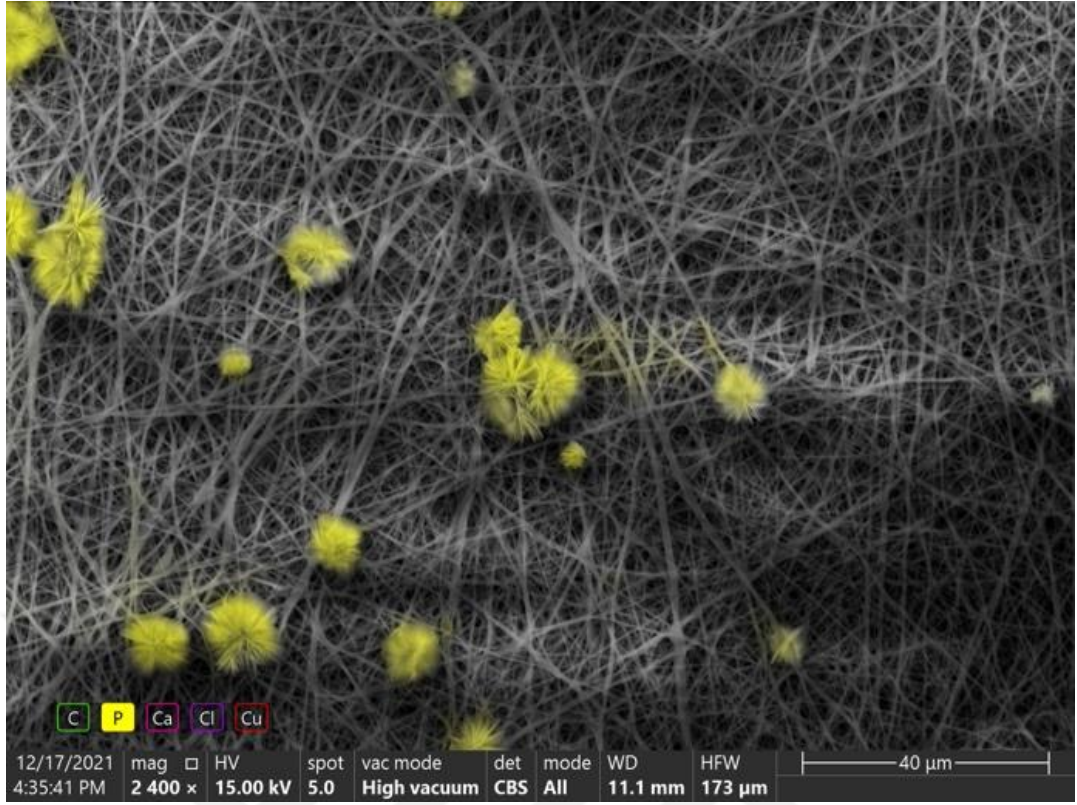


(A)

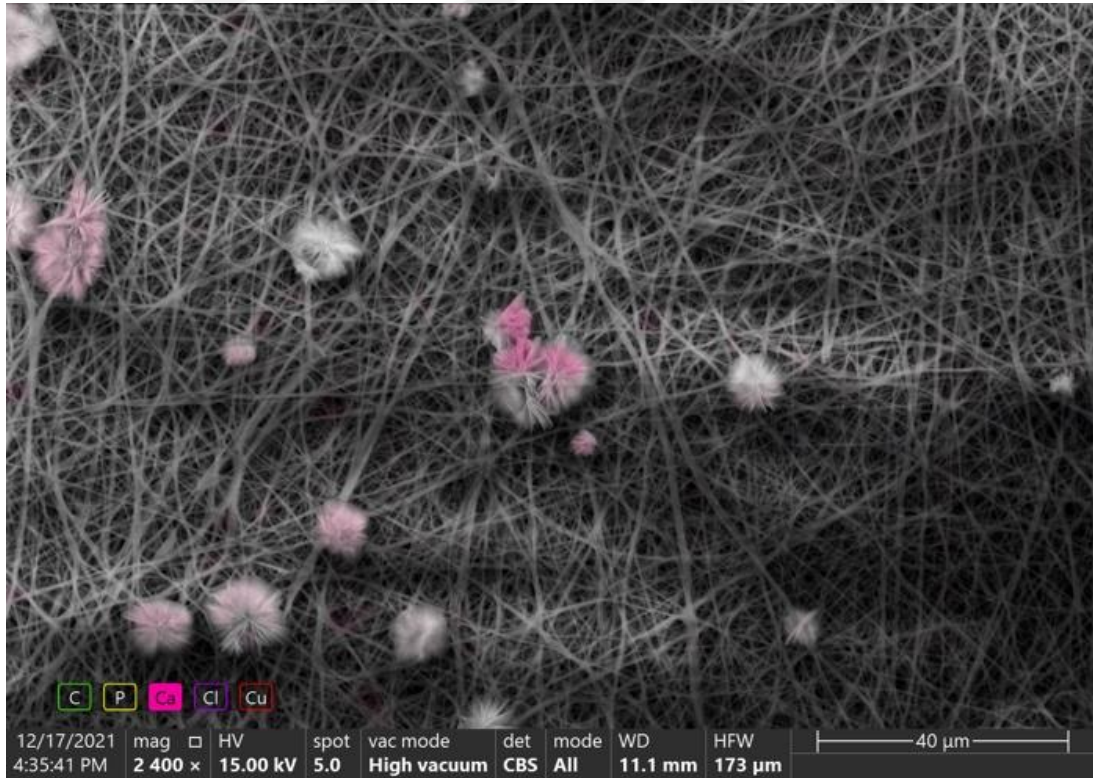


(B)

Şekil 4.4. Kalsiyum-fosfat bileşikleri ile mineralize edilmiş ipek fibroinlerin SEM görüntüsü A) 10 µm (10 000 x), B) 40 µm (2 500 x)

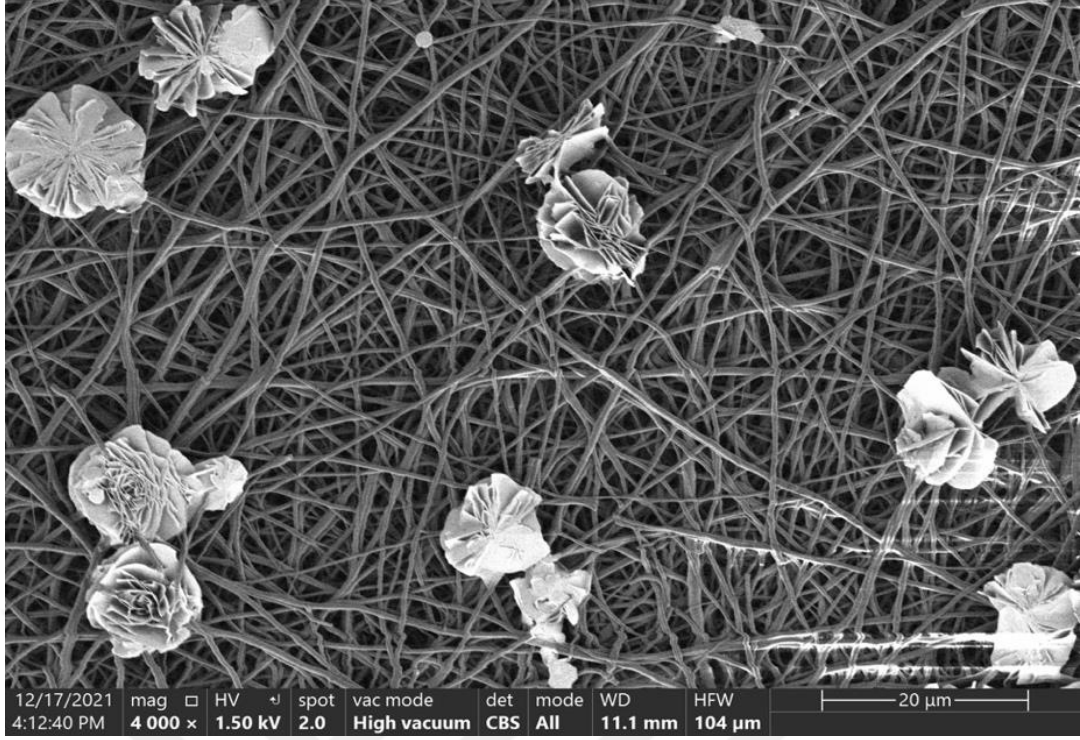


(A)



(B)

Şekil 4.5. Hidroksiapatit kristallerine ait olan SEM-EDX görüntüleri A) Fosfor (2 400 x), B) Kalsiyum (2 400 x)



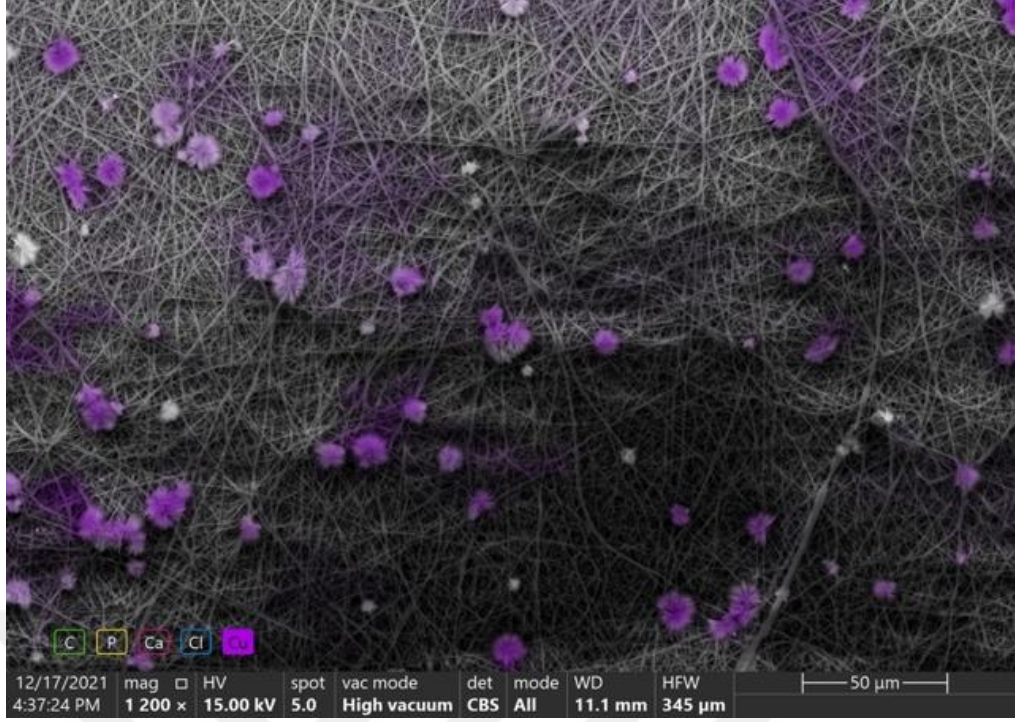
Şekil 4.6. Hidroksiapatit kristalleri

SEM-EDX ile karakterizasyon sonucunda nanofibriler matlar üzerinde toplanan yapıların, kalsiyum ve fosfat bileşikler olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

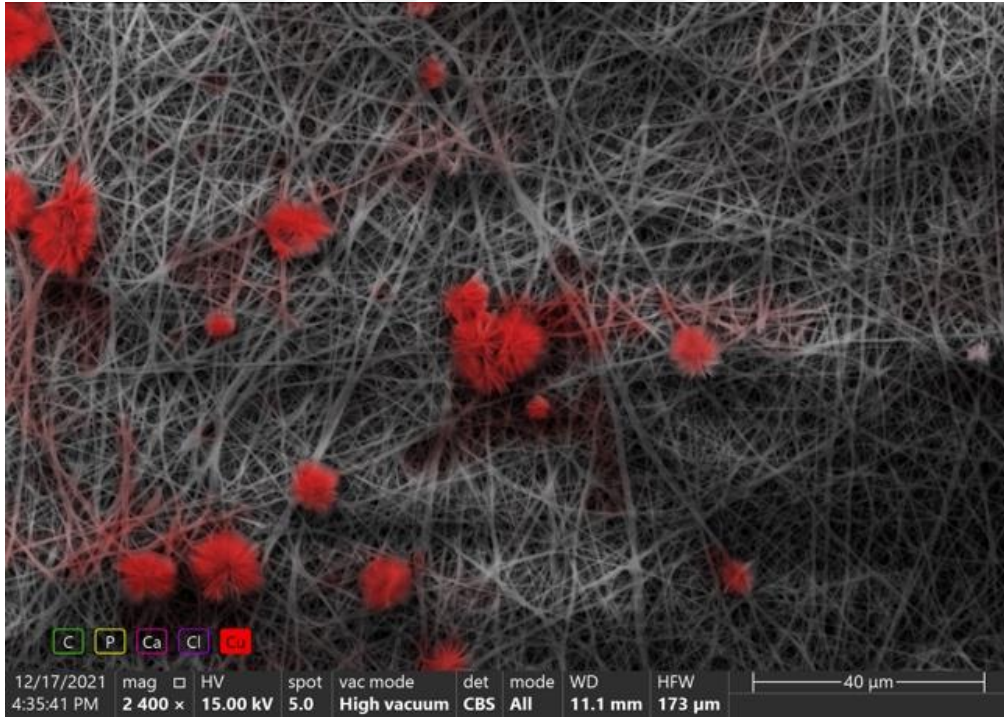
SEM görüntülerinin incelenmesiyle, nanofibriler tabakaların üzerinde homojen bir kalsiyum fosfat birikimi gözlenmiştir (Şekil 4.6).

4.1.3.Mineralize edilen İpek fibroin nanofiber matlara bakır bağlandıktan sonra karakterizasyonu

Ağır metallere afinitesi olduğu bilinen CaP bileşikler çöktürülmüş SF nanofiber matlar, pH 5 olarak ayarlanmış 30 ppm bakır sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi içerisinde 120 dakika shaker’da karıştırılarak bekletilmiştir. SEM-EDX ile karakterizasyon sonrasında Image J programı üzerindeki analizlerde 50 ölçüm alındıktan sonra ölçüm verileri kullanılarak fiber çap aralığı, ortalama fiber çapı ve standart sapması tespit edilmiştir.

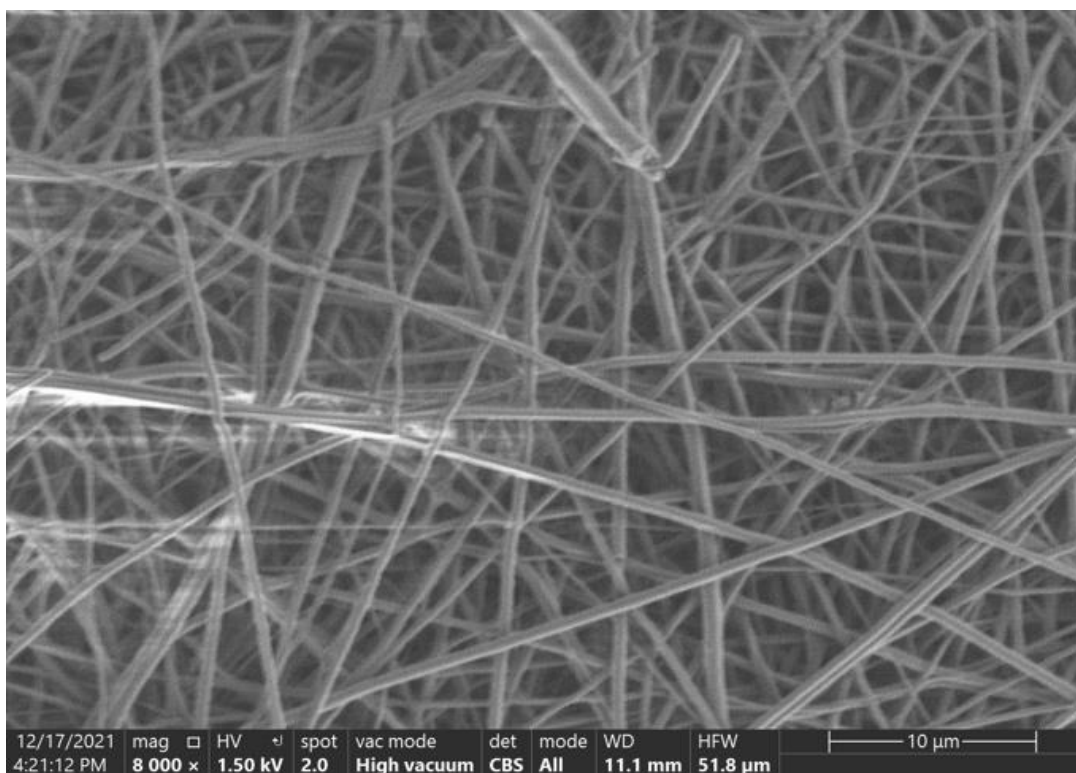


(A)

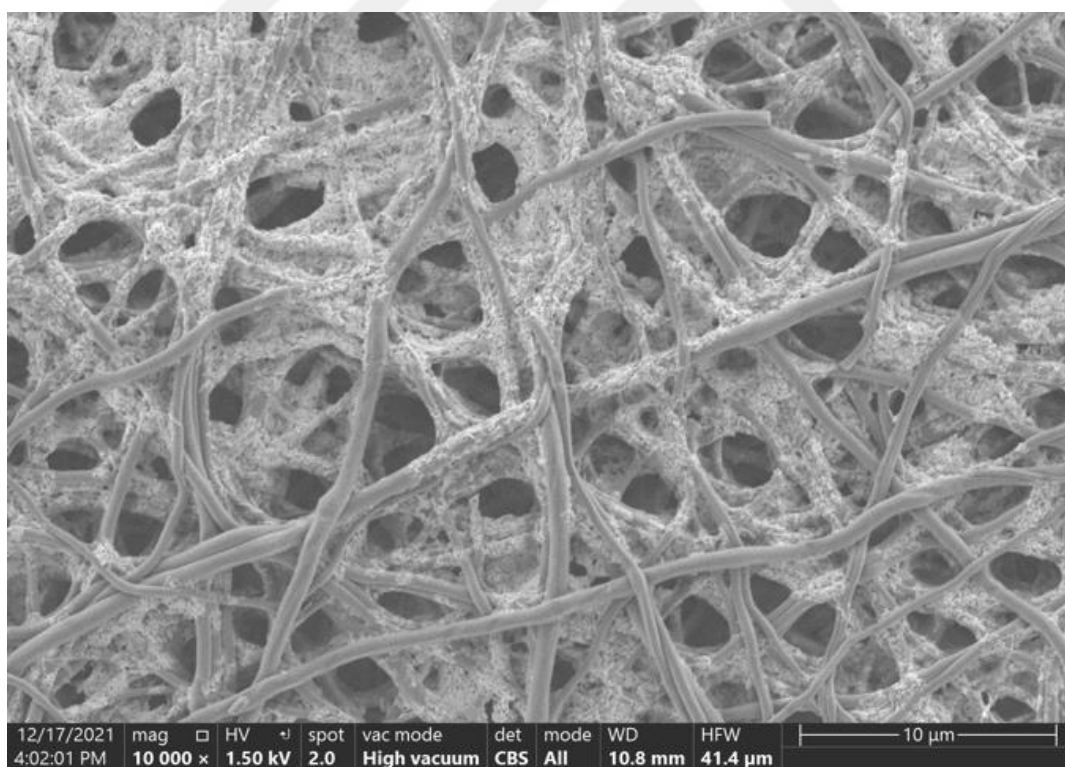


(B)

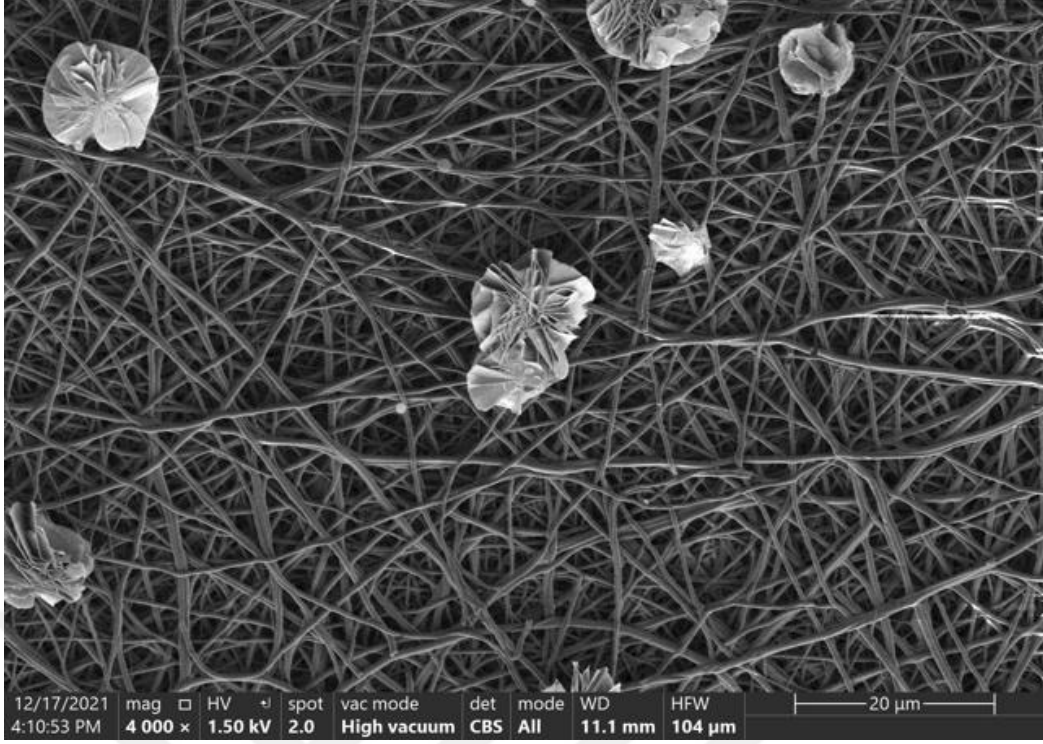
Şekil 4.7. SEM-EDX ile görüntülenen Bakır iyonlarının varlığı a) 50 μm (1 200 x), b) 40 μm (2 400 x)



(A)



(B)



(C)

Şekil 4.8. A) İşlem görmemiş SF nanofiber matlar(10 µm, 8 000 x) B) Hidroksiapatit ile kaplanmış SF nanofiber matlar (10 µm, 10 000 x), C) Hidroksiapatit kristalleri (20 µm, 4 000 x) SEM görüntüleri

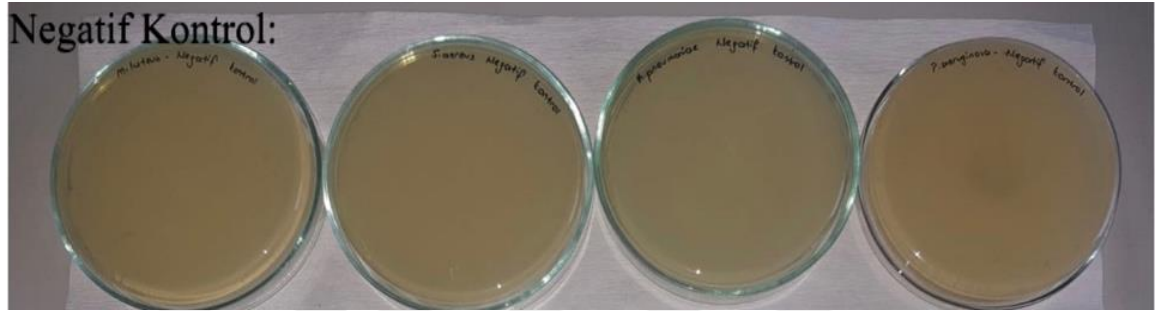
SEM-EDX görüntüleri ile elde edilen bakır oksit nanoyapıların dahil edildiği nanofibriler matlar üzerinde bakır iyonlarının kalsiyum fosfat tabakalarına tutunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7).

4.2.Antibakteriyel Etkinlik Testi

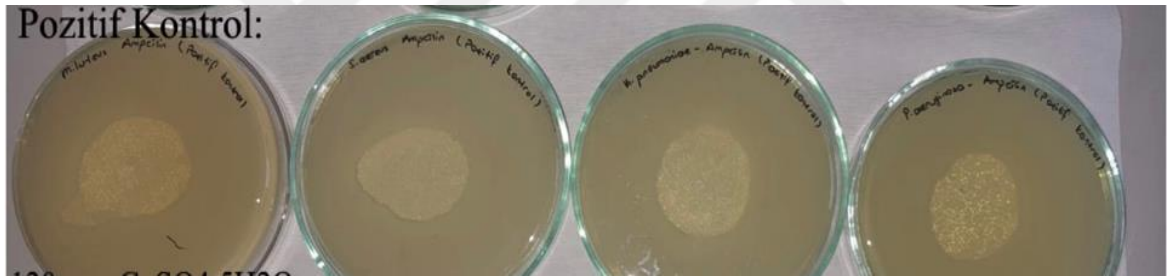
Bakterilerin stok kültürlerinden Nutrient broth besiyerine ekim yapıp 37 °C'de 1 gece inkübasyona bırakılarak canlandırılması sağlanmıştır. Canlandırılan bakteri kültürlerinden 100 µl alınıp Nutrient agar içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır. Antibakteriyel aktivitelerine bakılacak numunelerden bakteri ekilmiş petrilerin ortalarına eklenmiştir. Pozitif kontrol grubu olarak Ampsilin (100mg/ml) antibiyotikinden 10 µl bakteri ekili petrilerin ortalarına eklenmiştir. Bakteri ekili petriler 37 °C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Antibakteriyel etkilerine bakılan malzemelerden en yüksek aktivite *K.pneumoniae* üzerinde 1,2 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de olduğu tespit edilmiştir. *S.aureus* üzerinde 1 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de, *M.Luteus* üzerinde 1 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de antibakteriyel etkinlikleri tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Farklı test mikroorganizmaları ve konsantrasyonlarda nanofiberlerin antibakteriyel etkinliği

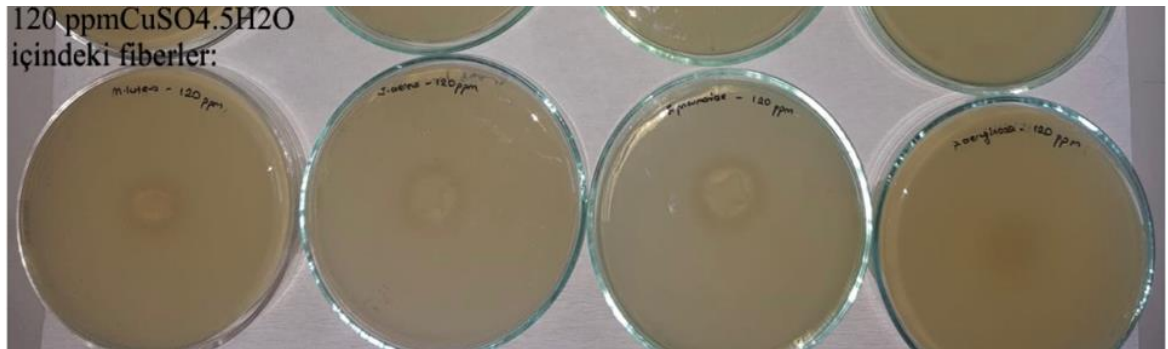
	<i>K.pneumoniae</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>M.luteus</i>
30 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O	-	-	-	-
120 ppm CuSO ₄ .5H ₂ O	1,2 cm	-	1 cm	1 cm
Pozitif kontrol (ampisilin)	2,7 cm	2,5 cm	2,7 cm	2,5 cm
Negatif kontrol (Hidroksiapatit)	-	-	-	-



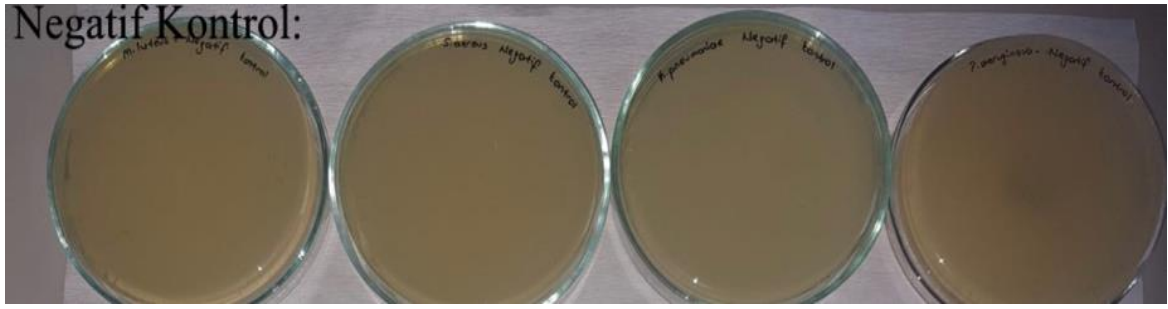
Şekil 4.9. Bakteri içermeyen ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Negatif Kontrol)



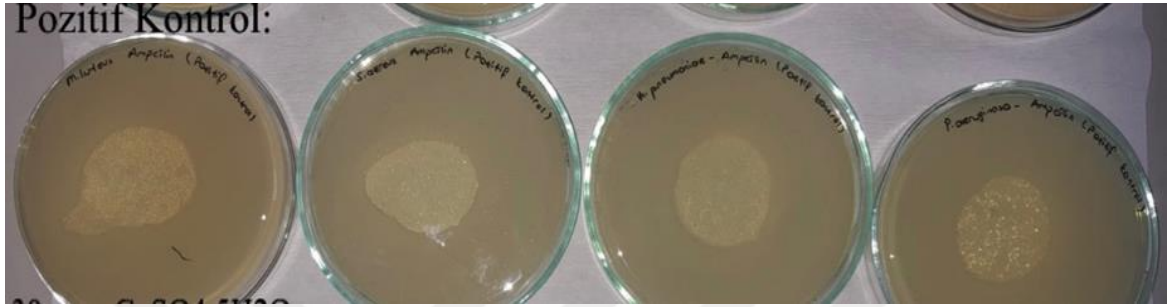
Şekil 4.10. Bakteri içeren ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Pozitif Kontrol)



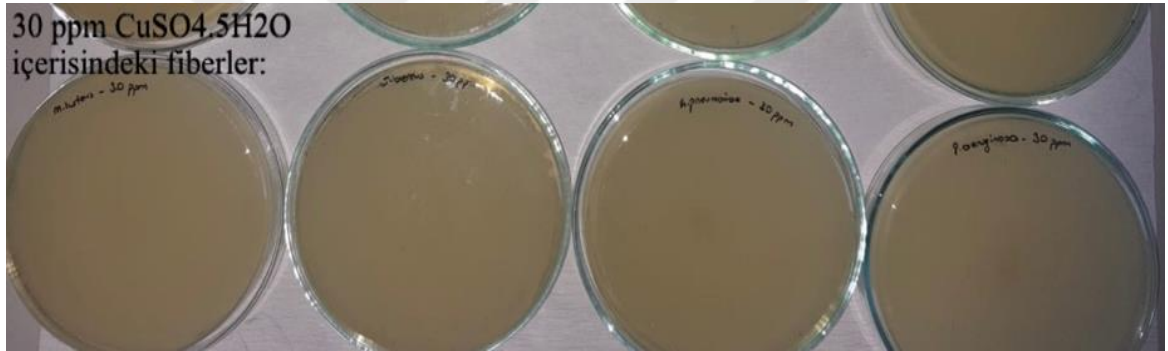
Şekil 4.11. 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (mat içeren örnekler)



Şekil 4.12. Bakteri içermeyen ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Negatif Kontrol)



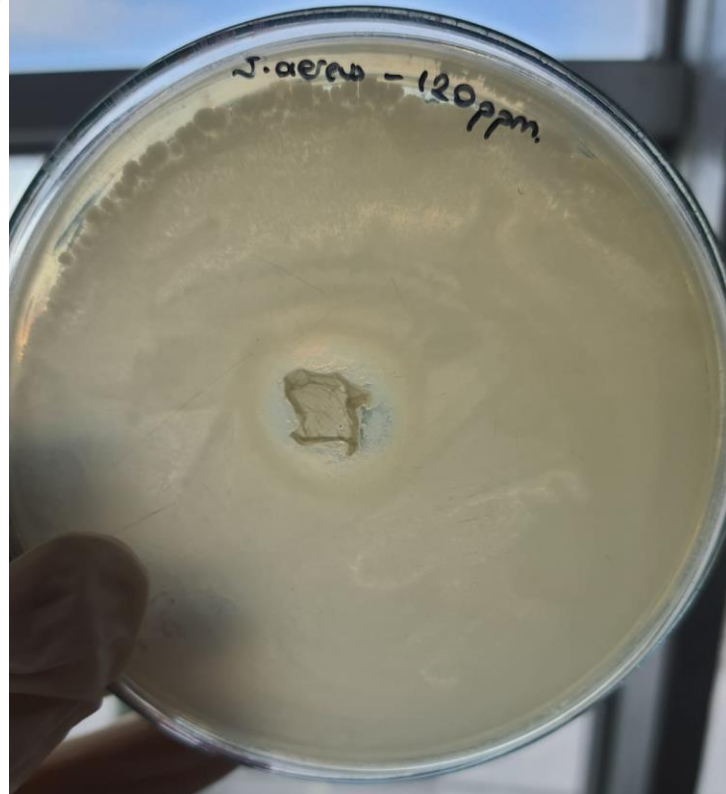
Şekil 4.13. Bakteri içeren ortamdan gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri (Pozitif Kontrol)



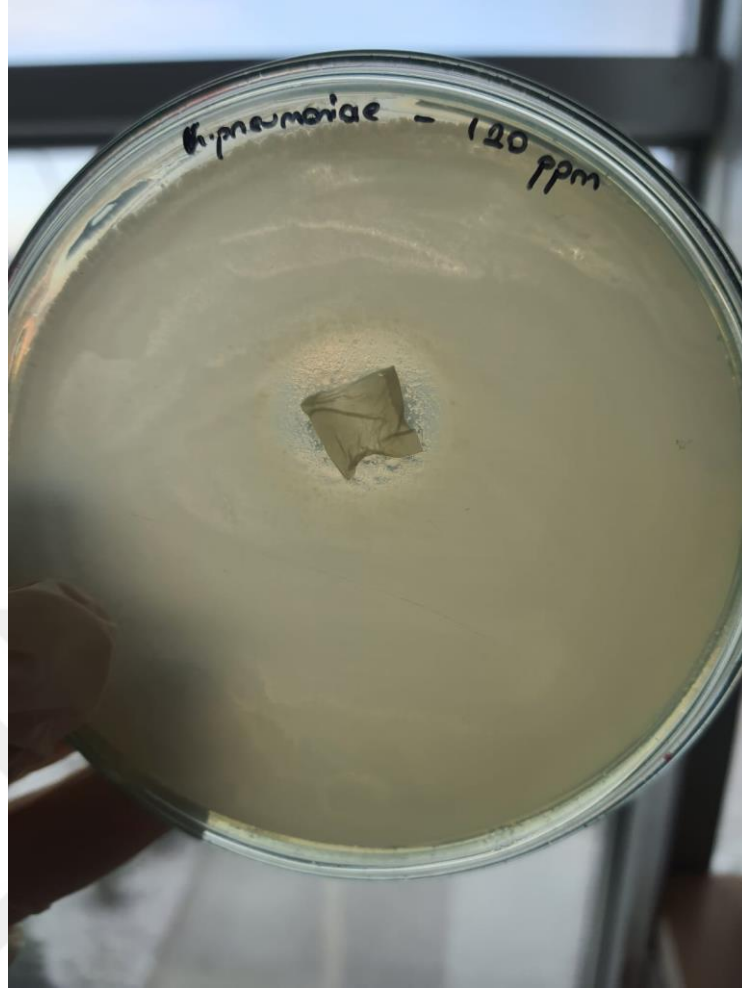
Şekil 4.14. 30 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'de gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testleri



Şekil 4.15. 120 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'da hazırlan fiberlerin *Micrococcus luteus* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik



Şekil 4.16. 120 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'da hazırlan fiberlerin *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik



Şekil 4.17. 120 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'da hazırlan fiberlerin *Klebsiella pneumoniae* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlik

5.SONUÇLAR

Sunulan tez kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- İpek böceği (*Bombyx mori*) kozalarından serisin uzaklaştırılarak saf İpek fibroinleri elde edildi. İpek fibroin nanofiber matların hazırlanmasında elektrostatik eğirme tekniği kullanılmıştır. Bu tekniğe göre serisin'den uzaklaştırılan ipek fibroin (%15), trifloro asetik asit (TFA) içerisinde çözülmüştür.

- TFA içerisinde %15 (w/v) olarak çözünen ipek fibroinleri elektrospin tekniğiyle nanofibriler forma getirilmiştir. SEM görüntülerinden elde edilen fiberler, çapları 400-500 nm aralığında değişen nanofiberler şeklindedir. Ortalama fiber çapı ise 539 nm, minimum fiber çapı ise 368,919 nm ve maksimum fiber çapı 907, 606 nm olarak belirlenmiştir.

- Oluşturulan İpek fibroin nanofiber matlar üzerine divalent ağır metallere olan afinitesi bilinen kalsiyum fosfat bileşikler 3 tekrarlı olarak çöktürülmüştür. Çöktürme işlemi uygulanan İpek fibroin nanofiber matların fiziksel ve kimyasal karakterizasyonları SEM ve EDX ile gerçekleştirilmiştir. SEM görüntüleri ile kalsiyum-fosfat bileşiklerinin (Hidroksiapatit) SF nanofiber mat üzerine homojen bir şekilde yayıldığı gözlenmiştir. EDX ile kimyasal karakterizasyon sonrasında, Hidroksiapatit kristalleri üzerinde fosfor ve kalsiyumun varlığı renklendirilmiş olarak görülmüştür.

- Ağır metallere afinitesi olduğu bilinen kalsiyum-fosfat bileşikler çöktürülmüş SF nanofiber matlar, pH 5 olarak ayarlanmış 30 ppm ve 120 ppm bakır sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi içerisinde 120 dakika shaker'da karıştırılarak bekletilmiştir. SEM-EDX ile karakterizasyon sonrasında elde edilen bakır oksit nanoyapıların dahil edildiği nanofibriler matlar üzerinde bakır iyonlarının kalsiyum fosfat tabakalarına tutunduğu gözlenmiştir.

- Kalsiyum fosfat tuzları ile mineralize edilmiş ve Bakır oksit nanoyapılar dahil edilmiş SF nanofiber matların antibakteriyel aktivite testleri, test mikroorganizmaları olarak bilinen *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 538), *Micrococcus luteus* (ATCC-4698), *Klebsiella pneumoniae* (ESOGÜ biyoteknoloji

laboratuvarından temin edilmiştir) ile gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel etkilerine bakılan SF nanofiber matlarda, en yüksek aktivite *K.pneumoniae* üzerinde 1,2 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de olduğu tespit edilmiştir. *S.aureus* üzerinde 1 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de, *M.Luteus* üzerinde 1 cm zon çapı oluşturarak 120 ppm CuSO₄.5H₂O'de antibakteriyel etkinlikleri tespit edilmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] M.H.Chua, W.Cheng, S.S.Goh, “Face Masks in the New COVID-19 Normal: Materials, Testing, and Perspectives”, Research. 2020, August 2020, DOI: 10.34133/2020/7286735
- [2] H.W.Tong, S.K.C.Kwok, H.C.Kwok, “Protective masks with coating comprising different electrospun fibers interweaved with each other, formulations forming the same, and method of producing thereof.” U.S. Patent No.10,201,198. 12 Feb. 2019
- [3] S.Zhou, S.Lukula, C.Chiossone, R.W.Nims, D.B.Suchman, “Assessment of a respiratory face mask for capturing air pollutants and pathogens including human influenza and rhinoviruses”, Journal of thoracic disease. 10(3), 2059–2069, March 2018, DOI: 10.21037/jtd.2018.03.103
- [4] D. Bunyan, L. Ritchie, D. Jenkins, and J. E. Coia, “Respiratory and facial protection: a critical review of recent literature,” J. Hosp. Infect., vol. 85, no. 3, pp. 165–169, 2013, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.07.011>.
- [5] A.H.M. Afandi, “Hava yolu ile bulaşan bazı bakteriyel etkenlere karşı IgY teknolojisine dayalı filtre sisteminin geliştirilmesi”, Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü., Gazi Univ., Ankara, Türkiye, 2009.
- [6] M. Holland, D. J. Zaloga, and C. S. Friderici, “COVID-19 Personal Protective Equipment (PPE) for the emergency physician,” Vis. J. Emerg. Med., vol. 19, p. 100740, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.visj.2020.100740>.
- [7] E. Ruiz-Hitzky et al., “Nanotechnology Responses to COVID-19,” Adv. Healthc. Mater., vol. 9, no. 19, p. 2000979, Oct. 2020, DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.202000979>.
- [8] H. Huang et al., “COVID-19: A Call for Physical Scientists and Engineers,” ACS Nano, vol. 14, no. 4, pp. 3747–3754, Apr. 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c02618.
- [9] X. Li, J. Niu, and N. Gao, “Characteristics of physical blocking on co-occupant’s exposure to respiratory droplet residuals,” J. Cent. South Univ., vol. 19, no. 3, pp. 645–650, 2012, doi: 10.1007/s11771-012-1051-0.

- [10] J. Zhou, Z. Hu, F. Zabihi, Z. Chen, and M. Zhu, “Progress and Perspective of Antiviral Protective Material,” *Adv. Fiber Mater.*, vol. 2, no. 3, pp. 123–139, 2020, doi: 10.1007/s42765-020-00047-7.
- [11] Wikipedia, “Bakteri”, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Bakteri>
- [12] Wikipedia, “Bakteri hücre yapısı”, https://tr.wikipedia.org/wiki/Bakteri_h%C3%BCcre_yap%C4%B1s%C4%B1
- [13] “Characteristics and Steps of Infectious Diseases.” OpenStax CNX, [Online]. Available: <https://bio.libretexts.org/@go/page/31850>.
- [14] J. W. Wilson, M. J. Schurr, C. L. LeBlanc, R. Ramamurthy, K. L. Buchanan, and C. A. Nickerson, “Mechanisms of bacterial pathogenicity,” *Postgrad. Med. J.*, vol. 78, no. 918, pp. 216 LP – 224, Apr. 2002, doi: 10.1136/pmj.78.918.216.
- [15] M. Rai et al., “Nanotechnology as a Shield against COVID-19: Current Advancement and Limitations,” *Viruses*, vol. 13, no. 7, p. 1224, Jun. 2021, doi: 10.3390/v13071224.
- [16] S. Jindal and P. Gopinath, “Nanotechnology based approaches for combatting COVID-19 viral infection,” *Nano Express*, vol. 1, no. 2, p. 022003, Sep. 2020, doi: 10.1088/2632-959X/abb714.
- [17] X. Xue, J. K. Ball, C. Alexander, and M. R. Alexander, “All Surfaces Are Not Equal in Contact Transmission of SARS-CoV-2,” *Matter*, vol. 3, no. 5, pp. 1433–1441, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matt.2020.10.006>.
- [18] N. van Doremalen et al., “Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 382, no. 16, pp. 1564–1567, Mar. 2020, doi: 10.1056/NEJMc2004973.
- [19] N. Karim et al., “Sustainable Personal Protective Clothing for Healthcare Applications: A Review,” *ACS Nano*, vol. 14, no. 10, pp. 12313–12340, Oct. 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c05537.
- [20] M. H. Chua et al., “Face Masks in the New COVID-19 Normal: Materials, Testing, and Perspectives,” *Research*, vol. 2020, p. 7286735, 2020, doi: 10.34133/2020/7286735.
- [21] H. Palza, M. Nuñez, R. Bastías, and K. Delgado, “In situ antimicrobial behavior of materials with copper-based additives in a hospital environment,” *Int. J. Antimicrob.*

Agents, vol. 51, no. 6, pp. 912–917, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.02.007>.

- [22] G. Borkow, S. S. Zhou, T. Page, and J. Gabbay, “A Novel Anti-Influenza Copper Oxide Containing Respiratory Face Mask,” *PLoS One*, vol. 5, no. 6, p. e11295, Jun. 2010, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011295>.
- [23] G. Pullangott, U. Kannan, G. S., D. V. Kiran, and S. M. Maliyekkal, “A comprehensive review on antimicrobial face masks: an emerging weapon in fighting pandemics,” *RSC Adv.*, vol. 11, no. 12, pp. 6544–6576, 2021, DOI: 10.1039/D0RA10009A.
- [24] S. E. Eikenberry et al., “To mask or not to mask: Modeling the potential for face mask use by the general public to curtail the COVID-19 pandemic,” *Infect. Dis. Model.*, vol. 5, pp. 293–308, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idm.2020.04.001>.
- [25] K. H. Chan and K.-Y. Yuen, “COVID-19 epidemic: disentangling the re-emerging controversy about medical facemasks from an epidemiological perspective,” *Int. J. Epidemiol.*, vol. 49, no. 4, pp. 1063–1066, Aug. 2020, DOI: 10.1093/ije/dyaa044.
- [26] L. Mingrui, L. Huayang, W. Ji et al., “A technical review of face mask wearing in preventing respiratory COVID-19 transmission”, *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* 52, 101417, April, 2021, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2021.101417>
- [27] Y. Wibisono, C. R. Fadila, S. Saiful, and M. R. Bilad, “Facile Approaches of Polymeric Face Masks Reuse and Reinforcements for Micro-Aerosol Droplets and Viruses Filtration: A Review,” *Polymers*, vol. 12, no. 11. 2020, DOI: 10.3390/polym12112516.
- [28] H.-G. Geus, “5- Developments in manufacturing techniques for technical nonwovens,” in *Woodhead Publishing Series in Textiles*, G. B. T.-A. in T. N. Kellie, Ed. Woodhead Publishing, 2016, pp. 133–153.
- [29] S. Yang et al., “Daylight-driven rechargeable antibacterial and antiviral nanofibrous membranes for bioprotective applications,” *Sci. Adv.*, vol. 4, no. 3, p. eaar5931, Nov. 2021, doi: 10.1126/sciadv.aar5931.
- [30] L. C. Giannossa et al., “Metal nanoantimicrobials for textile applications,” *Nanotechnol. Rev.*, vol. 2, no. 3, pp. 307–331, 2013, doi: doi:10.1515/ntrev-2013-0004.

- [31] Y.A.Tewabe, S.A.Abdela, W.G.Birhanu et al., “Could Nanotechnology Help to End the Fight Against COVID-19? Review of Current Findings, Challenges and Future Perspectives”, *Int J Nanomedicine*. 16, 5713-5743, July,2021, DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S327334>.
- [32] G. Borkow and J. Gabbay, “Copper as a Biocidal Tool,” *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 12, No. 18, pp. 2163-2175, 2005, doi: <http://dx.doi.org/10.2174/0929867054637617>.
- [33] G. Borkow and J. Gabbay, “Putting copper into action: copper-impregnated products with potent biocidal activities,” *FASEB J.*, vol. 18, no. 14, pp. 1728–1730, Nov. 2004, doi: <https://doi.org/10.1096/fj.04-2029fje>.
- [34] F. Yoshie et al., “Novel Antiviral Characteristics of Nanosized Copper(I) Iodide Particles Showing Inactivation Activity against 2009 Pandemic H1N1 Influenza Virus,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 78, no. 4, pp. 951–955, Feb. 2012, doi: 10.1128/AEM.06284-11.
- [35] H. Palza, “Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 1. 2015, doi: 10.3390/ijms16012099.
- [36] C. Weiss et al., “Toward Nanotechnology-Enabled Approaches against the COVID-19 Pandemic,” *ACS Nano*, vol. 14, no. 6, pp. 6383–6406, Jun. 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c03697.
- [37] M. K. Ahmed, M. Afifi, and V. Uskokovic, “Protecting healthcare workers during COVID-19 pandemic with nanotechnology: A protocol for a New device from Egypt,” *J. Infect. Public Health*, vol. 13, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.015.
- [38] E.-L. Marcus, H. Yosef, G. Borkow, Y. Caine, A. Sasson, and A. E. Moses, “Reduction of health care–associated infection indicators by copper oxide–impregnated textiles: Crossover, double-blind controlled study in chronic ventilator-dependent patients,” *Am. J. Infect. Control*, vol. 45, no. 4, pp. 401–403, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.11.022>.
- [39] A. Lazary et al., “Reduction of healthcare-associated infections in a long-term care brain injury ward by replacing regular linens with biocidal copper oxide impregnated linens,” *Int. J. Infect. Dis.*, vol. 24, pp. 23–29, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.01.022>.

- [40] A. L. P., T. Ranee, and S. A. H., “The Use of Copper as an Antimicrobial Agent in Health Care, Including Obstetrics and Gynecology,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 32, no. 4, pp. e00125-18, Dec. 2021, doi: 10.1128/CMR.00125-18.
- [41] . L. Warnes, V. Caves, and C. W. Keevil, “Mechanism of copper surface toxicity in *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* involves immediate membrane depolarization followed by slower rate of DNA destruction which differs from that observed for Gram-positive bacteria,” *Environ. Microbiol.*, vol. 14, no. 7, pp. 1730–1743, Jul. 2012, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02677.x>.
- [42] E. V. R. Campos et al., “How can nanotechnology help to combat COVID-19? Opportunities and urgent need,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 18, no. 1, p. 125, 2020, doi: 10.1186/s12951-020-00685-4.
- [43] B. S. Gupta and A. K. Moghe, “2- Nanofiber structures for medical biotextiles,” in *Woodhead Publishing Series in Textiles*, M. W. King, B. S. Gupta, and R. B. T.-B. as M. I. Guidoin, Eds. Woodhead Publishing, 2013, pp. 48–90.
- [44] M. Bognitzki et al., “Nanostructured Fibers via Electrospinning,” *Adv. Mater.*, vol. 13, no. 1, pp. 70–72, Jan. 2001, doi: [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200101\)13:1<70::AID-ADMA70>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200101)13:1<70::AID-ADMA70>3.0.CO;2-H).
- [45] M. J. John and S. Thomas, “Biofibres and biocomposites,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 71, no. 3, pp. 343–364, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.040>.
- [46] N. Can, M.S.Ersoy, “Nanolif yapıları polimerik doku iskeleleri”, *Tekstil ve Mühendis*, 2014, Vol. 21, No. 95, pp. 38-50, DOI: <https://doi.org/10.7216/130075992014219505>
- [47] Formhals A., (1934), “Process and apparatus for preparing artificial threads”, US patent, 1,975,504. 23 Mart 1934'
- [48] C.L. Norton, “Method of and apparatus for producing fibrous or filamentary material.” US patent, 2,048,651. (1936).
- [49] A. H. Hekmati, A. Rashidi, R. Ghazisaeidi, and J.-Y. Dreon, “Effect of needle length, electrospinning distance, and solution concentration on morphological properties of polyamide-6 electrospun nanowebs,” *Text. Res. J.*, vol. 83, no. 14, pp. 1452–1466, Jan. 2013, doi: 10.1177/0040517512471746.

- [50] T.Uyar, “Dış kompozit malzeme mekanik özelliklerinin nanofiber tasarımıyla geliştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü., Hacettepe Univ., Ankara, Türkiye, 2012.
- [51] G.Süpüren, T.Kırcı, Z.E.Kanat, A.Çay, T.Gülümser, I.Tarakcıoğlu, “ Nanolifler Bölüm 2”, Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi, No. 2007/1, pp: 83-89
- [52] M. S. Islam, B. C. Ang, A. Andriyana, and A. M. Afifi, “A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications,” SN Appl. Sci., vol. 1, no. 10, p. 1248, 2019, doi: 10.1007/s42452-019-1288-4.
- [53] J.-G. Zhang and X.-M. Mo, “Current research on electrospinning of silk fibroin and its blends with natural and synthetic biodegradable polymers,” Front. Mater. Sci., vol. 7, no. 2, pp. 129–142, 2013, doi: 10.1007/s11706-013-0206-8.
- [54] C.-M. Hsu and S. Shivkumar, “N, N-Dimethylformamide Additions to the Solution for the Electrospinning of Poly(ϵ -caprolactone) Nanofibers,” Macromol. Mater. Eng., vol. 289, no. 4, pp. 334–340, Apr. 2004, doi: <https://doi.org/10.1002/mame.200300224>.
- [55] H.Gergeroğlu, “Çevre Dostu ve Doğal Bileşenler İçeren Antibakteriyel Nano Lif ve Yara İyileştirici Örtü Eldesi”, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü., Eskişehir Osmangazi Univ., Eskişehir, Türkiye, 2017.
- [56] H. A.K. and M. Akbari, “Trends in electrospinning of natural nanofibers,” Phys. status solidi, vol. 204, pp. 1830–1834, Jun. 2007, doi: 10.1002/pssa.200675301.
- [57] X. Yuan, Y. Zhang, C. Dong, and J. Sheng, “Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning,” Polym. Int., vol. 53, no. 11, pp. 1704–1710, Nov. 2004, doi: <https://doi.org/10.1002/pi.1538>.
- [58] I.M.El-Nahhal, S.M.Zourab, F.S.Kodeh, M.Selmane, I.Genois, F.Babonneau, “Nanostructured copper oxide-cotton fibers: synthesis, characterization, and applications”, International Nano Letters. 2,1,14, 2012, DOI: <https://doi.org/10.1186/2228-5326-2-14>.
- [59] C. L. Casper, J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase, and J. F. Rabolt, “Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process,” Macromolecules, vol. 37, no. 2, pp. 573–578, Jan. 2004, doi: 10.1021/ma0351975.

- [60] T. P. Nguyen et al., “Silk Fibroin-Based Biomaterials for Biomedical Applications: A Review,” *Polymers*, vol. 11, no. 12. 2019, doi: 10.3390/polym11121933.
- [61] C. Vepari and D. L. Kaplan, “Silk as a biomaterial,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 8, pp. 991–1007, 2007, doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.013>.
- [62] J. Ayutsede, “Regeneration of bombyx mori silk nanofibers and nanocomposite fibrils by the electrospinning process,” Jan. 2005.
- [63] E.Yalçın, “Sulardan ağır metal giderimi için nanofibriler filtrelerin hazırlanması ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü., Hacettepe Univ., Ankara, Türkiye, 2012.
- [64] P. Taddei, P. Monti, G. Freddi, T. Arai, and M. Tsukada, “IR study on the binding mode of metal cations to chemically modified Bombyx mori and Tussah silk fibres,” *J. Mol. Struct.*, vol. 651–653, pp. 433–441, 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(02\)00663-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(02)00663-4).
- [65] A.Engin, “Ağır metallerin sulu ortamdan uzaklaştırılması amacıyla kalsiyum fosfat bileşiklerinin sentezlenmesi, tanımlanması ve kullanım kapasitelerinin belirlenmesi”, Doktora Tezi, Hacettepe Univ., Ankara, Türkiye, 2006.
- [66] D.Misra, R.Bowen, “Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues. X. Initial rates of adsorption of nickel or copper ions on hydroxyapatite surface”, *J Biomed Mater Res.* 12(4):505-15, July, 1978, doi: 10.1002/jbm.820120405. PMID: 355256.
- [67] J. Klockgether and B. Tümmler, “Recent advances in understanding *Pseudomonas aeruginosa* as a pathogen,” *F1000Research*, vol. 6, p. 1261, Jul. 2017, doi: 10.12688/f1000research.10506.1.
- [68] Wikipedia, “*Pseudomonas aeruginosa*”, https://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa#Patojenli%C4%9Fi
- [69] Y.Bilgin, “*Escherichiae Coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Acinetobacter Baumannii* ve *Staphylococcus Aureus* suşlarında çeşitli aminoglikozidlerin duyarlılıklarının araştırılması”, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.
- [70] Wikipedia, “*Klebsiella pneumoniae*”, https://en.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae

- [71] Wikipedia,” *Micrococcus_luteus*”, https://en.wikipedia.org/wiki/Micrococcus_luteus
- [72] K.Wei, Y.Li, K.Kim, Y.Nakagawa, B.Kim, K.Abe, G.Chen, I.Kim, “Fabrication of nano-hydroxyapatite on electrospun silk fibroin nanofiber and their effects in osteoblastic behavior”, *Journal of biomedical materials research, Part A*, 97(3), 272–280, June,2011, DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33054>.
- [73] L.E.Roman, E.D.Gomez, J.L.Solis, M.M.Gomez, “Antibacterial Cotton Fabric Functionalized with Copper Oxide Nanoparticles”, *Molecules*, 25 (24), 5802, December 2020, DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25245802>



