



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**SIĞIRKUYRUĞU OTU (*VERBASCUM SP*) YAPRAKLARINDAN
ESİNLENEREK KİTOSAN TEMELLİ SÜPER HİDROFOBİK
FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

DOKTORA TEZİ

İVAN AL-JAF

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat KAYA

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 192362801 numaralı Doktora öğrencisi **İvan AL-JAF** tarafından hazırlanan “**SIĞIRKUYRUĞU OTU (VERBASCUM SP) YAPRAKLARINDAN ESİNLENEREK KİTOSAN TEMELLİ SÜPER HİDROFOBİK FİLM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

İstanbul Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Lalehan AKYÜZ

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Cemil İŞLEK

Niğde Ömer Halis Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Osman SEYYAR

Niğde Ömer Halis Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN YEŞİLDAL

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 28/12/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduđum bu çalıřmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı dűőecek bir yol ve yardıma bařvurmaksızın yazdıđımı, yararlandıđım eserlerin kaynakçada gűőterilenlerden olduđuunu, çalıřmamda kullandıđım verilerin orijinalliđini ve her tűrlű intihalden uzak olduđuunu beyan ederim.

Enstitű tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tűm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

İvan AL-JAF



TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her aşamasında katkılarını esirgemeyen, bilgi birikimini benimle paylaşan, bilimsel vizyon kazandırarak kendimi geliştirmemi hep destekleyen danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Murat KAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez İzleme Komitemde yer alan, Yüksek lisans ve doktora sürecimde bana hep yol gösteren, bilgi birikimini paylaşan, tüm sorularımı cevapsız bırakmayan sevgili hocam Doç. Dr. Lalehan AKYÜZ'e teşekkür ederim. Tez İzleme Komitemin bir diğer üyesi saygıdeğer hocam Doç. Dr. Cemil İŞLEK'e yapmış olduğu yönlendirmeler için teşekkür ederim. Tez Savunma Jürimde yer alan tez çalışmama farklı bir vizyon katan, bilgi birikimi ve yönlendirmesiyle bana her türlü desteği veren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Osman Seyyar'a en içten teşekkür ederim. Tez Savunma Jürimin bir diğer üyesi değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN YEŞİLDAL'a yardımları ve manevi desteği için teşekkür ederim. Ayrıca, akademik yolculuğum sırasında değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN YEŞİLDAL'a yardımları ve manevi desteği için teşekkür ederim.

Doktora sürecimiz boyunca birbirimizden desteklerimizi esirgemediğimiz, bilgilerimizi paylaştığımız, zorluklarla birlikte baş etmeye çalıştığımız arkadaşlarım Behlül KOÇ BİLİCAN, Ako HAMMASAİD, Raja UMRAN ve Betül AKTAŞ'a teşekkür ederim. Özellikle akademik yolculuğum boyunca bana destek ve cesaret veren Bahar AKYÜZ YILMAZ'a özel bir teşekkür etmek istiyorum. Dostluğu benim için bir güç ve motivasyon kaynağı olduğu için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bu günlere gelmemi sağlayan annem, babam ve kardeşlerime çok teşekkür ederim. Ayrıca babam Mohammed Mahmood'a bana olan inancı ve yaptığı fedakarlıklar, akademik hedeflerimi başarı ile sonuçlandırmamı sağladığı için teşekkür ederim.

Tüm süreçlerde desteğini hep kalbimde hissettiğim, uzak mesafelere rağmen hep yanımda olan, onun varlığıyla güç aldığım sevgili biricik kızım Sivan AL-JAF'a teşekkür ederim

Bu uzun süreçte akademik ve kişisel gelişimime katkıda bulunan herkese teşekkür etmek istiyorum. Türkiye, benim için ikinci bir ev haline geldi ve burada aldığım destek paha biçilmezdi.

Son olarak, bu tezi çok yıllar önce aramızdan ayrılan ve umarım bu çalışma onun mirasına layık olur diye geçmişte kaybettiğim annem Thuraya Najmuddin'e adıyorum. Ayrıca, annelikten öte bir rol üstlenen geçmişte kaybettiğim büyükannem Amina Ahmed'e de bu tezi adıyorum. Onun etkisi sayesinde bu noktaya ulaşabilmem için geçen uzun yıllar boyunca başarımın arkasındaki itici güç oldu.

İvan AL-JAF

AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vvi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	12
3.1 Örneklerin ve Kimyasalların Temin Edilmesi.....	12
3.2 Kullanılan Malzemelerin İzolasyonu.....	12
3.3 Kitosan jelinin hazırlanması ve bazı süperhidrofobik film üretimi.....	14
3.4 Fizikokimyasal Karakterizasyonu.....	16
3.4.1 Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi analizi (FT-IR)	16
3.4.2 Termogravimetrik analiz (TGA).....	16
3.4.3 Taramalı elektron mikroskobu analizi (SEM)	17
3.4.4 X-Işını kırınım ölçümü analizi (XRD).....	17
3.4.5 Element analizi	18
3.4.6 Su Temas Açısı	18
3.5 Sitotoksite Analizi.....	19
3.5.1 Hücre kültürü bakımı	19
3.5.2 MTT Testi	19
3.6 Hemostatik Analiz	20
3.6.1 Kan uyumluluk testi.....	20
3.6.2 Hemoliz tahlil testi.....	20
3.6.3 Kan pıhtısı oluşumu	21
3.6.4 Tam kan pıhtılaşma indeksi (WBCT) testleri	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	23
4.1. FTIR karakterizasyonu.....	23
4.2 Termal karakterizasyonu.....	26
4.3 SEM karakterizasyonu.....	28
4.4 XRD karakterizasyonu.....	30
4.5. Element Analizi.....	32
4.6. Su Temas Açısı.....	32
4.7. Hücre bağlanma ve sitotoksite analizi.....	33
4.8. Hemostatik Analizi.....	35
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ.....	46

DOKTORA TEZİ
SIĞIRKUYRUĞU OTU (VERBASCUM SP) YAPRAKLARINDAN
ESİNLENEREK KİTOSAN TEMELLİ SÜPER HİDROFOBİK FİLM
ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

İvan AL-JAF

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

ÖZET

Doğa, sayılması zor, yüksek ve benzersiz özelliklere sahip çok sayıda bitki ve hayvan içeriğini barındırdığı için yüksek hassasiyetle çizilmiş bir tablo olarak tanımlanabilir. Scrophulariaceae suya çok dayanıklı bitkilerden biridir ve bu familyaya ait 360 kadar çiçekli bitki türü ile *Verbascum* L cinsini içerir. Doğal yüzeylerin süperhidrofobik özellikleri, yüzeydeki hiyerarşik mikro ölçekli ($> 1 \mu\text{m}$) ve nano ölçekli (tipik olarak 200 nm'nin altında) yapıların varlığına atfedilir. Sonuç olarak, sentetik süperhidrofobik yüzeylerin üretiminde topografik bir hiyerarşi genellikle gereklidir. Bu çalışmada *Verbascum* kıllarının suya karşı aşırı dayanıklılık özelliğine sahip kitosan bazlı kompozit membranlar üretmek için kullanımını kısaca tanıtılmaktadır. Üretilen filmlerin FT-IR, SEM, TGA, Hemostatik Analiz, Mtt gibi analizleri yapılmıştır. Ek olarak, kitosan filmlerine hiyerarşik tüylerin dahil edilmesi şeffaflığı ortadan kaldırmış ve yüksek su direnci özellikleriyle birlikte iyi termal özellikler göstermiştir. Bu sonuçlar kitosan filmlerin çeşitli endüstriyel ve inşaat alanlarında yüzey kaplama teknolojisini geliştirebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: kitosan, *Verbascum*, bitki tüyü, süper hidrofolik yüzey, film

Aralık, 2023; 57 sayfa

Ph.D. THESIS

**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN-BASED
SUPERHYDROPHOBIC FILM INSPIRED BY THE LEAVES OF
VERBASCUM SP.**

İvan AL-JAF

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology**

Supervisor: Prof. Dr. Murat KAYA

ABSTRACT

Nature can be described as a painting drawn with high precision, as it contains a lot of plant and animal content with high and unique characteristics that are difficult to count. Scrophulariaceae is one of the plants that are very resistant to water, and it includes the genus Verbascum L, with about 360 species of flowering plants of this family. The superhydrophobic properties of natural surfaces have been attributed to the presence of hierarchical microscale ($> 1 \mu\text{m}$) and nanoscale (typically below 200 nm) structures on the surface. As a result, a topographical hierarchy is usually essential in fabricating synthetic superhydrophobic surfaces. This review briefly introduces the use of Verbascum hairs to produce kitosan-based membranes/composite membranes with specific properties (extreme water resistance, self-cleaning, antioxidant and antimicrobial activity, excellent mechanical strength, good barrier properties, etc.). Analyzes such as FT-IR, SEM, TGA, Hemostatic analysis, Mtt, etc., have been conducted. In addition, incorporating hierarchical haire into kitosan films has erased transparency and showed good thermal properties with high water resistance properties. These indicate that kitosan films can improve surface coating technology in various industrial and construction fields.

Keywords: Biomaterials, Tissue Engineering, Heavy Metal Removal, Scaffold Design.

December, 2023; 57 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. (a) Bütün bitki parçaları, (b) Verbascum'un tüylü yaprakları, (c) Verbascum'un tüyleri	13
Şekil 3.2. Süperhidrofobik film üretimine dayalı kitosan jelinin hazırlanmasının şematik gösterimi	14
Şekil 3.3. Verbascum bitkisinin şematik gösterimi (a), elektron mikroskobu altında Verbascum yaprağı (b), Verbascum tüylerinin SEM görüntüsü (c), kitosan kontrol filminin SEM görüntüsü (d, e, f), 100 mg Verbascum tüyleri içeren kitosan filminin SEM görüntüsü (g, h, i) ve 200 mg verbascum tüyleri içeren kitosan filmin SEM görüntüsü(j, k, l)..	15
Şekil 4.1. FT-IR spektrumları; kitosan kontrol filmi, Verbascum tüyleri, içinde 100 mg Verbascum tüyler kitosan filmi ve içinde 200 mg Verbascum tüyleri bulunan kitosan filmi olarak sıralanmıştır.....	25
Şekil 4.2. Verbascum tüyleri, kitosan kontrol filmi, 100 mg Verbascum tüyleri içeren kitosan filmi ve 200 mg Verbascum saçları içeren kitosan filmi TGA termogramları.....	27
Şekil 4.3. SEM fotoğrafları a, b) Verbascum tüylri c, d) Kitosan-kontrol filmi, e, f) CVH 100 mg VE g, h) CVH 200 mg.	29
Şekil 4.4. Verbascum Tüyleri, 100 mg Verbascum tüyleri içeren kitosan film, 200 mg Verbascum tüyleri içeren kitosan film ve Kitosan Kontrol Film XRD diyagramı.	31
Şekil 4.5. A. verbascum tüyleri, B. kitosan-kontrol filmi, C. kitosan filmi 100 mg verbascum tüyleri içerir ve D. kitosan filmi 200 mg verbaskum tüyleri içerir.	33
Şekil 4.6. A. kitosan-kontrol filmi, B. verbascum tüyleri, C. kitosan filmi 100 mg verbascum tüyleri içerir ve D. kitosan filmi 200 mg verbaskum tüyleri içerir... ..	34
Şekil 4.7. (a) Örneklerle karşılaştırıldığında negatif ve pozitif kontrolün hematolojik uyumluluk yüzdesi, (b) referans kontrolle karşılaştırıldığında kontrol filmi, Verbascum saçı, CFVH 100mg ve CFVH 200mg'nin hemoliz oranı. (c) in vitro sitratlı kan kullanılarak BCI formunda kan pıhtılaşması ölçümü. BCI azaldıkça kanın pıhtılaşması artar ve bunun tersi de geçerlidir. (d) Kanla inkübe edilen numunelerin taze hemolize kan verimliliğinin grafiksel gösterimi.....	36
Şekil 4.8. SEM fotoğrafları a, b) Verbascum tüylri c, d) Kitosan-kontrol filmi, e, f) CVH 100 mg ve g, h) CVH 200 mg.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 4.1. CC, CVH 100 MG, CVH 200 mg ve <i>Verbascum</i> sp. saçının Azot (N), Karbon (C) ve Hidrojen (H) içeriği.....	32
--	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

¹³CNMR	Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
BCI	Kan Pıhtı İndeksi
C	Karbon
CC	Ktosan kontrol
CVH	Kitosan-Verbascum tüyleri film
CO₂	Karbondioksit
DA	Asetilasyon Derecesi
DMEM	Dulbecco'nun değiştirilmiş Eagle ortamı
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPBS	Dulbecco'nun değiştirilmiş Fosfat tamponlu salini
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
DTG_{max}	Maksimum Bozulma Sıcaklığı
E.C.	Enzim Numarası
EDX	Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
ESI-MS	Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresi
FBS	Fetal sığır serumu
FESEM	Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu
FHB	Hemolizli taze kan
dH₂O	Saf Su
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
H₂O	Su
HCl	Hidroklorik Asit
MH	Mueller-Hinton
MKH	Mezenkimal Kök Hücre
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
N	Azot
NaOH	Sodyum Hidroksit
Nm	Nanometre
OD	Optik yoğunluk
PBS	Fosfat tamponlu salin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	Termogravimetrik Analiz
TIPS	Termal Olarak İndüklenen Faz Ayırma Tekniği
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole Görünür Spektroskopi
WBCT	Tam kan pıhtılaşma indeksi testleri
XRD	X-Işını Difraksiyonu
I_{am}	Amorf zirve
I₁₁₀	Maksimum yoğunluk
g	Gram
M	Azı dişleri
mg	Miligram
mL	Mililitre
µg	Mikrogram
nm	Nanometre
pH	Hidrojen Potansiyeli
rpm	Dakikada Devir

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
3D	Üç Boyutlu
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama



1. GİRİŞ

Doğada çok sayıda süper hidrofobik ve kendi kendini temizleyen doğal yüzeyler bulunmaktadır. Bu doğal malzemelerin çoğu, nilüfer yaprakları ve kelebek kanatları gibi doğadan ilham alan gizemli yapılardır (Ma vd., 2006). Temas açısı, eğim açısı, kayma konumu sensörleri ve çok renkli kalınlık sensörleri gibi yüzey süperhidrofobikliğini karakterize etmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Yüzeylerin ıslanabilirliğinin kontrol edilmesi, yüzey topoğrafyası ve yüzey kimyasal bileşimlerinin uyarlanmasıyla ilgi gören önemli bir konudur. Islaklık genellikle yüksek düzeyde hidrofobik yüzeyleri tanımlamanın birincil yöntemi olan temas açısının ölçülmesiyle belirlenmektedir (Guo vd., 2011). Temas açısı (q) < 90 olduğunda yüzey hidrofiliktir, ancak temas açısı (q) > 90 olduğunda yüzey hidrofobiktir (Zhang vd., 2008). Yüksek derecede hidrofobik malzemeler, korozyon ve donma direnci, antimikrobiyal kaplamalar, mikroakışkanlar, tekstiller, yağ-su ayrımı, tuzdan arındırma/su arıtma, optik cihazlar, sensörler, biyotıp, piller ve katalizörler gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir (Zeng vd., 2021; Falde vd., 2016; Erbil vd., 2020). Doğa, bilim insanları için çoğu zaman hidrofobik malzemelerin üretimine ilham vermektedir (Ghasemlou vd., 2019).

Binlerce yıldır saflığın sembolü olan lotus yaprağı, suya karşı üstün dayanıklılık ve kendi kendini temizleme özelliğiyle ön plana çıkmaktadır. Bu alanda birçok çalışma yapılmıştır (Wang vd., 2014). Lotus yaprağı yüzeyinin elektron mikroskop görüntüsüne bakıldığında 20 ila 40 μm aralıklarla belirgin çıkıntılar bulunmaktadır. Ve bu çıkıntılar küçük ölçekli epitaksiyel balmumu kristalleri ile kaplanmış, yalnızca -C-H ve -C-O içermektedir. Bu sayede yüksek su direnci ve kendi kendini temizleme özelliğine sahip olmakta ve buna literatürde "lotus etkisi" denilmektedir. Bu hidrofobik özelliği sağlayan yapılar bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır (Wang vd., 2014).

Scrophulariaceae, çoğu parlak renkli çiçekler üreten, 200'den fazla cins ve yaklaşık 2.500 türden oluşan dayanıklı bir bitkidir. Genellikle ılıman ve subtropikal bölgelerde yetişmektedir. Bu Familya grubu Mimulus, Penstemon, Digitalis, Veronica ve Verbascum'dan oluşur. Bu ailenin bazı cinsleri etkili ve iyi tıbbi özellikleriyle bilinmektedir. Balgam söktürücü ve müshil özelliklerinden dolayı, geleneksel tıpta

bronşit, kuru öksürük, boğmaca, tüberküloz ve astım gibi solunum problemlerinin tedavisinde sığırkuyruğunun tıbbi kullanımına ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yaprakları, kökleri ve çiçekleri yatıştırıcı, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Çiçekler idrar söktürücüdür ve idrar yolu üzerinde sakinleştirici ve iltihap önleyici etkisi bulunmaktadır. Yapraklar idrar yolu iltihabının azaltılır ve asidik idrarın tahriş edici etkisini azaltmaya yardımcı olmaktadır (Türker vd., 2005). Literatüre bakıldığında *Verbascum sp.*'nin farklı kullanım alanları da bulunmaktadır. Bunlar; cilt ve akciğer tedavisinde, gastrointestinal sistem trakeasında, karın ve bağırsak rahatsızlıklarında, enfeksiyon, migren, ateş, yılan ısırıkları, ishal ve akciğer ve bağırsak kanamalarını uyarmak için de kullanılmıştır (Selseleh vd., 2020). *Verbascum L.*, *Scrophulariaceae* familyasında yaklaşık 360 çiçekli bitki türü vardır ve tıbbi kullanımı açısından en büyük ve en önemli yere sahiptir. Anavatanı Asya ve Avrupa'dır. Türkiye'de de yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca Karadeniz bölgesinde (Ordu, Trabzon, Rize, Kuru) özellikle nehir ve orman kenarlarında bol miktarda bulunmaktadır (Georgiev vd., 2011).

Kitosan, selülozdan sonra ikinci en önemli biyopolimerdir. Böceklerin iskeletinde, mantarların ve alglerin hücre duvarında bulunan kitinden ekstrakte edilen doğal bir polisakkarittir. Kitosan çok geniş kullanım alanları tarım, gıda, farmasötik, medikal, tıp, ilaç, kozmetik, filtre membran malzemeler de dahil olmak üzere çeşitli endüstrilerde heyecan ve umut yaratan malzeme olarak dikkat çekmiştir (Sivaselvi vd., 2017; Abdelmalek vd., 2017). Antimikrobiyal, biyouyumlu, antioksidan, toksik olmama, antikanser gibi eşsiz özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca gıda koruma, paketlenme, kan durucu özelliği sayesinde bandaj malzemesi olarak medikal sektörlerinde de yaygın kullanım alanı bulmuştur (Azmana vd., 2021). Gıda ürünlerinin duyuşal özelliklerini geliştirir ve kendine has antimikrobiyal özellikler sergileyerek çekici ve sağlık bilincine sahip sarf malzemeleri üretilmektedir. Sonuç olarak kitosanın yenilebilir kaplama olarak kullanıldığı ürünlerin pazar payında kayda değer bir artış yaşanmıştır (Abdullah vd., 2017). Petrol türevi plastiklerle ilgili mevcut senaryo, çevre ve insan sağlığı açısından önemli kaygılar doğurmaktadır. Bu zorluklara karşı petrol bazlı plastiklerin olumsuz etkilerini azaltmak için tamamen doğal kitosandan yararlanmayı amaçlamaktadır.

Bu, istiridye atıklarından üretilen yüksek derecede hidrofobik bir kitosan filminin oluşturulmasını içerir (Aider vd., 2010; Wang vd., 2020). Bu yenilikçi yaklaşım, kanserojen özellikleriyle bilinen plastiklerin yerini, çevre dostu ve insan sağlığı açısından güvenli, kitosan bazlı bir filmle değiştirilir. Sürdürülebilirlik ve biyo-ilham kavramını daha da ileriye taşıyan bu araştırma projesi, iyi bir şekilde geçirimsiz ve endüstriyel olarak uygulanabilir bir biyomembran geliştirmeyi amaçlanmaktadır. Bu biyofilm, Mullein (*Verbascum sp.*) bitkisinin yaprak tüyleri kullanılarak üretilcek ve film üretiminde organik ve çevre dostu malzemelerin prensipleriyle uyumlu doğaya ilham olan bir çözüm sunacaktır. bu çalışma, çevre dostu malzemelerin yeni bir çağını başlatmayı hedefleyerek kitosan ve Mullein bitkisinin yaprak tüylerini birleştirme amacını taşımaktadır. Bu bütünlükçü ve ileriye dönük yaklaşım, petrol türetilmiş plastiklerin sorunlarını ele almakta ve ürün geliştirmede sürdürülebilirlik, çevre koruma ve insan sağlığının önemini vurgulamaktadır.

Bu mevcut araştırma çalışmasının temel amacı, 1- Hidrofobik özellikleriyle tanınan mullein bitkisinin yaprak yüzeyindeki karmaşık kapiller mikroyapıları özenle çıkarmaktır. 2- Bu mikroyapıların ayrılmasının ardından, kapsamlı bir analitik teknik seti aracılığıyla derinlemesine bir karakterizasyon gerçekleştirilecektir. Bu teknikler arasında Fourier Dönüşü Infrared Spektroskopisi (FTIR), Termo-Gravimetrik Analiz (TGA), Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve optik mikroskoplar bulunmaktadır. Bu karakterizasyon, bu mikroyapıların kimyasal bileşimi, termal stabilitesi ve yapısal özellikleri konusunda derinlemesine bir anlayış elde etmeyi amaçlamaktadır. 3- Bu mikroyapıları süperhidrofobik filmlerin geliştirilmesinde kullanmak planlanmaktadır. Bu, kitosanın Verbascum tüyleri ile birleştirilmesini içerecektir. Amaç, benzersiz mikroyapısal özellikleri kullanarak elde edilen filmlere süperhidrofobik özellik kazandırmaktır. 4- Araştırmanın son aşaması, kapsamlı bir teknik ve parametre seti aracılığıyla oluşturulan süperhidrofobik filmleri nicelendirmeyi ve değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bu nicelendirme, temas açısı ölçüm yöntemleri kullanılarak hidrofobisite derecesini belirleme, örneklerin sitotoksitesini ölçme ve hemostatik analizi açıklama süreçlerini içerecektir. Özetle, bu keşif, kapiller mikroyapıların izolasyonu ile başlar, karakterizasyonlarıyla devam eder, malzeme mühendisliğine geçer ve nihayetinde çeşitli analitik yaklaşımlar kullanılarak bu filmlerin özelliklerini ve performansını değerlendirecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Doğal yüzeylerin su iticiliğini taklit eden süperhidrofobik özelliklere sahip sentetik malzemeler üzerine birçok çalışma rapor edilmiştir. Bu sentetik malzemeler, geniş bir uygulama yelpazesi sergilemiştir, bunlar arasında anticorrosion ve antifriz kaplamalar, antimikrobiyal yüzeyler, mikrofluidik cihazlar, su ve yağ iticiliği artırılmış tekstiller, etkili su tuz giderme ve arıtma teknikleri, yenilikçi optik cihazların geliştirilmesi, çeşitli endüstriler için gelişmiş sensörler ve hatta biyomedisinin tıbbi uygulamalarına entegrasyonu bulunmaktadır (Zeng vd., 2021; Falde vd., 2016; Erbil vd., 2020). Sentetik süperhidrofobik malzemeler üzerine yapılan geniş kapsamlı araştırmalarla paralel olarak, belirli bitki yüzeylerinin doğal hidrofobik özelliklerini keşfetmeye yönelik bir araştırma alanı da bulunmaktadır. Araştırmacılar, bu doğal olarak meydana gelen süperhidrofobik yüzeylerin fiziksel ve kimyasal özellikleri tarafından etkilenmiş ve doğanın bu dikkate değer adaptasyonları nasıl oluşturduğunun sırlarını çözmeyi amaçlamışlardır. Ayrıca, bu doğal yüzeyleri inceleyerek edinilen bilgilerin, heyecan verici teknolojik uygulamalara sahip fonksiyonel biyolojik malzemeler geliştirmek amacıyla uygulanması için bir çaba sarf edilmiştir (Wang vd., 2014). Süperhidrofobik malzemeler ve doğal yüzeyler alanındaki bu zengin araştırmalara rağmen, doğal film endüstrisinde mullein yapraklarının tüyleri üzerine özel çalışmalara olan ihtiyaç ilgi çekici bir boşluğu doldurmuştur. Bu, malzeme bilimi ve film üretimi alanlarında yeni bakış açıları ve uygulamaların ortaya çıkmasına katkıda bulunabilir; böylece yenilikçi çözümleri ortaya çıkarabilir ve doğa ile teknoloji arasındaki etkileşimin anlayışını genişletebilir. Bugüne kadar yapılan çalışmaları kısaca gözden geçirdiğimizde:

Koch vd., 2009'daki araştırmasında, çeşitli bitki türlerinde hidrofobik ve hidrofilik yüzeylerin karmaşık yapısal özellikleri ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. Bu araştırma, bu yüzey özelliklerini ve biyolojik fonksiyonlarını yönlendiren temel mekanizmaları ortaya çıkarmayı amaçlanmıştır. Çalışma, bitkilerin çevreleri ile etkileşimde bulunmak için geliştirdikleri benzersiz adaptasyonlar ve yüzey modifikasyonlarına derinlemesine odaklanmıştır. Yapracağı su kaybını en aza indirgeyerek bitkileri çevresel streslerden koruma görevi gören yaprakların balmumu tabakaları gibi hidrofobik yüzeylerin, bitki büyüme ve canlılığını sürdürmek için su emilimi ve besin alımını kolaylaştıran köklerde bulunan hidrofilik yüzeylerle karşılaştırmalı bir şekilde incelenmiştir. Bu araştırmadan elde edilen bilgi miktarına rağmen, yayın tarihi itibarıyla, bu bilgilerin

biyoteknolojide belirgin veya hemen farkedilir uygulamalarının olmadığı gözlemlenmiştir (Koch vd., 2009).

Shirtcliffe vd. (2009) makalede, araştırmanın odak noktası, dikkat çekici doğal bir fenomeni sergileyen bir bitki grubuna yönelmiştir: yapraklarının olağanüstü süperhidrofobik doğası. Bu çalışmanın temel amacı, bu benzersiz özelliğin temelinde yatan mekanizmalara derinlemesine inmek ve varoluşunun temel nedenlerini ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar, kapsamlı bir inceleme yaparak, bu bitkilerin süperhidrofobik yapraklarından elde ettikleri evrimsel avantajları aydınlatmayı amaçlamıştır (Shirtcliffe vd., 2009).

Webb vd. (2014) yürütülen araştırma, süperhidrofobiklik ve süperhidrofobik olmayan (pseudohydrophobicity) olayları doğada nasıl ortaya çıktığını incelemiştir. Yazarlar, hiyerarşik yüzey pürüzlülüğünün hidrofobik etkinin stabilitesini artırmada kaçınılmaz bir rol oynadığını savunarak, süperhidrofobikliği belirleyen nihai faktörün yüzeyin karmaşık nano yapısında bulunduğunu iddia etmiştir. Araştırma, yüzeyin özel nano yapısal özelliklerinin, her şeyden önce, süperhidrofobik davranışın temel belirleyicileri olduğunu öne sürmüştür (Webb vd., 2014).

Sam vd. (2019) yılında, kapsamlı incelemelerinde, kendini iyileştiren süperhidrofobik yüzeylerin heyecan verici alanına derinlemesine bir giriş yaparak, bu yenilikçi alanın çeşitli yönlerini içeren aydınlatıcı bir keşif sunmuştur. İnceleme, süperhidrofobik yüzeylerin imalat teknikleri, karakterizasyon yöntemleri ve uygulamaları üzerine tartışmaları kapsamıştır. Ayrıca yazarlar, çeşitli imalat yöntemlerini parçalayarak, içeriğinde yer alan karmaşık prosedürleri açıklamışlardır. Bu inceleme, bilginin süperhidrofobik yüzeylerin incelikleri konusunda bilim adamları, araştırmacılar ve uygulayıcılar için önemli bir kaynak olduğunu temsil etmiştir. Genel olarak, inceleme, kendini iyileştiren süperhidrofobik yüzeylerin derinlemesine bir anlayışını sağlamanın yanı sıra, gelecekteki keşif ve yenilik için heyecan verici yolları gösteren çığır açan bir çalışma olmuştur (Sam vd., 2019).

Lotus yaprağı balmumlarının mikro ve nano yapısına, kimyasal bileşimine ve mekanik özelliklerine yönelik bir inceleme, bu özelliklerin diğer rakiplerle karşılaştırıldığında güçlü ve zayıf yönlerini belirlemeyi amaçlamıştır. Makale, süperhidrofobisite ile ilgili çeşitli teorileri ve yöntemleri tanıtır. Bu ilginç fenomenin pratik sonuçlarını ve

uygulamalarını ele alır, özellikle bitkiler ve hayvanlar tarafından suyun itilmesi, temiz kalma ve hatta su altında solunum sağlama amacıyla kullanımını tartışmıştır. Bu yenilikçi gelişmeler malzeme bilimi alanında çeşitli uygulama ve inovasyonlar için umut vadeden olanaklar sunarak yeni perspektifler açılmıştır (Shirtcliffe vd., 2010).

Bu derlemede yazarlar, dikkate değer ultra-hidrofilik özellikleriyle bilinen doğal lotus yapraklarının çeşitli ıslanma özelliklerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Derleme, lotus yapraklarının benzersiz ıslanma özelliklerinin kapsamlı bir genel bakışını sunmanın yanı sıra, bu özelliklerin sentetik malzemelerde taklit edilmesine yönelik çeşitli araştırma çabalarını ayrıntılı bir şekilde incelemiştir. Özellikle yazarlar, lotus yaprağının ilham aldığı çift ölçekli mikro/nano yapıların titiz simülasyonuna daldılar, ultra-hidrofilik yüzeyler geliştirmek için etkileyici bir şablon olarak kullanmışlardır (Latthe vd., 2014).

Darmanin vd. (2015) yılında, gerçekleştirdiği kapsamlı incelemede, odak noktası, olağanüstü su ve yağ direncini sergileme yetenekleriyle ünlü bitkileri ve böcekleri içeren çeşitli organizmalara yerleştirmiştir. Bu benzersiz fenomen, süperhidrofobik ve süperoleofobik özelliklere sahip olmasıyla karakterize edilir ve araştırmacılar ile farklı alanlarda çalışan profesyoneller arasında büyük ilgi uyandırmıştır. İnceleme, bu olağanüstü özellikleri keşfetmeye odaklanarak, çeşitli endüstrilere ve alanlara yayılan çok yönlü uygulamalarını aydınlatmıştır (Darmanin vd., 2015).

Selseleh vd. (2020), on farklı *Verbascum* türünü incelemeye odaklanmıştır. Bu türler arasında *V. cheirantifolium*, *V. erianthum*, *V. macrocarpum*, *V. punalense*, *V. sinuatum*, *V. songaricum*, *V. speciosum*, *V. stachidiforme*, *V. thapsus* ve *V. densiflorum* bulunmuştur. Çalışmanın temel amacı, bu bitki örneklerinde bulunan fitokimyasal özelliklerin ve biyolojik aktivitelerin kapsamlı bir analizini yapmaktır. Ancak, çalışmanın bu bitkilerin çağdaş endüstri sektörlerindeki potansiyel uygulamalarına dair daha fazla bilgi veya içgörü sunması gerektiği önemiştir (Selseleh vd., 2020).

Dülger vd. (2002) yılında, tarafından gerçekleştirilen çalışmada, araştırmacılar *Verbascum* cinsinin üç farklı türünün, yani *Verbascum olympicum* Boiss, *Verbascum prusianum* Boiss ve *Verbascum bombyciferum* Boiss'in antimikrobiyal özelliklerini incelemiştir. Araştırma, bu *Verbascum* türlerinin Gram-pozitif mayalara karşı

antimikrobiyal aktivite sergilediğini, ancak Gram-negatif bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediklerini ortaya koymuştur (Dülger vd., 2002).

Prakash vd. (2019) çalışmasında, temel odak antibakteriyel özelliklerin değerlendirilmesine odaklanmıştı ve bu özellikler *V. thapsus*'un yaprak ekstrelerinden elde edilen özellikle aseton ve metanol ile çıkarılmış olanlar üzerinde incelenmişti. Çalışma, bu ekstrelerin *Escherichia coli*, *Yersinia pestis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi önemli patojen mikroorganizmalara karşı etkinliğini değerlendirmiştir. Bulgular, aseton yaprak ekstresine kıyasla, metanol yaprak ekstresinin bu patojen bakterilere karşı üstün etkinlik gösterdiğini göstermiştir. Bu çalışmanın, bu bitki ekstrelerinin hidrofobik özelliklerine dalmadığını belirtmek önemlidir (Prakash vd., 2019).

Al-Hadithi vd. (2014), *Verbascum* L. cinsine ait polen özellikleriyle ilişkilendirilen taksonomik sonuçları incelemeye odaklanmıştır. Özellikle, ışık ve elektron mikroskopi tekniklerini kullanarak 20 tür üzerinde detaylı bir analiz gerçekleştirmiştir, bu analizler sayesinde polen şekillerindeki ince varyasyonları ayırt etmişlerdir. Mikroskopik analiz, bu 20 *Verbascum* L. türünün doğru bir sınıflandırma temeli oluşturacak kritik sonuçları ortaya çıkarmıştır. çalışma polen tanelerinin fizikokimyasal analizlerini içermemiş ve bu polen tanelerinin çeşitli bağlamlarda potansiyel uygulamalarını keşfetmemiştir (Al-Hadithi vd., 2014).

Luengo vd. (2022) yılında, liderliğinde gerçekleştirilen çığır açıcı bir çalışmada, makyajdan güneş koruyuculara ve losyonlara kadar uzanan bir dizi kozmetik ve cilt bakım ürününde hidrofobik filmlerin rolü vurgulanmıştır. Bu filmler, cilde oldukça etkili su geçirmez bariyerler olarak işlev görerek, neme, terlemeye ve çevresel etkenlere karşı sağlam bir koruma sunmuştur. Bu durum ürünün yapısal bütünlüğünü koruyarak, tutarlı ve dayanıklı performans sağlanmıştır. Bu filmlerin hidrofobik doğası, su ve diğer sıvıların nüfuzunu önlemede kritik bir rol oynar, esasen koruyucu bir kalkan oluşturarak altındaki cildi güvence altına almıştır. Bu inovatif teknoloji, cilt bakımı ve kozmetik ürünlerin dayanıklılığını artırmakla kalmaz, aynı zamanda etkinliklerini korumuştur. Kullanıcılar, hidrofobik filmlerin dayanıklılık ve performans arasında dikkat çekici bir denge sağladığından, bu ürünlerin avantajlarından güvenle faydalanmıştır. Özellikle, bu çalışmanın bu bağlamda önemli

antimikrobiyal veya antioksidan özellik analizlerine girmesi gerekmiştir (Luengo vd., 2022).

Alan vd. (2009) yılında, gerçekleştirdiği çığır açan çalışmada, *Verbascum*'un kapsamlı bir incelemesi yapılmış, morfolojik ve anatomik özelliklerinin karşılaştırmalı bir açıklaması ilk kez gerçekleştirilmiştir. Araştırma, *Verbascum*'un kökleri, gövdeleri ve yapraklarındaki karmaşık anatomik yapıları inceleyerek, bunların özelliklerine dair detaylı bir açıklama sunmuştur. Ayrıca, çalışma, üç farklı *Verbascum* L. türünden elde edilen 12 özüt içinde antioksidan aktiviteyi belirleme ve karakterize etme üzerine genişletilmiştir. Çalışmanın bulguları, bitkinin morfolojik ve anatomik özellikleri konusundaki bilgimizi artırmaya katkıda bulunmuş ve çeşitli *Verbascum* türlerinden elde edilen belirli özütlerdeki antioksidan özellikleri aydınlatmıştır. Bu öncü çalışma, gelecekteki araştırmalara temel oluşturarak *Verbascum*'un antioksidan alanındaki potansiyel uygulamalarını genişletmiştir (Alan vd., 2009).

Guo vd. (2007) araştırma, doğadaki sekiz farklı bitki türünün yapraklarının olağanüstü hidrofilik özelliklerini kapsamlı bir şekilde tanımlamaya ve analiz etmeye yönelmiştir. Araştırma, bu malzemelerin karmaşık özelliklerine dalmak için temas açısı ölçümleri ve taramalı elektron mikroskop (SEM) analizi kullanmıştır. Çalışmanın bulguları, iki baskın yüzey yapısının varlığını ortaya koymuştur. İlk olarak, mikro- ve nanometre ölçekli yapılar tarafından karakterize edilen bir hiyerarşik düzen, ve ikinci olarak, 2007'de Guo ve arkadaşları tarafından yürütülen önemli çalışmalarında açıklandığı gibi nanometre veya hatta sub-nanometre ölçeğe sınırlı tek bir yapıdır. Bu incelikli inceleme, hidrofilik yaprak yüzeylerinin çeşitli ve karmaşık doğasını aydınlatarak, bitki malzeme özelliklerinin geniş anlayışına değerli katkılarda bulunmuştur.

Zhan vd. (2017) yılındaki, çalışmalarının gösterdiği gibi, hidrofobik filmler, özellikle metal, ahşap ve beton gibi çeşitli yüzeylerde etkili bir şekilde kullanılabilir ve temel olarak bu yüzeylerin suya, korozyona ve çevresel bozulmalara karşı direncini artırmayı hedeflemektedir. Bu filmlerin uygulanmasıyla, hedeflenen yüzeylerde koruyucu bir bariyer oluşturarak, su ve çeşitli çevresel faktörlere maruz kalmanın olumsuz etkilerini azaltma amaçlanmıştır. Hidrofobik özelliklerin sağlanması sayesinde, bu filmler çeşitli çevresel faktörlerin neden olduğu korozyon ve bozulmaya karşı koruma sağlamak için gereken su direncine katkıda bulunmuştur. Hidrofobik filmlerin farklı malzemelere

uyum sağlama yeteneği, çeşitli ortamlardaki yüzeylerin ömrünün ve dayanıklılığının artırılmasındaki önemini vurgulamıştır (Zhan vd., 2017).

Lotus yapraklarında gözlemlenen olağanüstü hidrofobik ıslanma özelliği, düşük yüzey enerjili malzemelerle bütünleştirilmiş hiyerarşik mikro ve nano yapıların bir sonucudur. Çığır açan bir gelişme olarak, araştırmacılar öz-yenilenen süper-hidrofobik kaplamalar oluşturmak için yeni bir yöntem ortaya koymuşlardır. Bu devrim niteliğindeki yaklaşım, reaktif fluoroalkil silan özel olarak oluşturulmuş iyileşme ajanlarını içeren kaplamalara, özellikle gözeneklilik ve esnekliğin benzersiz bir kombinasyonunu sergileyen bir özelliğe sahipmiş. Önemli bir şekilde, bu kaplamalar aynı anda hem rijitlik hem de esneklik gösterir ve bu da hidrofobik yüzey mühendislik alanında önemli bir ilerleme olarak kabul edilmiştir (Li vd., 2010).

Venkataraman vd. (2013) çalışmalarında, hidrofobik filmler su kütlelerindeki petrol sızıntılarının çevresel etkilerini azaltmada kilit bir rol oynamıştır. Bu filmler su yüzeyine stratejik olarak yerleştirilebilir ve petrol sızıntılarını etkili bir şekilde sınırlayabilir ve düzeltebilir. Bu filmlerin hidrofobik özellikleri, sadece petrolün su kütleleri içinde yayılmasını önlemekle kalmaz, aynı zamanda çıkarma sürecini kolaylaştırmıştır. Koruyucu bir bariyer oluşturarak, bu filmler dökülen petrolü izole eder ve hapseder, böylece su ekosistemlerine zararlı etkileri daha yönetilebilir hale getirmiştir. Bu yenilikçi yaklaşım, petrol sızıntısı tepkisi ve çevre korumasında önemli bir ilerleme temsil eder ve bu tür olaylar tarafından ortaya çıkan zorluklara yönelik umut vaat eden bir çözüm sunmıştır (Venkataraman vd., 2013).

Abu-Diak vd. (2012) tarafında, gerçekleştirilen araştırma, farmasötik endüstride ilaç kontrollü salımında hidrofobik filmlerin önemli rolünü vurgulamıştır. Bu özel filmler, farmasötik bileşikleri kapsüle almakta ve vücut sıvılarıyla etkileşime girdiğinde kontrollü ve aşamalı bir salımı kolaylaştırmıştır. Bu benzersiz özellik, kontrollü salım mekanizmasının hidrofobik filmlerin ilaç teslimatındaki sofistike bir yaklaşım sağlaması nedeniyle sürdürülebilir bir terapötik etki sağlamıştır. Bu, hastanın sağlığı üzerinde uzun süreli ve optimize edilmiş bir etkiyi garanti altına almıştır (Abu-Diak vd., 2012).

Biyoayrışabilir polimerlerden türetilen hidrofobik filmler, özellikle polilaktik asit (PLA) veya polihidroksialkanoat (PHA) gibi, tarımda bitki örtüsü ve koruma için

değerli araçlar olarak hizmet etmiştir. Mansoor ve ark. (2022) tarafından, belirtildiği üzere, bu filmler toprak nem seviyelerini düzenler, yabancı ot büyümesini kontrol eder ve su buharlaşmasını azaltır. Bu biyoayrışabilir polimerlerin hidrofobik özelliklerinden yararlanarak çiftçiler, tarım uygulamalarının genel verimliliğini ve sürdürülebilirliğini artırmıştır, optimal bitki koşullarını teşvik edebilir ve çevresel etkiyi en aza indirmiştir (Mansoor ve ark., 2022).

Wang vd. (2018) tarafında, açıklandığı üzere, kitosan, selüloz ve protein gibi malzemeler kullanılarak geliştirilen hidrofobik filmler, ambalajları su geçirmez yapmanın yanı sıra biyolojik çözünürlüğü sağlama avantajını sunmıştır. Bu malzemelerin gıda ambalajında kullanılması, çeşitli gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatma konusunda umut verici sonuçlar ortaya koymuştur. Bu etkinlik, filmlerin bariyer olarak görev yapma yeteneğinden kaynaklanmaktadır; nem ve oksijenin geçişini etkili bir şekilde engelleymiştir. Bu elementlerin girişini azaltarak filmler, bozulmayı azaltmada önemli bir rol oynar ve gıda ambalajı için sürdürülebilir ve etkili çözümlerin peşinde önemli bir adımı temsil etmiştir (Wang vd., 2018).

Yu vd. (2023) yılında, %1 ZnO nanopartikül ve %1 stearik asit ekleyerek hidrofobik kitosan filmleri oluşturdu. Bu kombinasyon, dikkate değer 156° su temas açısı ile yüksek derecede hidrofobik bir tabaka üretti. Artan hidrofobiklik, hierarşik mikro/nano yapı ve düşük yüzey enerji modifikasyonunun stearik asit aracılığıyla elde edilen sinerjistik etkilerine bağlanmıştır. Bu araştırma, bu konsantrasyonların kitosan filmlerinin üstün su iticiliği ile şekillendirilmesindeki etkinliğini vurgulamıştır (Yu vd., 2023).

Wang vd. (2022) çalışmada, AZ31 Mg alaşımının korozyon direnci özelliği, basit elektroforetik çökeltme ve kimyasal dönüşüm yöntemleri kullanılarak uygulanan kalsiyum fosfat (Ca-P) ve kitosan (CS) içeren bir kompozit kaplama ile artırılmıştır. Kompozit kaplamaların su temas açısı (WCA) stearik asit ile modifiye edildikten sonra 158.6° 'ye kadar yükselmiştir. Ek olarak, düşük enerji kimyasal dönüşüm ve modifikasyon yöntemi, tek bir yüksek derecede hidrofobik Ca-P kaplamasını sentezleyerek WCA değeri 158.5° olan bir kaplama elde etmiştir (Wang vd., 2022).

Yüksek potansiyele sahip kitosan esaslı kaplamaların modifiye edilmiş işlevselliklere, hassas şeffaflık kontrolüne ve ultra-hidrofobik özelliklere sahip sürdürülebilir bir

yöntem geliştirilmiştir. Modifiye edilmiş kitosan, fizikokimyasal özelliklerini değerlendirerek ve yağ asidi kuyrukları ile işlevsel modifikasyonu doğrularak karakterize edilmiştir. Çökeltme yöntemi, üstün şeffaflık ve hidrofobiklik kaplama özelliklerini ayarlama imkanı sunar ve iyi bir dayanıklılığı sürdürür (Tagliaro vd., 2023).

lotus yapraklarıyla ilgili mikro ve nano yapı, mum kimyasal bileşimi ve mekanik özellikler gibi ilgili özellikleri rakipleriyle karşılaştırmıştır. Lotus yaprağının üst epidermisinin, yapraklarının duyarlı bilişsel yüzeyini mükemmel bir şekilde koruma başarısı elde ettiği belirlenmiştir. Papillaların olağanüstü şekli ve yoğunluğunun, yüzey ile su damlaları arasındaki sığ temas alanının temelinin oluşturduğu ve mumun küçük yapışkan tüplerinin olağanüstü yoğun tabakasının benzersiz kimyasal bileşiminin bir sonucu olduğu açıklanmıştır. Sonuç olarak, papillaların ve mum tüplerinin mekanik dayanıklılığının çeşitli hasarları azalttığı ve su direncinin tamamlanması ve dayanıklılığının temelinin oluşturduğu söylenmiştir (Ensikat vd., 2011).

Bitki yaprak yüzeylerinin genel morfolojisi (tüyler veya çıkıntılar) üzerine birçok çalışma, hidrofobik özelliklere sahipmiştir. Ancak, bu özelliklere sahip olan ve özel fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan hidrofobik tüylerin filmlerin üretiminde veya bunların biyoteknik uygulamalarda nasıl kullanılacağı konusunda spesifik bilgi bulunmamıştır. Bununla birlikte, mevcut çalışmada, mum yapıları yerine, kulak kiriğinin (*Verbascum* sp.) yapraklarında bulunan mikroyapılı tüylerin üstün hidrofobikliği doğrulanacak ve tamamen biyobazlı kitosan kullanılarak bir doğal filmde kullanılacak, petrol türetilmiş plastiklerin yan etkilerini önlemek amacıyla süper hidrofobik film üretilecektir.

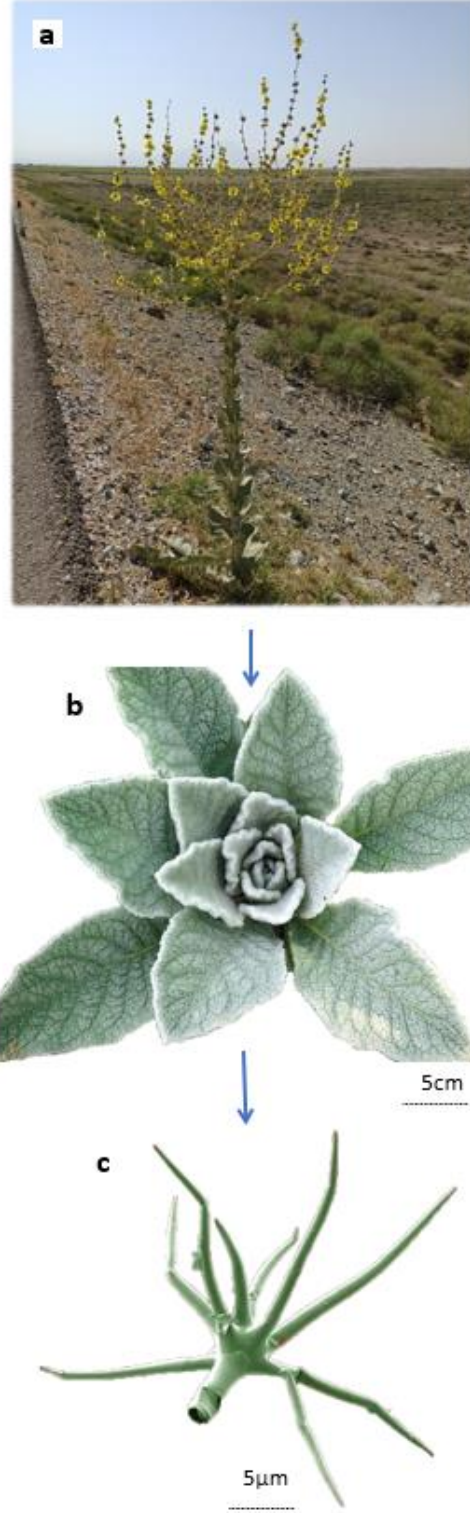
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin ve Kimyasalların Temin Edilmesi

Projede kullanılan *Verbascum* (sığırkuyruğu yaprağı) bitkisi daha önce Aksaray'ın çevresinde temin edilmiş. laboratuvarında bol miktarda mevcuttur. Bu çalışmada *Verbascum* yaprak tüylerinin izole edilmesi için etik bir sorun bulunmamıştır. Tüyler, yaprakların yüzeyinden özenle çıkarılmış ve daha sonra temiz tüplere toplanarak kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Ticari kitosan (yüksek moleküler ağırlık) ve diğer kimyasallar SIGMA ALDRICH'ten (44887750G) temin edilmiştir.

3.2 Kullanılan Malzemelerin İzolasyonu

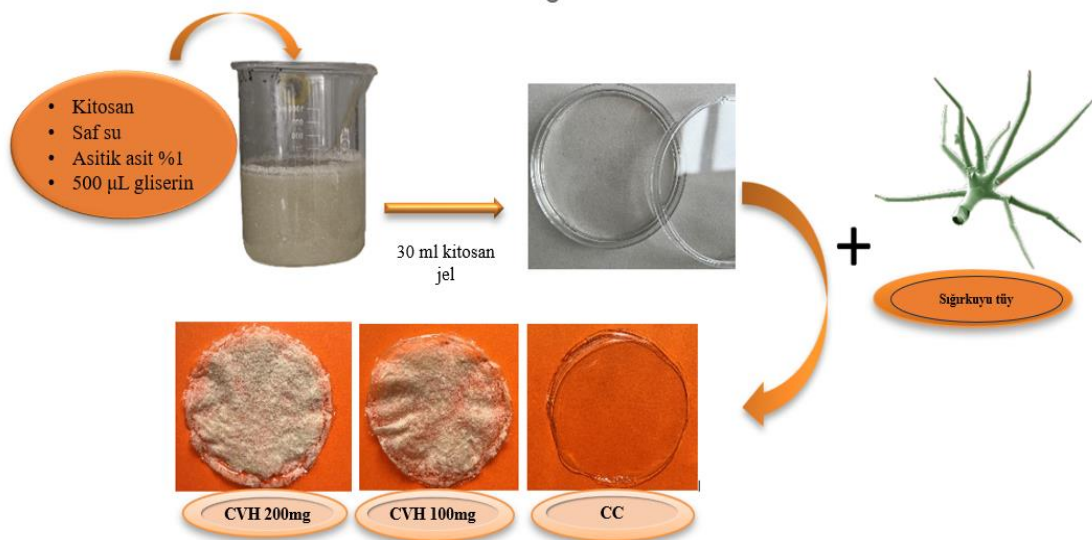
Temmuz 2019 ve Haziran 2021 tarihlerinde Aksaray çevresinde çok sayıda sığırkuyruğu bitkisi yaprağı toplanmıştır. *Verbascum* bitkisinin yapraklarından 800 miligramdan fazla tüy toplandı. *Verbascum* bitkisinin yapısı ve tüyleri Şekil 3.2'te gösterilmiştir. Bu tüyler, yapraklardan ayrılmış ve çevre dokuyu ve kirleri temizlemek için hafif bir mikroskop altında dikkatlice temizlenmiştir. Bu tüyler, doğal film endüstrisinde ve hücre kültürlerinde kullanılmak üzere birçok işleminden geçtikten sonra bir dizi analize tabi tutulmuştur.



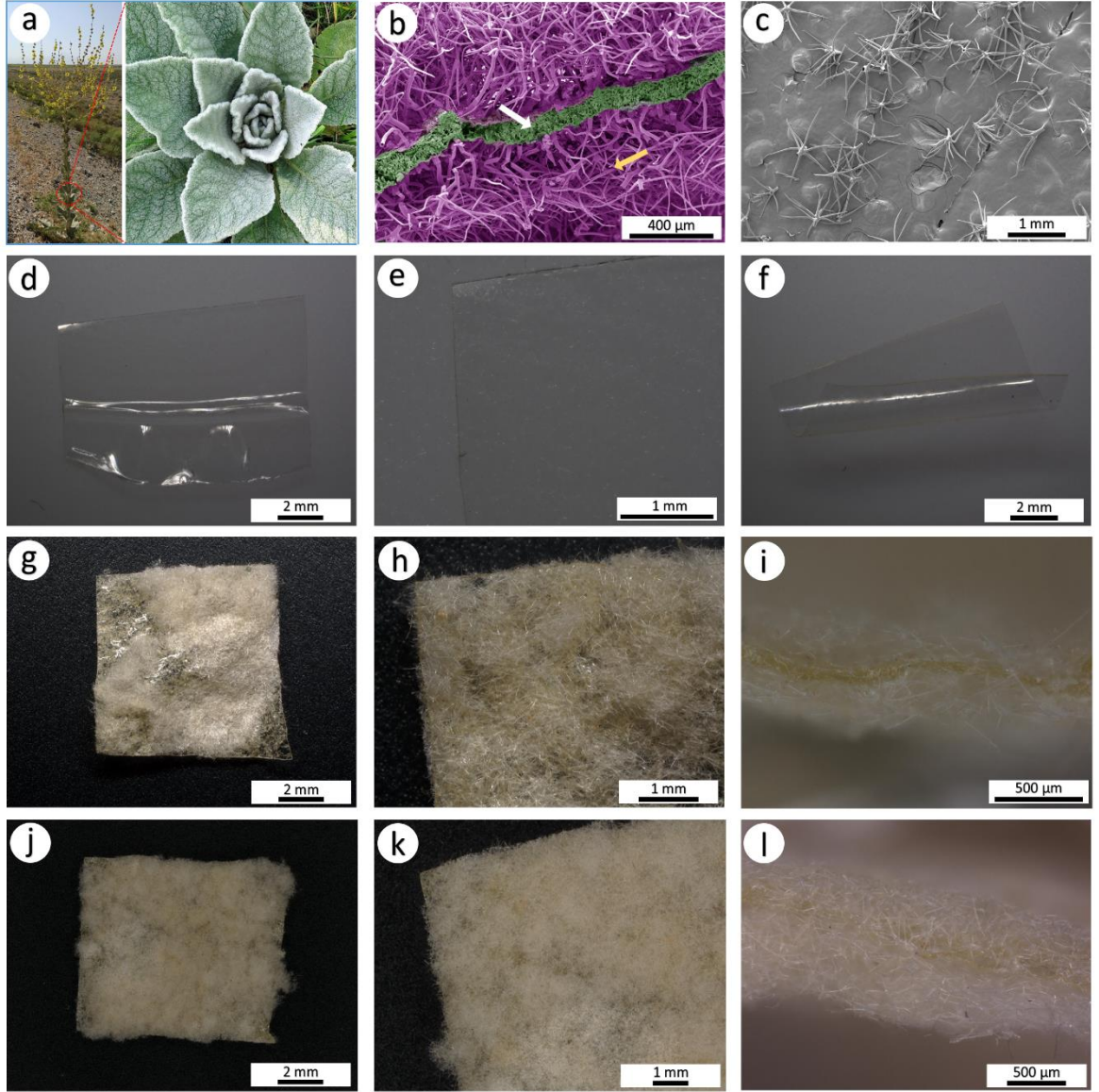
Şekil 3.1. a) Bitkinin bütün parçaları, b) *Verbascum* sp.'nin tüylü yaprakları, c) *Verbascum* sp.'nin tek tüylü yaprakları.

3.3 Kitosan jelinin hazırlanması ve bazı süperhidrofobik film üretimi

yengeç kabuklarından 5 g ticari kitosan alındı ve 500 ml damıtılmış su içerisine konuldu; buna ek olarak 5 ml %1 asetik asit ilave edilmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra çalkalayıcıda oda sıcaklığında 24 saat bekletmiştir. Çözeltiyi karıştırırken tüm kabarcıkların çıkarılmasına özen göstermiştir. Son olarak, çözeltiye 500 µL gliserin (Gliserol %99,5) eklenerek birkaç dakika boyunca iyice karıştırıldı (Şekil 3.2), kitosan jelinin formunu ve kullanılan araçları göstermiştir. Filmler, üç farklı Petri kabına 30 ml kitosan jeli dökülerek hazırlanmıştır: birincisi sadece kitosan jeli içeren bir kontrol, ikincisi yüzeyine eşit şekilde dağılmış 100 mg tüy içeren kitosan jeli, ve üçüncüsü ise 200 mg kitosan jeli içeren. (Şekil 3.2)'de gösterildiği gibi tüyler jelin yüzeyine eşit şekilde dağıtılmıştır. Numuneler oda sıcaklığında birkaç gün boyunca kurumaya bırakıldıktan sonra filmler (CVH 100mg, CVH 200mg) alındı ve her filmin alt yüzeyine ayrı ayrı yumuşak bir fırça kullanılarak 1 ml kitosan jel uygulandı, aynı zamanda tüyler alındı ve hızla üzerine yerleştirmiştir. Daha sonra tekrar kurumaya bırakmıştır. Son olarak, iki süperhidrofobik yüzey filmi, çeşitli fizikokimyasal karakterizasyonlar ve biyoaktivite analizleri için hazırlandı. Tüm numuneler ve bunların kesitleri Şekil (3.3)'de net bir şekilde görülmektedir.



Şekil 3.2. Süperhidrofobik film üretimine dayalı kitosan jelinin hazırlanmasının deha içeren şematik gösterimi.



Şekil 3.3. *Verbascum* sp. bitkisinin şematik temsili (a), *Verbascum* yaprağı (b), SEM ile *Verbascum* yaprağının kesiti (c), SEM ile kitosan kontrol filmi (d, e, f), SEM ile 100 mg *Verbascum* tüy içeren kitosan filmi (g, h, i) ve SEM ile 200 mg *Verbascum* tüy içeren kitosan filmi (j, k, l) şeklinde gösterilmiştir.

3.4 Fizikokimyasal Karakterizasyonu

Süperhidrofobik film örneklerinin ve yapılarına zarar vermeden elde edilen tüylerin karakterizasyonu aşağıdaki analizlerle gerçekleştirilecektir:

3.4.1. FT-IR Analizi

FT-IR spektroskopisi, moleküler titreşimlerle kızılötesi radyasyon etkileşimini kullanarak, incelenen moleküllerde bulunan fonksiyonel gruplar hakkında detaylı bilgi sağlayan güçlü bir analitik tekniktir. Bu gelişmiş cihazı kullanarak, araştırmacılar kimyasal bileşim ve moleküler yapı hakkında değerli bilgiler çıkarmayı amaçlanmıştır. FT-IR, çeşitli örnekleri kapsayan kapsamlı bir analiz yapmak için kullanıldı; bunlar arasında kitosan kontrol filmi (CC), iki farklı konsantrasyondaki kitosan-*Verbascum* tüyleri filmi (CVH) 100 mg ve 200 mg ve *Verbascum* tüyleri bulunmaktaydı. Deneysel prosedür, son teknoloji PerkinElmer FTIR cihazının kullanılmasını içermiştir. İncelenen spektral aralık, 4000 ila 625 cm^{-1} arasındaki dalga sayılarına uzanmaktaydı ve her bir örnek 25 tarama geçirmiştir. Analiz sırasında kapsanan geniş spektral aralık, örneklerdeki çeşitli moleküler titreşimleri ve fonksiyonel grupları incelemeyi sağlamıştır. 4 cm^{-1} 'lik yüksek çözünürlük, analizin hassasiyetini artırır ve ince spektral özelliklerin ayırt edilmesine olanak tanımıştır. Ayrıca, her bir örnek için yapılan 25 tarama, genel sinyal gürültü oranına katkıda bulunarak elde edilen spektraların güvenilirliğini ve doğruluğunu artırmıştır.

3.4.2. TGA Analizi

Termogravimetrik Analiz (TGA), film örneklerinin (CC, CVH 100mg ve CVH 200mg) ve *Verbascum* tüylerin termal karakterizasyonu için kullanılmıştır. Bu analiz, özel olarak Shimadzu DTG-60H TGA cihazı kullanılarak, kontrol edilen bir azot gazı ortamında gerçekleştirilmiştir. Bu analitik teknik, malzemelerin termal davranışının kapsamlı bir şekilde araştırılmasına olanak tanımıştır. Analizin odak noktası, elde edilen iskelelerin termal stabilitesi, su içeriği ve kül içeriğinin belirlenmesini içermiştir. Deneysel prosedür, örnekleri 30°C ila 650°C arasındaki bir sıcaklık aralığında kontrollü bir ısıtma hızı olan 10°C dakikada maruz bırakmayı içermiştir. Bu sistemli ısıtma, malzemeler içinde meydana gelen termal geçişlerin ve bozunma süreçlerinin ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak tanımıştır. TGA analizi sırasında azot gazının kullanılması, oksidasyon ve yanma reaksiyonlarını önlemiştir,

bu da gözlemlenen termal değişikliklerin öncelikle örneklerin içsel özelliklerine, dış faktörlere değil, atfedilmesini sağlamıştır. Bu deneysel düzenle elde edilen TGA verileri, malzemelerin bozunma ve ağırlık kaybı desenleri hakkında içgörüler sunmakta ve termal bozunma profilleri hakkında değerli bilgiler sağlamamıştır. Bu detaylı termal analiz, incelenen iskelelerin termal özelliklerini ve stabilitesini aydınlatmada kilit bir rol oynamıştır. Bu, termal performansın kritik bir faktör olduğu endüstriyel ve biyomedikal amaçlar için malzemeler geliştirme gibi uygulamalarda hayati öneme sahiplenmiştir.

3.4.3. SEM Analizi

Karmaşık üç boyutlu görselleştirmeler elde etmek için güçlü bir araç olarak bilinen SEM, film örneklerinin (CC, CVH 100mg ve CVH 200mg) ve *Verbascum sp.* tüylerin morfolojik karmaşıklıklarını açıklamak için kullanılmıştır. 3D film örnekleri ve tüyleri, son teknoloji Sputter Kaplama cihazını kullanarak titiz bir altın/palladyum kaplama sürecine tabi tutulanmıştır. Görüntüleme çabaları, teknolojik olarak ileri seviyede olan ZEISS LS10 Life Science taramalı elektron mikroskobu tarafından 500X ila 50,000X arasında özel bir büyütme aralığında gerçekleştirmiştir. Bu sofistike enstrüman, elde edilen görüntülerde eşsiz çözünürlük ve netlik elde etmeye yöneliktir, böylece örneklerin mikroyapısının detaylı bir şekilde keşfi mümkün olacakmıdır. Bu kapsamlı yaklaşım, hem filmin hem de tüylerin genel ve özel özelliklerini ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır, bu da karmaşık yapısal özelliklerinin kesin bir anlayışını sağlamıştır. Elde edilen görüntülerin çeşitli büyütmelemlerle hazırlanan kesitsel perspektifleri, bu alandaki bilgiyi önemli ölçüde ilerletmeyi ve malzemelerin nüanslı detaylarına ışık tutmayı beklenmiştir.

3.4.4. XRD Analizi

Bilindięi üzere, biyomalzemelerin kullanım alanlarını etkileyen en kritik parametrelerden biri kristal yapısıdır. Bu, X-ışınlarının her kristal fazın atom matrisine bağlı olarak karakteristik bir sıra içinde kırılma prensibine dayanmaktadır. Bu analiz, film örnekleri ve tüylerin maksimum değerlerini belirleyecektir. Ayrıca, bu piklerin yoğunluğu kullanılarak film örnekleri ve tüylerin % kristallenme oranı hesaplanacaktır. 2 θ 'deki çekilmeler, 5° ile 45° arasında ölçülecekmıdır. Kristallenme hesaplaması için aşığıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{CrI (\%)} = [(I_{110} - I_{\text{am}}) / I_{110}] \times 100 \quad (1)$$

CrI = % kristallenme değeri. $I_{110} = 2\theta = 20^\circ$ 'de maksimum yoğunluk (keyfi birim) değeri.

$I_{\text{am}} = 2\theta = 13^\circ$ 'de amorf pikin maksimum yoğunluk değeri.

3.4.5. Elemental Analizi

EROVECTOR EA 3000 (EUROVECTOR) elemental analizörün gelişmiş analitik yeteneklerinden yararlanılarak, bu yöntem, film örnekleri (CC, CVH 100mg ve CVH 200mg) ve *Verbascum sp.* tüyleri içindeki kükürt, azot ve hidrojenin elementel bileşimini hassas bir şekilde belirlemek üzere sistemli bir şekilde kullanılmıştır. Bu yaklaşım, her bir elementin tam yüzde oranlarını dikkatli ve nicel bir analizle belirlemeyi sağlayarak, incelenen malzemelerin elementel yapısına dair kapsamlı bir anlayış sunmuştur. Son teknoloji EROVECTOR EA 3000 analizörünün kullanımı, element konsantrasyonlarını ölçmede yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlayarak, film örnekleri ve *Verbascum sp.* üzerinde gerçekleştirilen element analizinin güvenilirliğini ve sağlamlığını artırmıştır.

3.4.6. Su Temas Açısı

Film örneklerinin (CC, CVH 100mg ve CVH 200mg) ve *Verbascum sp.* tüylerinin su temas açıları özenle ölçülenmiştir. Islanma ajanı olarak su kullanılarak, her ölçüm en az beş kez titizlikle gerçekleştirilecek, bu da sağlamlık ve güvenilirlik sağlamak amacını taşımaktadır. Serbest yüzey enerjisi, Owens, Wendt, Rabel ve Cable (OWRK) yöntemi uygulanarak değerlendirilenmiştir; bu, ara yüzey bilimi ve temas açısı analizinde iyi bir şekilde kurulmuş bir yaklaşımdır (Kaya vd., 2018). İstatistiksel anlam taşıması için çok kez gerçekleştirilecek olan temas açısı ölçümleri, filmler ve tüyler tarafından sergilenen ıslanma davranışının kapsamlı bir anlayışına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, bu analizin genel amacı, film örnekleri (CC, CVH 100mg ve CVH 200mg) ile *Verbascum sp.* tüylerinin hidrofobiklik, hidrofiliklik veya potansiyel süperhidrofobik doğasını ayırt etmektir. Temas açısı ölçümleri aracılığıyla bu malzemelerin su ile etkileşimini karakterize ederek, bu çalışma, yüzey özelliklerinin anlaşılmasına ve dolayısıyla bu malzemelerin çeşitli bilimsel ve teknolojik bağlamlardaki potansiyel uygulamalarına değerli bilgiler katmayı amaçlanmıştır.

3.5. Sitotoksosite Analizi

Dikkatli bir inceleme sağlamak için ilk adım, örnekleri (CC, CVH 100 mg, CVH 200 mg ve Verbascum saçı) %70 etanol ve UV ışınlama kombinasyonunu kullanarak titiz bir sterilizasyon sürecine tabi tutmuştur. Bu yöntem, sonraki analizlerin bütünlüğünü tehlikeye sokabilecek potansiyel kontaminantları ortadan kaldırmayı amaçlanmıştır. Sitotoksitenin değerlendirmesi, MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) assayı aracılığıyla gerçekleştirilecektir. Hücre metabolik aktivitesini değerlendirmek için değerli bir araç olan bu colorimetric assay, maddelerin hücresel canlılık ve çoğalma üzerindeki etkilerini belirlemede kullanmıştır. Ölçümler, potansiyel sitotoksik etkilerin kapsamlı bir zamansal perspektifini elde etmek amacıyla tam olarak 24, 48 ve 72 saatte bir yapılacaktır. Hücre kültürüne dayalı gerçekleştirilecek olan analizler aşağıda özetlenmiştir.

3.5.1. Hücre Kültürü

L929 (fare fibroblast) hücreleri, Ankara, Türkiye'deki LAW, Sap Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Hücreler, Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamında (%10 fetal sığır serumu (FBS), penisilin (100 ünite/ml) ve streptomisin (100 µg/ml) içeren DMEM) yetiştirilmiştir. MTT analizi için hücre yoğunluğu, her bir kuyuya 1×10^4 hücre/ml olarak ayarlandı ve 96 oyuklu kültür plakalarına ekilmiştir. Kültür plakaları, %5 CO₂ atmosferinde 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. 24 saat sonra, her bir kuyuya önceden sterilize edilmiş biyomalzemeler eklenerek kültürlerin belirtilen inkübasyon süreleri boyunca (24, 48 ve 72 saat) medya değişikliği olmadan inkübe edilmesine izin verilmiştir. Büyüme inhibisyonunu karşılaştırmak amacıyla kontrol hücreleri, tedavi olmadan belirtilen süreler boyunca muhafaza edilmiştir.

3.5.2. MTT yöntemi

Geleneksel MTT testi, örneklerin hücreler üzerindeki sitotoksitesini değerlendirmiştir. Inkübasyon süresi sona erdiğinde, kuyucuklardaki örnekler çıkarıldı, ardından tüm test ve kontrol kuyucuklarına 0,5 mg mL⁻¹ konsantrasyonundaki MTT solüsyonu eklenerek plaklar 37 °C'de 3 saat boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Daha sonra reaksiyon karışımı kuyucuklardan alındı ve formazan kristallerinin çözünmesi için 100 µL DMSO çözeltisi eklenerek 5 dakika

bekletilmiştir. Rengin stabil hale gelmesi için beklemenin ardından absorbanslar 492 nm dalga boyunda ChroMate® ELISA okuyucu kullanılarak ölçülmüştür. Tedavi edilmemiş hücrelerin canlılığı, biyomateryal içermeyen kontrol hücrelerinin canlılığı olarak kabul edildi ve bu değer %100 olarak belirmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi (%) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Canlılık} = ((\text{Abs}_{\text{sample}} - \text{Abs}_{\text{blank}}) / (\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{blank}})) \times 100 \quad (2)$$

3.6. Hemostatik analizi

Hemostatik analiz, kanın pıhtılaşma kapasitesini ve genel hemostatik sistemini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bir dizi laboratuvar testini içeren bir kavramdır. Bu testler, kanama ve pıhtılaşma ile ilişkilendirilmiş bozuklukları değerlendirmek ve teşhis etmek için önemlidir. Hemostatik analiz, sağlık profesyonellerine kandaki prokoagülan (pıhtı oluşumunu destekleyen) ve antikoagülan (pıhtı oluşumunu engelleyen) faktörler arasındaki dengeyi anlama konusunda yardımcı olmuştur (Verissimo vd., 2021).

3.6.1. Kan uyumluluk testi

Örneklerin (*Verbascum sp.* tüyleri, Kitosan kontrol filmi, Kitosan filmi 100 mg *Verbascum sp.* tüyleri ve Kitosan filmi 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri) hematolojik uyumluluğu, ISO 10993-4 protokolüne göre değerlendirmiştir. Antikoagülanlı kan, Dulbecco'nun modifiye Fosfat tamponlu salin (DPBS) ile 4:5 oranında seyreltilerek hazırlandı, ve 1.5 ml'lik Eppendorf tüplerindeki 50 µl seyreltilmiş kana 5 mg numune (tek tek) eklenmiştir. Ardından, tüpe 950 µL DPBS çözeltisi eklenmiş ve 37 °C'de bir saat boyunca inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol, 940 µl fosfat tamponlu salin (PBS), 50 µl seyreltilmiş kan ve 10 µl 1 N HCl çözeltisi eklenerek yapılmıştır. Negatif kontrol olarak DPBS solüsyonunda seyreltilmiş kan hücreleri kullanılmıştır. İnkübasyonun ardından tüm numuneler, 2000 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve süpernatantların absorbansı, bir UV spektrofotometre (Multiskan GO, Thermo Scientific) kullanılarak 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Mishra vd., 2021).

3.6.2 Hemoliz tahlil testi

Hemoliz analiz testini gerçekleştirmek için, 800 ml normal salin (PBS) ile 200 ml taze kan karıştırmıştır. Bu karışım 37 °C'de bir saat boyunca inkübe edilmiştir. Sonrasında

eşit hacimlerde 3 mg içeren örnekler (*Verbascum sp.* tüyleri, Kitosan kontrol filmi, Kitosan filmi 100 mg *Verbascium sp.* tüyleri ve Kitosan filmi 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri) hazırlandı ve bu örnekler belirli tüplere yerleştirmiştir. Kan ve normal salin (PBS) karışımı eşit olarak eklenmiştir. Pozitif kontrol için, 200 ml kan, 800 ml damıtılmış su ile karıştırılarak bir tüp oluşturmuştur. Negatif kontrol için ise ayrı bir tüpe 1000 ml normal salin (PBS) eklenmiştir. Tüm tüpler, örnekleri daha fazla işlemek için 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjasyonun ardından süpernatantların optik yoğunluğu (OD) 540 nm'de ölçüldü. Hemoliz oranı, şu denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Denklem 1):

$$\text{Hemoliz oranı} = [(\text{Örnek OD} - \text{Negatif kontrol OD}) / (\text{Pozitif kontrol OD} - \text{Negatif kontrol OD})] * 100 \quad (3)$$

%5'ten az hemolize sahip örnekler yüksek derecede hematokompatibildir, %5-20 arasındakiler yüksek derecede hemolitiktir ve %20'den büyük hemolize sahip örnekler hemoliz açısından uyumsuzdur (Buriuli ve diğerleri, 2017).

3.6.3. Kan Pıhtı Oluşumu

Verbascum sp. tüyleri, Kitosan kontrol filmi, Kitosan filmi 100 mg *Verbascium vp.* tüyleri ve Kitosan filmi 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren her biri 5 mg örnek, polipropilen tüplere yerleştirildi ve ardından 37°C'de 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İlk inkübasyonun ardından, örneklerin üzerine 200 ml taze kan eklenip, 37°C'de 5 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Örnekler, statik koşullarda 15 ml damıtılmış su ile hafifçe karıştırmıştır. Referans kontrol olarak, 200 ml kan ile 15 ml damıtılmış su karıştırmıştır. Tüm örnekler, 3000 rpm'de 10 dakika boyunca bir santrifüje konuldu. Kan pıhtı oluşumu, serbest hemoglobin fotometrisi kullanılarak belirlenmiştir. Bu hemoglobin, hipotonik bir çözeltide osmotik hidroliz nedeniyle kan pıhtısı içinde hapsolmayan eritrositlerden salınmıştır. Kan Pıhtı İndeksi (BCI), 540 nm dalga boyundaki optik yoğunluk (OD) ölçümlerine dayalı olarak Denklem (2) kullanılarak hesaplanmıştır (Wiegand vd., 2019).

$$\text{Kan Pıhtı İndeksi (BCI)} = (\text{Aktive edilmiş örnek OD} / \text{Referans kontrol OD}) * 100 \quad (4)$$

3.6.4 Whole Blood Clotting Index (WBCT) Testleri

Örneklerin tam pıhtılaşma testleri önceki çalışmalara dayanarak gerçekleştirmiş (Lid., 2020). Antikoagülanlı kan, kan ile %3.8'lik sodyum sitratın 9:1 (v/v) oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Her bir örnek için 5 mg ve antikoagülanlı sitratlı kanın 250 ml'si, 5 ml'lik bir cam şişeye eklenmiştir. Test çözeltisine 0.2 mol CaCl₂'den 2 ml eklenmiş ve 37 °C'de 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Son olarak, örneklerin üzerine yavaşça 7.5 ml damıtılmış su eklenmiş ve 37 °C'de 5 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Örnekler, 2292 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Taze hemolize kan (FHB) kontrol olarak kullanılmış ve bunun için 250 ml taze kanın 7.5 ml damıtılmış su ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Örneklerin optik yoğunluğu (OD), 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. WBCT, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

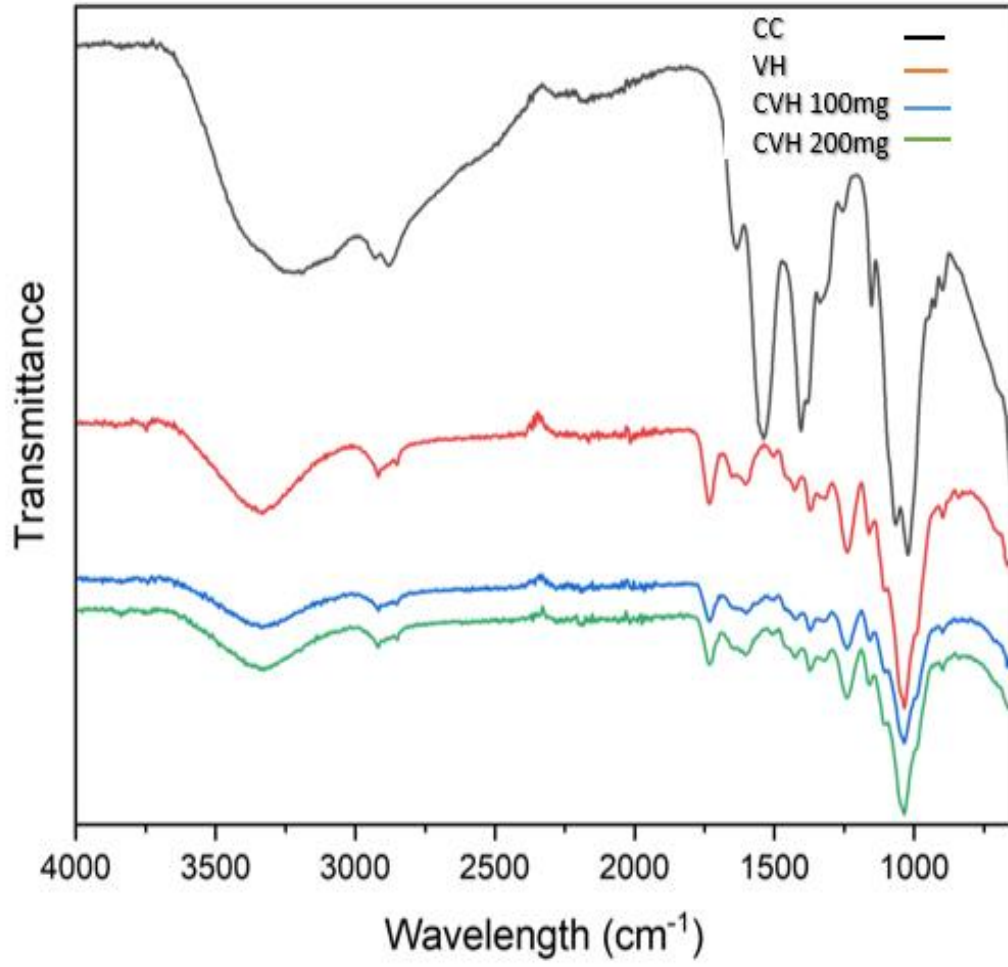
$$BLC = (\text{Örnek OD} / \text{FHB}) * 100 \quad (5)$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. FTIR karakterizasyonu

FTIR spektroskopisi, bir bileşikte belirli fonksiyonel grupların veya kimyasal bağların varlığını belirlemek için yaygın olarak kullanılan güçlü bir analitik araçtır. Her bir özel kimyasal bağ genellikle kendi enerji emilim alanına sahiptir. (Şekil 4.1), kitosan filmlerinin (CC, CVH100 mg ve CVH 200 mg) ve *Verbascum sp.* yaprağı yüzeyinden elde edilen tüylerinin kaydedilen FTIR spektrumlarını göstermiştir. Üç kitosan filmi (CC, CVH100 mg ve CVH 200 mg) ile *Verbascum sp.* tüyleri spektrumlarındaki pikler, dalga boyu ve absorpsiyon yoğunluğunda farklılıklar gösterdi ve önceki literatürle uyumlu bulunmuştur (Pawlak vd., 2003). Kitosan filmlerinin oluşturulmasından sonra, gliserolün film matrisine (kitosan, %1'lik asetik asit çözeltisi ve su) etkisi nedeniyle spektrumlarda bazı farklılıklar gözlemlenmiştir; bu durum, OH bağının genişlemesine ve amid I, II ve III bantlarının yoğunluğunun artmasına neden oldu (Kaya vd., 2018). Kitosan filmlerinin bu titreşimleri, gliserolün CH₂'nin eğriliğinde 1410 cm⁻¹'de bulunmuştur. Kitosan Kontrol filmi spektrumları, 1642.31 cm⁻¹ pozisyonunda belirgin bir pikin karakteristik olduğu şeklinde bazı farklılıklar göstermiştir; bu pik, CVH100 mg filmlerinde 1645.15 cm⁻¹, CVH 200 mg 1649.11 cm⁻¹ ve *Verbascum sp.* tüylerinde 1651.10 cm⁻¹'de daha az belirgin hale geldi ve bu piklerdeki fark, tüylerin kitosan filmi üzerini tamamen kapladığını göstermiştir. Ayrıca, tüyler ve CVH100 mg ile CVH 200 mg filmleri için sırasıyla 1733.73 cm⁻¹, 1731.08 cm⁻¹ ve 1732.53 cm⁻¹ pozisyonunda belirgin bir pik yoğunluğundaki önemli bir artış gözlemlenmiştir; bu, kontrol kitosan filminde bu pozisyonda pik olmamasına kıyasla bir farktır. 3660 ila 2900 cm⁻¹ dalga sayısı aralığındaki pikler, şekerlerin O-H ve C-H bağlarının titreşim genişlemesine özgüdür. *Verbascum* tüyleri için 3333.81 cm⁻¹, CVH 100 mg için 3334.37 cm⁻¹ ve CVH 200 mg için 3324.94 cm⁻¹ pozisyonlarındaki pikler, şekerlerde hidroksil grubunun titreşim genişlemesine özgüdür ve literatürde bildirilen birçok çalışmada olduğu gibi selülozdaki intramoleküler ve intermoleküler hidrojen bağlarının titreşimlerini içermiştir (Rosa vd., 2010) (Poletto vd., 2011). Bu pik aynı zamanda selülozun dalga sayısı aralığında gözlemlenen intramoleküler ve intermoleküler hidrojen bağlarının titreşimlerini içerir (Nycz vd., 2010). Bu spektrumları karşılaştırarak moleküler yapıdaki bağ değişikliklerine baktıktan sonra, kitosanın karakteristik pikleri C-H'nin alifatik genişlemesine aittir ve ilk spektrumda C-H 2876.82 cm⁻¹ ve -OH (3186.65 cm⁻¹)

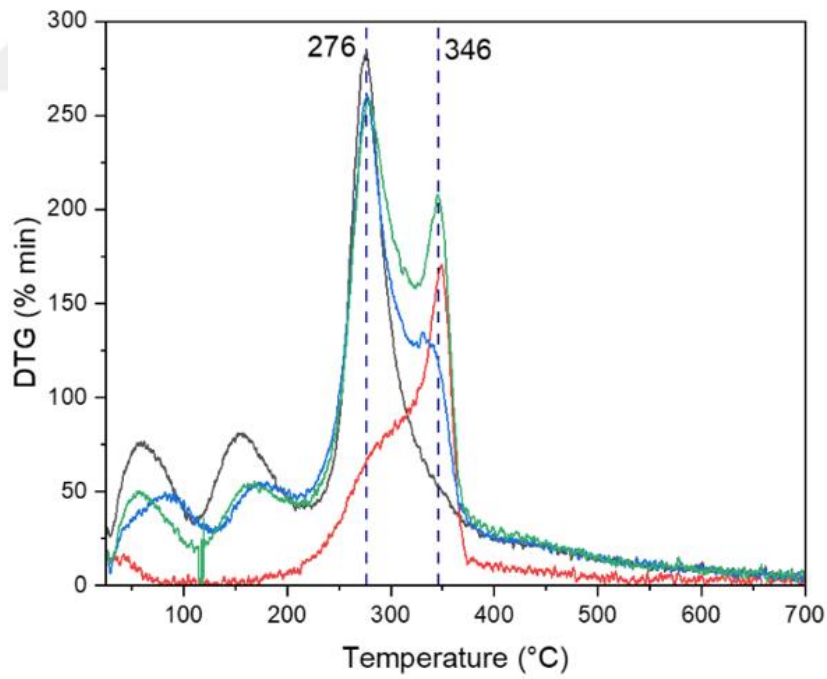
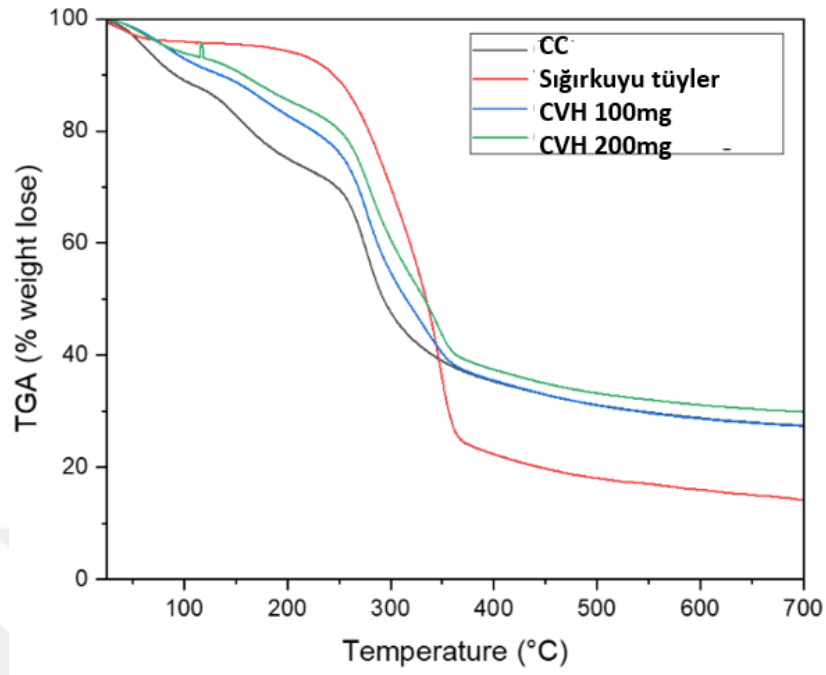
bantları gözlemlenmiştir. Ranges (*Verbascum sp.* tüyleri için 2849.20 cm⁻¹, CVH 100 mg için 2845.23 cm⁻¹ ve CVH 200 mg için 2853.17 cm⁻¹), tüm hidrokarbon bileşenlerinin metan genişleme titreşimine atfedilmiştir. Tipik selüloz bantları, 1630-900 cm⁻¹ bölgesinde gözlemlenmiştir. *Verbascum* tüyleri için 1651.10 cm⁻¹, CVH 100 mg için 1645.15 cm⁻¹ ve CVH 200 mg için 1649.11 cm⁻¹'deki pikler, selülozda adsorbe olan su moleküllerinin titreşimine karşılık gelir. Selüloz, chitin ile benzer bir yapıya sahiptir ancak glukoz birimindeki C2 pozisyonunda asetamid grubu yerine hidroksil grubu içerir (Kaya vd., 2013) ve (Jang vd., 2004) ve aynı P1,4 glikozit bağları, selülozu kitosandan ayırt eder, bu da sırasıyla 2-deoksi-2-amino an hidroglukoz kalıntılarından oluşmuş. Kitosan, amino grupları içeren biyobozunur bir polisakkarittir ve son zamanlarda kitosanın işlevsel bir polisakkarit olarak kullanımına dair birçok makale yayımlanmıştır (Hasegawa vd., 1992).



Şekil 4.1. FT-IR spektrumları; kitosan kontrol filmi, Verbascum tüyleri, içinde 100 mg Verbascum tüyler kitosan filmi ve içinde 200 mg Verbascum tüyleri bulunan kitosan filmi olarak sıralanmıştır.

4.2 Termal karakterizasyonu

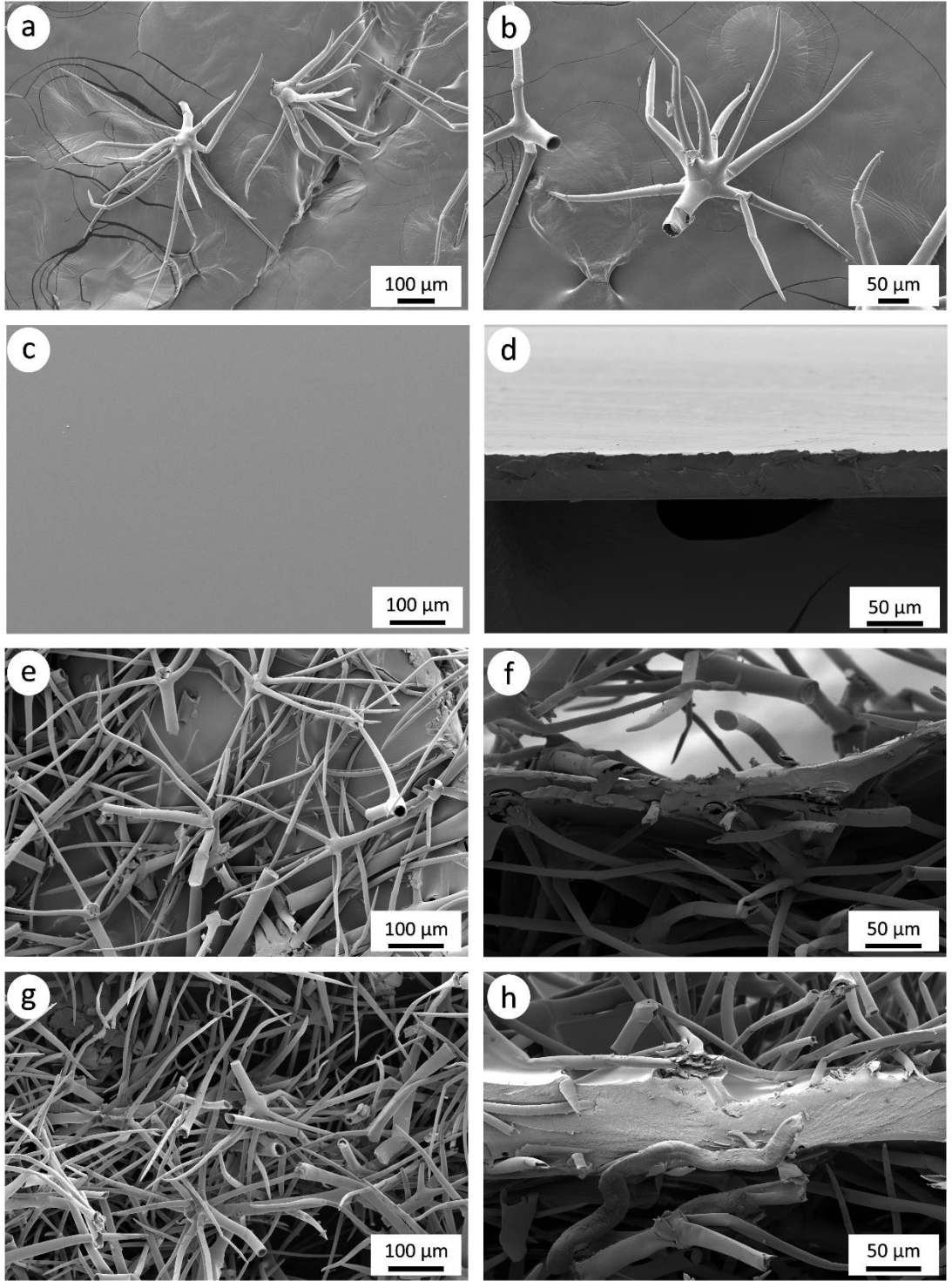
Şekil 4.2'de kitosan filmleri ve *Verbascum sp.* tüyleri termal tartım sonuçları gösterilmiştir. Kitosan filmi ve kitosan tabanlı kompozit filmler (CVH100 mg ve CVH 200 mg) ile *Verbascum sp.* yapraklarının tüyleri, polimerik yapıların suyunun 30 ila 100°C arasında buharlaşmasıyla ilk ağırlık kaybını göstermiştir (Moura vd., 2015). İkinci aşama, kitosan kontrol filmi için 156°C, 100 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi için 175.4°C ve 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi için 170.180°C'de ölçülmüştür; bu adım, gliserolün çözülmesi veya buharlaşması nedeniyle olmuştur (Mujtaba vd., 2019). Üçüncü çözünme, kitosan kontrol filmi için 276°C, 100 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi için 280.7°C ve 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi için 289.8°C'de gözlemlenmiştir ve bu adım, kitosan filmlerinde (CVH 100 mg ve CVH 200 mg) kitosan yapısının çözülmesine, hatta tüylerin hemicellulose hidrolizine kadar (280-350) °C arasında çözünmesine atfedilebilmiştir. *Verbascum sp.* tüyleri için maksimum bozunma 342.2°C'de gerçekleşir ve 697°C civarında devam ederken, 100 mg *Verbascum sp.* içeren kitosan filmi için 280.7°C'de devam eder ve son olarak, 200 mg *Verbascum sp.* içeren kitosan filmi için 344.6°C'de devam eder ve 700°C civarında devam edemiştir. Kitosan filmlerin (CVH 100 mg ve CVH 200 mg) yüksek su direnci özelliklerine sahip iyi termal özellikler gösterdiği ve bu özelliklerin sırasıyla malzeme ambalaj uygulamalarında, endüstriyel giyimde, bina çatı kaplamalarında ve birçok teknolojik alanda faydalı olduğu sonucuna varılanmıştır.



Şekil 4.2. *Verbascum sp.* tüyleri, kitosan kontrol filmi, 100 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi ve 200 mg *Verbascum sp.* tüylei içeren kitosan filmi TGA termogramları.

4.3 SEM karakterizasyonu

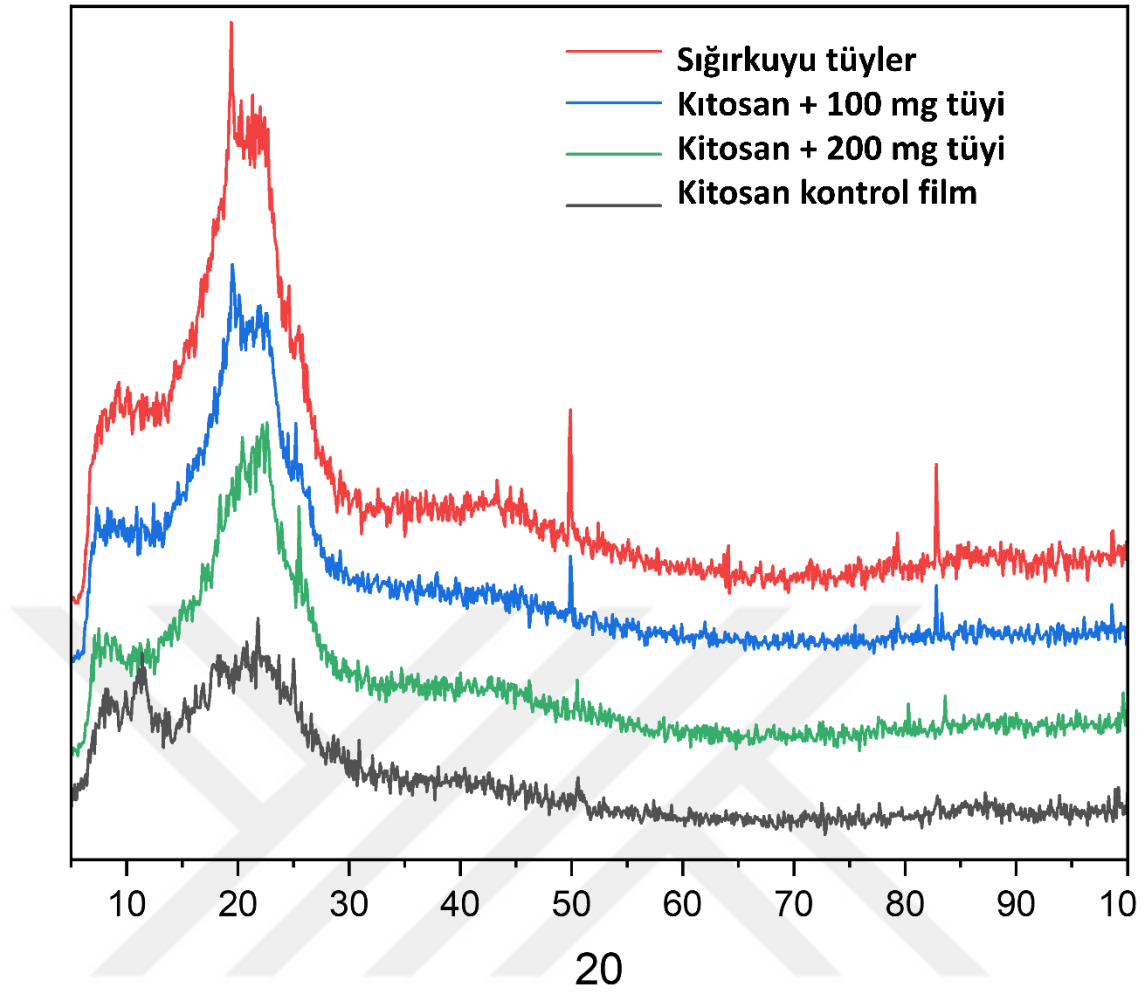
Verbascum sp. yaprağı tüylerinin yüzey yapısı ve kitosan filmleri (CC, CVH100 mg ve CVH 200 mg) farklı büyütme ölçeklerinde incelendi ve görülen farklı yüzey şekilleri Şekil (4.3)'te gösterilmiştir. Tüyler ortada boş bir silindirik tüp tarafından bağlanmış konik ve boş yapıları içermektedir. Bu tüylerin yüzeyi, onlara yüksek su direnci özelliği kazandıran bir balmumu madde içerir (Şekil 4.3a ve b), bu da transpirasyonun azalmasına neden olur ve yapraklarda yüksek sıcaklıkların korunmasını sağlar (Ripley vd., 1999). Kitosan filmi içermeyen bir kontrol filmi (Şekil 4.3 c ve d) düz, ince ve şeffafken, diğer kitosan filmleri olan CVH 100 mg ve CVH 200 mg'nin her iki yüzeyi de kaba ve kalın ve şeffaf değildi. Filmlerin her iki tarafı ve kesiti (Şekil 4.3e, f, g ve h)'de gösterilmiştir. Kitosan, birçok uygulama ve alanlarda kullanılmıştır: ilaç teslimatı, gıda koruyucuları, biyokataliz dondurma, atık su arıtma, moleküler kalıplama, metal nanokompozitler, biyo uyumluluk, mukozal kohezyon, geçirgenliğin artırılması, antikolesterol ve antimikrobiyal etki (Aranaz vd., 2009). Kitosan filmlerinin yüzeyindeki *Verbascum sp.* yaprağı tüyleri bulunması, bu filmlerin süperhidrofobik olma yeteneğini artırır, bu da onların farklı teknoloji alanlarında, doku mühendisliği vb. Kitosan filmleri (CFVH 100 mg ve CFVH 200 mg), kontrol kitosan filminden daha hidrofobik olup yoğun ve pürüzlü bir yapı oluşturmuştur. Benzer bir yapı, hidrofobik filmler kullanılarak elde edilmiştir (Rubilar vd., 2013). Bugüne kadar, doğal antioksidanlar ve antimikrobiyallerle zenginleştirilmiş gıda ambalajı için etkin filmlerin üretimi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Genein vd., 2016; Ponce vd., 2008; Tesfay ve Magwaza., 2017; Moradi vd., 2012; Valenzuela vd., 2015). Bununla birlikte, filmlerin üretiminde su itici, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip birçok esansiyel bitki yapısının ayırt edilmesi gerekmiştir. Bu çalışma, ilk kez *Verbascum sp.* Tüylerine dayalı yüksek su dirençli kitosan üretilmiştir.



Şekil 4.3. SEM fotoğrafları a, b) Verbascum tüylri c, d) Kitosan-kontrol filmi, e, f) CVH 100 mg VE g, h) CVH 200 mg.

4.4 XRD karakterizasyonu

Kristal yapı analizi, katı malzemeler içindeki kristallerin düzenini incelemek için kullanılan son derece etkili bir analitik tekniktir. Bu yöntem, kristallerin X-ışınlarıyla etkileşime girmesine dayanır ve belirli açılarda saçılmasına neden olmuştur (Gousse vd., 2002; Habibi vd., 2010). Şekil (4.4), kitosan filmlerinin (CC, CVH100 mg, CVH 200 mg) ve *Verbascum sp.* tüylerinin saçılma desenlerini göstermiştir. Bu desenleri XRD $2\theta = 5$ ila 45 arasında tarayarak, *Verbascum sp.* tüyleri için 628 , 682.7 ve 1653.5 kristal seviyelerine karşılık gelen 7° , 9° ve yaklaşık 20° 'de üç ayrı tepe gözlemlendi. CVH 100 mg'de kristal düzlemler, sırasıyla 445.2 , 417 ve 1007.4 değerlerini gösterirken, CVH 200 mg, selülozla ilişkilendirilen XRD tepe değerleri olan 292 , 358 ve 896 değerlerini sergilenmiştir. Bu, bu tüylerde kristalin selüloz yapısının bulunduğunu gösterir, çünkü selüloz bitki hücre duvarlarına dayanıklılık ve rijitlik sağlamada kritik bir rol oynar. Kitosan kontrol filmi için, belirgin bir tepe 8.3 , 18.9 ve 21.9° 'de gözlemlendi ve bu tepe, sırasıyla 436.9 , 497 ve 624 kristal düzlemlerine karşılık gelir (Şekil 4.4). Çeşitli selüloz nanokristallerinin (CNC'ler) kristallik indisleri, yoğunluk oranı denklemi $(I_{002} - I_{AM})/I_{002} \times 100$ (Moran et al., 2008) kullanılarak belirlendi. Burada I_{002} , 23° 'e yakın 2θ 'deki tepe yoğunluğunu temsil eder (kristalin malzemeyi gösterir), I_{AM} ise 18° 'e yakın 2θ 'deki yoğunluk değerini temsil edemiştir (amorfla malzemeyi gösterir). Bu yöntem genellikle kristallik indisleri hesaplamak için kullanılsa da, amorf içeriği düşük tahmin etme eğilimindedir (Park vd., 2010). Kitosan kontrol filmi ile diğer iki film arasında tepe desenlerinde önemli bir fark gözlemlendi. Bu bulgular, kitosan filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerinin artırıldığını rapor eden önceki literatürle uyumludur (Mujtaba vd., 2017).



Şekil 4.4. Verbascum sp. Tüyleri, 100 mg Verbascum sp. tüyleri içeren kitosan film, 200 mg Verbascum sp. tüyleri içeren kitosan film ve Kitosan Kontrol Filmi XRD diyagramı.

4.5. Element Analizi

Verbascum sp. yapraklarının tüyleri ve kitosan filmlerinin (CC, CVH 100 mg ve CVH 200 mg) içerdiği azot (N), karbon (C) ve hidrojen (H) içeriği belirlenmiştir (Tablo 4.1). Tüylerdeki N, C ve H içerikleri sırasıyla %0.32, %45.47 ve %5.75 olarak bulunmuştur. Kitosan kontrol filmde ise bu değerler sırasıyla %5.21, %40.08 ve %6.91. 100 mg tüy içeren kitosan filmde ise N %4.33, C %41.28 ve H %6.73 olarak belirlenmiştir. 200 mg tüy içeren kitosan filmde ise N %2.88, C %42.39 ve H %6.23 olarak saptanmıştır. *Verbascum sp.* tüyleri ve kitosan filmlerinin C ve H içerikleri benzer olduğu gözlenmiştir. Her bir örnek için azot içeriğindeki farklılıklar şu sırayla görüldü: CCF > CFVH 100 mg > CFVH 200 mg > *Verbascum* tüyleri (Tablo 4.1'de gösterildiği gibi). Tüy miktarı ile içerdikleri azot arasında ters bir ilişki vardır; filmlerdeki tüy miktarı arttıkça azot içeriği azalmıştır.

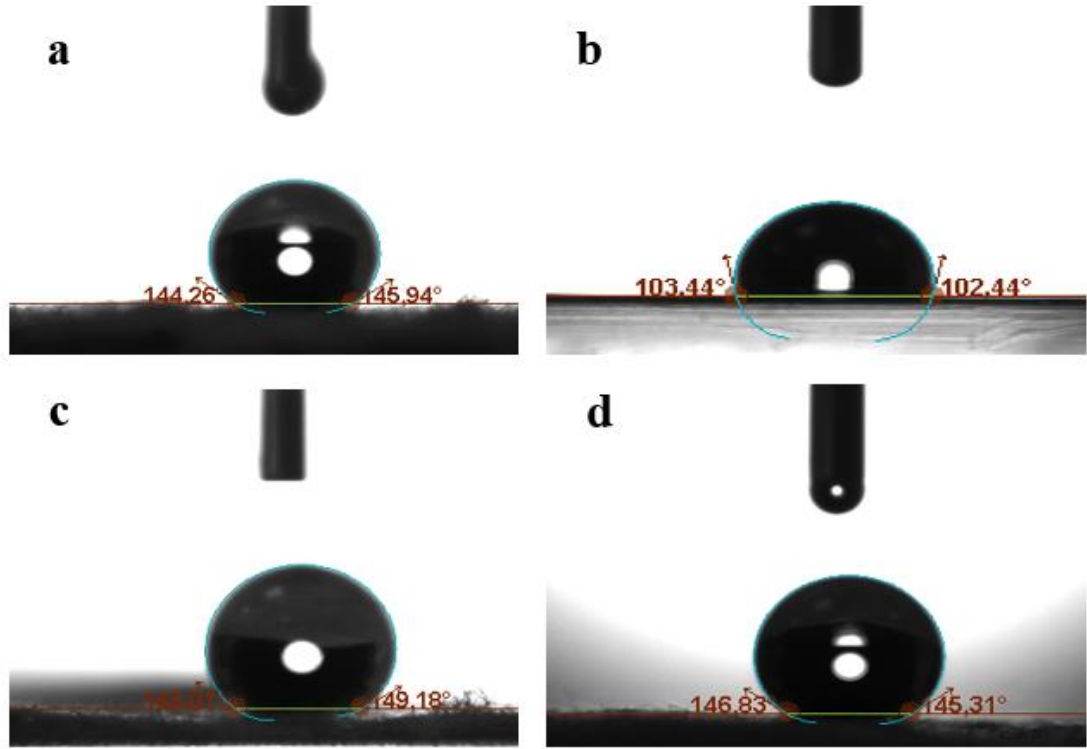
Numune adı	%N	%C	%H
Sığırkuyru tüyleri	0.32	45.47	5.75
CC	5.21	40.08	6.91
CVH 100mg	4.33	41.28	6.73
CVH 200mg	2.88	42.39	6.232

Tablo 4.1. CC, CVH 100 mg, CVH 200 mg ve *Verbascum* saçının azot (N), karbon (C) ve hidrojen (H) içeriği.

4.6. Su Temas Açısı

Su temas açısı, malzemelerin suyla etkileşimini değerlendirmek amacıyla kullanılan bir prosedürdür; su temas açısı değerindeki artış, malzemenin hidrofilik özelliklerinin azaldığını göstermiştir (Kaya vd., 2017). Film yüzeyindeki su damlasının son temas açısı, film yüzeyinin su ile ıslanma derecesi hakkında bilgi sağlanmıştır (Akyüz vd., 2017). Bu çalışmada, *Verbascum sp.* yaprak kılları ve kitosan filmleri (CC, CVH 100 mg ve CVH 200 mg) için temas açısı değerleri sırasıyla 145,94°, 103,44°, 143,01° ve 146,83° olarak ölçülmüş ve Şekil (4.5)'da gösterilmiştir. Bu sonuçlar, kitosan kontrol filmi (CC)'nin hidrofobik özelliklerinin, CVH 100 mg ve CVH 200 mg'den daha düşük olduğunu göstermiştir. Diğer bir deyişle, kitosan kontrol filmi, *Verbascum sp.* tüylerini (100 mg CVH ve 200 mg CVH) göre daha hidrofiliktir. *Verbascum sp.* tüylerinin

kitosan matrisine eklenmesi, genel filmlerin hidrofobikliğinde önemli bir artışa neden olmuştur. Yüksek temas açısı değerine sahip olan *Verbascum sp.* tüylerini içeren kitosan filmler, endüstride yüksek suya dayanıklılık gerektiren yüzey kaplama malzemesi olarak potansiyel bir kullanım alanına sahipmiştir.

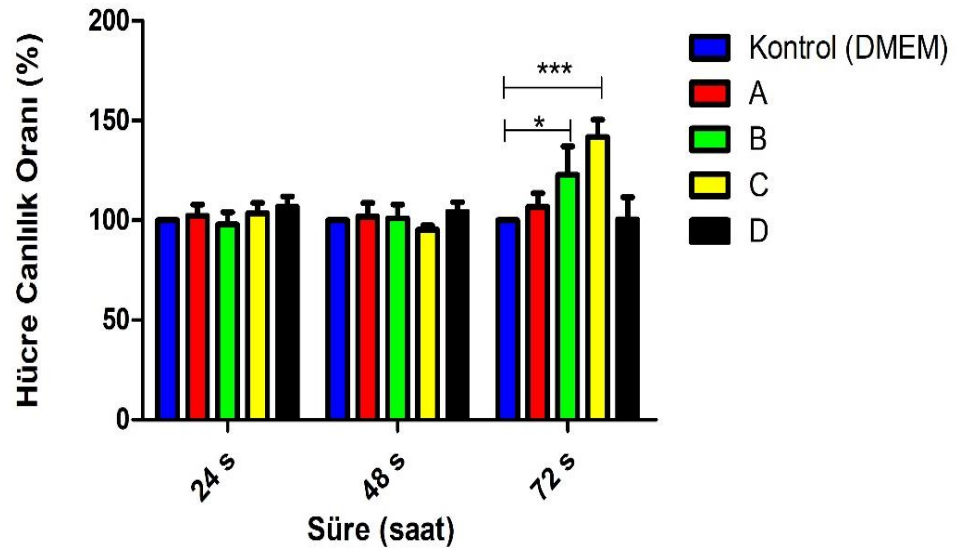


Şekil 4.5. Su temas açısı a) *Verbascum sp.* tüyleri, b) kitosan kontrol filmi, c) 100 mg *Verbascum sp.* tüyü içeren kitosan filmi ve d) 200 mg *Verbascum sp.* tüyü içeren kitosan filmi.

4.7. Hücre bağlanma ve sitotoksisite analizi

MTT analizi, mitokondriyal dehidrogenaz aktivitesi ile orantılı olarak hücre canlılığını ölçmeyi amaçlanmıştır. Bu canlı hücrelerde devam eden aktiviteye dayanarak formazan kristalleri oluşmuştur. DMSO gibi çözücülerde çözündüğünde, bu formazan kristalleri, hücre canlılığıyla orantılı bir yoğunluğa sahip mor bir çözelti oluşturur. Bu malzemeler üzerindeki hücre davranışına dayanarak, örneklerin (*Verbascum sp.* tüyleri, kontrol film, CVH 100 mg ve CVH 200 mg) farklı uygulamalarda kullanılabilen biyoyoumlu malzemeler olduğu sonucuna varılmıştır. L929 hücreleri ile

incelenen örneklerle 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edilen hücre sitotoksitesisi analizi, MTT analizi ile tahmin edilmiştir. MTT analizi sonuçları, bir mikropilaka okuyucuda (ChroMate®ELISA) 492 nm'de alınmıştır. Sadece DMEM ortamı içeren seçilmiş hücreler kontrol grubu olarak alınmıştır. Şekil (4.6), malzemelerin mevcut hücre canlılığını sırasıyla 24, 48 ve 72 saat için göstermiştir. MTT sonuçları, dört biyomalzemenin (her biri 2 x 2 mm çapında) L929 hücreleri üzerinde toplam değerlerin $> \sim 70\%$ olduğu, herhangi bir toksik etkisinin olmadığını göstermiştir. Test aynı zamanda kontrol grupları ile malzeme içeren gruplar arasında 24 ve 48 saatte analiz edilenler arasında anlamlı bir fark olmadığını da ortaya koydu ($P > 0.05$) ve yalnızca 72 saatin önemli bir varyasyon kaynağı olduğunu ortaya çıkardı ($p < 0,05$).



Şekil 4.6. A) Kitosan kontrol filmi, B) 100 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi, C) 200 mg *Verbascum sp.* tüyleri içeren kitosan filmi, D) *Verbascum sp.* tüyleri içeren filmlerin MTT sonuçları.

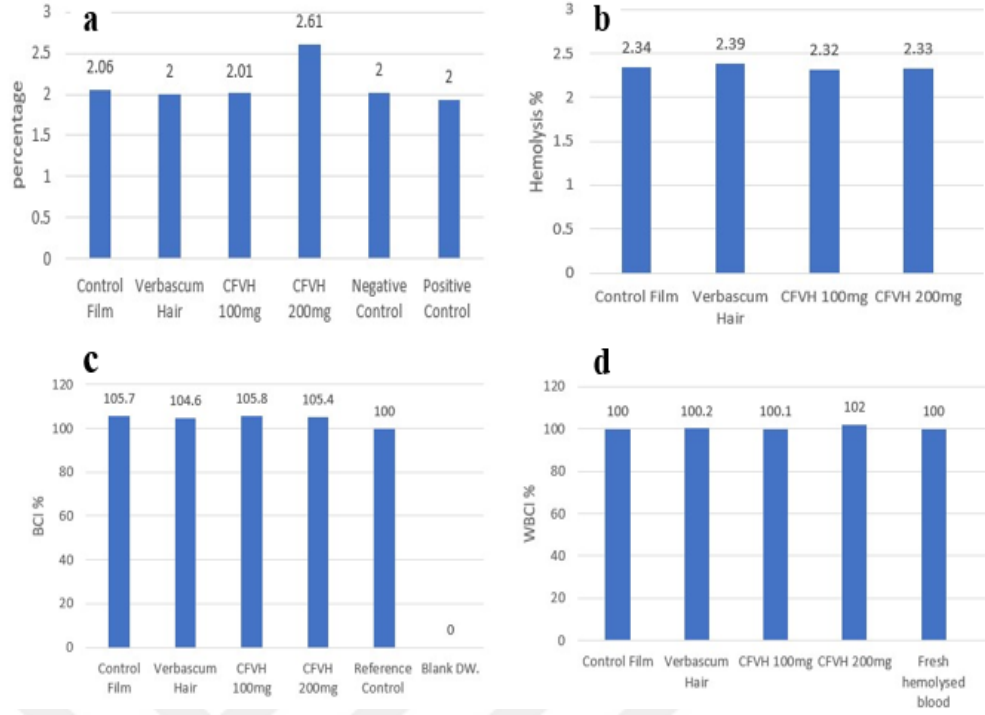
4.8. Hemostatik Analiz

Örneklerin (filmler ve *Verbascum sp.* tüyleri) kan uyumluluk testi, negatif ve pozitif kontrolle benzer sonuçlar göstermiştir. Veriler, örneklerin ölçülen hemoliz oranlarını Şekil 4.7a'da göstermektedir. Tüm örneklerin (CC, *Verbascum sp.* tüyleri, CVH 100 mg ve CVH 200 mg) pozitif kontrolle karşı sırasıyla 2.06, 1.996, 2.01 ve 2.61 hemolitik aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. İncelenen seyreltilmiş kan için ISO 10993-4'ün kabul edilebilir aralığında olan 1.930 ve 2.025 değerleri varılmıştır.

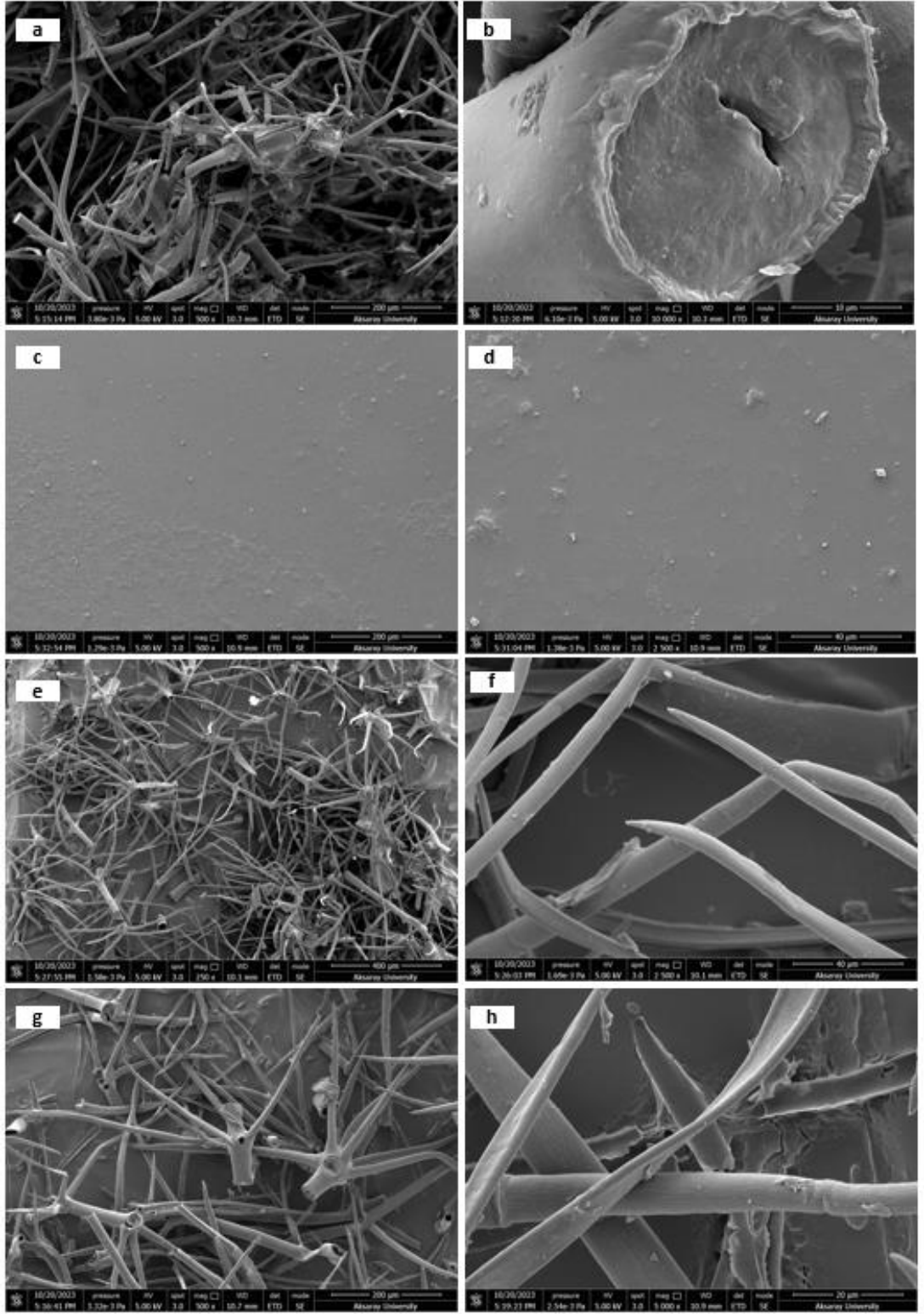
Hemoliz testi için, Şekil 4.7b, örneklerin (CC, *Verbascum sp.* tüyü, CVH 100mg ve CVH 200mg) hemoliz oranını göstermiştir. Tüm örneklerin hemoliz oranının %5'ten az olduğu görülmüştür. Bu nedenle, kitosan film ve *Verbascum sp.* tüyleri ile modifiye edilmiş diğer film örneklerinin hemoliz yeteneklerini etkilemediği gösterilmiştir.

Pıhtılaşma çalışması, bir maddenin insan kanındaki antikoagülan aktivitesinin etkilerini değerlenmiştir, burada antikoagülan aktivite, kan pıhtılaşma indeksi (BCI) olarak bilinen bir göreceli parametre aracılığıyla nicel olarak ifade edilir (Xie vd., 2022). Pıhtı oluşumu sırasında fibrin tarafından tuzağa düşürülen hemoglobin miktarı artarken, aynı zamanda serbest hemoglobin miktarı azalmıştır. Bu, BCI formundaki örneklerin pıhtılaşma yeteneğini değerlendirmek için bir gösterge olarak kullanılmıştır. BCI azaldıkça, kan pıhtılaşması artar ve tersi. Şekil 4.7c, tüm örneklerin kontrolle karşı inkübasyon sırasında BCI'da belirgin bir azalma olmadığını gösterdiğini gösterilmiştir. Bu sonuç, kompozit filmlerin ve *Verbascum sp.* tüylerinin yüzeyindeki balmumu benzeri maddelerin trombosit ve kan hücrelerinin yapışmasını önlemesine bağlanmıştır. SEM analizinin şekil 4.8de görülebilir. yapışmasını önlemesine bağlanmıştır. Distile su içindeki 15 ml tam kanın 542 nm'deki absorbansı referans değeri olarak kabul edilmiştir.

Tam kan pıhtılaşma testi ile tam kan pıhtılaşma verimliliğini değerlendirirken, Şekil 4.7d, CC, CVH 100mg, CVH 200mg ve *Verbascum sp.* tüylerinin FHB kontrolüne benzer veya yakından karşılaştırılabilir kan pıhtılaşma oranlarına sahip olduğunu göstermektedir. Bu benzerlik, örneklerden sıvı emilim oranının düşük olmasına neden olan yüksek hidrofobik doğalarına bağlanmıştır. Ayrıca, örneklerin kapillerlerindeki gözeneksiz yapı ve balmumu benzeri malzemelerin varlığı, kandan su emilimini engeller ve kan hücrelerinin ve trombositlerin agregasyonunu engellemiştir.



Şekil 4.7. a) Örneklerle karşılaştırıldığında negatif ve pozitif kontrolün hematolojik uyumluluk yüzdesi, b) CC filmi, *Verbasum sp.* tüyü, CVH100mg ve CVH200mg'nin referans kontrolle karşı hemoliz oranı. c) Kan pıhtılaşması, in vitro olarak sitratlı kan kullanılarak BCI kullanılarak ölçülebilir. BCI azaldıkça, kan pıhtılaşması artar ve tam tersi. (d) Taze hemolize edilmiş kanın, kan ile inkübe edilmiş örneklerin verimliliğinin grafiksel temsili.



Şekil 4.8. SEM fotoğrafları a, b) Verbascum tüylri c, d) Kitosan-kontrol filmi, e, f) CVH 100 mg ve g, h) CVH 200 mg.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Farklı biyomalzemelerin kullanımıyla yüzey su geçirmezliğinde sağlanan önemli ilerlemeler göz önüne alındığında, zararlı ve pahalı endüstriyel malzemelere olan bağımlılığı azaltmak artık zorunlu hale gelmiştir. Bunun yerine, öneri, bu malzemelerin çeşitli teknoloji alanlarında kitosan temelli doğal zarlarla değiştirilmesini savunmaktadır. *Verbascum sp.* yaprak tüyleri gibi doğal bitki bileşenlerinin dahil edilmesi, kitosan temelli filmlerin mekanik, oksijen ve su geçirgen bariyer, termal ve UV özelliklerini artırmıştır. Dahası, kitosan filmlerin, *Verbascum sp.* tüyleriyle birleştirildiğinde dikkate değer antimikrobiyal aktivite ve toksik olmayan özelliklere sahip olduğu ikna edici bir şekilde gösterilmiştir. Sonuç olarak, bu, hücrel kültürde kullanımlarını kolaylaştırmış, hiyerarşik kılların zarların fiziksel ve kimyasal özelliklerini artırmasına izin verilenmiştir. Hemostatik analiz bulguları, örneklerin su geçirmez ve su emme yeteneği olmadığını, laboratuvar koşullarında hemoliz ve kan pıhtılaşma oranlarını gözle görülür bir şekilde etkilemediğini ortaya koymıştır. Islanabilirliği belirlemede temel faktör, yüzey topografyasıdır. Yüzeyin yüksek hidrofobikliğe sahip olabilmesi için, özellikle nanometre ölçeğinde yeterli düzeyde pürüzlülük sergilemesi gerekmiştir. Ortaya çıkan filmler, nispeten farklı yüzey morfolojilerini sergileyerek temas açısı özelliklerine bağlı olarak değişen hidrofobiklik derecelerini göstermiştir. Kitosan temelli filmlerin aşırı hidrofobik özelliğindeki gözlemlenen değişiklik, filmin toplam yüzey enerjisi ile yakından ilişkilidir. Bu sonuçlar, filmin iki bileşeni olan kitosan ve tüylerin uyumunu vurgular ve yapılan tüm analizlerde olumlu sonuçlar vermiştir.

KAYNAKLAR

- Abdallah, M. R., Mohamed, M. A., Mohamed, H. M., ve Emara, M. M. 2017. Improving the sensory, physicochemical and microbiological quality of pastirma (A traditional dry cured meat product) using kitosan coating LWT, 86, 247-253.
- Abdelmalek, B. E., Sila, A., Haddar, A., Bougatef, A., ve Ayadi, M. A., 2017. β -Chitin and kitosan from squid gladius: Biological activities of kitosan and its application as clarifying agent for apple juice, International Journal of Biological Macromolecules, 104, 953-962.
- Abu-Diak, O. A., Andrews, G. P., ve Jones, D. S, 2012. Hydrophobic polymers of pharmaceutical significance, Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery, 47-73.
- Aider, M, 2010. Kitosan application for active bio-based films production ve potential in the food industry, LWT-Food Science and Technology, 43, 6, 837–842.
- Akyuz, L., Kaya, M., Koc, B., Mujtaba, M., Ilk, S., Labidi, J., ve Yildiz, A, 2017. Diatomite as a novel composite ingredient for kitosan film with enhanced physicochemical properties, international journal of biological macromolecules, 105, 1401-1411.
- Alan, S., Saltan, F. Z., Göktürk, R. S., ve Sökmen, M, 2009. Taxonomical properties of three *Verbascum* L, species and their antioxidant activities.
- Al-Hadeethy, M., Al-Mashhadani, A., Al-Khesraji, T., Barusrux, S., Al-Jewari, H., Theerakulpisut, P., ve Pornpongrungrueng, P, 2014, Pollen morphology of *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) in northern and central Iraq, Bangladesh Journal of Plant Taxonomy, 21,2, 159-165.
- Aranaz, I., Mengíbar, M., Harris, R., Paños, I., Miralles, B., Acosta, N., ve Heras, Á, 2009. Functional characterization of chitin and kitosan, Current chemical biology, 3,2, 203-230.
- Azmana, M., Mahmood, S., Hilles, A. R., Rahman, A., Arifin, M. A. B., ve Ahmed, S. 2021. A review on kitosan and kitosan-based bionanocomposites: Promising material for combatting global issues and its applications, International journal of biological macromolecules, 185, 832-848.
- Bonilla, J., ve Sobral, P. J ,2016. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-kitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts, Food Bioscience, 16, 17-25.
- Buriuli, M., Kumari, W. G., ve Verma, D, 2017, Evaluation of hemostatic effect of polyelectrolyte complex-based dressings, Journal of Biomaterials Applications, 32 ,5, 638-647.

- Darmanin, T., ve Guittard, F, 2015 Superhydrophobic and superoleophobic properties in nature, *Materials today*, 18,5, 273-285.
- Dülger, B., Kirmizi, S., Arslan, H., ve Güleriyüz, G, 2002, Antimicrobial activity of three endemic *Verbascum* species, *pharmaceutical biology*, 40,8, 587-589.
- Ensikat, H. J., Ditsche-Kuru, P., Neinhuis, C., ve Barthlott, W. 2011, Superhydrophobicity in perfection: the outstanding properties of the lotus leaf *Beilstein journal of nanotechnology*, 2,1, 152-161.
- Erbil, H. Y, 2020. Practical applications of superhydrophobic materials and coatings: problems and perspectives, *Langmuir*, 36,10, 2493-2509.
- Falde, E. J., Yohe, S. T., Colson, Y. L., ve Grinstaff, M. W, 2016. Superhydrophobic materials for biomedical applications, *Biomaterials*, 104, 87-103.
- Georgiev, M. I., Ali, K., Alipieva, K., Verpoorte, R., ve Choi, Y. H, 2011. Metabolic differentiation and classification of *Verbascum* species by NMR-based metabolomics, *Phytochemistry*, 72,16, 2045-2051.
- Ghasemlou, M., Daver, F., Ivanova, E. P., ve Adhikari, B, 2019. Bio-inspired sustainable and durable superhydrophobic materials: from nature to market, *Journal of Materials Chemistry A*, 7,28, 16643-16670.
- Goussé, C., Chanzy, H., Excoffier, G., Soubeyrand, L., ve Fleury, E. 2002. Stable suspensions of partially silylated cellulose whiskers dispersed in organic solvents, *Polymer*, 43,9, 2645-2651.
- Guo, Z., ve Liu, W. 2007. Biomimic from the superhydrophobic plant leaves in nature: Binary structure and unitary structure, *Plant Science*, 172,6, 1103-1112.
- Guo, Z., Liu, W., ve Su, B. L. 2011. Superhydrophobic surfaces: from natural to biomimetic to functional, *Journal of colloid and interface science*, 353,2, 335-355.
- Habibi, Y., Lucia, L. A., ve Rojas, O. J. 2010. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications, *Chemical reviews*, 110,6, 3479-3500.
- Hasegawa, M., Isogai, A., Onabe, F., Usuda, M., ve Atalla, R. H, 1992. Characterization of cellulose–kitosan blend films, *Journal of Applied Polymer Science*, 45,11, 1873-1879.
- Jang, M. K., Kong, B. G., Jeong, Y. I., Lee, C. H., ve Nah, J. W, 2004. Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 42,14, 3423-3432.
- Kaya, M., Ravikumar, P., Ilk, S., Mujtaba, M., Akyuz, L., Labidi, J., ve Erkul, S. K, 2018. Production and characterization of kitosan-based edible films from

Berberis crataegina's fruit extract and seed oil, *Innovative Food Science ve Emerging Technologies*, 45, 287-297.

- Kaya, M., Sargin, I., Sabeckis, I., Noreikaite, D., Erdonmez, D., Salaberria, A. M., ... ve Tubelytė, V, 2017. Biological, mechanical, optical and physicochemical properties of natural chitin films obtained from the dorsal pronotum and the wing of cockroach, *Carbohydrate polymers*, 163, 162-169.
- Kaya, M., Sargin, I., Tozak, K. Ö., Baran, T., Erdogan, S., ve Sezen, G, 2013. Chitin extraction and characterization from *Daphnia magna* resting eggs, *International journal of biological macromolecules*, 61, 459-464.
- Koch, K., ve Barthlott, W, 2009. Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367, 1487-1509.
- Latthe, S. S., Terashima, C., Nakata, K., ve Fujishima, A, 2014. Superhydrophobic surfaces developed by mimicking hierarchical surface morphology of lotus leaf, *Molecules*, 19, 4, 4256-4283.
- Li, L., Du, Y., Yin, Z., Li, L., Peng, H., Zheng, H., ve Lv, G, 2020. Preparation and the hemostatic property study of porous gelatin microspheres both in vitro and in vivo, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 187, 110641.
- Li, Y., Li, L., ve Sun, J. 2010. Bioinspired self-healing superhydrophobic coatings, *Angewandte Chemie*, 122, 35, 6265-6269.
- Luengo, G. S., Bui, H. S., ve Portal, J, 2022. Formation and Performance of Cosmetic Films in Cosmetics, In *Handbook of Cosmetic Science and Technology* (pp. 167-181). CRC Press.
- Ma, M., ve Hill, R. M, 2006. Superhydrophobic surfaces. *Current opinion in colloid ve interface science*, 11, 4, 193-202.
- Mansoor, Z., Tchienbou-Magaia, F., Kowalczyk, M., Adamus, G., Manning, G., Parati, M., ve Khan, H, 2022. Polymers use as mulch films in agriculture—a review of history, problems and current trends, *Polymers*, 14, 23, 5062.
- Mishra, B., Hossain, S., Mohanty, S., Gupta, M. K., ve Verma, D, 2021. Fast-acting hemostatic agent based on self-assembled hybrid nanofibers from kitosan and casein, *International Journal of Biological Macromolecules*, 185, 525-534.
- Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., ve Hadian, M, 2012. Characterization of antioxidant kitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract, *LWT-Food Science and Technology*, 46, 2, 477-484.
- Morán, J. I., Alvarez, V. A., Cyras, V. P., ve Vázquez, A. 2008. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers, *Cellulose*, 15, 1, 149-159.

- Moura, J. M., Farias, B. S., Rodrigues, D. A., Moura, C. M., Dotto, G. L., ve Pinto, L. A, 2015. Preparation of kitosan with different characteristics and its application for biofilms production, *Journal of Polymers and the Environment*, 23, 470-477.
- Mujtaba, M., Akyuz, L., Koc, B., Kaya, M., Ilk, S., Cansaran-Duman, D., ve Boufi, S ,2019. Novel, multifunctional mucilage composite films incorporated with cellulose nanofibers, *Food Hydrocolloids*, 89, 20-28.
- Mujtaba, M., Salaberria, A. M., Andres, M. A., Kaya, M., Gunyakti, A., ve Labidi, J. 2017. Utilization of flax (*Linum usitatissimum*) cellulose nanocrystals as reinforcing material for kitosan films, *international journal of biological macromolecules*, 104, 944-952.
- Nycz, J. E., Malecki, G., Zawiazalec, M., Pazdziorek, T., ve Skop, P, 2010. 1-Pentyl-3-(4-methoxy-1-naphthoyl) indole and 2-(2-methoxy-phenyl)-1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-ethanone: X-ray structures and computational studies, *Journal of Molecular Structure*, 984,1-3, 125-130.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A., ve Johnson, D. K. 2010. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance, *Biotechnology for biofuels*, 3,1, 1-10.
- Pawlak, A., ve Mucha, M, 2003. Thermogravimetric and FTIR studies of kitosan blends, *Thermochimica acta*, 396,1-2, 153-166.
- Poletto, M., Pistor, V., Zeni, M., ve Zattera, A. J, 2011. Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes, *Polymer Degradation and Stability*, 96,4, 679-685.
- Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., ve Moreira, M. R ,2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies, *Postharvest biology and technology*, 49,2, 294-300.
- Prakash, V., Rana, S., ve Sagar, A., 2016. Studies on antibacterial activity of *Verbascum Thapsus*, *J Med Plants Stud*, 4,3, 101-113.
- Ripley, B. S., Pammenter, N. W., ve Smith, V. R ,1999. Function of leaf hairs revisited: the hair layer on leaves *Arctotheca populifolia* reduces photoinhibition but leads to higher leaf temperatures caused by lower transpiration rates, *Journal of Plant Physiology*, 155 ,1, 78-85.
- Rosa, M. F., Medeiros, E. S., Malmonge, J. A., Gregorski, K. S., Wood, D. F., Mattoso, L. H. C., ve Imam, S. H, 2010. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior, *Carbohydrate polymers*, 81,1, 83-92.
- Rubilar, J. F., Cruz, R. M., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., ve Vieira, M. C ,2013. physico-mechanical properties of kitosan films with carvacrol and grape seed extract, *Journal of Food Engineering*, 115,4, 466-474.

- Sam, E. K., Sam, D. K., Lv, X., Liu, B., Xiao, X., Gong, S., ve Liu, J, 2019. Recent development in the fabrication of self-healing superhydrophobic surfaces, *Chemical Engineering Journal*, 373, 531-546.
- Selseleh, M., Ebrahimi, S. N., Aliahmadi, A., Sonboli, A., ve Mirjalili, M. H. 2020. Metabolic profiling, antioxidant, and antibacterial activity of some Iranian *Verbascum L.* species. *Industrial crops and products*, 153, 112609.
- Selseleh, M., Ebrahimi, S. N., Aliahmadi, A., Sonboli, A., ve Mirjalili, M. H. 2020. Metabolic profiling, antioxidant, and antibacterial activity of some Iranian *Verbascum L.* species, *Industrial Crops and Products*, 153, 112609.
- Shih, M. F., Shau, M. D., Chang, M. Y., Chiou, S. K., Chang, J. K., ve Cherng, J. Y. 2006. Platelet adsorption and hemolytic properties of liquid crystal/composite polymers, *International journal of pharmaceutics*, 327,1-2, 117-125.
- Shirtcliffe, N. J., McHale, G., ve Newton, M. I ,2009. Learning from superhydrophobic plants: The use of hydrophilic areas on superhydrophobic surfaces for droplet control, *Langmuir*, 25 ,24, 14121-14128.
- Shirtcliffe, N. J., McHale, G., Atherton, S., ve Newton, M. I, 2010. An introduction to superhydrophobicity, *Advances in colloid and interface science*, 161,1-2, 124-138.
- Sivaselvi, K., ve Ghosh, P. 2017. Characterization of modified Kitosan thin film, *Materials Today: Proceedings*, 4,2, 442-451.
- Tagliaro, I., Seccia, S., Pellegrini, B., Bertini, S., ve Antonini, C, 2023. Kitosan-based coatings with tunable transparency and superhydrophobicity: A solvent-free and fluorine-free approach by stearyl derivatization, *Carbohydrate Polymers*, 302, 120424.
- Tesfay, S. Z., ve Magwaza, L. S ,2017. Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, kitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing the quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit, *Food Packaging and Shelf Life*, 11, 40-48.
- Tripathi, S., Mehrotra, G. K., ve Dutta, P. K ,2009. Physicochemical and bioactivity of cross-linked kitosan–PVA film for food packaging applications, *International Journal of biological macromolecules*, 45,4, 372-376.
- Turker, A. U., ve Gurel, E, 2005. Common mullein (*Verbascum thapsus L.*): recent advances in research. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19,9, 733-739.
- Valenzuela, C., Tapia, C., López, L., Bunger, A., Escalona, V., ve Abugoch, L., 2015. Effect of edible quinoa protein-kitosan based films on refrigerated strawberry

- (Fragaria× ananassa) quality, *Electronic Journal of Biotechnology*, 18,6, 406-411.
- Venkataraman, P., Tang, J., Frenkel, E., McPherson, G. L., He, J., Raghavan, S. R., ... ve John, V. T, 2013. Attachment of a hydrophobically modified biopolymer at the oil–water interface in the treatment of oil spills, *ACS applied materials ve interfaces*, 5,9, 3572-3580.
- Wang, G., Guo, Z., ve Liu, W, 2014. Interfacial effects of superhydrophobic plant surfaces: A review, *Journal of Bionic Engineering*, 11,3, 325-345.
- Wang, H., Qian, J., ve Ding, F. 2018. Emerging kitosan-based films for food packaging applications, *Journal of agricultural and food chemistry*, 66,2, 395-413.
- Wang, L., Xiao, X., Yin, X., Wang, J., Zhu, G., Yu, S., ve Yang, X. 2022. Preparation of robust, self-cleaning and anti-corrosion superhydrophobic Ca-P/kitosan (CS) composite coating on AZ31 magnesium alloy, *Surface and Coatings Technology*, 432, 128074.
- Wang, W., Meng, Q., Li, Q., Liu, J., Zhou, M., Jin, Z., ve Zhao, K, 2020. Kitosan derivatives and their application in biomedicine, *International Journal of molecular sciences*, 21,2, 487.
- Webb, H. K., Crawford, R. J., ve Ivanova, E. P, 2014. Wettability of natural superhydrophobic surfaces, *Advances in colloid and interface science*, 210, 58-64.
- Wei, X., Cai, J., Wang, C., Yang, K., Ding, S., Tian, F., ve Lin, S. 2022. Quaternized kitosan/cellulose composites as enhanced hemostatic and antibacterial sponges for wound healing, *International Journal of Biological Macromolecules*, 210, 271-281.
- Wiegand, C., Abel, M., Hipler, U. C., Elsner, P., Zieger, M., Kurz, J., ve Stoppelkamp, S, 2019. Hemostatic wound dressings: Predicting their effects by in vitro tests, *Journal of Biomaterials Applications*, 33,9, 1285-1297.
- Yu, M., Yang, L., Yan, L., Wang, T., Wang, Y., Qin, Y., ve Sun, Q. 2023. ZnO nanoparticles coated and stearic acid modified superhydrophobic kitosan film for self-cleaning and oil–water separation, *International Journal of Biological Macromolecules*, 231, 123293.
- Zeng, Q., Zhou, H., Huang, J., ve Guo, Z, 2021. Review on the recent development of durable superhydrophobic materials for practical applications, *Nanoscale*, 13,27, 11734-11764.
- Zhan-Fang, C., Pei, Q., Pei, C., Xin, W., Guang-Yi, L., Shuai, W., ve Hong, Z, 2017. Super-hydrophobic coating used in corrosion protection of metal material: review, discussion and prospects, *Metallurgical Research ve Technology*, 114,2, 203.

Zhang, X., Shi, F., Niu, J., Jiang, Y., ve Wang, Z, 2008. Superhydrophobic surfaces: from structural control to functional application, Journal of Materials Chemistry, 18,6, 621-633.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ivan AL_JAF

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Sulimani Üniv., Biyoloji Bölümü, 2009-2013

Yüksek Lisans : Aksaray Üniv., Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2014-2016

Doktora : Aksaray Üniv., Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü

Tezler

1. Kaya, M., Sargin, I., Al-Jaf, I., Erdogan, S., & Arslan, G. 2016, Characteristics of corneal lens chitin in dragonfly compound eyes. International journal of biological macromolecules, 89, 54-61.

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

1. Al-Jaf, I., ve Kaya, M., 2023. Bitki Morfolojisi, Süperhidrofilikten Süperhidrofobiye Kadar Değişen Islatma Özelliklerine Sahip Yüzeylerin Biyo-İlhamlı Tasarımı, *Aksaray University Journal of Science and Engineering* (Kabul edildi).