



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ **YÜZEYİ GELİŞTİRİLMESİ**

RAMAZAN ERDEM

DOKTORA TEZİ

Tekstil Eğitimi Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKALIN

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Levent KABASAKAL

İSTANBUL, 2013



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ **YÜZEYİ GELİŞTİRİLMESİ**

RAMAZAN ERDEM

722809001

DOKTORA TEZİ

Tekstil Eğitimi Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet AKALIN

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Levent KABASAKAL

İSTANBUL, 2013

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında ve akademik hayatım boyunca beni yönlendirip bana her konuda destek olan ve kişisel gelişimime yaptığı önemli katkılarla bu günlere gelmeme vesile olan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Akalın'a, laboratuvar süreçlerinde sağladığı katkılar, yönlendirmeler ve yardımlar için Sayın Prof. Dr. Levent Kabasakal'a, doktora süresince desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç.Dr. İsmail Usta, Doç.Dr. E. Dilara Koçak, Yrd.Doç.Dr. Erkan İşgören ve Yrd. Doç. Suna Turan'a, tezimin başından sonuna dek her aşamasında bana yardımcı olan ve her türlü problemin aşılmasında beni yüreklendiren değerli dostum Araş.Gör. Erhan Sancak'a, laboratuvar ve tez yazım aşamalarına yaptıkları değerli katkılar için Dr. Metin Yüksek ve Araş. Gör. Onur Atak'a, SEM çekimlerinde uzmanlığından faydalandığım Mustafa İlhan'a, TEM çekimleri konusunda destek olan Sayın Prof.Dr. Serdar Salman ve GYTE'den Ömer Faruk Deniz'e, DSC analizlerinde bana yol gösteren ve çalışmalarına önemli katkılar sunan Sayın Prof.Dr. Mehmet S. Eroğlu'na ve Araş. Gör. Müge Sennaroğlu Bostan'a, Nanogümüş dispersiyonu tedarikinde yardımcı olan Polisan A.Ş. ve kıymetli Varol Ürel'e, bu süreçte varlıklarıyla her türlü sıkıntının üstesinden gelmemi sağlayan ve beni bir an olsun yalnız bırakmayan canım aileme, bir dosttan daha fazlası olan değerli arkadaşım Saygın Ürel'e, manevi desteği için sevgili Hacer Aykul'a, önemli destekleri için Mehmet Gündüz, Gültekin Küpeli, Salih Şahin, Ramazan Başşeksek, İbrahim Kızılelma ve tüm yakınlarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca maddi destek sağlayan Marmara Üniversitesi BAPKO birimine teşekkür ederim.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Merkezinin (BAPKO) FEN-C-DRP-090512-0170 nolu projesi kapsamında desteklenmiştir.

Mayıs, 2013

Ramazan ERDEM

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
YENİLİK BEYANI	vi
SEMBOLLER	viii
KISALTMALAR	x
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
TABLO LİSTESİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Derinin Yapısal Özellikleri ve Görevleri	3
1.1.1. Epidermis	4
1.1.2. Dermis	6
1.1.3. Hipodermis (Subkutan Tabaka)	6
1.2. Yara ve Yara Örtüleri	7
1.2.1. Yara ve Yara Çeşitleri	7
1.2.2. Yara İyileşme Evreleri ve Yönetimi	10
1.2.2.1. Yara İyileşme Evreleri	10
1.2.2.2. Yara İyileşme Sürecinin Yönetimi	17
1.2.3. Modern Yara Örtüleri	19
1.2.3.1. Hidrojel Örtüler	23
1.2.3.2. Hidrokolloid Örtüler	24
1.2.3.3. Alginat Bazlı Yara Örtüleri	25
1.2.3.4. Köpükler	27
1.2.3.5. Şeffaf Filmler	29
1.2.3.6. Nanolif Bazlı Yara Örtüleri	30
1.3. Elektroçekim Yöntemi	34
1.3.1. Tarihçe	34
1.3.2. Elektroçekim İşlemi	42
1.3.3. Elektroçekim Yönteminde Nanolif Özelliklerini Ekileyen Unsurlar	51
1.3.3.1. Çözeltiye Ait Unsurlar	53
1.3.3.2. İşlem Değişkenlerine Ait Unsurlar	60

1.3.3.3. Ortam Koşulları	66
1.4. Gümüş İyonu	67
1.5. Kitosan	73
1.5.1. Kitosanın Antibakteriyel Etki Mekanizması	81
1.5.2. Elektroçekim Yöntemiyle Kitosan Bazlı Nanolif Eldesi	84
1.5.3. Kitosan Bazlı Nanoliflerin Yara Örtüsü Uygulamaları	87
2. MATERYAL VE YÖNTEM	93
2.1. Çalışmada Kullanılan Malzemeler	93
2.2. Çözeltilerin Hazırlanması	94
2.3. Elektroçekim İşlemi	96
2.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizleri	97
2.5. Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi (DSC) Analizi	99
2.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometrisi (FT-IR)	99
2.7. Nanolif Bazlı Kompozitlerin Mukavemet ve Esneklik Testleri	100
2.8. Nanolif Bazlı Yara Örtüsü Yüzeylerin Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi	101
2.9. Nanolif Bazlı Yara Örtüsü Yüzeylerin Sitotoksik Özelliklerinin Belirlenmesi (Mtt Assay)	103
2.10. Nanolif Bazlı Yara Örtüsü Yüzeylerin Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Ölçülmesi (Hayvan Deneyi)	104
2.10.1. Uygulama Aşaması	105
2.10.2. Yara Küçülmelerinin Değerlendirilmesi	108
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	109
3.1. Çözelti Özellikleri	109
3.1.1. Viskozite ve İletkenlik	110
3.2. SEM ve TEM Sonuçları	114
3.3. Nanoliflerin DSC Analizi Sonuçları	120
3.4. Nanoliflerin FT-IR Analiz Sonuçları	122
3.5. Nanolif Bazlı Kompozit Yapıların Mekanik Özellikleri	128
3.6. Antimikrobiyal Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi	132
3.7. Sitotoksikite Testi (Mtt Assay) Sonuçları	138
3.8. Yara İyileşme Testi (Hayvan Deneyi) Sonuçları	140
4. SONUÇ	151
KAYNAKLAR	155
ÖZGEÇMİŞ	173

ÖZET

NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ YÜZEYİ GELİŞTİRİLMESİ

Çalışmalarımızda çeşitli karışım oranlarında hazırlanan (%30/70, %50/50, %70/30) Kitosan/PEO bazlı (nanogümüş katkılı ve katkısız) çözeltilerden elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolif bazlı kompozit yüzeylerin fiziksel, mekanik, termal ve antimikrobiyal özellikleri ile sitotoksisite seviyeleri ve iyileştirmeyi hızlandırıcı etkileri incelenmiştir. Denemelerde kullanılan Kitosan'ın molekül ağırlığı 60.000-120.000 g/mol, Polietilen oksit'in (PEO) molekül ağırlığı ise 600.000 g/mol'dür. Kitosan, sulu asetik asit'de (%90), PEO ise suda çözülerek homojen çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltideki toplam polimer miktarı (TPM) ağırlıkça %4 olarak belirlenmiştir. Nanogümüş disperisyonu ise saf suda ağırlıkça %10 olacak şekilde seyreltilerek %50/50 karışım oranındaki çözeltilere eklenmiştir. Her bir çözeltinin pH, viskozite ve iletkenlik tayinleri yapılmıştır. Elektroçekim işlemi sonucu, incelikleri 63 ± 23 nm ve 108 ± 51 nm aralığında değişen hatasız ve düzgün lifler elde edilmiştir. Elektroçekim işlemi sonunda elde edilen nanoliflerin fiziksel, termal ve mekanik özelliklerini tespit etmek amacıyla DSC, FTIR, SEM, TEM analizleri ve mukavemet testleri uygulanmıştır. Nanolif bazlı yüzeylerin antimikrobiyal etkinlikleri ise, Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538, Gram-negatif (*Escherichia coli*) bakterilere ATCC 25922 ve mantarlara (*Candida albicans*) ATCC 10231 karşı yürütülen test prosedürleri ile tespit edilmiştir. Sitotoksisite testi ISO 10993-5 protokolüne göre gerçekleştirilmiş, L-929 (ATCC, CCL-1 fare fibroblast hücre hattı) kullanılmıştır. Yara iyileşme testleri için Sprague-Dawley (SD) cinsi sıçanlardan faydalanılmıştır.

Mayıs, 2013

Ramazan ERDEM

ABSTRACT

FABRICATING NANOFIBER BASED WOUND DRESSING MATERIAL

Various ratios (30/70%, 70/30%, 50/50% with and without nanosilver) of Chitosan (60.000-120.000 g/mol) and Polyethylene oxide (600.000 g/mol) blended nanofibers in the nanofibrous composite form obtained through electrospinning process at ambient atmosphere. Homogenous Chitosan (CH) solutions were prepared in 90% aqueous acetic acid. Polyethylene oxide (PEO) was dissolved in deionized water and total polymer concentration of the blended solutions were 4wt.%. Nanosilver dispersion also prepared and added to the 50/50% blend of CH/PEO solution. All blended solution properties were determined by measuring viscosity and conductivity. DSC, FT-IR, SEM, TEM analysis and tensile tests were conducted to investigate the characteristics of the final nanofibrous composite structures. Beadless and uniform nanofibers were obtained and the diameter of the fibers ranged from 63 ± 23 nm to 108 ± 51 nm. Antimicrobial properties of the nanofiber based materials have been investigated against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538, Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria ATCC 25922 and fungi (*Candida albicans*) ATCC 10231. Cytotoxicity test was conducted according to ISO 10993-5 test protocols and L-929 mice fibroblast cell line was used. Animal model test was applied to Sprague-Dawley rats in order to investigate the wound healing performance of the nanofiber based materials.

May, 2013

Ramazan ERDEM

YENİLİK BEYANI

NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ YÜZEYİ GELİŞTİRİLMESİ

Tıp tekstillerinin gün geçtikçe büyüyen önemli bir dalı olan yara örtüleri, tıbbi ve cerrahi uygulamalarda sıklıkla kullanılan ve vücut içine implante edilmeyen tekstil malzemelerindendir. Son zamanlarda, doku mühendisliği alanında yaşanan gelişmelerin de etkisiyle yara örtüsü uygulamalarında yenilikçi yaklaşımlar ortaya çıkmıştır. Doku mühendisliğinde, hücrel faaliyetlerin en iyi şekilde desteklendiği, hücre dışı matris (ECM) benzeri iskele (scaffold) yapı oluşturmak hedeflenmektedir. Yapılan araştırmalar, Kronik ve Akut yaraların etkin tedavilerinde ECM benzeri fiziksel formun nanoliflerden oluşan ağ yapılarla sağlanabileceğini göstermiştir. Yara iyileşmesinde doku hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması, hücrelerin ECM'e ne kadar sağlıklı tutunabildikleri ile alakalıdır. Dolayısıyla, ECM'in morfolojik özelliklerini taklit edebilen biyouyumlu nanoliflerin, bağışıklık sisteminin ters tepkisiyle karşılaşmadan uzun süreli kullanımları mümkün olmaktadır.

Tekstilde nanoteknoloji uygulamaları son yıllarda önem kazanmakta ve tekstil ürünlerinde performans artırma ile yeni fonksiyonlar ilave etmeyi amaçlamaktadır. Nihai ürüne istenen özelliklerin kazandırılmasında en kalıcı ve etkili olanı lif ölçeğinde yapılan uygulamalardır. Nanolif üretme yöntemlerinden olan elektroçekim yöntemi de diğer yöntemler arasında en avantajlı olanıdır. İşlem; çekilecek olan polimer çözeltisi ya da eriği ile doldurulmuş şırınganın ucuna bağlı bir elektrota yüksek voltaj uygulanarak, elektrostatik kuvvetler altında nanoliflerin üretimi olarak özetlenebilir. Elektroçekim yönteminde nanolif özelliklerini etkileyen unsurlar; çözeltiliye ait unsurlar (viskozite, polimer konsantrasyonu, polimerin molekül ağırlığı, iletkenlik ve yüzey gerilimi), işlem değişkenlerine ait unsurlar (uygulanan voltaj, besleyici ve toplayıcı arasındaki mesafe, besleme oranı) ve ortam koşulları (sıcaklık ve nem) olmak üzere üç ana grupta incelenmektedir.

Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerden meydana gelen yara örtülerinin, geleneksel yöntemlerle elde edilen örtülere göre bazı önemli özellikleri ön plana çıkmaktadır. Bunlar; kanamayı dindirme (hemostasiz), yüksek sıvı emme (absorpsiyon) kapasitesi, gaz geçirgenliği (nefes alabilirlik), uygulanma rahatlığı (üç boyutlu yapı), yara izi oluşumunu azaltmasıdır.

Çalışmalarımızda çeşitli karışım oranlarında hazırlanan (%30/70, %50/50, %70/30) Kitosan/PEO bazlı (nanogümüş katkılı ve katkısız) çözeltilerden elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolif bazlı kompozit yüzeylerin fiziksel, mekanik ve termal özellikleri incelenmiştir. Daha önceki çalışmalarda, nanoliflere nanogümüş eklenmesi gümüş nitrat ($AgNO_3$) bileşikleriyle sağlanmıştır. Bu bileşiklere, yüksek sıcaklıklarda müdahale edilerek, mikrodalga radyasyon tekniği uygulayarak, UV ışınlarına tabi tutarak veya birtakım kimyasal indirgeme tepkimeleri ile gümüş iyonlarının nano boyutta olmak üzere lifler üzerine tutunmaları sağlanmıştır. Bizim çalışmalarımızda ise herhangi bir ilave işleme gereksinim duyulmaksızın nanogümüş dispersiyonu doğrudan kullanılmıştır. Çalışmalar sonunda elde edilen nanoliflerin hatasız ve düzgün oldukları ve inceliklerinin 100 nm altına düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca, denemelerimizde elde edilen nanolif bazlı kompozit yapıların fiziksel, mekanik ve termal özelliklerinin ideal bir yara örtüsü meydana getirebilmek için geçerli sonuçlar verdiği saptanmıştır. Elektroçekim teknolojisi kullanılarak elde edilen nanolif bazlı yüzeylerin Gram-negatif, Gram-pozitif bakterilere ve mantarlara karşı yapılan testlerde yüksek seviyede antimikrobiyal etkinlik sergilediği bulunmuştur. Yapılan analizler, nanolif bazlı yüzeylerin herhangi bir sitotoksik özelliklerinin bulunmadığını ortaya koymuştur. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, nanolif bazlı yüzeylerin yara kapanması ve iyileşme süreçlerine destek verdiğini kanıtlamıştır. Çalışmamız bu yönüyle orjinal bir çalışmadır.

Mayıs, 2013

Prof.Dr. Mehmet AKALIN

Ramazan ERDEM

SEMBOLLER

Ag^+	: Gümüş iyonu
kD	: KiloDalton
q	: Damla üzerindeki yük
ϵ_0	: Serbest uzayın iletkenlik sabiti
γ	: Damlanın yüzey gerilimi
a	: Damlanın çapı
H	: Elektrotlar arası mesafe (cm)
L	: Kılcal borunun uzunluğu (cm)
R	: Kılcal borunun yarıçapı (cm)
T	: Yüzey gerilimi (dyne/cm)
n	: Çözelti viskozitesi
r_0	: Oluşan damlanın yarıçapı
ϵ	: Sıvının yük taşıma kapasitesi (coulombs/voltcm),
m_0	: Birim zamanda akan madde miktarı (gram/saniye)
k	: Elektrik akımı ile ilgili sabit katsayı
σ	: Elektrik iletkenliği (amp/voltcm)
ρ	: Yoğunluk (gram/cm ³)
ht	: Nihai jet çapı
I	: Elektrik akımı

- x*** : Jetin merkezinden olan uzaklık
- rpm*** : Rotation per minute
- ΔH_m** : Erime noktasındaki ısı sığası
- M_w*** : Molekül ağırlığı
- ns*** : Nanosilver
- MPa*** : Megapascal
- μS** : Mikrosiemens
- cP*** : Centipoise
- T_g*** : Camı geçiş sıcaklığı (°C)
- T_m*** : Erime noktası sıcaklığı (°C)

KISALTMALAR

GIA	: Global Industry Analysts, Inc.
PEO	: Polietilen oksit
CH	: Kitosan
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
TGFα	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
HB-EGF	: Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü
bFGF	: Basit Fibroblast Büyüme Faktörü
aFGF	: Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü
KGF	: Keratinosit Büyüme Faktörü
PDGF	: Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
VEGF	: Damarlarla İlgili Büyüme Faktörü
ECM	: Hücre dışı Matris
CFU	: Colony Forming Unit
PAN	: Poliakrilo nitril
DMF	: Dimetilformamid
PLLA	: Polilaktik asit
PCL	: Polikaprolakton
SEM	: Scanning Electron Microscope
DMF	: Dimetilformamid

AC	: Alternatif akım
DC	: Doğru akım
CMC	: Karboksimetil selüloz
PVA	: Polivinil alkol
PS	: Polisitren
PU	: Poliüretan
TEM	: Transmission Electron Microscope
EDAX	: Energy-dispersive X-ray Spectroscopy
AFM	: Atomic Force Microscope
DD	: Deasetilasyon derecesi
PMN	: Polimorfonükleer hücre
LPS	: Lipopolisakkarit
XPS	: X-Ray Fotoelektron Spektroskopisi
TFA	: Trifloroasetik asit
DCM	: Diklormetan
PET	: Polietilen tereftalat
Q-CS	: Kuarterner Kitosan
CECS	: Karboksi etil kitosan
PVP	: Polivinilpirolidon
AgNPs	: Gümüş nanoparçacıklar
UV	: Ultraviyole
TPM	: Toplam Polimer Miktarı

- DSC** : Differential Scanning Calorimetry
- FT-IR** : Fourier Transmission Infrared Spectrophotometry
- SD** : Sprague-Dawley
- MTT** : (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
- PBS** : Phosphate Buffered Saline

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1.1. Derinin Yapısı	3
Şekil 1.2.2.1.1. Hemostasiz Evresi	13
Şekil 1.2.2.1.2. İnflamasyon Evresi	14
Şekil 1.2.2.1.3. Proliferasyon Evresi	15
Şekil 1.2.2.1.4. Maturasyon Evresi	17
Şekil 1.2.3.1.1. Suprasorb® G Hidrojel Yara Örtüsü	24
Şekil 1.2.3.2.1. Comfeel Plus Contour™, Coloplast (UK)	25
Şekil 1.2.3.3.1. Alginat bazlı yara örtüleri	26
Şekil 1.2.3.4.1. Suprasorb® P	28
Şekil 1.2.3.5.1. Şeffaf Filmler	29
Şekil 1.2.3.6.1. Nanolif bazlı, çok tabakalı, çok işlevli yara örtüsü şematik görünümü	32
Şekil 1.3.1.1. Elektroçekim yöntemiyle elde edilen tüp şeklindeki nanolif bazlı kompozit yapının oluşturulduğu toplayıcı düzenek	40
Şekil 1.3.2.1. Elektroçekim yöntemi ile nanolif eldesi	43
Şekil 1.3.2.2. Elektroçekim esnasında kılcal boru ucunda oluşan jetin maruz kaldığı kuvvetler	45
Şekil 1.3.2.3. Uygulanan Voltajın Arttırılmasıyla Taylor Konisi ve Jet Oluşumu	46
Şekil 1.3.2.4. Suda %2'lik polietilen oksit (PEO) ile hazırlanan çözeltinin elektriksel alan içinde oluşan jetleri	46
Şekil 1.3.2.5. Whipping kararsızlıkları (helezonik görüntü)	48
Şekil 1.3.2.6. PEO'nun nanolif eldesi aşamasında göstermiş olduğu kararsızlıkların stroboskopik ve stereografik görüntüleri	49
Şekil 1.3.2.7. Lif çapı ve tahmini yüzey alan grafiği	51

Şekil 1.3.3.1.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PEO çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin SEM görüntüleri	56
Şekil 1.3.3.1.2. Islak liflerin toplayıcıdaki görüntüleri	57
Şekil 1.3.3.2.1. Farklı voltajlar altında üretilen PEO liflerin SEM görüntüleri	62
Şekil 1.3.3.2.2. Nanoliflerdeki boncuklanma problemi	63
Şekil 1.3.3.2.3. Toplayıcı Çeşitleri	64
Şekil 1.3.3.2.4. (a) dönen disk tertibatı, (b) elde edilen PEO liflerin SEM görüntüleri	65
Şekil 1.3.3.2.5. Tahta (a) ve alüminyum (b) çerçeveler üzerine toplanan nanoliflerin karşılaştırılması	66
Şekil 1.4.1. Gümüş iyonunun antibakteriyel etki mekanizması	69
Şekil 1.4.2. (a) E. Coli hücreleri, (b) LB (Luria–Bertani) sıvısı içinde $50 \mu\text{g cm}^{-3}$ gümüş ile muamele edilmiş hücrelerin SEM görüntüleri	70
Şekil 1.5.1. Glikozamin (kitosan monomeri) ve glikozun (selülozun monomeri) kimyasal yapıları	74
Şekil 1.5.2. Kabuklu su ürünleri ve mantarlardan kitin eldesi	76
Şekil 1.5.3. Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları	77
Şekil 1.5.4. Kitosanın yara iyileşmesi üzerindeki etkisi	81
Şekil 2.1.1. (a) kullanılan polimer ve çözücüler, (b) çözeltiler ve sarf malzemeleri	94
Şekil 2.2.1. (a) Manyetik karıştırıcı (b) Hassas terazi	95
Şekil 2.2.2. (a) İletkenlik ölçer, (b) Viskometre	96
Şekil 2.3.1. Elektroçekim makinesi	97
Şekil 2.4.1. SEM (JSM-5910 LV from JEOL)	98
Şekil 2.4.2. TEM (FEI Tecnai F20-G2)	98
Şekil 2.5.1. DSC (Perkin Elmer Jade DSC)	99
Şekil 2.6.1. FT-IR (PerkinElmer Spectrum 100)	99
Şekil 2.7.1. (a) Instron mukavemet test cihazı, (b) test için hazırlanan numuneler, (c) kalınlık ölçme cihazı	100
Şekil 2.8.1. Plate Count Agar ve DRBC Agar Kapları	101

Şekil 2.8.2. 0,5µl-5ml Mikropipet ve steril petri kaplara yerleştirilmiş olan numuneler	102
Şekil 2.8.3. PBS ve numune içeren tüpler	102
Şekil 2.8.4. İnkübatör ve bakteri ve mantar süspansiyonları ile çimlendirme yapılmış agar kaplar	103
Şekil 2.9.1. Laminar-Flow Biyolojik Güvenlik Kabini	104
Şekil 2.10.1.1. Üzerinde yara alanları oluşturulan deney hayvanının şematik gösterimi. Her bir harf, yara üzerine kapatılan numuneyi simgelemektedir	106
Şekil 3.1.1.1. Polimer çözeltilerin viskozite değerleri grafiği	112
Şekil 3.1.1.2. Kitosan (CH) ve Polietilen oksit (PEO) molekülleri arasında gerçekleşen hidrojen bağları	112
Şekil 3.1.1.3. Polimer çözeltilerin iletkenlik değerleri grafiği	113
Şekil 3.2.1. Sadece Kitosan (CH) ve PEO ile hazırlanan çözeltilerin elektroçekimi sonucu ortaya çıkan yapıların SEM görüntüleri	116
Şekil 3.2.2. Kitosan (CH) ve PEO ile hazırlanan karışım çözeltilerin elektroçekimi sonucu ortaya çıkan yapıların SEM görüntüleri	118
Şekil 3.2.3. CH/PEO karışım çözeltilerinden elektroçekim yöntemiyle elde edilen liflerin incelikleri	119
Şekil 3.2.4. %50/50 karışım oranında hazırlanmış, nano gümüş katkılı CH/PEO bazlı nanoliflerin (a) SEM ve (b) TEM görüntüleri	120
Şekil 3.3.1. Nanoliflerin DSC analizi sonuçlarıdır	121
Şekil 3.4.1. Karışım çözeltilerden elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflere ait infrared grafikleridir	123
Şekil 3.4.2. %50/50 (Kitosan/PEO) karışım nanoliflere ait FT-IR grafiğidir	125
Şekil 3.4.3. %50/50 (nano gümüş katkılı) Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir	125
Şekil 3.4.4. %70/30 Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir	126
Şekil 3.4.5. %30/70 Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir	127
Şekil. 3.5.1. Nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortamala mukavemet değerleri	130

Şekil 3.5.2. Nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortalama uzama (%) değerleridir	130
Şekil 3.6.1. İnkübasyon sonrası üreme gösteren ve sayımları yapılan bakteri ve mantarlar	133
Şekil 3.6.2. Nanolif bazlı yara örtüsü yüzeylerin bakteri ve mantarlara karşı sergilemiş oldukları inhibisyon miktarı (%)	133
Şekil 3.6.3. (a) Gram negatif bakteri hücre duvarı yapısı, (b) Gram pozitif bakteri hücre duvarı yapısı	136
Şekil 3.6.4. 4 saatlik inkübasyon sonunda E.coli bakterilerinin üreme durumları	137
Şekil 3.6.5. 4 saatlik inkübasyon sonunda C.albicans mantarlarının üreme durumları.	137
Şekil 3.7.1. Yaşam oranı grafiği	139
Şekil 3.8.1. SD sıçanın sırt bölgesindeki yara pozisyonları (cerrahi müdahaleden hemen önce)	140
Şekil 3.8.2. SD sıçanın sırt bölgesine yerleştirilen yara örtüleri (0. gün-cerrahi müdahaleden hemen sonra)	140
Şekil 3.8.3. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 5. gün sonundaki durumları	141
Şekil 3.8.4. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 10. gün sonundaki durumları	141
Şekil 3.8.5. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 15. gün sonundaki durumları	141
Şekil 3.8.6. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 20. gün sonundaki durumları	142
Şekil 3.8.7. 5. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm ²)	144
Şekil 3.8.8. 10. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm ²)	145
Şekil 3.8.10. 20. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm ²)	147
Şekil 3.8.11. 0., 5., 10., 15. ve 20. günler sonunda açık yara alanlarında gözlenen ortalama değişimler (%)	148

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo.1.2.1. Fizyolojik durumlarına göre yara çeşitleri	8
Tablo 1.2.2.1.1. Yara iyileşmesinde etkin rol üstlenen sitokinler (büyüme faktörleri)	11
Tablo 1.2.2.2.1. Yara iyileşme evrelerine göre kullanılabilir yara örtüsü çeşitleri	18
Tablo 1.2.3.1. Oklusif özellikteki ticari yara örtüleri ve üreticileri	22
Tablo 1.2.3.6.1. Yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari yara örtüleri ve üreticileri	33
Tablo 1.3.1.1. Nanolif teknolojisi ile ilgilenen ticari firmalar	41
Tablo 1.3.2.1. Eriyik sisteme göre elektroçekimi yapılan polimerler ve işlem sıcaklıkları	50
Tablo 1.3.3.1. Elektroçekim değişkenlerinin lif özelliklerine olan etkileri	53
Tablo 1.3.3.1.1. Elektroçekim işleminde kullanılan çözücülerin özellikleri	57
Tablo 1.4.1. İyonik gümüş içeren ticari yara örtülerinden bazıları	68
Tablo 1.5.1. Kitosanın üretim koşulları	76
Tablo 1.5.2. Kitin, kitosan ve türevlerinin uygulama alanları	79
Tablo 1.5.1.1. Kitosanın antimikrobiyal etki gösterdiği mikro-organizmalar	82
Tablo 1.5.3.1. Kitosan, kitosan türevleri ve karışımlarının yara örtüsü amaçlı elektroçekimi ile ilgili detaylar	88
Tablo 2.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasallar	93
Tablo 2.8.1. Antimikrobiyal deneyler için hazırlanan numuneler ve kod numaraları	102
Tablo 2.10.1.1. Yara iyileşme testinde kullanılan numuneler ve denek kodları	106
Tablo 3.1.1.1. Elektroçekim için hazırlanan çözeltilerin viskozite ve iletkenlik değerleri	110
Tablo 3.3.1. PEO'ya ait erime noktası ve ısı sığası değerleri	122
Tablo 3.5.1. Nanolif bazlı kompozit yüzeylerin kalınlık değerleri	128

Tablo 3.5.2. Nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet ve % uzama değerleri	129
Tablo 3.6.1. Dört saatlik inkübasyon sonunda, nanolif bazlı kompozit yüzeylerde ve kontrol numunelerinde üreyen mikro-organizmaların sayıları	134
Tablo 3.8.1. 5, 10, 15 ve 20. günlerde ölçülen yaraların en ve boy uzunlukları (cm)	142

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Yara bakımına yönelik olarak üretilen ürünler konusundaki bilimsel araştırmalar ve ticari yatırımlar her geçen gün önemli ölçüde artmaktadır. GIA'nın (Global Industry Analysts, Inc.) yapmış olduğu araştırmaya göre; küresel ölçekte yara bakımı ürünleri pazarının 2017 yılına kadar 22,8 milyar dolara ulaşacağı öngörülmektedir. Bu artışın sebebi olarak; yaşlanan ve artan nüfus, diyabet ve obezite hastalarındaki sayısal artış ve uzman müdehale gerektiren hastalıklar gösterilmiştir [1].

Yara tedavisi anlamında özellikle öne çıkan, ticarileşmiş çok sayıda ürün bulunmaktadır. Kalsiyum alginat bazlı örtüler, poliüretan filmler, hidrojel özellikteki örtüler, hidrokolloid örtüler, köpük malzemeler günümüzde üzerine geniş araştırmalar yapılan materyallerdir. Yaranın fizyolojik durumuna (evre, derinlik, salgı miktarı, bakteriyel kontaminasyon) göre bahsi geçen örtüler tek başlarına ya da çeşitli kombinasyonlar halinde kullanılabilir. İlave işlevler de eklenebilen yara örtülerinin temel görevi, yaranın iyileşmesine katkıda bulunmak ve iyileşme süresini kısaltmaktır [2].

Tekstil üretiminde, nihai ürüne istenen özelliklerin kazandırılmasında en kalıcı ve etkili olanı lif ölçüğünde yapılan uygulamalardır [3]. Nanolif üretme yöntemlerinden olan elektroçekim yöntemi de diğere yöntemler arasında en avantajlı olanıdır. Geleneksel olarak tanımlanabilecek diğere lif üretim yöntemleri mekanik kuvvetlerden faydalanırken, elektroçekim yöntemi, elektrik alan kuvvetleri yardımı ile polimerden lif oluşumunu sağlar ve bu yöntemle elde edilen liflerin çapları nanometre boyutundadır [4].

Polimer çözeltilerinden ya da eriyiklerinden elektroçekim yöntemiyle elde edilen liflerin çapları mikrometrelerden nanometreler mertebesine indiğinde farklı karakteristik özellikler ortaya çıkmaktadır. Yüksek yüzey alan/hacim oranı, gelişmiş yüzey yapısı, bilinen herhangi bir materyal formuna göre daha iyi mekanik performans, küçülen gözenek boyutu ve artan gözeneklilik miktarı gibi özellikler bunlardan bazılarıdır [5].

Elektroçekim işleminde elde edilen liflerin özellikleri, polimer çözeltisinin viskozitesi, iletkenliği ve yüzey gerilimi, kullanılan polimerin molekül ağırlığı ve konsantrasyonu, çözücünün cinsi ve özellikleri, işlemin gerçekleştiği ortam, polimer çözeltisinin beslenme hızı, polimer jete uygulanan elektrostatik kuvvetlerin büyüklüğü, besleme ünitesi ve toplayıcı arasındaki mesafe gibi unsurlardan etkilenmektedir [6,7].

Kitosan, deniz kabuklarından ya da bazı bakterilerin hücre duvarından elde edilen kitinin kısmen ya da tamamen asetillenmesi ile elde edilmektedir. Kitosan'ın sahip olduğu biyouyumluluk, biyobozunurluk, hemostatik olma, antibakteriyel etkinlik, toksik olmama ve yara iyileşme sürecini hızlandırma gibi özellikleri birçok biyotıp uygulamasında tercih edilmesine neden olmaktadır [8-11].

Kitosan'ın polikasyonik yapısı elektroçekim işlemi için ciddi bir engel teşkil etmektedir. Bundan dolayı sentetik veya doğal polimerlerle birlikte elektroçekimi tercih edilmektedir. Polietilen oksit (PEO), Kitosan'ın elektroçekiminin yapılabilmesi için uygun, taşıyıcı bir polimerdir. Bunun yanısıra, PEO'nun suda çözünüyor olması, biyobozunur özellikler taşıması ve düşük derecede toksisite sergilemesi biyoygulamalarda geniş ölçüde kullanılmasını sağlamaktadır [12,13].

Gümüş, çok eski tarihlerden bu yana yaraların ve yanıkların tedavisinde kullanılmaya gelmiştir [14]. Son yıllarda, özellikle gümüş (Ag) nanoparçacıkların antibakteriyel etkisi üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır. Diğer tuzlarla karşılaştırıldığında, gümüş nanoparçacıklar sahip oldukları yüksek yüzey alan sayesinde mikro-organizmalara daha iyi temas ederek daha etkin bir antimikrobiyal etki göstermektedir. Bu manada gümüş, yara örtülerinden tıbbi amaçlı kullanılan birçok malzemeye kadar birçok üründe antimikrobiyal özellik sağlayan madde olarak kullanılmaktadır [15].

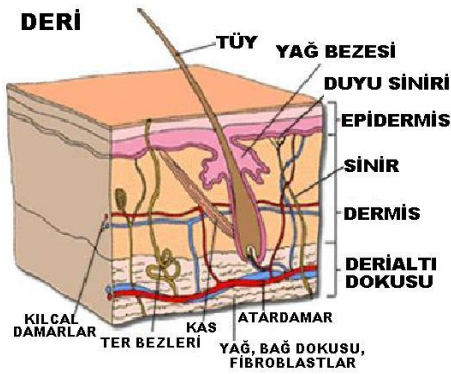
Bu çalışmanın amacı, çeşitli oranlarda karıştırılarak hazırlanan Kitosan/PEO bazlı polimer çözeltilerinden (nanogümüş katkılı veya katkısız) elektroçekim yöntemiyle üretilen nanoliflerin yara örtüsü olarak kullanımlarının uygunluğunu araştırmaktır. Bunun için çeşitli çözelti kompozisyonları üzerinde çalışılmıştır. Çözelti özellikleri tayin edilmiştir. Çözeltilere ve ulaşılmak istenen ideal yapıya dair elektroçekim işlemi şartları tasarlanmıştır. Elde edilen nanolif bazlı kompozit yapıların mekanik, fiziksel ve

termal özellikleri analiz edilmiştir. Nanogümüş parçacıkların, elektroçekim işlemi ve nihai lif özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, nanolif bazlı yüzeylerin yara örtüsü materyaller olarak kullanımlarının uygunluğunu araştırmak üzere antimikrobiyal testler, sitotoksosite analizleri ve hayvan deneyleri gerçekleştirilmiştir.

1.1. DERİNİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ VE GÖREVLERİ

Deri, vücudun ağırlıkça %16'lık kısmını oluşturur. Vücudun tüm yüzeyini kaplar. Ağırlığı, yetişkin bir kişide ortalama 15-20 kg'a (vücut ağırlığının %20'si) kadar ulaşır, yüz ölçümü ise 1.80-2 m² arasında değişir [16]. Derinin üzerinde dokunmayı, basıncı, ağrıyı, sıcaklığı, soğukluğu ve bunlara benzer dış etkileri algılamaya yarayan almaçlar bulunmaktadır [17].

Deri histolojik olarak üç tabakadan meydana gelmektedir. Bunlardan biri olan epidermis (epitelyum), epitelyal bir tabaka olup derinin yüzey kısmını oluşturmaktadır. Diğer tabaka dermis (corium) ise, mezodermal orijinli bir bağ tabakası olup epiderminin alt kısmında yer alır. Bu iki katın birleşim yerinde bazal zar ismi verilen bir alan mevcuttur. Bu yapı epiderminin beslenmesini ve iki tabakanın sıkı bir şekilde yapışmasını sağlar [16]. En altta ise, kimi kaynaklarda derinin bir parçası olarak kabul edilmeyen, deriyi daha alttaki dokulara gevşekçe bağlayan hipodermis (subkutanöz) katmanı mevcuttur [17-19].



Şekil 1.1. Derinin Yapısı [17].

Vücudumuzun hayati organlarından biri olan deri, vücudu dış etkenlerden koruma, vücuda şekil ve bütünlük kazandırma, vücut ısısını regüle etme, su dengesinin korunmasına katkıda bulunma, solunum ve boşaltıma yardımcı olma, duyular sayesinde çevre şartlarını algılamamızı sağlama ve bağışıklık sisteminin önemli bir üyesi olma gibi önemli işlevleri yerine getirmektedir [18,19].

Deri, etrafını sardığı organizmayı zedelenme ve küçük yaralanmalardan korur. Günde ortalama 240 g/m² su buharı geçirerek vücudun sıvı dengesini ayarlamasına yardımcı olur. Derideki kan damarları *vazodilatasyon* (damar genişlemesi) ve *vazokonstriksiyon* (damar daralması) ile vücudun termoregülasyonunu sağlarlar. Deride pH değeri ortalama 5 ya da 6 civarında olduğundan zararlı mikro-organizmaların geçişi ve yerleşmeleri oldukça zordur. Deri kendine has yapısıyla mikro-organizmaların üremesine izin vermezken, *kıl fōlikülü* ve *arrektör pili kası* arasında yerleşik olan *sebase* bezlerinden salgılanan *sebum* (bir çeşit yağ) sayesinde bazı bakterileri etkisiz hale getirir, mekanik etkilere karşı korumayı artırır. Ayrıca, derideki *Langerhans hücreleri* ve *T-Lenfositler* adı verilen bağışıklık sistemi hücreleri ile ek koruma sağlanırken, içerdikleri duyu sinirleri yardımıyla sıcaklık, soğukluk, sertlik, yumuşaklık vb. gibi fiziki şartlarla ilgili durumlar beyne iletilir. Deri hücrelerinin bir başka fonksiyonu da, ultraviyole ışınlarına karşı koruyucu görev üstlenen *melanin* pigmentininin üretilmesidir [18,19].

1.1.1. Epidermis

Epiderminin tüm vücutta katman kalınlığı 0,07-0,12 mm aralığında değişmektedir [18]. Derinin en üst tabakası olup, aşağıdan yukarıya doğru 5 kattan meydana gelmiştir. Bunlar;

1. Bazal tabaka (Stratum bazale)
2. Spinozum (Malpighi) tabakası (St. spinozum)
3. Granüler tabaka (St. granülozum)
4. Lusidum tabakası (St. lucidum)
5. Korneum tabakası (St. korneum) olarak isimlendirilirler.

Bazal tabaka, epiderminin en alt katmanı olup, bir diğer ismi ‘doğurucu tabaka’dır. Tek sıra halindeki silindirik hücrelerden meydana gelmiştir. Bu hücreler, keratinositler, melanositler ve Merkel hücreleri olarak bilinir [16].

Keratinositler, çoğalarak ve değişikliğe uğrayarak üst katları oluştururlar. Epidermal hücrelerin yaklaşık olarak %90-95’i keratinositlerden meydana gelir [16]. Esas görevleri keratin adı verilen fibriler proteinleri sentezlemektir. Keratin, derinin koruyucu özellik kazanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Epitelyumun yığın hücreleri keratinizasyona uğrar ve derinin yüzeyinde ölü katmanlar oluşur. Ölü deriler zamanla dökülerek yerlerine, epiderminin bazal katmanından mitotik aktivite ile gelen canlı hücreler geçer [18,19]. Melanositler, melanin pigmentini sentezlemekle görevlidirler ve keratinositler arasında yerleşmişlerdir. Derinin renk değişimi melanin pigmentinin varlığı ile doğrudan ilişkilidir. Epidermal hücrelerin yaklaşık olarak %3-5’ini oluştururlar. Merkel hücreleri ise duyuşal işlevli hücrelerdir. Epidermal hücrelerin ortalama %1’ine denk gelirler [16].

Spinozum (Malpighi) tabakası, bazal tabakanın üstünde, 5-7 sıra halinde yer alan çok köşeli (poligonol) hücrelerden ibarettir. Hücreler birbirlerine *sitoplazmik* (dikensi) çıkıntılarla tutunurlar. Keratin üretiminin bir aşaması olan *tonofilament* sentezi bu hücrelerde gerçekleşmektedir. Epidermal hücrelerin yaklaşık olarak %3-5’ini oluştururlar. Ayrıca, bu tabakada bağışıklık sistemine destek olmak amacıyla antijen (antikor üreten madde) sunma yeteneğine sahip *Langerhans hücreleri* de yer alır [16].

Granüler tabakada, 1-3 sıra halinde dizilmiş yassı hücreler bulunur. Hücrelerin çekirdekleri kısmen *atrofiktir* (kurumuş). Mukozalarda (bazı iç organların iç yüzünü kaplayan zar, sümüksü doku) bu tabaka görülmez [16].

Lusidum tabakası, yalnız el içi ve ayak tabanında görülen bir tabakadır. Normal tabakalardan daha açık bir renge sahiptir. Bu tabakadaki hücreler iğ şeklinde yassılaştırmış atrofik çekirdeğe sahip hücrelerdir. Sitoplazmalarında *eleidin* (keratohiyalinin değişimi ile oluşur) bulunur [16].

Korneum tabakası, derinin üst katında yer alan, boynuzsu tabaka adıyla da anılan ve çekirdeksiz hücrelerden meydana gelen tabakadır. Hücreler arası bağlar oldukça gevşektir. Bol miktarda keratin ihtiva eden bu hücreler kolaylıkla dökülebilmek özelliğine sahiptir [16].

Saçlar, tırnaklar, yağ ve ter bezleri de epidermden türerler. Epidermis kan damarlarından yoksundur. Bu nedenle, alt katmana ulaşan kılcal damarlar yoluyla gelen kanın difüzyonu ile beslenir [18,19].

1.1.2. Dermis

Epidermin altında yer alan ve derinin elastikiyet miktarını belirleyen tabakadır. Esas yapıyı *substansiya fundamentalis* (zemin madde) denilen jelatinöz bir madde meydana getirir. Fibroblastlar tarafından salgılanan bu madde, hiyalüronik asit, kondroitin sülfat, heparan sülfat, dermatan sülfat ve diğer mukopolisakkaritlerden oluşur, yüksek oranda su tutma kapasitesine sahiptir. Bu yapı içerisinde kolajen, retiküler (ağsı) lifler ve değişik yapısal hücreler dağılım gösterir. Vücudun yapısal proteini kolajendir, tendonlarda, bağ dokularında ve derimde bulunur. Derinin kuru ağırlığının %70'i kolajenden meydana gelmektedir [16].

Dermisin kalınlığı, vücudun farklı bölgelerine göre değişkenlik gösterir. Mesela; göz kapaklarında 0,6 mm'nin altındadır. Ellerde ve ayak tabanında ise kalınlığı 3 mm'nin üzerine çıkabilmektedir. Kadınlarda bu katmanın kalınlığı erkeklerinkine göre daha incedir. Dermis tabakası kıl folikülleri, ter ve sebace bezleri, kılcal damarlar, sinirler ve sinir uçları gibi metabolik yapıları ihtiva eder [18,19].

Dermis papiller (kabarcıklı) ve retiküler (ağsı) kat olmak üzere iki katmandan oluşmaktadır. Papiller tabakada, kapiller damarlar ve duyu alan sinir lifleri bulunur. Bu katta bağlayıcı (konnektif) lifler deri yüzeyine dik olarak seyredir. Retiküler kat derminin alt kısmına verilen isimdir. Bu tabakada bağlayıcı lifler deri yüzeyine paralel seyir gösterirler [16].

1.1.3. Hipodermis (Subkutan Tabaka)

Kimi kaynaklarda derinin ana katmanlarından sayılmayan bu tabakada, bağ dokusu lifleri deri yüzeyine dik olarak seyir gösterirler (septa). Bu durum, oldukça yoğun olan

yağ hücre topluluklarının lobüller (yuvarlak ve yumuşak çıkıntılar) oluşturmasına sebebiyet verir. Bu yağ topluluğuna pannikülus adipozus ismi verilir.

Bu tabakada duyusal sinirler, yüzeysel damarlar ve arterler, lenf damarları ve mimik kasları bulunur. Yapısının gevşek bağ dokudan oluşması nedeni ile üzerinde yer alan deri rahatça hareket ettirilebilir. Yağ dokusu ise vücut ısısının korunmasında etkilidir [16].

1.2. YARA VE YARA ÖRTÜLERİ

1.2.1. Yara ve Yara Çeşitleri

Yara; mekanik, termal, elektriksel ve kimyasal etkiler sonucu oluşan zedelenmeler ya da tıbbi veya fizyolojik rahatsızlıkların altında yatan nedenler sonucu, deri ya da doku bütünlüğünde meydana gelen bozukluklar olarak tanımlanabilir. Yaralar, açık ve kapalı olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılırlar. Açık yaralar; kesik yaralar, ezik yaralar, batıcı yaralar, ısırık, sokmalar ve yanıklardır. Kapalı yaralar ise; kontüzyon (ezilme), sıyrık, hematom (deri altında kan toplanması) ve burkulmadır. Açık yaralarda üstteki deri tabakasında doku kaybı meydana gelmekte iken, kapalı yaralarda derinin bütünlüğü söz konusu olmakla birlikte, darbe nedeniyle deri altındaki dokularda kanama meydana gelir [2].


Yaralar, ayrıca, derinin zarar gören katman sayısına göre de sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırmaya göre, sadece epidermisin zarar görmüş olduğu vakalar için süperfisyal (yüzeysel) yaralar tabiri kullanılır. Öte yandan, epidermis ile birlikte, dermis ve daha alt katmanların, yağ ve ter bezlerinin, damarların, kıl folüküllerinin etkilendiği daha derin yaralanmalar ise tam kalınlıktaki yaralar olarak tanımlanmaktadır [20,21]. Epidermis damarsız bir yapıya sahiptir ve epitelizasyon ile iyileşirken, dermis granülasyon dokusu oluşumu ve kolajen sentezi ile iyileşir [22].





Yaralar, fizyolojik durumlarına göre ise; nekrotik (çürüyen yaralar), akıntılı kabuklu yaralar, akıntılı granüle yaralar, epitellenen yaralar ve iltihaplı yaralar olarak farklı başlıklar altında tanımlanabilir. Bu beş yara tipi fiziksel görünüşleri, oluşturulan salgı miktarları ve mikrobik kontaminasyon seviyeleri bakımından farklılıklar göstermektedir (Tablo1.2.1) [2].

Yara yatağı nekrotik doku, kabuk veya akıntı ile kaplı olabilir. Kan akımı bozularak canlılığını kaybetmiş dokular olarak ortaya çıkarlar. Yara yatağında bu tür dokuların varlığı iyileşmeyi önlemektedir. Bu tür dokular, aynı zamanda zararlı mikro-organizmaların yerleşmesi için uygun ortam oluşturacağından, yarada mikrobik kirliliğin gelişmesini de tetiklerler [23].

Nekrotik dokular ve mikrop kapmalar, yarada koku oluşumuna neden olmaktadır. Mikrobik oluşumların çeşidine ve nekrotik doku miktarına bağlı olarak yara çevresine farklı özelliklerde koku yayılması söz konusudur. Son yıllarda tıbbi kullanım amaçlı olarak geliştirilen ve elektronik burun adı verilen sensörler yardımıyla, yara üzerinde kokuya neden olan mikro-organizmalar tanımlanabilmektedir [23].

Tablo.1.2.1. Fizyolojik durumlarına göre yara çeşitleri [24-26].

Yara Çeşidi	Görünüş	Açıklama	Resimler
Nekrotik (Çürüyen) Yaralar	Dokununca acıyan, çoğunlukla siyah ve koyu yeşil renkte, kalın ve kuru yaralardır	Sağlıklı derinin hemen üzerinde yer etmiş olan kuru nekrotik tabaka, proteolitik enzimlerin ve makrofajların faaliyetleri ile birlikte sağlıklı deriden ayrılmak üzeredir. Kuru ortam koşulları, makrofajların ve enzimlerin işlevlerini yerine getirmesini zorlaştırır.	

Akıntılı Kabuklu Yaralar	Sulu, nemli ve yapışkansı bir tabakaya sahip, sarı renkli nekrotik bir dokudur.	İnflamasyon evresinde fazlaca akıntı oluşumu gözlenir. Yaranın kabuklu olması inflamasyon evresinin uzamasına ve dolayısıyla iyileşmenin gecikmesine neden olur.	
Akıntılı Granüle Yaralar	Yüksek derecede granüle olmuş doku kırmızı ya da koyu pembe bir renk alır. Akıntı oluşumu mevcuttur.	Yara, proliferasyon (çoğalma) evresindedir.	
Epitellesen Yaralar	Epidermis oluşumunun gözlendiği pembe renkli yaralardır.	Proliferasyon evresinin son aşamaları tezahür etmektedir. Hücre göçü devam eder.	
Mikrop Kapmış, Kötü Kokulu ve İltahaplı Yaralar	Ağrılı ve bakteri oluşumu dolayısıyla koku yayan, yeşil renkli yaralardır	Hastalık bulaşması, infalamasyon evresinin uzamasına neden olur. Epitelizasyon ve kolajen sentezi devam etmektedir. Antibiyotik ile tedavi gerektirir.	

Yaralar iyileşme süreçlerine göre ise ‘akut’ ve ‘kronik’ yaralar olmak üzere iki sınıfa ayrılır. ‘Akut’ terimi genellikle son zamanlarda oluşmuş ve insizyon (yarık) ya da yanık gibi tek tip yara hasarının sonucu olan yaralar için kullanılır. Akut yaraların birçoğu birkaç gün içinde iyileşmeye başlar, hasar gören doku iki hafta içinde onarılır [27]. Yara izi ve kabuk oluşumu en az seviyededir. Sert cisimlerin sürtünmesi ile oluşan zedelenmeler ve yırtılmalar, bıçaklanma ve silahla vurulma gibi penetrasyonların sözkonusu olduğu yaralanmalar, cerrahi operasyon sonucu ortaya çıkan kesikler, kimyasal aşınmalar, radyasyondan kaynaklı yaralanmalar ve yanıklar akut özellikler gösterebilirler. Termal kaynaklı kazalar sebebiyle meydana gelen yanıkların derecesi termal kaynağın cinsi, şiddeti ve maruz kalınan süre ile doğrudan ilişkilidir. Bu tür yaralar uzman müdahale gerektirir [28].

“Kronik” terimi ise, 4-6 hafta içinde iyileşmesini tamamlayamayan yaralar için kullanılır [27]. Kronik yaraların büyük bir kısmı uygun tedavi yöntemleri ile herhangi bir gecikme olmaksızın iyileşirken, bazı yaralarda ise çeşitli etkenlerin etkisiyle iyileşme süresi uzamaktadır. Bu tür yaraların tedavisinde amaç; belirtileri etkili bir biçimde ortadan kaldırmak ve iyileşme sürecini mümkün olduğunca hızlandırmaktır [23].

Kronik yaraların oluşmasındaki başlıca nedenler; bölgesel ve diğer nedenler olarak ikiye ayrılmaktadır. Bölgesel nedenler; yetersiz kan akımı, derinin aşırı gerilmesi, cerrahi yaranın uygun kapatılmaması, yetersiz venöz drenaj, yabancı cisim varlığı, mikrop kapma, yara bölgesinin hareketli olması (eklem bölgesi v.s) şeklinde ifade edilebilir. Diğer nedenler ise, ileri yaş, obezite, sigara kullanımı, beslenme bozukluğu, vitamin ve eser element eksikliği, terminal dönemde malin hastalık, kimyasal tedavi ve ışın tedavisi, bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç kullanımı, steroid ve antikoagulan kullanımı olarak sıralanabilir [23].

1.2.2. Yara İyileşme Evreleri ve Yönetimi

1.2.2.1. Yara İyileşme Evreleri

Geleneksel olarak bağışıklık sisteminin verdiği tepkiler iki şekilde olmaktadır; kalıtsal (innate) ve uyumsal (adaptive) bağışıklık sistemi tepkileri. Kalıtsal bağışıklık sistemi tepkisi, yabancı hücreler ve mikroplara karşı ilk olarak geliştirilen tepkidir ve epitel engel oluşturma, yutan (fagositik) eylemlerle (nötrofiller, makrofajlar, dentritik

hücreler) ve doğal yok edici hücreler ile müdahale şeklinde ortaya çıkmaktadır. Uyumsal bağışıklık sistemi tepkisi ise bir sonraki adımda yabancı mikro-organizmalara karşı geliştirilen ve daha etkin olan tepkidir. Uyumsal bağışıklık sistemi tepkisi; hücrel ve hormonal düzeydeki tepkiler olmak üzere iki alt grupta incelenir. Hücrel tepkiler T-limfositler ve salgıladıkları sitokinler vasıtasıyla yönetilirken, hormonal düzeydeki tepkiler B-limfositler ve salgıladıkları antikorlar tarafından kontrol edilir. Bahsi geçen bileşenler arasında bağışıklık sistemi için en önemlilerden bir tanesi makrofajlardır. Yara iyileşme süreçlerinde önemli roller üstlenen makrofajlar, inflamasyon reaksiyonunun harekete geçirilmesi, ölü dokunun yara ortamından uzaklaştırılması, yabancı mikro-organizmaların çoğalmasının önüne geçilmesi, uyumsal bağışıklık sistemi tepkisi ile gerekli etkileşimlerin sağlanması gibi işlevler sergilerken bir yandan da yeni doku oluşumuna etkin bir şekilde destek verirler [29].

Yara iyileşmesi esnasında meydana gelen birçok biyolojik olay büyüme faktörü ya da sitokinler olarak adlandırılan kimyasal sinyallerle yönetilir. Bu sinyallerin büyüme faktörleri olarak isimlendirilmelerinin nedeni yara iyileşme mekanizmasında gözlemlenen işlevlerinin bu yönde olmasından kaynaklanmaktadır. Hücre büyümesi yanında, hücre göçü, matris üretimi, enzimlerin salgılanması, dokudaki değişimler hep bu sinyaller vasıtasıyla gerçekleştirilir. Sitokinlerin ağırlıkları 4-60 kD arasında değişir. Ortamda az miktarlarda bulunsalar bile hücrel faaliyetlerin yönetilmesinde yeterli olurlar. Yara iyileşmesinde aktif rol alan bazı önemli sitokinlerin listesi aşağıdaki tabloda sunulmaktadır [30].

Tablo 1.2.2.1.1. Yara iyileşmesinde etkin rol üstlenen sitokinler (büyüme faktörleri) [30]

Sitokinler	Hücre Orjinleri	Görevleri
Epidermal Büyüme Faktörü Grubu		
- Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	Makrofajlar	Keratinosit hareketliliği ve proliferasyonu
- Dönüştürücü Büyüme Faktörü (TGFA)	Makrofajlar, Keratinositler	Keratinosit hareketliliği ve proliferasyonu

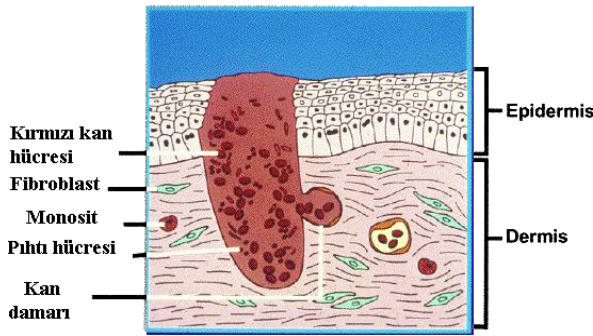
- Heparin Bağlayan Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF)		Makrofajlar	Keratinosit hareketliliği ve proliferasyonu, fibroblastların proliferasyonu, ECM'nin oluşturulması.
<hr/>			
Fibroblast Büyüme Faktörü Grubu			
<hr/>			
- Basit Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF)		Makrofajlar, Endotel Hücreler	Anjiogenesisiz, Fibroblast Proliferasyonu
- Asidik Fibroblast Büyüme Faktörü (aFGF)		Makrofajlar, Endotel Hücreler	Anjiogenesisiz, Fibroblast Proliferasyonu
- Keratinosit Büyüme Faktörü (KGF)		Fibroblastlar	Keratinosit hareketliliği ve proliferasyonu
<hr/>			
Dönüştürücü özelliği olan Büyüme Faktörleri β Grubu			
<hr/>			
- Dönüştürücü Büyüme Faktörleri $\beta 1$ ve $\beta 2$ (TGF- $\beta 1$ ve TGF- $\beta 2$)		Pıhtı Hücreleri, Makrofajlar, Fibroblastlar, Keratinositler	Keratinosit hareketliliği, Makrofajların ve fibroblastların kemotaksisi, ECM sentezi ve maturasyonu
- Dönüştürücü Büyüme Faktörü $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$)		Makrofajlar	Yara izi oluşumunu önlemek
<hr/>			
Diğerleri			
<hr/>			
- Trombosit kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)		Pıhtı Hücreleri, Makrofajlar, Keratinositler	Makrofajların aktivasyonu, fibroblast proliferasyonu, ECM formasyonu, miyofibroblast oluşumunun tetiklenmesi
- İnsülin benzeri Büyüme Faktörü (IGF)		Makrofajlar, Keratinositler, Fibroblastlar	Epitelizasyon, ECM formasyonu

- Damarlarla ilgili Büyüme Faktörü (VEGF) Makrofajlar, Keratinositler Angiogenesisiz, damar geçirgenliğinin artırılması

Yaralanma olarak tabir edilen etki sonucunda dokularda hasarlar meydana gelir ve vücut, karmaşık ve eşgüdümlü bir biçimde seri olarak yapılanma sürecine girer. 1929 yılında, Howes, Sooy ve Harvey'in çalışmaları sonucunda yara iyileşmesi genel olarak üç evrede tanımlanmıştır.

- İnflamasyon Evresi
- Proliferasyon (Çoğalma) Evresi
- Maturasyon Evresi (Yeniden Modelleme) [31]

İnflamasyon evresi, yaralanmadan hemen sonra başlar ve tahmini olarak 4 gün sürer. Bu evrede gerçekleşen ana olaylardan ilki hemostasiz, yani kanamanın durdurulmasıdır. İkinci belirleyici olay ise bakterilerin, yabancı cisimlerin ve diğer hastalık taşıyıcıların ortamdaki uzaklaştırılmasıdır [32].

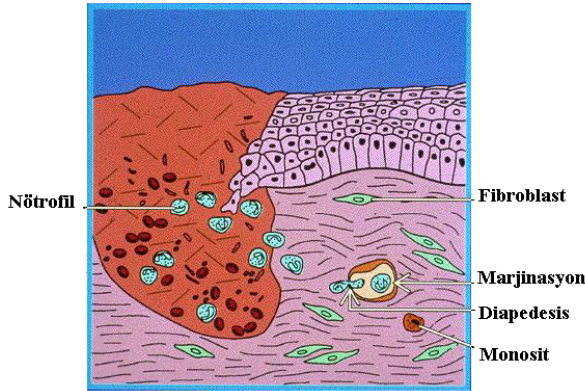


Şekil 1.2.2.1.1. Yaralanma ile birlikte doku bütünlüğü bozulur ve kandaki pıhtı hücreleri birbirlerine ve ortamdaki kolajene tutunurlar. Pıhtı hücreleri PDGF ve TGF- β salgınları yaparak iyileşme sürecini başlatırlar [30].

Yaralanma ile birlikte kan damarlarının bütünlüğü bozularak kanama meydana gelir. Hemen ardından, eritrosit ve trombositlerin hasarlı endotel ve kolajen ile teması

gerçekleşir. Trombosit tutunması (adezyon) ve yığılması (agregasyon) ve fibrinojen, trombin ve diğer pıhtılaşma faktörleri yardımı ile pıhtılaşma meknizması harekete geçer. Oluşan pıhtı; fibrin, fibronektin, trombin, trombosit vitronektin, von Willebrand faktörü ve trombozpondin gibi kan proteinleri ile eritrosit ve lökosit gibi şekilli yapılar içerir. Pıhtıyı oluşturan bu yapısal maddeler sayesinde, inflamasyon faaliyetini başlatan sitokin ve büyüme faktörleri salgılanır [33].

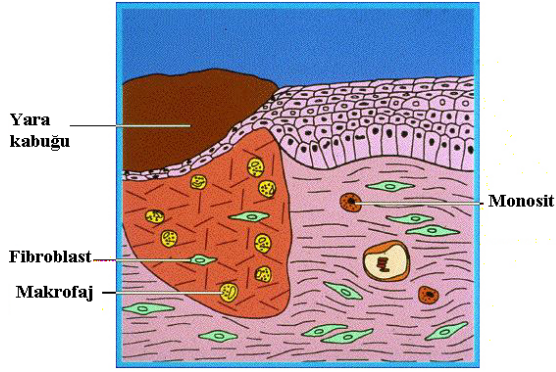
Kanamayı durdurmak için önce vazokonstrüksiyon (damarların kasılması ve daralması) meydana gelir. Kanama azalır, yara bölgesine lökosit hücumu başlar. Daha sonra, etkin halde bulunan doku mast hücrelerinden seratonin ve histamin hormonları serbest bırakılarak vazodilitasyon (damarlarda genişleme) süreci başlatılır. Böylece yara yatağına hücre göçünü başlatmak mümkün hale gelir. Damar içi hidrostatik basınç artar ve kan akışı hızlanır. Yara yatağındaki bakterilerden ve hücrelerden salınan kemotaktik salgılar ve büyüme faktörlerinin uyarısıyla kandaki inflamatuvar hücreler, damar duvarlarındaki boşluklardan yara yatağına doğru göç ederler. Yara yatağında bir matris (kafes) oluşturulduktan sonra fibroblastlar sahaya gelir ve kolajen sentezine başlarlar [2, 33, 34].



Şekil 1.2.2.1.2. Yaralanmanın meydana geldiği ilk günün sonunda nötrofil hücreleri, yarayı çevreleyen damarların çeperlerine yapışırlar (marjinasyon) ve sonrasında şekil değiştirerek çeperlerden dışarıya doğru çıkıp (diapedesis), yara alanına doğru göç etmeye başlarlar [30].

İnflamasyon evresinde bakterilerin, yabancı cisimlerin ve hastalık yapıcı maddelerin uzaklaştırılması için, parçalı çekirdekli lökosit olarak bilinen nötrofiller devreye girer. Bu yapıların ömürleri 6 saat kadardır [30]. Yaralanmadan yaklaşık olarak 48 saat sonra

ortaya çıkan makrofajlar ise hem kirletici etki gösteren mikro-organizmalarla mücadele ederler hem de nekrotik oluşumun yara bölgesinden uzaklaştırılması için görev yaparlar [34].



Şekil 1.2.2.1.3. İnflamasyon evresi devam ederken makrofajlar aktif hale gelirler ve yara bölgesine doğru hareketlenirler. Yüksek seviyede fagositik özelliğe sahip bu hücreler, PGDF ve TGF- β salınımını tetikleyerek fibroblastların yara bölgesine gelmelerini sağlarlar. Böylelikle proliferasyon evresi başlamış olur [30].

Proliferasyon evresi (hücre çoğalması), inflamasyon evresinin bitimine doğru başlar ve 3 hafta kadar sürer. Bu fazda hücreler, ayrışma, çoğalma, farklılaşma ve göç etme eğilimi gösterirler.

İnflamasyonun yatışmasıyla birlikte iğsi ve oval çekirdekli fibroblastların yara ortamındaki sayıları artar. Fibroblastlar, fibrin ağını parçalarlar ve kolajen depolanmasını sağlarlar. Böylelikle, yaradaki granülasyon dokusunun oluşumu, epitelizasyon ve yara alanının daralması (kontraksiyon) gerçekleşmektedir [33].

Yaralanmadan 2-3 gün sonra granülasyon dokusu yara bölgesini doldurmaya başlar. Granülasyon dokusu bünyesinde kolajen, limfositler, fibronektin ve hyaluronik asit gibi maddeler ile fibroblastları, makrofajları, yeni oluşan kılcık tomurcuk yapıları ve hücre dışı matrisi (Extracellular matrix, ECM) barındırır. Granülasyon tabiri, yara yüzeyindeki dokunun parlak kırmızı granül görünümünden ileri gelmektedir. Her bir granül yeni bir kılcık tomurcuğu temsil etmektedir. Granülasyon dokusu açık yaraların iyileşmesinde mikrop bulaşmasına karşı koruma görevi üstlenir. Ayrıca, epitel doku hücrelerinin göç etmesi için bir zemin oluşturur. İnflamatuar evre sürecinde şekillenen

geçici matris, içerdiği büyüme faktörleri, sitokinler, hyaluronan ve fibronektin vasıtasıyla, granülasyon dokusu oluşumunu destekler [33].

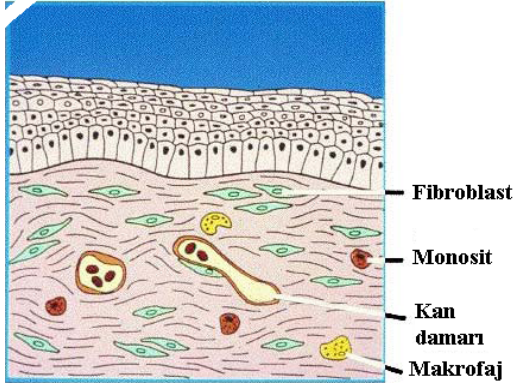
Granülasyon dokusunun oluşumu başladıktan sonra, fibroblastlar yara kenarından köken alarak yara merkezine doğru göç ederler ve çoğalırlar. Fibroblastlar onarım sürecinin esas elemanıdır ve dokuların yeniden yapılanması sürecinde kullanılan, yara olgunlaşmasında rol oynayan ve geçici matrisin yerini alacak olan elastin, fibronektin ve glikozaminoglikanlar (GAGs) gibi şekilsiz temel madde bileşenlerini ve kolajenaz gibi proteinlerin parçalanmasından sorumlu enzimlerin sentezlenmesini sağlarlar [33].

Yara bölgesinde biriken yeni ECM oluşum sayesinde anjiogenesis süreci başlar, epitelizasyon devam eder. Anjiogenesis, yara bölgesindeki yeni endotel hücrelerden yeni kan damarları üretilmesine verilen isimdir ve birtakım büyüme faktörleri (VEGF, bFGF, TGF β) tarafından harekete geçirilir. Takriben, yaralanmadan sonraki ikinci günde anjiogenik uyarımlara cevap olarak, kılcak damar uçlarında bulunan endotel hücreler yara içine hareket edip birbirleri ucuna dizilirler. Bu durum kapiller tomurcuklanmayı meydana getirir. Daha sonra bu tomurcuklar, diğer yönlerden gelen tomurcuklarla birleşip dallanarak kılcak damarlarla örülü bir ağ oluştururlar. Yara onarımı sırasında meydana gelen hücre göçü, çoğalması ve sentez işleminin gerçekleşebilmesi için gerekli olan oksijen ve enerji, yeni oluşan bu kan damarları ile sağlanır [30,33].

Matrisin yeterince birikmesi ve fibroblastlarda protein sentezinin sona ermesinin ardından, fibroblastlar, yapısal ve işlevsel olarak farklılaşarak kasılabilen (kontraktıl) miyofibroblast olarak isimlendirilen düz kas hücrelerine benzer bir yapı kazanırlar. Miyofibroblastlar, onarım sürecinin ikinci haftasında, yara kenarlarının yara merkezine doğru çekilmesi ile yara alanının küçültülmesine katkı sağlarlar [2, 33].

Yara iyileşmesinde bir başka tamamlayıcı süreç ise, çoğalma evresinde gerçekleşen epitelizasyon eylemidir. Yaralanmadan sonra epitel hücrelerinin ayrılmasını, göç etmesini, çoğalmasını, organize olmasını ve keratinizasyonunu kapsayan bir hadisedir. Pıhtı hücreleri, makrofajlar ve keratinositler tarafından harekete geçirilen EGF ve TGF α vasıtasıyla epitelizasyon süreci başlatılır. Epitel olgunluk belli bir seviyeye ulaştıktan sonra, yara kabuğunu tutan bağların parçalanması ve kabuğun

uzaklaştırılması için enzimler salgılanır. Meydana gelen yeni epitel hücreler, mikroplara karşı koruma sağlamakta ve sıvı kaybını önlemeye yardımcı olmaktadır. Zamanla epitel doku tabakalaşır ve yavaş yavaş keratinize olarak sağlamlaşır [2, 30, 33, 34].



Şekil 1.2.2.1.4. Yeniden modelleme (maturasyon) evresi, hücre dışı matris (ECM) bileşenlerinin sentezlenme ve parçalanma (degradasyon) faaliyetleri ile sürekli olarak denge konumuna ulaşmaya çalışır [30].

Maturasyon (Yeniden modelleme) evresi, yara onarım sürecinin son basamağı ve en uzun süren aşamasıdır. Epitelizasyonun tamamlanması ile birlikte yara iyileşmesinin tamamlandığı varsayılır, ancak onarılan bölgede daha pek çok olay meydana gelmektedir. Bu evrede, yüksek miktarda damar ve hücreli oluşumlar içeren granülasyon dokusu yerini, daha az damar ve hücreli oluşumlar içeren kabuk dokusuna bırakır. Fibroblastların sayısı azalır, kolajen üretimi dengeye ulaşır. Kolajen formları birbirleri ve diğer protein yapıları ile çapraz bağlar oluştururlar, doku sağlamlığı ve yara direnci artar. Yaranın rengi soluklaşır. Hücre dışı matris (ECM) olgunlaşır [2, 33, 34].

1.2.2.2. Yara İyileşme Sürecinin Yönetimi

Yara iyileşme sürecini etkin bir şekilde yönetebilmek için, tedavisi yapılacak yaranın türünü belirlemek, tedavi şeklini tanımlamak, hastanın genel durumu hakkında bilgi sahibi olmak ve tedavi süreci boyunca kullanılacak olan yara örtüsü gibi materyallerin fiziksel ve kimyasal özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekmektedir [35]. Yaranın açıkta bırakılmaması, yeterli miktarda nemli tutulması ve kirliliğin engellenmesi önemli adımlardır.

Tablo 1.2.2.2.1. Yara iyileşme evrelerine göre kullanılabilen yara örtüsü çeşitleri [2].

Yara İyileşme Evreleri	Yapılması Gerekenler	Uygulanması Gereken Örtü Tipleri
İnflamasyon Evresi	Ölü doku ve kirliliğin temizlenmesi	Salgı emiciler
	Enfeksiyonun önlenmesi	Alginatlar
	Salgının emilmesi	Köpükler
Proliferasyon (Çoğalma) Evresi	Ortam neminin kontrol altına alınması	
	Salgının emilmesi	Hidrokolloidler
	Isı izolasyonu	Hidrojel
	Bakterilerden koruma	
Maturasyon (Yeniden Modelleme) Evresi	Tedavi edilen yaranın travmalardan korunması	İnce Hidrokolloidler, Köpükler, Filmler

Yaraların açık bırakılması kirlilik riski ile birlikte, yara yüzeyinden sıvı, ısı, protein ve elektrolit kayıplarına yol açarak yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Su kaybı ile yaşanan doku kuruluğu ve ısı kayıpları, canlı dokularda doku ölümlerine (nekroz) yol açmakta ve böylelikle hücre gelişimi ve üremesi sekteye uğramaktadır. Bu durum iyileşmeyi güçleştirir. Bununla birlikte, açık yaralar lökositler açısından ortam uygunluğu sağlayamadıklarından, lökositlerin yara yüzeyinden daha derinlere inmesi söz konusu olabilmektedir. Bu durum, yara yüzeyinde bakteri ve nekrotik doku oluşumunu hızlandırıcı etki yapabilmektedir [36].

Geleneksel yara örtüleri çoğunlukla yaranın kapatılması ve aşırı akıntının emilmesi amacıyla üretilmektedir. Daha önceki çalışmalarda, bakteri oluşumunu engellemek için yaraların kuru tutulmasının gerektiği görüşü savunulmuştur. Bununla birlikte, aşırı nem

ise yara kenarları ve çevre dokuların ıslanarak yumuşamasına (maserasyon) neden olmaktadır. Kronik yara akıntısının iyileşme sürecine zarar verdiği bilinmektedir [27, 37-39]. Aşırı kuruluk ise hücrelerin göçünü yavaşlatmakta ve epidermal yenilenmeyi sınırlamaktadır. Bu sebeple yara örtüleri akıntı seviyesine bağlı olarak dikkatli bir şekilde seçilmelidir [40-42].

Yaranın açıkta bırakılmaması kadar, nefes alabilmesi için gerekli koşulların oluşturulması da önem arz etmektedir. Çünkü yaralı bölgedeki oksijen ihtiyacı normalden daha fazladır. Oksijen, nötrofillerin bakterileri yutması (fagositoz) esnasında, epitel çoğalmada, kolajen sentezinde ve damar oluşumunda (neovaskülarizasyon) rol oynamaktadır [31]. Ayrıca nefes alabilirlik sayesinde buharlaşma da gerçekleşeceğinden yaradaki akıntı miktarının kontrolü sağlanmaktadır [24].

Yara yatağındaki ısı yalıtımı da iyileşme sürecinin yönetimi açısından önemli bir değişkendir. Hücresel faaliyetler, vücut ısısında (ortalama 37°C) en ideal seviyede gerçekleşmektedir. Böylelikle, yara yatağına kan akışı hızlanmakta ve epidermal hücre göçünün miktarı artmaktadır [24].

Yarada var olan mikro-organizmaların sayısı ve cinsi, virütik ya da bakteriyel özellik sergilemeleri, konakçı özellikleri gibi değişkenler kronik yaralarda bakteri yükünü etkileyen etkenlerdir. Açık yaralarda yapılan deneysel çalışma sonuçları, dokunun her bir gramındaki bakteri sayısının 10^6 CFU ve daha üzerinde olmasının iyileşmeyi ciddi şekilde olumsuz etkilediğini göstermektedir [43-45]. Mikro-organizmaların sayısı ile birlikte, hastalık yapma derecesi de önemli belirleyicilerdendir. Bakteri oluşumunu belli bir seviyenin altına çekmek yara iyileşmesinde hızlı yanıt alabilmek açısından önem taşımaktadır [43].

1.2.3. Modern Yara Örtüleri

Günümüzde yara örtülerini geniş bir çerçevede incelemek ve çeşitli etkenler göz önünde bulundurularak farklı şekillerde sınıflandırmak mümkündür. Mesela; yara örtüleri fonksiyonlarına göre debridman (yaradaki kirliliği uzaklaştırma), antibakteriyel, oklusif (nemli yara ortamını sürdüren, kapatıcı örtü), absorban (sıvı emen), yapışma özelliği olan ya da olmayan örtüler olmak üzere farklı kategorilerde ele alınabilir. Bunun yanı sıra, üretimde kullanılan malzemeye göre, hidrokolloid, alginat, kolajen örtüler olmak

üzere de sınıflandırılabilirler. Bir başka gruplama şekli ise örtülerin fiziksel formlarına odaklanılarak yapılabilir, mesela film, köpük ve jel örtü uygulamaları gibi [24, 46]. Bir diğer sınıflandırmada ise yara örtüleri; pasif (durağan) olanlar (gazlı bezler ve tüller), interaktif (etkileşimli) olanlar (yarı geçirgen filmler, yarı geçirgen köpükler, amorf yapıdaki hidrojeller) ve biyoaktif (biyoetken) olanlar (hidrokolloidler, alginatlar, kolajenler ve hidrolifler) şeklinde üç ana başlık altında toplanmıştır [47].

Gazlı bezler ve tül örtüler gibi geleneksel tipte kullanım alanı bulan ve oldukça yüksek bir pazar payına sahip olan materyaller pasif yara örtüleri olarak adlandırılmaktadır. Pasif örtülerin görevi, yara akıntısı ve kanı emmek ve açık olan yara yüzeyini kapatmaktır. Hızlı iyileşme gerektiren veya tedavisi uzun zaman alan yaraların iyileşmesinde tek başlarına kullanımları yeterli olmaz. İnteraktif yara örtüleri ise yapısında polimerik filmler veya benzeri formlar bulunduran, çoğunlukla şeffaf özellikte olan, su buharı ve oksijen geçişine izin veren ancak hastalık yapıcı mikro-organizmalara karşı bariyer teşkil eden örtülerdir. Bu ürünler daha çok düşük seviyede akıntı oluşumu gözlenen yaraların tedavisinde tercih edilmektedir. Biyoaktif yara örtüleri ise yara iyileşmesinde rol oynayan aktif biyomalzemeleri bünyelerinde barındırır. Bahsi geçen biyomalzemelere, proteoglikanlar, kolajen ve kolajen özellikteki birtakım proteinler, alginatlar ve kitosan örnek olarak verilebilir [48].

Bu çalışmada, özellikle oklusif özellikte olan yara örtüleri (şeffaf filmler, köpükler, hidrokolloidler, hidrojeller, kalsiyum alginatlar) hakkında genel bilgiler sunulacaktır. Açıklamalara geçmeden önce, yara iyileşme sürecinin etkin bir şekilde yönetilebilmesi için kullanılacak olan yara örtüsü malzemelerin genel özellikleri ile ilgili bilgiler verilecektir.

Modern yara örtülerinin taşıması gereken özellikler aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

- Yarada oluşan akıntı ve kanın emilmesi için absorban özellikte olmalıdır,
- Yaraya nemli bir ortam sağlayabilmelidir,
- Fiziksel bariyer niteliği taşımalıdır,
- Yaradaki yabancı cisimleri, hasarlı ve hastalıklı dokuları uzaklaştırmaya yardımcı olmalıdır.

- Isıl yalıtım sağlamalıdır.
- Acıyı dindirme özelliği bulunmalıdır.
- Enfeksiyonu önlemek için antibakteriyel özellik taşımalıdır.
- Alerjik reaksiyonlara sebebiyet vermemelidir,
- Yara izi oluşumunu azaltabilen veya önleyebilen bir yapıda olmalıdır,
- Yara iyileşmesini hızlandırmalıdır,
- Nefes alabilir özellikte olmalıdır,
- Özellikle iltihaplı yaralarda kokunun giderilmesini sağlamalıdır,
- Biyouyumlu olmalıdır,
- Gerektiğinde biyobozunur olmalıdır,
- Değiştirilmesi gereken durumlarda, dokuda herhangi bir kanama veya hasara neden olmamalıdır,
- Ekonomik olmalıdır [2, 24].

Şu an modern anlamda tasarımı gerçekleştirilen birçok yara örtüsü oklusif özellikte üretilmektedir. Bunun sebebi, yara yatağında, yara sıvısı ve büyüme faktörlerinden oluşan nemli bir mikro ortam yaratılarak iyileşme hızının artırılmak istenmesidir [46].

Winter 1962 yılında yayınlamış olduğu çalışmasında, domuz yaralarının açık havaya maruz bırakılması ve oklusif yara örtüleri ile kapatılması durumunun epitelizasyon hızı üzerindeki etkisini incelemiştir. Bu çalışma oklusif pansumanlar için dönüm noktası olarak kabul edilir. Çalışmanın sonuçları, iki tedavi arasında %30 fark olduğunu ve nemli yara ortamının iyileşmeye önemli ölçüde fayda sağladığını ortaya çıkarmıştır [49]. İnsanlar üzerinde yapılan daha sonraki çalışmalar da yara bölgesi nemli tutulduğunda yara iyileşmesinin daha kısa sürede tamamlandığını doğrulamaktadır. 1987 yılında, Eaglstein'in, nemli ortamlarda tutulan yaraların kuru ortamdakilere göre %40 daha hızlı iyileştiğini gösteren önemli bir çalışmayı yayınlamasıyla birlikte, yara iyileşmesinde nemli yara ortamı sağlamanın önemi daha da iyi anlaşılmıştır [40]. Bahsi geçen çalışmalar sayesinde, yara için nemli iyileşme ortamı sağlamak amacıyla tasarlanan modern yara örtülerinin bilimsel ve tıbbi alt yapısı oluşturulmuştur. 1990'lı yıllarda ise hidrokolloid, alginat, poliüretan köpükler ve hidrojel gibi birçok 'nemli-

iyileştirici' özellikte potansiyel ürün geliştirilmiş, Avrupa ve Kuzey Amerika'da sağlık ve bakım ürünleri pazarlarında piyasaya sürülmüştür [2].

Hastalık yapıcı unsurları barındırmayan nemli bir yara ortamı, beyaz kan hücreleri, enzimler, sitokinler ve büyüme faktörleri açısından zengindir. Bu durum, hızlı ve sağlıklı bir yara iyileşmesi için avantaj sağlamaktadır. Beyaz kan hücrelerinden salgılanan enzimler nekrotik dokunun otolitik debridmanında (vücudun kendi beyaz kan hücrelerini kullanarak ölü dokuyu parçalaması) etkilidirler. Bu hadise, oklusif yara örtüleri kullanıldığında yaralanmadan sonra ilk 72 ila 96 saat arasında gerçekleşmektedir. Böylelikle yara temizlenir ve iyileşme aşamasına geçer. Fibroblast göçü, hücre çoğalması ve büyüme faktörleri tarafından epitelizasyonun tetiklenmesi gibi süreçler etkin bir şekilde başlar. Makrofaj ve nötrofillerin göçü ve etkin hale gelmeleri de sitonkinler vasıtasıyla harekete geçirilir [46].

Nemli ortamların bakteri oluşumu için oldukça uygun olduğu bilinmektedir. Ancak, oklusif özellikteki örtüler sayesinde nemli kalan yaranın fagositoz (zararlı mikro-organizma ve kirliliklerin yutulması) ile bakterilerin yok edilmesi sürecini başlattığı bildirilmektedir. Ayrıca, nemli yara ortamları asidik nitelikte olduğundan zararlı mikro-organizmaların yaşayıp çoğalması için elverişli değildir [50]. Leeven 1973 yılında yapmış olduğu çalışmasında asidik özelliğe sahip yara yüzeylerinin, yara iyileşmesine önemli ölçüde katkı yaptığını belirtmiştir [51].

Tablo 1.2.3.1. Oklusif özellikteki ticari yara örtüleri ve üreticileri [52-59].

Üretici Firma	Hidrojel Örtüler	Hidrokolloid Örtüler	Alginat Bazlı Örtüler	Köpükler	Şeffaf Filmler
Smith and Nephew	Intrasite gel®		Algosteril®	Allevyn®	Cutifilm®, Opsite®
Johnson & Johnson	Nu-gel®		Nu-Derm®	Soft-Foam®	Bioocclusive®
3 M	Tegagel®, Tegaderm®	Tegasorb®	Sorbsan®, Tegagen®	Tegaderm®	Tegaderm®

Covidien	Curafil Amourphus Hydrogel®, Aquaflo®	Ultec®	Curasorp®	Copa®	Polyskin® II, Blisterfilm®
Coloplast	Purilon®	Comfeel®	Seasorp®	Biatain® Silicone	Comfeel®
Mölnlycke			Melgisorp®	Mepilex®	Mepore®
Lohmann Raucher	Supra- sorb®G	Suprasorb® H	Suprasorb®A	Suprasorb ®P	Suprasorb® F
Convatec		Granuflex®, Aquacel®	Caltostat®	Lyof foam ®	

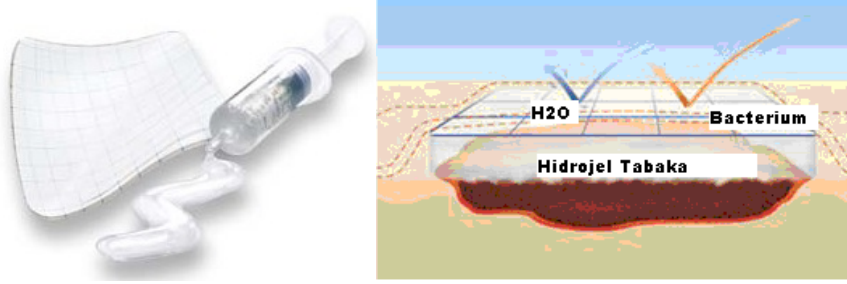
1.2.3.1. Hidrojel Örtüler

Hidrojeller, % 90-95 su içeren hidrofilik (su emici) polimerlerin üç boyutlu ağ şeklinde bir araya gelmeleriyle oluşurlar. Bu yapılar içinde çapraz bağ yapmış jelatin, polisakkarit, polivinilalkol, poliakrilamid, polimetakrilat, polivinilpirolidon veya polietilenoksit gibi polimerlere rastlanabilir. Hidrojel yara örtüleri, yüksek sıvı emme kapasitesine sahiptir. Yara yüzeyine yapışmazlar. Ağrıyı dindirme özellikleri vardır [2, 24]. Yaranın ısısını düşürerek serinletici bir etki sağlarlar, bu etkinin 6 saat kadar sürdüğü ve bu sürecin inflamasyon evresini kısalttığı öne sürülmektedir [46].

Hidrojeller, proteinler ve doku hücreleri gibi biyolojik bileşenleri emmekte zayıf kalmaktadırlar. Bu özellikleri dolayısıyla bakterilere karşı etkin koruma sağlayamamakta, bu nedenle kullanım aşamasında çoğunlukla ikinci bir örtü gerektirmektedirler [2, 46].

Hidrojel örtülerin (sheet) tabaka ve jel (amorf) formları mevcuttur. Yaranın pozisyonu ve derinliğine bağlı olarak bu iki formdan biri kullanılabilir [50]. Bununla birlikte, tabaka halindeki hidrojellerin ideal bir yara örtüsü özelliğine yakın olduğu bildirilmektedir [46]. Amorf hidrojeller; çapraz bağlı karboksimetil selüloz, modifiye nişasta, alginat, pektin gibi suda çözünebilir bir takım polimerlerden elde edilebilmektedir. Üç boyutlu yapıya sahip tabaka hidrojellerden farklı olarak, amorf

jeller yoğun vizkoz yapıda yapışkan sıvılardır. Yara salgısını emerken, yapışkan özelliklerinin tamamını kaybedene kadar şişme eğilimi gösterirler [2].



Şekil 1.2.3.1.1. Suprasorb® G Hidrojel Yara Örtüsü. Hidrojel tabaka, kurumuş nekrotik dokuyu çözer. Dıştaki poliüretan film bakteri ve sıvıların iç kısma geçmesini engeller [55].

Hidrojel örtüler, kuru yara yüzeyine uygulandıklarında, yarayı nemlendirerek yaranın hızlı bir şekilde iyileşmesine katkıda bulunurlar. Yarı geçirgen zar yapılarla (membran) kıyaslanabilir ölçüde su buharı geçirgenliğine sahip olduklarından yaranın nefes almasına önemli derecede katkı sağlarlar. Bu örtüler, kolaylıkla yara yatak bölgesinden ayrılabilir. Çünkü örtü ve yara arasındaki nemli ara yüzey, örtünün yaraya yapışmasını önlemektedir. Hidrojel örtüler vasıtasıyla yara yüzeyine yüzeysel olarak ilaç salınımı da yapılabilmektedir. Bunun için, jelin çapraz bağlanma derecesi kontrol edilerek ilacın yara bölgesine etkin salınımı (difüzyon) gerçekleştirilebilmektedir [24, 46, 49, 50].

1.2.3.2. Hidrokolloid Örtüler

Hidrokolloidler, ‘nemli iyileştirici’ etkiye sahip yara örtüleri arasında en çok kullanılanlardır. Yapı olarak, su emici tanecikler, basınca dayanıklı yapışkan tabaka ve suyu geçirmeyen ancak nispeten nefes alan film katmandan oluşan kompozit formlardır [49]. Hidrofil tanecikler, CMC (karboksimetilselüloz), jelatin, pektin ya da alginat gibi polimerlerden meydana gelirler ve yapışkan olan tabaka içinde dağılmış durumdadırlar. Bahsi geçen polimer yapılar, yara sıvısı ile temas durumunda sıvıyı emip jelleşirler. Nem iletimi oldukça yavaştır (yaklaşık olarak 300 g/m²/gün’den daha az), dolayısıyla yaranın iyileşmesi için uygun bir ortam sağlanmış olur [50]. Yapışkan

tabaka hem kuru hem de nemli yaralara kolayca yapışma özelliğine sahiptir. Yaraya doğrudan yapışmakta, dolayısıyla ikinci bir örtü kullanımı gerektirmemektedir. Bu özellikleri sayesinde hidrokolloid örtüler geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Bu örtüler daha çok orta derecede akıntısı bulunan yaralarda, baskı ve basınç altında acı veren hassas yaralarda, düşük dereceli yanıklarda ve hasarlı yaralanmalar sonucu oluşan yaralarda tercih edilmektedir. Sıvı emme kapasitesi yüksek olduğundan gerektiğinde 7 gün boyunca yara üzerinde değiştirilmeden kalabilirler. Acıyı dindirme özellikleri mevcuttur. Değiştirilme esnasında herhangi bir hasar yaratmadığından dolayı pediatrik (çocuk sağlığı) yaraların tedavisinde sıklıkla tercih edilmektedirler. Bazı çalışmalarda, bacak ülserlerinde bası (compression) tedavisinin yetersiz kaldığı durumlarda, hidrokolloid örtülerin ek malzeme olarak sürece destek verdiği belirtilmiştir. Epitelizasyonu, kolajen sentezini ve anjiogenesis oluşumunu hızlandırdığı vurgulanmaktadır. Mikrop kapmış yaralar için kullanımı tavsiye edilmez. Uygun aralıklarla değiştirilmediği takdirde deriyi zayıflatabilir [2, 24, 46, 49, 50].

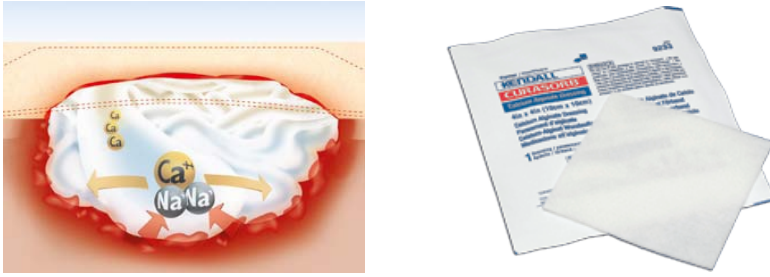


Şekil 1.2.3.2.1. Comfeel Plus Contour™, Coloplast (UK) firması tarafından üretilen, absorban selüloz içerikli hidrokolloid yara örtüsüdür. Dış kısmı yarı geçirgen Poliüretan film kaplıdır. Nemli bir yara ortamındaki nekrotik dokunun biyolojik debridmanını sağlar [53].

1.2.3.3. Alginat Bazlı Yara Örtüleri

Alginat bazlı yara örtüleri, mannuronik ve guluronik asit birimleri içeren alginik asidin kalsiyum ve sodyum tuzlarından üretilirler. Alginik asit, çoğunlukla '*algae Phaeophyceae*' cinsi deniz yosunlarından elde edilir [46]. Köpük ya da elastik lif formunda üretilmeleri mümkündür. Böylelikle derin ve oyuk yaraların tedavisinde farklı formlardan istifade etmek mümkün olmaktadır [24].

Alginat liflerinin iyon değişim özellikleri sayesinde, yara ile temas durumunda liflerdeki kalsiyum iyonları ile vücut sıvısındaki sodyum iyonları yer değiştirirler. Böylece, lifin bir bölümü sodyum alginat haline gelir, şişme ve jel oluşumu gözlenir [2]. Oluşan jel yüksek sıvı emici özelliğe sahiptir, yara akıntısını emer, dolayısıyla bakteri oluşumunu bir seviyeye kadar önler. Çünkü bakteriler oluşan jel içine hapsedilir ve örtü değişimi ile birlikte yaradan uzaklaştırılırlar. Ayrıca alginat bazlı örtüler, nemli ve ideal sıcaklıkta bir yara ortamı yaratarak iyileşmeyi hızlandırılırlar [24].



Şekil 1.2.3.3.1. Alginat bazlı yara örtüleri. Yara salgısı örtü tarafından absorbe edilir, iyon değişimi ile jel oluşumu gerçekleşir [55].

Yapılan araştırmalar, alginat bazlı yara örtülerinin pıhtılaşmaya olan katkısına vurgu yapmaktadır. Bunun nedeni, örtü tarafından serbest bırakılan kalsiyum iyonlarının, pıhtılaşmayı sağlayan protrombin maddesinin etkin hale gelmesine yardımcı olmalarıdır. Alginat içeren bazı örtüler, özellikle kronik yaralarda makrofajları (dokularda bulunan patojenlerin, ölü dokuların ve hücre kalıntılarının yutulmasıyla sorumlu hücreler) aktif hale getirme potansiyeline sahiptir. Bazı alginatlar ise, mast hücrelerinin (bağışıklık sisteminde etkili hücreler) etkinleşmesini sağlayarak histamin (kılcal damarlarda iletimin kolaylaşmasını sağlayan protein yapıda organik bileşik) salınımına neden olmakta ve yara iyileşme sürecini başlatabilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı, kalsiyum alginat örtüler biyoetken malzemeler olarak nitelendirilmektedir [2].

Günümüzde alginat liflerinin ve örtülerinin farklı deniz yosunlarından elde edilen değişik tipleri söz konusudur. Bununla birlikte, çinko ve gümüş katkılı alginat bazlı yara örtüleri de üretilmektedir. Çinko elementi, kanamanın dindirilmesinde önemli bir rol üstlenmektedir. Çinko eksikliği yaşayan insanların yaralarının iyileşmesinde çinko katkılı alginat yara örtüleri bu eksikliği nispeten gideren birer destek malzemesi gibi

davranırlar. Gümüş katkılı alginat örtüleri ise yara üzerindeki bakteriyel kirlilik ile daha etkin bir mücadele yapılabilmesi amacıyla geliştirilmiştir [2, 24, 46].

Alginat liflerinin daha emici bir yapıya kavuşturulması amacıyla, kalsiyum alginat lifleri kimyasal işlemlere tabi tutularak sodyum iyonları tepkimeye sokulur. Sodyum içeriğinin değiştirilmesi ile lifin emici özellik gösterme kapasitesi kolaylıkla ayarlanabilmektedir [2]. Bir başka modifikasyon işlemi ise, alginat liflerinin kolajen ve kitosan ile işleme tabi tutularak biyoetken özelliklerinin geliştirilmesidir [46].

Alginat örtüler; oyuk yaralarda, orta ve yüksek derecede akıntılı yaralarda, mikrop kapmış iltihaplı yaralarda, kısmi ve tam kalınlıktaki yaralarda etkin bir şekilde kullanılabilir. Kuru yaralarda ise, kurumayı önlemek için tamponlu ikinci bir örtü kullanmak gerekebilir [2].

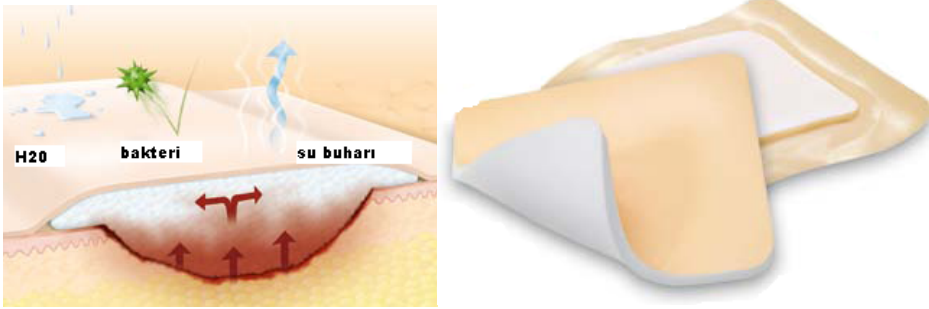
1.2.3.4. Köpükler

Köpükler, yumuşak, esnek, dayanıklı ve yüksek sıvı emme kapasitesine sahip olan gözenekli malzemelerdir. Bu türden olan yara örtüleri farklı tiplerde üretilmektedir, ancak genel olarak gözenekli poliüretan köpüklerden elde edildikleri söylenebilir. Yara örtüsünün yaraya yapışma ihtimalinin yüksek olduğu durumlarda, köpük malzemeye ilave bir tabaka eklenebilir. Aynı şekilde, nem kaybını önlemek ve dışardan yara bölgesine bakteri nüfuzunu engellenmek amacıyla örtünün en dış kısmına film tabakası yerleştirilebilir [24].

Köpükler, poliüretan bazlı oldukları gibi, silikondan da üretilirler. Silikon bazlı köpük yara örtüleri, vizkoz polidimetilsiloksan ve kalaylı oktanat katalizöründen elde edilmektedirler. Aynı ayrı bulunan bu iki bileşen uygulamadan önce birbirleriyle karıştırılır ve yara bölgesine uygulanır. Oda sıcaklığında sertleşebilen bu karışım, özellikle derin yaralarda, bandaj veya ikincil bir örtü gerektirmeksizin yaranın şeklini alan bir formda kalabilmektedir [2].

Birçok ‘nemli iyileştirici’ özellikteki yara örtülerinde olduğu gibi köpüklerin de yara sıvısını emici özellikleri sınırlıdır. Bununla birlikte *Banks ve arkadaşlarının* çalışmasında (1997), köpük malzemelerin hidrokolloid yara örtülerine göre daha az sızıntı meydana getirdiği ve emici özelliklerinin daha fazla olduğu belirtilmektedir [49].

Köpüklerin sıvı emme özellikleri, köpüğün malzeme yapısına, kalınlığına ve gözenekliliğine bağlıdır. Poliüretan, hidrofobik veya hidrofilik monomerlerden elde etmek ve sonuçta farklı gözeneklilik ve sıvı tutma kapasitesine sahip köpükler üretmek mümkündür. Gözenekler sayesinde yaranın nefes alması ve yara sıvısının etkin bir şekilde emilmesi sağlanmaktadır [24]. Örtü, ıslak yara yüzeyine yerleştirildiğinde, kılcal etki sayesinde yara sıvısı, köpük içerisine emilmekte ve örtünün diğer tarafına geçirilmektedir. Böylelikle yara iyileşmesi için ideal ortam yaratılmaya çalışılır [2]. Yara örtüsü tamamen ıslandığında veya örtü yüzeyinde akıntı gözlendiğinde, örtünün değiştirilmesi gerekir. Fakat örtünün çok sık değişmesi veya kuru yaralarda kullanımı yara yatağının yıpranması ve bozulmasıyla sonuçlanabilir. Köpük örtüler, en az 7 günde bir değiştirilmelidir [49].



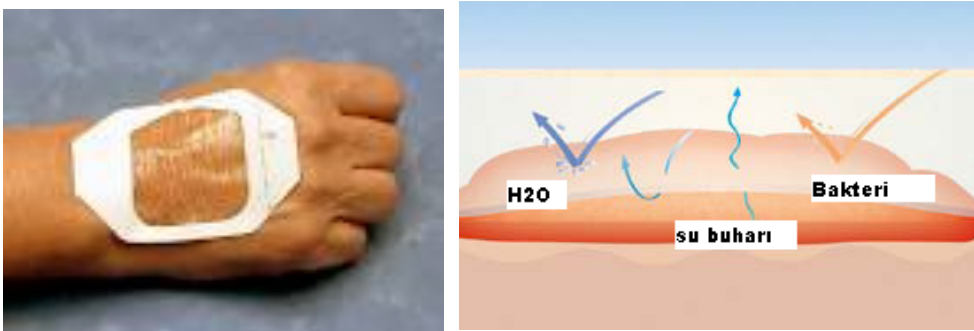
Şekil 1.2.3.4.1. Suprasorb® P, yara sıvısı hızlıca emilir, yara yatağı ideal bir şekilde kapatılır, bakteri ve sıvı geçişi engellenir, ortamdaki fazla sıvı buharlaştırılarak uzaklaştırılır [55].

Köpük örtüler, kolay uygulanabilen, yapışma özelliği olan ancak yaraya yapışarak hasara neden olmayan, tedavi sonrası yara bölgesinden kolaylıkla uzaklaştırılabilen örtülerdir. Isıl yalıtım yeteneğine sahiptirler. Yara iyileşmesini hızlandırmak için nemli yara ortamı oluştururlar. Yara oyuğu içine uygun bir şekilde yerleştirilirler ve zamanla şişerek genişlerler. Şişme yapan köpük yara duvarlarına hafif bir basınç yaparak yara çevresindeki ödem oluşumunu azaltır ve granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırır. Bakteriyel kirliliği sınırlı olan köpük örtüler, çoğunlukla nekrotik yaralarda ve orta derecede sızdıran tam ve kısmi yaralarda kullanılırlar. Kuru ve kabuklu yaralar için kullanımları uygun değildir [2].

1.2.3.5. Şeffaf Filmler

Uzun zamandır kullanılan şeffaf filmlerin nemli yara ortamı oluşturma ile ilgili özellikleri konusundaki ilk çalışmalar Winter, Hinman ve Maibach tarafından yapılmıştır. Bu çalışmalarda, yapışkan polietilen bir şablon içerisine oturtulan poliamid ve türevlerinden elde edilmiş filmlerden faydalanılmıştır. Fakat poliamid örtülerin yara ortamında çok fazla akıntının birikmesine neden olduğu, bu durumun ise bakteri oluşumuna ve derinin yumuşamasına (macerasyon) sebebiyet verdiği sonucuna ulaşılmıştır. Bununla birlikte uygulanma zorlukları ve kolay kırışması nedeniyle, yara örtüsü materyali olarak kullanımlarının mümkün olmadığı saptanmıştır [24].

Şeffaf film yara örtüleri genellikle ikincil örtüler olarak kullanılan ince, elastik ve çoğunlukla mikro boyutta gözenekleri olan, poliüretan içeren yapışkan bantlı plastik zarlardır (membran). Bu tür örtülerin asıl görevi; yara ortamının nemlilik anlamında sürdürülebilirliğini sağlamak ve mikrobik kirliliğe karşı etkili bir engel teşkil etmektir. Emici değildirler ve yara yüzeyiyle temas etmezler. O₂, CO₂ ve su buharı geçirgenlikleri yüksektir ancak sıvıların geçişine izin vermezler. Şeffaf filmler, yara yüzeyinde nemi tutarak nekrotik dokuların yumuşamasına ve böylelikle büyüme faktörleri ve hücre gelişmesi üzerinde birçok yararlı etkinin tetiklenmesine yardım ederler [18, 49]. Polimer ve film yapısı modifiye edilerek, film boyunca iletilen nem buharı oranı ayarlanabilmektedir [2]. En son geliştirilen yüksek teknoloji filmler, 300-800 g/m²/24 saat veya daha yüksek oranda nem buharı iletimi gerçekleştirmektedirler [50]. Eğer yara yüzeyinden salgılanan akıntının miktarı, örtünün iletebileceği (transfer) miktarı geçerse, örtü altında aşırı sıvı oluşumu gözlenir. Bu durumda örtü, görevini tam manasıyla gerçekleştiremez ve hemen değiştirilmesi gerekir [46].



Şekil 1.2.3.5.1. Şeffaf Filmler: Yara yüzeyindeki sıvı hızlıca buharlaştırılır. Dıştan içe

sıvı ve bakteri geçişi engellenir [55].

Şeffaf film örtüler, hidrojel, hidrokolloid ve alginat örtülerle birlikte geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Tek başlarına ise; cerrahi yaralarda, yüzeysel kısmi yanıklar ve yara yatağı tedavisinde, damarii kateter (damar içine girip besin vermek ya da film çekmek için kullanılan ince uzun boru) bölgesinde kullanılabilirler. Nekrotik yaraların otolizine etkin bir şekilde yardımcı olurlar. Hafif ve esnek yapıları sayesinde yara yüzeyine iyi bir şekilde sarılabilirler, bu özellikleri sayesinde yara bölgesinde ve deride sürtünme sonucu hasar oluşmasını önlerler. Şeffaf olduklarından yara bölgesinin doğrudan gözlenmesine imkan tanırırlar [2].

Her yara birbirinden farklı özelliklere sahiptir. Yara örtüsü malzemesi olarak piyasada yüzlerce ürün bulunmaktadır. Klinik derecelerde olan yaralar etkin bir şekilde analiz edildikten sonra her yaranın evresine uygun ürünlerin kullanılması gerekir [60].

1.2.3.6. Nanolif Bazlı Yara Örtüleri

Son zamanlarda, doku mühendisliğı alanında yaşanan gelişmeler sayesinde yara örtüsü uygulamalarında yenilikçi yaklaşımlar ortaya çıkmıştır. Ayrıca, biyomimetik yöntemi ile birlikte kullanılan düşük moleköl ağırlıklı ilaçlar, peptidler, hormonlar ve büyüme faktörleri gibi maddeler, hücrelerin biyolojik işlevlerini ve kalıtsal özelliklerini daha iyi kavramamızı sağlamaktadır. Bahsi geçen biyolojik bileşenlerin ve işlevlerin uygun modifikasyonlarla geliştirilmesi sonucunda, yara iyileşme sürecinin daha etkin yönetilebileceğı anlaşılmıştır [61].

Doku mühendisliğinde, hücresel faaliyetlerin en iyi şekilde desteklendiğı, ECM benzeri iskele (skafold) yapı oluşturmak hedeflenmektedir. Bununla birlikte nanoteknoloji alanındaki gelişmeler nano ölçekte, üç boyutlu biyolojik yapıların tasarlanması ve üretilmesi açısından önemli fırsatlar sunmaktadır. Yapılan araştırmalar, Kronik ve Akut yaraların etkin tedavilerinde ECM benzeri fiziksel formun, nanoliflerden oluşan ağ yapılarla sağlanabileceğini göstermiştir. Nanoliflere, bazı yöntemlerle biyoaktif moleküller, proteinler ve antibiyotik maddeler ilave edilerek sürekli salınım yapabilen sistemler meydana getirmek mümkündür [61].

Yara iyileşmesinde doku hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması, hücrelerin ECM'e ne kadar sağlıklı tutunabildikleri ile alakalıdır. Fibroblast, keratinosit ve diğeri ilgili

hücrelerin, kolajen, fibronektin, hyaluronik asit gibi bileşenlerle olan etkileşimleri, epitelizasyon ve onarım süreçlerinin etkin bir şekilde gerçekleşmesi açısından çok önemlidir. Dolayısıyla, ECM'in morfolojik özelliklerini taklit edebilen biyouyumlu nanoliflerin, bağışıklık sisteminin ters tepkisiyle karşılaşmadan uzun süreli kullanımları mümkün olmaktadır [61].

Doğal ve sentetik esaslı polimerlerden nanolif üretimi çekim (drawing), şablon sentezi (template synthesis), faz ayırma (phase separation) ve kendiliğinden dizilme (self assembly), meltblown, bikomponent lif üretimi yöntemi ve elektroçekim (electrospinning) gibi çeşitli nanofabrikasyon teknolojileri ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler içerisinde elektroçekim yönteminin, üretime uyarlanma açısından en kolay ve en ekonomik yöntem olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca, bu yöntem birçok farklı polimerle çalışma olanağı da sunmaktadır [61].

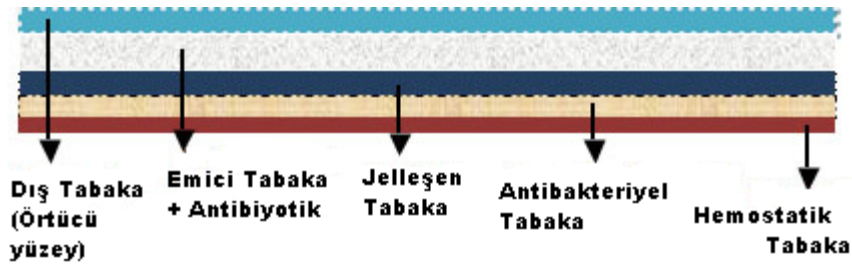
Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerden meydana gelen yara örtülerinin, geleneksel yöntemlerle elde edilen örtülere göre bazı önemli özellikleri ön plana çıkmaktadır. Bunlardan bir tanesi kanamayı dindirme (hemostasiz) özelliğidir [62]. *Zhang ve arkadaşları* nanolif bazlı matris yapıların, sahip oldukları yüksek gözeneklilik miktarı, küçük gözenek boyutları ve geniş yüzey alanı sayesinde hemostatik katkı maddesi kullanılmadan hemostasisi hızlandırdığını bildirmişlerdir [63].

Bir başka özellik ise sıvı emme (absorpsiyon) kapasitesidir. Tıpkı hidrojel yara örtülerinde olduğu gibi, su tutma yeteneği yüksek (hidrofil) özellikteki polimerlerden üretilen nanolif bazlı malzemenin yüksek su emme kabiliyetine sahip olduğu ve bu durumun yara akıntılarının emilmesi açısından önemli bir özellik olduğu ifade edilmiştir. Yüksek yüzey alanı sayesinde polimerik nanoliflerin sıvı emme yeteneğinin, polimerik filmlere göre çok daha iyi olduğu belirtilmiştir [64].

Gaz geçirgenliği (nefes alabilirlik) de önemli ve belirleyici özelliklerden bir tanesidir. Nanoliflerden oluşan yapının, yoğun ve küçük gözenekleri sayesinde oksijen geçişine imkân tanınması ve yaranın nefes alarak kurumasının önlenmesi iyileşme açısından oldukça önemlidir [62]. *Khil ve arkadaşları*, nanolif bazlı yapıların, küçük gözenekleri dolayısıyla gaz geçişine izin verirken, aynı zamanda bakteriyel enfeksiyonlara karşı engel teşkil ettiğini bildirmişlerdir [65].

Uygulanma rahatlığı (üç boyutlu yapı) da nanoliflerin önemli avantajlarından bir tanesidir. Lif inceliği mikro seviyelerden nano seviyelere indikçe, elde edilen örtünün, özellikle derin yaraların şekil olarak düzensizlikler gösteren iç yüzeyine daha iyi oturduğu belirtilmektedir. Böylelikle özellikle mikrop kapmalara karşı daha etkin bir mücadele söz konusu olmaktadır [62].

İşlevsellik, nanolif bazlı materyallerde yara iyileşmesine katkı sağlayan bir başka önemli unsurdur. İyileştirmeyi hızlandıran terepatik bileşenler özlü çekim (co-spinning) işlemi ile nanolifler içerisine kolaylıkla yerleştirilmektedir. Böylelikle nanolifler çok işlevli biyoetken malzemelere dönüşmektedir. Ayrıca, farklı görevleri olan ve değişik kimyasal özellikler taşıyan nanolifler elektroçekim yöntemi ile tabakalar halinde birbirleri üzerine üretilerek katmanlı kompozit yara örtüleri de geliştirilebilmektedir (Şekil 1.2.3.6.1) [62].



Şekil 1.2.3.6.1. Nanolif bazlı, çok tabakalı, çok işlevli yara örtüsü şematik görünümü [66].

Rho ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışma ile kolajen bazlı nanoliflerden oluşan matris yapı geliştirmişlerdir. Yapı içindeki nanolif inceliklerinin, orijinal bir biyozar içinde bulunan kolajen fibril incelikleri ile benzerlik gösterdiği vurgulanmıştır. Ayrıca, birbirine çapraz bağlar ile tutunmuş olan nanoliflerin, yüksek gözeneklilik ve su tutma kapasitesi ile birlikte yüksek yüzey alana sahip biyouyumlu bir yapı sergilediği belirtilmiştir [67].

Jia ve arkadaşları, gümüş iyonu (Ag⁺) yüklü zirkonyum fosfat nanoparçacıkları, Polivinil alkol (PVA) çözeltisine ekleyerek, elektroçekim yöntemiyle, yara örtüsü uygulamalarında kullanılabilecek özellikte nanolifler üretmeyi başarmışlardır. Elde edilen liflerin antibakteriyel etkinlik yönünden tatmin edici sonuçlar verdiği ifade edilmiştir [68].

Spasova ve arkadaşları, Polilaktik asit (PLLA) ve bikomponent Polietilen glikol bazlı nanolif yapıları elektroçekim yöntemi ile elde ettikten sonra kitosan ile kaplamışlardır. Kitosan miktarı arttıkça, elde edilen ürünlerin hemostatik etkilerinin de arttığı bulunmuştur [69].

Yara izi oluşumunu azaltması, nanolif bazlı yara örtülerinden beklenen özelliklerden bir diğeridir. Nanolif oluşumları dolayısıyla derinin, kabuk oluşumuna gerek kalmadan hızlı bir şekilde yenileneceği varsayılmaktadır. Bioyopolimer bazlı nanoliflerin, yara bölgesindeki hücrelerin yenilenmesi, gelişmesi ve çoğalması için uygun zemini hazırlama özelliği bulunan malzemeler oldukları iddia edilmiştir.

Araştırma şirketlerinin yapmış oldukları pazar araştırmalarına göre yara örtüsü ile ilgili pazar payının önümüzdeki birkaç yıl içinde %12 büyümesi öngörülmektedir. Bu alanda faaliyet gösteren firmalar ve yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari ürünlerin isimleri aşağıdaki tabloda sunulmuştur [66].

Tablo 1.2.3.6.1. Yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari yara örtüleri ve üreticileri [66].

Ürün	Açıklama	Üretici
Integra TM	Kolajen Tip1/Glikozaminoglikans/Polisil oksan karışımı nanolif bazlı dermal örtü	Integra Life Sciences http://www.integralife.com
Nanocell TM	Nanolif bazlı mikrobiyal selüloz maskeler	Thai Nano Cellulose http://www.thainaocellulose
Apligraf TM	Fibroblast ve keratinosid içeren, sığır kolajeni bazlı nanolif yapılı sünger	Novartis http://www.apligraf.com

Kerlix™ AMD™	PHMB bazlı nanofibriler yapı	Kendall http://www.kendallhq.com
DermaFuse™	Borat ve cam lifi içeren nanolif bazlı biyoaktif yara örtüsü	Mo-Sci. Corporation, USA http://www.mo-sci.com
TransCyte™	Elektroçekim ile elde edilmiş, allojenik fibroblastlarla desteklenmiş, Nylon/kolajen/silikon karışımı deri malzemesi	Advanced Tissue Sciences http://www.transcyte.com
Tegaderm™	Elektroçekim ile elde edilmiş polikaprolakton/jelatin/poliüretan bazlı skafold	3M Company http://www.3M.com
Biobrane™	Kolajen/nylon/silikon karışımı nanolif bazlı yara örtüsü	Smith & Nephew http://wound.smith-nephew.com
Dermagraft-TC™	Üzerine fibroblast kültürü ekilmiş poliglaktin esaslı nanolif bazlı yara örtüsü	Advanced Tissue Sciences http://www.advancedtissue.com
ChitoFlex™	Kitosan esaslı nanolif bazlı yara örtüsü	HemCon Med. Tech. Inc. http://www.hemcon.com
Permacol™	Domuz dokusu içeren nanolif bazlı dermal matris	Covidien http://www.covidien.com
Alloderm™	Kadavra dokusu destekli nanolif bazlı yara örtüsü	LifeCell Corporation www.lifecell.com

1.3. ELEKTROÇEKİM YÖNTEMİ

1.3.1. Tarihçe

Elektroçekim yönteminin temelleri, 1600'lü yıllarda, William Gilbert'in manyetizma üzerine çalışırken tesadüfi olarak elektro-manyetizmanın sıvılar üzerindeki etkisini gözlemlemesiyle atılmıştır. Çalışmalarında bir su damlasının elektriksel olarak kuru bir yüzeyden belli bir mesafede çekildiğinde koni şeklini aldığını farketmiştir. Bu durum, elektro spray ve elektro çekim teknolojilerinin geliştirilmesinde miladi bir aşama olmuştur [4].

1882 yılında ise Lord Rayleigh, belli bir elektrik yüküne sahip olan damlaların, elektro çekim esnasında sergilemiş oldukları davranışlar üzerinde çalışmıştır. Rayleigh teorik olarak, yüklü bir damlacığa, elektriksel alan içinde iki farklı kuvvetin etki ettiğini ortaya atmıştır. Bu kuvvetlerden biri, damlacığın sahip olduğu yüzey gerilimi, diğeri ise yüzey gerilimine zıt yönde olan ve elektriksel alandan kaynaklanan elektrik kuvvetidir. Elektrik kuvvetinin şiddet olarak, damlanın yüzey geriliminin üzerinde bir değer almasıyla, damlacığın kararsız bir hal alacağını ve parçalanmanın meydana geleceğini iddia etmiştir. Dolayısıyla, parçalanmayla birlikte damla ince jetlere ayrılarak akarak hareket etmeye başlamaktadır. Rayleigh, damlanın düze ucundan çıkması için gerekli maksimum yükü aşağıdaki gibi formüle etmiştir;

$$q^2 = 64\pi^2 \epsilon_0 \gamma a^3$$

Yukarıdaki eşitlikte;

q: damla üzerindeki yük, ϵ_0 : serbest uzayın iletkenlik sabiti, γ : damlanın yüzey gerilimi, a: damlanın çapıdır [4].

1914 ve 1915 yıllarında Zeleny, damla ucundaki elektrik yükü yoğunluğunu (meniscus), damladan jete geçiş durumunu ve damla ucunda meydana gelen şekil bozukluklarını (deformasyon) incelemiştir. Elde ettiği sonuçlar, Rayleigh'in bulguları ile tutarlılık göstermektedir. Çalışmalarında basınçlı sıvı kolonu tekniğini kullanmış ve elektrik yüklü damlacığın mekanik etkiler sonucunda kolon içindeki sıvı seviyesini yükselttiği sonucuna ulaşmıştır. Aynı zamanda, alkol ve suyla yaptığı çalışmalarda, daha yüksek yüzey gerilimine sahip olan su damlacığının jet formuna geçebilmesi için daha yüksek bir elektriksel kuvvete gereksinim duyduğunu gözlemlemiştir [4].

Elektroçekim yöntemiyle ilgil ilk patent (US Patent, 1-975-504) 1934 yılında Antonin Fromhals tarafından alınmıştır. Çalışma kapsamında polimer olarak selüloz asetat ve çözücü olarak da etilen glikol kullanılmıştır. Hazırlanan polimer çözeltisi zıt kutuplara sahip elektrotlar arasında oluşan elektriksel alana maruz bırakılmıştır. Alan içinde oluşan filametler ise hareketli bir toplayıcı üzerinde toplanmıştır. Formhals patentinde, bahsi geçen işlemin sorunsuz gerçekleşebilmesi için gereken potansiyel farkın, polimer

çözeltilisinin karakteristiğine bağlı olduğunu ve bu karakteristiğin polimerin molekül ağırlığı ve viskozitesi tarafından şekillendiğini ifade etmiştir. Potansiyel fark olarak 5-10 kV gerilim uygulanmıştır. Formhals, daha sonra kurmuş olduğu düzeneği geliştirmek üzere 1938 (US Patents 2116942), 1939 (US Patents 2160962) ve 1940 (US Patents 2187306) yıllarında bir dizi patent daha almıştır. 1939 yılındaki çalışmasıyla toplayıcı ile şırınga arasındaki mesafenin ayarlanabilir olduğu yeni bir düzenek geliştirmiştir. Bu çalışmayı yapmasındaki temel amaç, çözeltilinin içindeki çözücüye buharlaştırmak için yeterince zaman kazandırmaktır. Kısa mesafelerde elde edilen liflerin, birbirlerine ve toplayıcıya yapışma eğiliminde olduğunu keşfetmiştir. 1940 yılındaki çalışmasında ise, hareketli bir toplayıcı üzerine çoklu polimerlerden oluşan kompozit lif tülbenti toplayabilen bir sistem geliştirmiştir [4, 70, 71].

Gladding, iki elektrot arasından geçerek oluşan lifleri toplayan taşıyıcı bant kullandığı sistemle filament üretimini süreklilik anlamında bir adım daha ileri taşıyan bir düzenek geliştirmiştir. 1941 yılında ise, Childs tarafından yeni bir kavram ortaya atılmış ve elektrik alan ile ince lif üretim tekniği, 'elektrostatik üretim' olarak isimlendirilmiştir [4].

Vonnegut ve Neubauer 1952 yılında püskürtme yapabilen basit bir aparat geliştirmişler ve çapları yaklaşık 0,1 mm olan elektrikle yüklü düzgün şekilli damlalar elde etmeyi başarmışlardır [4, 71].

Drozin, 1955 yılında yapmış olduğu deneylerde, çeşitli sıvılarla yüksek gerilimlerde (0 – 12 kV) çalışmıştır. Gerilim arttığında oluşan damlaların uzadığını ve en nihayetinde kararlı birer jet halini aldıklarını gözlemlemiştir. Uygulanan gerilimin daha da artırılması sonucunda önce jetler daha da incelmış, sonra kaybolarak yerlerini çok ince damlalardan oluşan bir buluta bırakmıştır [4, 71].

1960'lı yıllarda, Taylor tarafından, sıvıların temel teorik prensipleri üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, elektroçekim teknolojisinin temelini oluşturan çalışmalar niteliindedir. Ulaşılan bulgular göstermiştir ki: elektrik alan etkisi altında sıvı yüzeyi belirli bir yükte yüklenir ve karşılıklı yüklerin birbirlerini itmesi ile bir dış kuvvet oluşur. Belli bir eşik değeri aşıldıktan sonra elektrostatik kuvvetin etkisiyle sıvı damlacığı koni şeklini almaya başlar ve fazla yükler koninin ucunda oluşan yüklenmiş

jetten dışarı doğru çıkar. Taylor, elektriksel kuvvetin yüzey gerilimine eşit olduğu bu kritik noktada bir koni meydana geldiğini ve bu koninin yarım açısının $49,3^\circ$ olduğunu tahmin etmiştir [4, 72]. 1969 yılında yayınlanan ve ‘elektriksel kuvvetler eşliğinde akan jetler’ isimli makalesinde ‘taylor konisi’ni aşağıdaki matematiksel formülasyon ile açıklamıştır [4, 70].

$$V_c^2 = 4 (H^2 / L^2) x [\ln (2R/L) - 1,5] x (1,3\pi RT) x 0,09$$

Yukarıdaki denklemde;

V_c = Maksimum kararsızlık halindeki kritik voltaj değeri,

H = Elektrodlar arası mesafe (cm),

L = Kılcal borunun uzunluğu (cm),

R = Kılcal borunun yarıçapı (cm),

T = Yüzey gerilimi (dyne/cm)’dir [4].

Yukarıdaki denklemde, işlemin iletkenlik ve viskoziteye olan bağımlılığı ihmal edilmiştir. Bununla birlikte, yukarıdaki denklem yüzey gerilimi ve uygulanan voltaj arasındaki ilişkiyi, özellikle düşük ve orta derecede viskoziteye sahip, iletkenliği düşük olan çözeltiler için iyi bir şekilde ifade etmektedir [70].

Hendricks ve Schneider, kritik voltaj değeri için bir denklem geliştirerek, iletken bir damlacık için yüzey gerilimi ve elektrik kuvvetin etkisindeki denge durumunu hesaplamışlardır. Ortaya çıkan sonuçlar Taylor’un hesapları ile tutarlılık göstermektedir. Bahsi geçen denklem aşağıdaki gibidir;

$$V^2 = 9.10^4 . 20\pi TR$$

Simons (1966), elektroçekim prensibi ile çalışan ve çok ince ve hafif, aynı zamanda birbirinden farklı nonvowen yüzeyleri üretebilen bir aparatın patentini almıştır [71].

1964 yılında Doyle gözlemlerine dayanarak şu teoriyi geliştirmiştir; damla üzerine etki eden elektrik kuvveti belirli bir sınır değere ulaştığı anda, çözücü elektrikle yüklü damlacıktan buharlaşarak uzaklaşır. Bu durum, damla üzerindeki yüzey yük

yoğunluğunun artmasına ve damlanın daha küçük boyutlardaki damlacıklara parçalanmasına neden olur [4].

1971 yılında, Baumgarten akrilik polimerini dimetil formamid (DMF) içinde çözerek, elektroçekim yöntemiyle 0,05-1,1 µm boyutlarında lifler elde etmiş ve çözelti viskozitesi, ortamda bulunan gazlar ve besleme miktarı gibi parametrelerin jet uzunluğu ve elde edilen lif incelikleri üzerine olan etkilerini incelemiştir. Elde ettiği sonuçlara göre, çözelti viskozitesi arttıkça jetin boyu ve elde edilen lif kalınlığı artmaktadır [70]. Elektrik alan gücü arttıkça da lif inceliği azalmaktadır. Ayrıca, elektrik kuvvetin artması kılcal boru (besleme) içinden daha fazla polimer çözeltisinin çekilmesine de neden olmaktadır [4]. Çözelti viskozitesi ve lif çapı arasındaki bağıntı ise aşağıdaki denklemlerle ifade edilmiştir.

$$d = n \cdot 0,5$$

Yukarıdaki eşitlikte;

$$d = \text{lif çapı},$$

n = çözelti viskozitesidir [70].

Akışkan jetin çapı ile ilgili olarak, polimer çözeltisinin viskozitesinin artmasıyla, kılcal boru ucunda beliren polimer damlasının şekli yarı yuvarlaktan koniye dönmesi gerçeğinden hareketle, Baumgarten damlanın yarıçapını hesaplamak üzere aşağıdaki denklemi önermiştir [72].

$$r_0^3 = 4 \varepsilon m_0 / k \pi \sigma \rho$$

Yukarıdaki eşitlikte;

$$r_0 = \text{oluşan damlanın yarıçapı},$$

ε = sıvının yük taşıma kapasitesi (coulombs/voltcm),

m_0 = birim zamanda akan madde miktarı (gram/saniye),

k = elektrik akımı ile ilgili sabit katsayı,

σ = elektrik iletkenliği (amp/voltcm),

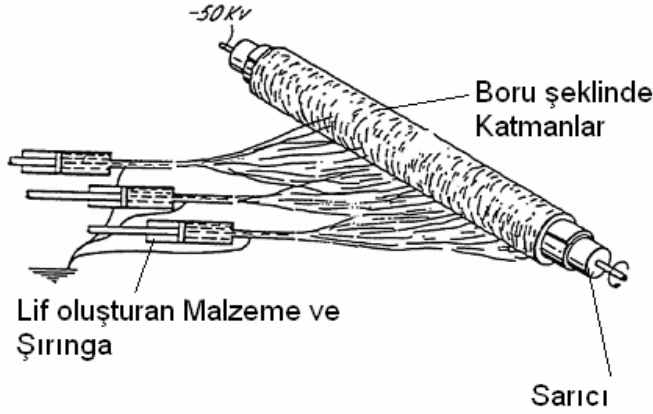
ρ = yoğunluk (gram/cm³).

1977'de *Martin ve ekibi*, elektroçekim yöntemiyle organik polimerlerden tül bent üretmiştir. Üretim sürecinde Politetrafloroetilen (PTFE), poliüretan, polivinilalkol, polivinilpirolidon ve polietilenoksit gibi organik malzemelerin kullanıldığı belirtilmektedir. Lifli yapıları nedeniyle üç boyutlu tıbbi materyallerin üretilmesine uygun olan bu tül bentlerin çok ince boşluklara sahip olduğu ve yüksek bir yüzey alanı oluşturdukları vurgulanmıştır. Ayrıca, yara yüzeyi ile atmosfer arasında yeterli oksijen ve su buharı geçişini sağlayacak derecede gözenekli yapıya sahip olmaları önemli avantajlar olarak sunulmuştur [4].

1978'de *Simm ve ekibi*, elektroçekim ile elde ettikleri lifleri hava filtresinde kullanmışlardır. Deneylerde, polistren-metilenklorit, polikarbonatmetilenklorit ve poliakrilonitril-dimetilformamid çözeltileri elektrik alan içinde nanolif olarak çekilmiş ve bu lifçikler filtrasyonda hava olarak kullanılmıştır. Bu malzeme bileşimi sayesinde 0,5 mikron boyutlara sahip parçacıklar filtre edilebilmiştir [4].

1981'de *Lorrard ve Manley*, polietilen ve polipropilen gibi çabuk kristalleşebilen termoplastik polimerlerin elektrik alan kuvvetleri altında çekimi ile ilgilenmişlerdir. Genelde bu polimerlerin eriyikleri ile çalışmışlardır. Fakat polietileni parafin içinde çözerek de elektroçekime tabi tutmuşlardır. Deney sonuçları, hem polietilen hem de polipropilen için elektrik alan kuvvetinin artmasıyla elde edilen liflerin incelendiğini göstermiştir [4].

1982 de *Bornat*, bir silindir üzerine takılıp sökülebilir bir tabaka sarmış ve bu mekanizmayı elektroçekim düzeneği ile birleştirmiştir. Şekil 1.3.1.1'de bu sistem gösterilmiştir. Bu sistemde özellikle poliüretan bazlı çözeltiler kullanılmasıyla elde edilen tüp şeklindeki yapıların suni kandamarları ve idrar kanalları olarak görev görebileceğini öne sürmüştür [4].



Şekil 1.3.1.1. Elektroçekim yöntemiyle elde edilen tüp şeklindeki nanolif bazlı kompozit yapının oluşturulduğu toplayıcı düzenek [4].

1986 yılında Hayati, elektriksel alanın ve ortam koşullarının damla, kararlı jet oluşumu ve püskürtme fonksiyonu üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmalar, sıvı yüzeyindeki elektrostatik form bozukluklarının en büyük nedeninin sıvının iletkenlik derecesi olduğunu ortaya koymuştur [70].

1990'lı yılların ortalarına doğru Reneker ve grubunun elektroçekim teknolojisi ile nano ölçekli sonsuz filamentler üretme üzerine yaptıkları çalışmalar dikkat çekmiş ve birçok araştırmacı bu konu üzerine eğilmeye başlamıştır [4, 73].

2003 yılında Fridrikh, elektroçekim işlemi sonucu oluşan liflerin nihai çap inceliklerini tahmini olarak hesaplayabilmek için iletkenlik, dielektrik katsayısı, çözelti viskozitesi, yüzey gerilimi ve yoğunluk değişkenleri kapsayan yeni bir model geliştirdi. Bu modelin matematiksel denklemi aşağıdaki gibidir;

$$ht = [\gamma \epsilon (Q^2 / I^2) (2 / \pi (2 \ln x - 3))]^{1/3}$$

Yukarıdaki eşitlikte;

ht = nihai jet çapı,

γ = çözeltinin yüzey gerilimi,

ϵ = dielektrik katsayısı,

Q = akış oranı,

I = elektrik akımı,

x = jetin merkezinden olan uzaklıktır [70].

Yukarıdaki modelde çözücünün buharlaşması ile ilgili detay ihmal edilmiştir. Dolayısıyla, uçuculuk özellikleri yüksek çözücülerle hazırlanan çözeltiler için uygun bir modelleme değildir. Ancak, polietilenoksit (PEO) ve poliakrilonitril (PAN) bazlı kaynama noktası yüksek çözeltiler için uygunluk gösterdiği saptanmıştır [70].

Son yıllarda, bilim dünyasında özellikle nanoteknolojiye olan ilginin artmasıyla birlikte, elektroçekim teknolojisine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Şu an dünya genelinde 200'ün üzerinde üniversite ve araştırma enstitüsünde elektroçekim metodolojisi ve bu teknikle farklı uygulama alanları için üretilen lif morfolojileri üzerine çalışmalar sürdürülmektedir. Bu konularda alınan patentlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

Yine son yıllarda, 'eSpin Technologies', 'NanoTechnics', 'KATO Tech' ve 'El Marco' gibi firmalar elektrospinning teknolojileri üzerine yaptıkları çalışmalar ve yatırımlarla gündeme gelmektedir. Donaldson Company ve Freudenberg gibi şirketler de son yirmi yıldır elektroçekim teknolojisini, üretmiş oldukları filtrasyon malzemelerinde kullanmaktadırlar [71].

Tablo 1.3.1.1. Nanolif teknolojisi ile ilgilenen ticari firmalar [74].

Firmalar	Ülke	Web Adresleri
Donaldson Company Inc.	USA	www.donaldson.com
Espin Technologies Inc.	USA	www.espintechnologies.com
KX Industries	USA	www.kxindustries.com
Ahlstrom Corporation	Finlandiya	www.ahlstrom.com
Hollingsworth Co. Ltd.	USA	www.hollingsworth-voise.com
US Global Nanospace	USA	www.usgn.com
Finetex Technology	Güney Kore	www.finetextech.com

Helsa-automotive		Almanya	www.helsa-automotive.com
Teijin Fiber		Japonya	www.teijinfiber.com
KATO Tech		Japonya	http://www.keskato.co.jp/
Toray		Japonya	www.toray.com
Japan Vilene Company Ltd.		Japonya	www.vilene.co.jp
Nanoval GmbH & Co. KG		Almanya	www.nanoval.de
Fraudenberg		Almanya	www.freudenberg.com/
Hills Inc.		USA	www.hillsinc.net
Elmarco		Çek Cumhuriyeti	www.elmarco.cz
Hohns Manville Sales GmbH		Almanya	www.jmeurope.com
Esfil Tehno		Estonya	www.esfiltehno.ee
Sorbent		Rusya	www.sorbent.su
Electrostral Mechanical	Chemico-	Rusya	www.ehmz.ru
Neorganika		Rusya	www.neorganika.ru
Kimry's factory		Rusya	www.fgsiz.ru
A.A.Gunyaev Center	NW R&D	Rusya	www.psiz.ru
Progress-Ecologia		Rusya	www.p-ecologia.obninsk.ru
"NPP" Doza		Rusya	www.doza.ru
Engineering Research centre "SNIIP"		Rusya	www.sniip.ru

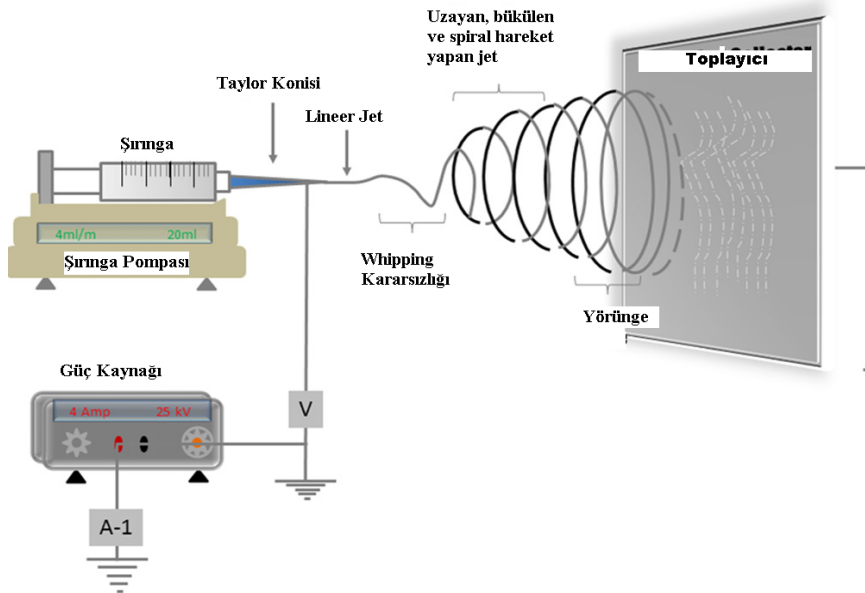
1.3.2. Elektroçekim İşlemi

Elektroçekim yöntemi akışkanlar dinamiği, polimer kimyası, temel fizik, elektrik fiziği, makine ve tekstil mühendisliği alanlarını barındıran çok yönlü bir tekniktir. Bu yöntem ile nano-ölçekli lifler tek aşamada elde edilirler. İşlem; çekilecek olan polimer çözeltisi ya da eriği ile doldurulmuş şırınganın ucuna bağlı bir elektrota (iğneye) yüksek voltaj

(5-50 kV) uygulanarak, elektrostatik kuvvetler altında nanoliflerin üretimi olarak özetlenebilir. Şırınganın pompası istenilen miktarda ve hızda polimer çözeltisini ya da eriyiğini, işlemin gerçekleştiği elektriksel alan içine besler. İğne ucunda beliren ve polimer çözeltisine ait olan damlacık, bu alanda uygulanan yüksek voltaj sayesinde oluşan elektrostatik kuvvetlerin etkisiyle koni (*taylor cone*) biçimini almaya başlar ve elektrik alan yönünde uzar. Elektriksel alan içerisinde uygulanan voltajın, polimer çözeltisinin sahip olduğu yük değerini aşması ile (*kritik voltaj değeri*), koni içinden çıkan uzantılar (*jet*) zıt yükle yüklenmiş olan karşı elektroda (*toplayıcı*) doğru hareket ederler. Bu hareket sırasında çözücü buharlaşır ya da eriyik katı hale geçer ve yüklü, katı lifler oluşur. Lifler yüksek oranda çekilmiştir ve toplayıcı üzerine toplanmadan önce yaptıkları rastgele hareket sırasında incelmışlerdir. Bu sayede çapları nanometre ve/veya mikrometre ölçülerinde olan lifler elde edilmiş olur [4, 70, 75].

Basit bir elektroçekim ünitesi başlıca üç kısımdan meydana gelir (Şekil 1.3.2.1);

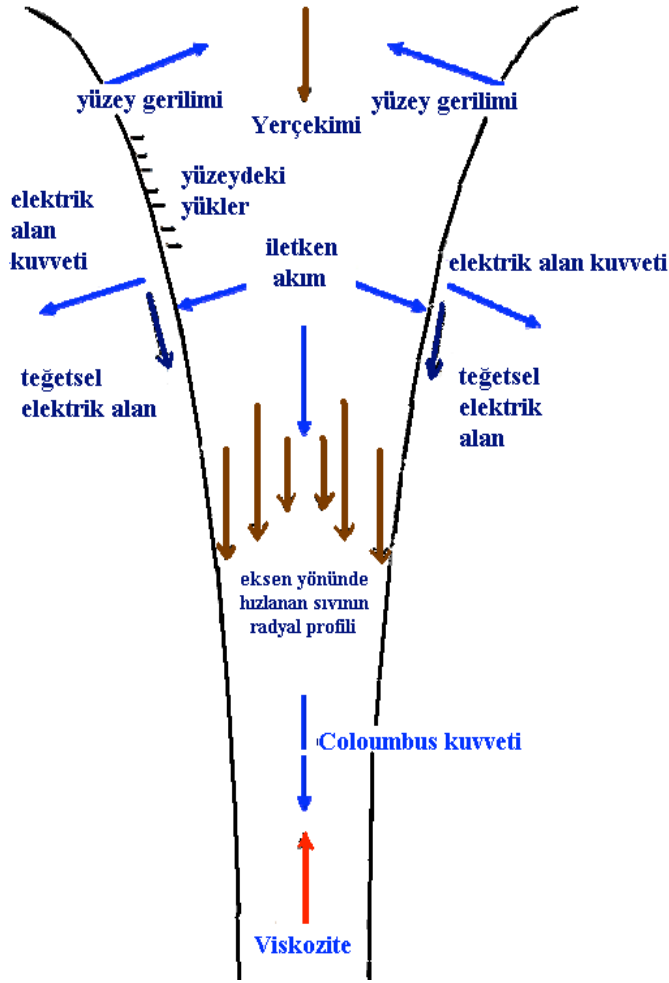
1. Güç kaynağı (Yüksek Voltaj),
2. Besleme Ünitesi (Metal İğne, Şırınga vb..)
3. Toplayıcı (İletken Plaka, Döner Silindir vb..)



Şekil 1.3.2.1. Elektroçekim yöntemi ile nanolif eldesi [76].

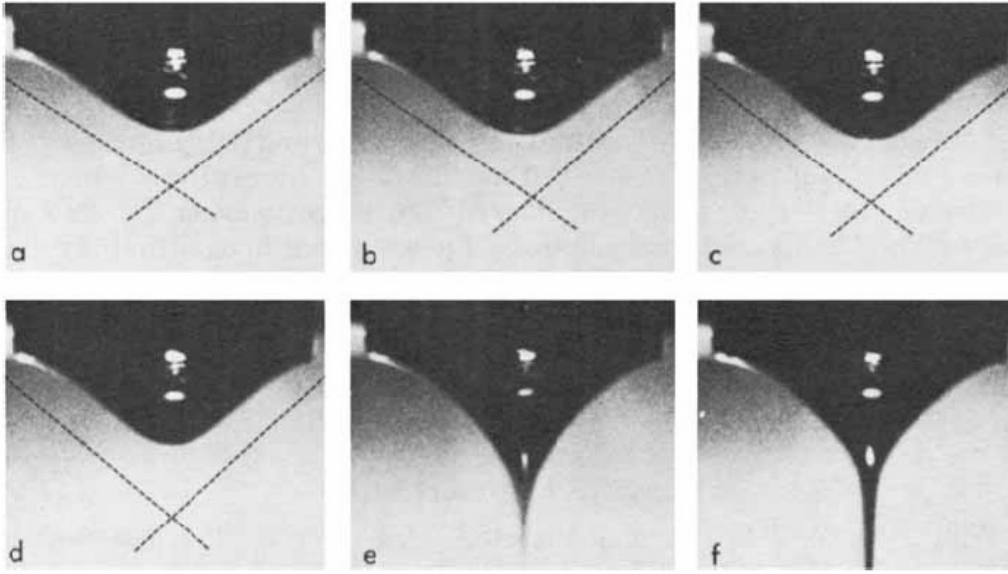
Polimer jet, besleyiciden toplayıcıya doğru hareket ederken, polimer çözeltisinde kullanılan çözücünün buharlaşması sonucu, ortamda istenmeyen ve zararlı nitelikte koku salınımı meydana gelmektedir. Bu sebeple sistem, cam ya da pleksiglas malzemelerden yapılma ve içerisinde vantilatör sistemi bulunan özel bölme içine alınarak kapatılmaktadır [77].

Elektroçekim işleminde jet oluşumu, elektrostatik kuvvetler arasındaki etkileşimle açıklanabilir. Öyle ki, jet oluşumuna etki eden kuvvetler iki ana grupta toplanabilir. İlki jet oluşumu ve elektroçekim işleminin gerçekleşmesini destekleyen yönde hareket ederken, ikincisi ilkinin tam tersi yönünde tavrı sergiler. Bu temel kuvvetlerden biri '*dış elektrik alan içindeki elektrik kuvveti*'dir. Elektroçekim işleminin devamlılığını sağlayan bu kuvvet, jet oluşumunu destekler ve jetin toplayıcıya doğru hareket etmesini sağlar. Bir diğer temel kuvvet ise '*Coloumb itme kuvveti*'dir. Bu kuvvet, jet içindeki aynı yüklü iyonların birbirini itmesiyle, jette uzama meydana gelmesine yardımcı olan kuvvettir. Sistemin belirleyicilerinden olan bir başka temel kuvvet ise '*yüzey gerilimi kuvveti*'dir. Bu kuvvet polimer damlasını ve jeti istikrarlı halde tutma eğiliminde olup, işleme engel teşkil eden kuvvetlerdendir. Elektroçekim işleminde jet oluşumu ve hareketine engel olma eğiliminde bulunan diğer bir kuvvet ise '*viskoelastik kuvvet*'tir. İşlem ayrıca bir başka önemli unsur olan ve birim uzunluğa düşen '*yerçekimi kuvveti*'nden de etkilenir (Şekil 1.3.2.2) [4].



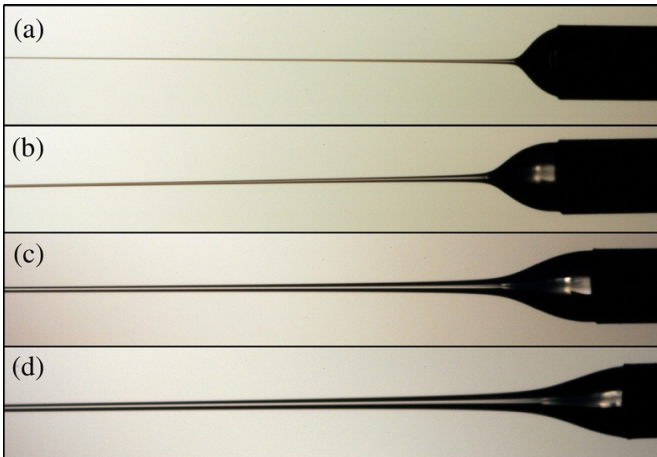
Şekil 1.3.2.2. Elektroçekim esnasında kılcal boru ucunda oluşan jetin maruz kaldığı kuvvetler [78].

Besleyici üniteye konulan iğnenin ucunda asılı durumda duran polimer damlası, ortamdaki elektriksel kuvvetler sıfır ya da sıfıra yakın iken, polimer sıvısının yüzey geriliminden dolayı, küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark, kritik voltaj değerine ulaştığı anda, elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi ve viskoelastik kuvvetleri aşmaya başlar. Bu noktada, yuvarlak bir şekle sahip olan polimer damlası koni biçimini alır. Bu koniye 'Taylor konisi' denir. Şekil 1.3.2.3'de polimer damlasının şekil değişimi ve jet oluşumu aşama aşama gösterilmektedir [4, 79].



Şekil 1.3.2.3. Uygulanan Voltajın Arttırılmasıyla Taylor Konisi ve Jet Oluşumu (a) 110° (b) 107° (c) 104° (d) 100° [4].

Artan voltajın etkisiyle koni ucundan çıkan jetler, elektriksel alan içinde yüklenmiş olarak, artan bir hızda ve sürekli sıvı filament formda toplayıcıya doğru ilerlemeye başlarlar. Şekil 1.3.2.4, farklı besleme oranlarında (Q) ve elektriksel alan (E) kuvvetleri altında hareket eden jetlerin koni formundan jet formuna geçerek harekete başladıkları ilk anı göstermektedir [73].

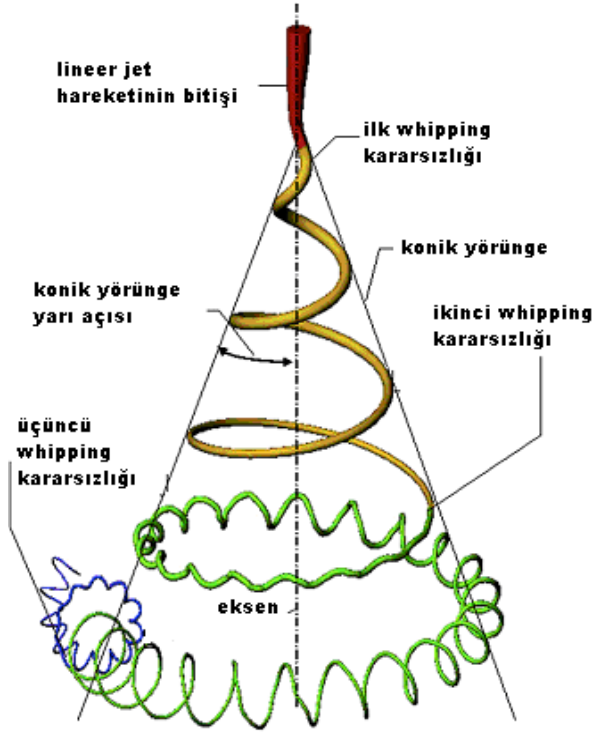


Şekil 1.3.2.4. Suda %2'lik polietilen oksit (PEO) [molekül ağırlığı 920kg/mol] ile hazırlanan çözeltinin elektriksel alan içinde oluşan jetleri. (a) $Q=0,02$ ml/dk, $E=0,282$ kV/cm; (b) $Q=0,10$ ml/dk., $E=0,344$ kV/cm; (c) $Q=0,50$ ml/dk, $E=0,533$ kV/cm; (d) $Q=1,00$ ml/dk, $E=0,716$ kV/cm [73].

Yüklenen jet, Taylor konisinden çıktıktan sonra belli bir mesafede kararlı bir şekilde ve jet içinde aynı yükü yüklenmiş iyonların birbirlerini itmesiyle (Coloumb kuvveti) hızlanarak hareket eder. Fakat viskoelastik kuvvetler, jetin ileri doğru kararlı hareketini engelleme eğilimdedirler. Lineer yönde hızlanmada azalmalar ve düzensizlikler gözlenir. Daha sonra jette kararsızlık hali belirir. Genel olarak; Rayleigh kararsızlığı, asimetrik kararsızlık ve Whipping kararsızlığı olmak üzere üç çeşit kararsızlık durumu söz konusudur. Elektroçekim işleminde en çok gözlemlenen kararsızlık hali '*Whipping (bending instability)*' dir [4, 79, 80].

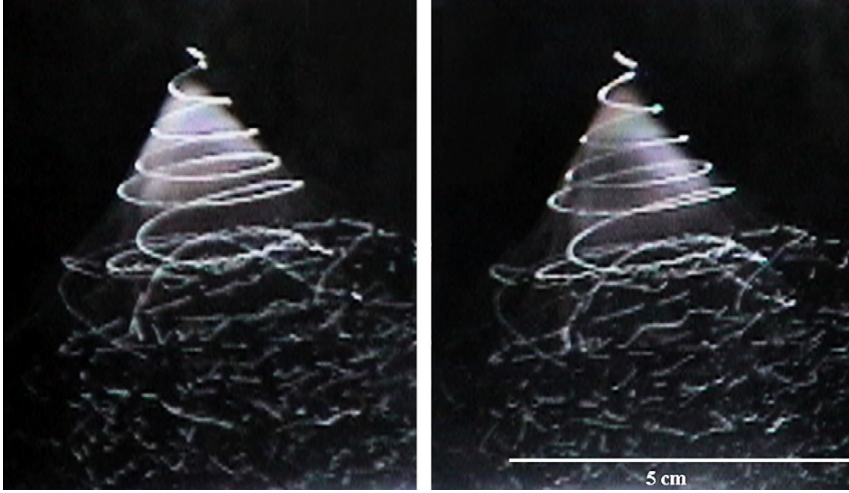
Whipping kararsızlığı, jetin taylor konisinden düz bir şekilde çıkmasından bir süre sonra toplayıcıya doğru düz bir rotada ilerlerken, jet üzerinde taşınan elektriksel yüklerin kendi dengelerini oluşturmak üzere sergiledikleri düzensizliklerden dolayı meydana gelir. Bükülmeye başlayan jet uzar ve incilir. Bükülmeye oluşan helezonik halka, jetin ilk oluşmaya başladığı anda izlediği aksel doğrultuya dik yönde hareketlenir ve toplayıcıya doğru, üç boyutlu bir şekilde büyüyerek hareketine devam eder. Toplayıcıya doğru olan bu yönelme elektriksel alan kuvvetlerinden kaynaklanır. Elektroçekim işlemi esnasında jet oluşumu sürdükçe whipping düzensizliği sonucu meydana gelen halka sayısı ve çapları artarak devam eder. Halkaların hareketleri sonucu incelen jetler, elektriksel alan içinde yeni düzensizlikler sergilemeye başlayarak, yeni halkaların doğmasına neden olurlar. Bunlar, ikincil ve üçüncül derecede, daha küçük whipping kararsızlıklarıdır. Bahsi geçen kararsız hareketler sonucu çözücü buharlaşır ve jet sertleşerek nanolif formunu alır [79].

Şekil 1.3.2.5'de, lineer jet hareketi kırmızı renkle, ilk whipping kararsızlığı sonucu oluşan halka hareketi sarı renkle, üçüncü whipping kararsızlığına ait buklelenmeler ise mavi renkle temsili olarak gösterilmiştir. Whipping hadisesi çok hızlı gerçekleştiği için yüksek hızlı fotoğrafı tekniği olmaksızın gözlemlenemez [4, 71, 79].



Şekil 1.3.2.5. Whipping kararsızlıkları (helezonik görüntü) [79].

Şekil 1.3.2.6’da Polietilen oksit (PEO) çözeltisinden yaklaşık olarak 300 nm incelikte elde edilen nanoliflerin eldeleri esnasında gözlemlenen whipping kararsızlıklarının stereoskopik ve stroboskopik görüntüleri sunulmaktadır. Molekül ağırlığı 400.000 g/mol olan PEO, %75 su ve %25 etanol çözeltisi içinde %6’lık konsantrasyonda hazırlanmıştır. Görüntüler, hızlı çekim yapabilen dijital kamera ile çekilmiştir. Kamera lensleri ve oluşumu gerçekleşen jetler arasında bir çift prizma yerleştirilmiştir. Sürekli yanan zayıf ışık ve periyodik olarak yanıp sönen kuvvetli ışık eşliğinde, stroboskopik çekimler sonunda elde edilen görüntüler, birden fazla sayıda whipping kararsızlıklarının oluştuğunu açıkça göstermektedir. Whipping kararsızlığının oluşum şekli, çözeltinin özelliklerine, elektriksel alan koşullarına ve jetin dinamik davranışlarına göre farklılaşır [73, 79].



Şekil 1.3.2.6. %75 su, %25 etanol çözeltisi içinde, %6'lık konsantrasyonda hazırlanan PEO'nun nanolif eldesi aşamasında göstermiş olduğu kararsızlıkların stroboskopik ve stereografik görüntüleri [79].

Elektroçekim işleminin en büyük avantajı, birçok polimer ile çözelti ya da eriyik formunda çalışabilme olanağı sunmasıdır [81]. Polimer eriyiğine elektrik akımı verilmesi ile gerçekleşen elektroçekim işleminin, çözelti bazlı sisteme göre, çözücülerden kaynaklanan zehirliliğin ortadan kalkması dolayısıyla çevre ve sağlık unsurları yönünden cezbedici olduğu öne sürülmektedir [82]. Bununla birlikte, eriyik sistemde işlemin gerçekleştiği ünitenin vakumlanması gerekliliği ortaya çıkmaktadır [83]. Araştırmacılar, eriyik sistemde hem hava ortamında hem de vakum altında çalışmışlar ve ortaya çıkan sonuçları karşılaştırmışlardır. Vakum altında gerçekleştirilen çalışmalarda, uygulanan gerilimle ortaya çıkan elektrik alan gücünün daha verimli olduğunu keşfetmişlerdir [4]. Günümüzde birçok nanolif üretim çalışması çözelti bazlı yapılmasına karşın, çözücülerin masraflı olması ve geri dönüşümde sıkıntıların yaşanması, bununla birlikte, eriyik sistemin endüstriyel üretim için daha uygun imkanlar sunması, araştırmacıların dikkatini çekmiş ve bu yönde çeşitli çalışmaların yapılmasına neden olmuştur [84, 85]. Fakat yukarıda ifade edilen avantajlara rağmen son 20 yılda, eriyik sistemi üzerine yapılan çalışmalarda çok az yol alınmıştır. Eriyik sistemde, işlemin yüksek sıcaklıklarda gerçekleştiriliyor olması, çözelti bazlı sisteme göre besleme oranlarının düşük olması, yüksek viskozitelerde çalışılma zorunluluğunun olması, üretilen liflerin daha çok mikro inceliklerde olması gibi zorluklar bu sisteme

olan ilginin azalmasına neden olmaktadır [86]. Aşağıdaki tabloda daha önce eriyik sistemde yapılmış çalışmalarda kullanılan polimerler ve işlem sıcaklıkları ile ilgili bilgiler verilmiştir [71].

Tablo 1.3.2.1. Eriyik sisteme göre elektroçekimi yapılan polimerler ve işlem sıcaklıkları [71].

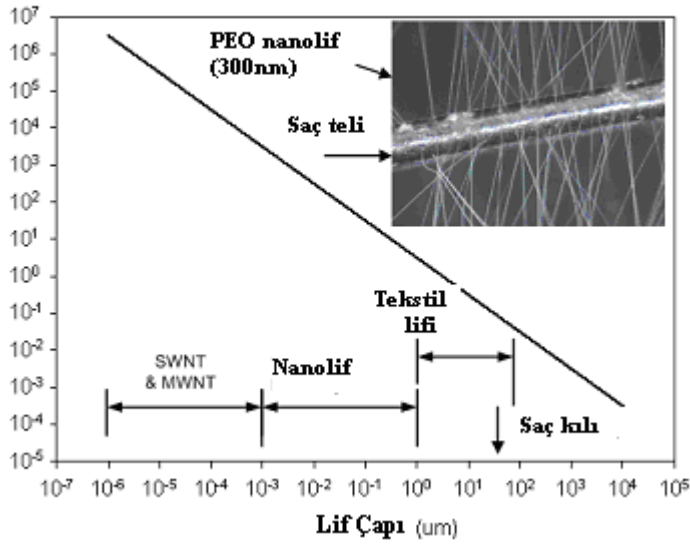
Polimer	İşlem Sıcaklığı (°C)	Referanslar
Polipropilen	220-240	[a-53]
Polietilentereftalat	270	[a-58]
Poli-(etilen glikol- block-ε- kaprolakton	58,2	[a-52]
Polietilen	200-220	[a-53]
Polimetilmetakrilat	130-157	[a-53]
Poliamid	220	[a-57]
Polisitren	240	[a-53]

Polimer liflerin çapları, mikro inceliklerden (10-100µm) nano inceliklere (10×10^{-3} - 100×10^{-3} µm) indiğinde yüzey özelliklerin daha işlevsel hale gelmesi, mekanik performans özelliklerin artması, yüksek gözenekliliğin ve yüzey alanın sağlanması gibi avantajlı durumlar ortaya çıkmaktadır [72]. Ayrıca, nanolif üretimi için kullanılan elektroçekim yönteminin, birçok polimer ile çalışmaya olanak sağlayan basit bir işlem olması ve az miktarda hammadde gerektirmesi de ilgi çekicidir. Belirtilen avantajları dolayısıyla nanolifler, biyotıp alanında, filtrasyona yönelik uygulamalarda, enerji depolanmasında ve koruyucu malzemelerin tasarlanmasında gelecek vaadeden malzemelerdir [71].

Araştırmacıların ve endüstri mensuplarının elektroçekim yöntemiyle üretilen nanoliflere olan ilgilerinin temelinde, çok ince ve uzun (sürekli) liflerin elde edilmesi ve yüksek yüzey alana sahip yapıların üretilmesinin mümkün olması yatmaktadır [87]. Şu an

tekstil sanayinde üretilen liflerin incelikleri 10µm civarında ve yukarısındadır. Buna karşın, elektroçekim yöntemiyle üretilen liflerin incelikleri, işlem değişkenlerine bağlı olarak birkaç yüz nanometre ile 1µm aralığında değişmektedir. Bununla birlikte Reneker, lif kesitinde yalnızca 40 molekül bulunan 3 nm inceliğinde nanolif üretmeyi başarmıştır [4]. İfade edilen nano incelikteki liflerin en önemli özellikleri, belli bir hacimde oluşturdukları yüzey alanın oldukça geniş olmasıdır. Aşağıdaki şekilde, insan saç teli, nanolifler ve geleneksel yöntemlerle üretilen tekstil liflerinin karşılaştırmalı tablosu sunulmaktadır [70].

Yüzey Alan (m²/cm³)



Şekil 1.3.2.7. Lif çapı ve tahmini yüzey alan grafiği [70].

1.3.3. Elektroçekim Yönteminde Nanolif Özelliklerini Ekileyen Unsurlar

Elektroçekim işlemi, kullanılan polimer özellikleri, sistemin tasarımı ve değişkenleri olmak üzere birçok unsurun etkisi altındadır [87]. Dolayısıyla elde edilen nanoliflerin özellikleri bu unsurlardan birinci derecede etkilenmektedir.

Reneker ve arkadaşları, elektroçekim yönteminde nihai nanolif özelliklerini etkileyen etkenleri araştırmak üzere çeşitli çalışmalar yürütmüşlerdir. Çalışma sonuçlarına göre nanolif özellikleri;

- Polimerin cinsi, molekül ağırlığı,

- Çözücünün cinsi ve buharlaşma özellikleri,
- Polimer çözeltisinin konsantrasyonu, viskozitesi, yüzey gerilimi, iletkenliği,
- Polimer çözeltisine eklenen yardımcı kimyasallar,
- İşlemin elektriksel alan özellikleri,
- Polimer çözeltisinin beslenme miktarı,
- Kılcal borunun (besleme ünitesi) çapı,
- Besleme ünitesinin toplayıcıya olan mesafesi,
- Ortam koşulları (sıcaklık ve nem) gibi unsurlardan etkilenmektedir.

Deneyle sonuç elde edilen bulgulara göre, lif karakteristiğini birincil derecede etkileyen unsurların; polimer çözeltisinin viskozitesi ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe olduğu belirtilmiştir [87].

Anthony L. Andrady, elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerin özelliklerini etkileyen unsurları genel olarak iki başlıkta toplamıştır. Birincisi, polimer çözeltisi gibi malzemeye özgü unsurlardır. Diğeri ise, seçilen donanım ve işlem değişkenlerinin tasarımı gibi yöntemle ait unsurlardır. Polimerin molekül ağırlığı ve çözeltinin elektrik iletkenliği, nihai nanolif özelliklerini en çok etkileyen iki unsur olarak belirtilmiştir [88].

Bu çalışmada ise, elektroçekim yönteminde nanolif özelliklerini etkileyen unsurlar; çözeltiye ait unsurlar (viskozite, polimer konsantrasyonu, polimerin molekül ağırlığı, iletkenlik ve yüzey gerilimi), işlem değişkenlerine ait unsurlar (uygulanan voltaj, besleyici ve toplayıcı arasındaki mesafe, besleme oranı) ve ortam koşulları (sıcaklık ve nem) olmak üzere üç ana grupta incelenecektir. Ayrıca, elektroçekim işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi için gereken nitelikte bir çözeltinin hazırlanmasında önemli bir etken olan ‘çözücüler’ ile ilgili detaylı bilgiler de verilecektir. Ek olarak, toplayıcı tipleri ve uygulamaları da tartışılacaktır.

Tablo 1.3.3.1. Elektroçekim değişkenlerinin lif özelliklerine olan etkileri [71].

	Değişkenler	Lif Özelliklerine Olan Etkiler
Çözeltiye Ait Unsurlar	Viskozite	Belli bir seviyeye kadar arttırılması halinde, bir hata çeşidi olan boncuk (bead) oluşumu azalır, lif çapı artar.
	Polimer Konsantrasyonu	Polimer konsantrasyonunun artması, nihai lif çapının artmasına neden olur.
	Polimerin Moleküler Ağırlığı	Moleküler ağırlıktaki artış, boncuk oluşumunu azaltır, viskozite ve lif çapını artırır.
	İletkenlik	İletkenliğin artması, lif çapının azalmasına neden olur.
	Yüzey Gerilimi	Lif özelliklerine olan etkisi net olmamakla birlikte, aşırı artması işlemleri olumsuz etkiler.
İşleme Ait Unsurlar	Uygulanan Voltaj	Voltajın arttırılması, lif çapının azalmasına neden olur.
	Besleyici Ünite – Toplayıcı Arası Mesafe	Mesafenin çok az ya da fazla olması boncuk oluşumuna sebebiyet verir. Mesafe arttıkça lif incelikler.
	Besleme Miktarı/Oranı	Besleme oranındaki azalma, lif çapının azalmasına neden olur. Yüksek besleme oranlarında boncuk oluşumu artar.
Ortam Koşulları	Nem	Yüksek nem miktarı, çözücünün buharlaşma derecesini etkileyebilir. Bazı polimerlerle yapılan çalışmalarda lifler üzerinde yuvarlak boşlukların oluştuğu belirtilmiştir.
	Sıcaklık	Sıcaklık artışı, lif çaplarının azalmasına sebep olur.

1.3.3.1. Çözeltiye Ait Unsurlar

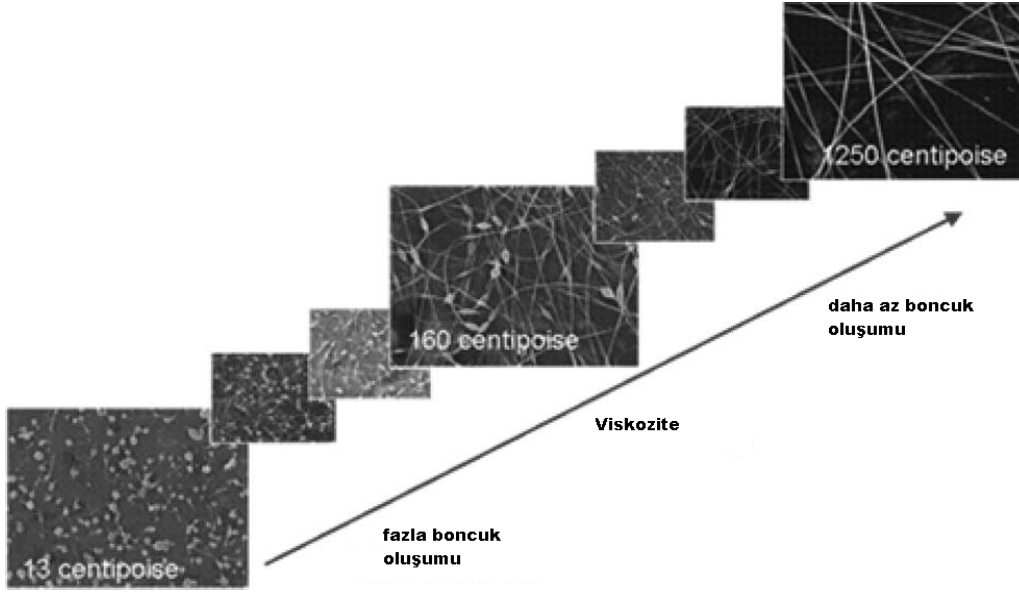
Polimer Konsantrasyonu: Elektroçekim işleminde elde edilen lif özelliklerini en çok etkileyen unsurlardan bir tanesidir [88]. Çözeltideki toplam polimer miktarı

(konsantrasyonu) lif oluşturmaya yetecek seviyede olmalıdır. Daha düşük seviyelerde hazırlanan konsantrasyonların, işlem esnasında sadece boncuk (bead) veya boncuk-lif karışımı hatalı yapıların oluşmasına neden olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, konsantrasyonun artırılmasının boncuk oluşumların incelik yassılaşılarak sonunda lif formuna dönüşmeleri gibi bir etki yaptığı saptanmıştır. Ayrıca, konsantrasyonun artmasıyla birlikte polimer çözeltisi daha yüksek bir viskoziteye sahip olduğundan, üretilen liflerin çapı da artmaktadır [89, 94]. Polimer konsantrasyonundaki aşırı artışların ise, viskozitenin de aşırı artmasına paralel olarak, jet oluşumunu ve akışının sürekliliğini engellediği belirtilmektedir [88, 95].

Polimerin Molekül Ağırlığı: Proseste kullanılan polimerin molekül ağırlığının viskozite, yüzey gerilimi, iletkenlik ve yalıtkanlık direnci gibi reolojik ve elektriksel özellikler üzerine etkisi büyüktür [94]. Moleküler ağırlık, çözelti içindeki polimer zincirlerinin uzunluğunu ifade eder. Elektroçekim işlemi esnasında, nanolif oluşumunun gerçekleşmesi için gereken yeterli viskozitenin sağlanması amacıyla genellikle yüksek moleküler ağırlığa sahip polimerlerle çalışılır. Öyle ki, çok düşük moleküler ağırlığa sahip polimerler ile çalışıldığında boncuk oluşumunun arttığı, moleküler ağırlığın yüksek olduğu polimer çözeltilerinin ise lif çapını arttırdığı saptanmıştır. *Tan ve arkadaşları*, yüksek moleküler ağırlıklı polilaktikasit (HM-PLLA) ile yapmış oldukları çalışmada, işlem için gerekli olan ideal molekül ağırlığının yeterli çözelti viskozitesini sağladığını ve yüzey geriliminin olumsuz etkisini sınırlayarak, düzgün jet oluşumu ile birlikte boncuklanmanın önüne geçildiğini tespit etmişlerdir [96]. *Gupta ve arkadaşları* da, molekül ağırlıkları 12,47 – 365,7 kDa arasında değişen Polimetilmetakrilat (PMMA) ile çalışarak molekül ağırlıklarının lif özelliklerine olan etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda, molekül ağırlıklarının artmasıyla birlikte boncuk oluşumlarının azaldığını ve daha düzgün liflerin oluştuğunu gözlemlemişlerdir [97]. Öte yandan, çözelti içinde, elektroçekim işleminin aksamadan gerçekleşmesini sağlayacak yeterli sayıda moleküler etkileşim ve molekül zinciri bağlantıları var ise, daha yüksek moleküler ağırlıklara çıkmaya gerek olmadığı belirtilmektedir. Nitekim bu prensiple araştırmacılar, 'lektin'den ürettikleri oligomer boyuttaki fosfolipid bazlı nanolifleri, dokusuz yüzey (nonwoven) yapılar içine uygulamayı başarmışlardır [98, 99].

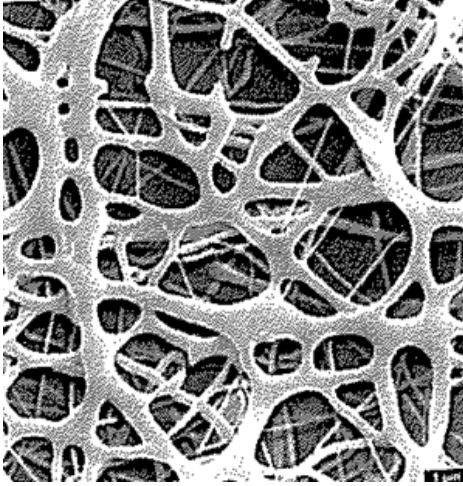
Viskozite; çözelti viskozitesi, lif inceliği ve özellikleri üzerinde önemli rol oynar. Düşük viskozitelerde sürekli lif üretimi mümkün olmazken, yüksek viskozitelere çıkıldığında jet oluşumunun güçleştiği belirlenmiştir. *Sukigara ve arkadaşları*, ipek bazlı nanolif üretiminde viskozitenin önemi üzerine çalışmalar gerçekleştirmiştir [95]. Bununla birlikte, Larrondo ve Manley de polimer eriyiğinden elektroçekim yöntemiyle ürettikleri nanoliflerde viskozitenin önemine vurgu yapmışlardır [83]. Kullanılan polimer çeşidine göre ideal viskozite değerleri farklılıklar göstermektedir. Şimdiye dek yapılan araştırmalarda 1-215 poise aralığında viskoziteye sahip birbirinden farklı çözeltilerle elektroçekim üretimi başarıyla gerçekleştirilebilmiştir [100-103]. *Fong ve arkadaşları*, polietilenoksit (PEO) ile farklı viskozitelerde gerçekleştirdikleri çalışmalarda 1- 20 poise aralığında viskoziteye sahip çözeltilerle, düzgün nanolifler elde etme anlamında başarılı sonuçlar aldıklarını bildirmişlerdir. 20 poise üzerine çıkıldığında, çözeltideki koheziv (birbirini tutan) kuvvetler nedeniyle jet akışında düzensizlikler ve aksamalar olduğundan elektroçekim işlemine devam edilememiştir. 1 poise altında ise boncuk oluşumların miktarı çok fazla artmış ve düzenli lifler elde edilememiştir [104]. Benzer şekilde selüloz asetat (CA) ile yapılan çalışmalarda, polimer, 2:1 oranında aseton/dimetilasetamid (DMAc) ile hazırlanmış olan çözeltide çözülmüştür. Çalışmalar sonunda, oda sıcaklığında 1.2 – 10.2 poise aralığında düzgün liflerin elde edilebildiği, bu değerlerin dışına çıkıldığında elektroçekim işlemine devam edilemediği görülmüştür [105].

Viskozite, polimer konsantrasyonu ve moleküler ağırlık birbirleri ile bağlantılıdır. Özellikle elektroçekim yöntemiyle lif eldesinde, polimer konsantrasyonu ve viskozite arasındaki ilişkiye atıfta bulunan birçok bilimsel çalışma mevcuttur. Viskozitedeki artışla birlikte daha düzgün ve kalın nanoliflerin eldesi gerçekleşmektedir [106]. Elektroçekim işleminde sürekli lif eldesi, çözeltilinin viskozite ve konsantrasyon değerlerine bağlıdır. Viskozitenin düşük olması durumunda, yüzey gerilimi baskın duruma geçer ve boncuk oluşumu meydana gelir [101]. Şekil 1.3.3.1.1'de PEO'nun çeşitli konsantrasyonları (%1-4,5 wt) ile elektroçekimi yapılmış olan yapıların taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile çekilmiş görüntüleri mevcuttur. Buna göre, en düşük viskozite olan 13 centipoise %1'lik konsantrasyona, en yüksek viskozite olan 1250 centipoise ise %4'lük konsantrasyona denk gelmektedir. Şekle göre, viskozite arttıkça boncuk oluşumu azalmaktadır [105].



Şekil 1.3.3.1.1. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PEO çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin SEM görüntüleri [105].

Çözücü: Elektroçekim işleminde kullanılan çözücülerin, polimere ve sisteme uygun maddeler olması gerekmektedir. Çözücülerin uçuculukları, buhar basınçları, kaynama noktaları, polimer ile uyumlulukları gibi detaylar işlem için belirleyici unsurlardır [71, 88]. İşlem esnasında, jet besleyici üniteden toplayıcıya doğru hızlanarak hareket ederken, çözücü buharlaşmakta ve yaşanan faz değişimi ile birlikte de jet incelmeye başlamaktadır. Uzayıp incelen jet sonunda nanolif halinde toplayıcı üzerinde toplanmaktadır. Dolayısıyla çözücünün özellikleri işlem için önem taşır. Çözücünün buhar basıncı, buharlaşma oranı ve kuruma zamanı üzerinde etkilidir. Uçuculuk ise faz değişimini etkiler [71]. Nanoliflerin toplayıcı üzerinde toplanmadan önce çözücünün tamamen buharlaşması gerekir. Aksi takdirde toplayıcı üzerinde biriken nanoliflerin birbirlerine yapışması ve genel yapıyı bozması söz konusu olur (Şekil 1.3.3.2) [88].



Şekil 1.3.3.1.2. Islak liflerin toplayıcıdaki görüntüleri (88).

Nanoliflerin incelikleri ve şekli, viskozite ve yüzey gerilimi gibi çözelti özelliklerinden doğrudan etkilenir. Farklı çözücüler, farklı derecelerde yüzey gerilimlerinin oluşmasına neden olabilirler. Çözelti viskozitesi, polimer konsantrasyonu tarafından belirlenirken, yüzey gerilimi hem polimer hem de çözücü özellikleri ile şekillenir. [107, 108] Tablo 1.3.3.1.1 elektroçekim işleminde sıklıkla kullanılan bazı çözücüler ve özellikleri (yüzey gerilimi, yalıtkanlık katsayısı, kaynama noktası) ile ilgili bazı bilgiler sunmaktadır [71].

Tablo 1.3.3.1.1. Elektroçekim işleminde kullanılan çözücülerin özellikleri [71].

Çözücüler	Yüzey Gerilimi (mN/m)	Yalıtkanlık Katsayısı	Kaynama Noktası (°C)	Yoğunluk (g/ml)
Kloroform	26,5	4,8	61,6	1,498
Dimetilformamid	37,1	38,3	153	0,994
Hegzafloro isopropanol	16,1	16,7	58,2	1,596
Tetrahidrofuran	26,4	7,5	66	0,886
Trifloro etanol	21,1	27	78	1,393
Aseton	25,2	21	56,1	0,786
Su	72,8	80	100	1

Metanol	22,3	33	64,5	0,791
Asetik asit	26,9	6,2	118,1	1,049
Formik asit	37	58	100	1,21
Diklor metan	27,2	9,1	40	1,326
Etanol	21,9	24	78,3	0,789
Trifloro asetik asit	13,5	8,4	72,4	1,525

Elektroçekim işleminde kullanılan çözücüler, polimer çözeltisinin iletkenliğini yorumlamak üzere yol gösterici nitelikte veri sunmaktadır. Mesela; dimetillformamid (DMF), dipolar özellikte bir çözücü olup yüksek yalıtkanlık katsayısına ve dipolar momente sahiptir. Bu özelliği sayesinde çözeltinin iletkenliğinin artmasına ve boncuksuz (beadless) düzenli nanoliflerin çekilmesine imkan tanımaktadır. DMF, poliakrilonitril, poliüretan ve biyobozunur özellikteki poly (p-dioxanone-co-L-lactide) - poly (ethylene glycol) blok kopolimeri gibi polimerlerle birlikte kullanılmış ve elektroçekim işlemi için iyi sonuç veren çözeltiler hazırlandığı belirtilmiştir. [81, 103, 109, 110]. *Geng ve arkadaşları*, çeşitli konsantrasyonlarda hazırladıkları kitosan çözeltilerinde çözücü olarak asetik asit kullanmışlar, çözücü konsantrasyonunun artmasıyla yüzey geriliminde azalmalar kaydetmişler ve bunun sonucunda da daha ince liflerin elde edildiğini gözlemlemişlerdir [111]. Farklı çözücüler, farklı çözelti yüzey gerilimlerinin oluşmasına destek olmaktadır. Ancak, düşük yüzey gerilimine sahip çözücülerin elektroçekim işlemi için her zaman uygun olmadığı belirtilmiştir [105]. Liu & Hsieh, selüloz asetat ile yaptıkları çalışmada, çözücü olarak aseton (23,7 dyne/cm) ve dimetilsetamid (32,4 dyne/cm) kullanmışlar, sadece dimetilasetamid ile çeşitli konsantrasyonlarda (% 5wt. ve % 8wt.) hazırlanan selüloz asetat çözeltileri ile yalnızca boncuk oluşumların meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Sadece aseton kullanılan durumlarda ise oldukça kısa, 1µm uzunluğunda ve üzerinde boncuk oluşumlar mevcut olan lifler elde ettiklerini belirtmişlerdir. Her iki çözücünün 10:1 (aseton/dimetilasetamid) oranında karıştırılarak, selülüzasetatı çözdüklerinde (%15 wt.) ise boncuksuz, 700 nm civarında pürüzsüz nanolifler elde edilebilmiştir [112]. *Clerck ve*

arkadaşları, biyoyumlu alifatik poliestere olan polikaprolakton (PCL) ile tıbbi amaçlı düzgün yüzeyler geliştirmek üzere farklı çözücüler kullanarak çalışmalar yürütmüşlerdir. Çözücü olarak kloroform kullandıklarında mikro incelikte lifler elde ederken, formik asit/asetik asit karışımı çözücüler ile lif çaplarının onda bir kadar azaldığını keşfetmişlerdir. Lif inceliklerinin polimer konsantrasyonu ve ortamdaki nem miktarından etkilendiği de ifade edilmiştir [113].

İletkenlik/Yüzey Yük Yoğunluğu: Elektroçekim, elektrottan alınan elektrik yükünün polimer çözeltisine aktararak nanolif eldesi prensibine göre işlediği için, kullanılan çözeltinin bu işleme yanıt verecek ölçüde iletken özelliğe sahip olması gerekmektedir. Bu özellik, polimer maddenin uygun çözücü ile çözülmesi sonucu ortaya çıkan iyonize gruplardan faydalanılarak elde edilir. Düşük konsantrasyonlu ya da yeterince iyonik olmayan çözeltilerde iletkenliği arttırmak üzere bazı katkı maddeleri de eklenebilir. İnorganik tuzlar (NaCl), inorganik bileşikler (paladyum diasetat, trialkilbenzil amonyum klorit-PLLA içinde-) çözeltinin özelliğine bağlı olarak eklenen maddelerdir [88]. Çözeltiye eklenen tuz molekülleri, çözelti içinde serbestçe hareket eden pozitif ve negatif yüklü iyonlara ayrılarak iletkenliğin artmasına neden olurlar [79].

Bazı yalıtkan malzemeler dışında polimerlerin çoğu iletken özellik sergilerler. Polimer çözeltilerin içerdikleri yüklü iyonlar jet oluşumunda etkilidirler. Çözeltinin iletkenliği, polimerin cinsine, kullanılan çözücüye ve içerdiği tuz moleküllerine bağlıdır. Yapılan çalışmalar, artan iletkenlikle birlikte lif çaplarının azaldığını göstermektedir. Bununla birlikte, iletkenliğin azalması, elektrik kuvvetleri altında jetin yeterince uzayamamasına ve dolayısıyla düzensiz liflerin ve boncuk hatasının meydana gelmesine neden olmaktadır [71]. *Hayati ve arkadaşları*, yüksek iletkenliğe sahip çözeltilerin, elektroçekim işlemi esnasında uygulanan şiddetli elektriksel alan içinde çok fazla kararsızlık gösterdiğini ve bu durumun whipping kararsızlığını ve farklı inceliklerde lif oluşumunu arttırdığını saptamışlardır. Genel olarak en ince nanolifler, iletkenliğin yükseldiği durumlarda elde edilmektedir [114]. *Zong ve arkadaşları*, çözeltilere, KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 ve NaCl gibi iyonik tuzlar ekleyerek, bu durumun lif inceliği ve şekli üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalar sonunda 200-1000 nm inceliğinde boncuksuz ve düzgün nanolifler üretmeyi başarmışlardır. Yine biyobozunur özellikteki

PLDA ile yaptıkları çalışmada, çözeltiye %1 wt. oranında tuz eklenmesiyle boncuk oluşumun kaybolduğunu ve daha ince liflerin oluştuğunu saptamışlardır. Bu durumda, çözeltiye tuz eklenmesiyle çözelti yüzeyinde ve dolayısıyla meydana gelen jette daha fazla yük taşınmasının mümkün olduğu ve elektrik alan içinde jete etkiyen kuvvetlerin artarak jetin daha fazla uzamasına sebep olduğunu belirtmişlerdir [115].

Yüzey Gerilimi: Polimer çözeltisinin elektriksel olarak yüklenmesi ve zıt yüke sahip toplayıcıya nanolif formunda fırlatılabilmesi için, çözeltinin sahip olduğu yüzey gerilimi ve dolayısıyla tutucu (kohezyon) kuvvetlerin, uygulanan voltaj ile aşılması gerekmektedir. Dolayısıyla işlemin başlayabilmesi için gereken elektriksel güç, polimer çözeltisinin yüzey gerilimi ile doğrudan ilişkilidir. Diğer işlem değişkenlerinin sabit kalması şartıyla, polimer çözeltisinin viskozitesinin düşük olması, uygulanacak voltajın da düşük olmasına neden olmaktadır. Polimer çözeltisinin yüzey geriliminin yüksek olması elektroçekim işleminde tercih edilen bir durum değildir [88]. Çözeltinin yüzey geriliminin düşürülmesi, sorunsuz bir elektroçekim işlemine imkan vereceği gibi, aynı zamanda daha ince liflerin üretilmesini sağlamaktadır. Yüzey geriliminin artması, boncuk oluşumunu tetiklemektedir [71]. Yüzey gerilimi, hazırlanan polimer çözeltisinin konsantrasyonu ve polimerin kimyasal yapısı ile doğrudan ilişkilidir. Konsantrasyonu yüksek olan polimer çözeltilerinin yüzey gerilimleri, düşük konsantrasyona sahip bazı yüzey aktif maddeler kullanılarak düşürülebilmektedir [88].

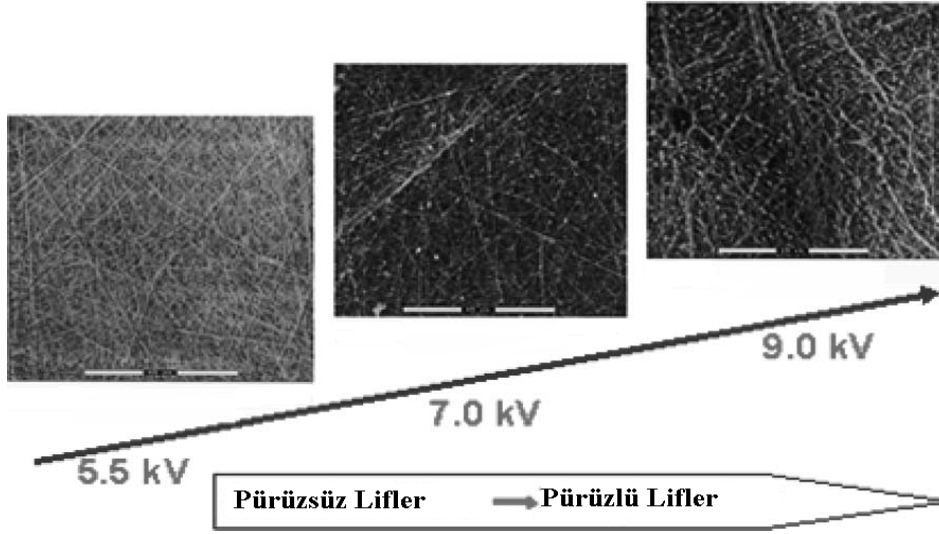
Yalıtkanlık Katsayısı: Yalıtkanlık katsayısı, çözeltinin üzerinde taşıyabileceği elektriksel yük miktarını belirtmektedir. Farklı yalıtkanlık katsayısına sahip çözeltilerden çıkan jetler, elektriksel alan içinde farklı davranışsal tepkiler verdiği için dolayı elektroçekim işlemi için bu katsayı oldukça önemlidir. Çözeltilerin yalıtkanlık katsayıları arttıkça, iğne ucunda oluşan baloncuğun yüzeyi boyunca yük dağılımı daha düzgün olduğundan, elde edilen nanolifin kalitesi de artmaktadır [88].

1.3.3.2. İşlem Değişkenlerine Ait Unsurlar

Uygulanan Potansiyel Enerji (Voltaj); Genel olarak, elektrota uygulanan voltajın miktarı arttıkça, iğne ucunda oluşan baloncuğun yüzeyindeki yük miktarı artmaktadır. Bu da oluşan nanolifin çapının küçülmesine neden olmaktadır. Çözeltiye verilen

elektrik yükünün miktarı arttıkça, oluşan jetler elektrottan toplayıcıya doğru daha hızlı yol alırlar [88].

Elektroçekim işleminde uygulanan voltaj önemli bir role sahiptir. Kritik voltaj değerinin aşılması ile birlikte, polimer çözeltisi elektrik alan içinde hareket edecek yeterli yük miktarına sahip olmaktadır. Kılcal boru ucunda oluşan damlanın şekli voltaj, viskozite ve besleme oranı ile farklılaşmaktadır [100]. Uygulanan voltajın elektroçekim işlemi süresince ortaya çıkardığı sonuçlar ve life olan etkileri hakkında farklı görüşler mevcuttur. Reneker ve Chun 1996 yılında polietilenoksit (PEO) ile yapmış oldukları çalışmada, elektrik alanın, oluşan lif çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını savunmuşlardır. *Zhang ve arkadaşları* ise 2005 yılında yaptıkları çalışmalarda, voltaj yükseldikçe elektrik alan kuvvetleri tarafından kılcal borudan daha çok polimer çözeltisi çekildiğini ve bu durumun nihai lif çapını arttırdığını iddia etmişlerdir [116]. Diğer araştırmacılar ise, uygulanan voltajın artması ile elektrik alan kuvvetinin arttığını ve bu durumun akışkan jet içindeki aynı yüklü yüklerin birbirlerini daha fazla itmesine neden olarak jetin incelmeye ve en nihayetinde daha ince liflerin oluşmasına sebep olduğunu belirtmişlerdir. Birçok araştırmacı, uygulanan voltajın artmasıyla bahsi geçen Columb kuvvetlerinin jete inceltiltiğini, ancak elektrik alan şiddetinin çok fazla artması durumunda jet hareketinin ve buharlaşmanın aşırı hızlandığını ve bunun sonucunda da boncuk oluşumunun meydana gelebileceğini bildirmişlerdir [94, 103, 106, 117-121]. *Larrondo ve Manley* ise lif çapı ve uygulanan voltaj üzerine yaptıkları çalışmalarda elektrik alan kuvvetinin iki katına çıkarılmasıyla, elde edilen liflerin çaplarının neredeyse yarı yarıya azaldığını kaydetmişlerdir [83]. Ayrıca, *Dietzel ve arkadaşları*, PEO ile yapmış oldukları çalışmada, artan voltaj miktarının daha pürüzlü lifler meydana getirdiğini belirlemişlerdir (Şekil 1.3.3.2.1) [106].



Şekil 1.3.3.2.1. Farklı voltajlar altında üretilen PEO liflerin SEM görüntüleri [106].

Sonuç olarak, uygulanan voltaj nihai lif çapı üzerinde etkilidir. Ancak bu etkinin derecesi, polimer çözeltisinin konsantrasyonu ve besleyici ünite - toplayıcı arasındaki mesafeye göre değişiklik göstermektedir [122].

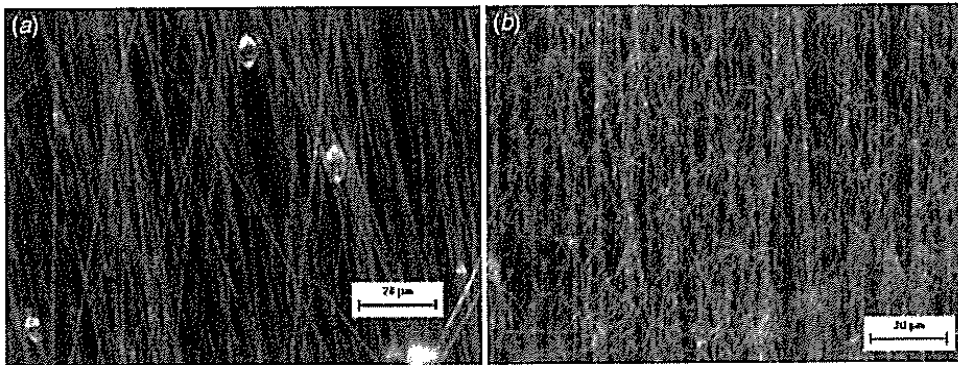
Elektroçekim uygulamalarında genellikle DC (doğru akım) yüksek güç kaynakları kullanılmaktadır. Bununla birlikte, *Tepper ve arkadaşlarının* yapmış olduğu çalışmada AC (alternatif akım) ve DC güç kaynakları kullanılarak elde edilen nanoliflerin özellikleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada, Karboksimetilselüloz (CMC) ve PEO polimerlerinden yararlanılmıştır. AC kullanımının DC kullanımına göre whipping kararsızlığını azalttığı ve dolayısıyla AC altında, jetlerin daha kararlı bir şekilde doğrudan toplayıcıya doğru hareketlendiğini görülmüştür. Bu durumda, AC ile gerçekleştirilen işlemde, toplayıcıda toplanan lifler birbirlerine daha paralel (oryantasyon) olarak dizilmektedir. Ancak çözücü yeterince buharlaşmadığından elde edilen liflerde ıslaklık meydana gelmektedir. Her iki sistemde de lif çaplarını polimer konsantrasyonunun belirlediği ifade edilmiştir [4, 123].

Besleyici ünite-toplayıcı arası mesafe; Polimer çözeltisinin elektriksel alana bırakıldığı iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe, elektriksel alan içinde ilerleyen polimer jetin bünyesindeki çözücünün buharlaşması için gerekli olan zamanı sağlamaktadır. Diğer değişkenlerin sabit kalması şartıyla, mesafe arttıkça, nanoliflerin çapında azalma meydana gelmektedir. Tam tersi durum mesafenin kısalması için geçerlidir. Mesafenin çok fazla kısaltılması, çözücünün buharlaşması için yeterli süre olmadığından,

toplayıcıda toplanan nanoliflerde ıslanma ve birbirine yapışma ile nanoağ yapının bozulmasına neden olmaktadır. Ayrıca, aşırı kısa mesafe, elektroçekim cihazında ‘kısa devre’ probleminin yaşanmasına, böylelikle işlemin yarıda kalmasına neden olmaktadır [88].

Araştırmacılar, besleyici ünite ve toplayıcı arasında, lif oluşumu için gerekli olan ideal mesafenin ayarlanması gerektiğini, bu mesafenin gereğinden kısa ya da uzun olmasının boncuk oluşumuna neden olabileceğini belirtmişlerdir. [93, 111, 119]. PVA [116], jelatin [93], kitosan [111] ve poli (viniliden forid) [124] ile yapılan çalışmalarda besleyici ünite ve toplayıcı arasındaki mesafenin lif şekli ve özelliklerini diğer değişkenler kadar etkilemediği saptanmıştır. *Bukco ve arkadaşları* da ipek fibroini ile yapmış oldukları çalışmada mesafenin azalmasıyla daha yassı, artmasıyla ise daha silindirik liflerin elde edildiğini gözlemlemişlerdir [103]. Sonuç olarak, besleyici ünite ve kolektör arasındaki mesafenin, çözücünün buharlaşmasına izin veren ve düzgün nanolif üretimini sağlayan ideal uzaklıkta ayarlanması gerekmektedir [71].

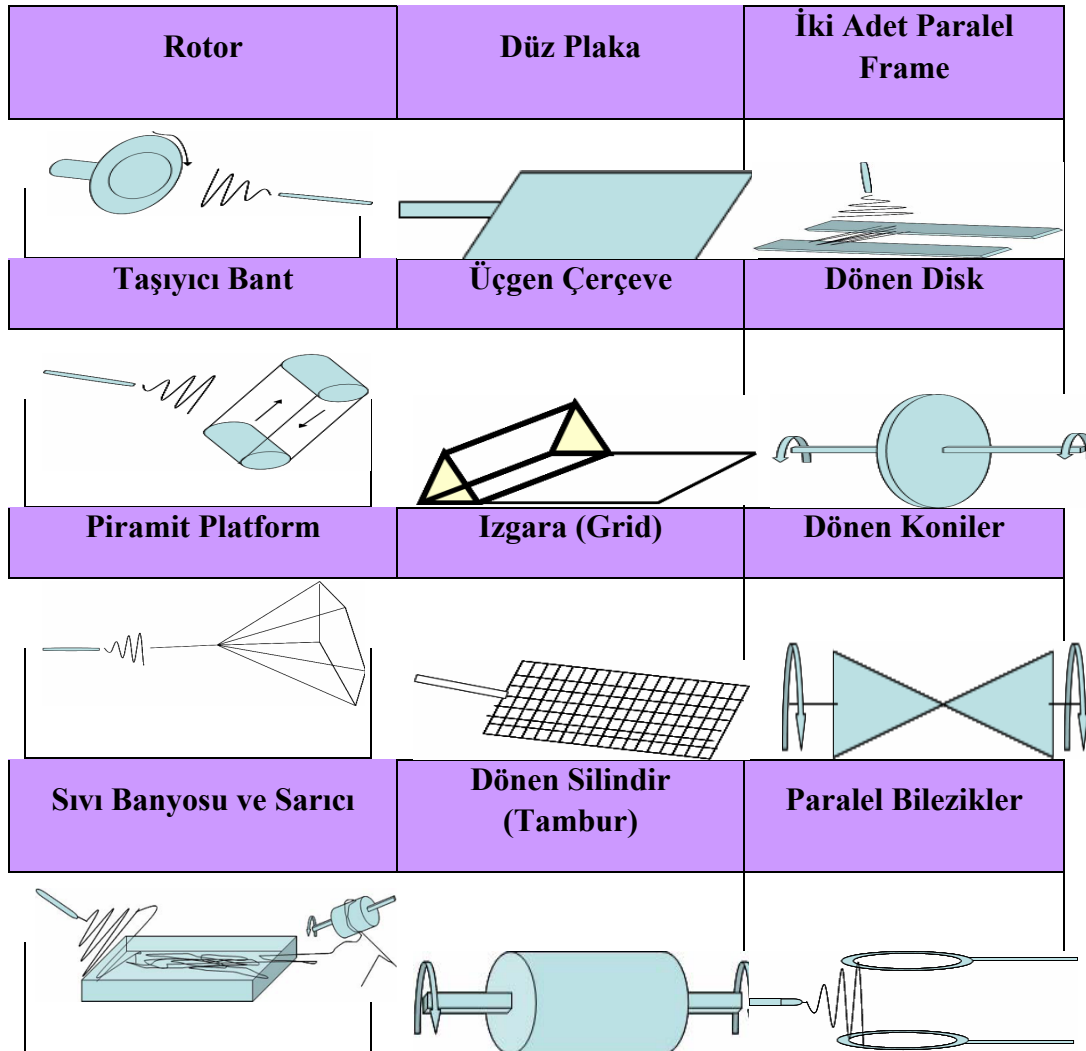
Besleme miktarı; Polimer çözeltisinin beslenme miktarı da oldukça önemlidir. Besleme miktarının, tasarlanan işlem koşullarını yerine getiremeyecek seviyede az olması, düzgün ‘Taylor Cone’ oluşumunu engeller. Fazla besleme yapılan durumlarda ise lif çapı çok artar ve toplayıcıda meydana gelen nanolif bazlı ağ tabaka üzerinde boncuklanma problemi yaşanır (Şekil 1.3.3.2.2). Bunun nedeni polimer çözeltisindeki çözücünün tamamen buharlaşması için yeterli kuruma zamanı sağlanamamasıdır [88].



Şekil 1.3.3.2.2. Nanoliflerdeki boncuklanma problemi [88].

Besleme miktarı, jet hızı ve malzeme transfer oranı üzerindeki belirleyici etkileri dolayısıyla da önemli bir parametredir. Düşük besleme oranlarının çözücünün buharlaşması için yeterli zamanın kazanılması açısından daha tercih edilir olduğu belirtilmektedir [125]. Polistiren (PS) ile yapılan çalışmalarda, besleme oranının artmasıyla lif çapının arttığı ve lif üzerinde meydana gelen gözeneklerin büyüdüğü bildirilmiştir [71].

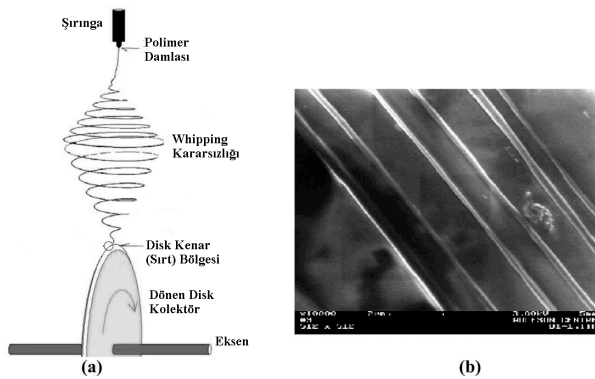
Toplayıcı (Kolektör): Laboratuvar çalışmalarında en çok kullanılan toplayıcı çeşitleri genellikle düz levha ve dönen silindir şeklinde olanlardır. Bunların yanı sıra, farklı şekillere sahip toplayıcılar da mevcuttur (Şekil 1.3.3.2.3).



Şekil 1.3.3.2.3. Toplayıcı Çeşitleri [4]

Elektroçekim makinesinin önemli bileşenlerinden biri olan toplayıcı, iletken bir özelliğe sahip olup, meydana gelen nanolifleri üzerinde toplayan parçadır [71]. Birçok çalışmada toplayıcı olarak düz levha faydalanıldığı görülmektedir. *Wang ve arkadaşları*, hiyaluronik asit ile yaptıkları çalışmada toplayıcı olarak alüminyum folyo ve tel ızgara kullanmışlar ve daha az iletken olan ızgara şeklindeki toplayıcının liflerin toplanmasında negatif etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu durumun sebebini, tel ızgara şeklindeki toplayıcının daha az iletken yüzey meydana getirmesine bağlamışlardır [126].

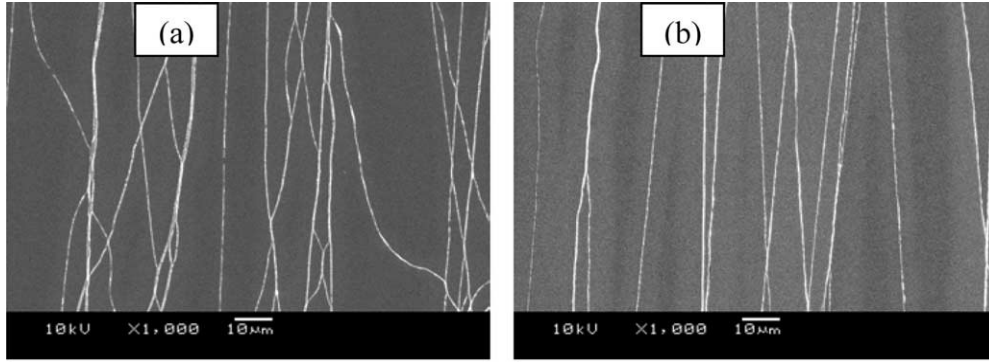
Aşırı yüklenen jet ve elektrik alan içinde meydana gelen whipping kararsızlıklarından dolayı, işlem sonunda oluşan nanolifler düz levha şeklindeki toplayıcılara dağınık (random) bir şekilde toplanmaktadırlar. Birbirlerine paralel bir şekilde düzenli olarak dizilmiş nanolifler istendiğinde, dönen disk ya da silindir toplayıcılar veya paralel elektrotlardan faydalanılmaktadır [71]. Dönen disk veya silindir toplayıcılar, dönme (rotasyon) hareketi dolayısıyla liflerin düzenli bir şekilde yan yana dizilmelerine yardımcı olurken, paralel elektrotlar elektrik alanın paralel iki levha arasında daha düzenli oluşmasını sağlarlar ve böylelikle liflerin paralel ve düzenli yatırılmalarına imkan tanırırlar [71, 73, 105]. Aşağıdaki şekilde Polietilenoksit (PEO) ile yapılan elektroçekim üretiminde dönen disk kullanılması sonucu elde edilen 100-400 nm inceliğindeki liflerin toplayıcı üzerindeki dizilimleri görülmektedir. Dönen diskin kenar (sırt) bölgesinde yoğunlaşan elektrik alan ve diskin dönme hareketinin etkisiyle liflerin paralel dizilimi gerçekleşmiştir [105].



Şekil 1.3.3.2.4. (a) dönen disk tertibatı, (b) elde edilen PEO liflerin SEM görüntüleri [105].

Toplayıcının Malzemesi: Elektroçekim işlemlerinde, temel olarak elektriksel yük hareketleri ile üretim gerçekleştiğinden, toplayıcının yapıldığı malzeme büyük önem taşımaktadır. Toplayıcının yalıtkanlık ya da iletkenlik özelliklerine göre, işlem koşulları değişmektedir. Bazı uygulamalarda, toplayıcı ve elektrot arasına yardımcı toplayıcılar da konularak farklı üretimler gerçekleştirilmiştir. Bunlardan bir tanesi sulu uygulamalardır. Nanolifler üzerindeki elektriksel yük suya çarptırılarak boşaltılmıştır. Normal toplayıcı yapılar ile su üzerinde toplanan nanolifler arasında şekilsel farklılıklar tespit edilmiştir [88].

Aşağıdaki şekilde alüminyum ve tahta çerçeveler üzerine toplanmış nanoliflerin SEM görüntüleri sunulmaktadır. Şekle göre alüminyum çerçeve üzerine toplanan lifler daha paralel ve düzenlidir [105].



Şekil 1.3.3.2.5. Tahta (a) ve alüminyum (b) çerçeveler üzerine toplanan nanoliflerin karşılaştırılması [105].

1.3.3.3. Ortam Koşulları

Çözeltiye ait unsurlar ve işlem değişkenlerine ait unsurlar dışında, elektroçekim işlemini etkileyen bir başka etmen ise ortam koşullarının özellikleridir. İşlem esnasında, nanolif üretimine etki eden etkenlerin mümkün olan en iyi seviyede kontrol altında tutulduğu bir ortamın yaratılması istenen bir durumdur. Daha da önemlisi, elektroçekim işlemi esnasında iğne ucundan püskürtülen çözeltinin üzerindeki yükü, belirlenen elektriksel alan ve dolayısıyla sabit bir rota içinde toplayıcıya ulaştırabilmesi için kontrollü bir ortamın yaratılması gerekmektedir. Çoğunlukla, ortamda hava kullanılır. Fakat Ksenon

(Xe) gibi kontrollü gazların bulunduğu ortamlarda da elektroçekim işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir [88].

Poliüretan (PU) ile yüksek sıcaklıklarda (70°C) gerçekleştirilen elektroçekim işlemlerinde, oda sıcaklığında yapılan çalışmalara göre daha düzgün liflerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bahsi geçen deneylerde, oda sıcaklığında PU polimer konsantrasyonu % 12,8 wt. ile ideal sonuçlar alınırken, yüksek sıcaklıklarda bu oran % 21,2 wt.'ye kadar çıkmıştır [105]. *Uppatham ve arkadaşları*, 25°C - 60°C aralığında değişen sıcaklıklar altında nylon 6 ile yaptıkları elektroçekim deneylerinde, sıcaklığın artmasıyla birlikte elde edilen lif çaplarının azaldığını belirlemişler ve bu durumu, yüksek sıcaklıklarda polimer çözeltisinin viskozitesinin düşmesi ile açıklamışlardır [127]. Sıcaklık ile çözelti viskozitesi arasında ters bir oran söz konusudur [71]. *Casper ve arkadaşları* ise nemin elektroçekim işlemine etkileri üzerine yapmış oldukları çalışmada, artan nem oranının polisitren çözeltisinden elde edilen nanolifler üzerinde küçük ve yuvarlak gözenekler oluşturduğunu ve nemin daha fazla artırılması durumunda da lifler üzerindeki bu gözeneklerin büyüyerek birbirleriyle birleştiklerini ortaya çıkarmışlardır [128]. Düşük nem seviyelerinde, uçucu özellikteki çözücülerin buharlaşmaları hızlı olduğundan çabuk bir şekilde kurudukları bulunmuştur [71]. Ayrıca, bazı çalışmalarda, yüksek nem ortamının nanolif oluşumuna yardımcı olduğu da belirtilmiştir. [129, 130]. *Joo ve arkadaşları*, eriyik sistemde Polilaktikait (PLA) ile gerçekleştirdikleri çalışmada, sisteme özel bir gaz beslemişler ve elektroçekim işlemi sıcak hava akımı olan ortamda gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda, sisteme gaz beslenmesi sonucu elde edilen liflerin çapında %10'luk bir azalma kaydedilmiştir. Ortamdaki sıcak hava akımı ise lif çaplarını yirmide bir oranında azaltmıştır [131].

1.4. GÜMÜŞ İYONU

Gümüş, çok eski tarihlerden bu yana yaraların ve yanıkların tedavisinde kullanılmıştır [14]. Son yıllarda, özellikle gümüş (Ag) nanoparçacıkların antibakteriyel etkisi üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır. Bu manada gümüş, yara örtülerinden tıbbi amaçlı kullanılan birçok malzemeye kadar birçok üründe antimikrobiyel özellik sağlayan madde olarak kullanılmaktadır [15].

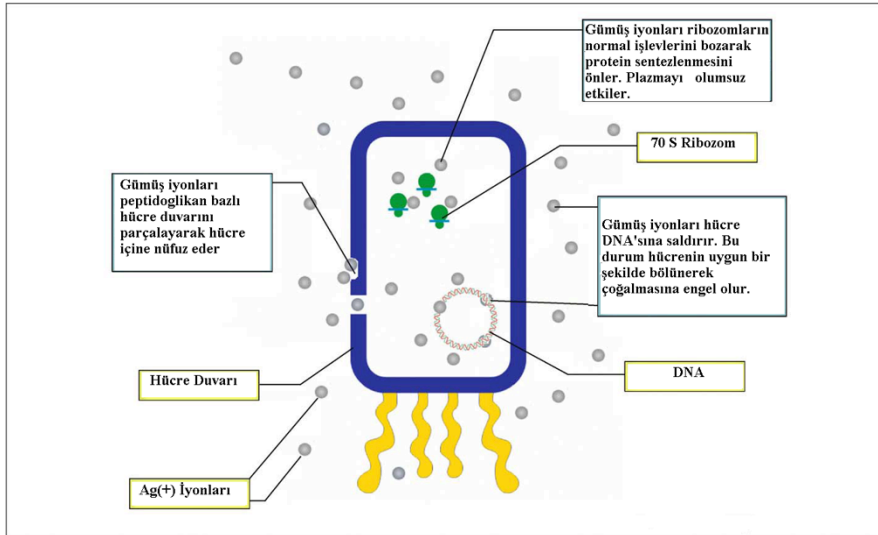
Gümüşün ilk olarak kullanımı M.Ö. 1000’li yıllara kadar uzanmaktadır ve içilebilir su eldesinde kullanıldığı belirtilmektedir. Bazı kaynaklarda, 1700’lü yıllarda gümüş nitrat bazı ürünlerin zührevi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ifade edilmektedir. Ayrıca, 19. yüzyılda gümüş nitrat kullanımı ile yaralardaki granülasyon dokusunun uzaklaştırılması ile epitelizasyonun ve yara yüzeyinde kabuk oluşumunun hızlanarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu aktarılmaktadır. 1881 yılında Carl S.F. Crede yeni doğan bebeklerde meydana gelen göz hastalıklarını (ophthalmia neonatorum) gümüş nitrat içerikli göz damlası ile tedavi etmiştir. 1940’lı yıllarda penisilin keşfiyle, bakteriyel kirliliklerin ve hastalıkların gümüş kullanılarak tedavi edilmesinde azalmalar görülmüştür. Ancak, 1960’lı yıllarda Moyer’in %0,5’lik gümüş nitrat ile yanık tedavisinde kullandığı formülasyon ile gümüş yeniden popülerlik kazanmıştır. Moyer, bahsi geçen formülasyonun epidermal onarımı (proliferasyon) aksatmadığını ve bazı bakterilere karşı (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) başarı kaydedildiğini iddia etmiştir. 1968 yılında, gümüş nitrat ve sülfonamid tepkimeye sokularak gümüş sülfadiazin krem elde edilmiştir. Geniş etki alanlı antibakteriyel özellikteki bu kremin yanık yaraların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Son yıllarda, antibiyotiğe karşı dayanıklı bakterilerin yol açtığı vakaların ciddiyeti ve klinik uzmanların antibiyotik tüketimi konusundaki olumsuz yaklaşımları dolayısıyla farklı seviyelerde gümüş içeren yara örtülerine talep artmıştır [14]. Tablo 1.4.1’de iyonik gümüş içeren ticari yara örtülerine örnekler sunulmuştur.

Tablo 1.4.1. İyonik gümüş içeren ticari yara örtülerinden bazıları [47].

Ticari İsim	Antimikrobiyel Madde	Örtü Formu	Üretici Firma
Acticoat absorbent	İyonik Gümüş	Kalsiyum Alginat	Smith & Nephew, Inc, Largo, FL, USA
Actisorb Silver 220	İyonik Gümüş	Gümüş katkılı aktif karbon bazlı örtü	Johnson and Johnson Wound Management, Somerville, NJ, USA
Arglaes	İyonik Gümüş	Transparan film/pudra	Medline Industries, Inc, Mundelein, IL, USA
Aquacel AG	İyonik Gümüş	Hidrofiber	Convatec, Skillman, NJ, USA

Contreet H	İyonik Gümüş	Hidrokolloid	Coloplast Corp, Marietta, GA, USA
Contreet F	İyonik Gümüş	Köpük (Foam)	Coloplast Corp, Marietta, GA, USA
Silvasorb Antimicrobial	İyonik Gümüş	Hidrojel Film/Amorf Jel	Medline Industries, Inc, Mundelein, IL, USA

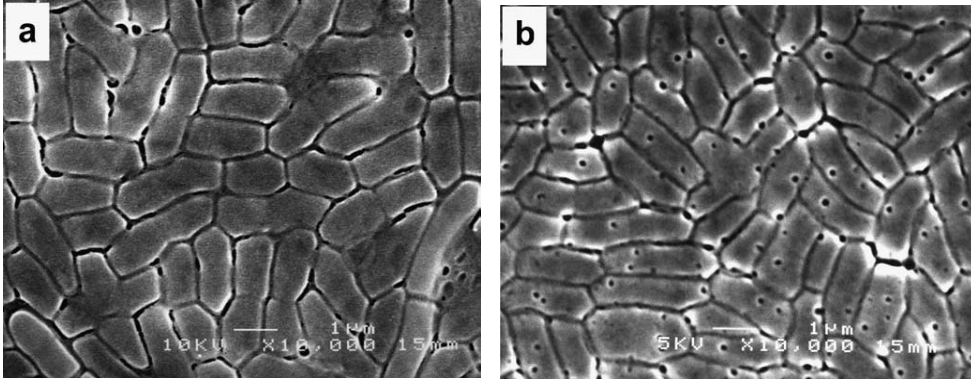
Diğer tuzlarla karşılaştırıldığında, gümüş nanoparçacıklar sahip oldukları yüksek yüzey alan sayesinde mikro-organizmalara daha iyi temas ederek daha etkin bir antimikrobiyel etki gösterirler. Nanoparçacıklar hücre zarına tutunurlar ve hücre içine nüfuz ederler. Bakterilerin hücre zarları sülfür içerikli proteinler ihtiva etmektedir. Nano gümüş parçacıklar bu proteinlere ve fosfor içeren DNA'lara yapışırlar. Ayrıca nanopartiküller bakterinin solunum sistemine de saldırırlar. Nanoparçacıkların hücre zarından hücre içine geçmesiyle, bakteri merkezinde düşük yoğunluklu bir bölge meydana gelir. Tüm bu faaliyetlerin sonunda kontrolsüz hücre bölünmesi ve hücre ölümü gerçekleşir [14, 132].



Şekil 1.4.1. Gümüş iyonunun antibakteriyel etki mekanizması [133].

Sondi ve Salopek-Sondi yapmış oldukları çalışmada gümüş nanoparçacıkların gram negatif bakteri grubuna mensup E.coli üzerindeki antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. SEM görüntüleri nanoparçacıkların hücrelere tutunması ve hücre ölümleri ile ilgili detayları ortaya koymuştur (Şekil 1.4.2). Buna göre, gümüş nanoparçacıklar hücre yapı

elementleri ile reaksiyona girerek hücrelerde tahribata neden olmaktadır. TEM ve EDAX [bir tür nitel (kalitatif) kimyasal analiz yöntemi] analizleri de gümüş nanoparçacıkların hücre zarıyla olan etkileşimini kanıtlamaktadır. Araştırmacılar, çalışmaları sonucunda nanomalzemelerin basit ve düşük maliyetli uygulamalarla yeni nesil bakteriyel ürünlerin geliştirilmesinde önemli roller üstleneceği sonucuna ulaşmışlardır [134].



Şekil 1.4.2. (a) E. Coli hücreleri, (b) LB (Luria–Bertani) sıvısı içinde $50 \mu\text{g cm}^{-3}$ gümüş ile muamele edilmiş hücrelerin SEM görüntüleri (4 saat sonra) [134].

Leaper, yapmış olduğu çalışmada gümüş nano kristaller içeren yara örtülerinin yara iyileşme sürecinin yönetiminde oynadığı rolden bahsetmiştir. Nano parçacıkların yara alanına (topikal) salınımlarının iz bırakmadan yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu ve kozmetik açıdan daha iyi sonuçlar alındığını vurgulamıştır [135].

Maneerung ve arkadaşları gümüş nanoparçacıklar emdirilmiş, selüloz bazlı yara örtüsünün antibakteriyel özelliği üzerine çalışmışlardır. Bahsi geçen yara örtüsünün E. coli and S. Aureus bakterilerine karşı etkin koruma sağladığı görülmüştür [136].

Jun ve arkadaşları, Polivinilalkol (PVA) nanoliflerine gümüş nanoparçacıklar ilave etmişler ve iyi derecede antibakteriyel özellik sağlayarak yara örtüsü geliştirilmesinde kullanılabilecek bir malzeme yapısı oluşturduklarını öne sürmüşlerdir [137].

Son yıllarda, antimikrobiyel etkiyi artırmak amacıyla araştırmacıların gümüş yüklü kitosan nanoparçacıkların geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar yaptıkları belirtilmektedir

[c-5].*Qin ve arkadaşları* da kitosana gümüş eklenmesi ile antimikrobiyal etkinin arttığını kanıtlamışlardır [138].

Nano gümüş içeren kitosan film bazlı yara örtüleri üretilmiştir. Bunun için sterilizasyon amaçlı olarak önce %75'lik alkol çözeltisinde 1 gün boyunca bekletilen örtünün her iki yüzeyi 1 saat boyunca UV ışığa maruz bırakılmış, sonra steril su ile yıkanmıştır. Daha sonra, steril haldeki kitosan filmler nano gümüş içerikli çözeltiyle 4 °C'de 12 saat boyunca muamele edilmiştir. Gümüş ve Azot (Ag—N) arasında gerçekleşen bağlar sayesinde kitosan film yara örtüsünde ağırlıkça %0.35 civarında gümüş bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, yara örtüsünün yüzeysel yapısını incelemek üzere AFM (Atomic Force Microscope)'den, kitosan filme tutunan gümüş nanoparçacıkları belirlemek üzere ise SEM (Scanning Electron Microscope)'dan faydalanılmıştır. Biyouyumluluk değerlendirmeleri yapmak üzere sitotoksosite, pirojenite testleri ve üzerlerinde kısmi kalınlıkta derin yaralar oluşturulan Sprague–Dawley farelerden yararlanılmıştır (animal model test). Karşılaştırma yapmak üzere gümüş sülfadiazin içerikli kitosan film örtüler kontrol numunesi olarak kullanılmıştır. Buna göre, 13. gün sonunda %99'luk iyileşme oranıyla nano gümüş içerikli kitosan filmler, %82 iyileşme sağlayan gümüş sülfadiazin içerikli kitosan filmlere göre daha iyi sonuç vermiştir. Araştırmacılar, aynı konsantrasyonlarda nanoparçacık halindeki gümüşün, iyon formundaki gümüşe göre daha etkin bir performans sergilediği sonucuna ulaşmışlardır [139].

Thomas ve arkadaşları, asidik özellikteki, gümüş nitrat ve kitosan içeren çözeltide bulunan gümüş iyonlarını basit bir fotokimyasal tepkimeyle indirgeyerek nanoparçacıklara dönüştürmüşler ve böylelikle nanogümüş içeren film örtüler üretmeyi başarmışlardır. Bahsi geçen örtüler, E. coli ve Bacillus bakterilerine karşı yüksek seviyede antibakteriyel özellik sergilemiştir. Kullanım alanı olarak; yara örtüleri, paket malzemeler ve birtakım implantlara kaplama malzemesi gibi ürünler örnek gösterilmiştir [140].

Madhumathi ve arkadaşları yara iyileşme sürecine destek olması amacıyla α -kitin/nanogümüş karışımli yenilikçi bir kompozit doku iskelesi (skafold) geliştirmişlerdir. Çalışmalar neticesinde kompozit malzemenin iyi seviyede

antibakteriyel özellik sergilemesinin yanında kanın pıhtılaşmasına da yardımcı olduğu anlaşılmıştır [141].

Benzer şekilde *Sudheesh Kumar ve arkadaşları*, yara iyileşme sürecinde kullanılabilen yardımcı malzeme olarak β -kitin/nanogümüş kompozit doku iskelesi geliştirilmesi ile ilgilenmişlerdir. Geliştirilen yapılar antibakteriyel etkinlik, yara pıhtılaşması, şişme ve sitotoksikite özellikleri açısından incelenmiştir. Testler sonucunda β -kitin/nanogümüş kompozit malzemelerin *E. coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı oldukça etkili olduğu ve yara pıhtılaşmasına katkıda bulunduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, epitelial hücrelerle (Vero) yapılan testlerde kompozit malzemenin hücre tutunması açısından ideal bir yapı meydana getirdiği kanıtlanmıştır [142].

Chopra, antimikrobiyel madde olarak gümüş kullanmanın avantaj ve dezavantajları üzerine çeşitli çalışmalarda bulunmuştur. Yara örtülerinde gereğinden az miktarda gümüş kullanmanın, zamanla gümüşe karşı bir direnç oluşmasına neden olabileceğini dolayısıyla gereken miktarlarda gümüş içeren yara örtülerinin tercih edilerek hızlı bir antibakteriyel etkinin ortaya konmasının daha uygun olacağını ifade etmiştir. Öte yandan bazı çalışmalar, özellikle açık geniş yaralarda sürekli olarak gümüş içerikli örtülerin kullanılmasının uzun vadede alerjiye (argiroz) neden olabileceğinden bahsetmektedir. Birçok çalışmada gümüş nanoparçacıkların zehirli (toksik) özellik taşımadığı vurgulanmaktadır, ancak boyutları çok küçük olduğundan çevre için zararlı olabileceikleri görüşü de savunulmaktadır. Ayrıca, *Braydich-Stolle ve arkadaşlarının* 2005 yılında yapmış oldukları çalışmada nano gümüş parçacık miktarının artması ile birlikte, deney için kullanılan C18-4 hücrelerinin sitotoksik olarak olumsuz yönde etkilenerek mitokondriyal faaliyetlerinin arttığı belirlenmiştir [14].

Yapılan araştırmalar gümüşün iyonik ve nanoparçacık olarak kullanımı ile yaraların tedavisinde, dişçilik ile ilgili malzemelerde, tekstil kumaşlarında, su arıtma teknolojilerinde, güneş kremlerinde vb. başarıyla uygulandığını ortaya koymakta ve gümüşün insan hücreleri için zararsız, yüksek ısı kararlılık ve düşük uçuculuk özellikleri ile tercih edilen bir malzeme olduğunu belirtmektedir [14].

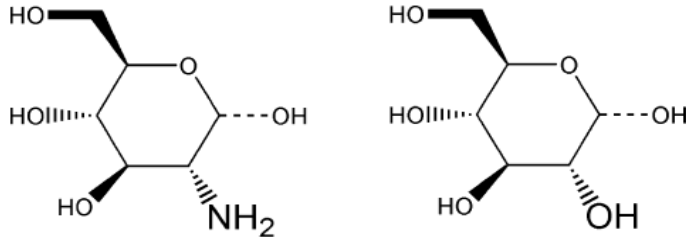
1.5. KİTOSAN

Kitosan, doğal bir polimer olan kitinden elde edilmektedir. Doğal birer aminopolisakkarit olan kitin ve kitosan taşımış oldukları biyoyumluluk, çevreye zarar vermeden biyobozunur olma, toksik olmama, mekanik dayanım sergileme, antibakteriyel nitelik taşıma gibi özelliklerinden dolayı biyotıp uygulamalarında ve diğer endüstri dallarında başarıyla kullanılmakta ve yeni malzemelerin geliştirilmesi açısından fırsatlar sunmaktadır [138].

Kitosan, ilk defa 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. Bracannot, mantarlarda bulunan kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. 1894'de Hoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksit ile 180°C'de tepkimeye sokmuş (deasetilasyon) ve asetil içeriği azaltılmış bir ürün olan "kitosan"ı elde etmiştir. 1934 yılında kitosandan film üretimi ve lif eldesi konusunda olmak üzere iki patent alınmıştır. Aynı yıl, Clark ve Smith tarafından çok iyi oryante olmuş kitosan lifi üretimi de başarı ile gerçekleştirilmiştir. Kitin ve kitosan hakkındaki ilk kapsamlı yayın, 1977 yılında Muzarelli tarafından yapılmıştır [143]. Rathke ve Hudson, kitinin mikrolifli yapısından dolayı film ve lif üretimi açısından ideal bir ürün olduğunu ancak çözünürlük özelliğinin kötü olması dolayısıyla deasetilasyon işlemi ile çözünürlük değerleri daha iyi olan Kitosan eldesinden bahsetmişlerdir. *Rinaudo ve arkadaşları* 2001 yılında yayınladıkları çalışma ile yaş eğirme tekniğiyle kitin ve kitosan lif üretimini tanımlamışlardır. 2002 yılında Rajendran ve Anand, kitin ve kitosan liflerin üretimi, özellikleri ve uygulama alanları ile ilgili yapılan çalışmalar hakkında bilgiler vermişlerdir [138]. Daha sonra bu konuda çeşitli uluslararası sempozyumlar ve araştırmalar ile devam eden incelemeler günümüze kadar ulaşmaktadır. Bu çok yönlü polimerlerin yeni ve alternatif uygulama alanlarını bulmaya ve uygulamaya yönelik akademik ve endüstriyel seviyedeki araştırmalar halen kapsamlı ve yoğun bir şekilde sürdürülmektedir [143].

Kitin, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir [144]. Kitin, yapısal olarak hayvanlarda kolajen, bitkilerde ise selüloza benzer görevler üstlenmektedir. Bitkiler hücre duvarlarında selüloz üretirken birtakım böcekler ve kabuklular da kabuklarında kitin üretimi gerçekleştirirler. Dolayısıyla doğada en çok

üretilen biyopolimerler olarak kitin ve selüloz canlılar için hem yapısal bütünlük hem de koruma sağlayan önemli polisakkaritlerdir [138].



Şekil 1.5.1. Glikozamin (kitosan monomeri) ve glikozun (selülozun monomeri) kimyasal yapıları [138]. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (-NH₂) grubu bulunmaktadır [143].

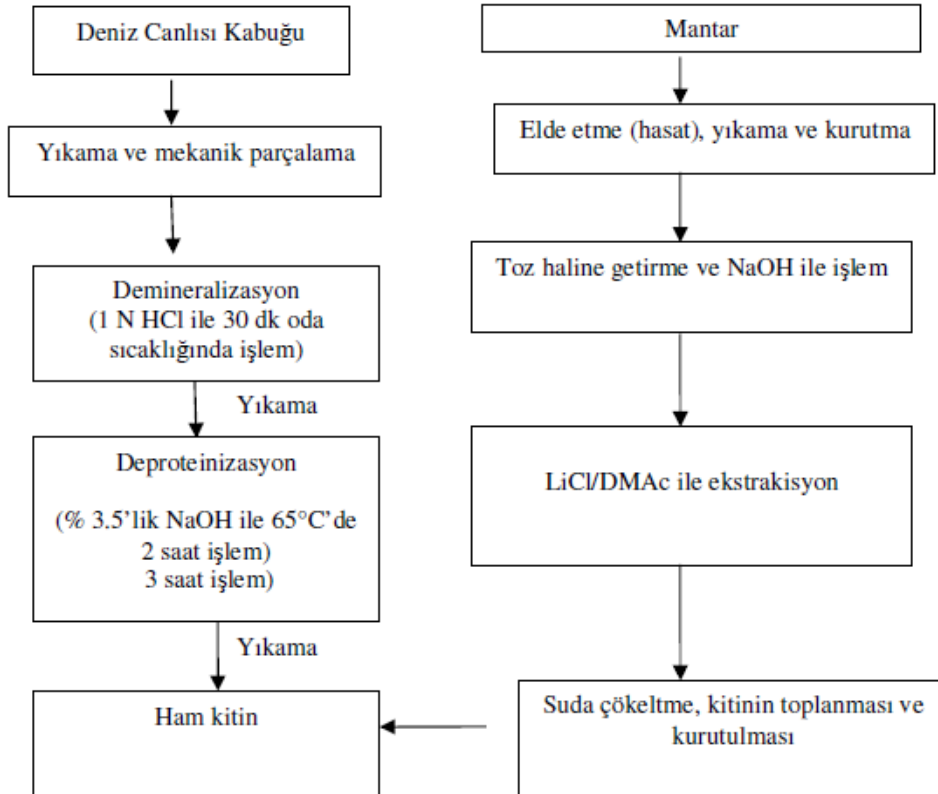
Kitin, yengeç, karides ve istakoz gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarında bulunur. Dünya genelinde yıllık kitin üretiminin yaklaşık 150×10^3 ton kadar olduğu belirtilmektedir. Bu miktarın 56×10^3 tonu karidesten, 39×10^3 tonu çeşitli deniz kabuklularından, 32×10^3 tonu mantarlardan ve 23×10^3 tonu ise istiridyelerden elde edilmektedir. Böcek kabuklarında yaklaşık olarak % 23,5 oranında kitin bulunurken bu oran yengeç ve karideste sırasıyla % 17 ile % 32 arasında değişebilmektedir [143].

Kitin, esas olarak poli-[β -(1,4)-2-asetamid-2-deoksi- β -D-glukopiranoz] yapısında olup çok düşük oranda 2-amino-2-deoksi- β -glukopiranoz monomerlerini de ihtiva etmektedir [143]. Garner ve Blackwell, kitinin çoğunlukla lifli kristalin bir yapıda bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. Infrared spektroskopi ve X-ray difraksiyon teknikleri kullanılarak elde edilen verilere göre kitin üç farklı kristalin formda bulunmaktadır; α -kitin, β -kitin and γ - kitin. α -kitin'de moleküller aksenel olarak oldukça sıkışık ve birbirine paralel olmayan şekilde düzenlenmişlerdir. β -kitin'de molekül zincirleri birbirine paralel dizilmekte iken γ -kitin'de hem paralel hem de paralel olmayan dizilimler söz konusudur. β -kitin'deki paralel dizilimler dolayısıyla moleküllerin kendi içindeki

etkileşimleri, α -kitin'e göre daha zayıftır. Bu durum, β -kitin'in birçok çözeltiliye karşı daha hassas olmasına ve daha iyi çözünebilmesine neden olur. Bununla birlikte, kitin genel olarak ihtiva ettiği moleküller arası etkileşim ve hidrojen bağları dolayısıyla bilinen birçok organik çözücünde çözünmez [145].

Kitinin yapısal olarak selüloz ile benzerlik göstermesi, birçok araştırmacıyı kitosanı çözmek için selülozu çözen çözücülere yönlendirmiştir. Ancak kitinin yarı kristalin haldeki yapısı ve moleküller arasında meydana gelen etkileşimler ve hidrojen bağları dolayısıyla bahsi geçen çözücülerle çözülemediği görülmüştür. Ayrıca, denenen çözücülerin birçoğu toksik özellikte, aşındırıcı, mutajenik ve bozunmaya neden olan yapıları nedeniyle biyotıp uygulamalar açısından sakıncalı bulunmuştur [138].

Kitinin birçok türevi bulunmakla birlikte, bunlar arasında en önemlisi kitosandır [143]. Kitin doğada çokça bulunmasına rağmen, kitosan yalnızca bazı mantar türlerinde ve sınırlı miktarlarda bulunmaktadır. Endüstriyel uygulamalarda kullanılan kitosan genel olarak bazı kimyasal ve enzimatik işlemlerle kabuklu su ürünlerinden elde edilen kitinin dönüştürülmesi ile üretilmektedir [144].



Şekil 1.5.2. Kabuklu su ürünleri ve mantarlardan kitin eldesi [143].

İçerik olarak yengeç, istakoz ve karides gibi deniz canlılarının kabukları % 30-40 protein, % 30-50 kalsiyum karbonat ve kalsiyum fosfat, % 20-30 kitinden meydana gelmektedir. Kabuklu deniz hayvanlarının yapısındaki protein, bazı insanlarda alerjik vakalara neden olabilmektedir. Bundan dolayı, proteinin tamamen uzaklaştırılması özellikle biyotıp uygulamalarda kullanımı açısından son derece önemlidir. Bu sebeple, kitinin protein bileşiklerindeki kovalent bağlar deproteinizasyon ile koparılır. Ancak, kullanılan kimyasal maddelerin biyopolimeri de parçalama tehlikesi bulunduğundan işlem esnasında dikkatli olunması gerekmektedir [143].

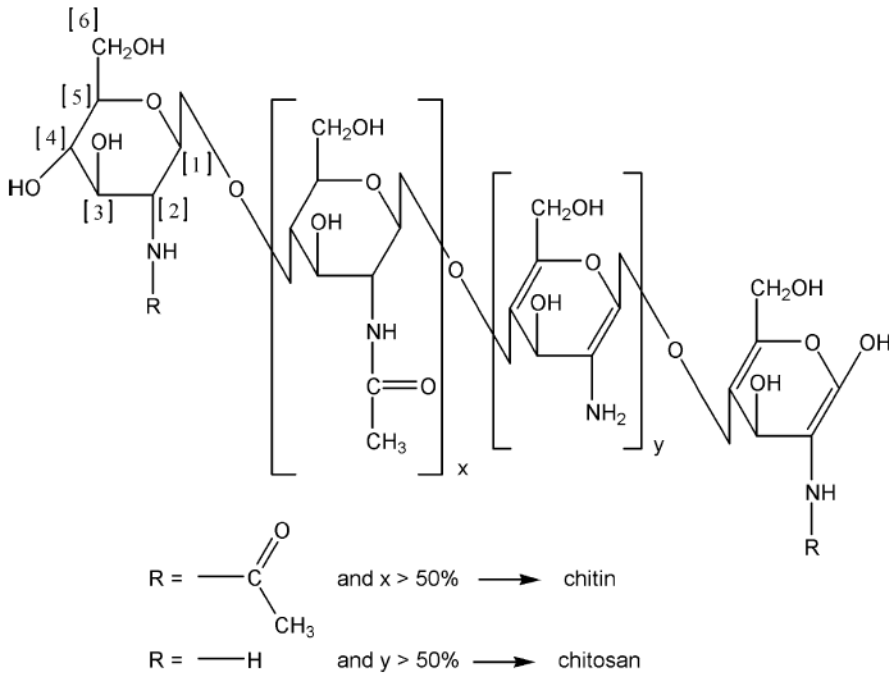
Tablo 1.5.1. Kitosanın üretim koşulları [143]

İşlem Basamakları	Kullanılan Kimyasal	İşlem Sıcaklığı (°C)	Süre
Deproteinizasyon	% 0,5-15 NaOH	25-100	0,5-72 saat
Deminerlizasyon	%2-8 HCl	15-30	0,5-48 saat
Dekolorizasyon	Çeşitli organik çözügenler (NaOCl, H ₂ O ₂)	20-30	Yıkama, 60dk
Deasetilasyon	%39-60 NaOH	60-150	0,5-144 saat

Yapılan çalışmalarda, deproteinizasyon işlemi için NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, NaHSO₃, Ca(HSO₃)₂, Na₃PO₄ ve Na₂S gibi birçok kimyasal madde denenmiştir. Ancak denemeler sonucunda en uygun olan maddenin NaOH olduğu saptanmıştır. NaOH ile işlem sonunda kitin kısmen deasetillenmekte ve biyopolimerin hidrolize olması sonucu molekül ağırlığında azalmalar meydana gelmektedir. İşlem sonunda kitinin protein içeriği % 1 civarına inmektedir. Yukarıda sayılan kimyasalların dışında pepsin, papain, tripsin ve proteaz gibi proteolitik enzimler de protein uzaklaştırma işleminde kullanılabilir. Deminerlizasyon ile kabuktaki mineraller, dekolozasyon ile de pigmentler uzaklaştırılmaktadır. Son olarak kitosan %

2'lik asetik asit çözeltisi ile özütlenip (ekstraksiyon) ardından filtre edilmekte, destile suda çöktürülüp kurutulmakta ve depolanmaktadır [143].

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucunda şekillenen heterojen bir kimyasal yapıya sahiptir ve bünyesinde en az %50 oranında serbest amino gruplar içermektedir. “Deasetilasyon Derecesi (DD)” kitinin yapısında bulunan aminoasetil gruplarından asetil grubunun uzaklaştırılma derecesidir. Böylece geride sadece amin (NH_2) grubu kalmaktadır. Kitosanın deasetilasyon derecesinin, başta çözünme özelliği olmak üzere birçok unsur üzerinde büyük etkisi bulunmaktadır. Kitosan, düşük oranda poli-[b-(1,4)-2-asetamid-2-deoksi- β -D-glukopiranoz], yüksek miktarda 2-amino-2-deoksi- β -glukopiranoz monomerleri içerir [143, 144]. Her tekrarlayan birimdeki primer (C-6) ve sekonder (C-3) hidroksil grupları ile amin (C-2) grubu olmak üzere toplam üç tane reaktif guruba sahiptir. Bu reaktif gruplar sayesinde kolayca kimyasal modifikasyona uğrayabilmekte, mekaniksel ve fiziksel özellikleri ile çözünürlük derecesi şekillenmektedir [143].



Şekil 1.5.3. Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları [138]

Elde edilen kitosanın özellikleri işlem koşullarına bağlıdır. Çünkü işlem koşulları, işlem esnasında meydana gelen deasetilasyon miktarını etkiler. Deasetilasyon derecesi de polimer zincirindeki serbest amino grupların miktarına etki etmektedir. Serbest amino

grupları kitosana pozitif (+) yük kazandırır. Bu durum kitosanın, negatif (-) yüklü moleküllerle elektrostatik etkileşimlerini artırır. Hem serbest amino gruplar hem de hidroksil gruplar kitosanın reaktif bir polimer olmasını sağlayarak işlevselliğine katkıda bulunur [144].

Kitin birçok organik çözücüde çözülmezken, kitosan seyreltik asit çözeltilerinde kolaylıkla çözülebilmektedir. Düşük pH (asidik) ortamında, amin gruplar protonlanır ve kitosan (+) yüklerle yüklenerek suda çözülebilen katyonik bir polielektrolit haline gelir. Ancak, pH değerinin yüksek olduğu bazik ortamlarda ve nötral koşullarda, kitosandan protonlar ayrılır ve dolayısıyla yük kaybı meydana gelir. Bu durum kitosanın çözünürlüğünü de kaybetmesine neden olur [138, 145].

Kitosan laktik asit, formik asit, hidroklorik asit, malik asit, malonik asit, sitrik asit ve asetik asit gibi organik asitlerle çözülebilmektedir. Bunların içinde en çok kullanılanı asetik asittir. Ancak yüksek sıcaklıklarda ve yüksek konsantrasyona sahip asetik asit içinde, kitosanın depolimerize olma riski söz konusudur. Kitosan bazlı çözeltilerin hazırlanmasında polimer konsantrasyonu, molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi (DD), pH, sıcaklık, iyon konsantrasyonu gibi parametreler kritik öneme sahiptir [138, 143, 144].

Kitin ve Kitosan, polimer zincirlerinde bulunan hidrojen bağlarının yoğunluğundan dolayı her polisakkaritte olduğu gibi erimeden önce bozunmaya (degradasyon) uğrar. Kitosanın bozunması, yapısının kristallik oranı ile doğrudan ilişkilidir. Kristallik oranı ise deasetilasyon derecesiyle bağlantılıdır. Kitosanın eldesi esnasında deasetilasyon derecesine yönelik olarak yapılan müdahalelerle, bozunma kontrol altına alınabilir. Bununla birlikte, kitosan 280 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozunmaya uğrar, polimer zinciri hızlı bir şekilde parçalanır. Kitosan ayrıca lizozom gibi hidrolitik enzimler vasıtasıyla da bozunmaya uğramaktadır. Bu parçalanma sonucunda, insan metabolizmasında kolayca kullanılabilen amino şekerler ortaya çıkmaktadır [144].

Kitosan günümüzde tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar birçok alanda kullanılabilir (Tablo 1.5.2). Kitosanın sahip olduğu fizikokimyasal (reaktif OH ve NH₂ grupları) ve biyolojik özellikler, birçok farklı uygulamada kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. Bu özellikler; biyouyumlu ve

biyobozunur olma, toksik olmama, antibakteriyel, antifungal ve hemostatik özellik sergileme, yara iyileşmesini hızlandırma, bağışıklık sistemini uyarma olarak sıralanabilir. Kitosan, kimyasal yapısı dolayısıyla kolesterol, yağ, protein, tümör hücreleri ve metal iyonlarına tutunabilir. Bu durum, kitosanın iyi bir şelat olarak kullanılabilmesine de imkan sağlar [144].

Tablo 1.5.2. Kitin, kitosan ve türevlerinin uygulama alanları [143]

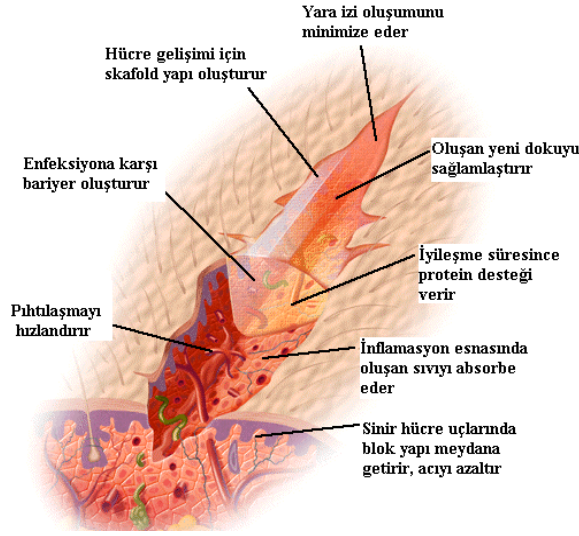
Uygulama Alanı	Özel İşlevleri
Su Arıtımı	Kirlenmiş atık sular için koagülasyon (pıhtılaşma) ve flokülasyon (kümelenme), Atık sudaki metal iyonlarının uzaklaştırılması ve geri kazanımı
Ziraat	Bitki katkı maddesi, Antimikrobiyel madde, Bitki tohumu kaplanması, Gübre yapımı, Böcek (insektisid) ve solucan öldürücü (nematosit) ilaçlarda
Biyoteknoloji	Kromatografik yöntemlerde, Enzim immobilizasyonunda
Gıda	Doğal kıvamlaştırıcı, Hayvan yemlerini de içeren gıda katkı maddesi, Filtreleme ve temizleme, Hipokolestrolemik madde (zayıflama maddesi), Atık yiyeceklerin tekrar işlenmesi
Kozmetik	Saç şekillendirici imalatında, Cilt nemlendirmede (nemlendirici kremlerde), Deodorantlarda koku giderici madde

Tıp

Hayvan ve insanlar için yara bandı
yapımında, Sargı bezi yapımında ve yara
tedavisinde,
Yanık tedavisinde ağrıyı dindirme ve yara
iyileştirme etkisi,
Kanı pıhtılaştırıcı madde,
Hidrojel yapımında,
Antikoagülant ve antitrombojenik
malzemeler, Hemostatik madde,
Kontakt lens yapımı,
İlaç salınımı

Çeşitli ülkelerde oldukça geniş kullanım alanı bulan kitosanın ülkemizdeki kullanımı henüz yaygınlaşmamıştır. Kitosan, özellikle tıbbi teknik tekstiller alanında oldukça sık kullanılan bir malzemedir. 1960'ların ortalarından beri Japonya başta olmak üzere pek çok Asya ülkesinde kitosan bazlı ürün geliştirme yönündeki çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca, yapay deri, cerrahi dikiş iplikleri, yapay kan damarları, kontrollü ilaç salımı, kontakt lens yapımı, yara bandı, sargı bezi gibi ürünlerin üretilmesinde baz malzeme olarak kullanılmaktadır [143].

Yara iyileşmesinde kitosanın hemostatik ve antibakteriyel özellikleri ile doku oluşumuna sağladığı katkılardan faydalanılmaktadır. Hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşmadan bağımsız olup eritrosit hücre zarı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Ayrıca, kitosan, yara iyileşmesinde depolimerize olarak ortama N-acetyl-b-D-glukozamin salınmasına neden olmaktadır. Bu durum; polimorfonükleer hücre (PMN) ve makrofajların harekete geçmesi, fibroblast aktivasyonu, sitokin üretimi, hyaluronik asit sentezlenmesi, dev hücre göçü ve kolajen sentezinin uyarılması gibi faaliyetlerin gerçekleşmesine sebep olmaktadır. Böylelikle, yara daha hızlı iyileşmekte ve yara izi oluşumu en aza indirilmektedir. Bununla birlikte, mikro-organizmalara karşı koruyucu etki göstermekte ve doku oluşumunu taklit etmektedir. Vücuttaki yaraların iyileşme hızı başta diyabet hastaları olmak üzere yara tedavisine maruz kalan tüm hastalar için büyük önem taşıdığından, bahsi geçen yönleriyle kitosan yara iyileşmesini hızlandırmada oldukça etkin bir rol oynamaktadır [48, 143]. Aşağıdaki şekilde kitosanın yara iyileşmesi üzerindeki etkisi görsel olarak sunulmuştur.



Şekil 1.5.4. Kitosanın yara iyileşmesi üzerindeki etkisi [48].

Kitosan, Tekstil sanayinde de, antimikrobiyal özellik kazandırma, yünlü kumaşlarda çekmezlik sağlama, reaktif boyamada tuz miktarını azaltma, pamuğa asit boyarmaddelerle boyanabilirlik kazandırılması, antistatik özellik sağlama, deodorant maddesi olarak görev yapma gibi birçok uygulamada kullanılmaktadır [143].

1.5.1. Kitosanın Antibakteriyel Etki Mekanizması

Kitosanın birçok bakteri, maya ve lifsi (filamentöz) mantara karşı göstermiş olduğu antimikrobiyel etki çeşitli araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalarla kanıtlanmıştır. Kitosanın çok yönlü antibakteriyel özelliği ise ilk olarak 1979 yılında Allan tarafından belirtilmiştir. Kitosan, birçok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye karşı etkili olmasına rağmen memeli hücrelerine karşı oldukça düşük toksisite sergilemesi bakımından özellikle biyotıp uygulamaları için ideal bir malzemedir [146].

Kitosan 'biocidal' özellikte katyonik bir maddedir. Ikeda ve Tazuke, katyonik biyosid'lerin bakteriye olan öldürücü etkilerini şu şekilde aşamalandırmışlardır. (1) katyonik madde bakterinin hücre duvarına tutunur, (2) hücre duvarından içeri difüzyon yoluyla geçer, (3) hücre içindeki stoplazmik zara tutunur, (4) stoplazmik zar parçalanır, (5) stoplazmik içerik hücre dışına doğru akar, (6) hücre ölümü gerçekleşir [147].

Kitosanın bakterisidal etkinliği birtakım unsurlardan etkilenmektedir. Bunlar dört farklı maddede incelenebilir.

- Mikrobiyal unsurlar (mikro-organizmanın cinsi ve ömrü)
- Kitosanın kendine has özellikleri (pozitif yük yoğunluğu, moleküler ağırlığı, konsantrasyonu, hidrofilik/hidrofobik yapısı, şelat yapma kapasitesi vb..)
- Fiziksel durumu (çözülebilir ya da katı formda oluşu)
- Çevresel faktörler (pH, sıcaklık, reaksiyon süresi vs.) [146].

Kitosanın, üremesini durdurduğu bazı bakteri, mantar ve diğer mikro-organizmaların isimleri aşağıdaki tabloda verilmektedir [145].

Tablo 1.5.1.1. Kitosanın antimikrobiyal etki gösterdiği mikro-organizmalar [145].

Bakteriler		Mantarlar	Çeşitli Mikro-organizmalar
Gram-pozitif	Gram-negatif		
Staphylococcus aureus (S.aureus)	Escherichia coli (E.coli)	Botrytis cinerea	Proteus vulgaris
Listeria monocytogenes	Shigella dysenteriae	Rhizopus stolonifer	Saccharomyces cerevisiac
Bacillus cereus	Pseudomonas aeruginosa	Aspergillus niger	Rhodotorula rubra
	Vibrio cholera	Aspergillus parasiticus	Penicillium notatum
	Vibrio parahaemolyticus		
	Aeromonas hydrophila YMI		
	Aeromonas hydrophila CCRC 13881		
	Salmonella tyhimurium		

Geniş etki alanlı antimikrobiyal etkisi olmasına karşın, kitosan farklı mikro-organizmalara karşı farklı seviyelerde etki göstermektedir. Mesela, mantarların spor

oluşturmasını ve sporların çoğalmasını baskılar. Öte yandan, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin hücre yüzey karakteristikleri ve nitelikleri farklılık gösterdiğinden bu iki cins bakteri grubuna karşı farklı antibakteriyel mekanizmalarla cevap vermektedir [146].

Gram-negatif bakterilerde bulunan dış zar, lipopolisakkaritler (LPS) içerir. Bu durum bakterinin dış yüzeyinin hidrofil bir karaktere bürünmesine neden olur. Bununla birlikte, lipid bileşenler ve lipopolisakkaritler içinde bulunan anyonik gruplar (fosfat, karboksil), divalent katyonlarla gerçekleştirdikleri elektrostatik etkileşimler dolayısıyla LPS'lerin daha kararlı bir yapıya sahip olmasını sağlarlar. Gram-negatif bakterilerin dış zarı makromoleküllerin ve hidrofob bileşiklerin bakteri içine nüfuzunu önleyecek nitelikler taşımaktadır. Dolayısıyla bu gruptaki bakteriler, hidrofob özellikteki antibiyotikler ve toksik ilaçlara karşı nispeten daha dayanıklıdır [146].

Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı peptidoglikan (PG) ve teikoikasit (TA)'den meydana gelmektedir. TA yapılar özellikle kitosanın kolaylıkla bağ yapabileceği bir yapıya sahiptir. Bu, bakterinin hücre duvarının hayati işlevlerinin çökertilmesi için zemin hazırlayan bir durumdur [146].

Bazı çalışmalar, antibakteriyel etkinin Gram-pozitif bakterilerde daha kuvvetli olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonucun ortaya çıkmasında, Gram-negatif bakterilerin dış zarının etkili olduğu düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar, mikro-organizmaların yüzey yüklerindeki farklılıkların da farklı antimikrobiyal etki seviyelerinin oluşmasına sebep olduğunu belirtmişlerdir. Kitosanın antimikrobiyal etkisinin bakterilerden ziyade mantarlar üzerinde daha etkili olduğunu kanıtlayan çalışmalar mevcuttur. Kitosanın antifungal etkisinin düşük pH değerlerinde daha çok arttığı tespit edilmiştir [146].

Birçok çalışma, antimikrobiyal aktivitenin gerçekleşmesinde polikatyonik yapının önemini vurgulamaktadır. Pozitif yük yoğunluğunun yüksek olduğu durumlarda daha sağlam elektrostatik etkileşimlerin meydana geldiği belirtilmektedir. Kitosan ve türevlerinin pozitif yük yoğunluğu, deasetilasyon derecesine (DD) bağlıdır. *Kong ve ekibinin* yapmış olduğu çalışmalarda, %97,5 DD'ye sahip olan kitosan mikrotaneciklerin, %83,7 DD olanlara göre daha fazla pozitif yük ihtiva ettiğinden pH

5,5 ortamında *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı daha başarılı olduğu ifade edilmiştir [148].

Bazı çalışmalar kitosanın moleküler ağırlığının (Mw) artması ile antibakteriyel etkisinin *E. Coli* bakterilerine karşı azaldığını belirtirken, bazıları ise moleküler ağırlığın artmasıyla antibakteriyel etkinin arttığı yönünde bilgiler vermektedir. Mesela; *Tokura ve ekibi*, 9.3 kDa ağırlığa sahip kitosanın *E. Coli* bakterilerinin üremesini durdururken, 2.2 kDa ağırlığa sahip kitosanın üremeyi teşvik ettiğini ifade etmişlerdir. Buna karşın, *Tikhonov ve ekibi*, düşük moleküler ağırlığa sahip (4.6 kDa) kitosan ve türevlerinin bakteri, maya ve mantarlara karşı iyi derecede antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir [146, 149, 150].

Antimikrobiyal özellikteki maddeler, buldukları form ya da miktardan bağımsız olarak, antimikrobiyal mekanizmalarını harekete geçirebilmek için sıvı ortama ihtiyaç duymaktadırlar. Tamamen kuru ortamlarda, kimyasal bağlarında taşıdıkları enerjiyi ortama salmakta yetersiz kalmaktadırlar. Kitosan için de bu durum geçerli olup, kitosanın hidrofil ya da hidrofob yapısı, etki göstermesi için belirleyici bir koşuldur. Bu yüzden, kitosanın suda çözülebilirliği önem taşımaktadır [146].

Kitosanın depolanma şekli de sonraki kullanımı açısından önem arz eder. Depolama esnasında, kitosanın viskozite ve molekül ağırlığı gibi özelliklerinde değişme gözlenmektedir. Bu durum kitosanın diğer işlevsel özelliklerine de etki eder. 4 °C ve 25 °C'lik sıcaklıklarda 15 hafta depolanan, farklı molekül ağırlıklarındaki (2025 kDa ve 1110 kDa) kitosan çözeltilerinin Gram-negatif (*Salmonella enteritidis* and *E. coli*) ve Gram-pozitif (*Listeria monocytogenes* and *S. aureus*) bakterilere karşı antibakteriyel özellikleri test edilmiştir. Genel olarak, depolanmadan önceki kitosan çözeltileri, depolanan çözeltilere göre daha iyi antibakteriyel etki sergilemiştir. 25°C'de depolananlar ise, 4 °C'de depolananlarla hemen hemen aynı ya da daha zayıf antibakteriyel etki göstermiştir [146, 151].

1.5.2. Elektroçekim Yöntemiyle Kitosan Bazlı Nanolif Eldesi

Elektroçekim yöntemi ile gelişmiş özelliklere sahip kitosan bazlı nanolifler üretmek mümkündür. Başarılı bir üretim için; kullanılan çözücünün cinsi, pH, polimer konsantrasyonu, viskozite, yük yoğunluğu, uygulanan voltaj miktarı, çözelti besleme

miktarı, besleyici ünite-toplayıcı arasındaki mesafe, işlem süresi ve ortam koşulları gibi unsurlar önem taşımaktadır [138]. Öte yandan, kitosanın elektroçekimi birtakım zorluklar içermektedir. Bunun sebebi; polimer zincirinde bulunan yoğun amino gruplardan dolayı asidik çözeltilerde polikasyonik bir yapıya bürünmesidir. Kitosanın polikasyonik doğası, çözeltinin yüzey gerilimini fazlaca artırır. Bu nedenle işlem esnasında yüksek bir elektriksel güce ihtiyaç duyulur. Bu durum, iyonlar arası itme kuvvetlerinin de etkisiyle, işlem boyunca sıklıkla jet sektelerine (kesintilerine) ve dolayısıyla boncuk oluşumuna sebebiyet vermektedir [152]. Bazı durumlarda, boncuk oluşumunu azaltmak amacıyla, çözeltilere tuz ya da sürfaktant (yüzey aktif maddeleri) ilavesi yapılmaktadır. Benzer şekilde, anyonik ya da katyonik polielektrolitler de iletkenliği artırarak işlemi kolaylaştırırlar ve daha ince liflerin elde edilmesini sağlarlar [144].

Kitosan bazlı liflerin elektroçekim yöntemiyle eldesi üzerine ilk kez *Ohkawa ve ekibi* çalışmıştır [153]. Çözücü olarak trifloroasetik asit (TFA) kullanılmıştır. TFA, elektroçekim yöntemiyle çekilecek olan kitosanın çözülmesi için oldukça uygundur. Çünkü kitosanın kimyasal yapısında bulunan amino grupları ile TFA tepkimeye girerek kitosan bazlı tuzlar oluşturur, ayrıca, kitosan moleküllerinin birbirleri ile gerçekleştirmiş oldukları bağları kopararak elektroçekim işleminin gerçekleştirilebilmesini mümkün kılar. Kitosan-TFA bazlı çözeltilere diklorometan (DCM) eklenmesi ile daha homojen (üretilen lifler arasında birbirlerine yapışma olmadan) nanoliflerin üretildiği bildirilmiştir. Çalışmalar sonucunda, ideal işlem koşulları altında 330 nm inceliğinde nanoliflerin oluştuğu gözlenmiştir [154].

Benzer şekilde, *Sangsanoh ve ekibi* de TFA/DCM (70:30) karışımı çözücülerle yaptıkları deneyler sonunda, elektroçekim yöntemi ile 126 ± 20 nm incelikte kitosan bazlı pürüzsüz ve boncuksuz nanolifler üretmeyi başarmışlardır [155].

Vrieze ve ekibi, formik asit, asetik asit, laktik asit ve hidroklorik asit ile hazırlamış oldukları sulu asidik çözeltileri elektroçekim işleminde kullanarak kitosan bazlı nanolif elde etmeyi denemişlerdir. Çalışmalar, %90 asetik asit ve %3 kitosan içeren çözelti ile, 2 kV/cm voltaj uygulayarak en iyi sonuca ulaşıldığını ve yaklaşık olarak 70 ± 45 nm inceliğinde nanolif elde edilebildiğini ortaya koymuştur [156].

Klossner ve ekibi, elektroçekim yöntemiyle, Kitosan/PEO karışımından faydalanarak 62 ± 9 nm ve 129 ± 16 nm aralığında inceliğe sahip, pürüzsüz ve boncuksuz nanolifler elde etmeyi başarmışlardır. Çözelti konsantrasyonu (Kitosan+PEO) arttıkça boncuk oluşumunun azaldığını kaydetmişlerdir. Çözelti içinde sadece Kitosanın konsantrasyonu arttırıldığında ise elde edilen liflerin kalınlaştığı gözlemlenmiştir. Çözeltinin hazırlanmasının üzerinden belli bir zaman geçtikten sonra istikrarlı yapısını kaybettiğini, bu durumu ise NaCl kullanarak giderdiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca, deasetilasyon derecesinin elektroçekim işlemini etkileyen çok önemli bir etken olduğunu bildirmişlerdir [157].

Geng ve ekibi, %90'lık asetik asit ile hazırlanan %7'lik konsantrasyona sahip kitosan çözeltisi ile gerçekleştirdikleri elektroçekim işleminde 4kV/cm voltajdan faydalanarak yaklaşık olarak 130 nm incelikte nanolif üretmeyi başarmışlardır. Çalışmalarında en önemli parametrenin asetik asit konsantrasyonu olduğu belirtilmiştir. Çünkü asetik asidin etkisiyle kitosan bazlı çözeltinin yüzey gerilimi düşürülmüş ve polimer jetin yük yoğunluğu artırılmıştır. Bir başka önemli parametre ise kullanılan kitosanın molekül ağırlığı olmuştur. Sadece 106,000g/mol ağırlığında kitosan ile boncuksuz ve düzgün nanoliflerin elde edildiği görülmüştür. Ayrıca, uygulanan voltaj miktarının artmasıyla birlikte daha ince liflerin elde edildiği vurgulanmıştır [111].

Peesan ve ekibi, hegzonil kitosan ve polilaktik asit karışımı nanolifleri, çözücü olarak kloroformun kullanıldığı elektroçekim işlemi ile üretmişlerdir. Çözeltideki polimer konsantrasyonu ağırlıkça %50 altında iken boncuk oluşmadığı ifade edilmiştir [158].

Bir başka çalışmada, Polivinilalkol (PVA, $M_w = 124-186$ kDa) ve %82,5 civarında deasetilasyona uğramış Kitosan (1600 kDa) bikomponent sistem mantığında %2'lik asetik asit ile çözülmüş ve elektroçekim yöntemiyle nanolifler elde edilmiştir. Çözelti içindeki PVA miktarı arttıkça daha az boncuklanmanın meydana geldiği ve daha düzgün liflerin oluştuğu kaydedilmiştir. Çözeltinin uzun süre karıştırılması ile kitosanın moleküler ağırlığının düştüğü ve deasetilasyon miktarının arttığı varsayılarak, işlem sonunda daha düzgün bir lif dağılımına ulaşıldığı ifade edilmiştir [159].

Duan ve ekibi, kitosan ve PEO ile yaptıkları çalışmada bu iki polimeri ağırlıkça 1:1 ve 2:1 oranlarında karıştırarak iletkenlik, yüzey gerilimi ve çözelti viskozitesinin

elektroçekim sonucu elde edilen lif karakteristiğini nasıl etkilediği üzerinde durmuşlardır. FTIR, DSC ve XPS (x-ray fotoelektron spektroskopisi) ile gerçekleştirilen testler sonucunda, aynı şartlarda oluşan ince liflerin ağırlıklı olarak kitosan bazlı, kalın liflerin ise ağırlıklı olarak PEO bazlı olduklarını keşfetmişlerdir. *Spasova ve arkadaşları* ise, Kitosan ve PEO karışımı kullanarak hazırladıkları çözeltilerle yaptıkları denemelerde, kitosan miktarının artmasıyla lif kalınlıklarının arttığını belirlemişlerdir. *Bhattari ve arkadaşları*, kitosan bazlı çözeltinin viskozitesini azaltmak amacıyla, çözeltilere PEO eklediklerini ve böylelikle elektroçekim işleminin sorunsuz gerçekleştirilebildiğini ifade etmişlerdir [144].

Kitosan ve PEO çözeltileri içine metal iyonları eklenerek de birtakım elektroçekim denemeleri gerçekleştirilmiştir. Karışımdaki PEO oranının belli bir seviyenin altına düşmesi sonucu jet sektelerinin yaşandığı belirtilmiştir. Kitosan/PEO karışım oranının 1:9 seviyesine gelene kadar boncuk oluşumların gözlemlendiği ifade edilmiştir. Karışıma, monovalent (Na^+), bivalent (Ca^{+2}) ve trivalent (Fe^{+3}) içerikli metal kloritler ile iyon yüklemesi yapıldığında Kitosan/PEO karışım oranının 7:3'e kadar çıktığı kaydedilmiştir. FTIR sonuçlarına göre, özellikle bivalent ve trivalent kloritlerin polimer zinciri ile sağlam bir etkileşime girerek polimerin hidrojen bağlarını zayıflattığı ortaya çıkmıştır. Bu durum, PEO ve metal iyonlarının, kitosanın elektroçekiminde eş etkin (sinerjik) bir etkiye sahip oldukları şeklinde izah edilmiştir [160].

1.5.3. Kitosan Bazlı Nanoliflerin Yara Örtüsü Uygulamaları

İnsan derisi, hemostazın oluşmasında ve mikro-organizmaların saldırılarından korunmada önemli bir rol oynamaktadır. Deri, zarar gördükten hemen sonra uygun bir yara örtüsü ile kapatılmalıdır. Yara örtüleri, yapı bakımından genel olarak üç kategoride incelenebilir; biyolojik, sentetik ve biyolojik-sentetik. Klinik uzmanlar tarafından genellikle tercih edilen biyolojik yara örtüleri birtakım dezavantajlara sahiptir. Mesela; sınırlı ölçüde tedarik edilmesi, antijenik olmaları, zayıf yapışma özellikleri, çapraz bulaşma (cross kontaminasyon) riski taşımaları bunlardan bazılarıdır. Sentetik bazlı yara örtüleri, uzun raf ömürleri, değişik derecelerde iltihaplanma (inflamatuvar) etkisi göstermeleri, hastalık yapıcıların (patojenler) bulaşması açısından hemen hemen hiç risk taşımamaları açısından bazı uygulamalarda tercih edilmektedir. Son yıllarda araştırmacılar her iki gurubun da avantajlarından faydalanabilmek amacıyla biyolojik-

sentetik bazlı yara örtüleri üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Bununla birlikte, daha önceki bölümlerde de detaylı olarak belirtildiği üzere, ideal bir yara örtüsünün yara yüzeyini nemli tutması, nefes alabilir olması, mikro-organizmalara karşı bariyer teşkil etmesi ve fazla yara akıntısını emmesi gibi önemli niteliklere sahip olması gerekmektedir [139]. Kitosanın hemostatik, biyouyumlu, biyobozunur ve antibakteriyel özellikleri, bahsi geçen yenilikçi yara örtülerinde kullanılması açısından önemli imkanlar sağlamaktadır [153].

Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolif içerikli kompozit yapı, içerdiği gözeneklerin boyutları nedeniyle yara ve yanık tedavisi açısından kaydadeğer avantajlar sunmaktadır. Nanoliflerden oluşturulan yüzey ile hücre dışı matrisin (ECM) birbirine benzeyen yapıları, yaralı bölgede kolaylıkla sağlıklı hücrelerin gelişmesine, yaranın iyileşme hızının artmasına ve yara izi oluşumunun en aza inmesine olanak tanımaktadır. Ayrıca, nano gözenekler yaralı dokunun bakterilerden korunarak nefes alabilmesini mümkün kılmaktadır. İlave olarak, yüksek yüzey alan ve gözenekli yapı sayesinde, yara yüzeyinde meydana gelen fazla sıvı ve akıntılar absorbe edilerek, yara iyileşmesine katkı sağlanmaktadır [161].

Kitosan ve türevlerinin, biyotıp alanında kullanılmak üzere elektroçekim yöntemiyle eldesi üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Tablo 1.5.3.1’de yara örtüsü uygulamaları için yapılmış olan çalışmalardan yalnızca bir kısmı paylaşılmaktadır [154].

Tablo 1.5.3.1. Kitosan, kitosan türevleri ve karışımlarının yara örtüsü amaçlı elektroçekimi ile ilgili detaylar. PVA=Polivinilalkol, PET=Polietilen tereftalat, PEO=Polietilen oksit, Q-CS= Kuartern Kitosan, PVP=Polivinilpirolidon, CECS=Karboksi etil kitosan.

Polimer	Çözücü	Deasetilasyon Derecesi	Nanolif Çapı (nm)	Uygulama	Referans
Kitosan/PVA	Asetik Asit	90	99±21	Yara Örtüsü	[162]
Kitosan/PET	Trifloroasetik Asit	85	500-800	Yara Örtüsü	[163]
Kitosan/Kolajen /PEO	Asetik Asit	95	398±76	Yara Örtüsü	[164]

Q-CS/PVA	Asetik Asit	80	60-200	Yara Örtüsü	[165]
Q-CS/PVP	Su	80	2400±640	Yara Örtüsü	[166]
Kitosan/PEO/ AgNPs	Asetik Asit	80	~100(<5)	Yara Örtüsü	[167]
Kitosan/Jelatin/ AgNPs	Asetik Asit	87	220-400	Yara Örtüsü	[168]
N-CECS/PVA	Su	82,5	131-456	Yara Örtüsü	[169]

Elektroçekim yöntemiyle elde edilen Kitosan/PVA karışımı kompozit malzeme, yüksek sıvı emme yeteneği dolayısıyla yara örtüsü uygulamalarında önemli bir ürün olarak düşünülmüştür. *Zhang ve ekibi*, %2'lik asetik asit çözeltisi içinde çözdükleri kitosana PVA ekleyerek elektroçekim yöntemiyle kompozit malzeme üretimi gerçekleştirmiştir. SEM ve TEM kullanılarak yapılan analizlerde, ağırlıkça %40/60 oranında Kitosan/PVA karışımından faydalanılarak 99±21 nm inceliğinde boncuksuz ve düzgün nanoliflerin elde edildiği görülmüştür [162].

Jung ve ekibi, elektroçekim yöntemiyle PET ve Kitosan karışımı yüzeyler elde ederek, bu yüzeylerin antibakteriyel ve biyouyumluluk özellikleri üzerine çalışmıştır. Denemeler sonucunda lif inceliklerinin 500-800 nm aralığında değiştiği saptanmıştır. PET nanoliflerinin ıslanabilirlik (wettability) değerlerinin, kitosan eklenmesi ile birlikte arttığı vurgulanmıştır. Ayrıca, kitosan ilavesi ile *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerine karşı başarılı sonuçlar elde edilmiş, fibroblast hücrelerinin tutunması anlamında da kitosan karışımının yalnızca PET bulunan yüzeylere göre daha uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır [163].

Bir başka çalışmada nanolif bazlı kompozit yapı, Tip I Kolajen, Kitosan ve Polietilen Oksit karışımının elektroçekimi ile elde edilmiştir. Akabinde, glutaraldehit ile buharlanarak çapraz bağlama işlemine tabi tutulmuştur. İlk olarak elde edilen nanolif inceliklerinin yaklaşık olarak 134±42 nm civarında olduğu belirtilmiştir. Ancak, çapraz bağlama işlemi ile lif kalınlıklarının 398±76 nm'ye yükseldiği, su emme yeteneğinin ve mukavemetin düştüğü tespit edilmiştir. 3T3 fibroblast hücreleri ile yapılan sitotoksisite testleri sonucunda, malzemenin biyouyumlu olduğu anlaşılmıştır. Hayvanlar üzerinde

gerçekleştirilen deneyler sonucunda, ticari olarak piyasada bulunan gazlı bezler ve kolajen süngerlere göre daha iyi performans sergilediği gözlenmiştir [164].

İgnatova ve ekibi, kuarterner kitosan ve PVA karışımını, trietilenglikol diakrilat (çapraz bağ yapan kimyasal) ile birlikte hazırlayarak elektroçekime tabi tutmuşlar ve akabinde UV(ultraviyole) işleminden geçirmişlerdir. Elde edilen yüzey, Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* ve Gram-negatif *Escherichia coli* bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Bu haliyle yara örtüsü uygulamaları için uygun malzemeler oldukları bildirilmiştir [165].

Yine bir başka benzer çalışmada, kuarterner kitosan ve Polivinilpirolidon (PVP) karışımı çözelti elektroçekim yöntemiyle çekilerek yüzey oluşturulmuştur. Çözeltideki kuarterner kitosan miktarının artmasıyla, elde edilen liflerin inceliklerinin azaldığı kaydedilmiştir. Bu durum, çözeltideki polielektrolit miktarının yükselmesine bağlı olarak, iletkenliğin artması ile açıklanmıştır. Oluşan yüzeyin, su ve su buharına karşı kararlılığını artırmak üzere çapraz bağ yapıcı kimyasallar çözeltiye eklenmiştir. Elektroçekim sonrası oluşturulan yüzeye 10 saat boyunca UV işlemi uygulanmıştır. Bu haliyle elde edilen malzeme, Gram-negatif ve Gram Pozitif bakterilere karşı yüksek derecede antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Hem Kitosan hem de PVP birtakım özellikleri dolayısıyla biyotıp uygulamalarında kullanılmaktadır. Ek olarak, elde edilen materyale elektroçekim işlemi ile kazandırılan özellikler dolayısıyla, yara örtüsü olarak kullanılabilmesine dair görüş bildirilmiştir [166].

Gümüş nanoparçacıklar içeren, kitosan bazlı yara örtüsü malzemesi kendi kendine düzenlenme (self-assembly) teknolojisi kullanılarak geliştirilmiştir. Daha iyi özelliklere sahip bir yara örtüsü geliştirmek üzere PEO/Kitosan/Gümüş nanoparçacıklar karışımından faydalanılmıştır. Yapılan analizler, *Escherichia coli* bakterisine karşı başarılı sonuçlar elde edildiğini ortaya çıkarmıştır. Yara iyileşmesinde nanolifli yapının, nano gümüş içerikli diğer yara örtüsü malzemelere göre daha başarılı olduğu belirtilmiştir. Yine, PEO/Kitosan/Gümüş parçacıklar içeren nanolifli kompozit yapının, sadece PEO ve Kitosan içeren nanolifli yapıya göre daha iyi bir antibakteriyel etki gösterdiği de bildirilmiştir [167].

Zhou ve ekibi, karboksietil kitosan (CESCS) ve PVA karışımından oluşan çözeltiyi elektroçekim yöntemine tabi tutmuşlar ve özellikle deri yenilenmesi (rejenerasyon) açısından başarılı bir yara örtüsü malzemesi elde ettiklerini bildirmişlerdir. Fibroblast (L929) hücreleri ile yapılan sitotoksisite testlerinde, malzemenin biyouyumlu olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca, üretilen yüzey üzerinde hücrelerin gelişerek çoğaldığı kaydedilmiştir [169].

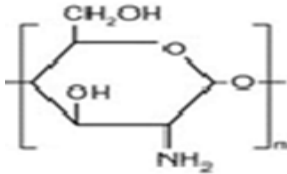
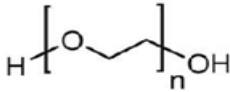
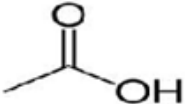
BÖLÜM 2

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN MALZEMELER

Nanolif bazlı yara örtüsü yüzeyi geliştirmek üzere biyouyumluluk özelliği olan polimerlerden faydalanılmıştır. Hazırlanan homojen polimer çözeltileri elektroçekim işlemine tabi tutularak nanolif eldesi gerçekleştirilmiştir. Elektroçekim işleminde kullanılan çözeltinin hazırlanması amacıyla düşük molekül ağırlıklı Kitosan ve Polietilen oksit polimerleri toz halinde Sigma Aldrich firmasından satın alınmıştır. Yine çözeltilerde katkı maddesi olarak kullanılmak üzere Nanokar firmasından %99 saflıkta suda çözülmüş nanogümüş dispersiyonu temin edilmiştir. Çözücü olarak Asetik asit ve saf sudan faydalanılmıştır. Firmalardan elde edilen kimyasallar herhangi bir kimyasal işleme tabi tutulmadan doğrudan kullanılmıştır.

Tablo 2.1.1. Deneylerde kullanılan kimyasallar.

Malzeme	Kimyasal Formül	Özellikler
Kitosan		Molekül ağırlığı 60.000 - 120.000 g/mol, deasetilasyon derecesi \geq %60
Polietilen oksit (PEO)		600.000 g/mol
Nanogümüş Dispersiyonu	Ag(+)	%99 Saf su + nanogümüş
Asetik Asit		60,05 g/mol



(a)

(b)

Şekil 2.1.1. (a) kullanılan polimer ve çözücüler, **(b)** çözeltiler ve sarf malzemeleri.

2.2. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Kitosan (CH), %90 derişik Asetik asit içerisinde, oda sıcaklığında 24 saat boyunca karıştırılarak homojen bir şekilde çözülmüştür. Polietilen oksit (PEO) ise saf su içerisinde, oda sıcaklığında 24 saat boyunca karıştırılarak homojen bir şekilde çözülmüştür. Sadece Kitosan ya da Polietilen oksit ile ayrı ayrı yapılan elektroçekim işlemlerinde bu homojen çözeltilerden faydalanılmıştır.

Çalışmada Kitosan (CH) / Poletilen oksit(PEO) homojen çözeltileri ile çeşitli oranlarda karışımlar hazırlanarak da elektroçekim denemeleri yapılmıştır. Çözeltiler, %30/70, %50/50, %70/30 oranlarında oda sıcaklığında birbirleri ile iki saat boyunca homojen olarak karıştırılmıştır. Çözeltilerin karıştırma işlemleri Stuart (SB 162) marka manyetik karıştırıcıda gerçekleştirilmiştir.



(a)

(b)

Şekil 2.2.1. (a) Manyetik karıştırıcı (Stuart, SB 162), (b) Hassas terazi (Precisa, XB220A)

Ayrı ayrı hazırlanan Kitosan ve Polietilen oksit çözeltilerindeki polimer miktarı %1-3 olarak ayarlanmış ve elektroçekim işleminde nanolif incelikleri ve şekil özelliklerine olan etkisi incelenmiştir. Karışım (CH/PEO) çözeltilerinde ise toplam polimer miktarı %4 olarak ayarlanmıştır. Toplam çözelti miktarı ise 20 g olarak belirlenmiştir. Miktarların tayininde Precisa (XB220A) marka hassas terazi kullanılmıştır.

%50/50 oranında karıştırılan CH/PEO çözeltisine nanogümüş ilavesi yapılmıştır. Bunun için firmadan temin edilen nanogümüş dispersiyonu saf su ile karıştırılarak seyreltilmiş ve %10'luk bir karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan seyreltik çözelti, PEO çözeltisi ile 9:1 (PEO: nano gümüş) olacak şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra yukarıda izah edilen prosedür dahilinde Kitosan ve PEO çözeltileri birbirleri ile 2 saat karıştırılarak nanogümüş katkılı homojen çözeltiler elde edilmiştir.

Hazırlanan homojen çözeltilerin pH değerleri gösterge kartları (indicator strips, Merck) ile viskozite değerleri Brookfield (DV-E Viscometer) marka viskozimetre ile iletkenlikleri ise WTW (Cond 3110) marka cihaz ile ölçülmüştür. Viskozimetre ile yapılan ölçümlerde 30 rpm'de dönen s21 tipi mil (spindle) kullanılmıştır.



(a)



(b)

Şekil 2.2.2. (a) İletkenlik ölçer (WTW, Cond 3110), (b) Viskozimetre (Brookfield, DV-E)

2.3. ELEKTROÇEKİM İŞLEMİ

Elektroçekim işlemi dikey çalışma prensibine göre tasarlanmış olan NanoFMG (NS24) marka laboratuvar tipi makine ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan çözeltiler 20mL hacme sahip şırıngalar içine aktarılmıştır. Çözelti, çapı 20 gauge olan besleyici ünite (nozzle) vasıtası ile üzerinde alüminyum folyo sarılı olan silindir şeklindeki toplayıcıya gönderilmiştir. Çözeltinin elektrik alana beslenme miktarı 2ml/saat olarak belirlenmiştir. Toplayıcının dönme hızı 35 rpm, besleyici üniteye olan uzaklığı ise 8,5, 10 ve 15 cm olmak üzere farklı aralıklarda ayarlanmıştır. Elektroçekim denemeleri, 17, 20, 25 ve 30 kV olmak üzere farklı elektrik alan şiddetleri altında denenmiştir ve lif inceliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Elektriksel alan oluşturulurken alternatif akımdan (AC) faydalanılmıştır. Deneyler, %35-42 bağıl nemde ve 26-31°C aralığında değişen sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.3.1. Elektroçekim makinesi (NS24, NanoFMG)

2.4. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) VE GEÇİRİMLİ ELEKTRON MİKROSKOBU (TEM) ANALİZLERİ

Elektroçekim işlemi ile elde edilen nanoliflerin şekil yapıları ve incelikleri SEM (SEM, JSM-5910 LV from JEOL) çekimi yapılarak incelenmiştir. Bunun için, nanolif bazlı kompozit yapılar önce Polaron (SC7620) marka kaplama makinesinde, vakumlu ortamda altın paladyum (%20/80) alaşımı ile kaplanmıştır. Kaplama işlemi tamamlandıktan sonra, kompozit yapıların 20 kV hızlandırma gerilimi altında, 10.000 ve 20.000 büyütmede (magnifikasyon) SEM resimleri çekilmiştir. Numunelerin SEM görüntüleri, Image J. (2011) yazılım programı ile analiz edilmiştir. Her bir numune görüntüsünde, 60 adet lif incelenerek ortalama lif incelikleri hesaplanmıştır.



Şekil 2.4.1. SEM (JSM-5910 LV from JEOL)

%50/50 [CH/PEO/nano gümüş (ns)] karışımından elde edilen nanolif bazlı kompozit yapı, nanogümüş parçacık tayini için, Geçirimli Elektron Mikroskobu'nda (TEM, FEI Tecnai F20-G2) incelenmiştir.



Şekil 2.4.2. TEM (FEI Tecnai F20-G2)

2.5. DİFERANSİYEL TARAMA KALORİMETRİSİ (DSC) ANALİZİ

Nanolif bazlı kompozit yapıların ısıl davranışları DSC (Perkin Elmer Jade DSC) cihazı ile incelenmiştir. Deneyler için cihaza beslenen numunelerin ağırlıkları ortalama 4mg olarak belirlenmiştir. Numuneler, 20°C'den 200°C'ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık artışı 10°C/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Her bir numune için 3 deneme yapılmıştır.



Şekil 2.5.1. DSC (Perkin Elmer Jade DSC)

2.6. FOURIER DÖNÜŞÜMLÜ KIZILÖTESİ SPEKTROFOTOMETRİSİ (FT-IR)

Nanolif bazlı kompozit yapıları meydana getiren polimerlerin kimyasal bağ yapıları FT-IR spektroskopisi (PerkinElmer Spectrum 100) ile incelenmiştir. Her bir numune için 5 farklı deneme gerçekleştirilmiştir. Numuneler 380cm⁻¹ ve 4000 cm⁻¹ dalgaboyu aralığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte incelenmiştir.



Şekil 2.6.1. FT-IR (PerkinElmer Spectrum 100)

2.7. NANOLİF BAZLI KOMPOZİTLERİN MUKAVEMET VE ESNEKLİK TESTLERİ

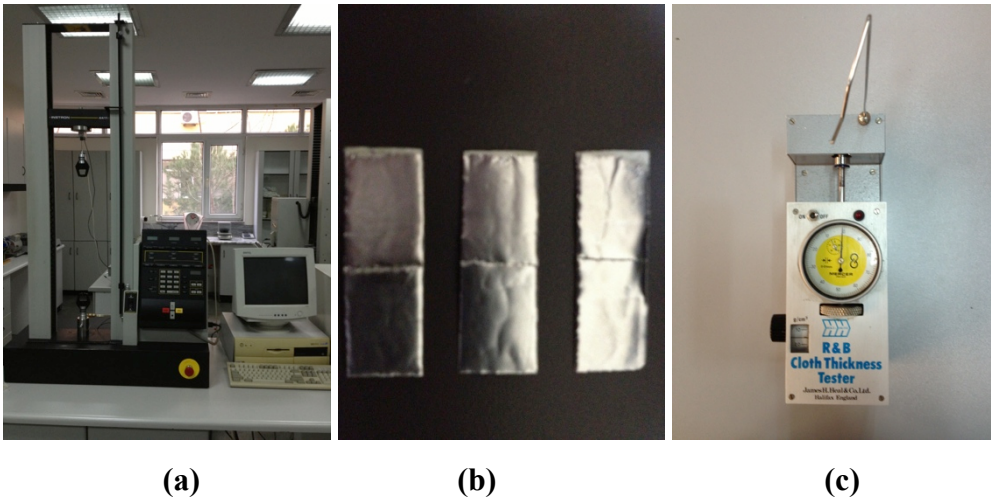
Nanolif bazlı kompozit yapıların mekanik özelliklerini incelemek üzere Instron (Instron 4411) marka universal test cihazı kullanılmıştır. Testler kuru haldeki numunelere uygulanmıştır. Numuneler makine yönü ve en yönünde olmak üzere iki farklı şekilde ve 30 x 10 mm (boy x en) ölçülerinde kesilmiştir. Nanolifler, elektroçekim cihazında alüminyum folyo üzerine toplandıklarından, kompozit yapı folyoya yapışmıştır. Dolayısıyla folyonun kompozit yapının mukavemet değerlerini etkilememesi amacıyla kompozit yapıdan ayrılması gerekmiştir. Ancak ayrılma esnasında kompozit yapıda birtakım zedelenme ve parçalanmalar olduğundan folyonun kompozit yapıdan tamamen ayrılması yerine, iğne ile çizilmek kaydıyla yırtılması yoluna gidilmiştir.

Numuneleri koparmak için 50 N (Newton)'luk kuvvet uygulanmıştır. Piston hızı 10 mm/dk olarak ayarlanmıştır. Yük değerleri 'kg' cinsinden okunmuş daha sonra Megapascal'a (MPa) çevrilmiştir. Çevrim hesabı aşağıdaki 1 numaralı denklem kullanılarak yapılmıştır. Uzama değerleri ise 'mm' olarak kaydedilmiş ve daha sonra '%' olarak hesaplanmıştır (2 numaralı denklem).

$$1\text{-Mukavemet (MPa)} = \text{Maksimum Kuvvet(kg)} \times 9,81 / \text{Kesit alanı (mm}^2\text{)}$$

$$2\text{-Uzama (\%)} = \frac{\text{Numunenin Son Boyu (mm)} - \text{Numunenin İlk Boyu}}{\text{Numunenin İlk Boyu}} \times 100$$

Numunelerin kalınlıklarının (mm) tayini ise R&B (Cloth Thickness Tester, Jaems H. Heal&Co. Ltd.) marka kalınlık ölçme cihazı ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.7.1. (a) Instron (Instron 4411) universal test cihazı, (b) test için hazırlanan numuneler (iğne ile çizilip yırtılan alüminyum folyolar), (c) kalınlık ölçme cihazı.

2.8. NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ YÜZEYLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Antimikrobiyal testler için Gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538, Gram-negatif (*Escherichia coli*) bakteriler ATCC 25922 ve mantarlar (*Candida albicans*) ATCC 10231, Marmara Üniversitesi Farmakoloji bölümünden temin edilmiştir. Denemeler esnasında kullanılan steril petri kapları Spectral firmasından satın alınmıştır. Mikro-organizmaların inkübasyonu sürecinde kullanılan agar kaplar ise Diatek firmasından edinilmiştir. Bakteriler için özel besiyerli 'Plate Count Agar' kaplar, mantarlar için ise 'DRBC' kaplar kullanılmıştır (Şekil 2.8.1).



Şekil 2.8.1. Plate Count Agar ve DRBC Agar Kapları.

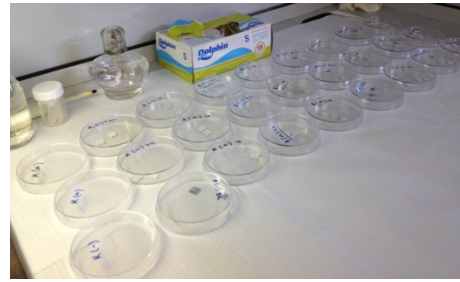
Escherichia Coli ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterileri Luria Bertani sıvı besiyerinde (LB) 37°C'da, *Candida albicans* ATCC 10231 ise Sabouraud Dekstroz sıvı besiyerinde (SDB) 35°C'da üretilmiştir. 24 saatlik üremiş kültürler spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve çalışma için istenilen konsantrasyonlara (10^5 CFU/ml) 0.1M fosfat tamponu kullanılarak seyreltilmiştir.

%30/70, %70/30 ve %50/50 (nanogümüş katkılı ve katkısız) (CH/PEO) karışım oranlarında elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanolif bazlı kompozit yüzeylerin Gram-pozitif (*S.aerous*), Gram-negatif (*E.coli*) bakterilere ve mantarlara (*C.albicans*) karşı antimikrobiyal etkinlikleri ölçülmüştür. Her bir numune 1x1 cm ebatlarında kesilip, steril petri kaplarına yerleştirilmiştir. Ayrıca kontrol numunesi olarak 1x1 cm ebatlarında kesilen steril kağıtlar kullanılmıştır. Akabinde, numuneler UV ışık altında 15 dakika bekletilerek sterilize edilmiştir. Her bir deney üç kere tekrar edilmiştir. Dolayısıyla her mikro-organizma için 12 adet numune hazırlanmıştır (Tablo 2.8.1).

Tablo 2.8.1. Antimikrobiyal deneyler için hazırlanan numuneler ve kod numaraları.

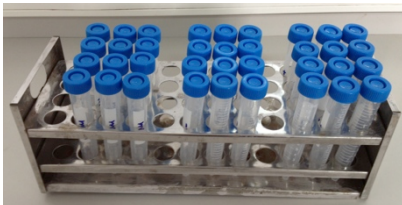
Mikro-organizmalar	Kitosan/PEO karışımı nanolif bazlı kompozit yüzeyler (nanogümüş katkılı ve katkısız)					
	%50/50			%50/50 ns		
S. Aerous	A1(+)	A2(+)	A3(+)	B1(+)	B2(+)	B3(+)
E.Coli	A1(-)	A2(-)	A3(-)	B1(-)	B2(-)	B3(-)
C.Albicans	A1(M)	A2(M)	A3(M)	B1(M)	B2(M)	B3(M)
	%70/30			%30/70		
S. Aerous	C1(+)	C2(+)	C3(+)	D1(+)	D2(+)	D3(+)
E.Coli	C1(-)	C2(-)	C3(-)	D1(-)	D2(-)	D3(-)
C.Albicans	C1(M)	C2(M)	C3(M)	D1(M)	D2(M)	D3(M)

Sterilizasyon işleminden sonra, mikropipet yardımıyla her bir numune üzerine daha önceden hazırlanmış olan bakteri ve mantar süspansiyonları 25 mikrolitre kadar damlatılmıştır (pipetaj).



Şekil 2.8.2. 0,5µl-5ml Mikropipet (Sokorex, Swiss) ve steril petri kaplara yerleştirilmiş olan numuneler.

Daha sonra numuneler 4 saat boyunca $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve %55 bağıl nemde inkübe edilmiştir. İlk inkübasyon işleminden sonra numuneler, içlerinde 5 mililitre PBS (Phosfat Buffer Saline) bulunan tüplere konularak 15 saniye boyunca vorteks karıştırıcıda çalkalanmıştır.



Şekil 2.8.3. PBS ve numune içeren tüpler

Daha sonra, tüpler içerisinden 0,25 mililitre miktarında alınan sıvılar agar kaplara steril pipet ucu ile çimlendirme için yayılmışlardır. İçinde bakteri süspansiyonunun bulunduğu agar kaplar 37°C’de, mantar süspansiyonu bulunan kaplar ise 25°C’de olmak üzere 24 saatlik ikinci bir inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra agar kaplar üzerinde üreyen mikro-organizmalar sayılarak numunelerin antimikrobiyal etkinlik seviyeleri ölçülmüştür [170].



(a)



(b)

Şekil 2.8.4. İnkübatör (a) ve bakteri / mantar süspansiyonları ile çimlendirme yapılmış agar kaplar (b).

2.9. NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ YÜZEYLERİN SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ (MTT ASSAY)

MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-dipheniltetrazolium bromid), hücre proliferasyonunu, canlılığını ve sitotoksisiteyi ölçmede kullanılan kantitatif (nicel) bir yöntemdir. Bu yöntem, mitokondriyal enzim sistemleri tarafından kataliz edilen tetrazolium tuzlarının indirgenmesine dayanmaktadır ve hücre büyümesi ile ksenobiyotik (bir organizmanın normal biyokimyasına yabancı olan) sitotoksisiteyi yansıtır. Tetrazolium tuzları (MTT, XTT, WST-1), genelde substrat (enzimler tarafından sentezlenen veya ayrışan madde) olarak renksiz, canlı hücrelerin mitokondriyal aktivitesi sonucu renkli ürünler veren maddelerdir. MTT bu amaçla kullanılan bir tetrazolium tuzudur ve substrat olarak sarı renkte olmasına rağmen canlı hücrelerin mitokondrilerinde süksinat-dehidrogenaz enzimine spesifik olarak bağlandığında suda çözünmeyen mavi-mor formazan tuzları oluşturmaktadır. (Süksinat dehidrogenaz, Krebs siklusunun mitokondri membranında olan tek enzimidir ve

süksinatı fumarata katalizler. Krebs siklusunun diğer tüm enzimleri çözülebilir fazdadır.) Formazan tuzları, DMSO, izopropanol gibi organik çözücülerde kolayca çözünmektedir. Çözünen maddenin optik densitesi (yoğunluğu), çözünmüş olan formazan kristallerinin konsantrasyonunun verdiği absorbans değerlerine göre spektrofotometrik olarak ölçülebilmektedir. Ölçülen değer direkt olarak kültürdeki hücrelerin metabolik aktivitelerini vermekte ve bu değer yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilmektedir [171].

Çalışmada L-929 (ATCC, CCL-1 fare fibroblast hücre hattı) tercih edilmiştir. Sitotoksosite testi ISO 10993-5 protokolüne göre gerçekleştirilmiştir (L-929 hücre hattında). Çalışmada Cell Proliferation Kit I (MTT) [Roche 11 465 007 001] kullanılmıştır. Sitotoksosite testi öncesinde nanolif bazlı yara örtüsü yüzeyler, sterilizasyon amacıyla 24 saat boyunca 40°C sıcaklıkta etüvde bekletildikten sonra 30 dakika kadar ESCO Labculture® Class II Tip A2 Laminar-Flow biyolojik güvenlik kabininde UV ışık altında tutulmuştur.



Şekil 2.9.1. ESCO Labculture® Class II Tip A2 Laminar-Flow Biyolojik Güvenlik Kabini

2.10. NANOLİF BAZLI YARA ÖRTÜSÜ YÜZEYLERİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ (HAYVAN DENEYİ)

Çalışmada her iki cinsten 180-200 g ağırlığında, 24 adet Sprague-Dawley (SD) cinsi sıçan kullanılmıştır. Deneyde kullanılan sıçanlar Marmara Üniversitesi Deney

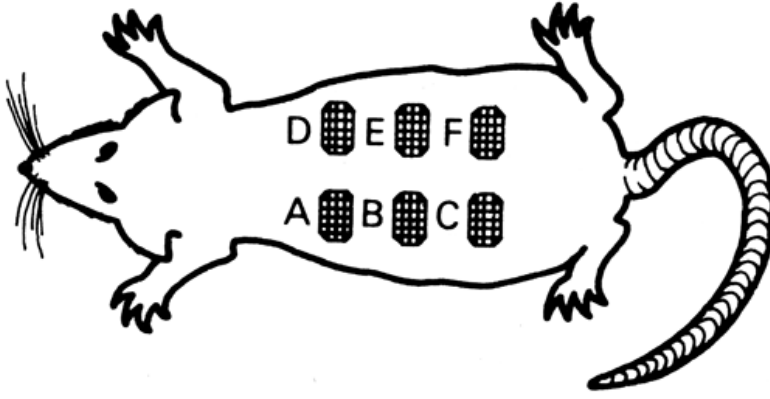
Hayvanları Merkezinden (DEHAMER) temin edilmiştir. Deneysel çalışmalar süresince hayvanlar 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık döngü içerisinde ve sabit sıcaklıkta (21 ± 3 °C) tutularak yem ve su alımları serbest bırakılmıştır. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na (MÜHDEK) sunulmuş ve etik kurul onayı alındıktan sonra *in vivo* çalışmalara başlanmıştır. Çalışmalar kapsamında nanolif bazlı yara örtüsü yüzeyler birbirleri ve ticari bir ürün olan Comfeel® Plus ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Steril hale getirilen Kitosan(CH)/PEO bazlı nanolifli yüzeylerin (%50/50, %50/50 ns, %30/70, %70/30) yara örtüsü olarak değerlendirilmesini amaçlayan *in vivo* çalışmaları, temel olarak üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Bunlar;

- Deneysel hayvanlarında yaralar oluşturularak üzerlerine nanolifli yüzeylerin ve ticari ürünün kapatıldığı uygulama aşaması,
- Belirli günlerde yaraların boyutlarının ölçülerek yara küçülmelerinin değerlendirilmesi,
- Uygulanan örtü materyallerin canlı üzerinde alerjik herhangi bir etkiye neden olup olmadığını belirlemek üzere periyodik vücut ısısı (ateş) ölçümlerinin yapıldığı aşamalardır.

2.10.1. Uygulama Aşaması

Deneysel hayvanlarına anestezi için ketamin (35 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) ve 4 mg/kg tramadol HCl verilmiştir. Anestezi sağlandıktan sonra sıçanların sırt (dorsal) bölgesindeki kıllar tıraşlanmıştır. Sıçanların sırtlarında 1.5 x 1.5 cm genişliğinde tam kalınlıkta 6 adet yara açılmıştır. Yaralara binde 5'lik povidon iyodin çözeltisi sürülerek deneysel hayvanlarının derileri sterilize edilmiştir.



Şekil 2.10.1.1. Üzerinde yara alanları oluşturulan deney hayvanının şematik gösterimi. Her bir harf, yara üzerine kapatılan numuneyi simgelemektedir; A)%50/50 ns(CH/PEO), B)Kontrol, C)%30/70(CH/PEO), D)%50/50(CH/PEO), E)Comfeel®Plus, F) %70/30(CH/PEO).

Yaralar, yara örtüleri ile örtüldükten sonra steril gazlı bez ile cerrahi müdahale yapılan tüm alanlar kapatılacak şekilde sarılmıştır.

Deney grupları, yara iyileşme etkinliğinin değerlendirileceği günler göz önünde bulundurularak belirlenmiş ve kodlanmıştır (Tablo 2.10.1.1).

Tablo 2.10.1.1. Yara iyileşme testinde kullanılan numuneler ve denek kodları.

1. Deney Grubu (5. gün)						
Denekler	50/50ns (CH/PEO)	Kontrol	30/70 (CH/PEO)	50/50 (CH/PEO)	Comfeel®Plus	70/30 (CH/PEO)
1 numaralı denek	A5-1	B5-1	C5-1	D5-1	E5-1	F5-1
2 numaralı denek	A5-2	B5-2	C5-2	D5-2	E5-2	F5-2
3 numaralı denek	A5-3	B5-3	C5-3	D5-3	E5-3	F5-3
4 numaralı denek	A5-4	B5-4	C5-4	D5-4	E5-4	F5-4
5 numaralı denek	A5-5	B5-5	C5-5	D5-5	E5-5	F5-5
6 numaralı denek	A5-6	B5-6	C5-6	D5-6	E5-6	F5-6
2. Deney Grubu (10. gün)						
Denekler	50/50ns (CH/PEO)	Kontrol	30/70 (CH/PEO)	50/50 (CH/PEO)	Comfeel®Plus	70/30 (CH/PEO)
1 numaralı	A10-1	B10-1	C10-1	D10-1	E10-1	F10-1

denek						
2 numaralı denek	A10-2	B10-2	C10-2	D10-2	E10-2	F10-2
3 numaralı denek	A10-3	B10-3	C10-3	D10-3	E10-3	F10-3
4 numaralı denek	A10-4	B10-4	C10-4	D10-4	E10-4	F10-4
5 numaralı denek	A10-5	B10-5	C10-5	D10-5	E10-5	F10-5
6 numaralı denek	A10-6	B10-6	C10-6	D10-6	E10-6	F10-6

3. Deney Grubu (15. gün)

Denekler	50/50ns (CH/PEO)	Kontrol	30/70 (CH/PEO)	50/50 (CH/PEO)	Comfeel®Plus	70/30 (CH/PEO)
1 numaralı denek	A15-1	B15-1	C15-1	D15-1	E15-1	F15-1
2 numaralı denek	A15-2	B15-2	C15-2	D15-2	E15-2	F15-2
3 numaralı denek	A15-3	B15-3	C15-3	D15-3	E15-3	F15-3
4 numaralı denek	A15-4	B15-4	C15-4	D15-4	E15-4	F15-4
5 numaralı denek	A15-5	B15-5	C15-5	D15-5	E15-5	F15-5
6 numaralı denek	A15-6	B15-6	C15-6	D15-6	E15-6	F15-6

4. Deney Grubu (20. gün)

Denekler	50/50ns (CH/PEO)	Kontrol	30/70 (CH/PEO)	50/50 (CH/PEO)	Comfeel®Plus	70/30 (CH/PEO)
1 numaralı denek	A20-1	B20-1	C20-1	D20-1	E20-1	F20-1
2 numaralı denek	A20-2	B20-2	C20-2	D20-2	E20-2	F20-2
3 numaralı denek	A20-3	B20-3	C20-3	D20-3	E20-3	F20-3
4 numaralı denek	A20-4	B20-4	C20-4	D20-4	E20-4	F20-4
5 numaralı denek	A20-5	B20-5	C20-5	D20-5	E20-5	F20-5
6 numaralı denek	A20-6	B20-6	C20-6	D20-6	E20-6	F20-6

2.10.2. Yara Küçülmelerinin Değerlendirilmesi

Deney hayvanlarının sırt bölgelerinde oluşturulan 6 adet yara, belirlenen sıraya göre yara örtüleri ile kapatıldıktan sonra, uygulamanın yapıldığı gün (0. gün) yara boyutları milimetrik kaliper yardımı ile ölçülüp yara alanları hesaplanmıştır.

Uygulamayı takip eden 5. 10. 15. ve 20. günlerde yara boyutlarının ölçümü tekrarlanarak boyutlardaki değişim gözlenmiştir. (%) $K = 100 - [A_n / A_0] \times 100$ formülü kullanılarak yara boyutundaki değişimler saptanmıştır. Elde edilen veriler, standart sapmalar da göz önüne alınarak istatistiksel olarak sunulmuştur.

K: Yara küçülmesi

A0: Orijinal yara alanı (0.gün)

An: Değerlendirme gününde ölçülen yara alanı

n: Uygulamadan yara ölçümüne kadar geçen süre (gün) (5, 10, 15, ve 20).

BÖLÜM 3

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. ÇÖZELTİ ÖZELLİKLERİ

Kitosan'ın polikatyonik doğası ve kimyasal yapısındaki molekül içi ve moleküller arası yoğun etkileşim, elektroçekim işleminde önemli zorluklarla karşılaşılmasına neden olmaktadır [159, 172, 173]. Sağlam hidrojen bağları, polimer zincirindeki blokların elektrik alandaki serbet hareketini engellemekte ve elektroçekim işlemi süresince jet kopuşlarına (sektelerine) sebep olmaktadır [111, 159, 172]. Ayrıca, polimer zincirinde yer alan iyonik gruplar arasındaki itici kuvvetler (repulsive force) de polimer zincirlerinin yeterli miktarda birbirleri içine girmelerine (entanglement) engel olmaktadır. Bu durum, polimer jetin uzaması, bükülmesi ve 'whipping' kararsızlığı sergilemesi esnasında yeterli ve sürekli lif oluşumuna engel teşkil etmektedir. Polimer jetin uzaması esnasında yaşanan bu sorunlar, elektroçekim işlemi sonucu, düzenli lif oluşumu yerine, boncuk oluşumlar ya da boncuklu düzensiz lifler elde edilmesine neden olmaktadır [174].

Kitosan'ın farklı oranlarda seyreltilerek hazırlanmış asetik asit çözeltilerinde çözüldüğü bilinmektedir. Asetik asit ile hazırlanan çözeltilerde, asetik asit konsantrasyonunun artması ile birlikte çözeltilerin yüzey geriliminin düştüğü bildirilmektedir. Yüzey geriliminin düşmesi ise elektroçekim işlemini kolaylaştıran bir etkendir [111]. Bu sebeple, elektroçekim işlemlerinde herhangi bir problemle karşılaşmamak ve yeterince homojen çözeltiler hazırlayabilmek amacıyla, Kitosan ile hazırlanan çözeltilerde çözücü olarak %90 konsantrasyona sahip asetik asit kullanılmıştır.

Çalışmalarımızda, sadece Kitosan (CH) ya da PEO içeren çözeltilerde toplam polimer miktarı (TPM) ağırlıkça %1-3 arasında hazırlanmıştır. Toplam polimer miktarı %3'ün üzerine çıktığında çözeltide jelleşme problemleri yaşanmıştır.

Kitosan ve PEO polimerleri ile hazırlanan karışım çözeltilerde ise, toplam polimer miktarı ağırlıkça %4 olarak belirlenmiştir. Yine bu konsantrasyonun üzerine çıktığında çözelti homojenitesinde problemler yaşanmış ve jelleşme gözlemlenmiştir.

Hazırlanan bazı çözeltilerin aşırı bekletilmesi, çözeltide yaşlanma (aging) probleminin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu durum özellikle Kitosan için tipik bir problemdir. Yaşlanma neticesinde, polimerde üç boyutlu yapı değişikliği, kümelenme ve birtakım enzimatik tepkimelerle polimer zincirinde kopmaların yaşanması gibi olaylar meydana gelmektedir. Bu da polimer çözeltisinin kullanılamaz hale gelmesine neden olmaktadır [175, 176]. Daha önce yapılan bazı çalışmalar da Kitosan/PEO içeren çözeltilerin üç gün bekletilmesi sonucu, çözeltide faz ayrımının gözlemlendiğini ve bunun elektroçekim işleminde istenmeyen bir durum olan çözelti viskozitesinin aşırı düşmesine neden olduğunu ortaya koymuştur [156, 177, 178]. Yukarıda ifade edilen gerekçeler doğrultusunda, çözeltide yaşlanma sorununun önüne geçilmek üzere, hazırlanan çözeltiler bekletilmeden elektroçekim işlemine tabi tutulmuştur.

3.1.1. Viskozite ve İletkenlik

Çözeltilerin viskozite ve iletkenlik değerleri, çözeltide kullanılan polimerlerin cinsine ve miktarına bağlı olarak değişmektedir. Kitosan ve PEO ile hazırlanan çözeltilerdeki viskozite ve iletkenlik değişimleri tablo ve grafik olarak sunulmuştur.

%100 Kitosan (CH) ve %100 Polietilen oksit (PEO) ile hazırlanan çözeltilerin viskozite miktarı, çözeltideki polimerin konsantrasyonu arttıkça yükselmiştir. Buna göre; %1g CH ile hazırlanan çözeltinin viskozitesi (33,5 cP), %2g CH ile hazırlanan çözeltinin viskozitesinden (195 cP) daha düşüktür. Aynı şekilde, %3g PEO ile hazırlanan çözeltinin viskozitesi (600 cP), %1g konsantrasyonda hazırlanan PEO çözeltisinden daha yüksek (66,5 cP) bulunmuştur.

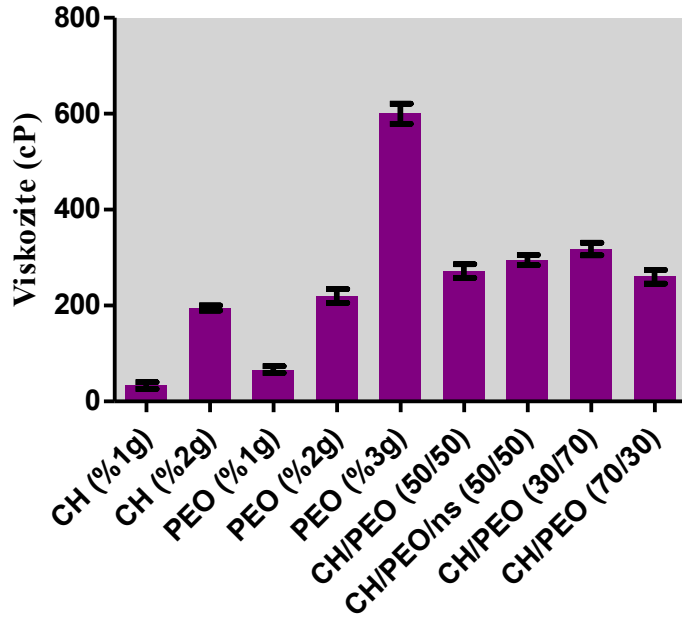
Tablo 3.1.1.1. Elektroçekim için hazırlanan çözeltilerin ortalama viskozite ve iletkenlik değerleri.

Polimer	Karışım Oranı (%)	TPM (%g)	Viskozite (cP)	İletkenlik ($\mu\text{S/cm}$)
CH	100	1	33,5	148
CH	100	2	195	284
PEO	100	1	66,5	71
PEO	100	2	220	150

PEO	100	3	600	353
CH/PEO	50/50	4	272	1160
CH/PEO	50/50	4	295	1200
CH/PEO	30/70	4	318	999
CH/PEO	70/30	4	260	1428

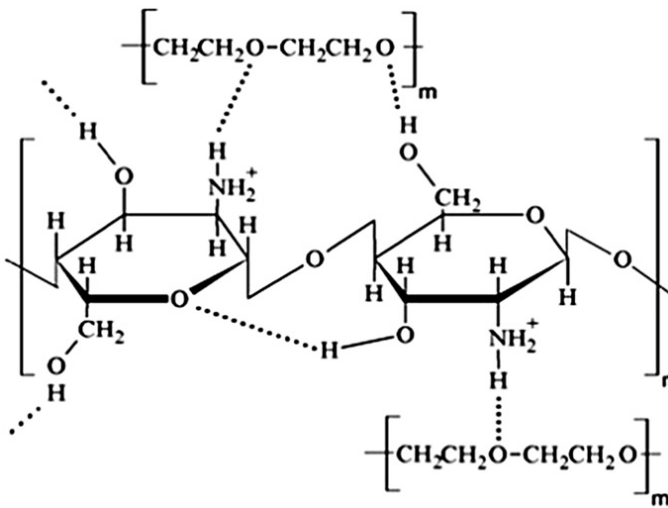
Tabloya göre, %70/30 (CH/PEO) karışımı ile hazırlanan çözeltinin viskozitesi 318 cP (centipoise) olarak bulunmuştur. %30/70 (CH/PEO) oranında karışım yapılarak hazırlanan çözeltinin viskozitesi ise 260 cP olarak ölçülmüştür. Çözeltideki PEO konsantrasyonu arttıkça viskozite değeri yükselmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalar, çözeltideki PEO oranının artması ile viskozitenin düşeceğini iddia etmiştir. Bunun temel nedeni ise, Kitosan ile karıştırılan PEO'nun pilastikleştirici etki yaparak, Kitosan'ın polimer zincirindeki birtakım molekül içi ve moleküller arası etkileşimleri kırması ve Kitosan ile yeni moleküler etkileşimler içine girmesi olarak sunulmuştur [179, 180]. Ancak bizim çalışmalarımız sonucu aldığımız sonuçlar bunun tam tersi yönünde olmuştur. Çözeltideki PEO konsantrasyonu arttığında, çözelti viskozitesi de yükselmiştir. Bu durum, PEO'nun üç boyutlu molekül yapısı ve büyüklüğü ile açıklanabilir. Kitosan ile sağlam bir şekilde etkileşime giren geniş ve uzun PEO polimer zinciri çözelti viskozitesini arttırmıştır [181].



Şekil 3.1.1.1. Polimer çözeltilerin viskozite değerleri grafiği

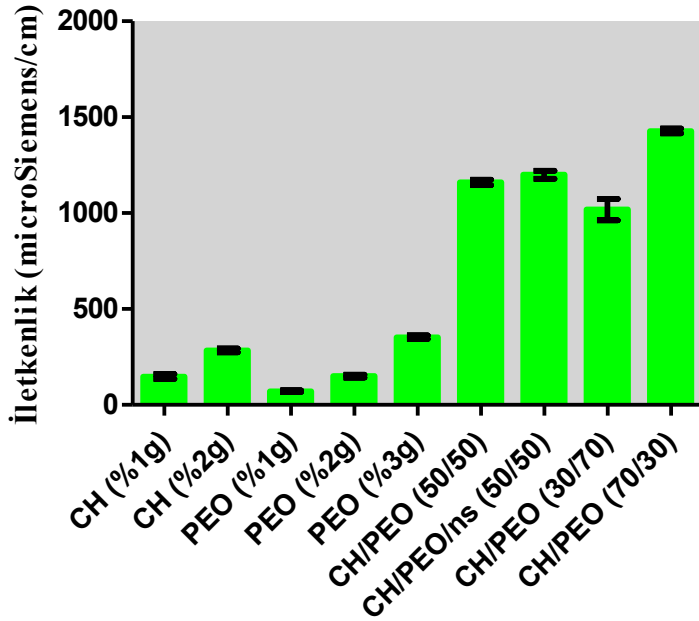
Sonuçlar, Kitosan'ın hidroksil ve amin grupları ile PEO'nun eter grupları arasında sağlam hidrojen bağlarının oluştuğuna işaret etmektedir [177, 179]. Bununla ilgili kimyasal etkileşim modeli aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir.



Şekil 3.1.1.2. Kitosan (CH) ve Polietilen oksit (PEO) molekülleri arasında gerçekleşen hidrojen bağları [177].

%50/50 CH/PEO ve %50/50 CH/PEO/ns(nano gümüş) çözeltileri viskozite değerleri açısından karşılaştırıldığında, nanogümüş içeren çözeltinin viskozitesinin (295 cP) içermeyenin viskozitesine (295 cP) göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum, gümüş iyonlarının (Ag^+), Kitosan'ın polimer zincirleri ile yaptığı iyon-dipol etkileşimleri ile açıklanabilir. Çünkü Kitosan'ın hidroksil gruplarında bulunan elektron zengini Oksijen atomlarının ve aktif eter gruplarının gümüş iyonları ile bileşikler oluşturduğu bilinmektedir.

Çözelti iletkenliğinin elektroçekim işlemi için taşıdığı önemden daha önceki bölümlerde bahsedilmiştir. Çözelti iletkenliği arttıkça, çözeltide taşınan yük miktarı da artmaktadır. Dolayısıyla, yük yoğunluğu fazla olan polimer jetin elektrik alanda daha fazla çekime maruz kaldığı ve bunun neticesinde elektroçekim işlemi sonunda daha ince liflerin elde edildiği bilinmektedir [182-184].



Şekil 3.1.1.3. Polimer çözeltilerin iletkenlik değerleri grafiği

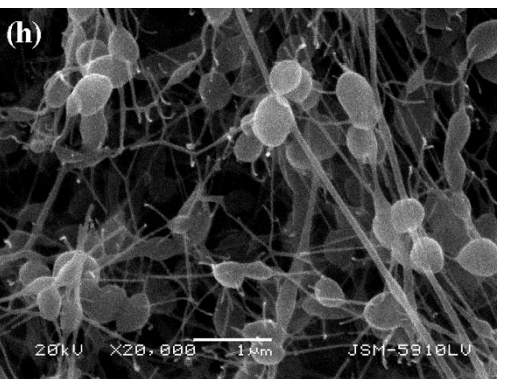
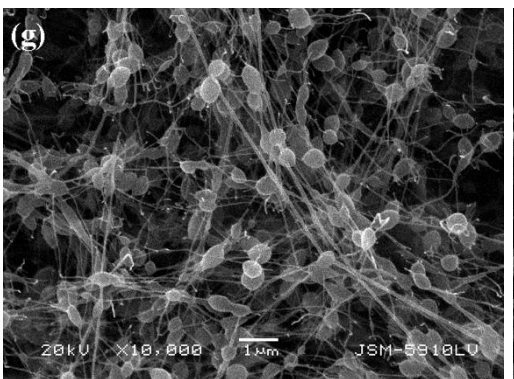
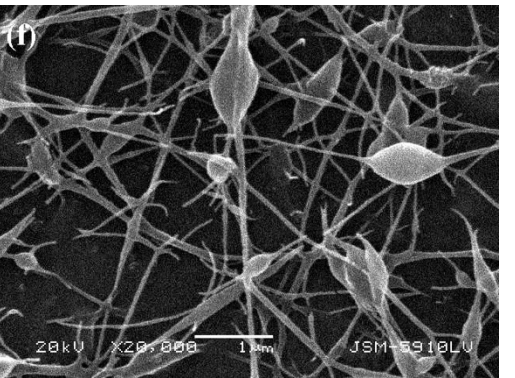
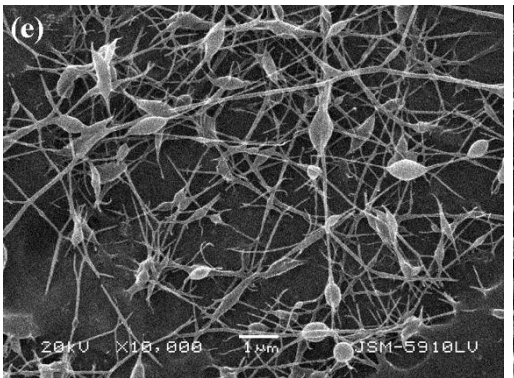
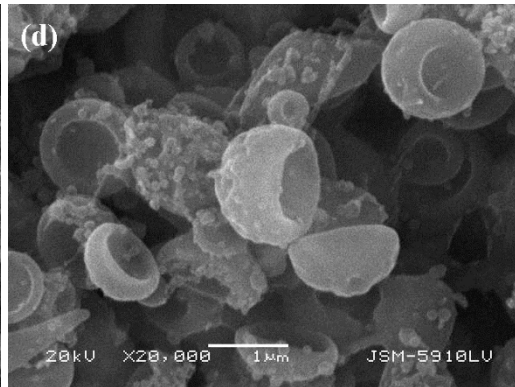
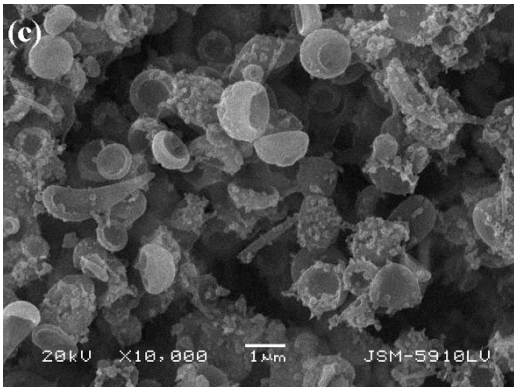
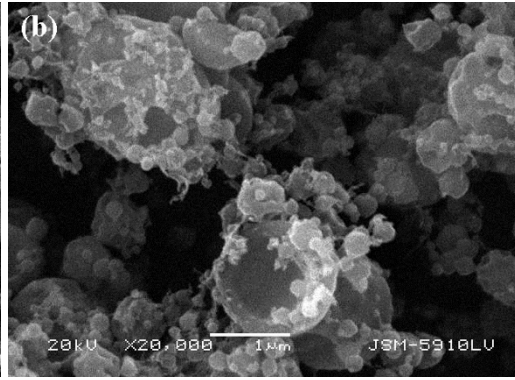
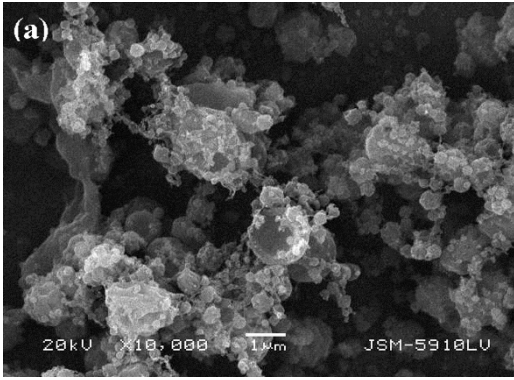
Kitosanın polikasyonik doğası gereği, çözeltideki kitosan (CH) miktarı arttıkça iletkenlik de artmaktadır. Deneyle sonuçunda, hem tek başına hem de karışım halinde

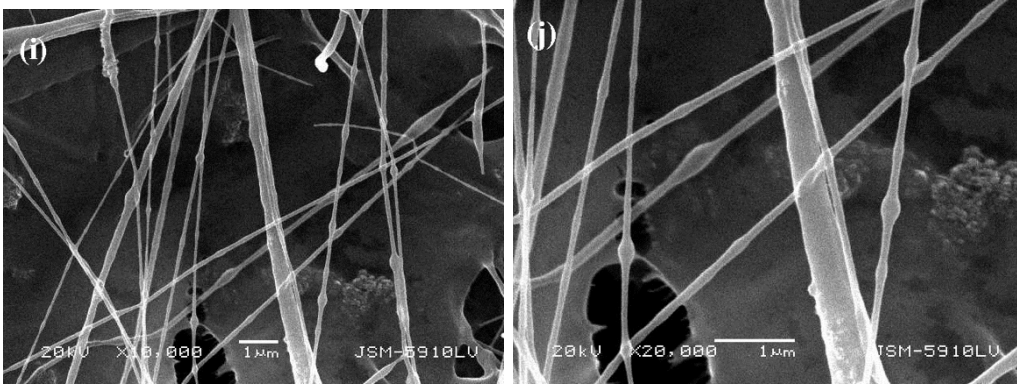
hazırlanan çözeltilerde CH miktarı arttıkça iletkenlik de artmıştır. Mesela; %1g'lık hazırlanan CH çözeltisinin iletkenlik değeri 148 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iken, %2g'lık hazırlanan CH çözeltisinin iletkenlik değeri 284 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçülmüştür. Aynı şekilde, %30/70 (CH/PEO) oranında hazırlanan çözeltinin iletkenliği (999 $\mu\text{S}/\text{cm}$), %70/30 (CH/PEO) oranında hazırlanan çözeltilere göre (1428 $\mu\text{S}/\text{cm}$) daha düşük bulunmuştur. Asetik asit içinde çözünen Kitosan'ın $-\text{NH}^{+2}$ grupları, $-\text{NH}^{+3}$ halini almaktadır. Bu da iyonikliği arttıran bir unsurdur. Karışım çözeltileri içindeki PEO konsantrasyonunun artması ise iletkenliği düşürücü bir etki yapmıştır. Bunun nedeni; Kitosan'ın amin grupları ile PEO'nun eter grupları arasında hidrojen bağlarının oluşması ile gerçekleşen protonlanma durumudur. Ayrıca, %50/50 oranında hazırlanan CH/PEO karışımı çözeltilerde gümüş içeren çözeltinin iletkenlik değeri (1200 $\mu\text{S}/\text{cm}$), içermeyene göre (1160 $\mu\text{S}/\text{cm}$) daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi ise, Ag^+ içeren çözeltideki polimer zincirlerinin daha iyonik bir yapı sergilemesi ile açıklanabilir [178].

3.2. SEM VE TEM SONUÇLARI

Viskozite ve iletkenlik değerlerinin, elektroçekim işlemi sonucu elde edilen liflerin şeklini ve inceliğini etkilediği bilinmektedir. Artan viskozite ile birlikte, elektroçekim işlemi esnasında uzayan jetin relaksasyon zamanı artmaktadır. Artan relaksasyon zamanı jetin kopmasını önlemekte ve lif oluşumunu desteklemektedir, aynı zamanda, lif çapının artmasına da neden olmaktadır. Öte yandan, iletkenliğin artması ile birlikte, elektroçekim esnasında besleyici üniteden toplayıcıya doğru hızlanan jet üzerinde taşınan yük miktarı arttığından, işlem sonunda elde edilen nanoliflerin çap ölçüleri azalmaktadır.

Hazırlanan çözeltiler ile yapılan elektroçekim denemeleri sonucu elde edilen yapılar SEM çekimi ile görüntülenmiştir. Şekil 3.2.1'de bu görüntüler paylaşılmaktadır.



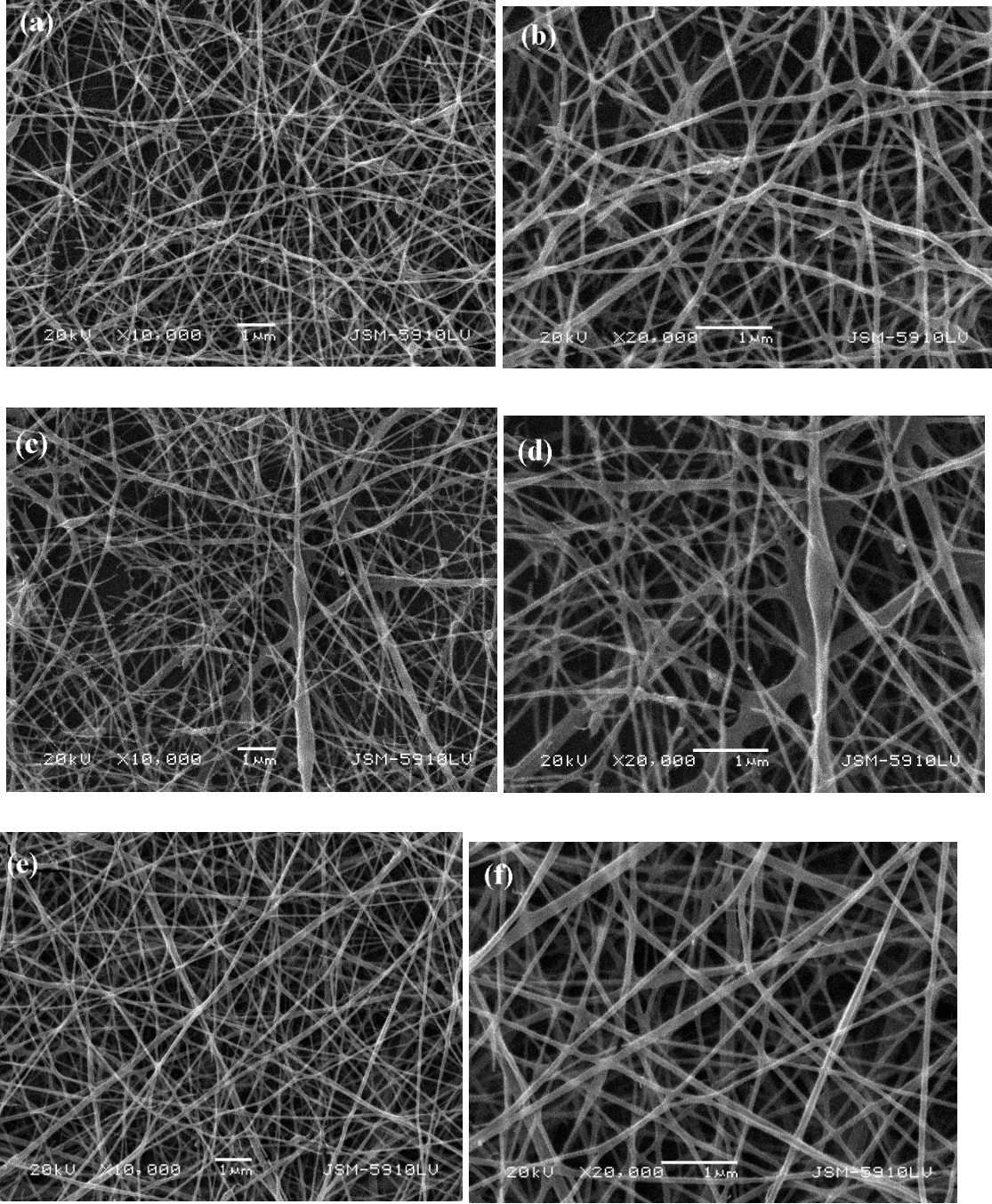


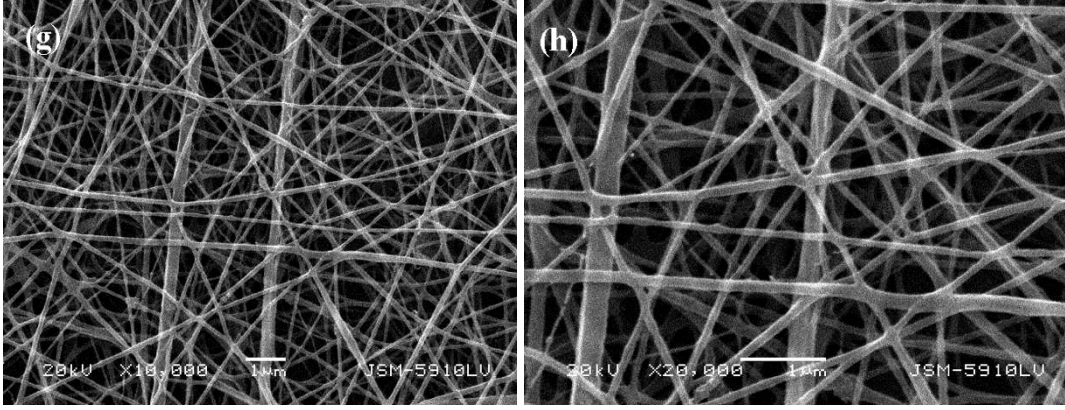
Şekil 3.2.1. Sadece Kitosan (CH) ve PEO ile hazırlanan çözeltilerin elektroçekimi sonucu ortaya çıkan yapıların [x10.000] ve [x20.000] büyüklüklerde çekilen SEM görüntüleri; (a) %1g CH [x10.000], (b) %1g CH [x20.000], (c) %2g CH [x10.000], (d) %2g CH [x20.000], (e) %1g PEO [x10.000], (f) %1g PEO [x20.000], (g) %2g PEO [x10.000], (h) %2g PEO [x20.000], (i) %3g PEO [x10.000], (j) %3g PEO [x20.000].

Sadece %1-2g CH ve %1-2g PEO ile hazırlanan çözeltilerle düzgün lif oluşumu sağlanamamıştır. Kitosan çözeltisi ile yapılan elektroçekim denemelerinde boncuk oluşumların içlerinde elektrik alan kuvvetleri nedeniyle oyuklar meydana gelmiştir. Ancak lif oluşumuna yetecek kadar düzgün bir etki sağlanamamıştır. %1-2g PEO konsantrasyonda hazırlanan çözeltilere uygulanan elektroçekim işlemi sonunda ise üzerinde fazla sayıda boncuk oluşumu gözlenen lifli yapılar elde edilmiştir. %3g PEO ile hazırlanan çözeltiyle elde edilen yapıda ise daha düzgün lif oluşumları gözlenmekle birlikte, lifler üzerinde boncuklar ve çeşitli kalınlıklarda boğumlar tespit edilmiştir. Bu nedenle tezin bundan sonraki kısmında düzgün ve hatasız liflerin elde edildiği %50/50, %50/50/ns, %30/70, %70/30 oranlarında karıştırılan CH/PEO bazlı nanolif analizleri ile devam edilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalar, doğal proteinlerin elektroçekimlerinin zor olduğunu ortaya koymuştur. PEO, bu zorlukların aşılmasında taşıyıcı polimer olarak görev yapmıştır [12, 13]. Bizim çalışmalarımızda da Kitosan'ın tek başına elektroçekiminin yapılamadığı, ancak, Kitosan çözeltilerine uygun miktarlarda PEO'nun eklenmesi ile

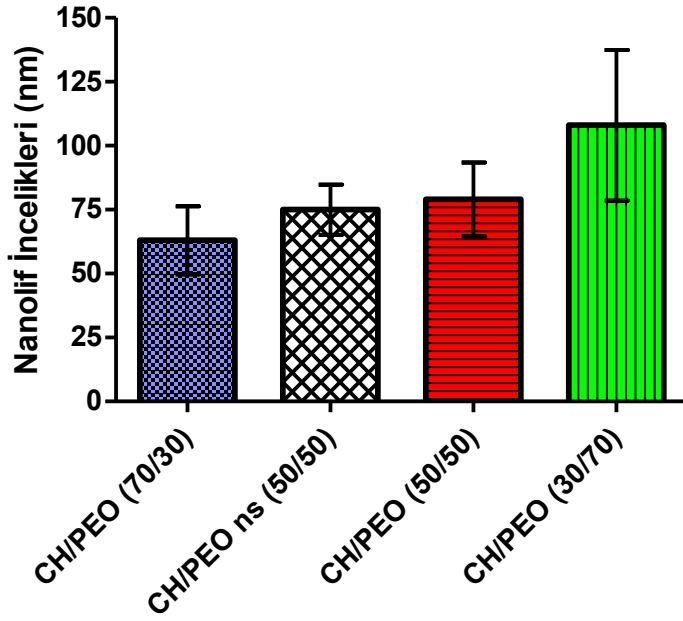
elektroçekim işleminin sorunsuz gerçekleşebildiği ve düzgün lif oluşumlarının meydana geldiği görülmüştür.





Şekil 3.2.2. Kitosan (CH) ve PEO ile hazırlanan karışım çözeltilerin elektroçekimi sonucu ortaya çıkan yapıların [x10.000] ve [x20.000] büyüklüklerde çekilen SEM görüntüleri; (a) %50/50 (CH/PEO) [x10.000], (b) %50/50 (CH/PEO) [x20.000], (c) %50/50 (CH/PEO/ns) [x10.000], (d) %50/50 (CH/PEO/ns) [x20.000], (e) %70/30 (CH/PEO) [x10.000], (f) %70/30 (CH/PEO) [x20.000], (g) %30/70 (CH/PEO) [x10.000], (h) %30/70 (CH/PEO) [x20.000].

SEM görüntülerinden de açıkça görülebildiği üzere, çözeltilerdeki kitosan miktarı arttıkça elektroçekim sonucu elde edilen lif inceliklerinin azaldığı, PEO miktarı arttıkça liflerin çaplarında artışların meydana geldiği saptanmıştır. Mesela; %30/70 (CH/PEO) oranında hazırlanan çözeltilerden elde edilen nanoliflerin inceliği ortalama 108 ± 51 nm olarak belirlenmiş iken, %70/30 (CH/PEO) oranında hazırlanan çözeltilerden elde edilen lif incelikleri 63 ± 23 nm olarak kaydedilmiştir. Bunun sebebi; çözelti içindeki Kitosan (CH) miktarı arttıkça elektrik alan içinde uzayan polimer jetin yüzeyindeki yük yoğunluğunun artması ve jetin daha fazla uzamaya maruz kalması ile elde edilen nanolif inceliklerinin azalması şeklinde açıklanmıştır [185].

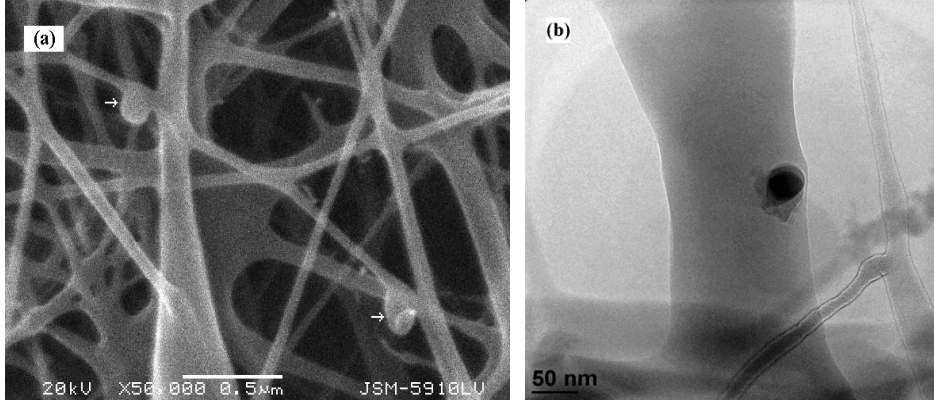


Şekil 3.2.3. CH/PEO karışım çözeltilerinden elektroçekim yöntemiyle elde edilen liflerin incelikleri [ns: nanosilver(nanogümüş)].

%50/50 (CH/PEO) oranında hazırlanan çözeltilerden elektroçekim ile elde edilen liflerin incelikleri ise nanogümüş içeren ve içermeyenler olmak üzere karşılaştırılmıştır. Nanogümüş içeren çözeltiyle elde edilen lif incelikleri (75 ± 17 nm), içermeyen çözeltilerden elde edilen liflerden (79 ± 25) az bir farkla da olsa düşük bulunmuştur. Çözeltideki gümüş iyonları (Ag^+) iletkenliğin artmasına ve dolayısıyla elektroçekim işleminde daha ince liflerin elde edilmesine neden olmuştur. Gümüş iyonlarının çözelti iletkenliği açısından elektroçekim işlemine katkı sağladığı ancak fazla miktarlarda kullanılmasının düzgün lif oluşumu ve bütünlüğünü bozabileceği belirtilmektedir [186].

Aşağıdaki şekilde %50/50 oranında CH/PEO ile hazırlanan ve nanogümüş içeren nanoliflerin SEM ve TEM görüntüleri sunulmuştur. Nanogümüş parçacıkların büyüklüklerinin ortalama olarak 50nm civarında olduğu ve nanolif bütünlüğüne zarar vermediği gözlenmiştir. Çalışmalar esnasında, nanolif bazlı kompozit yapı içinde, büyüklükleri 50 nm'den daha fazla olan gümüş parçacıklara da rastlanmıştır. Bu durum, gümüş iyonlarının kümelenmeye (aglomerasyon) olan eğilimi ile açıklanmıştır.

Ölçümler, çalışmalarımızda kullanmış olduğumuz nanogümüş konsantrasyonunun yapı bütünlüğü açısından olumlu sonuçlar ortaya koyduğunu göstermiştir.



Şekil 3.2.4. %50/50 karışım oranında hazırlanmış, nano gümüş katkılı CH/PEO bazlı nanoliflerin (a) SEM ve (b) TEM görüntüleri.

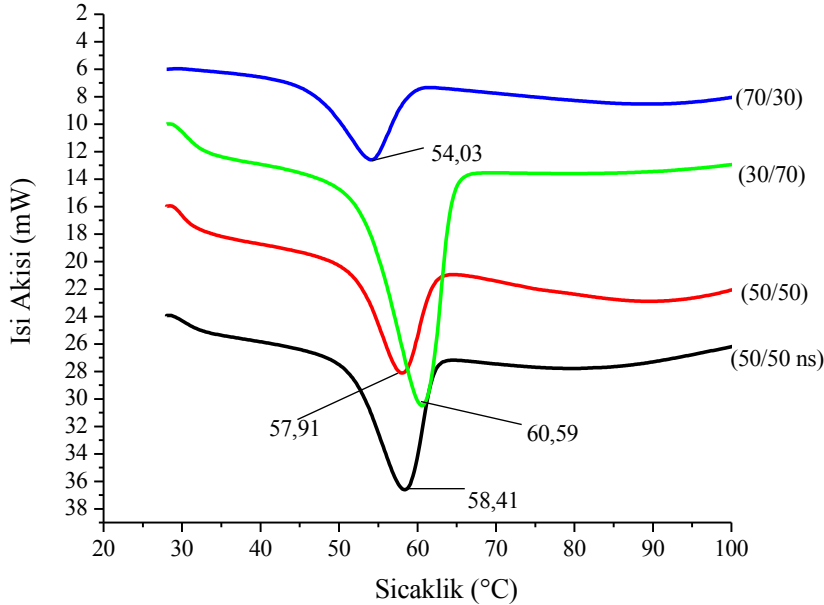
3.3. NANOLİFLERİN DSC ANALİZİ SONUÇLARI

Polimer karışım oranlarının, kristalinite gibi lif özelliklerine olan etkisini tespit etmek amacıyla nanolifler Diferansiyel Tarama Kalorimetresi'nde analiz edilmiştir. Örnek numuneler 200°C'ye kadar kontrollü bir şekilde ısıtılmış ve ısı akışı ölçülmüştür. Genel olarak polisakkaritlerin erimediği ve belli sıcaklıkların üzerinde bozunduğu bilinmektedir. Bu durum, moleküllerin arasında sağlam bir şekilde ve yoğun olarak meydana gelen hidrojen bağları ile açıklanmaktadır [187]. Bununla birlikte, Kitosan için camsı geçiş sıcaklığı (T_g) hala netliğe kavuşturulamamış, karışık bir durum olarak nitelendirilmektedir. Bu karmaşık durumun temel sebepleri; Kitosan'ın kristal oranına, moleküler ağırlığına, deasetilasyon derecesine, elde edildiği kaynaktaki çeşitliliklere ve elde edilme (ekstraksiyon) şeklindeki farklılıklara dayandırılmaktadır. Dolayısıyla, ölçümlerimizde PEO'nun ısı etkilerine verdiği tepkilerden yola çıkılarak nanolif özellikleri hakkında yorumlamalarda bulunulmuştur.

Tüm CH/PEO karışımlı nanolif örnekleri için endotermik tepkimeler gözlenmiştir. DSC sonuç grafiğinden de anlaşıldığı üzere, karışımlardaki PEO miktarı arttıkça PEO'nun erime noktasını (T_m) işaret eden grafiklerin tepe noktaları (pikler) daha yüksek

sıcaklıklara doğru kaymıştır. Mesela; %70/30 karışım oranında hazırlanan CH/PEO bazlı nanoliflere ait grafikte tepe noktası 54,03°C’de belirmiştir. %30/70 karışım oranında hazırlanan CH/PEO bazlı nanoliflere ait grafikte ise tepe noktası 60,59°C’de kaydedilmiştir. PEO, kristallenmeye yatkın bir polimerdir. PEO’nun kristal yapıları monoklinik birim hücreleri olarak radyal bir şekilde düzenlenmiş zincir grupları biçiminde karşımıza çıkmaktadır. Karışımlardaki PEO miktarının artması, PEO kristallerinin birbirlerine sıkıca tutunması ve genişleyerek büyümesine neden olmaktadır. Karışımlardaki Kitosan (CH) miktarının artması ise, CH ve PEO arasında meydana gelen bağlar nedeniyle, PEO kristallerinin istikrarlı yapısının bozulmasına ve PEO-PEO arasındaki etkileşimlerin azalmasına sebep olmaktadır. Bu durumun sonucu olarak, DSC grafiklerinde gözlenen tepe noktaları daha düşük sıcaklıklara kaymaktadır [188].

%50/50 karışım oranında hazırlanan CH/PEO bazlı nanoliflerin, yine aynı oranda hazırlanan ve nanogümüş içeren nanoliflere oranla az bir farkla daha düşük sıcaklıkta (57,91°C) pik verdiği gözlenmiştir.



Şekil 3.3.1. Nanoliflerin DSC analizi sonuçlarıdır.

Endotermik grafiklerin iç kısmında kalan alanların hesaplanması ile PEO'ya ait ısı sığası (ısı kapasitesi, ΔH_m) değerleri bulunmuştur. Bu değerlerle ilgili tablo, aşağıda sunulmaktadır. %70/30 (CH/PEO) karışım oranında elde edilen nanoliflere ait ΔH_m değeri 42,5969 J/g olarak saptanmışken, %30/70 (CH/PEO) karışım oranında elde edilen ΔH_m değeri 128,8810 J/g olarak kaydedilmiştir. Bunun sebebi; karışımdaki PEO oranı arttıkça, yapıyı eritmek amacıyla, belli sıcaklıkların üzerine çıkmak için sarfedilen ısı miktarının artmasıdır.

Tablo 3.3.1. PEO'ya ait erime noktası ve ısı sığası değerleri.

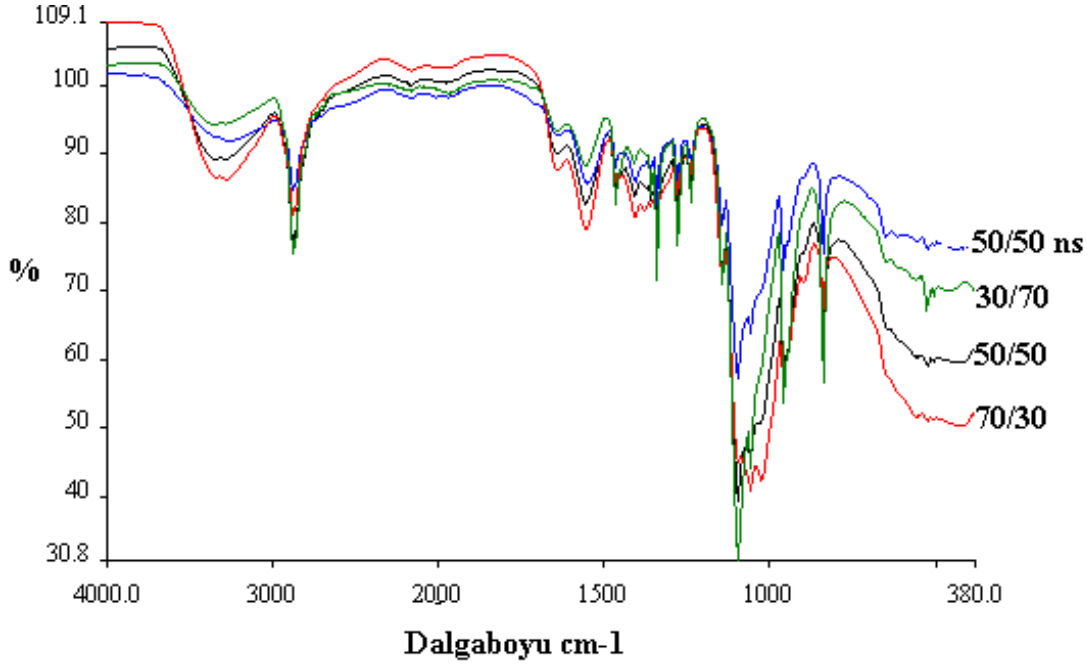
<i>Karışım Oranları</i>	<i>T_m (°C)</i>	<i>ΔH (J/g)</i>
%50/50 (CH/PEO)	57,91	46,21
%50/50 (CH/PEO/ns)	58,41	87,89
%30/70 (CH/PEO)	60,59	128,89
%70/30 (CH/PEO)	54,03	42,6

%50/50 karışım oranında hazırlanan CH/PEO bazlı nanoliflerin, aynı karışım oranında hazırlanan ve nanogümüş içeren nanoliflere göre önemli ölçüde daha az ΔH_m değeri (46,21 J/g) verdiği gözlenmiştir. Bunun sebebi, nanogümüş parçacıkların çekirdeklendirici madde (nucleating agent) etkisi yapması ve dolayısıyla yapıyı daha kristal bir hale getirmesiyle açıklanmıştır [189].

3.4. NANOLİFLERİN FT-IR ANALİZ SONUÇLARI

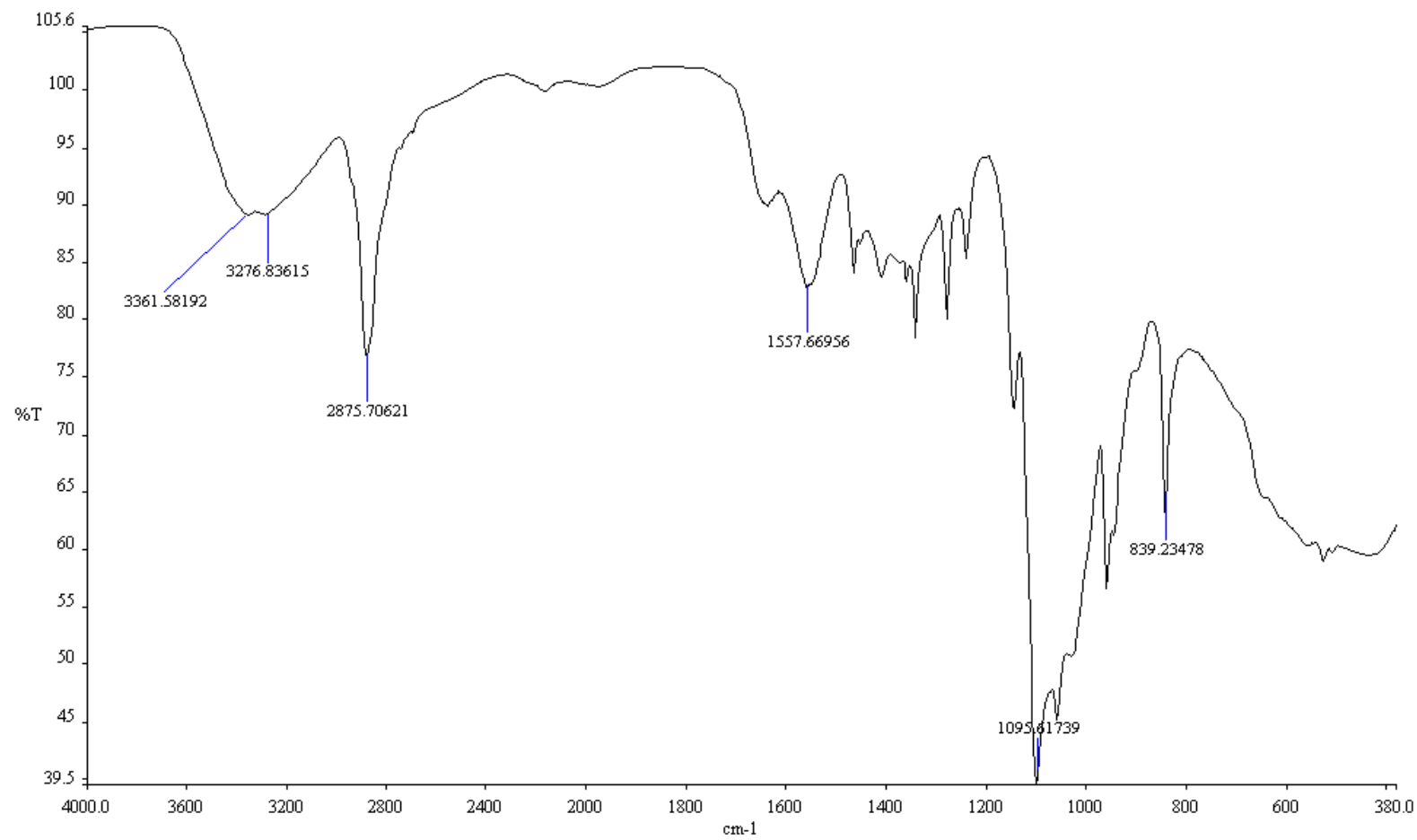
Şekil 3.4.1, %50/50 (nanogümüş katkılı ve katkısız), %30/70, %70/30 (Kitosan/PEO) oranlarında hazırlanan çözeltilerden elektroçekim işlemi yoluyla elde edilen nanoliflere ait İnfrared grafiklerini göstermektedir. Grafiklerde, 840 cm^{-1} civarında görülen bant, Kitosan'ın sakkarit gruplarına aittir. Diğer belirleyici bantlar ise 1550 cm^{-1} (amino grupların N-H eğilimi), 1640 cm^{-1} (amid gruplara ait karbonil [-C=O] gerilimleri), 2875 cm^{-1} (alkil gruplarına ait -C-H gerilimleri), 3280 cm^{-1} (amin gruplarına ait -N-H gerilimleri), ve 3365 cm^{-1} (-O-H gerilimleri) civarında gözlenmiştir.

Saf Polietilen oksit'e (PEO) ait eter (C-O-C) grupları ise 1112 cm^{-1} civarında belirgin olarak bant vermektedir [173, 190]. Bizim çalışmalarımızda kullandığımız numuneler Kitosan/PEO bazlı olduğundan eter gruplarına ait belirgin bant 1100 cm^{-1} civarında gözlenmiştir.

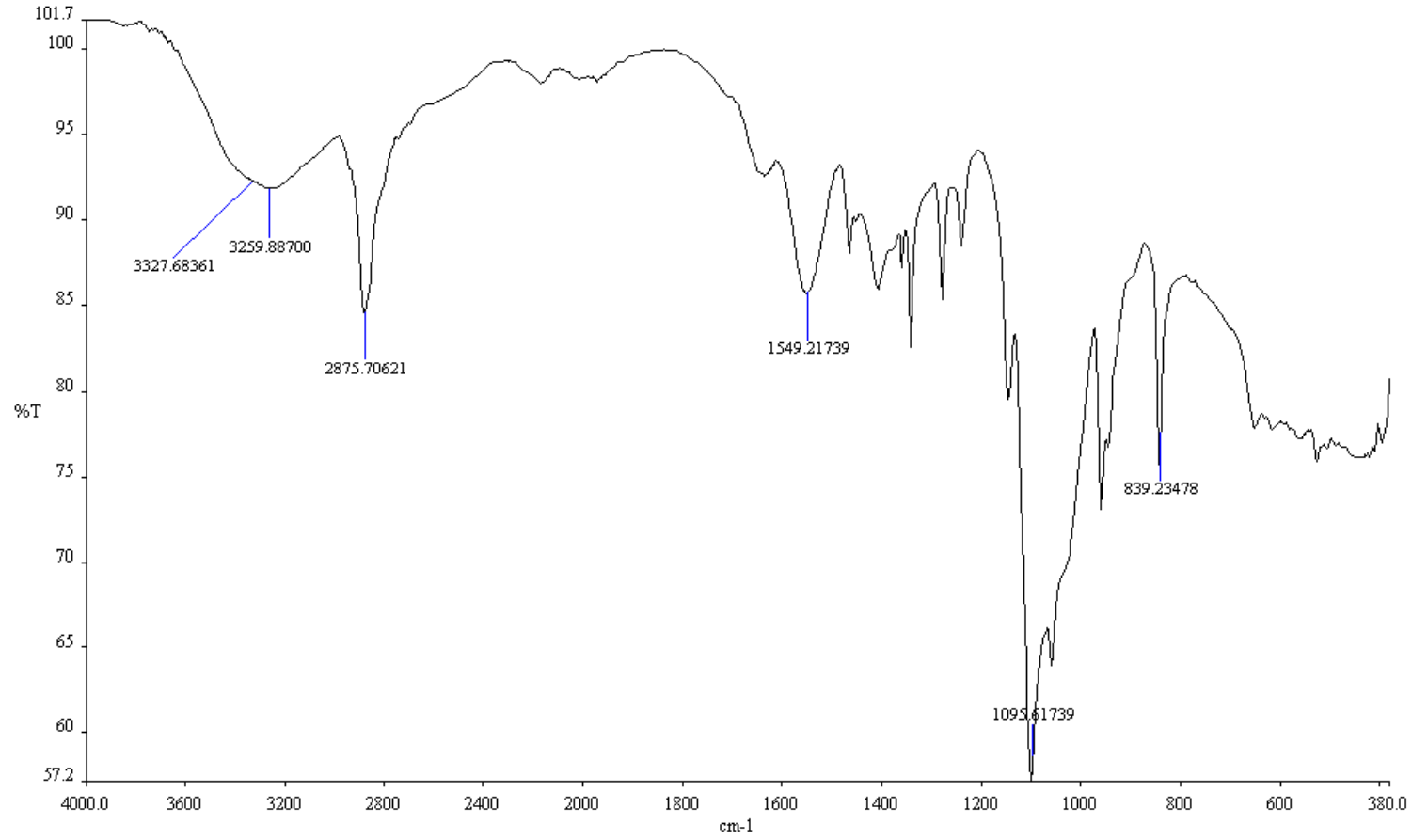


Şekil 3.4.1. Karışım çözeltilerden elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflere ait infrared grafikleridir.

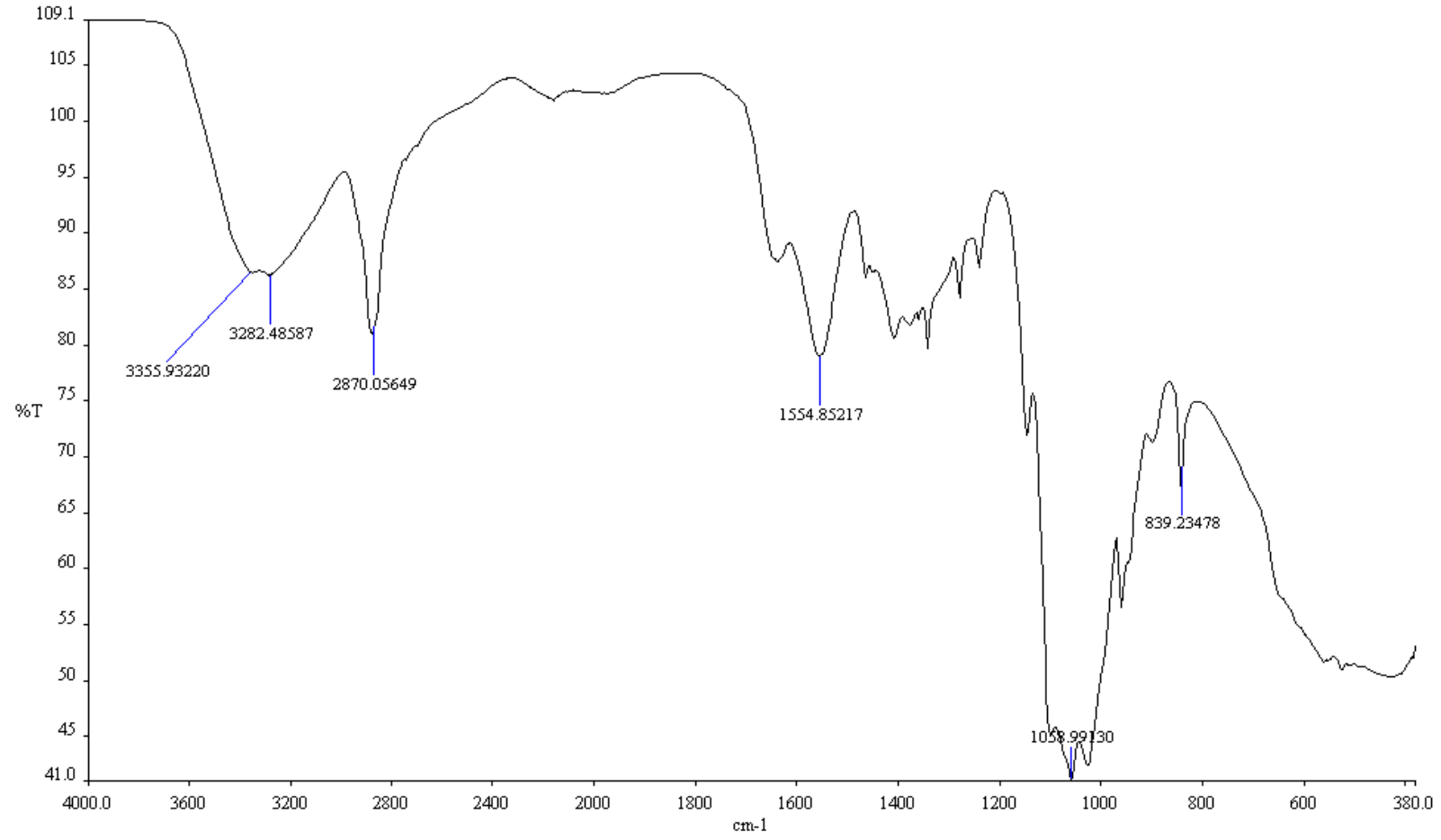
Kitosan'ın amin (NH_2), karbonil (C=O-NHR), ve hidroksil ($-\text{OH}$) grupları arasında hidrojen bağları gerçekleşmektedir. Ayrıca, PEO'nun eter grupları ile Kitosan'ın amin grupları arasında da hidrojen bağları meydana gelmektedir [177]. Karışımdaki Kitosan miktarı arttıkça $-\text{N-H}$ eğilimi, $-\text{N-H}$ gerilimi ve $-\text{O-H}$ gerilimine ait pikler belirgin hale gelmiş, bant şiddetleri artmıştır. Diğer yandan, karışımdaki PEO miktarı arttıkça eter gruplarına ait pikler belirginleşmiş ve bant şiddetleri artmıştır. Mesela; %70/30 CH/PEO karışımına ait IR spekturumuna ait amin (N-H) ve hidroksil (O-H) bantları daha belirgin ve şiddetleri fazla bulunmuştur. Eter gruplarına ait bant ise 1058 cm^{-1} civarında gözlenmiştir. Buna karşın %30/70 karışımına ait spekturumda $-\text{N-H}$ ve $-\text{O-H}$ bantlarının şiddeti azalmış ve belirgin pikler kaybolmuştur. Fakat eter gruplarına ait bant şiddeti 1095 cm^{-1} civarında belirgin bir şekilde ve şiddeti yüksek olarak gözlenmiştir.



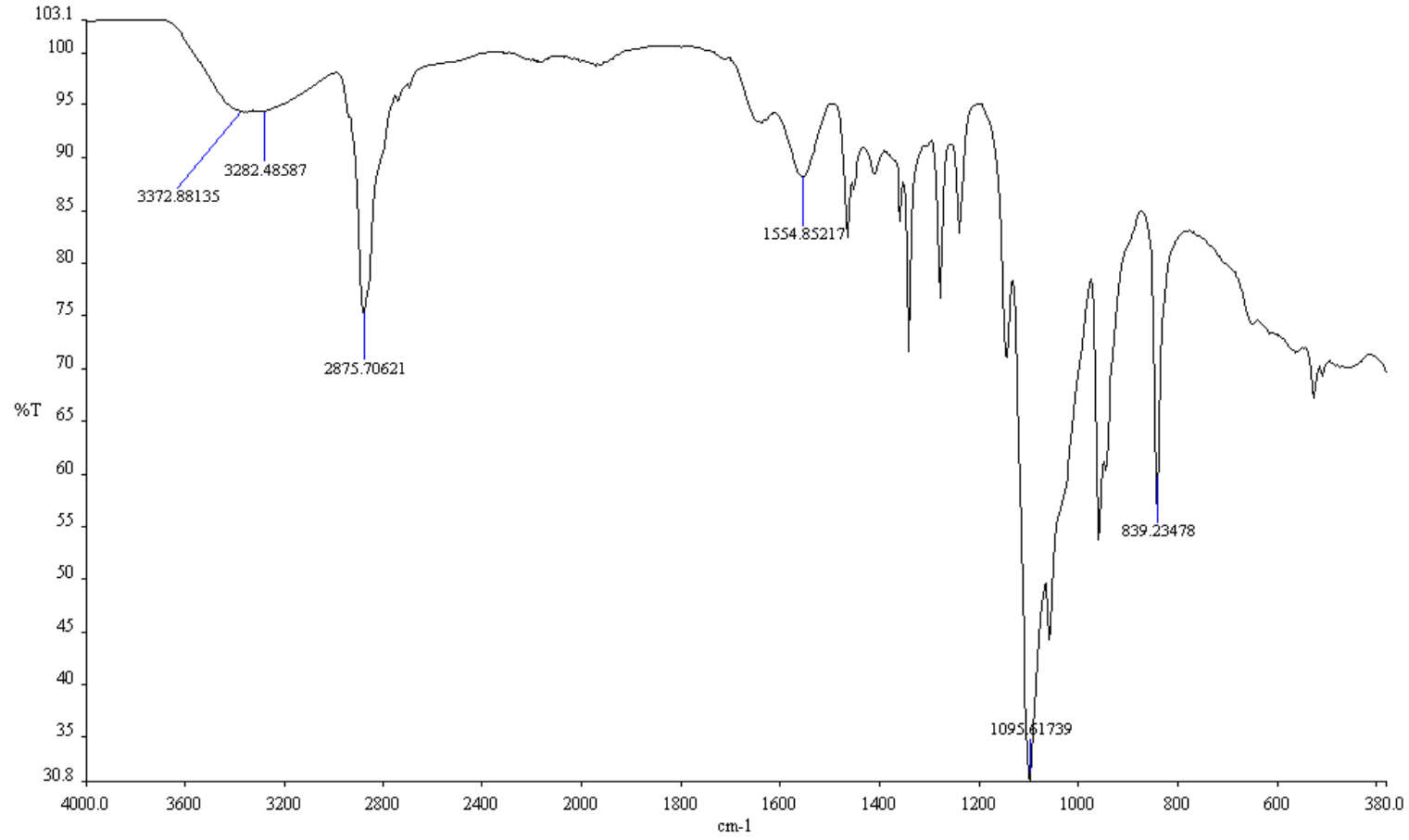
Şekil 3.4.2. %50/50 (Kitosan/PEO) karışım nanoliflere ait FT-IR grafiğidir.



Şekil 3.4.3. %50/50 (nano gümüş katkı) Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir.



Şekil 3.4.4. %70/30 Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir.



Şekil 3.4.5. %30/70 Kitosan/PEO karışımı nanoliflere ait FT-IR grafiğidir.

3.5. NANOLİF BAZLI KOMPOZİT YAPILARIN MEKANİK ÖZELLİKLERİ

Bir malzemenin mukavemeti, o malzemenin biçiminin tamamen bozuluncaya (deformasyon) kadar taşıyabileceği en çok yük miktarının kesit alanına oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Genel olarak mukavemet, polimer zincir uzunluğu ve polimer zincirleri arasındaki çapraz bağların sayısının artmasıyla yükselmektedir [191, 192].

Kitosan/PEO karışımı nanoliflerden oluşan kompozit yapılar Instron cihazında mukavemet ve uzama testlerine tabi tutulmuştur. Test sonuçları Tablo 3.5.2’de her bir numune için elde edilen değerler, Şekil 3.5.1 ve Şekil 3.5.2’de ise ortalama değerler olarak grafik halinde sunulmuştur. Numune kalınlıkları ise ‘R&B Cloth Thickness Tester’ cihazında ‘mm’ cinsinden ölçülmüştür (Tablo 3.5.1). Bu değerler mukavemet değerlerinin megapascal (MPa) olarak ifadelendirilmesinde kesit alanı (mm^2) hesaplanırken de kullanılmıştır.

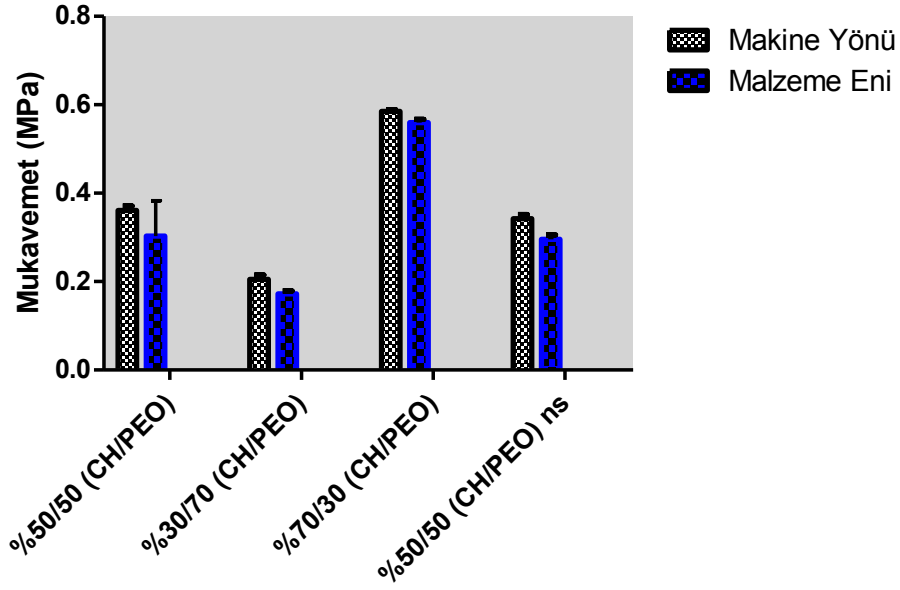
Tablo 3.5.1. Nanolif bazlı kompozit yüzeylerin kalınlık değerleri.

Ölçüm Adedi	Numune Kalınlıkları (mm)			
	%30/70 (CH/PEO)	%70/30 (CH/PEO)	%50/50 (CH/PEO)	%50/50 (CH/PEO) ns
1	1,5	1,1	1,4	1,4
2	1,6	1,2	1,2	1,4
3	1,6	1,3	1,3	1,5
4	1,3	1	1,5	1,3
5	1,7	1,2	1,6	1,3
6	1,5	1,3	1,4	1,5
7	1,4	1,2	1,5	1,4
8	1,5	1,2	1,3	1,4
9	1,4	1,2	1,4	1,4
10	1,5	1,3	1,4	1,4
Ortalama	1,5	1,2	1,4	1,4

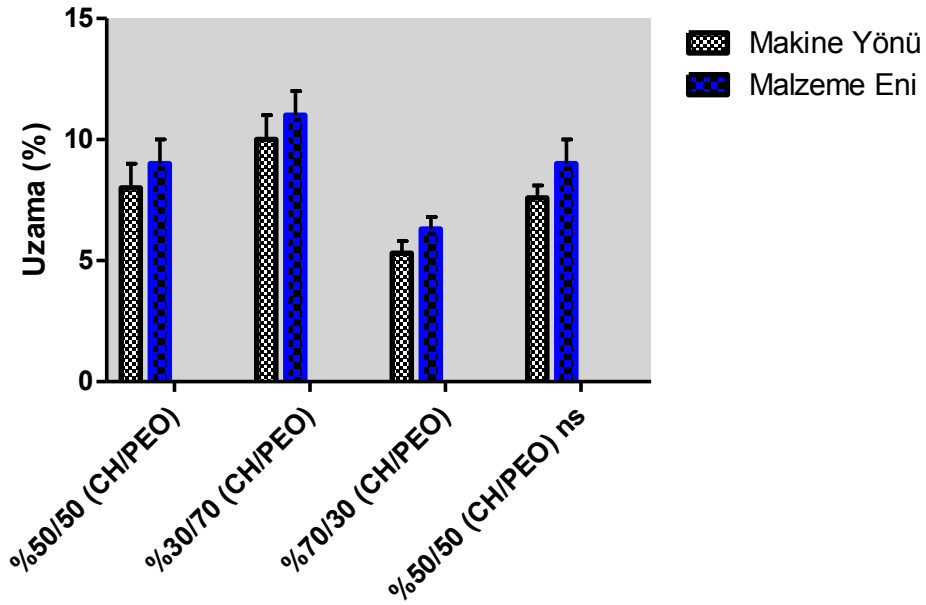
Kompozit yüzey kalınlıklarının %70 oranında kitosan içeren numunelerde en az, %30 oranında kitosan içeren numunelerde ise en fazla olduğu dikkati çekmiştir. Bu durum, karışımdaki kitosan miktarı arttıkça elektroçekim işlemi ile elde edilen liflerin incelmeleri ve bu liflerin bir araya gelmesi ile oluşan kompozit yüzeyin daha ince bir tabaka meydana getirmesi şeklinde açıklanmıştır.

Tablo 3.5.2. %50/50 (nanogümüş katkılı ve katkısız), %30/70, %70/30 (CH/PEO) oranında hazırlanan nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet ve % uzama değerleri.

Test Yönü	Maksimum Kuvvet (kg)	Standart Sapma (sd)	Maksimum Kuvvet (N)	Standart Sapma (sd)	Kesit Alanı (mm ²)	Mukavemet (MPa)	Standart Sapma (sd)	Uzama (%)	Standart Sapma (sd)
Makine Yönü %50/50 (CH/PEO)	0,515	0,02	5,052	0,2	14	0,361	0,01	8	1
Malzeme Eni %50/50 (CH/PEO)	0,432	0,01	4,237	0,1	14	0,303	0,08	9	1
Makine Yönü %30/70 (CH/PEO)	0,314	0,01	3,08	0,17	15	0,205	0,01	10	1
Malzeme Eni %30/70 (CH/PEO)	0,263	0,01	2,583	0,1	15	0,172	0,007	11	1
Makine Yönü %70/30 (CH/PEO)	0,716	0,05	7,027	0,5	12	0,585	0,004	5,3	0,5
Malzeme Eni %70/30 (CH/PEO)	0,686	0,008	6,729	0,08	12	0,560	0,007	6,3	0,5
Makine Yönü %50/50 (CH/PEO) ns	0,489	0,01	4,797	0,1	14	0,342	0,01	7,6	0,5
Malzeme Eni %50/50 (CH/PEO) ns	0,423	0,01	4,152	0,1	14	0,296	0,01	9	1



Şekil. 3.5.1. %50/50 (nanogümüş katkılı ve katkısız), %30/70, %70/30 (CH/PEO) oranında hazırlanan nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet değerleri.



Şekil. 3.5.2. %50/50 (nanogümüş katkılı ve katkısız), %30/70, %70/30 (CH/PEO) oranında hazırlanan nanolif bazlı kompozit yapıların makine ve malzeme eni yönündeki ortalama uzama (%) değerleridir.

Bilindiği üzere, Kitosan (CH), polimer zincirinde amino ve hidroksil gruplarını bulundurmaktadır. Bu gruplardan dolayı sert ve kırılğan özellikte doğal bir polimerdir [193]. Bununla birlikte, PEO'nun polimer zincirleri daha esnek bir yapıya sahiptir. Dolayısıyla, CH/PEO polimer karışımındaki PEO miktarı arttıkça nanolif bazlı kompozit yapının esnekliği artmaktadır [194]. Mukavemet testi sonucu elde edilen değerler göstermiştir ki; karışımındaki Kitosan oranı arttıkça kompozit yapının sağlamlığı artmakta ancak esnekliği azalmaktadır. PEO oranı arttıkça sağlamlık azalmakta fakat esneklik artmaktadır. Mesela; %30 CH oranında içeren nanolif bazlı kompozit yapının makine yönündeki ortalama mukavemet değeri 0,205 MPa, ortalama uzaması ise %9 olarak ölçülmüş iken, %70 oranında CH içeren nanolif bazlı kompozit yapının makine yönündeki ortalama mukavemet değeri 0,586 MPa, ortalama uzaması ise %5,3 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde, %30 oranında CH içeren nanolif bazlı kompozit yapının malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet değeri 0,172 MPa, ortalama uzaması ise %10 olarak ölçülmüş iken, %70 oranında CH içeren nanolif bazlı kompozit yapının malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet değeri 0,560 MPa, ortalama uzaması ise %6,3 olarak ölçülmüştür.

Mukavemet testleri, makine yönü ve malzeme eni göz önüne alınarak hazırlanan iki grup numune üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, makine yönüne göre hazırlanan nanolif bazlı kompozit numunelerin sağlamlıklarının, malzeme eni yönüne göre hazırlanan numunelere göre daha fazla olduğunu, esneklik değerlerinin ise malzeme eni yönünde daha yüksek bulunduğunu göstermiştir. Mesela; %50 oranında CH içeren nanolif bazlı kompozit yapının makine yönündeki ortalama mukavemet ve uzama değerleri sırasıyla 0,361 MPa ve %8 olarak ölçülmüş iken, yine aynı oranda hazırlanan kompozit yapının malzeme eni yönündeki ortalama mukavemet ve uzama değerleri sırasıyla 0,303 MPa ve %9 olarak ölçülmüştür. Bu durum şu şekilde açıklanmıştır; nanolifler belli bir hızla dönen toplayıcı silindirin dönüş yönüne paralel olacak şekilde toplanmaktadırlar. Dolayısıyla makine yönünde, daha yönlü ve birbirlerine paralel yatırılan nanolifler söz konusudur. Böylece, makine yönüne göre hazırlanan numunelerde daha yüksek mukavemet değerleri elde edilirken, esneklikle ilgili değerlerin azaldığı gözlenmiştir.

Nanogümüş içeren ve içermeyen nanolif bazlı kompozit yapıların makine yönü ve malzeme eninde ölçülen ortalama mukavemet ve uzama değerleri arasında kaydedeğer farklılıkların bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, kompozit yapılarda kullanılan gümüş miktarı ile açıklanmıştır. Nanolif bazlı kompozit yapılarda kullanılan gümüş miktarı, yapının genel mekanik özelliklerini etkilemeyecek kadar azdır.

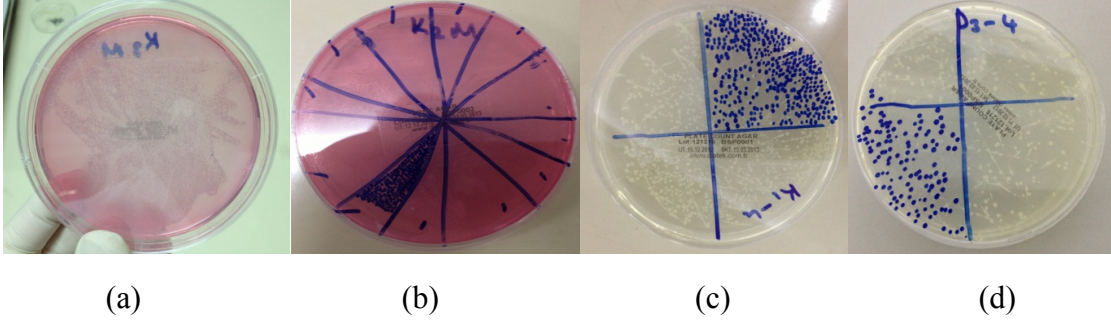
Deneylemiz esnasında tutarlı sonuçlar elde etmemize rağmen, daha önceki araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalarda, nanolifli yapıların mukavemet ve uzama ile ilgili testlerinde tutarlı sonuçların alınmasındaki zorluklardan bahsedilmiştir. Bu duruma neden olan etkenler, lif inceliklerindeki değişmeler, liflerin kompozit yapı içerisindeki düzensiz dağılımları, gözenek büyüklüklerindeki farklılıklar, liflerin birbirlerine yapışmaları, boncuk hataları ya da tam olarak lif formuna gelememiş hatalı yapıların varlığı ve miktarı, liflerde meydana gelen dallanmalar olarak belirtilmiştir [195]. Ayrıca, aynı polimerden elde edilmesine rağmen farklı çözücünün kullanıldığı durumlarda, nihai nanolif özelliklerinin değiştiği ve bu durumun da mukavemet ve esneklik testlerinde farklı sonuçların çıkmasına neden olduğu belirtilmiştir [196].

3.6. ANTİMİKROBİYAL TEST SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

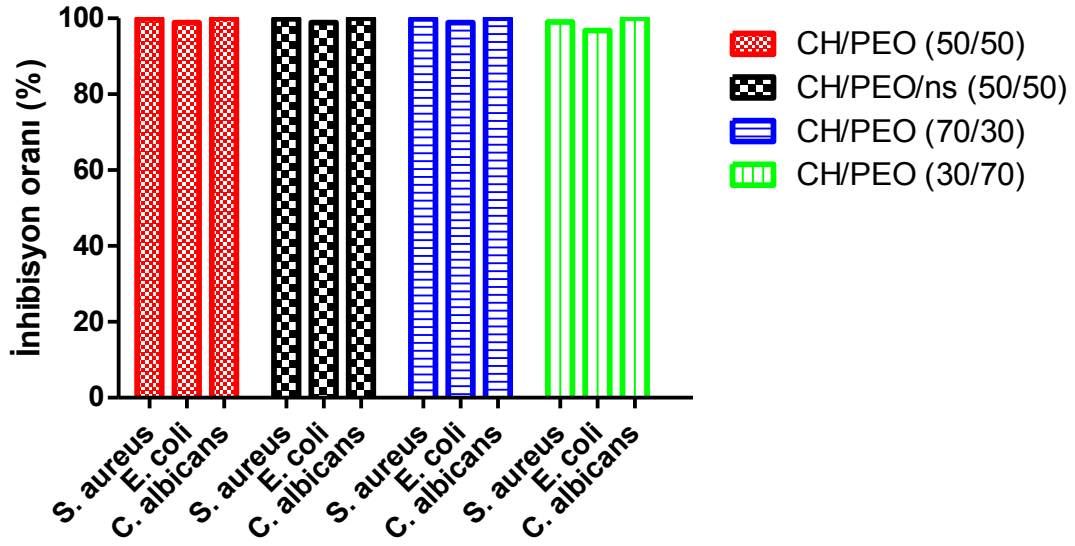
Yapılan testler, tüm numunelerin yüksek miktarda antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Tablo 3.6.1). 4 saatlik inkübasyon sonunda kontrol numunelerinde binlerce mikro-organizmanın ürediği gözlenmiştir (Şekil 3.6.1.). Buna karşın CH/PEO bazlı nanolif yapıların (nanogümüş katkılı ve katkısız) mikrobik gelişime önemli miktarda engel olduğu saptanmıştır.

Gram(+) [*Staphylococcus aureus*] ve Gram(-) [*Escheria coli*] bakterilerle yapılan denemelerde, %30 oranında kitosan içeren nanolif bazlı kompozit yapılar hariç, tüm numuneler %100 oranında inhibisyon (mikrobik gelişimin önlenmesi) sağlamıştır. Kitosan, C2 atomunda bulunan amin grupları (NH₂) sayesinde oldukça antimikrobiyal bir karaktere sahiptir. Kitosanın deasetilasyon derecesi (DD) yükseldikçe kimyasal yapısındaki amin gruplarının sayısı arttığından, antimikrobiyal tesir miktarı da fazlaşmaktadır. Benzer şekilde, kitosanın molekül ağırlığı arttığında ya da karışımdaki miktarı yükseldiğinde ortamdaki amin gruplarının sayısı artacağından antimikrobiyal etki derecesi de artmaktadır [146]. Dolayısıyla, elektroçekim yöntemi ile üretilen

nanolif bazlı kompozit yüzeylerdeki kitosan miktarı azaldıkça, antibakteriyel etkinlik seviyesinin düştüğü gözlenmiştir. Buna rağmen %50 ve üzerinde kitosan içeren yüzeylerle %100 oranında inhibisyon elde edilmiştir.



Şekil 3.6.1. İnkübasyon sonrası kontrol grubunda üreme gösteren *C.albicans* (a), kontrol grubunda üreyen, sayımı tamamlanmış *Calbicans* mantarı (b), inkübasyon sonrası kontrol grubunda üreme gösteren *E.coli* ve sayımları(c), %30/70 (CH/PEO) grubunda üreme gösteren bakteriler ve sayımları (d).



Şekil 3.6.2. Nanolif bazlı yara örtüsü yüzeylerin bakteri ve mantarlara karşı sergilemiş oldukları inhibisyon miktarı (%).

Tablo 3.6.1. Dört saatlik inkübasyon sonunda, nanolif bazlı kompozit yüzeylerde ve kontrol numunelerinde üreyen mikro-organizmaların sayıları.

S. Aerous	A1(+)	A2(+)	A3(+)	B1(+)	B2(+)	B3(+)	C1(+)	C2(+)	C3(+)	D1(+)	D2(+)	D3(+)	Kontrol
Üreyen Bakteri Adedi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	12	17	13728
İnhibisyon Oranı(%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99,9	99,9	99,8	0

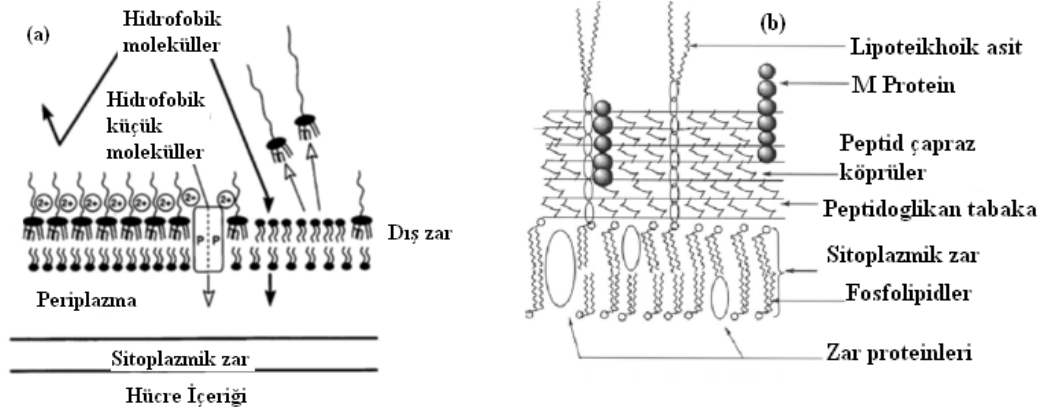
E.Coli	A1(-)	A2(-)	A3(-)	B1(-)	B2(-)	B3(-)	C1(-)	C2(-)	C3(-)	D1(-)	D2(-)	D3(-)	Kontrol
Üreyen Bakteri Adedi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	504	378	189	11492
İnhibisyon Oranı(%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	95,6	96,7	98,3	0

C.Albicans	A1(M)	A2(M)	A3(M)	B1(M)	B2(M)	B3(M)	C1(M)	C2(M)	C3(M)	D1(M)	D2(M)	D3(M)	Kontrol
Üreyen Bakteri Adedi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	52576
İnhibisyon Oranı(%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0

%30/70 (CH/PEO) karışıma sahip nanolif bazlı kompozit yüzeyler, *E.coli*'ye karşı ortalama %96,8 oranında inhibisyon sergilerken, *S.aureus*'a karşı sergilenen inhibisyon etkisi ortalama %98 oranında kaydedilmiştir (Şekil 3.6.2). Test sonuçları, Gram(-) bakterilerin Gram(+) bakterilere göre, %30 oranında kitosan içeren kompozit yapılara karşı daha dayanıklı olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, *Rhim ve arkadaşlarının* yapmış oldukları çalışmalar neticesinde ulaştıkları bulgular ile tutarlılık göstermiştir [197]. Bu durum, iki bakterinin hücre duvarı yapılarının farklılığı ile açıklanmıştır.

Şekil 3.6.3 (a)'da görüldüğü üzere, Gram-negatif bakterilerin hücre duvarının en dış kısmında lipopolisakkaritlerden oluşan bir zar mevcuttur. Bu duvar bakterinin dış yüzeyinin hidrofil bir karaktere bürünmesine sebep olur. Ayrıca, yapı içindeki lipid bileşenler ve hücre duvarının daha iç kısımlarında yer alan fosfat ve karboksil gibi anyonik özelliklere sahip moleküller, birtakım divalent katyonlarla aralarında oluşturdukları elektrostatik etkileşimlerle lipopolisakkarit tabakanın daha istikrarlı bir yapı sergilemesine neden olurlar [198]. Gram-negatif bakterilerin en dış kısmında yer alan zarın bir başka işlevi ise hidrofobik özellikteki makro moleküllere, bileşiklere, antibiyotiklere ve toksik ilaçlara karşı bariyer teşkil etmesidir [199].

Kitosanın çeşitli metal iyonları ile şelat etkileşimler meydana getirdiği bilinmektedir. Testlerimiz neticesinde Gram-negatif bakterilere karşı elde ettiğimiz yüksek antimikrobiyal etkinin, hücre dış zarında bulunan Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonları ile kitosan arasında gerçekleşen şelat etkileşimler sonucunda, hücre zar ve duvar yapısında istikrarlı yapının bozulması ve çeşitli büyüklüklerdeki deliklerin ve parçalanmaların meydana gelmiş olmasından kaynaklandığı tahmin edilmiştir [200 ,201].

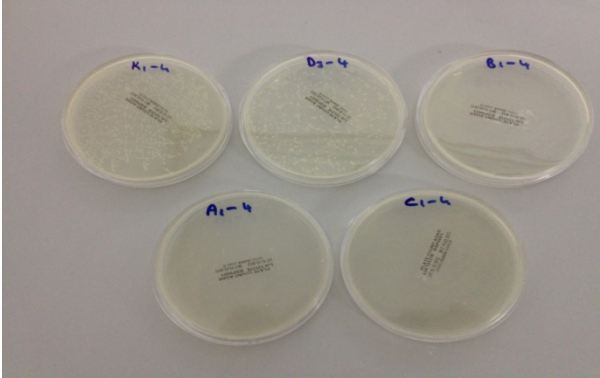


Şekil 3.6.3. (a) Gram negatif bakteri hücre duvarı yapısı, (b) Gram pozitif bakteri hücre duvarı yapısı

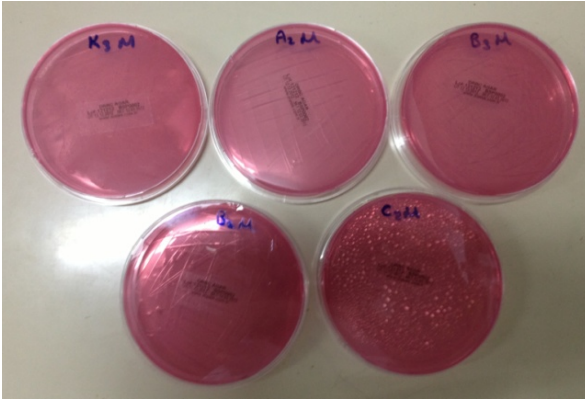
Gram-pozitif bakterilerin ise hücre duvarları peptidoglikan (PG) ve polianyonik bir polimer olan teikhoik asitden (TA) meydana gelmektedir (Şekil 3.6.3-b). TA, hücre zarına bağlı birtakım enzimlerin işlevselliğinden sorumlu olan ve hücrenin istikrarlı bir yapı sürdürmesini sağlayan temel bir maddedir [202]. Çalışmalarımızda Gram-pozitif bakterilere karşı elde edilen yüksek inhibisyon oranının, kitosanın amin gruplarının Gram-pozitif bakterilerdeki teikhoik asit yapıları ile moleküler etkileşimlere girmiş olmasından ve böylelikle hücre zarının yapısının bozulmasından kaynaklandığı tahmin edilmiştir. Böylelikle hücre zarında parçalanmalar meydana gelmiş ve hücre içeriği zar dışına akmıştır, akabinde hücre ölümü gerçekleşmiştir [202, 203].

Şekil 3.6.4 ve 3.6.5’de agar kaplar içinde kuluçkaya tabi tutulan E.coli bakterilerin ve C.albicans mantarların 4 saatlik kuluçka süresi tamamlandıktan sonraki üreme durumları gösterilmektedir. Buna göre, yalnızca %30 kitosan içeren grupta bir miktar E.coli üremiştir. Bununla birlikte, %30 kitosan içeren grup da dahil olmak üzere tüm numuneler C.albicans üremesini durdurmuştur. Çünkü kitosanın mantarlara karşı bakterilerden daha etkin olduğu yapılan birtakım çalışmalarla kanıtlanmıştır. Testler sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre, kitosanın pozitif yüklü gruplarının C.albicans’ın hücre zarındaki negatif yüklü gruplarla etkileşime girdiği tahmin edilmiştir. Böylelikle, hücre duvarı parçalanmış ve hücre içine nüfuz eden kitosanın

DNA, RNA ve birtakım protein yapıları saldırarak hücre ölümüne neden olduğu sonucuna ulaşılmıştır [204].



Şekil 3.6.4. 4 saatlik inkübasyon sonunda E.coli bakterilerinin üreme durumları.



Şekil 3.6.5. 4 saatlik inkübasyon sonunda C.albicans mantarlarının üreme durumları.

Çalışmalarımızda gümüş nanoparçacıklar içeren %50/50 (CH/PEO) karışım oranına sahip olan nanolif bazlı kompozit yüzeylerin tüm mikro-organizmalara karşı %100 inhibisyon sağladığı gözlenmiştir. Gümüş nanoparçacıkların mikro-organizmaların hücre duvarlarında bulunan sülfür içerikli proteinlerle çeşitli etkileşimlere girdikleri ve hücre duvarını parçaladıkları tahmin edilmiştir. Ayrıca, gümüş nanoparçacıkların DNA zincirlerine saldırarak hücre içi hayati fonksiyonların sonlandırılmasına neden oldukları sonucuna ulaşılmıştır [134].

Gümüş nanoparçacık takviyesiyle kitosanın antimikrobiyal etkisi güçlendirilmiş olduğu sonucuna varılmakla birlikte bu durumu net olarak kanıtlayan bir sonuç elde edilememiştir. Çünkü %50 kitosan içeren nanogümüş katkısız kompozit yüzeyler de yüksek miktarda inhibisyon sağlamıştır. Bununla birlikte gümüş iyonu ve nanoparçacıkların kuvvetli antimikrobiyal etkilerinin oldukları bilinmektedir. Özellikle gümüş nanoparçacıkların geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle mikro-

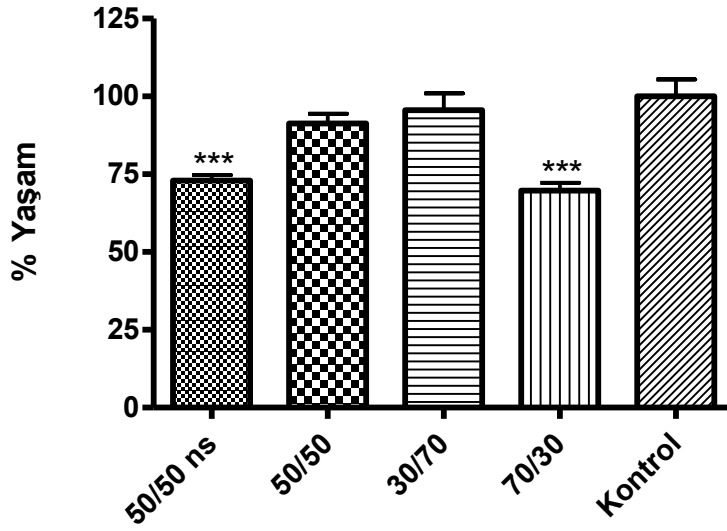
organizmalar üzerinde yüksek tahribata yol açtıkları yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [134].

Sonuç olarak elektroçekim yöntemiyle %30/70, %70/30 ve %50/50 (nano gümüş katkı ve katkısız) karışım oranlarında elde edilen CH/PEO bazlı nanoliflerin yüksek seviyede antibakteriyel ve antifugal etki gösterdikleri anlaşılmıştır. Bu durum, ideal yara örtüsünün taşınması gereken önemli özelliklerden biri olan ‘antimikrobiyal etkinin sağlanması’ anlamında tatmin edicidir.

3.7. SİTOTOKSİSİTE TESTİ (MTT ASSAY) SONUÇLARI

L-929 (ATCC, CCL-1 fare fibroblast hücre hattı) ile gerçekleştirilen çalışmada mavi mor renkteki formazan tuzlarının miktarının tespit edilebilmesi için 550-690 nm aralığında spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Bu değerlerden yola çıkılarak canlı hücre sayısı ve yüzde (%) olarak yaşam oranı hesaplanmıştır (Şekil 3.7.1).

En yüksek yaşam oranı değeri (ortalama %95,48), %30/70 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yüzeyle yapılan testte tespit edilmiştir. %50/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yüzeyler ise en iyi sonucu veren ikinci numune olmuştur (ortalama %91,21). %70 oranında Kitosan içeren (ortalama %72,86) ve nanogümüş katkı olan (ortalama %69,85) nanolif bazlı yüzeylerden alınan ‘yaşam oranı (%)’ sonuçları ise daha düşük düzeyde bulunmuştur. Grafikte görüldüğü üzere, nanolif bazlı yara örtüsü yüzeylerin hiçbirinde yaşam oranı değerleri %50’nin altına düşmemiştir. Dolayısıyla, elektroçekim işlemi ile elde edilen yüzeylerin hiçbiri sitotoksik özellik sergilememiştir.



Şekil 3.7.1. Yaşam oranı grafiği.

Daha önce yapılan çalışmalar, katyonik özellikteki polimerlerin sergilemiş oldukları sitotoksik özelliklerin yüzeydeki yük yoğunluğundan kaynaklandığını ortaya koymuştur. Primer amino grupların sayısı ve üç boyutlu kimyasal yapıları da malzemenin sitotoksik karakterini etkileyen unsurlar olarak belirtilmiştir. Katyonik özellikte bir polimer olan Kitosanın da yapısında bulunan yüklü gruplar nedeniyle sağlıklı hücrelerin duvarlarına yapışarak bazı fonksiyon bozukluklarına ve hücre ölümlerine yol açabileceği kaydedilmiştir [205]. Yapmış olduğumuz sitotoksosite testlerinde, Kitosan miktarı yüksek olan nanolif bazlı yüzeylerde daha düşük yaşam oranının elde edilmiş olmasının bu gerekçe ile açıklanabileceği öngörülmüştür. *Ong ve arkadaşlarının* yapmış oldukları çalışmada ise, kitosanı çözerken kullanılan asetik asidin nihai materyal üzerinden tam olarak uzaklaştırılmaması ihtimalinin de sitotoksosite deneylerinde yaşam oranı değerlerinin düşmesine neden olabileceği belirtilmiştir [206].

Gümüş nano parçacıkların sitotoksik mekanizması ile ilgili net bir açıklama olmamasına rağmen bazı tahminler daha önceki çalışmalarda dile getirilmiştir. Bu tahminlerden biri memeli hücrelerinde bulunan ve *thiol* grupları içeren bazı protein ve enzimlerin nanogümüşten olumsuz bir şekilde etkilenebileceği teorisi üzerinde durmaktadır. Bu durumun, hücre duvarı ve mitokondriyel birtakım faaliyetlere zarar vererek hücre ölümüne yol açabileceği belirtilmiştir [207]. Nanogümüş katkılı %50/50 Kitosan/PEO

içeren nanolif bazlı yüzeyle yapılan testlerde daha düşük yaşam oranı elde edilmiş olmasının bu gerekçe ile açıklanabileceği öngörülmüştür.

3.8. YARA İYİLEŞME TESTİ (HAYVAN DENEYİ) SONUÇLARI

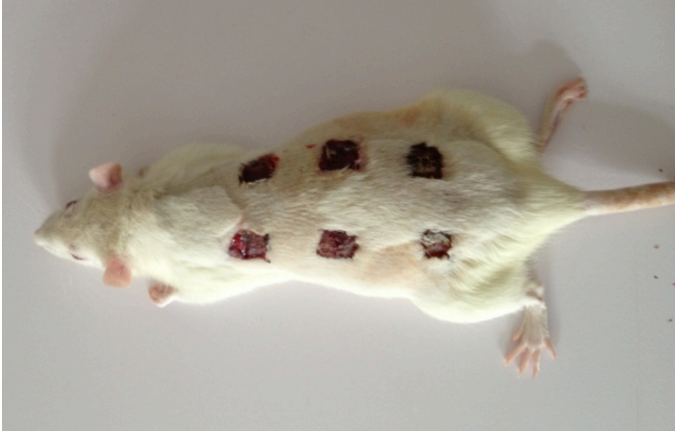
SD sıçanlar üzerinde açılan tam kalınlıktaki yaralar 20 gün boyunca gözlenmiş ve yara örtüsü olarak kullanılan numunelerin yara iyileşmesine olan etkileri araştırılmıştır. Hayvanlar üzerinde açılan yaraların pozisyonları ve 0., 5., 10., 15., ve 20. günlerdeki durumları ile ilgili görseller sırasıyla Şekil 3.8.1-6'da gösterilmektedir.



Şekil 3.8.1. SD sıçanın sırt bölgesindeki yara pozisyonları (cerrahi müdahaleden hemen önce).



Şekil 3.8.2. SD sıçanın sırt bölgesine yerleştirilen yara örtüleri (0. gün-cerrahi müdahaleden hemen sonra).



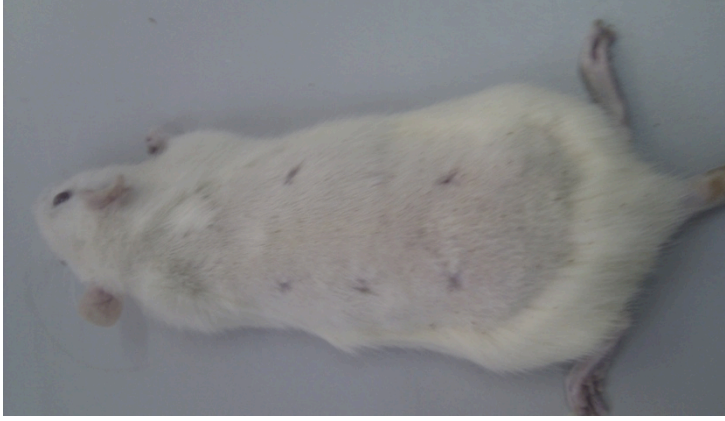
Şekil 3.8.3. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 5. gün sonundaki durumları.



Şekil 3.8.4. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 10. gün sonundaki durumları.



Şekil 3.8.5. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 15. gün sonundaki durumları.



Şekil 3.8.6. SD sıçanın sırt bölgesindeki yaraların 20. gün sonundaki durumları.

SD sıçanlar üzerinde açılan 6 adet yaranın 5, 10, 15 ve 20. gün sonundaki kapanma miktarlarını belirleyebilmek için, yaraların en ve boyları milimetrik kaliper yardımıyla ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları (cm) aşağıdaki tabloda sunulmaktadır.

Tablo 3.8.1. 5, 10, 15 ve 20. günlerde ölçülen yaraların en ve boy uzunlukları (cm).

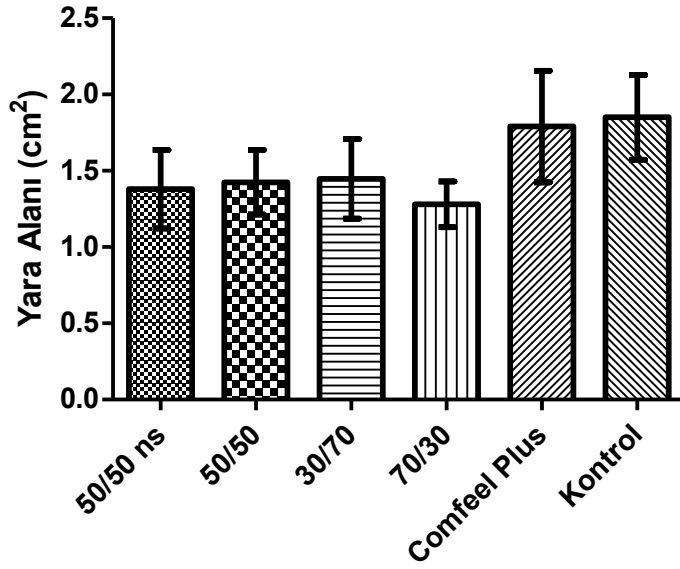
	50/50 ns	50/50	30/70	70/30	Comfeel®Plus	Kontrol
5. GÜN	1,4x1,1	1,2x1,4	1,3x1,5	1,3x1,1	1,5x1,5	1,3x1,3
	1x1	1,2x1,1	1x1,4	1,1x1,3	1,2x1,3	1,3x1,1
	1,2x1,3	1,3x1,3	1,1x1,3	1,1x1,2	1,3x1,5	1,5x1,5
	1,2x1,3	1,4x0,9	1,2x1	1,1x1	1,4x1,4	1,3x1,5
	1,4x1,2	1x1,2	1x1,3	1x1,1	1x1,2	1,4x1,4
	1x1,3	1,4x1	1,4x1	1,3x1	1,3x1,4	1,4x1,3
10. GÜN	0,4x0,5	0,6x0,6	0,6x0,6	0,6x0,4	0,7x0,5	0,8x1,1
	0,4x0,5	0,7x0,4	0,7x0,7	0,5x0,5	0,6x0,6	0,5x0,8
	0,3x0,25	0,3x0,5	0,4x0,6	0,3x0,3	0,3x0,5	0,8x0,6
	0,4x0,4	0,5x0,3	0,7x0,7	0,3x0,4	0,4x0,6	0,7x0,8
	0,3x0,5	0,6x0,6	0,6x0,4	0,3x0,3	0,4x0,5	0,9x0,6
	0,4x0,4	0,4x0,7	0,6x0,6	0,5x0,4	0,6x0,6	0,5x0,8
15. GÜN	0,5x0,4	0,5x0,4	0,5x0,4	0,2x0,4	0,3x0,6	0,4x0,6
	0,3x0,4	0,5x0,4	0,5x0,4	0,3x0,2	0,4x0,4	0,5x0,5
	0,3x0,5	0,3x0,2	0,3x0,4	0,3x0,3	0,6x0,4	0,4x0,6
	0,3x0,4	0,3x0,4	0,4x0,4	0,2x0,2	0,3x0,3	0,5x0,5

	0,4x0,3	0,3x0,5	0,5x0,3	0,3x0,3	0,4x0,4	0,6x0,4
	0,3x0,3	0,4x0,3	0,4x0,4	0,2x0,3	0,3x0,5	0,4x0,6
20. GÜN	0,3x0,1	0,2x0,3	0,3x0,3	0,3x0,3	0,4x0,2	0,5x0,2
	0,3x0,2	0,15x0,4	0,2x0,4	0,1x0,3	0,2x0,5	0,3x0,2
	0,1x0,1	0,2x0,2	0,2x0,4	0,2x0,15	0,2x0,2	0,5x0,2
	0,2x0,3	0,4x0,15	0,4x0,2	0,3x0,1	0,4x0,2	0,2x0,3
	0,1x0,3	0,2x0,2	0,3x0,3	0,15x0,2	0,2x0,2	0,2x0,5
	0,1x0,1	0,3x0,2	0,3x0,3	0,3x0,3	0,5x0,2	0,5x0,2

Tablo 3.8.1'deki veriler dikkatlice incelendiğinde, nanolif bazlı yara örtüleri ve Comfeel® Plus ile örtülen yaraların, üzerine hiçbir örtü örtülmeyen yaraya (kontrol) göre daha hızlı kapandığı görülmektedir.

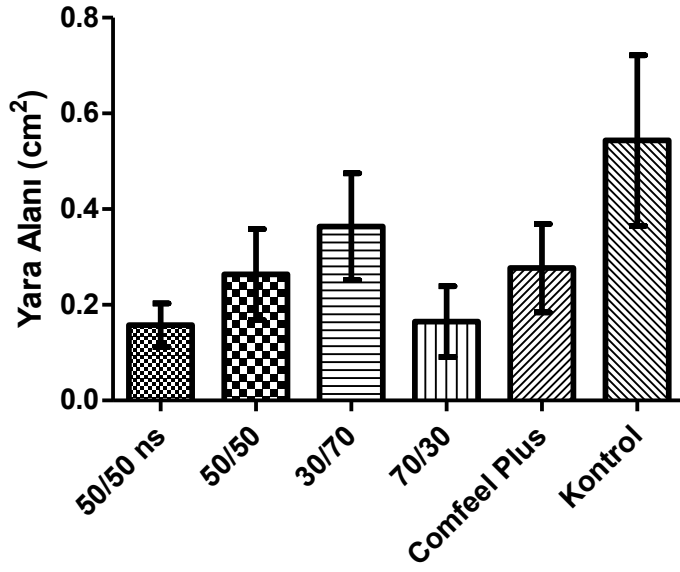
Şekil 3.8.7, 5. gün sonunda ölçülen yaraların alanları ile ilgili bilgiler vermektedir. Görüldüğü üzere, en fazla yara kapanması %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü ile örtülen yarada meydana gelmiştir. 6 denekten alınan ölçümler sonucunda yara alanının ortalama 1,28 cm² civarında olduğu tespit edilmiştir.

Comfeel® Plus ile örtülen yaradaki kapanmanın ise en az olduğu görülmektedir. 6 denekten alınan ölçümler sonucunda yara alanının ortalama 1,79 cm² civarında olduğu saptanmıştır. %50/50 Kitosan/PEO (nanogümüş içeren ve içermeyen) ve %30/70 Kitosan/PEO oranlarında üretilen nanolif bazlı yara örtüleri ile kapatılan yaraların alanlarının ise 5. gün sonunda birbirleri ile hemen hemen aynı boyutta oldukları görülmüştür.



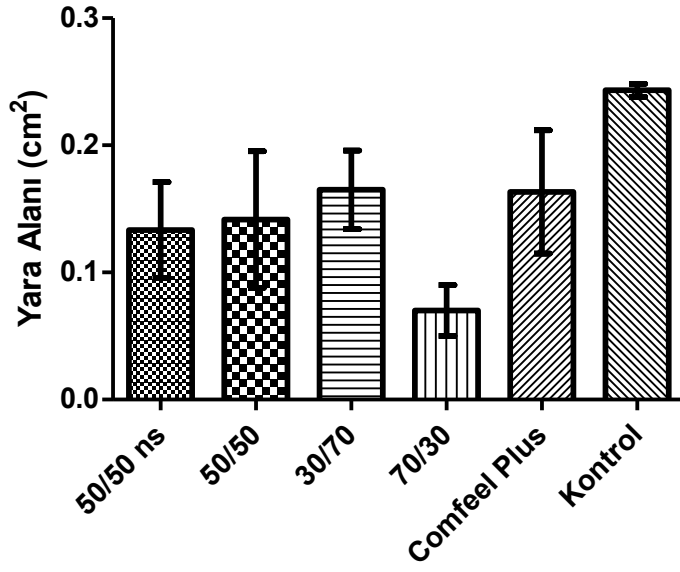
Şekil 3.8.7. 5. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm²).

Şekil 3.8.8, 10. gün sonunda ölçülen yaraların alanları ile ilgili bilgiler sunmaktadır. Grafikte, tüm yara örtülerinin, kontrol amaçlı açılan yara ile kıyaslandığında, yara kapanmasına önemli miktarda katkı sağladığı görülmüştür. Yara kapanmasına önemli ölçüde etki yapan numunelerin, %50/50 (nanogümüş katkılı) ve %70/30 oranlarında Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı örtüler olduğu belirlenmiştir. Bu örtüler ile kapatılan yaraların alanlarınının 10. gün sonunda sırasıyla ortalama 0,158 cm² ve 0,165cm²'ye düştüğü görülmüştür. En kötü performansı ise %30 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü göstermiştir. Comfeel® Plus ve %50/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yara örtüsünün yara kapatma etkilerinin ise birbirleri ile benzer olduğu tespit edilmiştir.



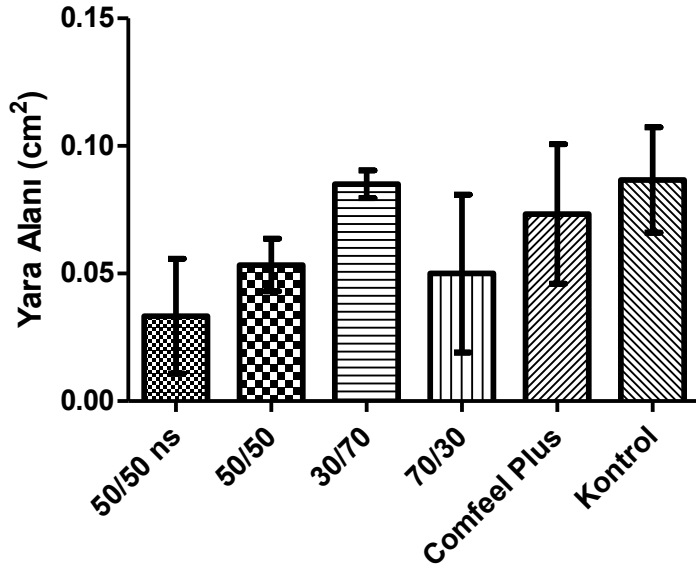
Şekil 3.8.8. 10. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm²).

Şekil 3.8.9, 15. gün sonunda ölçülen yaraların alanları ile ilgili bilgiler sunmaktadır. %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü ile kapatılan yaranın diğer yaralar ile kıyaslandığında kayda değer bir şekilde daha fazla küçüldüğü (ortalama 0,07 cm²) tespit edilmiştir. En az etkiyi %30 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü göstermiştir. %50/50 oranında Kitosan/PEO içeren nanogümüş katkılı ve katkısız nanolif bazlı yara örtüleri birbirlerine yakın performans sergilemiş ve 15. gün sonunda yara kapanmasına Comfeel®Plus örtüden daha fazla katkı sağlamışlardır.



Şekil 3.8.9. 15. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm²).

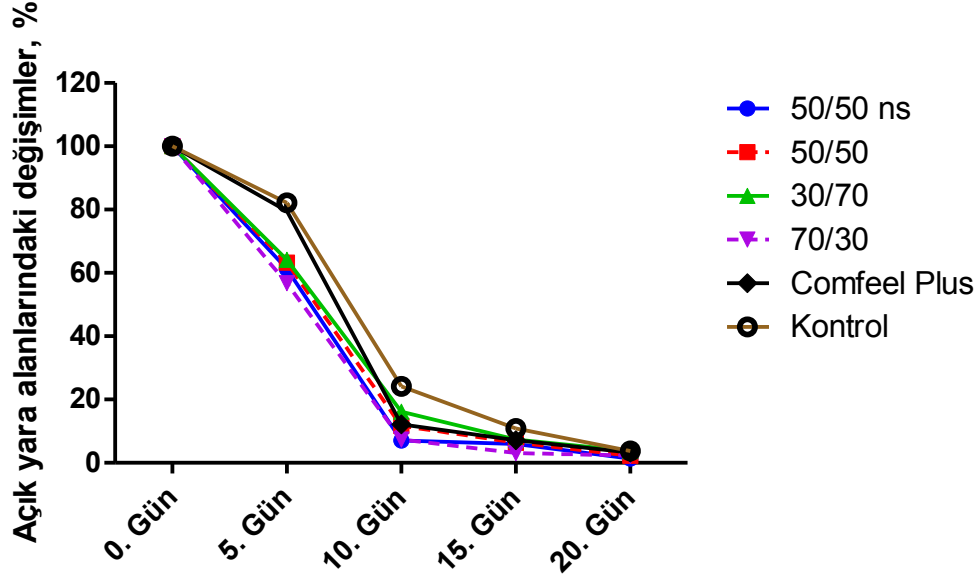
Tablo 3.8.10, 20. gün sonunda ölçülen yaraların alanları ile ilgili bilgiler sunmaktadır. Grafikte görüldüğü üzere, yine yara kapanmasına en az etkiyi %30 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü göstermiştir. En iyi etkiyi ise nanogümüş katkılı %50 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü göstermiştir. %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsünün ise %50 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsüne oranla biraz daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Comfeel® Plus örtü ise performans olarak %30 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsünden daha etkin, ancak diğerlerinden daha az etkili olmuştur.



Şekil 3.8.10. 20. gün sonunda ölçülen yaraların alanları (cm²).

Şekil 3.8.11, 0., 5., 10., 15. ve 20. günler sonunda ölçülen yaraların alanlarındaki yüzdesel değişimler ile ilgili bilgiler sunmaktadır. Kontrol gruplarında ve Comfeel® Plus uygulanan gruplarda yer alan yaralar hariç, tüm yaraların alanlarında 0. ve 5. gün aralığında dramatik bir düşüş gözlenmiştir. 5. günde kontrol grubunda ortalama %17,8, Comfeel® Plus uygulanan grupta ortalama %20,5, %30/70 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü ile örtülen yaralarda ortalama %35,8, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkısız) ile örtülen yaralarda ortalama %36,7, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %38,7, %70/30 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %43,2 oranında yara kapanması gözlenmiştir.

5. ve 10. gün aralığında ise tüm yara gruplarında hızlı bir kapanma durumu söz konusu olmuştur. 10. günün sonunda kontrol grubunda yer alan yaralarda toplamda ortalama %75,9, Comfeel® Plus uygulanan grupta ortalama %87,8, %30/70 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü ile örtülen yaralarda ortalama %83,9, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkısız) ile örtülen yaralarda ortalama %88,3, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %93, %70/30 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %92,7 oranında yara kapanması gözlenmiştir.



Şekil 3.8.11. 0., 5., 10., 15. ve 20. günler sonunda açık yara alanlarında gözlenen ortalama değişimler (%).

10. ve 15. gün aralığında ise tüm gruplarda yara kapanma miktarının daha stabil bir seyir izlediği tespit edilmiştir. 15. günün sonunda, kontrol grubunda yer alan yaralarda toplamda ortalama %89,2, Comfeel®Plus uygulanan grupta ortalama %92,8, %30/70 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü ile örtülen yaralarda ortalama %92,7, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkısız) ile örtülen yaralarda ortalama %93,7, %50/50 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %94,1, %70/30 CH/PEO içeren nanolif bazlı örtü (nanogümüş katkılı) ile örtülen yaralarda ortalama %96,9 oranında yara kapanması gözlenmiştir.

20. günün sonunda ise tüm gruplardaki yaraların büyük oranda kapandığı saptanmıştır. Nanogümüş katkılı nanolif bazlı örtü ile örtülen yaraların (ortalama %98,6) ve %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı örtüler ile kapatılan yaraların (ortalama %97,8), diğer gruplarda yer alan yaralara göre daha fazla kapandığı gözlenmiştir.

Kullanılan Comfeel®Plus örtü, yara iyileşme süreçlerinin gözlemlendiği deneylerde %50/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yara örtüleri ile benzer performans göstermiş,

%30/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yara örtülerinden ise daha iyi sonuçlar ortaya koymuştur. En iyi sonuçlar, nanogümüş katkılı %50/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yara örtülerinden ve %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtülerinden alınmıştır.

Gümüş iyonunun yüksek seviyede anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu ve yara iyileşmesine önemli katkılar sağlayarak iyileşmeyi hızlandırdığı daha önce yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Nano boyuttaki gümüşün ise yüksek yüzey alanı dolayısıyla etkinliğinin daha da arttığı bilinmektedir [208]. Deneylerimiz esnasında aldığımız sonuçlar, literatürde ifade edilen çalışma sonuçları ile tutarlılık göstermektedir.

Kitosanın, yaralı dokulardaki granülasyon sürecinde inflammatuar hücrelerin aktivasyonunda ve çoğalmasında önemli roller üstlendiği ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir [209]. Dolayısıyla, yapmış olduğumuz deneylerde Kitosan miktarının fazla olduğu örtülerden alınan iyi sonuçların, kitosanın bahsi geçen özelliği ile gerekçelendirilebileceği öngörülmüştür.

Nanoliflerin yüzey alanlarının geniş olması, gözenek büyüklüklerinin az, gözeneklilik miktarınınsa çok olması, nanoliflerden meydana gelen ağ yapıların hücre dışı matris yapıya çok benzemesi gibi unsurlar, hem etkin doku rejenerasyonuna hem de hızlı bir yara iyileşmesine fırsat vermektedir. Nanolifler inceldikçe bahsi geçen doku yenilenmesi ve yara iyileşme süreçlerinin azaldığı kaydedilmiştir [210]. Yapmış olduğumuz çalışmalarda, elektroçekim esnasında kitosan miktarı arttıkça nanoliflerin incelendiği görülmüştür. Yara iyileşme testlerinde kullanılan nanolif bazlı yara örtülerinde kitosan miktarı yüksek olan ve daha ince liflerden meydana gelen örtüler ile daha iyi sonuçlar alınmıştır.

Yaptığımız çalışmada, yara örtülerinin yara kapanması ve iyileşmesi üzerine etkileri yalnızca makroskobik olarak incelenmiştir. Yara iyileşme evrelerinin daha iyi gözlemlenebilmesi ve doku onarımı esnasında yaşanan mikroskobik değişimlerin daha iyi yorumlanabilmesi için histoloji testlerinin yapılmasına da ihtiyaç vardır.

Deneyler esnasında, yaralarda herhangi bir iltihaplanma, enfeksiyon veya alerjik bir durumla karşılaşılmamıştır. Hayvanların vücut sıcaklıklarında kayda değer bir değişim gözlenmemiştir.

BÖLÜM 4

SONUÇ

Çalışmamızda, Kitosan/PEO bazlı (nanogümüş katkılı ve katkısız) nanoliflerden oluşan kompozit yapıların fiziksel, termal, mekanik ve biyolojik özellikleri bakımından yara örtüsü uygulamaları için uygunluğu araştırılmıştır. Nanolif eldesi için elektroçekim yönteminden faydalanılmıştır. Elektroçekim işlemi sonucu düzgün ve pürüzsüz lifler elde edilmiştir. En ince lifler Kitosan miktarının en fazla olduğu karışımlardan elde edilmiştir. En kalın lifler ise PEO miktarının en fazla olduğu karışımlardan elde edilmiştir. Nanogümüş içeren çözeltilerden elde edilen nanoliflerin, içermeyenlere oranla az da olsa daha ince olduğu gözlenmiştir.

Elektroçekim için hazırlanan çözeltilerde iletkenlik değerlerinin çözeltideki kitosan miktarı arttıkça en yüksek değere ulaştığı gözlenmiştir. Çözelti viskozitesinin ise karışımdaki PEO miktarının yükselmesi ile arttığı saptanmıştır. Bütün karışım çözeltilerinde pH değeri 4,5-5,5 aralığında ölçülmüştür.

FT-IR analizleri, Kitosan'ın amin (-NH₂) ve hidroksil (-OH) grupları ile PEO'nun eter grupları (C-O-C) arasında hidrojen bağlarının oluştuğuna dair önemli veriler sunmuştur. Bu bağ yapıları sayesinde elektroçekim işlemi sorunsuz bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Nanoliflerdeki Kitosan miktarı arttıkça, kompozit yapının, hem makine yönü hem de malzeme eni baz alınarak hazırlanan numune gruplarında, sağlamlığının arttığı fakat esnekliğinin azaldığı gözlenmiştir. PEO miktarı arttıkça ise esneklik artmış, mukavemet azalmıştır. Nanoliflere eklenen nanogümüşün ise kompozit yapının mukavemet değerlerine kaydadeğer ölçüde olumlu ya da olumsuz bir etkisi olmamıştır. Makine yönünde hazırlanan nanolif bazlı kompozit numunelerin, malzeme eni yönünde hazırlananlara göre daha mukavemetli oldukları ancak daha az esneklik sergiledikleri tespit edilmiştir.

İçinde %30 Kitosan bulunan numune hariç, diğer tüm nanolif bazlı yüzeyler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı yüksek seviyede antibakteriyel etki göstermiştir. Mantarlara karşı ise tüm nanolif bazlı yüzeyler %100 antimikrobiyal

etkinlik sergilemiştir. Elde edilen numunelerin hiçbirinin sitotoksik özellik taşımadığı belirlenmiştir.

Sprague-Dawley (SD) cinsi sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen yara iyileşme testlerinde en başarılı sonuçlar, %70/30 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yüzey ile nanogümüş katkılı %50/50 Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yüzeyden elde edilmiştir. 20. günün sonunda, nanogümüş katkılı nanolif bazlı örtü ile örtülen yaraların ortalama %98,6, %70 oranında Kitosan içeren nanolif bazlı örtüler ile kapatılan yaraların ortalama %97,8 oranında kapandığı gözlenmiştir.

Yara kapanması ve iyileşmeye olan etki açısından en düşük performansı %30 Kitosan içeren nanolif bazlı yara örtüsü yüzey sergilemiştir. Yapmış olduğumuz deneylerde, nanogümüş katkısız %50/50 oranında Kitosan/PEO içeren nanolif bazlı yara örtüsü ile ticari yara örtüsü olan Comfeel®Plus'ın yara kapanması ve iyileşmesi açısından sağladıkları katkı seviyesi birbirine benzer çıkmıştır.

Çalışmalarımızda elde ettiğimiz Kitosan/PEO (nanogümüş katkılı ve katkısız) içeren nanolif bazlı kompozit yapıların fiziksel, mekanik, termal ve biyolojik özellikleri bakımından yara örtüsü uygulamalarında belli bir potansiyele sahip materyaller oldukları söylenebilir.

Daha ideal ve yara iyileşmesinde daha etkin rol alabilecek yara örtüsü yüzeyler geliştirmek amacıyla;

- çözelti ve proses parametreleri üzerinde farklı metodolojik yaklaşımlar ile yeni çalışmalar gerçekleştirilebilir,
- Kitosan ve PEO birtakım kimyasal ajanlar (gluteraldehid vb.) ile çapraz bağlanarak hidrofob hale getirilebilir,
- sisteme yara iyileşmesine etkin katkı sağlayacak üçüncü bir doğal polimer ya da kimyasal ajan eklenebilir,
- yara örtüsünün yüzeyini oluşturan nanolifler, elektroçekim işlemi esnasında toplayıcı üzerine sarılan nefes alabilir bir film tabakası üzerine toplanabilir,

- ‘Co-axial spinning’ tekniği ile i içe geçmiş iki besleme ünitesi ile ‘core-shell’ nanolif formları ya da içine yara iyileştirici madde doldurulan delikli (hollow) nanolif formları oluşturulabilir,
- Çift besleme ünitesi yardımıyla, farklı polimerlerden elde edilen nanolifler aynı kompozit yapı içinde birbirleri ile karıştırılarak çok işlevli yara örtüsü yüzeyler geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] http://www.strategyr.com/Wound_Care_Products_Market_Report.asp
(06.12.2011)
- [2] Altay, P., Başal, G. (2010) Yara Örtüleri. Ege Üniversitesi Müh. Fak. Tekstil Müh. Böl., Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 4(1), 109-121.
- [3] Üstündağ, G. C., Karaca, E. (2009) ‘Elektro Çekim Yöntemi İle Alginat İçeren Nanolifli Yüzey Üretimi ve Çapraz Bağlama İle Suyu Dayanıklı Hale Getirilmesi’, Uludağ Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü
- [4] Kozanoğlu, G.S. (2006) Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 5-59.
- [5] Doğan, G., Başal, G. (2008) Elektrolif Çekim Yöntemine Göre Elde Edilen Biyopolimer Nanoliflerin İlaç Salınım Sistemleri, Yara Örtüsü ve Doku İskelesi Olarak Kullanımları. Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 3(2), 58-70.
- [6] Chong, E.J., Phan, T.T., Lim, I.J., Zhang, Y.Z., Bay, B.H., Ramakrishna, S., et al. (2007). Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Mater*, 3, 321–30.
- [7] Li D., Wang, Y., Xia Y. (2004) Electrospinning nanofibers as uniaxially aligned arrays and layer-by-layer stacked films. *Adv Mater*, 16, 361–6.
- [8] Tikhonov, V.E., Stepanova, E.A., Babak, V.G., Yamskov, I.A., Palma-Guerrero, J., Jansson, H.B., Lopez-Llorca, L.V., Salinas, J., Gerasimenko, D.V., Avdienko, I.D., Varlamov, V.P., (2006) Bactericidal and antifungal activities of a lowmolecularweight chitosan and its N-(2,3)-(dodec-2-enyl)succinoyl-derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 64, 66–72.
- [9] Peter, M.G., (1995) Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J Macromol Sci-Pure Appl Chem A*, 32, 629–640.
- [10] Rao, S.B., Sharma C.P., (1997) Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. *J Biomed Mater Res*, 34, 21–28.
- [11] Rinaudo, M., (2006) Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog Polym Sci*, 31, 603–632.

- [12] Jin, H.J., Fridrikh, S.V., Rutledge, G.C., Kaplan, D.L. (2002) *Biomacromolecules*, 3, 1233.
- [13] Xie, J., Hsieh, Y.L. (2003) *J Mater Sci.*, 38, 2125.
- [14] Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009) Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27, 76–83.
- [15] Jayakumar, R., Prabakaran M., Sudheesh Kumar, P.T., Nair, S.V., Tamura, H. (2011) Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 29, 322–337.
- [16] Şenol M., Derinin Yapısı, Görevi ve Histopatolojisi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı.
- [17] <http://www.bilimvesaglik.com/deri/default.asp> (20.12.2011)
- [18] Çakal, C. (2004) Phema Bazlı Yara Yanık Örtü Materyalleri, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 50-73.
- [19] Jones, I., Currie, L., Martin, R. (2002) A Guide to Biological Skin Substitute. *British Journal of Plastic Surgery*, 55,185-193.
- [20] Bolton, L., van Rijswijk, L. (1991) Wound dressings: Meeting clinical and biological needs. *Dermatol Nurs*, 3, 146–161.
- [21] Krasner, D., Kennedy, K.L., Rolstad, B.S., Roma, A.W. (1993) The ABCs of wound care dressings. *Wound Management*, 66, 68–69.
- [22] Calvin, M. (1998) Cutaneous wound healing. *Wounds*, 10(1), 12-32.
- [23] Toklu, A.Ş. (2007) Kronik Yarada Ölçme ve Değerlendirme. 2. Ulusal Yara Bakımı Kongresi Bildiri Özet Kitabı, 3-7.
- [24] Joshua, S., Boateng, K., Mathews, H., Howard, N., Stevens, E., Eccleston, M.G. (2007) Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review.
- [25] <http://www.worldwidewounds.com/1997/july/Thomas-Guide/Dress-Select.html> (23.12.2011)
- [26] Eccleston, G.M. (2007) Wound dressings. In: Aulton ME, editor. *Pharmaceutics: The science of dosage form design*. 3rd edition, UK: Churchill Livingstone, 264–271.

- [27] Schultz, G.S., Barillo, D.J., Mazingo, D.W., et al. (2004) Wound bed preparation and A brief history of TIME. *International Wound Journal*, 1(1), 19-32.
- [28] Qin, Y. (2001) Advanced Wound Dressings. *J.Text. Inst.*, 92(2), Textile Institute, 127-138.
- [29] Afrodite, K., Tsirogianni, N., Moutsopoulos, M., Haralampos M., Moutsopoulos, M. (2006) Wound healing: Immunological aspects, *Injury. Int. J. Care Injured*, 37, S5—S12.
- [30] Diegelmann, R.F., Melissa C. Evans, M.C. (2004) Wound Healing: An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. *Frontiers in Bioscience*, 9, 283-289.
- [31] [http://sem.mersin.edu.tr/uploads/304/files/Yara_iyile%C5%9Fmesi_ve_yara_bak%C4%B1m%C4%B1\(D4-K%C3%96\).pdf](http://sem.mersin.edu.tr/uploads/304/files/Yara_iyile%C5%9Fmesi_ve_yara_bak%C4%B1m%C4%B1(D4-K%C3%96).pdf) (26.12.2011)
- [32] Wilgus, T.A. (2008) Immune cells in the healing skin wound: Influential players at each stage of repair. *Pharmacological Research*, 58, 112–116.
- [33] Karasu, A., Bakır, B. (2008) Yara ve Yara İyileşmesi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14(1), 36-43.
- [34] Hanna, J.R., Giacobelli, J.A. (1997) A Review of Wound Healing and Wound Dressing Products. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 36(1), 2-14.
- [35] Morgan, D.A. (2002) Wounds—What should a dressing formulary include? *Hosp Pharmacist*, 9, 261–266.
- [36] Taçyılmaz, İ.H., Mızraklı, S., Aban, N., Akkuş, M., Kavak, V. (2001) Yara iyileşmesi Üzerine Kalogenaz'ın Etkisi. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 4(1), 18-24.
- [37] Sibbald, R.G., Orsted, H., Schultz, G.S. et al. (2003) International wound bed preparation advisory board preparing the wound bed. Focus on infection and inflammation. *Ostomy Wound Management*, 49(11), 23-51.
- [38] Vanscheidt, W., Ukat, A., Hauss, F. (2005) International wound bed preparation advisory board systematic management of chronic wounds employing the TIME concept. *Münchener Medizinische Wochenschrift Fortschritte der Medizin*, 147 (Suppl 3), 119-26.

- [39] Dowsett, C., Ayello, E. (2004) TIME principles of chronic wound bed preparation and treatment. *British Journal of Nursing*, 13(15), 16-23.
- [40] Kannon, G., Garrett, A. (1995) Moist wound healing with occlusive dressings: A clinical review. *Dermatologic Surgery*, 21, 583-90.
- [41] Falanga, V. (2003) Wound bed preparation: future approaches. *Ostomy Wound Management*, 49(5A Suppl), 30-33.
- [42] Falanga, V. (2004) The chronic wound: Impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 32(1), 88-94.
- [43] Cooper, R.A. (2004) Understanding wound infection. A position document, published by MEP Ltd, London.
- [44] Cutting, K.F., White, R.J., Mahoney, P., et al. (2004) Clinical identification of wound infection: A delphi approach. A position document, published by MEP Ltd, London.
- [45] Cutting, K.F. (1998) Identification of infection in granulating wounds by registered nurses. *Journal of Clinical Nursing*, 7, 539-546.
- [46] Stashak, T.S., Farstvedt, E., Othic, A. (2004) Update on Wound Dressings: Indications and Best Use. *Clinical Techniques in Practice* 3, 148-163.
- [47] Payam Z., Iraj R., Siadatb, S. R., Jafaria, S.H., Supaphol, P. (2009) A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Poylmers Advanced Technologies*.
- [48] Paul, W., Sharma C.P. (2004) Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review. *Trends Biomater. Artif. Organs*, 18(1), 18-23.
- [49] Güneş Ü.Y., Eşer İ., (2006) Nemli Yara İyeleşmesi ve Oklusif Pansumanların Nemli Yara İyileşmesindeki Önemi. *C.Ü. Hemşirelik Yüksek okulu Dergisi*, 10(2).
- [50] Abdelrahman, T., Newton, H. (2011) Wound Dressings: Principles and Practice. *Wound Management, Surgery*, 491-495.
- [51] [Leveen, H.H. (1973) Chemical acidification of wounds. An adjuvant to healing and the unfavourable action on alkalinity and ammonia. *Ann Surg*, 178, 745-53.
- [52] www.convatec.com (02.02.2012)

- [53] www.coloplast.com (02.02.2012)
- [54] www.3m.com (02.02.2012)
- [55] www.lohmann-rauscher.com (02.02.2012)
- [56] www.covidien.com (02.02.2012)
- [57] <http://www.molnlycke.com/com/wound-care-products/> (02.02.2012)
- [58] <http://wound.smith-nephew.com> (02.02.2012)
- [59] <http://www.jnj.com/connect/healthcare-products/> (02.02.2012)
- [60] Nelson, D.B., Dilloway, M.A. (2002) Principles, products, and practical aspects of wound care. *Critical Care Nursing Quarterly*, 25(1), 33-54.
- [61] Le, L.A., Hunter, R.J., Preedy, V.R. (2012) Drug Loaded Nanofiber Matrices as Diabetic Wound Dressings. *Nanotechnology and Nanomedicine in Diabetes*, 325–344.
- [62] Zahedia, P., Rezaeiana, I., Siadatb, S.O.R., Jafaria, S.H., Supapholc, P. (2010) ‘A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers Advanced Tehnologies*, 21, 77-98.
- [63] Zhang, Y., Lim, C.T., Ramakrishna, S., Huang, Z.-M. (2005) Recent development of polymeric nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *J Mater. Sci: Mater in Medicine*, 16, 933–946.
- [64] Dabney, S. E. (2002) The use of electrospinning technology to produce wound dressings, PhD Dissertation, The University of Akron.
- [65] Khil, M.S., Cha, D.I., Kim, H.Y., Kim, I.S., Bhattarai, N. (2003) Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 67, 675–679.
- [66] <http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=25577.php> (04.03.2012)
- [67] Rho, K.S., Jeong, L., Lee, G., Seo, B.-M., Park, Y.J., Hong, S.-D., Roh, S., Cho, J.J., Park, W.H., Min, B-M. (2006) Electrospinning of collagen nanofibers: effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing. *Biomaterials*, 27, 1452–1461.
- [68] Jia, J., Duan, Y.Y., Wang, S.H., Zhang, S.F., Wang, Z.Y. (2004) Preparation and characterization of antibacterial silver-containing nanofibers for wound dressing applications. *J US-China Med Sci.*, 4, 52–4.

- [69] Spasova, M., Paneva, D., Manolova, N., Radenkov, P., Rashkov, I. (2008) Electrospun chitosan coated fibers of poly(L-lactide) and poly(L-lactide)/poly(ethyleneglycol):preparation and characterization. *Macromolecular Bioscience*, 8, 153–62.
- [70] Yang, H. (2007) Fabrication and Characterization of Multifunctional Nanofiber Nanocomposite Structures through Co-electrospinning Pocess. Drexel University, PhD Thesis.
- [71] Bhardwaj, N., Kundu, S.C., (2010) Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28, 325–347.
- [72] Huang, Z.M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., Ramakrishn, S. (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63, 2223–2253.
- [73] Rutledge, G.C., Fridrikh, S.V. (2007) Fromation of fibers by electrospinning. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 1384–1391.
- [74] Balamurugan,R., Sundarrajan, S., Ramakrishna, S. (2011) Recent Trends in Nanofibrous Membranes and Their Suitability for Air and Water Filtrations. *Membranes*, ISSN 2077-0375.
- [75] Zeng, J. (2003) Meso-and nano- Scaled Polymer Fibers and Tubes, Fabrication, Functionalisation and Characterisation. Erlangung des Doktorgrades, Fachbereich Chemie der Philipps- Universitat Marburg, Lahn.
- [76] Nataraj, S.K., Yang, K.S., Aminabhavi, T.M. (2011) Polyacrylonitrile based nanofibers: A state of the art rewiev. *Progress in Polymer Science*.
- [77] Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos Sci Technol*, 63, 2223–53.
- [78] Maneeratana, V. (2007) Alkoxide-based Precursors for Direct Electrospinning of Alumina Fibers. *Doktora Tezi*, University of Florida.
- [79] Reneker, D.H., YARIN, A.L., (2008) Electrospinning jets and polymer nanofiber. *Polymer*, 49, 2387-2425.
- [80] He, J.H., Wu, Y., Zuo, W.W. (2005) Critical length of straight jet in electrospinning. *Polymer*, 46, 12637–12640.

- [81] Demir, M.M., Yilgor, I., Yilgor, E., Erman, B. (2002) Electrospinning of polyurethane fibers. *Polymer*, 43, 3303–9.
- [82] Dalton, P.D., Calvet, J.L., Mourran, A., Klee, D., Möller, M. (2006a) Melt electrospinning of poly- (ethylene glycol-block- ϵ -caprolactone). *Biotechnol J*, 1, 998-1006.
- [83] Larrondo, L., Manley, R.S.J. (1981) Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I.II.III. experimental observations on fiber formation and properties. *J Polym Sci, Polym Phys Ed*, 19, 909–40.
- [84] Zhou, H., Green, T.B., Joo, Y.L. (2006) The thermal effects on electrospinning of polylactic acid melts. *Polymer*, 47, 7497–505.
- [85] Zhmayev, E., Zhou, H., Joo, Y.L. (2008) Modeling of non-isothermal polymer jets in melt electrospinning. *J Non-Newtonian Fluid Mech*, 153, 95-108.
- [86] Matthews, J.A., Wnek, G.E., Simpson, D.G., Bowlin, G.L. (2002) Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules*, 3, 232–8.
- [87] Thompson, C.J., Chase, G.G., Yarin, A.L., Reneker, D.H. (2007) Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. *Polymer*, 48, 6913-6922.
- [88] Andrady, A.L. (2008) *Science and Technology of Polymer Nanofibers*. Research Triangle Institute, 81-110.
- [89] Deitzel, J.M., Kleinmeyer, J., Harris, D., Tan, N.C.B. (2001) The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42, 261–72.
- [90] Liu, H.Q., Hsieh, Y.L. (2002) Ultrafine fibrous cellulose membranes from electrospinning of cellulose acetate. *J Polym Sci B Polym Phys*, 40, 2119–29.
- [91] Ryu, Y.J., Kim, H.Y., Lee, K.H., Park, H.C., Lee, D.R. (2003) Transport properties of electrospun nylon 6 non-woven mats. *Eur Polym J*, 39, 1883–9.
- [92] Mckee, M.G., Wilkes, G.L., Colby, R.H., Long, T.E. (2004) Correlations of solution rheology with electrospun fiber formation of linear and branched polyesters. *Macromolecules*, 37, 1760–7.
- [93] Ki, C.S., Baek, D.H., Gang, K.D., Lee, K.H., Um, I.C., Park, Y.H. (2005) Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin-formic acid solution. *Polymer*, 46, 5094–102.

- [94] Haghi, A.K., Akbari, M. (2007) Trends in electrospinning of natural nanofibers. *Phys Status Solidi*, 204, 1830–4.
- [95] Sukigara, S., Gandhi, M., Ayutsede, J., Micklus, M., Ko, F. (2003) Regeneration of *Bombyx mori* silk by electrospinning—part 1: processing parameters and geometric properties. *Polymer*, 44, 5721–7.
- [96] Tan, S.H., Inai, R., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2005b) Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. *Polymer*, 46, 6128–34.
- [97] Gupta, P., Elkins, C., Long, T.E., Wilkes, G.L. (2005) Electrospinning of linear homopolymers of poly (methylmethacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer*, 46, 4799–810.
- [98] McKee, M.G., Layman, J.M., Cashion, M.P., Long, T.E. (2006) Phospholipid non-woven electrospin membranes. *Science*, 311, 353–5.
- [99] Burger, C., Hsiao, B.S., Chu, B. (2006) Nanofibrous marterials and their applications. *Annu Rev Mater Res*, 36, 333–68.
- [100] Baumgarten, P.K. (1971) Electrostatic spinning of acrylic microfibers. *J Colloid Interface Sci*, 36, 71–9.
- [101] Doshi, J., Reneker, D.H. (1995) Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J Electrostat*, 35, 151–6.
- [102] Deitzel, J.M., Kosik, W., McKnight, S.H., Ten, N.C.B., Desimone, J.M., Crette, S. (2002) Electrospinning of polymer nanofibers with specific surface chemistry. *Polymer*, 43, 1025–9
- [103] Buchko, C.J., Chen, L.C., Shen, Y., Martin, D.C. (1999) Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40, 7397–407.
- [104] Fong H, Chun I, Reneker DH. (1999) Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer*, 40, 4585–92.
- [105] Huanga, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S. (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63, 2223–2253.

- [106] Deitzel, J.M., Kleinmeyer, J., Harris, D., Tan, N.C.B. (2001) The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42, 261–72.
- [107] Reneker, D.H., Chun, L. (1996) Nanometre diameters of polymer, produced by electrospinning. *Nanotechnology*, 7, 216–23.
- [108] Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C., et al. (2004) Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *J Polym Sci, B Polym Phys*, 42, 3721–6.
- [109] Lee, K.H., Kim, H.Y., Ryu, Y.J., Kim, K.W., Choi, S.W. (2003) Mechanical behavior of electrospun fiber mats of poly(vinyl chloride)/polyurethane polyblends. *J Polym Sci, B Polym Phys*, 41, 1256–62.
- [110] Bhattarai SR, Bhattarai N, Yi HK, Hwang PH, Cha DI, Kim HY. Novel biodegradable electrospun membrane: scaffold for tissue engineering. *Biomaterials*, 25: 2595–602.
- [111] Geng, X., Kwon, O.H., Jang, J. (2005) Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26, 5427–32.
- [112] Liu, H.Q., Hsieh, Y.L. (2002) Ultrafine fibrous cellulose membranes from electrospinning of cellulose acetate. *J of Polymer Sci Part B: Polymer Physics*, 40, 2119–29.
- [113] Clerck, K., Kalaoğlu, Ö. I., Schoenmaker, B., Schueren, L.V. (2011) An alternative solvent system for the steady state electrospinning of polycaprolactone. *European Polymer Journal*, 47, 1256-1263.
- [114] Hayati, I., Bailey, A.I., Tadros, T.F. (1987) Investigations into the mechanisms of electrohydrodynamic spraying of liquids. 1. Effect of electric field and the environment on pendant drops and factors affecting the formation of stable jets and atomization. *J Colloid Interface Sci.*, 117, 205–21.
- [115] Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B.S., Chu, B. (2002) Structure and process relationship of electrospun bioadsorbable nanofiber membrane. *Polymer*, 439, 4403–12.
- [116] Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., Sheng, J. (2005) Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. *Eur Polym J*, 41, 423–32.

- [117] Demir, M.M., Yilgor, I., Yilgor, E., Erman, B. (2002) Electrospinning of polyurethane fibers. *Polymer*, 43, 3303–9.
- [118] Megelski, S., Stephens, J.S., Chase, D.B., Rabolt, J.F. (2002) Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*, 35, 8456–66.
- [119] Lee, J.S., Choi, K.H., Ghim, H.D., Kim, S.S., Chun, D.H., Kim, H.Y., et al. (2004) Role of molecular weight of a tactic poly (vinyl alcohol) (PVA) in the structure and properties of PVA nanofabric prepared by electrospinning. *J Appl Polym Sci*, 93, 1638–46.
- [120] Katti, D.S., Robinson, K.W., Ko, F.K., Laurencin, C.T. (2004) Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. *J Biomed Mater Res*, 70B, 286–96.
- [121] Pawlowski, K.J., Barnes, C.P., Boland, E.D., Wnek, G.E., Bowlin, G.L. (2004) Biomedical nanoscience: electrospinning basic concepts, applications, and classroom demonstration. *Mater Res Soc Symp Proc*, 827, 17–28.
- [122] Yordem, O.S., Papila, M., Menciloğlu, Y.Z. (2008) Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: an investigation by response surface methodology. *Mater Des*, 29, 34–44.
- [123] Kessick, R., Fenn, J., Teper, G. (2004) The Use of AC Potentials In Electrospaying and Electrospinning Processes. *Polymer*, 45, 2981–2984.
- [124] Zhao, Z.Z., Li, J.Q., Yuan, X.Y., Li, X., Zhang, Y.Y. (2005) Sheng J. Preparation and properties of electrospun poly (vinylidene fluoride) membranes. *J Appl Polym Sci*, 97, 466–74.
- [125] Yuan, X.Y., Zhang, Y.Y., Dong, C.H., Sheng, J. (2004) Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. *Polym Int.*, 53, 1704–10.
- [126] Wang, X., Um, I.C., Fang, D., Okamoto, A., Hsiao, B.S., Chu, B. (2005) Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments. *Polymer*, 46, 4853–67.
- [127] Mit-uppatham, C., Nithitanakul, M., Supaphol, P. (2004) Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter. *Macromol Chem Phys*, 205, 2327–38.

- [128] Casper, C.L., Stephens, J.S., Tassi, N.G., Chase, D.B., Rabolt, J.F. (2004) Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *Macromolecules*, 37, 573–8.
- [129] Li, D., Xia, Y. (2004) Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel. *Adv Mater*, 16, 1151–70.
- [130] Li, M., Mondrinos, M.J., Gandhi, M.R., Ko, F.K., Weiss, A.S., Lelkes, P.I. (2005) Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials*, 26, 5999–6008.
- [131] Joo, Y.L., Cho, D., Zhmyev, E., (2010) Nanofibers from gas-assisted polymer melt electrospinning. *Polymer*, 51, 4140–4144.
- [132] Jayakumara, R., Menona, D., Manzoora, K., Naira, S.V., Tamurab, H. (2010) Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials—A short review. *Carbohydrate Polymers*, 82, 227–232.
- [133] Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M. (2010) Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 28(11).
- [134] Sondi, I., Salopek-Sondi, B., (2004) Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275, 177–182.
- [135] Tian, J., Wong, K.K.Y., Ho, C.M., Lok, C.N., Yu, W.Y., Che, C.M., Chiu, J.F., Tam, P.K.H. (2006) Topical Delivery of Silver Nanoparticles Promotes Wound Healing. *Chem Med Chem*, 00, 171–80.
- [136] Maneerung, T., Tokura, S., Rujiravanit, R. (2008) Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbo Poly*, 72(1), 43–51.
- [137] Jun, J., Yuan-Yuan, D., Shao-hai, W., Shao-feng, Z., Zhong-yi, W. (2007) Preparation and characterization of antibacterial silver-containing nanofibers for wound dressing applications. *J US-China Med Sci*, 4(2), 52–4.
- [138] Pillai, C.K.S., Paul, W., Sharma, C.P. (2009) Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34, 641–678.

- [139] Shuangyun, L., Wenjuan, G., Hai, Y. G. (2008) Construction, application and biosafety of silver nanocrystalline chitosan wound dressing. *Burns*, 34, 623 – 628.
- [140] Thomas, V., Yallapu, M., Mohan, S.B., Bajpai, S.K. (2009) Fabrication, characterization of chitosan/ nanosilver film and its potential antibacterial application. *J Biomater Sci Polym*, 20, 2129–44.
- [141] Madhumathi, K., Sudheesh Kumar, P. T., Abilash, S., Sreeja, V., Tamura, H., Manzoor, K., et al. (2010). Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 21, 807–813.
- [142] Sudheesh Kumar, P. T., Abilash, S., Manzoor, K., Nair, S. V., Tamura, H., & Jayakumar, R. (2010). Preparation and characterization of novel β -chitin/nano silver composite scaffolds for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 80, 761–767.
- [143] Demir, A., Seventekin, N. (2009) Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3(2), 92-103.
- [144] Lee, D.V., Lim, H., Chong. H.N., Shim, W.S. (2009) Advances in Chitosan Material and its Hybrid Derivatives: A Review. *The Open Biomaterials Journal*, 1, 10-20.
- [145] Panboon, S. (2005) Elektrosinning of Poly(vinyl alcohol)/Chitosan Fibers for Wound Dressing Applications. King Mongkut’s Institute of Technology North Bangkok, Thesis.
- [146] Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J. (2010) Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 51–63.
- [147] Ikeda, T., Tazuke, S., (1984) Biologically-active polycations.4. Synthesis and antimicrobial activity of poly(Trialkylvinylbenzylammonium chloride). *Makromolekulare Chemie- Macromolecular Chemistry and Physics*, 185, 869–876.
- [148] Kong, M., Chen, X.G., Liu, C.S., Yu, L.J., Ji, Q.X., Xue, Y.P., Cha, D.S., Park, H.J. (2008) Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. *Frontiers of Materials Science in China*, 2, 214–220.

- [149] Tokura, S., Ueno, K., Miyazaki, S., Nishi, N., (1997) Molecular weight dependent antimicrobial activity by chitosan. *Macromolecular Symposia*, 120, 1–9.
- [150] Tikhonov, V.E., Stepnova, E.A., Babak, V.G., Yamskov, I.A., Palma-Guerrero, J., Jansson, H.B., Lopez-Llorca, L.V., Salinas, J., Gerasimenko, D.V., Avdienko, I.D., Varlamov, V.P. (2006) Bactericidal and antifungal activities of a lowmolecularweight chitosan and its N-2(3)-(dodec-2-enyl)succinoyl-derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 64, 66–72.
- [151] No, H.K., Kim, S.H., Lee, S.H., Park, N.Y., Prinyawiwatkul, W. (2006) Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time. *Carbohydrate Polymers*, 65, 174–178.
- [152] Lee, K.Y., Jeong, L., Kang, Y.O., Lee, S.J., Park, W.H. (2009) Electrospinning of polysaccharides for regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 1020–1032.
- [153] C. K. S. Pillai and Chandra P. Sharma *Electrospinning of Chitin and Chitosan Nanofibres Society for Biomaterials and Artificial Organs (India)*, 20090205-21.
- [154] Sun, K., Li, Z. H. (2011) Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning. *eXPRESS Polymer Letters*, 5(4) 342–361.
- [155] Sangsanoh, P., Suwantong, O., Neamnark, A., Cheepsunthorn, P., Pavasant, P., Supaphola, P. (2010) *In vitro* biocompatibility of electrospun and solvent-cast chitosan substrata towards Schwann, osteoblast, keratinocyte and fibroblast cells. *European Polymer Journal*, 46, 428–440.
- [156] Vrieze, S. D., Westbroek, P., Camp, T. V., Van Langenhove, L. (2007) Electrospinning of chitosan nanofibrous structures: Feasibility study. *Journal of Materials Science*, 42, 8029–8034.
- [157] Klossner, R.R., Queen, H.A., Coughlin A.J., Krause, W.E. (2008) Correlation of Chitosan's rheological properties and its ability to electrospin. *Biomacromolecules*, 9(10), 2947-2953.
- [158] Peesan, M., Rujiravanit, R., Supaphol, P. (2006) Electrospinning of hexanoyl chitosan/poly lactide blends. *J Biomater Sci: Polym Ed*, 17, 547–65.

- [159] Li, L., Hsieh, Y-L. 2006 Chitosan bicomponent nanofibers and nanoporous fibers. *Carbohydr Res*, 341, 374–81.
- [160] Sua, P., Wang, C., Yang, X., Chen, X., Gaoa, C., Feng, X-X., Chenc, J-Y., Yeb, J., Goua, Z., Electrospinning of chitosan nanofibers: The favorable effect of metal ions. *Carbohydrate Polymers*, 84, 239–246.
- [161] Queen, H. (2006) *Electrospinning Chitosan-Based Nanofibers For Biomedical Applications* North Carolina State University, Master thesis.
- [162] Zhang, Y., Huang, X., Duan, B., Wu, B., Li, S., Juan X. (2007) Preparation of electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) membranes. *Colloid and Polymer Science*, 285, 855–863.
- [163] Jung, K-H., Huh M-W., Meng W., Yuan J., Hyun S. H., Bae J-S., Hudson S. M., Kang I-K. (2007) Preparation and antibacterial activity of PET/chitosan nanofibrous mats using an electrospinning technique. *Journal of Applied Polymer Science*, 105, 2816–2823.
- [164] Chen J-P., Chang G-Y., Chen J-K. (2008) Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313–314, 183–188.
- [165] Ignatova M., Starbova K., Markova N., Manolova N., Rashkov I. (2006) Electrospun nano-fibre mats with antibacterial properties from quaternised chitosan and poly (vinyl alcohol). *Carbohydrate Research*, 341, 2098–2107 (2006).
- [166] Ignatova, M., Manolova, N., Rashkov, I. (2007) Novel antibacterial fibers of quaternized chitosan and poly(vinyl pyrrolidone) prepared by electrospinning. *European Polymer Journal*, 43, 1112–1122 (2007).
- [167] An, J., Zhang, H., Zhang, J. T., Zhao, Y., Yuan, X. (2009) Preparation and antibacterial activity of electrospun chitosan/ poly(ethylene oxide) membranes containing silver nanoparticles. *Colloid and Polymer science*, 287, 1425–1434.
- [168] Zhuang, X. P., Cheng, B. W., Kang, W. M., Xu, X. (2010) Electrospun chitosan/gelatin nanofibers containing silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 82, 524–527.
- [169] Spasova, M., Paneva, D., Manolova, N., Radenkov P., Rashkov, I. (2008) Electrospun chitosan-coated fibers of poly(L-lactide) and poly(L-

- lactide)/poly(ethylene glycol): preparation and characterization. *Macromol Biosci.*, 8(2), 153-162.
- [170] Takai, K., Ohtsuka, T., Senda, Y., Nakao, M., Yamamoto, K., Matsuoka, J., Hirai, Y. (2002) Antibacterial Properties of Antimicrobial-Finished Textile Products, *Microbiology and Immunology*, 46(2), 75-81.
- [171] Muller, G., Kramer, A. (2008) Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, 1281–1287.
- [172] Desai, K., Kit, K. (2008) Effect of spinning temperature and blend ratios on electrospun chitosan/poly(acrylamide) blends fibers. *Polymer*, 49, 4046–4050.
- [173] Duan, B., Dong, C.H., Yuan X.Y., Yao, K.D. (2004) *Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition*, 15(6), 797-811.
- [174] Min, B.M., Lee, G., Kim, S.H., Nam, Y.S., Lee, T.S., Park, W.H. (2004) Electrospinning of silk fibroin nanofibers and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 25, 1289–1297.
- [175] Sorlier, P., Viton, C., Domard, A. (2000) *Biomacromolecules*, 3(6), 1336-42.
- [176] Mironov, A.V., Vikhoreva, G.A., Kil'deeva, N.R., Uspenskii, S.A. (2007) *Polymer Science Series B*, 49(1-2),15-7.
- [177] Martinova L, Lubasova D. (2008) *Research Journal of Textile and Apparel*, 12, 72-9.
- [178] Mehdi Pakravana, Marie-Claude Heuzeya, Abdellah Ajji (2011) A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning, *Polymer*, 52, 4813-4824.
- [179] Bhattarai, N., Edmondson, D., Veiseh, O., Matsen, F.A., Zhang, M. (2005) Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*, 26, 6176–6184.
- [180] Hwang, J.K., Shin, H.H. (2000) *Korea-Australia Rheology Journal*, 12, 175-9.
- [181] Nikolova, A., Manolova, N., Rashkov (1998) *I. Polymer Bulletin*, 41, 115-21.
- [182] Fallahi, D., Rafizadeh, M., Mohammadi, N., Vahidi, B. (2008) *e-Polymers*,0-56.
- [183] Lin, T., Wang, H., Wang, H., Wang, X. (2004) *Nanotechnology*, 15, 1375–81.
- [184] Zheng, J., He, A., Li, J., Xu, J., Han, C.C. (2006) *Polymer*, 47,7095–102.

- [185] Son, W. K., Youk, J. H., Lee, T. S., Park, W. H. (2004) The effect of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer*, 45, 2959–2966.
- [186] Sua, P., Wang, C., Yanga, X., Chena, X., Gaoa, C., Feng, X-X., Chen, J-Y., Yeb, J., Goua, Z., (2011) Electrospinning of chitosan nanofibers: The favorable effect of metal ions. *Carbohydrate Polymers*, 84, 239–246.
- [187] Min, B.M., Lee, S.W., Lim, J.N., You, Y., Lee, T.S., Kang, P.H., Park, W.H. (2004) Chitin and chitosan nanofibers: Electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer*, 45, 7137–7142.
- [188] Lisowski, M.S., Liu, Q., Cho, J., Runt, J., Yeh, F., Hsiao, B.S. (2000) *Macromolecules*, 33(13), 4842-9.
- [189] Hang, A.T., Tae, B., Park, J.S. (2010) Non-woven mats of poly(vinyl alcohol)/chitosan blends containing silver nanoparticles: Fabrication and characterization. *Carbohydrate Polymers*, 82, 472–479.
- [190] Kriegel, C., Kit, K.M., McClements, D.J., Weiss, J. (2009) *Polymer*, 50(1),189-200.
- [191] Ashby, Michael; Jones, David (1996). *Engineering Materials* (2 ed.). Butterworth-Heinemann. pp. 191–195. ISBN 0-7506-2766-2.
- [192] Meyers, M. A., Chawla, K. K. (1999) *Mechanical Behavior of Materials*. Cambridge University Press, 41, ISBN 978-0-521-86675-0. <http://www.toodoc.com/Mechanical-Behavior-of-Materials-ebook.html>.
- [193] Park, W. H., Leong, L., Yoo, D., & Huson, S. (2004). Effect of chitosan on morphology and conformation of electrospun silk fibroin nanofibers. *Polymer*, 45, 7151–7157.
- [194] Li, J., Zivanovic, S., Davidson, P.M., Kit, K. (2010) Characterization and comparison of chitosan/PVP and chitosan/PEO blend films. *Carbohydrate Polymers*, 79, 786–791.
- [195] Wei, X., Xia, Z., Wong, S.C., Baji, A. (2009) Modelling of mechanical properties of electrospun nanofibre network. *Int J Exp Comp Biomech*, 1, 45–57.
- [196] Anthony L. Andrady, ‘*Science and Technology of Polymer Nanofibers*’, John Wiley&Sons, Inc., 2008, pp 133-135, ISBN 978-0-471-79059-4.

- [197] Rhim, J-W., Hong, S-I., Park, H-M., Perry, K. W. (2006) Ng Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (16), 5814–5822.
- [198] Helander, I.M., Wright, A.V., Mattila-Sandholm, T.M. (1997) Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 146–150.
- [199] Kong, M., Chen, X.G., Liu, C.S., Liu, C.G., Meng, X.H., Yu, L.J. (2008) Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 65, 197–202.
- [200] Je, J.Y., Kim, S.K. (2006) Antimicrobial action of novel chitin derivative. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760, 104–109.
- [201] Je, J.Y., Kim, S.K. (2006) Chitosan derivatives killed bacteria by disrupting the outer and inner membrane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6629–6633.
- [202] Raafat, D., von Bargaen, K., Haas, A., Sahl HG. (2008) Chitosan as an antibacterial compound: Insights into its mode of action. *Appl Environ Microbiol*, 74(12), 3764–3773.
- [203] Chen, C.Z.S., Cooper, S.L. (2002) Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes. *Biomaterials*, 23, 3359–3368.
- [204] Jung, B., Kim, C., Choi, K., Lee, Y.M., Kim, J. (1999) Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. *Journal of Applied Polymer Science*, 72, 1713-1719.
- [205] Huang, M., Khor, E., Lim, L-Y. (2004) Uptake and Cytotoxicity of Chitosan Molecules and Nanoparticles: Effects of Molecular Weight and Degree of Deacetylation, *Pharmaceutical Research*, 21, 344-353.
- [206] Ong, S-Y., Wu, J., Moochhala, S.M., Tan, M-H., Lu, J. (2008) Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties. *Biomaterials*, 29, 4323–4332.
- [207] X. Chen, X., Schluesener, H.J. (2008) Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters*, 176, 1–12.

- [208] Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M. (2010) Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 28(11), 580-588.
- [209] Ueno, H., Yamada, H., Tanaka, I., Kaba, N., Matsuura, M., Okumura, M., Kadosawa, T., Fujinaga, T. (1999) Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. *Biomaterials*, 20, 1407-1414.
- [210] Chen, J-P., Chang, G-Y., Chen, J-K. (2008) Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 313–314, 183–188.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ramazan ERDEM
Doğum Yeri ve Tarihi : Adana - 1980
Yabancı Dili : İngilizce
E-Posta : erdemramazan@hotmail.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	Dokuma	Adana Sabancı Anadolu M.L	1998
Üniversite	Tekstil Teknolojisi	Marmara Üniversitesi	2003
Y. Lisans	Tıbbi Teknik Tekstiller	Bolton Üniversitesi (İngiltere)	2005

İş Deneyimi

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
3	İTKİB Destek A.Ş.	Ar-Ge Departmanı Yöneticisi

Bilimsel Eserler:

1. “Tekstil Materyallerinde Antimikrobiyal Uygulamalar”, Yüksek Lisans Tezi, 2005, Bolton, İngiltere.

2. Ayhan ONAT, S. Serdar PAZARLIOĞLU, Erhan SANCAK, Sezgin ERSOY, Ali BEYİT, **Ramazan ERDEM**. (2013) Thermal and Mechanical Properties of Walnut Shell and Glass Fiber Reinforced Thermoset Polyester Composites. Asian Journal of Chemistry, 25(4), 1947-1952.
3. **Ramazan ERDEM** (2013) Evaluation of Antimicrobial Effectiveness of Chitosan/PEO based E-SPUN Nanofibrous Composites (with/without Nanosilver). 2nd International Conference on Value Addition & Innovation in Textiles, Proceedings, 183-191.
4. **Ramazan ERDEM** (2013) Investigating the Effects of Different Molecular Weights of Chitosan and Poly (Ethylene Oxide) Polymers on the Morphology of Electrospun Nanofibers. 2nd International Conference on Value Addition & Innovation in Textiles, Proceedings, 192-199.
5. E. SANCAK, E. Dilara KOÇAK, İ. USTA, **R. ERDEM**, M. YÜKSEK, M. AKALIN (2013) Kesikli İletken Lif Takviyeli Elektromagnetik Dalgaları Engellenen Tekstil Yapısı Üretimi. UTİB 5.Uluslararası Ar-Ge Proje Pazarı Konferans Kitapçığı, 443-444.

Projeler:

1. Fashion and Textile Cluster Project (2007). Avrupa Birliği tarafından finanse edilmiştir.
2. Gruntvig Study Visits Program (2009) ‘Developing the National Qualification Framework for EU Countries’, Berlin. Avrupa Birliği tarafından finanse edilmiştir.
3. Nanolif Bazlı Yara Örtüsü Yüzeyi Geliştirilmesi (2012). M.Ü. BAPKO tarafından desteklenmiştir.



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	502013.mar
	PROJE ADI	Nanolif bazlı yara örtüsü yüzeyi geliştirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	PROF.DR. MEHMET AKALIN
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	M.Ü Teknik Eğitim Fak. Tekstil Eğitimi ABD -DEHAMER
	DESTEKLEYİCİ	

KARAR BİLGİLERİ	Tarih 08.05.2013 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.
------------------------	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırmada önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.

ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi		Toplantıya katılım	İmza
Prof. Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü	Var	Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALICAN	Fizyoloji	Yürütücü Sekreteri	Var	Yok	Evet Hayır	
Prof. Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü Diş Hekimliği Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Hasan Raci YANANLI	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır	
Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Sorumlu Veterineri	Var	Yok	Evet Hayır	
Öğr. Gör.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi	Var	Yok	Evet Hayır	Katılmadı
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	İstanbul Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürüğü, Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet Hayır	Katılmadı
Billur AYGÖR	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var	Yok	Evet Hayır	Katılmadı