



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN NİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ZERDEÇAL EKSTRAKTLI GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLÜ PLGA ELEKTRO
EĞİRME NANOFİBER YARA ÖRTÜSÜ**

Fatma Ahsen ÖKTEMER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Temmuz-2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZERDEÇAL EKSTRAKTLI GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLÜ PLGA ELEKTRO EĞİRME NANOFİBER YARA ÖRTÜSÜ

Fatma Ahsen ÖKTEMER

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Prof.Dr. Ahmet AVCI

2021, 66 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof Dr. Erol PEHLİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Kronik yaraları tedavi etmek için mevcut stratejiler, hastalara sınırlı bir rahatlama sunmaktadır. Kronik yaralar küresel bir sağlık sorunu olarak kaldığı sürece, alternatif tedavilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Elektrosponning işlemi ile kolayca üretilen gözenekli nanofiber yara örtüleri, yara iyileşmesine umut verici bir çözüm sunar. Yara örtüsü, yaraların iyileşme sürecine birçok yönünden yardımcı olan koruyucu bir bariyerdir. Elektrospon nanofiber yara örtüleri ise, yara iyileşme sürecinin tüm gereksinimlerini karşılamayan tipik bandajlara göre potansiyel olarak iyileşme için mükemmel bir ortam sağlayabilmektedir. Elektrospon nanofiber yara örtüleri yara iyileşme sürecini hızlandırmakta ve bakteriyel enfeksiyonları önlemektedirler. Bu çalışmada yara iyileşmesinde kullanılması amacıyla zerdeçal ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül katkılı PLGA elektrospon nanofiber üretilmiştir. Ayrıca gümüş nanopartikül ve zerdeçal bitki ekstraktının malzemeye kattığı özellikleri incelemek için PLGA, saf gümüş nanopartikül katkılı PLGA ve zerdeçal ile spreyleneşmiş PLGA elektrospon nanofiberler de üretilmiştir. Üretilen bu nanofiberin morfolojik ve mekanik özellikleri, antibakteriyel aktiviteleri ve biyobozunurlukları incelenmiştir. FESEM analizleri sonucunda nanofiberlerde gümüş nanopartikül miktarıyla doğru orantılı şekilde fiber çapları azalmıştır. TEM analizi ile gümüş nanopartiküllerin boyutlarının küçük boyutlarda olduğu görülmüştür. XRD analizi ile nanofiberdeki kristal yapıların literatür ile uyumlu olduğu teyit edilmiştir. FTIR analizi ile malzemenin molekül yapısı hakkında bilgi edinilmiştir. TGA analizinde gümüş nanopartiküllerin termal iletkenliği arttırmasından dolayı gümüş nanopartikül içeren nanofiberlerin sıcaklık artışında daha hızlı bozunduğu görülmüştür. Su teması açısı analizi ile zerdeçal ve gümüş nanopartikül varlığı hidrofobikliği arttırdığı görülmüştür. Antibakteriyel aktivite testi ile malzemelere gümüş nanopartikül ile antibakteriyel özellik kazandırıldığı teyit edilmiştir. Mekanik test sayesinde ise zerdeçal ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül katkılı PLGA nanofiber ile yüksek mukavemete sahip nanofiber elde edildiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler elektro eğirme, elektropun nanofiber, gümüş nanopartikül, polimer, yara örtüsü, yara iyileşmesi, zerdeçal ekstraktı.

ABSTRACT

MS THESIS

PLGA ELEKTROSPUN NANOFIBER WOUND DRESSING WITH CURCUMIN AND SILVER NANOPARTICLES

Fatma Ahsen ÖKTEMER

**The Graduate School Of Natural And Applied Science Of Necmettin Erbakan
University**

The Degree Of Master Of Science In Mechanical Engineering

Advisor: Prof.Dr. Ahmet AVCI

2021, 66 Pages

Jury

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof Dr. Erol PEHLİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Current strategies for treating chronic wounds offer patients limited relief. As long as chronic wounds remain a global health problem, alternative treatments need to be developed. Porous nanofiber wound dressings, easily produced by the electrospinning process, offer a promising solution to wound healing. Wound dressing is a protective barrier that helps in many aspects of the healing process of wounds. Electrospun nanofiber wound dressings, on the other hand, can potentially provide an excellent environment for healing compared to typical bandages that do not meet all the requirements of the wound healing process. Electrospun nanofiber wound dressings accelerate the wound healing process and prevent bacterial infections. In this study, PLGA electrospun nanofiber with silver nanoparticle encapsulated with turmeric has been produced in order to be used in wound healing. In addition, PLGA, PLGA with added pure silver nanoparticles and PLGA electrospun nanofibers sprayed with turmeric have also been produced to examine the properties that silver nanoparticle and turmeric plant extract added to the material. Morphological and mechanical properties, antibacterial activities and biodegradable of this nanofiber have been studied. As a result of FESEM analysis, fiber diameters have decreased in direct proportion to the amount of silver nanoparticles in nanofibers. Silver nanoparticles have been found to be small in size by TEM analysis. By XRD analysis, crystal structures in nanofiber have been confirmed to be compatible with the literature. Information about the molecular structure of the material has been obtained by FTIR analysis. In TGA analysis, it has been observed that nanofibers containing silver nanoparticles degrade faster with temperature increase due to the increase in thermal conductivity of silver nanoparticles. By water contact angle analysis, it has been observed that the presence of turmeric and silver nanoparticles increases hydrophobicity. It has been confirmed that the materials are given antibacterial properties with silver nanoparticle by antibacterial activity test. Thanks to the mechanical test, it has been observed that high-strength nanofiber was obtained with PLGA nanofiber with silver nanoparticle encapsulated with turmeric.

Keywords: : curcumin extract, electrospinning, electrospun nanofiber, polymer, silver nanoparticle, wound dressing, wound healing.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Yüksek Lisans Tezi olarak Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ahmet Avcı'nın danışmanlığında hazırlanarak sunulmuştur. Aynı zamanda Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle, göstermiş olduğu sabır ve anlayışla yardım ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ahmet Avcı'ya,

Ders dönemi ve laboratuvar çalışmalarında bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma,

Laboratuvarda bir çok şey paylaştığımız maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan Arş. Gör. Cansu GÜNEŞ ve bölüm arkadaşlarıma,

Hayatımın her alanında maddi ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim eşim Ersin Öktemer, annem Saliha Erkaya ve babam Rüstü Erkaya' ya,

Çalışmam sırasında bilgi ve tecrübeleri ile destek olan canım arkadaşlarım Gencay Yasav ve Müge Bahar Kılıç'a teşekkürü borç bilirim.

Fatma Ahsen ÖKTEMER
KONYA-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 Nanoteknoloji.....	4
2.1.1 Nanoteknolojinin Kullanım Alanları	4
2.1.2 Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi.....	5
2.2. Nanofiber	6
2.3. Nanofiber Üretim Yöntemleri.....	7
2.3.1. Çekme (Drawing) Yöntemi	7
2.3.2. Faz Ayırımı (Phase Separation) Yöntemi	8
2.3.3. Kendiliğinden Tutunma (Self-Assembly) Yöntemi.....	9
2.3.4. Şablon Sentez (Template Synthesis) Yöntemi.....	10
2.3.5. Çift Bileşenli Ekstrüzyon (Bicomponent) Yöntemi.....	11
2.3.6. Eriyik Üfleme (Meltblown) Yöntemi	12
2.3.7. Elektro-Eğirme (Elektrospinning) Yöntemi	13
2.4. Elektrospun Nanofiber	15
2.5. Polimer.....	15
2.5.1. PLGA Polimeri	16
2.6. AgNP	17
2.6.1 AgNP Üretim Yöntemleri	17
2.6.2. Yeşil Sentez İle AgNP Üretimi.....	19
2.6.2.1. AgNP Üretiminde İndirgeyici ve Stabilizör Ajan Olarak Zerdeçal	20
2.7. İnsan Derisinde Yara İyileşmesi	20
2.5.1. İnsan Derisindeki Yaraların Sınıflandırılması	21
2.5.2. İnsan Derisinde Yara İyileşme Fazları.....	22
2.6. Yara Örtüleri	24
2.7. Elektrospun Nanofiber Yara Örtüleri	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1. Kullanılan Malzemeler	27
3.1.1. PLGA	27
3.1.2. Zerdeçal (Curcumin).....	27
3.1.3. AgNP	27
3.1.4. Gümüş Nitrat.....	27
3.1.5. Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS)	28
3.1.6. Çözücüler	28
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.2.1. Üretim Aşamasında Kullanılan Cihazlar	28
3.2.2. Test Aşamasında Kullanılan Cihazlar.....	29

3.3. Zerdeçal Bitki Özütünün Hazırlanması	30
3.4. AgNO ₃ Çözeltisi Hazırlama	30
3.5. Yeşil Sentez Yöntemiyle ZE-AgNP Üretimi	31
3.5.1. Zerdeçal Bitki Özütü ve AgNO ₃ ile Optimum Çözeltinin Belirlenmesi	31
3.5.2. AgNP Üretim Aşaması	32
3.6. Solüsyon Hazırlama	33
3.6.1. PLGA Solüsyonu Hazırlama	33
3.6.2. AgNP/PLGA Solüsyonu Hazırlama	33
3.6.3. ZE-AgNP/PLGA Solüsyonu Hazırlama	34
3.7. Elektro-Eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi	34
3.8. Spreyleme Yöntemi ile Zerdeçal/PLGA Nanofiber Eldesi.....	35
3.9. Karakterizasyon	36
3.9.1. FE-SEM Analizi	36
3.9.2. TEM Analizi	37
3.9.3. XRD Analizi	37
3.9.4. FT-IR Analizi.....	37
3.9.5. TGA Analizi	37
3.9.6. Su Temas Açısı	37
3.9.7. Mekanik Karakterizasyon	38
3.9.8. Antibakteriyel Özellikler	39
3.9.9. Biyobozunurluk	40
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	42
4.1. ZE-AgNP Analiz Sonuçları	42
4.1.1. Zerdeçal Bitki Özütü ve AgNO ₃ ile Optimum Çözeltinin Belirlenmesinde UV-Vis Spektrofotometre Sonuçları	42
4.1.2. ZE-AgNP'lerin TEM Analizi	44
4.2. Elektropsun Nanofiber Analiz Sonuçları.....	45
4.2.1. FE-SEM Analiz Sonuçları	45
4.2.2. TEM Analiz Sonuçları	46
4.2.3. XRD Analiz Sonuçları	47
4.2.4. FT-IR Analiz Sonuçları	48
4.2.5. TGA Analiz Sonuçları	49
4.2.6. Su Temas Açısı Analiz Sonuçları	51
4.2.7. Mekanik Karakterizasyon Sonuçları.....	52
4.2.8. Antibakteriyel Test Sonuçları	53
4.2.9. In Vitro Biyobozunurluk.....	55
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	59
5.1. Sonuçlar	59
5.2. Öneriler	60
6. KAYNAKLAR	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

nm: nanometre
mm: milimetre
m/s: metre/saniye
°C: santigrat derece
µm: mikro metre
Ag⁺ : gümüş iyonu
Ag⁰ : metalik gümüş
pH: asitlik veya bazlık derecesini gösteren ölçü birimi
%: yüzde oranı
gr: gram
ml: mililitre
M: molar
w/v: kütle/hacim
v/v: hacim/hacim
mm/h : milimetre/saat
kV: kilovolt
cm: santimetre
McF: McFarland
θ: teta
N/mm²: Newton/milimetrekare
MPA: megapaskal
Mg: miligram

Kısaltmalar

PCL: polikaprolakton
PVA: polivinil alkol
PLA: polilaktik asit
PEO: polietilen oksit
PU: poliüretan
PGA: poli (glikolik asit)
PE: polietilen
PP: polipropilen
PLGA: poli(laktik asit-ko-glikolik asit)
AgNP:gümüş nanopartikül
ECM:ekstraselüler matriks
ZE-AgNP: zerdeçal ekstraktı ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül
AgNP/PLGA: gümüş nanopartikül katkılı PLGA nanofiber
SZ/PLGA: zerdeçal ekstraktı ile spreyleneş PLGA nanofiber
ZE-AgNP/PLGA: zerdeçal ile enkapsülle edilmiş gümüş nanopartikül katkılı PLGA nanofiber
AFM: atomik kuvvet mikroskobu
UV: ultraviyole
AgNO₃: gümüş nitrat
PBS: fosfat tampon çözeltisi
DCM: diklorometan

DMF: dimetilformamid
FE-SEM:alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu
TEM: geçirimli Elektron Mikroskobu
TGA: termogravimetrik analizi
XRD: x-ışını kırınım (difraksiyon) spektroskopisi
FT-IR: fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometresi



1. GİRİŞ

Yanıklar ve kronik yaralar küresel bir sağlık sorunudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde 6,5 milyon kişi yaygın olarak basınç, venöz staz veya diyabetes mellitusun neden olduğu kronik cilt ülserleri hastalığına sahipken, 1,25 milyon kişi yanıklardan kaynaklanan yaralara sahiptir. Ülkemizde yıllık yanık vakası sayısı net olarak bilinmemekle birlikte 200 bin civarında kişinin yanıklara maruz kaldığı tahmin edilmektedir(ORDİN, 2017). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise her yıl yaklaşık 40 bin yetişkin yanık nedeniyle hastaneye kaldırılmaktadır ve yaralarından kaynaklanan komplikasyonlar nedeniyle 4 bin kişi vefat etmektedir.

Yanık ve kronik yaraların iyileşmesinde gazlı bezler, köpükler, hidrojeller, biyolojik sargılar, hidrokolloidler vb. gibi bir çok tedavi yöntemi bulunmaktadır. Fakat bu yöntemlerin bazıları sadece ileri derecede olmayan yanık ve küçük yaraları iyileştirirken çoğu tedavi sonrası başarıyı garanti etmemektedir. Bu nedenle başarılı alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Elektrospun nanofiber yara örtüsü bu duruma umut verici çözüm sunmaktadır.

Yara örtüsü, yaraların iyileşme sürecine birçok yönünden yardımcı olan koruyucu bir bariyerdir. Elektrospun nanofiber yara örtüleri, yara iyileşme sürecinin tüm gereksinimlerini karşılamayan tipik bandajlarla karşılaştırıldığında potansiyel olarak iyileşme için mükemmel bir ortam sağlayabilmektedir(Rieger, Birch, & Schiffman, 2013). Bu nedenle yara iyileşme sürecini hızlandıran ve bakteriyel enfeksiyonları önleyen elektrospun nanofiber yara örtülerine bilim adamları tarafından ilgi artmış ve üzerinde çok daha fazla çalışmaya başlanmıştır.

Elektrospun nanofiberler bir çok polimer malzemeden üretilmektedir. Elektro eğirme yöntemi ile üretilen bu nanofiberler son derece yüksek yüzey alanı - hacim oranına, gaz geçirgenliğine ve yüksek seviyede gözenekli bir yapıya sahiptir(Fang, Niu, Lin, & Wang, 2008; Si, Tang, Yu, & Ding, 2014). Bu eşsiz özelliklere sahip olan nanofiberlere bir de üretildikleri polimer malzemenin özellikleri eklendiğinde istenen bir çok özelliğe sahip nanofiberler meydana gelmektedir. Şimdiye kadar polivinil alkol (PVA) (Charernsriwilaiwat, Opanasopit, Rojanarata, & Ngawhirunpat, 2012), polietilen oksit (PEO) (Sadri, KARIMI, Hosseini, & Emamgholi, 2016), polilaktik asit (PLA) (Nguyen, Ghosh, Hwang, Dai Tran, & Park, 2013), poliüretan (PU) (Unnithan et al., 2012), poli (laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) (Fouad, Elsarnagawy, Almajhdi, & Khalil, 2013), polikaprolakton (PCL) (Trinca,

Westin, da Silva, & Moraes, 2017), kollajen(Zhou et al., 2016), jelatin(Zhou et al., 2016), selüloz(Weishaupt et al., 2020) ve kitosan(Yousefi et al., 2017) gibi elektro eğirme yoluyla birkaç polimer başarılı bir şekilde nanofiber şeklinde üretilmiştir. Biyobozunurluğu, biyouyumluluğu ve uygun mekanik özellikleri nedeniyle, PLGA en popüler biyobozunur polimerlerden biridir. Elektrospun nanofiberler yara iyileşmelerinde kullanıldığında yara üzerinde hücre solunumunu, cilt yenilenmesini, eksüdaların çıkarılmasını sağlarlar ve homeostaza destek olurlar(Zhang, Lim, Ramakrishna, & Huang, 2005).

Elektrospun nanofiberlere antimikrobiyal veya teröpatik ajanlar eklenerek fonksiyonelleştirilmiş nanofiberler elde edilebilmektedir. Aktif ajan, özelliğine bağlı olarak yara örtüsüne antimikrobiyal özellik, yara iyileşme süresinde kısalma vb. gibi avantajlar sağlayabilmektedir.

Gümüş nanopartikül(AgNP) antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikleri ile geniş spektrumlu bir antimikrobiyal maddedir. Bu nedenle yanıkların ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanılan elektropun nanofiberlerde aktif ajan olarak sıklıkla tercih edilmektedir(Raveendran, Fu, & Wallen, 2003). AgNP'ler, elektrokimyasal yöntemler, ayrıştırma, mikrodalga destekli teknikler ve ıslak kimyasal prosedürler gibi birçok farklı yöntemle sentezlenebilirler. Fakat bu yöntemlerde kullanılan kimyasallar genellikle yanıcıdır ve yüksek derecede toksiktir. Toksik kimyasallar insan sağlığına zararlı olduğundan AgNP'lerin pek çok alanda uygulamalarını sınırlandırır. Bu nedenle, AgNP'leri toksik kimyasallar kullanmadan sentezlemek için güvenli ve çevre dostu bir yöntemle ihtiyaç duyulmaktadır(Dipankar, Murugan, & Biointerfaces, 2012). Toksik olmayan kimyasallar, çevreye zarar vermeyen çözücüler kullanılarak AgNP sentezleyen yeşil sentez yöntemi alternatif bir yaklaşım sağlamıştır. Bu yöntemde AgNP sentezlemek için bitki özütleri ve mikroorganizmalar gibi çeşitli biyomolekül türleri kullanılmaktadır.

Zerdeçal önemli anti-enflamatuar, anti-oksidan, anti-kanserojen, anti-mutajenik, anti-koagülan ve anti-enfektif etkilere sahiptir. Ayrıca önemli yara iyileştirici özelliklere sahiptir. Zerdeçal topikal olarak kullanıldığında iyileşmeyi hızlandırmak için doğal yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarına etki eder(Moghaddam, Iranshahi, Yazdi, & Shahverdi, 2009; Sidhu et al., 1998). Zerdeçal, granülasyon dokusunu artırır ve ekstraselüler matrikste (ECM) dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) - β 1 ve proteinlerin biyosentezini güçlendirir. Ayrıca inflamasyonun ana nedeni olan serbest radikalleri temizler. Zerdeçalın geleneksel merhem formlarında ve sulu solüsyonlarda kullanılması

yavaş bir yara iyileşme sürecine ve artan yara enfeksiyonu riskine yol açabilir. Bitki özütünün yara pansuman malzemesi olarak kullanılabilecek şekilde elektro eğrime yöntemi ile üretilen nanofiber yara örtülerine katkılanması bu tür komplikasyonları ortadan kaldırabilir.

Bu çalışmada öncelikle yeşil sentez yöntemi kullanılarak zerdeçal ekstraktı ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküller(ZE-AgNP) üretildi. Ardından PLGA nanofiber, gümüş nanopartikül katkılı PLGA nanofiber(AgNP/PLGA), zerdeçal ekstraktı ile spreyleneş PLGA nanofiber(SZ/PLGA) ve zerdeçal ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül katkılı PLGA nanofiber(ZE-AgNP/PLGA) elektro eğirme yöntemi kullanılarak üretildi. Üretilen bu nanofiberlerin morfolojik, mekanik, antimikrobiyal özellikleri ve biyobozunurlukları incelendi.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, son derece küçük yapıların incelenmesidir. “Nano” ön eki, “cüce” anlamına gelen Yunanca bir kelimedir. Nanoteknoloji, nano ölçekte uygulanan ve gerçek dünyada uygulamaları olan herhangi bir teknolojiyi ifade eder. Maddenin atomik ve moleküler seviyelerde yaklaşık 1 ila 100nm boyutunda kontrol edilmesi veya yeniden yapılandırılması olarak tanımlanır.

Nanoteknoloji kelimesi ilk defa Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi tarafından kullanılmıştır. Taniguchi 1974'de yayınlanan bir makalesinde nanoteknolojiyi şu şekilde tanımlamıştır: "Nanoteknoloji genel olarak malzemelerin atom ya da molekül işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulmasıdır".

Nanoteknoloji, 0.1 ila 100 nm boyutundaki malzemeler üzerinde çalışır. Bu nedenle çok çeşitli uygulamalar ve çeşitli nano malzeme ve nano cihazların oluşturulması için kullanılabilir.

Nano ölçekte maddenin özellikleri daha büyük ölçekte olanlardan farklıdır. Bir malzemenin boyutları büyük boyuttan küçültüldüğünde özellikler ilk başta aynı kalmaktadır daha sonra küçük değişiklikler meydana gelmektedir. Son olarak boyut 100 nm'nin altına düştüğünde özelliklerde etkileyici değişiklikler meydana gelmektedir. Örneğin bulk gümüş toksik değilken gümüş nanoparçacıklar toksik özelliğe sahiptirler ve temas ettikleri yüzeylerde virüsleri öldürürler. Nanomalzemelerin benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri ticari uygulamalar ve topluma fayda sağlayan yeni performans için kullanılabilir.

2.1.1 Nanoteknolojinin Kullanım Alanları

Nanoteknoloji, optoelektronik, yenilenebilir enerji, çevresel iyileştirme, kimyasal kataliz, tıbbi cihazlar, tüketici ürünleri, biyotıp vb. gibi alanlarda geniş kapsamlı ve çeşitli kullanım alanlarına sahiptir (Şekil 2.1.). Nanoteknoloji halen gelişmekte ve ilerlemekte olan bir bölüm olduğu için gün geçtikçe de kullanım alanları genişlemeye devam etmektedir.

Nanoteknoloji, boyut olarak daha küçük hız ve kapasite bakımından daha büyük bilgisayarlardan hafif ve daha uzun ömürlü pillere, daha az yakıt tüketimli

araçlardan biyolojik ve kimyasal tehditleri tespit eden askeri kıyafetlere, leke tutmayan kumaşlardan kendi kendini temizleyen camlara, kanserli hücrelerin erken tespit edilip kişiye zarar vermeden öldürülmesinden antibakteriyel çoraplara, çok küçük mikropları bile algılayabilen sensörlerden ısı yalıtımı sağlayan malzemelere, mikrop barındırmayan buzdolaplarından çizilmeyi ve aşınmayı önleyen kaplamalara kadar hayatımıza girmeye başlamıştır. Nanoteknolojinin geleceğinde ise süper bilgisayarların, ameliyat yapan nanorobotların ve insan hafızasını güçlendiren ek nano hafızaların ortaya çıkması beklenmektedir.



Şekil 2.1. Nanoteknolojinin kullanım alanları

2.1.2 Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi

- Richard P. Feynman'ın 1959'da "Aşağıda Daha Çok Yer Var" adlı konuşmasında her şeyi küçük bir ölçekte yönlendirme ve denetleme düşüncesinden bahsetmesi nanoteknolojinin başlangıcı sayılmaktadır.
- Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer tarafından 1981'de taramalı tünelleme mikroskopunu keşfi ile nano boyutta ölçüm ve modelleme yapılabilmesi mümkün oldu. (1986 yılında bu icat ile Nobel fizik ödülü almışlardır).
- 1986 yılında Binnig, Quate ve Gerber taramalı tünelleme mikroskopundan faydalanan atomik kuvvet mikroskopunu geliştirdiler.

- 1986 yılında ilk nanoteknoloji kitabı olan "Yaratma Motorları: Nanoteknolojin Yaklaşan Devri" kitabı K. Eric Drexler tarafından yayınlandı.
- 1991 yılında, Tsukuba Laboratuvarından Sumi Iijima, yüksek çözünürlü Geçirmeli Elektron Mikroskopunu (TEM) kullanarak karbon nanotüpleri keşfetti ve nanotüpler konusundaki araştırmalar yoğun bir şekilde başladı.
- 1999 yılında R. Freitas tarafından ilk nanotıp kitabı olan “Nano Medicine” yayınlandı.
- 2000 yılında ABD’de Bill Clinton hükümeti tarafından ilk kez Ulusal Nanoteknoloji Girişimi başlatıldı. ABD’nin nanoteknoloji üzerine yatırım yapmasıyla tüm dünyada nanoteknoloji hakkında araştırmalar başlamış oldu.
- Nanoteknoloji 21. yüzyılda büyük bir gelişim göstermiştir. Nano ölçekte yeni malzemelerin ve yeni deneysel ve teorik tekniklerin geliştirilmesi, yenilikçi nanosistemlerin ve nanomalzemelerin geliştirilmesi için yeni fırsatlar sunmuştur ve bilim ve teknolojiye yeni yollar açmıştır. Bundan yola çıkarak ilerleyen yıllarda nanoteknolojinin insan hayatına daha fazla dâhil olmasının kaçınılmaz olacağı söylenebilir.

2.2. Nanofiber

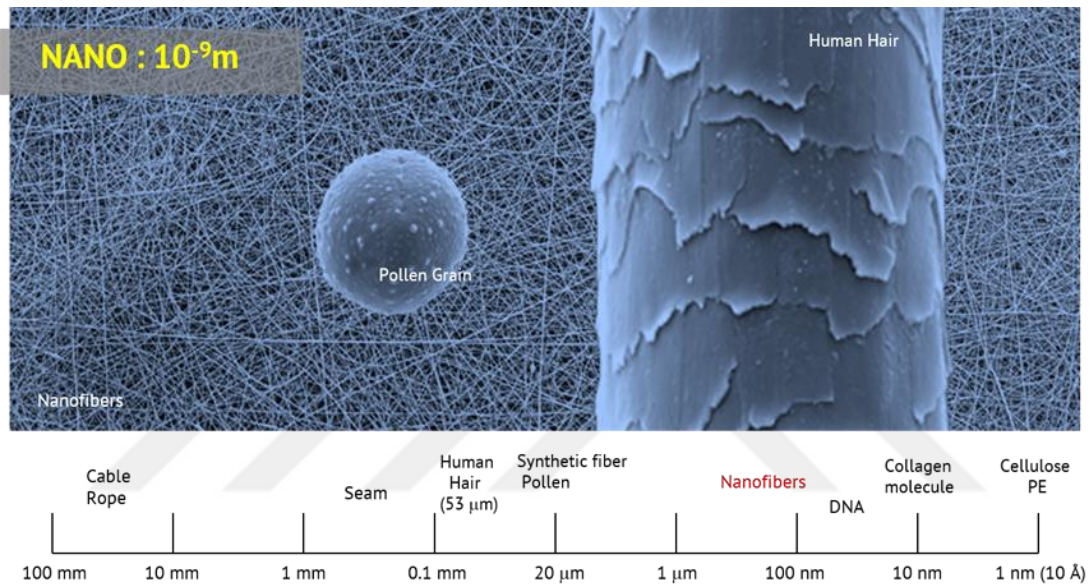
Çapı 100 nanometre ve daha küçük olan ipliksi yapılara nanofiber denir. Bazı kaynaklara göre 1 mikrometre altında bir boyuta sahip ipliksi yapılara da nanofiber denmektedir (Şekil 2.2.). Nanolif ve elyaf nanofiberin diğer isimleridir. “Nano” kelimesi çok küçük veya minyatür boyut anlamına gelirken “Fiber” kelimesi Latince "fibra" kelimesinden gelen ince, uzatılmış, ipliksi bir yapı anlamına gelmektedir.

Nanofiberler çok küçük olmaları sebebiyle mükemmel fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir ve bununla beraber çok küçük ve dar alanlarda kullanılabilir.

Nanofiberlerin yüzey alanı - hacim oranına bakıldığında geniş spesifik yüzey alanına sahiptir. Geniş yüzey alanları kimyasal reaksiyonlar meydana getirebildiği için çok küçük ortamlar gerektiren yeni teknolojilerde oldukça kullanışlıdır.

Yüksek porozite ve küçük gözenek boyutu gibi özelliklere sahiptir. Nanofiberlerin gözenek büyüklüğünün ve dağılımının belirlenmesi uygulama alanlarında verimli bir şekilde kullanılması için önemlidir. Bunun için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) kullanılabilir.

Ayrıca mükemmel sertlik ve çekme mukavemetine sahiptir. Nanofiber malzemeler, bu belirgin özellikleriyle gelişmiş malzemelerin üretilmesini sağlamaktadır. Bu sayede nanofiberler son zamanlarda nanoteknolojinin ilgi çekici konularından biri haline gelmiştir.



Şekil 2.2. Nanofiberin boyut olarak polen tanesi ve saç teli ile karşılaştırılması

2.3. Nanofiber Üretim Yöntemleri

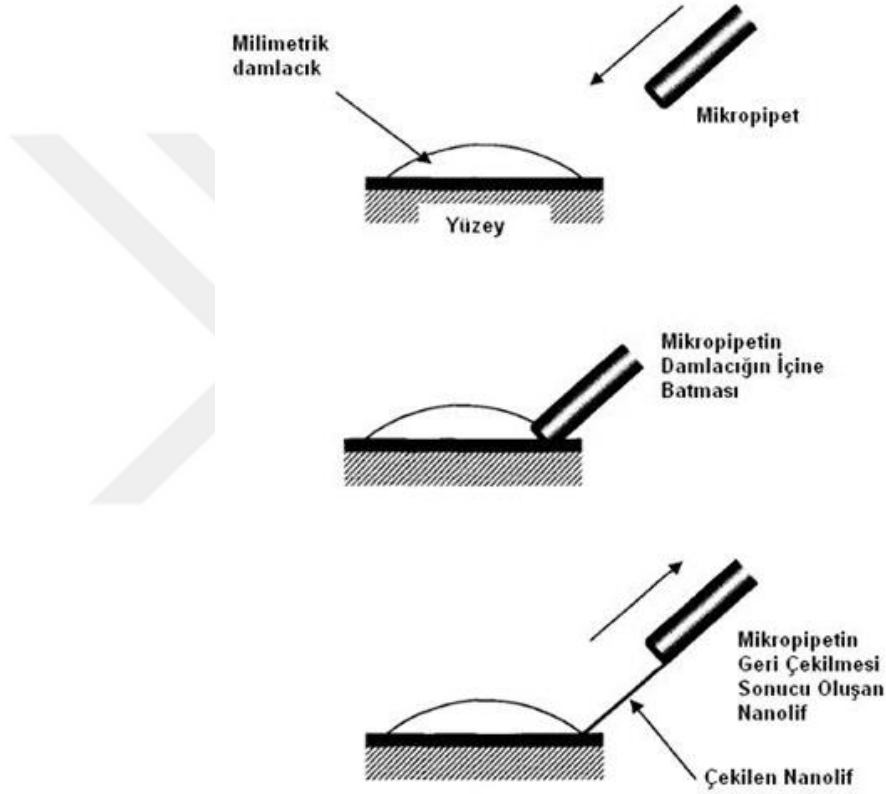
Nanofiberler birçok farklı yöntem ile üretilabilmektedir. Çekme, Faz Ayırımı, Kendiliğinden Tutunma, Şablon Sentez, Çift Bileşenli Ekstrüzyon, Eriyik Üfleme ve Elektro-eğirme bunlardan bazılarıdır. Elektro-eğirme yöntemi kolay ve hızlı şekilde nanofiber üretme yeteneğine sahip olduğu için en yaygın kullanılan üretim yöntemidir.

2.3.1. Çekme (Drawing) Yöntemi

Çekme yönteminde polimer uygun bir çözücü ile çözündürülür. Bir yüzey üzerine çözücü ile çözündürülen polimer damlatılarak polimer damlacığı oluşturulur. Ardından bir mikropipet polimer damlacığına temas ettirilir ve hızla çekilir (yaklaşık 1×10^{-4} m/s).

hızla). Bu sırada çözücü yüksek yüzey alan/hacim oranından dolayı hızla buharlaşır ve mikropipet ucu ile polimer damlası arasında bir lif ortaya çıkar (Harfenist et al., 2004; Ramakrishna, 2005). Şekil 2.3.'te çekme yöntemi ile nanofiber üretimi şematik olarak gösterilmiştir.

Çekme yöntemi minimum ekipman kullanımı nedeniyle avantajlıyken, sadece viskoelastik malzemelerin üretimi için kullanılması ve kesintili bir işlem olması bu yöntemi kullanışsız hale getirir(Göktaş, 2008).



Şekil 2.3. Çekme yöntemi ile nanofiber üretilmesi.

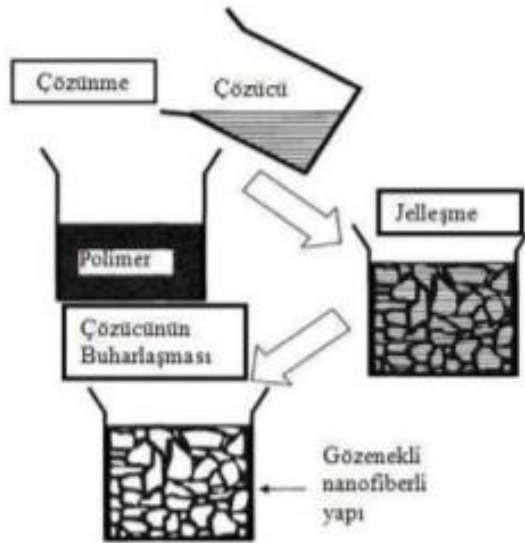
2.3.2. Faz Ayırımı (Phase Separation) Yöntemi

Faz ayrımı genellikle gözenekli polimer nanofiberleri elde etmek için kullanılmaktadır. Bu yöntem ile nanofiber üretimi 5 aşamada gerçekleştirilmektedir (Ramakrishna, 2005).

- I. Polimer çözme: Polimer malzeme uygun bir çözücü ile çözülür.

- II. Jelleşme: Jelleşme için polimer, içerisine uygun kimyasal madde eklenerek, jelleşmenin gerçekleşmesi için teflon şişeye konulur ve buzdolabında bekletilir.
- III. Çözücü uzaklaştırma: Çözücü değişimi için teflon şişe saf suyun içerisine konulup 2 gün bekletilir. İki gün içerisinde saf su günde 3 kez değiştirilir.
- IV. Dondurma: Jel sudan çıkarılır ve kağıt süzgeç yardımıyla süzülür, donması için -18°C 'de 2 saat bekletilir.
- V. Soğuk kurutma: Donmuş olan jel soğuk kurutma kanallarına boşaltılır ve -55°C 'de 1 hafta bekletilir.

Sonunda, oldukça gözenekli polimerik nanofiber elde edilir (Şekil 2.4.). Faz ayrımı karmaşık ve zaman alıcı bir işlemdir. Polimer tipi, solvent tipi, polimer konsantrasyonu, faz ayırma sıcaklığı, ısı işlem ve solvent değişimi faz ayırma yönteminin değişkenleridir. Lif çapı üzerindeki kontrol zordur ve maalesef faz ayırma işlemi sadece bazı spesifik polimerler ile sınırlıdır (Göktaş, 2008).



Şekil 2.4. Nanofiber yapı elde etmek için faz ayırımının genel şeması

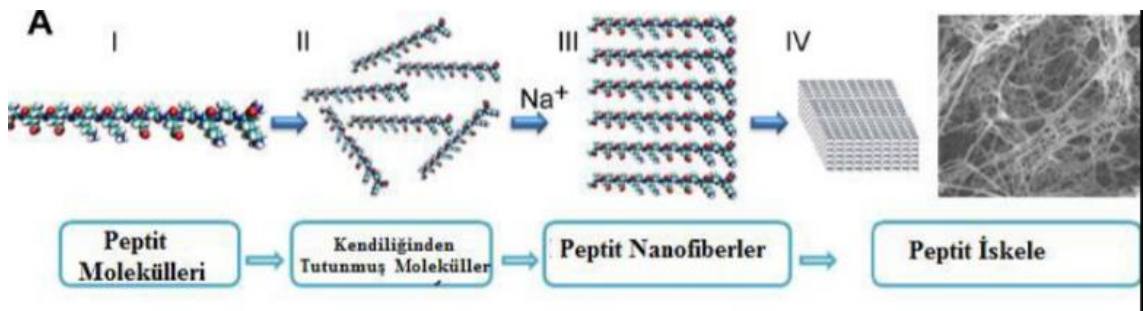
2.3.3. Kendiliğinden Tutunma (Self-Assembly) Yöntemi

Kendiliğinden tutunma, küçük moleküller ile blok inşa etmek anlamına gelmektedir. Önce küçük moleküller eş merkezli olacak şekilde aralarında bağ oluşturarak dizilir. Sonra, bu moleküllerin büyük oranda birleşmesi ile nanofiber oluşur. Oluşan küçük birimlerin moleküller arası kuvvetleri nanofiberin genel şeklini belirler

(Ramakrishna, 2005; Süslü, 2009). Şekil 2.5.'te kendiliğinden tutunma yöntemi ile nanofiber üretimi şematik olarak gösterilmiştir.

Aşağıdan-yukarı yaklaşımına uyan bu yöntemde üretim moleküler düzeyde gerçekleştiği için çok küçük çaplı nanofiberler elde edilebilir. Atom ve moleküller birbirlerine hidrojen bağı, hidrofobik kuvvetler ve elektriksel etkileşimler gibi bağlarla bağlıdır ve çok kararludur.

Bu yöntemin diğer yöntemlerden üstün yanı ucuz ve uygulaması kolay olmasıdır. Ayrıca üretim için bir makineye ihtiyaç yoktur. Fakat bu yöntemle sürekli fiber elde etmek zordur. Her malzemeye uygulanmadığı için düşük verimlidir.

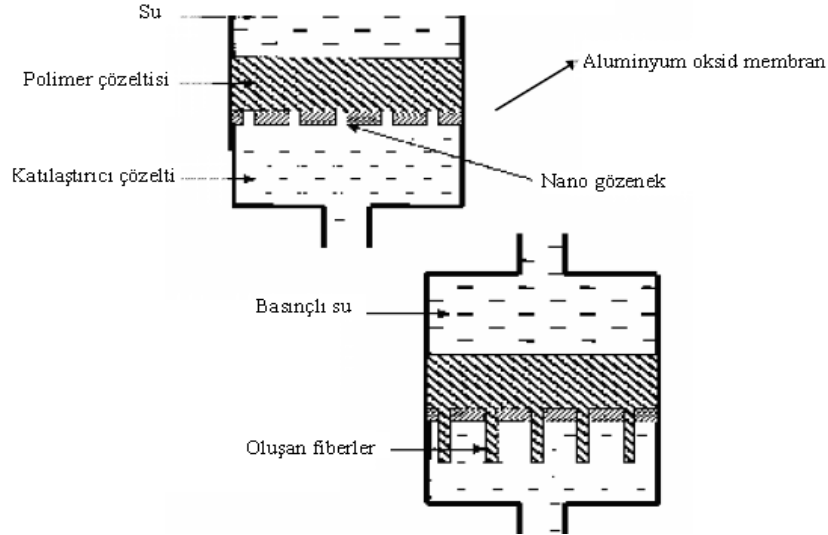


Şekil 2.5. Nanofiber yapı elde etmek için kendiliğinden tutunma yöntemi

2.3.4. Şablon Sentez (Template Synthesis) Yöntemi

Şablon sentezi, istenen bir malzeme veya yapıyı elde etmek için bir şablon veya kalıbın kullanımını ifade etmektedir. Nanofiber üretiminde, nano gözenekli membranlar şablon olarak kullanılmaktadır. Nano gözenekli zarların gözeneklerinden geçirilen çeşitli özel malzemelerle nanofiberler elde edilmektedir (Jayaraman et al., 2004). Her bir gözenek, içinde istenilen malzemenin nano yapısının elektrokimyasal veya kimyasal olarak sentezlendiği bir beher olarak düşünülebilir.

Bu yöntemde polimer çözeltisi, su basıncı ile gözenekli membrandan ekstrüze olur ve katılaştırma çözeltisiyle karşılaşır. Polimer çözeltisinin katılaştırma çözeltisiyle etkileşime girmesi sonucunda da nanofiber oluşur. Oluşan fiberlerin çapları kullanılan şablonun gözenek boyutlarına bağlıdır (Feng et al., 2002). Şekil 2.6.'da şablon sentez yöntemi ile nanofiber üretimi şematik olarak gösterilmiştir.



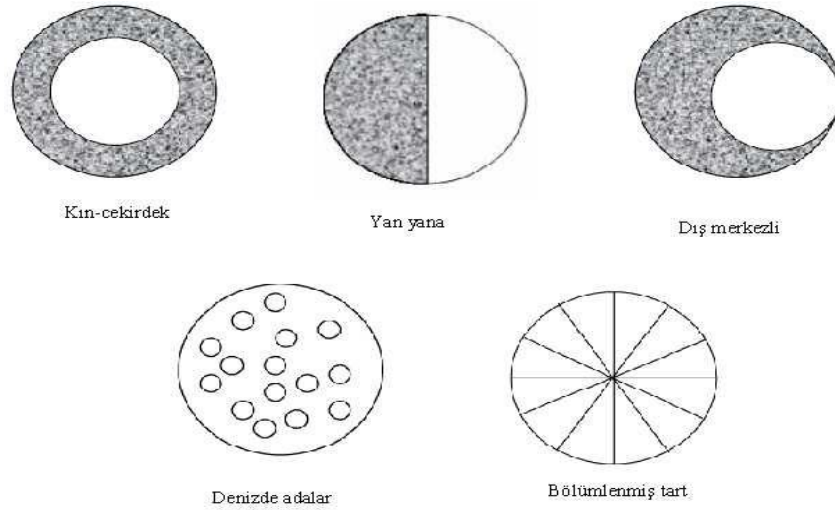
Şekil 2.6. Kendiliğinden tutunma yöntemi şematik gösterimi

Bu yöntemin avantajı yarı iletken, metal, seramik ve polimer gibi çok çeşitli malzemelerden nanofiber veya nanotüp üretilmesidir.

2.3.5. Çift Bileşenli Ekstrüzyon (Bicomponent) Yöntemi

Çift bileşenli fiber, aynı fiber içinde birlikte bulunan iki polimerin ayrı düzeden çıkması olarak tanımlanır. Çift bileşenli fiberler, fiber kesitlerinin yapılarına göre kın-çekirdek, yanyana, dış merkezli, denizde adalar, bölünmüş tart olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.7.).

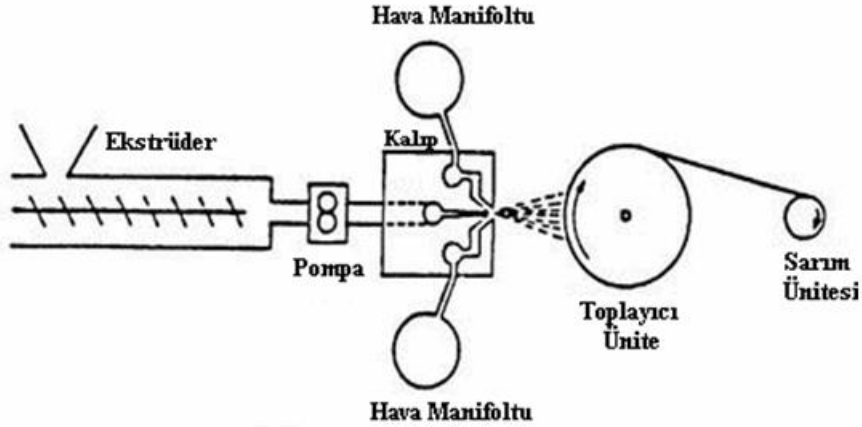
Bu yöntemde, biri diğerinin eriği içinde süspanse edilerek istenilen oranda karışmış iki polimerin aynı anda ekstrüzyonu gerçekleştirilir. Ayrıca arzu edilirse bileşenlerden biri ısı ya da çözücü ile ortamdan uzaklaştırılabilir (Lewin & Pearce, 1985).



Şekil 2.7. Çift Bileşenli Ekstrüzyon

2.3.6. Eriyik Üfleme (Meltblown) Yöntemi

Eriyik üfleme yöntemi birçok polimer türünden nanofiber üretmek için kullanılabilir. Bu yöntemde öncelikle polimer eritilir ve filtrasyon adımlarından geçer. Ardından bir pompa yardımıyla fiber çekim başlığına ulaşır. Düze (nozzle) başlığından fişkırtılan erimiş polimer direkt olarak düze ağzında yüksek hızdaki sıcak havaya maruz kalmaktadır. Bu şekilde fiber hava karışımı oluşmaktadır. Yüksek sıcaklıkta fiberleri çekmek için hava sıcaklığı fiberlerin erime sıcaklığına göre ayarlanır. Sıcak hava üflenerek eriyik polimer fiber kalıptan çıkarak yuvarlak bir yüzeye sahip sarıci etrafında toplanır. Bu esnada dışarıdan üflenerek soğuk hava ile polimer inceler ve katılaşır. Sonuç olarak nanofiber elde edilir (Ellison, Phatak, Giles, Macosko, & Bates, 2007; Hassan, Yeom, Wilkie, Pourdeyhimi, & Khan, 2013). Şekil 2.8.'de meltblown yöntemi şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Meltblown Yönteminin Basit Bir Gösterimi

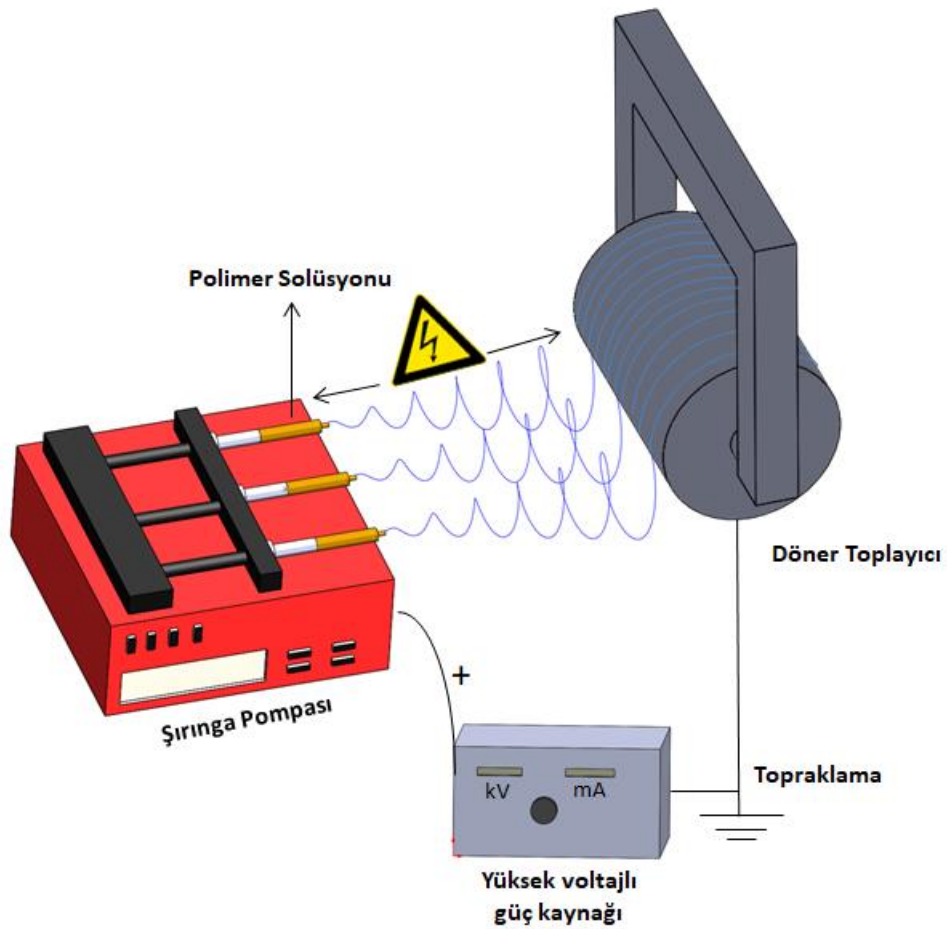
Üretilen liflerin çapları genellikle 0,5–10 μm arasındadır. Ayrıca bu metotla üretilen liflerin mukavemetleri düşüktür ve üretildikleri haliyle fiber çapları düzenli bir dağılım göstermez.

2.3.7. Elektro-Eğirme (Elektrospinning) Yöntemi

Elektro-eğirme, polimer çözelti veya eriyik maddelerden nano veya mikro boyutlu fiberler elde edilmek amacıyla kullanılan bir üretim tekniğidir. Nanofiber üretim teknikleri arasında avantajlı, optimum maliyetli, uygulaması pratik ve etkili bir yöntemdir. Ayrıca diğer nanofiber üretim teknikleri üretimde mekanik kuvvetleri esas alırken, elektro-eğirme yöntemi elektrik alan kuvvetleri yardımı ile polimerlerden nanofiber oluşumunu sağlamaktadır. Elektro-eğirme yöntemi özellikle son yıllarda nanofiberlerin üretiminde sıkça kullanılan bir yöntem olmasına rağmen sanılanın aksine yeni bir teknik değildir. Kökeni 1930'ların başına uzanmaktadır (Subbiah, Bhat, Tock, Parameswaran, & Ramkumar, 2005).

Basit bir elektro-eğirme sistemi, şırınga pompası, yüksek voltajlı bir güç kaynağından ve topraklanmış bir toplayıcıdan (iletken plaka, döner silindir v.b.) oluşmaktadır (Sill & Von Recum, 2008). Bu yöntemde öncelikle nanofiber üretimi yapılacak polimer malzeme çözücüsünde çözündürülerek veya ısı ile eritilerek polimer çözeltisi/eriyiği elde edilir. Hazırlanan polimer çözeltisi/eriyiği şırınga içine konulur, şırınganın ucuna çelik iğne takılır ve şırınga, şırınga pompasına yerleştirilir. Elektrotlardan biri çelik iğneye bir diğeri ise topraklanmış toplayıcıya bağlanarak iki elektrot arasında yüksek elektrik alan oluşturulur. Şırınga pompası yardımıyla

şırıngadan belli bir akış hızında polimer çözeltisi/eriği iğnenin ucuna itilerek damla şeklini alır, ardından yüksek elektrik alan kuvvetleri çözeltinin yüzey gerilimi kuvvetini zorlayarak Taylor konisi denilen şekli almasına sebep olur ve en sonunda polimer çözeltisinden/eriğinden 18 nanosaniyede toplayıcıya ulaşan sıvı jeti ortaya çıkar(Shin, Hohman, Brenner, & Rutledge, 2001). Bu esnada elektrik alan etkisi altındaki jet, esneme ve uzama hareketi yaparak (eğrilerek) levhaya katı nanofiberler olarak ulaşır(Şekil 2.9.). Bu aşamada polimer çözeltisinin içindeki çözücü buharlaşmaktadır(Bhardwaj & Kundu, 2010).



Şekil 2.9. Basit bir elektro-eğirme sistemi

Elektro-eğirme yoluyla nanofiber üretiminde, nanofiber morfolojisini etkileyen bir takım parametreler bulunmaktadır(Hu et al., 2014). Nanofiberin uygulanacağı alanda daha iyi bir performans sergileyebilmesi için elektro-eğirme işleminde yer alan parametreler özenle seçilmelidir. Bu parametreler çözeltiye bağlı ve elektro-eğirme işlemine bağlı ve ortama bağlı olarak üç grupta incelenmektedir.

- Çözeltiye bağlı parametreler; çözelti iletkenliği, yüzey gerilimi, dielektrik etki, çözelti viskozitesi, çözücü uçuculuğu.
- Elektro-eğirme işlemine bağlı parametreler; voltaj, akış hızı, iğne-toplayıcı arası mesafe, toplayıcının etkisi, şırınga çapı.
- Ortama bağlı parametreler; sıcaklık, nem, basınç, atmosfer tipi.

2.4. Elektropsun Nanofiber

Elektro-eğirme yöntemi ile üretilen nanofiberlere elektropsun nanofiber denir. Elektropsun nanofiberler yara ve yanık örtüsü, doku iskelesi, ilaç salınımı gibi bir çok biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Elektropsun nanofiberler son derece yüksek yüzey alanı - hacim oranına, gaz geçirgenliğine ve yüksek seviyede gözenekli bir yapıya sahiptir(Fang et al., 2008; Si et al., 2014). Bu eşsiz özelliklere sahip olan nanofiberlere bir de üretildikleri polimer malzemenin özellikleri eklendiğinde istenen bir çok özelliğe sahip nanofiberler meydana gelmektedir. Elektro-eğirme yöntemi, geniş skaladaki sentetik ya da doğal polimerlerin yapısına çeşitli biyolojik ajanlar, ilaçlar dahil edilerek spesifik nanofiber eldesini mümkün kılmaktadır(Zamani, Prabhakaran, & Ramakrishna, 2013). Bu sayede özellikle yara iyileşme sürecinde yaranın iyileşme zamanını kısaltan ve iyileşme oranını arttıran nanofiber yara ve yanık örtüleri üretilmektedir. Elektropsun nanofiberler yara iyileşmelerinde kullanıldığında yara üzerinde hücre solunumunu, cilt yenilenmesini, eksüdaların çıkarılmasını sağlar ve homeostaza destek olur(Ramakrishna, 2005).

2.5. Polimer

Polimer kelimesi birçok üye anlamına gelen Yunanca kökenli bir kelimedir. Polimerler, birçok küçük molekülün (monomer) birleşmesiyle oluşan büyük moleküller veya makromoleküllerdir. Polimer malzemeler daha iyi incelenebilmesi için bir çok farklı şekilde sınıflandırılmıştır.

Doğada bulunuşuna göre, doğal ve sentetik polimer olarak sınıflandırılmıştır. Doğal polimerler tabiattaki canlı varlıkların bünyelerinde bulunun polimerlerdir. Selüloz, kitin, nişasta gibi polisakkaritler, DNA, RNA, proteinler doğal polimerlere örnektir. Sentetik polimerler laboratuvar ortamında polimerizasyon yöntemleri kullanılarak üretilen polimerlerdir.PVA, PCL, PLA, PGA sentetik polimerlere örnek

verilebilir. Sentetik polimerlerin kimyasal reaksiyonlarla üretildiği gerçeği göz önüne alındığında farklı polimerler oluşturma olasılıkları neredeyse sonsuzdur. Bu sonsuz olasılıklar neredeyse her alanda uygulama bulan çok çeşitli sentetik polimerlerin ortaya çıkmasına sağlamaktadır(strephonsays, 2012).

Polimerler şekillendirme kabiliyetine göre, termoplastikler, termosetler ve elastomerler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır.

Termoplastikler ısıtıldığında kolayca şekillendirilebilen soğutulduğunda sertleşen polimerlerdir. Bu şekillendirme süreci geri dönüşümlü ve tekrar edilebilirdir. Termoplastik polimerler genellikle doğrusal veya az dallanmış yapılardan oluşmaktadır ancak ikincil Van Der Waals kuvvetleri (ikincil bağlar) ile birbirlerine bağlanmaktadır. Polimer malzemeye uygulanan yüksek ısı bu bağlanma kuvvetinin üstesinden gelebilmektedir. Polimer zincirleri arasında çapraz bağlar bulunmaması ısı etkisinde malzemenin erimesine imkan sağlamaktadır. Polietilen (PE), polipropilen (PP), poli (vinil klorür) (PVC), PLGA termoplastik polimerlere örnektir(Beşergil, 2003).

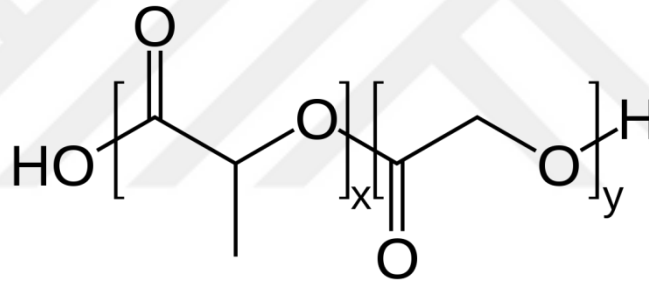
Termosetler yapısında uzun zincirli moleküller ve çapraz bağlar bulunmaktadır. Komşu molekül zincirleri birbirine kovalent çapraz bağla bağlanmaktadır. Bu nedenle yeniden şekillendirmek mümkün değildir. Şekillendirme sırasında kalıcı olarak sertleşmekte ve ısıtıldıklarında yumuşamamaktadır. Ancak çok yüksek sıcaklıklarda bu çapraz bağlar zarar görmekte ve bozulma meydana gelmektedir. PÜ, epoksiler, doymamış polisterler termoset polimerlere örnek verilebilir(Kara, 2009).

Elastomerler esnek ve sağlam polimer malzemelerdir. Malzeme oda sıcaklığında gerildiğinde kendi uzunluğunun en az iki katı kadar uzamaktadır ve gerilimin kaldırılmasıyla eski boyutuna dönmektedir. Yapısında bulundurdıkları uzun zincirler arasında hem çapraz bağ hem de ikincil Van Der Waals kuvvetleri (ikincil bağlar) bulunmaktadır. Akrilik ve poliakrilatlar, bütül, polibüten ve poliizobütülen polimerleri, etilen kopolimerleri elastomer polimerlerdir.

Polimer malzemeler yapılarına göre de homopolimer ve kopolimer olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Tek bir monomer çeşidinin tekrarlanması ile oluşan polimerlere homopolimer, iki farklı monomer çeşidinin birleşmesiyle oluşuyorsa kopolimer denir. PE, polistren homopolimerlere örnek iken polietilen tereftalat ve PLGA kopolimerlere örnektir.

2.5.1. PLGA Polimeri

PLGA, PLA ve PGA'nın bir kopolimeridir. Farklı PLA: PGA oranlarına sahip farklı PLGA kopolimer tipleri vardır. Genel olarak kullanılan PLGA kopolimer türleri 50:50 PLGA, 75:25 PLGA ve 85:15 PLGA'dır(Ulery, Nair, & Laurencin, 2011). Şekil 2.10.'da molekül yapısı gösterilmektedir. Doğrusal ve doymuş zincirlerden oluşmaktadır. Termoplastik bir polimerdir. PLGA ilaç salınım uygulamaları, cerrahi implantlar ve doku iskelesi uygulamaları gibi geniş çaplı biyomedikal uygulama alanına sahiptir. PLGA iyi bir biyolojik parçalanabilirliğe ve biyoyumluluğa sahip olması ve uygun mekanik özellikleri nedeniyle ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmış en yaygın biyolojik olarak bozunabilir sentetik kopolimerlerden biridir(Khalil, Fouad, Elsarnagawy, & Almajhdi, 2013). Vücut ile etkileşime geçtikten sonra, PLGA materyali sadece minimal bir inflamasyon yanıtı başlatır ve biyoyumlu laktik ve glikolik asitler elde etmek için ester bağlantılarının hidrolizi yoluyla biyolojik olarak bozunur(S.-J. Liu et al., 2010).



Şekil 2.10. PLGA molekül yapısı

2.6. AgNP

AgNP'ler benzersiz optik, elektriksel ve termal özelliklere sahiptir. Kronik yaralar ve çeşitli bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için yüzyıllardır kullanılmaktadır.(Vargas, do Vale Baracho, De Brito, & De Queiroz, 2010) Antibakteriyel özellikleri ile medikal uygulamalarda ön plana çıkmaktadır. Tanınan antimikrobiyal özelliklere ek olarak, gümüşün ayrıca yara iyileşmesini teşvik ettiği bilinmektedir.(Beele, Meuleneire, Nahuys, & Percival, 2010)

2.6.1 AgNP Üretim Yöntemleri

AgNP'ler fiziksel, kimyasal veya biyolojik yöntemler kullanılarak sentezlenebilmektedir.

Kimyasal yöntemler, bugüne kadar AgNP'leri üretmek için en sık kullanılan yöntemlerdir. Bildirilen çeşitli teknikler arasında kimyasal indirgeme, su veya organik çözücüler içinde dağılmış AgNP'lerin sentezlenmesi için en yaygın yaklaşımdır (Abou El-Nour, Eftaiha, Al-Warthan, & Ammar, 2010). Tipik bir kimyasal indirgeme için esas olarak üç bileşen vardır: metal öncüsü, indirgeyici madde ve stabilize edici madde (Wei et al., 2015). Kimyasal indirgeme sırasında gümüş iyonu (Ag^+), metalik formuna (Ag^0) geri dönmek için indirgeyici ajandan bir elektron alır. Daha sonra gümüş atomları, sonunda AgNP'ler oluşturan oligomerik kümeler oluşturmak üzere toplanır (Murphy, Ting, Zhang, Soo, & Zheng, 2015; Sharma, Yngard, Lin, & science, 2009). Gümüş nitrat, düşük maliyeti ve yüksek stabilitesi nedeniyle bu yöntemler için yaygın olarak kullanılan gümüş tuzudur (Ge et al., 2014). Yaygın olarak kullanılan indirgeyici ajanlar arasında borohidrit, sodyum sitrat, askorbik asit, alkol ve hidrazin bileşikleri bulunur (Wei et al., 2015). AgNP'lerin agregasyonunu önlemek için bir stabilize edici madde gereklidir. Bu koruyucu ajanlar, beklenmedik aglomerasyon yapmak için nanoparçacık yüzeyi üzerinde emilebilir veya bağlanabilir. Kimyasal indirgeme ile AgNP oluşumu, iki çekirdeklenme aşamasını ve ardından büyümeyi içerir ve her iki aşama da elde edilen nanoparçacıkların boyutu ve şekli üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Monodispers ve üniform AgNP'ler elde etmek için çekirdekler aynı anda oluşturulmalı ve büyüme tüm partiküller için aynı oranda gerçekleşmelidir. Önceki çalışmalar bu iki aşamanın reaksiyon sıcaklığı, pH, öncüler, indirgeyici maddeler ve stabilize edici gibi reaksiyon parametrelerinin ayarlanmasıyla kontrol edilebileceğini göstermektedir.

Genel kimyasal indirgeme yöntemlerini değiştirmek için farklı yaklaşımlar mevcuttur. Foto-indirgeme, AgNP üretmek için basit ve etkili bir kimyasal yöntemdir. Hem görünür ışık hem de UV ışığı, sodyum sitrat veya poli(N vinil-2-pirolidon) (PVP) gibi bir indirgeyici maddenin varlığında gümüş tuzu indirgemelerini başlatabilir (Sato-Berrú et al., 2009; Vanden-Hehir et al., 2019). Ayrıca mikrodalgalar, sonodekompozisyon ve mikroemülsiyon (Krutyakov, Olenin, Kudrinskii, Dzhurik, & Lisichkin, 2008) temelli teknikler gibi diğer bazı yaklaşımların AgNP'leri başarıyla oluşturduğu rapor edilmiştir.

Fiziksel yöntemler toksik organik kimyasallar gerektirmez ve genellikle hızlı işlem süresine sahiptir. En sık kullanılan yöntem, atmosferik basınçta bir tüp fırın

kullanılarak gerçekleştirilen buharlaştırma-yoğunlaştırmadır. Malzemeler, bir taşıyıcı gazla buharlaştırılmak üzere fırının merkezinde bulunan bir tekneye yerleştirilir(Abou El-Nour et al., 2010). Bununla birlikte bu yöntemin bir tüp fırın için geniş alan, büyük miktarda enerji tüketimi ve termal kararlılığa ulaşmak için önemli zaman gerektirmesi gibi birkaç dezavantajı vardır(ORDİN, 2017). Bu yöntemi değiştirmek için Jun ve çalışma arkadaşları, yerel bir ısıtma alanına sahip küçük bir seramik ısıtıcı kullanarak AgNP'leri sentezledi. Bu yöntemde ısıtıcının yüzey sıcaklığı uygulanan voltaj ile doğrusal ve hızlı bir şekilde artmıştır. Bu koşullar, yüksek konsantrasyonda küçük ve çok kararlı AgNP'lerin üretilmesi için uygundur.

Ayrıca lazer ablasyonu(Murphy et al., 2015; Wei et al., 2015) , ark deşarj tekniği(Tien et al., 2008), doğrudan metal püskürtme(Siegel et al., 2012), doğru akım (DC) magnetron püskürtme(Asanithi, Chaiyakun, & Limsuwan, 2012) vb. gibi başka verimli fiziksel sentez yaklaşımları da vardır. Özetle, AgNP'lerin sentezi için fiziksel yöntemler genellikle dar boyut dağılımına sahip AgNP üretmek için farklı fiziksel enerjilere dayanır. Ancak yüksek enerji tüketimi ana dezavantajdır.

Bu yöntemler çok basit ve etkilidir ancak yine de toksik kimyasallar kullanır ve boyut ve dağılımı kontrol etmek zordur. Bu nedenle son zamanlarda, AgNP üretmek için yeşil kimya yöntemlerine ilgi artmaktadır. Bir yeşil kimya yönteminde yeşil solvent ortamının seçimi, çevre dostu indirgeyici ajanlar ve toksik olmayan stabilize edici ajanlar olmak üzere üç ana faktörü göz önünde bulundurulmalıdır.

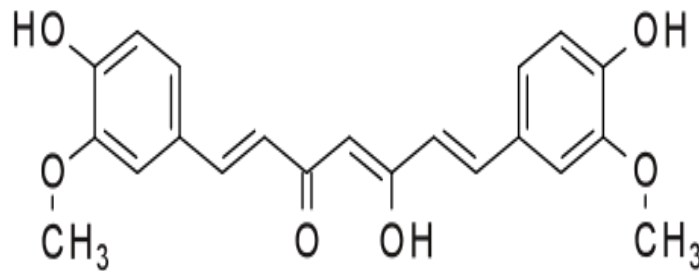
2.6.2. Yeşil Sentez İle AgNP Üretimi

Son dönemlerde fiziksel ve kimyasal AgNP üretim yöntemleri ile kıyaslandığında toksik olmayan, düşük maliyetli ve çevre dostu olan biyolojik AgNP üretim yöntemleri dikkat çekmektedir(Sepeur, 2008). Yeşil sentez çevre ile uyumlu indirgeyici ve stabilize edici ajanlar kullanılarak AgNP üretildiği bir yöntemdir. Bu yöntemde indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak bitki özütleri ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. AgNP'lerin biyosentezinde temel ilke organizmalarda ve bitki özütlerinde bulunan biyomoleküllerin Ag^+ iyonlarını indirgemesidir. Yeşil sentez yöntemi AgNP üretiminde çevresel etkiyi azaltmakta, meydana gelebilecek kontaminasyonları engellemekte, boyut ve morfoloji olarak kaliteli ve fazla miktarlarda nanopartikül üretimini sağlamaktadır. Zerdeçal(Alsammarraie et al., 2018; Selvan, Mahendiran, Kumar, Rahiman, & Biology, 2018), yeşil çay(Selvan et al., 2018),

sarımsak(Selvan et al., 2018), ganoderma applanatum(Jogaiah, Kurjogi, Abdelrahman, Hanumanthappa, & Tran, 2019), azadirachta indica(Ahmed et al., 2016), parthenium Hysterophorus(Ahsan, Farooq, Ahsan Bajwa, & Parveen, 2020) ve manuka balı(Yang et al., 2017) bitkileri yeşil sentez yöntemi ile AgNP üretiminde kullanılan bitkilere örnek verilebilir.

2.6.2.1. AgNP Üretiminde İndirgeyici ve Stabilizör Ajan Olarak Zerdeçal

Zerdeçal – Curcumin (diferuloylmethane), Zingiberaceae ailesinin bir üyesi olan *Curcuma longa*'nın rizomundan elde edilen, sarı-turuncu renkli, doğal bir polifenolik antioksidan bileşiktir (Şekil 2.11.). Geleneksel olarak, Hindistan ve diğer Asya ülkelerinde gıda ve tıbbi amaçlar için kullanılmıştır. Zerdeçal önemli anti-enflamatuar, anti-oksidan, anti-kanserojen, anti-mutajenik, anti-koagülan ve anti-enfektif etkilere sahiptir. Ayrıca önemli yara iyileştirici özelliklere sahiptir. Zerdeçal topikal olarak kullanıldığında iyileşmeyi hızlandırmak için doğal yara iyileşme sürecinin çeşitli aşamalarına etki eder(Moghaddam et al., 2009; Sidhu et al., 1998). Zerdeçal, granülasyon dokusunu artırarak ve ekstra hücrel matrikste (ECM) dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) - β 1 ve proteinlerin biyosentezini güçlendirir. Ayrıca, inflamasyonun ana nedeni olan serbest radikalleri temizler.



Şekil 2.11. Zerdeçalın molekül yapısı

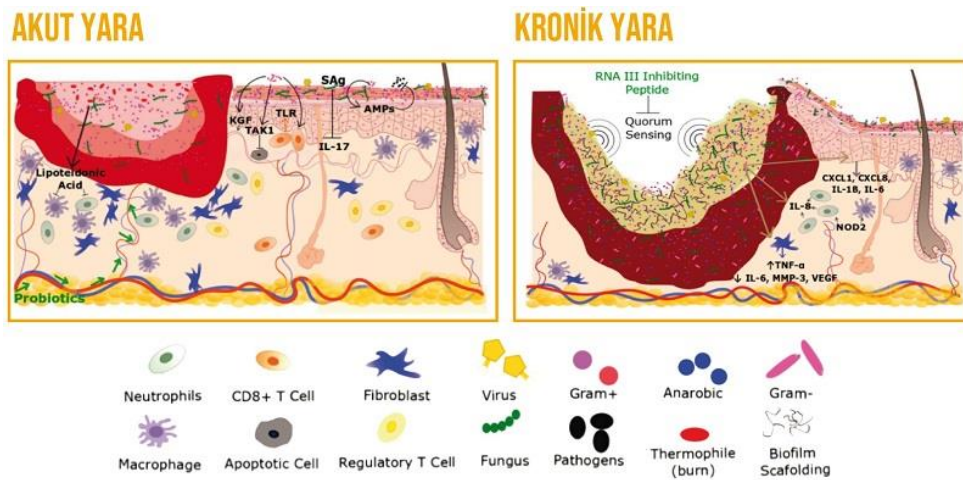
2.7. İnsan Derisinde Yara İyileşmesi

Yara doku bütünlüğünün kesik, yanık veya hastalık gibi sebeplerden dolayı bozulmasıdır. Cilt dokusu hasar gördükten sonra tekrar sağlıklı haline gelebilmek için karmaşık bir süreç ile yanıt verir. Bu süreçte yara iyileşmesi denir.

Bu bölüm yaraların sınıflandırılması ve yara iyileşme fazları olmak üzere iki alt başlıkta incelenmiştir.

2.5.1. İnsan Derisindeki Yaraların Sınıflandırılması

Yaralar iyileşme sürelerine göre akut ve kronik yaralar olmak üzere iki sınıfta incelenebilirler (Şekil 2.12). Yaraların bir kısmı beklenen süre içinde sorunsuz olarak iyileşir. Bu tip yara çeşitleri akut yaralar veya sorunsuz yaralar olarak isimlendirilirler. İyileşme zamanı yine de yaradan yaraya değişmektedir. Büyük ve derin yaralar küçük ve yüzeysellerden daha uzun sürede iyileşirler. Geniş bir kesik, uzun sürede iyileşeceğinden cerrahi olarak dikiş atılarak iyileşme süresi kısaltılır. Buna göre sorunsuz bir yara birkaç gün ile birkaç hafta arasında değişen sürede iyileşebilir. Bu tip yaralar akut yaralardır. Bir takım yaralar ise geç iyileşirler veya hiç iyileşmezler. Bu tip sorunlu yaralar kronik yaralar olarak adlandırılmaktadır. Eğer bir yara 4-6 hafta sonunda tam olarak iyileşmemişse veya 4 haftada hiçbir iyileşme belirtisi göstermiyorsa kronik yara ile karşı karşıya olduğu anlaşılır. Bir akut yara iyileşme sürecinde bazı nedenlerden dolayı kronikleşebilir. Akut yaraya sahip bir hasta şeker hastalığına sahipse, beslenme bozukluğu, damar tıkanıklığı varsa, aşırı yaşlı ise akut yara kronikleşebilir. Ayrıca akut yaranın kronikleşmesine yara bölgesine ait bazı nedenlerde sebep olabilir. Bunlar; yara bölgesinde yabancı cisim bulunması, yaranın aşırı kuru veya yara bölgesinde akıntı olması, yara yerinde ölü derilerin bulunması vb.'dir.



Şekil 2.12. Akut yara ve kronik yaranın ciltteki deformesinin gösterimi.

2.5.2. İnsan Derisinde Yara İyileşme Fazları

İdeal iyileşme sürecinde yara, (i)hemostaz, (ii)inflamasyon, (iii)proliferasyon(çoğalma) ve son olarak (iv)onarım(maturasyon) fazlarını takip etmektedir (Şekil 2.13). Bu fazlar bazı durumlarda örtüşebilirler. Kronik yaralar bu fazların hepsini tamamlayamazlar.

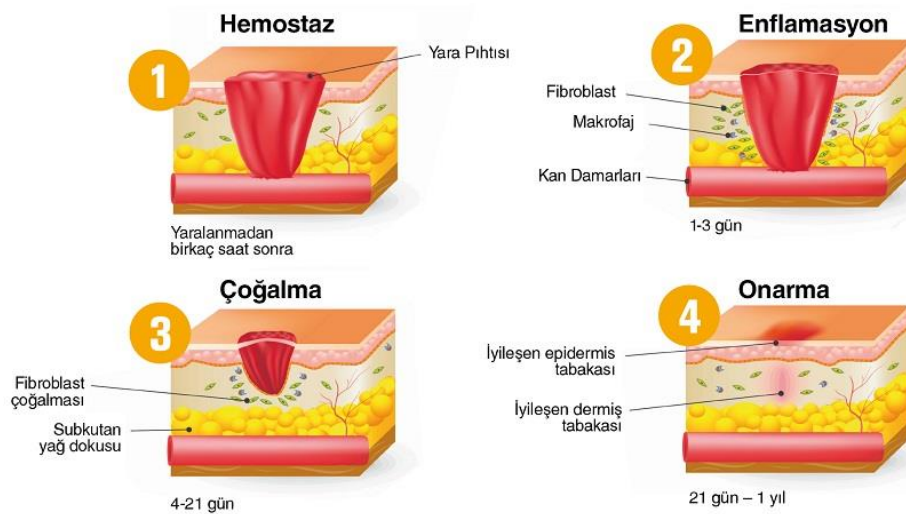
Yaralanma meydana geldiğinde kan damarlarının bütünlüğü bozulduğu için kanama olur. Hemostaz, yaranın pıhtılaşma ile kapatılması ve kanamanın durdurulması işlemidir. Hemostaz kan vücuttan sızdığında başlar. Hemostazın ilk adımı kan damarlarının kan akışını kısıtlamak için daralmasıdır. Daha sonra kan pulcukları da denilen kan hücresi olan trombositler kan damarının duvarındaki kırılmayı kapatmak için birbirine yapışır. Son olarak pıhtılaşma meydana gelir ve trombosit tıkaçını bir moleküler bağlama maddesi gibi fibrin iplikleriyle güçlendirir. Yara iyileşmesinin hemostaz aşaması çok hızlı gerçekleşir.

İnflamasyon fazı, homeostaz fazının kan akışını durdurmasının ardından iyileşme sürecini başlatmaktadır ve yaralanma olayından sonra 6 güne kadar devam etmektedir. Polimorfonükleer hücreler yara bölgesine ulaşan ilk inflamasyon hücreleridir. Bu hücreler büyüme faktörleri üretmek ve hücre kalıntıları ve yabancı partikülleri uzaklaştırmaktan sorumludur. Bu sayede yaralanma bölgesinde enfeksiyon önlenir ve bu bölgedeki hücrelerde onarım başlamış olur. İnflamasyon fazında yara bölgesinde ısı artışı, ağrı ve ödem gözlenmektedir. Bağışıklık sistemine saldıran bakterilere karşı savaşan beyaz kan hücreleri nötrofiller ve hücre kalıntılarının ve vücuttaki yabancı maddelerin yutulmasından sorumlu hücreler makrofajlar yardımıyla geri dönüşmez şekilde hasar görmüş doku ve bakteriler ortamdan uzaklaştırılır. İnflamasyon yara iyileşme sürecinin doğal bir parçasıdır ve sadece uzun süreli veya aşırı olduğunda sorundur.

Yara iyileşmesinin proliferasyon fazı, yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra yaranın kolajen ve hücre dışı matrinden oluşan yeni doku ile yeniden oluşturulduğu zamandır. Derinin kalıcı elemanları fibroblastlar tarafından üretilmeye başlanmaktadır. Fibroblastlar yara iyileşmesinde görev alan en önemli mekanizmal hücrelerdir. Hem “üretim” hem de “mekanik” görevleri vardır. Fibroblastlar kollagen liflerini üretirler. Kollagen de yaranın kasılma ve gerilme kuvvetini oluşturur. Bu safhada vücut yapısının birçok yüzeyini kaplayan virüslerin ve bakterilerin vücut içine girmesini önleyen epitel hücrelerinde çoğalma ve yara bölgesinde derece derece küçülme meydana gelir. Doku

hasarı çok büyük doku kaybı ile beraberse yenileme yara kenarlarından başlar. Epitel onarma dokusu olan granülasyon dokusunun üzerinden ilerler. Bu ilerleme epitellerin karşılıklı bir araya gelmesine kadar devam eder. Daha sonraki aşama kontraksiyondur. Yara yüzeyinin derece derece küçülmesine yara kontraksiyonu adı verilir. Yara kontraksiyonu ile yara büyüklüğü azalır. Bu olay çoğunlukla miyofibroblastlarca gerçekleşir. Granülasyon dokusu oluşup epitelizasyon tamamlandıca proliferasyon aşaması sona erer. Yara iyileşmesinin sağlıklı aşamalarında, granülasyon dokusu pembe veya kırmızıdır ve dokuda düzensizdir. Ayrıca sağlıklı granülasyon dokusu kolayca kanamaz. Koyu granülasyon dokusu enfeksiyonun bir işareti olabilir.

Maturasyon(onarma), yara iyileşmesinin en uzun süren aşamasıdır. Maturasyon fazında klinik yara kontraksiyonu, kızarıklık ve yara kalınlığında azalma, yara kuvvetinde artma görülür. Maturasyon fazında granülasyon dokusu yaralanma olayından yaklaşık 3 ila 6 hafta sonra skar dokusu ile değiştirilir ve bu olay aylarca sürebilir. Net kollajen üretimi yaralanmadan sonra ortalama 21. güne kadar sürekli bir artış gösterir. Bu aşamadan sonra kollajen sentezinde bir azalma gözlenir. Yara iyileşmesinin 21. gününde maksimum kollajen miktarına ulaşılsa da yaranın tensil kuvveti normalin ancak % 20'si kadardır. 6. haftada yaranın tensil kuvveti, olması gerekenin % 80'ine ulaşır. 21. günle 6. hafta arasında geçen ve yara kuvvetinin arttığı bu dönemde gerçekleşen asıl olay, kollajen yıkımı ve yeniden düzenlenmesidir. Yara iyileşmesinin erken dönemlerine kollajen fibrilleri düzensiz şekilde dizilmişlerdir. Bu iyileşmenin erken döneminde yüksek kollajen miktarına rağmen yara kuvvetindeki zayıflığı açıklar.



Şekil 2.13. Yara iyileşme fazları.

2.6. Yara Örtüleri

Yara bakımında amaç; mümkün olan en kısa sürede doku onarımını sağlamak, bozulmuş olan deri yapısı ya da fonksiyonel durumu düzeltmek, enfeksiyonu önlemek, akıntıyı, ödemi ve ağrıyı azaltmak ve en iyi estetik sonuca ulaşmaktır. Yara bakımının tarihi çok eski zamanlara dayanmaktadır. Son yıllarda ise yara mekanizmaları ile ilgili çalışmalar artmakta olup yara bakımında birçok farklı tedavi seçenekleri sunulmaktadır.

Yara ve yanık örtüleri çeşitli medikal ve cerrahi uygulamalarda kullanılan, yaralı bölgenin mikrop ve enfeksiyonlardan korunmasını sağlayan, yara iyileşme sürecine yardımcı olan tekstil ürünleridir. Yara ve yanık örtüleri geleneksel ve modern yara örtüleri olmak üzere ikiye ayrılır. Gazlı bez, yara bandı, bandaj, pamuk, yün vb. gibi ürünler geleneksel yara örtüleridir. Bu yara örtüleri ucuzdur ve kolayca bulunurlar. Yara akıntısının emilmesi, yaranın kuru tutulmasını sağlarlar ve bu sayede bakterilerin üremesinin önlerler. Bununla birlikte birçok eksikliklere sahiptirler. Örneğin aşırı yara sıvısı boşalması olduğunda yara örtüsü nemlenir ve yaranın yapışmasına neden olur ve çıkarırken ağrılı hale gelir. 1963'te Winter'ın yaptığı çalışmalar sonucunda nemli tutulan yaraların daha hızlı iyileştiği anlaşılmıştır ve geleneksel yara-yanık örtüleri yaraya nemli ortam sağlayamadığından yerine daha gelişmiş formülasyonlarla modern yara örtüleri geliştirilmiştir.

Film örtüler, hidrokolloidler, köpük örtüler, hidrojel örtüler modern yara örtülerine örnek verilebilir.

Hidrokolloid yara örtüleri emici bileşenlerden (tipik olarak karboksimetilselüloz , pektin veya jelatin) oluşurlar. Hidrokolloidler minimum ila orta miktarlarda yara sıvısını emebilir ve kısmi veya tam kalınlıkta akut ve kronik yaralar için uygundur. Yara sıvısı fazla olduğunda yara bölgesinde yumuşamaya neden olabilir. Mikroorganizmalara karşı koruyuculukları da çok azdır bu sebeple enfekte yaralarda kullanılmaz. Jelleştiği ve absorbe etmediği için uzun süre yara üzerinde kalması uygun değildir (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Hidrokolloid yara örtüsü

Hidrojel, %90-95 su içeren polimerlerden oluşur. Özelliği yüksek derecede bulunan yaranın akıntısını emer. Yaranın yüzeyine yapışmaz. Yaranın ateşini düşürerek serinletici bir etki yaratırlar. Mikroplara karşı durabilme özellikleri zayıf olduğundan koruma amaçlı ikinci bir örtü gerektirirler. Günümüzde kullanılan hidrojel, ideal yara örtüsü özelliklerinin çoğuna sahip olsa da hassas derinin zayıflamasına neden olabilir. Hidrojel örtüler kuru yara yüzeyine uygulandıklarında yarayı nemlendirerek yaranın iyileşmesi için nemli yara ortamı oluştururlar. Bu örtüler bir miktar yara sıvısını emebilmektedir. Su ve buhar geçirgenliği olup kolaylıkla yaradan ayrılabilir çünkü örtü ve yara arasındaki nemli ara yüzey örtünün yaraya yapışmasını engeller. (Şekil 2.15.)



Şekil 2.15. Hidrojel yara örtüsü

Köpük örtüler ise esnek ve yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip yumuşak, gözenekli materyallerdir (Şekil 2.16). Bu özellikleri ile köpük yara örtüleri yara sıvısı boşalmasının fazla olduğu yaralarda kullanılabilirler. Bazı köpüklere mikrop öldürme

performansını arttırmak için gümüş emdirilerek ya da bir tabaka şeklinde içine yerleştirilerek enfekte yani mikrop lu, iltihaplı yaralarda kullanılmaktadır. Dezavantajı ise optimum bir yara iyileştirme ortamları yara sıvısının miktarına bağlı olduğu için kuru yaralar veya kuru yara izleri için uygun değildir.



Şekil 2.16. Köpük yara örtüsü

Bu yara örtüleri ile elektrospun nanofiber yara örtüleri karşılaştırıldığında, bir elektrospun nanofiber yara örtüsü, inanılmaz derecede yüksek bir yüzey alanına, daha iyi gaz taşımaya ve verimli yara sıvısı emilimine izin verir(Zhang et al., 2005).

2.7. Elektrospun Nanofiber Yara Örtüleri

Elektrospun nanofiberler, benzersiz özellikleri sayesinde iyi bir yara iyileştirme seçeneğidirler. Yüksek gözenekli membran yapısı ile yara sıvısının absorpsiyonunu sağlarlar. Küçük gözenekler ve çok yüksek spesifik yüzey alanı sadece eksojen mikroorganizma istilasını engellemekle kalmaz aynı zamanda sıvı drenajının kontrolüne de yardımcı olur. Ek olarak elektro-eğirme işleminde nanofiberlere antimikrobiyal veya teröpatik ajanlar eklenerek fonksiyonelleştirilmiş nanofiberler elde edilebilmektedir. Bu sayede yara örtüsüne antimikrobiyal özellik, yara iyileşme süresinde kısalma vb. gibi avantajlar eklenebilmektedir(Fang et al., 2008).

Yara iyileşmesinde kullanılan elektrospun nanofiber yara örtüleri üretimi sırasında kullanılan polimer malzeme, aktif ajan v.b. sebeplerden dolayı farklı karakteristik özellikler göstermektedirler.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzemeler

3.1.1. PLGA

Bu çalışmada kullanılan PLGA, Jilin Folialux Bio-Tech Co. Firmasından temin edilmiştir. PLGA kopolimerindeki PLA: PGA oranı 75:25 şeklindedir. Beyaz renkte ve kokusuzdur. İpliksi bir yapıya sahiptir. Çalışmamızda elektro-eğirme yöntemi ile üretilen nanofiberlerde matris malzeme olarak kullanılmıştır.

3.1.2. Zerdeçal (Curcumin)

Zerdeçal, Konya'da bulunan Bitkiji Sıfalı Bitkiler aktarından temin edilmiştir. Molekül formülü $C_{21}H_{20}O_6$ 'dır. Molekül kütlesi 368.38 g/mol'dür. Erime noktası 183 °C'dir. Zerdeçal, anti-enfektif, anti-enflamatuar ve antioksidan özelliklerinden dolayı potansiyel bir yara iyileştirici ajan olarak kabul edilmektedir(Hussain et al., 2017).

3.1.3. AgNP

Çalışmada kullanılan AgNP Nanokar Nanotechnology firmasından temin edilmiştir. Gri renkte ve toz halindedir. 20 nm partikül boyutuna sahiptir. % 99,99 saflık derecesine sahiptir. pH'ı 7'dir. Çalışmamızda AgNP/PLGA nanofiberde malzemeye antibakteriyel özellik kazandırmak amacıyla kullanılmıştır.

3.1.4. Gümüş Nitrat

Gümüş nitrat önemli bir gümüş tuzudur. Kimyasal formülü $AgNO_3$ şeklindedir. Renksiz ve kokusuzdur. Ağır kristalik yapıdadır. Antibakteriyel özelliğe sahiptir. Tıpta akan kanı durdurmak amacıyla kullanılmaktadır. Suda kolay çözündüğü için farklı gümüş bileşiklerini elde etmek için sıklıkla tercih edilir.

Çalışma kapsamında AgNO_3 Nanokar Nanotechnology firmasından satın alınmıştır. %99,7 saflık derecesine sahiptir. Erime noktası 212°C , kaynama noktası 444°C 'dir. pH değeri 5.4 - 6.4 arasındadır. Zerdeçal ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül üretiminde gümüş kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.1.5. Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS)

Zayıf bir asit ile konjuge bazı veya zayıf bir baz konjuge asidinin oluşturduğu çözeltilere tampon çözeltiler denir. Önemli özellikleri bu çözeltilere az miktarda asit veya baz eklendiğinde pH değişime karşı direnç göstermeleridir.

PBS insan vücut sıvılarının iyon konsantrasyonunu, ozmolaritesini ve pH'ını taklit ettiği için biyobozunurluk testlerinde sıklıkla kullanılan bir tampon çözeltisidir. PBS, NaCl Na_2HPO_4 bazı formülasyonlarında da KCl ve KH_2PO_4 içermektedir. Numunelerin biyobozunurluk testleri için kullanılmıştır. Malzeme Gündüz Kimya firmasından GKPBS1X74 kodu ile satın alınmıştır. Çözeltinin pH'ı 7.4'tür.

3.1.6. Çözücüler

Çalışmada PLGA polimerini çözdürmek amacıyla diklorometan(DCM) ve dimetilformamid(DMF) çözücüleri kullanılmıştır.

DCM'nin formülü CH_2Cl_2 'dir. Renksizdir. Organik bir bileşiktir. Çalışmada kullandığımız DCM, Amerika'daki VWR Chemicals firmasında temin edilmiştir.

DMF'in formülü $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ 'dur. Organik bir bileşiktir. Renksiz ve kokusuzdur. Yüksek kaynama noktasına sahiptir. Çalışmamızda kullandığımız DMF, Amerika'daki Sigma-Aldrich firmasında temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Üretim Aşamasında Kullanılan Cihazlar

Çalışmanın üretim aşamasında kullanılan cihazlar, kullanım amaçları ve marka modeller Çizelge 3.1.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Üretim aşamasında kullanılan cihazlar, kullanım amaçları ve marka-modelleri.

Kullanılan Cihaz	Kullanım Amacı	Marka-Model
Manyetik Karıştırıcı	Solüsyon hazırlama aşamasında kimyasal malzemeleri çözücülerinde karıştırarak çözündürmek amacıyla kullanılmıştır.	MS-H280-Pro Dlab
Ultrasonik Karıştırıcı	AgNP içerikli solüsyon hazırlamada partikülleri titreşim yoluyla parçalamak ve malzemeyi homojenize etmek amacıyla kullanılmıştır.	Bandelin Sonoplus
Elektro Eğirme Cihazı	Nanofiber üretimi için kullanılmıştır.	Eraktek İnovasyon
Hassas Terazı	Katı malzemelerin tartımı için kullanılmıştır.	Radwag AS 220,R2
Etüv	ZE-AgNP üretiminde katı nanopartikül eldesi ve biyobozunurluk testlerinde numuneleri kurutmak ve insan vücut sıcaklığına eş değer sıcaklıkta ortam sağlamak amacıyla kullanılmıştır.	Binder VD23
UV-Vis Spektrofotometre	ZE-AgNP üretimi aşamasında kullanılması gereken zerdeçal ve AgNO ₃ miktarını belirlemek ve biyobozunurluk test aşamasında bozunma sonrası AgNP içeren nanofiberlerin incelenmek amacıyla kullanılmıştır.	HITACHI U-3900
Ultraviyole (UV) Sterilizasyon Cihazı	Antibakteriyel testte kullanılan numunelerin test öncesi sterilizasyonu için kullanılmıştır.	Fytronix

3.2.2. Test Aşamasında Kullanılan Cihazlar

Çalışmanın test aşamasında kullanılan cihazlar, kullanım amaçları ve marka modeller Çizelge 3.2.'de gösterilmektedir.

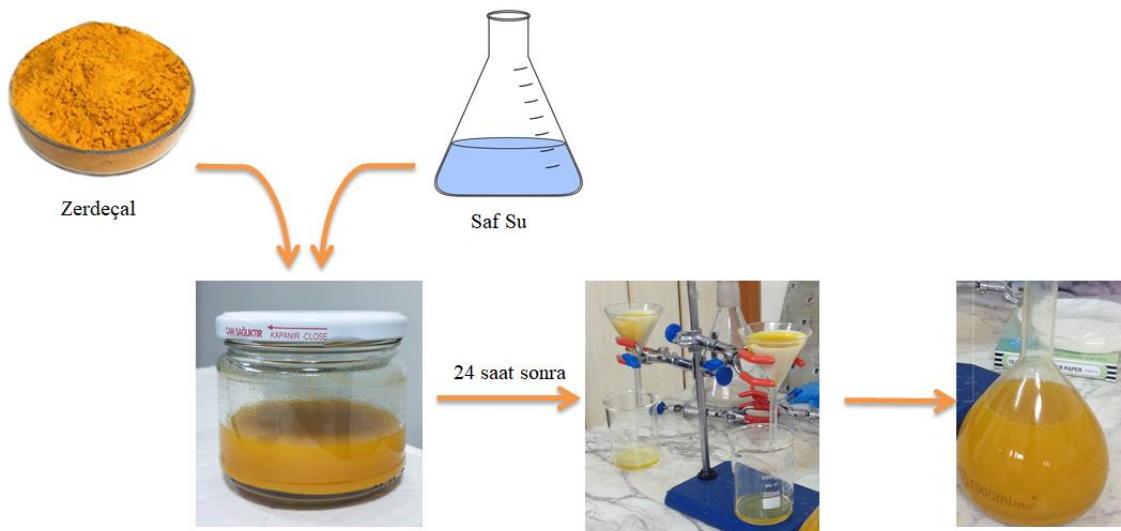
Çizelge 3.2. Test aşamasında kullanılan cihazlar, kullanım amaçları ve marka-modelleri.

Kullanılan Cihaz	Kullanım Amacı	Marka-Model
Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM)	Üretilen nanofiberlerin morfolojisini incelemek amacıyla kullanılmıştır.	ZEISS GeminiSEM 500
Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	Yeşil sentez ile üretilen AgNP'lerin ve nanofiberlerdeki AgNP'lerin boyutu ve dağılımı hakkında bilgi edinmek amacıyla kullanılmıştır.	Zeiss – EM900
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	Numunelerin molekül bağ yapıları ve bu yapılardaki bağların durumu hakkında bilgi edinilmek amacıyla kullanılmıştır.	Thermo Scientific – Nicolet iS20
X-Işını Kırınım Spektroskopisi (XRD)	Üretilen malzemelerin kristal yapılarının belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.	Panalytical EMPYREAN
Termogravimetrik Analiz Cihazı (TGA)	Nanofiberlerin artan sıcaklığa karşı göstermiş oldukları kütle	Setaram – Labsys Evo

kaybını test etmek için kullanılmıştır.		
Optik Tensiyometre(Temas Açısı Ölçüm Cihazı)	Numunelerin hidrofilik veya hidrofobik olup olmadığına karar vermek için kullanılmıştır.	Biolin Scientific Attension – Theta Lite

3.3. Zerdeçal Bitki Özütünün Hazırlanması

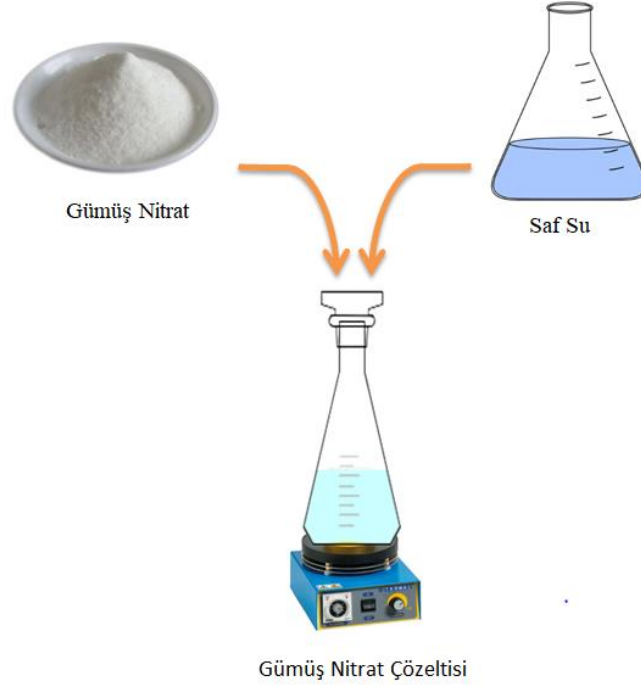
Zerdeçal tozunun sulu ekstresini hazırlamak için 25 gr organik zerdeçal tozu tartıldı ve 1000 ml saf suya eklendi. Zerdeçal özünün suya salınması için oda sıcaklığında 24 saat bekletildi. Sonra filtre kağıdı kullanılarak süzüldü ve zerdeçal ekstraktı elde edildi. Bu işlemin şematik gösterimi Şekil 3.1.' verilmiştir.



Şekil 3.1. Zerdeçal ekstraktı hazırlama.

3.4. AgNO₃ Çözeltisi Hazırlama

AgNP üretiminde kullanılmak üzere 0,1 M AgNO₃ çözeltisi hazırlandı. 250 ml saf suya 0,1 M 4,26 g AgNO₃ eklendi ve ışık almaması için alüminyum folyo ile kaplanan kapta manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Gün ışığı sebebiyle açığa çıkan fotokimyasal reaksiyonlardan etkilenmemesi için AgNO₃ çözeltisi karanlık ortamda saklanmalıdır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Gümüş Nitrat Çözeltisi Hazırlama.

3.5. Yeşil Sentez Yöntemiyle ZE-AgNP Üretimi

3.5.1. Zerdeçal Bitki Özütü ve AgNO_3 ile Optimum Çözeltinin Belirlenmesi

AgNP üretiminde kullanılacak olan çözeltinin optimum konsantrasyonda olması için gerekli zerdeçal bitki özütü miktarı ve AgNO_3 miktarı belirlendi.

AgNO_3 miktarının belirlenmesi için öncelikle zerdeçal bitki özütü miktarı sabit tutularak AgNO_3 miktarının farklı olduğu 5 çözelti hazırlandı. Toplam çözelti miktarı 10 ml'ye tamamlanmak için gereği kadar saf su eklendi.

- 5 ml ekstrakt + 1 ml AgNO_3 + 4 ml saf su
- 5 ml ekstrakt + 2 ml AgNO_3 + 3 ml saf su
- 5 ml ekstrakt + 3 ml AgNO_3 + 2 ml saf su
- 5 ml ekstrakt + 4 ml AgNO_3 + 1 ml saf su
- 5 ml ekstrakt + 5 ml AgNO_3 + saf su eklenmez.

Zerdeçal bitki özütü miktarının belirlenmesi için ise AgNO_3 miktarının sabit, zerdeçal miktarının farklı olduğu 5 çözelti hazırlandı. Toplam çözelti miktarı 10 ml'ye tamamlanmak için gereği kadar saf su eklendi.

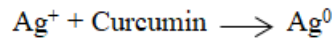
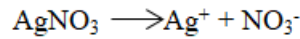
- 1 ml ekstrakt + 5 ml AgNO_3 + 4 ml saf su

- 2 ml ekstrakt + 5 ml AgNO₃ + 3 ml saf su
- 3 ml ekstrakt + 5 ml AgNO₃ + 2 ml saf su
- 4 ml ekstrakt + 5 ml AgNO₃ + 1 ml saf su
- 5 ml ekstrakt + 5 ml AgNO₃ + saf su eklenmez.

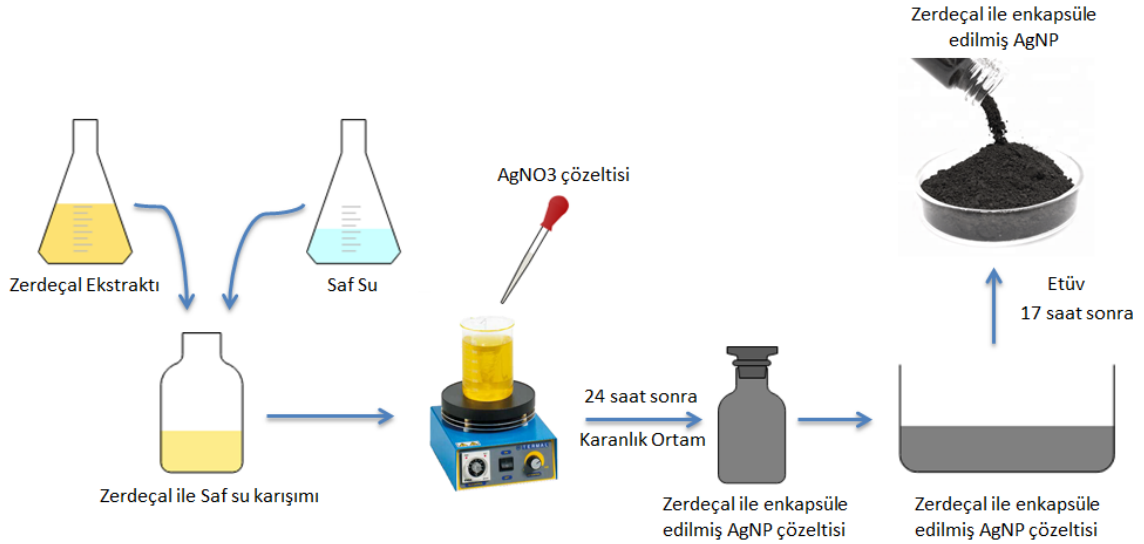
Ardından hazırlanan çözeltilerin hepsi 24 saat karanlık ortamda bekletildi. Bu süre zarfında AgNP'lerin indirgenmesine bağlı olarak renk değişimleri meydana gelmektedir. Renk değişimi AgNP varlığını göstermektedir. Bu işlemin sonra UV-Vis spektrofotometresinde renk değişimi gerçekleşen çözeltilerin pik değerleri ölçüldü. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde 400-500 nm arası maksimum dalga boyları AgNP'lerin varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Swamy, Akhtar, Mohanty, Sinniah, & Spectroscopy, 2015). Bu nedenle spektrofotometrede ölçülen değerlerde pik sayılarının 400-500 nm aralığında olması beklendi.

3.5.2. AgNP Üretim Aşaması

AgNP'ün yeşil sentezi için bir kaba 4 ml zerdeçal ekstraktı ve 5 ml saf su eklendi. Bunlar manyetik karıştırıcıda karıştırılırken 1 ml 0,1 M AgNO₃ çözeltisinden pipet kullanılarak damla damla eklendi. Elde edilen çözelti 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. İndirgenme süresi boyunca fotokimyasal reaksiyonların gerçekleşip gümüşün yapısının bozulmaması için solüsyon karanlık ortamda bekletildi. (Shameli et al., 2014) Solüsyon ilk başta açık sarı renge sahipti. Gece boyunca bekledikten sonra koyu gri renge dönüştü. Bunun sebebi zerdeçalın gümüş iyonlarını AgNP'lere indirgemesidir. Solüsyondaki gümüş iyonlarının azalmasıyla renk değişikliği meydana gelmektedir. (MubarakAli, Thajuddin, Jeganathan, Gunasekaran, & Biointerfaces, 2011)



Elde edilen AgNP solüsyonu 17 saat etüvde kurutuldu ve ardından toz haline getirildi. Sonuç olarak ZE-AgNP elde edildi (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. ZE-AgNP üretim aşamaları.

3.6. Solüsyon Hazırlama

Yara örtüsü uygulamasında kullanılmak üzere elektro-eğirme yöntemi ile üretilcek nanofiberler için PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA şeklinde 3 farklı solüsyon hazırlanmıştır.

3.6.1. PLGA Solüsyonu Hazırlama

PLGA solüsyonu elde etmek için %20 w/v oranında kullanılan PLGA(PLA/PGA = 75:25) polimeri ve DMF/DCM (50:50, v/v) çözücülerini kullanıldı. Karıştırma kabına öncelikle DMF ve DCM çözücülerini eklendi ve içine manyetik balık konuldu. Çözücüler manyetik karıştırıcıda karışırken PLGA polimeri eklendi. Solüsyon 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve PLGA'nın çözücü içinde tamamen çözünmesi sağlandı.

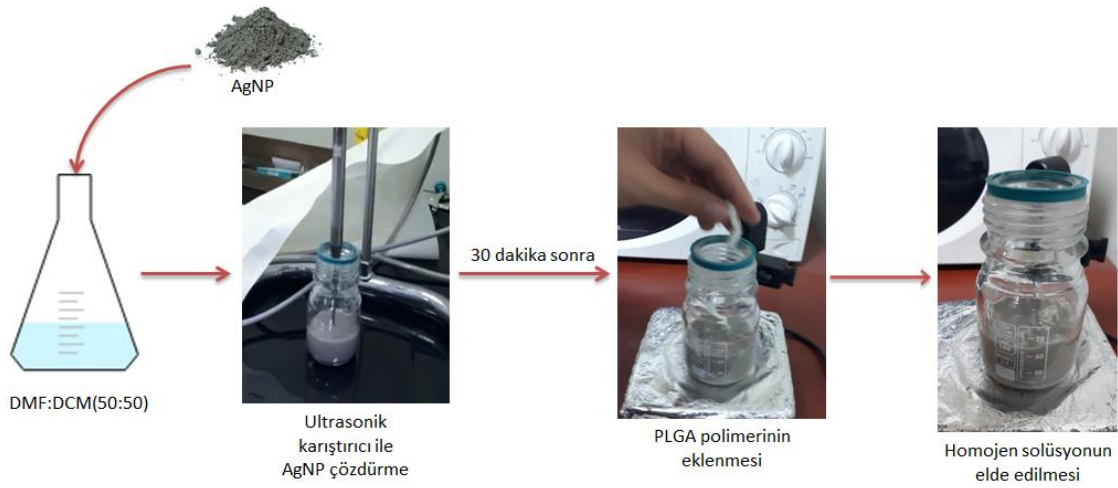
3.6.2. AgNP/PLGA Solüsyonu Hazırlama

Gümüş katkılı PLGA solüsyonu elde etmek için öncelikle karıştırma kabına DMF/DCM (50:50, v/v) çözücülerini eklendi. Ardından %1 oranında saf AgNP eklendi ve ultrasonik karıştırıcıda 30 dakika karıştırıldı. Bir sonraki adım olarak %20 w/v

oranında PLGA(PLA/PGA = 75:25) eklendi ve manyetik karıştırıcıda 24 saat boyunca karıştırıldı. Gümüş katkılı PLGA solüsyonu elde edildi.

3.6.3. ZE-AgNP/PLGA Solüsyonu Hazırlama

ZE-AgNP/PLGA solüsyonu hazırlamak için öncelikle DMF/DCM (50:50, v/v) çözücüsü içine daha önceden yeşil sentez yöntemiye elde edilen ZE-AgNP %1 oranında eklendi. 30 dakika boyunca ultrasonik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra %20 w/v oranında PLGA(PLA/PGA = 75:25) polimeri eklendi ve 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. ZE-AgNP/PLGA solüsyonu elde edildi (Şekil 3.4.).



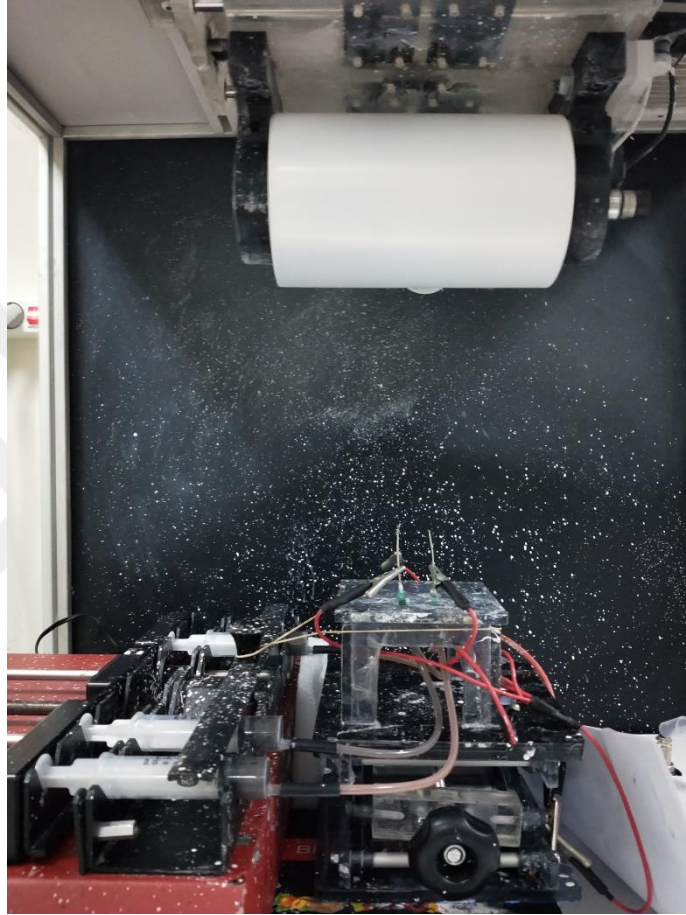
Şekil 3.4. ZE-AgNP/PLGA solüsyonu hazırlama aşamaları

3.7. Elektro-Eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi

Öncelikle hazırlanan tüm solüsyonların üretimleri ayrı ayrı yapılmıştır. Fakat aynı üretim tekniği kullanılmıştır. Küçük çaplı, boncuksuz kaliteli nanofiberler elde edebilmek için farklı akış hızı, voltaj ve şırınga ile toplayıcı arası mesafe parametreleri kullanılmıştır (Çizelge 3.3.).

Elektro-eğirme işlemi için hazırlanan solüsyon 3 adet şırıngaya 4'er ml şeklinde dolduruldu. Şırıngalar belirli akış hızına ayarlanan şırınga pompasına yerleştirildi. Şırıngaların ucuna çelik iğne takıldı. Silindirik toplayıcıya alüminyum folyo sarıldı. Çelik iğne ile silindirik toplayıcı arası mesafe belirlenen ölçüde ayarlandı. Güç kaynağının pozitif ucu çelik iğneye, toprak ucu silindirik toplayıcıya bağlandı.

Sistem çalıştırıldığında solüsyon şırınga pompası yardımıyla şırıngadan gönderilerek yüksek elektrik alan kuvvetine maruz kalmakta ve nanofiber şeklinde silindirik toplayıcıya ulaşmaktadır. Bu esnada silindirik toplayıcı hem kendi etrafında dönmekte hemde sağa sola hareket etmektedir. Böylece alüminyum folyo üzerine nanofiber eşit olarak dağılmaktadır.



Şekil 3.5. Elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber üretim aşaması.

Çizelge 3.3. Elektro eğirme işleminde kullanılan parametreler

Nanofiber	Akış Hızı(mm/h)	Voltaj(kV)	Mesafe(cm)
PLGA Nanofiber	0,4	25	13
AgNP/PLGA Nanofiber	0,5	26	15
ZE-AgNP/PLGA Nanofiber	0,3	28	14

3.8. Spreyleme Yöntemi ile Zerdeçal/PLGA Nanofiber Eldesi

Üretilen saf PLGA nanofiberlerden birden fazla üretildi. Üretilen bu nanofiberlerden birkaçı zerdeçal ekstraktlı PLGA nanofiber elde etmek için kullanıldı. Önceden hazırlanan, yeşil sentez ile AgNP üretiminde de kullanılan, zerdeçal ekstraktı

sprey şişesine dolduruldu. Saf PLGA nanofibere spreyleme yolu ile eklendi (Şekil 3.5.). Sonucunda zerdeçal ekstraktı katkılı PLGA elde edildi.



Şekil 3.6. Spreyleme İşleminin Şematik Gösterimi

3.9. Karakterizasyon

Elektro-eğirme ve spreyleme yöntemleri kullanılarak üretilen PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerin mukavemetleri, antibakteriyel özellikleri, fiber çapları ve dağılımları, içerdikleri AgNP'lerin dağılımı ve boyutları, kristal yapıları, molekül yapıları ve bağları, ısıya karşı duyarlılıkları, su emme kapasiteleri ve biyobozunurlukları bir takım analiz yöntemleri ile incelenmiştir.

3.9.1. FE-SEM Analizi

Çalışma kapsamında PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerin morfolojisi FE-SEM analizi ile incelenmiştir. Ayrıca yine bu numunelerin morfolojik bozunmalarını görmek amacıyla biyobozunurluk sonrası FE-SEM mikrograf görüntüleri alınmıştır. FESEM analizi için öncelikle üretilen PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerden 1x1 cm² boyutlarında numuneler kesildi. Görüntüleme öncesi iletkenliği arttırmak için numuneler 5,31 nm boyutunda altın paladyum kaplandı. Biyobozunluk işleminden sonra tekrar FE-SEM

görüntülerine bakılan numuneler ise 4,24 nm boyutunda iridyum ile kaplandı. Görüntüleme sonrası nanofiber çaplarının ölçümü için ImageJ yazılımı kullanıldı.

3.9.2. TEM Analizi

Çalışmamızdan AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerde ve yeşil sentez yöntemizle ürettiğimiz ZE-AgNP’lerde nanopartikül boyutları ve dağılımları incelenmiştir.

3.9.3. XRD Analizi

Bu çalışmada XRD ile AgNP içeren numunelerin kristal yapıları analiz edilmiştir. XRD ölçümü 0.05 ° adım boyutunda, 0-80° aralığında ve 1 %/dakika tarama hızında kaydedilmiştir.

3.9.4. FT-IR Analizi

Üretilen PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA, ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin ve ZE-AgNP’lerin kimyasal karakterizasyonu FT-IR analizi ile yapılmıştır. Analiz sırasında spektrum aralığı 4000-400 cm⁻¹ olarak alınmıştır.

3.9.5. TGA Analizi

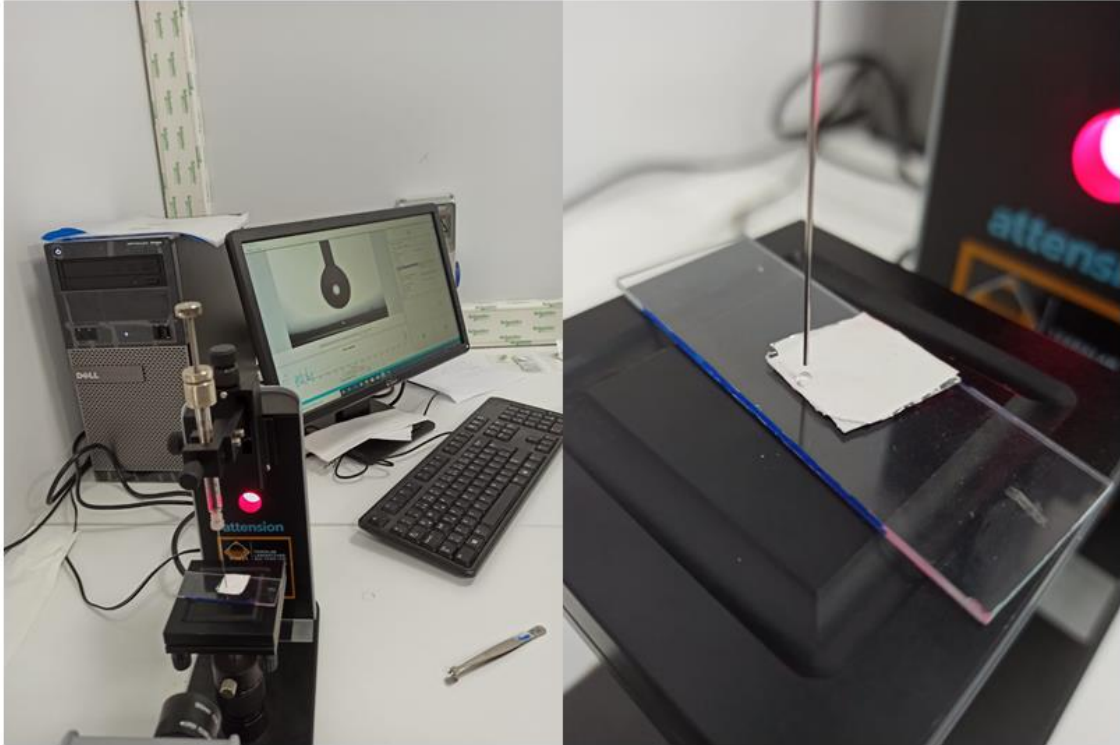
Nanofiberlerin artan sıcaklığa karşı göstermiş oldukları kütle kaybı TGA analizi ile incelenmiştir. Analiz azot atmosferi altında ve 0-500 °C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. 20 °C/dk ısıtma değerinde ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3.9.6. Su Temas Açısı

Temas açısı, malzemenin yüzeyine damlatılan sıvıyla ıslanma miktarının ölçülmesidir. Numuneye damlatılan sıvı ile atmosferik ortam arasındaki yüzey gerilimi sebebiyle kavisli bir görünüm oluşmaktadır. Numune yüzeyine sıvı damlatıldıktan sonra numune ile damlatılan sıvı ve damlatılan sıvı ile atmosferik ortam sınırından teğetler

çizilmekte ve bu şekilde temas açısı ölçülmektedir. Ölçülen temas açısı 90^0 'den büyük ise malzeme hidrofobik, 90^0 'den küçük ise malzeme hidrofiliktir.

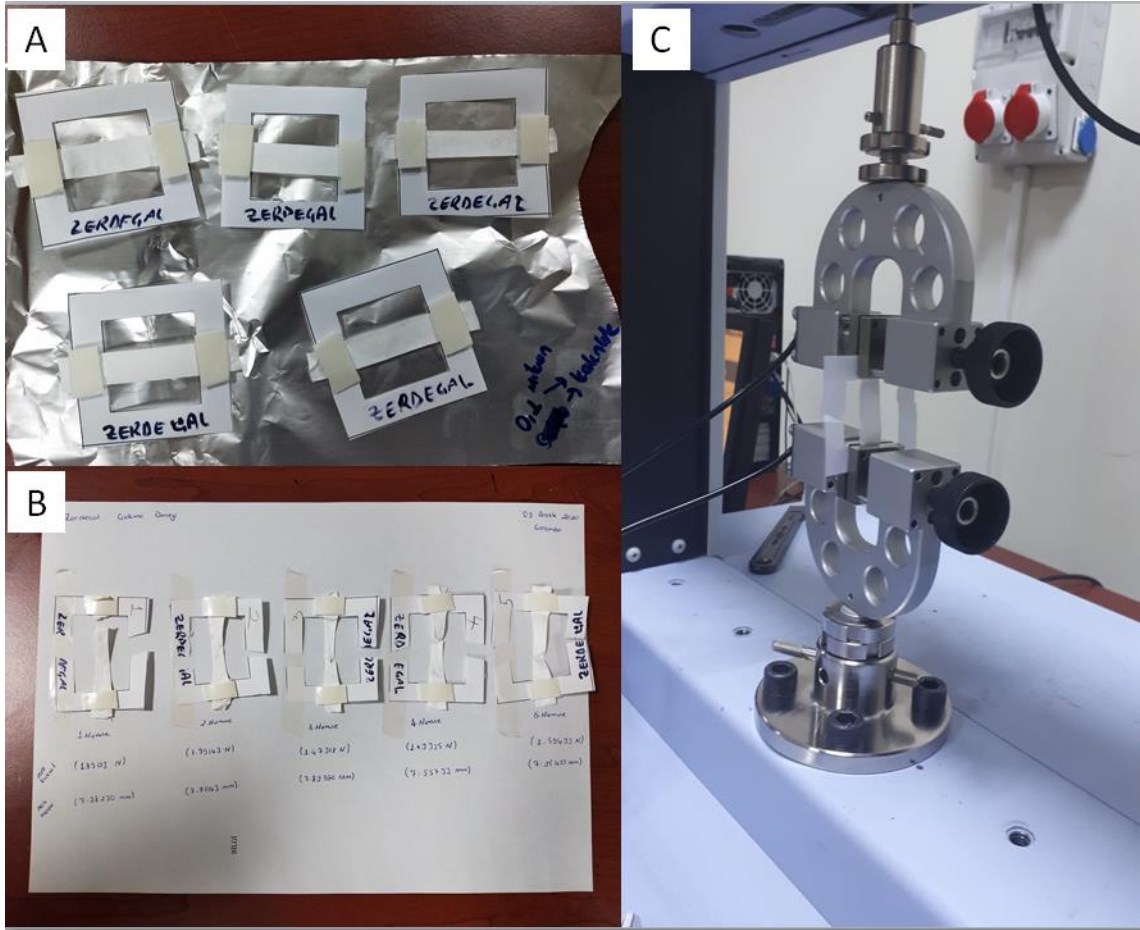
Çalışmamızdan numunelerin hidrofilik veya hidrofobik olup olmadığına karar vermek için su temas açısı ölçümü yapılmıştır. Her bir nanofiberin su temas açısı ölçümünde numuneye 5 μ l su damlası damlatılmıştır. Numunenin su damlasını emmesi beklendikten sonra numune ile su damlası arasındaki temas açısı ölçülmüştür (Şekil 3.6).



Şekil 3.7. Su temas açısı ölçüm cihazı ile numunelerin su tutma kapasitelerinin ölçülmesi.

3.9.7. Mekanik Karakterizasyon

Elektrospun nanofiberlerin mekanik özelliklerini incelemek için numunelere çekme testi uygulanmıştır. Çekme testi uygulanacak numuneler 1 cm genişliğinde 5 cm uzunluğunda kesilmiştir. Kalınlıkları mikrometre kullanılarak ölçülmüştür. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiber olmak üzere her bir numuneden 5 farklı örnek test edilmiştir. Toplamda 20 nanofibere çekme testi uygulanmıştır. Uygulama 12 mm/dk çekme hızı ve 20 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7.).



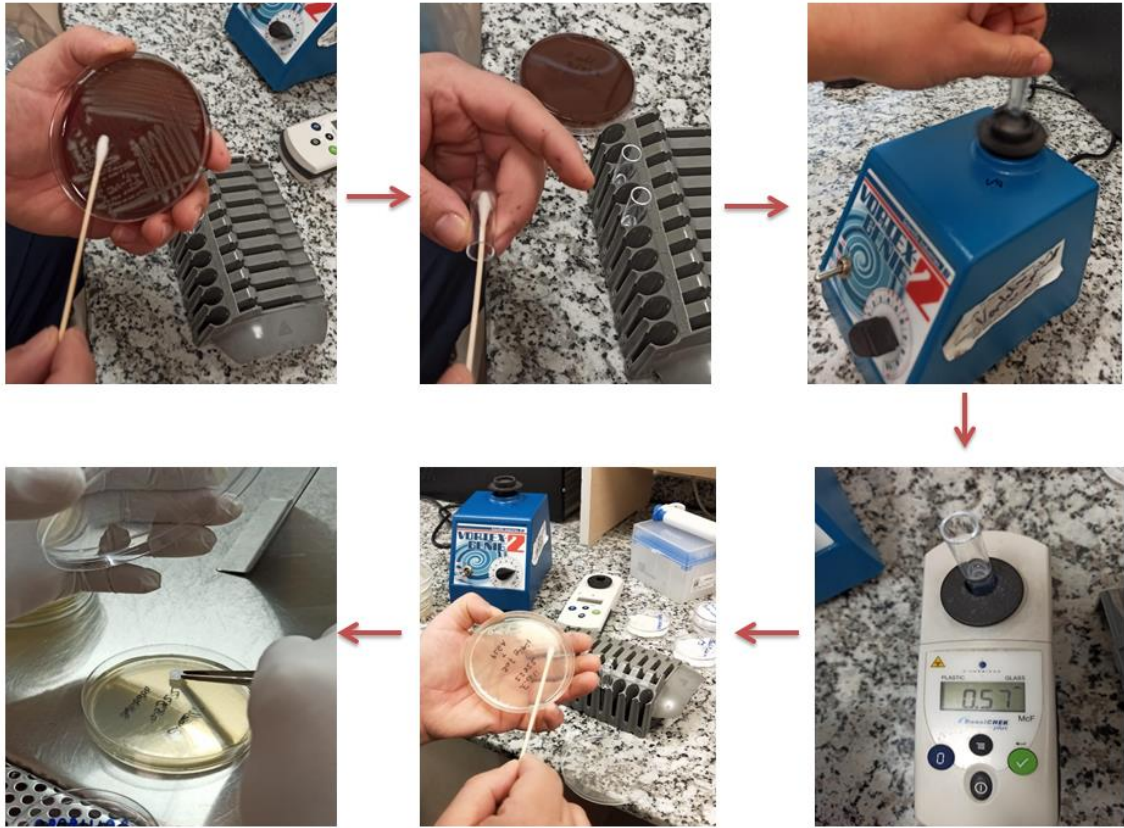
Şekil 3.8. (A) Çekme testi öncesi ZE-AgNP/PLGA nanofiber numuneleri. (B) Çekme testi sonrası ZE-AgNP/PLGA nanofiber numuneleri. (C) Çekme testi uygulama aşaması. Uygulama tüm numuneler için gerçekleştirilmiştir. Görseldeki numuneler örnek amaçlıdır.

3.9.8. Antibakteriyel Özellikler

Nanofiberlerin antibakteriyel özellikleri disk difüzyon yöntemi ile incelendi. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberler 10 mm çapında daireler şeklinde kesildi. Nanofiberler test öncesi 2 saat UV ışığı ile steril edildi. Antibakteriyel değerlendirme için gram-negatif bakteri olarak *Escherichia Coli* 25922 (*E.coli*), gram-pozitif bakteri olarak *Staphylococcus Aureus* 29213 (*S.aureus*) kullanıldı. Bakteriler Mueller Hinton Broth besiyerinde önceden kültürlendi. 24 saat 37 °C’ de kültürlenen bakteriler peptonlu su ile seyreltildi. Seyreltme işleminde bir miktar peptonlu su içine alınan bakteri 37 °C, 180 rpm’de santrifüjlendi. Bakteri konsantrasyonu hücre densitometresi ile ölçüldü. Disk difüzyon yönteminde bakteri ekimi aşamasında bakteri konsantrasyonu 0,4-0,5 McF arasında istenmektedir. Bu işlemten sonra seyreltilen bakteri kültürü Mueller Hinton Agar plakalarına ekildi. 10

mm çapında disk şeklinde kesilerek hazırlanan nanofiber numuneleri belirli aralıklarla bakteri ekili petrilere steril bir pens yardımıyla yerleştirildi. 24 saat 37 °C’ de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında nanofiber diskler çevresinde oluşan zon çapları ölçüldü (Şekil 3.8.). İnhibasyon zon çapının büyüklüğü malzemenin göstermiş olduğu antibakteriyellik ile doğru orantılıdır.

Antibakteriyel aktivite testinde kullanılan *E.coli* 25922 ve *S.aureus* 29213 bakterileri Necmettin Erbakan Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Labotaruvarı’ndan sağlanmıştır. Antibakteriyel test işlemlerin hepsi bu laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



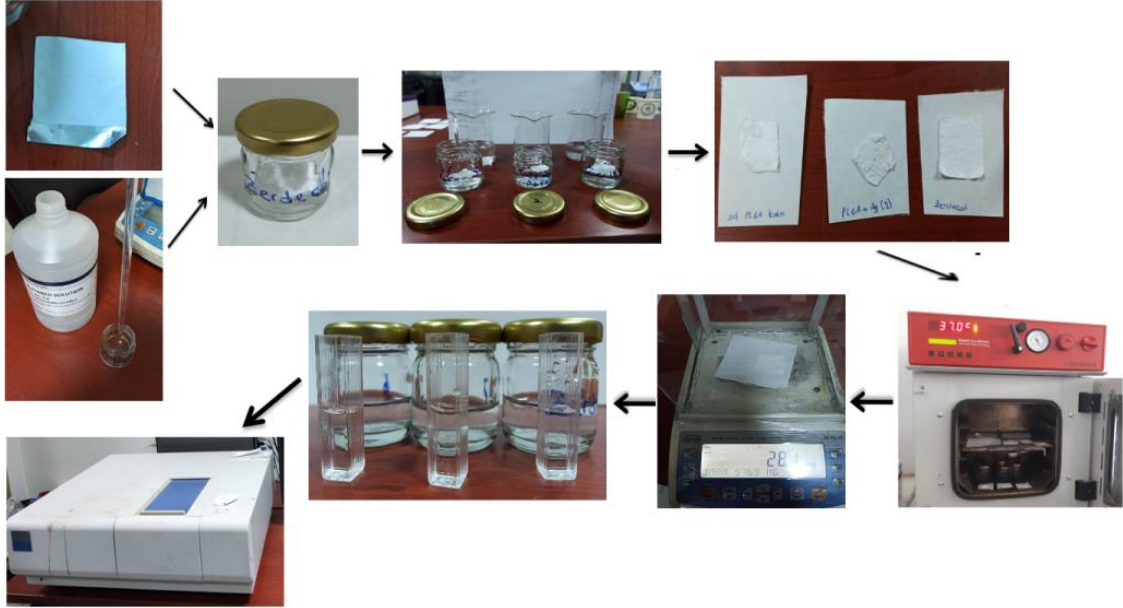
Şekil 3.9. Antibakteriyel test uygulaması.

3.9.9. Biyobozunurluk

Elektrospun nanofiberlerin biyobozunurluk testleri için her bir nanofiberden 3x3 cm boyutlarında numuneler kesildi. Her numunenin ilk ağırlığı ölçüldü ve ardından 15 ml 7.4 değerinde PBS solüsyonu içeren kapaklı cam kavanozlara yerleştirildi. 2 ay boyunca 37 °C’de PBS solüsyonunda tutuldu. Haftada 1 defa numuneler solüsyondan çıkarılıp saf su ile yıkandı ardından ilk ıslaklıkları filtre kağıdı ile alındı. Kurumaları

için 24 saat boyunca 37 °C'ye ayarlanmış etüvde bekletildi. 24 saat sonra kuru ağırlıkları ölçüldü.

2 aylık bozunma sürecinin ardından nanofiber numunelerin bekletildiği PBS solüsyonları UV-Vis spektrofotometre kullanılarak incelendi. Bu şekilde bozunma sonrası PBS solüsyonlarına nanofiberlerden salınan AgNP yoğunlukları tespit edildi (Şekil 3.9.).



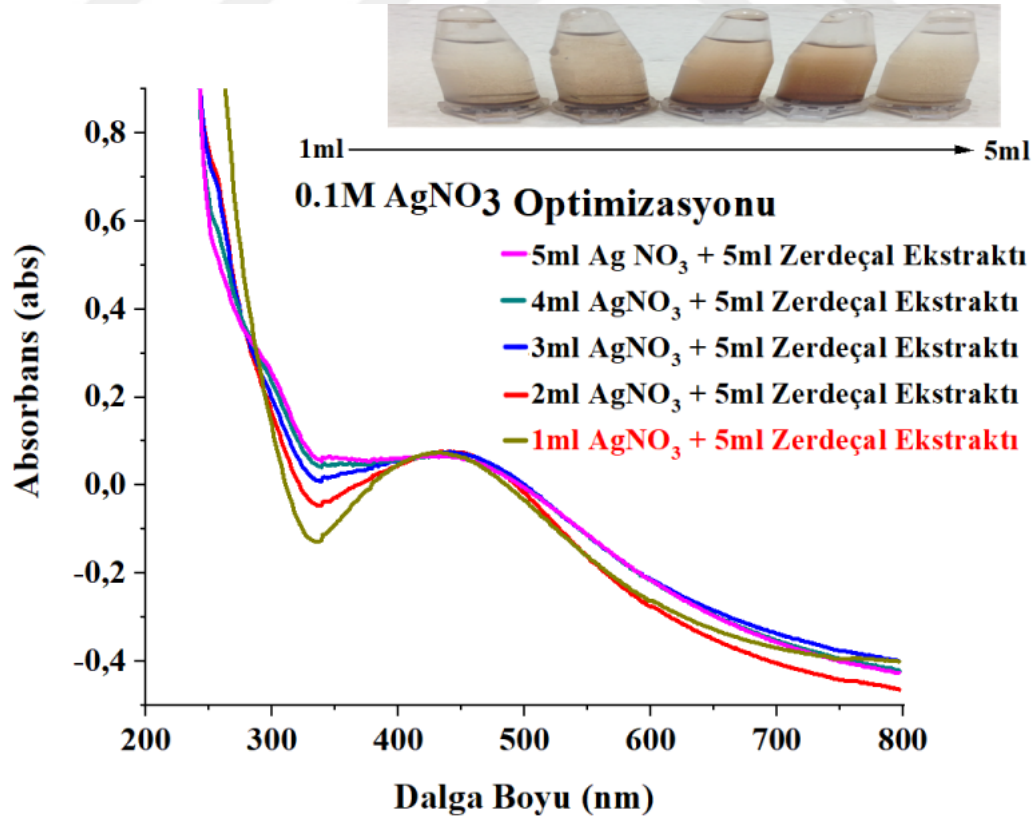
Şekil 3.10. Biyobozunurluk test aşamaları

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. ZE-AgNP Analiz Sonuçları

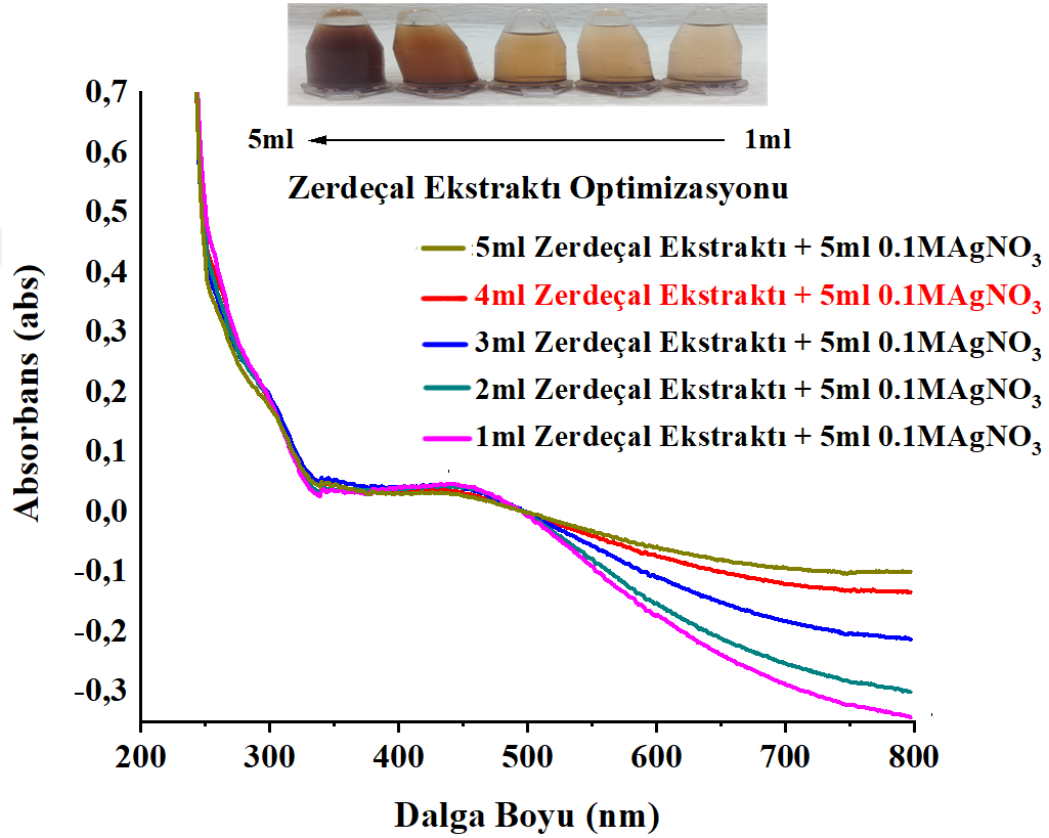
4.1.1. Zerdeçal Bitki Özütü ve AgNO_3 ile Optimum Çözeltinin Belirlenmesinde UV-Vis Spektrofotometre Sonuçları

Şekil 4.1.'de AgNO_3 konsantrasyonunun optimizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla hazırlanan çözeltilerin UV-Vis spektrumları gösterilmektedir. Bu optimizasyon çalışması, AgNO_3 konsantrasyonunun artırılmasıyla gümüş iyonlarının konsantrasyonunun arttığını ve pikin genişlediğini göstermiştir. Çözelti rengi de konsantrasyon arttıkça koyulaştığı görülmüştür. Genişletilmiş tepe noktası ayrıca çözeltideki fazla Ag iyonlarının serbest mevcudiyeti nedeniyle artan aglomerasyon oranını da gösterdi. Bu optimizasyon sonuçları 1 ml AgNO_3 hacminin en iyi sonucu verdiğini gösterdi. Bu nedenle 1 ml AgNO_3 hacmi AgNP üretimi için gerekli miktar seçildi.



Şekil 4.1. 1-5 ml olmak üzere farklı miktarlarda AgNO_3 ve 5 ml zerdeçal ile sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları.

Şekil 4.2.'de ise zerdeçal konsantrasyonunun optimizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla hazırlanan çözeltilerin UV-Vis spektrumları gösterilmektedir. Zerdeçal ekstraktı hacminin optimizasyonu sonuçları 4 ml zerdeçal ekstraktı hacminin en iyi sonucu verdiğini göstermektedir. Bu nedenle 4 ml zerdeçal ekstraktı hacmi AgNP üretimi için gerekli miktar seçildi.



Şekil 4.2. 1-5 ml olmak üzere farklı miktarlarda zerdeçal ve 5 ml 0,1 M AgNO_3 ile sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları.

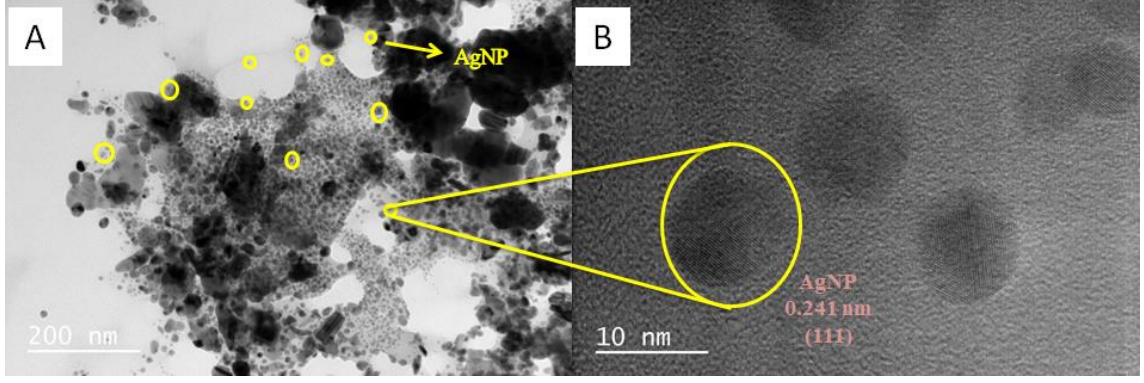


Şekil 4.3. ZE-AgNP'lerin formülasyon gösterimi(Sankar et al., 2017).

Belirlenen ölçüler kullanılarak zerdeçal ZE-AgNP üretilmiştir. Bu aşamada zerdeçal ile AgNO_3 kimyasal etkileşime girmiştir ve zerdeçal ekstraktı ile Ag^+ iyonlarının Ag^0 'a indirgenerek zerdeçal ile enkapsüle edilmiş AgNP elde edilmiştir. (Şekil 4.3.).

4.1.2. ZE-AgNP'lerin TEM Analizi

Şekil 4.4'te ZE-AgNP'ün TEM görüntüler verilmektedir. Üretilen AgNP'lerin ortalama çapı 13 nm'dir. AgNP'ler küresel bir yapıya sahiptir ve rastgele dağılım göstermiştir. Nanopartiküllerin etrafında bulunan açık tonda gri renkler nanopartiküllerin enkapsüle edildiğini göstermektedir. ZE-AgNP'ler, (111) kristal kafes düzlemine karşılık gelen 0.241 nm'lik düzlemler arası mesafe göstererek küresel şeklini ve kristallliğini doğrulamıştır(Jatoi, Kim, & Ni, 2019). Literatürdeki diğer çalışmalar ile kıyaslandığında daha küçük boyutlu nanopartikül elde edilmiştir (Alsammarraie et al., 2018; Song, Wu, Wang, Han, & C, 2019). Nanopartiküllerin boyutları küçüldükçe yüzey alanı – hacim oranı arttığı için bu durum yara iyileşmesi açısından olumlu etkilere sahiptir.



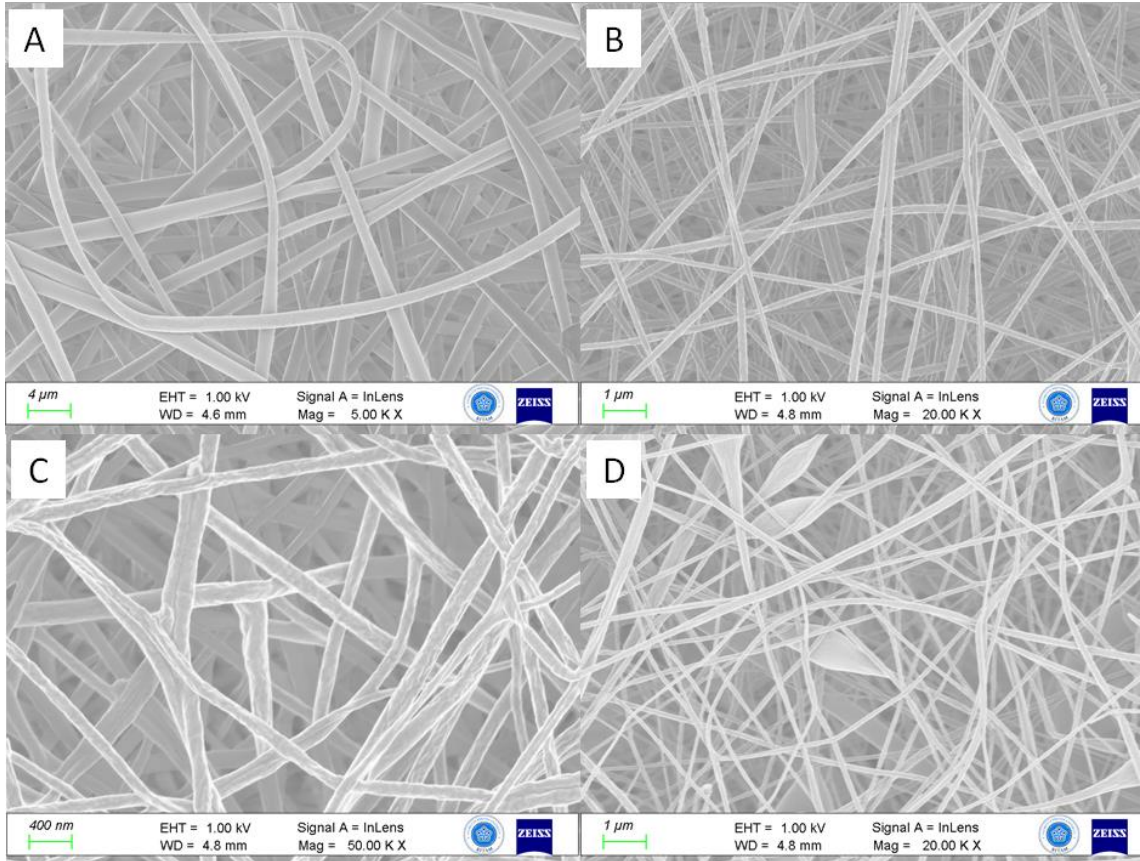
Şekil 4.4. Yeşil sentez yöntemiyle üretilen ZE-AgNP'nin TEM görüntüleri.

4.2 Elektropsun Nanofiber Analiz Sonuçları

4.2.1. FE-SEM Analiz Sonuçları

Şekil 4.5'te Saf PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerin FE-SEM mikrografları gösterilmektedir. PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerin ortalama çapları sırasıyla 1,13 μm , 117,3 nm, 124,7 nm ve 126 nm'dir. Nanofiberlere AgNP eklendiğinde daha ince fiberler elde edilmiştir. Bunun sebebinin AgNP'lerin yük yoğunluğunu ve iletkenliği artırması olduğu daha önce Góra ve diğerlerinin(Góra, Prabhakaran, Eunice, Lakshminarayanan, & Ramakrishna, 2015) çalışması ile açıklanmıştır. Góra ve diğerleri(Góra et al., 2015), yaptığı çalışmada PLGA nanofiber ve % 6 oranında AgNP katkılı PLGA nanofiberin SEM mikrograflarını incelemiştir. Bunun sonucunda saf PLGA nanofiberin çapı 781 ± 130 nm iken %6 AgNP katkılı PLGA nanofiberin çapı 538 ± 72 nm bulunmuştur. Çalışmamızda üretilen nanofiberin çapları Góra ve diğerlerinin çalışmasında üretilen nanofiberin çapları farklıdır. Bunun sebebi üretim parametreleri, kullanılan çözücüler vb. bir çok faktörden kaynaklı olabilir. AgNP/PLGA nanofiber ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberin çapları kıyaslandığında AgNP/PLGA nanofiberin ortalama çapı daha azdır. Çünkü ZE-AgNP/PLGA nanofiberde Ag^+ iyonları zerdeçal molekülleri ile indirgenip enkapsüle olduğu için gümüşün iletkenliğini azalmaktadır. Saf PLGA nanofiberler pürüzsüz bir yüzeye sahipken gümüş katkılı fiberler daha pürüzlü yarı granül yapıya sahiptir. Bu yarı granül pürüzlü yapılar nanofiberdeki AgNP'lerin varlığını göstermektedir. Nanofiber yüzeyinin pürüzlü olması yüzey alanını arttırdığı için yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. SZ/PLGA nanofiberlerde spreyleme işleme fiber

üretiminden sonra gerçekleştirildiği için fiber çapı üzerinde bir etkisi bulunmamaktadır. Fakat FE-SEM mikrografı incelendiğinde bazı yerlerde fiberler üzerinde spreylemeden kaynaklı zerdeçal ekstraktı toplulukları görülmüştür. Saf PLGA ve SZ/PLGA nanofiberler farklı kalınlıklarda fiber içeriğine sahipken AgNP/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA daha benzer kalınlıklarda fiberler içermektedir.

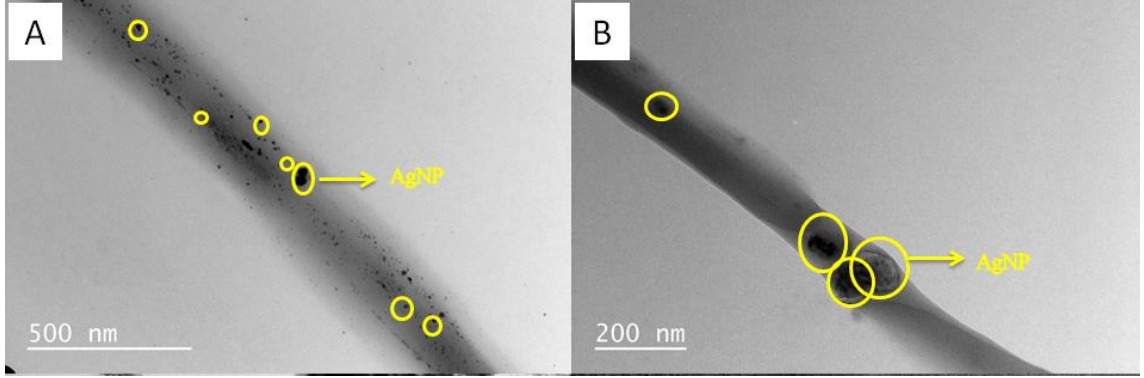


Şekil 4.5. (A,B,C,D) sırasıyla PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiberlerin FE-SEM görüntüleri.

4.2.2. TEM Analiz Sonuçları

Şekil 4.6'da (A)AgNP/PLGA nanofiberin ve (B)ZE-AgNP/PLGA nanofiberin TEM görüntüleri verilmektedir. Bu mikroskop ile AgNP'lerin yapısı incelenmiştir. AgNP/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin her ikisinde de AgNP'lerin varlığı net bir şekilde görülmektedir. AgNP/PLGA nanofiberde ZE-AgNP/PLGA nanofibere göre AgNP yoğunluğu dah fazla olduğu tespit edilmiştir. AgNP yoğunluğu ile malzemenin antibakteriyel aktivitesi doğru orantılıdır. AgNP/PLGA nanofiber literatürdeki diğer çalışmalarla benzer sonuçlar verirken ZE-AgNP/PLGA nanofiber literatürdeki

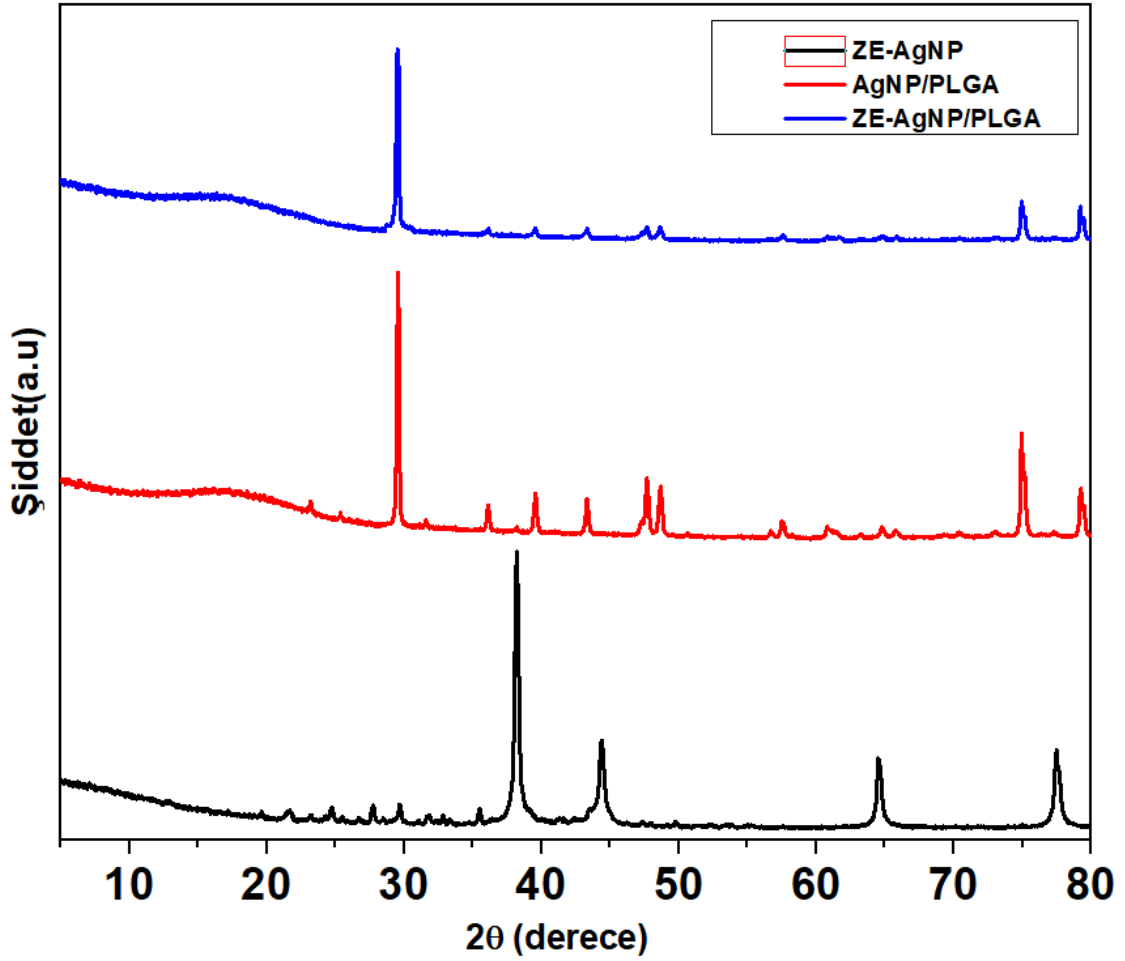
çalışmalara göre üniform dağılım göstermemektedir (Alippilakkotte, Kumar, Sreejith, Physicochemical, & Aspects, 2017; Xu et al., 2008).



Şekil 4.6. (A) AgNP/PLGA nanofiber ve (B) ZE-AgNP/PLGA nanofiber TEM görüntüleri.

4.2.3. XRD Analiz Sonuçları

XRD analizi ile AgNP'lerin kristal yapıları doğrulanmıştır. Şekil 4.7'de ZE-AgNP'ün, AgNP/PLGA nanofiberin ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberin XRD grafiği gösterilmektedir. Piklerin yoğunluğu malzemenin kristallliğini yansıtmaktadır. Grafik incelendiğinde ZE-AgNP, sırasıyla $2\theta = 38,04^\circ$, $44,19^\circ$, $64,43^\circ$ ve $77,36^\circ$ açılarına tekabül eden 111, 200, 220, 311 kırınım düzlemleri göstermiştir. En şiddetli tepe noktası $2\theta = 38,04^\circ$ açısına tekabül eden 111 kırınım düzlemidir. ZE-AgNP'ün kristal tepe noktaları literatürdeki AgNP kristal tepe noktalarıyla aynıdır (Lanje, Sharma, & Pode, 2010; Sunaryono et al., 2021). Bunun dışında ZE-AgNP'ün grafiğinde 20° ile 35° açıları arasında düşük şiddette pikler gözükmemektedir. Bunlarda zerdeçal bitki ekstraktının varlığına yorumlanmıştır. AgNP/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin XRD grafikleri incelendiğinde $2\theta = 17,7^\circ$ açısındaki geniş tepe amorf yapıda olan PLGA polimerine aittir (Russo et al., 2016). Ayrıca 020 kırınım düzlemine denk gelen $2\theta = 28,7^\circ$ açısında şiddetli pik görülmektedir. Bu pik AgNP/PLGA nanofiberinde ZE-AgNP/PLGA nanofiberine göre daha şiddetlidir. XRD grafiklerinde piklerin şiddetleri kristal yapının yoğunluğunu göstermektedir. Ayrıca XRD grafiğinde piklerin miktarı malzemedeki kristal yapı çeşidini göstermektedir. Grafikte ne kadar çok pik varsa malzemede o kadar çeşitli kristal düzlem bulunmaktadır.

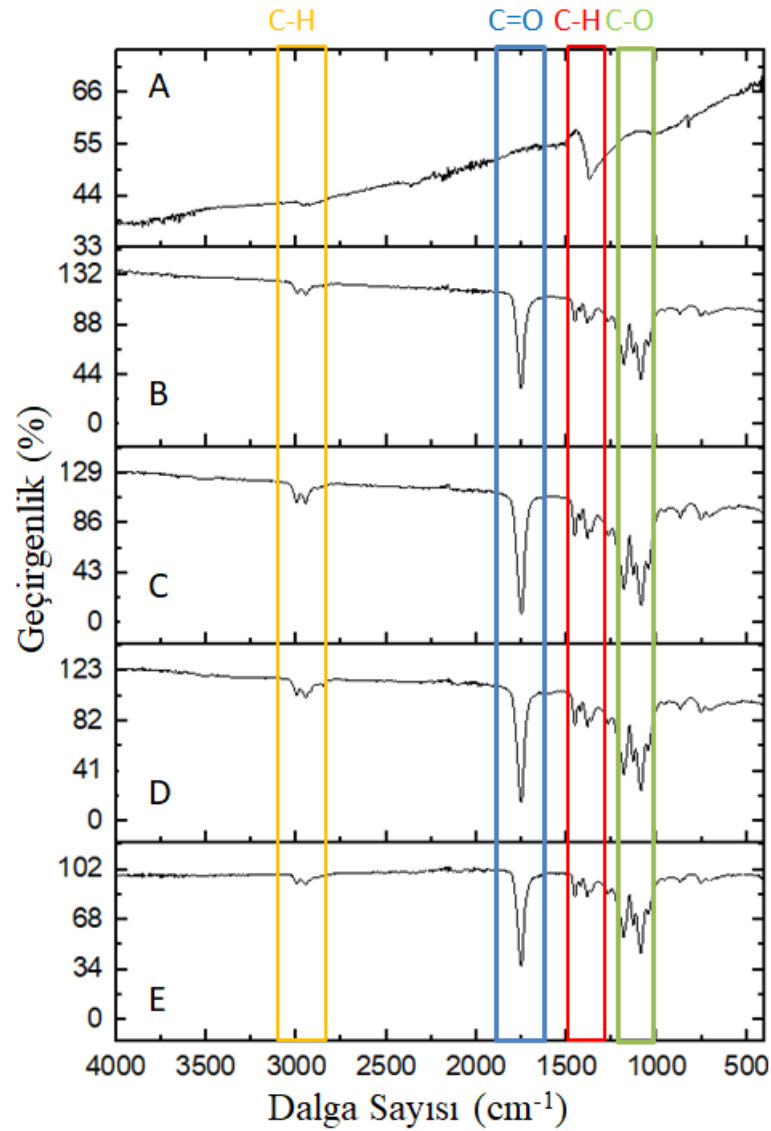


Şekil 4.7. ZE-AgNP'ün, AgNP/PLGA nanofiberin ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberin XRD spektrumu

4.2.4. FT-IR Analiz Sonuçları

Üretilen elektrospun nanofiberlerin ve nanopartikülün kimyasal karakterizasyonu FT-IR analizi ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8'de bu nanofiberlerin ve nanopartikülün FT-IR spektrumu gösterilmektedir. İncelenen numunelerin IR spektrumları 4 farklı bölgede gözlemlendi. $3010-2885\text{ cm}^{-1}$ arasındaki absorpsiyon piki alifatik C-H gerilme titreşimini ifade etmektedir. 1750 cm^{-1} 'deki güçlü ve dar pik karbonil grubu (C=O) gerilme titreşimini temsil etmektedir. AgNP'ler, nanokompozit oluşturmak için PLGA'da bulunan karbonil grubunu kullanmıştır. (Renu, Shivashangari, Ravikumar, & Spectroscopy, 2020) $1500-1411\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pik C-H eğilme titreşimini ifade etmektedir. 1181 cm^{-1} ile 1086 cm^{-1} arasındaki pikler PLGA'nın karakteristik zirveleri olan asimetrik C-O gerilme titreşimine aittir. Ayrıca AgNP içeren numunelerde 564 cm^{-1} dalga sayısındaki hassas pikleri oluşmuştur. Bu pikler gümüş

titreşimi olarak tanımlanmaktadır.(Renu et al., 2020) Sonuçlar kıyaslandığında zerdeçal ve AgNP varlığında piklerin şiddetini artmıştır.

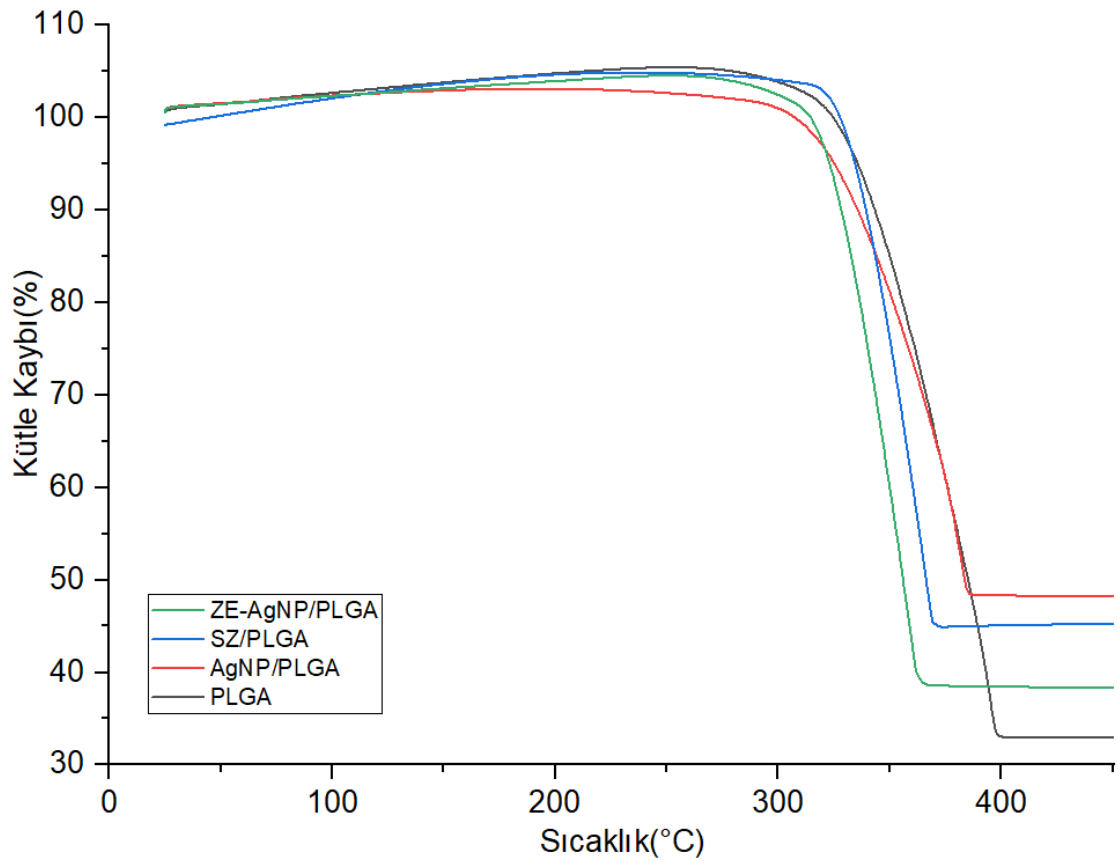


Şekil 4.8. (A) ZE-AgNP, (B) SZ/PLGA nanofiber, (C) ZE-AgNP/PLGA nanofiber, (D) AgNP/PLGA nanofiber ve (E) PLGA nanofiberin FT-IR spektrumu.

4.2.5. TGA Analiz Sonuçları

PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin termogravimetrik analizleri şekil 4.9’da gösterilmektedir. Nanofiberlerin sıcaklık artışına karşı ağırlık kaybı yüzdesi incelendiğinde 300°C’ sıcaklığa kadar hiçbir nanofiberde ağırlık kaybı gerçekleşmemiştir. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerinin ağırlık kayıpları sırasıyla 325-400°C, 300-390°C, 340-

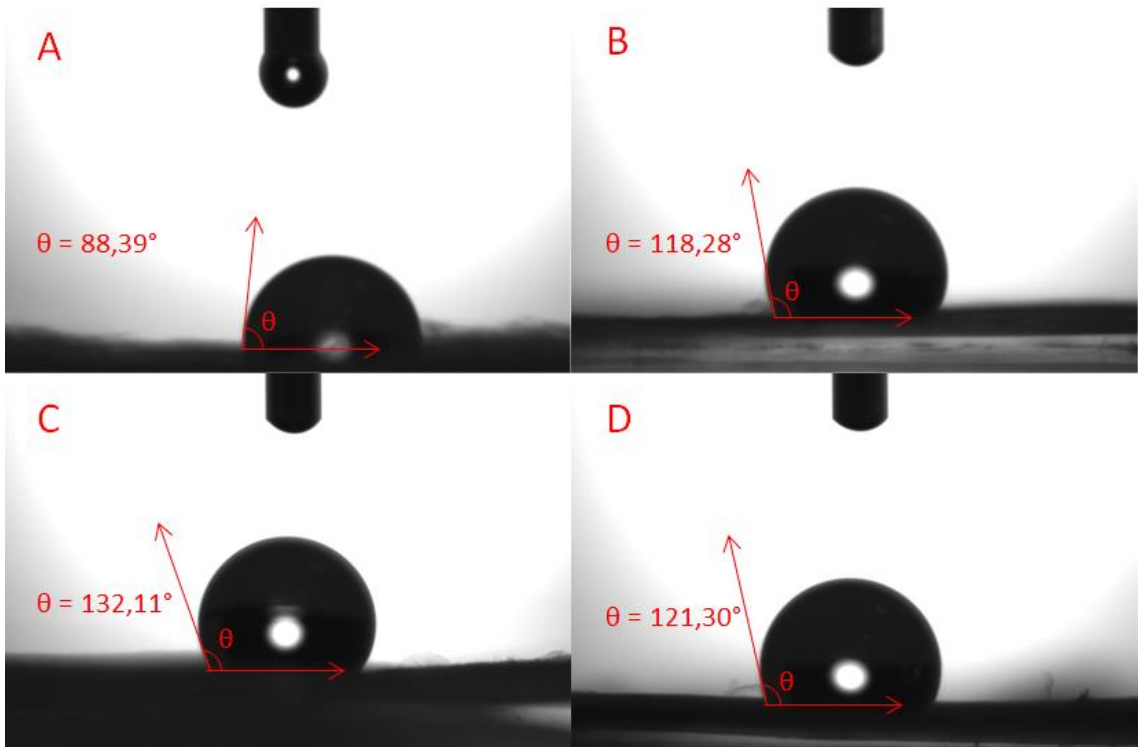
370°C ve 320-360°C aralığında gerçekleşti. Bu ağırlık kaybının nedeni, malzemedeki termal bozunma ve buharlaşmadır. PLGA nanofiber, en yüksek bozunma sıcaklığına sahiptir. AgNP içeren nanofiberlerin bozunma sıcaklıkları daha düşük çıkmıştır. Bunun sebebi AgNP'lerin termal iletkenliği arttırmasıdır (Khalil et al., 2013). Termal bozunmanın sona ermesinden sonra, tüm nanofiberler bir miktar artık madde bırakmıştır. AgNP'lerin yüksek termal sitabilitesi nedendiyle en çok artık madde bırakan numune AgNP/PLGA nanofiber iken en az artık madde bırakan numune PLGA nanofiberdir. Bu sonuçlar önceki çalışmalarla uyumlu sonuç vermiştir(Sun et al., 2016; Varaprasad et al., 2011). Sun ve diğerlerinin yaptığı çalışmada gümüş katkılı PLA nanofiberi katkısız PLA nanofiberinden daha önce bozunmaya başlamış ve daha fazla artık madde bırakmıştır(Sun et al., 2016). Varaprasad ve diğerlerinin çalışmasında ise Sodyum karboksimetil selüloz filmler ve AgNP katkılı sodyum karboksimetil selüloz filmlerin TGA analizi yapılmıştır. Bu çalışmada da önce bozunmaya başlayan ve fazla artık madde bırakan AgNP katkılı filmidir(Varaprasad et al., 2011).



Şekil 4.9. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin termogravimetrik analizleri.

4.2.6. Su Temas Açısı Analiz Sonuçları

Su temas açısı ile nanofiberlerin hidrofilik/hidrofobik doğası analiz edilmektedir. Şekil 4.10'da elektrospun nanofiberlerin su temas açısı ölçümleri gösterilmektedir. PLGA nanofiber ortalama $88,39^\circ$ temas açısı ile hidrofilik bir yapıya sahiptir(Şekil 4.10.A). AgNP/PLGA nanofiber $118,28^\circ$ temas açısı ile hidrofobik bir yapıya sahiptir(Şekil 4.10.B). PLGA nanofiber hidrofilik iken AgNP eklenmesi ile hidrofobik bir yapıya sahip olması yüzey pürüzlülüğünün artması ile açıklanmaktadır.(Scavone et al., 2016) SZ/PLGA nanofiber $132,11^\circ$ temas açısı ile en hidrofobik yapıda iken ZE-AgNP/PLGA nanofiber de $121,30^\circ$ temas açısı ile hidrofobiktir(Şekil 4.10.C, Şekil 4.10.D). SZ/PLGA nanofiberlerde zerdeçal nanofiber üzerine spreylendiğinden nanofiberin gözeneklerini tıkamaktadır. Bu nedenle en hidrofobik nanofiber SZ/PLGA nanofiberdir. Numunelerin hidrofobiklikleri arttıkça bozunma hızları yavaşlamaktadır. En hidrofobik olan SZ/PLGA nanofiber numunesinin bozunma hızının en düşük çıkması bu durumu doğrulamaktadır. Önceki çalışmalardan bir örnekte PLGA nanofiber 75° 'lik bir temas açısı ile orta derece bir hidrofilik iken malzemedeki Ag miktarı arttıkça hidrofilikliği azalıp hidrofobikliği artmıştır(Scavone et al., 2016). Bu da su temas açısı test sonuçlarının önceki çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermektedir.

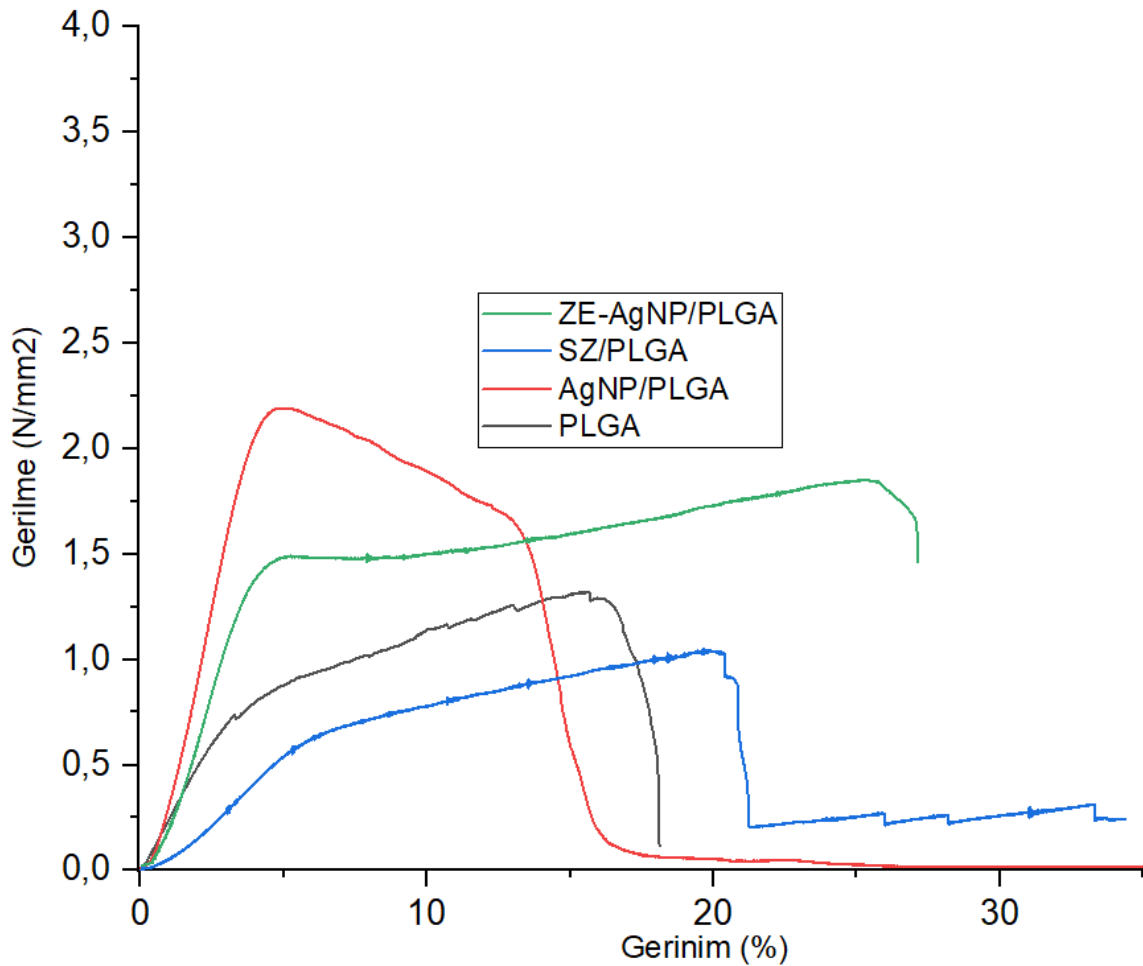


Şekil 4.10. (A)PLGA, (B)AgNP/PLGA, (C)SZ/PLGA ve (D)ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin temas açısı ölçümleri.

4.2.7. Mekanik Karakterizasyon Sonuçları

Elektrospun nanofiber matlar yara iyileşmesinde mekanik bariyer görevi görmekte ve hücre büyümesi için fiziksel destek sağlamaktadır. Bu nedenle nanofiber matların mekanik dayanıklılıkları yara iyileşmesi uygulamalarında önemlidir.(X. Liu et al., 2018) İnsan derisinin gerilme mukavemeti 1-40 MPa olduğu bildirilmiştir(Sander, Lynch, & Boyce, 2014). Bu mukavemet değeri derinin bulunduğu bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Şekil 4.11’de ZE-AgNP/PLGA, SZ/PLGA, AgNP/PLGA ve PLGA nanofiberlerin gerilme-gerinim grafiği gösterilmektedir. Tablo 4.1’de bu nanofiberlerin maksimum gerilme, maksimum gerinim ve elastisite modülü değerleri verilmektedir. Grafiğe bakıldığında en yüksek gerilme mukavemetine 2,18 N/mm² ile AgNP/PLGA numunesi sahiptir. ZE-AgNP/PLGA nanofiberin maksimum gerilme değeri 1,99 N/mm²’dir. Gerilme-gerinim grafiğine göre PLGA nanofiberin maksimum gerilme değeri 1,32 N/mm² iken SZ/PLGA nanofiber 1,04 N/mm² ile en düşük gerilme mukavemetine sahiptir. Şekil değiştirmeye bakıldığında en düşük şekil değiştirme %17 ile AgNP/PLGA nanofiberde meydana gelmiştir. PLGA nanofiberde şekil değiştirme %19,42, ZE-AgNP/ PLGA nanofiberde %28,34, SZ/PLGA nanofiberde ise %21,90’dır. AgNP/PLGA nanofiberde AgNP’ler PLGA nanofiberin içine gömüldüğünden AgNP’ler nanofiberlerin sünekliğini azaltır, PLGA moleküllerinin arasındaki kayma hareketlerine direnç sağlar ve malzemenin mukavemetini artırır. Bu nedenle en yüksek mukavemete sahip nanofiber AgNP/PLGA nanofiber çıkmıştır. Bir bitki molekülü olan zerdeçal, termoplastik olan PLGA ile kuvvetli bir bağ oluşturamaz. AgNP’ün zerdeçal molekülü ile enkapsüle edilmesi ile AgNP’ün PLGA ile arasındaki bağ zayıflamaktadır ve numunenin mukavemeti azalmaktadır. Bu nedenle ZE-AgNP/ PLGA nanofiber, AgNP/PLGA nanofibere göre daha düşük mukavemete sahiptir. Nguyen ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada da PLA nanofiberine zerdeçal ekstraktı eklendikçe malzemenin mukavemeti azalmıştır(Nguyen et al., 2013). Zerdeçal ekstraktı PLGA nanofibere spreylendiğinde ıslak olan bitki ekstraktı PLGA nanofiberin gözeneklerini doldurmaktadır. Kuruduğu zamanda numune gevrek bir yapıya sahip olmaktadır bu da PLGA nanofiberin mukavemetinin düşmesine sebep olmaktadır. Üretilen nanofiberlerin gerilme mukavemetleri önceki çalışmalara göre daha yüksektir(Eren Boncu, Ozdemir,

Uskudar Guclu, & pharmacy, 2020). Nanofiberler yara iyileşmesinde hücre büyümesinde mekanik bir iskele göre gördüğü için mukavemetinin yüksek olması yara iyileşmesine katkı sağlayacaktır.



Şekil 4.11. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin gerilme-gerinim grafiği.

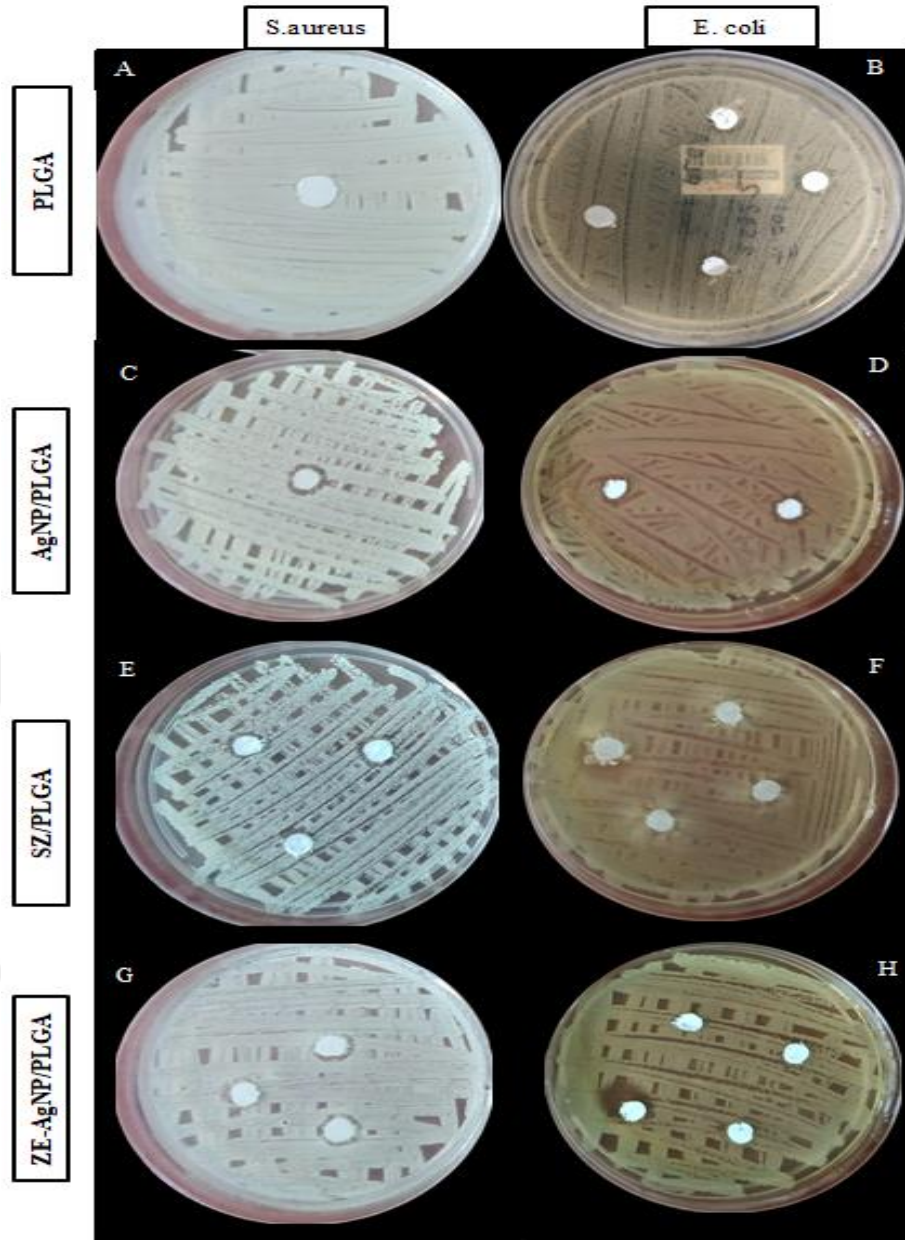
Tablo 4.1. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin mekanik özellikleri.

Nanofiber	Mak. Gerilme(N/mm2)	Mak. Gerinim(%)	Elastisite Modülü (MPa)
AgNP/PLGA	2,18	17,00	57,16
ZE-AgNP/ PLGA	1,99	28,34	46,09
PLGA	1,32	19,42	24,69
SZ/PLGA	1,04	21,90	12,95

4.2.8. Antibakteriyel Test Sonuçları

Kronik yaralar ve yanıklarda enfeksiyonların en önemli nedeni bakteri ve mikroorganizmalardır. Yara bölgesindeki bakteriyel enfeksiyonlar yara iyileşme

sürecini olumsuz etkilemektedir. Bu neden elektrospon nanofiber yara örtülerinin antibakteriyel aktivitesi değerlendirildi. PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı göstemiş oldukları antibakteriyel aktiviteleri 37 °C’de 24 saatlik inkübasyonda disk difüzyon duyarlılık testi kullanılarak incelendi. Şekil 4.12(A,C,E,G) ‘de gram pozitif bir bakteri olan *S.aureus* bakterisi için nanofiber numunelerin antibakteriyel aktivitesi görülmektedir. *S.aures* bakterisi için PLGA nanofiberde antibakteriyel aktivite saptanmadı(Şekil4.12.A). AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerde sırasıyla 15,54 mm, 14,06 mm, 14,48 mm ortalama inhibasyon zon çapı tespit edildi(Şekil4.12.(C,E,G)). Aynı numunelerin gram negatif bir bakteri olan *E.coli* bakterisine karşı göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite Şekil4.12.(B,D,F,H)’te gösterilmektedir. PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberler *E.coli* bakterisi için antibakteriyel aktivite göstermedi. AgNP/PLGA nanofiberi 14,28 mm ortalama inhibasyon zon çapı gösterdi. Elde edilen verilere göre zerdeçal bitkisi *S.aureus* bakterisine karşı etkiliyken *E.coli* bakterisi için etkili değildir. Her iki bakteri içinde en iyi inhibason zon çapı AgNP/PLGA numunesine aittir. Bunun sebebi AgNP’ler bakteri hücrelerine daha fazla erişebilirliğe sahiptirler. Ag iyonlarının salınması bakteri zarını tahrip ederek bakteri ölümüne sebep olmaktadır (Esmaili et al., 2020). Literatürdeki bir takım çalışmalar bulunan sonuçları desteklerken farklı sonuçların bulunduğu çalışmalarda vardır. Wang ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada bu sonuçlardan farklı olarak zerdeçal bitkisi *E.coli* bakterisinde *S.aureus* bakterisine göre daha iyi antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür(Wang et al., 2019). Liu ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada ise %0.25 ve %0.5 AgNP katkılı nanofiberler *S.aureus* bakterisinde daha iyi inhibasyon zon çapı verilen %1 AgNP katkılı nanofiber *E.coli* bakterisinde daha iyi inhibasyon zon çapı vermiştir(Y. Liu et al., 2015).

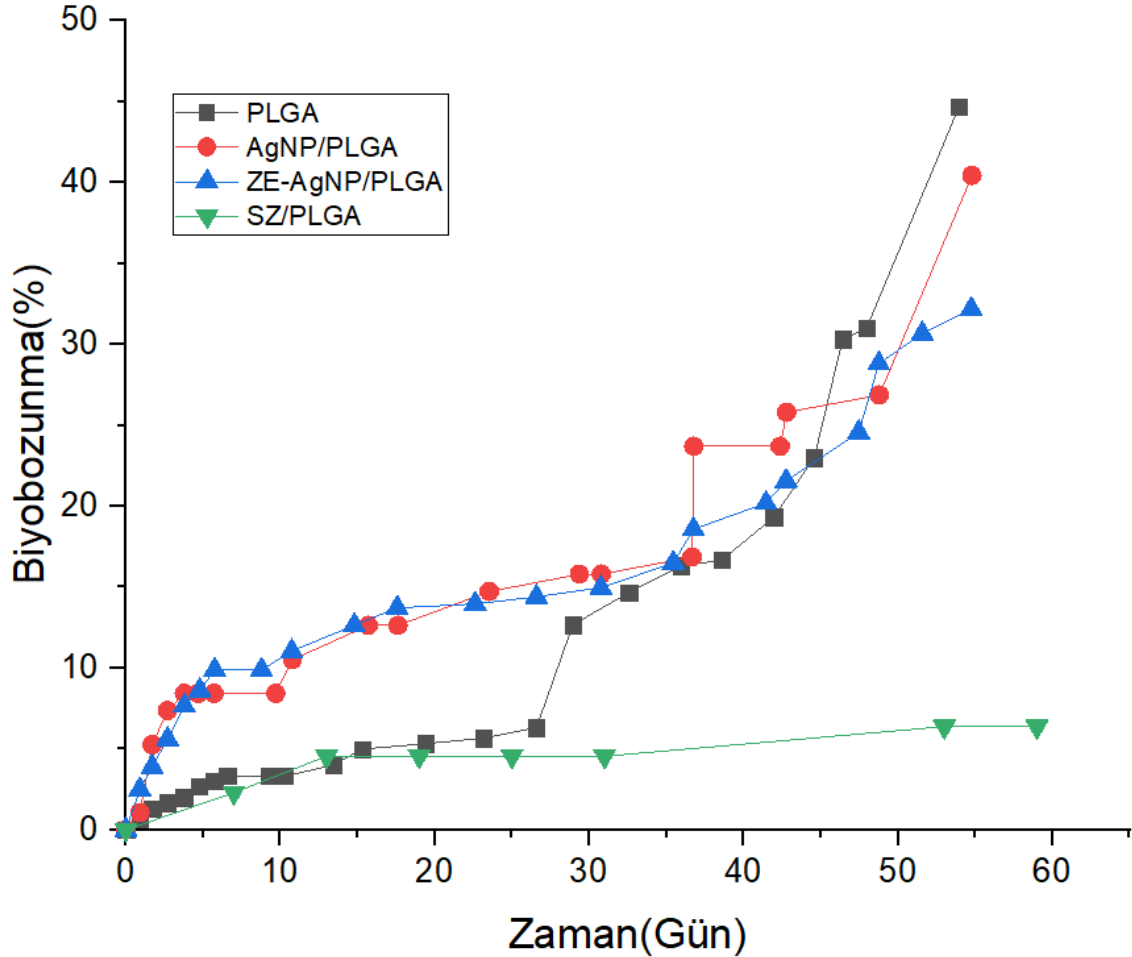


Şekil 4.12. (A)PLGA, (C)AgNP/PLGA, (E)SZ/PLGA ve (G)ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin *S.aureus* bakterisine karşı, (B)PLGA, (D)AgNP/PLGA, (F)SZ/PLGA ve (H) ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin *E.coli* bakterisine karşı gösterdiği antibakteriyel aktivite.

4.2.9. In Vitro Biyobozunurluk

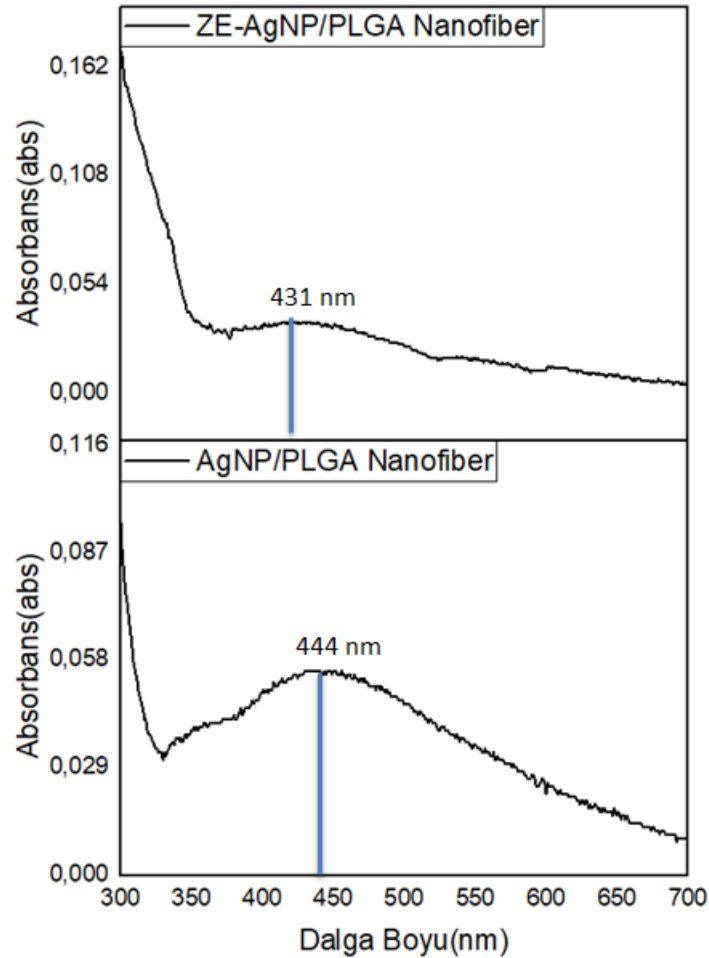
Yara iyileşmesinde kullanılmak üzere üretilen nanofiberlerin matris malzemesi olan PLGA polimeri biyolojik olarak parçalanabilen alifatik polyesterlerden biridir. PLGA polimeri sulu koşullar altında çözünmez fakat suyu emer ve ester bağlarının hidrolizi ile bozunmaktadır(Elmowafy, Tiboni, & Soliman, 2019). Bozunma hızını kristalliliği, molekül ağırlığı, kopolimer birleşimi ve morfolojik yapısı gibi faktörler etkilemektedir(You, Min, Lee, Lee, & Park, 2005). Şekil 4.13.'te PLGA, AgNP/PLGA,

SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin % bozunma grafiği verilmektedir. Grafik incelendiğinde PLGA, AgNP/PLGA, SZ/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin ortalama 55 günlük inkübasyon sonunda bozunma miktarları sırasıyla %44,67, %40,43, %6,38 ve %32,19'dur. Bu nanofiberlerin bozunma hızları kıyaslandığında en hızlı bozunma PLGA nanofiberde gerçekleşmiştir. En yavaş bozunma ise SZ/PLGA nanofiberde gerçekleşmiştir. Saf PLGA nanofiberin en hızlı bozunması AgNP'lerin bozunma direncini artırması sebebiyle bozunma süresini uzatması şeklinde açıklanmaktadır(Peng et al., 2020). PLGA nanofiber yapısında AgNP barındırmadığından en hızlı bozunmaktadır. SZ/PLGA nanofiberin bozunmasının en düşük olmasının sebebi spreyleme yönteminin malzemenin gözeneklerini tıkaması olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.13. PLGA, AgNP/PLGA, ZE/PLGA ve ZE-AgNP/PLGA nanofiberlerin in vitro biyobozunurluk grafiği.

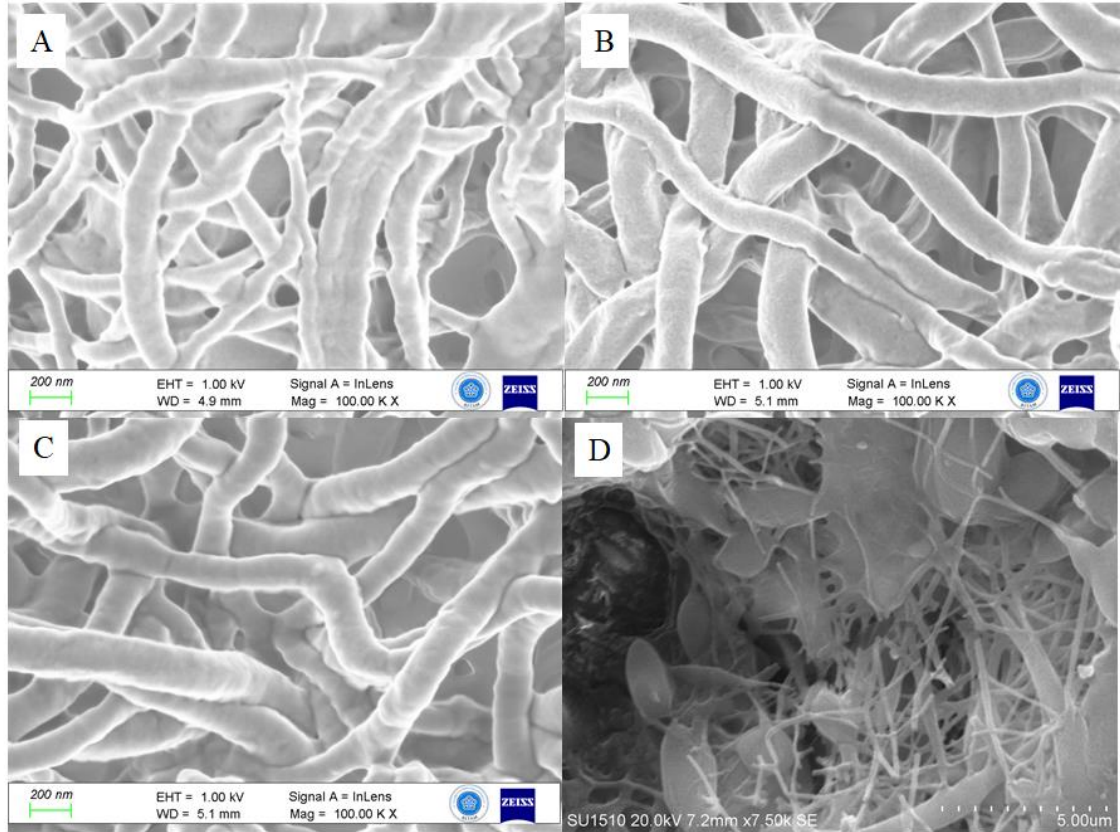
Şekil 4.14'te AgNP içeren ZE-AgNP/PLGA ve AgNP/PLGA nanofiberlerin UV-Vis spektrumları gösterilmektedir. Şekildeki grafikler bozunma sonrasında bozunmanın gerçekleştirildiği PBS solüsyonları UV-Vis spektrofotometrede incelenerek elde edildi. Grafikler incelendiğinde ZE-AgNP/PLGA nanofiberin bozunduğu PBS solüsyonunun maksimum absorbans değeri 431 nm dalga boyundadır. AgNP/PLGA nanofiberin bozunduğu PBS solüsyonunun maksimum absorbansı 444 nm dalga boyunda karşılık gelmektedir. Her iki çözeltide de AgNP'ün varlığı gözlenirken AgNP/PLGA nanofiberinin bozunduğu PBS solüsyonunda AgNP yoğunluğu daha fazladır. Bu da AgNP/PLGA nanofiberin ZE-AgNP/PLGA nanofibere göre daha çok bozunduğunu göstermektedir.



Şekil 4.14. AgNP içeren ZE-AgNP/PLGA ve AgNP/PLGA nanofiberlerin UV-Vis spektrumları.

Şekil 4.15.'te PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA VE SZ/PLGA nanofiberlerin 1300 saatlik PBS solüsyonundaki in vitro biyobozunurluk sonrasındaki FE-SEM mikrografları gösterilmektedir. Bu FE-SEM mikrografları ile biyobozunurluk

sonrası nanofiber morfolojisindeki değişiklikler incelenmektedir. Bozunmadan sonra şişme nedeniyle tüm nanofiberlerin çapında artış görölmüştür. Nanofiberlerde kısmen parçalanma ve birbirine yapışma görölmüştür. Parçalanma ve birbirine yapışmanın en fazla olduğu nanofiber PLGA nanofiber iken onu sırasıyla AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA ve SZ/PLGA nanofiber takip etmektedir. FE-SEM mikroograflarından elde edilen sonuçlar yüzde bozunma grafiğini doğrulamaktadır.



Şekil 4.15. (A)PLGA, (B)AgNP/PLGA, (C)CE-AgNP/PLGA VE (D) SZ/PLGA nanofiberlerin in vitro biyobozunurluk sonrası SEM veya FE-SEM görüntüleri

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada yara iyileşme sürecini hızlandıran ve yara bölgesinde daha iyi bir iyileşme sağlayan ZE-AgNP/PLGA elektropsun nanofiber yara örtüsü üreterek kronik yara tedavilerine alternatif bir çözüm sunmak amaçlanmaktadır. Çalışmada öncelikle çevre dostu bir yöntem olan yeşil sentez yöntemiyle AgNP üretilmiştir. Bu üretim yöntemiyle AgNP üretilirken ortaya toksik maddeler çıkmadığı için medikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmanın devamında nanofiberlere son derece yüksek yüzey alanı - hacim oranına, gaz geçirgenliğine ve yüksek seviyede gözenekli bir yapı gibi üstün özellikler kazandıran elektro-eğirme yöntemi kullanılarak PLGA, AgNP/PLGA, ZE-AgNP/PLGA nanofiberler üretilmiştir. Ayrıca PLGA nanofibere zerdeçal ekstraktı spreylenerek farklı bir çeşit daha nanofiber elde edilmiştir.

Bu nanofiberlerin FE-SEM analizi incelendiğinde AgNP'ler fiberde pürüzlülüğe sebep olmuştur. Nanofiberlerdeki pürüzlü yapılar fiberin yüzey alanını arttırmakta ve yara iyileşmesinde daha etkili olmasını sağlamaktadır. Ayrıca AgNP'lerin iletkenlikleri sayesinde daha ince fiberler elde edilmiştir. Zerdeçal ekstraktı varlığı ile nanofiber çapını arttırırken yara iyileşmesi üzerindeki etkileri ile iyileşme sürecini hızlandıracağı düşünülmektedir.

TEM sonuçları incelendiğinde zerdeçal ile enkapsüle edilmiş nanopartiküllerde küçük boyutlarda nanopartikül sentezlenildiği görülmüştür. Ayrıca AgNP/PLGA ile ZE-AgNP/PLGA nanofiber kıyaslandığında AgNP/PLGA nanofiberde AgNP'LER daha yoğundur. Bu yoğunluk AgNP/PLGA nanofiberlerin antibakteriyel aktivitelerini de olumlu etkilenmektedir.

XRD analizinde incelenen nanopartikül veya nanofibere bağlı olarak 111, 200, 220, 311 kırınım düzlemlerine sahip AgNP ve amorf yapıdaki PLGA görülmüştür. Zerdeçal bitki ekstraktı içeren numunelerde pik şiddetinde artış olduğu görülmüştür.

FTIR analizi incelendiğinde nanofiberde alifatik C-H bağı gerilme titreşimi, karbonil grubu olan C=O bağı gerilme titreşimi C-H bağı eğilme titreşimi ve C-O bağı gerilme titreşimi gözlenmiştir.

TGA analizi sayesinde AgNP'lerin termal iletkenliği sebebiyle AgNP içeren fiberlerin sıcaklık artışına karşı daha hızlı bozunduğu görülmüştür.

Nanofiberlerin temas açısı ölçümleri incelendiğinde saf PLGA nanofiberin temas açısı $88,39^\circ$ iken ZE-AgNP/PLGA nanofiberde bu açı $121,30^\circ$ ye yükselmiştir. Malzemelerin hidrofobikliği bozunma hızını azaltacağından ZE-AgNP/PLGA nanofiberin daha geç bozunması beklenmektedir.

Antibakteriyel aktivite testi ile malzemelere AgNP ile antibakteriyel özellik kazandırıldığı teyit edilmiştir.

Mekanik test sayesinde ise ZE-AgNP/PLGA nanofiber ile yüksek mukavemete sahip nanofiber elde edildiği görülmüştür.

Biyobozunuluk testleri ile de AgNP, zerdeçal varlığının ve malzemenin hidrofobikliğin biyobozurluğu düşürdüğü görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda ZE-AgNP/PLGA elektrospun nanofiber, yara iyileşmesinde etkili bir yara örtüsü olma potansiyeline sahiptir.

5.2. Öneriler

İleriki dönemde yapılacak çalışmalarda yeşil sentez ile üretilen AgNP'lerin toksik olmadığını somut olarak kanıtlamak için sitotoksikite testi yapılmalıdır.

Antibakteriyel aktiviteyi arttırmak amacıyla Ag miktarı artırılabilir ya da antimikrobiyal ilaç katkısı yapılabilir.

Uygulamaya geçirilebilmesi için in vitro testlerden sonra çalışmanın in vivo testleri yapılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Abou El-Nour, K. M., Eftaiha, A. a., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. J. A. j. o. c. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. 3(3), 135-140.
- Ahmed, S., Saifullah, Ahmad, M., Swami, B. L., Ikram, S. J. J. o. r. r., & sciences, a. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract. 9(1), 1-7.
- Ahsan, A., Farooq, M. A., Ahsan Bajwa, A., & Parveen, A. J. M. (2020). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Parthenium Hysterophorus: Optimization, Characterization and In Vitro Therapeutic Evaluation. 25(15), 3324.
- Alippilakkotte, S., Kumar, S., Sreejith, L. J. C., Physicochemical, S. A., & Aspects, E. (2017). Fabrication of PLA/Ag nanofibers by green synthesis method using Momordica charantia fruit extract for wound dressing applications. 529, 771-782.
- Alsammaraie, F. K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A., Lin, M. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. 171, 398-405.
- Asanithi, P., Chaiyakun, S., & Limsuwan, P. J. J. o. N. (2012). Growth of silver nanoparticles by DC magnetron sputtering. 2012.
- Beele, H., Meuleneire, F., Nahuys, M., & Percival, S. L. J. I. w. j. (2010). A prospective randomised open label study to evaluate the potential of a new silver alginate/carboxymethylcellulose antimicrobial wound dressing to promote wound healing. 7(4), 262-270.
- Beşergil, P. D. B. (2003). Termoplastikler, Termosetler, Elastomerler, Fiberler (thermoplastics, thermosets, elastomers, fibers). Retrieved from http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_630.html
- Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. J. B. a. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. 28(3), 325-347.
- Charernsriwilaiwat, N., Opanasopit, P., Rojanarata, T., & Ngawhirunpat, T. J. I. J. o. P. (2012). Lysozyme-loaded, electrospun chitosan-based nanofiber mats for wound healing. 427(2), 379-384.
- Dipankar, C., Murugan, S. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2012). The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from Iresine herbstii leaf aqueous extracts. 98, 112-119.
- Ellison, C. J., Phatak, A., Giles, D. W., Macosko, C. W., & Bates, F. S. J. P. (2007). Melt blown nanofibers: Fiber diameter distributions and onset of fiber breakup. 48(11), 3306-3316.
- Elmowafy, E. M., Tiboni, M., & Soliman, M. E. J. J. o. P. I. (2019). Biocompatibility, biodegradation and biomedical applications of poly (lactic acid)/poly (lactic-co-glycolic acid) micro and nanoparticles. 49(4), 347-380.
- Eren Boncu, T., Ozdemir, N., Uskudar Guclu, A. J. D. d., & pharmacy, i. (2020). Electrospinning of linezolid loaded PLGA nanofibers: effect of solvents on its spinnability, drug delivery, mechanical properties, and antibacterial activities. 46(1), 109-121.
- Esmaili, E., Eslami-Arshaghi, T., Hosseinzadeh, S., Elahirad, E., Jamalpoor, Z., Hatamie, S., & Soleimani, M. J. I. j. o. b. m. (2020). The biomedical potential of cellulose acetate/polyurethane nanofibrous mats containing reduced graphene

- oxide/silver nanocomposites and curcumin: Antimicrobial performance and cutaneous wound healing. 152, 418-427.
- Fang, J., Niu, H., Lin, T., & Wang, X. J. C. s. b. (2008). Applications of electrospun nanofibers. 53(15), 2265-2286.
- Feng, L., Li, S., Li, H., Zhai, J., Song, Y., Jiang, L., & Zhu, D. J. A. C. I. E. (2002). Super-hydrophobic surface of aligned polyacrylonitrile nanofibers. 41(7), 1221-1223.
- Fouad, H., Elsarnagawy, T., Almajhdi, F. N., & Khalil, K. A. J. I. J. E. S. (2013). Preparation and in vitro thermo-mechanical characterization of electrospun PLGA nanofibers for soft and hard tissue replacement. 8(2), 2293-2304.
- Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X., & Xing, M. M. J. I. j. o. n. (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. 9, 2399.
- Góra, A., Prabhakaran, M. P., Eunice, G. T. L., Lakshminarayanan, R., & Ramakrishna, S. J. J. o. A. P. S. (2015). Silver nanoparticle incorporated poly (l-lactide-co-glycolide) nanofibers: Evaluation of their biocompatibility and antibacterial properties. 132(42).
- Göktaş, A. (2008). *Electrospinning of polystyrene/butly rubber blends: a parametric study*.
- Harfenist, S. A., Cambron, S. D., Nelson, E. W., Berry, S. M., Isham, A. W., Crain, M. M., . . . Cohn, R. W. J. N. L. (2004). Direct drawing of suspended filamentary micro-and nanostructures from liquid polymers. 4(10), 1931-1937.
- Hassan, M. A., Yeom, B. Y., Wilkie, A., Pourdeyhimi, B., & Khan, S. A. J. J. o. m. s. (2013). Fabrication of nanofiber meltblown membranes and their filtration properties. 427, 336-344.
- Hu, X., Liu, S., Zhou, G., Huang, Y., Xie, Z., & Jing, X. J. J. o. c. r. (2014). Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. 185, 12-21.
- Hussain, Z., Thu, H. E., Amjad, M. W., Hussain, F., Ahmed, T. A., Khan, S. J. M. s., & C, e. (2017). Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. 77, 1316-1326.
- Jatoi, A. W., Kim, I. S., & Ni, Q.-Q. J. C. p. (2019). Cellulose acetate nanofibers embedded with AgNPs anchored TiO₂ nanoparticles for long term excellent antibacterial applications. 207, 640-649.
- Jayaraman, K., Kotaki, M., Zhang, Y., Mo, X., Ramakrishna, S. J. J. o. N., & Nanotechnology. (2004). Recent advances in polymer nanofibers. 4(1-2), 52-65.
- Jogaiah, S., Kurjogi, M., Abdelrahman, M., Hanumanthappa, N., & Tran, L.-S. P. J. A. J. o. C. (2019). Ganoderma applanatum-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Structural characterization, and in vitro and in vivo biomedical and agrochemical properties. 12(7), 1108-1120.
- Kara, B. (2009). Polimer nedir?
- Khalil, K. A., Fouad, H., Elsarnagawy, T., & Almajhdi, F. N. J. I. J. E. S. (2013). Preparation and characterization of electrospun PLGA/silver composite nanofibers for biomedical applications. 8(3), 3483-3493.
- Krutyakov, Y. A., Olenin, A. Y., Kudrinskii, A., Dzhurik, P., & Lisichkin, G. J. N. i. R. (2008). Aggregative stability and polydispersity of silver nanoparticles prepared using two-phase aqueous organic systems. 3(5), 303-310.

- Lanje, A. S., Sharma, S. J., & Pode, R. B. J. J. C. P. R. (2010). Synthesis of silver nanoparticles: a safer alternative to conventional antimicrobial and antibacterial agents. 2(3), 478-483.
- Lewin, M., & Pearce, E. (1985). Handbook of fiber science and technology: volume 4-fiber chemistry.
- Liu, S.-J., Kau, Y.-C., Chou, C.-Y., Chen, J.-K., Wu, R.-C., & Yeh, W.-L. J. J. o. M. S. (2010). Electrospun PLGA/collagen nanofibrous membrane as early-stage wound dressing. 355(1-2), 53-59.
- Liu, X., Nielsen, L. H., Kłodzińska, S. N., Nielsen, H. M., Qu, H., Christensen, L. P., . . . Biopharmaceutics. (2018). Ciprofloxacin-loaded sodium alginate/poly (lactic-co-glycolic acid) electrospun fibrous mats for wound healing. 123, 42-49.
- Liu, Y., Liu, Y., Liao, N., Cui, F., Park, M., & Kim, H.-Y. J. I. j. o. b. m. (2015). Fabrication and durable antibacterial properties of electrospun chitosan nanofibers with silver nanoparticles. 79, 638-643.
- Moghaddam, K. M., Iranshahi, M., Yazdi, M. C., & Shahverdi, A. R. (2009). The combination effect of curcumin with different antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 3(2).
- MubarakAli, D., Thajuddin, N., Jeganathan, K., Gunasekaran, M. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2011). Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. 85(2), 360-365.
- Murphy, M., Ting, K., Zhang, X., Soo, C., & Zheng, Z. J. J. o. n. (2015). Current development of silver nanoparticle preparation, investigation, and application in the field of medicine. 2015.
- Nguyen, T. T. T., Ghosh, C., Hwang, S.-G., Dai Tran, L., & Park, J. S. J. J. o. m. s. (2013). Characteristics of curcumin-loaded poly (lactic acid) nanofibers for wound healing. 48(20), 7125-7133.
- ORDİN, Y. S. J. T. K. J. S. N.-S. T. (2017). Yanık Yaraları ve Hemşirelik Bakımı. 3(3), 216-223.
- Peng, X., Dong, K., Ye, C., Jiang, Y., Zhai, S., Cheng, R., . . . Wang, Z. L. J. S. A. (2020). A breathable, biodegradable, antibacterial, and self-powered electronic skin based on all-nanofiber triboelectric nanogenerators. 6(26), eaba9624.
- Ramakrishna, S. (2005). *An introduction to electrospinning and nanofibers*: World scientific.
- Raveendran, P., Fu, J., & Wallen, S. L. J. J. o. t. A. C. S. (2003). Completely “green” synthesis and stabilization of metal nanoparticles. 125(46), 13940-13941.
- Renu, S., Shivashangari, K. S., Ravikumar, V. J. S. A. P. A. M., & Spectroscopy, B. (2020). Incorporated plant extract fabricated silver/poly-D, l-lactide-co-glycolide nanocomposites for antimicrobial based wound healing. 228, 117673.
- Rieger, K. A., Birch, N. P., & Schiffman, J. D. J. J. o. M. C. B. (2013). Designing electrospun nanofiber mats to promote wound healing—a review. 1(36), 4531-4541.
- Russo, V., Tammaro, L., Di Marcantonio, L., Sorrentino, A., Ancora, M., Valbonetti, L., . . . C, E. (2016). Amniotic epithelial stem cell biocompatibility for electrospun poly (lactide-co-glycolide), poly (ϵ -caprolactone), poly (lactic acid) scaffolds. 69, 321-329.
- Sadri, M., KARIMI, N. E., Hosseini, H., & Emamgholi, A. (2016). New chitosan/poly (ethylene oxide)/thyme nanofiber prepared by electrospinning method for antimicrobial wound dressing.

- Sander, E. A., Lynch, K. A., & Boyce, S. T. J. J. o. b. e. (2014). Development of the mechanical properties of engineered skin substitutes after grafting to full-thickness wounds. *136*(5), 051008.
- Sankar, R., Rahman, P. K., Varunkumar, K., Anusha, C., Kalaiarasi, A., Shivashangari, K. S., & Ravikumar, V. J. J. o. M. S. (2017). Facile synthesis of Curcuma longa tuber powder engineered metal nanoparticles for bioimaging applications. *1129*, 8-16.
- Sato-Berrú, R., Redón, R., Vázquez-Olmos, A., Saniger, J. M. J. J. o. R. S. A. I. J. f. O. W. i. a. A. o. R. S., Including Higher Order Processes,, Brillouin, a., & Scattering, R. (2009). Silver nanoparticles synthesized by direct photoreduction of metal salts. Application in surface-enhanced Raman spectroscopy. *40*(4), 376-380.
- Scavone, M., Armentano, I., Fortunati, E., Cristofaro, F., Mattioli, S., Torre, L., . . . Visai, L. J. M. (2016). Antimicrobial properties and cytocompatibility of PLGA/Ag nanocomposites. *9*(1), 37.
- Selvan, D. A., Mahendiran, D., Kumar, R. S., Rahiman, A. K. J. J. o. P., & Biology, P. B. (2018). Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *180*, 243-252.
- Sepeur, S. (2008). *Nanotechnology: technical basics and applications*: Vincentz Network GmbH & Co KG.
- Shameli, K., Ahmad, M. B., Shabanzadeh, P., Al-Mulla, E. A. J., Zamanian, A., Abdollahi, Y., . . . Haroun, R. Z. J. R. o. C. I. (2014). Effect of Curcuma longa tuber powder extract on size of silver nanoparticles prepared by green method. *40*(3), 1313-1325.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A., Lin, Y. J. A. i. c., & science, i. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *145*(1-2), 83-96.
- Shin, Y., Hohman, M., Brenner, M., & Rutledge, G. J. P. (2001). Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities. *42*(25), 09955-09967.
- Si, Y., Tang, X., Yu, J., & Ding, B. (2014). Electrospun nanofibers: solving global issues. In *Electrospun nanofibers for energy and environmental applications* (pp. 3-38): Springer.
- Sidhu, G. S., Singh, A. K., Thaloor, D., Banaudha, K. K., Patnaik, G. K., Srimal, R. C., & Maheshwari, R. K. (1998). Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair and Regeneration*, *6*(2), 167-177.
- Siegel, J., Kvítek, O., Ulbrich, P., Kolská, Z., Slepíčka, P., & Švorčík, V. J. M. L. (2012). Progressive approach for metal nanoparticle synthesis. *89*, 47-50.
- Sill, T. J., & Von Recum, H. A. J. B. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *29*(13), 1989-2006.
- Song, Z., Wu, Y., Wang, H., Han, H. J. M. S., & C, E. (2019). Synergistic antibacterial effects of curcumin modified silver nanoparticles through ROS-mediated pathways. *99*, 255-263.
- strephonsays. (2012). Doğal ve Sentetik Polimerler Arasındaki Fark. Retrieved from <https://tr.strephonsays.com/difference-between-natural-and-synthetic-polymers>
- Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., & Ramkumar, S. S. J. J. o. a. p. s. (2005). Electrospinning of nanofibers. *96*(2), 557-569.
- Sun, Z., Fan, C., Tang, X., Zhao, J., Song, Y., Shao, Z., & Xu, L. J. A. S. S. (2016). Characterization and antibacterial properties of porous fibers containing silver ions. *387*, 828-838.

- Sunaryono, S., Rachmawati, A., Yogihati, C. I., Susanto, H., Taufiq, A., & Mufti, N. J. P. B. (2021). The effect of Ag nanoparticles in Ag/polyvinyl alcohol nanofiber composites. 1-14.
- Süslü, A. (2009). *Elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber ve nanotüp üretimi*. DEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Mohanty, S. K., Sinniah, U. R. J. S. A. P. A. M., & Spectroscopy, B. (2015). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of *Momordica cymbalaria* and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. 151, 939-944.
- Tien, D.-C., Tseng, K.-H., Liao, C.-Y., Huang, J.-C., Tsung, T.-T. J. J. o. a., & compounds. (2008). Discovery of ionic silver in silver nanoparticle suspension fabricated by arc discharge method. 463(1-2), 408-411.
- Trinca, R. B., Westin, C. B., da Silva, J. A. F., & Moraes, Â. M. J. E. P. J. (2017). Electrospun multilayer chitosan scaffolds as potential wound dressings for skin lesions. 88, 161-170.
- Ulery, B. D., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. J. J. o. p. s. P. B. p. p. (2011). Biomedical applications of biodegradable polymers. 49(12), 832-864.
- Unnithan, A. R., Pichiah, P. T., Gnanasekaran, G., Seenivasan, K., Barakat, N. A., Cha, Y.-S., . . . Aspects, E. (2012). Emu oil-based electrospun nanofibrous scaffolds for wound skin tissue engineering. 415, 454-460.
- Vanden-Hehir, S., Cairns, S. A., Lee, M., Zoupi, L., Shaver, M. P., Brunton, V. G., . . . Hulme, A. N. J. B. (2019). Alkyne-tagged PLGA allows direct visualization of nanoparticles in vitro and ex vivo by stimulated Raman scattering microscopy. 20(10), 4008-4014.
- Varaprasad, K., Vimala, K., Ravindra, S., Reddy, N. N., Reddy, G. V. S., & Raju, K. M. J. J. o. M. S. M. i. M. (2011). Fabrication of silver nanocomposite films impregnated with curcumin for superior antibacterial applications. 22(8), 1863-1872.
- Vargas, E. T., do Vale Baracho, N., De Brito, J., & De Queiroz, A. J. A. b. (2010). Hyperbranched polyglycerol electrospun nanofibers for wound dressing applications. 6(3), 1069-1078.
- Wang, L., Mu, R.-J., Li, Y., Lin, L., Lin, Z., & Pang, J. J. L. (2019). Characterization and antibacterial activity evaluation of curcumin loaded konjac glucomannan and zein nanofibril films. 113, 108293.
- Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z.-S., & Chen, G. J. D. d. t. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. 20(5), 595-601.
- Weishaupt, R., Zünd, J. N., Heuberger, L., Zuber, F., Faccio, G., Robotti, F., . . . Maniura-Weber, K. J. A. H. M. (2020). Antibacterial, Cytocompatible, Sustainably Sourced: Cellulose Membranes with Bifunctional Peptides for Advanced Wound Dressings. 9(7), 1901850.
- Xu, X., Yang, Q., Bai, J., Lu, T., Li, Y., Jing, X. J. J. o. N., & Nanotechnology. (2008). Fabrication of biodegradable electrospun poly (L-lactide-co-glycolide) fibers with antimicrobial nanosilver particles. 8(10), 5066-5070.
- Yang, X., Fan, L., Ma, L., Wang, Y., Lin, S., Yu, F., . . . Design. (2017). Green electrospun Manuka honey/silk fibroin fibrous matrices as potential wound dressing. 119, 76-84.
- You, Y., Min, B. M., Lee, S. J., Lee, T. S., & Park, W. H. J. J. o. A. P. S. (2005). In vitro degradation behavior of electrospun polyglycolide, polylactide, and poly (lactide-co-glycolide). 95(2), 193-200.

- Yousefi, I., Pakravan, M., Rahimi, H., Bahador, A., Farshadzadeh, Z., Haririan, I. J. M. S., & C, E. (2017). An investigation of electrospun Henna leaves extract-loaded chitosan based nanofibrous mats for skin tissue engineering. *75*, 433-444.
- Zamani, M., Prabhakaran, M. P., & Ramakrishna, S. J. I. j. o. n. (2013). Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *8*, 2997.
- Zhang, Y., Lim, C. T., Ramakrishna, S., & Huang, Z.-M. J. J. o. m. s. m. i. m. (2005). Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *16*(10), 933-946.
- Zhou, T., Wang, N., Xue, Y., Ding, T., Liu, X., Mo, X., . . . Biointerfaces, S. B. (2016). Electrospun tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation. *143*, 415-422.

