



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN POLİMERİK NANOFİBER
MEMBRANLARIN ÜRETİMİ VE YARA İYİLEŞMESİ İÇİN KULLANIM
POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZELİHA ESRA ÇAKMAK

DANIŞMAN: PROF.DR. KADRIYE TUZLAKOĞLU

**YALOVA
AĞUSTOS 2022**



T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
POLİMER MALZEME MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN POLİMERİK NANOFİBER MEMBRANLARIN
ÜRETİMİ VE YARA İYİLEŞMESİ İÇİN KULLANIM POTANSİYELLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZELİHA ESRA ÇAKMAK
205101005

DANIŞMAN: PROF.DR. KADRIYE TUZLAKOĞLU

YALOVA
AĞUSTOS 2022

ETİK BEYAN

Yalova Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım “ BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN POLİMERİK NANOFİBER MEMBRANLARIN ÜRETİMİ VE YARA İYİLEŞMESİ İÇİN KULLANIM POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI ” başlıklı bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksinin tespiti halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Zeliha Esra ÇAKMAK

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, akademik anlamda bana her zaman destek olan ve doğru yolu gösteren sayın danışman hocam Prof. Dr. Kadriye TUZLAKOĞLU'na,

in vitro sitotoksosite çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Merve TUZLAKOĞLU ÖZTÜRK'e,

Tez dönemimde yaşadığım her türlü zorlukta bana destek olan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Nergis Zeynep RENKLER DEĞİRMENCİ'ye

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan, her zaman yanımda oldukları ve benden desteklerini hiçbir zaman esirgemedikleri için aileme ve nişanlıma çok teşekkür ederim.

Ağustos– 2022

Zeliha Esra ÇAKMAK



İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Derinin Tanımı ve Morfolojik Yapısı	3
2.2. Yara ve Yara Çeşitleri	4
2.2.1. Yara iyileşmesi aşamaları	6
2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler	8
2.2.3. Yara örtüsü nedir ve ideal bir yara örtüsü nasıl olmalıdır	8
2.2.4. Nanofiber yara örtüsü üretiminde kullanılan yöntemler	10
2.3. Elektroeğirme Yöntemi	12
2.3.1. Elektroeğirme yöntemini etkileyen parametreler	14
2.3.1.1. Polimer çözeltisinden kaynaklı parametreler	15
2.3.1.2. Çevre kaynaklı parametreler	19
2.3.1.3. Proses kaynaklı parametreler	19
2.3.2. Elektroeğirme yönteminde kullanılan polimerler	22
2.3.2.1. Doğal polimerler	23
2.3.2.2. Sentetik polimerler	25
2.4. <i>Echium italicum</i>	29
2.4.1. <i>E. italicum</i> bitkisinin içeriğinde bulunan ikincil metabolitler	30
2.4.2. <i>E. italicum</i> bitkisinin yara iyileşmesine olan etkisi	31
3. MATERYAL VE METHOD	33
3.1. Kullanılan Malzemeler	33
3.2. <i>E. italicum</i> (EI) Bitkisinden Aktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu	33
3.3. <i>Echium italicum</i> (EI) Bitkisinde Antioksidan Bileşik Tayini	33
3.4. Bitki Ekstraktı İçeren Polimerik Nanofiber Membranların Üretimi	35



3.5. Membranların Karakterizasyonu	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1. <i>Echium italicum</i> (EI) Bitkisinde Antioksidan Bileşik Tayini	39
4.2. Morfolojik Değerlendirme	40
4.3. <i>in vitro</i> Biyobozunma Çalışmaları	42
4.4. FTIR Analizi.....	45
4.5. Mekanik Test.....	46
4.6. Termal Gravimetrik Analiz	47
4.7. Su Temas Açısı.....	48
4.8. İndirekt Sitotoksosite Testi.....	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	59



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

SİMGELER

°C	: Celcius
µm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
mm	: Milimetre
kV	: Kilovolt
cp	: Santipoise

KISALTMALAR

ALA	: α-Linolenik Asit
DCM	: Diklorometan
DMF	: Dimetilformamid
DMEM	: Dulbecco's Modification of Eagle's Medium
EI	: <i>Echium italicum</i>
EIE	: <i>Echium italicum</i> Ekstarktı
ECM	: Hücre dışı matris
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
FBS	: Fetal Bovine Serum
FDA	: Food and Drug Administration
GLA	: γ- Linolenik Asit
HA	: Hyaluronik asit
HFIP	: 1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-propanol
KH ₂ PO ₄	: Mono Potasyum Fosfat
NaH ₂ PO ₄	: Mono Sodyum Fosfat
NaCl	: Sodyum Klorür
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PEO	: Poli(etilen oksit)
PVA	: Poli(vinil alkol)
PGA	: Poli(glikolik asit)
PLA	: Poli(laktik asit)
PCL	: Poli(ε-kaprolakton)
PLLA	: Poli(L-laktik asit)
PU	: Poliüretan
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
SDA	: Stearidonik Asit
TFE	: Trifloroetanol
THF	: Tetrahidrofuran
TG/DTA	: Termal Gravimetrik Analiz / Dinamik Termal Analiz

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Oluşumlarına göre yara tipleri	4
Tablo 2.2. Elektroeğirme yönteminin avantaj ve dezavantajları.....	14
Tablo 2.3. Elektroeğirme yöntemini etkileyen parametreler	15
Tablo 2.4. Elektroeğirme yönteminde kullanılan çözücülerin ve oluşan fiberlerin özellikleri.....	18
Tablo 2.5. Elektroeğirme parametreleri ve fiberler üzerindeki morfolojik etkileri.....	21
Tablo 2.6. Bazı polimerler ve uygulama alanları.....	22
Tablo 2.7. PCL'nin fizikokimyasal özellikleri.....	26
Tablo 2.8. 85:15 PLGA polimerinin fizikokimyasal özellikleri	28
Tablo 2.9. <i>E. italicum</i> bitkisinin fitokimyasal içeriğinde bulunan metabolitler	30
Tablo 3.1. PLGA, PLGA/EIE10, PLGA/EIE12, PLGA/EIE15 ve PLGA/EIE20 çözeltilerinin elektroeğirme parametreleri	35
Tablo 3.2. Sitotoksik yanıt indeksi.....	38
Tablo 4.1. Toplam flavanoid ve fenolik bileşik miktarları	40
Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda üretilen membranların ortalama nanofiber çapları.....	42
Tablo 4.3. Membranların 7,14,30,60 ve 90.gün için in vitro biyobozunma yüzdeleri.....	43
Tablo 4.4. Membranların mekanik ölçüm değerleri.....	47
Tablo 4.5. Membranların su temas açısı değerleri.....	48
Tablo 4.6. Membranların 24 ve 48 saat sonra elde edilen sitotoksik indeks değerleri.....	50



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Derinin morfolojik yapısı.....	3
Şekil 2.2. Yara çeşitleri	5
Şekil 2.3. Yanık dereceleri ve etkiledikleri deri tabakaları	6
Şekil 2.4. Yara iyileşme fazları	7
Şekil 2.5. Nanofiber yara örtüsü	9
Şekil 2.6. İdeal yara örtüsü	9
Şekil 2.7. Nanofiberlerin uygulama alanları	10
Şekil 2.8. Termal indüklenen faz ayrılması yöntemi	11
Şekil 2.9. Çekme yöntemiyle nanofiber oluşumu	12
Şekil 2.10. Elektroeğirme işlemi sırasında iğne ucunda Taylor konisinin oluşumu ve fiberlerin levhadaki görünümü	14
Şekil 2.11. Elektroeğirme işlemi sırasında uygulanan gerilimin artmasıyla Taylor konisi oluşumu arasındaki ilişki	20
Şekil 2.12. Polikaprolakton molekül yapısı	26
Şekil 2.13. PLGA kimyasal yapısı	28
Şekil 2.14. <i>Echium italicum</i> bitkisi	30
Şekil 2.15. <i>E. italicum</i> bitkisinin içeriğinde doğal olarak bulunan metabolitler.....	31
Şekil 3.1. PLGA/EIE membranların üretim şeması	33
Şekil 4.1. Gallik asit'e ait kalibrasyon eğrisi	39
Şekil 4.2. Kersetin'e ait kalibrasyon eğrisi	40
Şekil 4.3. Membranların SEM görüntüleri a) PLGA, b) PLGA/EIE10, c) PLGA/EIE12, d) PLGA/EIE15, e) PLGA/EIE20 (5000x)	41
Şekil 4.4. Örneklerin 60. gün sonunda SEM görüntüleri.....	44
Şekil 4.5. Örneklerin 90. gün sonunda SEM görüntüleri.....	45
Şekil 4.6. Membranların FTIR spektrumu	46
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonda örneklerin TGA grafikleri.....	47
Şekil 4.8. Membranların su temas açısı ölçümlerinin görüntüleri	49
Şekil 4.9. 72 saatlik bir süre boyunca kontrol ve numune özleri ile inkübasyondan sonra L929 hücrelerinin hücre canlılığı	50



BİTKİ EKSTRAKTI İÇEREN POLİMERİK NANOFİBER MEMBRANLARIN ÜRETİMİ VE YARA İYİLEŞMESİ İÇİN KULLANIM POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

İnsan vücudunun en geniş organı olan epidermis, dermis ve subkutis (deri altı) olmak üzere üç tabakadan oluşan deri, vücudu sararak diğer organları mekanik ve kimyasal dış etkilerden koruyan bir bariyer olarak görev yapar. Bu tabakaların bir veya birden fazlasında oluşan hasarlar yara olarak adlandırılır. Özellikle yanık yaralanmalarında deri tabakalar ciddi hasar görür. Yaranın tipine bağlı olarak çok çeşitli yara örtüleri mevcuttur/geliştirilmektedir. Yara örtüleri, medikal tekstillerin giderek büyüyen önemli bir alanıdır. Özellikle, son yıllarda çok sayıda fonksiyonel polimerik yara örtüleri yara iyileşme sürecini hızlandırmak ve deri dokusunun rejenerasyonunu en iyi şekilde sağlamak için kullanılmaya başlanmıştır. Polimerik yara örtüleri genellikle yara iyileşmesini hızlandıracak bir veya birden çok bileşen içerir. Biyolojik kaynaklı biyomoleküllerin yanı sıra bitkisel kaynaklı ekstraktların kullanımı da oldukça yaygındır.

Bu tez çalışmasında, yanık yaralarının iyileşmesinde etkili olduğu bilinen *Echium italicum* (kurt kuyruğu, EIE) bitkisinden ekstraksiyon yolu ile elde edilen aktif bileşenlerin biyobozunur poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) kopolimerine yüklenmesi ile kullanımı kolay ve etkili bir yara örtüsü geliştirilmesi amaçlanmıştır. Farklı miktarlarda EIE (ağırlıkça 10, 12, 15, %20) içeren PLGA çözeltileri kullanılarak nanofiber yapısında membranlar elde edilmiştir. ATR-FTIR analizleri, nanofiberlerin yüzeyinde EIE'nin varlığını doğrulamıştır. Bununla birlikte, nanofiber matlar üzerine EIE ilavesinin hem çekme mukavemeti hem de uzama değerlerinde düşüslere neden oldu tespit edilmiştir. Su temas açısı ölçümü sonuçlarından, ekstrakta bulunan diol gruplarının etkisi ile membranların hidrofilikliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Fizyolojik şartlarda gerçekleştirilen in vitro bozunurluk testleri sonucu membranlarda 60.günden sonra ağırlık kaybı ile birlikte morfolojik olarak da bozunmanın da gerçekleştiği tespit edilmiştir. MEM ekstraksiyon metodu ile gerçekleştirilen in vitro sitotoksikite testleri sonucu membranların sitotoksik olmadığı bulunmuştur.

Yapılan tüm analizlere dayanarak, geliştirilen nanofiber yapısındaki membranların ciddi yanık yaralarının tedavisi için potansiyel bir yara örtüsü olarak kullanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Echium italicum*, Yara iyileşmesi, Elektroeğirme, Yara örtüsü, Polimerik membran



PRODUCTION OF POLYMERIC NANOFIBER MEMBRANES CONTAINING PLANT EXTRACT AND INVESTIGATION OF THEIR POTENTIAL FOR THE USE ON WOUND HEALING

ABSTRACT

The skin, which is the largest organ of the human body and consists of three layers, namely epidermis, dermis and subcutis (under the skin), acts as a barrier protecting the other organs from mechanical and chemical external effects by wrapping the body. Damage to one or more of these layers is called a wound. Especially in burn injuries, the skin layers are seriously damaged. A wide variety of dressings are available/in development, depending on the type of wound. Wound dressings are an increasingly important field of medical textiles. Especially in recent years, many functional polymeric dressings have been used to accelerate the wound healing process and to provide the best regeneration of the skin tissue. Polymeric dressings usually contain one or more ingredients to accelerate wound healing. In addition to biomolecules of biological origin, the use of plant-derived extracts is also very common.

In this thesis, it was aimed to develop an easy-to-use and effective dressing by loading the active ingredients obtained by extraction from the plant *Echium italicum* (wolf tail, EIE), which is known to be effective in the healing of burn wounds, into a biodegradable poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) copolymer. intended. Membranes with nanofiber structure were obtained by using PLGA solutions containing different amounts of EIE (10, 12, 15, 20% by weight). ATR-FTIR analyzes confirmed the presence of EIE on the surface of the nanofibers. However, it was determined that the addition of EIE on nanofiber mats caused decreases in both tensile strength and elongation values. From the results of the water contact angle measurement, it was observed that the hydrophilicity of the membranes increased with the effect of the diol groups in the extract. As a result of in vitro degradability tests performed under physiological conditions, it was determined that morphological decomposition occurred along with weight loss in the membranes after the 60th day. As a result of in vitro cytotoxicity tests performed by MEM extraction method, it was found that the membranes were not cytotoxic.

Based on all the analysis, it was concluded that the developed nanofiber membranes could be used as a potential wound dressing for the treatment of severe burn wounds.

Keywords: Polymeric wound dressing, *Echium italicum*, Poly(lactic-co-glycolic acid), Electrospinning, Wound healing



1. GİRİŞ

Deri, temel olarak epidermis ve dermis katmanlarından oluşan, vücudu kaplayan ve dış çevreyle direkt teması olan vücudun en geniş organıdır. Vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur [1]. Vücutta dışarıdan gelen herhangi bir etkiye karşı diğer organları koruyan bir çeşit savunma mekanizması görevi görür. Bunun yanı sıra deri dokusunun vücudun ısı ve sıvı dengesini sağlamak ve korumak gibi görevleri de vardır. Deri bütünlüğünün bozulmasıyla deri dokusunda yara oluşur. Yaralanma çeşitlerinde en sık görülen yanık yaraları ısıya maruz kalma süresine bağlı olarak birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü dereceden yanıklar olarak tanımlanmaktadır. 1. derece yanıklar derinin epidermis tabakasına zarar verir, iyileşme tamamlandıktan sonra iz kalmaz. Diğer yanık türleri epidermisle birlikte diğer tabakalara da zarar verir ve doktor gözetiminde tedavi süreci gerektirir. Bu tür yaralarda iz kalma ihtimali çok yüksektir.

Yaraların tedavisinde geleneksel ve modern yara örtüsü olmak üzere iki tip yara örtüsü geliştirilmiştir. En bilinen ve çok kullanılan geleneksel yara örtüsü gazlı bezdir. Ancak gazlı bez ve benzeri yara örtüleri nemli bir ortam sağlayamama, enfeksiyona karşı koruyucu olamama gibi sebeplerle yara iyileşme sürecini yavaşlatmaktadır. Bunlara çözüm olarak modern yara örtü malzemeleri geliştirilmiştir. Modern yara örtüleri hidrojel, köpük, hidrokolloid ve nanofiber yara örtüleri gibi örneklendirilebilir.

Nanofiber yara örtüleri elektroğirme yöntemiyle elde edilmekte olup, oluşan fibröz yapının doğal hücre dışı matrisin yapısına benzemesinden dolayı yara iyileşme evrelerinde hücrelerin tutunması, gelişmesi, çoğalması için elverişli ortam sağlar [2]. Elektroğirme yöntemiyle doğal veya sentetik polimerler kullanılarak nanofiber yara örtüler üretilmektedir. Elektroğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberlerden oluşan yara örtülerinin, geleneksel yara örtülerine göre avantajları vardır. Bunlar; kanamayı durdurma (hemostaz) özelliğini hızlandırması, yüksek absorpsiyon kapasitesi ve gaz geçirgenliğidir.

Bu tez çalışmasında da yanık yaralarının iyileşmesinde etkili olduğu bilinen *Echium italicum* (kurt kuyruğu) bitkisinden ekstraksiyon yolu ile elde edilen aktif bileşenlerin biyobozunur poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) kopolimerine yüklenmesi ve bu yolla yara iyileşmesi için kullanımı kolay ve etkili bir yara örtüsü geliştirilmesi amaçlanmıştır. Polimerik nanofiber membranlara eklenen bitki ekstraktları ve fitokimyasalları ile membranların yara iyileştirmedeki avantajları arttırılmıştır.

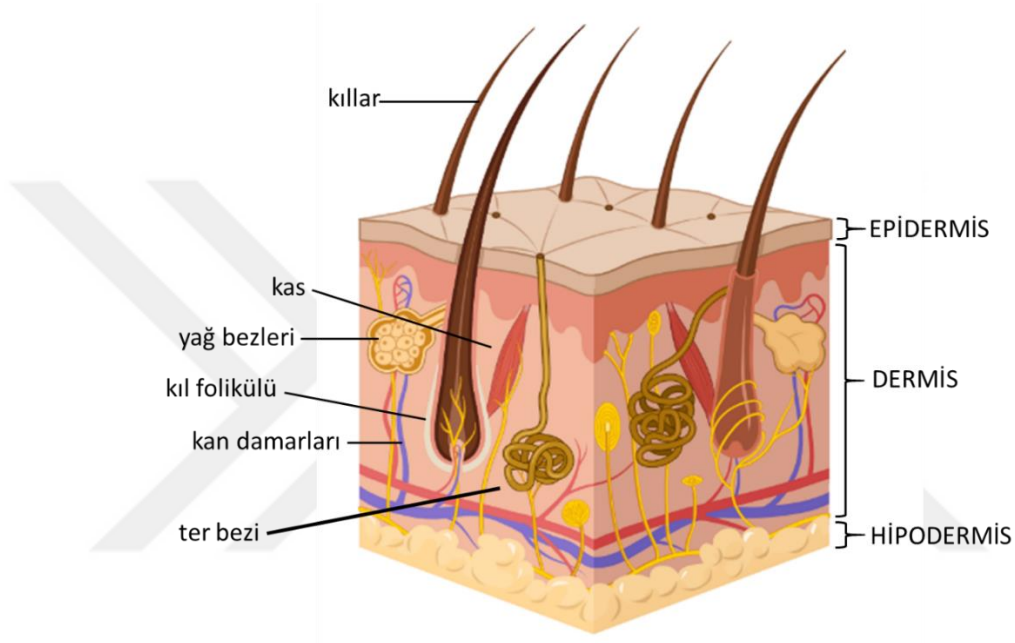
Elektroeğirme yolu ile üretilen nanofiber membran yapısındaki yara örtülerinin karakterizasyonu ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Membranların ayrıca *in vitro* bozunurluk testleri ve *in vitro* sitotoksisite testleri gerçekleştirilmiştir.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Derinin Tanımı ve Morfolojik Yapısı

Deri, temel olarak epidermis ve dermis katmanlarından oluşan, vücudu kaplayan ve dış çevreyle direkt teması olan vücudun en geniş organıdır. Toplam vücut ağırlığının yaklaşık % 16'sını oluşturur. Patojen mikroorganizmalar için savunma mekanizması görevi görür. Ayrıca vücudun ısı ve sıvı dengesini sağlamakla görevlidir [3].



Şekil 2.1. Derinin morfolojik yapısı

Deri dokusu temel olarak dıştan içe doğru 3 tabakadan oluşur: epidermis, dermis ve hipodermis.

- Epidermis: Derinin en dış katmanıdır. Morfolojisi sert, dış ortamla direkt olarak temas halinde olduğundan dolayı oldukça dayanıklı bir tabakadır [4].
- Dermis (Kutis): Dermis, hücre dışı matris (ECM) açısından zengindir. Cilde besin kaynağı sağlar. Aynı zamanda derinin elastikiyetini, gücünü, dayanıklılığını sağlayan bir mekanizması vardır [3].
- Hipodermis (Subkutis): Derinin en alt tabakasıdır. Cilt altı yağ dokusu ve fibröz trabeküllerden oluşur. Damar ve sinir yönünden oldukça zengin bir katmandır. Isı kaybını engeller, vücudu travmalara karşı korur ve yedek besin deposu görevi görür.

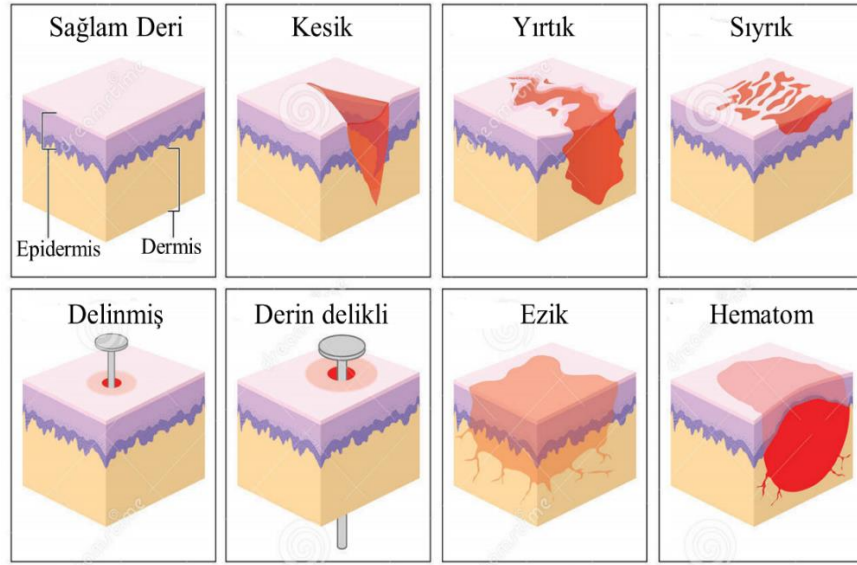
2.2. Yara ve Yara Çeşitleri

Yara, doku bütünlüğünün geçici veya tamamen bozulması durumudur. Vücuttaki bu doku bütünlüğü bozulması görülebilir alanlarda oluşabileceği gibi iç organ ve dokularda da oluşabilir. Deri dokusu bütünlüğünün bozulması, yaralanma ve yanma sonucu oluşabilir [5].

Tablo 2.1. Oluşumlarına göre yara tipleri [6]

Oluşumlara Göre Yaralar	Yara Tipleri
Deri Bütünlüğüne Göre	Açık, Kapalı
Oluş Zamanına Göre	Akut, Kronik
Yaranın Şekline Göre	Parçalı Yara, Yanık, Sıyrık Yara, Kesik Yara, Ezik Yara, Delici Yara
Bulaş Durumuna Göre	Kontamine Yara, Kirli ve Enfekte Yara, Temiz Yara, Temiz Kontamine Yara

Yaralar oluşma etkenine göre çeşitli sınıflara ayrılabilir. Oluşma zamanına göre yaralar akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır. Akut yaralarda geçici bir etken neden olur ve kısa sürede iyileşme gözlenir. İyileşmeyi engelleyen faktörler kronik yaralara kıyasla daha azdır [6]. Kronik yaralarda ise etken kalıcıdır, iyileşme gözlenmez veya çok azdır. Yara kendini sürekli yeniler.



Şekil 2.2. Yara çeşitleri [6]

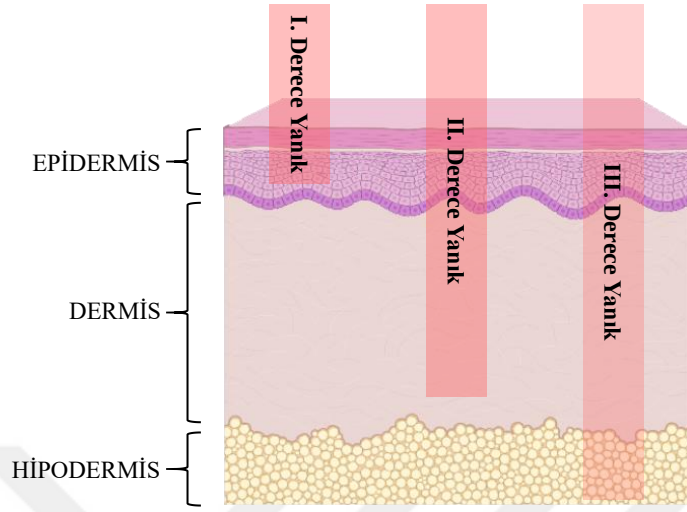
Kesik (İnsizyon): Keskin uçlu nesneler tarafından oluşturulan yaralardır. Diğer yara türlerine göre yara ağzı daha açıktır ancak kontaminasyon riski daha düşüktür ve genelde temiz yaralardır. Neşter ile açılmış cerrahi yaralar örnek olarak verilebilir.

Yırtık (Lacerasyon): Yumuşak dokunun keskin bir nesne ile penetrasyonu sonucu oluşan yaralanmalardır. Ölü doku miktarı düz kesilere göre daha fazladır. Kontaminasyon ve enfeksiyon riski çok yüksektir [6].

Sıyrık (Abrasyon): Derinin pürüzlü ve sert bir zemine sürtünmesi veya çarpmasıyla oluşan, epidermis tabakasının hasar aldığı yüzeysel yaralardır. Epidermis tabakasının hasar almasının yanı sıra, sürtünen zeminin sertliğine veya şekline (sivri uçlu vb) bağlı olarak dermis tabakasına kadar hasar görebilmektedir.

Yanık Yaraları: Yanık, vücudun alacağından daha fazla enerji alması sonucu oluşan, küçük kızarıklıklar ile başlayıp ödem oluşumu ve doku tahribatına kadar ilerleyen yaralardır. Isı, kimyasal etkenler, elektrik, radyasyon ve soğuk gibi etkenlere bağlı olarak oluşabilir. Yanık yaraları alınan hasara göre birinci derece yanıklar, ikinci derece yanıklar, üçüncü derece yanıklar ve dördüncü derece yanıklar olarak sınıflandırılır. 1. derece yanıklar sıklıkla rastlanılan yüzeysel yanıklardır. Bu yanıklarda derinin sadece epidermis tabakası hasar alır. Yanık oluşan bölgede kaşıntı, deride kuruluk meydana gelir. 2. derece yanıklarda epidermisle birlikte dermis tabakası da hasar görür. Ödem oluşumu gözlenir. 3. derece yanıklarda epidermis ve dermis tabakaları tamamen tahrip olur. Sinir uçlarının hasar görmesi sebebiyle en zor

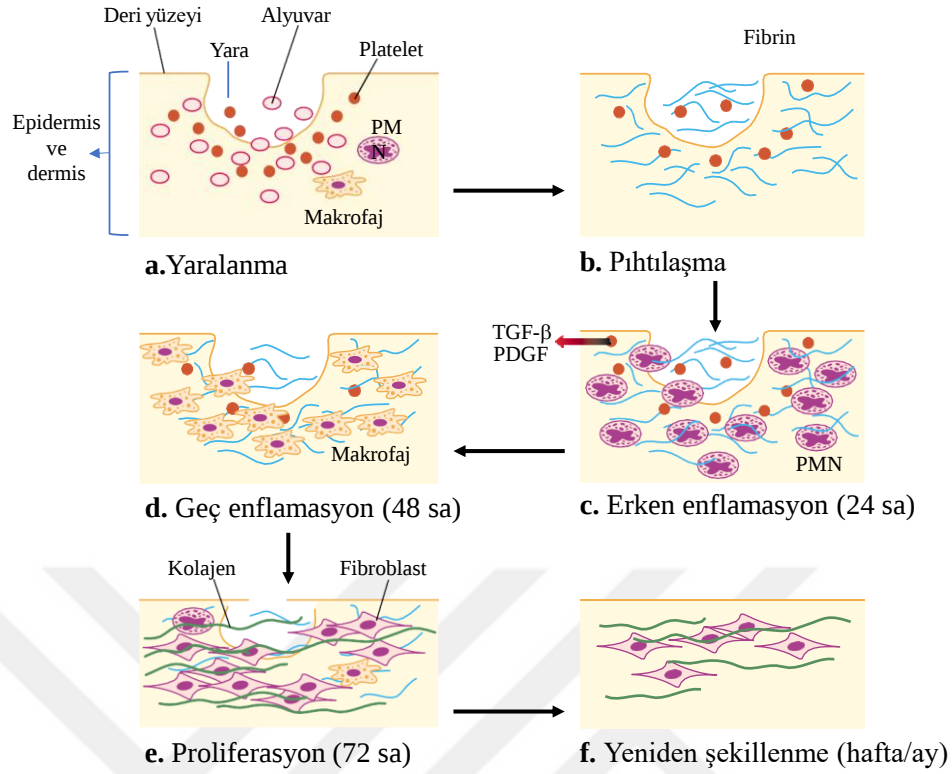
iyileşen yanık tipleridir. 4. derece yanıklarda ise artık kemik dokuya kadar ilerlemiş olup cerrahi müdahale gerektiren yanıklardır (Şekil 2.3) [7].



Şekil 2.3. Yanık dereceleri ve etkiledikleri deri tabakaları

2.2.1. Yara iyileşmesi aşamaları

Yara iyileşmesi, çeşitli hücrelerin hasara uğramış dokunun onarımında kullanılarak dokunun işlevselliğini geri kazanması durumudur. Yara iyileşmesi hemostaz, enflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme evrelerinden oluşur (Şekil 2.4). Bu iyileşme sırasında çeşitli hücre tipleri, büyüme faktörleri, kemokinler ve diğer proteinler, fonksiyonel ve verimli doku rejenerasyonu için görev alan hücrelerdir [2].



Şekil 2.4. Yara iyileşme fazları [8]

Hemostaz: Yara oluşumu sırasında dermis tabakasında yara yatağına doğru bir kanama gerçekleşir ve ilk dakikalarda vücut fizyolojik bir tepki olarak trombositler aracılığıyla kan pıhtısı oluşur. Buna hemostaz denir. Bu aşamanın amacı yarada başlayan kanamanın durdurulmasıdır. Sağlıklı bir hemostaz evresinde kan kaybı önlenir, yaralanma bölgesi dışındaki doku veya organlara zarar gelmesi engellenir [9].

Enflamasyon: Bu evrede amaç yaranın iltihap kapmasını engellemektir. Enfeksiyonlara karşı bariyer oluşturulur. Bu evre gerçekleşmezse enfeksiyon riski artar ve yara iyileşme süresi uzar [10]. Bu evrede yara bölgesine gelen hücrelerden ilki nötrofillerdir. Nötrofiller yara bölgesindeki bakteri ve kalıntıları fagositoz yöntemiyle temizler. Daha sonra sitokin ve büyüme faktörleri salımı gerçekleşir. Enflamasyon evresi genellikle 72 saat sürer [11].

Proliferasyon (Çoğalma): Çoğalma fazı hasar oluşumunun sonrasındaki üçüncü günde başlar ve yaklaşık iki hafta kadar devam eder. Proliferasyon evresi yeniden epitelizeasyon, anjiyogenezi ve granülasyon gibi aşamalardan oluşur. Bu evrenin temel amacı, yeni oluşan dokuya besin ve gaz taşımak için yeni damarlar oluşturmaktır [12]. Granülasyon dokusu yeniden oluşarak iyileşme süreci hızlanır. Makrofajlar,

fibroblastlar ve kan damarları yara bölgesine doğru geçiş yapar ve yeniden oluşum aşamasına geçilir.

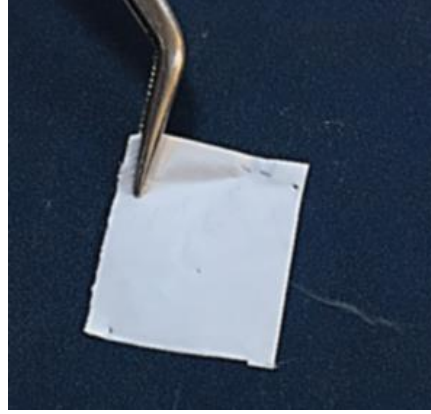
Yeniden şekillenme (Maturasyon) : Fibroblastlar yara yüzeyini kaplar ve yeni bir cilt katmanı oluşur. Yeniden şekillenme evresi genellikle 21 gün ile 2 yıl arasında devam eder. Bu süre yaranın büyüklüğüne ve başlangıçta kapalı veya açık olup olmadığına bağlı olarak değişmektedir [2].

2.2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen birçok sistemik ve lokal faktör bulunmaktadır. İyileşmeyi hızlandırmak ve enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak için bu faktörleri en aza indirmek gerekmektedir. Sistemik faktörler obezite, metabolik hastalıklar (remi, anemi), ileri yaş, beslenme bozuklukları gibi nedenler iken, lokal faktörler için enfeksiyon, yabancı cisimler, yanlış sütür materyali, sigara, hipertermi gibi nedenler sıralanabilir [3].

2.2.3. Yara rts nedir ve ideal bir yara örtüsü nasıl olmalıdır

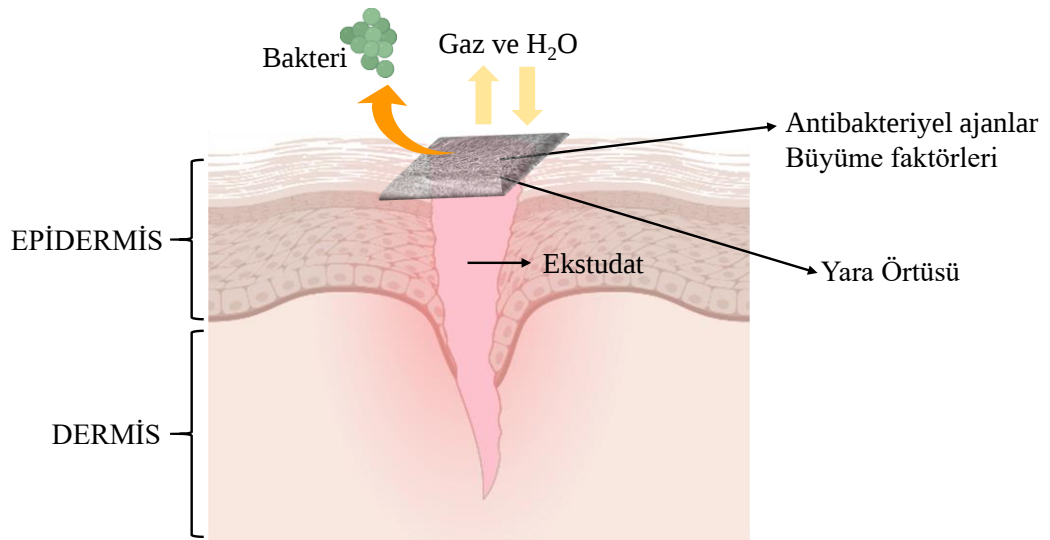
Yaraların tedavisinde geleneksel ve modern yara örtüsü olmak üzere iki tip yara örtüsü geliştirilmiştir. Geleneksel yara örtülerine örnek olarak gazlı bez gibi malzemeler verilebilir. Ancak bu yara örtüleri nemli bir ortam sağlayamama, enfeksiyona karşı koruyucu olmama gibi sebeplerle yara iyileşme sürecini yavaşlatmaktadır. Bunlara zm olarak geliştirilmiş modern yara örtü malzemeleri üretilmiştir. Modern yara örtüleri hidrojel, köpük, hidrokolloid ve nanofiber yara örtüleri gibi örneklendirilebilir. Nanofiber yara örtüleri elektroirme yöntemiyle elde edilmekte olup, oluşan fiberler küçük çapta olması doğal hücre dışı matrisin yapısına benzerlik sağlar ve yara iyileşme evrelerinde hücrelerin tutunması, gelişmesi, çoğalması için elverişli ortam oluşturur [1].



Şekil 2.5. Nanofiber yara örtüsü

Elektroeğirme yöntemiyle doğal veya sentetik polimerler kullanılarak nanofiber yara örtüler üretilmektedir. Doku yaralanması gerçekleştiğinde yara mikroorganizmalara karşı savunmasız hale gelir ve yaranın iyileşme zamanı uzayabilir. Bu nedenle elektroeğrilmiş fiber yapıları örtülerin aynı zamanda anti bakteriyel özellikte olması tercih edilir. Yara örtüsü için üretilen malzemenin esnek, gerilme mukavemetine dayanıklı, elastik özelliğinin iyi derecede olması, dokuya zarar vermemesi gerekir.

İdeal bir yara örtüsü, biyouyumluluk, biyobozunma, eksüda emilimi ve uygun mekanik özellikler gibi çeşitli özelliklere sahip olmalıdır. Ayrıca yara kapanma oranını arttırmak için yara bölgesinde nemli ve temiz bir ortam sağlamalıdır. Bu nedenle genellikle doğal veya sentetik polimerler kullanılır (Şekil 2.6).



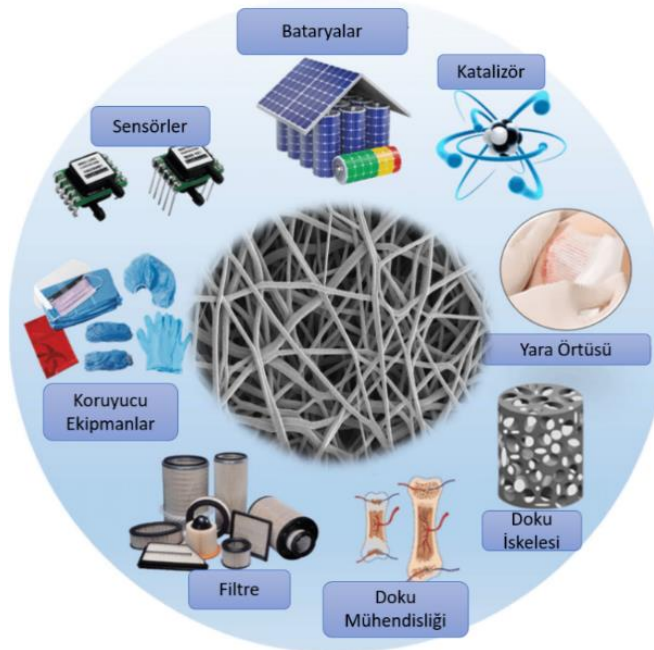
Şekil 2.6. İdeal yara örtüsü [13]

Özet olarak ideal yara örtüsünün özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Biyouyumlu ve biyobozunurluk
- Alerjik etki oluşturmama
- Yüksek mekanik dayanıklılık
- Gerekli nemli ortamı sağlama
- Elastikiyet sağlama
- İyileşme sürecinden sonra bölgeden kolay çıkarılma
- Gaz alışverişine izin verme
- Yara iyileşmesini hızlandırma
- Yara izi oluşumunu önleme [2]

2.2.4. Nanofiber yara örtüsü üretiminde kullanılan yöntemler

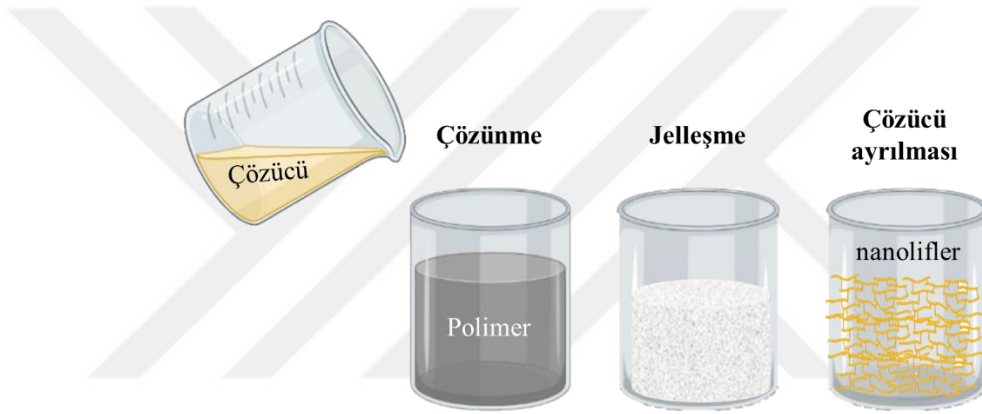
Nanofiber malzemeler doku mühendisliği, ilaç salım sistemleri, tarım alanı gibi birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu nanofiber malzemeleri üretmekte kullanılan birçok yöntem vardır. Bunlar termal indüklenen faz ayrılması (TIPS), çekme, kendiliğinden oluşum ve elektroğirme yöntemleridir.



Şekil 2.7. Nanofiberlerin uygulama alanları [14]

Termal İndüklenen Faz Ayrılması (TIPS)

Bu yöntemde polimerin çözünmesi, jelleşme, çözücünün ayrılması, dondurma ve soğuk kurutma işlemleri yer alır. Polimer uygun bir çözücüde çözündükten sonra içerisine uygun çözeltiler eklenerek teflon şişeye konur ve jelleşme sağlanır. Daha sonra çözücünün uzaklaştırılması için teflon şişe saf suyun içerisinde konur. Jel sudan çıkarılıp -18°C 'de 2 saat dondurulur. Donmuş olan jel soğuk kurutma kanallarına boşaltılır ve -55°C 'de 1 hafta bekletilir [15]. Faz ayırma yöntemi, basit bir yöntem olmasına rağmen kullanılacak çözücü kombinasyonu azlığı, yıkama için fazladan işlem gerektirmesi ve yapıda çözücü artıklarının kalması gibi dezavantajları bulunmaktadır.



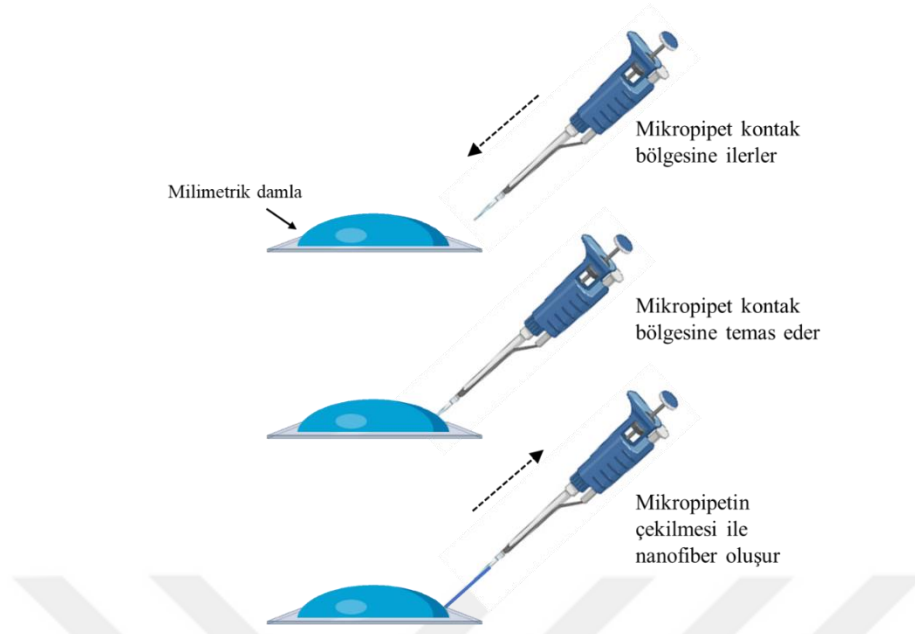
Şekil 2.8. Termal indüklenen faz ayrılması yöntemi

Çekme

Bu yöntemde polimer uygun bir çözücüyle çözünür. Bir yüzey üzerine çözücü ile çözdürülen polimer damlatılarak polimer damlacığı oluşturulur. Bir mikropipet polimer damlacığına değdirilir ve yaklaşık 1×10^{-4} m/s hızla çekilir. Mikropipet çekilirken çözücü yüksek yüzey alan/hacim oranından dolayı hızla buharlaşır ve mikropipet ucu ile polimer damlası arasında bir fiber oluşur [15].

Yöntemin dezavantajları;

- Membran üretimi bu yöntem ile çok zordur.
- 100 nm den büyük fiber çapları elde edilebilmektedir.
- Nanofiber çapları kontrol edilemez.
- İşlemin süresiz olması sebebiyle pratik bir uygulama alanı bulunmamaktadır [16].



Şekil 2.9. Çekme yöntemiyle nanofiber oluşumu [16]

Kendiliğinden Oluşum ("Self-assembly")

Bu yöntemde küçük polimer molekülleri yan yana dizilerek bağ oluşturur. Bu moleküller büyük oranda birleşerek nano fiberleri oluşturur. Bu yöntemde moleküler seviyede nanofiber üretimi olduğu için oluşan fiberlerin çapı düşük olur. Polimer molekülleri birbirlerine hidrojen bağı, hidrofobik kuvvetler ve elektriksel etkileşimler gibi bağlarla bağlı oldukları için oluşan yapılar çok kararlıdır [15].

Tez kapsamında kullanılan elektroğirme yöntemi ile ilgili ayrıntılı bilgi ayrı bir bölüm olarak aşağıda verilmiştir.

2.3. Elektroğirme Yöntemi

Elektroğirme veya elektroçekme yöntemi, nano veya mikro boyutta farklı çaplarda fiberli yapıların oluşturulmasında en sık kullanılan, uygulaması kolay ve ucuz yöntemlerden biridir [17]. Bu fiberli yapılar birçok alanda özellikle medikal alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Nano veya mikro boyutta oluşturulabilen çaplar işlem sırasında parametrelerin değiştirilmesiyle istenilen çaplar elde edilebilmektedir.

Dokuda oluşan hasarların iyileştirilmesinde, hücrelerin onarımı ve çoğalmalarını sağlayan çevre koşullarını barındıran en uygun malzeme seçilmelidir. Bu tanıma en uygun malzeme olarak hücre dışı matrise (ECM) olan yapısal benzerliği, yüksek gözenekli yapısı ve birbirine bağlı gözeneklerin bulunması nedeniyle fiber formunda

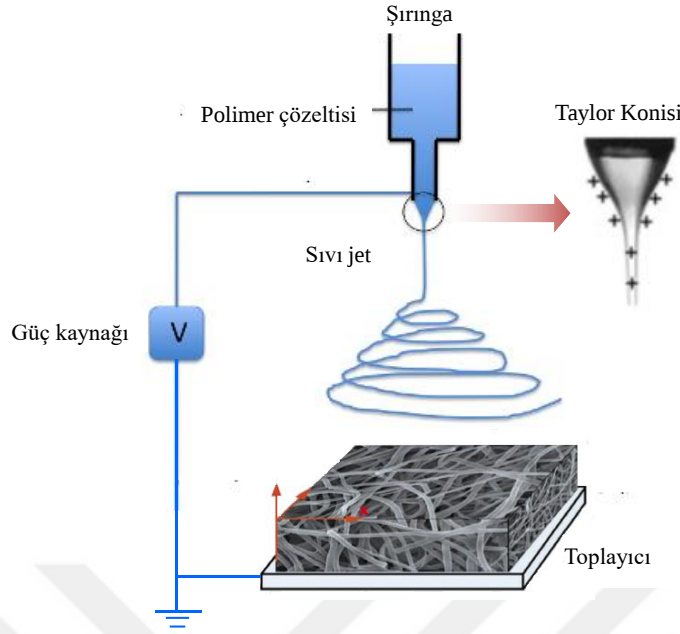
yapılar seçilmektedir. Elektroğirme yöntemi de bu fiberli yapıları elde etmek için kullanılan en yaygın yöntemdir.

Elektroğirme yöntemiyle doğal veya sentetik malzemeler kullanılarak nano fiberli membranlar oluşturulabilir [18]. Elektroğirme yöntemiyle elde edilen nano boyutlu doku iskeleler deri, kemik, kırık, vazküler ve sinir dokularının onarımında sıklıkla kullanılan yapılardır. Birçok farklı polimer kullanılarak nanofiber yapısında malzemeler üretmek için elektroğirme oldukça işlevsel ve kullanışlı bir yöntemdir. Bu oluşturulan malzemeler yüksek yüzey alanı/hacim oranına ve çok fazla gözenekli bir yapıya sahiptir [19].

Elektroğirilmiş nanofiber yara örtüleri, yüksek gözenekli yapı, geniş yüzey alanı ve esneklik gibi özelliklerinden dolayı yaraya çok iyi bir uyum sağlayarak en kolay ve en iyi biçimde iyileşmesini sağlar [7]. Ayrıca elektroğirilmiş membranlar yüksek yüzey alanları sayesinde, yaranın kolay ve hızlı iyileşebilmesi için yaraya nemli bir ortam sağlayarak iyileşme sürecinde gerekli olan sıvı emilimine yardımcı olur [20].

Elektroğirme yönteminde sistem Şekil 2.10'da verildiği gibi topraklanmış toplayıcı levha, kapiler tüp veya iğne ve yüksek güç kaynağı olmak üzere üç temel bölümden oluşur [21, 22]. Sistemin çalışma prensibi yüksek voltaj farkına dayanır. Önceden hazırlanmış homojen polimer çözeltisi ucunda iğne bulunan bir şırınga içerisine yerleştirilir ve bir pompa yardımı ile iğnenin ucuna doğru itilir, bu sırada iğne ucuna yüksek voltaj uygulanır.

Elektrostatik kuvvetler ile polimer çözeltisinin yüzey gerilim kuvveti eşitlendiği anda iğnenin ucunda Taylor konisi adı verilen konik bir yapı oluşur. Gerilim bu eşik değerinin üzerine çıkartıldığında ise polimer çözeltisi sıvı jeli şeklinde çekilir ve negatif yüklü topraklanmış toplayıcı metal levhaya birikir [23]. Polimer çözeltisi iğne ucundan toplayıcı levhaya doğru ilerlerken içerisindeki çözücü buharlaşır ve polimer fiberler halinde levhada toplanır [24].



Şekil 2.10. Elektroğirme işlemi sırasında iğne ucunda Taylor konisinin oluşumu ve fiberlerin levhadaki görünümü

Elektroğirme yönteminin nanofiber üretimi için kendiliğinden oluşum, faz ayırma ve çekme gibi diğer yöntemlerden ayıran avantajları olduğu kadar birtakım bazı dezavantajları da mevcuttur. Bu avantaj ve dezavantajlar Tablo 2.2’de sunulmuştur.

Tablo 2.2. Elektroğirme yönteminin avantaj ve dezavantajları [24]

Avantajlar	Dezavantajlar
Sistemin ayarlarının kolay yapılabilirliği	Yapıların merkezinde düşük hücrel infiltrasyon olması
Ucuz bir yöntem olması	2 boyutlu gözenek/ yapı oluşumu
Geniş malzeme seçenekleri	Toksik çözücülerin kullanılması (HFIP gibi)
Sistemin fiber çapını, yapısını ve dizilimini kontrol etmeye izin vermesi	

2.3.1.Elektroğirme yöntemini etkileyen parametreler

Elektroğirme yöntemiyle elde edilen fiberlerin morfolojik özelliklerini etkileyen pek çok parametre bulunmaktadır. Bunlar polimer çözeltisinin parametreleri, çevreden

kaynaklı parametreler ve prosten kaynaklı parametreler olmak üzere üç ana başlık altında incelenebilir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Elektroğirme yöntemini etkileyen parametreler [25]

Polimer Çözeltisinden Kaynaklı Parametreler	Çevre Kaynaklı Parametreler	Proses Kaynaklı Parametreler
Viskozite	Sıcaklık	İğne-Toplayıcı Mesafesi
Çözelti Konsantrasyonu	Nem	Uygulanan Voltaj
Polimerin Molekül Ağırlığı		Akış Hızı
Yüzey Gerilimi		
Çözeltinin İletkenliği		
Çözücünün Uçuculuğu		

2.3.1.1. Polimer çözeltisinden kaynaklı parametreler

Viskozite

Çözeltinin viskozitesi, süreç sırasında fiberlerin çap, uzunluk ve diğer morfolojik özelliklerini belirlemede önemli bir rol oynar. Eğer hazırlanan çözelti viskozitesi çok düşükse, elektroğirme işlemi sonrasında toplayıcıda toplanan fiberler sürekli değil kesik kesik oluşur. Dolayısıyla sürekli fiberlerin oluşabilmesi için viskozite aralığının belirlenmesi çok önemlidir. Ayrıca viskozite düşük olduğunda Taylor konisi oluşamaz ve hem işlem sırasında hem de fiberlerin üzerinde damlacıklar oluşur ki bu istenmeyen bir durumdur. Hazırlanan çözelti viskozitesi çok yüksek olduğunda ise şırıngadaki polimer çözeltisi iğnenin ucundan geçerek jet oluşturmakta zorlanır ve işlem sırasında iğneden tıkanmalar olabilir. Çözeltinin viskozitesi arttıkça oluşan fiberlerin çapı artmaktadır ve kesik değil sürekli fiberler oluşur. Bu nedenle viskozite ile çap arasında doğru orantı olduğu söylenebilir. Viskozite arttıkça stres uzama süresi de artacağı için ve kesik değil sürekli fiberler oluşur [25]. Fong ve ark., aynı şiddette elektrik alan

uygulandıkları çeşitli konsantrasyonlardaki çözeltilerden düşük viskoziteye sahip olanların damlacıklı ve kesintili nanofiberlerin oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Viskozite arttıkça ise sürekli ve damlacıksız fiberler elde edilmiştir [26].

Çözelti konsantrasyonu

Çözelti konsantrasyonu arttığında viskozite de arttığından dolayı çözelti konsantrasyonu da viskozite gibi fiberlerin çap, uzunluk gibi morfolojik özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Düşük polimerik konsantrasyonlarda, yüklü polimer jeti toplayıcıya ulaşmadan önce damlacıklar halinde parçalanır. Toplayıcı üzerinde ve fiberlerde damlacıklar/boncuklar görülür [24]. Çözelti konsantrasyonu arttığında oluşan fiberlerin çapı da artar. Çözelti konsantrasyonu düşük olduğunda ise yüzey gerilimi de düşük olacağından damlacıklı fiber oluşumu gözlenir. Fazla yüksek konsantrasyonda ise çözelti jet oluşturmakta zorlanır, iğne tıkanabilir ve fiber oluşumu gözlenmez [27].

Polimerin Moleküler Ağırlığı

Elektroeğirme işlemiyle fiber üretiminde kullanılan polimerlerin moleküler ağırlığı arttıkça polimerlerin zincir uzunluğu artacağı için zincirler arası etkileşimler de artar. Zincirler arasındaki etkileşim arttığında ise çözeltinin viskozitesi artmış olur. Böylece devamlı fiberler oluşur, fiberlerin çapları artar ve damlacık oluşumu azalır. Molekül ağırlığı çok düşük polimerler kullanıldığında ise zincirler arası bağ zayıf olacağından viskozite düşük olur ve fiber oluşumu zorlaşır. Bu nedenle elektroeğirme işlemi ile nano fiber üretiminde genellikle yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler kullanılmaktadır [19].

Yüzey Gerilimi

Yüzey gerilimi de diğer parametreler kadar nanofiberlerin morfolojisini etkileyen bir özelliktir. Yüksek yüzey gerilimine sahip çözeltilerde oluşan jetlerin kararsızlığı ve damlacık oluşumu nedeniyle elektroeğirme işlemi zorlaşır. Fiber, damlacık ve boncukların oluşumu çözeltinin yüzey gerilimiyle doğrudan ilişkilidir. Yüzey gerilimi azaldıkça fiberlerin oluşumu kolaylaşır, morfolojileri daha düzgün ve damlacıksız fiberler oluşur [28].

Çözeltinin İletkenliği

Hazırlanan çözeltinin iletkenliği kullanılan polimere, çözücüye ve iyonlaşabilen tuzların varlığına bağlıdır. İyonlar jetin yük taşıma kapasitesini artırır. Bu nedenle polimer çözeltisindeki çözünmüş yüklü iyonlar elektroğirme işlemi sırasında jet oluşumunu hızlandırır. Aynı elektrik alan uygulandığında elektriksel iletkenliğin artması üretilen nanofiberlerin çapını önemli ölçüde azaltır. İletkenliğin düşmesi sonucunda ise jet oluşumu sırasında yetersiz uzama olacağı için boncukların/damlacıkların oluşumu gözlenir. Doğal polimerler sentetiklere göre daha polielektrolit yapıda oldukları için doğal polimerler kullanılarak elde edilen fiberlerin çapları daha düşük olmaktadır. Sentetik polimer çözeltilerine KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 ve NaCl gibi iyonik tuzların eklenmesi çözeltinin iletkenliğini artıracığından boncuksuz, daha düşük çaplı fiberlerin oluşumuna ve daha pürüzsüz bir membran elde edilmesine imkan verir [25].

Çözücünün Uçuculuğu

Elektroğirme işlemi sırasında elektrik alan etkisiyle iğne ucundan buhar jeti halinde çıkan polimer çözeltisi içerisindeki çözücü kısım hızlı bir şekilde buharlaşarak uzaklaşır ve toplayıcıda polimerden oluşan fiberler toplanır. Bu nedenle böyle bir yöntem için kullanılan çözücünün uçuculuk özelliği büyük bir öneme sahiptir. Yüksek uçuculuğa sahip çözücülerle hazırlanan polimer çözeltilerinden elde edilen fiberlerin yüzeyleri daha gözenekli yapıya sahiptir. Dolayısıyla çözücünün uçuculuğu yüzey alanı/hacim oranını önemli düzeyde arttıran bir etkidir.

Çok yüksek uçuculuğa sahip çözeltilerde jet oluşmadan buharlaşma olacağı için iğnenin tıkanması söz konusu olabilir. Uçuculuğu düşük çözücüler kullanıldığında ise yüksek uçuculuğa sahip çözeltilerin tam aksine çözücü jet oluşurken buharlaşamaz ve fiberler toplayıcıda biriktiğinde ıslak ve şeritsi bir yapıda olur [19]. Çözücünün uçuculuğu kadar diğer ek özellikleri de fiberlerin morfolojisini etkilemektedir. Tablo 2.4.'de görüldüğü gibi sıklıkla kullanılan çözücülerin özellikleri ve bu çözücüler kullanıldığında oluşan fiberlerin nasıl morfolojiye sahip olduklarının özet halinde verilmiştir.

Tablo 2.4. Elektroeğirme yönteminde kullanılan çözücülerin ve oluşan fiberlerin özellikleri [24]

Çözücüler	Özellikleri	Oluşan Fiberlerin Morfolojisi
DCM	Düşük dielektrik sabiti, yüksek yüzey alanı	Boncuklu ve geniş çaplı fiberler
Kloroform	Yüksek viskozite	Düşük polimer konsantrasyonunda boncuklu yapı, yüksek konsantrasyonda pürüzsüz fiberler
Metanol	Yüksek dielektrik sabiti	Düşük fiber çaplı fiberler
THF	İyi iletkenlik, yüksek dipol momenti	Yüksek gözenek yoğunluklu, pürüzsüz ve boncuklu fiberler
Etanol	Düşük yüzey gerilimi, yüksek viskozite	Pürüzsüz ve geniş çaplı fiberler
Su	Düşük viskozite	Boncuklu ve düşük çaplı fiberler
DMF	Düşük viskozite, yüksek dipol momenti, yüksek iletkenlik	Boncuklu ve pürüzsüz fiberler

2.3.1.2. Çevre kaynaklı parametreler

Sıcaklık

Elektroeğirme işleminin gerçekleştiği ortamın sıcaklığı da diğer parametreler kadar fiberlerin özelliklerini etkileyen bir parametredir. Ortamın sıcaklığı çözeltinin viskozitesi ile doğrudan ilişkilidir. Ortamın sıcaklığı yükseldiği takdirde hazırlanan çözeltinin viskozitesi düşer, viskozite düştüğünde ise oluşan fiberlerin çapı azalır. Aynı zamanda sıcaklığın artması çözücünün uçuculuğunu da artıracak için polimer buhar jetlerinin oluşması kolaylaşacak ve daha düzgün, devamlı fiberler oluşacaktır [19].

Nem

Ortamın nemi çözücünün uçuculuğu ve çözeltinin yüzey gerilimi ile doğrudan orantılıdır. Ortamın nemi arttığında oluşan fiberlerin yapısı gözenekli hale gelir. Ancak nemin çok yükselmesi durumunda çözücünün uçuculuğu zorlaşır ve oluşan fiberler toplayıcıda ıslak ve üst üste gelmiş şekilde toplanır. Bu da istenmeyen morfolojik bir özelliktir. Öte yandan nem artışı fazla olduğu takdirde iğne ucunda oluşan polimer çözeltisi jetinin elektrostatik kuvvetleri azalır, dolayısıyla yüzey gerilimi azalmış olur ve bunun sonucunda fiber çaplarında artış görülür, iğne ucundan tıkanmalar gözlenir. Nem azaldığında ise çözücünün uçuculuğu artacağı için düşük çaplı ve devamlı fiberler oluşur [20].

2.3.1.3. Proses kaynaklı parametreler

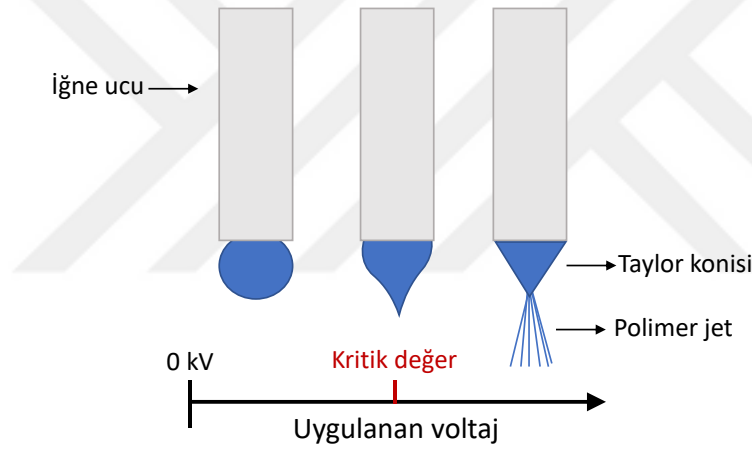
İğne ve toplayıcı arasındaki uzaklık

Düşük uçuculuğa sahip çözücülerle hazırlanmış polimer çözeltileri için iğne ve toplayıcı arasındaki mesafenin artması fiberlerin kurummasına olanak sağlar. Aksi halde mesafe kısalsın fiberler yeterince kuruyamaz, toplayıcı üzerinde ıslak ve birbirine yapışmış halde toplanır ve silindirik yapıyı oluşturamadan daha yassı fiberler şeklinde toplanırlar. Mesafenin çok az ve çok fazla olması boncuklu yapı oluşumuna neden olacağı için her çözelti için ideal koşulların belirlenmesi gerekir [20].

Uygulanan Voltaj

Elektroeğirme işlemi sırasında fiberlerin morfolojik özelliklerini doğrudan etkileyen en önemli parametrelerden biri uygulanan gerilimdir. Her polimer çözeltinin

fizikokimyasal özelliklerine uygun gerilim değer aralığı vardır. Bu değer aralığının çok altında veya çok üstünde gerilim uygulamak oluşan fiberlerin morfolojisini kötü şekilde etkileyecektir [29]. Uygulanan gerilim arttırılmaya başlandığında elektrik alan şiddeti artar. Elektrik alan şiddetinin artması polimer çözeltisinin üzerindeki elektriksel kuvveti arttıracak için oluşan polimer jetindeki çözücü kolay uçar ve ince fiberler elde edilir. Ancak uygulanan gerilim çok fazla olursa çok fazla polimer jeti oluşacağı için boncuklu damlacıklı yapılar ve iğnede tıkanmalar oluşur. Bu nedenle gerilim artırıldığında fiberlerin çapı önce azalır daha sonra artar. Aynı zamanda uygulanan gerilim çok fazla arttığında yüzey gerilimi de o kadar düşeceği için Taylor konisinin oluşumu bir süre sonra zorlaşır. Bu da damlacıklı yapı oluşumuna neden olur [20]. Taylor konisi oluşumu ve uygulana gerilim arasındaki ilişki Şekil 2.11’de gösterilmektedir.



Şekil 2.11. Elektroegirme işlemi sırasında uygulanan gerilimin artmasıyla Taylor konisi oluşumu arasındaki ilişki [30]

Akış Hızı

Elektroegirme işlemi sırasında akış hızının belirlenmesi iyi morfolojik özelliklere sahip fiberler üretebilmek açısından son derece önemlidir. Akış hızı arttırıldığında iğnenin ucunda oluşan polimer çözeltisi miktarı artar, uygulanan gerilim ile birlikte oluşan jet miktarı fazla olacağı için fiberlerin kuruması gecikir ve toplayıcı üzerinde ıslak olarak birikirler. Fiberler ıslak olduğu için yapıları yassı şekil alır ve fiberler üst üste yapışır. Artan akış hızı ile birlikte hem fiber çapı hem de oluşan porların çapı artar. Tam tersi olarak akış hızı azaldığında ise iğne ucunda yeterince polimer çözeltisi birikmez, Taylor konisi istenilen gibi oluşamaz ve çekilen fiberler kesintili oluşur. Bu

nedenler göz önünde bulundurulacak olursa her polimer çözeltisi için minimum akış hızı belirlenmelidir [19].

Han ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, elektro eğrilmiş selüloz asetat fiber çaplarının polimer derişimi, akış oranı ve uygulanan gerilim ile olan ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, selüloz asetat konsantrasyonunun ve akış hızının artmasıyla fiberlerin çapların arttığı, uygulanan gerilim arttığında ise fiberlerin çapının azaldığı görülmüştür [29].

Yukarıda incelenen bütün parametrelerin elektro eğirme işlemi esnasında oluşacak fiberlerin morfolojik özelliklerini büyük ölçüde etkilediği görülmüştür. Tablo 2.5.'de elektroegirme işlemi sırasında kullanılan parametrelerin değerlerinin arttırılması durumunda fiberlerin nasıl etkilediğini özet olarak verilmiştir.

Tablo 2.5. Elektroegirme parametreleri ve fiberler üzerindeki morfolojik etkileri

Parametre Değerinde Artış	Fiber morfolojisi üzerindeki etkisi
Viskozite	Fiber çapı ↑ , Boncuk oluşumu ↓
Çözelti Konsantrasyonu	Fiber çapı ↑
Polimerin Molekül Ağırlığı	Fiber çapı ↑ , Boncuk ve damlacık oluşumu ↓
Yüzey Gerilimi	Kararsız jet, damlacık oluşumu ↑
Çözeltinin İletkenliği	Fiber çapı ↓
Çözücünün Uçuculuğu	Gözeneklilik ↑ , fiber oluşumu zorlaşır
Sıcaklık	Fiber çapı ↓ , devamlı fiberler oluşur
Nem	Fiber çapı ↑ , Gözeneklilik ↑
İğne-Toplayıcı Mesafesi	Fiber çapı ↓
Uygulanan Voltaj	Fiber çapı başta ↓ , sonradan ↑
Akış Hızı	Fiber çapı ↑

2.3.2. Elektroeğirme yönteminde kullanılan polimerler

Elektroeğirme yönteminde nano fiberli yapılar üretmek için kolajen, kitosan, kitin, ipek fibroin, polietilenoksit, poli(laktid-ko-glikolid), poli(laktik asit) ve polikaprolakton gibi bir dizi doğal sentetik ve polimer kullanılmıştır [31]. Uygulama alanlarına göre bu polimerlerin kullanımı değişkenlik gösterebilir. Tablo 2.6’da bazı doğal ve sentetik polimerler ve uygulama alanları verilmiştir.

Tablo 2.6. Bazı polimerler ve uygulama alanları [25]

Polimerler	Uygulamaları
Poli(glikolik asit) (PGA)	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Poli(laktat/glikolat) (PLGA)	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Poli(L-laktat) (PLLA)	Sert doku iskeleleri, kemik implantları, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Poli(üretan) (PU)	Yara İyileşmesi
Selüloz Asetat	Soğurucu Membranlar
Poli(vinil alkol) (PVA)	Yara İyileşmesi
İpek	Ameliyat iplikleri
İpek Fibroin	Yara İyileşmesi, doku iskelesi, ilaç salım sistemleri
Kitin/Kitosan	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Hyaluronik Asit (HA)	Yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Selüloz	Membran Uygulamaları
Jelatin	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.
Kolajen	Sert/yumuşak doku iskeleleri, yara örtüleri, ameliyat iplikleri, ilaç salım sistemleri, vb.

Doğal polimerler sentetiklere göre daha iyi biyouyumluluk ve daha az immünojenite özelliği gösterir. Doğal polimerler yapılarındaki spesifik protein zincirleri sayesinde hücresel bağlanmayı sentetik polimerlere göre daha iyi sağlar [5]. Buna karşın, doğal polimerlerden üretilen nanofiber yapısındaki malzemeler genellikle düşük mekanik özelliklere ve sulu çözeltilerinde genellikle sınırlı mukavemet özelliklere sahiptir.

Sentetik polimerler ise istenen bozunma hızında sentezlenebilir, ayrıca viskoelastiklik, esneklik ve dayanıklılık özellikleri doğal polimerlere göre daha iyidir. Ancak, doğal polimerlere göre biyouyumlulukları ve biyobozunurluklarının daha düşük olması sentetik polimerlerin en önemli dezavantajlarıdır. Bu nedenle, doğal ve sentetik polimerlerin karışımları kullanılarak istenilen özelliklere sahip malzemeler elde edilebilmek mümkündür [32].

2.3.2.1. Doğal polimerler

Protein ve polisakkarit yapısındaki doğal polimerler biyouyumlu olması, kolay işlenebilir olması, ECM'yi biyokimyasal olarak iyi taklit edebilmesi ve hücre reseptörleri ile yüksek hücre bağlanma kapasitelerinden dolayı elektro eğirme işleminde sıklıkla kullanılan polimerlerdir. Elektroegirme yönteminde kullanılan başlıca doğal polimerler kolajen, jelatin, kitosan, ipek fibroin, hyaluronik asit ve selülozdur [33].

Kolajen

Kolajen, cilt, kemik, tendon ve diğer bağ dokularının yapısında bulunan doğal hücre dışı matrislerden biri olan ve insan vücudunda en bol miktarda bulunan bir proteindir. Kolajen hücre dışı matriste 3 boyutlu bir yapı oluşturarak hücre bağlanmasına ve çoğalmasına olanak sağlar. Bu nedenle yara örtü malzemesi ve doku mühendisliği alanlarında kullanılmaktadır. Ayrıca üstün biyouyumluluk ve düşük immünojenitesi nedeniyle, kolajen biyomalzemeler doku mühendisliği alanında sıklıkla tercih edilir [34].

Elektroegirme yöntemiyle nano fiber oluşturmada tek başına kolajen kullanıldığında yüksek voltajın etkisiyle kolajen denatürasyona uğrar ve protein yapısı bozulur. Bu nedenle kolajen genellikle sentetik bir polimer olan polikaprolakton (PCL) ile birlikte elektro eğirme yönteminde kullanılır [35].

Jelatin

Jelatin kolajenin hidrolizinden türetilmiş olup, gıda katkı maddelerinde ve yara iyileşmesinde sıklıkla kullanılan bir polimerdir. Dolayısıyla jelatin de bağ dokusunda bulunan doğal hücre dışı matrislerin yapısında bulunmaktadır. Biyouyumluluk, biyobozunurluk, yapışkan özellik ve kolajene göre daha az alerjenik özelliklerinden dolayı doku iskeleleri, kemik rejenerasyonu, gıda sektörü gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır [36].

Kitosan

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu oluşan, biyomedikal ve kozmetik sektörlerinde kullanılan biyouyumlu, biyobozunur, antibakteriyel doğal bir polimerdir. Mantar ve bakterilere karşı önemli ölçüde iyileşme sağladığından yara örtü malzemesi olarak kullanılan bir polimerdir. Ayrıca hücre dışı matrise de benzer özellikler gösterir. Fakat kitosanın yapısında çok fazla zincir dolanmaları olması nedeniyle viskozitesi çok yüksektir. Bu nedenle elektroegirme yönteminde tek başına kullanılması zordur. Viskozitesini azaltmak için poli(etilen oksit) (PEO) veya poli(vinil alkol) (PVA) gibi sentetik polimerlerle birlikte kullanılır [35].

İpek Fibroin

İpek, ipek böceğinin ağlarından elde edilen, tekstil alanında önemi çok büyük bir polimerdir. Temel olarak ipek proteini hidrofobik fibroin ve hidrofilik serikin olmak üzere ikiye ayrılır. İpek fibroin proteini iyi biyouyumluluk, biyobozunurluk ve minimum düzeyde inflamatuvar özellik gösterir. İpek fibroin elektroegirme yöntemiyle kolayca nano fiberli yapı oluşturabilir. İpek nano fiberler yüksek spesifik yüzey alanı, ısı ve elektriksel iletkenlik, yüksek yüzey enerjisi gibi özelliklerinden dolayı biyomedikal, tekstil, doku mühendisliği, yara örtü malzemesi ve ilaç taşıma sistemleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır [25].

Hyaluronik asit

Hyaluronik asit, bağ dokuların hücre dışı matrisinin yapısını oluşturan ana maddedir. Mükemmel biyouyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri nedeniyle doku mühendisliği, yara örtüleri, ilaç taşıma sistemleri, implantlar ve çeşitli biyomedikal alanda sıklıkla kullanılan bir polimerdir. Fakat hyaluronik asit kullanılarak elektroegirme yönteminde yüksek yüzey gerilimi, yüksek su tutma kabiliyeti ve yüksek viskoziteye sahip olması nedeniyle aynı boyutlarda fiberler üretmek zor

olabilmektedir. Bu sebeple hyaluronik asidi sentetik polimerlerle birlikte kullanarak daha düzgün fiberler elde edilebilmektedir.

Selüloz

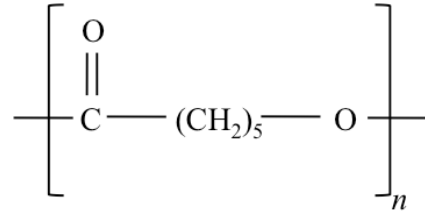
Selüloz, dünyada en fazla bulunan doğal bir polimerdir. Mükemmel gerilme mukavemeti, yüksek su tutma kapasitesi, yüksek kristallik ve yüksek elastik modülü özelliklerine sahip olması nedeniyle yara örtüsü malzemesi olarak kullanıldığında bu malzeme oldukça şeffaf ve yumuşak olmaktadır. Yüksek su tutma özelliği yara yüzeyinde nemli ve hafif asidik bir ortam sağlayarak yaranın iyileşmesine olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda yara yüzeyinde oksijen gerilimini ayarlayarak kılcal damar oluşumunu destekler, iyileşme süresini ve hissedilen acıyı azaltır [37].

2.3.2.2. Sentetik polimerler

Sentetik polimerler yüksek mukavemetleri, esnekleri ve diğer mekanik ve yapısal özelliklerinden dolayı elektroğirme yöntemiyle elde edilen membranların yapısında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Birçok farklı teknikle işlenebilirler ve tedarik anlamında bol miktarda bulunabilmektedirler [38]. Ayrıca üretim esnasında üretilmek istenen özelliklere göre birçok farklı konsantrasyon, molekül ağırlığı gibi özelliklerde işlenebilirler.

Polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve bunların kopolimerleri olan polilaktik-ko-glikolit (PLGA), poli(hidroksialkanoatlar) (PHA), polikaprolakton (PCL) ve poliüretan (PU) gibi sentetik polimerler nanofiber malzemelerin üretiminde sıklıkla kullanılan polimerlerdir [39].

Polikaprolakton (PCL) yarı kristalin yapıda, hidrofobik ve biyobozunur özellikte, afiberatik bir poliestere olan sentetik bir polimer türüdür. Kaprolakton monomerinin ısı veya katalizör yardımıyla polimerizasyonundan elde edilen düz zincirli bir polimerdir. Sahip olduğu mekanik ve yapısal özelliklerden dolayı elektroğirme yönteminde sıklıkla tercih edilmektedir. Genel olarak kolajen, jelatin ve ipek gibi doğal polimerlerle birlikte kullanılır [37].



Şekil 2.12. Polikaprolakton molekül yapısı

Tablo 2.7.’de PCL’in bazı fizikokimyasal özellikleri verilmiştir. Düşük erime sıcaklığı (T_m) ve camsı geçiş sıcaklığına değerine sahip olması ve diğer polimerlerle kolay karıştırılabilir olması sebebiyle biyomedikal alanda fazlaca kullanımı mevcuttur.

Tablo 2.7. PCL’nin fizikokimyasal özellikleri [40]

Özellik	Değer
Yoğunluk, ρ	1.11 g.cm ⁻³
Ortalama Molekül Ağırlığı, M_n	530-630000 g.mol ⁻¹
Erime sıcaklığı, T_m	65°C
Camsı Geçiş Sıcaklığı, T_g	- 65°C — - 61°C
Kristalinite	% 67
Modulus	190 MPa
Kopma Uzaması	% >500
Maksimum çekme gerilimi	14 MPa
Su geçirgenliği (25°C’de)	177 g/m ² .gün
Yüzey gerilimi	51 g

PCL genellikle trifloroetanol (TFE), tetrahidrofuran (THF), hekzafloro-2-propanol (HFP), tolüen, diklorometan (DCM), asetik asit, formik asit gibi çözücülerde iyi çözünürken dimetilformamid (DMF) ve alkollerde çözünmez. Biyomedikal malzeme yapımında, ilaç taşıma sistemlerinde, doku yenilenmesi için 3 boyutlu iskelelerin yapımında sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda PCL’ye kolajen ve elastin eklenmesi ile oluşturulan PCL/protein nanofiberlerinin hücresel yanıtı arttırdığı gösterilmiştir [41-43].

Yara örtü malzemesi olarak PCL kullanılarak elektro eğirme yöntemiyle üretilen membranlar gözenekli yapıya sahip olduğu için yara üzerinde gaz alışverişine olanak sağlar, yaranın hızlı iyileşmesinde etkili olur ve PCL'in esneklik özelliğinden dolayı yaralı bölgeye hareket kolaylığı sağlar. Ancak, PCL içeren membranlar yüksek yapışma özelliği gösterebilir. Bu durumda yara üzerinde iyileşen deri dokusunda tahribat oluşur ve yaranın iyileşme süresi de uzayabilmektedir. PCL yüksek hidrofobik özellik gösterdiği için yara örtü malzemesi olarak tek başına değil diğer polimerlerle karıştırılarak kullanılması tercih edilir [22].

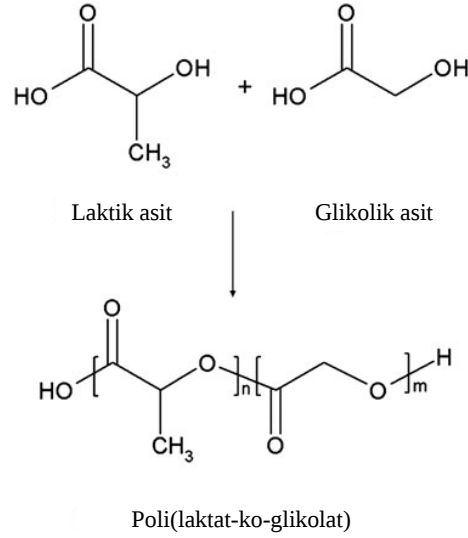
Nanofiber malzeme üretiminde kullanılan bir diğer sentetik polimer poliüretandır (PU). Poliüretan termoset, biyobozunur hale getirilebilen, biyoyumlu ve yüksek mekanik özelliklere sahiptir. Ancak PU ile üretilen bir nanofiber yapıdaki doku iskelesi vücutta bozunduğunda PU'nun yapısında vücut için toksik özellikte olan izosiyanat grubu sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle PU'nun içeriğinde toksik olmayan lizin-diizosiyanat gibi ürünler kullanılarak biyobozunur PU elde edilmeye çalışılmıştır [39].

Polilaktik asit (PLA), biyoyumlu, biyobozunur, çok iyi termal ve mekanik özelliklere sahip sentetik bir polimerdir. Poliglikolik asit (PGA) ise yüksek kristalinite, yüksek çekme modülü ve düşük çözünürlüğe sahip biyobozunur sentetik bir polimerdir. PLA'nın yapısında PGA'dan daha fazla metil grubu bulunduğu için PLA, PGA'ya göre daha yüksek hidrofilik özellik içerir [39].

Tez kapsamında kullanılan PLGA ile ilgili ayrıntılı bilgi ayrı bir bölüm olarak aşağıda verilmiştir.

Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)

PLGA, laktik asit (LA) ve glikolik asit (GA) monomerlerinden oluşan termoplastik özellikte sentetik bir kopolimerdir [44]. Amorf yapıya sahip olan PLGA'nın camı geçiş sıcaklığı 45-55°C aralığındadır. Dimetilformamid, diklorometan, kloroform gibi çözücülerde çözünebilir.



Şekil 2.13. PLGA'nın kimyasal yapısı [45]

Laktit/glikolit oranı kristallik derecesi, camsı geçiş sıcaklığı, mekanik mukavemet, şişme davranışı ve hidrolize etme yeteneği gibi PLGA'nın birçok özelliğini doğrudan etkiler. Genel olarak kullanılan PLGA kopolimer türleri 50:50 PLGA, 75:25 PLGA ve 85:15 PLGA'dır [46]. PLGA polimerinin bozunma hızı içeriğindeki PLA/PGA oranına göre değişkenlik göstermektedir. PLGA'nın yapısında bulunan ester bağları su içerisinde hidrolize olmaktadır. 50/50 oranındaki PLGA yaklaşık olarak 1-2 ay, 75/25 oranındaki PLGA 4-5 ay ve 85/15 oranındaki PLGA 5-6 ayda bozunur. Tablo 2.8.'de 85/15 PLA/PGA oranına sahip PLGA polimerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir [47].

Tablo 2.8. 85:15 PLGA polimerinin fizikokimyasal özellikleri

Özellikler	Değerler
Mol kütlesi	$(148.11)_n$
Yoğunluk, 25 °C	1.25 g/cm ³
Camsı geçiş sıcaklığı	45-52 °C
Young modülü	891.2 MPa
Çekme mukavemeti	74.66 MPa
Bozunma süresi	1-6 ay

PGA, metil yan zinciri içermez ve PLA'ya göre oldukça kristalin bir yapıya sahiptir. PLA, PGA'nın aksine metil yan zinciri nedeniyle daha hidrofobiktir, bu nedenle yüksek laktit içeriğine sahip PLGA kopolimerleri daha az hidrofiliktir ve daha yavaş bozunur. Doğrusal ve doymuş zincirlerden oluşmaktadır. Termoplastik bir polimerdir. PLGA; biyouyumlu, biyobozunur, mekanik dayanıklılığı yüksek, kolay elektroerilme özelliği, klinik deneyimin yapılan çalışmalarla kazanılmış olması, FDA tarafından onaylı olması nedeniyle başta ilaç salım uygulamaları, cerrahi implantlar ve doku iskelesi uygulamaları olmak üzere biyomedikal alanda geniş kullanım bulmaktadır [48]. Yapılan bir çalışmada PLGA'nın yara iyileşmesinde inflamasyon tepkisini azalttığı, kolajen dağılımını desteklediği, anjiyogenezi geliştirdiği, yara kapanmasını ve olgunlaşmasını hızlandırdığı rapor edilmiştir [49]. Bununla birlikte, PLGA'nın hidrofobik özelliği, yara örtüsü uygulaması için büyük bir dezavantajdır; bu nedenle, kitosan gibi doğal bir hidrofilik polimer ile PLGA'nın kompozit nanofiberlerinin üretilmesi literatürde çalışılan konular arasındadır [50].

2.4. *Echium italicum*

Dünyada birçok bitki tıp, gıda, kozmetik alanlarında iyileştirme özelliklerinden dolayı yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Türkiye'de *Echium* bitkisinin bilinen 9 türü vardır. Bunlar; *Echium italicum* L., *Echium vulgare* L., *Echium angustifolium* Miller, *Echium parviflorum* Moench, *Echium plantagineum* L., *Echium orientale* L., *Echium russicum* J.F.Gmel., *Echium glomeratum* Poir., *Echium arenarium* Guss'dır [51].

Bu tez çalışmasında da *E. italicum* bitkisinin içerisinde bulunan değerli metabolitler sayesinde özellikle yanık yaralarını iyileştirici özelliğinden dolayı yara örtüsü malzemesinin içerisinde kullanılması amaçlanmıştır.

Echium italicum bitkisi Boraginaceae (Hodangiller) ailesine ait bir bitki türüdür. Halk dilinde engerek otu veya kurt kuyruğu olarak bilinen bu bitki, gövdesi dikenli ve böcekler tarafından döllenen zigomorfik çiçeklere sahip tek yıllık ya da çok yıllık bitkidir. Çiçek yaprakları soluk mavi-eflatun-pembemsi-beyazımsı renklere sahiptir ve yaklaşık olarak 7.5 ya da 9.5 mm uzunlukta huni şeklinde taç yapraklara sahiptir [52]. Genellikle yamaçlar ve tarlalarda dağılım gösterir. 5.ve 8. ayları arasında çiçeklenme gösterir. Dünya üzerinde Avustralya, Avrupa ve Akdeniz Bölgesi'nde yayılım göstermektedir. Türkiye'de Kırklareli, İstanbul, Bursa, Edirne, Samsun, Bolu,

Kastamonu, Sinop, Giresun, Erzurum, Çorum ve Ankara illerinde dağılım gösterdiği belirtilmiştir [53].



Şekil 2.14. *Echium italicum* bitkisi

Echium italicum içeriğinde yüksek miktarda doymamış yağ asitleri (ALA, GLA, SDA) sayesinde balık yağına alternatif olarak kullanılmaktadır [54].

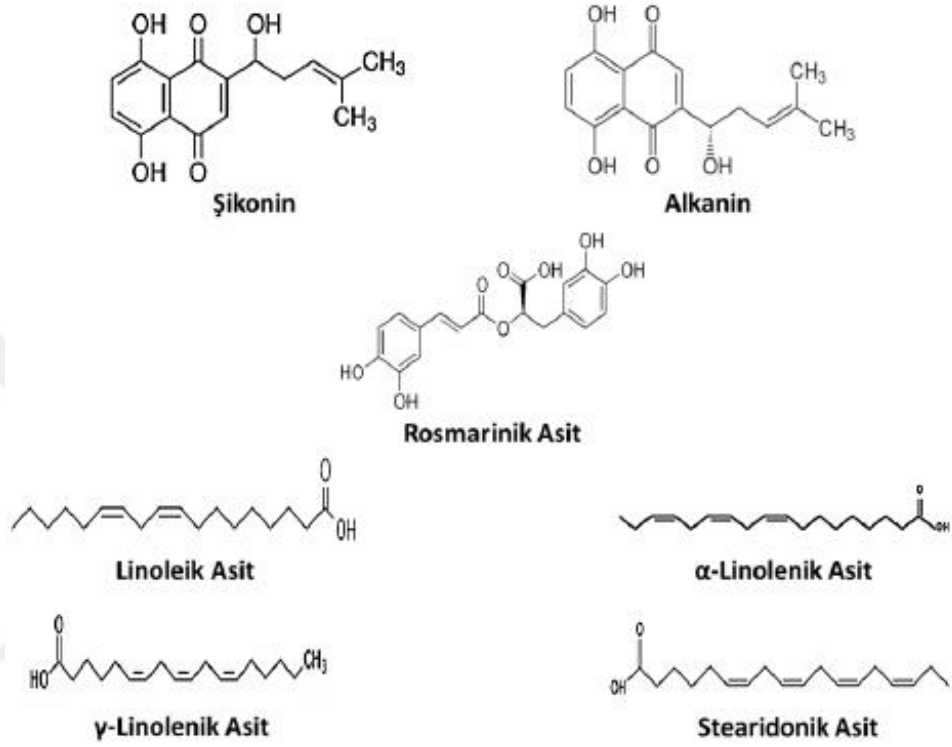
2.4.1. *E. italicum* bitkisinin içeriğinde bulunan ikincil metabolitler

Kimyasal özelliklerine bakıldığında kırmızı pigmentli köklerinin yanık ve yaraları iyileştirdiği ve geçmişten günümüze kadar yara iyileştirici karışımlarda kullanıldığı bilinmektedir. *Echium italicum* türlerinin fitokimyasal içeriğinin başlıca naftokinon, flavanoid, pirolizidin alkaloitleri, uçucu yağ ve sabit yağ yönünden zengin olduğu görülmektedir [55].

Tablo 2.9. *E. italicum* bitkisinin fitokimyasal içeriğinde bulunan metabolitler [55]

Naftakinon	Pirolizidin Alkaloitler	Yağ Asitleri
• Şikonin • Alkanin	• Retronesin • Ekimidin • Ekiumin	• Gamma linolenik asit • Stearidonik asit • Linoleik asit • Oleik asit • α-Linolenik asit • Stearik asit

Bunların arasında bu türün içeriğinde en fazla miktarda ve özellikle kökünde bulunan, bitkinin köklerinin kırmızı pigmentli olmasını sağlayan ikincil metabolitler alkanin ve şikonindir. Bu iki metabolit *E. italicum* bitkisinin yara iyileşmesinde kullanılmasında etkilidir.



Şekil 2.15. *E. italicum* bitkisinin içeriğinde doğal olarak bulunan metabolitler [55]

2.4.2. *E. italicum* bitkisinin yara iyileşmesine olan etkisi

E. italicum bitkisinin köklerinde yoğun olarak bulunan ve köke kırmızı rengini veren şikonin ve alkanin metabolitleri sayesinde bu bitki geçmişten günümüze kadar yara iyileşmesinde kullanılmıştır. Köklerinin bal mumu ve bazı yağlarla muamele edilerek aktif bileşenlerinin çıkarılması yöntemi çok eskiye dayanan bir yöntemdir.

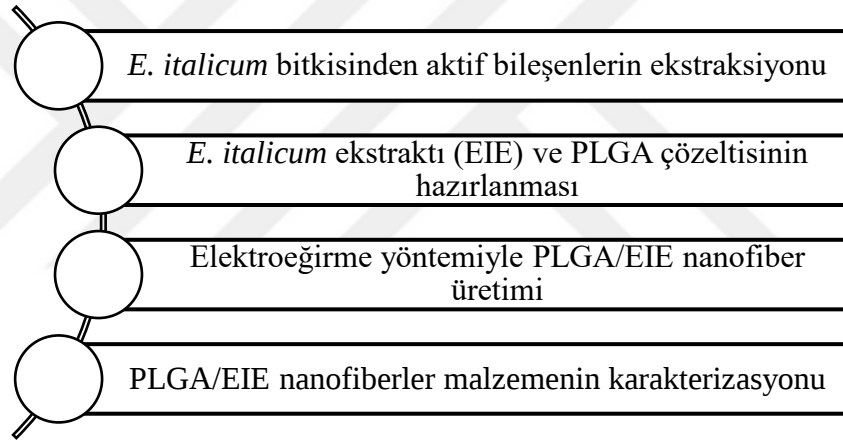
E. italicum bitkisi antioksidan, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antidepresan, antiantiviral, antibakteriyel, yağ düzenleyici özelliklere sahiptir. Yara iyileşmesinde kullanıldığında hücre büyümesi, çoğalması, migrasyonu ve dokunun granülasyonuna izin verir, epitelizasyonu artırır. Yaranın mekanik uzamasını artırır ve yaraya esneklik kazandırır [55].



3. MATERYAL VE METHOD

3.1. Kullanılan Malzemeler

PLGA Corbion N.V. firmasından (PURASORB PLG 8523 L-laktit/Glikolit 85/15 molar oran, 2.3 dl/g) temin edilmiştir. *E. italicum* Yalova’da arazi kenarlarından toplanmıştır. Çözücü olarak kullanılan kloroform ve dimetilformamit (DMF) Sigma Aldrich (USA) firmasından temin edilmiştir. *in vitro* sitotoksisite çalışmalarında kullanılan Dulbecco’s Modified Eagle Medium (DMEM, yüksek glukoz) besi ortamı, besi ortamına eklenen Fetal Bovine Serum (FBS) ve Penicillin-Streptomycin antibiyotiği Biological Industries (Israel) firmasından satın alınmıştır. Diğer bütün kullanılan malzemeler ve çözeltiler aksi belirtilmedikçe alındığı ve belirtildiği gibi kullanılmıştır.



Şekil 3.1. PLGA/EIE membranların üretim şeması

3.2. *Echium italicum* (EI) Bitkisinden Aktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu

Ağustos – Eylül aylarında toplanan bitkinin kökü kesilerek 24 saat güneşte kurutulup silindirik parçalayıcı kullanılarak öğütülüp toz haline getirilmiştir. Tartımı alınan (1,80 g) toz haldeki bitki kökü bir behere aktararak içerisine 55 g hayvansal kaynaklı yağ eklenmiş ve aktif bileşenlerin elde edilmesi için 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Elde edilen karışım filtre kağıdı ile süzülerek behere alınmış ve +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.3. *Echium italicum* (EI) Bitkisinde Antioksidan Bileşik Tayini

İlk aşamada bitki kökü kurutulup toz haline getirildikten sonra 50 ml % 96 analiz etanol ile karıştırılarak 48 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra filtre kağıdı

yardımıyla süzölüp elde edilen süpernatant petriye konarak 24 saat boyunca etüvde 37°C’de kurutulmuştur. Kurutulan ekstrakt bir tüpe toplanmış ve +4°C’de muhafaza edilmiştir.

Toplam fenolik bileşen miktarını belirlemek amacıyla Eruygur ve ark., uyguladığı metot takip edilmiştir [56]. Toplam fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılmıştır. Bitki numunesi için falkon tüp içerisinde 50 mg ekstrakt 5 ml metanol ile karıştırılıp, 40°C’de 10 dk. süreyle sonike edilmiştir. Daha sonra örnek, 1000x g hızda 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen supernatant alınarak +4°C’de muhafaza edilmiştir [57]. Kalibrasyon eğrisi için standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Stok standart çözeltisi, metanol kullanılarak 10 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Daha sonra bu stok çözeltisinden 0,5-0,01 mg/ml aralığında farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır (0,5; 0,1; 0,05; 0,01 mg/ml). Ekstrakt ve gallik asit çözeltilerinin 25 µl alınarak üzerlerine 100 µl Folin reaktifi konularak 5 dakika beklenmiştir. Daha sonra 80 µl NaCO₃ (%8) eklenerek karanlık ortamda oda sıcaklığında 90 dakika boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda 96 kuyucuklu mikropalakaya her örnekten pipet yardımıyla 100’er µl eklenerek 760 nm’de mikropalaka okuyucuda (Biochrom EZ Read 400, UK) absorbansları okunmuştur.

Toplam flavanoid miktarını belirlemek için AlCl₃ kolorimetrik yöntemi referans olarak kersetin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu metodun prensibi oluşan flavanoid-alüminyum kompleksinin 492 nm dalga boyundaki maksimum absorbansının belirlenmesine dayanır [58]. 5 mg/ml konsantrasyondaki kersetin stok çözeltisinden 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,01 mg/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmıştır. Bitki numunesi için falkon tüp içerisinde 25 mg ekstrakt 5 ml metanol ile karıştırılıp 10 dakika 40°C’de sonike edilmiştir. Sonikasyon işlemi sonrası 1000x g hızda 10 dk süresince santrifüj edilip elde edilen süpernatant başka bir tüpe alınmıştır.

Standart eğriyi oluşturmak için 100 µl örnek üzerine 500 µl distile su eklenmiştir. Daha sonra her tüpe 100 µl %5’lik NaNO₂ eklenip 6 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda %10 AlCl₃ çözeltisinden 150 µl ve 5 M NaOH çözeltisinden 200 µl eklenerek 5 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son olarak, örnekler vorteksenerek homojen karışım sağlanmıştır. Örneklerin 492 nm’deki absorbans değerleri mikropalaka okuyucuda yardımı ile ölçülmüştür.

3.4. Bitki Ekstraktı içeren Polimerik Nanofiber Membranların Üretimi

E. italicum ekstraktı (EIE) ile PLGA polimeri sırasıyla %10, %12, %15 ve %20 (g/ml) oranlarında çözelti hazırlanmıştır. Buna ek olarak kontrol grubu olarak %10 (g/ml) PLGA çözeltisi hazırlanmıştır. Çözücü olarak 4:1 oranında kloroform/DMF karışımı kullanılmıştır. Çözelti manyetik karıştırıcıda 120 rpm hızla bir gece boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Elektroegirme çalışmaları için OptoSense (Orlando, Florida) yüksek voltaj kaynağı, şırınga pompası (New Era Pump Systems, Inc, New York) ve toplayıcı levhadan oluşan bir elektroegirme düzeneği kullanılmıştır. Voltaj (kV), çözelti akış hızı (ml/sa), enjektör ucu ile toplayıcı levha arasındaki uzaklık (cm) ve döner silindir hızı parametreleri değiştirilerek gerçekleştirilen tüm elektro egirme çalışmaları oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Denemeler sonucu belirlenen optimum değerler kullanılarak topraklanmış toplayıcı levha üzerine nanofiber membranların üretimi gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.1’de görüldüğü üzere bu parametreler her konsantrasyon grubu için farklılık göstermektedir.

Tablo 3.1. PLGA, PLGA/EIE10, PLGA/EIE12, PLGA/EIE15ve PLGA/EIE20 çözeltilerinin elektroegirme parametreleri

	PLGA	PLGA/EIE 10	PLGA/EIE 12	PLGA/EIE 15	PLGA/EIE 20
Akış hızı (ml/sa)	0.8	0.75	0.75	0.75	0.75
İğne ucu- toplayıcı arası mesafe (cm)	15	17	17	17	18
Voltaj (kV)	13	13	13.5	13	13

3.5. Membranların Karakterizasyonu

Morfolojik Analiz

Hazırlanan nanofiber membranların yüzey özellikleri, fiber morfolojisi ve fiber çaplarının belirlenmesi amacı ile Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, FEI Inc., Inspect S50, EDAX Inc., Octane Prime) kullanılmıştır. Örnekler ince bir altın tabakasıyla kaplandıktan sonra 15 kV voltaj altında ivmelendirilen elektron demeti yardımı ile incelenmiştir.

in vitro Biyobozunma Çalışmaları

Nanofiber membranların *in vitro* bozunma hızını belirlemesi için numuneler 2x2 cm boyutlarında kesilerek ön tartımları alınmıştır. Ardından steril falkon tüpler içerisindeki kontaminasyonu engellemek için %2 oranında sodyum azid (NaN₃) içeren fosfat ile tamponlanmış PBS (pH=7.4) çözeltisine daldırılarak 37°C'deki etüvde inkübe edilmiştir. Düzenli aralıklarla (7, 14, 30, 60, 90 gün) çözeltiden çıkarılan numuneler ultra saf su ile yıkanıp, tekrar tartılmadan önce 24 saat boyunca 37°C'de kurutulmuştur. Ağırlık kaybı yüzdesi, her bir numunenin ilk ve son ağırlığına göre aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\frac{W_i - W_s}{W_i} \times 100$$

(W_i : İlk ağırlık, W_s: Son ağırlık)

FTIR Analizi

Membran içinde EIE'nin varlığının saptanması amacıyla 1x1 cm olacak şekilde kesilen örnekler 4000-650cm⁻¹ dalga boyu aralığında FTIR-ATR (FTIR, Perkin Elmer, Spectrum 100, USA) ile analiz edilmiştir.

Mekanik Testler

Membranların gerilme mukavemeti ve % uzama değerleri universal bir test cihazı (Zwick/Roell, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür. Test örnekleri 1x6 cm boyutunda kesilerek hazırlanmıştır. Test sürecinin tamamı 23°C'de %50 bağıl nem atmosferinde 10kN kuvvet kullanılarak 200 mm/dak sabit çekme hızında gerçekleştirilmiştir. Her çeşit örnek için beş farklı ölçüm (n=5) gerçekleştirilmiş ve ortalama değerleri ile standart sapmalar hesaplanarak rapor edilmiştir.

Termal Gravimetrik Analiz

PLGA/EIE membranının termal özelliklerinin belirlenmesi ve ayrıca membran içeriğinde bulunan EIE ve PLGA miktarının tayini amacıyla termogravimetrik diferansiyel termal analiz (Termal Gravimetrik Analiz / Dinamik Termal Analiz (TG/DTA) Sistemi (Seiko, TG/DTA 6300)) yapılmıştır. Analizler, 29-500°C sıcaklık aralığında ve 10°C/dk ısıtma hızı ile azot ortamında gerçekleştirilmiştir.

Su Temas Açısı

Nanofiber membranların ıslanabilirliğini, hidrofilik ve hidrofobik özelliklerini analiz etmek için su temas açısı ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler, deiyonize su kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Membranlar 1x1 cm şeklinde kesilerek hareketli bir tabakaya yerleştirilmiştir ve üzerlerine bir mikro şırınga ile deiyonize su damlatılmıştır. Su damlacığının membran yüzeyi ile yaptığı temas açısı değerleri mikro kamera kullanılarak kaydedilmiştir.

İndirekt Sitotoksosite Testi

İndirekt sitotoksosite testi, üretilen membranların biyolojik olarak zararlı olabilecek ekstraktları salıp salmadığını belirlemek için yapılan hızlı ve ucuz bir yöntemdir. Çalışmanın bu aşamasında üretilen membranların sitotoksosite indeksi ISO 10993/EN 30993'e göre MEM-ekstraksiyon testi kullanılarak belirlenmiştir. Lateks kauçuk ve polistiren (PS) sırasıyla pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Test için her bir membran 6 cm²/ml ekstraksiyon oranına sahip olacak şekilde hazırlanmış ve UV ışığı altında 20 dakika sterilize edilmiştir. Sterilize edilen numuneler, %10 Fetal Bovine Serum (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin solüsyonu içeren DMEM'e (Dulbecco's Modification of Eagle's Medium) daldırılmıştır. Daha sonra 37°C'deki su banyosunda sabit çalkalama hızında 24 sa süresince inkübe edilmiştir.

Süre sonunda ekstraksiyon sıvıları, gözenek çapı 0.20 µm olan filtre yardımı ile steril edilmiştir.. Deneyden önce, L929 fare fibroblast hücreleri (ATCC®, CCL-1™) 37°C'de %5 CO₂, %90 nem altında yarı dolulukta bir tabaka oluşturmak için inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra kültür ortamı aspire edilerek her bir kuyucuğa numune ekstraktları eklenmiştir. Hücreler, 24, 48 ve 72 sa boyunca ekstraksiyon sıvısı varlığında kültür edilmiştir. 24 ve 48 sa sonra doluluk yüzdesi, yüzen hücre yüzdesi ve hücre morfolojinin değişimi bir optik mikroskop altında değerlendirilip skorlar kaydedilmiştir.

72 saatlik inkübasyonunda büyüme oranlarındaki azalma MTS analiz kiti (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Profibereration Assay, Promega) ile belirlenmiştir. Bu yöntem, MTS tetrazolyum bileşiğinin metabolik olarak aktif hücreleri tarafından renkli bir formazan ürününe biyolojik olarak indirgenmesine dayanır. FBS içermeyen DMEM ve MTS reaktifi (5:1 oran) her kuyuya eklenerek ve 37°C'de %5 CO₂ değerlerine sahip inkübatörde 3 sa inkübe edilmiştir. Daha sonra örneklerin 490

nm'deki absorbanslar bir mikropilaka okuyucu (Biochrom EZ Read 400, UK) kullanılarak kaydedilmiştir. Mikroskobik değerlendirmeden alınan puanlar, negatif kontrol ve ortalama için düzeltilmiştir. Büyüme inhibisyonu yüzdesi, MTS analizi tarafından belirlenmiş ve negatif kontrolün değeri için düzeltme yapıldıktan sonra puanlanmıştır. Nihai sitotoksik yanıt bu iki skorun eklenmesiyle hesaplanmıştır ve örnekler Tablo 3.2'ye göre değerlendirilmiştir.

Tablo 3.2. Sitotoksik yanıt indeksi

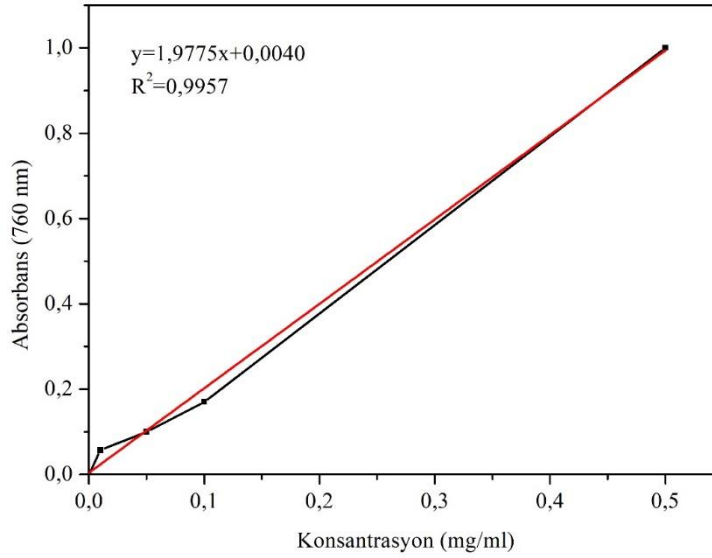
Sitotoksik İndeksi	Reaktivite	Başarılı/Başarısız
0-1	Yok	Başarılı
1-3	Biraz Toksik	Başarılı
3-5	Hafif Toksik	Tekrar
5-7	Orta Derecede Toksik	Başarısız
7-8	Şiddetli Toksik	Başarısız

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *Echium italicum* (EI) Bitkisinde Antioksidan Bileşik Tayini

Toplam Fenolik Bileşik Tayini

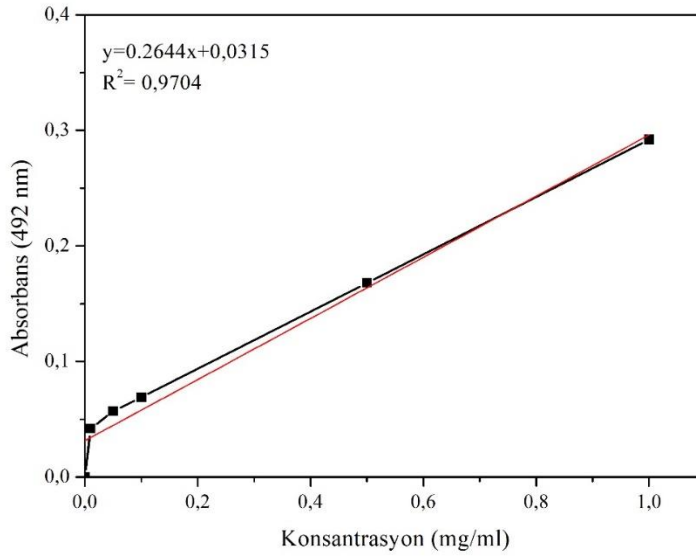
Toplam fenolik bileşik miktarını belirlemek amacıyla standart olarak seçilen gallik asidin farklı konsantrasyondaki çözeltilerinin absorbans değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin denklemi $y = 1,9775x + 0,0040$ ve $R^2 = 0,9957$ şeklinde belirlenmiştir. Aynı dalga boyunda absorbansı okunan örneğin toplam fenolik bileşik miktarı bu kalibrasyon denklemi kullanılarak mg gallik asit eşdeğeri (GAE) / g ekstre $\pm$ standart hata şeklinde hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. Gallik asit'e ait kalibrasyon eğrisi

Toplam Flavonoid Tayini

Toplam flavonoid bileşik miktarı $AlCl_3$ kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Mikroplaka okuyucudan elde edilen absorbans ve konsantrasyon değerleri kullanılarak kersetin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin denklemi $y = 0,2644x + 0,0315$, $R^2 = 0,9704$ şeklinde belirlenmiştir. Toplam flavonoid bileşik miktarı bu kalibrasyon denklemi kullanılarak mg kersetin eşdeğeri / g ekstre $\pm$ standart hata şeklinde hesaplanmıştır.



Şekil 4.2. Kersetine ait kalibrasyon eğrisi

Denklemler kullanılarak elde edilen toplam flavanoid ve fenolik bileşik miktarları Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Toplam flavanoid ve fenolik bileşik miktarları

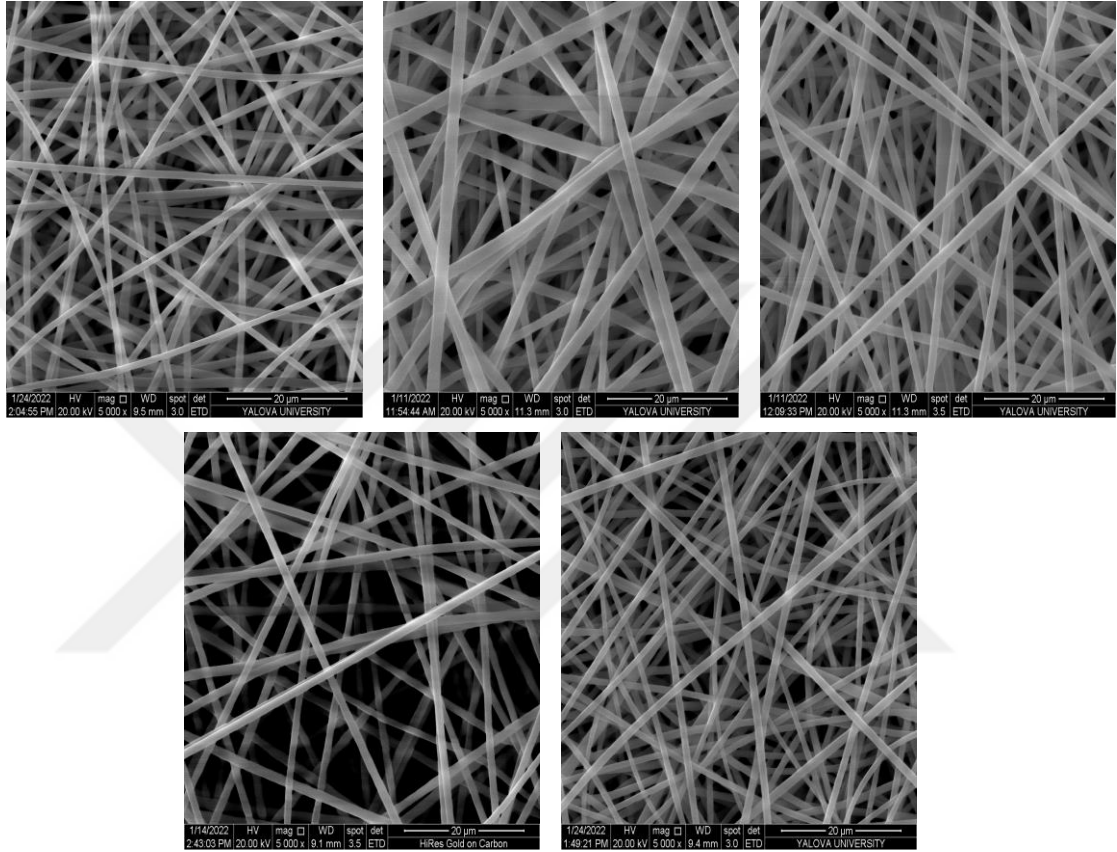
Toplam Fenolik Bileşik Miktarı	Toplam Flavanoid Miktarı
15,9 ± 0,15 mg GAE/g ekstre	60,8 ± 0,043 mg kersetin /g ekstre

Eruygur ve ark. yaptığı çalışmada, toplam fenolik ve flavanoid belirlemede galik asit ve kersetin standartları kullanılmış ve *E. italicum* bitkisindeki antioksidan bileşen miktar analizi yapılmıştır. *E. italicum* bitkisinin kök kısmından hazırlanan etanollü ekstraktlarının toplam fenol miktarı $19,986 \pm 0,008$ (mg GA/g ± S.H.) olarak tayin edilmiştir. Flavanoid miktarı ise $47,11 \pm 0,010$ (mg kersetin /g ± S.H.) olarak bulunmuştur [56]. Bu verilere dayanarak bitkinin kök kısmında fenolik bileşikler ve flavanoid miktarlarının toprak üstü kısmına göre daha fazla olduğu anlaşılabılır. Bu tez çalışmasında da elde edilen veriler literatürdeki verilerle uyusmaktadır.

4.2. Morfolojik Değerlendirme

Elektroeğirme yöntemi ile üretilen nanofiber malzemelerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu ile (SEM) incelenmiştir (Şekil 4.3). Farklı EIE

konsantrasyonuna sahip elektroğrılmış nanofiber membranlar benzer morfolojik yapı sergilemişlerdir. Elde edilen nanofiberler sürekli, damlacıksız ve homojen görünümündedir. Elektroğirme işlemi sırasında her konsantrasyon için parametrelerin farklılık göstermesi bu özellikleri optimize etmeye dayanır. Ayarlanan parametrelerin her konsantrasyon için optimum düzeyde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3. Membranların SEM görüntüleri a) PLGA, b) PLGA/EIE10, c) PLGA/EIE12, d) PLGA/EIE15, e) PLGA/EIE20 (5000x)

Nanofiberlerin ortalama çapları Tablo 4.2'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre, en yüksek çap 1878 nm ile PLGA/EIE20 oranındaki membranda bulunurken, sadece PLGA'dan üretilen membranın çapı 910 nm'dir. Çözelti konsantrasyonunun artmasıyla birlikte oluşan nanofiberlerin de çaplarında artış olduğu görülmektedir.

Bu durumda üretilen membranların EIE miktarı ile nanofiberlerin çapı arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır. Çözelti konsantrasyonu arttığında viskozite de artacağından oluşan fiberlerin çapı artmaktadır [25]. Bu nedenle kullanıma en uygun olan ve EIE içeren numunenin PLGA/EIE10 olduğu söylenebilir.

Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda üretilen membranların ortalama nanofiber çapları

Örnek	PLGA	PLGA/EIE10	PLGA/EIE12	PLGA/EIE15	PLGA/EIE20
Ortalama nanofiber çapı (nm)	910	1023	1178	1240	1878

4.3. *in vitro* Biyobozunma Çalışmaları

PLGA polimerinin bozunma hızı içeriğindeki PLA/PGA oranına göre değişkenlik gösterir. *in vitro* biyobozunma çalışmalarının temeli PLGA'nın yapısındaki ester bağlarının zaman içerisinde su ile hidroliz olup bağların kopmasına ve polimerin önce M_n daha sonra M_w değerlerinin azalmaya başlamasına dayanır. 50/50 oranındaki PLGA yaklaşık olarak 1-2 ay, 75/25 oranındaki PLGA 4-5 ay ve 85/15 oranındaki PLGA 5-6 ayda bozunur [47].

Bu tez kapsamında da hazırlanan membranlar PBS'e daldırıldıktan 7, 14, 30, 60 ve 90 gün sonra distile su ile yıkanıp 24 saat 37 °C etüvde kurutulduktan sonra ağırlık kaybı olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla tekrar tartımları alınmış ve ağırlık kaybı yüzdesi hesaplanmıştır.

Tablo 4.3.'de membranların 7, 14, 30, 60 ve 90. günde alınan ağırlıklarının ilk tartımlarına göre % azalma değerleri verilmiştir. Örneklerde 7 ve 14. gün sonunda hiç ağırlık kaybı gözlenmemiştir. 30. günün sonunda PLGA ve PLGA/EIE10 örneklerinde bozunma başlamışken, diğer üç numunede ağırlık kaybına rastlanmamıştır. 60 günün sonunda sırasıyla % 4,04, 3,88, 1,2, 1,3, 1,38 oranında ağırlık kayıpları yaşanmıştır. Bu verilere dayanarak, EIE miktarı bozunmayı PLGA/EIE10 örneğinde artırırken daha sonra yavaşlatmıştır.

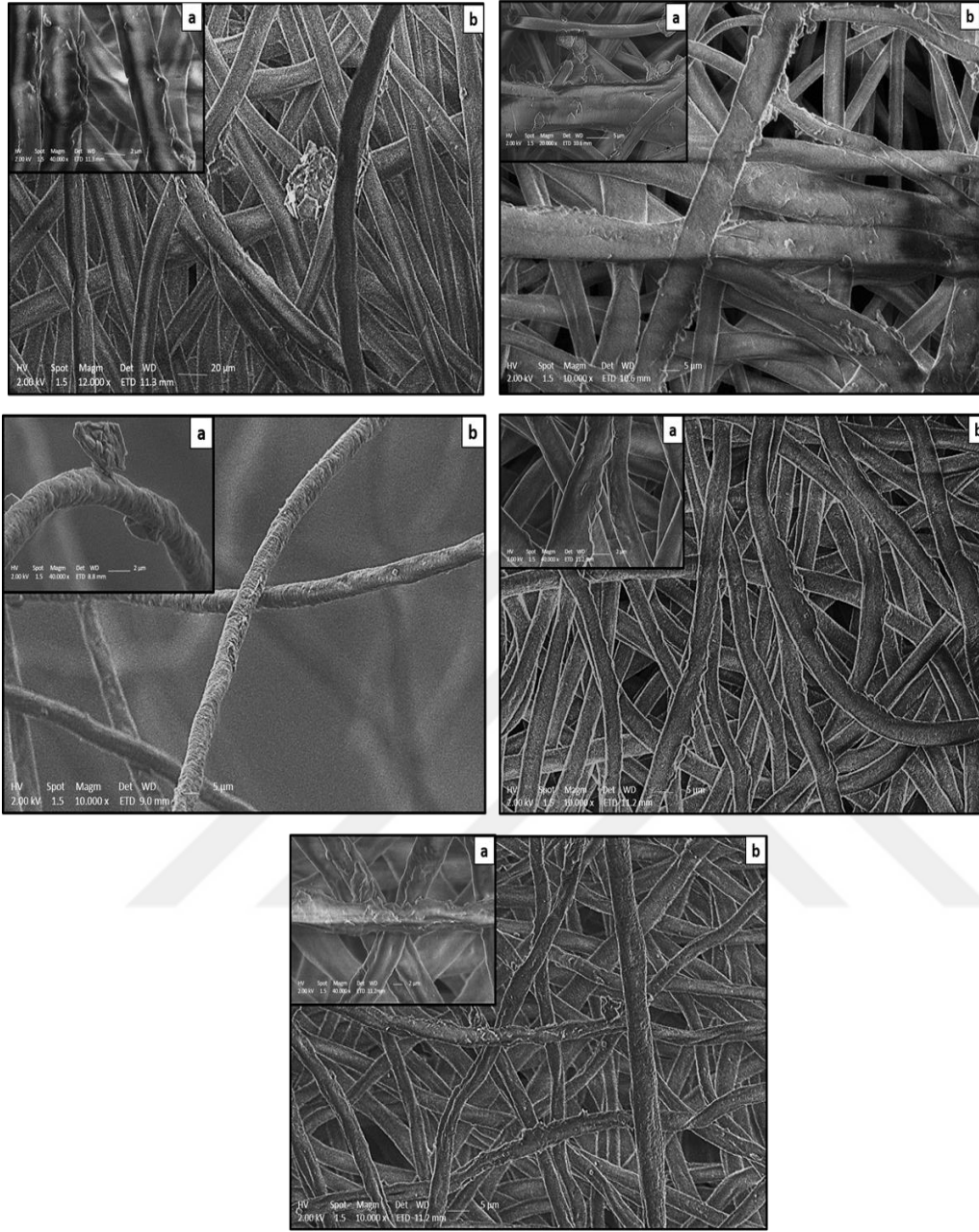
Bozunmanın yavaşlamasında EIE içerisindeki hayvansal yağ oranının, dolayısıyla ester bağlarının ve uzun hidrokarbon zincirlerinin etkisi olabileceği düşünülmüştür. Ester bağı miktarı arttığında su molekülleri bu bağları kırmakta güçlük çekecek ve bozunma süresi uzayacaktır.

Tablo 4.3. Membranların 7,14,30,60 ve 90.gün için in vitro biyobozunma yüzdeleri

Örnek	Bozunma Süresi (gün)				
	7	14	30	60	90
PLGA	-	-	1,31	4,04	4,06
PLGA/EIE10	0,57	1,11	3,73	3,88	5,49
PLGA/EIE12	-	-	-	1,2	4,08
PLGA/EIE15	-	-	-	1,3	4,34
PLGA/EIE20	-	-	-	1,38	1,91

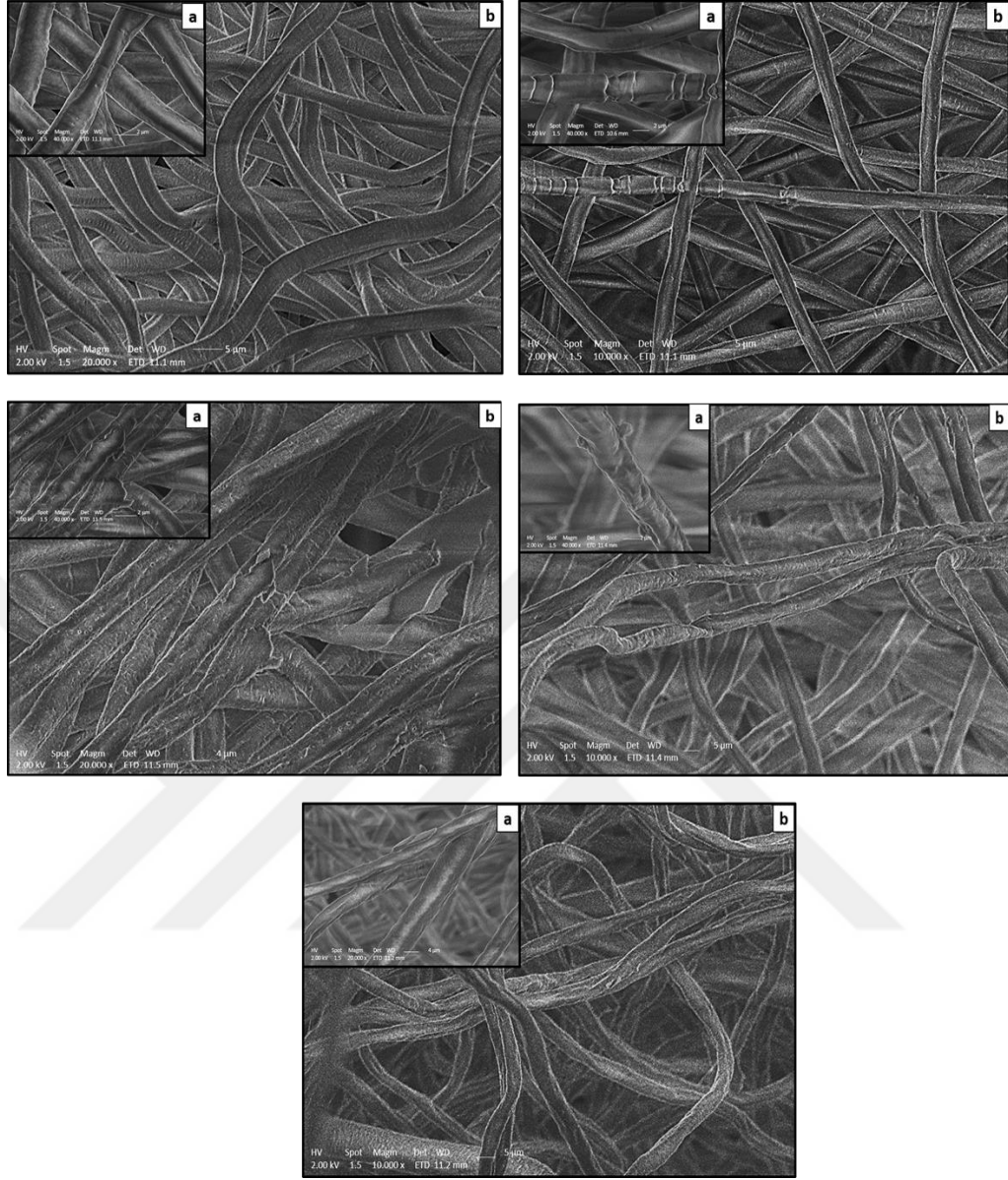
90. gün sonunda PLGA örneğinde % 4,056, PLGA/EIE10 örneğinde % 5,49, PLGA/EIE12 örneğinde ise % 4,08, PLGA/EIE15 örneğinde % 4,34 ve PLGA/EIE20 örneğinde ise % 1,91 ağırlık kaybı olmuştur. EIE içeriğinin artmasıyla EIE konsantrasyonu ile birlikte bozunma oranı bir süre artarken, PLGA/EIE20 örneğinde düşüş görülmüştür. Elde edilen ağırlık kayıplarına göre membranların içerisindeki optimum EIE oranının %10 olabileceği anlaşılmıştır.

Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.'te üretilen membranların in vitro biyobozunmanın testinin 60 ve 90. günlerinden sonra alınan SEM görüntüleri verilmiştir. Bozunma PBS çözeltisi içerisindeki su moleküllerinin membranların yapısındaki ester bağlarını kırmasıyla meydana gelir. Her membranda fiberlerin yapısında değişiklik gözlenmiştir. Fiberler kopma seviyesine gelmiş, bazı noktalarda parçalanmalar/kopmalar olmuş, fiberlerin yüzeyinde pürüzlülük artmıştır. Aynı zamanda fiberler incelmış ve bazı kısımlar yassılaşmıştır. 60. günde sadece PLGA içeren membranın yüzeyinin en fazla bozunmaya uğradığı görülmektedir. 90 gün sonra alınan örneklerde ise %10 EIE içeren numunenin en fazla bozunmaya uğradığı görülmektedir.



Şekil 4.4. Örneklerin 60. gün sonunda SEM görüntüleri

*Sırasıyla PLGA (a) 40.000x, b) 12.000x), PLGA/EIE10 (a) 20.000x, b) 10.000x), PLGA/EIE12 (a) 40.000x, b) 10.000x), PLGA/EIE15 (a) 40.000x, b) 10.000x), PLGA/EIE20 (a) 40.000x, b) 10.000x)

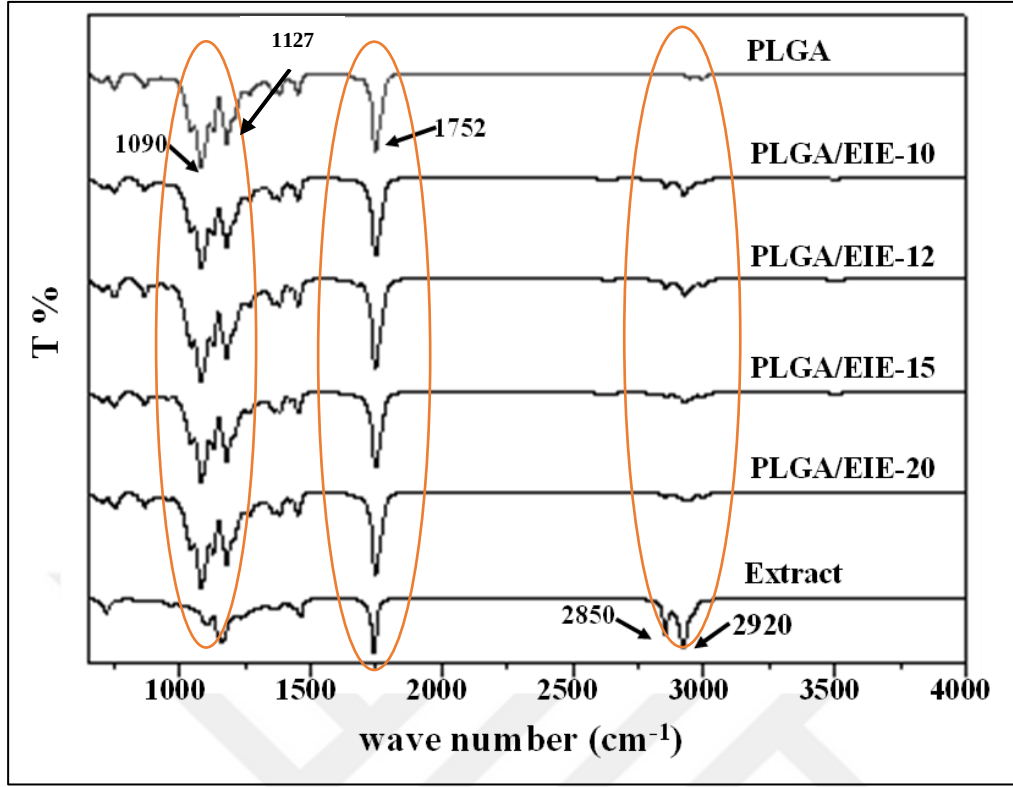


Şekil 4.5. Örneklerin 90. gün sonunda SEM görüntüleri

*Sırasıyla PLGA (a) 40.000x, b) 20.000x), PLGA/EIE10 (a) 40.000x, b) 20.000x), PLGA/EIE12 (a) 40.000x, b) 20.000x), PLGA/EIE15 (a) 40.000x, b) 10.000x), PLGA/EIE20 (a) 20.000x, b) 10.000x)

4.4. FTIR Analizi

Nanofiber yüzeylerin kimyasal yapısı belirlemek amacıyla yapılan FTIR-ATR analizi sonucu Şekil 4.6’da gösterilmiştir. FTIR spektrumuna göre, PLGA’ya ait karakteristik bantlar yaklaşık 1752 cm^{-1} ’deki C=O bağı gerilme bandı ve 1090 cm^{-1} ’deki C–O–C gerilme bandı güçlü karakteristik absorpsiyon bantları olarak görülmektedir [59]. 1088 cm^{-1} ’deki görülen pik C-O gerilme bandını temsil etmektedir. 2944 cm^{-1} bandında C-H bağının gerilmesinin varlığı gözlemlenmiştir [60].



Şekil 4.6. Membranların FTIR spektrumu

EIE, alfa-linolenik asit (ALA), stearidonik asit (SDA), linoleik asit (LA), gama linolenik asit (GLA) gibi yağ asitlerine sahip olduğundan, ekstrakt spektrumunda 2800 ile 3000 cm^{-1} arasında gözlenen bantlar yağ asitlerine atfedilebilir [59]. Bu nedenle, EIE miktarının artmasıyla bu bantların yoğunluğunun arttığı görülmektedir. Ayrıca, EIE, PLGA ile aynı dalga boylarında karakteristik bantlara sahip olan sekonder metabolitler olarak şikonin ve alkanin'e sahiptir. Dolayısıyla yukarıda belirtilen $\text{C}=\text{O}$ ve $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ gerilme bantları EIE içeren malzemelerin FTIR spektrumunda da görülmüştür. PLGA polimerine EIE eklenmesiyle birlikte 2850-3000 cm^{-1} dalga boyları dışında belirgin bir fark yaratmamıştır.

4.5. Mekanik Test

Yara örtü malzemesi üretilirken malzemenin esnek, gerilme mukavemetine dayanıklı, yüksek elastikiyete sahip olması gerekir. PLGA polimeri de bu özellikleri taşıyan biyobozunur, sentetik bir polimerdir. EIE ilavesinin membranların mekanik özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için çekme testleri yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.4'de sunulmuştur. Sonuçlara göre gerilim kuvvetine en fazla mukavemeti gösteren malzeme PLGA içeren örnek olmuştur. Çözeltide EIE konsantrasyonunun artmasıyla

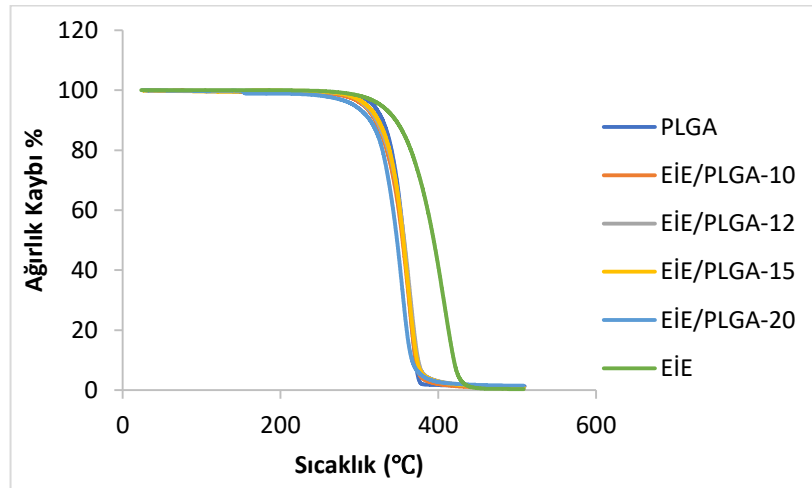
birlikte oluşan membrandaki gerilme direnci ve gerginlik değerleri azalış göstermiştir ancak uygulama için hala yeterli değerler olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.4. Membranların mekanik ölçüm değerleri

Örnek	E_T (MPa)	ϵ_M (%)
PLGA	0.23	207
PLGA/EIE10	0.11	142
PLGA/EIE12	0.07	88
PLGA/EIE15	0.10	163
PLGA/EIE20	0.08	112

4.6. Termal Gravimetrik Analiz

Hazırlanan nanofiber membranların ve EIE aktif bileşenlerinin termal özelliklerinin belirlenmesi için yapılan TGA analizinden elde edilen termogram aşağıdaki şekilde gösterilmiştir. Gerçekleştirilen TGA analizinde 25-500°C sıcaklıkları arasında nanofiberlerin % ağırlık kayıpları tayin edilmiştir. Ağırlık kaybı görülmesinin sebebi sıcaklığın artmasıyla malzemedeki termal bozunma ve buharlaşma meydana gelmesidir.



Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonda örneklerin TGA grafikleri

Nanofiberlerin sıcaklık artışına karşı ağırlık kaybı yüzdesi incelendiğinde yaklaşık 250°C sıcaklığa kadar hiçbir nanofiberde ağırlık kaybı gerçekleşmemiştir. Bunun

sebebi olarak nanofiberler 300°C'ye kadar termal kararlılık göstermektedir [61]. Literatürde Zhu ve ark., yaptıkları TGA çalışmalarında bozunmanın PLGA için 225°C'den sonra başladığını ortaya koymuşlardır [62]. Literatürde verilen bilgilere göre bu çalışmada PLGA için elde edilen TGA uyumluluk göstermektedir. Sıcaklık artışına bağlı olarak PLGA, PLGA/EIE10, PLGA/EIE12, PLGA/EIE15, PLGA/EIE20 ve sadece ekstraktı içeren numunelerin (EIE) sırasıyla ağırlık kayıpları %98.7, %99.5, %99, %99, %98.5 ve %99.6 olduğu görülmektedir. Termal bozunma tamamlandıktan sonra, tüm nanofiberler bir miktar artık madde bırakmıştır. Tek başına EIE örneğinin TGA profili analiz edildiğinde, dekompozisyonun 127-467°C gibi çok daha geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleştiği görülmüştür. Dolayısıyla PLGA'ya aktif bileşenler içeren bitki ekstraktı eklendiğinde termal direncin düştüğü görülmektedir. EIE içerisindeki yağ katkısı malzemelerdeki polimer-polimer etkileşimini azaltır, böylece ısıl kararlılığı da düşürmektedir. TGA sonuçlarına dayanarak, bitki ekstraktı içeren farklı konsantrasyonlarda üretilen PLGA içerikli nanofiber yara örtüsü malzemeleri vücut sıcaklığında (37°C) herhangi bir bozunma gerçekleşmeden kullanılabilir.

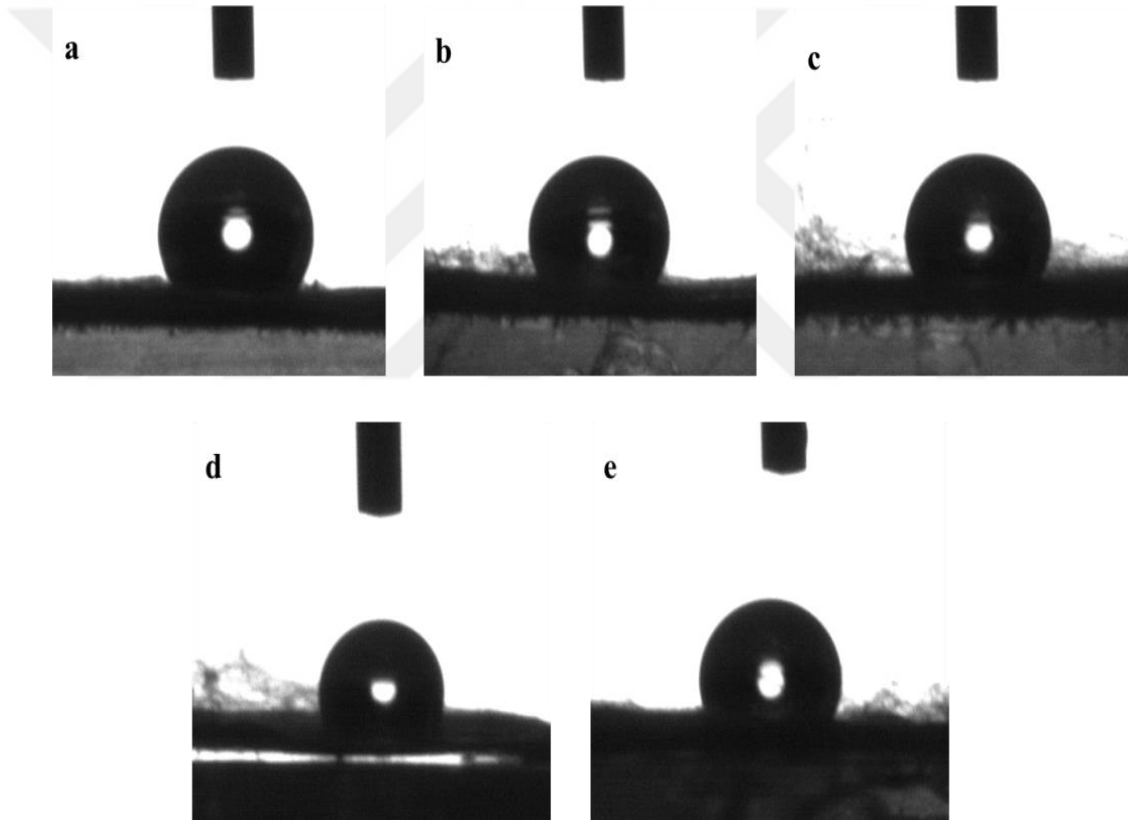
4.7. Su Temas Açısı

Su temas açısı testi, farklı konsantrasyonlarda üretilen nanofiber malzemelerin hidrofilik ve hidrofobikliğini tayin edebilmek için kullanılmıştır. Aşağıdaki tabloda görüldüğü gibi farklı konsantrasyonlardaki PLGA/EIE ve kontrol PLGA nanofiber membranların üzerlerine su damlatılarak temas açıları ölçülmüş, ortalamaları alınmış ve aşağıdaki gibi rapor edilmiştir.

Tablo 4.5. Membranların su temas açısı değerleri

Örnek	Temas Açısı (°)
PLGA	125,79
PLGA/EIE10	121,70
PLGA/EIE12	126,86
PLGA/EIE15	129,66
PLGA/EIE20	122,78

Su damlatıldıktan sonra kamerayla alınan görüntüler Şekil 4.8’de sunulmuştur. EIE miktarının artmasıyla birlikte malzemelerin temas açısının ilk başta düştüğü, daha sonra tekrar yükseldiği görülmektedir. Sadece PLGA içeren membranın su temas açısının yüksek olmasının sebebi PLGA polimerinin hidrofobik oluşudur. PLGA/EIE10 örneğinde temas açısının düşmesine sebep olarak polimerik nanofiber membrana EIE eklenmesiyle birlikte hidrofilitesi yani ıslanabilirliğinin de arttığı söylenebilir. Bunda EIE’nin içerisinde bulunan –OH grupların hidrofilikliği artırmada etkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak PLGA/EIE10 örneğinden sonraki numunelerin temas açılarında yükselme meydana gelmiştir. Bu da optimum oranın %10 EIE konsantrasyonu olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.8. Membranların su temas açısı ölçümlerinin görüntüleri

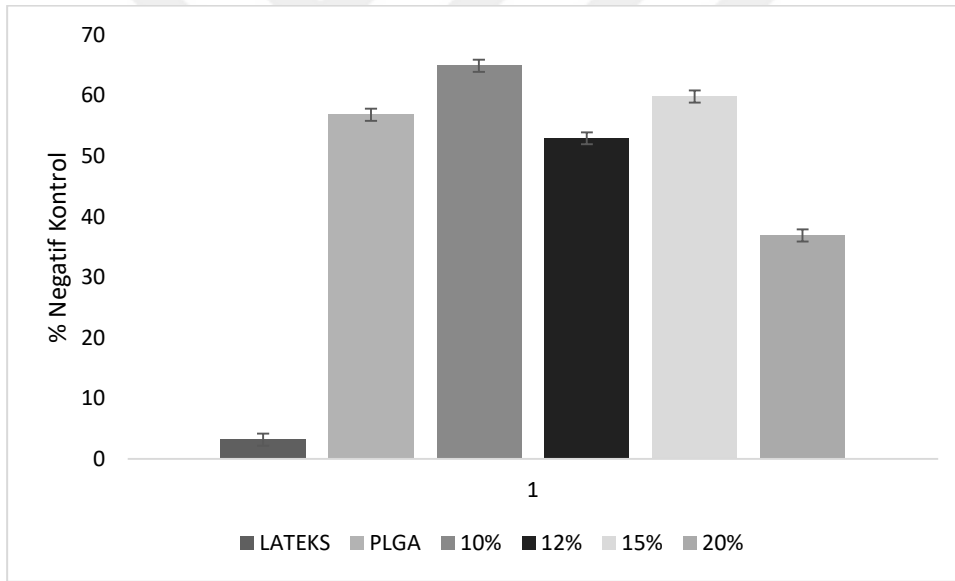
4.8. İndirekt Sitotoksosite Testi

İndirekt sitotoksosite değerlendirmesi, MEM-ekstraksiyon testi ile belirlenmiştir. Bu test, üretilen malzemelerin biyolojik olarak zararlı olabilecek ekstraktları salıp salmadığını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. 24 ve 48 saat sonra kayıtlı edilen değerler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4.6. Membranların 24 ve 48 saat sonra elde edilen sitotoksik indeks değerleri

	PLGA	PLGA/EIE10	PLGA/EIE12	PLGA/EIE15	PLGA/EIE20
24 sa	1,75	2,04	2,05	2,19	1,92
48 sa	1,75	2,76	2,77	2,70	2,64
Sonuç	1-3 Başarılı	1-3 Başarılı	1-3 Başarılı	1-3 Başarılı	1-3 Başarılı

Şekil 4.9'da 72 saat sonra MTS analizi ile belirlenen hücre canlılığı değerleri görülmektedir. Yapılan test sonucu %10 ve %15 örneklerinde hücre canlılığının diğer membranlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Hücre canlılığın en az olduğu membran ise %20 örneği olmuştur.



Şekil 4.9. 72 saatlik bir süre boyunca kontrol ve numune özleri ile inkübasyondan sonra L929 hücrelerinin hücre canlılığı

Hem mikroskopik değerlendirme hem de hücre canlılığı testinden elde edilen sonuçların birleştirilmesinden sonra, membranlardan sızabilir bileşenlerin sitotoksik indeksi 1.70-2.77 arasında olan sitotoksik olmayan olarak kabul edilebileceği açıkça belirtilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deri dokusu, vücudumuzun en geniş organı olmakla birlikte, vücudu dış etkenlerden koruyan ve o etkenlerle ilk olarak karşılaşan dokudur. Yara ise deriye ısı, kimyasal, keskin malzemeler gibi dış etkenlerin temas etmesi sonucu vücudun verdiği tepkidir. Yaranın verdiği bu tepkilerden sonra yara bir dizi fazlardan geçerek iyileşme sürecini tamamlar. Buna yara iyileşmesi denir ve bu fazlar sırasıyla hemostazi, inflamasyon, profiberasyon ve yeniden şekillenmedir (maturasyon). Yaranın oluşum derecelerine göre iyileşme süreleri de uzayabilmektedir.

Günümüzde sargı bezleri gibi geleneksel yara örtüleri dışında yaraya nemli ortam sağlayamadıklarından dolayı modern yara örtüleri daha popüler olmaya başlamıştır. Hidrokolloidler, poliüretan köpükler, hidrojel ve nanofiber yara örtüleri bunlardan birkaçıdır. Nanofiber yara örtü malzemeleri genel olarak doğal veya sentetik polimerlerden oluşan elektro eğrilmiş malzemelerdir. Bu malzemeler nano boyutta olduklarından dolayı yaraya ekstra nem ve oksijen geçirgenliği sağlar, içerisindeki polimer ise yeni deri dokusunun oluşabilmesi için aktif rol oynar. Birçok çalışmada bu polimerlere ek olarak çözelti içerisine yara iyileşmesinde aktif rol oynayan bazı bitki ekstraktları da eklendiği gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasında *E. italicum* bitkisinden elde edilen aktif bileşenler ile cilt tedavilerinde sıklıkla kullanılan PLGA polimerinden farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanarak uygun parametrelerde elektro eğirme işlemi yapılmış ve nanofiber yara örtü malzemesi üretilmiştir. Üretilen membranların mekanik test, TGA analizi, in vitro biyobozunurluk testi, in vitro sitotoksikite testi gibi gerçekleştirilen test sonuçlarına bakılarak nanofiber membran üretiminde optimum konsantrasyonun PLGA/EIE10 olduğu görülmektedir.

Bu üretilen yara örtü malzemesinin, nano boyutta fiberlerden oluşması sayesinde yara ile temas ettirildiğinde yaranın hava alabilecek oksijen ve nem dengesini koruması en büyük avantajlarından biri olarak tespit edilmiştir. Ayrıca diğer avantajlarından bazıları biyouyumlu, biyobozunur, esnek, mekanik özellikleri kuvvetli olmasıdır. Hücre büyümesine engel olmadığı da tespit edilmiştir. Bu da yara iyileşmesi sırasında yeni deri dokusu oluşturarak yaradan geriye iz kalmamasını sağlamaktadır. Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar, geliştirilmiş fiberli matların, ciddi yanık yaralarının

tedavisi için bir yara pansuman malzemesi olarak hizmet etmek için uygun özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Demirci, S., *Roles And Applications Of Boron Compounds In Cutaneous Acute And Chronic Wound Healing*. Yeditepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi 2015.
- [2] Gilik, Ç., *Tarçın Özütü İle Enkapsüle Gümüş Nanopartiküllü Plga Nanofiber Yara Örtüsü*. Necmettin Erbakan Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi 2021.
- [3] Roger, M., et al., *Bioengineering the microanatomy of human skin*. Journal of Anatomy, 2019. **234**(4): p. 438-455.
- [4] Rodrigues, M., et al., *Wound Healing: A Cellular Perspective*. Physiological Reviews, 2019. **99**(1): p. 665-706.
- [5] Du, L., et al., *Fabrication of ascorbyl palmitate loaded poly(caprolactone)/silver nanoparticle embedded poly(vinyl alcohol) hybrid nanofibre mats as active wound dressings: Via dual-spinneret electrospinning*. RSC Adv., 2017. **7**: p. 31310-31318.
- [6] Kemaloğlu, A., *Ratlarda Sefazolin Sodyumun Cilt Yarası İyileşmesine Etkisi*. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [7] Önel, H., *Cotinus Coggyria Yapraklarının Etanol Ekstresinin Yanık Yaralarının Tedavisindeki Etkisinin İncelenmesi*. Marmara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2018.
- [8] Beanes, S.R., et al., *Skin repair and scar formation: the central role of TGF-beta*. Expert Rev Mol Med, 2003. **5**(8): p. 1-22.
- [9] Kirsner, R.S. and W.H. Eaglstein, *The wound healing process*. Dermatol Clin, 1993. **11**(4): p. 629-40.
- [10] Demir, M.M., *Salvia Tomentosa Merheminin Tavşan Modelinde Dermal Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, 2021.
- [11] Berman, B., A. Maderal, and B. Raphael, *Keloids and Hypertrophic Scars: Pathophysiology, Classification, and Treatment*. Dermatol Surg, 2017. **43 Suppl 1**: p. S3-s18.
- [12] Singh, S., A. Young, and C.-E. McNaught, *The physiology of wound healing*. Surgery (Oxford), 2017. **35**(9): p. 473-477.
- [13] Miguel, S.P., et al., *Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018. **169**: p. 60-71.
- [14] Nathanael, A.J. and T.H. Oh, *Encapsulation of Calcium Phosphates on Electrospun Nanofibers for Tissue Engineering Applications*. Crystals, 2021. **11**(2): p. 199.

- [15] Öktemer, F.A., *Zerdeçal Ekstraktlı Gümüş Nanopartiküllü Plga Elektro Eğirme Nanofiber Yara Örtüsü*. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2021.
- [16] Aykanat, R.B., *Elektroçekim Yöntemi İle Nanofiber Üretimi Ve Uygulamaları*. Anadolu Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2016.
- [17] Dulnik, J., et al., *The effect of a solvent on cellular response to PCL/gelatin and PCL/collagen electrospun nanofibres*. European Polymer Journal, 2018. **104**: p. 147-156.
- [18] Li, D., et al., *A comparison of nanoscale and multiscale PCL/gelatin scaffolds prepared by disc-electrospinning*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2016. **146**: p. 632-641.
- [19] Çaydamalı, Y., *Elektrospinning Yöntemi İle Biyopolimer Esaslı Nanoyapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu*. Dokuz Eylül Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 2012.
- [20] Adhikari, J., et al., *Polycaprolactone assisted electrospinning of honey/betel with chitosan for tissue engineering*. Materials Today: Proceedings, 2022. **57**: p. 307-315.
- [21] Bosworth, L.A. and S. Downes, *Acetone, a Sustainable Solvent for Electrospinning Poly(ϵ -Caprolactone) Fibres: Effect of Varying Parameters and Solution Concentrations on Fibre Diameter*. Journal of Polymers and the Environment, 2012. **20**(3): p. 879-886.
- [22] İsoğlu, İ.A., *Yara Örtü Malzemesi Olarak Elektroeğrilmiş PCL/PHBV Membranların Hazırlanması ve Karakterizasyonu*. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, , 2019. **8**(3): p. 1029-1044.
- [23] Ahi, Z.B., , *Omurilik Hasarlarının Doku Mühendisliği Yaklaşımı İle Tedavisi İçin Biyobozunur Üç Boyutlu Matriks Geliştirilmesi*. Yalova Üniversitesi, Doktora Tezi, 2020.
- [24] Pillay, V., et al., *A Review of the Effect of Processing Variables on the Fabrication of Electrospun Nanofibers for Drug Delivery Applications*. Journal of Nanomaterials, 2013. **2013**: p. 789289.
- [25] Bhardwaj, N. and S.C. Kundu, *Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique*. Biotechnology Advances, 2010. **28**(3): p. 325-347.
- [26] Fong, H., I. Chun, and D.H. Reneker, *Beaded nanofibers formed during electrospinning*. Polymer, 1999. **40**(16): p. 4585-4592.
- [27] Zong, X., et al., *Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes*. Polymer, 2002. **43**(16): p. 4403-4412.
- [28] Haghi, A.K. and M. Akbari, *Trends in electrospinning of natural nanofibers*. physica status solidi (a), 2007. **204**(6): p. 1830-1834.

- [29] Han, D. and P.I. Gouma, *Electrospun bioscaffolds that mimic the topology of extracellular matrix*. Nanomedicine, 2006. **2**(1): p. 37-41.
- [30] Sill, T.J. and H.A. von Recum, *Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering*. Biomaterials, 2008. **29**(13): p. 1989-2006.
- [31] Tuzlakoglu, K., et al., *Nano- and micro-fiber combined scaffolds: A new architecture for bone tissue engineering*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2005. **16**(12): p. 1099-1104.
- [32] Wang, J. and M. Windbergs, *Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds*. Eur J Pharm Biopharm, 2017. **119**: p. 283-299.
- [33] Malafaya, P.B., G.A. Silva, and R.L. Reis, *Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications*. Adv Drug Deliv Rev, 2007. **59**(4-5): p. 207-33.
- [34] Parenteau-Bareil, R., R. Gauvin, and F. Berthod, *Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications*. Materials (Basel). 2010 Mar 16;3(3):1863-87. doi: 10.3390/ma3031863. eCollection 2010 Mar.
- [35] Rollason, G., J.E. Davies, and M.V. Sefton, *Preliminary report on cell culture on a thermally reversible copolymer*. Biomaterials, 1993. **14**(2): p. 153-5.
- [36] Liu, Y., et al., *Recent development of electrospun wound dressing*. Current Opinion in Biomedical Engineering, 2021. **17**: p. 100247.
- [37] Vroman, I. and L. Tighzert, *Biodegradable Polymers*. Materials (Basel). 2009 Apr 1;2(2):307-44. doi: 10.3390/ma2020307. eCollection 2009 Jun.
- [38] Garg, T., *Scaffold: Tissue engineering and regenerative medicine*. International Research Journal of Pharmacy, 2011. **2**.
- [39] Gunatillake, P.A. and R. Adhikari, *Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering*. Eur Cell Mater, 2003. **5**: p. 1-16; discussion 16.
- [40] Mondal, D., M. Griffith, and S.S. Venkatraman, *Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2016. **65**(5): p. 255-265.
- [41] Jose, M.V., et al., *Fabrication and characterization of aligned nanofibrous PLGA/Collagen blends as bone tissue scaffolds*. Polymer, 2009. **50**(15): p. 3778-3785.
- [42] Lee, S.J., et al., *Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions*. Biomaterials, 2008. **29**(19): p. 2891-2898.

- [43] Zhang, Y., et al., *Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2005. **72B**(1): p. 156-165.
- [44] Li, J., J. Chen, and R. Kirsner, *Pathophysiology of acute wound healing*. Clin Dermatol, 2007. **25**(1): p. 9-18.
- [45] Srivastava, A., et al., *Polymers in Drug Delivery*. Journal of Biosciences and Medicines, 2016. **04**: p. 69-84.
- [46] Ulery, B.D., L.S. Nair, and C.T. Laurencin, *Biomedical Applications of Biodegradable Polymers*. J Polym Sci B Polym Phys, 2011. **49**(12): p. 832-864.
- [47] Nair, L.S. and C.T. Laurencin, *Biodegradable polymers as biomaterials*. Progress in Polymer Science, 2007. **32**(8): p. 762-798.
- [48] Rezvantab, S., et al., *PLGA-Based Nanoparticles in Cancer Treatment*. Frontiers in Pharmacology, 2018. **9**.
- [49] Xu, W.-K., et al., *Accelerated Cutaneous Wound Healing Using an Injectable Teicoplanin-loaded PLGA-PEG-PLGA Thermogel Dressing*. Chinese Journal of Polymer Science, 2019. **37**(6): p. 548-559.
- [50] Kim, S.J., et al., *Evaluations of chitosan/poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) composite fibrous scaffold for tissue engineering applications*. Macromolecular Research, 2013. **21**(8): p. 931-939.
- [51] Eruygur, N., et al., *Bioassay-guided isolation of wound healing active compounds from Echium species growing in Turkey*. Journal of Ethnopharmacology, 2016. **185**: p. 370-376.
- [52] Ilan, A., M. Ziv, and A.H. Halevy, *Propagation and corm development of Brodiaea in liquid cultures*. Scientia Horticulturae, 1995. **63**(1): p. 101-112.
- [53] A. Yıldırım and T. Ekim, *Orta Anadolu Bölgesi Yabancı Ot Florası*. Bitki Koruma Bülteni, 2003. **43**(1-4): p. 1-98
- [54] Çakılcıoğlu, U., et al., *Harput (Elazığ) ve çevresindeki bazı bitkilerin etnobotanik özellikleri*. Fırat Üniversitesi, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi, 2007. **5**(2): p. 22-28.
- [55] Eruygur, N., *Türkiye’de Yetişen Bazı Echium Türlerinin Yara İyileştirici Aktivitesinin Araştırılması*. Gazi Üniversitesi, Doktora Tezi, 2014.
- [56] Eruygur, N., G. Yılmaz, and O. Üstün, *Analgesic and antioxidant activity of some Echium species wild growing in Turkey*. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences, 2012. **37**: p. 151-159.
- [57] Chandra, S., et al., *Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown*

leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. Evid Based Complement Alternat Med, 2014. **2014**: p. 253875.

- [58] Woisky, R.G. and A. Salatino, *Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control*. Journal of Apicultural Research, 1998. **37**(2): p. 99-105.
- [59] Gautam, S., et al., *Gelatin-polycaprolactone-nanohydroxyapatite electrospun nanocomposite scaffold for bone tissue engineering*. Materials Science and Engineering: C, 2021. **119**: p. 111588.
- [60] Armentano, I., et al., *Effects of carbon nanotubes (CNTs) on the processing and in-vitro degradation of poly(DL-lactide-co-glycolide)/CNT films*. J Mater Sci Mater Med, 2008. **19**(6): p. 2377-87.
- [61] Xu, W., et al., *Effects of storage condition on the physicochemical characteristics of sunflower seed oil*. RSC Advances, 2019. **9**(72): p. 42262-42271.
- [62] Zhu, Z., et al., *Microencapsulation of Thymol in Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA): Physical and Antibacterial Properties*. Materials (Basel), 2019. **12**(7).



ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimini Yalova’da tamamladı. 2014 yılında girdiği Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik bölümünden 2020 yılında mezun oldu. Aynı yıl Yalova Üniversitesi Polimer Malzeme Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Programına başladı. 2022 yılı Eylül ayında yüksek lisanstan mezun oldu. 2022 Mart-Mayıs tarihleri arasında Erasmus+ programıyla Portekiz Minho Üniversitesi’nde ziyaretçi araştırmacı olarak bulundu.

TEZDEN TÜRETİLEN YAYIN VE ESERLER

Cakmak, Z. E., Degirmenci, N. Z., Tuzlakoglu, K., “*Production of Polymeric Nanofiber Membranes Containing Plant Extract and Investigation of Their Potential for the Use on Wound Healing*” 3rd International Congress of Innovative Textiles ICONTEX, 2022. p. 449-503.