

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Hanan YUNUS

**PVA/KİTOSAN VE PEO/KİTOSAN KOMPOZİT
NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİ İLE
ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2022

ÖZ

DOKTORA TEZİ

PVA/KİTOSAN VE PEO/KİTOSAN KOMPOZİT NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Hanan YUNUS

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Emel Ceyhun SABİR
Yıl:2022, Sayfa: 145
Jüri : Prof. Dr. Emel Ceyhun SABİR
: Doç.Dr. Füsün DOBA KADEM
: Doç.Dr. Hakan GÜNEYLİ
: Dr.Öğr.Üyesi Çiğdem SARP KAYA
: Dr.Öğr.Üyesi Halil İbrahim İÇOĞLU

Bu tez çalışmasında, elektrospinning teknolojisi ile kitosan nanolifleri üretilmiştir. Kitosan nanoliflerini elde etmek için, polivinil alkol ve polietilen oksit şeklinde iki yardımcı malzeme kullanılmıştır. İki yardımcı polimer ile üretilen kitosan nanoliflerinin kapsamlı bir analizi gerçekleştirilmiştir. Kitosan/polivinil alkol ve kitosan/polietilen oksit farklı polimerik karışımları için viskozite, elektriksel iletkenlik ve yüzey gerilimi testleri uygulanmıştır. Elde edilen nanolifler FESEM, FTIR, XRD testleri ile değerlendirilmiş ve en uygun nanolifin belirlenmesi için istatistiksel ANOVA testler yapılmıştır. Nanolif numunelerinin Gram pozitif organizma olarak *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif organizma olarak *Klebsiella pneumoniae* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elektrospinning, Kitosan, Polivinil alkol, Polietilen oksit, Nanolifler.

ABSTRACT

PhD THESIS

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF PVA/CHITOSAN AND PEO/CHITOSAN COMPOSITE NANOFIBERS BY ELECTROSPINNING

Hanan YUNUS

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF TEXTILE ENGINEERING

Supervizor : Prof. Dr. Emel Ceyhun SABIR
Year:2022, Page: 145
Jury : Prof. Dr. Emel Ceyhun SABIR
: Assoc. Prof.Dr. Füsün DOBA KADEM
: Assoc. Prof. Dr. Hakan GÜNEYLİ
: Asst. Prof.Dr. Çiğdem SARP KAYA
: Asst. Prof.Dr. Halil İbrahim İÇOĞLU

In this thesis, chitosan nanofibers were produced using electrospinning technology. Two auxiliary materials, polyvinyl alcohol and polyethylene oxide, were used to obtain chitosan nanofibers. A comprehensive analysis of chitosan nanofibers produced with the auxiliary materials was performed. Viscosity, electrical conductivity and surface tension tests were performed for chitosan/polyvinyl alcohol and chitosan/polyethylene oxide different polymeric mixtures. Obtained nanofibers were evaluated with FESEM, FTIR, XRD tests and statistical ANOVA tests were performed to determine the most suitable nanofiber achieved. Antibacterial activity of nanofiber samples against *Staphylococcus aureus* as Gram positive organism and *Klebsiella pneumoniae* as Gram negative organism was investigated by using disk diffusion method.

Key Words: Electrospinning, Chitosan, Polyvinyl alcohol, Polyethylene oxide, Nanofibers.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Sağlıklı yaşamın gereklilikleri ve insan varlığı için daha iyi bir gelecek göz önüne alındığında, insan vücudu üzerinde veya gıda konusunda toksik olmayan etkiye sahip maddeler üzerine odaklanılmıştır. Ayrıca çevre dostu malzemelerin kullanılmasına sürekli ihtiyaç olmasıyla gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, doğal malzemeleri ve farklı alanlarda uygulanmalarına yönelik çalışmalar yapmaktadırlar. Tercih edilen maddelerden birisi de kitosandır. Kitosan, biyobozunur, toksik olmayan ve doğal kaynaklardan elde edilmesi kolay bir maddedir ve farklı alanlarda kullanma imkanları olduğu için dikkat çeken bir malzemedir.

Nanoteknoloji ve üstün nitelikleri nedeniyle çeşitli alanlarda çok etkili olduğunu kanıtlamıştır. Bu nedenle bu çalışmada kitosan nanolif üretimine odaklanılmış olup, tıbbi, gıda, filtrasyon, tarım gibi farklı uygulama alanlarından bahsedilmiş ve tespit edilen çarpıcı sonuçlar burada özetlenmiştir. Ancak, kitosan çözelti olarak yüksek viskoziteye sahip bir madde olması nedeniyle nanolif elde edilmesi zordur ve kitosana başka bir madde karıştırılması gerekmektedir.

Kitosan nanolifleri elde etmek için kitosana eklenen maddeler arasında en yaygın olarak kullanılanı, biyoyumluluğu ile karakterize edilen sentetik bir hidrofilik polimer olan polivinil alkol'dur (PVA). PVA, toksik olmaması ve doğal bozulmaya maruz kalması, yüksek mekanik özellikleri ve iyi kimyasal direnci nedeniyle tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu da diğer birçok alanda uygulanmasına izin vermektedir. PVA'nın iyi mekanik özellikleri ve hidrofilikliği ile kitosanın farklı biyolojik özelliklerinin kombinasyonu, benzersiz özelliklere sahip bir madde ile sonuçlanır. Kitosana başka eklenen bir madde de polietilen oksit (PEO) olup bu tez çalışmasında denenmiştir. Nanolif olarak elde edilebilen biyoyumlu, doğal olarak parçalanabilen sentetik bir polimer, düşük toksisite ile karakterize edilir ve asidik ortamda stabil bir madde olarak kabul edilir. PEO, uygun bir moleküler ağırlığa sahipse elektroegirilmiş nanolif elde edilebilir.

Bu tezde düşük moleköl ağırlığı olan kitosan, PVA ve PEO maddelerinin her biri ile, ayrı ayrı olmak üzere, farklı oranlar ve farklı karışım çözeltileri uygulanmıştır. Elektroçekim cihazı kullanılarak tüm bahsi geçen karışımdan nanolif elde edilmiştir. En uygun nanolifi belirlemek için FESEM, XRD, FTIR ve ANOVA testleri yapılmıştır. Bu testlerle nanolifin morfolojisi, kristal ve amorf bünyesi, moleküllerin konumu ve arasında ilişkileri ortaya konulmuştur. İstatistiksel analiz ile nanoliflerin en uygun çapı ve elektroçekim özellikleri ile elde edilen nanolif çapı arasındaki ilişkiler belli olmuştur.

Kitosanın antibakteriyel aktivitesini incelemek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Yaygın mikroorganizmalar olarak; Gram pozitif organizma *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif organizma *Klebsiella pneumoniae* mikroorganizmaları seçilmiş ve bunlara karşı nanolif numunelerinin davranışı belirlenmiştir.

Bu tezde, elektroğirme yöntemi ile kitosan içeren nanolif elde etmek için, farklı yardımcı maddelerin farklı karışım oranı ve konsantrasyonları kullanılmıştır ve üretilen nanoliflerin antibakteriyel akteviteleri geniş bir şekilde tartışılmıştır.

TEŞEKKÜR

Hocalarıma ...

Tezin süreci boyunca yanımda olan ve araştırmanın her aşamasında güçlü desteğini sağlayan hocama tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım. Başkalarına ve onların farklılıklarına tüm sevgiyle katlanma yeteneğinden dolayı, Prof. Dr. Emel Ceyhun SABİR'in asil karakterine saygı duyarım. Doktora eğitimim boyunca beni yetiştiren Çukurova Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Tuğrul OĞULATA' ya ve Bölümün Öğretim üyelerine, akademik ve idari personellerine teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Gaziantep Üniversitesi ve özellikle nanoteknoloji laboratuvarındaki değerli öğretim elemanı hocalarıma destek ve pratik deneyimler sağladıkları için teşekkür ederim.

Aileme

Farklı yerlerde olabiliriz. Ancak, tek bir gökyüzü altındayız, kalbimde yaşıyorsunuz. Elde ettiğim her başarı hepimiz başarımızdır.

Eşime

Zamanı hiç değiştirmeyen en yakın arkadaşım olduğun için teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SEMBOLLER LİSTESİ	XVIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Kitinden Kitosanın Elde Etmede Farklı Yöntemler	5
1.2. Nanolif Elde Etme Yöntemleri	8
1.3. Çalışmanın Amacı.....	10
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. Kitosan Nanolif Üretim Yöntemleri	11
2.2. Kitosan Nanolif Endüstriyel Kullanımı	22
2.3. Tekstil Alanında Kitosan Kullanımına Yönelik Çalışmalar	31
3. MATERYAL VE METOT	35
3.1. Polimerik Karışım Çözeltilisinin Hazırlanışı	35
3.1.1. PVA/CS numunelerin hazırlanışı	35
3.1.2. PEO/CS Numunelerin Hazırlanışı.....	38
3.1.3. Nanolif Üretimi	39
3.2. Metot.....	41
3.2.1. Polimerik Karışım Özellikleri ve Karakterizasyonu	41
3.2.2. Scanning Electron Microscopy (SEM) nanolif çapı ölçüm cihazı ...	43
3.2.3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)	43
3.2.4. X-Ray Diffraction (XRD)	43
3.2.5. Antibakteriyel Aktivite Testi.....	43

3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	45
4.1. PVA/CS Nanolif Çalışmaları	45
4.1.1. PVA/CS Karışım Konsantrasyonunu Belirlemeye Yönelik Ön Çalışmalar	46
4.1.2. Sabit Konsantrasyonda Karışım Oranı ve Besleme Debisi Değişiminin PVA/CS Nanolif Eldesine Etkisi.....	48
4.1.3. Sabit PVA/CS Karışım Oranında Karışım Konsantrasyonu Ve Besleme Debisi Değişiminin Nanolif Eldesine Etkisi.....	52
4.1.4. PVA/CS Nanolif Üzerinde Yapılan Analizler.....	56
4.1.4.1. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi ...	56
4.1.4.2. XRD (X-Ray Diffraction) Analizi	58
4.1.4.3. Sabit Karışım Konsantrasyonunda Farklı Karışım Oranı ve Farklı Besleme Debisi İle Üretilen PVA/CS Nanoliflerin Scanning Electron Microscopy (SEM) Analizi	60
4.1.4.4. Sabit PVA/CS Karışım Oranı İle Karışımın Konsantrasyonu ve Besleme Debisi Değişiminden Üretilen Nanoliflerin Scanning Electron Microscopy (SEM) Analizi	68
4.1.4.5. İstatistiksel Analiz	75
4.2. PEO/CS Nanolif Çalışmaları	80
4.2.1. PEO/CS Karışım Konsantrasyonunu Ve Oranı Belirlemeye Yönelik Ön Çalışmalar.....	82
4.2.2. PEO Ve Kitosan İçin Yapılan Yaklaşımlar.....	87
4.2.3. PEO/CS Nanolif Üzerinde Yapılan Analizler	93
4.2.3.1. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analizi ...	93
4.2.3.2. X-Ray Diffraction (XRD) Analizi.....	95
4.2.3.3. Mikroskobik Görüntü Analizi (Scanning electron microscopy, SEM).....	97
4.2.3.4. İstatistiksel Analiz.....	106

4.2.4. PEO/CS NanolifAntibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi	110
4.2.4.1. Besiyeri Hazırlanışı.....	110
4.2.4.2. PEO/CS Nanolif Antibakteriyel Analizin Sonuçları.....	113
5. SONUÇ	117
KAYNAKLAR	131
ÖZGEÇMİŞ	141
EKLER.....	142





ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	PVA/CS farklı karıştırma yaklaşımı	36
Çizelge 3.2.	PEO/CS farklı karıştırma yaklaşımı	39
Çizelge 4.1.	Farklı karışımın konsantrasyonu ve farklı kitosan oranıyla yapılan ön çalışmalar	47
Çizelge 4.2.	Farklı karışım oranları için kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarı	49
Çizelge 4.3.	%3.5'lik sabit konsantrasyonda, farklı karışımın oranı ve farklı besleme debisi ile yapılan deneyler.....	50
Çizelge 4.4.	%3.5'lik PVA/CS karışımındaki elektrik iletkenliği, viskozitesi, yüzey gerilimi	51
Çizelge 4.5.	Farklı karışım konsantrasyonu için kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarı	52
Çizelge 4.6.	PVA/CS:70/30 sabit karışımın oranında, karışımın konsantrasyonu ve besleme debisiyle değişiminin nanolif verimliliğine etkisi	53
Çizelge 4.7.	PVA/CS:70/30 karışımındaki elektrik iletkenliği, viskozite, yüzey gerilimi	54
Çizelge 4.8.	%3.5 wt sabit konsantrasyonda karıştırma oranı ve besleme debisine göre PVA/CS ortalama nanolif çapları [nm]	61
Çizelge 4.9.	Sabit oranla PVA/CS:70/30 karışım konsantrasyonu ve debiye göre PVA/CS ortalama nanolif çapları [nm]	69
Çizelge 4.10.	ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki	77
Çizelge 4.11.	ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanolif çapı ve besleme debisi arasındaki ilişki	77

Çizelge 4.12. ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanoliflere en uygun besleme debisi	78
Çizelge 4.13. ANOVA analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanolif çapı ve besleme debisi arasındaki ilişki	78
Çizelge 4.14. ANOVA analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanolif çapı ve karışımın konsantrasyonu arasındaki ilişki	79
Çizelge 4.15. Anova analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanoliflere en uygun karışım konsantrasyonunu Çaplar.....	79
Çizelge 4.16. Kitosan ile PEO karışımın farklı karıştırma oranı ve konsantrasyonu	88
Çizelge 4.17. Her karışım oranı için kitosan ve PEO çözeltilerinden alınan miktarı.....	89
Çizelge 4.18. Farklı PEO/CS karışımın viskozitesi, yüzey gerilimi ve elektrik iletkenliği.....	91
Çizelge 4.19. %1wt PEO/CS karışımın konsantrasyondaki PEO/CS ortalama nanolif çapları (nm)	98
Çizelge 4.20. %2, %3wt konsantrasyondaki farklı karışım oranlarına göre PEO/CS ortalama nanolif çapları (nm).....	101
Çizelge 4.21. ANOVA analizine göre nanolif çapı ve karışımın konsantrasyonu arasındaki ilişki	107
Çizelge 4.22. ANOVA analizine göre nanoliflere en uygun PEO/CS karışımın konsantrasyonu	107
Çizelge 4.23. ANOVA analizine göre ve (%1 wt) konsantrasyon dahil, nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki.	108
Çizelge 4.24. ANOVA analizine göre ve (%1 wt konsantrasyon hariç) nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki	109
Çizelge 4.25. ANOVA analizine göre nanoliflere en uygun PEO/CS karışımın oranı	109

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Selüloz, Kitin ve kitosan kimyasal yapısı.....	2
Şekil 1.2.	a. Kitin elde etme adımları	4
Şekil 1.2.	b. Kitinden kitosan elde etme adımları	5
Şekil 1.3.	TEM analiziyle kitosan nanopartiküller	6
Şekil 1.4.	Farklı toplayıcı şekillerle elektroçekim metodu	9
Şekil 2.1.	a) Karışım konsantrasyonu %6 wt ve karışım oran PVA/CS:11/89 – b) %6wt ve oran PVA/CS: 17/83 – c) %4 wt ve oran PVA/CS:25/75- d) %3wt ve oran PVA/CS:50/50. (.....	16
Şekil 2.2.	A) B12 içeren CS/f3 nanolif B)Krukumin C) Diklofenak	23
Şekil 2.3.	Sinnamealdehit /kitosan/gümüş nanomembranla kaplanan yara bölgesinin inhibisyon zonu.....	25
Şekil 2.4.	Kitosan nanolif ile selüloz nanokristalleriyle kaplanan Banknotun kaplama aşamaları.....	27
Şekil 2.5.	A) Kitosan nanolif ile desteklemeyen numune B) Kitosan nanolif ile desteklenen numune	30
Şekil 2.6.	Santrifüjalspinning yöntemi	32
şekil 3.1.	Kitosan a) polimerik çözelti ve b) katı	35
Şekil 3.2.	Hazırlanan kitosan ve PVA farklı çözeltileri.....	37
Şekil 3.3.	Hassas teraziyle yapılan tarıtım işlemleri.....	37
Şekil 3.4.	Hassas teraziyle hazırlanan PEO ve kitosan maddeler.....	38
Şekil 3.5.	A)Nanolifler elde etmek için tez çalışmasında kullanılan elektroçgirme cihazı	40
Şekil 3.5.	B) Nanolifler elde etmek için tez çalışmasında kullanılan elektroçgirme cihazı şematik olarak.....	41
Şekil 3.6.	Nanolif elde etmek ve çözeltinin analizleri için hazırlanan farklı numuneler.....	42
Şekil 4.1.	Yüksek konsantrasyonla (%5 w/w) jelleşen kitosan çözeltisi	46

Şekil 4.2.	Kitosan oranıyla değişen PVA/CS karışımın viskozitesi ve elektrik iletkenliği.....	51
Şekil 4.3.	Farklı karışım konsantrasyonu ile değişen PVA/CS karışımın viskozitesi ve elektrik iletkenliği.....	55
Şekil 4.4.	Kitosan ve PVA kimyasal yapısındaki hidrojen bağları.....	56
Şekil 4.5.	FTIR analizi PVA/CS:70/30-%5 ve PVA%5 numuneler.....	57
Şekil 4.6.	FTIR analizinde PVA%5 ve PVA/CS:70/30-%5 numunelerde temel grupları	58
Şekil 4.7.	XRD analizi PVA %5 ve PVA/CS :70/30-%5 nanolifler.....	60
Şekil 4.8.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede A) PVA/CS0-6 B) PVA/CS0-10.....	62
Şekil 4.9.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede A) PVA/CS0-6 B) PVA/CS0-10.....	62
Şekil 4.10.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede C) PVA/CS10-6 D) PVA/CS10-10	63
Şekil 4.11.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede C) PVA/CS10-6 D) PVA/CS10-10	63
Şekil 4.12.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede E) PVA/CS20-6 F) PVA/CS20-10	64
Şekil 4.13.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede E) PVA/CS20-6 F) PVA/CS20-10.....	64
Şekil 4.14.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede G) PVA/CS30-6 H) PVA/CS30-10	64
Şekil 4.15.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede G) PVA/CS30-6 H) PVA/CS30-10	65
Şekil 4.16.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede I) PVA/CS40-6 J) PVA/CS40-10.....	65
Şekil 4.17.	%3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede I) PVA/CS40-6 J) PVA/CS40-10.....	66

Şekil 4.18. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede K) PVA/CS50-6 L) PVA/CS50-10	66
Şekil 4.19. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede K) PVA/CS50-6 L) PVA/CS50-10.....	66
Şekil 4.20. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda nanolifin 5kX SEM analizi ile şekilleri A) PVA/CS0-6, B) PVA/CS0-10, C) PVA/CS10-6, D) PVA/CS10-10, E) PVA/CS20-6, F) PVA/CS20-10, G) PVA/CS30-6, H) PVA/CS30-10, I) PVA/CS40-6, J) PVA/CS40-10, K) PVA/CS50-6, L) PVA/CS50-10.	67
Şekil 4.21. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda nanolifin 20 kX SEM analizi ile şekilleri A) PVA/CS0-6, B) PVA/CS0-10, C) PVA/CS10-6, D) PVA/CS10-10, E) PVA/CS20-6, F) PVA/CS20-10, G) PVA/CS30-6, H) PVA/CS30-10, I) PVA/CS40-6, J) PVA/CS40-10, K) PVA/CS50-6, L) PVA/CS50-10.	68
Şekil 4.22. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 2 wt- 6 µL/dk, B)% 2 wt- 10 µL/dk	70
Şekil 4.23. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %2 wt - 6 µL/dk, B) %2 wt-10 µL/dk.....	70
Şekil 4.24. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 3 wt- 6 µL/dk, B)% 3 wt- 10 µL/dk	71
Şekil 4.25. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %3 wt - 6 µL/dk, B) %3 wt-10 µL/dk.....	71
Şekil 4.26. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 3.5 wt- 6 µL/dk, B)% 3.5 wt-10 µL/dk.....	71
Şekil 4.27. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %3.5 wt - 6 µL/dk, B) %3.5 wt-10 µL/dk	72
Şekil 4.28. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 4 wt- 6 µL/dk, B)% 4 wt- 10 µL/dk	72

Şekil 4.29. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %4 wt - 6 µL/dk, B) %4 wt-10 µL/dk.....	73
Şekil 4.30. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 5 wt- 6 µL/dk, B)% 5 wt-10 µL/dk.....	73
Şekil 4.31. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %5 wt - 6 µL/dk, B) %5 wt-10 µL/dk.....	73
Şekil 4.32. 5kX büyütmedePVA/CS:70/30 nanolifin SEM analizi ile şekilleri A)% 2 wt-6 µL/dk, B) %2 wt- 10 µL/dk, C) %3 wt- 6 µL/dk, D) %3 wt- 10 µL/dk, E) %3.5 wt- 6 µL/dk, F) %3.5wt - 10 µL/dk, G) %4 wt- 6 µL/dk, H) %4 wt- 10 µL/dk, I) %5 wt- 6 µL/dk, J) %5 wt-10 µL/dk.	74
Şekil 4.33. 20kX büyütmedePVA/CS:70/30 nanolifin SEM analizi ile şekilleri A)% 2 wt-6 µL/dk, B) %2 wt- 10 µL/dk, C) %3 wt- 6 µL/dk, D) %3 wt- 10 µL/dk, E) %3.5 wt- 6 µL/dk, F) %3.5wt - 10 µL/dk, G) %4 wt- 6 µL/dk, H) %4 wt- 10 µL/dk, I) %5 wt- 6 µL/dk, J) %5 wt-10 µL/dk.	75
Şekil 4.34. Nanolif çaplarının normal dağılımı a) Değişken karıştırma oranı deneyleri b) Değişken konsantrasyon deneyleri.....	76
Şekil 4.35. A) %2 PEO-D, B) %2 PEO-O.....	83
Şekil 4.36. %1.5 PEO-O üretiminde oluşan boşluklar	84
Şekil 4.37. PEO-D/CS: 70/30-%1.5 tuzlu numunesinden elde edilen üretim	85
Şekil 4.38. PEO-D/CS:70/30-%1.5tuzlu çözeltisinde karışmayan kitosan	86
Şekil 4.39. Üç konsantrasyon için PEO ve kitosandan alınan katı madde miktarı	88
Şekil 4.40. PEO ve kitosanın çözeltilerinin hazırlayışı	89
Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda kitosan oranı ve viskozite arasındaki ilişki.....	92
Şekil 4.42. Farklı konsantrasyonlarda kitosan oranı ve elektrik iletkenliği arasındaki ilişki.....	92

Şekil 4.43. PEO-%2 ve PEO/CS:30/70-%2 numunelerindeki temel dalga sayısı ile piklerin yoğunluğu arasındaki ilişki	94
Şekil 4.44. FTIR analizinde PEO-%2 ve PEO/CS:70/30-%2 numunelerde temel grupları.....	99
Şekil 4.45. PEO-%1 ve PEO/CS:30/70-%1 numuneleri için XRD analizi.....	95
Şekil 4.46. PEO-%2 ve PEO/CS:30/70-%2 numuneleri için XRD analizi.....	96
Şekil 4.47. PEO-%3 ve PEO/CS:30/70-%3 numuneleri için XRD analizi.....	96
Şekil 4.48. PEO/CS:30/70-(%1-%2-%3) numunelerin XRD analizine göre arasındaki ilişki.....	97
Şekil 4.49. 20 kX büyütmede elektroğrılmış (%1wt) konsantrasyonundaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	99
Şekil 4.50. 5 kX büyütmede elektroğrılmış (%1wt) konsantrasyonundaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	100
Şekil 4.51. 20kX büyütmede (%2wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	102
Şekil 4.52. 5kX büyütmede(%2wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	103
Şekil 4.53. 20kX büyütmede (%3wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	104
Şekil 4.54. 5kX büyütmede(%3wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.....	105
Şekil 4.55. Nanolif çaplarının normal dağılımı. a) Değişken konsantrasyon deneyleri. b) Değişken karıştırma oranı deneyleri.....	106

Şekil 4.56. Bakterinin besleyici maddesinin hazırlanan beherler	111
Şekil 4.57. Petri tabak (agar kutusu) boş halinde	111
Şekil 4.58. İnkübatöre yerleştirilen agar ve bakteriler	112
Şekil 4.59. BİNDER inkübatör cihazı	113
Şekil 4.60. PEO çözelti olarak a) <i>Klebsiella pneumoniae</i> b) <i>Staphylococcus aureus</i> için antibakteriyel aktivitesi	114
Şekil 4.61. PEO nanolif olarak a) <i>Klebsiella pneumoniae</i> b) <i>Staphylococcus aureus</i> için antibakteriyel aktivitesi	114
Şekil 4.62. PEO/CS nanolif a) <i>Klebsiella pneumoniae</i> b) <i>Staphylococcus aureus</i> için antibakteriyel aktivitesi	116

SEMBOLLER LİSTESİ

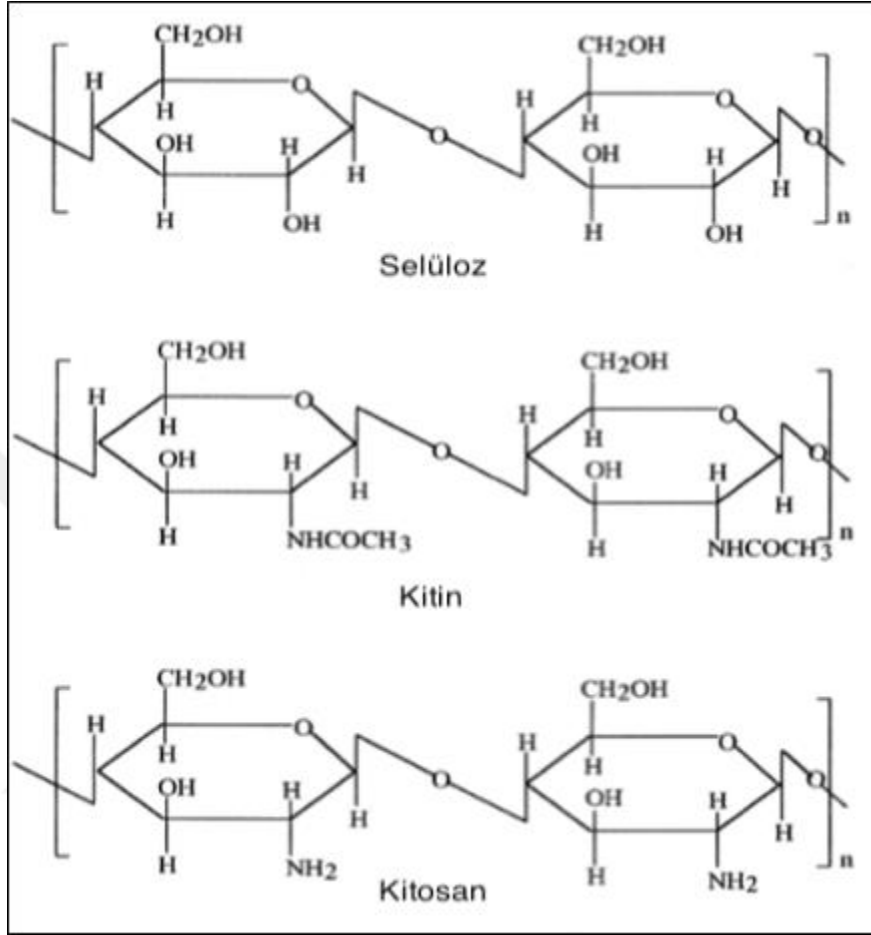
S/cm	: Elektrik iletkenliği birimi, Siemens/cm.
$\mu\text{L/dk}$	: Besleme debisi birimi, Mikrolitre bir dakika.
$\%(w/w)$, $\%(wt)$	: Gram(g) birimiyle ağırlığı hesaplanmış olan çözülecek madenin, 100 gramlık çözücüye oranıdır.
$\%(w/v)$	: Gram(g) birimiyle ağırlığı hesaplanmış olan çözülecek madenin, 100 ml'lik çözücüye oranıdır.
$\%(v/v)$	: (ml) birimiyle ağırlığı hesaplanmış olan çözülecek madenin, 100 ml'lik çözücüye oranıdır.
M	: Çözelti konsantrasyonu, Bir litrelik çözücünün içinde çözülecek mol sayısı.
N	: Çözelti konsantrasyonu, Bir litrelik çözücünün içinde çözülen miktarı (gram), (g/L).
CS	: Chitosan/Kitosan.
PVA	: Polivinil alkol.
PEO	: Polietilen oksit.
AA	: Asetikasit.
Elektroeğirme	: Elektroçekim. Elektrosinning.



1. GİRİŞ

İnsanın bir yandan çevresini koruma ihtiyacı ve diğer yandan sağlığının güvenliği için, onu her zaman çeşitli yaşam ihtiyaçlarında kullanacağı doğal kaynakları aramaya itmiştir. Bu nedenle araştırmacılar, insanın vücuduna, çevreye zararsız ve hayattaki farklı alanda kullanılabilen biyo-uyumlu maddeyi bulmaya çalışmışlardır. Doğal olmayan malzemelerin sürekli kullanımının ve hayatımızdaki kirlilik kaynaklarının artmasının sonucu ile insan sağlığının ve onu çevreleyen hava koşullarının kötüye geçmesi her zaman söylenebilir. Bu nedenle, günümüzde tıbbi, gıda ve diğer alanlarda insan vücuduyla uyumlu, biyobozunur, ayrıca çevreye zarar vermeyen maddelerin kullanılması gerekmektedir. Yukarıdakilerin bir sonucu olarak, kitin ve ondan çıkarılan kitosan biyopolimer gibi doğadan gelen maddelerin kullanımı giderek önem kazanmaktadır.

Kitosan ($C_6H_{11}NO_4$)'n çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen biyolojik bir polimerdir. Yengeç dış korteksi, mantar hücrelerinin duvarları, yeşil yosunda bulunan kitinden elde edilir. Kitosan deasetilasyon işlemi ile kitinden çıkarılır. Kitosan Doğrusal polisakarittir (linearpolysaccaride), kimyasal yapısında, glukozamin grupları ve N-asetilglukozamin fonksiyonel grupları, β -(1,4) bağları aracılığıyla birbirine bağlanmaktadır. Kimyasal olarak selüloza benzemekle birlikte kendi aralarında birtakım farklılıklar göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil grubu OH bulunurken, kitinde asetamid $NHCOCH_3$, kitosanda ise; amino grubu NH_2 bulunmaktadır (Sandeep ve ark., 2014; Olcay, 2015). Kitosan, kitin ve selüloz kimyasal yapıları (Şekil 1.1) gösterilmektedir.

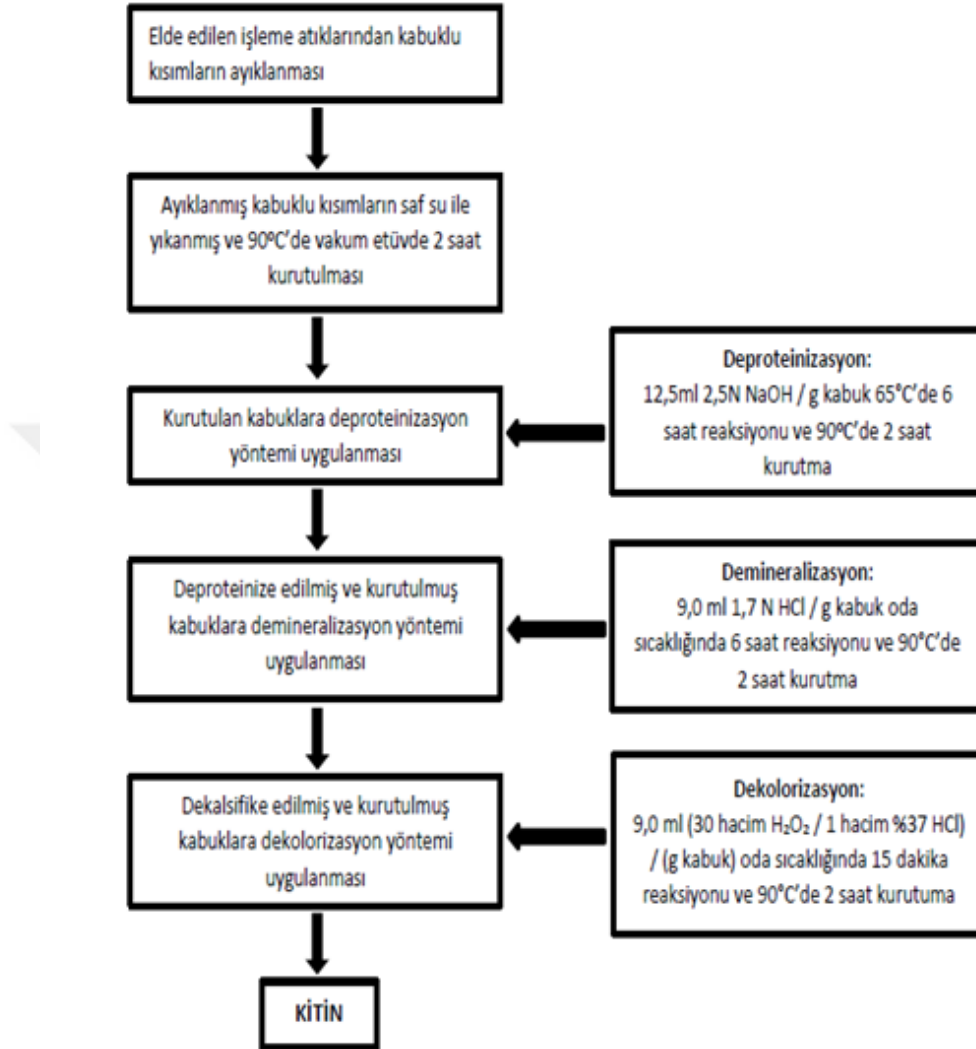


Şekil 1.1. Selüloz, Kitin ve kitosan kimyasal yapısı (Olçay, 2015).

Kitosan selülozdan sonra doğada en bol bulunan ikinci maddedir. Kimyasal modifikasyon potansiyeli sağlayan çeşitli reaktif aminoasitlere sahiptir. Kitosanda bulunan NH_2 grupları sayesinde, kitosan seyreltik organik ve inorganik asitlerde kolayca çözünebilir. Kitosan sahip olduğu $\text{pH}=6.4$ 'den daha düşük bir pH 'da pozitif olarak yüklenir ve bu yük amino gruplarının protonlarından kaynaklanır. NH_2 grupları NH_3^+ gruplara dönüşür ve bu gruplar OH ve COOH gruplarıyla gibi etkileşime girer. Kitosan polikasyonik karakterine sahip olduğu için iyonik maddelerle etkileşime girerek, polielektrolit komplekslerinin üretimine yol açar ve

bu kompleksler film, jel veya nanopartiküller oluşturma yeteneğine sahiptir (Ayodele ve ark., 2018).

Kitine uygulanan alkali işlemlerle kitosan ortaya çıkarılır. Bazı köprüler kırıldığında (N-asetil gibi), serbest amino grupları olan birimler D- glukozamin oluşarak kitosan açığa çıkar. Yengeç dış korteksi iyice ezilir, Seyreltik NaOH çözelti kullanıldığında, proteini çıkarma (deprotenizasyon) işlemi yürütülür, ondan sonra seyreltik asit kullanıldığında HCl, minerali çıkarma(demineralizasyon) işlemi uygulanır. Yüksek sıcaklıkta, 100°C, konsantre alkaloidler kullanıldığında %50 NaOH veya KOH deasetilasyon (deacetylation) işlemi tamamlanır ve sonuç olarak kitinden kitosan elde edilir (Antonino ve ark., 2017). Deasetilasyon derecesi (DD veya DA); deasetile edilmiş amino grupları NH₂ sayısının, asetil amino grupları NHCOCH₃ sayısına oranı şeklinde tanımlanmaktadır. Elde edilen kitosanın deasetilasyon derecesini, asetil gruplarının zincir boyunca dağılma şeklini, molekül ağırlığını ve çözeltideki viskozitesini belirler. Başka bir deyişle DD polimerin içindeki asetilglükosamin gruplarının oranıdır (Yıldırım ve ark., 2016). Kitosan, moleküler ağırlıklarına göre sınıflandırılır, 100 kDa'dan az olan kitosan düşük moleküler ağırlığa, 100 ila 200 kDa arasında orta moleküler ağırlığa ve 200kDa üzerinde yüksek moleküler ağırlığa sahip olarak kabul edilmektedir (Ratajska ve ark., 2003). Şekil 1.2, kitosan elde etmek için, kitin üzerinde yapılan kimyasal işlemler verilmiştir.



Şekil 1.2.a. Kitin elde etme adımları (Olcay, 2015).



Şekil 1.2.b. Kitinden kitosan elde etme adımları (Üçgül ve ark., 2016)

1.1. Kitinden Kitosanın Elde Etmede Farklı Yöntemler

Kitosan; yüksek su tutma ve şişme özellikleri için hidrojel formunda, nano ve mikroparçacık formunda ve ayrıca film, lif veya nanolif gibi farklı fiziksel formlarda elde edilebilmekte olup, çevre, medikal, tekstil ve doku mühendisliği gibi uygulamalarda kullanılabilir. Kitosan kaynakları ve elde etme yöntemleri üzerine literatürde farklı çalışmalar görülmektedir. Kitinden kitosan elde edilmek için iki farklı yöntem vardır. Bunlar; kimyasal yöntem ve enzimatik yöntemdir (Üçgül ve ark., 2016).

Kimyasal Yöntem ile: Ayodele ve ark.(2018), çalışmasıyla, mavi yengeç kabuklarından 0.1M asetik asitle elde ettikleri kitosan, sodyumtripolifosfat (TPP) asitte çözüldükten sonra kitosan nanopartiküller elde edilmiştir. Şekil 1.1'de TEM analiziyle kitosan nanopartiküller gösterilmiştir. FTIR analizine göre (COOH, OH, NH₂) grupları görülmüştür. SEM ve TEM analizine göre yüksek kristalin bünyeye ve yumuşak yüzeye sahip 200 nm'lik kitosan nanopartikülleri

tespit edilmiştir. TGA(Thermogravimetre) analizine göre 100°C de kütle azalması %3'dür, 300°C de ise %4'dür. Ancak, 640°C de %50'e kadar kütle azalması gösterilmiştir. Araştırmacılar, kitosan nanopartiküllerin su kirliliğini arıtmak için kullanılabileceğini göstermişlerdir (Ayodele ve ark., 2018).



Şekil 1.3. TEM analiziyle kitosan nanopartiküller (Ayodele ve ark., 2018)

Taş (2018), çalışmasında kitosan nano-mikro kürelerin elde edilmesini göstermiştir. Çalışmaya göre, karides kabuklarından elde edilen ve 2.15kD molekül ağırlığa sahip kitosandan, iyonik jelleşme yöntemiyle nano-mikro küreler elde edilmiştir. İyonik jelleşme yönteminde, sodyum tripolifosfatın (TPP) anyonik gruplarıyla kitosanda bulunan amino grupları arasında gerçekleşen iyonik çapraz bağlar kullanılır. Kitosan %1'lik asetik asit ile çözülmüş ve homojen olması için 12-18 saat arasında karıştırılmıştır. Kitosanın katyonik forma getirilmesi için pH seviyesinin düşük olması gerekmektedir. Bu nedenle ve Literatüre göre, pH 4.6-4.8 seviyesine, 10N'lik sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. Büret sistemi kullanarak ve laboratuvar şartlarında 2 mg/mL konsantrasyonlu (TPP) ve 20 mL/dk hızda damlalar halinde eklenmiştir. Kitosan miktarı ile TPP miktarı ağırlıkça 3:1 oranına geldiğinde reaksiyon sonlandırılmıştır. İşlem sırasında kitosan çözelti 750d/dk hızda, balık yardımı ile sürekli olarak karıştırılmıştır ve sonuç olarak bulanık bir nano-mikro çözeltisi elde edilmiştir. Reaksiyona dahil olmayan

fazla TPP ve sodyum hidroksit kalanlarını uzaklaştırmak için santrifüjleme işlemi (4°C, 14000d/dk, 30 dk) kadar kullanılmıştır. Çöken kısım alınmış ve homojen kitosan nano-mikro küreleri elde edilebilmiştir (Taş, 2018). Başka bir çalışmada, karides kabuklarından alınan kitinden mineral ve protein çıkarma işleminden sonra, 10 dakikaya kadar etanol ile ağartma işlemi yapılmıştır. Deasetilasyondan önce 12,5M NaOH çözeltiye daldırılmıştır, daha sonra 24 saate kadar dondurulmuştur. Böylece elde edilen kitosan, %1 asetik asitte daha fazla çözünebilmiştir (DD %90, kristalin bünye %40, molekül ağırlık $2.3 - 2.8 \times 10^5$ g/mol) (Dutta ve ark., 2004). Kitosan, tekstil yüzeylerine film olarak uygulanarak antibakteriyel kumaşlar elde edilebilir. Taş, Sabır ve Küçükgülmez (2017) çalışmalarında, derin su pembe karidesindeki (*Parapenaeus longirostris*) atık olarak ayrılan kabuklarından kimyasal yöntem kullanılarak kitosan biyopolimerini film halinde elde etmişlerdir. Çalışmasında karides kabuklarının atıklarına kimyasal işlemi yapılmış olup, üretim; deproteinizasyon, deminerilizasyon, dekolorizasyon ve deasetilasyon olmak üzere 4 aşamada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kitosanın nem içeriği etüvde 105 °C’de, ham kül içeriği ise yakma fırınında 530 °C’de sabit ağırlığa ulaşana kadar yakılarak tespit edilmiştir. %1’lik asetik asit çözeltisi içerisinde %1’lik kitosan solüsyonu hazırlanmıştır. Çözünmeyen materyallerin uzaklaştırılması için kitosan çözeltisi filtre kâğıdından geçirilmiştir. Üretilen kitosan biyopolimeri, 3 farklı konsantrasyonda, dokunmuş yünlü kumaşlara daldırma metodu ile uygulanmış ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Bu konsantrasyonlarda, *K.pneumoniae* ve *S.aureus* bakterilerine karşı %99’un üzerinde aktivite elde edilmiştir (Taş ve ark., 2017). Kimyasal yolla kitinden kitosanı elde etmek ekonomik bir yöntem olmasına rağmen, çevrede büyük bir kirliliğe yol açar. Ayrıca kullanılan alkalinin konsantrasyonuna, işlem süresine ve sıcaklığına göre kitosanın fiziksel ve kimyasal özellikleri etkilenir. Enzimatik yöntem, kitosanı elde etmek için bir başka yaklaşımdır.

Enzimatik Yöntem ile: Enzimatik yöntemler özellikle gıda üretimi ve kalite güvencesi için önemlidir. Bu nedenle Younes ve Rinaudo (2015), çalışmalarında,

mikroorganizma ile biyolojik ekstraksiyon yöntemi kullanmışlardır. Çalışmasında minimum miktarla çözücü kullanılmış ve daha az enerji harcanmıştır. Elde edilen kitosanın molekül ağırlığı kimyasal yöntemden daha yüksektir. Biyolojik ekstraksiyon için iki farklı fermantasyon enzimi, *Proteases* ve *Proteolytic*, kullanılmış olup ikisi de iyi sonuç vermiştir. Kitinden protein elde etme oranı %89'a ulaşmıştır. Bahsi geçen enzimler bitkilerden ve hayvandan (balık bağırsakları gibi) alınabilir, kitindeki proteini analiz eder, aminoasitlere dönüştürür, azot oluşur ve bu azot ile enzimler büyür. Bu adım mineralleri ortaya çıkarma işleminden önce yada sonra yürütülebilir. Daha saf bir kitosan elde etmek için NaOH kullanılabilir. Araştırmacılar bu yöntemi laboratuvar şartlarında uygulamış olup endüstriyel olarak kullanımını denememişlerdir (Younes ve Rinaudo, 2015).

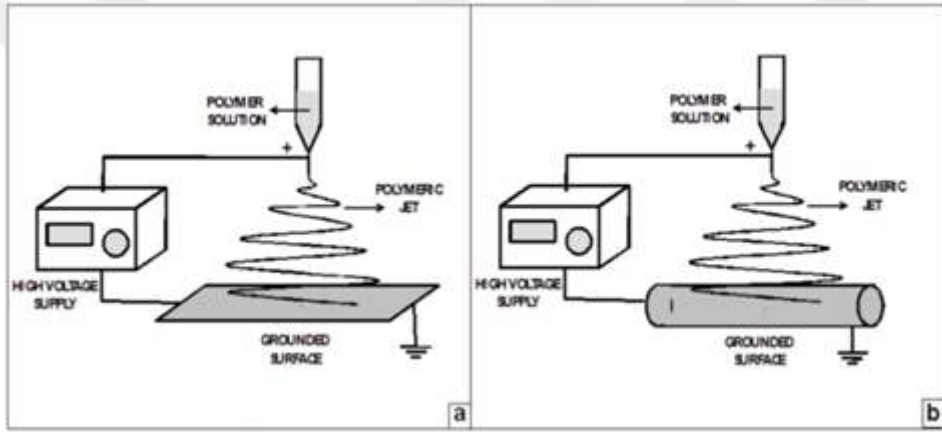
Kitosanın en yaygın kullanıldığı şekillerden biri de nanoliflerdir. Nanolifli yapılar biyomedikal uygulamalarda ve membran olarak kullanılabilir. Burada öncelikle nanolif üretim yöntemleri ve sonrasında kitosan nanolif üretimine yönelik çalışmalar verilmiştir.

1.2. Nanolif Elde Etme Yöntemleri

Son yıllarda nanolif esaslı materyallere olan ilgi, hacmine oranla geniş yüzey alanı, çok küçük gözenek boyutu, esnek yüzey fonksiyonelliği, üstün mekanik özellikleri ve yaygın uygulama alanları; filtrasyon, kompozit, tıbbi, tarım gibi üstün özelliklerinden dolayı oldukça artmıştır ve nanolifler önemli hale gelmiştir (Gengiz Çallıoğlu, 2013). Çok farklı nanolif üretim yöntemleri vardır (Zhou ve Gong, 2008). En önemlileri; Kendiliğinden Tutunma metodu (Self Assembly) (Viney, 2004), Faz Ayırımı metodu (phase Separation) (Lizhou ve Gong, 2008), Eriyik Üfleme metodu (Meltblown) (Ellison ve ark., 2007), Santrifügal-Merkezkaç-Eğirme metodu (CentrifugeSpinning) (Zhang ve Lu, 2014) ve Elektroçekim metodu (Electrospinning) (Dalton ve ark., 2007) şeklindedir.

Elektroçekim (electrospinning) yönteminde, hazırlanan polimer çözeltisi düze görevi yapan ve ucunda küçük bir delik bulunan bir pipetin veya şırınganın içine konur. Düzenin karşısına uygun mesafede bir toplayıcı levha yerleştirilir, levha ve açık uç arasına gerilim uygulanır (Şekil 1.4). Düze ağzında bulunan

polimer damlası, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden dolayı küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan gerilim yeterli seviyeye ulaştığında damlacık elektrikle yüklenecek, yüzey gerilimine karşı elektrostatik bir tepki kuvveti oluşturur. Bu etki-tepki kuvvetleri sonucunda damlacık esneyerek koni biçimini (Taylor konisi) alır. Bu noktada uygulanan gerilimin kritik değere ulaşmasıyla elektrostatik kuvvetler yüzey gerilim kuvvetlerini yener ve Taylor konisinin ucundan polimer jeti püskürmeye başlar (Küçük ve Evcin, 2013: Şafak ve ark., 2017).



Şekil 1.4. Farklı toplayıcı şekillerle elektroçekim metodu (Bai, 2012)

Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerin bükümlü olarak elde edilmesine yönelik çalışmalar mevcuttur ve bu konuda halen çalışılmaktadır. Nanoliflerin iplik halinde eğrilmesi, dokuma veya örme kumaşa dönüştürülmesi gelecekte mümkün olacaktır (Göktepe ve Mülâyim, 2015).

Nanolifin kalitesini etkileyen faktörler farklıdır ve iki türe ayrılır (Bai, 2012).

1. Elektrospinning cihaza bağlı faktörler: a- yürütülen voltaj, b- iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe, c- besleme debisi.
2. Polimerik kitosan çözeltisine bağlı faktörler: a- çözücünün türü, b- yardımcı polimer, c- konsantrasyon, d- molekül ağırlığı, e- lif çapı.

1.3. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, kitosan biopolimerinden iki farklı yardımcı madde ile (PVA ve PEO) nanolif üretilmesi hedeflenmektedir. Nanolif üretimi için Elektrospinning yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen çeşitli nanolif arasında en uygun karışım özellikleri ve elektrospinning cihazın şartları belirlenmiştir. Farklı nanolif için analizler yapılmış ve antibakteriyel aktive değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında iki aşama elde edilmiş olup aşağıda özetlenmiştir:

1-PVA/CS nanolif üretiminde farklı karışım konsantrasyonu ve farklı karışım oranı uygulanmıştır. Elektrospinning cihazında 2, 6, 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ olarak besleme debisi yürütülmüştür. Elde edilen tüm nanoliflerin çapı ölçülmüş olup, farklı karışım konsantrasyonunun, farklı karışım oranının, elektrospinning cihazında besleme debisinin nanolif çapına etkisi incelenmiştir. SEM, FT-IR, XRD analizleri ile PVA/CS nanolif analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en iyi PVA/CS nanolif üretmek için en uygun PVA/CS karışımı ve optimum elektroçekim özellikleri belli olmuştur.

2- PEO/ CS nanolif üretiminde, PVA/CS'da yapılan aynı adımlarla işlem yapılmıştır. Ancak, besleme debisi 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ sabit tutulmuştur. Farklı analizlere göre en iyi PEO/CS nanolif belirlenmiştir. Tüm elde edilen PEO/CS nanolif numunelerinin *Gram-pozitif* organizma olarak *Staphylococcus aureus* (s.aureus) ATCC25923 ve *Gram-negatif* organizma olarak *Klebsiella pneumoniae* (k. *Pneumoniae*) ATCC43816 mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitesi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak, araştırılmıştır.

Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş olup, ANOVA analizi kullanılmıştır.

Bu tez çalışması sonunda iki aşamadan elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır ve PEO ile kitosan ve PVA ile kitosan nanolif üretim durumu ortaya konmuştur.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kitosan Nanolif Üretim Yöntemleri

Nanoteknolojinin çeşitli yaşam alanlarında oynadığı büyük rol, ayrıca çevreye saygılı ve yeşil ekonominin gelişimi için doğal maddelerin kullanımına yönelik sürekli ihtiyaç nedeniyle, nanoteknoloji lifler üzerinde en iyi üretim ve etkili faktörler açısından çalışmalar yapılmıştır. Nanolif formunda kitosan üretimi, genel olarak elektroçekim yöntemiyle gerçekleştirilebilmektedir. Üretilen nanoliflerin özellikleri, çözeltinin konsantrasyonu, kullanılan çözücü, yardımcı madde, voltaj, iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Kitosanın, içindeki polimer zincirlerinin serbestçe hareket etmesini engelleyen güçlü hidrojen bağları oluşturma yeteneğinden, yanı sıra katyonik doğası nedeniyle kitosanın nanolif formunda elde edilmesi çok zordur(Szymanska ve Winnicka, 2015). Bu nedenle, farklı çalışmalarda kitosan çözeltisini tekbaşına elektrospinning cihazıyla eğrilmez ve farklı madde ile karıştırılmıştır. Martinova ve Lubasova tarafından gerçekleştirilen çalışmada, nano spider elektrospinning teknolojisiyle kitosan nanolif üretilmiştir. Nanospider’de iğne yerine delikli bir tüp kullanılır. Ayrıca çok yüksek bir voltaj yürütülür (65kV). Çalışmada farklı faktörler denenmiştir. Kitosanı çözmek için Asetik asit ve sitrik asit gibi iki farklı çözücü kullanılmıştır. Kullanılan asetik asit çözücüsünün konsantrasyonu üç adet olup %10, 30, 60 wt ve sitrikasidin konsantrasyonu %10 wt ise şeklindedir. Kitosan çözeltisinin konsantrasyonu; asetik asit kullanıldığında %10 wt şeklindedir, sitrikasit kullanıldığında ise %8wt olarak tespit edilmiştir. Nanolifin elde edilebilmesi için, kitosan düşük viskozitede (5-20 cP), ve düşük molekül ağırlığında seçilmiştir. Daha kolay bir şekilde nanolif üretmek ve kitosanın viskozitesini azaltmak için başka bir polimer olan polietilenoksit (PEO) iki farklı molekül ağırlığıyla 400-900 kDa ve kitosan ile farklı oranlarda (70/30 - 95/5) karıştırılmıştır. Tuz (NaCl) farklı oranlarda (0-2.4mol/L) çözeltiye eklenmiştir. Bu farklı faktörlerle kitosan üretilmiştir ve değerlendirilmiştir. Çıkan

sonuçlar şu şekildedir: NaCl için en iyi kullanım miktarı (0.66-0.24 mol/L) olarak bulunmuş olup, bu oranlarda kitosan ve PEO'daki bağlantılar fazla olmuştur, ayrıca çözeltinin elektrik iletkenliği de artmıştır, (6.2- 32.2 mS/cm) olduğu tespit edilmiştir. Kitosan ile PEO en iyi karışım oranı 95/5 olarak bulunmuştur. Bu oranla daha kararlı bir nanoağı elde edilmiştir. 15 dakika süresince 145°C'de ısıtıl işlem yapıldığında ve saf suyla yıkandığında; 900 kDa moleküler ağırlığa sahip PEO içeren nanoliflerin, 400kDa molekül ağırlığa sahip PEO içeren nanoliflerden daha kararlı olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle daha kararlı ve suya dayanıklı bir nanolif elde edilmiştir. Kullanılan çözücünün konsantrasyonu arttıkça polimerin yüzey gerilimi azalır ve elektroegirme olasılığı artar. Ayrıca sitrik asit kullanıldığında suya karşı daha dayanıklı nanolif elde edilir (Martinova ve Lubasova, 2008).

Lemma ve ark. (2016), kitosanın ve onunla karıştırılan polimerin ağırlığının nanolif üretimine etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Kitosandaki iki farklı molekül ağırlığı 102 kg/mol ve 500 kg/mol kullanılmıştır. Kullanılan PEO molekül ağırlığı ise; (300-1000-5000-8000 kg/mol) ve her molekül ağırlıktan, aynı konsantrasyonda % 5'lik bir PEO polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Kitosandaki farklı molekül ağırlıklarına bağlı olarak iki farklı kitosan çözeltisinin konsantrasyonu hazırlanmış ve 0.5M asetik asit çözücü olarak kullanılmıştır. 102 kg/mol'a sahip kitosandan %5w/v çözeltinin konsantrasyonu elde edilmiştir, 500 kg/mol'a sahip kitosandan ise; %1.4w/v çözeltinin konsantrasyonu elde edilmiştir. İki polimerin çözeltisi (Kitosan ve PEO) karıştırılmış ve son çözelti konsantrasyonu %20wt olarak bulunmuştur. Kitosan ile PEO karışım oranları farklıdır: (90/10 - 80/20 -70/30 -60/40 - 55/45). Elde edilen sonuçlara göre; PEO'daki küçük molekül ağırlık kullanıldığında ancak karışım oranı yüksek olduğunda (CS/PEO:70/30 ve 60/40 gibi), boncuksuz nanolifler elde edilebilmiştir. Yüksek molekül ağırlığı (1000-5000-8000) kullanıldığında ise; az karışım oranıyla(CS/PEO:90/10-80/20 gibi), yine boncuksuz nanolifler elde edilebilmiştir. PEO ile kitosan 102kg/mol karıştırıldığında iyi bir nanolif elde edilmiş, ancak kitosan 500kg/mol kullanıldığında tüm nanolif boncuklu olarak elde edilmiştir. En

iyi sonuçlar kitosan 102kg/mol, PEO 1000kg/mol ve karışım oranı CS/PEO:80/20'de elde edilmiştir. Çözeltinin konsantrasyonu 50mg/mL, uygulanan voltaj 20kv, besleme debisi 50µL/s, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm şeklindedir (Lemma ve ark., 2016).

Bizarria ve ark. (2014), çalışmalarında kitosana eklenen PEO ve NaCl etkisini değerlendirmişlerdir. Bu maddelerle kitosan nanolif üretmek için elektrospinning şartları daha kolay ve uygun bir hale gelmiştir. Çalışmada kullanılan kitosan orta molekül ağırlığına sahip ve viskozitesi 284cP'dir. Kitosani çözmek için %90v/v asetik asit kullanılmıştır. Beş farklı kitosan çözeltisi konsantrasyonu (%1, 2, 4, 6, 7wt) uygulanmıştır. (%1ve %2) konsantrasyonlu çözeltinin viskozitesi çok azdır.(%6 ve %7) konsantrasyonlu çözeltinin ise çok yüksektir. Araştırmacılar, çok az ve çok yüksek konsantrasyonlu çözeltilerine elektrospinning yöntemiyle eğrilemediğini ve bu sebeple bir yardımcı polimere ihtiyaç olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında PEO ile karıştırmak için %4 ve %6 şeklinde iki konsantrasyon seçilmiştir. PEO molekül ağırlığı 900kg/mol, ve PEO çözeltisinin konsantrasyonu % 3w/v. Seçilen numunelere eklenen NaCl %1 oranındadır. Cihazda uygulanan voltaj 20kV, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe (7-10cm), besleme debisi (0.5-1.5mL/saat'tir). Bu çalışma şartlarında elde edilen liflerin çapı (50-300) nm'dir. Sonuçlara göre PEO ve NaCl %4 konsantrasyonlu kitosan çözeltisine eklendiğinde, çözeltinin yüzey gerilimi 43.9'dan 42.7 mN/m'e kadar azaldı. Ayrıca elektrik iletkenliği 1.13'den5.21 mS/cm'e kadar artmıştır. Aynı şekilde % 6 konsantrasyonlu kitosan çözeltisi için, yüzey gerilimi 58'den 41.7 mN/m'e kadar azaldı ve elektrik iletkenliği 1.53'den 6.14 mS/cm'e kadar artmıştır. Böylece daha kolayca nanolif üretilenmiştir, başka bir deyişle PEO ve NaCl eklenmesi, kitosan polimer çözeltisinin konsantrasyonu değişse bile nanolif üretebilmek için olumlu etkiye neden olmaktadır. Termal stabiliteye gelince; elyafların termal stabilitesinde bir azalma görülmüştür. Kitosan numunesinin kütle kaybı 80°C'de, PEO numunesininki 360°C'de başlamıştır. PEO/kitosan karışımı için bu kayıp 60°C'de tespit edilmiştir (Bizarria ve ark., 2014).

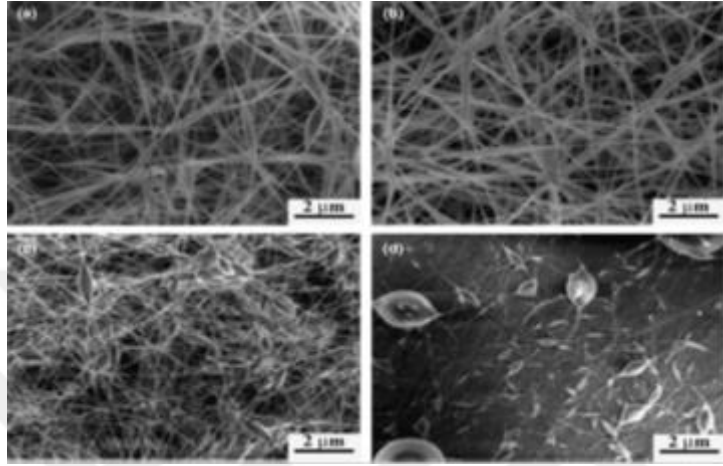
Kitosan çözeltisinin PEO yardımcı polimer olarak ile karıştırılmasını içeren başka bir çalışma vardır. Çözücü olarak kullanılan asetik asit konsantrasyonu değiştirilirken, 190 kDa molekül ağırlığı olan kitosan çözeltisinin konsantrasyonu %5w/v sabitlenmiştir. PEO, ise 900 kDa ve konsantrasyonu da %5w/v ve onun için 1M asetik asit çözücü olarak kullanılmıştır, PEO/CS karışım oranı (PEO/CS:100/0-90/10-80/20-70/30-60/40-50/50-40/60) şeklindedir. Bu çalışmada elektrospinning cihazındaki farklı şartlar denenmiştir. Çalışmada asetik asidin konsantrasyonu arttıkça, kitosan çözeltinin pozitif yükünün yoğunluğunun artması sonucunda çözeltinin yüzey gerilimi azalır. Bu nedenle nanolif elde etmek için, yüksek voltaj kullanmaya ihtiyac kalmamıştı ve en iyi sonuç %90 asetik asit konsantrasyonu ile tespit edilmiştir. PEO oranı arttıkça karışımın viskozitesi azalmış olup daha büyük nanolif çapı elde edilmiştir. Çalışmaya göre elektrospinning en iyi şartları voltaj 20kV, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm, besleme debisi 0.4mL/saat'tir (Singh ve ark., 2020).

Çeşitli çalışmalar, elektrospinning ile eğirme işleminin özelliklerini geliştirmek ve kitosan nanoyapılarına yeni özellikler eklemek için kitosana birçok doğal ve sentez malzemenin eklenebileceğini göstermiştir. Yeni özellikler eklemek için bazı polimerler kitosana eklenebilir. Genellikle en kullanılan madde, polyvinilakol PVA'dır. PVA, tıbbi alanlarda ünlüdür. Itoh ve ark. (2015), tarafından yapılan bir çalışmada, PVA nanolif, elektrospinning tekniği kullanarak üretilmiştir. Kullanılan PVA polimer çözeltisinin konsantrasyonu 15 wt%, nanolif üretmek için uygulanan voltaj 40kV, iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe 140 mm, çözeltinin elektrik iletkenliğini yükseltmek için iki farklı tuz kullanılmış, tetrabutylamonyum klorür (TBAC) ve Potasyum klorür (KCL). Çalışmaya göre, Çözeltinin elektrik iletkenliğindeki artış, viskozitesinde bir artışa yol açtı, bu da, bu tuzları ilave etmeden elde edilebilen dairesel liflerden daha yüksek gerilme mukavemetine sahip düz şeritler şeklinde liflerin elde edilmesine yol açmıştır (Itoh ve ark., 2015).

PVA nanolif kolayca üretilbildiği sürece, araştırmacılar bu maddenin kitosan ile karıştırılmasına odaklanmışlardır. Koosha ve Mirzadeh (2015), tarafından yapılan bir çalışmada, PVA ile kitosan polimerik karışım hazırlanmıştır. Kullanılan kitosanın DD' derecesi %88, bu kitosan %70 asetik asit ile oda sıcaklığında ve 24 saat kadar karıştırılarak çözülmüştür ve %7'lik kitosan çözeltisinin konsantrasyonu elde edilmiştir. PVA çözeltisi için kullanılan PVA molekül ağırlığı (89-98 kDa)ve hidroliz derecesi %99, PVA sula 80°C ve 3 saat kadar karıştırılarak çözülmüştür ve %7' lik PVA çözeltinin konsantrasyonu elde edilmiştir. İki madde farklı karışım oranıyla karıştırılmıştır. PVA/kitosan: (100/0-70/30-50/50-30/70-0/100). Elektroegirme cihazında uygulanan voltaj 20kV, besleme debisi 0.5 mL/saat, iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe 100 mm. Çalışmaya göre en iyi karışım oranı PVA/CS: 70/30 , SEM analizi ile bu oranla elde edilen nanolif boncuksuzdur, Daha yüksek oranla kitosan içeren karışımlardan boncuklu lif elde edilmiştir. XRD analiziyle, karışımda PVA artmasıyla nanolifte kristalin bölgeler daha görülmüştür, böylece daha iyi mekanik özelliklere sahip CS/PVA nanolif üretilmiştir. Numunenin 190°C erime sıcaklığı olan, PVA'nın erime sıcaklığı ile ilişkiliydi, ancak kitosan ve PVA arasında oluşan birçok hidrojen bağı nedeniyle cam geçiş sıcaklığı 60°C'den 120°C'ye yükselmiştir (Koosha ve Mirzadeh, 2015).

Başka bir çalışmada, polimerik karışımın konsantrasyonu ve iki maddenin karıştırma oranları değiştirilmiştir. Liflerin üzerine bu iki faktörün etkilerine odaklanmıştır. Kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 1600 kDa ve DD derecesi 82.5 dir, PVA molekül ağırlığı ise (124-186 kDa) ve hidroliz derecesi (%87-89)'dir. Karışım konsantrasyonu 3'tür (%3 -%4 -%6 w/w) ve karışım oranı (PVA/CS: 89/11-83/17-75/25-50/50) şeklindedir. Boncuksuz nanolifler %6'lik konsantrasyon ile ve (PVA/CS: 89/11- 83/17) karışım oranıyla elde edilmiştir, nanolif çapı 100 nm civarındadır. Konsantrasyon %4'a kadar azaldıkça ancak kitosan oranı arttıkça PVA/CS: 75/25, daha ince 20 nm, ancak daha boncuklu lifler elde edilmiştir, aynı şekilde %3 konsantrasyonu ve PVA/CS:50/50 karışım oranıyla, yaklaşık nanolif

elde edilmemiş ve yan yana bulunan boncuklar SEM analiziyle (Şekil 2.1) görülmüştür.



Şekil 2.1. a) Karışım konsantrasyonu %6 wt ve karışım oran PVA/CS:11/89 – b) %6wt ve oran PVA/CS: 17/83 – c) %4 wt ve oran PVA/CS:25/75- d) %3wt ve oran PVA/CS:50/50. (Li ve Lo, 2006)

Bu çalışma selefine PVA gibi yardımcı bir madde olmadan kitosan nanolifler elde edilmenin zor olduğunu teyit etmiş, numunenin erime sıcaklığının kitosan yüzdesindeki artışla azaldığı görülmüştür. Böylece daha kararlı kitosan nanolif elde etmek için, kitosana eklenen PVA yardımcı madde olarak gerektir (Li ve Lo, 2006).

Başka çalışmada, karışım oranı sabit tutulmuş, ancak çözeltinin konsantrasyonu değiştirilmiştir. Kullanılan kitosan DD derecesi %75 ve PVA molekül ağırlığı (85-124) kDa, hidroliz derecesi %96. İki madde %2 asetik asit ile çözülmüştür ve karışım oranı PVA/CS: 80/20 şeklindedir. Karışımın çözelti konsantrasyonu (%3 -%4 -%5w/w) olarak seçilmiştir, elektroegirme cihazın şartları (21-23) kV, mesafe 10 cm şeklindedir. Çalışmaya göre, çözeltinin konsantrasyonu arttıkça viskozitesi artar, daha uygun ve boncuksuz nanolifler elde edilebilir. En iyi karışım konsantrasyonu %5 dir (Paipitaka ve ark., 2011). PVA hakkında Bahsi

geçen çalışmalarda, tüm elde edilen PVA/kitosan nanolifler yara bandajı olarak kullanılmıştır. Başka çalışmalarda kitosan ve PVA karışımı nanolif su arıtımı alanında kullanıldığından bahsedilmiştir.

Habiba ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada, CS /PVA ve ona eklenen zeolit karışımından nanoağı yapılmıştır. Zeolit maddesi, ağır metal iyonlarını emme alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 89.6kDa ve DD derecesi %40, kitosanın molekül ağırlığını azaltmak için, 24 saat kadar, 90°C , %50 NaOH çözeltisiyle muamele edilmiştir. Kitosan çözeltisinin konsantrasyonu 7wt% ve 50:50 karışım oranıyla PVA ile karıştırılmış, sonra %1 zeolit karışıma eklenmiştir. Elektrospinning şartları 10kV, besleme debisi 0.2 ml/saat, mesafe 10 cm . Elde edilen liflerin çapı 59 nm, Farklı kimyasal ortamlarda nanoliflerin stabilitesini sağlamak için 24 saat boyunca glutaraldehit buharı kullanılmış ve daha sonra 10 saat boyunca 40°C’de kurutulmuştur. Böylece nanolifin farklı ortamda 20 gün boyunca ağırlık azalması görülmemiştir. Bu çalışmada, suyu (Cr^{+6} , Fe^{+3} , Ni^{+2}) mineral iyonlarından arıtmak için yapılmıştır. Nanoağı tarafından en yüksek emme oranı Cr (VI) iyonlarda, ondan sonra Fe(III), en son Ni (II) gerçekleşmiştir. Bunun nedeni, düşük şarj yoğunluğuna sahip iyonların nanoağına daha az çekilme gücünü göstermiştir. Bununla birlikte suda, mineralin konsantrasyonu artmasıyla CS/PVA nanoağının, Aktif grupların doygunluğu nedeniyle emme gücü azalmıştır (Habiba ve ark., 2017).

Başka bir çalışmada, kitosan ve PVA karışımına hiçbir madde eklenmeden, Pb(II) ve Cd(II) gibi mineral iyonlara nanolifin emme gücü incelenmiştir. Çalışmada düşük molekül ağırlığına sahip kitosan kullanılmıştır. PVA’nın molekül ağırlığı (89-98 kDa) , karışım oranı PVA/CS: 70/30, elektrospinning cihaz şartları 28 kV, mesafe 15cm, besleme debisi 0.5 mL/saat. Elde edilen nanolif çapı (50-200 nm) arasındadır, çalışmaya göre pH derecesi arttıkça nanolif emme gücü artmıştır, Cd(II) iyonları için nanolifin en yüksek emme oranı (pH=8)’de, Pb(II) ise (pH=5)’te tesbit edilmiştir. Aktif grupların doygunluğu ve emme ve adsorbsiyon

süreçleri arasındaki dengenin bir sonucu olarak emilim süreci ilk iki saatte artmıştır, ondan sonra nanolif tarafından emilen iyonlar azalmıştır (Karim ve ark., 2019).

Yardımcı bir maddenin varlığı (PVA gibi) sadece kitosanın özelliklerini iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda kitosanın deasetilasyon derecesi, liflerin özelliklerini iyileştirmede de önemli bir rol oynar. Mei ve ark. (2019), tarafından yapılan çalışmada, iki farklı deasetilasyon derecesine sahip kitosan kullanılmıştır. (kitosan1=k1) (DD%98), (kitosan2=k2) (DD%91), kitosan çözeltisinin konsantrasyonu %3 w/w, PVA'ın ise %8w/w, karışım oranı 50:50 ve oda sıcaklığında 6 saat kadar iki çözelti karıştırılmıştır. Elektrospinning cihaz şartları 20 kV, mesafe 15 cm, besleme debisi (0.3-0.5 mL/saat). Bu nanolif suda bulunan boya maddesini (congo red CR) emmeye çalışılmıştır. Çalışmaya göre PVA/k1 karışımından daha ince nanolif elde edilmiştir. PVA/K1 karışımından nanolif çapı 110 nm, PVA/k2 ise (120nm)dir. PVA/k1 karışımında hidrojen bağlarının yüksek olduğundan dolayı PVA/k2 'in nanolif ile kıyasla, PVA/k1'in nanolifin sıcaklık kararlılığı daha yüksektir. PVA/k1 karışımında çok fazla amino gruplarının bulunduğu için, PVA/k1 'in nanolifin boyar maddesini (congo red CR) emme gücü PVA/k2 'in nanolif kıyasla daha yüksektir (Mei ve ark., 2019).

Desetilasyon derecesi başka alanlarda da çalışılmıştır. Stie ve ark. (2020), tarafından yapılan çalışmada, mukus zarlarındaki kitosan nanolif yapışma özellikleri üzerindeki kitosanın deasetilasyon derecesinin etkisi izlenmiştir. Kullanılan kitosan, %2w/w konsantrasyonunda (100-250 kDa) arasında moleküler ağırlığa sahipken, kullanılan yardımcı malzeme PEO ise, moleküler ağırlığı 900 kDa ve çözelti konsantrasyonu %4 w/w, asetik asit iki madde için çözücü olarak %0.7w/w konsantrasyonu kullanılmıştır. Elektrospinning cihaz şartları 20kV, mesafe 15cm, besleme debisi 1mL/saat. Kitosanın deasetilasyon derecesi DD=%53'ten %96'ya kadar değiştirilmiş ve çalışmaya göre deasetilasyon derecesi ile lif yapışma derecesi arasında bir ilişki olmadığı bulunmuştur. Kitosan yüksek emme özelliğinden dolayı, mukus zarlara iyi yapışmasını oluşturur. Deasetilasyon

derecelerini değiştirmenin tek etkisi nanolifler üzerindeki fiziksel değişikliklerle ilgiliydi. Deasetilasyon derecesinin artmasıyla kitosan nanoliflerin fiziksel özelliklerinde bir gelişme ve çaplarında bir artış göstermiştir (Stie ve ark., 2020).

Pangon ve ark. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada, üç farklı monokarboksilik asidin çözücü olarak, PVA/CS karışımına etkileri incelenmiştir. Kullanılan asitler, süksinik asit (SA), sitrik asit (CA), 1,2,3,4 bütanetetra karboksik asit (BA). Bu asitler çevre dostu asitlerdir, biyobozunur ve kitosan ile iyon bağlarının yapılmasını sağlar. Böylece yüksek kararlılığa sahip nanoağlar elde edilebilir. Kullanılan her asidin konsantrasyonu 0.2M. Kitosanın DD derecesi %82, PVA'nın molekül ağırlığı 205kD ve hidroliz derecesi (87-89%). Her asidin türünde kitosan çözümü, ilk önce 60°C'de kitosan çözümüyle 6 saat kadar karıştırılmıştır, sonra üç gün boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır ve %3'lük kitosan çözeltisi elde edilmiştir. PVA suyla çözümü ve 90°C'de 6 saat kadar karıştırılmıştır. Sonra oda sıcaklığında 12 saat bu işlem devam edilmiştir. Kitosan ve PVA çözeltileri beraber karıştırılmış ve farklı çözücü için farklı konsantrasyon (%10, %20, %30, %40 w/w) yapılmıştır. Süksinik asitte çözünen PVA/CS karışımının konsantrasyonu %10 w/w olduğunda (SA1) kodlanmıştır, %20w/w için (SA2), %30w/w için (SA3), %40w/w için (SA4). Başka çözücü için aynı şekilde sıralanmıştır. PVA/CS nanolif elektrospinning ile üretilmiş ve cihazın şartları 18kV, mesafe 15 cm, besleme debisi 0.05 mL/saat. Çalışmaya göre PVA/kitosandaki polimerik karışımın en yüksek viskozitesi SA çözücü ile tespit edilmiştir. Ondan sonra CA ile ve en son BA çözümüyle. SA çözümüde kitosanın zincirleri birbirine daha fazla bağlanmış bu nedenle ondan elde edilen çözeltinin viskozitesi ve onun elektrik iletkenliği yüksektir. BA çözümü ise kitosandaki NH_3^+ ile BA'daki COO^- gruplara iyice bağlanmış, bu nedenle çözeltinin viskozitesi ve elektrik iletkenliği azdır. Polimerik karışımın konsantrasyonunda %10'dan %40'a bir artışla, kitosandaki amin grupları ile asitlerdeki karboksilik asit grupları bağların artması nedeniyle karışımın viskozitesi azalmıştır. Bununla birlikte nanolif çapı (250 - 120) nm'ye düşmesi ile azalmıştır. Kitosandaki NH_3^+ ile BA'daki

COO⁻ gruplarının bağları nedeniyle, elde edilen nanolifin gerilme direnci, kopma uzaması ve suya karşı kararlılığı başka çözücülere kıyasla daha yüksek olduğunu tespit edilmiştir (Pangon ve ark., 2016).

Kitosana eklenen başka bir madde de polyetileneterfالات (PET)'ın kristal yapısı yüksektir. Bu nedenle elde edilen kitosan nanoliflerin mekanik özelliklerini yükseltir. Bu şekilde elde edilen kitosan nanolif yapı, plastik ve tekstil ürünlerinde bulunur. Bir başka polimer, Polykarbolakton (PCL) da kullanılır. PCL, yarı kristalli, yüksek esnekliğe sahip bir maddedir ve bu nedenle ortopedik dokularda kullanılır. Daha kararlı bir nanolif elde etmek için polyamid-6, kitosana eklenebilir ve hidrojen bağlantılarıyla kitosana iyice tutunur. Bununla birlikte protein gibi doğal maddeler de kitosana karıştırılabilir. Tıbbi uygulamalar için kollajen ile kitosan karıştırılır, silk fibroin (ipek proteini) de kullanılır. Bu karışımdan çıkan nanolifler daha ince ve mekanik özellikleri yüksektir ve ısı alışverişi çok iyidir. Kitosanın türevleri farklı alanda da kullanılmıştır. Bu türevlerinden en kullanılanları, O-karboksimetil kitosan ile PVA karıştırıldığında bakterilere dirençli bir nanolif elde edilmiş ve bu polimer suda çözünebilmiştir. Suda çözünebilir başka bir polimer, Rn-karboksimetil kitosandır bu polimer PVA ile karıştırıldığında suya karşı bir nanolif elde edilir. Heksanolkitosan da kitosan ile karıştırılır, kan pıhtılaşmasına karşı kullanılabilen bir maddedir ve kloroform ile çözülür (Hui Li ve Sun, 2011).

Sohofi ve ark. (2014), yaptığı çalışmada, kitosan türevlerinden nanolif üretilmiştir. Çalışmalarında, %100 karboksimetil kitosan (CMC) ve hiç yardımcı bir madde kullanmadan (PEO, PVA gibi) ancak uygun bir çözücünün kullanılmasıyla nanolif üretimini sağlayabilmişlerdir. Kitosana alkali işlem yapıldığında ve sonra karboksimetil ile etkileşime girdiğinde CMC elde edilmiştir. Elde edilen nanolif yüksek emme kapasitesine ve kitosandan daha iyi biyolojik özelliklere sahiptir. Çalışmada trifloroasetikasit (TFA) ve diklorometan (DCM) şeklinde iki çözücü kullanılmıştır ve TFA/DCM (90:10, 80:20, 70:30) şeklinde üç farklı karışım oranı yapılmıştır. CMC polimer çözeltisinin konsantrasyonu ise

(% 5 – 6 w/v)'dir. Sonuçlara göre; DCM oranı 10'dan 30'a kadar arttırıldığında, boncuklanma azalmış ve daha düzgün bir nanolif elde edilmiştir. Elde edilen nanolif çapı 260 nm ve üretim şartları: voltaj (14-16kV), mesafe (18-20 cm), besleme debisi 0.25 mL/saat şeklindedir (Sohofi ve ark., 2014).

Başka çalışmalarda üstün özelliklere sahip kitosan nanolif elde etmek için hidroksilapatit gibi farklı nanopartiküller life eklenebilir. Bu partiküller ile yüksek çekme dayanımlı bir nanolif elde edilebilir. Ayrıca gümüş partiküller de eklenmiştir ve bunlar düzenli bir şekilde lifin üstüne dağılabilmektedir. Karbon nanotüp de eklenmiştir ve bu ekleme ile kitosan nanoliflere elektrokimyasal özellikleri vermiştir (Lemma ve ark., 2016).

Böylece nanoyapılar, eğirme işlemine yardımcı olacak şekilde sınırlandırılmayan ve daha geniş uygulamalara izin veren benzersiz nanolif kalitesi sağlayan birçok katkı maddesi ile oluşturulabilir. Kitosanın viskozitesini azaltmak ve elektrospinning teknolojiye uygun bir hale getirmek için, yardımcı polimer (PEO, PVA vb gibi) kullanımına sürekli ihtiyaç duyulduğundan dolayı yardımcı polimerin kullanılmadığı farklı yöntem uygulamalarına yönelik çalışmalar da vardır.

Homayoni ve ark. (2009), kitosana uzun bir süre 48 saat, %50 NaOH ile alkali işlem uygulamışlar ve kitosanın elektroegirme olasılığını arttırmışlardır. Alkali işlem uygulandığında hidroliz kitosan zinciri oluşur. Başka bir deyişle molekül zincirlerin uzunluğu kısalmış ve kitosanın molekül ağırlığı azalmıştır. Çalışmada kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 109 kDa, alkali işlem yapmak için karışım oranı CS/NaOH:1/25 w/v seçilmiştir. Alkali işlem boyunca 95°C'de, farklı zamanlarda, numuneler alınmıştır. 48 saatten sonra kitosanın molekül ağırlığı azalmıştır ve 29.4 kDa'a ulaşmıştır. Bu çalışmada çevre dostu bir nanolif üretmek için konsantrasyonu daha az bir çözücü kullanılması hedeflenmiştir ve bu nedenle farklı çözücü konsantrasyonu test edilmiştir. Kullanılan çözücü %90w/w glacialasetikasit (ACOH) ve kitosanın çözeltisinin konsantrasyonu %5 w/w, çıkan nanolif çapı 140 nm, %80 ACOH ve kitosanın çözeltisinin konsantrasyonu %7

w/w olurken, çıkan nanolif çapı 250 nm, % 70 ACOH ve kitosanın çözeltisinin konsantrasyonu %7.5 w/w ise, çıkan nanolif çapı 284 nm'dir. Ancak, % 60 ACOH olduğu zaman düzgünsüz ve tatminkar olmayan lifler elde edilmiştir. Nanolif üretim şartları; voltaj 17kV, mesafe 16 cm, besleme debisi 0.08 mg/saat'tir (Homayoni ve ark., 2009).

2.2. Kitosan Nanolif Endüstriyel Kullanımı

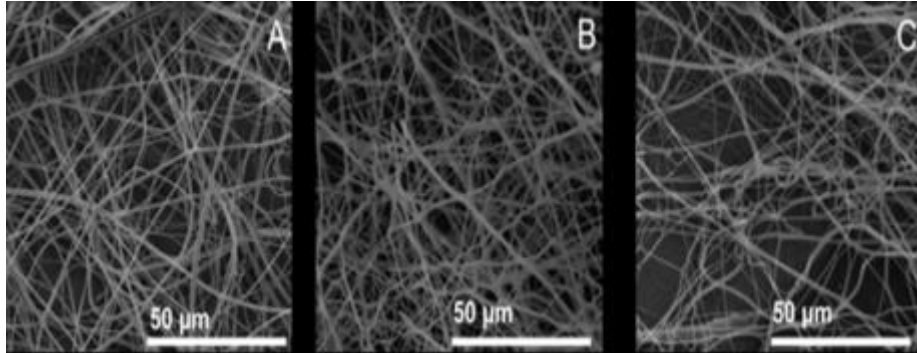
Kitosan ve türevleri, birçok uygulamada fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle; biyomedikal, dişçilik, gıda endüstrisi, atık su arıtımı, tarımsal, kimyasal, farmasötik, çevresel gibi alanlarda kullanılmaktadır. Kitosan, toksisiteyi azaltır, antimikrobiyal da aktivitesi bulunur. Kitosan sahip olduğu reaktif fonksiyonel grupları sayesinde kimyasal modifikasyonlara tabi tutulur.

Geleneksel gıda ambalajları parçalanamadıkları için ciddi çevresel sorunlara yol açtığından, yanlış yerleştirilmiş plastik malzeme önemli bir çevre kirliliği kaynağıdır (Sandeep ve ark., 2014). Kitosan, antimikrobiyal aktivite özelliği ile yiyeceklerin raf ömrünü arttırmak için bu plastik malzeme yerine kullanılabilir.

Son yıllarda kitosan ve türevlerine odaklanmış teorik ve uygulamalı çalışmalar bulunmaktadır. Kitosanın farklı alanlarda çeşitli biçimleri bulunabilir. Yüksek canlılara karşı toksik etki göstermemesi, mikroorganizmaları inhibe etmesi, biyolojik olarak parçalanabilmesi, biyo-uyumlu olması, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından diğer birçok biyopolimere göre üstün özellikler göstermesi nedeniyle, birçok alanda kullanım olanağı bulunmaktadır (Ali ve Ahmed, 2017) (Ahmed ve ikramı, 2015).

Tıbbi alanda kitosan nanolif uygulamalarının üzerine çok fazla çalışma bulunmuştur. Mendes ve ark. (2016), tarafından ilaç salınımı için kitosan nanolif kullanma imkanı tartışılmıştır. Çalışmada, kitosan ile fosfolipider karıştırılmış ve cilde bağlı nanoliflerle ilaç salınımı sağlanmıştır. B12 vitamini, diklofenak (steroidal olmayan anti inflamatuvar bir ilaç) ve krukumin (antioksidan,

antiinflamatuvar ve tümör inhibitörü bir ilaç) olmak üzere üç farklı ilaç maddesi nanoliflerle kapsüllenmiştir. Kitosan nanolif tek halde kullanıldığında, başka bir maddeyle karışmadan sulu çözeltilerde kararlı halde değildir. Fosfolipider de sulu çözeltide aynı reaksiyonu verir ve bu nedenle ilaç iletimini zorlaştırır. Ancak, kitosan ve fosfolipiderle bir karışım yapıldığında, farklı çözeltide kararlı bir nanolif elde edilmiştir. İki madde arasındaki etkileşimin sonucu ve ortak bağlantıların oluşumu nedeniyle yeni özelliklere sahip kitosan/fosfolipider nanolif elde edilebilmiştir. Nanoliflerin sulu çözeltide kararlılığını test etmek için, fosfat tampon tozlu çözeltisine daldırılmıştır. Yedi gün boyunca istikrarlı bir durumda kalmıştır. Kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 211 kDa, çözücü TFA/DCM: 70/30 ve karışım konsantrasyonu %0,1 w/w şeklindedir. Kitosan çözeltisi fosfolipider çözeltisiyle CS/f1:1/1 ve CS/f3:1/3 şeklinde farklı oranlarda karıştırılmıştır. Fosfolipider oranı arttıkça nanolifin çapı artmıştır. CS/f1 nanolif çapı 248 nm, CS/f3'ün ise; 600 nm. Bu ilaçlar rastgele bir şekilde lifler içine dağılmış olup, bu dağılım nanolif çapını büyütmüştür. Şekil 2.2, bu ilaçları içeren CS/f3 nanoliflerini göstermektedir.



Şekil 2.2. A) B12 içeren CS/f3 nanolif B)Krukumin C) Diklofenak (Mendes ve ark., 2016)

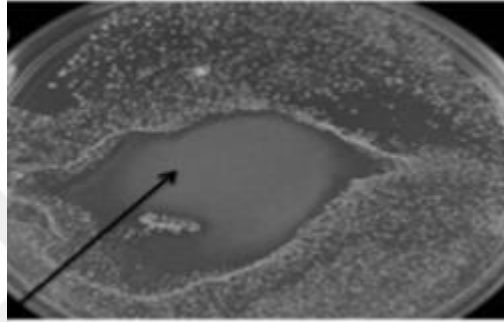
Bu çalışmada kullanılan elektrospinning cihazı şartları: voltaj 25 kV, besleme debisi 0.02 mL/dk, mesafe 10 cm'dir. Çalışmanın sonuçlara göre; B12 ilk

günde %82.5 oranda ve ikinci günde %100 nanoliften uzaklaşmıştır. Diklofenak ise; 4 saatten sonra nanoliften salınmaya başlamış olup, dördüncü gün sonunda salınım %80 oranına ulaşmıştır. Krukumin hidrofobik yapısı nedeniyle nanoliften çok yavaş ayrılmış ve yedinci günde %75 oranla liften ayrılmıştır (Mendes ve ark., 2016).

Farklı şartlarda uzun süre değişmeden kalabilen, bakteri çoğalmasına karşı dirençli yara bandajı kullanımına ihtiyacının artması nedeniyle; yaradan sonra yeni insan hücrelerinin büyümesine ve bakterilerin olumsuz etkisinden uzaklaştırılmasına izin veren kitosan nanolifin üretimi için birçok çalışma bulunmaktadır. Kitosan, *e-coli* (gram negatif bakterilere) direnç gösterme kabiliyetine sahiptir. Çünkü pozitif yükünün bir sonucu olarak, bakteri hücresinin duvarlarına girip zarar verebilir ve böylece bakterilerin ölümüne neden olabilmektedir. Kitosan sadece gram negatif bakterilere karşı dirençle sınırlı değildir. Aynı zamanda *Staphylococcus aureus* gibi gram pozitif bakterilere karşı da etkilidir.

Cremer ve ark. (2018), yara pansumanı ve bakterilere karşı etkili kitosan nanolif üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada orta molekül ağırlığında kitosan kullanılmış olup, çözücü olarak TFA/DCM kullanılmıştır. Daha düzgün bir nanolif üretmek için, polimerin konsantrasyonu %8w/w olarak seçilmiştir. Nanolifin bakteri yok etme etkinliğini artırmak için kitosan polimerine %0.2w/w gümüş nanopartikülleri ve %0.8w/w tarçın yağından elde edilen sinnamaldehit (SA) de eklenmiştir. Bu iki madde; gümüş nanopartikülleri ve sinnamaldehit gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir. Bu iki madde belirtilen oranlarda kitosan ile karıştırılmıştır. Nano membrandaki bağlantıları artırmak için %10w/w tannikasit kullanılmıştır. Uzun ömürlü ve farklı pH derecede dayanıklı bir membran elde etmek için, KOH çözeltisine bir saat daldırılarak bekletilmiştir. Santrifüj elektrosponning ile (800-1500nm) çapında nanolif üretilmiştir. Sonuçlara göre nanomembranla kaplanan yara bölgesine hiçbir bakteri girememiş ve bununla birlikte yaranın(5-10mm) kadar dış çevresinde de etkili olmuştur (inhibisyon

zonu). Şekil 2.3, inhibisyon zonu görülebilir. Ayrıca yara iyileşirken yeni büyüyen hücreler düzgün ve normal oval şeklini almış olup, hücrelerde parçalanma ya da düzensiz bir hal görülmemiştir. Bu nedenle kitosan/gümüş/sinnamealdehit membranı, yara iyileşirken yarayı bakterilerden korumak ve yeni hücre çoğalmasına katkıda bulunmak amacıyla kullanılabilmiştir (Cremar ve ark., 2018).



Şekil 2.3. Sinnamealdehit /kitosan/gümüş nanomembranla kaplanan yara bölgesinin inhibisyon zonu (Cremar ve ark., 2018)

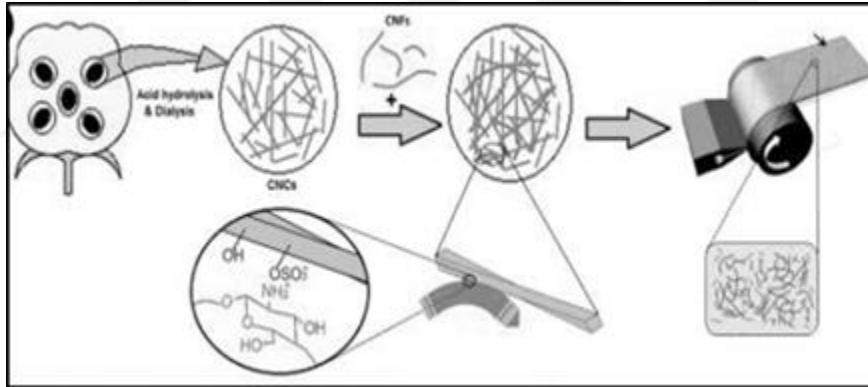
Farklı çalışmalarda tarçın yağından elde edilen Sinnamealdehit (SA) ya da gümüş nanopartikülleri kitosana eklenerek antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Rieger ve Schiffman (2014), çalışmalarında, *e-coli* bakterilerini yok etmek için SA/kitosan/PEO'dan bir nano membran yapmış ve başarılı olmuşlardır (Rieger ve Schiffman, 2014). Başka bir çalışmada, gümüş/kitosan/PEO'dan nanomembran yapılmış *e-coli* ve *staphylococcus aureus* bakterilerinin yok olduğu gösterilmiştir (An ve ark., 2009).

Kitosan nanolif cerrahi alanında da önemli bir yer almıştır. Karın içi yapışıklıkların azaltılması veya önlenmesi için çalışmalar devam etmektedir ve kitosan nanolif burada bir bariyer olarak kullanılmıştır. Adezyonlar; özellikle karın içi bölgede normalde birbirleri ile birleşik halde bulunmayan ve seröz zarla çevrili organların yaralanma ve cerrahi operasyonlar sonucu aralarında veya komşu organlarla meydana gelen anormal yapışmalar olarak tarif edilmektedir. Uygulanan cerrahi teknik, adezyon oluşumunda oldukça etkilidir. Adezyonu önlemek adına

bütün cerrahların uygulaması gereken temel cerrahi ilkeler; cerrahi travmanın mümkün olduğunca azaltılması, gereksiz ve aşırı manipülasyonlardan kaçınma, yabancı cisimlerin ve ölü dokuların uzaklaştırılması, dokuda yetersiz kanlanma ve su kaybına bağlı kurumunun önlenmesi, bakteri girişinin minimum düzeyde tutulması şeklinde sıralanabilmektedir. Geleneksel cerrahi adezyon bariyerleri; okside rejenere selüloz membran: e-politetrafloroetilen membran; karboksimetil selüloz/hyaluronik asit membrandır. Ancak, mevcut bariyerlerin, adezyonu önlemedeki yararlı etkilerine rağmen kullanımlarının özel bir beceri gerektirmesi, komplikasyonlara yol açmaları, her bölgede kullanılamamaları ve en önemlisi pahalı olmaları nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Bu nedenle daha kolayca kullanabilen ve insan vücuduna daha uyumlu bir bariyerler hedeflenmektedir. Nanolifli yüzeylerin sahip olduğu geniş yüzey alanı ve nano gözenekli yapısı; oksijen ve hava geçirgenliği sağlarken, bakterilere karşı bariyer özelliği de sergilemektedir. Elektroçekim yöntemiyle üretilen kitosan-alginat nanolifli yüzeyler adezyon bariyeri olarak denenmiştir. Kitosan-alginatlı yüzeyin adezyon önlemede iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Ancak, nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde, mikron çapında liflerden oluştuğu anlaşılmıştır (Şafak ve ark., 2017).

Amirabad ve ark. (2018), kitosanın mantar çoğalmasını önlemedeki rolünü fırın (gıda), otobüs ve hastane (halk sağlığı) ortamında incelemişlerdir. Çalışmalarında farklı konsantrasyonlarda kitosanın, mantar türlerini elimine edebildiğini göstermişlerdir. Çalışmada, çeşitli alanlara banknotlar dağıtılmıştır. Banknotlardan alınan mantarların; fırından *Aspergillus sp*, otobüslerden ve hastanelerden ise *Aspergillus niger* ve *penicillium* olduğu tespit edilmiştir. Kullanılan kitosan çözeltisinin konsantrasyonu %6w/w ve kitosan küçük molekül ağırlığındadır (50-80kDa). Konsantrasyonu olan %3w/w selüloz çözeltisiyle karıştırılmıştır. Üretilen nanolif çapı 45nm, banknotlar üzerinde nanomembran kalınlığı 20.2 µm, iki dakika süresinde 85°C sıcak havayla yapıştırılmıştır. Çalışmaya göre selüloz nanolifin mantarlara karşı bir etkisi görülmemiştir. Ancak

selüloz; banknotlar üzerinde daha kararlı, uzun ömürlü, daha dayanıklı bir kitosan membranı oluşmaya yardımcı olmuştur. Kitosandaki NH_3^+ ve selülozdaki SO_3^- , iki farklı yük nedeniyle membranın bağlantılarını arttırmış ve istikrarlarına destek vermiştir. Şekil 2.4’de banknotun kaplanma aşamaları gösterilir. Kitosanın konsantrasyonu %6w/w kullanıldığında çeşitli mantar türlerinin *Risopous*, *Pencillium*, *Aspergillus sp*, *Niger*, *Flavus*, *Mucor*, *Caldosporium* elimine edilebildiği görülmüştür. Daha az kitosan konsantrasyonu 4.5mg/mL kullanıldığında bazı mantarlara *Aspergillus sp*, *Niger*, *Risopous*, *Pencillium* gibi, karşı etkili olmuştur ve ($5 \pm 2.2\text{mm}$) çapında inhibisyon zonu oluşmuştur. Daha da az bir konsantrasyon 2mg/mL uygulandığında inhibisyon zonu olmadan, banknotlarda sadece *Risopous*, *Pencillium* yokedilebilmiştir, ancak bu mantar türleri, membran çevresindeki yerlerde görülmüştür (Amirabad ve ark., 2018).



Şekil 2.4. Kitosan nanolif ile selüloz nanokristalleriyle kaplanan Banknotun kaplama aşamaları (Amirabad ve ark., 2018)

Kitosan sağlığa zararlı olmayan doğal bir maddedir ve bakterilere dirençli bir madde olduğu için çeşitli gıdaların korunmasında da yaygın olarak kullanılmaktadır.

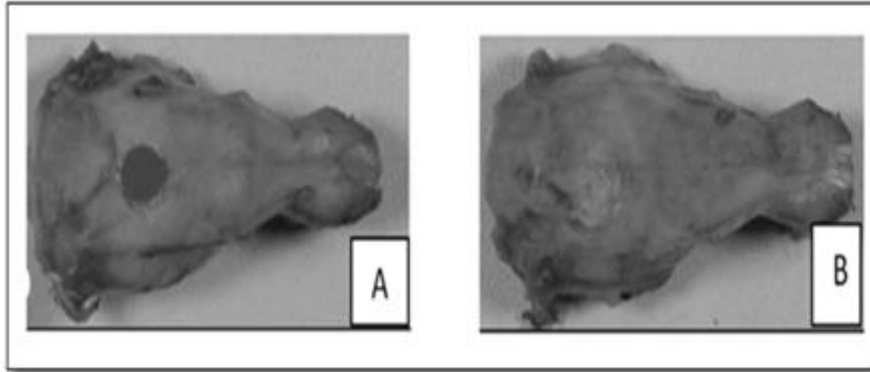
Gudjonsdottir ve ark. (2015), tarafından yapılan bir çalışmada eti korumak için kitosan nanolifler kullanılmıştır. Genel olarak eti korumak için iki yöntem vardır. Birincisi ıslak yöntemdir. Bu yöntemde havası tamamen boşaltılmış

torbalara et yerleştirilir, nem girmesi önlenir ve et donma sıcaklığında tutulur. İkinci yöntem; kuru yöntemdir. Et, poşetsiz fakat 4°C sıcaklıkta ve özel nem ile hava akımı koşullarında yerleştirilmiştir. Islak yöntem; depolama ve taşıma kolaylığı açısından en iyisidir. Ayrıca, daha az ağırlık kaybı ve daha az büzülme sağlar. Ancak ıslak yöntemdeki et pişirme sırasında etin fazla su içeriği nedeniyle ağırlık kayıpları daha fazla olduğu için kuru yöntemden farklıdır. Bu nedenle kuru yöntem geliştirilmelidir. Etlerin biyolojik olarak parçalanabilen ve toksik olmayan bir şekilde paketlenmesi düşünülmüştür. Etin paketlenmesi için bir kitosan nanoliften yapılan membran üretilmiştir. Bu ağ, hava ve nemin geçmesine izin verir, mikroorganizmalara erişimi önler ve geleneksel kuru yönteme kıyasla ağırlık kaybını azaltmaktadır. Çalışmada, küçük molekül ağırlığa sahip kitosan kullanılmıştır. Kitosan %5w/v, TFA/DCM :70/30 çözücünde çözülmüştür. Nanolif üretmek için elektrospinning cihazı kullanılmış olup proses şartları; voltaj 25 kV, mesafe 10 cm, besleme debisi 0.02 mL/dk şeklindedir. Elde edilen membran kararlılığı için 3 saat kadar (5M)Na₂CO₃ çözeltisine daldırılmış ve daha sonra saf su ile bir saat nötrale edilmiştir. Çalışmaya göre 21 depolama gününden sonra, en büyük ağırlık azalması geleneksel kuru yöntemde elde edilmiştir %57.6, kitosarla paketlenen numune ise; %50.8 kadar ağırlık azalmasına ulaşmıştır. Ağırlık azalması en az ıslak yöntemde elde edilmiştir %5. Kitosan nanolif, etteki suyu emdiği için şişmiş ve çapı (368±11) nm'den (943±134) nm'e kadar artmıştır. Et numuneleri pişirildiğinde depolama süresinde fazla su miktarından kurtulduğu için en az büzülme oranı da geleneksel kuru yöntemde elde edilmiştir. 21 depolama gününden sonra, geleneksel kuru yöntemdeki et üzerinde büyük küf katmanı bulunmuştur ve onu uzaklaştırmak için kesme işlemi yapılmış ve daha da ağırlık kaybı olmuştur. Islak yöntemle paketlenen numunelerde ise; laktik asit bakterileri görülmüş. Ancak, kitosan içeren paketlerdeki numunelerde hiçbir küf ya da bakteri görülmemiştir. Böylece gerek az ağırlık kaybı gerekse bakterisiz depolama ortamı için kitosanın kuru yöntemle kullanılması gerektiği ortaya konulmuştur. Böylece kuru yönteme bir yenilik eklenmiştir (Gudjonsdottir ve ark., 2015).

Yeni çalışmalarda kemik oluşumuna ve yenilenmesine kitosan nanolifin etkisi incelenmiştir. Boyutu nedeniyle daha yüksek yüzey alanına sahip olan nanoteknoloji, hücrelerin insan vücuduna yerleştirilme şekline benzer bir matristeki ağların üretilmesine izin verir. Bununla birlikte yüksek gözenekliliklerinden dolayı, üzerinde yerleşen hücrelerin aralarında sıvı taşınmasını ve yiyecek alışverişini kolaylaştırır. Bu durum, kemik restorasyonunda kitosan nanoliflerinin kullanılmasına yol açmıştır. Park ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada, kitosan nanolif iskelet olarak uygulanmış ve kemiklerin oluşumuna yardım edip etmediği incelenmiştir. Biyobozunur maddeler olarak kitosan ile polivinilalkol PVA'dan bir karışım yapılmıştır. Kemik ağlarını oluşturma yeteneğini belirlemek için yedi gün boyunca vücut sıvısına benzer bir çözeltide bekletilmiş. Kemikler organik ve inorganik parçalardan oluşur. Organik parçası nanolif kollajendir. İnorganik parçası ise; nano hidroksiapatittir. Kitosandaki bulunan amino grup ve hidroksil grupları sayesinde, kanın inorganik iyonları, amino grup ve hidroksil gruplara bağlayabilir ve nano hidroksiapatit oluşumu için temel bölgeler olunur. Böylece kitosan nano ağlar üzerinde, nano ölçüde küresel kristallin kalsiyumfosfatı oluşturur. Çalışmada kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 520 kDa ve 1M asetik asitle çözülür. PVA molekül ağırlığı 200000g/mol ve su ile çözülmüştür. Oluşan karışım çözeltisinin konsantrasyonu %10w/w, karışım oranı CS/PVA:80/20' den elektrospinning cihazıyla (100-190)nm'a sahip lifler elde edilmiştir. Kullanılan voltaj 15kV, mesafe 15cm, besleme debisi 5mL/saat. Membranın farklı çözeltide kararlılığı için nötrale işlemi yapılmıştır. Çalışmaya göre küresel kalsiyumfosfat kristallerinin varlığı, nanoliflerin üzerinde oluşmaya başlamış ve düzenli olarak yayılmıştır. 350 nm'e kadar olan partiküllerin çapı izlenmiş ve yedi günlük test süresi boyunca bu kristallerin yoğunluğu yükseldiği görülmüştür (Park ve ark., 2018).

Kitosanın özelliklerinden dolayı yeni kemik oluşumu için sadece bir iskelet olarak değil, kemik hücrelerinin oluşumunu teşvik etmek için de kitosanın membran olarak kullanılabileceği çalışmalarda gösterilmiştir. Chen ve ark. (2017),

bir grup test faresinin kafatasında yapılan 5 mm çaplı bir insizyonda kemik büyümesini destekleyici olarak kitosan nanoliflerini kullanmayı denemişlerdir. Çalışmada kemik oluşumu için başka bir hipoteze dayanılmıştır. Kitosan üzerinde yapışan kan hücrelerinden kemik oluşumu için istenen maddeler alınır ve kemik ağırları büyümesi başlar. Çalışmada %0.7 w/v kitosan, %0.7w/v jelatin ve %0.1w/v kondroitinden bir karışım yapılmıştır. Nanolif arasındaki bağları oluşturmak için %0.1v/v glutaraldehit çözeltisine dardırılmıştır. Kitosan ile desteklenen ve desteklenmeyen numuneler (3-4) hafta kadar incelenmiştir. Üç hafta sonra kitosan tarafından desteklenen numunelerde, insizyon alanı ince bir kemik dokusu tabakası ile tamamen kaplanmıştır. Ancak, dört hafta sonra desteklenmeyen numunelerde sadece insizyonun kenarlarında yeni bir ince kemik tabakası oluşmuştur. (Şekil 2. 5) farklı numunelerde kemik oluşumunu gösterir (Chen ve ark., 2017).



Şekil 2.5. A) Kitosan nanolif ile desteklemeyen numune B) Kitosan nanolif ile desteklenen numune(Chen ve ark., 2017)

Kitosanın endüstriyel alanlara uygulanabildiğini gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır, Song ve ark. (2016), yenidoğru meyvesini korumak için kitosan ile nanosilika karışımını kullanmışlardır. Yenidoğru meyvesi için düşük sıcaklıkla hasarı yavaşlatan, kaplayan bir membran uygulanmıştır. Bu meyve kısa ömürlüdür ve toplandıktan sonra (1-5°C) düşük sıcaklıkta kalmasına rağmen (2-3) haftadan

sonra tamamen büzülür. Yenidünyanın ömrünü artırmak için yapılan farklı yöntemler; sıcak hava akımları ya da Metiljasmonat gibi kimyasal maddeler kullanılmıştır. Ancak, bunlar pahalı yöntemler olduğu için vazgeçilmiştir. Böylece kitosan ve nanosilika nanolifin kullanılması ile meyvelerin daha uzun ömürlü hale getirilmesi sağlanabilmiştir. Yenidünya, toplandıktan 20 gün sonra büzülmeye başlamış, ağırlık kaybı çok az olmuştur %1.6. Kitosanın mevcudiyeti nedeniyle meyvelerin antioksidan enzimlerin aktivitesi ve meyve içeriğinin (glukoz ve früktoz) arttığı gözlenmiştir (Song ve ark.,2016).

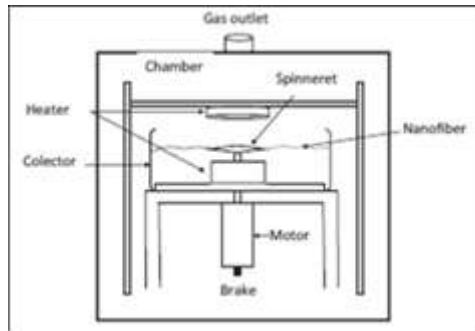
Kitosanın çevre dostu bir madde olarak oynadığı rol nedeniyle, tarım alanlarında kullanımını arttırmaya odaklanılmış ve bitki korumada kullanılmıştır. Bitkileri korumak için pestisitlerin yoğun kullanımı, ciddi çevre kirliliğine ve sağlık risklerine yol açmaktadır. Bu nedenle çevreye zarar vermeyen ve bitkilerin korunmasına yönelik yöntemler araştırılmıştır. Mikroorganizma içeren biyokontrol ajanları kullanıldığında bu hedef gerçekleştirilebilir. Trichoderma ve Bacillus subtilis gibi organizmalar bitkileri hastalıklardan korumak için kullanılmıştır. Bu organizmalar kapsüllendiğinde, organizmaları çevresel faktörlerin etkisinden koruyup salınımları yavaşlatmada daha uygulanabilir hale getirilmiştir. Noruzi (2016), çalışmada, Trichoderma organizması CS/PEO ve kitosan/polikrilamid ile karıştırılmıştır. Ancak, daha çevre dostu bir madde olduğu için PEO tercih edilmiştir. Nanolif membran bitkilerin yaprakları ve kökleri üzerine yerleştirilmiştir. Membranlar, Fusarium ve Alternaria gibi patojenlere karşı büyük etki göstermiştir (Noruzi, 2016).

2.3. Tekstil Alanında Kitosan Kullanımına Yönelik Çalışmalar

Tekstil alanında da kitosanla ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar kitosanın terbiye prosesinde polimer olarak dahil edilmesi, nanolif olarak kullanımı, membran olarak kullanımı şeklinde olup farklı sektörler için yapılan çalışmalar şeklindedir. Tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeler, çeşitli sulu çözeltilerinde güçlükle çözünemekte, insan sağlığı ve çevre üzerinde olumsuz

etkiye sahiptirler. O nedenle boyar maddelerdeki pigmentlerin emilimini içeren adsorpsiyon teknolojisi amacıyla kitosan kullanılabilir. Kitosanın hidroksil (-OH) ve amino (-NH₂) grupları, stabile olmayan serbest radikallere dönüşümü sağladıkları için, antioksidan aktiviteden sorumlu temel fonksiyonel gruplardır. Bu nedenle genel olarak kitosan karışımları farklı filtrasyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Yıldırım ve ark., 2016).

Aliabadi ve ark. (2013), çalışmada, kitosan ile hidroksiapatitin karışımından oluşan nanolif membran, ve bu membran filtre olarak kullanıldığında sulu çözeltide bulunan Ni, Pb, Co molekülerinin uzaklaştırılması sağlanmıştır (Aliabadi ve ark., 2013). Başka bir çalışmada kitosan/PEO'den yapılan nanoliflerle sulu çözeltideki Cd, Ni, Cu molekülleri giderilmiştir (Min ve ark., 2014). Kitosan ile poliamid-6 karıştırılmış, elektroegirme yöntemiyle nanolif elde edilmiş olup sulu çözeltileri Cr(VI) molekülü temizlenmiştir (JuLi ve ark., 2014). Dotto ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada santrifüjalspinning yöntemiyle farklı oranla karıştırılan kitosan ve poliamid-6'dan nanolifler üretilmiştir (şekil 2.6). Çalışmada, 12000 d/dk'lık hızda çıkan nanolif çapı (100-500) nm olarak elde edilmiştir. Kullanılan kitosanın molekül ağırlığı 150kDa olup, kitosan /poliamid-6 karışım oranları : (0/2.5, 0.25/2.25 ,0.5/2, 0.75/1.75, 1/1.5) şeklindedir. Üretim oranı 3g/saat olup, düzgün ve boncuksuz nanolifin elde edildiği için en iyi karışım oranı CS /poliamid-6 : 1/1.5 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada test edilen anyonik boyar maddeler, RBS(reactive black 5) ve P4R (Ponceau 4R).



Şekil 2.6. Santrifüjalspinning yöntemi (Dotto ve ark., 2017)

Bu çalışmada adsorpsiyonun kapasitesini belirlemek için; kitosan oranı, ortamdaki sıcaklık, pH derecesi şeklinde üç faktör incelenmiştir. Sonuçlara göre kitosan oranı arttıkça, anyonik boyar maddelere bağlanabilen daha etkileşimli sitelerin varlığı nedeniyle adsorpsiyon kapasitesi artmıştır. pH derecesi 10'dan 1'e artmasıyla, adsorbsiyon kapasitesi RB5 için 5'ten 110 mg/g'a kadar, P4R ise; 20'den 160 mg/g'a kadar artmıştır. Bu artma sebebi kitosandaki NH₂ ve poliamid-6' daki NH grupları pH=1 çözeltisinde NH₃⁺'a dönüşmesidir. Bu nedenle nanolif zincirleri birbirinden uzaklaşır ve böylece anyonik boyar maddenin molekülleri daha kolay bir şekilde nanolifin içerine girer. Ortam sıcaklığı, 298 K'den 328 K'e kadar arttığında, adsorpsiyon kapasitesi artar (RB5 için %34.7 ila %58.8 ve P4R ise; %53 ila %88.5'dir). Çalışmaya göre yapılan nanolif membranı aynı adsorbsiyon kapasitesi değişmeden, dört defa kullanılabilmiştir (Dotto ve ark., 2017).

Pamuklu ve yünlü tekstil ürünlerine antimikrobiyel etki kazandırmak için kitosan kullanılmıştır (Taş, 2018 : Taş ve ark., 2017: Olcay, 2015). "Kitosanın tekstil sanayinde birçok amaç için kullanımı söz konusudur. Bunlar, antimikrobiyel özellik kazandırması, yünlü kumaşlarda çekmezlik sağlaması, reaktif boyamada tuz miktarını azaltması, pamuğun asit boyarmaddelerle boyanabilirlik kazanması, antistatik özellik kazandırması, deodorant maddesi olarak kullanılması şeklinde sayılabilmektedir" (Taş, 2018). Kitosan gibi yeni liflerden yapılan çorapların konfor özellikleri incelenmiştir. Bu yeni lifler arasında su buharı transfer oranı ve termal direnci en yüksek olan kitosandır. Ancak, çalışmaya göre kitosanın hava geçirgenliği düşüktür (Olcay, 2015). Basınçlı giysilerde yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır, dış basınç yardımı ile iltihap oluşumu önlenmekte, skar içine akan kan miktarı azaltılmakta, kaşınma indirgenmekte ve kolajen sentezi önlenmektedir. Skar alanının büyüklüğüne göre basınçlı giysiler haftalarca veya aylarca giyilmelidir. Çeşitli özelliğe ve mekanizmaya sahip antimikrobiyel maddeler kullanılarak, tekstillere antimikrobiyel özellik kazandırılabilir. Bu maddeler arasında yer alan kitin ve kitosan biyolojik özelliğe sahiptir. Kitosan

bariyerleri kullanılarak yanık yaralanmalarının tedavisinde kullanılan basınçlı giysilerin verimliliğini ve fonksiyonlarını artırmak amaçlanmıştır. Poliamid 66/elastan kumaşlar, kitosanla çapraz bağlandıktan sonra, elde edilen materyaller sayesinde hastaların tedavi sürecinde aşırı terlemesi önlenerek mikroklima ortamı ve konfor sağlanarak enfeksiyon riskleri önlenecektir. Bu çalışmada kullanılan kitosan ortalama molekül ağırlığı $1,5 \times 10^5$ g/mol (Varan, 2017).

İnsan vücudu üzerinde veya gıda konusunda toksik olmayan etkiye sahip maddeler üzerine araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca çevre dostu malzemelerin kullanılmasına sürekli ihtiyaç olmasıyla gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, doğal malzemeleri ve farklı alanlarda uygulanmalarına yönelik çalışmalar yapmaktadırlar. Bu tezde, tercih edilen maddelerden birisi de kitosandır. Kitosan, biyobozunur, toksik olmayan ve doğal kaynaklardan elde edilmesi kolay bir maddedir ve farklı alanlarda kullanma imkanları olduğu için dikkat çeken bir malzemedir. Nanoteknoloji, ve üstün nitelikleri nedeniyle çeşitli alanlarda çok etkili olduğunu kanıtlamıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasında kitosan nanolif üretimine odaklanılmış ve onu üretmek için kullanılan farklı malzemeler ve nanolifin analizi için yapılan farklı testler tartışılmıştır. Materyal ve Metot bölümünde kullanılan tüm madde, program, analiz testi açıklanmış olup anlatılmıştır.

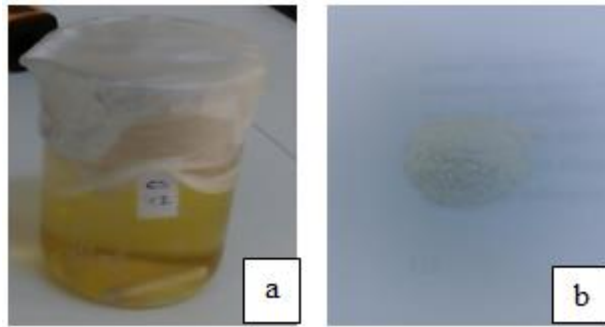
3. MATERYAL VE METOT

Tez çalışmasında düşük moleküler ağırlıklı ($M_w = 50-190$ kDa) kitosan kullanılmıştır. Kitosan çözeltinin viskozitesi, çözücü konsantrasyonuna ve kitosan konsantrasyona bağlı olarak değiştirilebilir, %1 wt asetik asit ile kitosan viskozitesi (20-300cP) aralığında değiştirilebilir, DD (%75-85) . kitosan viskozitesini azaltmak için, yardımcı bir polimer olarak iki madde ayrı ayrı eklenmiştir. İlk polimer Polivinilalkol (PVA)'dir. (PVA, $M_w = 80.000-100.000$ g / mol). İkinci polimer ise; polietilenoksit (PEO) (PEO, $M_w = 900$ kDa). PVA/CS ve PEO/CS farklı karışımlarından nanolifler elde edilmiştir. Farklı maddelerin çözölmeleri için asetik asit (AA) kullanılmıştır. PVA/CS numuneleri için (%90 w/w) konsantrasyonu olan asetik asit kullanılırken PEO/CS numuneleri için (%50w/w) kullanılmıştır. Dört malzeme (kitosan, PVA, PEO ve asetik asit) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

3.1. Polimerik Karışım Çözeltisinin Hazırlanışı

3.1.1. PVA/CS numunelerin hazırlanışı

Sabit konsantrasyonlu %2 w/w polimerik kitosan çözeltisini hazırlamak için, oda sıcaklığında 24 saat manyetik karıştırıcıyla, % 90w/w asetik asit içinde çözölüp karıştırılmıştır. Karıştırma işleminde Numunenin buharlaşmaması için selofan ile örtölür (Şekil 3.1) kitosan katı ve çözelti halde gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Kitosan a) polimerik çözelti ve b) katı

Kitosan ve PVA arasındaki yapılacak farklı karışım oranları ile ilgili olarak, PVA'dan (%3.82w/w_ %14w/w) değişen konsantrasyonlarda PVA çözeltileri oluşturulmuştur ve bulgular bölümünde geniş bir şekilde farklı çözeltinin hesapları anlatılmıştır.

PVA polimerik çözeltisini hazırlamak için, PVA %90 w/w asetik asit içerisinde 3 saat kadar, 80°C' de manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözülmüştür.

Kitosan çözeltisi, iki yaklaşıma göre PVA çözeltisi ile karıştırılmış:

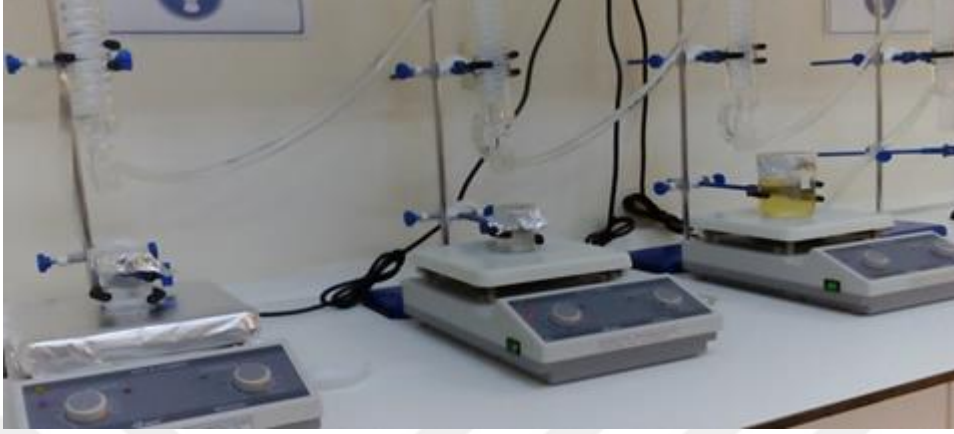
İlk yaklaşım; karışımın konsantrasyonunu % 3.5'de sabit tutulmuştur ve kitosan ile PVA arasındaki karışımın oranları aşağıdaki gibi yapılmaktadır. PVA/CS: 100/0, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50.

İkinci yaklaşım; karışım oranı PVA/CS:70/30 gibi sabit tutulmuştur, ancak karışımın konsantrasyonu şu şekilde değiştirilmektedir : (% 2, % 3, % 3.5, % 4, % 5). İki çözelti arasındaki karıştırma işlemi, oda sıcaklığında 3 saat kadar beraber karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1'de PVA/CS karıştırma yaklaşımı gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. PVA/CS farklı karıştırma yaklaşımı

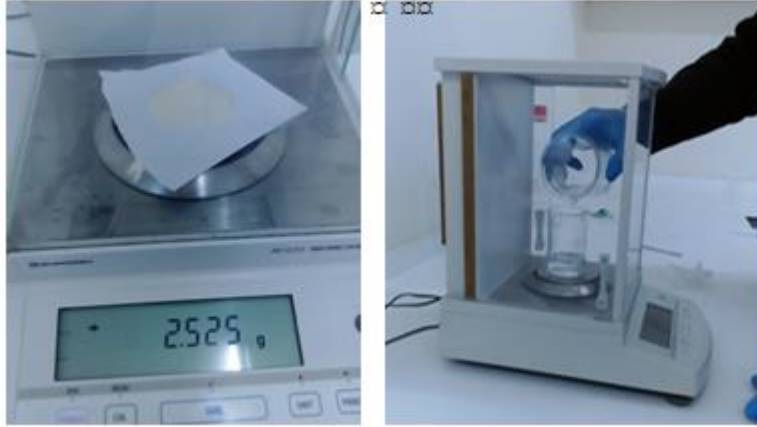
Grup No	Polimerin konsantrasyonu (%wt)	PVA/CS oranı (wt/wt)
I	3.5	100/0 - 90/10 - 80/20 70/30 - 60/40 - 50/50
II	2 - 3 - 3.5 - 4 - 5	70/30

Şekil 3.2. Kitosan ve PVA çözeltilerin karıştırma işlemi gösterilmiştir



Şekil 3.2. Hazırlanan kitosan ve PVA farklı çözeltileri

Kitosan çözeltisini tahripe maruz kalmaması için PVA çözeltisi 36°C soğutulup eklenmiştir. Ancak %14 konsantrasyonlu PVA çözeltisinin soğutma işlemiyle sertleşmesi nedeniyle kitosan çözeltisine hemen eklenmiştir. Farklı maddelerin çözeltilerini hazırlamadan önce, hassas teraziyle tartım işlemi (Şekil 3. 3) yapılmaktadır.



Şekil 3.3. Hassas teraziyle yapılan tartım işlemleri

Nanolifler kısaltma olarak, şu şekilde kodlanmıştır. PVA /CS10K5-2: %5 Polimerik karışım konsantrasyonunda, PVA oranı 90'dur ve kitosanın oranı 10'dur,

uygulanan besleme debisi $2\mu\text{L/d}$, Konsantrasyondan bahsedilmediği durumlarda bu, konsantrasyonun % 3.5 w/w sabit tutulduğu kastedilmektedir.

Kodlamada besleme debisi önemli olmadığı durumda, numuneler şu şekilde kodlanır. PVA/CS:70/30-%5Polimerik karışım konsantrasyonunda, PVA oranı 70'dir ve kitosanın oranı 30'dur, karışımın konsantrasyonu %5w/w.

3.1.2. PEO/CS Numunelerin Hazırlanışı

Önceki PVA ve kitosan çözeltilerin hazırlama adımları gibi, PEO ve kitosan numuneleri de benzer şekilde hazırlanmıştır. İlk olarak PEO ve kitosan katı madde olarak dikkatli bir şekilde tartılmış olup çözelti olmaya hazırlanmıştır. Şekil3.4'de tartılan PEO ve kitosan numuneleri gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Hassas teraziyle hazırlanan PEO ve kitosan maddeler

PEO çözeltisi hazırlandığında %50 w/w asetikasit ile oda sıcaklığında ve 24 saat kadar karıştırılmıştır. PEO/CS numuneleri için %90 w/w asetikasit kullanmama sebebi bulgular bölümünde geniş olarak açıklanmıştır. Kitosan çözeltisi PEO'daki aynı şartlarla hazırlanmıştır. İki çözelti beraber 24 saat

karıştırılarak, nanolif elde etmek için hazır bir halde olmuştur. Kitosan çözeltisi, iki yaklaşıma göre PEO çözeltisi ile karıştırılmış:

İlk yaklaşım: her madde için üç farklı konsantrasyon yapılmıştır (%1, %2, %3 w/w)

İkinci yaklaşım: her konsantrasyon için dört karışım oranı uygulanmıştır (PEO/CS:30/70, 40/60, 50/50, 60/40) şeklindedir. Çizelge 3.2, PEO/CS numuneler için yürütülen yaklaşımları göstermektedir

Çizelge 3.2. PEO/CS farklı karıştırma yaklaşımı

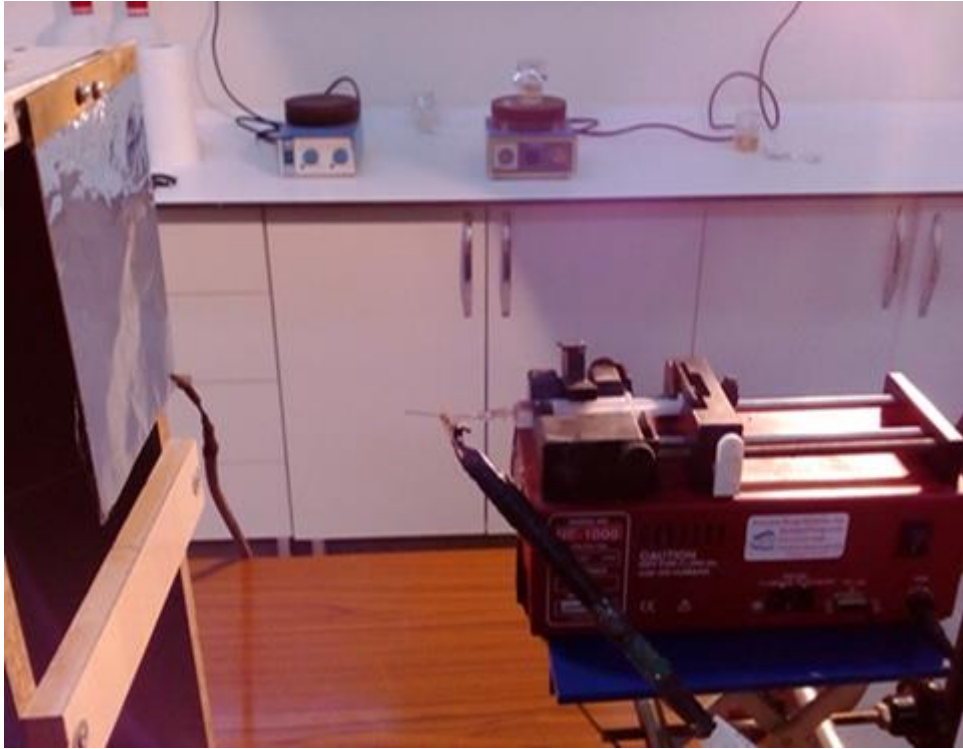
Grup No	Polimerin konsantrasyonu (wt%)	PEO/CS oranı (wt/wt)
I	1	30/70-40/60-50/50-60/40
II	2	30/70-40/60-50/50-60/40
III	3	30/70-40/60-50/50-60/40

Bahsi geçen Polimerik çözeltilerinin hazırlama işlemi, elektrospinning cihazından elde edilen nanolifleri ve çözeltilerin viskozitesinin, yüzeygerilimin, elektrik iletkenliğinin analizleri, Gaziantep Üniversitesindeki Tekstil Mühendisliği Bölümündeki nanoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

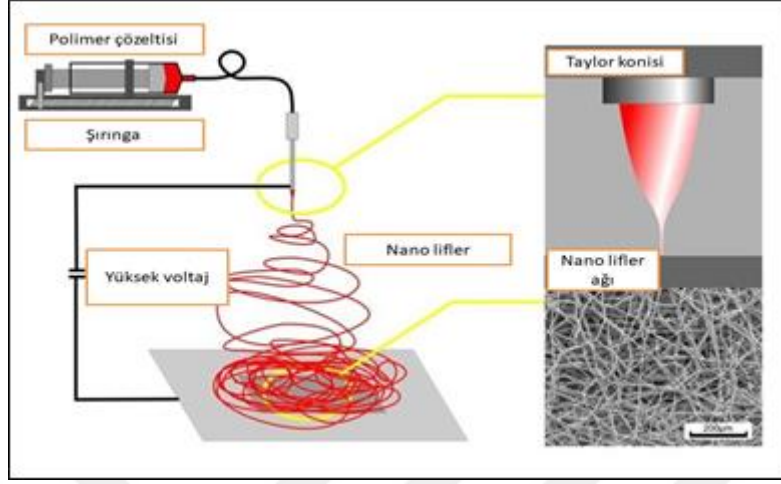
3.1.3. Nanolif Üretimi

Nanolifler, elektrospinning teknolojisi kullanılarak üretilmiştir. Elektrospinning, iğneli bir şırınga, bir şırınga pompası, bir düz plaka toplayıcı ve iki değişken DC yüksek voltajlı güç kaynağından (+50 kV ve -50 kV) oluşuyordu. Toplayıcı doğrudan bir negatif voltaj kaynağına bağlıyken, iğne bir pozitif voltaj kaynağına bağlanmıştır. PVA/CS nanolif elde etmek için, Uygulanan voltaj, şırınga ve toplayıcı arasındaki mesafe (TCD) ve iğnenin iç çapı sırasıyla; 15 kV, 15 cm ve 0.8 mm'de sabit tutulmuştur. Çözeltinin besleme debisi 2, 6 ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ olarak ayarlanmıştır. PEO/CS nanolifler ise; Uygulanan voltaj, şırınga ve toplayıcı

arasındaki mesafe (TCD) , iğnenin iç çapı ve besleme debisi sırasıyla; 25 kV, 20 cm ve 0.8 mm, 15 μ L/dk 'de sabit tutulmuştur. Elektroğirme işlemi sırasında ortam sıcaklığı ve bağıl nem de sırasıyla 30 °C ve %50'de sabit kalmıştır. Şekil 3.5 Gaziantep üniversitesindeki kullanılan elektrosinning cihazı.



Şekil 3.5. A)Nanolifler elde etmek için tez çalışmasında kullanılan elektroğirme cihazı



Şekil 3.5. B) Nanolifler elde etmek için tez çalışmasında kullanılan elektroğirme cihazı şematik olarak

3.2. Metot

3.2.1. Polimerik Karışım Özellikleri ve Karakterizasyonu

Karışımın viskozitesini, yüzey gerilimini ve elektrik iletkenliğini ölçmek için Gaziantep üniversitesinde tekstil laboratuvarında kullanılan cihazlar; Brookfield DV.III Ultra reheometer, Attention Theta optical tensiometer, Orion 4 Star Plus meter şeklinde sıralanmıştır.

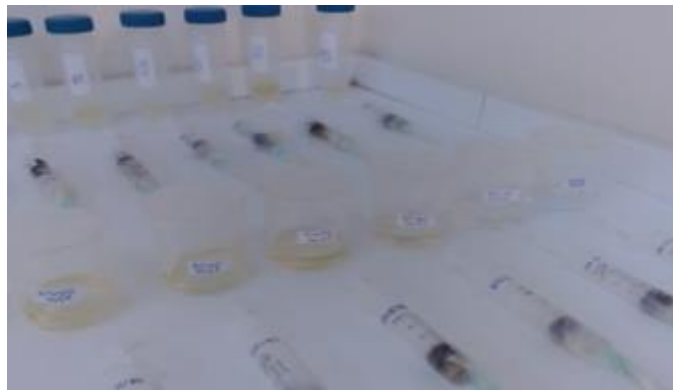
Viskozite ölçümü için kullanılan cihaza viskometre denir. Viskozite bir akışkanın içsürtünmesinin bir ölçüsüdür. Bu ölçüm çözelti içinde dönen bir spindel ile tespit edilir. Viskozite aralığı ölçüm alınan spindle' a göre değişir, çözeltidaki sürtünme bir akışkan tabakası diğer tabakaya göre hareket ettiğinde ortaya çıkar. Sürtünme artıkça, akışkanı hareket ettirmek için gerekli olan ve kayma olarak adlandırılan kuvvet artar.

Spindle viskometrenin akışkan ile temasının gerçekleştiği parçadır ve birçok değişik modeli vardır. Spindlin akışkanın içindeki relatif hareketinden ortaya çıkan kuvvetlerin yol açtığı tork sayesinde, spindle geometrisi ve açısal hızı ile ilgili parametreler kullanılarak viskozite, kayma gerilmesi hız gradyanı hesaplanabilir.

İletkenlik, bir maddenin pozitif ve negatif iyonlarının birleşme değerine bağlıdır. İletkenlik ölçüm cihazı, maddenin iyon içeriğini tam olarak belirler. İletkenlik ölçer, bir sıvı çözeltideki elektrik akımını veya iletkenlik miktarını ölçer. Elektrod ölçülecek sıvıya yerleştirildikten sonra, ölçüm cihazı prob içindeki iki elektrot arasına voltaj uygular. Sıvı çözeltiden gelen elektrik direnci, cihaz tarafından okunan voltajda bir düşüşe neden olur ve böylece çözeltinin elektrik iletkenliği belirlenmektedir.

Maddedeki atom veya moleküller arasındaki çekim kuvvetinin maddenin yüzey gerilimi tanımlanmaktadır. Yüzeydeki geometrik dengesizliğinin ve asimetrisinin sonucudur denebilir. Yüzey gerilimi ölçere maddeden bir damlacık alınır ve fotosel sayesinde bir ışık uygulanır. Damlacık yüzeyinden yansıtan ışığa göre Bilgiler bir bilgisayar programı tarafından işlenir. Literatüre göre ve genel olarak, elektroğirme cihazından nanolif elde edilmesi için çözeltinin viskozitesi 2000 cP' dan daha fazla olamaz. Ancak, polimere göre ve özel üretim şartlarıyla 2000 cP'dan daha yüksek viskoziteden nanolif elde edilir. Elektrik iletkenliği yüksek olduğunda daha uygun nanolif elde edilir ve elektrik iletkenliğinin sınırları farklı polimere bağlıdır. Polimer yüzey geriliminin her zaman az olduğu tercih edilir ve kabul edilen sınırları polimere bağlıdır (Bizarria ve ark., 2014; Homayoni ve ark., 2009).

Şekil 3.6 çözelti analizlerinin hazırlanan farklı numuneler göstermektedir.



Şekil 3.6. Nanolif elde etmek ve çözeltinin analizleri için hazırlanan farklı numuneler

3.2.2. Scanning Electron Microscopy (SEM) nanolif çapı ölçüm cihazı

Nanolif numuneler, Çukurova Üniversitesindeki ÇÜMERLAB laboratuvarında bulunan QUANTA FEG 650 taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak fiber morfolojisinin gözlemlenmesinden önce 90 saniye boyunca 15 kV ile altınla kaplanmıştır. Nanofillerin genel şeklini göstermek için 5kX büyütmede ve ortalama nanoliflerin çapı için 20 kX büyütmede analiz edilmiştir. (ImageJ) programı kullanılarak SEM görüntülerinden rastgele seçilen 40 nanofiberin çapları ölçülerek ortalama çaplar belirlenmektedir.

3.2.3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

Her maddenin içinde bulunan moleküller ve moleküllerin arasındaki kimyasal ilişkiler gösteren Jasco FTIR 6800 cihazı, Çukurova üniversitesindeki ÇÜMERLAB laboratuvarında bulunmaktadır. FTIR spektrumları 500-4000 cm^{-1} frekans aralığında ve 4 cm^{-1} ölçüm adımıyla sonuçlar kaydedilmiştir.

3.2.4. X-Ray Diffraction (XRD)

PVA/CS ve PEO/CS nanolifin kristal ve amorf bölgelerinin göstermek için XRD ölçümü yapılmıştır. (CuK α) radyasyonuna ($\lambda = 0.154059 \text{ nm}$) sahip bir PANalytical X-ışını difraktometre, Çukurova üniversitesindeki ÇÜMERLAB laboratuvarında (model EMPYREAN XRD) kullanılarak, ölçümler gerçekleştirilmiştir. Cihazda uygulanan voltaj 45 kV ve elektrik akımı 40 mA. XRD numuneleri, 0.013°'lik adım boyutu ile (10° ila 90°) 2 θ arasında toplanmıştır.

3.2.5. Antibakteriyel Aktivite Testi

PEO/CS nanolif numunelerinin Gram pozitif organizma olarak *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve Gram negatif organizma olarak *Klebsiella pneumoniae* ATCC43816 mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu analizi kolayca uygulamak için,

PEO/CS nanolifleri bir naylon tabaka üzerine elektrospinning cihazıyla üretilmiş ve PEO/CS nanolifleri ile yüklenen bu naylon tabakalar, boyutları (1 x 1 cm²) olan numuneler olarak kesilmiştir. Bu deneyler Çukurova üniversitesinde, Eğitim Fakültesindeki biyoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Farklı besleme debisine ek olarak farklı konsantrasyonlara ve karıştırma oranlarına sahip nanoliflerin çapları arasındaki ilişkiyi incelemek için istatistiksel testler yapılmıştır. İstatistik programı SPSS (22 versiyonu) programı kullanılmış ve ANOVA testleri uygulanmıştır. Ayrıca, liflerin çaplarının ortalamasını ve sıvı polimerik karışımın viskozite, elektrik iletkenliği ve yüzey geriliminin ortalama değerlerini ve standart sapmalarını hesaplamak için MS EXCEL programının 2010 versiyonu kullanılmıştır. FITR ve XRD testlerinin sonuçlarının diyagramları da MS EXCEL programı ve Originlab 8 programı ile çizilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, (PVA/CS) ve (PEO/CS) nanolif karışımının hazırlanması hakkında kapsamlı bir şekilde açıklanmıştır. Bu iki karışım için kullanılan farklı çözeltilerin katı ve sıvı maddenin miktarı, üretim koşulları, yapılan çözeltilerin testleri, SEM, XRD, FTIR analizinden elde edilen farklı nanolif özelliklerinden bahsedilmiştir. Bu nanoliflerin en ideal durumu, ANOVA analizi yaparak belirtilmiştir. Kitosan nanoliflerin antibakteriyel aktivitesini incelemek için PEO/CS nanolif numuneleri seçilmiştir. PEO/CS nanolif numunelerinin Gram pozitif organizma olarak *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve Gram negatif organizma olarak *Klebsiella pneumoniae* ATCC43816 mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu analizi kolayca uygulamak için, PEO/CS nanolifleri bir naylon tabaka üzerine ekstrüde edildi ve PEO/CS nanolifleri ile yüklenen bu naylon tabakalar, boyutları (1 x 1 cm²) olan numuneler olarak kesilmiştir. PEO ve PVA, kitosan nanoliflerin elde edilmesi gerektiğini bu iki madde kullanılmıştır. Ancak, antibakteriyel etkisi yoktur ve bu özeliği sadece kitosan nanoliflerden beklenmiştir ve yardımcı madde değilse farklı bir etki görülmeyecektir. Bu nedenle PVA/CS numunelerin antibakteriyel analizi yapılmamış olup bu analiz sadece PEO/CS numunelerine uygulanmıştır.

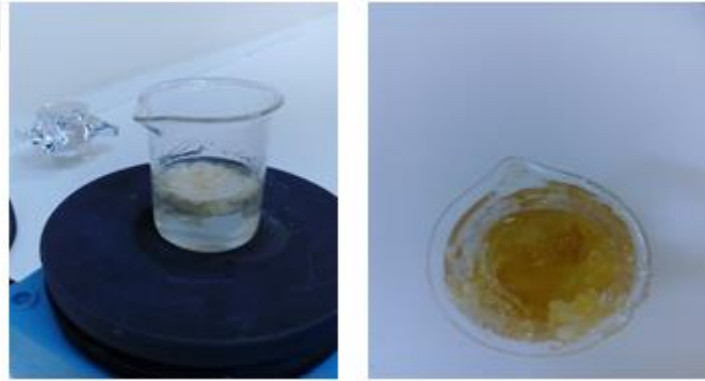
4.1. PVA/CS Nanolif Çalışmaları

Kitosan nanolifler elde etmek için kitosan'a eklenen maddeler arasında en yaygın olarak kullanılanı, biyoyumluluğu ile karakterize edilen sentetik bir hidrofilik polimer olan polivinilalkol'dur (PVA). PVA, toksik olmaması ve doğal bozulmaya maruz kalması, yüksek mekanik özellikleri ve iyi kimyasal direnci nedeniyle tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu da diğer birçok alanda uygulanmasına izin vermektedir (Stasko ve ark., 2009). PVA'nın iyi mekanik özellikleri ve hidrofilikliği ile kitosan'ın farklı biyolojik özelliklerinin

kombinasyonu, benzersiz özelliklere sahip bir madde ile sonuçlanır (Abdullah ve ark., 2017). Bu nedenle bu tez çalışmasında kitosan ile PVA farklı yöntemle karıştırılmıştır.

4.1.1. PVA/CS Karışım Konsantrasyonunu Belirlemeye Yönelik Ön Çalışmalar

Önceki çalışmalarda belirtildiği gibi, ilk defa (%5 wt) kitosan çözeltisi test edilmiştir ve %90 w/w asetik asit çözücü olarak kullanılmıştır. Ancak bu tez çalışmasında literatürdeki bu konsantrasyon kullanıldığında elde edilen kitosan çözeltisinin jelleştiği görülmüştür (Şekil 4.1) ve bu nedenle daha düşük konsantrasyonlar uygulanıp, denenmiştir. Görülmüştür ki; Elektroegirme cihazından kitosan nanolif elde edilebilmesi için, çözelti konsantrasyonu azaltılması gerektiği görülmüştür.



Şekil 4.1. Yüksek konsantrasyonla (%5 w/w) jelleşen kitosan çözeltisi

Tez çalışmasında, kitosanın konsantrasyonu %1 wt ve %5 wt aralığında seçilmiştir ve farklı çözelti konsantrasyonları denenmiştir. Lif edilebilen kitosan çözelti konsantrasyonu %2 wt olarak seçilmiştir. Seçilen bu konsantrasyon, ne düşük ne de yüksek viskoziteye (jelleşen) sahip bir kitosan çözeltisidir. Bu nedenle

PVA/CS karışımlarında herhangi bir deneyde kitosan çözeltisinin konsantrasyonu %2 wt şeklinde sabit tutulmuştur.

En uygun PVA/CS karışımın konsantrasyonu ve en uygun karışım oranını belirlemek için Çizelge 4.1’de yapılan farklı deneyler yapılmıştır. Yapılan denemelere göre, nanolif üretmek için iki noktaya odaklanılmalıdır. Bunlardan ilki, kitosanın oranı ve karışımın konsantrasyonudur. Kitosanın oranı arttıkça, nanolif elde edilmek için karışımın konsantrasyonu azaltılmalıdır. Farklı kitosan oranıyla üretilen başarılı nanolif (✓ ile işaretlenen numuneler), %3.5 ve %4’lik karışım konsantrasyonudur. Bu konsantrasyonlarda iyi nanolif üretimi yapılabilmektedir ve bu nedenle (%3.5 w/w) konsantrasyona sahip PVA/CS polimer çözeltisi seçilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı karışımın konsantrasyonu ve farklı kitosan oranıyla yapılan ön çalışmalar

Kitosan oranı (%)	PVA/CS karışımın konsantrasyonu (w/w)					
	%2	%3	%3.5	%4	%4.5	%5
10			✓	✓	✓	✓
20			✓	✓	✓	
30		✓	✓	✓		
40	✓		✓	✓		
50			✓			
55		✓				

✓ : Başarılı lif üretilen seçenekler

Bu konsantrasyonla farklı karışımın oranı test edilecektir. Bununla birlikte PVA/ CS: 70/30 oranı başarılı ve denemeler arasında orta bir halde olduğu için bu oran seçilip farklı karışım çözeltisinin konsantrasyonu denenmiştir. Çizelge 4.1’e göre kitosan oranının %50’nin üzerine çıkmaması gerektiği tespit edilmiştir.

4.1.2. Sabit Konsantrasyonda Karışım Oranı ve Besleme Debisi Değişiminin PVA/CS Nanolif Eldesine Etkisi

Burada yukarıda gösterilen Çizelge 4.1.1’de, tezin ön çalışmalarında elde edilen, sabit polimerik karışım konsantrasyonu %3.5 olarak seçilmiştir. PVA/CS farklı karışım oranları ve besleme debisinin, liflerin morfolojisi, molekülerin arasındaki ilişkileri ve bu oranlardan elde edilebilecek üretim verimliliği üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu nedenle, polimerik çözelti karışımının konsantrasyonu, PVA/CS oranları değiştirilerek, her numune için 15 g PVA/CS sıvı polimerik karışım hazırlanmıştır. Seçilen PVA/CS oranları; 100/0, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50 şeklinde 6 farklı orandır. Ayrıca, seçilen Elektrospinning proses parametresi besleme debisi olup, nanolif eldesi için en iyi besleme debisini belirlemek için 2, 6, 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ şeklinde üç hız uygulanmıştır.

Öncelikle farklı iki maddenin oranla, %3.5 wt sabit konsantrasyonlu olan karışım hazırlamak için, Kitosan ve PVA maddeden alınan katı ve sıvı miktarının nasıl hesaplanması ekler bölümünde (sayfa 139) örnek ile gösterilmiştir.

Çizelge 4. 2’de bu farklı karışım oranlarına sahip nihai polimerik karışımı elde etmek için her numunede kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarları gösterilmiştir. Katı madde, Kitosan ve PVA’yı gösterir. Çözelti ise sıvı olup, kitosan+AA ve PVA+AA şeklindedir. Fark edildiği gibi, (%3.5wt) sabit karışım konsantrasyonu tutulmak için, PVA/CS polimerik karışımındaki kitosan oranı artışla birlikte, PVA'dan kullanılan katı ve sıvı oranı azalmıştır ancak konsantrasyonu artmıştır.

Çizelge 4.2. Farklı karışım oranları için kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarı

PVA/CS:wt/wt	Konsantrasyon(%wt)	Katı madde (g)	Çözeltili(g)
PVA/CS:90/10	%2 Kitosan	0.0525	2.625
	%3.82 PVA	0.4725	12.375
	Toplam	0.525	15
PVA/CS:80/20	%2 Kitosan	0.105	5.25
	% 4.31 PVA	0.42	9.75
	Toplam	0.525	15
PVA/CS:70/30	%2 Kitosan	0.1575	7.875
	%5.16 PVA	0.3675	7.125
	Toplam	0.525	15
PVA/CS:60/40	%2 Kitosan	0.21	10.5
	%7 PVA	0.315	4.5
	Toplam	0.525	15
PVA/CS:50/50	%2 Kitosan	0.2625	13.125
	%14 PVA	0.2625	1.875
	Toplam	0.525	15

Çizelge 4.3’de %3.5’lik sabit konsantrasyonda, PVA/CS farklı karışım oranları ve farklı besleme debisi ile lif üretimindeki denemelerinin detayları burada verilmiştir. Çizelgede ilk sütun besleme debisini gösterir. 2. Sütun ise deneyde incelenen Elektrosinningden iğne ucundan çıkan life özelliklerini göstermektedir. Üretim, lif üretimini kastetmekte olup, lif üretimi “yok”, “çok az”, “az”, “orta”, “iyi”, “çok iyi” şeklinde gösterilmiş olup “iyi ve “çok iyi” olması istenir. Damlama, istenmeyen bir durum olup, şırınga ucundan çözeltinin damlamasına işaret eder, olmaması “yok” şeklinde beklenir. Çizelgede “kesikli” olarak belirtilen özellik lifin üretilirken kesilmesi, devamlı üretilmeyen durumu olup, istenmeyen bir özelliktir bu nedenle “az” olarak gösterilen kısımlar tercih edilir. Tek jet, lif jetinin sapmaması ve doğrudan toplayıcıya gitmesi anlamına gelmekte olup istenen bir durumdur ve Çizelgede “evet şeklinde bunun sağlanabildiği gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. %3.5'lik sabit konsantrasyonda, farklı karışımın oranı ve farklı besleme debisi ile yapılan deneyler

Besleme debisi $\mu\text{L}/\text{dk}$	PVA/CS	100/0	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50
2	Üretim	yok	yok	Çok az	Çok az	Çok az	Çok az
2	Damlama	yok	yok	Çok az	az	Az-orta	Çok fazla
2	Kesikli	Çok fazla	Çok fazla	fazla	fazla	az	fazla
2	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet	evet
6	Üretim	iyi	iyi	iyi	İyi-ince	Orta-az	az
6	Damlama	yok	Çok az	Çok az	fazla	fazla	Çok fazla
6	Kesiklik	fazla	fazla	Çok az	Çok az	Çok az	Çok az
6	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet	evet
10	Üretim	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	İyi	Orta	Çok az
10	Damlama	yok	az	Çok az	fazla	fazla	Çok fazla
10	Kesiklik	Çok az	Çok az	yok	yok	fazla	Çok fazla
10	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet	evet

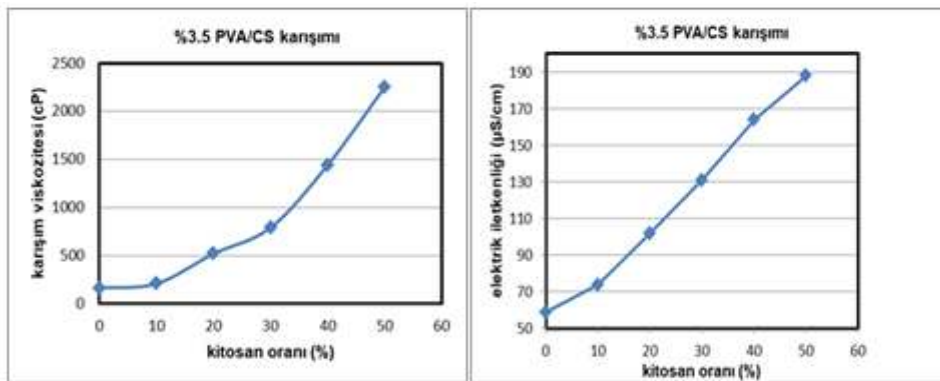
Tez çalışmasında uygulanmış her besleme debisindeki Kitosan oranı artmasıyla üretim verimliliği azalmıştır. Bununla birlikte damlama ve kesiklik durumları da daha fazla olmuştur ve özellikle PVA/CS:60/40 ve PVA/CS:50/50 oranındadır. Üretim verimliliğine göre 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ besleme debisi tercih edilmektedir.

Kitosan oranını artırmanın, polimerik karışımın özelliklerine etkisini incelemek için karışımın viskozitesi, yüzey gerilimi ve elektrik iletkenliği belirlenmiş ve Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. %3.5'lik PVA/CS karışımındaki elektrik iletkenliği, viskozitesi, yüzey gerilimi

PVA/CS (wt/wt)	Elektrik iletkenliği ($\mu\text{S/cm}$)	Viskozite (cP)	Yüzey gerilimi (mN/m)
100/0	59.56 ± 0.07	164 ± 25.27	30.04 ± 0.02
90/10	74.20 ± 0.14	209 ± 33.17	29.94 ± 0.04
80/20	102.5 ± 0.38	520 ± 37.77	29.96 ± 0.07
70/30	131.9 ± 0.61	792 ± 52.33	30.26 ± 0.10
60/40	164.2 ± 3.61	1444 ± 111.02	30.16 ± 0.24
50/50	188.2 ± 1.24	2253 ± 159.09	29.84 ± 0.31

Polimerik karışımındaki konsantrasyonu sabit tutulduğunda, ancak kitosan oranının artmasıyla, polimerik karışımın viskozitesi ve elektriksel iletkenliği artmışken yüzey geriliminde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Şekil 4.2'de şematik olarak, kitosan oranı ile karışım viskozitesi ve kitosan ile elektrik iletkenliği arasında ilişkilerini göstermektedir.



Şekil 4.2. Kitosan oranıyla değişen PVA/CS karışımın viskozitesi ve elektrik iletkenliği

4.1.3. Sabit PVA/CS Karışım Oranında Karışım Konsantrasyonu Ve Besleme Debisi Değişiminin Nanolif Eldesine Etkisi

Bu deney grubunda Kitosan ile PVA arasındaki karışım oranı sabit tutulmuş ve karışım konsantrasyonu ve besleme debisi değişken olarak belirlenmiştir. PVA/CS:70/30 sabit oran şeklinde olup, polimerik karışımın konsantrasyonu %2 wt, %3 wt, %3.5 wt, %4 wt, %5 wt ve elektrospinning şırınga besleme debisi ise 2, 6 ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ olarak değiştirilmiştir. Her numune için polimerik karışım 30 g sıvı olacak şekilde hazırlanmıştır. Çizelge 4.5’de ise farklı karışım konsantrasyonuna sahip nihai polimerik karışımı elde etmek için her numunede kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarını göstermektedir.

Çizelge 4.5. Farklı karışım konsantrasyonu için kullanılan Kitosan ve PVA malzemelerinin her biri için katı ve sıvı miktarı.

PVA/CS %wt	Konsantrasyon(%wt)	Katı madde (g)	Çözelti(g)
PVA/CS %5’lik	%2 Kitosan	0.45	22.5
	% 14 PVA	1.05	7.5
	Toplam	1.5	30
PVA/CS %4’lük	%2 Kitosan	0.36	18
	%7 PVA	0.84	12
	Toplam	1.2	30
PVA/CS %3.5’lik	%2 Kitosan	0.315	15.75
	%5.16 PVA	0.735	14.25
	Toplam	1.05	30
PVA/CS %3’lük	%2 Kitosan	0.27	13.5
	%3.8 PVA	0.63	16.5
	Toplam	0.9	30
PVA/CS %2’lik	%2 Kitosan	0.18	9
	%2 PVA	0.42	21
	Toplam	0.6	30

PVA/CS polimerik karışımının konsantrasyonu arttığında, PVA'nın konsantrasyonu da yükselmiştir. Bunula birlikte %2 wt sabit konsantrasyonu olan kitosanın sıvı ve katı miktarının arttığı görülmüştür. Sabit ve değişken bu seçimlerle elde edilen her bir nanolif numunesinin üretim verimliliği Çizelge 4.6'de görülebilir.

Çizelge 4.6. PVA/CS:70/30 sabit karışımın oranında, karışımın konsantrasyonu ve besleme debisiyle değişiminin nanolif verimliliğine etkisi

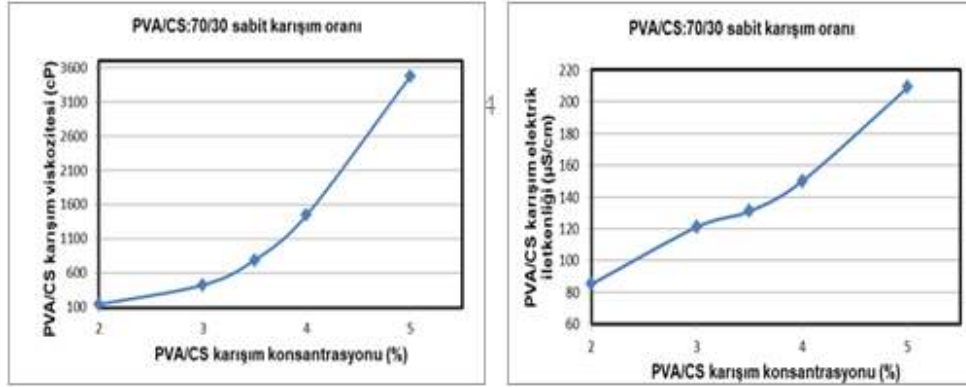
Besleme debisi µL/dk	PVA/ CS	%2	%3	%3.5	%4	%5
2	Üretim	Çok az-yok	Çok az	Çok az	az	orta
2	Damlama	yok	az	az	fazla	az
2	Kesiklik	az	Çok fazla	fazla	fazla	az
2	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet
6	Üretim	Çok az	Çok az	az	az	İyi
6	Damlama	Çok az	fazla	fazla	fazla	Çok fazla
6	Kesiklik	Çok az	Çok fazla	fazla	Çok fazla	fazla
6	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet
10	Üretim	Çok az	Çok az	Orta	İyi	İyi
10	Damlama	Çok fazla	az	az	Çok az	Çok fazla
10	Kesiklik	fazla	fazla	fazla	Çok az	Çok fazla
10	Tek jet	evet	evet	evet	evet	evet
10	Viskozite	Düşük	iyi	iyi	Çok iyi	fazla
10	Yüzey gerilimi	iyi	iyi	iyi	fazla	Çok yüksek

Tez çalışmasında uygulanmış her besleme debisindeki PVA/CS karışımın konsantrasyonu artmasıyla üretim verimliliği yükselmiştir. Üretim verimliliğine göre 10µL/dk besleme debisi tercih edilmektedir. Farklı polimerik konsantrasyonunda, Kitosanın katı ve sıvı oranını artırmanın polimerik karışımın özelliklerine etkisini incelemek için karışımın viskozitesi, yüzey gerilimi ve elektrik iletkenliği belirlenmiş ve Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7. PVA/CS:70/30 karışımındaki elektrik iletkenliği, viskozite, yüzey gerilimi

PVA/CS (%wt)	Elektrik iletkenliği (µS/cm)	Viskozite (cP)	Yüzey gerilimi (mN/m)
%2	85.60 ± 0.78	145.5 ± 6.790	29.99 ± 0.02
%3	121.4 ± 1.49	428.4 ± 19.32	29.90 ± 0.07
%3.5	131.9 ± 0.61	792.0 ± 52.33	30.62 ± 0.24
%4	150.8 ± 2.29	1449 ± 99.38	29.50 ± 1.50
%5	209.3 ± 0.85	3473 ± 202.7	29.45 ± 0.57

Polimerik, karışımın konsantrasyonunun artması sonucu olarak karışımın kitosan oranının artması söylenebilir ve bu artmasıyla, polimerik karışımın viskozitesi ve elektrik iletkenliği artarken, yüzey geriliminde önemli bir değişiklik gözlenmiştir. Şekil 4.3'te şematik olarak, PVA/CS karışım konsantrasyonu ile karışım viskozitesi ve PVA/CS karışım konsantrasyonu ile elektrik iletkenliği arasında ilişkilerini göstermektedir.



Şekil 4.3. Farklı karışım konsantrasyonu ile değişen PVA/CS karışımının viskozitesi ve elektrik iletkenliği

Sonuç olarak PVA/CS karışımında, gerek kitosan oranındaki bir artışla (Koosha ve Mirzadeh, 2015), gerekse polimer karışımının konsantrasyonundaki bir artışla (Paipitaka ve ark., 2011), PVA/CS polimer karışımının viskozitesinde ve iletkenliğinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni, katyonik bir yapıya ve yüksek viskoziteye sahip olan kitosan'ın, polimer karışımının özelliklerini üzerinde büyük bir ölçüde etkisinin olduğunu göstermektedir.

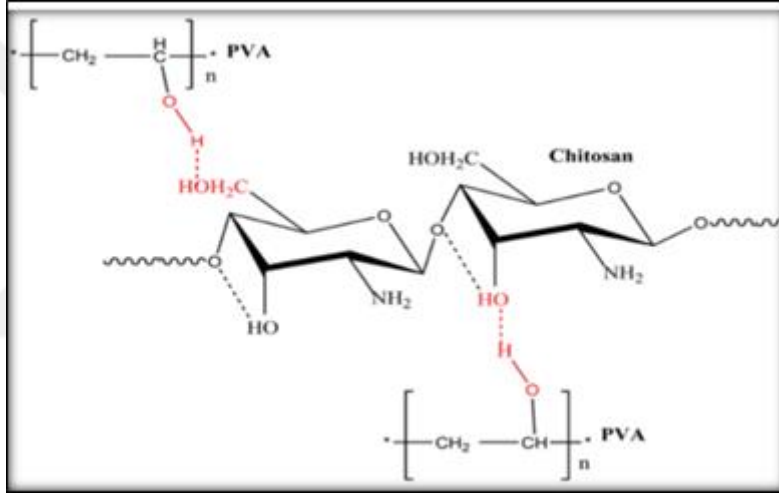
Besleme debisinin (2 µL/dk)'den (10 µL/dk)'ya yükselmesiyle birlikte, nanoliflerin üretkenliği önemli ölçüde artmış, ancak polimerik karışımdaki kitosan oranı da önemli bir rol oynamıştı, çünkü yüksek besleme debisine rağmen, Polimerik karışımdaki kitosan oranı, nanoliflerin üretkenliğinde açık bir düşüşe yol açmıştır (Çizelge 4.3). Karışımın konsantrasyonu değişimine gelince ve kitosan oranı sabit tutulduğunda, düşük konsantrasyonlu karışımlar her hangi bir debide az bir üretim olmuştur. Karışımın konsantrasyonu artmasıyla nanolif üretimi iyileşmiştir (Çizelge 4.6). Kitosanın, PVA/CS karışımında oynadığı rolü belirlemek için karışım içinde en fazla kitosan miktarını sıvı ve katı halde içeren bir nanolif numunesi seçilmiş olup, bu da PVA/CS30K5-10 özet olarak, PVA/CS:70/30-%5 yazılmıştır (bkz: sayfa 41). Bu numune üzerinde FTIR ve XRD testleri gerçekleştirilmiş ve tamamen kitosan içermeyen PVA%5 kodlanmış numune ile karşılaştırılmıştır.

Elde edilen tüm nanolif numunler üzerinde SEM ananlizi gerçekleştirilmiştir ve burada bu testlerden bahsedilmiştir.

4.1.4. PVA/CS Nanolif Üzerinde Yapılan Analizler

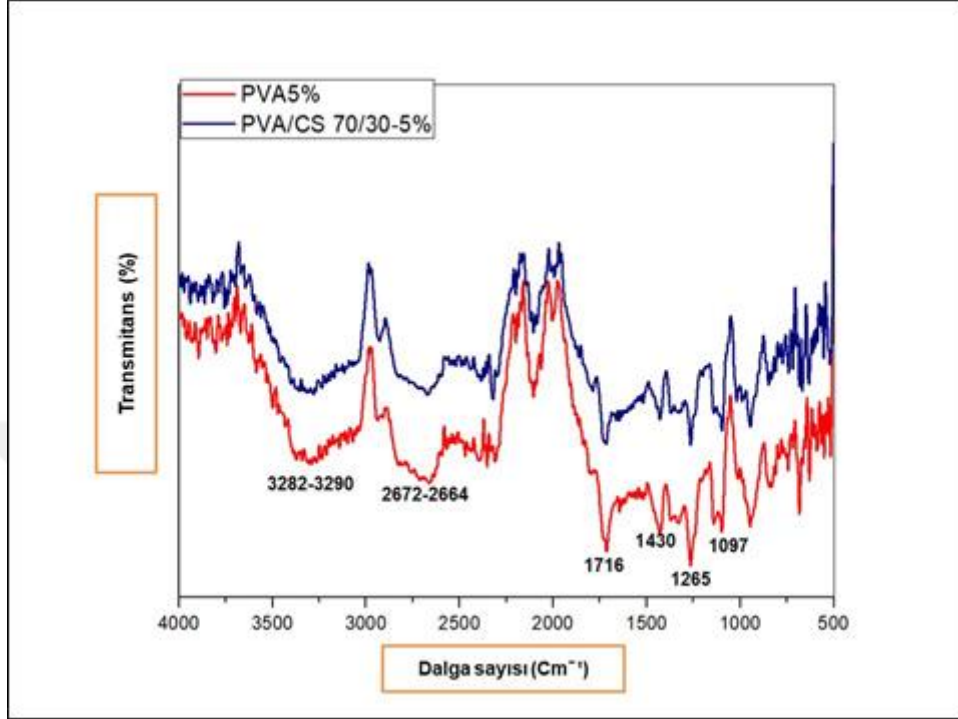
4.1.4.1. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

Kitosan ve PVA iki maddenin arasındaki güçlü hidrojen kimyasal bağları nedeniyle, nanolif teknolojisinde birbirine uyumlu maddeler sayılmaktadır. Şekil 4. 4'de kitosan ve PVA arasındaki hidrojen bağlarını göstermektedir.



Şekil 4.4. Kitosan ve PVA kimyasal yapısındaki hidrojen bağları (Mei ve ark., 2019)

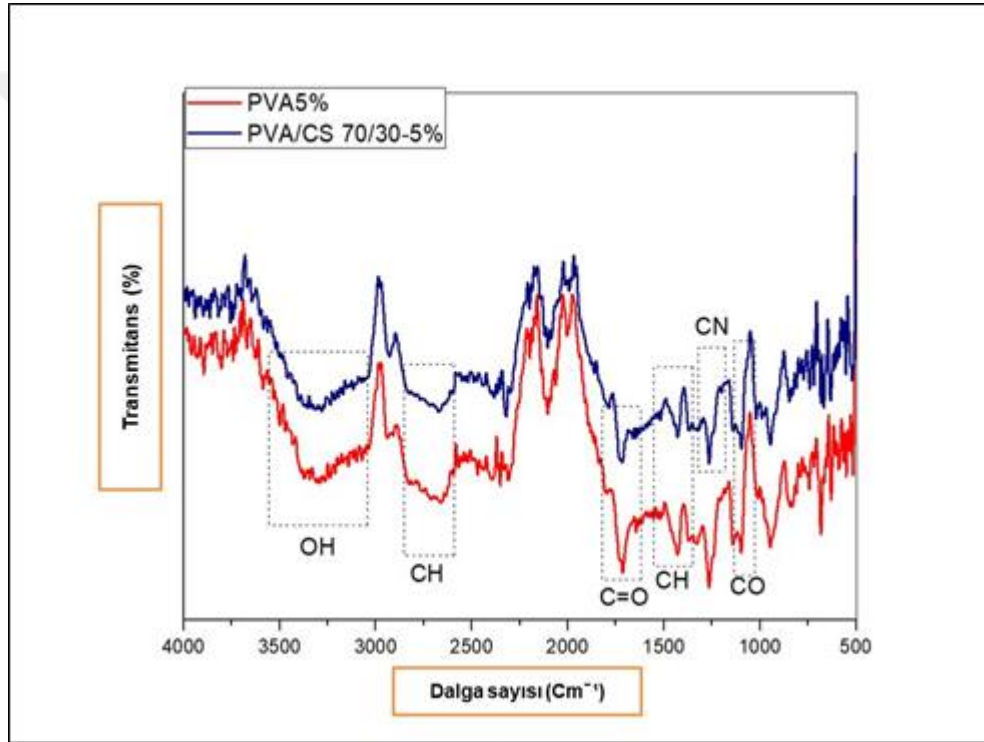
Nanolif numuneler üzerinde yapılan FTIR testlerine göre Şekil 4.5 'de gösterildiği gibi aşağıdaki pikler ve fonksiyonel gruplar belirlenmiştir. Önceden söylendiği gibi, farklı numuneden iki numune seçilip karşılaştırılmıştır. Bu iki numune %5wt saf PVA (PVA%5) nanolif ve en yüksek kitosanın miktarı içeren numune PVA/CS: 70/30-%5 dir.



Şekil 4.5. FTIR analizi PVA/CS:70/30-%5 ve PVA%5 numuneler

PVA/CS:70/30-%5 karışımındaki nanolif ile ilgili $3090\text{--}3610\text{ cm}^{-1}$ arasında geniş bir bağ bölgesi görülmüştür ve bu bölge NH ve OH gruplarındaki polisakarid moleküllerinin gerilmesi atanmıştır. PVA%5 numunede dalga sayısındaki 3290 cm^{-1} görülen pik OH grubun gerilmesini gösterirken, PVA/CS numunesinde bu pik 3282.25 cm^{-1} dalga sayısında gözlenmektedir. Bu pikin yüksekliğinde farkedilen azalmayı, kitosan ve PVA karışımındaki oluşan hidrojen bağlarına işaret etmektedir (Koosha ve ark., 2015). PVA/CS numunede, 2672.86 , 1265.07 , 1096.33 cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla alifatik CH gruplarının gerilmesini ve CN ve CO gruplarının bükülmesini gösterirken, bu gruplar PVA numunesinde 2664.18 , 1265.07 , 1098.26 cm^{-1} dalga sayılarında sırasıyla gözlenmektedir. -CH₂ sallanma bandı PVA/Cs numuesi için 719.32 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. PVA/CS nanoliflerin CH-OH grubun titreşimi 1429.96 cm^{-1} dalga sayısında gözlenirken, PVA numunede

1430.92 cm^{-1} görülmektedir. Şöyle PVA ve kitosan arasındaki hidrojen bağlarının oluşumunun başka bir kanıtı olarak kabul edilir. PVA nanolif, tekrarlanan vinil asetat ünitelerinin C = O gruplarının gerilme titreşimi ile ilgili 1715.37 cm^{-1} 'deki pik tespit edilirken, PVA/CS numunede ise, 1716.34 cm^{-1} 'de görülebilmektedir. Şekil 4.6'de FTIR analizi üzerinde PVA ve kitosan kimyasal yapısında temel grupları gösterilmiştir.



Şekil 4.6. FTIR analizinde PVA%5 ve PVA/CS:70/30-%5 numunelerde temel grupları

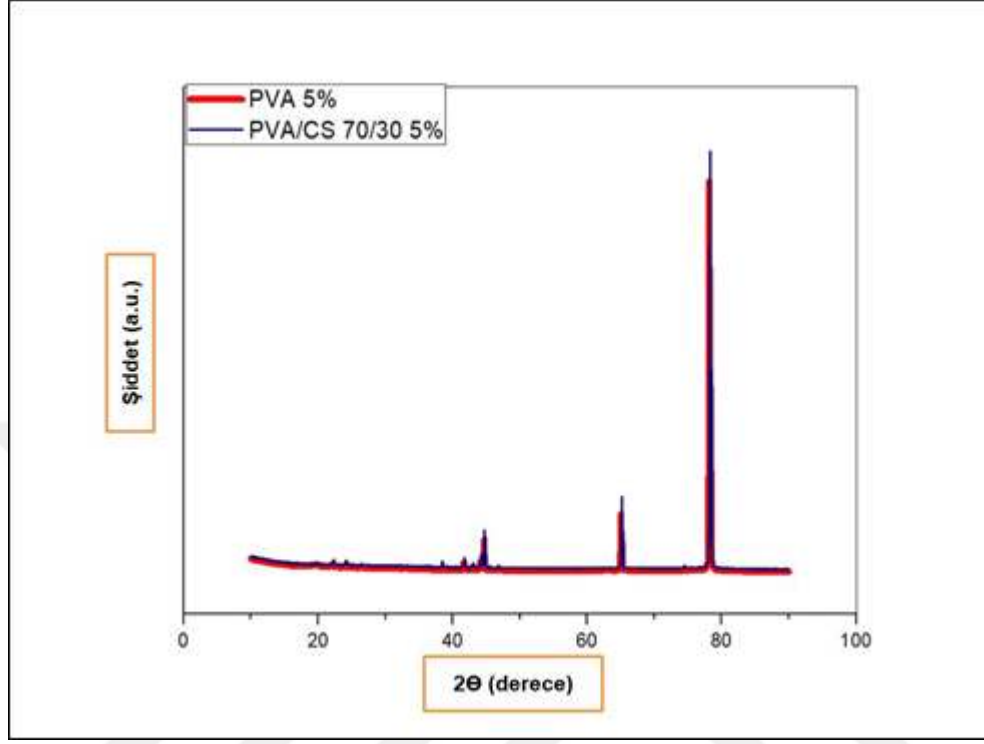
4.1.4.2 . XRD (X-Ray Diffraction) Analizi

X ışını kırınımı, polimerlerin kristalleşmesini analiz etmek için yararlı bir teknik olup, Elektrospinning işleminin, PVA ve kitosan karışımının nanolifin kristalleşmesi üzerindeki etkisini incelemek için yapılmıştır. Bu testten alınan

sonuçlarla, iki karıştırılan madde birbirine ne kadar uyumlu bir şekilde dağıtabilmiştir. Aynı zamanda karışımın termal stabiletisine ön fikri verebilmektedir. Önceki birçok çalışmada, elektrospinning sürecini gerçekleştirmeden önce hem Kitosan hem de PVA'nın katı halindeki kristal yapısının daha yüksek ve moleküler zincirlerin daha düzenli olduğu kanıtlanmıştır (Koosha ve ark., 2015 : Mei ve ark., 2019 : Pangong ve ark., 2016 : Habiba ve ark., 2017).

Diğer çalışmalarda, yüksek voltajlı elektrik alanından dolayı, iğneden çıkan polimerik sıvının yüksek uzamasını engeller ve bununla birlikte yüksek çözücü buharlaşma hızının, daha uzun süre gerektiren polimerik moleküllerinin zincirlerini etkilediğini göstermiştir. Bu iki sebepten dolayı PVA ve kitosan nanolif şeklinde daha az kristal yapısına sahip bir maddedir (Koosha ve ark., 2015). Başka çalışmalara göre daha az kristal yapısına sahip nanolif halinde PVA ve kitosan, iki maddenin katı halindeki kıyasla hidrojen bağları nedeniyle atfedilebilmektedir (Mei ve ark., 2019 : Habiba ve ark., 2017).

PVA%5 ve PVA/CS:70/30-%5 karışımından oluşan nanolifleri test ederken, aşağıdaki sonuçlar belirtilmiştir; PVA5% numunede, 45 °, 65 °, 79 ° 'de temel zirveler gözlemlenmiştir. Kitosan içeren numuneyi incelerken (PVA/CS:70/30-%5), PVA%5 numunesi ile büyük bir eşleşme vardır ve pikler aynı açılarda gözlenmiş olup zirvelerde hafif bir artış ile kristal yapıda olduğu söylenebilir (Şekil 4.7). PVA/CS numunede küçük pikler de 22 °, 24 °, 38 ° 'de gözlemlendi, bu da kitosanın PVA nanoliflerin kristal yapısı üzerindeki etkisinin pozitif olduğu anlamına gelir ki, önemli değişiklikler olmadığı ve kitosan moleküllerinin PVA moleküllerin arasında uyumlu bir şekilde dağıtıldığı görülmüştür.



Şekil 4.7. XRD analizi PVA %5 ve PVA/CS :70/30-%5 nanolifler

4.1.4.3. Sabit Karışım Konsantrasyonunda Farklı Karışım Oranı ve Farklı Besleme Debisi İle Üretilen PVA/CS Nanoliflerin Scanning Electron Microscopy (SEM) Analizi

Bu çalışmada, nanolifler, Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak ve farklı karıştırma oranların, farklı besleme debilerin ve farklı konsantrasyonların uygulanmasına dayanan deneysel modellere göre ortalama çapları ve düğüm (boncuk) varlığı açısından değerlendirilmiştir.

İlk yaklaşıma göre, karışım oranlarının ve besleme debisinin değişmesi ile (%3.5wt) sabit konsantrasyonlu PVA/CS polimerik karışımından kaynaklanan nanoliflerin çapı ölçülmüştür. Ancak (2µL/dk) besleme debisi olan numuneler çok az ve bazen yok üretimi nedeniyle bu çalışmadan kaldırılmıştır ve sadece (6,10 µL/dk) besleme debisi olan numuneleri gözlenmiştir. Dikkatli ortalama

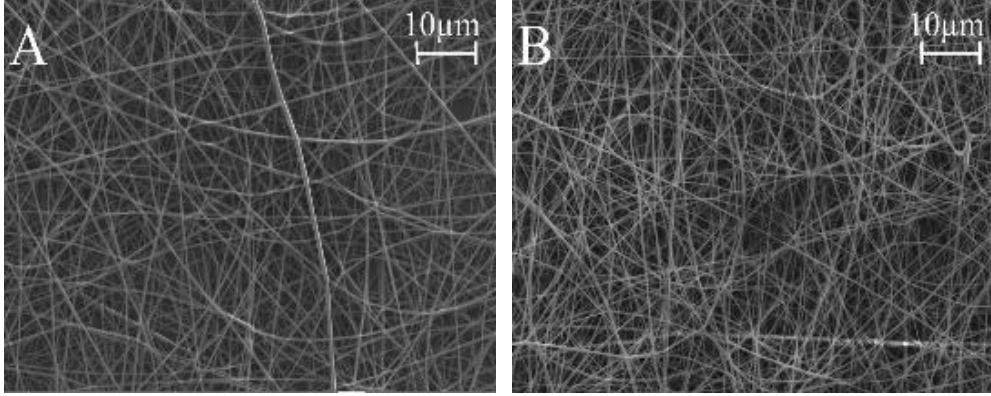
çapını elde etmek için, her numune için (40-60 kez) çap ölçümü yapılmış olup, Çizelge 4.8’de nanoliflerin ortalama çapı gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. %3.5 wt sabit konsantrasyonda karıştırma oranı ve besleme debisine göre PVA/CS ortalama nanolif çapları [nm]

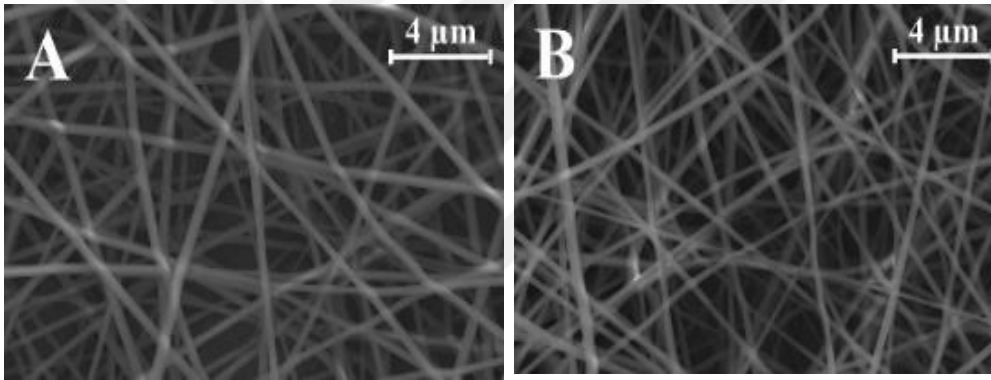
Besleme debisi ($\mu\text{L/dk}$)	PVA/CS (wt/wt)					
	100/0	90/10	80/20	70/30	60/40	50/50
6	399 $\pm$ 61	136 $\pm$ 39	131 $\pm$ 29	123 $\pm$ 34	120 $\pm$ 36	120 $\pm$ 29
10	413 $\pm$ 63	148 $\pm$ 39	138 $\pm$ 31	135 $\pm$ 38	130 $\pm$ 32	130 $\pm$ 36

Görüldüğü gibi, 6 $\mu\text{L/dk}$ besleme debisinde, saf PVA numunedeki çapının ortalaması 399 nm’den ve kitosan eklenmesiyle çapları azalmaya başlamıştır. En küçük çap, 120 nm ve PVA/CS:50/50 numunede tespit edilmiştir. Aynı sonuç 10 $\mu\text{L/dk}$ debide elde edilmiştir. Kitosan eklenmesiyle liflerin çapı (413 nm)’den (130 nm)’ye kadar azalmıştır. Bu nedenle, nanoliflerde kitosan oranı artmasının ortalama nanolif çaplarında azalmaya katkı sağladığı bulunmuştur. Kitosan oranı artmasıyla PVA/CS çözeltinin viskozitesi artmasına rağmen (Çizelge 4.4) gibi, ancak ortalama çaplarda artış yerine azalma gözlenmiştir. Bu durum kısmen PVA ile kitosan arasında güçlü hidrojen bağlarının oluşmasıyla, kısmen de katyonik yapıya sahip kitosan ilavesinden dolayı elektroegirme çözeltilerinin yüksek elektrik iletkenliği ile açıklanabilir (Paipitak ve ark., 2011; Koosha ve ark., 2015). Fark edildiği gibi besleme debisi (6 $\mu\text{L/dk}$) debiden (10 $\mu\text{L/dk}$) debiye artmasıyla her karışım oranında PVA/CS lifler çapının artması görülmüştür. Nanoliflerin genel şeklini göstermek için 5kX büyütmede (10 μm) ölçümü ve ortalama nanoliflerin çapı için 20 kX büyütmede (4 μm) ölçümü kullanılarak analiz edilmiştir.

Şekil (4.8) 5kXbüyütmede gösterdiği gibi PVA/CS0-6 ve PVA/CS0-10 ve Şekil (4.9) 20 kX büyütmede, Kitosan içermeyen numunelerde elde edilen boncuksuz ve düzgün nanolifler söylenebilir.

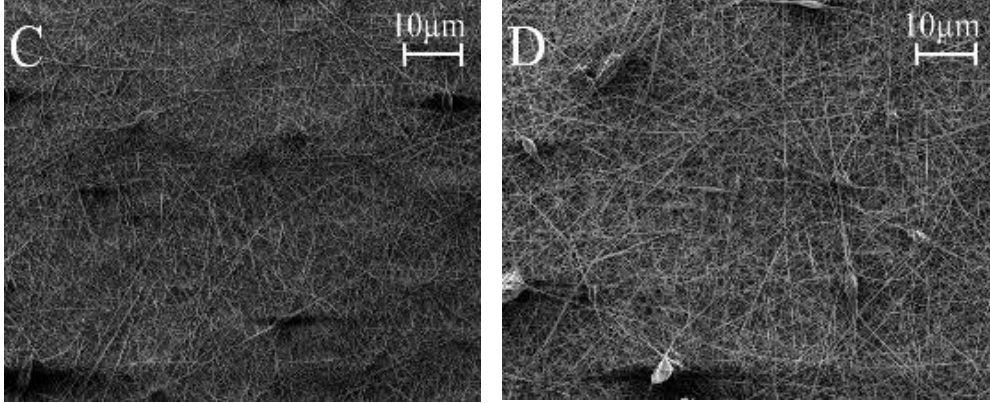


Şekil 4.8. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede A) PVA/CS0-6
B) PVA/CS0-10

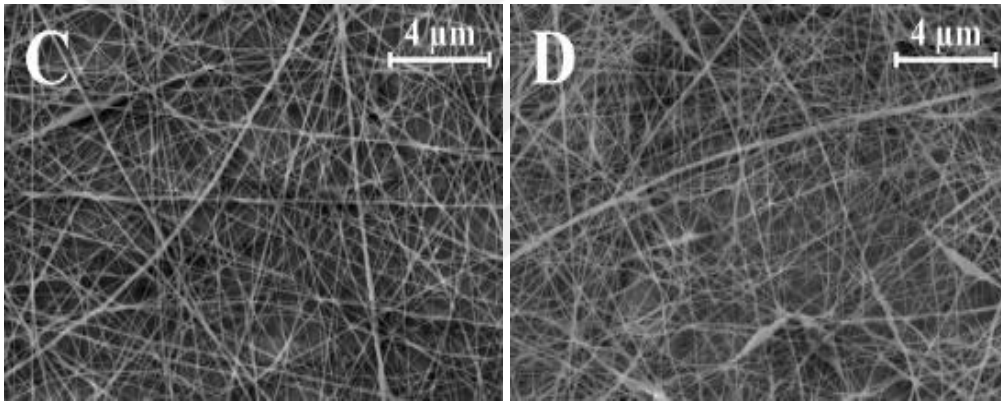


Şekil 4.9. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede A) PVA/CS0-6
B) PVA/CS0-10

Kitosan eklemeye başlandığında daha ince nanolifler fark edilmiş ve boncuklar çıkarmaya başlamıştır. Şekil 4.10'de ve Şekil 4.11'de karışımdaki kitosan oranı (10) ve iki besleme debisinde boncuklar görülebilir.

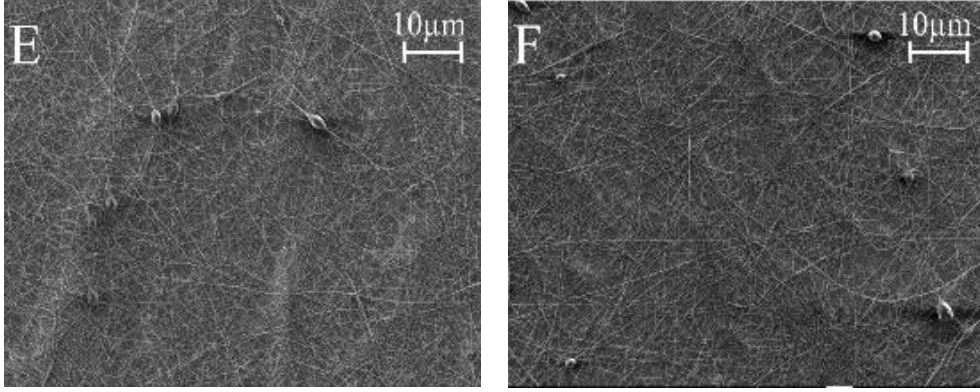


Şekil 4.10. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede C) PVA/CS10-6 D) PVA/CS10-10

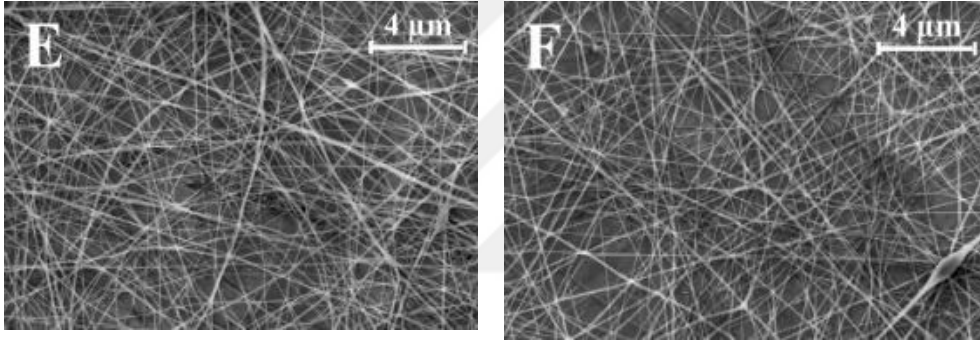


Şekil 4.11. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede C) PVA/CS10-6 D) PVA/CS10-10

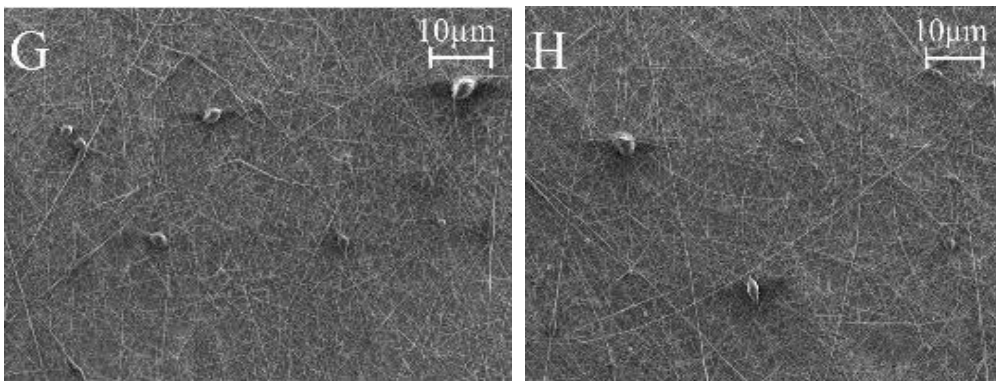
Kitosan oranı (%20) ve (%30) değere kadar artmasıyla daha ince nanolif ve daha fazla boncuk çıkarmaya devam etmiştir. Ancak, düzgün ve az boncuklu PVA/CS nanolifler elde edilebilmiştir. Şekil 4.12-15 PVA/CS20 ve PVA/CS30 farklı besleme debisinde elde edilen lifleri gösterir.



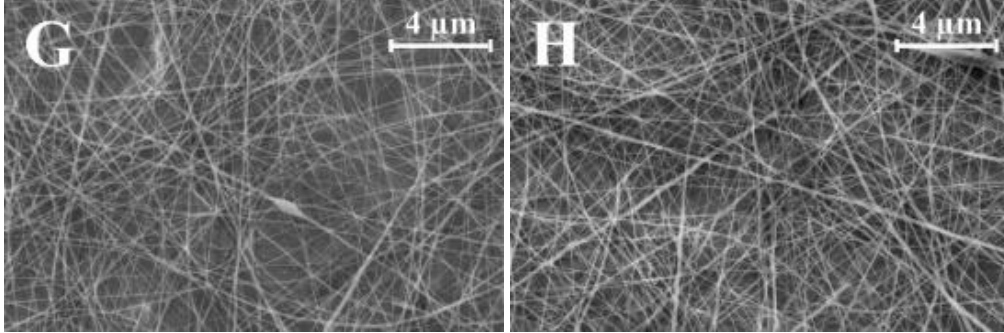
Şekil 4.12. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede E) PVA/CS20-6
F) PVA/CS20-10



Şekil 4.13. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede E) PVA/CS20-6
F) PVA/CS20-10

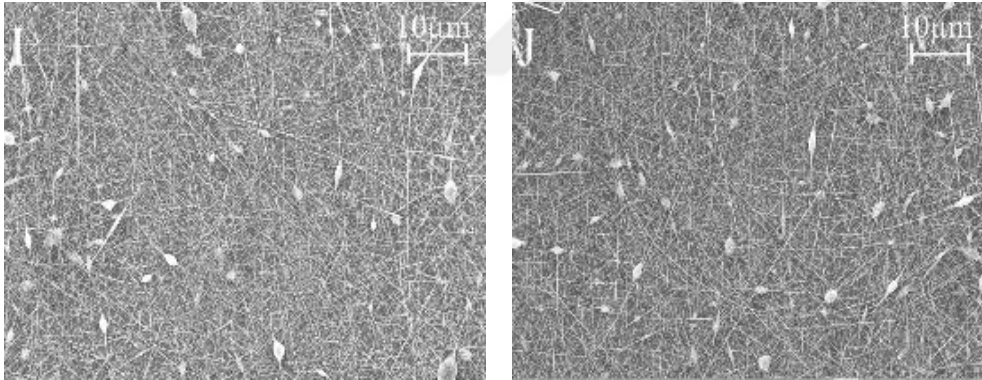


Şekil 4.14. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede G) PVA/CS30-6
H) PVA/CS30-10

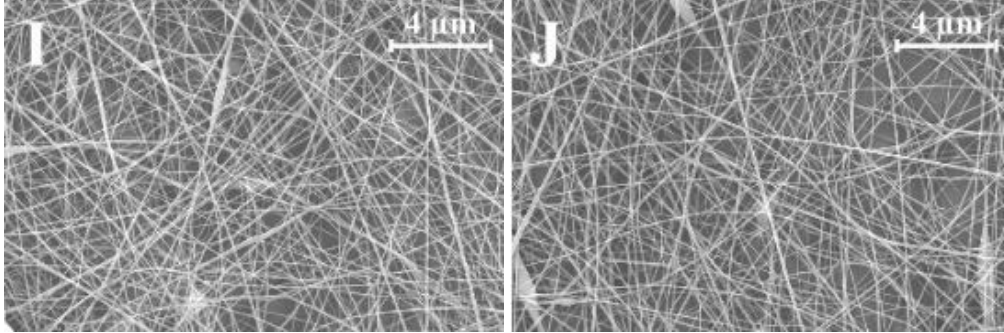


Şekil 4.15. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede G) PVA/CS30-6
H) PVA/CS30-10

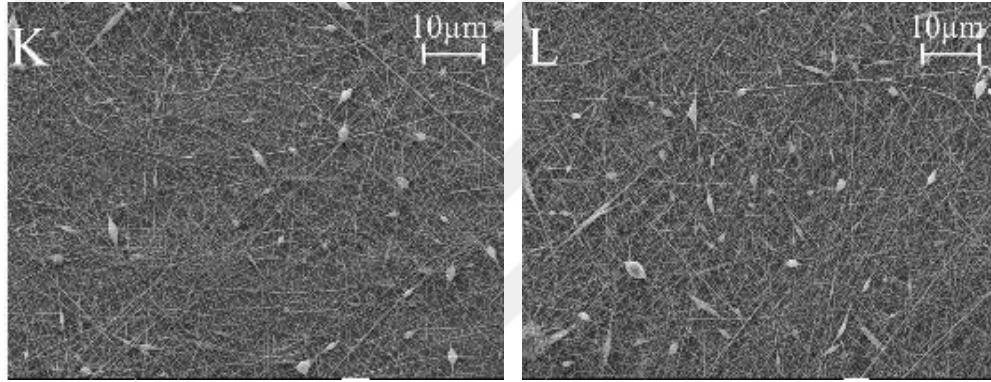
Karışımındaki kitosan oranı (40) ve (50) değere devam etmekle bocukların baskın yaptığı görülür. Böylece yüksek kitosan oranla düzgün nanolif elde edilemez ve çok boncuklu ince nanolif ağı denebilir. Şekil 4.16-19 PVA/CS40 ve PVA/CS50 farklı besleme debisinde gösterir.



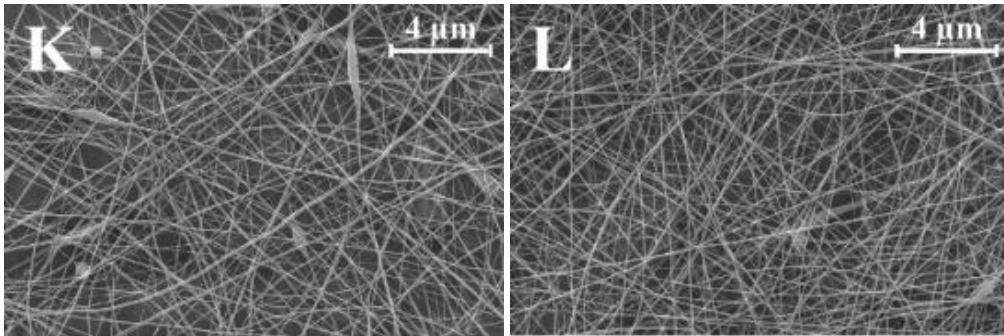
Şekil 4.16. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede I) PVA/CS40-6
J) PVA/CS40-10



Şekil 4.17. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede I) PVA/CS40-6
J) PVA/CS40-10

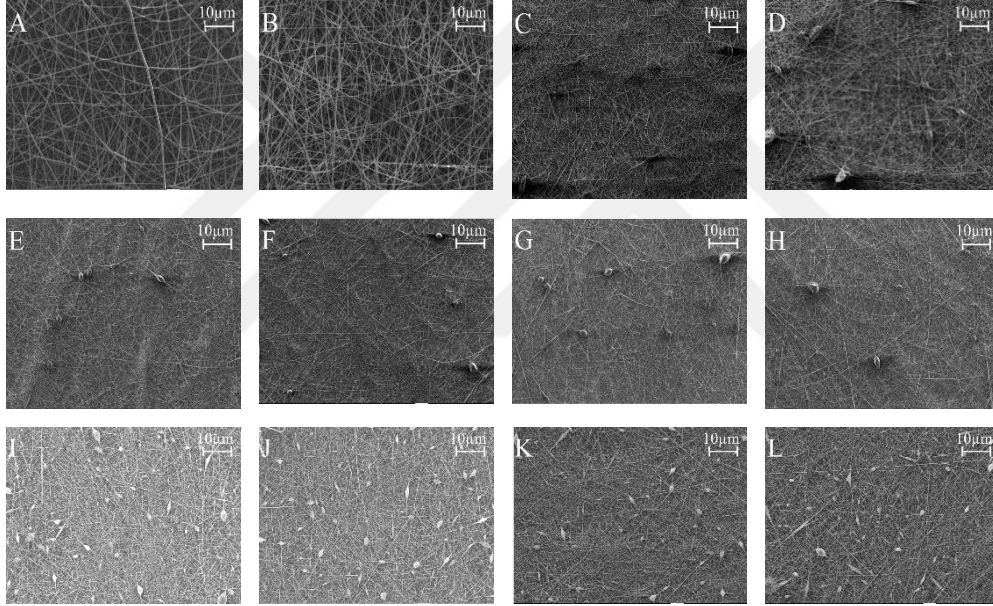


Şekil 4.18. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 5kX büyütmede K) PVA/CS50-6
L) PVA/CS50-10

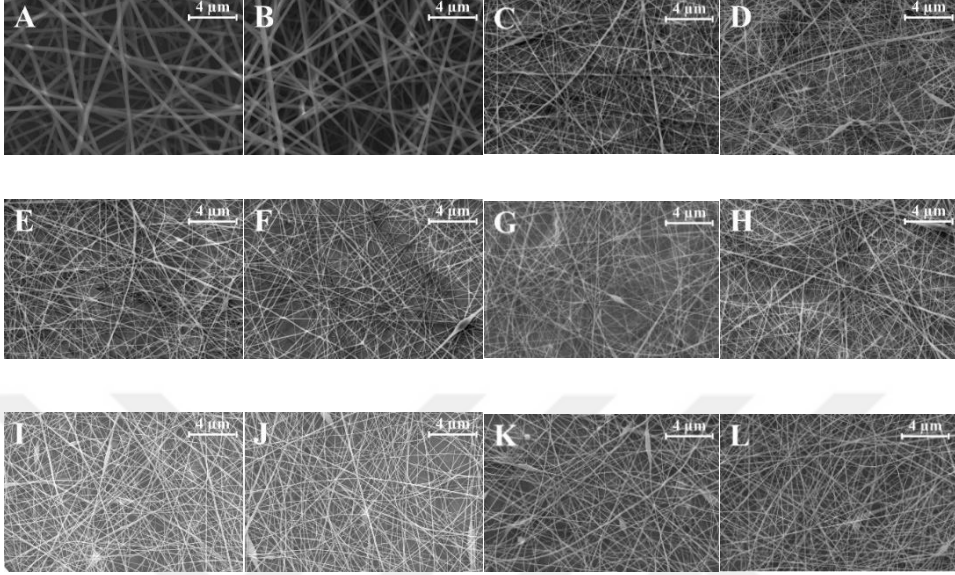


Şekil 4.19. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda 20kX büyütmede K) PVA/CS50-6
L) PVA/CS50-10

Şekil 4.20, 5kX büyütmede ve Şekil 4.21, 20kX büyütmede tüm nanolif numune yanyana yerleştirilmiştir. Şu şekilde karşılaştırma daha kolay olur ve boncuklar ile ince nanoliflerin görünmeye başlaması fark edilebilir. Nanoliflerin çapı küçüldükçe boncuklar oluşmaya başlamıştır. Polimerik karışımda kitosanın en düşük yüzdesinde düğüm görülmeye başlandı ve kitosan oranının artmasıyla bu boncukların miktarı da artmıştır. PVA/CS40-6, PVA/CS40-10, PVA/CS50-6 ve PVA/CS50-10 numunelerde, başka nanoliflerle karşılaştırıldığında yüksek bir kitosan yüzdesi bu boncukların oluşturulduğu açıkça gözlemlenmiştir.



Şekil 4.20. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda nanolifin 5kX SEM analizi ile şekilleri A) PVA/CS0-6, B) PVA/CS0-10, C) PVA/CS10-6, D) PVA/CS10-10, E) PVA/CS20-6, F) PVA/CS20-10, G) PVA/CS30-6, H) PVA/CS30-10, I) PVA/CS40-6, J) PVA/CS40-10, K) PVA/CS50-6, L) PVA/CS50-10.



Şekil 4.21. %3.5 wt Sabit konsantrasyonda nanolifin 20 kX SEM analizi ile şekilleri A) PVA/CS0-6, B) PVA/CS0-10, C) PVA/CS10-6, D) PVA/CS10-10, E) PVA/CS20-6, F) PVA/CS20-10, G) PVA/CS30-6, H) PVA/CS30-10, I) PVA/CS40-6, J) PVA/CS40-10, K) PVA/CS50-6, L) PVA/CS50-10.

4.1.4.4. Sabit PVA/CS Karışım Oranı İle Karışımın Konsantrasyonu ve Besleme Debisi Değişiminden Üretilen Nanoliflerin Scanning Electron Microscopy (SEM) Analizi

Sabit tutulmuş PVA/CS:70/30 polimerik karışımı ve % 2,% 3,% 3.5,% 4 ,% 5 w/w şeklinde farklı karışımın konsantrasyonu ve besleme debisiyle elde edilen nanoliflerin ortalama çapları Çizelge 4.9’de gösterilmiştir. Yürütülen karışımın konsantrasyonu şeklindedir.

Çizelge 4.9. Sabit oranla PVA/CS:70/30 karışım konsantrasyonu ve debiye göre PVA/CS ortalama nanolif çapları [nm]

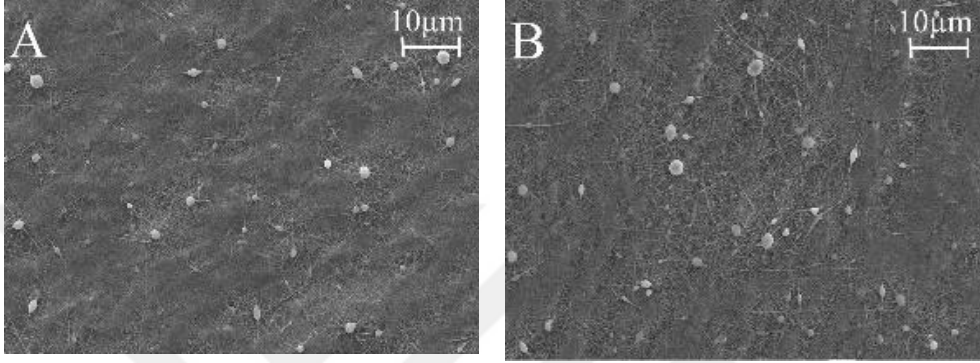
Besleme debisi ($\mu\text{L/dk}$)	Karışım konsantrasyonu (%wt) PVA/CS:70/30				
	2	3	3.5	4	5
6	102 $\pm$ 25	103 $\pm$ 26	123 $\pm$ 34	145 $\pm$ 50	187 $\pm$ 54
10	113 $\pm$ 29	114 $\pm$ 27	135 $\pm$ 38	150 $\pm$ 41	203 $\pm$ 54

Çizelge 4.9 gibi elde edilen veriler incelendiğinde, PVA/CS polimerik karışım konsantrasyonundaki artışla nanoliflerin çaplarında bir artışa yol açtığı fark edilmiştir. Bu iki nedenle açıklanabilir: İlk olarak, PVA/CS:70/30 oranı değişmese de, artan çözelti konsantrasyonu ile PVA konsantrasyonu da artmıştır (Çizelge 4.1.5). Kitosansız PVA numunesi, daha kalın nanoliflerle sonuçlanmıştı, dolayısıyla ortalama çaplar büyüktür, bunun aksine ilk yaklaşımda (Çizelge 4.1.2)'göre polimerik karışımın konsantrasyonu (% 3.5wt) olarak sabitlendiğinde ve kitosan oranlarının artmasıyla, PVA'nın konsantrasyonlarının arttığı da söylenebilir, ancak ondan katı ve sıvı miktarının azaldığı görülmüştür. Bu nedenle liflerin çapı kitosan oranı artmasıyla incelenmişti. Yani PVA miktarı artmasıyla nanolif çapı artar ve bu PVA artması karışımın konsantrasyonu yükseldikçe gerçekleştirilir ancak konsantrasyon sabit tutulduğunda PVA miktarının artması söylenmez. İkinci olarak, karışım konsantrasyonu yükseldikçe çözelti viskozitesinde bir artış olmuştur (Çizelge 4.1.7) ve bu doğrudan daha kalın nanoliflerle ilgiliydi.

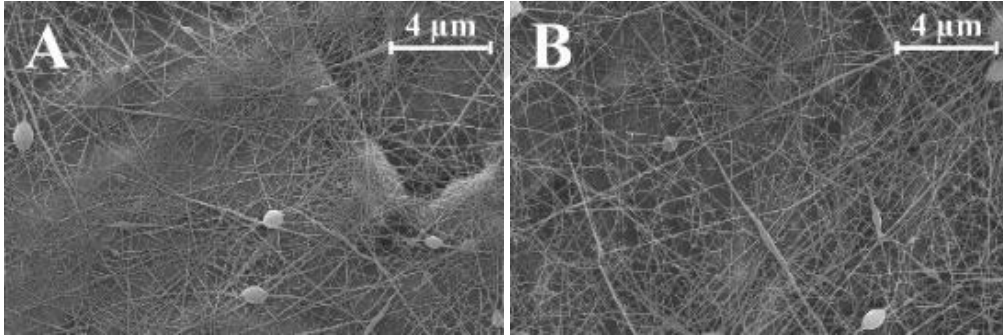
Böylece, PVA/CS:70/30 karışım oranının sabitlenmesiyle polimerik karışımın konsantrasyonu arttığında ve kitosanın katı ve sıvı miktarındaki artışa rağmen PVA'nın özelliklerinin baskın olduğunu gösterir. Karışımın konsantrasyonu arttıkça kalınlaşan nanoliflerin elde edilmesi söylenebilmektedir.

Önceki grubun (ilk yaklaşım) sonuçlarına benzer bir şekilde besleme debisinin artmasıyla birlikte nanoliflerin çapları da artmıştır. Liflerin genel morfolojisini 5kX büyütmede (10 μm) ölçümü ve ortalama nanoliflerin çapı için 20 kX büyütmede (4 μm) ölçümü kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 4.22-31, farklı

konsantrasyon ile elde edilen nanolif morfolojisi gösterilmiştir. Şekil 4.1.22’de %2wt az karışım konsantrasyonundan çok ince ve fazla boncuk içeren nanolif ağı elde edilmiştir, bu konsantrasyon ile düzgün ve birbirinden ayrı nanolif uygulanamadığı görülmüştür.

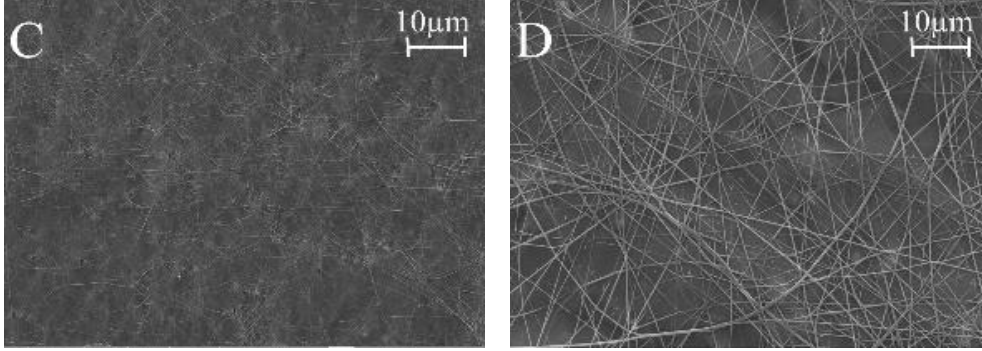


Şekil 4.22. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 2 wt- 6 µL/dk, B)% 2 wt-10 µL/dk

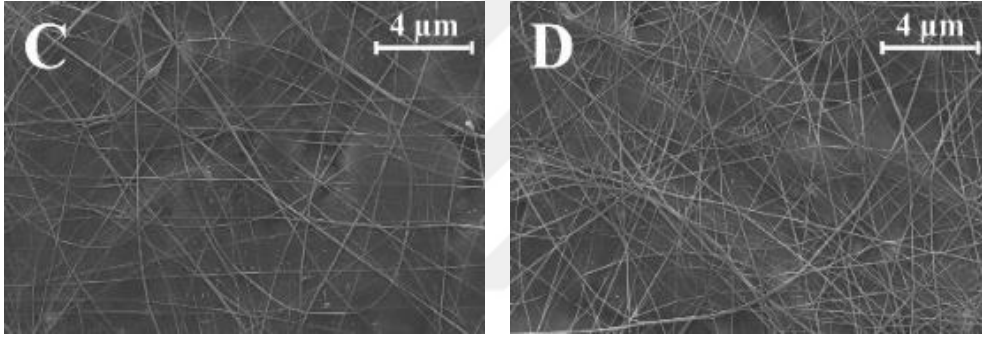


Şekil 4.23. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %2 wt - 6 µL/dk, B) %2 wt-10 µL/dk

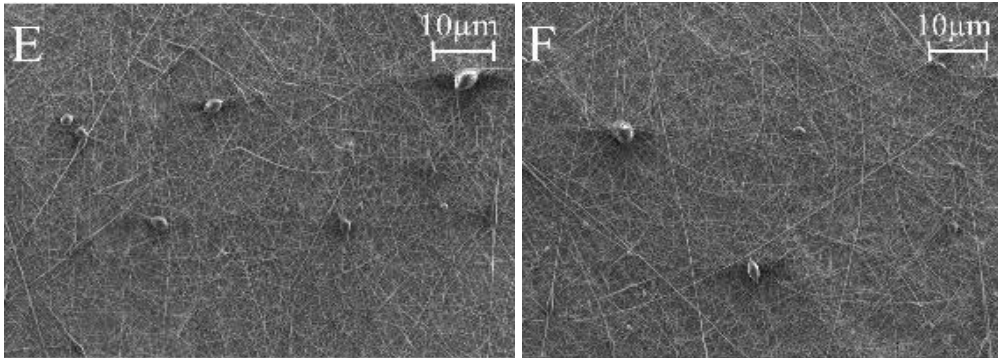
Karışımın konsantrasyonu %3 wt ve %3.5 wt artmasıyla nanolif morfolojisi iyileşmeye başlamıştır. Nanolif önceki gibi ağı şeklini almadı ve birbirinden ayrı nanolif oluşması söylenebilir. Boncuklar çıkmasına rağmen ancak önceki konsantrasyondan çıkan boncukların sayısı gibi değil ve daha az. Şekil 4.24-27, %3wt ve %3.5wt konsantrasyondan elde edilen nanolifler gösterilmiştir.



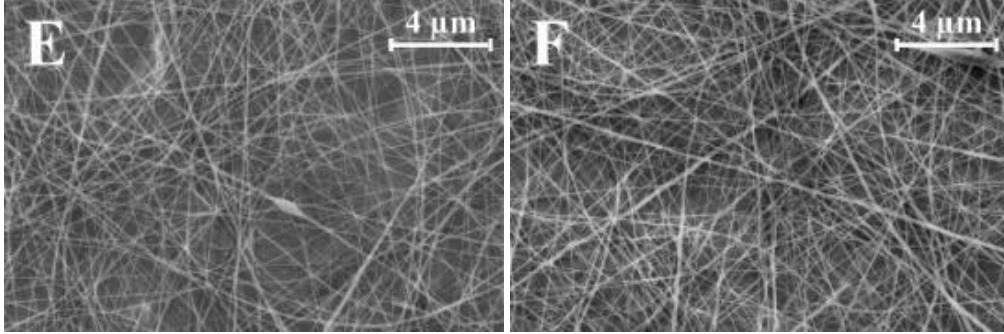
Şekil 4.24. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 3 wt- 6 µL/dk, B)% 3 wt-10 µL/dk



Şekil 4.25. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %3 wt - 6 µL/dk, B) %3 wt-10 µL/dk

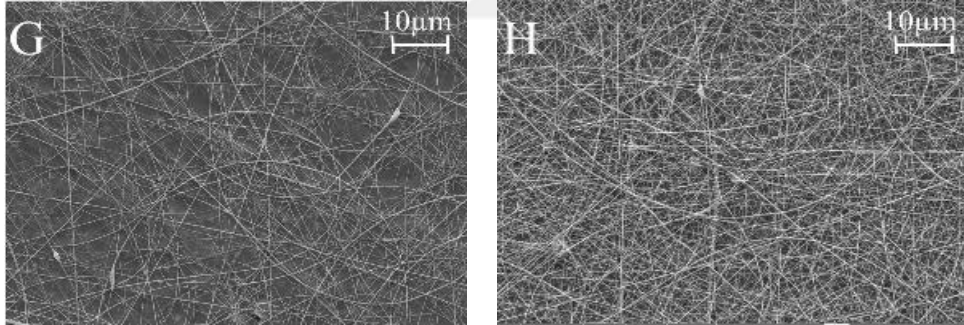


Şekil 4.26. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 3.5 wt- 6 µL/dk, B)% 3.5 wt-10 µL/dk

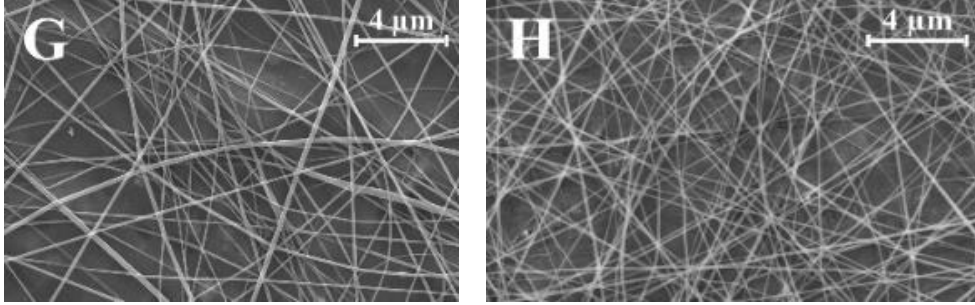


Şekil 4.27. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %3.5 wt - 6 µL/dk, B) %3.5 wt-10 µL/dk

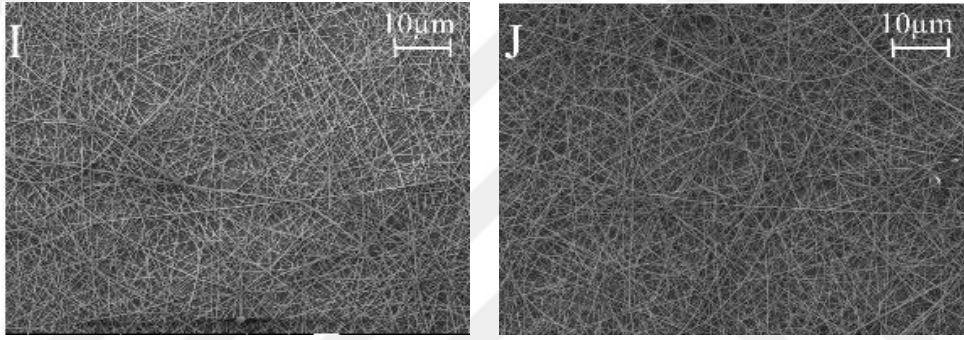
Şekil 4.28- 31, gösterdiği gibi en düzgün ve boncuksuz nanolif (%4wt ve %5wt) konsantrasyon sayesinde elde edilmiştir. Bu yüksek konsantrasyon ile karışım çözeltisi elektroğirme cihazına en uygun şekilde ve istenilen PVA/CS nanolif uygulanmıştır. %5 wt konsantrasyon üretim olarak daha verimli bir konsantrasyondur.



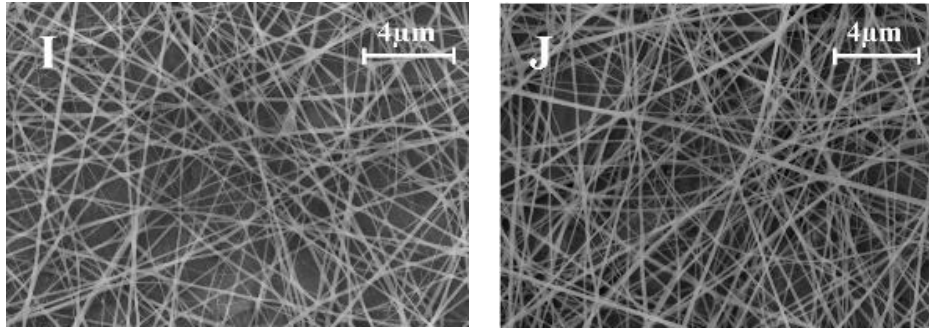
Şekil 4.28. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 4 wt- 6 µL/dk, B)% 4 wt-10 µL/dk



Şekil 4.29. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %4 wt - 6 µL/dk, B) %4 wt-10 µL/dk

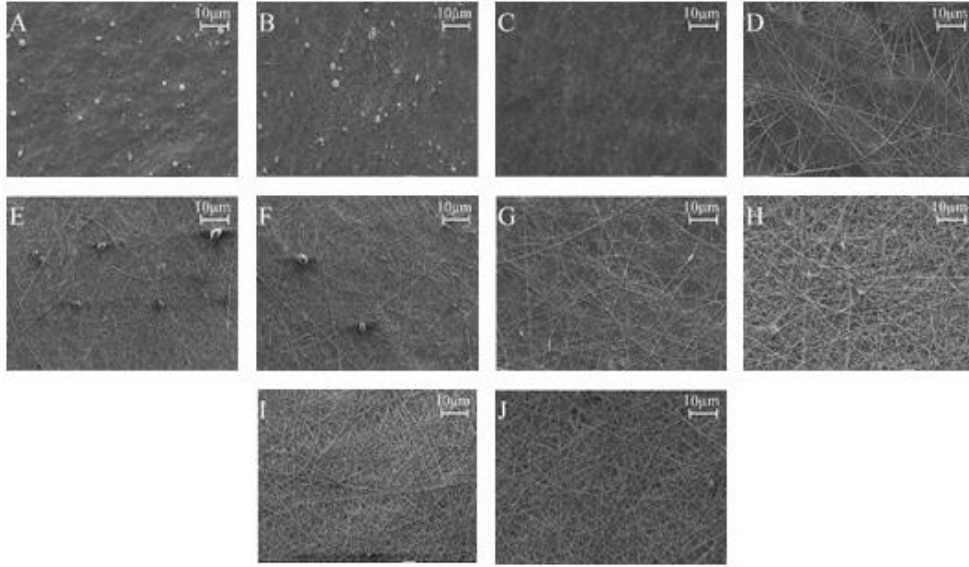


Şekil 4.30. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 A)% 5 wt- 6 µL/dk, B)% 5 wt-10 µL/dk

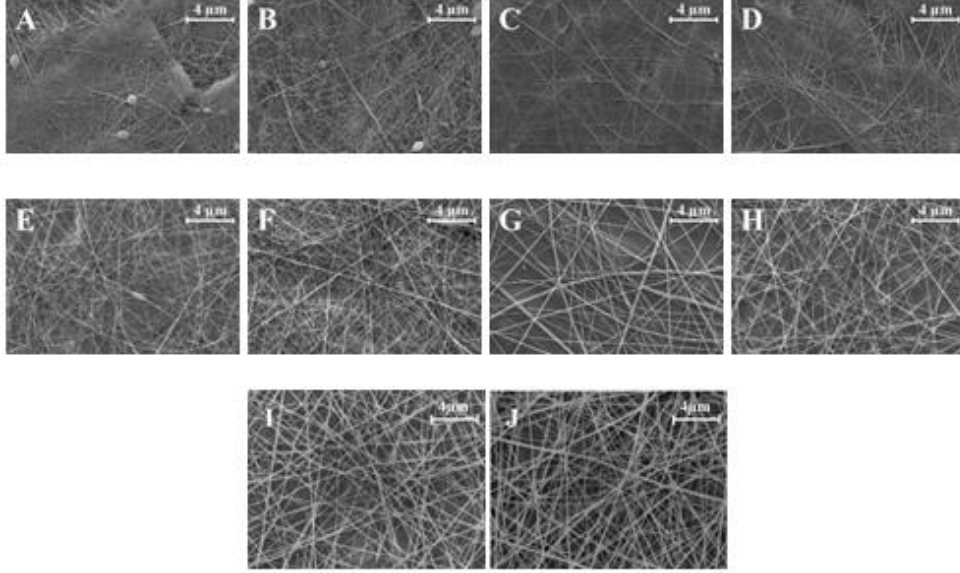


Şekil 4.31. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 A) %5 wt - 6 µL/dk, B) %5 wt-10 µL/dk

Görüldüğü gibi, polimerik karışımın (%2 wt) konsantrasyonundan elde edilen nanolifler çok ince ancak yoğun bir nano lif ağı şeklinde değildir. Lifler, bu konsantrasyonda çok ince olduğu için nano ölçekteki düğüm oranı çok fazladır. PVA/CS polimerik karışımının konsantrasyonunun artması ile nanoliflerin çapları da artmaya başlamıştır ve buna düğüm oluşumunda bir azalma eşlik etmiştir. Sabit oran PVA/CS:70/30 da' besleme hızı 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ ve %5 wt karışım konsantrasyonunda optimum (düğümsüz, boncuksuz) nano lif elde edilmiştir. Şekil 4.32, 5kX büyütmede ve Şekil 4.33, 20kX büyütmede tüm nanolif numune yan yana yerleştirilmiştir. Karışım konsantrasyonu yükseldikçe nanolif kalınlığı ve boncuksuz oluşmaları görülür.



Şekil 4.32. 5kX büyütmede PVA/CS:70/30 nanolifin SEM analizi ile şekilleri A) %2 wt-6 $\mu\text{L}/\text{dk}$, B) %2 wt- 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$, C) %3 wt- 6 $\mu\text{L}/\text{dk}$, D) %3 wt- 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$, E) %3.5 wt- 6 $\mu\text{L}/\text{dk}$, F) %3.5 wt - 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$, G) %4 wt- 6 $\mu\text{L}/\text{dk}$, H) %4 wt- 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$, I) %5 wt- 6 $\mu\text{L}/\text{dk}$, J) %5 wt-10 $\mu\text{L}/\text{dk}$.



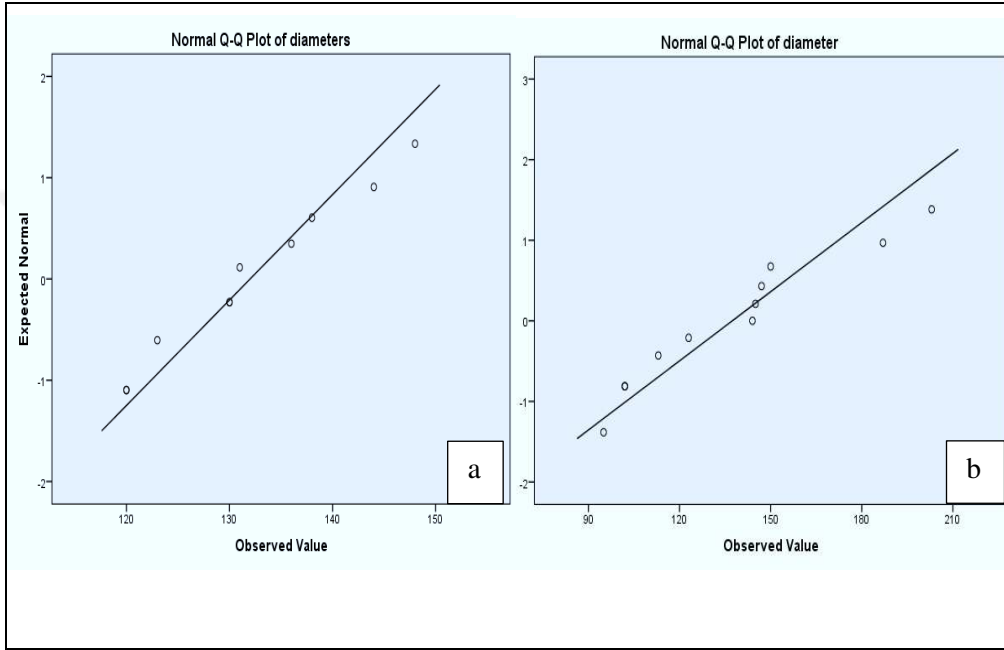
Şekil 4.33. 20kX büyütmede PVA/CS:70/30 nanolifin SEM analizi ile şekilleri A) % 2 wt- 6 µL/dk, B) % 2 wt- 10 µL/dk, C) % 3 wt- 6 µL/dk, D) % 3 wt- 10 µL/dk, E) % 3.5 wt- 6 µL/dk, F) % 3.5 wt- 10 µL/dk, G) % 4 wt- 6 µL/dk, H) % 4 wt- 10 µL/dk, I) % 5 wt- 6 µL/dk, J) % 5 wt- 10 µL/dk.

4.1.4.5. İstatistiksel Analiz

Farklı deneylerden elde edilen sonuçlara göre, istatistiksel değerlendirmenin yapılmasıyla nanoliflerin en uygun şekli ve polimerik karışımın ideal konsantrasyonu, karışım oranı ve besleme debisi arasındaki ilişki belirlenmiştir. Bu konuda, nano liflerin çapları ve çözeltinin farklı konsantrasyonuna veya karışım oranıyla arasındaki ilişki, onunla birlikte liflerin çapları ve besleme debisiyle de arasındaki ilişki ANOVA analizi ile yürütülmüştür.

Daha önce belirtildiği gibi, kitosan ve PVA nanoliflerinin karışımı iki yöntemle elde edilmiştir. İlk yöntem, polimerik karışımın konsantrasyonunu (%3.5 wt) değerinde sabit tutulmuş, ancak besleme debisi ve PVA/CS arasındaki karıştırma oranıyla değiştirilmiştir. İkinci yöntem ise, karıştırma oranının PVA/CS:70/30 oranında sabit tutulmuş, ancak besleme debisi (2, 6, 10 µL/dk) ve nihai karışımın konsantrasyonu (% 2'den % 5'e) değiştirilmiştir.

Nanoliflerin çaplarının değerlerinin normal olarak dağıldığı istatistiksel olarak doğruladıktan Şekil 4.34 ve Levene testine göre bu çapların homojenliğinden emin olduktan sonra istatistiksel çalışma ANOVA'ya göre yapılabilmektedir.



Şekil 4.34. Nanolif çaplarının normal dağılımı a) Değişken karıştırma oranı deneyleri b) Değişken konsantrasyon deneyleri

Çizelge 4.10'de gösterilen ANOVA değerlendirmesine göre, iki madde PVA ve kitosanın karışım oranı ile nanoliflerin çapı arasındaki ilişkinin (istatistiksel güven aralığı, $\alpha=0.05$) anlamlılık derecesi (sig.) 0.401'dir. Bu nedenle, nanoliflerin çapı ile karışım oranının değişimi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ve belli bir matematiksel ilişki tahmin edilemez.

Çizelge 4.10. ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * Gruplar (Combined) CS oranı arasında	413,000	4	103,250	1,238	,401
Gruplar içinde	417,000	5	83,400		
Toplam	830,000	9			

Çizelge 4.11’de karışım konsantrasyonu (%3.5wt) sabit tutulurken ve karışım oranı değişmesiyle, besleme debisi ile nanolif çapı arasındaki ilişki (önceki sonuçtan tersi kanıtlanmıştı) ilişkinin istatistiksel anlamlılık derecesi (sig.) $\alpha = 0.038 < 0.05$ bulunmuştur. Bu, lif çapı ile besleme debisi arasında anlamlı istatistiksel bir ilişki olduğunu gösterir.

Çizelge 4.11. ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanolif çapı ve besleme debisi arasındaki ilişki

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * Gruplar (Combined) Besleme arasında debisi	360,000	1	360,000	6,128	,038
Gruplar içinde	470,000	8	58,750		
Toplam	830,000	9			

Çizelge 4.12’de gözlendiği gibi 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debisi olan deney en büyük ortalama değere sahiptir ve bu da en uygun elde edilen sonuçlar lehine olmaktadır.

Çizelge 4.12. ANOVA analizine göre konsantrasyon (%3.5wt) ve farklı karışım oranı halinde nanoliflere en uygun besleme debisi
Çaplar

Besleme debisi	Ortalama	N	Std. Sapma
6	126,00	5	7,176
10	138,00	5	8,124
Toplam	132,00	10	9,603

Aynı şekilde ikinci yaklaşımdan elde edilen sonuçlar için de bu istatistiksel analizi yapılmıştır. Karışım oranının PVA/CS:70/30 sabit edilmesine ve polimerik karışımın konsantrasyonunun (% 2'den% 5'e) kadar değiştirilmesine dayanan testlerin ikinci aşaması için sonuçlar, ANOVA test (Çizelge 4.13)'de gösterildiği gibi ilk yaklaşımın sonucundan farklıdır. Nanolifler çapları ile besleme debisi arasındaki ilişkinin istatistiksel güven aralığı , $\alpha = 0.574 > 0.05$, bu da karışım oranı sabitlendiğinde ve farklı karışım konsantrasyonunda, nanolif çapı ile besleme debisi arasındaki ilişki konusunda hiçbir istatistiksel etki olmadığını gösterir.

Çizelge 4.13. ANOVA analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanolif çapı ve besleme debisi arasındaki ilişki

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * Gruplar (Combined)	444,512	1	444,512	,340	,574
Besleme debisi	11778,033	9	1308,670		
Toplam	12222,545	10			

Ancak nanolif çapları ile farklı polimerik karışım konsantrasyonu açık bir istatistiksel ilişki kanıtlanmıştır (Çizelge 4.14)'de bu, iki değişken arasındaki ilişkinin istatistiksel güven aralığı $\alpha = 0.001 < 0.05$

Çizelge 4.14. ANOVA analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanolif çapı ve karışımın konsantrasyonu arasındaki ilişki

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * Gruplar (Combined) Konsantrasyon arasında	11776,545	5	2355,309	26,405	,001
Gruplar içinde	446,000	5	89,200		
Toplam	12222,545	10			

Çizelge 4.15’de ANOVA analizine göre, bu ilişki, (%5wt) konsantrasyonu olan polimerik karışımın en yüksek ortalama değere sahip konsantrasyonu destekler, bu nedenle nanolif üretmek için (%5wt) konsantrasyonu olan PVA/CS karışımı en uygundur.

Çizelge 4.15. Anova analizine göre Karışım oranı PVA/CS:70/30 sabit ve farklı karışım konsantrasyonu halinde nanoliflere en uygun karışım konsantrasyonunu Çaplar

Konsantrasyon	Ortalama	N	Std. Sapma
2,0	107,50	2	7,778
3,0	98,50	2	4,950
3,5	133,50	2	14,849
4,0	147,50	2	3,536
5,0	195,00	2	11,314
Total	137,36	11	34,961

Sonuç olarak, ANOVA analizi sonucunda, aşağıdaki noktalar not edilebilmektedir: Karışım oranını değiştirerek ve polimerik karışım konsantrasyonu sabitlenirken, nanolifler çaplarındaki değişiklikleri istatistiksel olarak etkilemezken, ancak besleme debisi nanolifler çaplarının değişmesinde istatistiksel olarak etkili olmuştur ve ANOVA testine göre 10 µL/dk debi tercih edilmektedir.

Ancak, karışım oranı sabitlendiğinde ve polimerik karışım konsantrasyonunun değişmesiyle, besleme debisi nanoliflerin çapları üzerinde istatistiksel bir etkisi olmazken, farklı konsantrasyonlar bu çapları etkiler ve istatistiksel analize göre en büyük etki (%5 w/w) karışım konsantrasyonundan kaynaklanmaktadır.

4.2. PEO/CS Nanolif Çalışmaları

PEO (polietilenoksit) nanolif olarak elde edilebilen, biyoyumlu, doğal olarak parçalanabilen sentetik bir polimerdir (Hui Li ve Sun, 2011). Bu polimer, düşük toksisite ile karakterize edilir ve asidik ortamda istikrarlı bir madde olarak kabul edilmekte olup, uygun bir moleküler ağırlığa sahipse elektroēirilmiş PEO nanolif olarak üretilmektedir (Amiri ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında bu nedenle kitosan ile karıştırılarak nanolif üretilmesi planlanmıştır. Literatürdeki farklı çalışmalar, PEO nanolifin uygulama alanlarından bahsetmiştir. Uyar ve Besenbacher (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, %50 ve %25 w/w konsantrasyonu olan siklodekstrin CD, moleküler ağırlığı (900 kDa) olan PEO çözeltisine eklenmiştir. Karışımından üç konsantrasyon (%3, %3.5, %4 w/v) uygulanıp eğirilmiştir. CD'nin PEO'ya eklenmesinin, PEO'nun viskozitesini ve iletkenliğini artırmaya yardımcı olduğu ve bunun da düşük PEO konsantrasyonlarında bile daha düzenli ve boncuksuz nanolifler elde edilmesiyle sonuçlandığı tespit edilmiştir. CD maddesi PEO molekülleri arasında homojen bir şekilde dağılmış olup PEO'nun kristal yapısında küçük değişikliklere neden olmuştur (Uyar ve Besenbacher, 2009).

Başka bir çalışmada, elektroēirme işlemi sırasında baēıl nem %5,1'den %48,7'ye yükselmesinin, PEO'nun çapında bir azalmaya katkıda bulunduğu ve boncuk görünümüne neden olduğu gösterilmiştir. Bu deneyde %6 wt konsantrasyonu olan 400 kDa PEO kullanılmıştır (Tripatanasuwan ve ark., 2007).

PEO'nun düşük viskoziteli kolajen gibi diēer polimerlerle karıştırılması, viskozitenin artmasına ve nanoliflerin elde edilmesine yardımcı olur. Hung ve ark (2001), 900 kDa moleköl ağırlığında PEO kullanarak %2 wt karışım

konsantrasyondan (100-150) nm arasında çaplara sahip nanolifler elde edilmiştir. Sodyum klorür kullanılması, karışımın iletkenliğini artırış ve daha düzenli nanolifler elde etmeye yardımcı olmuştur (Hung ve ark., 2001).

Antimikrobiyal PEGLL-37'nin 900 kDa olan PEO'ya eklenmesiyle PEO nanoliflerinin antibakteriyel malzeme olarak kullanılması da mümkün olmuştur. Bu nanolifler *E.coli* ve *S.tyophimurium* olmak üzere iki tür bakteriye karşı direnç gösterebilmiştir. Böylece PEO nanolif yara örtüsü olarak da kullanılabilir (Gatti ve ark., 2013).

Kyselica ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafede birkaç elektrik alanı uygulanarak daha düzenli PEO nanolifler elde edilmiştir. Bu çalışmada, besleme debisi yükseldikçe daha kalın nanolif elde edilmiştir. Uygulanan voltaj arttırıldığında, iğnden fırlatılan çözelti miktarı fazla olur ve daha kalın nanolif üretilmiştir. iğne ile toplayıcı arasındaki mesafenin çok uzun olduğunda nanolif kendi üzerine sarılmış olup daha düğümün ortaya çıkmasına neden olabilmıştır (Kyselica ve ark., 2018).

Başka bir çalışmada, %1 ila %22 wt arasında farklı konsantrasyonlar uygulanarak moleküler ağırlığı 100 kDa olan PEO nanolifleri elde edilmiştir. Bu çalışmada, %14'tan %22'ye kadar arasında değişen konsantrasyonlarda nanolif elde etmek mümkün olmuştur (Schneider ve ark., 2016).

Kullanılan farklı çözücüler de daha homojen PEO nanoliflerinin elde edilmesinde rol oynar ve dört tip çözücü (su, etanol, kloroform, DMF) kullanılabilir. %2 - %8 wt arasında değişen 300 kDa ağırlığında, farklı PEO konsantrasyonları uygulanmış ve çalışmaya göre su, DMF, etanol, kloroform çözücüler için sırasıyla (%7, %7, %4, %3 wt) konsantrasyonlarında boncuksuz PEO nanolifler elde edilebilmiştir. Elektroeğirme işleminde farklı çözücülerin lif çaplarına etkisi voltaj, besleme hızı ve uygulanan mesafenin etkisinden daha fazladır (Son ve ark., 2004). Bu nedenle PEO/ kitosan nanolif olarak üretilmesi uygun görülmüştür ve PEO/CS nanolif hazırlamak için ön çalışma yapılmıştır.

4.2.1. PEO/CS Karışım Konsantrasyonunu Ve Oranı Belirlemeye Yönelik Ön Çalışmalar

Bu tezde üç farklı molekül ağırlığına sahip 5000, 2000, 900 kDa PEO kullanılmıştır. Uygun nanolif elde edilmek için, kitosan ile PEO'nun hangi konsantrasyonu ve oranı olacağı deneylerle tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu tezdeki deneysel çalışmada 5000 kDa molekül ağırlığına sahip PEO, PEO-Y olarak, 2000 kDa ise PEO-O olarak ve 900 kDa PEO-D olarak kodlanmıştır. Tüm PEO çözeltileri, %90 AA asetik asit ile, 70°C'de, üç saat karıştırılarak hazırlanmıştır. Elektrospraying şartları; 15-12 kV voltaj, 15 cm mesafe, 10µL/dk besleme debisi, ortam sıcaklığı 35°C ve bağıl nem %55 şeklindedir.

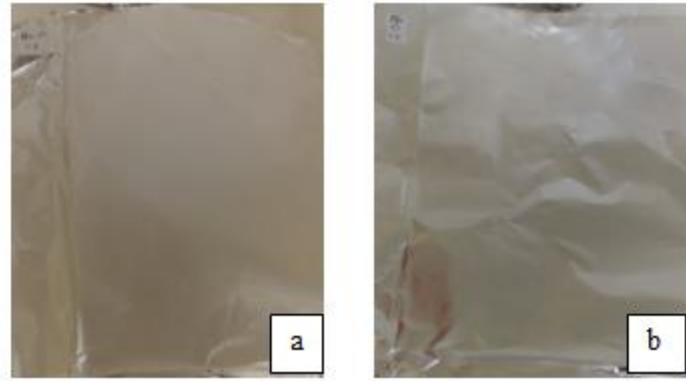
Üç farklı PEO molekül ağırlığı için yapılan ön çalışmalar aşağıda numaralandırılarak verilmiştir. Bu kısımdaki çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, başarısız denemelerin nedenleri ortaya konuşmuş ve başarılı nanolif üretim koşulları tespit edilebilmiştir.

1-PEO-Y'tan %1'lik konsantrasyona sahip bir çözelti yapılmış ve nanolif elde edilebileceği düşünülmüştür. Ancak, %1 PEO-Y çözeltisi karıştırılırken girdap yapmak yerine, çözeltinin üst uçları dağ gibi bir yüzey yaratmaya yönelmişti, bu nedenle çözeltinin yüzey geriliminin çok yüksek olduğundan dolayı, bu tür çözeltilerden hiçbir şekilde nanolif elde edilemeyeceği görülmüştür ve PEO-Y (molekül ağırlığı 5000 kDa) kullanılması bu tez çalışmasında iptal edilmiştir.

2-En düşük molekül ağırlığına sahip PEO-D'tan %5'lik konsantrasyonlu çözeltinin yapılması planlanmıştır. Ancak, karıştırıldığında viskozitesi artmış olup katılaşmaya başlamıştır ve bu nedenle bu denemeye son verilmiştir. Daha az konsantrasyonlara sahip PEO-D ve PEO-O çözeltisinin hazırlanması yönünde denemeler yapılmasına karar verilmiştir.

3-PEO-D ve PEO-O'den %2'lik konsantrasyona sahip çözelti hazırlanmıştır. Çözeltilerin viskozitesi nanolif yapmak için uygun olduğunda (viskozite ölçülmedi) ve %2'lik PEO-D ve PEO-O çözeltisinden nanolif elde edilebilmiştir. Ancak, üretim sırasında şu noktalar farkedilmiştir: İki çözeltinin

yüzey gerilimi yüksek ve lifler şırıngadan çıkınca farklı taraflara gitmiş ve tek jet görülmemiştir. PEO-D için uygulanan voltaj 15kV olup, PEO-O için, liflerin farklı taraflara gitmesini azaltmak için bu voltaj azaltılarak 13kV olarak uygulanmıştır. PEO-D nanolif üretimi çok fazla ve kalın bir nanoağ elde edilebilmiştir. PEO-O nanolif üretimi ise çok azdır. Şekil 4.35'te iki numuneden elde edilen nanolif gösterilmiştir.



Şekil 4.35. A) %2 PEO-D, B) %2 PEO-O

4- %2'lik konsantrasyonlu PEO-O ve PEO-D çözeltisinden nanolif elde edilebilmesi başarısı sağlandığından bu iki türden %1'lik ve %1.5 'lik iki çözelti hazırlanmıştır. %1'lik PEO-D ve PEO-O çözeltilerinden elde edilen nanolif düzgün bir şekilde çıkmıştır. Ancak %1.5'lik PEO-O çözeltiden ise nanolif elde edilebilmekte birlikte düzgün bir üretim görülmemiş, nanolif arasında boşluklar tespit edilmiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. %1.5 PEO-O üretiminde oluşan boşluklar

Elde edilen sonuçlara göre, PEO-D ve PEO-O düşük viskozitesi olan çözeltilerinden nanolif üretilabilir ve PEO-D nanoliflerinin PEO-O nanoliflere kıyasla, üretimi daha yüksek ve düzgündür, onunla birlikte PEO-O çözeltisinden nanolif arasında boşluk görülmüştür ve her zaman düzgün bir üretim olamamıştır. Burada elde edilen sonuçlara göre, PEO-D ile kitosanın birlikte nanolif üretimi için sadece düşük konsantrasyonla üretiminin denenmesine karar verilmiştir.

5-PEO/CS karışımı hazırlamak için PEO'nun %1.5 konsantrasyonu seçilmiştir. Bu konsantrasyonla %2 ve %1 PEO-D olan çözeltilere yakın bir sonuç verebilir. %2wt kitosan ile %1.5 wt PEO-D bir karışım yapılmıştır. İlk olarak PEO-D, %90 asetik asit ile çözülmüştür ve 70°C, 3 saat kadar karıştırılmıştır. Aynı zamanda kitosan çözeltisi de hazırlanmış, oda sıcaklığında %90 asetik asit (AA) ile çözülmüştür ve 24 saat kadar karıştırılmıştır. Çözeltiler hazır olduğunda PEO-D ve kitosan karışımı yapılmıştır. Bu karışımın konsantrasyonu %1.5wt ve oranı PEO-D/CS:70/30 dır. Nanolif üretmek için proses parametreleri; uygulanan voltaj 12kV, besleme debisi 10µl/dk, mesafe 15cm olarak seçilmiştir. Bu denemeden çıkan sonuçlara göre, numunedeki çözeltilerin yüzey gerilimi çok fazladır (PEO-D/CS:70/30). Nanolif, şırıngadan alüminyum folyuna fırlamaktansa tam zıt tarafa gitmiş ve şırınganın arkasına yönelmiştir. 12kV olan voltaj, 14kV'a kadar

yükseltilmiştir ve böylece nanolifin bir kısmı şırıngadan toplayıcıya ulaşabilmiştir. Ancak elektrospinning cihazı başladıktan 1 saat sonra bile toplayıcı üzerinde çok az nanolif üretiminin olduğu görülmüştür. Bu az üretim nedeniyle %2wt kitosan ile %1.5 wt PEO-D konsantrasyonu ve PEO-D/CS:70/30 oranı istenen düzeyde üretim için yeterli bulunmamıştır.

6- PEO/CS karışımın yüzey gerilimini azaltmak için çözeltiye NaCl eklenmesine ve voltajı yükseltmeye karar verilmiştir. Literatüre göre kullanılan tuz miktarı %1 - 1.5 arasındadır (Martinova ve Lubosova, 2008: Bizarriave ark., 2014). Bu nedenle bahsi geçen çözeltilere %1.5 NaCl eklenmiş ve 24 saat boyunca PEO/CS karışımıyla karıştırılmıştır. Çözeltilerde NaCl kullanılması yüzey gerilimini azaltmıştır ve böylece nanolif şırıngadan toplayıcıya ulaşabilmiştir. Nanolif elde etmek için, voltaj 12kV'tan 20kV'a kadar yükseltilmiştir. Tuzun konsantrasyonu yüksek olduğu için toplayıcı üzerinde nanolifin oluşmasını engellenmiş ve toplayıcı üzerinde tuz noktaları görülmüştür (Şekil 4.37). Sonuç olarak PEO-D/CS:70/30-%1.5tuzlu numunesi üretim denemesinde, toplayıcı üzerinde nanolif oluşmamış ve karışımın çözünmeyen NaCl tuz noktaları oluşmuştur.



Şekil 4.37. PEO-D/CS: 70/30-%1.5 tuzlu numunesinden elde edilen üretim

7- Bu deneysel deneme aşamasında, tuzun konsantrasyonu çok yüksek olduğu için farklı konsantrasyonlar denenmiştir. NaCl %1, %0.1, %0.2, %0.3 şeklinde 4 farklı oranda PEO-D/CS:70/30-%1.5 çözeltisine eklenmiştir. Tüm numuneler 24 saat karıştırılmıştır ve tuzun iyice çözünmesi için bazı numunelerde seslidalga (ultrasonic) karıştırma yöntemi uygulanmıştır. Ancak çıkan sonuçlar önceki numunelere benzemektedir ve tuzun eklenmesiyle karışımın yüzey gerilimi iyice azaltmış ancak, nanolif hiç oluşmamıştır (tuz toplayıcı üzerinde noktalar şeklinde görülmüştür).

8-Tuzun etkisini incelemek için yeni bir deneme daha yapılmıştır. Yüksek sıcaklıkta tuzun iyice çözünmesi için 70°C sıcaklıkta (kitosanı içirmeyen) NaCl, saf PEO-D çözeltileriyle karıştırılmıştır. Tuzun tamamen çözünmesine kadar, çözeltinin karıştırılmasına devam edilmiştir. Ondan sonra tuzlu PEO çözeltisi 36°C kadar soğutulmuş ve üzerine kitosan eklenip karıştırılmıştır. Ancak, kitosana eklenirken yoğunlaşma görülmüştür (Şekil 4.38) ve tuz nedeniyle PEO-D çözeltisiyle karıştırılamamıştır. Bu nedenle tuz eklenirken sadece PEO/CS polimerik karışımın üzerine eklenmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.38. PEO-D/CS:70/30-%1.5 tuzlu çözeltisinde karışmayan kitosan

7 ve 8 nolu deneme çalışmasında da görüldüğü gibi herhangi bir durumda NaCl eklenmesiyle PEO/CS nanolif elde edilemediğinden ve NaCl kullanılmamasına karar verilmiştir.

Kitosan ve PEO karışımı için farklı konsantrasyon uygulanmıştır. Bu yürütülen konsantrasyonlarda, yüzey gerilimi çok fazla olduğu için, nanolif şırıngadan toplayıcıya çıkmamıştı ve bu nedenle tuzlu / tuzsuz karışımlar denenmiştir. Ancak her zaman tuz, karışım içinde iyice çözünmemiştir. Çok küçük miktar kullanmakla ve aynı zamanda sıcaklık ve ultrasonik karıştırma yönteminin uygulanmasıyla bile yine de olumlu bir sonuç elde edilememiş ve nanolif oluşmamıştır.

Bahsi geçen sebeplerden dolayı ve elde edilen sonuçlara göre çözücü olarak kullanılan asetik asit (AA) %90 konsantrasyondan %50 konsantrasyona kadar azaltılarak PEO/CS karışımının yüzey gerilimi NaCl kullanmadan azalabilir. Bununla birlikte (900 kDa) olan PEO-D'un her deneyde yüksek ve düzgün üretim verdiği için, kitosan ile karıştırılacaktır. Yukarıda numaralandırılarak belirtilen tezdeki deneysel çalışmaların sonuçlarına göre, nanolif üretimi için PEO-O ve PEO-Y malzemelerinin kullanılmamasına karar verilmiştir.

4.2.2. PEO Ve Kitosan İçin Yapılan Yaklaşımlar

Deneyel çalışmalara kitosandan (%1, %2, %3wt) üç farklı konsantrasyon ve PEO'dan (%1, %2, %3 wt) da üç farklı konsantrasyon ile devam edilmiştir . Bu iki madde birbirine aynı konsantrasyonda ancak farklı oranla karıştırılmıştır (Çizelge 4.16). %50 asetik asit'ten (450g) AA ile 450g su karıştırılarak 900 g şeklinde çözücü hazırlanmıştır.

Çizelge 4.16. Kitosan ile PEO karışımının farklı karıştırma oranı ve konsantrasyonu

Grup No	Karışımın konsantrasyonu (%wt)	PEO/CS oranı (wt/wt)
I	1	30/70-40/60-50/50-60/40
II	2	30/70-40/60-50/50-60/40
III	3	30/70-40/60-50/50-60/40

Her konsantrasyon ve her madde için (kitosan ve PEO) (150 g) çözelti yapılmıştır

(%1wt) CS için 1.5g kitosan (katı madde)+ 148.5 g (%50AA)

(%2wt) CS için 3 g kitosan (katı madde)+ 147 g (%50AA)

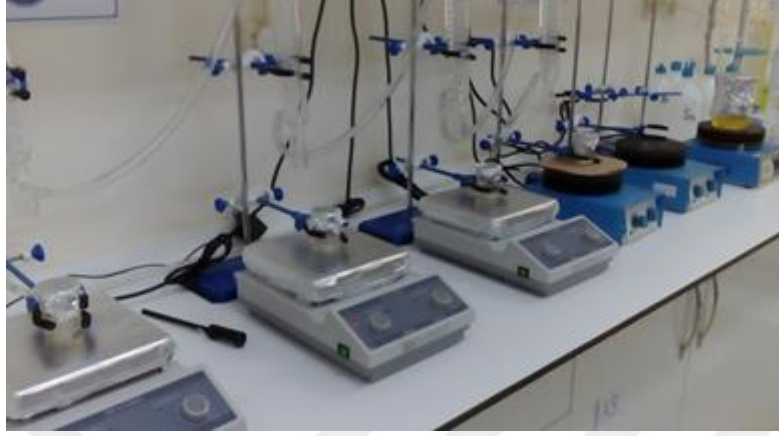
(%3wt) CS için 4.5g kitosan (katı madde)+ 145.5 g (%50AA)

PEO için aynı miktar alınıp (%50AA) ile karıştırılmıştır (Şekil 4.39).



Şekil 4.39. Üç konsantrasyon için PEO ve kitosandan alınan katı madde miktarı

Her numune oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcıyla 24 saat karıştırılmıştır (Şekil 4.40). %1 ve %2 konsantrasyonlu çözeltiler kolayca çözünmüştür. %3wt konsantrasyonlu ise ve iki madde için zorlukla çözünmüş ve viskozitesi yüksek olan çözeltiler elde edilmiştir.



Şekil 4.40. PEO ve kitosanın çözeltilerinin hazırlayışı

Kitosan ve PEO iki maddeden üç farklı konsantrasyon yapılmış ve aynı konsantrasyon için dört farklı orana göre karıştırılmıştır. Her numune için (30g) çözelti yapılmış, Çizelge 4.17, her oran için kitosan ve PEO’ dan alınan çözelti miktarını göstermektedir.

Çizelge 4.17. Her karışım oranı için kitosan ve PEO çözeltilerinden alınan miktarı

CS/PEO karışım oranı	40/60	50/50	60/40	70/30
CS çözeltisi (g)	12	15	18	21
PEO çözeltisi (g)	18	15	12	9

Her konsantrasyon için, iki çözeltiden Çizelge 4.17 gibi alınmıştır. (%1 ve %2) konsantrasyonlu PEO/CS karışımı 24 saat karıştırılmıştır, (%3) konsantrasyonlu karışım ise, yüksek viskozitesi nedeniyle 48 saate kadar devam etmiştir.

Elektroeğirme cihaz özellikleri için farklı proses ayarları denenmiştir. Ancak en uygun nanolifler şu ayarlarda elde edilmiştir: Voltaj 25 kV, iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe 18 ± 2 cm, besleme debisi $15 \mu\text{L}/\text{dk}$.

Kitosan oranı ve karışımın konsantrasyonu artırmanın polimerik karışımın özelliklerine etkisini incelemek için karışımın viskozitesi, yüzey gerilimi ve

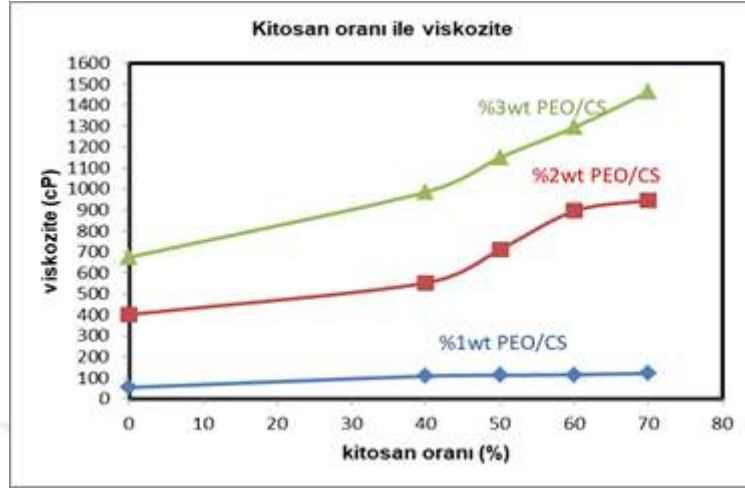
elektrik iletkenliği belirlenmiş ve Çizelge 4.18'de gösterilmiştir. Çizelge 4.18'e göre, PEO/CS polimerik karışımının yüzey gerilimi değerlerinde küçük değişiklikler gözlemlenmiştir. En yüksek değere 37.99 mN/m PEO/CS:30/70-2% numunede ulaşılırken, en düşük değer 36.43mN/m PEO/CS:50/50-3% numunede elde edilmiştir. Ancak, kitosan oranındaki artışın yanı sıra PEO/CS karışımının konsantrasyonundaki artışla birlikte viskozite değerlerinde önemli değişikliklerin meydana geldiği görülebilir. En yüksek viskozite değeri, PEO/CS:30/70-3% numunesi için elde edilmiştir (4692 cP). Kitosanın katyonik yapısı, numunedeki

kitosan oranını ve PEO/CS karışımının konsantrasyonunu artırarak PEO/CS karışımının elektrik iletkenliğinin de artmasına neden olur. Böylece en yüksek elektrik iletkenlik değeri de PEO/CS:30/70-3% numunesi için elde edilmiştir (1463 μ s/cm). PEO/CS:30/70-3% numunenin yüksek viskozitesi, PEO/CS polimer karışımının konsantrasyonunun daha yüksek değerlere çıkarılmasını zorlaştırmakta, bu da elektroegirme ile nanoliflerin elde edilmesini imkansız hale getirmektedir. Bu nedenle polimer karışımının konsantrasyonu ve PEO/CS karışımındaki kitosan oranları, PEO/CS:30/70-3% numunedekinden daha yüksek değerlere geçilmemiştir.

Çizelge 4.18. Farklı PEO/CS karışımın viskozitesi, yüzey gerilimi ve elektrik iletkenliği

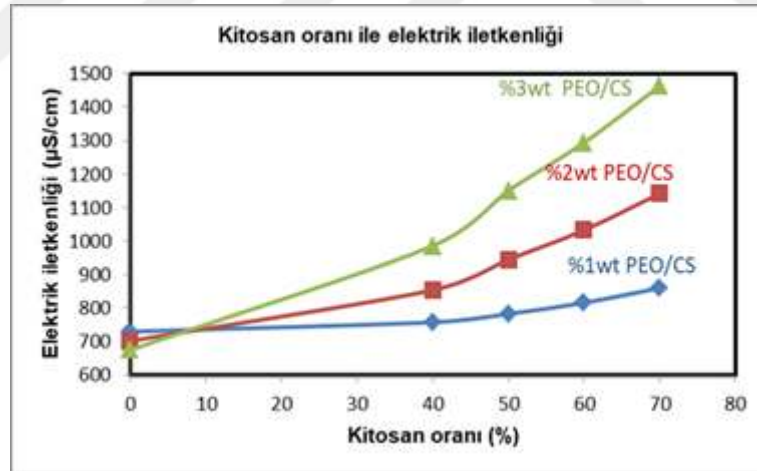
PEO/CS karışımın konsantrasyonu (%wt)	PEO/CS oranı (wt/wt)	Yüzey gerilimi (mN/m)	viskozite (cP)	Elektrik iletkenliği ($\mu\text{S/cm}$)
1	30/70	36.84	121	860
	40/60	36.84	115	816
	50/50	37.04	112	783
	60/40	36.91	108	758
	100/0	36.76	54	730
2	30/70	37.99	947	1142
	40/60	36.93	895	1033
	50/50	36.62	713	945
	60/40	36.89	553	854
	100/0	36.62	401	702
3	30/70	37.45	4692	1463
	40/60	36.83	4613	1294
	50/50	36.43	4463	1151
	60/40	36.81	3630	986
	100/0	36.61	1695	675

Şekil 4.41’de kitosan oranı ile üç farklı PEO/CS karışımın konsantrasyona bağlı viskoziteleri arasındaki ilişki gösterir.



Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlarda kitosan oranı ve viskozite arasındaki ilişki

Şekil 4.42’de kitosan oranı ile üç farklı PEO/CS karışımının konsantrasyona bağlı elektrik iletkenliği arasındaki ilişki gösterir.



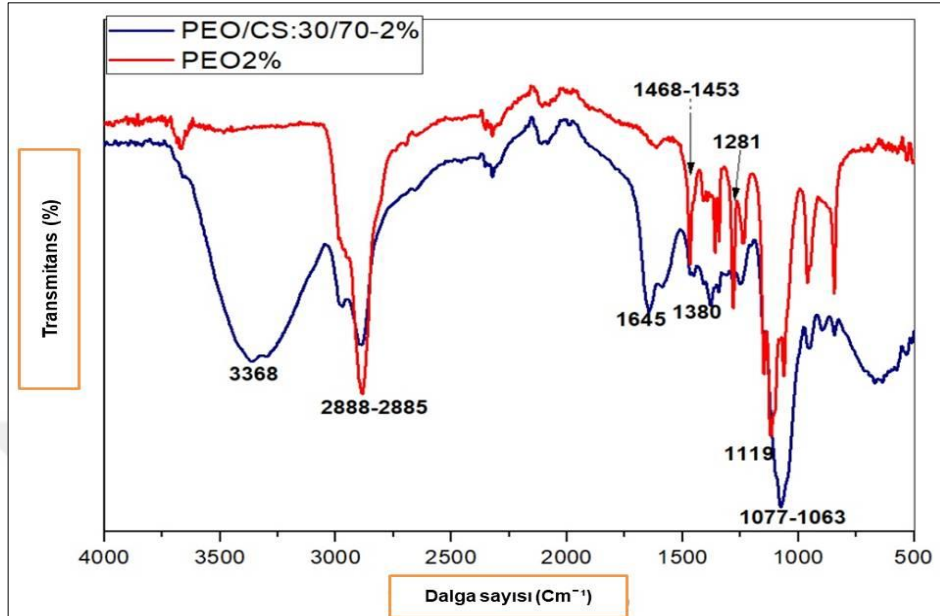
Şekil 4.42. Farklı konsantrasyonlarda kitosan oranı ve elektrik iletkenliği arasındaki ilişki

SEM analizi için tüm numune test edilmiştir. FTIR analizi için PEO/CS numunedeki en yüksek kitosan oranı seçilmiştir ve XRD analizi için bu numune tüm konsantrasyonda test edilmiştir.

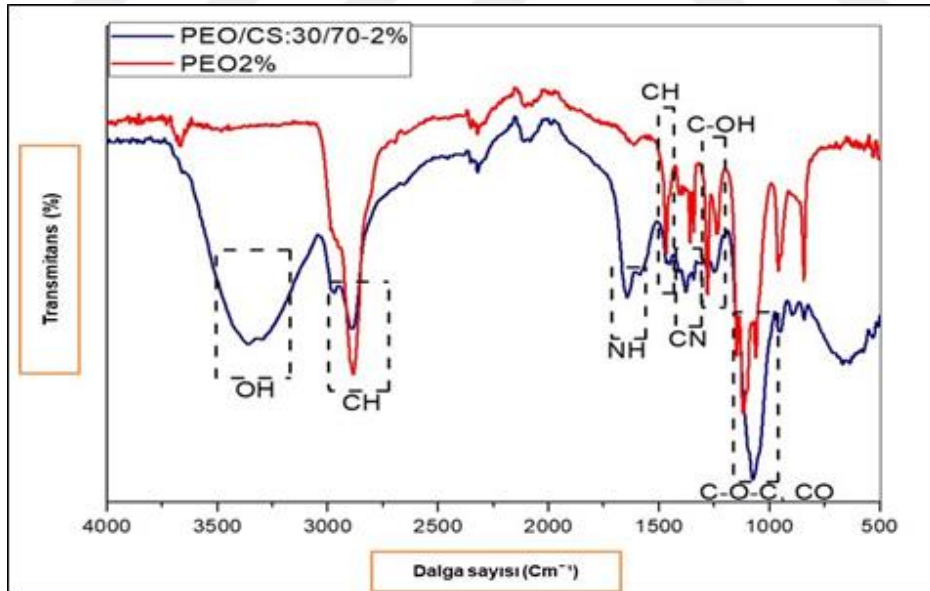
4.2.3. PEO/CS Nanolif Üzerinde Yapılan Analizler

4.2.3.1. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analizi

Kitosanın, PEO/CS karışımına etkisini belirlemek için aynı konsantrasyonda %2 wt, numunelerden iki tane seçilmiştir: Birisi, içinde en yüksek miktarda (%70) kitosan içeren bir numune ve diğeri kitosanı içermeyen saf PEO numunesi. FTIR analizine göre, PEO/CS:30/70-%2 numunede 3100cm^{-1} ila 3600cm^{-1} arasında geniş bir dalga gözlemlenebilir ve bu da kitosan ve PEO arasında hidrojen bağlarının oluşumunu gösterir. OH germe titreşiminden kaynaklanan 3368.07cm^{-1} dalga sayısında bir pik görünür. Saf PEO-%2 numunede, hidrojen bağlarının varlığını gösteren hiçbir pik veya geniş dalga görülmez, bu da hidrojen bağlarının yalnızca kitosanın PEO numuneye girdiğinde oluştuğunu tespit eder. PEO/CS nanoliflerinde, 2887.88 , 1453.10 , 1281.47 , 1077.05cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla alifatik C—H'nin gerilmesini, C—H'nin eğme, C—OH'nin gerilme titreşimini ve C—O gruplarının gerilmesini gösterir. Saf PEO numunede ise bu gruplar sırasıyla 2884.99 , 1468.53 , 1281.47 , 1063.55cm^{-1} dalga sayılarında gözlenmiştir. PEO/CS numunede, 1645.95 ve 1379.82cm^{-1} dalga numaralarında sırasıyla, ikincil amin grubu NH'nin eğilmesi ve CN grubunun gerilmesi gözlemlenebilir. PEO numunede C-O-C grubunun varlığını gösteren 1119.48cm^{-1} 'de bir pik görülür (Şekil 4.43), hem PEO/CS:30/70-%2 hem de PEO-%2 numunelerinde bulunan fonksiyonel grupların dalga sayıları ile bu grupların pik'in yoğunlukları arasındaki ilişkiyi gösterir. Şekil 4.44'te FTIR analizi üzerinde PEO ve kitosan kimyasal yapısında temel grupları gösterilmiştir.



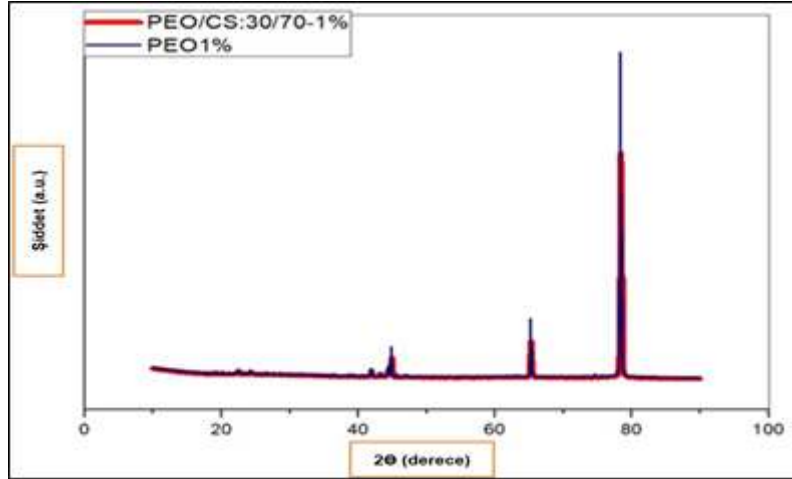
Şekil 4.43. PEO-%2 ve PEO/CS:30/70-%2 numunelerindeki temel dalga sayısı ile piklerin yoğunluğu arasındaki ilişki



Şekil 4.44. FTIR analizinde PEO-%2 ve PEO/CS:70/30-%2 numunelerde temel grupları

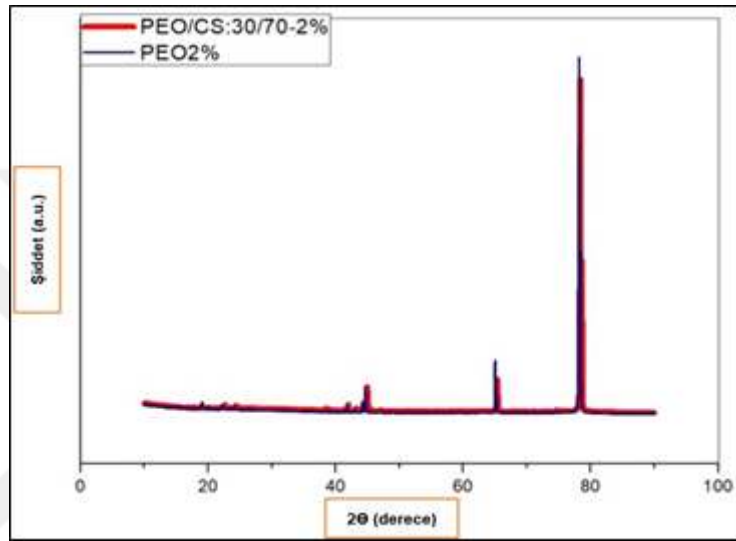
4.2.3.2. X-Ray Diffraction (XRD) Analizi

Elektroeğirmenin polimerlerin kristal yapısı üzerindeki etkisinin derecesini belirlemek ve bir maddenin karıştırılmasının diğer maddenin kristal yapısı üzerindeki etkisini bilmek için XRD testi yapmak gerekir. Herhangi bir malzemenin kristal ve amorf yapısının belirlenmesi, incelenen malzemenin mekanik yapısındaki değişiklikler ve termal performansı hakkında bir ön fikir edinilmesine yardımcı olur. XRD testi, hem saf PEO hem de PEO/CS:30/70 numuneleri için her konsantrasyonda %1, %2, %3 wt yapılmıştır. Şekillerdeki (Şekil 4.45-47) sonuçlara göre, saf PEO numunesine kitosan eklenmesi, piklerde hafif bir azalmaya neden olmuştur. Bu da kristal yapıda önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Kitosan molekülleri PEO moleküllerin arasında düzgün ve uyumlu bir şekilde dağılmış ve bu nedenle kristal yapısı da çok değişmemiş aynı zamanda kitosanın ile PEO yaptığı hidrojen bağlantının nedeniyle, piklerde bir azalma oluşmuştur. Şekil 4.45'teki gibi, PEO-%1 numunede, 78.23°, 64.90°, 44.55° açılarda pikler gözlenirken, PEO/CS:30/70-%1'de 78.60°, 65.25°, 45.25° açılarda bulunmuştur.

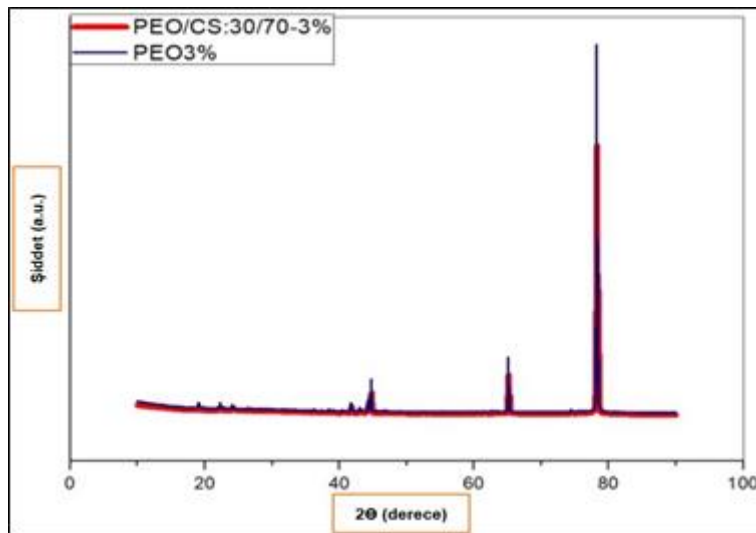


Şekil 4.45. PEO-%1 ve PEO/CS:30/70-%1 numuneleri için XRD analizi

Benzer şekilde, PEO-%2'deki pikler, 78.39° , 64.72° ve 44.49° açılarda görünürken, PEO/CS:30/70-%2'de 78.39° , 65.68° ve 45.24° açılardadır (Şekil 4.46). Ayrıca PEO-%3'te tepeler 77.88° , 64.90° , 44.90° açılarda görünürken, PEO/CS:30/70-%3'de 78.95° , 65.25° , 44.90° açılardadır (Şekil 4.47).

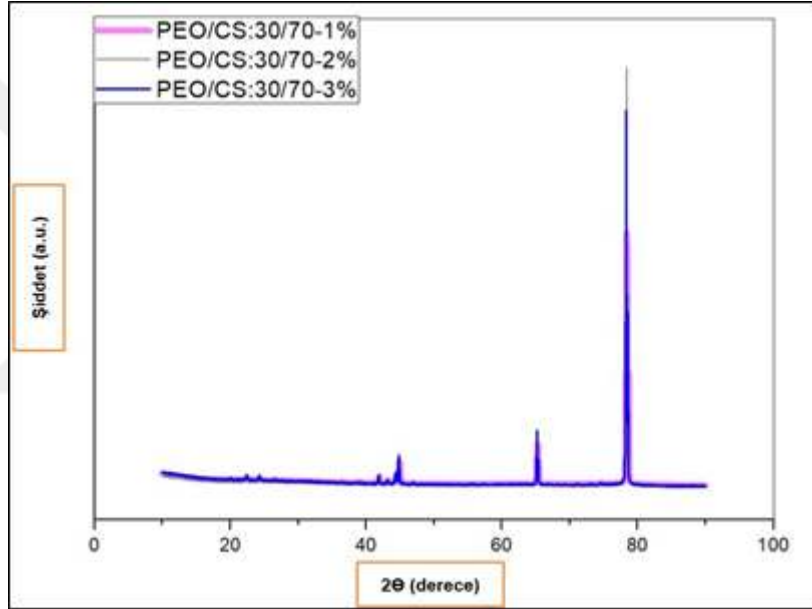


Şekil 4.46. PEO-%2 ve PEO/CS:30/70-%2 numuneleri için XRD analizi



Şekil 4.47. PEO-%3 ve PEO/CS:30/70-%3 numuneleri için XRD analizi

Önceki sonuçlardan, kitosan eklenmesinin, en yüksek yüzdesinde bile, PEO'nun kristal yapısı üzerinde çok az etkisi olduğu söylenebilir. Bunun yanısıra, polimer karışımının konsantrasyonunu %1'dan %3'e kadar artmasıyla numunelerin kristal yapısı üzerinde büyük önemli bir etkiye yol açmamış ve bir fark görülmemiştir. Ancak tepelerin (pik) en yükseği sırayla PEO/CS:30/70-%2 numunede, ondan sonra PEO/CS:30/70-%3, sonra PEO/CS:30/70-%1 numunede görülmüştür (Şekil 4.48).



Şekil 4.48. PEO/CS:30/70-(%1-%2-%3) numunelerin XRD analizine göre arasındaki ilişki

4.2.3.3. Mikroskopik Görüntü Analizi (Scanning electron microscopy, SEM)

PEO/CS farklı karışımın konsantrasyonunun ve farklı karıştırma oranının, nanoliflerdeki morfolojiye etkisini belirtmek için SEM analizi yapılmaktadır. Her konsantrasyondaki farklı CS/PEO oranından elde edilen nanolifler incelenmiştir. %1wt PEO/CS konsantrasyonu için, karışımındaki kitosan oranının artmasıyla PEO/CS nanoliflerinin çapları azalmıştır (Çizelge 4.19). Kitosanın varlığı polimer

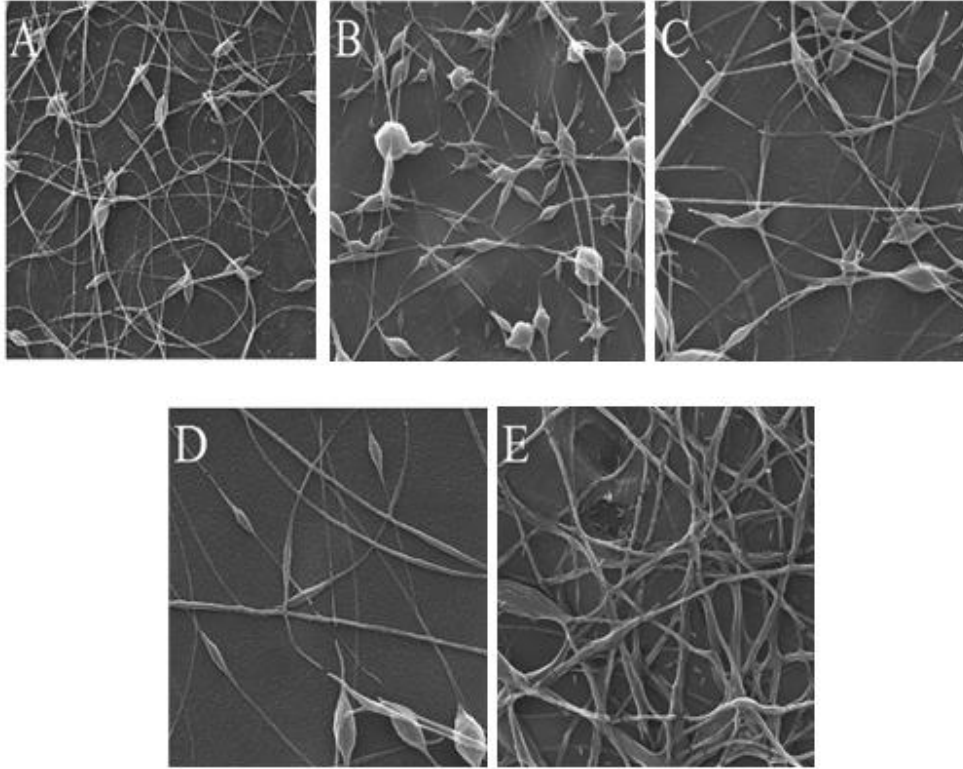
karışımının yüksek viskozitesine katkıda bulunsa da, yüksek viskozite ile daha kalın nanolif elde edilmesi beklenir. Ancak kitosanın diğer polimerlerle (PEO, PVA gibi) oluşturduğu güçlü hidrojen bağları, onunla birlikte polimer karışımının elektrik iletkenliğini artıran katyonik doğasına ek olarak, karışımın viskozitesi artsa bile liflerin çaplarının küçültmektedir (Singh, ve ark., 2020 : Kuntzler ve ark., 2018). Aynı zamanda, kitosan içermeyen saf PEO numunesi teorik olarak kitosan içeren diğer numunelerden daha büyük bir çapa sahip olmalıdır. Ancak, %1wt konsantrasyon çok düşük viskozitede olduğundan dolayı elektroegirme ile nanoliflerin oluşmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle PEO-%1 boncuklarla dolu küçük çaplarda nanolifler ortaya çıkmıştır (Şekil4.49). %1wt konsantrasyona bağlı olarak farklı karıştırma oranlarına sahip PEO/CS numunelerinin ortalama çapları Çizelge 4.2.4'te görülebilir.

Çizelge 4.19. %1wt PEO/CS karışımın konsantrasyondaki PEO/CS ortalama nanolif çapları (nm)

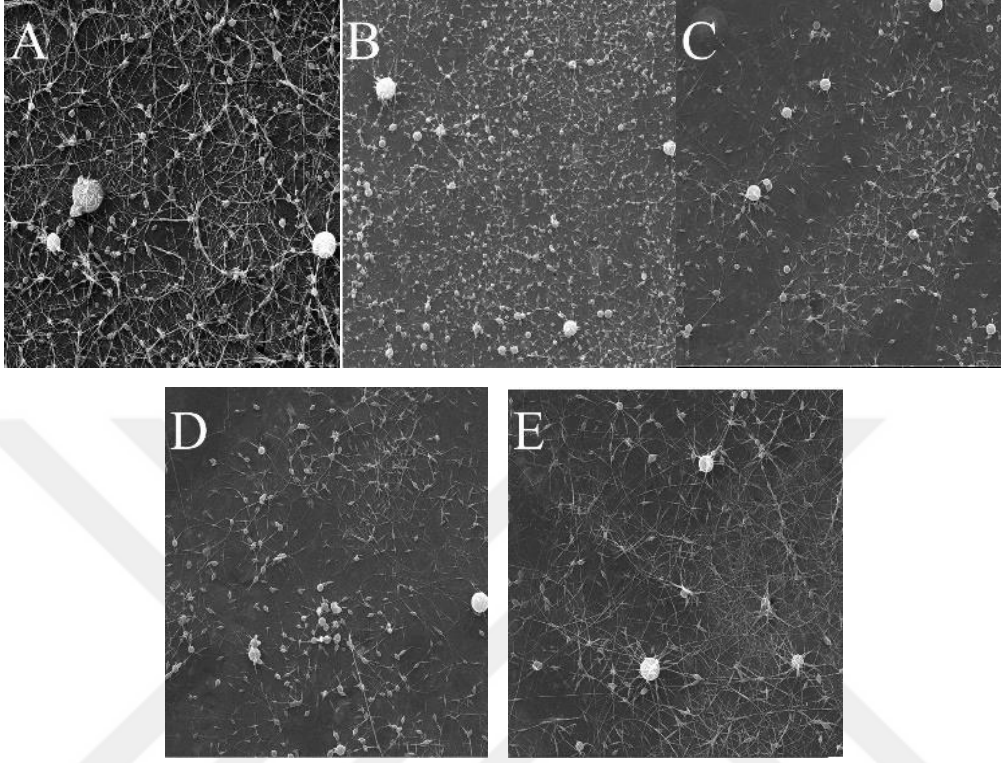
PEO/CS (wt/wt)	30/70	40/60	50/50	60/40	100/0
Ortalama nanolif çapları (nm)	58.66±13.97	81.54±16.56	89.04±21.37	102.15±17.66	97.33±19

Şekil 4.49 ve Şekil 4.2.50'de görülebileceği gibi, PEO/CS polimer karışımının %1wt konsantrasyonu, düzenli boncuksuz nanolifler elde etmek için tamamen uygun değildir. Kitosan içermeyen PEO numunesinden boncuklarla dolu nanolifler elde edilmiştir. PEO'ya kitosan eklenmesi, PEO/CS karışımının viskozitesinin iyileştirilmesine yardımcı olmakla birlikte nanoliflerdeki boncuklar hala varlığını gösterdi. Bu nedenle %1wt konsantrasyonundan elde edilen lifler normal nanolifler olarak kabul edilemez. PEO/CS:60/40 oranında, az sayıda boncuk açısından en iyisi olarak kabul edilebilir ancak, nanolifler dairesel kesitli değil, daha çok düz şeritlere benzemektedir. 20 kX büyütmede (Şekil 4.49) 1µm ölçümü kullanılarak analiz edilmiştir ve ortalama nanoliflerin çapı ölçülmüştür.

Nanofilerin genel şeklini göstermek için 5 kX büyütmede Şekil4.50’de gösterilmiştir.



Şekil 4.49. 20 kX büyütmede elektroğrilmiş (%1wt) konsantrasyonundaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.



Şekil 4.50. 5 kX büyütmede elektroğrılmış (%1wt) konsantrasyonundaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40

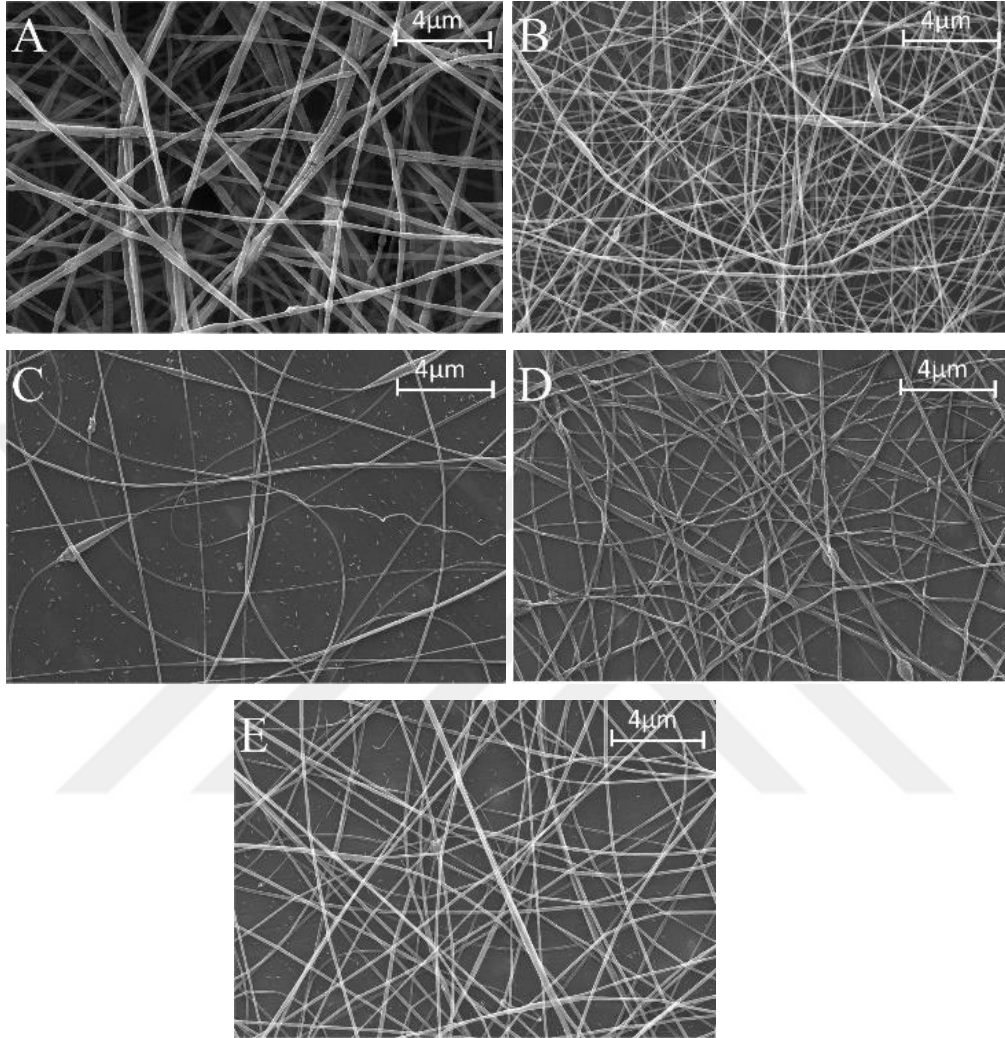
%2 ve %3 wt PEO/CS konsantrasyonları durumunda, düzenli ve boncuksuz nanolifler elde edilmiştir. Her iki konsantrasyon için farklı oranlarda kitosan içeren numuneler, kitosan içermeyen saf PEO numunelerine kıyasla daha düzenli bir şekle sahiptir. Bu iki konsantrasyonda, PEO/CS ile farklı karışım oranları için nanoliflerin ortalama çapları ölçülüp (Çizelge 4.20) açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, PEO/CS karışımındaki kitosan oranı arttıkça nanoliflerin çapı azalıyor ve saf PEO nanolifin çapı, kitosan içermediği için başka numunelerden daha kalındır. Aynı PEO/CS oranında ancak konsantrasyon %2wt'den %3wt'ye arttıkça nanolif kalınlaşmaktadır. Bu %2, %3 wt iki karışım konsantrasyonunun viskoziteleri göz önünde alındığında, uygun nanolif elde

edilebilmektedir ve bu viskozitelerinin nanolif şekline ve çaplarına etkisi olduğu görülmüştür.

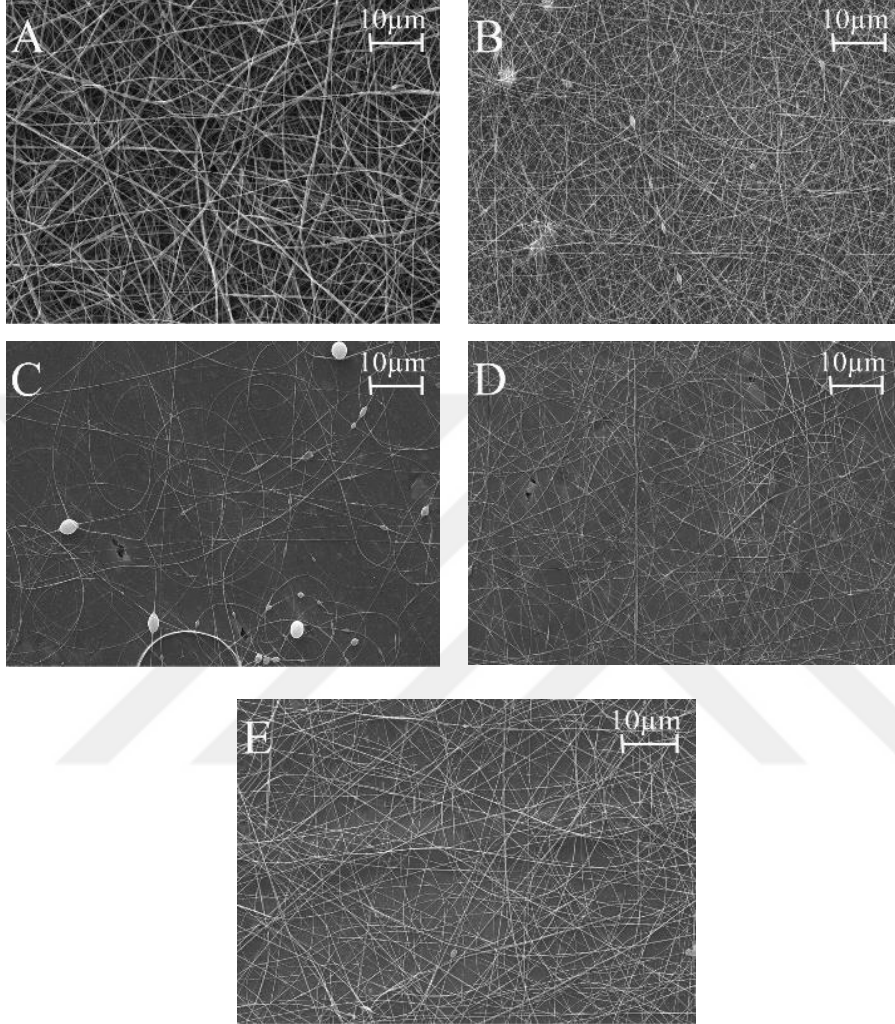
Çizelge 4.20. %2, %3wt konsantrasyondaki farklı karışım oranlarına göre PEO/CS ortalama nanolif çapları (nm)

PEO/CS karışımın konsantrasyonu (%wt)	PEO/CS (wt/wt)				
	30/70	40/60	50/50	60/40	100/0
2	136.82±	163.54±	190.53±	208.11±	224.51±
	16.12	27.54	49.02	55.57	45.75
3	137.98±	165.9±	216.01±	222.29±	297.7±
	23.60	26.47	31.11	29.75	47.52

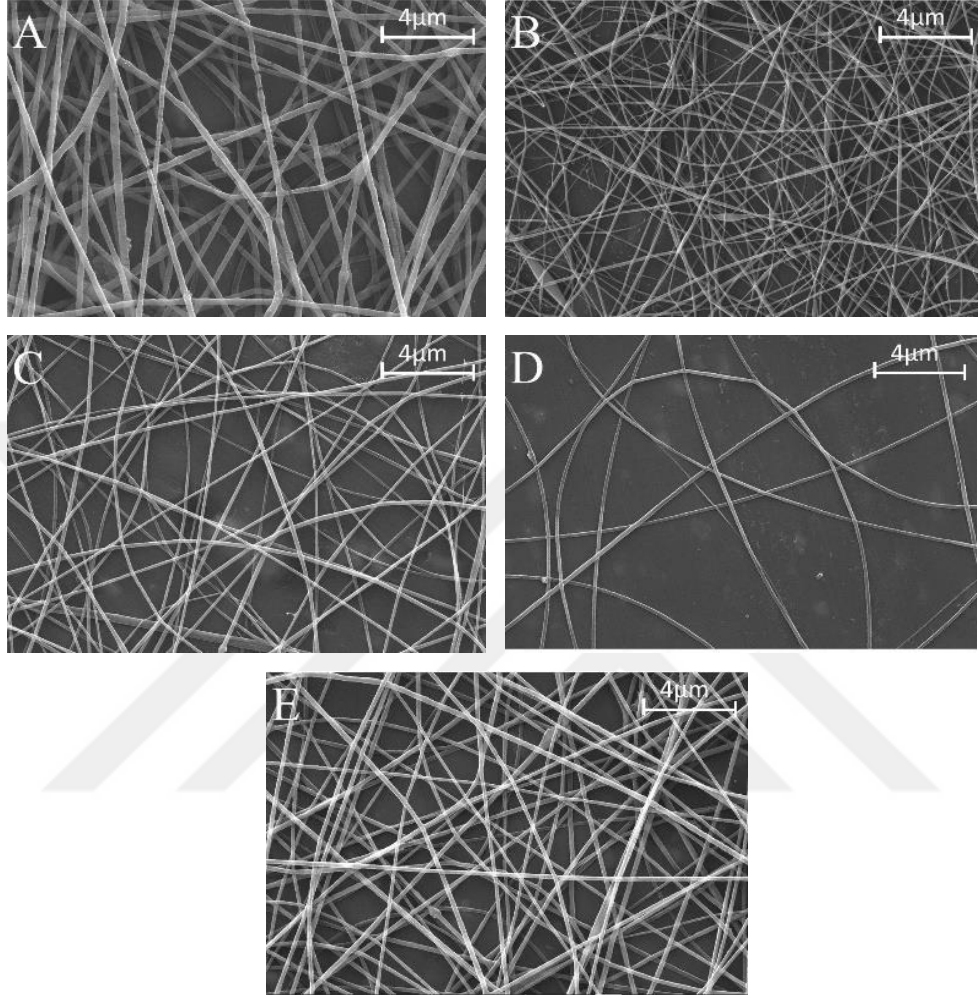
Şekil 4.51 %2wt PEO/CS nanolif 20 kX büyütmede elde edilen ortalama nanoliflerin çapı için yapılan SEM incelemesi, (4µm) ölçümü kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 4.52 ise 5kX büyütmede nanofillerin genel şeklini göstermek için yapılan SEM incelemesi, aynı şekilde (%3wt) PEO/CS nanolif SEM incelemesi (Şekil 4.53) ve (Şekil 4.54) sırasıyla gösterilmiştir.



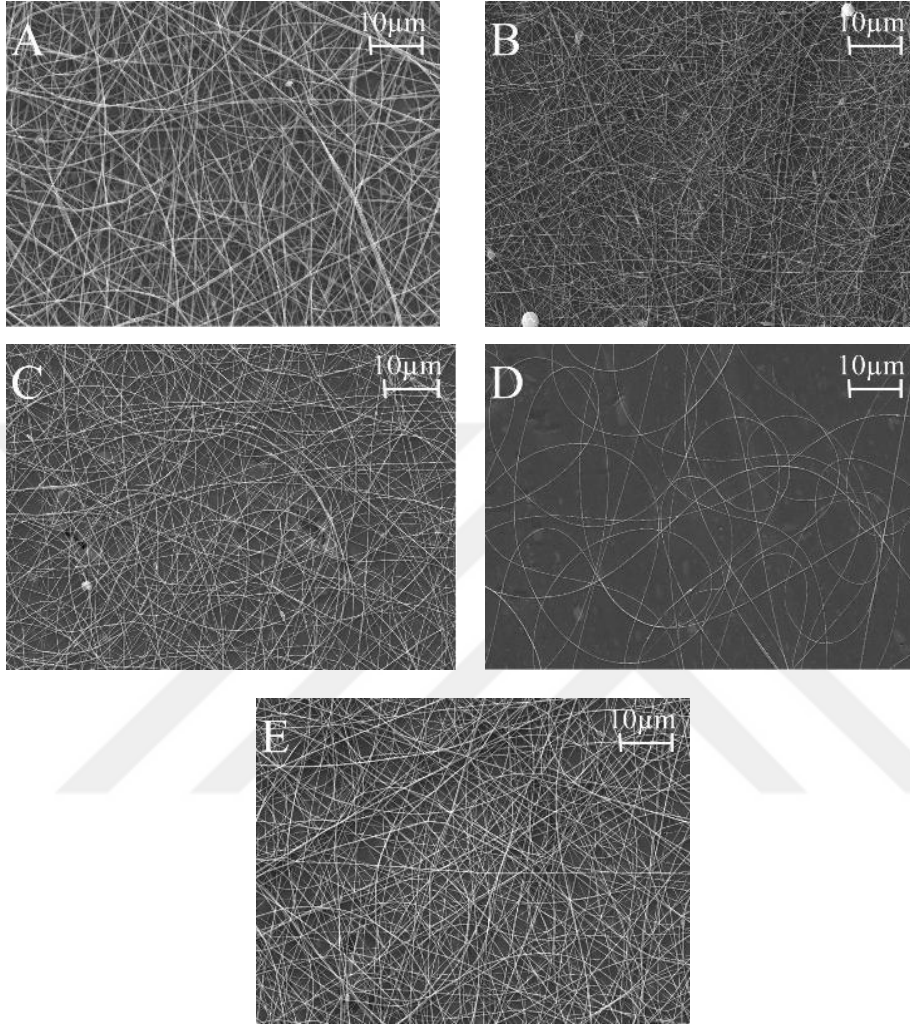
Şekil 4.51. 20kX büyütmede (%2wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.



şekil 4.52. 5kX büyütmelerde(%2wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.



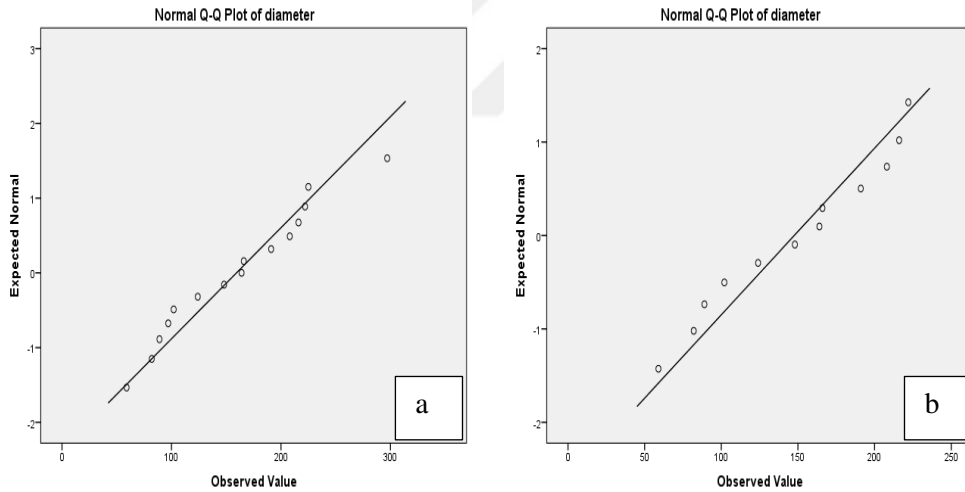
Şekil 4.53. 20kX büyütmede (%3wt) konsantrasyondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40.



şekil 4.54. 5kX büyütmede(%3wt) konsantrsayondaki nanolifler: A) PEO/CS:100/0, B) PEO/CS:30/70, C) PEO/CS:40/60, D) PEO/CS:50/50, E) PEO/CS:60/40

4.2.3.4. İstatistiksel Analiz

Tez çalışmasında yapılan deneysel çalışmaların detayları önceki bölümlerde verilmiş olup, PEO/CS nanolif elde edilmek için %1, %2, %3 wt şeklinde üç karışım konsantrasyonu uygulanmıştır. Aynı zamanda her konsantrasyonda kitosan oranı da değiştirilmiştir. Elektrospinning cihazının özellikleri her numunede aynı ve sabittir. Farklı deneylerde yürütülen karıştırma oranlarının ve konsantrasyonunun elde edilen nanolif çaplarının üzerindeki etkisini inceleyerek istatistiksel testler yapılmış olup, ANOVA analizi uygulanmıştır. Nanoliflerin çap değerlerinin Şekil 4.55'te olduğu gibi doğal olarak dağıldığını istatistiksel olarak doğrulanmış olup, Levene testine göre bu çapların homojen olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar neticesinde deneysel çalışmada istatistiksel ANOVA analizinin yapılabilmiştir.



Şekil 4.55. Nanolif çaplarının normal dağılımı. a) Değişken konsantrasyon deneyleri. b) Değişken karıştırma oranı deneyleri

Çizelge 4.21'de gösterilen ANOVA değerlendirmesine göre, iki madde PEO/CS karışımının konsantrasyonu ile nanoliflerin çapı arasındaki ilişkinin istatistiksel güven aralığı $\alpha=0.002 < 0.05$ olduğu görülmüştür. Bu da, lif çapı ile

PEO/CS karışımının konsantrasyonu arasında, istatistiksel olarak önemli bir fark olduğunu ve anlamlı bir istatistiksel ilişki olduğunu gösterir.

Çizelge 4.21. ANOVA analizine göre nanolif çapı ve karışımın konsantrasyonu arasındaki ilişki

	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * Gruplar (Combined) konsantrasyon arasında	41345,733	2	20672,867	11,257	,002
Gruplar içinde	22037,600	12	1836,467		
Toplam	63383,333	14			

Elde edilen çapların ortalama değerlerinin okunması ve istatistiksel analizlerin uygulanmasıyla, polimer karışımının konsantrasyonunun artmasıyla nanoliflerin çaplarının arttığı söylenebilir ve istatistiksel olarak kanıtlanmıştır. PEO/CS polimer karışımının konsantrasyonundaki artışa viskozitesindeki bir artış eşlik ettiğinden, daha kalın çaplı ve daha az boncuklu lifler elde edilebilir. Çizelge 4.22 'de görüldüğü gibi (%3 wt) olan deney en büyük ortalama değere sahip ve bu da en uygun elde edilen sonuçlar lehine olmaktadır.

Çizelge 4.22. ANOVA analizine göre nanoliflere en uygun PEO/CS karışımın konsantrasyonu

Çaplar

Konsantrasyon	Ortalama	N	Std. Sapma
1,00	85,8000	5	16,81368
2,00	187,2000	5	31,42769
3,00	205,0000	5	65,10760
Total	159,3333	15	67,28582

Bununla birlikte, karışım oranının nanoliflerin çapı üzerindeki etkisi araştırılırken iki durum gözlemlenmiştir: Çalışmaya konsantrasyonun %1 wt dahil edilmesini içeren ilk istatistiksel çalışmada, karışım oranı ve çaplar arasında istatistiksel bir ilişki olmadığı bulundu ($\alpha > 0.05$). Çizelge 4.23 gibi güven aralığı $\alpha=0.522$. Nanoliflerin çapı ile karışım oranının değişimi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ve belli bir matematiksel ilişki tahmin edilemez.

Çizelge 4.23. ANOVA analizine göre ve (%1 wt) konsantrasyon dahil, nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki.

		Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * CS oranı	Gruplar (Combined) arasında	8078,250	3	2692,750	,813	,522
	Gruplar içinde	26498,667	8	3312,333		
	Toplam	34576,917	11			

Ancak %1 wt PEO/CS polimer konsantrasyonunun, farklı karışım oranlarına sahip PEO/CS nanolifleri elde etmek için kabul edilemez bir konsantrasyon olduğu varsayılırsa, $\alpha=0.012 < 0.05$ bu da, karışım oranı ile çap arasında istatistiksel bir ilişki olduğu gözlemlenebilir ve anlamlı istatistiksel bir ilişki olduğunu tespit eder (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. ANOVA analizine göre ve (%1 wt konsantrasyon hariç) nanolif çapı ve karışım oranı arasındaki ilişki

		Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Çaplar * CS oranı	Gruplar (Combined) arasında	7876,375	3	2625,458	14,992	,012
	Gruplar içinde	700,500	4	175,125		
	Toplam	8576,875	7			

İstatistiksel ANOVA analizine göre (Çizelge4.25) gibi, PEO/CS:60/40 -3% numunesi en yüksek ortalama değere sahipti ve bu nedenle en iyi nanolif olarak kabul edilebilmiştir.

Çizelge 4.25. ANOVA analizine göre nanoliflere en uygun PEO/CS karışım oranı

CS oranı	Ortalama	N	Std. Sapma
40,00	215,0000	2	9,89949
50,00	203,5000	2	17,67767
60,00	165,0000	2	1,41421
70,00	136,0000	2	16,97056
Total	179,8750	8	35,00383

Sonuç olarak, yukarıdaki ANOVA analizi sonucunda, aşağıdaki noktalar not edilebilmektedir:

- PEO/CS konsantrasyonu arttıkça nanolifler kalınlaşıyor, daha uygun ve boncuksuz nanolif elde edilebilmektedir.
- Nanolif çapı ile konsantrasyon arasında istatistiksel bir ilişki vardır ve (%3wt) konsantrasyon en iyidir.

- Aynı zamanda, (%1wt) kabul edilmez bir konsantrasyon olurken, kitosan oranı değişimi ve nanolif çapı arasında istatistiksel ilişki vardır ve numune PEO/CS:60/40-%3 en iyisidir.

4.2.4. PEO/CS NanolifAntibakteriyel Aktivitenin Değerlendirilmesi

Literatüre göre, kitosan antibakteriyel aktivitesi geniş olarak tartışılmıştır. Bu özelliği nedeniyle farklı tıbbi alanda uygulanmıştır. Ancak, bu özelliği herhangi konsantrasyonla, karışım oranıyla, farklı bakterilere karşı, nanolif üretim cihazıyla gösterip göstermediği bu analiz ile bilinebilir. PEO/CS nanolif numunelerinin Gram pozitif organizma olarak *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve Gram negatif organizma olarak *Klebsiella pneumoniae* ATCC43816 mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu analizi kolayca uygulamak için, PEO/CS nanolifleri bir naylon tabaka üzerine elektrospinning cihazıyla üretildi ve PEO/CS nanolifleri ile yüklenen bu naylon tabakalar, boyutları (1 x 1 cm²) olan numuneler olarak kesilmiştir.

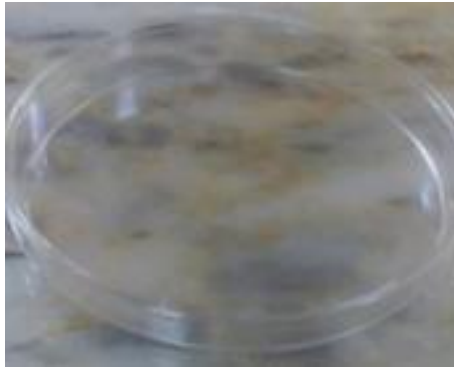
4.2.4.1. Besiyeri Hazırlanışı

Bakteri çoğalması için besleyici madde bulunmalı. Bununla birlikte antibakteriyel aktivite değerlendirilmesi için, PEO/CS numuneler ile bakteri aynı ortamda konmuş olup birbirine nasıl etkilemeleri için besiyeri (agar) hazırlanmalıdır. Bakterilerin çoğalması için besleyici madde (mueller hinton agar) saf su ile beher içinde karıştırılır. Uygulanmış besleyici madde LAB039 türü, LOT numarası 144209 (A Neogen) şirketi tarafından satın alınmıştır. Şirket tarafından hazırlama tarifi gibi her 38g besleyici maddeden, 1L saf su ile oda sıcaklığında iyice çözünür, (Şekil 4.56)'de hazırlanan iki beher içerisinde (500mL) saf su ile çözünen mueller hinton agar maddesi



Şekil 4.56. Bakterinin besleyici maddesinin hazırlanan beherler

Şekil 4.2.20’de görülen iki beher etüvde konur ve sıcaklığı yavaşça artırıldı, 121°C ulaştığında bu sıcaklık 15 dk sabit tutuldu, daha sonra bu sıcaklık, yavaşça ve iki saat içerisinde 47°C ’ye kadar azaltıldı. Şu şekilde agar besleyici madde hazır bir hale gelmiştir ve petri tabak içinde dökülebilmıştır. Şekil 4.57 petri tabaklar, (agar kutusuna), besleyici madde dökülmeden önceki halini göstermektedir.



Şekil 4.57. Petri tabak (agar kutusu) boş halinde

Petri tabaklara agar besleyici madde döküldükten sonra inkübatöre (24 saat) yerleştirilmiştir. Petri tabak içinde agar sertleşmiştir ve böylece antibakteriyel analizi uygulamak için numune hazır hale getirilmiştir. Aynı zamanda *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerin hazırlama işlemine başlanır. Test hazırlamak için seçilen iki tür bakteri salin (%0.85 wv^{-1}) içinde süspanse edilmiştir ve agar gibi 24 saat bekletilir (Şekil4.58).



Şekil 4.58. İnkübatöre yerleştirilen agar ve bakteriler

Bekletme süresi bittikten sonra bakteriler, sertleşen agar üzerine sterilize pamuklu şiş ile düzenli olarak serpilmiştir. Her tür bakteri için 12 olmak üzere (12 numune *Staphylococcus aureus* ve 12 numune *Klebsiella pneumoniae*) PEO/CS numuneleri için toplam 24 agar yapılmıştır. Kontrol numunesi olarak üç saf PEO numunesi (%1, %2, %3) seçilmiştir ve iki tür bakteri için 6 agar kullanılmıştır. Farklı PEO/CS ve PEO naylon üzerindeki nanolif numuneleri iki tip bakteri ile petri tabaklara eklendikten sonra bakteriyolojik inkübatörde (BINDER) 37 °C'de 24 saat inkübe edildi (Şekil 4.59 BİNDER inkübatör cihazı).

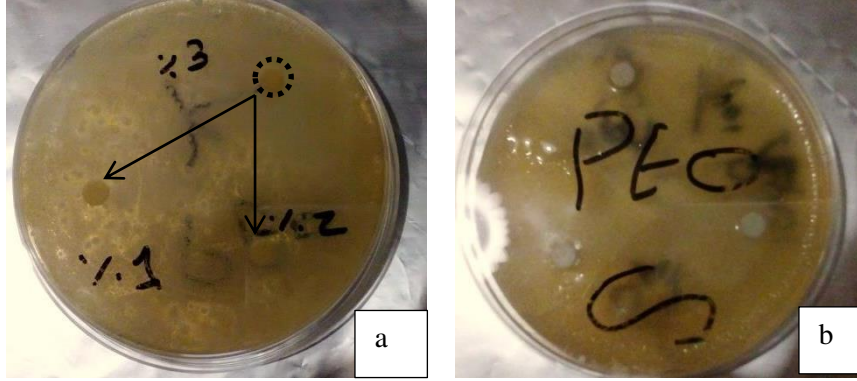


Şekil 4.59. BİNDER inkübatör cihazı

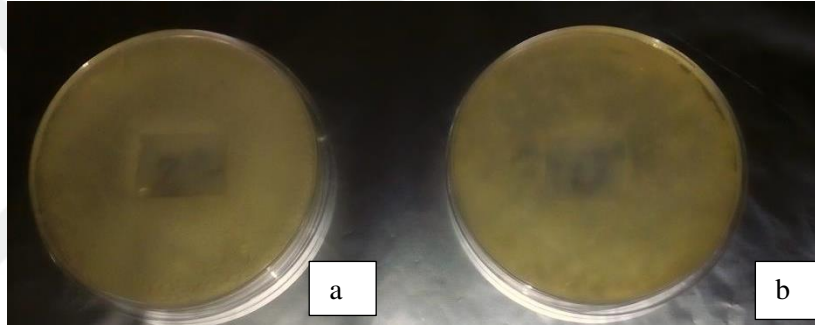
4.2.4.2. PEO/CS Nanolif Antibakteriyel Analizin Sonuçları

Disk difüzyon yönteminde numunenin antibakteriyel aktivitesi tespit edilmek için, numune çerçevesinin bakteriye karşı inhibisyon alanı oluşmasıyla tespit edilir. Naylon tabakadaki PEO/CS nanolifin çerçevesi ile bakteri arasında boşluk bulunursa, nanolifin antibakteriyel aktivitesinin var olduğu anlamına gelir.

İnkübe edilen tüm nanolif numuneleri, 24 saat geçtikten sonra inkübatörden çıkarılmıştır. Literatüre göre (Gatti ve ark., 2013) ve beklendiği gibi PEO'nun antibakteriyel aktivitesi yoktur. PEO numunesi için Disk difüzyon yöntemi iki şekilde uygulanabilirdi, ilk yöntemde agar üzerine üç tane disk yerleştirilmiş ve PEO'nun farklı konsantrasyonu (%1, %2, %3 wt) iğne kullanmakla çözelti olarak disk üzerine dökülmüştür. Şekil 4.60 gösterdiği gibi hiçbir inhibisyon alanı oluşmamıştır. İkinci yöntemde naylondaki PEO nanolifler, agar üzerine yerleştirilmiş, Şekil 4.61 gibi, naylon üzerinde bulunan PEO nanolif çerçevesinde hiçbir inhibisyon alanı oluşmamıştır. Farklı konsantrasyonla tüm PEO numuneleri de aynı sonuç verdiği için sadece bir konsantrasyon, %2wt, numune seçilmiş ve Şekil 4.2.61'de verilmiştir. Şu şekilde *Staphylococcus aureus*'a ve *Klebsiella pneumoniae*'a karşı PEO nanolif antibakteriyel aktivitesi yoktur.



Şekil 4.60. PEO çözelti olarak a) *Klebsiella pneumoniae* b) *Staphylococcus aureus* için antibakteriyel aktivitesi



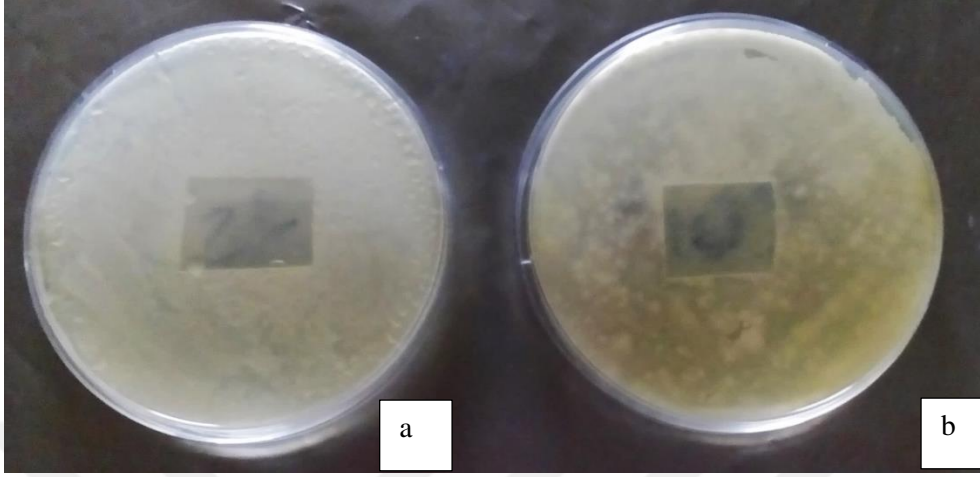
Şekil 4.61. PEO nanolif olarak a) *Klebsiella pneumoniae* b) *Staphylococcus aureus* için antibakteriyel aktivitesi

PEO/CS farklı numuneleri de benzer şekilde antibakteriyel aktivite için incelenmiştir. Şekil 4.62 görülebileceği gibi, farklı karıştırma oranlarına ve konsantrasyonlarına sahip PEO/CS nanolif numunelerinin hiçbirisi, PEO/CS numunelerinin çevresindeki alanda *S.aureus* veya *K. pneumoniae* bakterilerine karşı bir inhibisyon bölgesi göstermemiştir. PEO/CS nanolifleri ile yüklenen naylon tabaka şeffaf bir alan olarak göründü ve agar içinde bakteri ile aralarında boşluk olmayan test numuneleri görülebilmıştır. Böylece kitosanın katyonik bir polimer olarak antibakteriyel özelliklerine rağmen, diğer polimerlerle elektroğirme işleminin bu özelliklerin oluşmasını engellediği söylenebilir. Daha

açık ifade edilirse; PEO molekülleri elektroeğirme işleminde kitosan moleküllerini çevreleyebilmiş ve antibakteriyel özelliklerin oluşmasını engellemiştir (Surendhiran ve ark., 2020). Aynı zamanda, diğer çalışmalara göre, kitosanın antibakteriyel özelliğinin sürekli oluşmadığını ve fiziksel özellikleri, özellikle moleküler ağırlığı ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Benhabiles ve ark., 2012). Böylece, Elektroeğirme yöntemi, kitosanla karıştırılan başka bir madde ve kitosanın molekül ağırlığı nedeniyle elde edilen PEO/CS nanolif numunelerin hiçbirisi Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* ve Gram-negatif *Klebsiella pneumoniae* bakterilerinin iki tipine direnç göstermediği fark edilir ve kitosan'ın antibakteriyel özelliklerini önlemede önemli bir rol oynamıştır. Bu, kitosan nanoliflerinin antibakteriyel lifler olarak kullanılabileceğini kesin olarak yada her durumda söylemenin mümkün olmadığı anlamına gelebilir.

Literatürdeki bazı çalışmalarda, kitosan nanolifin gerek PEO gerekse başka yardımcı madde ile karıştırıldığında, antibakteriyel özelliği göstermek için antibakteriyel özelliğine sahip başka bir madde eklenmiş olduğu görülmektedir. Amiri ve ark (2020)'nin çalışmasına göre, anti-inflamatuvar teikoplanin, PEO/CS nanoliflerle kaplanmıştır ve bu malzeme, PEO/CS nanoliflerle kaplandığında, kaplanmamış duruma göre bakterilere karşı daha yüksek bir direnç göstermiştir ve %4 wt konsantrasyonlu teikoplanin, dirençli bakterilerde çok iyi olduğu bulunmuştur (Amiri ve ark., 2020). Başka bir çalışmada, PEO/CS nanolifleri *s.aureus*'a direnç göstermiştir, ancak PEO/CS nanoliflerine fenolik eklenmesi halinde *e.coli*'ye direnç göstermiştir (Kuntzler ve ark.,2018). Başka bir çalışmada, PEO/CS karışımına nar kabuğunun özütü eklendiğinde *e.coli*'ye karşı antibakteriyel direnç göstermiştir (Surendhiran ve ark., 2020).

Antibakteriyel testler için, test edilen tüm numunelerde aynı sonuçlar verdiği için, örnek olarak PEO/CS:30/70-3% numunesi Şekil 4.62'de verilmiştir.



şekil 4.62. PEO/CS nanolif a) *Klebsiella pneumoniae* b) *Staphylococcus aureus* için antibakteryel aktivitesi

5. SONUÇ

Dengeli bir çevre, insan yaşamının düzgün bir şekilde seyri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle çevrenin güvenliğini korumak, şu aralada insanlığın en önemli eğilimlerinden biridir. Bu fıkirden hareketle kitosan, biyolojik ve biyouyumlu, çevreye zarar vermeyen bir madde olarak tez çalışmasında incelenmiştir.

Günümüzde nanoteknolojinin oyandığı büyük rol nedeniyle, kitosan başka maddelerle (PVA ve PEO) karıştırılarak, kitosan nanolif şeklinde üretilmiştir. Elde edilen farklı nanolif numuneleri test edilmiş olup ve en ideal nanolif seçilmiştir.

Kitosan nanolif yapılırken, karışım çözeltisi, elektrospinning üretim koşulları ve nanolif özelliklerinden elde edilen önemli noktalar şu şekilde sonuçlanır.

- Kitosan nanolif üretmek için kitosan çözeltinin viskozitesi %1'dan daha düşük ve %3'tan daha yüksek bir konsantrasyondan aşılamaz. %5wt konsantrasyonlu olan kitosan çözeltisi jelleşmiş olup nanolif elde etmek için uygulanamamıştır. %1wt konsantrasyonlu olan kitosandan (PEO/CS çalışmasında) çok fazla boncuklu nanolif üretilmiştir. Bu nedenle %2wt konsantrasyonlu olan kitosan uygun bir nanolif üretmek için her zaman tercih edilmektedir.

PVA/CS çalışmasında elde edilen önemli sonuçlar şu şekildedir:

- Kitosanın oranı arttıkça, nanolif elde edilmek için karışımın konsantrasyonu azaltılmalıdır. Kitosan, yüksek viskoziteye sahip bir madde olduğu için, kitosanın oranı ve konsantrasyonu beraber artırılmaz. %3.5wt konsantrasyonun, en yüksek üretim veren bir karışım konsantrasyonu olduğu için bu konsantrasyon seçilip (PVA/CS:90/10-80/20-70/30-60/40-50/50) farklı karışım oranıyla PVA/CS nanolif

üretilmiştir. Bununla birlikte PVA/ CS: 70/30 başarılı ve denemeler arasında orta bir halde olduğu için bu oran seçilip (%2wt, %3wt, %3.5wt, %4wt, %5wt) farklı karışım çözeltilisinin konsantrasyonu ile PVA/CS nanolif üretilmiştir.

- Her durumda, PVA/CS karışımında nanolif üretmek için, kitosan oranının %50'nin üzerine çıkmaması gerektiği tespit edilmiştir.
- %3.5wt sabit karışım konsantrasyonu tutulmak için, PVA/CS polimerik karışımındaki kitosan oranı artışıyla birlikte, PVA'dan kullanılan katı ve sıvı oranı azalmıştır ancak konsantrasyonu artmıştır.
- %3.5wt sabit karışım konsantrasyonu tutulduğunda. Her besleme debisindeki Kitosan oranı artmasıyla üretim verimliliği azalmıştır. Bununla birlikte damlama ve kesiklik durumları da daha fazla olmuştur ve özellikle PVA/CS:60/40 ve PVA/CS:50/50 oranındadır. Üretim verimliliğine göre 10µL/dk besleme debisi tercih edilmektedir. Besleme debisinin 2 µL/dk'den 10 µL/dk'ya yükselmesiyle birlikte, nanoliflerin üretkenliği önemli ölçüde artmış, ancak polimerik karışımındaki kitosan oranı da önemli bir rol oynamıştır ve yüksek besleme debisine rağmen, Polimerik karışımındaki kitosan oranı, nanoliflerin üretkenliğinde açık bir düşüşe yol açmıştır.
- PVA/CS polimerik karışımındaki konsantrasyonu %3.5 wt sabit tutulduğunda, ancak kitosan oranının artmasıyla, polimerik karışımın viskozitesi ve elektriksel iletkenliği artmışken yüzey geriliminde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir
- PVA/CS:70/30 sabit oran şeklinde tutulduğunda, ancak PVA/CS polimerik karışımının konsantrasyonu arttığında, PVA'nın konsantrasyonu da yükselmiştir. Bununla birlikte %2 wt sabit konsantrasyonu olan kitosanın sıvı ve katı miktarının artışı görülmüştür.

- PVA/CS:70/30 oranı sabit tutulduğunda. Her besleme debisindeki PVA/CS karışımın konsantrasyonu artmasıyla üretim verimliliği yükselmiştir. Üretim verimliliğine göre 10µL/dk besleme debisi tercih edilmektedir. Ancak düşük konsantrasyonlu karışımlar her hangi bir debide az bir üretim olmuştur. Karışımın konsantrasyonu artmasıyla nanolif üretimi iyileşmiştir.
- PVA/CS:70/30 polimerik karışımdaki oran sabit tutulduğunda, ancak karışımın konsantrasyonu artmasıyla, polimerik karışımın viskozitesi ve elektriksel iletkenliği artmışken yüzey geriliminde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir
- PVA/CS karışımında, gerek kitosan oranındaki bir artışla, gerekse polimer karışımının konsantrasyonundaki bir artışla, CS/PVA polimer karışımının viskozitesinde ve iletkenliğinde bir artış olduğunu tespit edilmiştir. Bunun nedeni, katyonik bir yapıya ve yüksek viskoziteye sahip olan kitosan'ın, polimer karışımının özelliklerini üzerinde büyük bir ölçüde etkisinin olduğunu göstermektedir.
- FTIR analizine göre PVA ve kitosan maddeleri çözelti olarak karıştırılırken güçlü hidrojen bağları oluşmaktadır.
- XRD analizine göre PVA maddesine kitosanın eklendiğinde, nanolifdeki kristal bünyesine önemli değişiklikler olmadığı ve kitosan molekülerinin PVA molekülerin arasında uyumlu bir şekilde dağıtıldığı tespit edilmiştir.
- SEM analizine göre, karışım konsantrasyonu sabit tutulduğunda nanoliflerde kitosan oranı artmasının ortalama nanolif çaplarında azalmaya başlamıştır. Kitosan oranı artmasıyla PVA/CS çözeltinin viskozitesi artmasına rağmen çaplarda artış yerine azalma gözlenmiştir. Bu durum kısmen PVA ile kitosan arasında güçlü hidrojen bağlarının oluşmasıyla, kısmen de katyonik yapıya sahip kitosan ilavesinden dolayı elektroegirme çözeltilerinin yüksek elektrik iletkenliği ile açıklanabilmektedir.

- polimerik karışımın konsantrasyonu (% 3.5wt) olarak sabitlendiğinde ve kitosan oranlarının artmasıyla, PVA'nın konsantrasyonlarının arttığı da söylenebilir, ancak ondan katı ve sıvı miktarının azaldığı görülmüştür. Bu nedenle liflerin çapı kitosan oranı artmasıyla azalmıştır.
- Besleme debisi 6 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debiden 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debiye artmasıyla her karışım oranında PVA/CS lifler çapının artması görülmüştür. 2 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debinde ise çok az üretim elde edildiği için tez çalışmasından kaldırılmıştır.
- Nanoliflerin çapı küçüldükçe boncuklar oluşmaya başlamıştır. Polimerik karışımında kitosanın en düşük yüzdesinde düğüm görülmeye başlandı ve kitosan oranının artmasıyla bu boncukların miktarı da artmıştır. PVA/CS40-6, PVA/CS40-10, PVA/CS50-6 ve PVA/CS50-10 numunelerde, başka nanoliflerle karşılaştırıldığında yüksek bir kitosan yüzdesi bu boncukların oluşturulduğu açıkça gözlemlenmiştir.
- nanoliflerin çapı ile karışım oranının değişimi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ve belli bir matematiksel ilişki tahmin edilemez. Ancak lif çapı ile besleme debisi arasında anlamlı istatistiksel bir ilişki vardır ve 10 $\mu\text{L}/\text{dk}$ debisinin en uygun olduğu tespit edilmektedir.
- PVA/CS:70/30 oran sabit tutulduğunda, PVA/CS polimerik karışım konsantrasyonundaki artışla nanoliflerin çaplarında bir artışa yol açtığı fark edilmiştir. Artan çözelti konsantrasyonu ile PVA konsantrasyonu da artmıştır. Böylece daha kalın nanolif elde edilmeye PVA'nı etkisi daha görülmüştür. Kitosanın katı ve sıvı miktarındaki artışa rağmen PVA'nın özelliklerinin baskın olduğunu göstermektedir. besleme debisinin artmasıyla birlikte nanoliflerin çapları da artmıştır.
- Polimerik karışımın (% 2 wt) konsantrasyonundan elde edilen nanolifler çok ince ve boncuklu olduğu tespit edilmiştir. PVA/CS polimerik karışımının konsantrasyonunun artması ile nanoliflerin çapları da artmaya başlamıştır ve buna düğüm oluşumunda bir azalma eşlik etmiştir. Sabit

oran PVA/CS:70/30 da' besleme debisi 10 μ L/dk ve %5wt karışım konsantrasyonunda optimum (dügümsüz, boncuksuz) nanolif elde edilmiştir.

- Karışım oranı sabitlendiğinde ve farklı karışım konsantrasyonunda, nanolif çapı ile besleme debisi arasındaki ilişki konusunda hiçbir istatistiksel etki olmadığını gösterir. Ancak nanolif çapları ile farklı polimerik karışım konsantrasyonlarında anlamlı istatistiksel bir ilişki vardır ve %5wt debisinin en uygun olduğu tespit edilmektedir.

PEO/CS çalışmasında elde edilen önemli sonuçlar şu şekildedir:

- Üç farklı molekül ağırlığına sahip 5000 (PEO-Y), 2000 (PEO-O), 900 (PEO-D) kDa PEO ve %90wt AA çözücü olarak kullanılmıştır . Ancak (%1wt) PEO-Y çok az konsantrasyonda kullanılmasına rağmen, çözeltinin yüzey geriliminin çok yüksek olduğundan dolayı, bu tür çözeltiden hiçbir şekilde nanolif elde edilemeyeceği görülmüştür ve PEO-Y (molekül ağırlığı 5000 kDa) kullanılması bu tez çalışmasında iptal edilmiştir.
- %5 wt PEO-D çözeltisinin hazırlandığında, jelleşmiş olup elektrospinning cihazında uygulaması olmazdır.
- %2 wt PEO-D ve %2wt PEO-O çözeltisinden nanolif elde edilebilmiştir ancak PEO-O' dan elde edilen nanolifler çok azdır. PEO-O çözeltinin konsantrasyonu %1.5 wt'e kadar azaldığında daha üretim oluşmuştur. Ancak nanolif arasında boşluk görünmüş olup ve düzgün bir üretim olamamıştır. Bu nedenle elde edilen sonuçlara göre, PEO-O tez çalışmasında iptal edilmiştir. Sadece PEO-D ile kitosanın birlikte nanolif üretimi için ve PEO düşük konsantrasyonla üretiminin denenmesine karar verilmiştir.
- %2wt kitosan ile %1.5 wt PEO-D konsantrasyonu ve PEO-D/CS:70/30 oranı olarak nanolif yürütülmüştür. Ancak yüksek yüzey gerilmine sahip bu

çözelti karışımı nedeniyle, elektrospinning cihazı başladıktan 1 saat sonra bile toplayıcı üzerinde çok az nanolif toplanmıştır. PEO/CS karışımın yüzey gerilimini azaltmak için çözeltiye NaCl eklenmesine ve voltajı yükseltmeye karar verilmiştir. Kullanılan tuz ve yüksek voltaj, karışımın yüzey gerilimi azalmıştır. Ancak tuzun her hangi konsantrasyonunda ve her hangi karıştırma yöntemiyle (ultrasonik ya da yüksek sıcaklık ve uzun karıştırma süreci) toplayıcı üzerinde nanolifin oluşmasını engellenmiş ve toplayıcı üzerinde tuz noktaları görülmüştür. 70°C sıcaklıkta (kitosan içermeyen) NaCl, saf PEO-D çözeltileriyle karıştırılmıştır. Ondan sonra tuzlu PEO çözeltisi 36°C kadar soğutulmuş ve üzerine kitosan eklenip karıştırılmıştır. Ancak, kitosan yoğunlaşmış ve tuz nedeniyle PEO-D çözeltisiyle karıştırılamamıştır. Bu nedenle herhangi bir durumda NaCl eklenmesiyle PEO/CS nanolif elde edilemediğinden ve NaCl kullanılmamasına karar verilmiştir. Bahsi geçen sebeplerden dolayı ve elde edilen sonuçlara göre çözücü olarak kullanılan asetik asit (AA) %90 konsantrasyondan %50 konsantrasyona kadar azaltılarak PEO/CS karışımın yüzey gerilimi NaCl kullanmadan azalabilmektedir.

- Kitosandan (%1, %2, %3wt) üç farklı konsantrasyon ve PEO'dan (%1, %2, %3 wt) ile %50 AA çözücü olarak (PEO/CS:30/70-40/60-50/50-60/40) her konsantrasyon için farklı karışım oranı hazırlanmıştır. PEO/CS:30/70-3% numunenin yüksek viskozitesi, PEO/CS polimer karışımının konsantrasyonunun daha yüksek değerlere çıkarılmasını zorlaştırmakta, bu da elektroegirme ile nanoliflerin elde edilmesini imkansız hale getirmektedir. PEO/CS:30/70-3% numunedekinden daha yüksek değerlere geçilmemiştir.
- Kitosan oranındaki artışın yanı sıra PEO/CS karışımının konsantrasyonundaki artışla birlikte viskozite ve elektrik iletkenliğinin değerlerinde önemli değişikliklerin meydana gelmiştir. En yüksek viskozite ve elektrik iletkenliğinin değeri, PEO/CS:30/70-3% numunesi

için elde edilmiştir. Ancak, farklı PEO/CS polimerik karışımının yüzey gerilimi değerlerinde küçük değişiklikler gözlemlenmiştir.

- FTIR analizine göre PEO ve kitosan maddeleri çözelti olarak karıştırılırken güçlü hidrojen bağları oluşmaktadır.
- XRD analizine göre ve üç karışım konsantrasyonunda, PEO maddesine kitosanın eklendiğinde, nanolifdeki kristal büniesine önemli değişiklikler olmadığı ve kitosan molekülerinin PEO molekülerin arasında uyumlu bir şekilde dağıtıldığı tespit edilmiştir. Ancak XRD analizdeki tepelerin (pik) en yükseği sırayla PEO/CS:30/70-%2 numunede, ondan sonra PEO/CS:30/70-%3, sonra PEO/CS:30/70-%1 numunede görülmüştür
- SEM analizine göre; %1wt PEO/CS konsantrasyonu için, boncuklarla dolu küçük çaplarda nanolifler ortaya çıkmıştır. Karışımındaki kitosan oranının artmasıyla PEO/CS nanoliflerinin çapları azalmıştır. kitosanın diğer polimerlerle (PEO, PVA gibi) oluşturduğu güçlü hidrojen bağları, onunla birlikte polimer karışımının elektrik iletkenliğini artıran katyonik doğasına ek olarak, karışımın viskozitesi artsa bile liflerin çaplarının küçültülmektedir.
- %1wt konsantrasyonundan elde edilen nanoliflerin çok boncuklu ve az verimliliği için, normal nanolifler olarak kabul edilemez. PEO/CS:60/40 oranında, az sayıda boncuk açısından en iyisi olarak kabul edilebilir ancak, nanolifler dairesel kesitli değil, daha çok düz şeritlere benzemektedir. Bu nedenle %1wt konsantrasyonu olan PEO/CS her hangi oranla kullanılmak tavsiye edilmez.
- %2 ve %3wt konsantrasyonu olan PEO/CS farklı oranla düzgün ve az boncuklu nanoliftir.
- %2 ve %3 wt PEO/CS konsantrasyonları durumunda, PEO/CS karışımındaki kitosan oranı arttıkça nanoliflerin çapı azalıyordu ve saf

PEO nanolifin çapı, kitosan içermediği için başka numunelerden daha kalındır.

- PEO/CS karışım konsantrasyonu %2wt'den %3wt'ye arttıkça ve aynı PEO/CS oranında nanolif kalınlaşmaktadır.
- PEO/CS karışımın konsantrasyonu ile nanoliflerin çapı arasında önemli bir fark var ve anlamlı bir istatistiksel ilişki gösterir. (%3 wt) PEO/CS olan konsantrasyon istatistiksel olarak en uygun tespit edilmiştir.
- Çalışmaya konsantrasyonun %1 wt dahil edilmesini içeren ilk istatistiksel çalışmada, karışım oranı ve çaplar arasında istatistiksel bir ilişki olmadığı bulundu. Ancak %1 wt PEO/CS polimer konsantrasyonunun, farklı karışım oranlarına sahip PEO/CS nanolifleri elde etmek için kabul edilemez bir konsantrasyon olduğu varsayılırsa, bu da, karışım oranı ile çap arasında istatistiksel bir ilişki olduğu ve anlamlı istatistiksel bir ilişki olduğunu tespit edilmiştir.
- İstatistiksel ANOVA analizine göre PEO/CS:60/40 -3%, nanolif elde edilmek için en uygun karışımın olduğu tespit edilmiştir.

PEO/CS Nanolif Antibakteriyel aktivitesinin sonuçları

- Her hangi konsantrasyonda kitosan içermeyen saf PEO nanolif *Staphylococcus aureus*'a ve *Klebsiella pneumoniae*'a karşı antibakteriyel aktivitesi yoktur.
- kitosanın katyonik bir polimer olarak antibakteriyel özelliklerine rağmen, diğer polimerlerle elektroegirme işleminin bu özelliklerin oluşmasını engellemiştir. PEO molekülleri elektroegirme işleminde kitosan moleküllerini çevreleyebilmiş ve antibakteriyel özelliklerin oluşmasını engellemiştir. PEO/CS nanolif her hangi konsantrasyonda ve karışım oranında, *Staphylococcus aureus*'a ve *Klebsiella pneumoniae*'a karşı antibakteriyel aktivitesi ortaya çıkmamıştır.

- (%2, %3 wt) konsantrasyonlardan kaynaklanan liflerin homojenliği ve boncuk olmaması nedeniyle, PEO/CS nanolifler bu konsantrasyonlarla ve farklı karıştırma oranıyla; filtrasyon alanında, ilaç yada gübre gibi farklı malzemeler için, ambalaj lifleri olarak kullanılması tavsiye edilmektedir.

Bu tez çalışmasında PVA/CS ve PEO/CS kompozit nanoliflerin elektroğirme yöntemi ile üretimi ve karakterizasyonu ortaya konmuştur. Elektroğirme cihazıyla ve uygulanan farklı karışım konsantrasyonu ve oranında denemeler yapılarak nanolif elde edilebilmiştir. Boncuksuz nanolif üretilmesi için, farklı numuneler arasında en uygun karışım konsantrasyonu ve oranı ile optimum elektroğirme şartları tespit edilmiştir. PVA/CS nanolif için PVA/CS:70/30-%5 en uygun karışım olurken, PEO/CS nanolifte ise PEO/CS:60/40-%3 tespit edilmiştir. Tezde besleme debisine yönelik yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar neticesinde, besleme debisi 10 µL/dk olarak tercih edilmiştir. Önceki çalışmalarda kitosan antibakteriyel özelliğinden bahsedilmiştir. Ancak, bu tez çalışmasında kitosan nanolif şeklinde antibakteriyel etkisi görülmemiştir. Elektroğirme cihazı kitosan antibakteriyel özelliği engelleyebilmiştir. PEO molekülleri, kitosan moleküllerini çevrelemiş ve kitosanın antibakteriyel özelliğinin ortaya çıkmasına izin vermemiştir. Bu nedenle üretilen kompozit nanoliflerin kitosandan dolayı antibakteriyel özelliği kazandığı söylenemez. Bu tez çalışmasında yüksek verimliliği olan numunelerden elde edilen boncuksuz PVA/CS ve PEO/CS nanolifin kapsülleme işlemlerinde kullanılması tavsiye edilir. Bu tür nanolif ile kapsüllenen her hangi bir madde (ilaç, gübre, onarım amaçlı vb. gibi) sorunsuzca ve yavaşça salınabilecek olup daha hedeflenen pekçok farklı uygulamada kullanılabilecektir. Kitosanın doğal bir polimer olması ve çevreye zararlı bir etkisinin olmaması da elde edilen kompozit nanolifleri avantajlı hale getirmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdullah, Z., Dong, Y., Davies, J., Barbhuiya, s., 2017. Pva, Pva Blends And Their Nanocomposites For Biodegradable Packaging Application. Polymer-Plastics Technology And Engineering, 56,1307-1344s.
- Ahmed, sh., İkrami, s., 2015. Chitosan & Its Derivative:Areview İn Recent İnnovation. International Journal of PHarmaceutical Sciences and Research, 6(1) ,14-30s.
- Ali, A., Ahmed, Sh., 2017. A Review on Chitosan and Its Non Composites in Drug Delivery. International Journal of Biyological Macromolecules, 109(1), 273-286s.
- Aliabadi, M., Irani, M., Ismaeili, J., Piri, H., Parnian, M.J., 2013. Electrospun NanofiberMembrane Of PEO/Chitosan For The Adsorption Of Nickel, Cadmium, Lead And Copper İons From Aqueous Solution. Chemical Engineering Journal, 220, 237-243s.
- Amirabad, L., Jonoobi, M., Mousavi, N., Oksman, K.,Kaboarani, A., Yousefi, H.,2018. Improved Antifungal Activity and Stability of Chitosan Nanofibers using Cellulose Nanocrystal on Banknote Papers.Carbohdrate Polymers ,189, 229-237s.
- Amiri, N., Ajami,s., Shahroodi, A., Jannatabadi, N., Darbab, S., Bazzaz, B., Pishavar, E., Kalalinia, F., Movaffagh, J., 2020. Teicoplanin-Loaded Chitosan-PEO Nanofibers For Local Antibiotic Delivery And Wound Healing. International Journal of Biological Macromolecules, 162, 645-656s.
- An, J., Zhang, H., Zhang, J., Zhao, Y., Yuan, X.,2009. Preparation and antibacterial activity of electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) membranes containing silver nanoparticles, Colloid Polym Sci, 287(12), 1425-1434s.

- Antonino, R., Fook, B., Lima, E., Lima, R., Fook, M., Covas, C., Rached, R., Lima, V., 2017. Preparation And Characterization Of Chitosan Obtained From Shells Of Shrimp. *Marine Drugs*, 15(141),1-12s.
- Ayodele, O. , Okoronkwo, A., Oluwasina, O., Abe, T., 2018. Utilization Of Blue Crab Shells For The Synthesis Of Chitosan Nanoparticles And Their Characterization. *Songlanakaran J . Sci. Technol*, 40(5), 1043-1047s.
- Bai B., 2012, Electrospun Chitosan Nanofibers For Virus Removal. Master's Thesis, Michigan Technological University, 1-68s.
- Benhabiles, M.S., Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, M., Mameri, N., 2012. Antibacterial Activity Of Chitin, Chitosan And Its Oligomers Prepared From ShrimpShell Waste. *Food Hydrocolloids*, 29,48-56s.
- Bizarria, M., Davila M., Mei L.H., 2014. Non Woven Nano Fiber Chitosan/Peo Membranes Obtained By Electro Spinning. *Brazilian Journal Of Chemical Engineering*, 31(1),57-68s.
- Gengiz Çallıoğlu, F., 2013. Silindirli Elektro Lif Çekim Yöntemi ile Nano Lif Üretimi. *Tekstil ve Mühendis*, 20(91),35-49s.
- Chen, C., Chang, N., TsanWu, Y., Fu, E., Shen, E., Feng, C., Wen, Z., 2017. Bone Formation Using Cross-Linked Chitosan Scaffolds İn Rat Calvarial Defects. *Implant Dentistry*, 26(6),1-7s.
- Cremer, L., Gutierrez, J., Martinez, J., Materon, L., Gilkerson, R., Xu, F., Lozano, K., 2018. Development Of Antimicrobial Chitosan Based Nanofiber DressingsFor Wound Healing Applications. *Nanomed Journal*. 5(1), 6-14s.
- Dalton, P., Grafahrend, D., Klinkhammer, K.,Klee, D., Moller, M., 2007. Electrospinning of polymer melts: Phenomenological observations. *Polymer* 48, 6823-6833s.
- Dotto G., Santos J., Tanabe E., Bertuol D., Foletto E., Lima E., Pavan F., 2017. Chitosan/Polyamide Nanofibers Prepared By Forcespinning Technology: A New Adsorbent To Remove Anionic Dyes From Aqueous Solutions. *Journal of Cleaner Production*, 144,120-129s.

- Dutta , P., Dutta, J., Tripathi V., 2004. Chitin And Chitosan Chemistry Properties And Applications. Journal Of Scientific& Industrial Research, 63, 20-31s.
- Ellison, Ch., Phatak, A.,Giles,D.,Macosko,Ch,Bates,F., 2007.Melt blown nanofibers: Fiber diameter distributions and onset of fiber breakup.Polymer 48, 3306-3316s.
- Gatti, J., Smithgall, M., Paranjape, S., Rolfes, R., Parajope, M., 2013. Using electrospun poly(ethylene-oxide) nanofibersfor improved retention and efficacy of bacteriolytic antibiotics. Biomed Microdevices,15(5),887-93s.
- Göktepe, F., Mülayim, B., 2015. Elektrik Alan Lif Çekimi (Elektrospinning) ile Nano Liflerden İplik Üretim Yöntemleri. Tekstil ve Mühendis, 22(99), 51-67s.
- Gudjonsdottir, M.,Gacutan Jr. M.,Mendes, A.,Chronakis, I.,Jespersen, L.,Karlsson, A., 2015.Effects Of Electrospun Chitosan Wrapping For Dry-Ageing Of Beef,As Studied By Microbiological, Physicochemical And Low-Field Nuclear Magnetic Resonance Analysis.Food Chemistry, 184, 167–175s.
- Habiba, U., Salleh, A., Ang, B.,2017. Chitosan/(Polyvinyl Alcohol)/Zeolite Electrospun Compositenanofibrous Membrane For Adsorption Of Cr^{6+} , Fe^{3+} And Ni^{2+} . Journal Of Hazardous Materials, 322, 182-194s.
- Homayoni, H., Ravandi, S.,Valizadeh, M., 2009. Electrospinning Of Chitosan Nanofibers: Processing Optimization. Carbohydrate Polymers, 77, 656-661s.
- Hung, L., Nagapudi, K., Apkarian, R., Chaikof, E., 2001. Engineered Collagen–PEO Nanofibers And Fabrics. J. Biomater. Sci. Polymer Edn, 12(9), 979–993s.
- Hui Li, Z., Sun, K., 2011. Preparations, Properties And Applications Of Chitosan Ased Nanofibers Fabricated By Electrospinning.EXPRESS Polymer Letters 5(4), 342–361s.
- Itoh, H., Li,Y., Chan, K., Kotaki, M., 2015.Morphology And Mechanical Properties Of PVA Nanofibers Spun By Free Surface Electrospinning. Polym. Bull, 10, 1-17s.

- Ju Li, C., Zhang, Sh., Wang, J., Yue Liua, T., 2014. Preparation Of Polyamides 6 (PA6)/Chitosan@Fexoycompositenano fibers By Electrospinning And Pyrolysis And Their Cr(VI)-Removal Performance. *Catalysis Today*, 224, 94 – 103s.
- Karim, M., Aijaz, M., Alharth, N., Alharbi, H., Almubaddel, F., Awual, M., 2019. Composite Nanofibers Membranes Of Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan For Selective Lead(II) And Cadmium(II) Ions Removal From Wastewater, *Ecotoxicology And Environmental Safety*. 169, 479-486s.
- Koosha, M., Mirzadeh, H., 2015. Electrospinning, Mechanical Properties, And Cell Behavior Study Of Chitosan/PVA Nanofibers. *Society For Biomaterials*, 103(9), 3081-3093s.
- Kuntzler, S., Costa, J., Morais, M., 2018. Development Of Electrospun Nanofibers Containing Chitosan/PEO Blend And Phenolic Compounds With Antibacterial Activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 800-806s.
- Küçük, A., Evcin, A., 2013. Elektroelirme Yöntemiyle Bor Katkılı Hidroksiapatit Nanoliflerin Üretimi Ve Karakterizasyonu. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 14, 319-324s.
- Kyselica, R., Enikov, E., Polyvas, P., Anton, R., 2018. Electrostatic focusing of electrospun Polymer(PEO) nanofibers. *Journal of Electrostatics*, 94, 21–29s.
- Lemma, S.M., Bossard, F., Rinaudo, M., 2016. Preparation Of Pure And Stable Chitosan Nanofibers By Electrospinning In The Presence Of Poly Ethylene Oxide. *International Journal Of Molecular Sciences*, 17, 1-16s.
- Li, L., Lo Hsieh, Y., 2006. Chitosan Bicomponent Nanofibers And Nanoporous Fibers. *Carbohydrate Research*, 341, 374–381s.
- Li Zhou, F., Gong, R., 2008. Manufacturing Technologies Of Polymeric Nanofibres and NanoFibr Yarns. *Society Of Chemical Industry Polym Int*, 57, 837-845s.
- Martinova, L., Lubosova, D., 2008. Electrospun Chitosan Based Nano Fibers. *Research Journal Of Textile And Apparel*, 12(2), 22-79s.

- Mei, Y., Runjun, S., Yan, F., Honghong, W., Hao, D., Chengkun, L., 2019. Preparation, Characterization And Kinetics Study Of Chitosan/PVA Electrospun Nanofiber Membranes For The Adsorption Of Dye From Water. *Polymer Engineering*, 39(5),1-13s.
- Mendes, A., Gorzelanny, CH., Halter, N., Schneider, S., Chronakis, I., 2016. Hybrid Electrospun Chitosan-PHospHolipids Nanofibers for TransdermalDrug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 510(1),48-56s.
- Min, L., Yuan, Z., Zhong, L., Liu, Q., Wu, R., Zheng, Y., 2014. Preparation Of Chitosan Based Electrospun Nanofiber Membrane And Its Adsorptive Removal Of Arsenate From Aqueous Solution. *Chemical Engineering Journal*, 267, 132-141s.
- Noruzi M., 2016. Electrospun Nanofibers İn Agriculture And The Food İndustry:A review. *Society Of Chemical İndustry*, 10, 1-16s.
- Olçay, H., 2015. Kitin Ve Kitosanın Tekstil Ve Biyomühendislikte Uygulamaları. *İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 14(28), 63-84s.
- Paipitaka, K., Pornprac, T., Mongkontalangc, P., . Techitdheera c., Pecharapaa, W., 2011. Characterization of PVA-Chitosan Nanofibers Prepared by Electrospinning. *Science Direct*, 8, 101-105s.
- Pangong, A., Saesoo, S., Saengkrit, N., Ruktanoncahi, U., İntasanta, V., 2016. Multicarboxylic acids as environment-friendly solvents and in situcrosslinkers for chitosan/PVA nanofibers with tunablephysicochemical properties and biocompatibility. *carbohydrate polymer*, 138, 156-165s.
- Park, K., Kim, S., Park, Y., Song, H., 2018. Calcium PHospHate Compound Formed On Electrospun Chitosan Nanofibers Using Modified Simulated Body Fluid. *Polymer Bulletin*, 10,1-10s.

- Ratajska, M., Strobin, G., Wrona, M., Ciechanska, D., Struszczyk, H., Boryniec, S., Binias, D., Binias, W., 2003. Studies on the Biodegradation of Chitosan in an Aqueous Medium. *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, 11(3), 75-79s.
- Rieger, K., Schiffman, J., 2014. Electrospinning an essential oil: Cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/poly(ethylene oxide) nanofibers. *Carbohydr Polym*, 113, 561-568s.
- Sandeep, A., Sangameshwar, K., Mukesh, G., Chandarktan, R., Avinash, D., 2014. A Brief Overview On Chitosan Applications. *Indo American Journal Of Pharmaceutical Research*, 3(12), 1564-1574s.
- Schneider, H., Steuber, J., Du, W., Mortazavi, M., Bullock, D., 2016. Polyethylene Oxide Nanofiber Production by Electrospinning. *Journal of the Arkansas Academy of Science*. 70(35), 211-215s.
- Singh, Y., Dasgupta, S., Nayar, S., Bhaskar, R., 2020. Optimization Of Electrospinning Process & Parameters For Producing Defect-Free Chitosan/Polyethylene Oxide Nanofibers For Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 31(6), 1-23s.
- Sohofi, N., Tavanai, H., Morshed, M., Abdolmaleki, A., 2014. Electrospinning Of 100% Carboxymethyl Chitosan Nanofibers. *Journal Of Engineered Fibers And Fabrics*, 9(1), 87-92s.
- Son, W., Youk, J., Lee, T., Park, W., 2004. The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers, *Polymer*, 45, 2959–2966s.
- Song, H., Yuan, W., Jin, p., Wang, w., Wang, X., Yang, L., Zhang, Y., 2016. Effects of chitosan/nano-silica on postharvest quality and antioxidant capacity of loquat fruit during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 119, 41-48s.
- Stasko, J., Kalnins, M., Dzene, A., Tupureina, V., 2009. Poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Polymer Science*, 58(1), 63-66s.

- Stie,M., Catke, J., Wan, F., Chronakis, I., Jascobsn, J., Nielsen, H., 2020. Swelling Of Mucoadhesive Electrospun Chitosan/Polyethylene Oxide Nanofibers Facilitates Adhesion To The Sublingual Mucosa. Carbohydrate Polymers, 242, 1-29s.
- Surendhiran, D., Li, C., Cui, H., Lin, L., 2020. Fabrication Of High Stability Active Nanofibers Encapsulated With Pomegranate Peel Extract Using Chitosan/PEO For Meat Preservation. Food Packaging and Shelf Life, 23, 1-9s.
- Szymanska, E.,Winnicka, K., 2015.Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications.marine drugs, 13, 1819-1846s.
- Şafak, Ş., Karaca, E., Özalp, R. G., 2017. Cerrahi Adezyonun Önlenmesi İçin Yeni Bir Yaklaşım: Nanolifli Cerrahi Adezyon Bariyerleri. Tekstil Ve Mühendis , 24(106), 111-123s.
- Taş, M., Sabır, E., Küçgölmez, A., 2017, Karides Atıklarından Elde Edilen kitosan Biyopolimerinin Yünlü Kumaşların Antibakteriyel Özellikleri Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Mühendislik Ve Mimarlık Fakültesi Dergisi,32(1).1-3s.
- Taş, M., 2018. Kitosan Nano-Mikro Kürelerin Uygulandığı Pamuklu Kumaşların Antibakteriyel, optik, mekanik Ve Konfor Özelliklerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 4-24s.
- Tripatanswan, S., Zhong, Z., Reneker, D., 2007. Effect of evaporation and solidification of the charged jet inelectrospinning of poly(ethylene oxide) aqueous solution. Polymer, 48, 5742-5746s.
- Uyar, T., Besenbacher, F., 2009. Electrospinning of cyclodextrin functionalized polyethylene oxide (PEO)Nanofibers, European Polymer Journal, 45, 1032–1037s.
- Üçgül, I., Aras, S., Özdemir küçük çapraz, D.,2016, Farklı Hammade Kaynaklarından Kitinin Saflaştırılması Ve Tekstil Uygulamaları. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enistitüsü Dergisi, 9(1),46-56s.

- Varan, N.,2017. Kitosan Biyopolimerleriyle apraz Bağlanmış Yüksek Elastanlı Poliamid 66 Basınçlı Giysilerin Termofizyolojik Konfor zelliklerinin Analizleri.Tekstil ve Mühendis,24(107), 188-194s.
- Viney, Ch., 2004. Self-assembly as a route to fibrous materials: concepts, opportunities and challenges.Current Opinion in Solid State and Materials Science,8, 95–101s.
- Yıldırım, Z., ncl, N., Yıdırım, M., 2016. Kitosan Ve Antimikrobiyal zellikleri. Nięde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi. 5(1),19-36s.
- Younes, I., Rinaud, M., 2015. Chitin And Chitosan Preparation From Marine Sources. Structure, Properties And Applications. Marine Drugs, 13, 1139-1174s.
- Zhang, X.,Lu,Y., 2014. Centrifugal Spinning: An Alternative Approach to Fabricate Nanofibers at High Speed and Low Cost.Polymer Reviews, 54, 677–701s.
- Zhou, F., Gong, R., 2008. Manufacturing Technologies Of Polymeric Nanofibres and NanoFibre Yarns. Society Of Chemical Industry. Polym Int, 57, 837-845s.

ÖZGEÇMİŞ

Hanan YUNUS, 2002 yılında Şam Üniversitesinde Makine Mühendisliği bölümünde lisans eğitimine başladı ve tekstil makinelerinde ihtisas yaptı. 2007 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2011 yılında Şam Üniversitesi Makine ve Tekstil Teknolojisinde yüksek lisans elde etti. 2008'dan 2015'e kadar Şam Üniversitesinde araştırma görevlisi olarak çalıştı. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı.



EKLER



PVA ve kitosan farklı iki maddenin oranla, %3.5 wt sabit konsantrasyonlu olan karışım hazırlamak için, Kitosan ve PVA maddeden alınan katı ve sıvı miktarının nasıl hesaplanması örnek ile gösterilmiştir.

Örnek: %3.5'lik konsantrasyona sahip 50/50 oranla PVA/CS

1- %3.5'lik karışımdan (15 gram) olan çözeltiyi hazırlamak için, kitosan'dan ve PVA'dan alınan katı madde hesaplanır.

$$100 \quad 3.5$$

$$15 \quad X$$

 $X=0.525$ g (bu miktar, iki maddenin katı ağırlık ölçüsüdür)

2- %3.5'lik çözelti hazırlamak için, iki madde'den 0.525g katı madde olarak alınmalı, bu karışımda kitosanın oranı %50, böylece kitosan'dan alınan katı madde ;

$$100 \quad 50$$

$$0.525 \quad X$$

 $X= 0.2625$ g (bu miktar, kitosanın katı ağırlık ölçüsüdür)

Şu şekilde PVA'dan alınan katı madde $0.525-0.2625= 0.2625$ g şeklinde olacaktır.

3- %2'lik konsantrasyonlu kitosan çözeltisinden ihtiyaç miktarını hesaplamak için, kitosandan alınan katı maddeden elde edilir

$$100 \quad 2$$

$$X \quad 0.2625$$

 $X= 13.125$ g bulunur. Kitosan'dan alınan katı maddde 0.2625 g ve 13.125 gram sıvı çözeltisine ulaşmak için bu katı maddenin üzerine (%90 w/w) asetik asit eklenir.

Benzer şekilde PVA'dan alınan çözeltinin miktarı $15-13.125= 1.875$ g şeklindedir.

4- %3.5'lik karışımda PVA'nın konsantrasyonu hesaplanır

1.875 gram PVA'nın çözeltisinde bulunan katı madde 0.2625 g'dir, bu nedenle

PVA'nın konsantrasyonu

1.875 0.2625

100 X

X=%14wt (PVA'nın çözelti konsantrasyonu)

Başka numuneler için aynı şekilde yapılmış hesaplar yapılmıştır.

