



**T.C.
BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YARA TAKİBİ İÇİN PH-DUYARLI BAKTERİYEL SELÜLOZ
NANOFİBER YARA ÖRTÜLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecem ÇİÇEK KOCABAŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Tezli Yüksek Lisans Programı

OCAK 2025

**T.C.
BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YARA TAKİBİ İÇİN PH-DUYARLI BAKTERİYEL SELÜLOZ
NANOFİBER YARA ÖRTÜLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecem ÇİÇEK KOCABAŞ

(21435020006)

ORCID: 0000-0003-3514-5149

**Biyomühendislik Anabilim Dalı
Biyomühendislik Tezli Yüksek Lisans Programı**

Danışman: Doç. Dr. Emel TAMAHKAR IRMAK

ORCID: 0000-0002-5913-8333

İkinci Danışman: Doç. Dr. Bengi ÖZKAHRAMAN

ORCID: 0000-0003-1535-4381

OCAK 2025



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Bursa Teknik Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, 123M618 numaralı TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) tarafından desteklenmiştir.

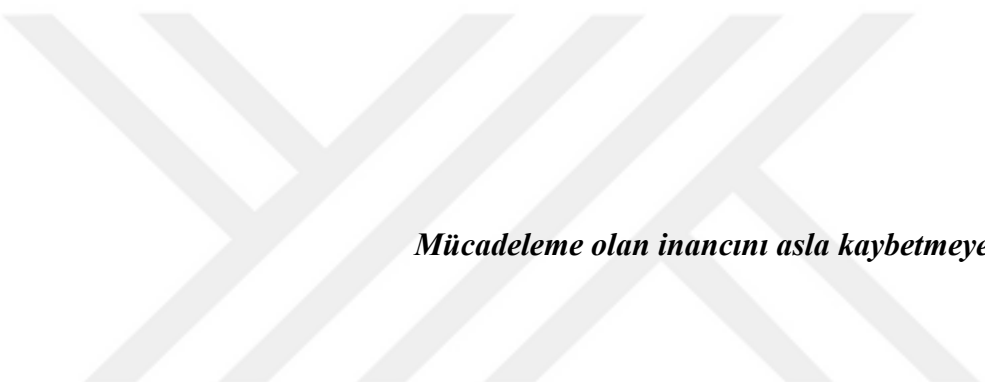
İNTİHAL BEYANI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belgelediğimi, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ecem ÇİÇEK KOCABAŞ

İmzası:

(Faint, stylized signature watermark)



Mücadeleme olan inancını asla kaybetmeyen anneme,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden itibaren üstün bilgisi ve tecrübesiyle hem akademik hayatıma hem de kişisel gelişimime katkı sağlayan, çıktığım bu zorlu yolda desteğini her zaman hissettiğim, örnek aldığım çok kıymetli tez danışman hocam Doç. Dr. Emel Tamahkar Irmak' a bu süreçteki anlayışı, sabrı ve desteği için teşekkür ederim.

Değerli yardımcı danışmanım Doç. Dr. Bengi Özkahraman'a bu süreçteki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tanıştığım günden beri hayatımın merkezine oturan, çıktığım bu yolda her an desteğini hissettiğim, kütüphane arkadaşım, yol arkadaşım, canım eşim Mehmet Fatih Kocabaş'a gösterdiği sabır, yaptığı fedakarlıklar ve sonsuz sevgisi için teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana olan inancını asla kaybetmeyen, her daim desteğini hissettiğim, her adımda beraber emek verdiğimiz, hayallerime giden yoldaki baş kahramanım biricik annem Lütfiye Büyükbezirci'ye bana olan inancı ve sonsuz sevgisi için teşekkür ederim.

Bana olan inancıyla yolumu aydınlatan, her an varlığını hissettiğim kahramanım, biricik dedem Ahmet Büyükbezirci'ye ömrünün sonuna kadar yanımda olduğu için teşekkür ederim.

Hayallerime ulaşmam için desteklerini asla üstümden eksik etmeyen, ne zaman ihtiyacım olsa yanımda olan, beni cesaretlendiren kıymetli aileme, babam Seyit Çiçek ve abim Mehmet Alptürk Çiçek'e teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başladığım ilk günden beri yanımda olan, bu süreçte desteğini her zaman hissettiğim, sırdaşım, dert ortağım, canım arkadaşım Beyza Aydın'a hayatımdaki varlığı için teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimin en güzel kısmını oluşturan, değerli laboratuvar arkadaşlarım Aleyna Tuğçe Efecan, Batuhan Nuray ve Beteja Bricori Bayrak 'a laboratuvarda oluşturdukları güzel ortam ve yüksek lisans sürecimdeki desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu tez, 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) tarafından desteklenmiştir, tez sürecimde verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

Ocak 2025

Ecem ÇİÇEK KOCABAŞ
(Biyomühendis)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY.....	xv
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür	4
1.1.1 Yara dokusu	4
1.1.2 Yara örtüleri	7
1.1.3 Akıllı yara örtüleri	10
1.1.4 pH belirteçleri.....	14
1.1.5 Bakteriyel selüloz	18
1.1.5.1 Bakteriyel selüloz üretimi	19
1.1.5.2 Bakteriyel selülozun biyosentezi.....	22
1.1.5.3 Bakteriyel selülozun kullanım alanları.....	23
1.1.5.4 Bakteriyel selülozun yara örtüsü olarak kullanımı.....	26
1.1.6 Kombuçaya çayından bakteriyel selüloz üretimi	27
2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	31
2.1 Kimyasal Maddeler	31
2.1.1 BC üretimi	31
2.1.2 BC modifikasyonu.....	33
2.1.3 BC karakterizasyonu	33
2.1.3.1 Kalınlık ölçümü.....	33
2.1.3.2 SEM analizi.....	33
2.1.3.3 FTIR analizi	33
2.1.4 PR-MA sentezi	33
2.1.5 PR-MA karakterizasyonu	35
2.1.5.1 FTIR analizi	35
2.1.5.2 UV-vis spektrum ölçümleri	35
2.1.5.3 NMR analizi	35
2.1.6 BC tabanlı akıllı yara örtülerinin hazırlanması (BC/PR-MA).....	35
2.1.7 Boya sızıntı tespiti	37
2.1.8 Kolorimetrik analiz.....	37
2.1.9 BC/PR-MA karakterizasyonu.....	38
2.1.9.1 SEM analizi	38
2.1.9.2 FTIR analizi	38
2.1.9.3 Şişme testi	38
2.1.9.4 Dehidrasyon testi.....	39

2.1.9.5 Su buharı geçirgenliği hızı	39
2.1.9.6 Hidrolitik degradasyon testi	39
2.1.9.7 Mekanik dayanımı.....	40
2.1.9.8 In vitro biyouyumluluk testleri	40
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
3.1 BC Üretimi	42
3.2 PR-MA Sentezi.....	44
3.2.1 UV-vis spektrum ölçümleri	45
3.3 BC/PR-MA Yara Örtülerinin Hazırlanması.....	46
3.4 BC/PR-MA Nanofiberinin Kolorimetrik Analizi	47
3.5 BC/PR-MA Nanofiberinin Karakterizasyonu	51
3.5.1 SEM analizi	51
3.5.2 FTIR analizi.....	54
3.5.3 NMR analizi	57
3.5.4 Şişme testi.....	59
3.5.5 Dehidrasyon testi	61
3.5.6 Hidrolitik degradasyon testi	63
3.5.7 Su buharı geçirgenliği hızı	65
3.5.8 Mekanik dayanım	67
3.5.9 In vitro sitotoksosite	70
3.5.10 BC/PR-MA diğer kolorimetrik analizleri	73
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
5. KAYNAKLAR.....	78
EKLER.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	94

KISALTMALAR

3-MPS	: 3- metakriloksipropiltrimetoksisilan
BC	: Bakteriyel selüloz
BC/PR-MA	: PR-MA içeren bakteriyel selüloz nanofiberler
BC-MA	: Modifiye edilmiş bakteriyel selüloz
ECM	: Ekstra selüler matris
PR	: Fenol kırmızısı
PR-MA	: Metakrilatlanmış fenol kırmızısı
ROS	: Reaktif oksijen türleri

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Yara teşhisinde kullanılabilecek belirteçlerin listesi.....	12
Çizelge 1.2 : Bitkisel ve bakteriyel selülozun karşılaştırması.	19
Çizelge 1.3 : Kombuç SCOBY den sentezlenen BC ile tek bir suştan sentezlenen BC arasında ki farklılıklar.	29
Çizelge 2.1 : BC üretimi için besiyeri içeriği	31
Çizelge 2.2 : BC/PR-MA nanofiberinin polimerizasyon ortamı bileşenleri.....	36
Çizelge 3.1 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarındaki ΔE değerleri.	49

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Yara iyileşme sürecinin 4 temel aşaması.	5
Şekil 1.2 : Yara örtüsü çeşitleri.	10
Şekil 1.3 : pH ile yara takibinin yapılması.	15
Şekil 1.4 : Kültür ortamında bulunan karbon ve azot kaynaklarının bakteriyel selülozun morfolojisine etkisi (Minsart ve diğ, 2022b).	20
Şekil 1.5 : Bakteriyel selülozun kimyasal yapısı.	21
Şekil 1.6 : Bakteriyel selülozun biyosentezi (Lee ve diğ, 2014).	23
Şekil 1.7 : Hasat edilmiş ve NaOH ile yıkanarak kurutulmuş Kombuç selüloz.	28
Şekil 2.1 : BC üretiminin şematik gösterimi.	32
Şekil 2.2 : BC yıkama işleminin şematik gösterimi.	32
Şekil 2.3 : Evaporatör cihazı.	34
Şekil 2.4 : PR-MA sentezinin şematik gösterimi.	34
Şekil 2.5 : BC/PR-MA hazırlanmasının şematik gösterimi.	36
Şekil 2.6 : Farklı pH tamponlarında BC/PR-MA nanofiberlerin renk değişiminin şematik gösterimi.	38
Şekil 3.1 : Farklı üretim kabı ve inkübasyon süresinde üretilen BC'ler.	43
Şekil 3.2 : PR-MA sentezi reaksiyonu (Liu ve diğ, 2017).	44
Şekil 3.3 : PR-MA'nın farklı pH aralıklarındaki renk değişimi.	45
Şekil 3.4 : PR-MA monomerinin farklı pH değerlerindeki UV spektrumları.	46
Şekil 3.5 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarındaki renk değişimleri.	48
Şekil 3.6 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH'lardaki ΔE değerleri.	50
Şekil 3.7 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarında renk değişim videosunun bağlantısı.	50
Şekil 3.8 : BC/PR-MA farklı pH'larda tekrarlı renk değişimi.	51
Şekil 3.9 : BC ve BC-MA nanofiberinin SEM görüntüleri.	52
Şekil 3.10 : Farklı akrilamid miktarlarında hazırlanan BC/PR-MA nanofiberlerinin SEM görüntüleri. A) 0,01 g B) 0,05 g C) 0,1 g D) 0,4 g.	54
Şekil 3.11 : PR ve PR-MA'ya ait FTIR spektrumları.	55
Şekil 3.12 : BC ve BC-MA nanofiberlerinin FTIR spektrumları.	56
Şekil 3.13 : BC/PR-MA nanofiberlerinin FTIR spektrumları.	57
Şekil 3.14 : PR ve PR-MA'ya ait NMR spektrumları.	58
Şekil 3.15 : BC nanofiberinin pH 5,5-8,0 aralığındaki % şişme değerleri.	60
Şekil 3.16 : BC/PR-MA nanofiberlerinin pH 5,5-8,0 aralığındaki % şişme değerleri.	61
Şekil 3.17 : BC/PR-MA nanofiberlerinin % dehidrasyon değerleri.	63
Şekil 3.18 : BC/PR-MA nanofiberlerinin % degradasyon değerleri.	65
Şekil 3.19 : BC/PR-MA nanofiberlerinin WVTR değerleri.	67
Şekil 3.20 : BC/PR-MA nanofiberlerinin çekme testi sonuçları.	69
Şekil 3.21 : BC/PR-MA nanofiberlerinin elastisite modülü.	69

Şekil 3.22 : BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin direkt yöntem ile elde edilen %canlılık ve OD grafikleri.	72
Şekil 3.23 : BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin indirekt yöntem ile elde edilen %canlılık grafiği.	73
Şekil 3.24 : G değerleri ile pH arasındaki ilişki.....	74
Şekil 3.25 : BC/PR-MA nanofiberlerinin RGB değerleri.....	75



YARA TAKİBİ İÇİN PH-DUYARLI BAKTERİYEL SELÜLOZ NANOFİBER YARA ÖRTÜLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, yara ortamındaki enfeksiyon varlığını tespit etmek amacıyla bakteriyel selüloz tabanlı pH duyarlı, akıllı yara örtülerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen akıllı yara örtüleri, bakteriyel selülozun nanofiberlerin üstün yara iyileştirme özellikleri ile yara tedavisini desteklerken aynı zamanda enfeksiyon varlığında, yara ortamındaki pH değişimi vasıtasıyla yara takibinin yapılabilmesini sağlar. Bu amaçla, tez kapsamında öncelikle indikatör boya olan fenol kırmızısı modifiye edilmiştir (PR-MA). Sentezlenen PR-MA'nın sulu çözeltilerinin renginin, asidik pH'da sarı renkli iken bazik pH'da kırmızı-mora değiştiği belirlenmiştir. PR-MA'nın kimyasal yapısı ayrıca FTIR ve NMR ile incelenmiştir. Ardından PR-MA, farklı akrilamid miktarları (0,01; 0,05; 0,1 ve 0,4 g) kullanılarak, 3-metakriloksipropil trimetoksisilan ile modifiye edilen BC yüzeyinde polimerize edilmiştir. Geliştirilen BC/PR-MA nanofiber yara örtülerinin kimyasal ve morfolojik özellikleri FTIR ve SEM ölçümleri ile incelenmiştir. BC/PR-MA nanofiber yara örtülerinin farklı pH tamponlarındaki kolorimetrik analizleri sonucunda elde edilen ΔE değerlerinin 12'den büyük olmasıyla, pH duyarlı yara örtülerindeki pH değişiminden kaynaklanan renk değişiminin gözle görülebilir seviyede olduğu belirlenmiştir. BC/PR-MA nanofiber yara örtülerinin pH 5,5 ve pH 8,0'de şişme özellikleri incelenmiş ve şişme kapasitesinin yaklaşık %400-%800 arasında değiştiği bulunmuştur. Elde edilen BC/PR-MA nanofiberin (akrilamid içeriği: 0,01; 0,05; 0,1 ve 0,4 g) su buharı geçirgenlik hızları sırasıyla, $1977,5 \pm 37,1$; $2120,6 \pm 303,5$; $2188,5 \pm 66,2$ ve $1651,6 \pm 4,5$ g/m²/gün olarak bulunmuştur. BC/PR-MA nanofiber yara örtülerinin çekme gerilmesi sırasıyla 42,8- 113,9 MPa aralığında ve çekme uzama değeri %0,08-0,16 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, tez kapsamında geliştirilen pH duyarlı BC temelli nanofiberlerin, yara takibini çıplak gözle, hızlı ve etkin şekilde yapabilecek yara örtüleri olarak yüksek potansiyel sundukları belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyel selüloz nanofiberler, pH duyarlı yara örtüleri, Yara takibi, Fenol kırmızısı.

DEVELOPMENT OF PH-SENSITIVE BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBER WOUND DRESSINGS FOR WOUND MONITORING

SUMMARY

In this study, it was aimed to develop bacterial cellulose-based pH-sensitive smart wound dressings to detect the presence of infection in the wound environment. The developed smart wound dressings support wound treatment with the superior wound healing properties of bacterial cellulose nanofibers, while at the same time enabling wound monitoring in the presence of infection through the pH change in the wound environment. For this purpose, the indicator dye phenol red was modified (PR-MA). It was determined that the color of aqueous solutions of synthesized PR-MA changed from yellow at acidic pH to red-purple at basic pH. The chemical structure of PR-MA was also investigated by FTIR and NMR. PR-MA was then polymerized on the BC surface modified with 3-methacryloxypropyl trimethoxysilane using different acrylamide amounts (0.01, 0.05, 0.1 and 0.4 g). The chemical and morphological properties of the developed BC/PR-MA nanofiber wound dressings were investigated by FTIR and SEM measurements. The colorimetric analysis of BC/PR-MA nanofiber wound dressings in different pH buffers showed that the color change due to pH change in pH sensitive wound dressings is visible with ΔE values greater than 12. The swelling properties of BC/PR-MA nanofiber wound dressings at pH 5.5 and pH 8.0 were investigated and it was found that the swelling capacity varied between 400% and 800%. The water vapor permeability rates of BC/PR-MA nanofibers (acrylamide content: 0.01; 0.05; 0.1 and 0.4 g) were found to be 1977.5 ± 37.1 ; 2120.6 ± 303.5 ; 2188.5 ± 66.2 and 1651.6 ± 4.5 g/m²/day, respectively. The tensile stress of BC/PR-MA nanofiber wound dressings were determined as 42.8- 113.9 MPa and tensile elongation value as 0.08-0.16%, respectively. In line with these results, it was determined that pH-sensitive BC-based nanofibers developed within the scope of this thesis offer high potential as wound dressings that can perform wound monitoring quickly and effectively with the naked eye.

Keywords: Bacterial cellulose nanofibers, pH sensitive wound dressings, Wound monitoring, Phenol red.

1. GİRİŞ

İnsan vücudundaki en büyük organ olan deri, vücut ısını düzenleme ve iç organları çevresel faktörlerden koruma görevini üstlenir. Fiziksel ve kimyasal faktörlerin sonucunda deri hasar görerek yara dokusunu oluşturur (Minsart ve diğ, 2022). Derinin hasarından sonra yara onarım süreçleri devreye girer. Yara onarım süreci 4 temel aşamada gerçekleşir: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme. Yara iyileşme süreçlerinin başarıyla tamamlanması için bu dört aşamanın doğru sıra ve zamanda gerçekleşmesi gerekmektedir (Brown, 2018; Zheng, 2020). Yara iyileşmesi karmaşık bir süreçtir, bazı faktörler bu süreci etkileyerek yara iyileşme sürecini sekteye uğratar. Yara, akut ve kronik yara olmak üzere iki sınıfta incelenir. Normal iyileşme sürecini aşan yaralara kronik yara denir. Akut yaralar iki hafta içerisinde tamamen onarılırken kronik yaraların iyileşmesi 12 haftayı geçebilir (Mostafalu ve diğ, 2018). Doku onarımındaki zayıflamalar diyabet, yaşlanma, yetersiz beslenme, obezite, stres ve otoimmün hastalıklar yara iyileşme sürecini etkileyebilir ve bunun sonucunda kronik yaralar oluşabilir (Mostafalu ve diğ, 2018). Kronik yaraların oluşması sağlık sisteminde iş gücü ve ekonomik olarak kayba sebep olur. Hasta konforunda ise düşüşe sebep olur. Kronik yaraların enfeksiyon riski yüksektir. Enfeksiyon yaranın tedavi edilmesini zorlaştırır (Dargaville ve diğ, 2013). Kronik yara enfeksiyonlarının tedavisinde, antibiyotik direnci nedeniyle antibiyotiklerin kullanımı güçleşmektedir. Cerrahi yöntemler ise dokuya zarar verir, bu nedenle kronik yara enfeksiyonlarının tedavisinde etkin, hasas, güvenilir yeni yöntemler geliştirilmelidir (Eskilson, 2023; Negut, 2018). Yara örtüleri doku yenilenmesini hızlandırır, bakteriyel enfeksiyonların önüne geçer ve derinin fizyolojik özelliklerini geri kazandırır. Yara iyileşmesinin desteklenmesi için yara örtülerinin bazı özellikleri içinde barındırması gerekir. İdeal bir yara örtüsünün, yarayı nemli tutması, toksik olmaması, enfeksiyon oluşumunu önlemesi, yarayı mekanik stresten koruması, yeterli oksijen geçirgenliğini sağlaması, fazla yara eksüdasını emebilmesi ve yara bölgesinden alttaki dokuya zarar vermeden çıkarılabilmesi gerekir. Bir uzmanın takibini gerektiren ve düzenli olarak değiştirilmesi gereken yara örtülerinin kullanımı hasta konforu ve sağlık sistemi için

büyük bir yük oluşturmaktadır (Namazi ve diğ, 2016). Bu nedenle, modern yara örtüleri son yıllarda dikkat çekmektedir (Ahmad, 2022). Yara ortamında bakteriyel enfeksiyonun erken teşhisi iyileşme süresini kısaltır, enfeksiyonun ilerlemesinin ve uzun hastane yatışlarının önüne geçer. Bu sayede hasta konforu korunur, sağlık sisteminin üzerindeki iş gücü ve ekonomik yük engellenebilir. Günümüzde, klinikte bakteriyel enfeksiyonunun teşhisinde mikrobiyolojik kültür teknikleri, moleküler teknikler ve biyokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler yara teşhisi için yeterince duyarlı, hassas ve ekonomik değildir (Galliera ve diğ, 2020).

Günümüzde giyilebilir sensörlere ilgi artmaktadır. Elektronik sensörler ve nabız, sıcaklık, ter, pH gibi farklı parametreleri takip edebilen biyosensörler insan sağlığını riske atmadan yara dokusunu gerçek zamanlı izlemeyi vadetmektedir. Modern sensörler geleneksel yara tedavilerinin aksine hasta konforunu korurlar, yara bölgesine zarar vermeden yaradan çıkarılarak hastanın bakım kalitesini arttırmaktadırlar. Giyilebilir teknolojilerin yanında yeni bir tedavi takip sistemi sunan akıllı yara örtüleri teşhis ve tedavi değerlerinin çıktılarını oluşturmak için biyokimyasal belirteçleri kullanır. Akıllı yara örtüleri yara ortamı ile etkileşime girerek, yaranın durumunu algılayabilen, yaradaki biyokimyasal değişimlere tepki verebilen yeni nesil malzemelerdir. Akıllı yara örtüleri, biyosensör platformunun yara örtüsünün içerisine ya da yanına eklenmesiyle elde edilir ve dakikalar içinde yaranın durumu ilgili bilgi verebilmektedir. Yara örtüsüne eklenen bu biyosensörler sayesinde yaranın takibi hızlı, basit ve gerçek zamanlı olarak yapılabilmektedir (Dargaville ve diğ, 2013).

Vücutta gerçekleşen bütün biyokimyasal olaylar pH'tan etkilenmektedir. Yara iyileşmesi pH'tan etkilenen süreçlerden biridir. Sağlıklı derinin pH'ı 4-6 aralığında bulunur. Yara ortamının pH seviyesi ise sağlıklı cildin pH seviyesi gibi hafif asidiktir. Asidik olmasının, yara ortamında kolajen oluşumu, fibroblast aktivitesinin artması ve enfeksiyon oluşumunun önüne geçilmesi gibi avantajları vardır. Yara ortamında alkali pH seviyesi ise optimum iyileşme koşullarını sağlayamaz ve enfeksiyon oluşumunu engelleyemez (Mariani ve diğ, 2021). Kronik yaralarda hafif asidik yara ortamı bozulur ve pH 7-9 aralığına çıkar. Yara ortamında bazik bir pH seviyesi anormal iyileşme koşullarının ve enfeksiyonun habercisidir (Brown ve diğ, 2018). Yara dokusunun pH seviyesi yaranın iyileşme durumunun takibi ve bakteriyel enfeksiyonun erken teşhisi için önemli bir belirteçtir.

pH seviyelerinin ölçülmesi genellikle cam elektrot ve kağıt test şeritleri kullanılmaktadır. Cam elektrotlar kullanılmadan önce kalibrasyon gerektirir ve yapıları serttir (Ochoa ve diğ, 2014). Kağıt test şeritler, stabil bir pH değeri veremezler bu nedenle yara ortamında biyosensör olarak kullanılamazlar (Melai ve diğ, 2016). Yaranın gerçek zamanlı takibi için yaranın her noktasından ölçüm alabilen, yeniden kullanılabilen pH hassasiyetli yara örtüleri literatürde dikkat çekmektedir. pH tabanlı akıllı yara örtüleri cilt dokusuyla uyumlu olmalı, toksik olmamalı ve fiziksel hareketleri kısıtlamamalıdır (Tamayol ve diğ, 2016). Literatürdeki pH sensörleri elektrokimyasal ya da kolorimetrik ölçüm yöntemlerini içermektedir (Tamayol ve diğ, 2016). Elektrokimyasal pH sensörleri, elektrokimyasal reaksiyonları takip eder ve H⁺ iyonunun konsantrasyonunu ölçerek sonuç verirler. Kolorimetrik yöntemler ise pH duyarlı malzemeleri ve lüminesans boya ları kullanarak sonuç verir. Elektrokimyasal sensörlerin bazı dezavantajları vardır. Bunlar, düşük mekanik dayanım, sık sık kalibre edilme gerekliliği, taşınma zorluğu, ciltle uyum sorunları ve yöntemin pahalılığıdır (Yang ve diğ, 2019). Kolorimetrik yöntemlerin ise elektrokimyasal sensörlere göre kullanımı daha kolaydır, sağlamdır, entegre elektronikler olmadan da kullanılabilir (Tamayol ve diğ, 2016). Kolorimetrik yöntemlerin temel zorluğu yöntemde kullanılan boyanın yara örtüsünden cilde sızma riski olmasıdır. Karşılaşılan bu sorunlardan dolayı yara tedavisinde pH seviyelerinin izlenebilmesi için basit, hızlı, ekonomik, biyoyouyumlulu ürünler e ihtiyaç vardır.

Günümüzde fosil kaynakların kontrolsüz kullanımı, çevre kirliliği sorunlarını ve ekonomik kaygıları beraberinde getirmiştir. Bu sebeple yenilenebilir, çevre dostu kaynaklara olan ilgi artmaktadır (Marestoni ve diğ, 2021). Polisakkaritlerden elde edilen polimerler yenilenebilir kaynaklar arasında dikkat çekmektedir. Bakteriyel selüloz (BC) mikrobiyal yolla üretilen bir polissakkarittir (Czaja ve diğ, 2006). BC bitkisel selülozun aksine yüksek saflıktadır. BC nanofiberler hidrofilik bir yapıya sahiptir, yüksek oranda hidroksil grupları içerir ve ultra ince üç boyutlu ağısı bir yüzey alanı segiler (Jankau ve diğ, 2022).

BC sürdürülebilirlik, üç boyutlu ağısı yapı, yüksek kristallik, mekanik dayanım, esneklik, yüksek su tutabilme, biyoyouyumluluk, biyobozunur yapı, geniş yüzey alanı, hidrofillik, kristal yapı, yüksek saflık ve farklı şekillerde kalıplanabilme gibi üstün özellikleri ile dikkat çekmektedir. Aynı zamanda BC yüksek yüzey alanı nedeniyle, yara iyileşmesini destekleyen ajanları yüzeyine entegre edebilmesi (ilaç, antibiyotik),

nano gözenekli yapısı ve enfeksiyonlara karşı bariyer görevi görmesi gibi avantajları nedeniyle yara örtüleri için yüksek potansiyel sunmaktadır (Czaja ve diğ, 2006).

Kombuça yenilenebilir, çevre dostu, ekonomik hammadeler arasında dikkat çekmektedir. Kombuça siyah veya yeşil çay kullanılarak hazırlanan fermente edilmiş asidik bir içecektir. Kombuça çayı simbiyotik bir ortam içerir. Fermantasyon sürecinde hava-sıvı arayüzünde selüloz bazlı bir biyofilm oluşur. Bu biyofilme SCOBY denir (Amarasekara ve diğ, 2020). Kombuça çayından üretilen SCOBY, tek bir bakteriden üretilen BC'ler gibi temelde bir bakteriyel selüloz nanofiberdir. BC'nin üstün özelliklerinin hepsi kombuça çayından üretilen SCOBY BC'de de vardır. Kombuça selüloz yüksek gözeneklilik, biyoyumluluk, yüksek kristallik gibi özellikleri içerisinde barındırır (Laavanya ve diğ, 2021). Bu nedenle son yıllarda literatürde BC temelli çalışmalar arasında ilgi çekmektedir.

1.1 Literatür

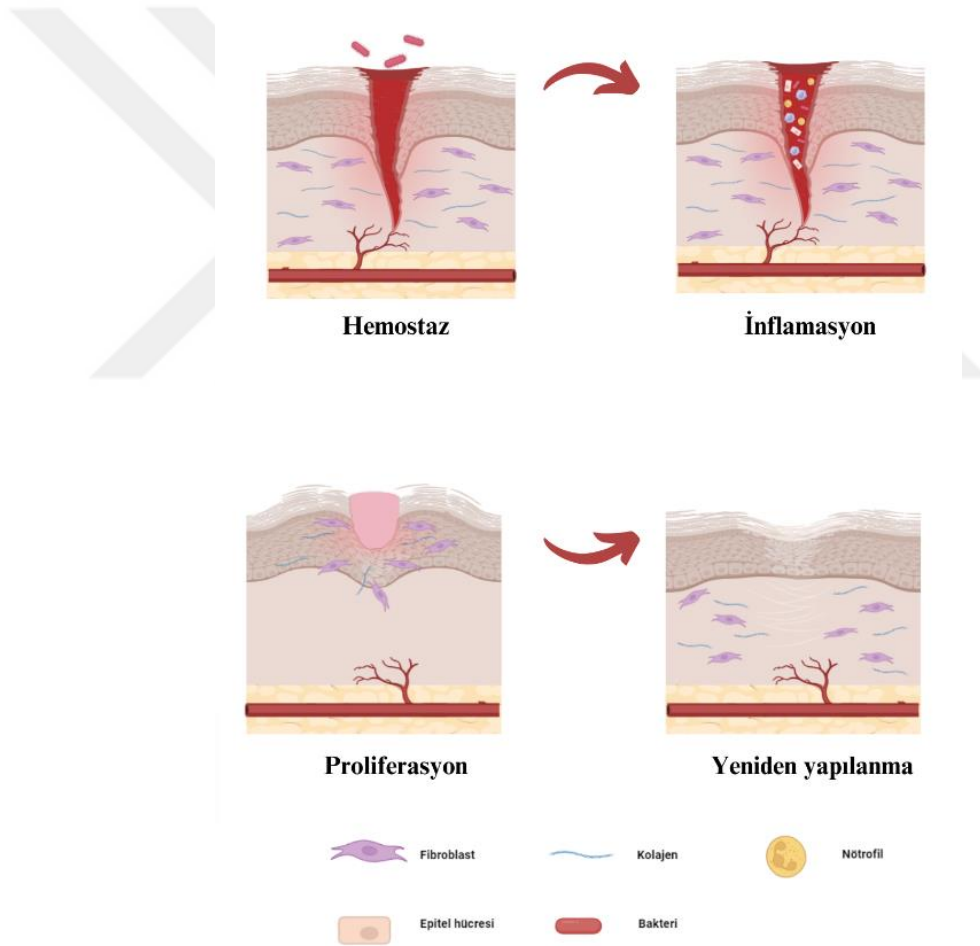
1.1.1 Yara dokusu

Deri insan vücudundaki en büyük organdır (Peate, 2021). Vücut ısını düzenleme, iç organları fiziksel, kimyasal ve bakteriyel etkenlere karşı koruma görevlerini üstlenir (Minsart ve diğ, 2022). Fiziksel ve kimyasal etkenler sonucunda deri hasar görür ve yara dokusu oluşur. Yara dokusu deride bir yırtılma oluşmasıdır, yaralanmanın derinliğine bağlı olarak epidermis veya hipodermis zarar görebilir (Minsart ve diğ, 2022). Yara dokusunun zarar görmesinin ardından yara onarım süreçleri devreye girmektedir.

Yaranın onarım süreci 4 temel aşamada gerçekleşir: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme (Şekil 1.1). Yaralanmanın ardından kanamanın durdurulması için yara iyileşmesinin ilk adımı olan hemostaz başlamaktadır. İkinci adım invaziv immün hücrelerinden yaraya proteolitik enzimlerin ve proinflamatuvar sitokinlerin salınması ile başlayan inflamasyondur. İnflamasyon 24 saat ile 6 gün arası sürebilir. İnflamatuvar hücreler bakteriyel enfeksiyonların engellenmesi için reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. İnflamasyonda makrofajlar ve nötrofiller enfeksiyonu önlemek için yara bölgesindeki doku artıklarını ve yabancı maddeleri uzaklaştırır. Aynı zamanda, sitokinler ve enzimler salındıkları zaman yara eksüdasının nemli ortamını sağlayan fibroblastların ve miyofibroblastların büyümesini tetikler, eksüdadaki nem

yaranın iyileşmesi için gerekli ortamı sağlar. Üçüncü adım olan proliferasyonda, hücre dışı matrisin oluşturulması için yara ortamında yeni granülasyon dokusu oluşur ve büyür. İyileşmenin son adımı olan yeniden şekillenmede, matriks bileşimi değişir, kolajen III ile kolajen I yer değiştirir. Kolajen I yeni dokuların artan gerilme mukavemetine yol açar (Zheng, 2020; Brown, 2018).

Yaranın iyileşme sürecini başarıyla tamamlayabilmesi için bu dört aşamanın doğru sıra ve zamanda gerçekleşmesi gerekmektedir. Yara iyileşme süreci farklı faktörlerin etkilediği oldukça karmaşık bir süreçtir. Bazı faktörler bu sürecin işleyişini engeller ve yara iyileşmesi sekteye uğrar. Yara onarım süreçlerinin karmaşıklığı yara yönetim araştırmalarını ve uygulamalarını öne çıkarmaktadır (Zheng ve diğ, 2020).



Şekil 1.1 : Yara iyileşme sürecinin 4 temel aşaması.

Yaralar akut ve kronik yara olmak üzere iki sınıfta incelenir. Akut yaralarda iyileşme süreci yaralanmanın ardından iki gün içinde başlar ve ortalama iki hafta içinde yara tamamen onarılır (Güneş, 2010). Normal iyileşme sürecini aşan ya da tekrarlayan yaralara kronik yaralar denir. Kronik yaraların iyileşme hızı yavaştır, tamamen iyileşmesi 12 haftayı geçebilir. Doku onarımındaki zayıflamalar, diyabet, yaşlanma, yetersiz beslenme, obezite, stres ve otoimmün hastalıklar yara iyileşme sürecini etkileyebilir ve bunun sonucunda kronik yaralar oluşabilir. Örneğin diyabet hastalarında endotel hücreleri sitokinlere yanıt veremez ve anjiyogenez desteklenmez. Düşük oksijen seviyesi nedeniyle bağışıklık hücreleri etkilenir ve çevresel patojenlerle savaşılamaz. Böylece enfeksiyon gelişir ve yara iyileşme süreci sekteye uğrar (Mostafalu ve diğ, 2018). Kronik yaralar sağlık sistemine ekonomik olarak büyük zarar verir ve iş gücü kaybına sebep olur. Aynı zamanda hasta konforu düşer. Hastada ağrı, anksiyete, morbidite ve uzun süreli hastane yatışlarına sebep olabilir (Eskilson ve diğ, 2023).

Kronik yaralar bakteriyel enfeksiyonlara açıktır (Dargaville ve diğ, 2013). Cerrahi yaralar, yanıklar, diyabet yaraları dahil tüm yara tiplerinde enfeksiyonlar ciddi komplikasyonlara neden olabilir (Eskilson ve diğ, 2023). Literatürdeki araştırmalar, iyileşmeyen kronik ülser yaralarının %90'ına *Staphylococcus aureus* bakterisinin sebep olduğunu göstermektedir (Mostafalu ve diğ, 2018). Bakteriler yara ortamına yapışır, çoğalır ve biyofilm oluşturmak için ekstrasellüler matriks (ECM) benzeri, hücre dışı polimerik maddeler (EPS) üretir. Biyofilm oluştuktan sonra enfeksiyon gelişir ve yaranın tedavi edilmesi zorlaşır. Kronik yaranın iyileşebilmesi için enfeksiyonun tamamen ortadan kaldırılması gerekmektedir. Enfeksiyonun ortadan kaldırılması için genellikle topikal antiseptik kremler, antibiyotikler ve ölü doku debridman yöntemi kullanılmaktadır. Patojenler arasında hızla artan antibiyotik direnci nedeniyle antibiyotik ile tedavi güçleşmektedir. Cerrahi yöntemler ve mekanik debridman tedavileri ise dokuya zarar vererek iyileşme sürecini olumsuz etkilemektedir (Eskilson, 2023; Negut, 2018). Bu nedenle kronik yara enfeksiyonları için daha iyi tanı ve tedavi yöntemleri geliştirilmelidir.

1.1.2 Yara örtüleri

Küresel nüfusun yaşlanması ve hareketsiz yaşamın artması yeni sağlık sorunlarının önünü açmıştır. Yara bakım pazarı ortaya çıkan sağlık sorunları içinde büyük bir bölümü kapsamaktadır. Dünya nüfusunun en az %1'inin yaralanmaya maruz kaldığı ve her yıl 281 milyonu bulan cerrahi işlem yapıldığı düşünülmektedir (Melai ve diğ, 2016).

Uluslararası gelişmiş yara bakımı pazarının 2024 yılından itibaren 22 milyon dolara ulaşacağı düşünülmektedir. Bu durum, sadece ABD'de yıllık 20 milyar dolar ekonomik zarara sebebiyet vermektedir. Obezite, diyabet gibi faktörlerin artması nedeniyle yara bakım pazarının maliyeti gün geçtikçe yükselmektedir. Bu nedenle kronik yaraların takibini yapabilen akıllı yara örtülerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır (Brown ve diğ, 2018).

Yara örtüleri, doku rejenerasyonunu hızlandırmak, enfeksiyon oluşumunun önüne geçmek, derinin fizyolojik özelliklerini geri kazandırmak için kullanılır. Yara iyileşmesinin desteklenmesi için yara pansumanlarının bazı özellikleri barındırması önemlidir. İdeal yara örtüsü, yarayı nemli tutmalı, toksik olmamalı, enfeksiyon oluşumunu önlemeli, yarayı mekanik stresten korumalı, yeterli oksijen geçirgenliğini sağlamalı, fazla yara eksüdasını emmeli ve yara bölgesinden alttaki dokuya zarar vermeden gerektiğinde çıkarılabilmelidir (Namazi ve diğ, 2016). Bir uzmanın sürekli izlemine gerektiren, aynı zamanda düzenli olarak değiştirilmesi gereken yara pansumanlarının kullanımı hasta konforu ve sağlık sistemi için büyük bir yük oluşturmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmek için modern yara örtüleri geliştirilmesi son yıllarda dikkat çekmektedir (Ahmad, 2022).

Kronik yaralarda, yaranın durumu dikkate alınarak tedavi yöntemi belirlenir. Yara örtüleri sıvı emme kapasitesi, mekanik dayanıklılık, su buharı geçirgenliği gibi farklı özelliklere sahiptir ve uygulanacak yara tipine göre farklı parametreler dikkate alınmalıdır (Minsart ve diğ, 2022). Yara derin, ılg, temiz, enfekte, kuru ya da eksüdatif halde olabilir. Uygun pansumanın seçilmesi için yaranın boyutu, derinliği, bakteriyel enfeksiyon varlığı, nekrotik olup olmaması ve nem içeriği incelenir (Minsart, 2022; Brown, 2018).

Yara örtüleri temel olarak dört kategoriye ayrılır: pasif, etkileşimli, biyoaktif ve gelişmiş yara örtüleri (Brown ve diğ, 2018). Pasif yara örtüleri, pamuktan veya sentetik elyaflardan yapılan gazlı bezler gibi basit yara örtüleridir. Pasif yara örtüleri ucuz bir tedavi yöntemi olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle yara eksüdası salgılamayan sık yaralarda tercih edilmektedir. Ancak pasif yara örtülerinin bazı sınırlamaları vardır. Örneğin, mekanik strese karşı dayanıklı değildirler ve yara ortamını kurutarak yara yatağına yapışabilirler. Bu tip yara örtülerinin düzenli olarak değiştirilmesi gerekmektedir ve yaranın nem içeriğini emdikleri için bu işlem sırasında yaraya yapışarak yara dokusuna zarar verebilmektedirler. Bu sorunun üstesinden gelmek için geliştirilen modern gazlı bezler, yara iyileştirme etkinliğinin artırılması için çeşitli maddelerle emprenye edilmektedir (Brown ve diğ, 2018). Abbasipour ve ark. modern yara örtüsü olarak, Ag/ZnO/kitosan nanokompozit geliştirmişlerdir. Pamuklu gazlı beze daldırma, kurutma ve kürleme teknikleri ile Ag/ZnO/kitosan nanokompozitler elde edilmiştir. Örnekler taramalı elektron mikroskobu, UV-Vis spektroskopisi (UV-Vis) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. Aynı zamanda örneklerin su emme yetenekleri ve antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda geliştirdikleri nanokompozit emprenye edilmiş gazlı bezin kuruma süresini kontrol grubuna göre %78, su emiciliğini ise %38 arttırdığını, aynı zamanda iyi antibakteriyel etkinlik (*Escherichia coli* %96, *Staphylococcus aureus* %99) gösterdiğini bildirmişlerdir (Abbasipour ve diğ, 2014).

Etkileşimli yara örtüleri ise polimerik film, köpük ve hidrojelleri içerir. Köpük ve sünger tabanlı poliüretan yara örtüleri genellikle derin yaralanmalar, ülser, yanık gibi ağır eksüda içeren yaralarda yara eksüdasını emebildikleri için kullanılmaktadır. Yarayı bakteriyel enfeksiyonlara karşı korurlar ve gaz-sıvı geçirgenliğini sağlarlar. Yara dokusuna yapışma ihtimali azdır ve yara örtüsü çıkarılırken ağrıya sebep olmazlar. Bu nedenle gazlı beze iyi bir alternatif sunmaktadırlar. Hidrojel yara örtüleri polimerler kullanılarak elde edilir. Hazırlanan hidrojeller, yara dokusunun nemini korur ve gerektiğinde kolaylıkla çıkarılabilir. Kuru, derin ve nekrotik dokularda kullanılmaktadır. Etkileşimli yara örtülerinin de bazı sınırlamaları vardır. Köpük yara örtüleri yüksek emici yapısı nedeniyle her yara dokusunda kullanım için uygun değildir.

Şeffaf poliüretan filmler ise ince/esnek yapı, enfeksiyona karşı koruma, yaranın kolay takibi ve hava-sıvı geçirgenliği gibi avantajlara sahiptir ancak ağır eksüdalı yaralarda kullanılamaması, yapışkan olması, çıkarılırken dokuya zarar vermesi gibi dezavantajları vardır (Das, 2016; Brown, 2018).

Gelişmiş yara örtüleri yara ortamının nemini korur, yara eksüdasını emebilir böylece doku yenilenmesini destekler. Gelişmiş yara örtülerine örnek olarak aljinat yara örtüleri verilebilir. Aljinat yara örtülerinin eksüda emiciliği yüksektir, bu nedenle yoğun eksüda seviyesine sahip yaralarda kullanılabilir (Brown ve diğ., 2018).

Biyoaktif yara örtüleri ise ilaç dağıtım sistemlerini ve biyolojik iskeleleri içerir. Doku yenilenmesinde aktif rol alarak yara iyileşmesini destekler. Literatürde doku mühendisliği çalışmalarında biyoaktif yara örtüleri dikkat çekmektedir. Biyoaktif yara örtülerinde endojen olarak yara ortamına dahil edilen kimyasal bazı sinyalleri (örneğin büyüme faktörleri) kullanarak ECM benzeri bir malzeme üretilir. Bu sayede doğal iyileşme süreci desteklenmiş olur. Biyoaktif yara örtüleri diğer yara örtülerine göre daha pahalı bir alternatiftir ancak klinik çalışmalar başarısını kanıtlamıştır (Zhang ve diğ., 2021).

Minsant ve ark. eksüdalı yaraların tedavisi için piyasadaki 11 farklı ticari yara örtüsünü karşılaştırmıştır. Yara örtülerini şişme kapasitesi, su buharı geçirgenliği, nem alma kapasitesi ve mekanik dayanımı gibi özellikleri açısından değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda farklı fiziko-kimyasal özelliklere ve formülasyona sahip ticari yara örtülerinin (jel, köpük, film, lif vb.) yara iyileşme sürecinde farklı faydalar gösterdiğini tespit etmiştir (Minsart ve diğ., 2022). Seçilen, farklı tipte 11 ticari yara örtüsünün morfolojisi SEM analizi ile değerlendirilmiştir. Yara örtülerinin şişme kapasitesi su, fosfat tamponu (PBS) ve simüle edilmiş yara sıvısında (SWF) incelenmiştir. Mekanik dayanımının değerlendirilmesi için çekme testi ve doku ölçümü kullanılmıştır. Nem alım kapasitesi dinamik buhar emilimi yoluyla incelenmiştir. Çalışmanın sonunda elde edilen bulgular karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, yara örtüsü seçerken kullanılacağı yara tipine ve kullanılacağı bölgeye göre seçim yapmanın önemini göstermiştir. Örneğin çalışmada kullanılan lif tabanlı yara örtülerinin (Aquacel Aq, Kaltostat vb.) yüksek yüzey alanları ve emicilikleri sayesinde yanık yarasında kullanılması uygunken, film yapıdaki yara örtülerinin (DuoDERM ET vb.) esnek yapıları nedeniyle eklemler gibi zor anatomik bölgeler için uygun olduğu bildirilmiştir.

Köpük yara örtülerinin ise (Mepilex vb.) ortalama bir emicilik sergilediği ve su buharı iletim hızı (WVTR) değerinin orta derece olduğu gözlenmiştir. Ancak mekanik dayanımının diğer yara örtü tiplerine göre daha fazla olduğu bu nedenle basınca duyarlı yaralarda kullanılabileceği tespit edilmiştir (Minsart ve diğ, 2022). Şekil 1.2’ de yara örtüsü çeşitleri gösterilmektedir.



Şekil 1.2 : Yara örtüsü çeşitleri.

1.1.3 Akıllı yara örtüleri

Yara tedavisi sağlık sektöründe büyük bir pay oluşturmaktadır. Yara enfeksiyonlara açıktır. Bakteriyel enfeksiyon varlığında yarada kızarıklık, ısı artışı, yara dokusunda şişme, kötü koku ve ağrı gibi belirtiler gelişir. Ancak belirtiler ortaya çıktıktan sonra tespit edilen enfeksiyonun tedavisi zorlaşır ve tedavinin maliyeti artar. Yaralarda enfeksiyonun erken teşhisi yara iyileşme süresini kısaltır, enfeksiyonun ilerlemesini önler ve uzun hastane yatışlarının önüne geçer. Bu sayede hasta konforu korunur ve maddi kayıpların önüne geçilebilir. Enfeksiyon teşhisindeki uygulamalar mikrobiyolojik kültür teknikleri, moleküler teknikler ve biyokimyasal yöntemlerdir. Ancak bu yaklaşımlar yeterince duyarlı değildir.

Yara dokusundan alınan sürüntü yüzeysel patojenleri tespit ettiği için yaranın daha derin bölgelerindeki enfeksiyonları tespit etmede başarılı bir yöntem değildir. Aynı zamanda sürüntü testlerinde erken teşhis imkanı yoktur. Biyokimyasal ve moleküler teknikler pahalı ekipmanlar ve teknolojiler gerektirir. Bu nedenle enfeksiyonun erken teşhisi için ekonomik, basit, güvenilir, hızlı ve hassas yöntemlere ihtiyaç vardır (Galliera ve diğ, 2020).

Yara tedavisinde tanı aracı olarak biyosensörlerin kullanılması yara bakım pazarında devrim yaratmıştır. Yaranın sürekli izleniminin sağlandığı biyosensör teknolojisi, enfekte yaralar, yanıklar ve ülserler gibi birçok yara tipinde kolaylık sunmaktadır. Bu alandaki teknolojik gelişmeler yeni nesil yara izleme araçlarının önünü açmaktadır. Giyilebilir teknolojilerin yanında yeni bir tedavi ve takip sistemi sunan akıllı yara örtüleri, teşhis ve tedavi değerlerinin çıktılarını oluşturmak için biyokimyasal belirteçleri kullanır. Akıllı yara örtüleri yara ortamı ile etkileşime girebilen, yaranın durumunu algılayabilen yaradaki değişimlere tepki verebilen malzemelerdir. Akıllı yara örtüleri yara örtüsünün içine ya da yanına bir biyosensör platformu eklenmesiyle dakikalar içinde yara ile ilgili eş zamanlı bilgi vermektedir (Dargaville ve diğ, 2013). Bu biyosensörler sayesinde yara takibi, hızlı ve gerçek zamanlı olarak yapılabilmektedir. Yara ortamındaki fiziksel ve kimyasal belirteçler yardımıyla gerçek zamanlı olarak yaranın takibinin sağlanabilmektedir. Bu belirteçlere örnek olarak pH, basınç, sıcaklık, protein seviyeleri, iyonlar ve kimyasal bileşikler verilebilir. Aynı zamanda yara ortamının takibi için kablosuz veri iletim sistemleri ve yapay zeka izleme platformları da kullanılabilmektedir (Tran ve diğ, 2022). Akıllı yara örtülerindeki gelişmeler (yapay zeka teknolojileri vb.) yaranın gerçek zamanlı olarak takibinin yanı sıra yaranın iyileşme süreci ile ilgili çeşitli tahminlerde bulunabileceğini göstermektedir. Bu sayede erken teşhis ve tedavi ilkeleri aktif olarak uygulanabilmektedir.

Yara ortamındaki fiziko-kimyasal parametrelerin gerçek zamanlı takibi önemlidir. Yara teşhisinde ve tedavinin belirlenmesinde kullanılabilecek belirteçlerin listesini Day ve ark. 2008 yılında yayınlamıştır (Day, 2008). Bu listedeki belirteçlere Çizelge 1.1’ de yer verilmiştir.

Çizelge 1.1 : Yara teşhisinde kullanılabilecek belirteçlerin listesi.

Yara teşhisinde ve tedavinin belirlenmesinde kullanılabilecek belirteçler

Bakteriyel yük (Spesifik bakteriyel türler, biyofilm oluşumu)

Spesifik mikrobiyal antijenlere yanıt olarak sitokin salınımı

Enzimler ve substratları

Büyüme faktörleri ve hormonlar

İmmüno histokimyasal belirteçler

Enflamatuvar belirteçler

Beslenme faktörleri

Reaktif oksijen türleri

Yara ortamının sıcaklığı

Yara çevresinde trans epidermal su kaybı

Nitrik oksit seviyesi

Mostafalu ve ark. esnek bir biyoelektronik kullanarak kronik yaraların takibi için akıllı bir kapalı devre yara izleme platformu geliştirmişlerdir. Yara ortamının pH'ını ve sıcaklığını izleyerek bakteriyel enfeksiyonun yerinde tespitinin sağlanmasını aynı zamanda kontrollü antibiyotik salımının gerçekleştirilmesini hedeflemişlerdir. Geliştirilen yara örtüsü, pH ve sıcaklık sensörlerini içeren esnek sensör yaması, mikro ısıtıcıli termo-tepkili ilaç yüklü taşıyıcıların bulunduğu hidrojel salım yaması ve elektronik bir yamadan oluşmaktadır. Yara örtüsü, enfeksiyonun tespitini ve antibiyotik salımı yapabilmektedir. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar geliştirilen platformun, kronik yara tedavi sürecini hızlandırma potansiyeli olduğunu göstermişlerdir (Mostafalu ve diğ, 2018). Rahimi ve ark. kağıt bir tabaka üzerinde ucuz ve esnek bir pH sensörü geliştirmişlerdir. Araştırmacılar pH 4-10 arasındaki farklı tamponlarda biyosensör performansını ve hassasiyetini incelemişlerdir.

Sensör platformunun hedeflenen hassasiyeti, tekrarlanabilirliği, kararlılığı ve biyoyumluluğu sağladığı bildirilmiştir. Bu çalışma düşük maliyetli yara örtülerinin entegrasyonu için uygun bir zemin hazırlamıştır (Rahimi ve diğ, 2016). Pei ve ark. epidermal ter ve yara eksüdası elektrolitlerini yara dokusu üzerinde metabolit ve elektrolitleri kullanarak gerçek zamanlı ve kablosuz giyilebilir bir biyosensör geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri tam entegre giyilebilir elektronik cihazın Na^+ , K^+ , pH ve UA (ürik asit) elektrolit ve metabolitlerini aynı anda ölçebilmesini, bu sayede kişiselleştirilmiş sağlık durumu hakkında bilgi verebilmesini amaçlamışlardır. Çalışmada kişiselleştirilmiş teşhis ve özel tedavi için umut verici sonuçlar elde etmişlerdir. Tam entegrasyon ilkesiyle uygulanan cihazın çift işlevli sensör yeteneği sayesinde epidermal ter ve yara eksüda sıvısının analizini tek sensör ile gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (Pei ve diğ, 2022). Gao ve ark. yara mikro çevresinin, inflamasyonunun ve enfeksiyon durumunun gerçek zamanlı olarak izlenmesini sağlayan VeCare isimli esnek bir mikro akışkan platform bildirmişlerdir. Geliştirilen bu platforma inflamasyon mediatörler, fizikokimyasal parametreler ve mikrobiyal yükü ölçebilen bir biyosensör platformu dahil edilmiştir. Platform sensör dizisini, mikroakışkan eksüda toplayıcısı ve akıllı telefon tabanlı veri toplayabilen esnek elektronikler ile birleştirmiştir. Araştırmacılar VeCare platformunun kronik yara iyileşme sürecini hızlandırdığını ve yaranın takibini gerçek zamanlı olarak yapabildiğini tespit etmişleridir (Gao ve diğ, 2021). Wang ve ark. akıllı yara izleme için çok işlevli bir hidrojel geliştirmiştir. Geliştirdikleri hidrojel antibakteriyel, hemostatik ve yapıştırıcı özellikleri nedeniyle yara iyileşmesini desteklemiştir. Aynı zamanda yara durumunu gerçek zamanlı olarak izlemeyi sağlamıştır. Geliştirdikleri makine öğrenim algoritmasına dayanan kişiselleştirilmiş yara yönetimi modeli sayesinde hidrojel örtünün kolorimetrik sinyali analiz edilebilmiştir. Araştırmacılar akıllı yara takibi için gerçek zamanlı izleme, yara tedavisi ve kişiselleştirilmiş yara yönetimi sağlayan çok işlevli yara örtüsünün gelecekteki yara yönetim uygulamaları için önemli bir adım teşkil ettiğini bildirmişlerdir (Wang ve diğ, 2022).

1.1.4 pH belirteçleri

Akıllı yara örtüleri, yara teşhisini hızlandırarak erken tedavi imkanı sağlamaktadır. Vücuttaki bütün biyokimyasal olaylar pH'tan etkilenir. Yara iyileşmesi de bu biyokimyasal süreçlerden biridir. Sağlıklı cildin pH'ı 4-6 aralığında bulunur.

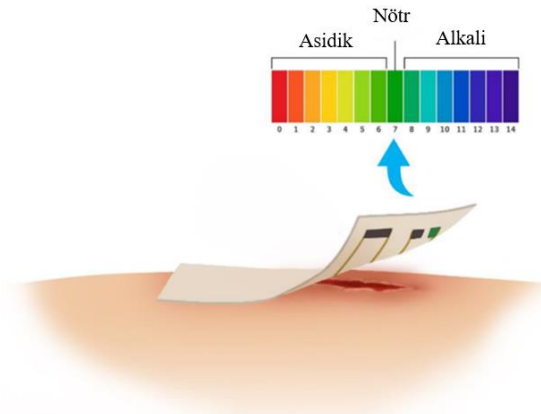
Yara ortamının pH seviyesinin hafif asidik olmasının, yarada kolajen oluşumu, fibroblast aktivitesinin artması ve bakteriyel enfeksiyon oluşumunun engellenmesi gibi faydaları vardır. Alkali pH seviyesi ise optimum iyileşme koşullarını sağlayamaz ve bakteriyel enfeksiyon oluşumunu engelleyemez (Mariani ve diğ, 2021).

Kronik yara oluşumu sırasında bu hafif asidik ortam bozularak pH 7-9 aralığına çıkar. Yara iyileşme basamaklarının düzgün ilerleyebilmesi için yara pH'ının 4-6 aralığında olması gerekmektedir. Yara ortamının bazik bir pH'a yükselmesi anormal iyileşme koşullarının ve bakteriyel enfeksiyonun habercisidir (Brown ve diğ, 2018). Yara ortamının pH değerinin, yaralar için geliştirilen elektrotlar ve pH belirteç kağıtları ile ölçüldüğü bir çalışmada, yara pH'ının 5,4-9,0 arasında değiştiği, ortam pH'sının baziğe kaymasının yarada gelişen enfeksiyon varlığında bakteriyel kolonizasyonun yan ürünlerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Shi ve diğ, 2011). Bu sebeple yara dokusunun pH derecesi, yaranın iyileşme durumunun belirlenmesi ve bakteriyel enfeksiyonun erken tedavisi için önemli bir belirteçtir.

pH seviyelerinin ölçülmesi için en sık kullanılan yöntem cam elektrot ve kağıt test şeritleridir. Cam elektrotların çalışma prensibi H^+ iyonu aktivitesine dayanır. Bu tip cihazlar kalibrasyon gerektirir ve sert yapıları nedeniyle yara örtüsüne biyosensör olarak entegre edilemezler (Ochoa ve diğ, 2014). Kağıt test şeritler ise çözeltinin pH'sına göre renk değiştirir, ancak net bir pH değeri vermezler (Melai ve diğ, 2016). Akut yaraların değerlendirilmesi için bu ölçüm yöntemleri yeterlidir, çünkü yaradaki iyileşme süreci her bölgede eşit gerçekleşir. Ancak kronik yaralarda yara ortamındaki pH değişimleri nedeniyle bu tekniklerin kullanımı uygun değildir. Kronik yaralarda doğru veri toplanabilmesi için yara dokusunun farklı bölgelerinden pH ölçümü yapılması gerekir (Ochoa ve diğ, 2014). Son yıllarda, yaranın sürekli ve eş zamanlı takibi için pH tabanlı, yaranın her noktasından ölçüm alabilen, yeniden kullanılabilen yara örtüleri literatürde dikkat çekmektedir.

Geçtiğimiz yıllarda yara durumunu gerçek zamanlı olarak izleyebilen birçok pH sensörü geliştirilmiştir. Geliştirilen sensörlerin taşınması gereken başlıca özellikler cilt dokusuyla uyumlu olması, toksik olmaması ve hareketleri kısıtlamamasıdır. Literatürdeki mevcut pH sensörleri elektrokimyasal ya da kolorimetrik sensörlerdir (Tamayol ve diğ, 2016). Elektrokimyasal pH sensörlerinin çalışma prensibi, elektrokimyasal reaksiyonları takip ederek H^+ iyonunun konsantrasyonunu ölçmeye dayanır (Tamayol ve diğ, 2016). Kolorimetrik yöntemlerde ise pH duyarlı malzemeler ve lüminesans boyalar kullanılır. Elektrokimyasal sensörlerin mekanik dayanımı azdır, sık sık kalibre edilmesi gerekir, taşınması/kullanılması zor olabilir, ciltle uyum sorunları gözlenebilir ve pahalı yöntemlerdir (Yang ve diğ, 2019). Kolorimetrik yöntemler elektrokimyasal sensörlere göre daha kolay okunur, sağlamdır, entegre elektronikler olmadan da kullanılabilir (Tamayol ve diğ, 2016). Kolorimetrik yöntemler, yara örtülerine kolaylıkla entegre olabilmeleri, ucuz ve kolay uygulanabilen teknikler olmaları ile ön plana çıkmaktadırlar. Kolorimetrik sistemlerin genel zorluğu kullanılan boyanın yara örtüsünden cilde sızma riskidir. Yara bölgesine boya moleküllerinin sızması, bölgede veya sistemik toksisite riskini ortaya çıkarmaktadır. Bu sorunun ortadan kalkması, ucuz ve kolay hazırlanan pH biyosensörlerin yara örtülerinde sıklıkla kullanılmalarını sağlayacak bir yaklaşım olacaktır.

Kronik yaraların pH seviyelerinin ölçülmesinde pH belirteçlerinin farklı pH değerlerine verdiği yanıtların optik olarak toplandığı akıllı pH takip sistemleri kullanılabilir (Şekil 1.3). Bazı indikatörler ve boyalar farklı pH koşullarında renk değiştirirler (Brown ve diğ, 2018).



Şekil 1.3 : pH ile yara takibinin yapılması.

Melai ve ark. grafen oksit (GO) kullanılarak yara ortamının pH farkına dayalı takibinin yapılabildiği bir platform geliştirmişlerdir. Bu platform en az dört gün yara ile temas halinde çalışmıştır ve standart cam bir elektrot ile pH ölçümlerini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, çalışmanın sonucunda GO tabanlı pH sensörünün güvenilirliğini ve stabilitesini kanıtlamışlardır (Melai ve diğ, 2016). Guinovart ve ark. yaradaki pH değişikliklerini gerçek zamanlı olarak izlemek için bandaja gömülü giyilebilir bir potansiyometrik sensör geliştirmişlerdir. Geliştirilen sensör serigrafi baskı yöntemiyle basılan potansiyometrik pH sensörünün Ag/AgCl ve karbon katmanı içeren bandaja dahil edilmesiyle oluşturulmuştur. Sensörde pH ölçümü için, elektro polimerize edilmiş bir polianilin (PANi) iletken polimer kullanılmıştır. Geliştirilen sensör, bandaja gömülü olduğu için hasta konforunu etkilemeden pH dalgalanmalarını izleyebilmiştir. Sensör aynı zamanda yüksek mekanik dayanım ve tekrarlanabilirlik sergilemiştir. Bu sonuçlar pH tabanlı akıllı yara örtüleri çalışmaları için umut vaat etmiştir (Guinovart ve diğ, 2014). Omid ve ark, yara iyileşmesini desteklemek, enfeksiyonu önlemek ve aynı anda pH'ı izlemek için pH'a duyarlı antibakteriyel bir kitosan-karbon nokta nanokompozit bildirmişlerdir. Nanokompozitin karbon noktalarını (CD), hidrotermal koşullar altında amonyum hidrojen sitrat kullanarak sentezlemişlerdir, kitosan bazlı nanokompozitleri ise çözücü döküm yöntemi ile üretmişlerdir. Çalışmanın sonucunda kitosan/CD nanokompozit yüksek antibakteriyel özellik ve biyouyumluluk göstermiştir. Aynı zamanda kitosan/CD nanokompozitin yara iyileşmesini desteklediği, olağanüstü pH duyarlılığı ve mekanik dayanım sergilediği bildirilmiştir. Geliştirilen nanokompozitin bu özellikleri doku mühendisliği uygulamaları için büyük bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Omid ve diğ, 2017).

Pan ve ark. yaranın gerçek zamanlı izlenimi için biyouyumlu renk değiştiren bir malzeme olan kurkumini kullanmışlardır. Çalışmada polimer olarak biyoparçalanabilir yapısı ve üstün mekanik özellikleri nedeniyle polikaprolaktonu (PCL) tercih etmişlerdir. PCL matrisine elektro eğirme yöntemi ile kurkimini eklemişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda akıllı mobil uygulama geliştirmişlerdir. Geliştirilen malzemenin pH 6,0 ila 9,0 aralığında sarıdan kahverengiye gözle görebilir bir renk değişimi sergilediği tespit edilmiştir. Akıllı mobil uygulama sayesinde yaranın doğru pH'ı kolayca belirlenmiştir. Bu çalışma yara teşhisi çalışmaları için umut vaat etmiştir (Pan ve diğ, 2019).

Tamayol ve ark. yara iyileşme sürecini izleyebilmek için yara pH'sının sürekli ölçümünü yapabilen pH'a duyarlı hidrojel lifler geliştirmişlerdir. Araştırmacılar pH'a duyarlı boyaları mikro partiküllere yüklediler ardından, bu mikropartikülleri mikroakışkan sistemi kullanarak hidrojel liflere yüklemişlerdir. Yaranın gerçek zamanlı izlenimi için pH liflerin görüntüleri akıllı telefon yardımıyla işlenerek pH değişimi takip edilmiştir. Çalışmanın sonucunda geliştirilen yara örtüsünün gerçek zamanlı yara izleme platformu olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Tamayol ve diğ, 2016). Jankowska ve ark. yara ortamındaki pH ve glikoz konsantrasyonunun izlenmesi ile kronik yaranın erken teşhisini sağlayabilen floresan temelli algılama sistemi geliştirmişlerdir. Polisakkarit bir matris üzerine pH 6,0 ila 8,0 arasında hassasiyet gösteren floresan özellikli pH boyası olan karboksinaftofloresin, metabolik algılama için ise glikoz oksidaz (GOx) ve yaban turpu peroksidazını (HRP) eklemişlerdir. Yara ortamındaki metabolit ve enzim konsantrasyonunda meydana gelen değişimler bir sinyale dönüştürülmüştür. Bu sayede hızlı, ucuz ve gerçek zamanlı olarak yara takibinin yapılabilceğini bildirmişlerdir (Jankowska ve diğ, 2017). Yang ve ark. yara ortamının kolorimetrik takibi için floresan değişimine dayalı bir platform geliştirmişlerdir. Çalışmada 1,2,4 triaminobenzen ve üre sulu çözeltisi kullanarak turuncu emisyonlu karbon kuantum noktaları (O-CD'ler) sentezlemişlerdir. Hidrojen bağı etkileşimlerini kullanarak tıbbi pamuklu bir bez üzerine O-CD'leri kaplamışlardır. Sentezledikleri O-CD'ler pH değişimine belirgin bir kolorimetrik tepki göstermiştir. Aynı zamanda O-CD'lerin üstün biyouyumluluğa, ilaç yükleme kapasitesine ve yüksek geri dönüşümlülüğe sahip olduğunu vurgulamışlardır. Geliştirilen O-CD'lerin spesifik kolorimetrik renk değişim yeteneği ve biyouyumluluğu dikkate alındığında yara pH'ının izlenmesinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir (Yang ve diğ, 2019). Arafa ve ark. pH duyarlı, akıllı terapötik bir yara örtüsü geliştirmişlerdir. Hidrojel tabanlı yara örtüsünde kırmızı lahana özütü ve kitosan kullanmışlardır. RCE'yi (kırmızı lahana özütü) kapsülleyerek RCE/Kitosan bazlı hidrojeller geliştirmişlerdir. Farklı pH tampon çözeltilerine batırılan hidrojel matrisler pH 9,0 ila 4,0 aralığında yeşilden kırmızıya belirgin bir renk değişimi göstermiştir. Çalışmanın sonunda gelecekteki yara takibi araştırmaları için umut vaat ettiği bildirilmiştir (Arafa ve diğ, 2021). Mariani ve ark. yara pH 'sının gerçek zamanlı takibi için akıllı bir bandaj geliştirmişlerdir.

Geliştirdikleri bandajın pH sensörü yarı iletken bir polimer ve iridyum oksit parçacıklarından yapılmıştır. Sensörün pH 6,0 ila 9,0 aralığında hassasiyetle çalıştığı ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar sensörün başarısını sentetik yara eksüdasında doğrulamıştır (Mariani ve diğ, 2021).

1.1.5 Bakteriyel selüloz

Günümüzde fosil kaynakların yoğun şekilde kullanılması, çevre kirliliği endişelerini ve ekonomik kaygıları artırmıştır. Bu nedenle yenilenebilir kaynaklara olan ilgi her geçen gün artmaktadır (Marestoni ve diğ, 2021). Yenilenebilir kaynaklar arasında polisakkaritlerden elde edilen polimerler dikkat çekmektedir.

Polisakkaritler doğal makromoleküler polimerlerdir ve 10'dan fazla monosakkaritin bir araya gelerek glikozidik bağlarla bağlanmasıyla oluşur (Yu ve diğ, 2018). Polisakkaritler bakterilerden, bitkilerden, mantarlardan, hayvanlardan ve kahverengi alglerden elde edilebilirler (Leung ve diğ, 2006). Biyomalzeme alanındaki son çalışmalar mikrobiyal polisakkaritlerin sağlık sektöründeki potansiyelini öne çıkarmıştır. Mikrobiyal yolla üretilen polisakkaritlere örnek olarak hiyalüronik asit, dekstran, aljinat ve BC verilebilir (Czaja ve diğ, 2006).

Selüloz biyosferde en fazla bulunan yenilenebilir biyopolimerdir. Glikoz monomerlerinin $\beta(1-4)$ glikozidik bağlarıyla bağlanmasıyla oluşur (J. Wang ve diğ, 2019). Selüloz bitkiler, mikroorganizmalar ve hayvanlar tarafından sentezlenebilir. Selüloz birçok bitkinin hücre duvarının yapısal bileşenidir ve selüloz içeriğinin yüksekliğinden dolayı genellikle pamuk lifi (%90), odun (%60) ve kurutulmuş kenevir (%50) bitkilerinden elde edilir (Wang ve diğ, 2019). Bitkilerden sentezlenen selüloz genellikle lignin ve hemiselüloz içerir. Bu safsızlıkların ortadan kaldırılması için kimyasal saflaştırma işlemleri kullanılması gerekir. Mikroorganizmalardan sentezlenen BC ise yüksek saflıktadır; kimyasal saflaştırma basamaklarına gerek yoktur. BC nanofiberleri yüksek oranda hidroksil grupları ve nanofiberlerin oluşturduğu üç boyutlu ağısı bir yapıya sahiptir (Jankau ve diğ, 2022). BC nanofiberleri üç boyutlu ağısı yapısı sayesinde iyi bir çekme mukavemeti ve yüksek oranda su tutma kapasitesi gibi üstün özelliklere sahiptir. Bu özellikleri BC nanofiberlerini biyomalzeme çalışmaları için öne çıkarmaktadır. Bitkisel selüloz ve BC karşılaştırması Çizelge 1.2' de verilmiştir.

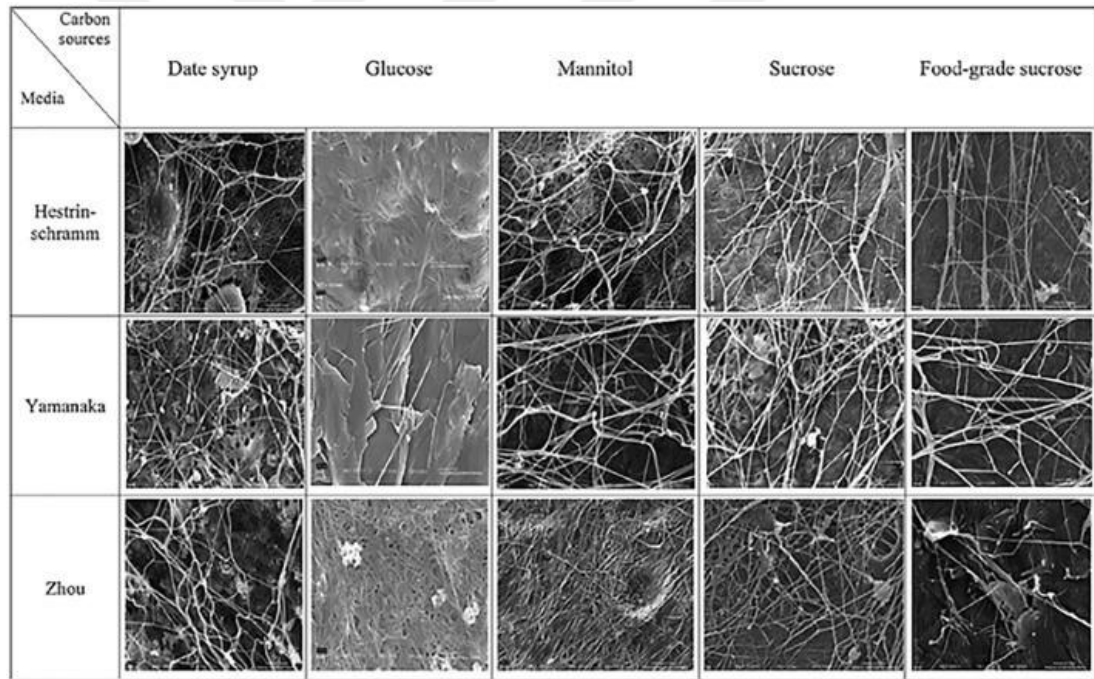
Çizelge 1.2 : Bitkisel ve bakteriyel selülozun karşılaştırması.

Bakteriyel selüloz	Bitkisel selüloz
Selüloz zincirleri başka polimer içermez ve yüksek saflığa sahiptir.	Selülozun zincirleri hemiselüloz, lignin, pektin vb. ile ilişkilidir safsızlık vardır.
Sitotoksosite gözlenmemiştir.	Bazı sitotoksosite verileri bildirilmiştir.
<i>Agrobacterium</i> ve <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Sarcina</i> gibi bakteriler tarafından üretilir.	Pamuk, ağaç, sak lifleri, tohum lifleri, yaprak lifleri, meyve lifleri, sap lifleri, bitkisel lifler ve deriden elde edilir.
Gerilme direnci 200–300 MPa.	Gerilme direnci 750–1080 MPa.
Kristallik yüksek. (%84–89)	Kristallik düşük. (%40–60)
Şekillendirilebilme yüksek. Büyük elastik modülü nedeniyle, neredeyse istenen herhangi bir biçimde şekillendirilebilir.	Şekillendirilebilme düşük. Mikro fibrillerin çapraz ağ şeklinde düzenlenmesi lignoselüloza erken aşamada şekil verir.
Gözeneklilik yüksek. Gözenek boyutunun düzgün dağılımı ile görünür.	Gözeneklilik düşük. Doğal selülozdan nano fibrile edilmiş fibriller arasındaki daha az ve küçük boşluk nedeniyle.
Gözenek büyüklüğü 10 ila 300 nm arasında.	Gözenek büyüklüğü 1 ila 100 nm arasında.

1.1.5.1 Bakteriyel selüloz üretimi

BC genellikle yüksek verimde *Acetobacter xylinum* (*A. xylinum*) bakterisi tarafından sentezlenen bir biyopolimerdir. Selülozun *A. xylinum* tarafından üretildiğine dair ilk veri 1886 yılında Brown tarafından bildirilmiştir (Wang ve diğ, 2019). Güncel çalışmalar selülozun çeşitli gram negatif (*Acetobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes*) ve gram pozitif (*Sarcina ventriculi*) bakteriler tarafından üretilebileceğini göstermiştir (Wang ve diğ, 2019).

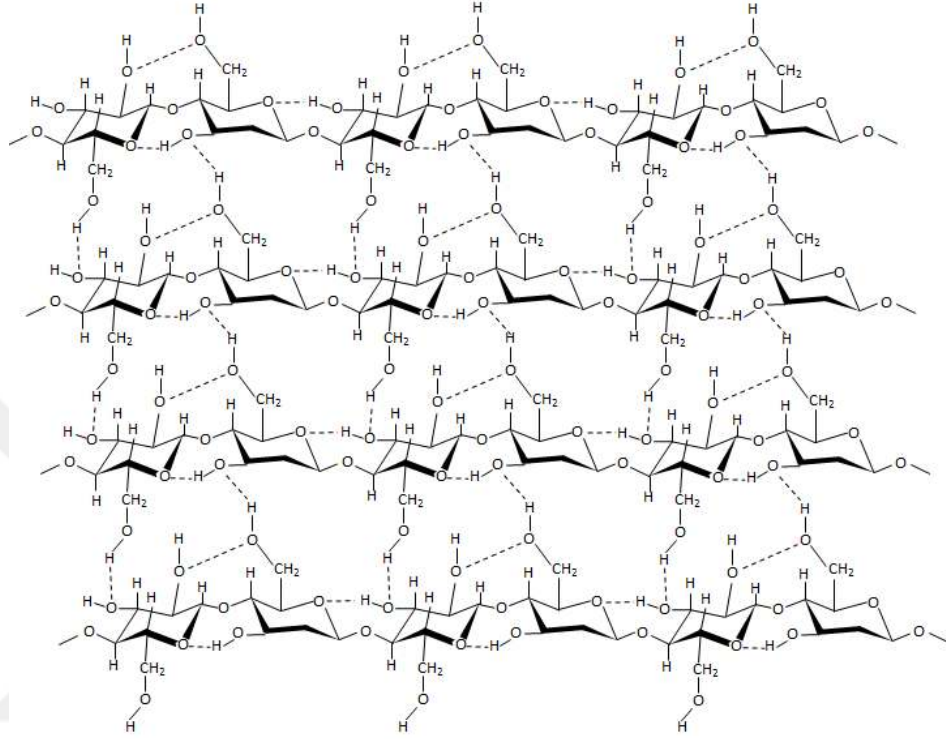
BC yapısı ve özellikleri üretildiği bakteriye, kültür ortamına ve koşullarına (statik ya da çalkalamalı kültür) göre değişmektedir. BC üreten suşların farklı yaşam gereksinimleri olabilir. Bu farklılıklar selülozu üreten bakterilerin genetik çeşitliliklerinden ve çevresel faktörlere duyarlılıklarından kaynaklanabilmektedir. Örneğin selüloz üreten birçok suş karbon kaynağı olarak glikoz tercih ederken bazı suşlar sakaroz tercih edebilmektedir (örn. *K. hansenii* 23770). Kültür ortamında etanol varlığının bazı suşlar için verimi ortalama %2 oranında arttırdığı (örneğin *K. xylinus* E25) bazı suşlar için ise verimi azalttığı (örn. *K. hansenii* 53582) keşfedilmiştir. Komagataeibacter suşları arasındaki üreme ortamı farklılıkları üretilen biyopolimerin özelliklerine de yansımaktadır. Üretilmek istenen biyomalzemenin kullanımı için uygun suşun seçimi önemlidir. Kültür ortamında farklı kombinasyonlarda karbon ve azot kaynaklarının kullanılması farklı ağ morfolojisine sahip BC üretilmesine neden olabilmektedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 : Kültür ortamında bulunan karbon ve azot kaynaklarının bakteriyel selülozun morfolojisine etkisi (Minsart ve diğ, 2022b).

BC sentezinde ortamda bulunan karbon bileşikleri bakteri tarafından kullanılır ve tek, doğrusal β -1,4-glukan zincirleri şeklinde polimerize edilir ve ardından hücrelerin dışına salgılanır. Bundan sonraki aşamada alt lifler, ardından mikro fibriller ve son olarak mikro fibril demetleri oluşturulmaktadır.

Alt lifler ortalama 10-15 adet β -1,4-glukan zincirinden oluşurken son aşamadaki mikro fibril demetleri 1000 ayrı glukan zincirinden oluşur. Bu biyosentezin sonucunda statik kültür koşullarında selüloz nanofiber ağı (3-8 nm) elde edilir (Czaja ve diğ, 2006). BC kimyasal yapısı Şekil 1.5'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5 : Bakteriyel selülozun kimyasal yapısı.

BC; sürdürülebilirlik, 3 boyutlu ağısı yapı, yüksek kristallik, mekanik dayanım, esneklik, yüksek su tutabilme, biyoyumluluk, biyobozunurluk, geniş yüzey alanı, hidrofillik yapısı, yüksek kristalinite, yüksek saflık ve farklı şekillerde kalıplanabilme gibi üstün özellikleri ile öne çıkmaktadır. Bu avantajlarına ek olarak BC fibrillerinin yüksek yüzey alanı, yara iyileşmesini destekleyen ajanların entegre edilebilmesi (ilaç, antibiyotik), nano gözenekli yapısı ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı bariyer görevi görmesi yara örtüleri için potansiyel bir polimer olduğunu göstermektedir (Czaja ve diğ, 2006).

BC sentezlendiği koşullara bağlı olarak istenilen şekil ve boyutta üretilebilmektedir. Bu özelliği sayesinde farklı kullanım alanlarına entegre edilebilmektedir. Örneğin ses membranları, elektronik, kağıt, yakıt hücresi, tıbbi malzeme ve tekstil gibi farklı alanlarda ticari olarak kullanılmaktadır (Czaja ve diğ, 2006).

Doku mühendisliği alanında yapılan çalışmalar yara örtüleri ve deri ikameleri olarak BC kullanılmasının önünü açmıştır. BC optimum yara iyileşmesi için mükemmel koşulları sağlayan ECM benzeri bir nanofiber yapıya sahiptir (Czaja ve diğ, 2006). BC benzersiz nanofibril ağ yapısı, hücre yapışması ve çoğalmasını teşvik eder. Bu özellik bakteriyel selülozun, 3B hücre kültürü ve doku mühendisliği çalışmalarında kullanımını destekler (Halib ve diğ, 2019).

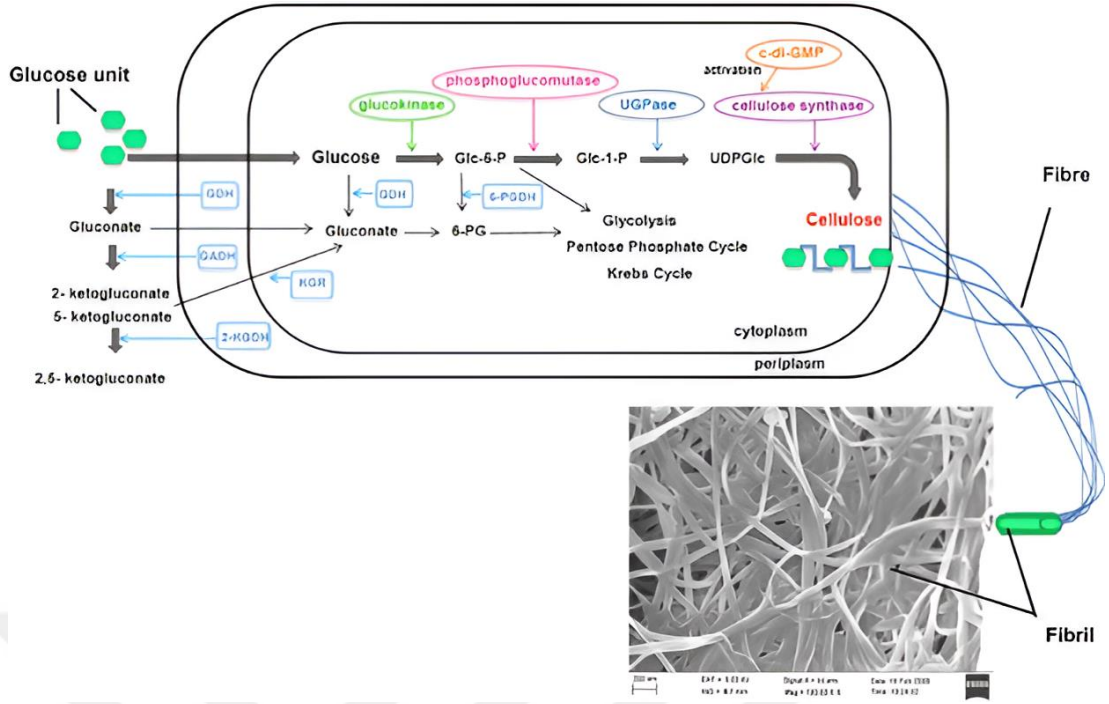
1.1.5.2 Bakteriyel selülozun biyosentezi

Selüloz üreten bakteriler pentoz-fosfat döngüsünde veya krebs döngüsünde çalışırlar. Pentoz-fosfat döngüsü karbonhidrat oksidasyonunu içermektedir. Krebs döngüsü ise asetat türevi karbonhidrat, yağ ve proteinlerin oksidasyonunu içermektedir. *A. Xylinum* bakterisi glikoliz için gereken fosfofruktoz kinazdan yoksundur. Bu nedenle glikozu anaerobik olarak metabolize edemez (Lee ve diğ, 2014).

BC biyosentezi çok adımlı bir reaksiyondur. Reaksiyonda karbon kaynağı olarak glikoz kullanılırsa dört temel enzimatik adımda gerçekleşir: 1) Glukokinazın glikozu fosforilasyonu. 2) Fosfoglukomutazın glikoz-6-fosfatı (Glc-6-P)) glikoz-1-fosfata (Glc-1-P) izomerizasyonu. 3) UDPG-pirofosforilazın (UGPase) UDP-glikozu (UDPGlc) sentezlemesi. 4) Selüloz sentaz reaksiyonu (Lee ve diğ, 2014).

UDPGlc birçok organizmada yaygın olarak bulunur ve selülozun öncüsüdür. UGPase selüloz üretiminde önemli bir yer tutar, selüloz üretmeyen bakterilerde aktivitesi 100 kat daha düşüktür. Reaksiyonda karbon kaynağı olarak sükroz ve maltoz kullanılırsa biyosentez disakkaritlerin glikoz ve fruktoza hidrolizi ile başlamaktadır. Siklik diguanilik asit (c-di-GMP) BC sentezi için önemlidir, yokluğunda selüloz sentaz inaktif kalır ya da enzim aktivitesi düşer (Lee ve diğ, 2014).

BC iki ara adımda sentezlenmektedir. İlk adım 1,4- β -glukan zincirlerinin oluşmasıdır. İkinci adım ise selüloz zincirlerinin birleştirilmesi ardından kristalleştirilmesidir. BC molekülleri ilk olarak bakterinin içinde sentezlenirler (Şekil 1.6) (Lee ve diğ, 2014).



Şekil 1.6 : Bakteriyel selülozun biyosentezi (Lee ve diğ, 2014).

1.1.5.3 Bakteriyel selülozun kullanım alanları

Gıda endüstrisinde bakteriyel selüloz

BC diyet lifi olarak kullanımı 1992 yılında Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından GRAS (Genellikle Güvenli Kabul Edilir) listesine kabul edilmiştir. BC yüksek saflığı, istenilen şekli alabilmesi, üretim sürecinin kolaylığı, kültür ortamının farklı renk ve aromaları elde edebilmesi gibi yetenekleri nedeniyle gıda endüstrisinde kullanımı yaygındır (Choi ve diğ, 2022). BC jelleşme ve yüksek su tutma yeteneği nedeniyle gıda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. BC, gıdaya eklenildiği zaman sertlik, jelleşme, kıvam, daha iyi bir kalite ve iyi bir doku elde edilmektedir. BC gıda maddesi olarak kullanılmasına örnek olarak Filipinler'e özgü bir tatlı olan nata de coco verilebilir. Nata de coco'nun ham maddesi BC'dir ; hindistan cevizi suyuyla fermente edilen BC tabakalar küp şeklinde kesilir ve şuruba batırılır (Choi ve diğ, 2022). BC bitkisel selüloza göre daha yüksek su tutma ve kolesterol düşürücü etkisi vardır. Bu nedenle düşük kalorili ve kolestrollü gıdalarda gıda katkı maddesi olarak selüloz kullanılabilmektedir (Choi ve diğ, 2022).

BC'nin gıda ambalajı olarak kullanımı da son dönemde ilgi çekmektedir. Dünyada artan ambalaj tüketimi çevre kirliliğine neden olmaktadır. Gıda endüstrisinde ambalajlamada kullanılan malzemeler plastik üretiminin yaklaşık olarak %90 'ını oluşturmaktadır. Sürdürülebilir malzemeler arasında BC dikkat çekmektedir. BC gıda ambalaj malzemesi olarak kullanıldığında gözenekli, nanofibröz yapısından dolayı çevreden gelebilecek bulaşanlara (toz, bakteri, mantar vb.) karşı gıdaları filtreleyerek, son kullanma tarihlerini uzatmaktadır (Choi ve diğ, 2022).

Tekstil endüstrisinde bakteriyel selüloz

Tekstil endüstrisinde kullanılan geleneksel viskon elyaflar odun hamurundan elde edilmektedir. Viskon elyaflar giyim ve ev tekstilinde sıklıkla kullanılmaktadır. Viskon elyafların üretimi için büyük miktarda ağaç kesilmektedir; aynı zamanda zararlı kimyasal işleme aşamalarından sonra yüksek enerji harcayan rafinasyon sürecinden geçmektedir. Nanollose şirketi bu sorunların üstesinden gelmek için BC'den üretilen dünyanın ilk bakteriyel viskon elyafını geliştirmiştir (Nullarbor Fibre). Geliştirilen bu viskon elyaf iplik, kumaş ve giysi olarak kullanılabilmiştir. Nullarbor Fibre bira, şarap vb. gıda kaynaklı atıkların BC'ye dönüştürülmesi ile üretilmiştir (Choi ve diğ, 2022).

Yakın zamanda Suzan Lee BC'den dikişsiz 3B giysiler ürettiğini bildirmiştir. Araştırmacılar çalışmanın sonunda her şeyin pamuk tarlasının aksine bir sıvı kazanında yetiştirilip, renklendirildiğini bildirdirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda BC tabanlı gömlekler, ceketler ve kimonolar üretilmiştir (Choi ve diğ, 2022). BC'nin üretiminin ekonomik olması ve petrokimyasal içermemesi tekstil endüstrisinde dikkat çekse de bu alanda hala birçok sorun bulunmaktadır.

Biyomedikal malzeme endüstrisinde bakteriyel selüloz

BC'nin biyomedikal endüstrisinde kullanımı literatürde dikkat çekmektedir. BC; biyoyumlu, nem dengesini koruyabilir, oksijen ve su buharı geçişini sağlar ve termal yalıtıma sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı diş implantları, yapay kan damarları, yapay kornea ve yara örtüsü gibi biyomedikal malzemelerde sıklıkla kullanılmaktadır.

BC diş implantı olarak kullanımı biyomedikal malzeme endüstrisinde dikkat çekmektedir. Geliştirilen implantın çevre dokuya entegrasyonu önemlidir. Aynı zamanda geliştirilen implant ve kemiğin tam osseointegrasyon göstermesi gerekmektedir. BC biyouyumlu yapısı, emilim kapasitesinin ve mekanik dayanımının yüksek olması nedeniyle diş implantı olarak kullanımı dikkat çekmektedir.

Literatürdeki çalışmalar BC'nin kağıt uçlu malzemelere göre daha iyi bir emilim kapasitesi, biyolojik fayda ve mekanik dayanım sağladığı için kanal tedavisinde ve oral alanlarda kullanılabileceğini kanıtlamıştır (Choi ve diğ., 2022). An ve ark. diş alanında kullanılmak üzere ışınlama tekniği kullanarak yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (GBR) için BC membranlar geliştirmişlerdir. BC'nin glikoz bağlarını kırmak için elektron demeti ışınlama tekniği kullanmışlardır. Araştırmacıların yaptığı mekanik, kimyasal ve biyolojik analizler sonucunda geliştirilen biyomalzemenin hücrelerle etkileşime girdiği ve kemik rejenerasyonunu desteklediği belirtilmiştir (An ve diğ., 2017).

BC'nin yapay kan damarı ve vasküler greft olarak kullanılmasında literatürde ilgi görmektedir. BC'nin yüksek patlama basıncı, su içeriğinin yüksek olması, kan pıhtılaşmasını önlemesi, yüksek kristallliği ve lifli yapısı nedeniyle vasküler doku mühendisliğinde kullanımı dikkat çekmektedir. Zahedmanesh ve ark. BC'nin mekanik dayanımını ve vasküler hücreleri barındırma potansiyelini incelemişlerdir. Araştırmanın sonunda BC'nin yapısal modeli çıkarılarak, geliştirilen malzemenin insan safen venine daha benzer bir yapıda olduğu belirlenmiştir. BC'nin yüksek biyouyumluluk, yapışma davranışı ve mekanik dayanım gösterdiği bildirilmiştir (Zahedmanesh ve diğ., 2011). Klemm ve ark. BC kullanarak sinir cerrahisinde kapak olarak ve yapay kan damarı olarak kullanılabilen tübüler geliştirmişlerdir. BACTERIAL SYNthesized Cellulose (BASYS®) adını verdikleri biyomalzeme, iyi mekanik dayanım, yüksek su tutma kapasitesi, pürüzsüzlük göstermiştir. BASYS hayvan deneylerinde mikro damar interpozisyonlarını başarıyla canlandırmıştır ve 1 mm iç çapa sahip olan BC tüpler bu nedenle yapay kan damarı olarak kullanımında yüksek potansiyel sergilemiştir (Klemm ve diğ., 2001).

BC yapay kornea ve retina olarak da kullanılabilmektedir. Kornea naklinde kornea dokusunun eksikliği, greft başarısızlıkları ve bağışıklık reddi gibi dezavantajlar bulunmaktadır. Güncel çalışmalarda BC'nin kornea stromal hücre büyümesi için umut vaat ettiği belirtildi.

Sepulveda ve ark. BC'nin optik ve mekanik özelliklerini geliştirerek kornea implantasyonuna uygun hale getirmek için BC / polikaptolakton (PCL) kompozitlerini önermiştir. Geliştirilen BC/PCL kompoziti BC ile karşılaştırıldığı zaman daha yüksek şeffaflık (%85) ve daha yumuşak bir membran yapısı göstermiştir. BC/PCL kompozitleri kornea dokusunda 45 günlük takip süresi boyunca stabilitesini korumuştur (Sepúlveda ve diğ, 2016).

1.1.5.4 Bakteriyel selülozun yara örtüsü olarak kullanımı

BC, ideal yara örtüsü olarak kullanılmasına olanak tanıyan birçok avantaja sahiptir. BC, oksijen geçişine izin verir, ağrıyı azaltan bakteriyolojik bir bariyer görevi görür, yara ortamının nemini korur, şeffaf olmasından dolayı yara ortamının takibini kolaylaştırır, ekonomiktir, biyouyumludur, yüksek mekanik dayanıma sahiptir, yara tipine göre modifikasyon imkanı tanır. BC hücre yapışmasını ve göçünü uyararak ve yeniden epitelizasyona olanak sağlayarak yara iyileşme sürecini hızlandırır. Bu avantajlarından dolayı hızla büyüyen kronik yara pazarında araştırmacıların ilgisini çekmektedir.

BC'nin ticarileştirilmesi için ilk adım 1980 yılında Johnson & Johnson tarafından atılmıştır. Johnson & Johnson BC'nin yara tedavi uygulamalarında kullanımı için yapılan ilk araştırmalara öncülük etmiştir. BioFill şirketi BC tabanlı bir yara iyileştirme sistemi geliştirmiştir. Şirketin geliştirdiği Biofill® ve Bioprocess® yanık ve ülser tedavisi için yapay deri olarak kullanılabilmiştir. Gengiflex® periodontal hastalıkların tedavisi için uygulanmıştır (Czaja ve diğ, 2006). BC tabanlı yara örtüleri ile ilgili bu gelişmeler BC'nin ticarileşmesinin önünü açmıştır. 1996 yılında Xylos şirketi Johnson & Johnson ile anlaşarak patentlerini BC bazlı yara bakım ürünlerinde kullanmak üzere anlaşmıştır. Xylos şirketi Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı yara bakım ürünleri geliştirmektedir. XCell ® Selüloz Yara Örtüsü ve XCell ® Antimikrobiyal Yara Örtüsü şirketin geliştirdiği ürünler arasında yer almıştır. Şirketin geliştirdiği yara örtüsünün iyileşme sürecini olumlu etkilediği ve ideal nem dengesini koruduğu bildirilmiştir (Czaja ve diğ, 2006). Sonraki yıllarda BC tabanlı malzemelerle ilgili ard arda gelişmeler yaşanmıştır. Innivatec firması tarafından geliştirilen Nanoskin, BC tabanlı gümüş iyonları içeren antibakteriyel bir yara örtüsüdür.

Lohmann & Rauscher tarafından geliştirilmiş olan Suprasorb X ve Suprasorb X+ PHMB yara örtüleri, biguanid (PHMB) ile birleştirildiğinde olası bir ilaçla aktive edilen özelliklere sahiptir. Axcelon Biopolymers Corp tarafından geliştirilen antimikrobiyal yara örtüsü Nanoderm, BC'ye gümüş parçacıkların entegre edilmesiyle üretilmiştir. Vuelo Pharma tarafından geliştirilen Membracel, yanık, bası yarası, diyabetik yaralar, cerrahi yaralar, ülser, deri grefti donör yaraları ve epidermolizis bülloza yaralanma tedavileri için kullanılmıştır. Yara örtüsünün gaz değişimi ve eksüda emilimi nedeniyle granülasyon dokusunun oluşumunu desteklediği bildirilmiştir. S2M medical tarafından geliştirilen Epiprotect 2117 ve Epiprotect ülser BC tabanlı yara pansumanları olarak piyasaya sürülmüştür. Yara örtüleri derin yaralar için koruyucu bir iyileşme bariyeri olarak kullanılmıştır, yaraya yapışarak iskele görevi görmüştür. İyileşme süresi tamamlandığında BC pansumanı soyularak uzaklaştırılmıştır. BOWIL biotech tarafından geliştirilen CelMat Face, yüz yaraları ve yanıklar için maske formunda bir yara örtüsüdür. CelMat yara örtülerinin farklı vücut bölgeleri ve yara formları için geliştirilen çeşitleri de vardır (Girard ve diğ, 2024). BC tabanlı ticari malzemeler literatürde her geçen gün artmaktadır.

1.1.6 Kombuça çayından bakteriyel selüloz üretimi

Kombuça siyah veya yeşil çay kullanılarak hazırlanan fermente edilmiş bir içecektir. Kombuça içeceği, fermantasyon sürecinde kullanılan maya ve bakteri kültüründen ayırmak için kombuça çayı olarak isimlendirilir. Kombuça çayının yüzyıllar önce Kuzeydoğu Çin'de ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kombuça kültürü asit üreten bakterilerin ve ozmofilik maya türlerinin simbiyotik büyümesi sonucunda oluşur. Fermantasyon sürecinde hava-sıvı arayüzünde jelatinimsi, selüloz bazlı bir biyofilm oluşur. Bu biyofilme bakteri ve maya simbiyotik kültürü (SCOBY) denir. Kombuça SCOBY çay mantarı olarak da adlandırılır. Kombuça SCOBY'de bulunan mikrobiyal popülasyon farklılık gösterebilir ama genellikle Acetobacter bakteri türleri ve Saccharomyces maya türlerini içerir. Kombuça kültürü içerisinde maya tarafından anaerobik etanol fermantasyonu ve organik asit fermantasyonu, bakteriler tarafından ise asetat aerobik etanol oksidasyonu eş zamanlı olarak gerçekleşebilir (Amarasekara ve diğ, 2020).

Kombuça ayı günümüzde evlerde kolaylıkla üretilebilmektedir aynı zamanda ŐiŐlenerek ticari olarak satılmaktadır. Fermentasyon sırasında ortama salınan organik asit ve CO₂ nedeniyle meyveli hoŐ bir tadı vardır. Kombuça ayı organik asitler, çeşitli Őekerler, vitaminler, amino asitler, proteinler, biyojenik aminler, purinler, pigmentler, lipidler, hidrolitik enzimler, etanol, karbondioksit, polifenoller, mineraller, anyonlar, maya ve bakterilerin metabolik ürünlerini bulundurur. Bu nedenle fermentasyon süreci için ek azot ve besine ihtiyaç yoktur. Kombuça ayının içeriğinde bulunan mikroorganizmalar sebebiyle probiyotik etkisi olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda anti-diyabetik, antikarsinojenik, anti-inflamatuar ve antioksidan olduğu, mide ülseri, yüksek kolesterol, karaciğer hastalıklarının tedavisinde olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir.

Kombuça ayı farklı metotlarla hazırlanabilir ancak yaygın kullanılan yöntemde kaynar su içerisine (1 L) ay yaprağı (%0,5) ve Őeker kaynağı (%5) (sükroz vb.) eklenir. Demlenen ayın içerisindeki çay yaprakları süzülerek sıcaklığın 20 C düŐmesi beklenir. Ardından %0,2 kombuça ayı ve %3 SCOBY eklenir. Kombuça kültür ortamı aerobik solunum gerçekleşmesi için bir bezle örtülür. Kültür ortamının sıcaklığı 18-30 C arasında ayarlanır ve 7-14 gün aralığında inkübe edilir. Kültür ortamında 2-3 gün içerisinde yeni bir SCOBY tabakası oluŐmaya baŐlayacaktır (Laavanya ve diğ, 2021). Şekil 1.7 de hasat edilmiş ve NaOH ile yıkama işlemi gerçekleŐtirilmiŐ Kombuça SCOBY görülmektedir.



Şekil 1.7 : Hasat edilmiş ve NaOH ile yıkanarak kurutulmuş Kombuça selüloz

Kombuça ayından üretilen SCOBY tek bir bakteri suŐundan üretilen BC'ler gibi temelde bir BC'dir. BC'yi bitkisel selülozdan ayıran üstün özelliklerinin hepsi (biyoyumluluk, yüksek gözeneklilik, yüksek kristallik vb.) SCOBY selülozunda da vardır.

Ancak SCOBY selüloz ile bakteriden sentezlenen selüloz arasında bazı farklılıklar vardır. Çünkü SCOBY selüloz, simbiyotik bir kültür tarafından sentezlenirken; BC tek bir suş tarafından sentezlenir. Bu farklılıklar Çizelge 1.3'te verilmiştir(Laavanya ve diğ, 2021).

Çizelge 1.3 : Kombucha SCOBY den sentezlenen BC ile tek bir suştan sentezlenen BC arasında ki farklılıklar.

Özellik	Tek bir suştan sentezlenen BC	Kombucha SCOBY den sentezlenen BC
Mikrobiyal popülasyon	Tek bir bakteri suşunun bireysel sentezi	Bakteri ve maya simbiyotik ortamında sentez
Maliyet	Kültür ortamı bileşenleri nedeniyle üretimi daha pahalı	Üretimi daha ekonomik
Kültür ortamı	Verimli üretim için Hestrin-Schramm ortamı ve diğer birçok bileşen dışarıdan eklenir	Tatlandırılmış çay karışımı eklenir. Kombucha kültüründe maya tarafından sürekli etanol üretimi vardır
Karbon kaynağı	Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılır. Daha fazla miktarı selülozdan ziyade glukonik aside dönüştürüldüğü için sınırlayıcı olabilir. Bu nedenle selüloz üretimi için düşük konsantrasyonda glikoz tercih edilir	Karbon kaynağı olarak sükroz kullanılır. Bakteriler ve maya tarafından mümkün olan her şekilde metabolize edilir ve kullanılır.
Mekanik dayanım	Young Modülü: 15,1 GPa (49 kPa) Çekme Dayanımı: 199 Mpa	Young modülü: 2,64 GPa (kalınlık .029 mm)
Ticari uygulamalar	Nata-de-coco, Nata-de-pina (A.xylum'lu yenilebilir selüloz) SONY Corporation kulaklıklarında filtre membranı olarak Bakteriyel sentezlenmiş selüloz - Yapay kan damarı için BASYC®.	Teekvass (yenilebilir)

El-Wakil ve ark. kombuça çayından sentezlenen bakteriyel selüloz (KBC) ve antimikrobiyal fitokimyasal özütlerin (kahve özütü (CE)) kombinasyonu ile yara örtüsü geliştirmeyi amaçlamışlardır. Sentezlenen KBC'ye kahve özütü entegre edilmiş ve farklı inkübasyon sürelerinde (2, 4, 10 gün) inkübe edilmiştir. Çalışmanın sonucunda geliştirilen malzemenin iyi bir antimikrobiyal aktivite, yüksek PECF emilimi, iyi su buharı iletim hızı ve polifenol salınımı gösterdiği tespit edilmiştir (El-Wakil ve diğ, 2019).

Zhu ve ark. kombuça çayından sentezlenen BC'yi karakterize etmeyi ve periferik sinir hücreleri ve dokularıyla in vitro ve in vivo biyoyumluluğunu değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Karakterizasyon analizleri için ışık ve taramalı elektron mikroskobu, MTT testi, akış sirometrisi ve RT-PCR kullanmışlardır. Kombuça çayından sentezlenen BC membranların üzerine kültüre edilen Schwann hücrelerinin iyi yapışma, hayatta kalma ve göç etme özelliği gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlar BC'nin Schwann hücreleri ile iyi bir biyoyumluluğa sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca araştırmacılar sıçanların spatium intermusculare'sine implante edilebilen bir sinir kanalı üretmişlerdir. Çalışmanın sonunda araştırmacılar kombuça BC den üretilen implantların sinir dokuları üzerinde in vivo hematolojik ve histolojik etkiler göstermediğini bildirmiştir (Zhu ve diğ, 2014).

Kaminski ve ark. kombuça BC kullanarak istenilen fizikokimyasal ve mekanik özelliklere sahip çevre dostu bir tekstil teknolojisi sunmuştur. BC üretim süreci maksimum hammadde geri kazanımı ve minimum enerji ile yenilenebilir kaynakların kullanılmasını sağlamak için optimize edilmiştir. Üretilen malzeme ıslanabilirlik, mekanik dayanım ve alev direnci açısından test edilmiştir. Malzemenin morfolojisinin ve bileşiminin belirlenmesi için taramalı elektron mikroskobu ve kızılötesi spektroskopisi kullanılmıştır. Çalışmanın sonunda araştırmacılar, sentezlenen BC kumaşlardan bileklik ve tişört parçaları üretmiş ve kumaşların cilt temas davranışını test etmek için gönüllüler üzerinde denemiştir. Araştırmacılar, kombuçadan üretilen selülozun çeşitli giyim eşyaları üretmek için kullanılabileceğini ve önerdikleri sentez yönteminin yeşil kimya ile uyumlu olduğunu bildirmiştir (Kamiński ve diğ, 2020).

2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1 Kimyasal Maddeler

Sükroz Isolab (İstanbul) firmasından, Kombucha çayı ve siyah çay yerel marketten temin edilmiştir. NaOH, 3-metakriloksipropiltrimetoksisilan (3-MPS) ve AIBN [(2,2'-Azobis(2-metilpropionitril)], K₂HPO₄ ve KH₂PO₄ Sigma ile hidroklorik asit (HCl), etanol ve metanol Honeywell firmasından temin edilmiştir. Fenol kırmızısı AFG Bioscience, tetrahidrofuran (THF), trietilamin ve kloroform Merck, metakriloilklorür ve akrilamid Honeywell Fluka firmalarından temin edilmiştir. Saf su, ultra saf su cihazından (Millipore-Direct-Q 3 UV, Almanya) elde edilmiştir.

2.1.1 BC üretimi

Çalışmada BC üretimi için besiyeri olarak Kombucha çayı, siyah çay ve sükroz kullanılmıştır. Kullanılan besiyeri bileşenleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 : BC üretimi için besiyeri içeriği

Bileşen	Derişim
Kombucha çayı	20 mL/L
Sükroz	100 g/L
Siyah çay	10 g/L

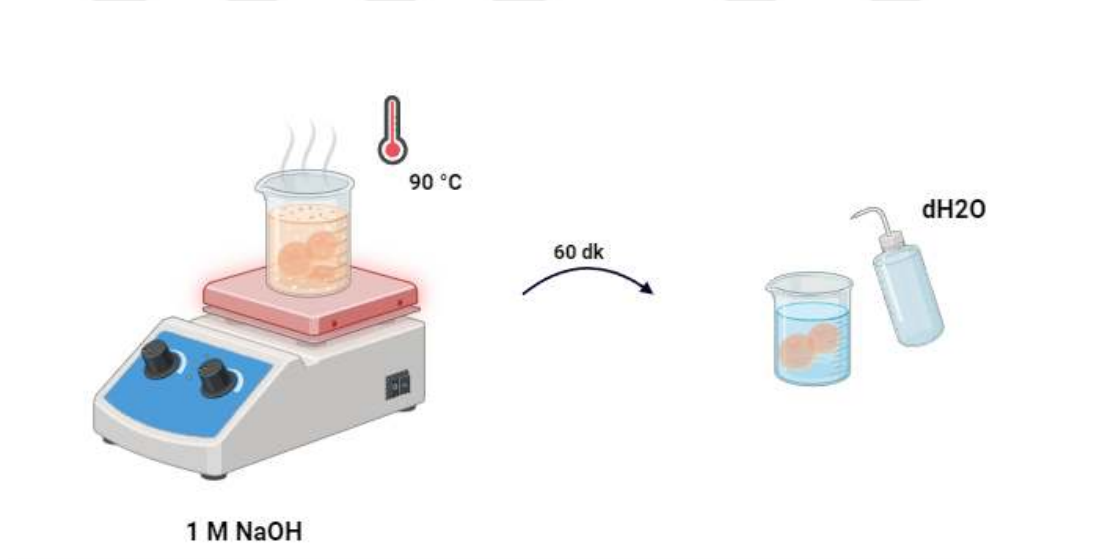
Besiyeri için 200 mL saf su manyetik karıştırıcıda kaynatılmış ve 2 gr siyah çay eklenerek 20 dakika demlenmiştir. Demlenen çayın içerisine 20 gr sükroz eklenerek çözünmesi sağlanmış ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Hazırlanan besiyerinin pH değeri 1 M HCl ve 1 M NaOH kullanılarak 5,0'e ayarlanmıştır.

Besi yerinin içerisine Kambua ayı konulmuştur ve karıştırılmıştır. Besiyeri petrilere, her petride 25 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Petrilerin içine Kambua SCOBY anası eklenmiştir ve statik koşullarda 30  C de inkübe edilmiştir. Üretim metodu şekil 2.1 de gösterilmektedir.



şekil 2.1 : BC üretiminin şematik gösterimi.

İnkübasyonun ardından üretilen BC'ler 1 M NaOH  z ltisi ile 1 saat 90  C'de yıkanarak bakteriyel ortam uzaklaştırılmıştır. Ardından pH 7,0 olana kadar defalarca saf su ile yıkanmıştır. Hazırlanan BC'ler analizlerde kullanılmak için 4  C'ta saklanmıştır. Bu işlemin şematik gösterimi şekil 2.2'de verilmiştir.



şekil 2.2 : BC yıkama işleminin şematik gösterimi.

2.1.2 BC modifikasyonu

BC'ler, %10'luk 3-metakriloksipropiltrimetoksisilan (3-MPS) çözeltisi (etanolda) ile 5 saat, 80 °C'ta çalkalamalı ortamda (150 rpm) etkileştirilmiştir. Modifikasyon işleminin ardından sırasıyla örnekler, metanol ve saf su kullanılarak defalarca yıkanmıştır. Modifiye edilen BC'ler 4 °C'de saklanmıştır.

2.1.3 BC karakterizasyonu

2.1.3.1 Kalınlık ölçümü

Farklı kalınlıklardaki BC'ler, 24 saat oda sıcaklığında kurutulmuştur. Üretilen BC ve BC temelli yara örtülerinin kalınlıkları Insize marka dijital mikrometre cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler örneklerin farklı bölgelerinden alınan değerlerin ortalaması ve standart sapma değerleri olarak sunulmuştur.

2.1.3.2 SEM analizi

BC'lerin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. BC ve modifiye BC -80 °C'ta bir gece dondurulmuş, ardından -80 °C'de Teknosem TRST-D-S-4-4 cihazı kullanılarak liyofilize edilmiştir. SEM analizi için örneklerin yüzeyi altın (15 nm) ile kaplanmıştır. BC'lerin morfolojik yapısı, Carl Zeiss/Gemini 300 SEM cihazı kullanılarak incelenmiştir.

2.1.3.3 FTIR analizi

BC'nin kimyasal karakterizasyonu için PERKIN ELMER Spectrum Two FTIR cihazı kullanılmıştır. BC ve modifiye BC analiz öncesi oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan örneklerin FTIR spektrumları 400-4000 cm⁻¹ 'de incelenmiştir.

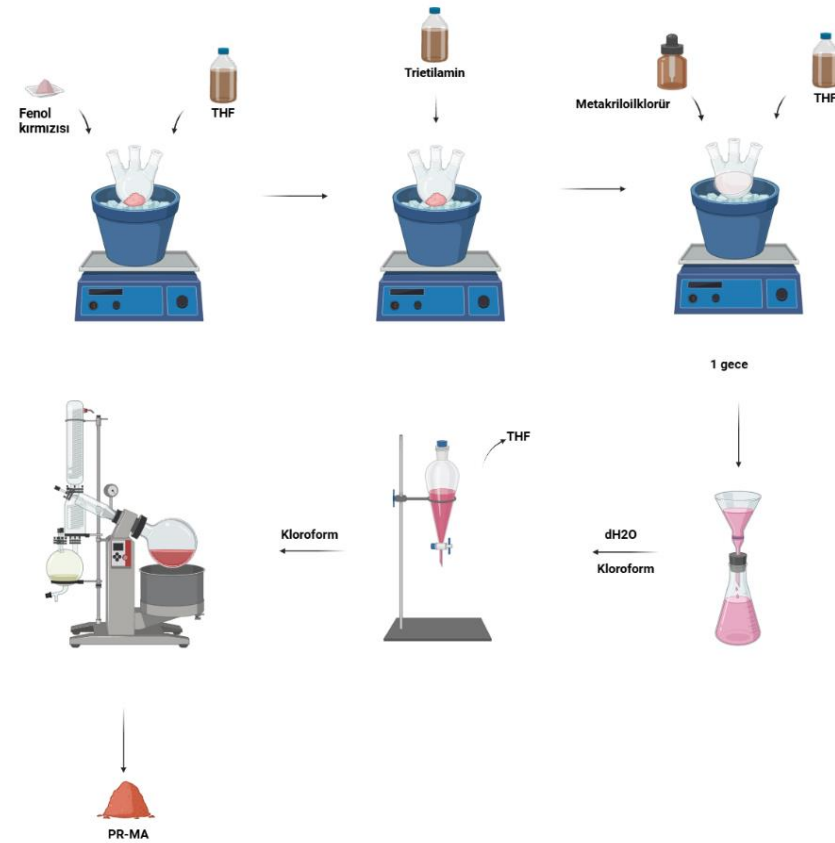
2.1.4 PR-MA sentezi

Çalışmada kullanılan PR-MA'nın sentezlenmesi için fenol kırmızısı (PR) kullanılmıştır. Modifiye edilmiş fenol kırmızısı (PR-MA) sentezi için 0,5 g fenol kırmızısı ve 280 µL trietilamin üç başlı balon jojeye alınmış ve 40 mL THF'te çözdürülmüştür. Hazırlanan çözelti buz banyosu içerisinde tutulmuştur. Çözeltiye 136,8 µL metakrilolil klorür ve 10 mL THF damla damla ilave edilmiştir ve 1 gece karıştırma ortamında bırakılmıştır.

Reaksiyon ortamından THF süzülerek uzaklaştırılmıştır. Bu işlemin ardından reaksiyon ortamı su ve kloroform kullanılarak yıkanmıştır (Ren ve diğ, 2017). Ortamdaki kloroform evaporatör (Heidolph) (Şekil 2.3) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Analiz sonunda elde edilen PR-MA kuru halde oda sıcaklığında saklanmıştır. PR-MA sentezinin şematik gösterimi Şekil 2.4.'de verilmiştir.



Şekil 2.3 : Evaporatör cihazı.



Şekil 2.4 : PR-MA sentezinin şematik gösterimi.

2.1.5 PR-MA karakterizasyonu

2.1.5.1 FTIR analizi

Sentezlenen PR-MA monomerinin yapısal karakterizasyonu PERKIN ELMER Spectrum Two marka/model FTIR cihazı kullanılarak incelenmiştir. FTIR analizinde PR-MA ve fenol kırmızısına ait spektrumlar $400-4000\text{ cm}^{-1}$ 'de incelenmiştir.

2.1.5.2 UV-vis spektrum ölçümleri

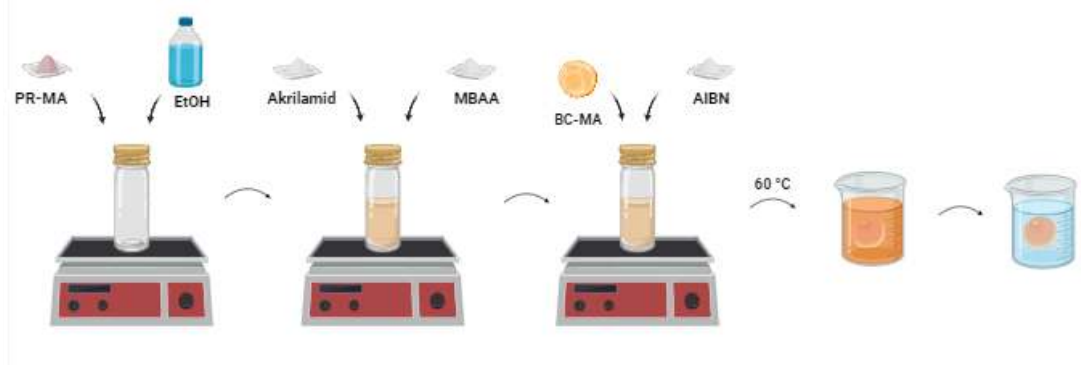
UV spektrofotometre ile ölçüm almadan önce farklı pH aralıklarında (5,0-9,0) PR-MA ve PR çözeltileri hazırlanmıştır. PR-MA ve PR'nin kolorimetrik özellikleri, 200-800 nm aralığında, VWR marka UV-vis spektrofotometre cihazı kullanılarak incelenmiştir.

2.1.5.3 NMR analizi

PR-MA'nın kimyasal yapısı Proton nükleer manyetik rezonans cihazı ($^1\text{H-NMR}$) kullanılarak incelenmiştir.

2.1.6 BC tabanlı akıllı yara örtülerinin hazırlanması (BC/PR-MA)

Akıllı yara örtülerinin geliştirilmesi için PR-MA varlığında BC temelli yara örtülerinin sentezi polimerizasyon işlemi ile gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon bileşenleri farklı miktar ve kombinasyonlarda denenmiş, tez kapsamında kullanılacak olan en kararlı yapı ve tekrarlı renk değiştirebilen optimum kompozisyon belirlenmiştir. Kullanılan kompozisyonlar Çizelge 2.2'de verilmiştir. Bunun için öncelikle, PR-MA çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltinin içine akrilamid ve metilen bisakrilamid (MBAA) eklenmiştir. Ardından, polimerizasyon ortamına modifiye edilmiş BC'ler eklenerek reaksiyon ortamında yarım saat süreyle tutulmuştur. Polimerizasyon reaksiyonu AIBN ile başlatılarak işlem, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 4 saat devam etmiştir. Polimerizasyon işleminin ardından örnekler, bol su ile yıkanmış ve polimerizasyona girmeyen bileşenler uzaklaştırılmıştır. Elde edilen akıllı yara örtüsü (BC/PR-MA) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ta saklanmıştır. BC/PR-MA nanofiberinin hazırlama basamaklarının şematik gösterimi Şekil 2.5'de verilmiştir. Hazırlanan BC/PR-MA örneklerinin yapıları oda sıcaklığında gözlemlenmiştir. Homojen olmayan ya da mekanik olarak kararlı olmayan kompozisyonlar belirlenmiştir ve elenmiştir. Sentez ve yıkama sonrasında kararlı yapıda olan homojen örneklerin kompozisyonları belirlenmiş ve kolorimetrik analizlerde değerlendirilmiştir.



Şekil 2.5 : BC/PR-MA hazırlanmasının şematik gösterimi.

Çizelge 2.2 : BC/PR-MA nanofiberinin polimerizasyon ortamı bileşenleri

Örnek adı	PR-MA (mg)	Akrlamid (g)	MBAA (mg/mL)	AIBN (mg/mL)
1	5	-	-	5
2	5	0,08	1	5
3	5	0,4	5	5
4	5	0,8	1	5
5	20	0,8	5	10
6	20	0,8	5	5
7	20	0,8	5	10
8	20	0,8	10	10
9	20	0,8	20	10
10	20	0,8	25	10
11	10	0,8	25	10
12	5	0,8	25	10
13	5	0,4	25	10
14	5	0,1	25	10
15	5	0,05	25	10
16	5	0,01	25	10

2.1.7 Boya sızıntı tespiti

Hazırlanan BC/PR-MA nanofiberleri sentez sonrası yıkandıktan sonra yıkama ortamlarında boya sızıntısı olup olmadığı spektrofotometrik olarak 200-800 nm arasındaki dalga boylarında analiz edilmiştir.

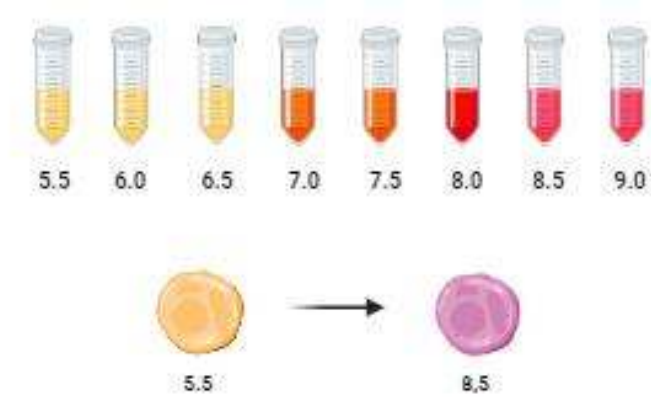
2.1.8 Kolorimetrik analiz

Hazırlanan farklı kompozisyonlardaki BC/PR-MA nanofiberlerinin renk değiştirme yetenekleri oda sıcaklığında farklı pH tamponlarında yapılmıştır. Bunun için farklı pH aralıklarında (5,5-8,5) PBS tampon (1 M) çözeltileri hazırlanmıştır.

BC/PR-MA ve BC nanofiberlerin kolorimetrik analizi için sabit ışık ve konumun ayarlandığı bir düzenek kurulmuştur (Şekil 2.6). Örnek, düzeneğin içine yerleştirildikten sonra tampona daldırılmadan önce cep telefonu kamerasıyla fotoğrafı çekilmiştir. Ardından örnek, tampon çözelti (3 mL) içine alınmıştır. Renk değişimi video ve fotoğraf olarak görselleştirilmiştir. Renk değişim süresi kronometre ile takip edilmiştir. Her pH derecesi için aynı işlem tekrarlanmıştır. Elde edilen fotoğrafların RGB (Kırmızı, yeşil, mavi), LAB (açıklık, kırmızılık-yeşillik, sarılık-mavilik) ve ΔE (toplam renk farkı) değerleri 123M618 numaralı TÜBİTAK projesi'nde bursiyer olarak görev alan Batuhan NURAY tarafından geliştirilen yazılım (EK-A) kullanılarak hesaplanmıştır. ΔE (toplam renk farkı) aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (2.1)$$

Burada ΔE : toplam renk farkı; ΔL : örnekler arasındaki parlaklık; Δa : örnekler arasındaki kırmızılık farkı; Δb : örnekler arasındaki sarılık farkıdır.



Şekil 2.6 : Farklı pH tamponlarında BC/PR-MA nanofiberlerin renk değişiminin şematik gösterimi.

2.1.9 BC/PR-MA karakterizasyonu

2.1.9.1 SEM analizi

Hazırlanan BC/PR-MA nanofiberlerinin morfolojik analizi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. BC/PR-MA nanofiberler -80°C 'de bir gece dondurulmuş, ardından -80°C 'de bir gün süreyle Teknosem TRST-D-S-4-4 cihazı kullanılarak liyofilize edilmiştir.

SEM analizi için örneklerin yüzeyi metalik altın (15 nm) ile kaplanmıştır. BC/PR-MA nanofiberlerinin morfolojik özellikleri, SEM (Carl Zeiss/Gemini 300) cihazı kullanılarak elde edilmiştir.

2.1.9.2 FTIR analizi

Hazırlanan BC/PR-MA nanofiberlerinin yapısal karakterizasyonu PERKIN ELMER Spectrum Two FTIR cihazı kullanılarak incelenmiştir. BC/PR-MA'nın FTIR spektrumları $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ 'de elde edilmiştir.

2.1.9.3 Şişme testi

BC/PR-MA ve BC nanofiberler 24 saat boyunca oda sıcaklığında kurutulmuştur. Örnekler farklı PBS tamponlarına (pH 5,5-8,0) konmuştur. Şişmiş örnekler, belirlenen sürelerde tampondan çıkarılmış ve yüzeylerindeki fazla sıvı alınarak tartılmıştır. Analiz üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Şişme yüzdesi Denklem 2.2 kullanılarak belirlenmiştir.

$$\% \text{ Şişme değeri} = \left[\frac{W_s - W_0}{W_0} \right] \times 100 \quad (2.2)$$

Burada, W_0 : Şişmeden önceki ağırlık (g); W_s : Şişmeden sonraki ağırlık (g).

2.1.9.4 Dehidrasyon testi

BC/PR-MA ve BC nanofiberlerinin dehidrasyon testi 28 °C’de yapılmıştır. Denge şişme değerine gelen örnekler tartılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Örnekler belirli zaman aralıklarında tartılmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir. Kuruma değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Denklem 2.3).

$$\% \text{ Su kaybı} = \left[\frac{M_i - M_t}{M} \right] \times 100 \quad (2.3)$$

Burada, M_i : denge şişmedeki ağırlık (g); M_t : t zamanında ölçülen ağırlık (g); M : örneğin aldığı toplam su miktarıdır (g).

2.1.9.5 Su buharı geçirgenliği hızı

BC/PR-MA ve BC nanofiberlerin su buharı geçirgenliği hızının belirlenmesi için kuru örnekler daire şeklinde kesilip tartılmıştır. Ardından, örnekler 10 mL saf su bulunan 50 mL hacmindeki silindirik şişelerin ağzına kapak olarak kapatılmıştır.

Şişelerin ağız kısmı kenarlarından parafilm ile sıkıca kapatılmıştır. Şişeler ile ağızlarında örnekler, etüvde 37 °C’te 24 saat bekletilmiştir. 24 saatin sonunda şişeler tartılmıştır. Testler üç tekrarlı şekilde yapılmıştır. Su buharı geçirgenliği değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Denklem 2.4).

$$\% WVTR = \frac{\left[\left(\frac{\Delta W}{A} \right) \right]}{t} \quad (2.4)$$

Burada, ΔW : 24 saat sonunda kabın ağırlığı (g); t : zaman (gün); A : Kullanılan örneğin alanı (m^2)

2.1.9.6 Hidrolitik degradasyon testi

BC/PR-MA nanofiberlerinin hidrolitik degradasyon davranışı suda gerçekleştirilmiştir. Kuru ağırlığı bilinen örnekler, belirli zaman aralıklarında (3, 7 ve 14 gün) saf su içerisinde 37 °C’de inkübe edilmiştir. Belirtilen süre sonunda örnekler ortamdaki çıkarılmış ve kurutularak tartılmıştır. Degradasyon ortamına konmadan önce ve sonraki ağırlık kaybından bozunma yüzdesi elde edilmiştir.

Testler dört tekrarlı şekilde yapılmıştır. Hidrolitik degradasyon değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Denklemler 2.5).

$$\%Degradasyon = \left(\frac{M_0 - M_t}{M_0} \right) \times 100 \quad (2.5)$$

Burada, M_0 : İlk ağırlık(g); M_t : Zamana karşı değişen ağırlık(g)

2.1.9.7 Mekanik dayanımı

BC/PR-MA ve BC nanofiberlerin mekanik dayanımının ölçümü için çekme testi yapılmıştır. Çekme testi oda sıcaklığında Shimadzu cihazı kullanılarak yapılmıştır. Test ASTM D5035 standardına uygun yapılmıştır. Bunun için örnekler 20 kN çekme kuvveti ile 1 mm/dak hızla çekilmiştir.

2.1.9.8 In vitro biyoyumluluk testleri

BC/PR-MA yara örtülerinin in vitro sitotoksik etkilerinin incelenmesi için MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür) hücre canlılığı testi uygulanmıştır. Deneyden önce kullanılacak yara örtülerinin sterilizasyon işlemi, örnekleri UV ışığı altında (365 nm, 200 mW/cm²) 30 dakika tutularak yapılmıştır.

Öncelikle, L929 fare fibroblast hücreleri (L929 P/12) 3 tekrarlı olacak şekilde 5000 hücre/kuyu yoğunluğunda plakalara ekilmiştir ve hücreler DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (%10 fetal sıgır serumu (FSS) (Biowest, S1810), %1 penisilin-streptomisin antibiyotik (Biowest, L0022), L-glutamin) ortamında kültüre edilmiştir. Kültürlenmiş hücreler tripsinlenip ardından santrifüjlenmiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinin in vitro sitotoksik özellikleri direkt ve indirekt yöntemler ile incelenmiştir. Direkt yöntemde, hücre peleti (1x10⁶ hücre/membran) BC/PR-MA nanofiberinin üzerine ekilmiştir. Örnekler, 37 °C'de %5'lik CO₂ atmosferinde 24, 48 ve 72 saat süreyle inkübe edilmiştir. İndirekt yöntemde, BC/PR-MA örnekleri 24 saat boyunca 6 cm²/mL konsantasyonda DMEM ortamında inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından ekstraktlar toplanarak 5 dakika santrifüj edilmiştir (1000 rpm). Ekstraktlar 0,45 µm membran filtrelerden geçirilmiştir. Seyreltilmiş ekstraktlar (%100) stok solüsyon olarak seçilmiş ve kültür ortamı ile 1:2 oranına kadar seyreltilmiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinden salınan bozunma ürünlerinin sitotoksikite analizi için BC/PR-MA nanofiberlerinden hazırlanan ekstraktlar kullanılmıştır.

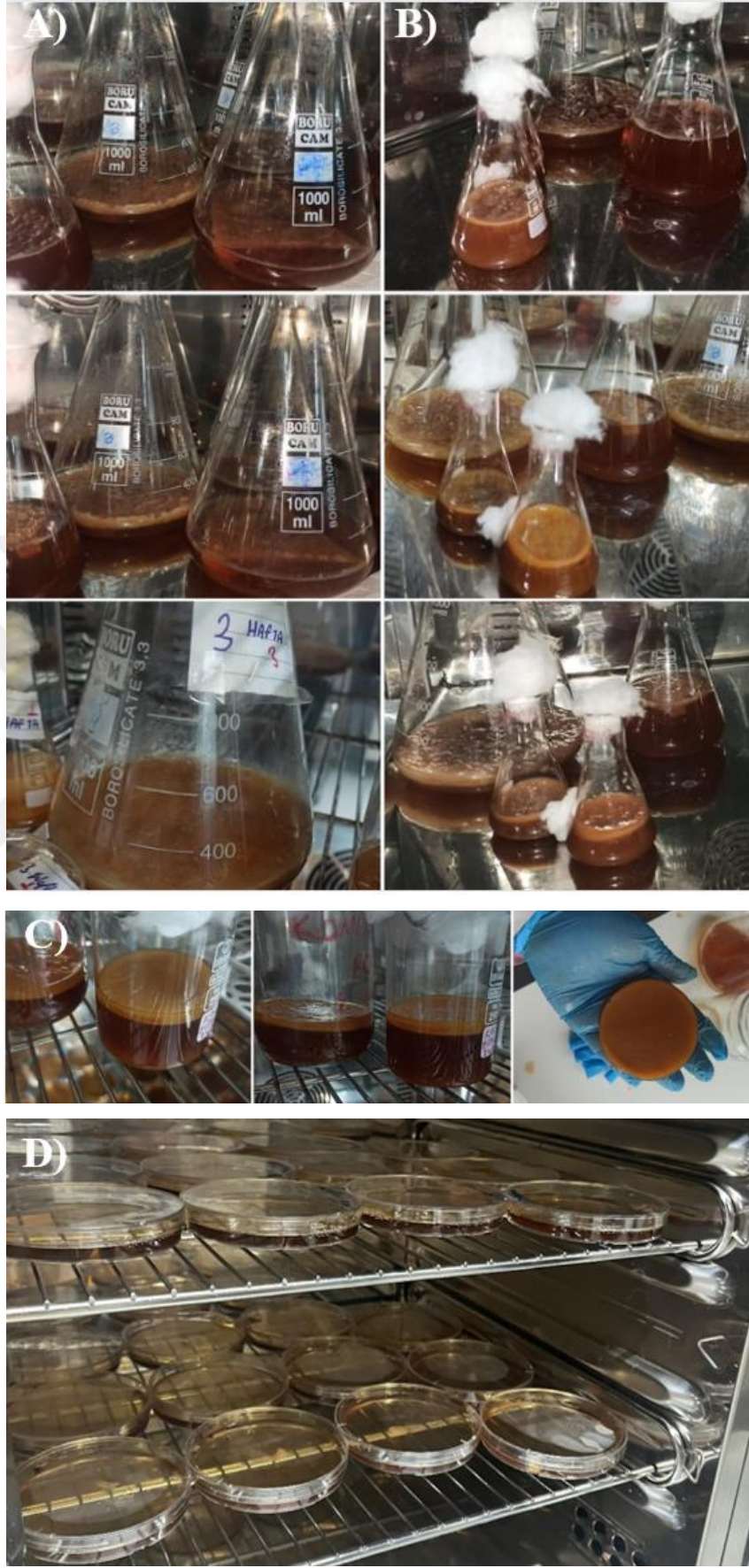
96 kuyulu hücre kültürü plakalarına kuyu başına 1×10^4 hücre yoğunluğunda olacak şekilde ekilmiştir ve %5 CO₂ atmosferinde inkübe edilmiştir (37 °C / 24 saat). Ekstraktlar hücrelere eklenerek 24, 48 ve 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her kuyuya 100 µL DMEM ve 13 µL MTT solüsyonu (5 mg/mL) eklenmiştir. Hücre kültürü plakaları alüminyum folyoya sarılarak 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından solüsyonlar aspire edilerek mitokondriyal aktivite tarafından oluşturulmuş olan formazan kristallerini çözmek için kuyu başına 100 µL %5 DMSO/amonyak solüsyonu eklenmiştir. Hücre kültürü plakalarındaki çözünmesinin sağlanabilmesi için plakalar 10 dakika boyunca çalkalayıcıda tutulmuştur. Ardından mikro plaka okuyucu kullanılarak (BIO-TEK µQuant) optik yoğunluk (OD) ölçümleri 550 nm’de gerçekleştirilmiştir. Hücre canlılığı denklem 2.6 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık değeri (\%)} = \left(\frac{\text{Grup OD}}{\text{Kontrol OD}} \right) \times 100 \quad (2.6)$$

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 BC Üretimi

Bu tez kapsamında geliştirilen yara örtülerinin hazırlanmasında ilk basamak olarak bakteriyel selüloz nanofiberlerin üretimine odaklanılmıştır. Öncelikle literatürde Kombuçadan BC üretiminde yaygın olarak kullanılan besiyeri olarak 10 g/L siyah çayın ve 100 g/L sakkaroz ile hazırlandığı ve sıcaklığın da 30 °C olduğu tespit edilmiş ve bu çalışmada inkübasyon koşulları olarak kullanılmıştır. Esam ve ark. tarafından Kombuça çayından üretilen selülozun veriminin besiyeri içeriği, üretim kabının hacmi, inkübasyon süresi ve sıcaklığına bağlı olduğu bildirilmiştir. Bakteriyel selülozun üretim kabının yüzey alanı ve derinliği arttıkça selüloz üretiminin arttığı bildirilmiştir (AL-Kalifawi ve Hassan, 2014). Her üretimde aynı özelliklere sahip, homojen yapıda BC elde etmek için farklı üretim kabı ve üretim sürelerinde ödenemeler yapılmıştır. Bunun için, 1 L, 500 mL, 250 mL ve 50 mL’lik erlenlerde, 250 mL’lik beherlerde ve steril petri kaplarında BC üretimi 5, 7, 14 ve 21 gün boyunca gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). 1 L’lik erlende üretilen selüloz 5 ve 7 gün aralığında ince bir selüloz tabakası üretmiştir. Orta kalın selüloz eldesi için kültür ortamı 14 gün inkübe edilmiştir. Kalın (0,6 cm) bakteriyel selüloz üretimi için 21 günlük inkübasyon süresi tamamlanmıştır. 250 mL’lik erlenlerde 14. günün sonunda kalın BC üretilebiliyorken, 50 mL’lik erlende 7. günün sonunda kalın BC elde edilmiştir. Bakteriyel selüloz üretim kabının hacmi azaldıkça inkübasyon süresi azalmaktadır. Bakteriyel selüloz petri kabında üretildiği zaman 7. günün sonunda ince, dayanıklı ve üniform yapıda BC elde edilmiştir. Çalışmanın tamamında BC üretimi için steril PS petriler kullanılmıştır. Farklı koşullarda üretilen BC’ler Şekil 3.1’de gösterilmiştir. A) 1 L, erlenlerde 7, 14, 21 gün; B) 1 L, 250 mL ve 50 mL erlenlerde 7, 14, 21 gün; C) 250 mL beherlerde 7, 14, 21 gün; D) Petrilerde 7 gün.

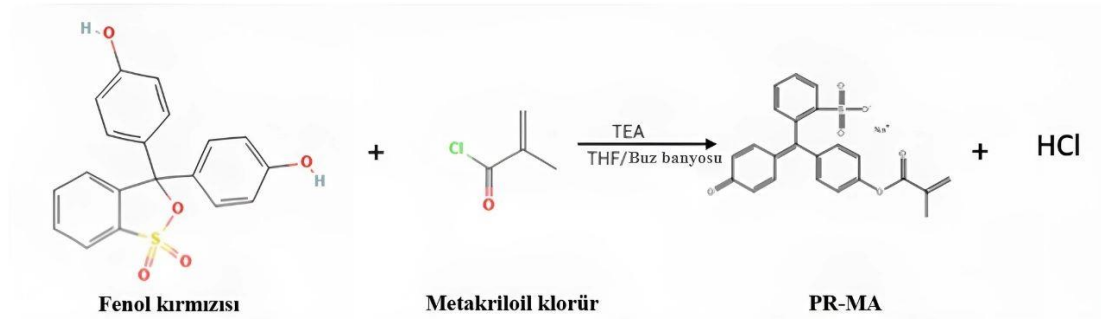


Şekil 3.1 : Farklı üretim kabı ve inkübasyon süresinde üretilen BC'ler.

3.2 PR-MA Sentezi

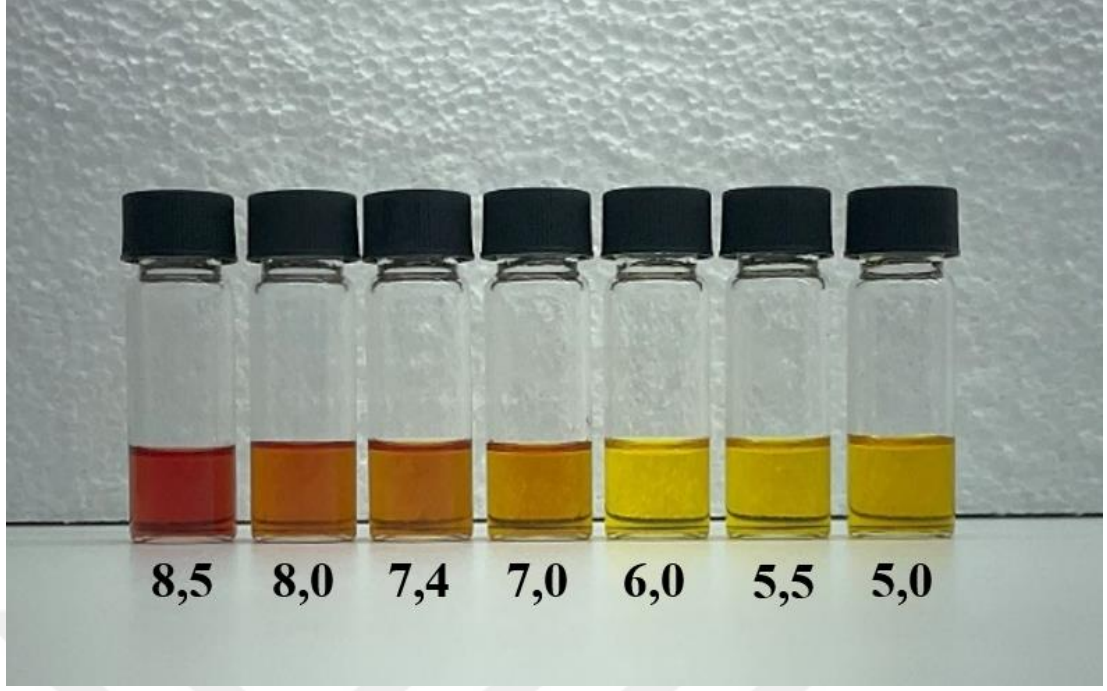
Bu çalışmada pH ile renk değiştiren akıllı yara örtüleri geliştirilmiştir. Bunun için, pH 6-8 arasında renk değiştiren pH indikatörü olan PR kullanılmıştır. PR'ın entegre edildiği yapıdan sızıntı problemini ortadan kaldırmak için bu çalışmada PR modifiye edilmiştir. Liu ve ark. metakrilatlanmış PR kullanarak kronik yaraların durumunun gerçek zamanlı takibini yapabilen akıllı bir hidrojel yara örtüsü geliştirmişlerdir. PR'ın yara örtüsünden sızması sonucu ortaya çıkabilecek toksisite risklerinin önüne geçmek amacıyla, aljinat/poliakrilamid kompozitine kopolimerizasyonu için metakrilatlanmış fenol kırmızısını (MA-PR) yara örtü hazırlama aşamasında kullanmışlardır. Araştırmacılar MA-PR'nin pH 5,0'de sarı renk, pH 7,0'de turuncu renk ve pH 9,0'da kırmızı renk verdiğini bildirmiştir. Çalışmanın sonucunda MA-PR monomerinin başarıyla sentezlendiği bildirilmiştir (Liu ve diğ, 2017).

PR pH duyarlılığına neden olan bir sülfonat grubunu ve iki hidroksil grubunu içeren üç benzen halkasından oluşmaktadır. PR hidroksil gruplarının metakriloil klorür ile reaksiyonu sonucunda PR-MA sentezlenmektedir (Şekil 3.2). Reaksiyonun ardından ortamdaki THF evaporatör ile uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.2 : PR-MA sentezi reaksiyonu (Liu ve diğ, 2017).

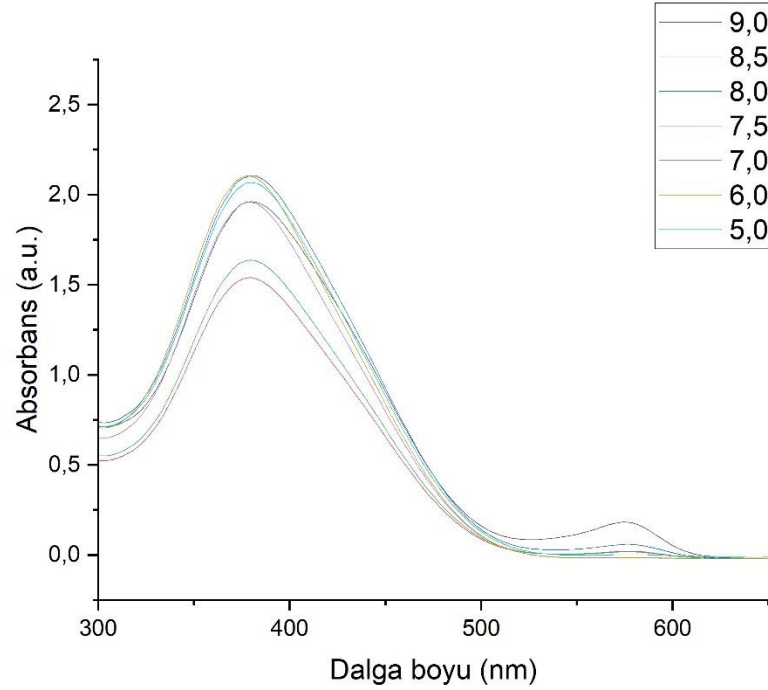
PR-MA monomerinin farklı pH aralıklarındaki (5,0-8,5) renk değişimi Şekil 3.3'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuç literatür ile de uyumludur (Liu ve diğ, 2017).



Şekil 3.3 : PR-MA'nın farklı pH aralıklarındaki renk değişimi.

3.2.1 UV-vis spektrum ölçümleri

PR-MA çözeltileri pH 5,0-9,0 aralığında hazırlanmıştır. Hazırlanan PR-MA çözeltileri 200-800 nm aralığında spektrofotometrik olarak incelenmiştir (Şekil 3.4). Farklı pH'larda sarıdan kırmızıya doğru renk değişimi belirgin olarak gözlenmiştir. PR-MA monomerinin 380 nm ve 575 nm'de verdiği absorbanslar literatür ile uyushmaktadır. Liu ve ark. metakrilatlanmış fenol kırmızısı (MA-PR) monomerinin UV-vis spektrofotometresinde karakterizasyonunu gerçekleştirmiştir. MA-PR monomeri asidik koşullar altında 388 nm'de maksimum absorbans vermiştir. Bazik pH koşullarında ise 588 nm'de başka bir pik daha gözlenmiştir (Liu ve diğ, 2017). Bu tezde hazırlanan PR-MA, literatürde belirtildiği gibi asidik koşullarda 380 nm maksimum absorbans vermiştir. Bazik koşullarda ise 575 nm'de yeni bir pik gözlenmiştir. Asidik pH'da 380 nm'de gözlenen bant konjuge benzenoid halka sisteminin $\pi-\pi^*$ geçişinden kaynaklanmaktadır. Bazik pH 575 nm'de gözlenen zirve benzenoidden kinoid eksitonik dönüşümünden kaynaklanan $n-\pi^*$ geçişine atfedilmiştir (Liu ve diğ, 2017).



Şekil 3.4 : PR-MA monomerinin farklı pH değerlerindeki UV spektrumları.

3.3 BC/PR-MA Yara Örtülerinin Hazırlanması

Bu tez çalışmasında geliştirilen yara örtüleri, üretilen BC ve sentezlenen PR-MA monomerinin polimerizasyonu yoluyla elde edilmiştir. Kalın ve ince BC ler, farklı PR-MA ve AIBN oranlarında farklı sürelerde polimerize edilmiştir. Seçilen kompozisyonlar, iki parametre ile değerlendirilmiştir. Birincisi, hazırlanan nanofiberlerin sentezi ve ardından yıkanması sonrasında yapısının homojen ve kararlı olmasıdır. İkincisi ise, yara örtüsü hazırlama ve ardından yıkanması aşaması sonrasında yapılan farklı pH'lardaki kolorimetrik analizler ile değerlendirilmesidir. Bu amaçla, hazırlanan yara örtüleri pH 5,5 ve pH 8,5 tamponlarına daldırılarak oda koşullarındaki renk değişimleri görsel olarak takip edilmiştir. Kalın BC ile hazırlanan yara örtülerinin polimerizasyon işleminden sonra farklı tamponlarda renk değişimi görülmüştür. Ancak, bu örneklerden boya moleküllerinin yıkama sonrasında sökülüp gittiği belirlenmiştir. Bu ön deneme sonuçlarından sonra çalışmanın tümünde ince BC'lerin kullanılmasına karar verilmiştir. 1 numaralı örnek ince BC ile PRMA'nın polimerizasyonu sonucunda elde edilen örnektir. Bu örneğin polimerizasyon sonrasında yıkama işleminde yüzeyine tutulan PR-MA'yı tamamen saldığı belirlenmiştir. Bu sorunun üstesinden gelmek için polimerizasyon ortamına akrilamid ilave edilmiştir.

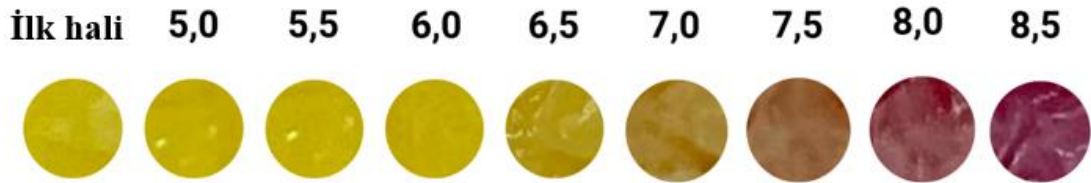
Literatürde Liu ve ark. (2017) akrilamid, aljinat ve PR-MA monomerini kullanarak pH tabanlı akıllı yara örtüsü geliştirmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada akrilamidin indikatör boyanın ortamdaki kararlılığını sağlayıp polimerizasyon işleminin başarısını arttırdığını bildirmiştir (Liu ve diğ, 2017). Bu çalışmada da, PR-MA monomerinin yapıdaki kararlılığı polimerizasyon ortamına akrilamid eklenmesinin ardından arttığı belirlenmiştir (2 numaralı örnek). Çalışmanın bundan sonraki aşamasında akrilamid miktarı için denemeler yapılmıştır. Bu amaçla, akrilamid ve MBAA oranı 5 kat artırılmıştır (3 numaralı örnek). BC/PR-MA nanofiberinin yıkama suyunun spektrofotometrik analizi sonucunda ortamda herhangi bir boya sızıntısının olmadığı tespit edilmiştir. Bu aşamadan sonra renk değişimi ve şiddeti için optimum şartların sağlanacağı koşullar test edilmiştir. Akrilamid ve PR-MA oranı sabit tutularak MBAA ve AIBN oranları optimize edilmiştir (5-10 numaralı örnekler). MBAA: 25 mg/mL, AIBN: 10 mg/mL olarak hazırlanan yara örtülerinin renk değişimi ve boya sızıntısı açısından optimum özellik gösterdiği belirlenmiştir. Ardından, akrilamid, MBAA, AIBN miktarları sabit tutularak PR-MA derişimi optimize edilmiştir. Bunun için PR-MA 20 mg/mL, 10 mg/mL, 5 mg/mL hazırlanmıştır. Hazırlanan yara örtülerinde hazırlanmasında PR-MA oranındaki artış, renk değişim özelliklerinde belirgin bir fark yaratmadığı için 5 mg/mL seçilmiştir. Son olarak, MBAA, AIBN ve PR-MA oranları sabit tutularak akrilamid oranları üzerine odaklanılmıştır. Optimizasyonun sonucunda akrilamid oranları 0,4; 0,1; 0,05; 0,01 g olarak seçilmiş ve diğer parametreler sabit tutulmuştur. Bu seçilen örneklerin kalınlıkları kullanılan akrilamid miktarları olan 0,4 g; 0,1 g ; 0,05 g; 0,01 g için sırasıyla 0,06 mm; 0,02 mm; 0,02 mm; 0,01 mm şeklindedir.

3.4 BC/PR-MA Nanofiberinin Kolorimetrik Analizi

BC/PR-MA nanofiberlerinin renk değişiminin niceliksel olarak takip edilmesi için kolorimetrik yöntemler kullanılmıştır. Kolorimetrik analiz çalışmaları için CIELAB (L^* , A^* , B^*) renk uzay modeli kullanılmıştır. Bu renk uzay modeli insan görüşüne yakın bir sonuç vermektedir ve insan gözünün algılayamadığı renklerden oluşur. Örneğin, L^* değeri, insan gözünün aydınlık duygusuyla ilişkilidir (Devarayan ve Kim, 2015). Literatürde kolorimetrik analiz amacıyla bir çok renk parametresinin (örn. L , a , b) kullanıldığı bildirilmiştir ancak toplam renk farkının elde edildiği ΔE değerinin bu amaçla kullanılabilecek en kullanışlı indeks olduğu tespit edilmiştir (Pan ve diğ, 2019).

ΔE değerinin 5'ten büyük olması renk değişimin gözle görülebilir seviyede olduğunu göstermektedir. ΔE değeri 12'den büyükse gözlemlenen rengin farklı bir renk alanına ait olduğu sonucuna varılır (Pan, 2019; Devarayan, 2015; Agarwal, 2012).

Tez kapsamında hazırlanan kontrol grubu olan BC nanofiberi farklı pH ortamlarında (5,0-8,5) renksiz iken, BC/PR-MA nanofiberleri pH asidikten baziğe giderken, sarıdan turuncuya, turuncudan mora doğru belirgin bir renk değişimi göstermiştir (şekil 3.5). Renk değişiminin gerçekleştiği pH penceresi enfekte yaranın takibi için gereken pH aralığını vermiştir (Liu ve diğ, 2017). Enfeksiyon gözlenmeyen yara ortamı asidik bir durumdadır, yaranın enfekte olması durumunda önce nötr sonra alkali bir duruma doğru ilerler. Bu tez kapsamında geliştirilen BC/PR-MA yara örtüleri, enfeksiyon gözlenmeyen bir yara ortamında sarı renk gösterirken, enfeksiyon varlığında turuncudan mora doğru belirgin bir renk değişimi gösterecektir. Böylelikle, akıllı yara örtüleri ile hastanın yarasının enfeksiyon durumu hakkında sağlık hizmeti almadan, kendisi bilgi edinebileceği öngörülmektedir. Literatürde son yıllarda yara örtüsüne biyosensör entegre edilmesi ile geliştirilen yeni nesil akıllı yara örtüleri ile enfeksiyonun erken dönemde tespitini sağlayabileceğinine dikkat çekilmektedir (Dargaville ve diğ, 2013).



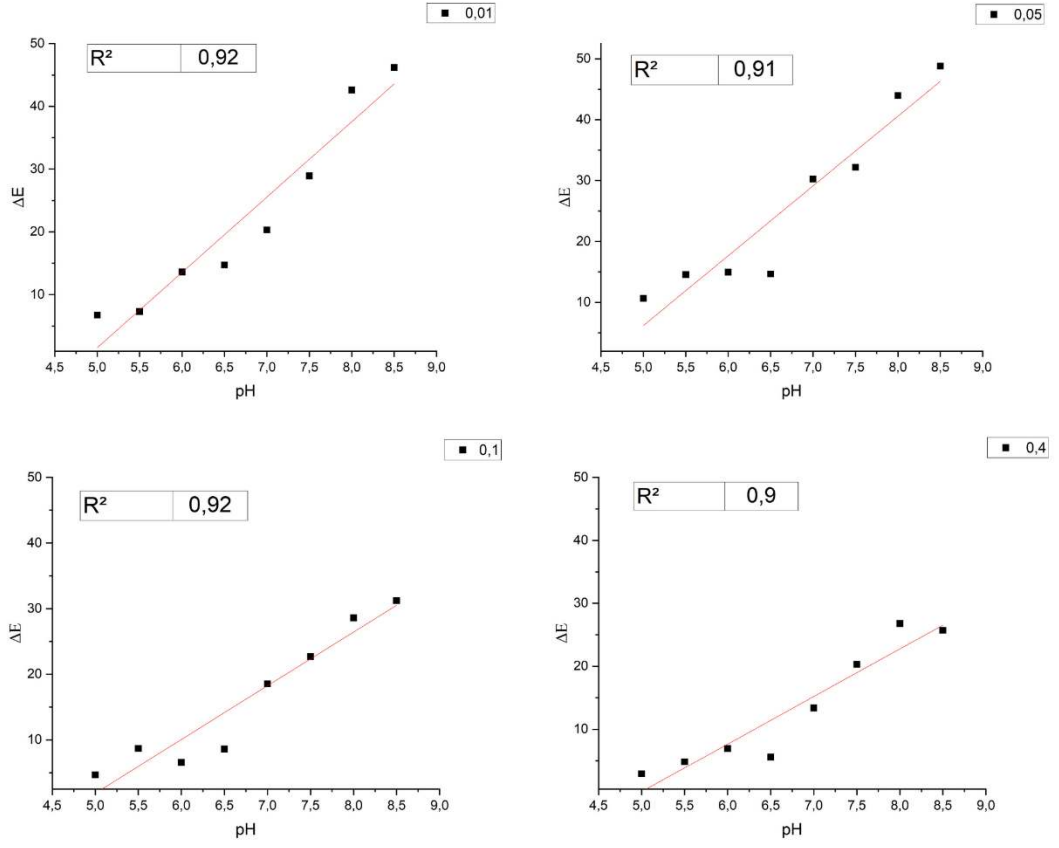
şekil 3.5 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarındaki renk değişimleri.

BC/PR-MA nanofiberlerinin renk değişiminin dengeye geldiği zamanın belirlenmesi için ön denemeler yapılmıştır. Düzeneğin ortasına konulan BC/PR-MA nanofiberler pH tamponlarına sırasıyla daldırılmıştır. Her tampon için 5 dakika boyunca renk dönüşümü takip edilmiş ve her 10 saniyede bir fotoğrafları telefon kamerası ile çekilmiştir. Fotoğraflar geliştirilen Java yazılımına yüklenmiştir (EK-A). Programdan RGB (kırmızı, yeşil, mavi), LAB (açıklık, kırmızılık-yeşillik, sarılık-mavilik) ve ΔE (toplam renk farkı) değerleri elde edilmiştir (Pan ve diğ, 2019).

Örneklerin 30 sn içinde renk değişim sürecini tamamladığı, bu süreden sonra anlamlı bir renk değişim şiddeti göstermediği hesaplanan ΔE değerlerinin bu süreden sonra değişmemesi ile belirlenmiştir. Çizelge 3.1’de BC/PR-MA yara örtülerinin farklı pH’lardaki ΔE değerleri verilmiştir. Burada, pH 6’dan büyük pH’lardaki tüm değerlerin 5’ten büyük olması renk değişiminin çıplak gözle görülebilir seviyede olduğunu göstermektedir. BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH’lardaki ΔE değerlerinin grafiği Şekil 3.6’da verilmiştir. Şekil 3.7’de BC/PR-MA nanofiberinin farklı pH tamponlarında renk değişiminin videosu verilmiştir. Şekil 3.8’de BC/PR-MA nanofiberlerinin 10 döngü boyunca renk değişim görselleri verilmiştir.

Çizelge 3.1 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarındaki ΔE değerleri.

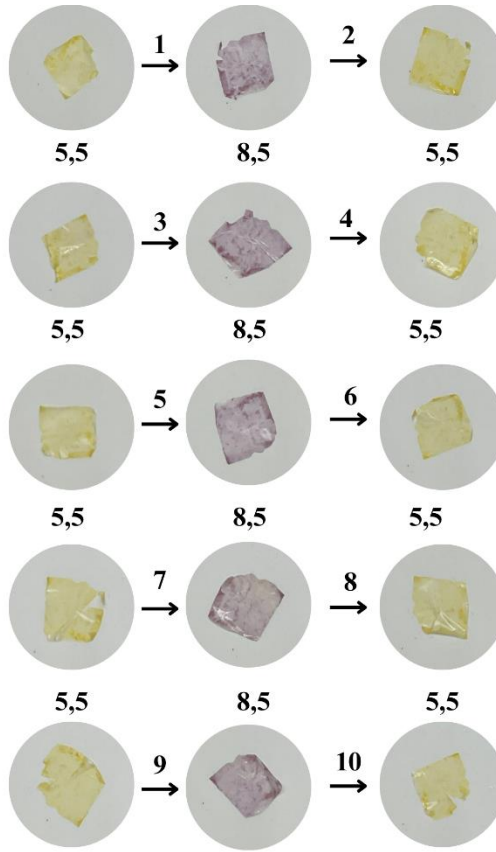
pH	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0
0,01 g	46,21	42,6	28,92	20,3	14,73	13,61	7,31	6,74
0,05 g	48,79	43,96	32,19	30,25	14,67	14,96	14,56	10,66
0,1 g	31,22	28,59	22,68	18,55	8,61	6,56	8,69	4,67
0,4 g	25,72	26,80	20,33	13,38	5,58	6,92	4,84	2,94



Şekil 3.6 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH'lardaki ΔE değerleri.



Şekil 3.7 : BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH tamponlarında renk değişim videosunun bağlantısı.



Şekil 3.8 : BC/PR-MA farklı pH'larda tekrarlı renk değişimi.

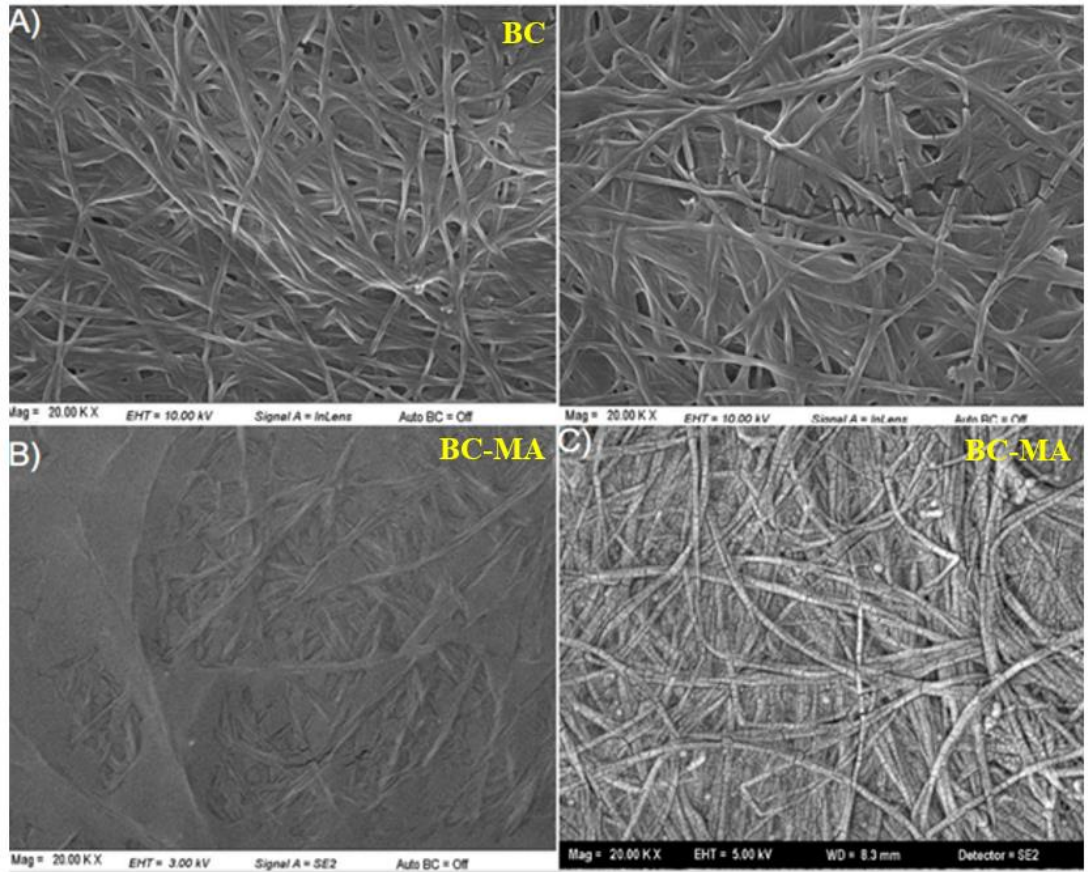
3.5 BC/PR-MA Nanofiberinin Karakterizasyonu

3.5.1 SEM analizi

BC ve BC-MA'nın yüzey morfolojisi SEM analizi ile incelenmiştir. Şekil 3.9'da BC ve BC-MA'nın SEM görüntüleri gösterilmiştir. Şekil 3.9.A BC'ye, Şekil 3.9.B kalın BC-MA'ya ve Şekil 3.9.C ise ince BC-MA'ya ait SEM fotoğraflarıdır. BC nanofiberler mikrofibril demetlerinin birbirine sıkıca bağlı olduğu ağı, gözenekli bir morfolojiye sahiptir (Dayal ve Catchmark, 2016). Bakteriyel selülozun biyosentezinde glikoz molekülleri $\beta(1 \rightarrow 4)$ -glikozidik bağ ile polimerize edilirler. Polimerize edilen glikozidik zincirlerin birleşmesiyle nanofibriller oluşur. Nanofibriller molekül içi hidrojen bağları sayesinde, ince ağı yapı oluştururlar (Kim, 2011; Lin, 2013).

BC nanofiberlerin üç boyutlu ağı yapısı SEM fotoğraflarından açıkça görülmektedir. Nanofiberlerin çaplarının 50-100 nm arasında olduğu tespit edilmiştir. İnce BC-MA'da açık gözenek yapısı dikkat çekerken (Şekil 3.9.C), kalın BC-MA'da gözenekler kapalı görünmektedir (Şekil 3.9.B).

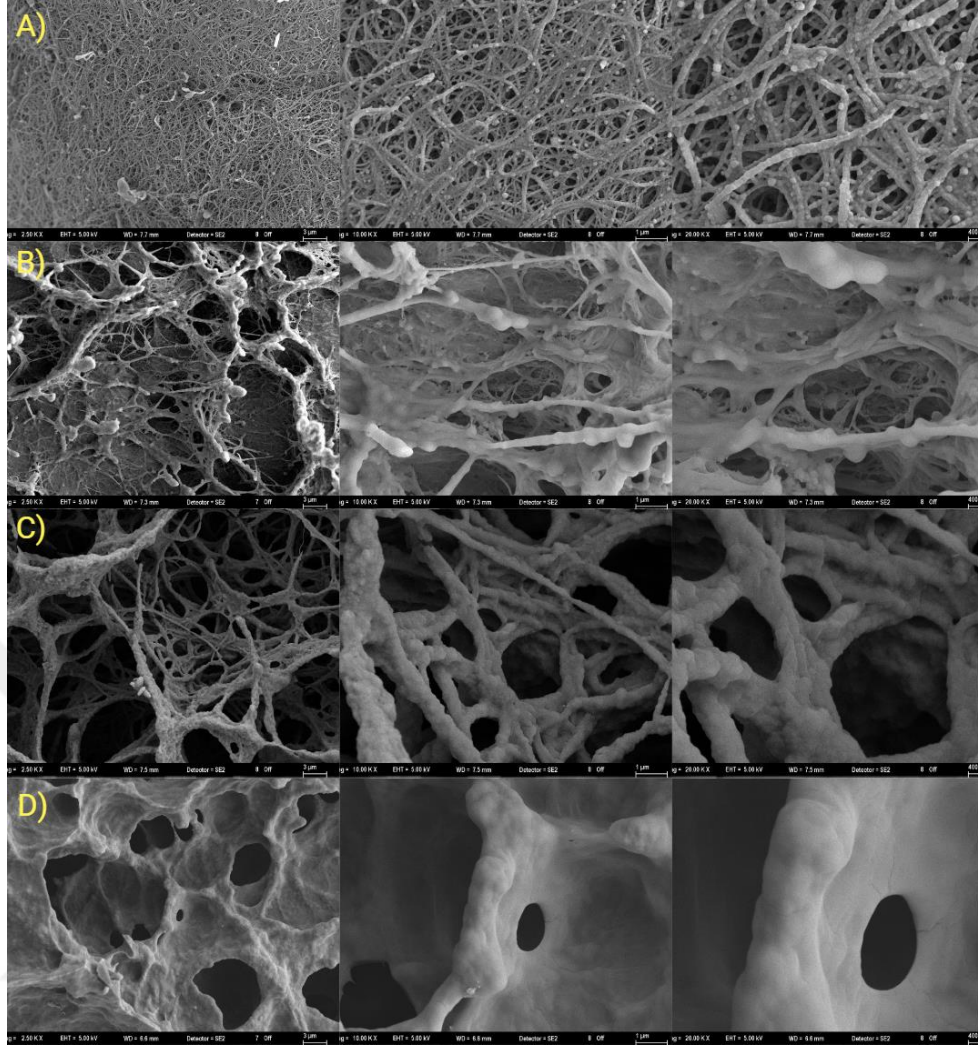
Elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırılmıştır. Lee ve ark. bakteriyel selüloz membranlarının kalınlığının kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada farklı kalınlıklardaki bakteriyel selülozların SEM analiz sonuçlarını karşılaştırmıştır. Araştırmacılar; 0,1; 0,15 ve 0,20 mm kalınlığa sahip BC membranların SEM fotoğraflarından artan BC kalınlığı ile daha sıkı ve kapalı gözeneklere sahip bir yapının oluştuğunu bildirmişlerdir (Lee ve diğ, 2017). Bu çalışmada hazırlanan ince BC ve BC-MA örneklerinin gözenek yapısının kalın olanlara göre daha açık olduğu belirlenmiştir. Kalın BC ile üretilen BC-MA nanofiberinin yüzeyine monomerin tutunması, liflerin kapalı yapısı nedeniyle kısıtlanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılması için ince BC seçilmiştir. Ayrıca SEM görüntülerinden elde edilen bir diğer sonuç da, görüntülerde bakteri görülmemesi ile BC'lerin NaOH ile yıkama işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiği olmuştur.



Şekil 3.9 : BC ve BC-MA nanofiberinin SEM görüntüleri.

BC/PR-MA yara örtülerinin yüzey morfolojisi SEM analizi ile incelenmiştir (Şekil 3.10). SEM fotoğraflarından hazırlanan tüm örneklerin birbiriyle bağlantılı gözeneklere sahip, yüksek gözenekli yapıda olduğu görülmektedir. Akrilamid miktarı 0,01 g olduğunda nanofiberler üzerinde pürüzlülüğün arttığı görülmektedir. Akrilamid miktarı 0,05 g olduğunda ise nanofiber yüzeyindeki pürüzlülük oldukça belirginleşmektedir. Kullanılan akrilamid miktarı 0,1 g olduğunda gözenekler arasındaki boşlukta BC'den farklı olarak ağısı yapının oluştuğu görülmektedir. Akrilamid miktarı 0,4 g olduğunda ise SEM görüntülerinde BC nanofiberler seçilememektedir. BC nanofibroz boşluklarında akrilamid ve PR-MA temelli hidrojel yapının oluştuğu görülmektedir. Bu sonuçlar modifiye edilmiş BC nanofiberlerinin yüzeyinin polimerizasyona uygun ortam sağladığını da ayrıca göstermektedir.

Bodhibukkana ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada, BC yüzeyi 3-MPS ile modifiye edilmiş ve gözenek içinde metakrilik asit ve çapraz bağlayıcı kullanılarak yeni bir polimerik yapı elde edilmiştir (Bodhibukkana ve diğ, 2006). Literatürde yapılan çalışmalar da BC yüzeyinin 3-MPS ile modifikasyonu sonrasında BC yüzeyinde ve gözenek iç yapısında polimerizasyon tepkimesinin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir (Tamahkar ve diğ, 2019).

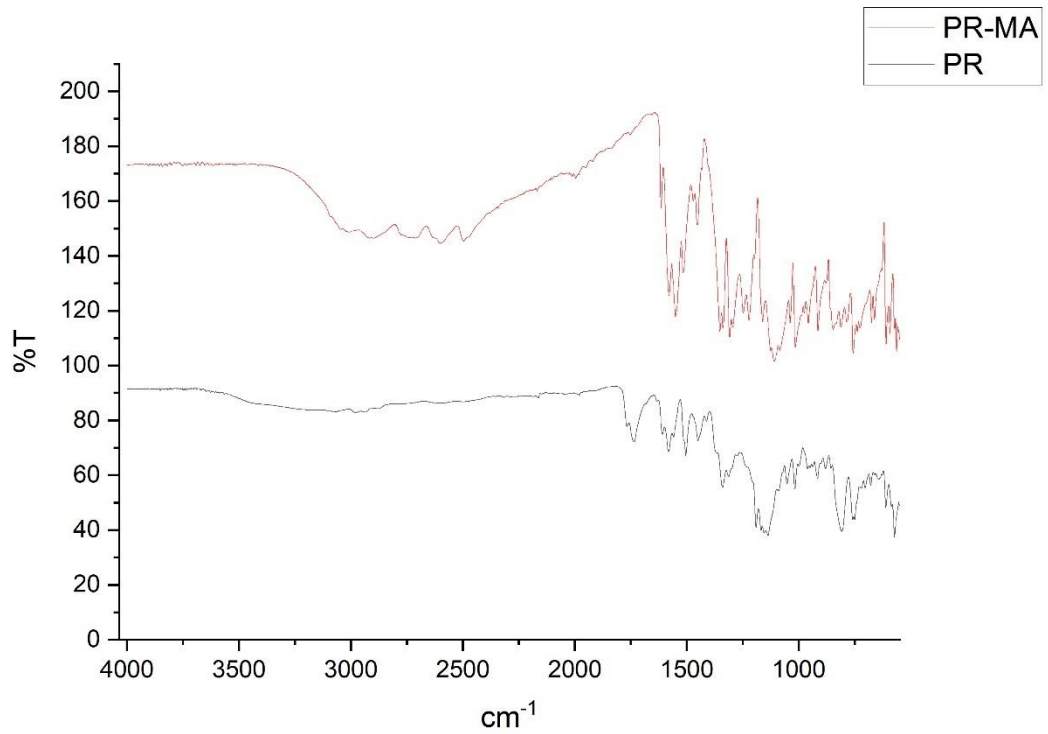


Şekil 3.10 : Farklı akrilamid miktarlarında hazırlanan BC/PR-MA nanofiberlerinin SEM görüntüleri. A) 0,01 g B) 0,05 g C) 0,1 g D) 0,4 g.

3.5.2 FTIR analizi

PR ve sentezlenen PR-MA'nın FTIR spektrumları Şekil 3.11'de görülmektedir. PR-MA monomerine ait spektrumda 2977 cm^{-1} 'de bant gözlenmiştir. Bu geniş bant hidrojen bağlı fenol gruplarına atfedilmektedir. PR bu bandı 2900 cm^{-1} de vermiştir. PR'ye ait spektrumda 3616 cm^{-1} 'de daha dar olan bant serbest fenol gruplarına atfedilir. PR-MA monomerinin metakrilat yapısındaki karbonil grubunun tipik gerilme Emilimi nedeniyle 1737 cm^{-1} de ki bant gözlenmiştir. Bu pik PR'da gözlenmemiştir. 1449-1609 arasındaki çoklu pikler aromatik C=C gerilmesinden kaynaklanmaktadır. PR-MA monomerine ait spektrumda görülen 1677 cm^{-1} bandı vinil grubunun geriliminden dolayıdır. $1050\text{-}1340\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki bantlar sülfonat gruplarının gerilme titreşiminden dolayı gözlenmiştir (Liu ve diğ, 2017).

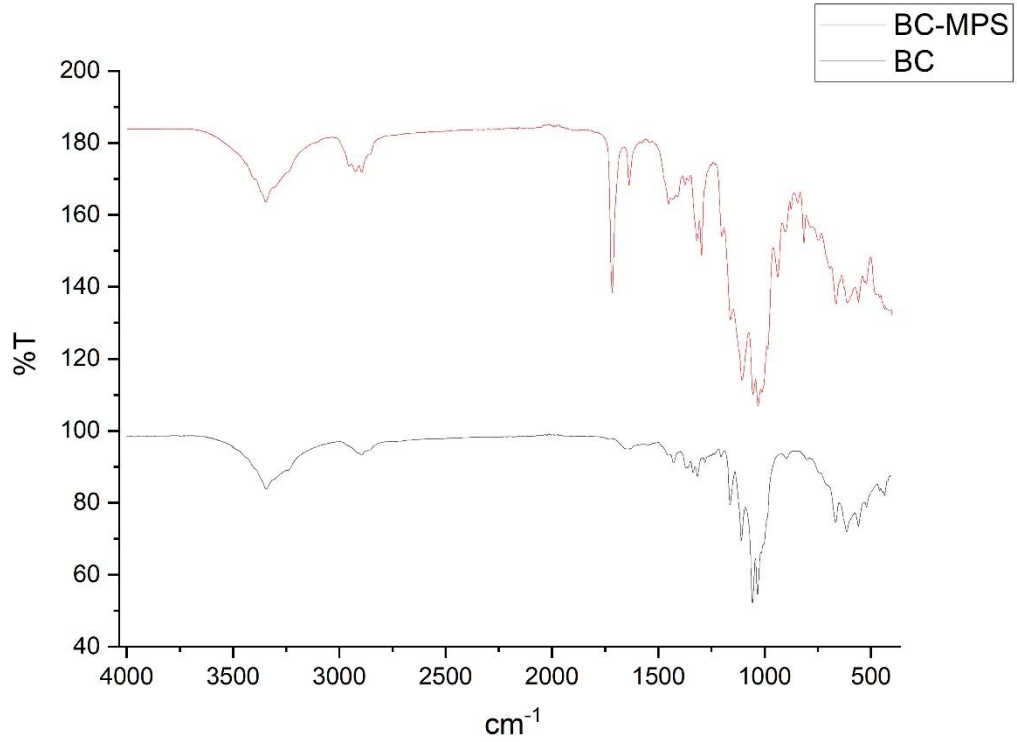
FTIR sonuçları PR-MA monomerinin sentezinin başarısını doğrulamıştır. FTIR analizi sonunda elde edilen veriler literatür ile uyumludur. Liu ve ark. metakrilatlanmış fenol kırmızısı ve fenol kırmızısının FTIR spektrumlarını incelemiştir. (Liu ve diğ, 2017). Metakrilatlanmış fenol kırmızısının 2967 cm^{-1} merkezli geniş bir bant verdiğini bildirmişlerdir. Bu bant PR-MA monomerinin 2977 cm^{-1} de PR boyasının ise 2900 cm^{-1} de verdiği bant ile uyuşmaktadır. Araştırmacılar fenol kırmızısında 3584 cm^{-1} de dar bir bant rapor etmişlerdir. Bu bilgi PR boyasının 3616 cm^{-1} da verdiği bant ile uyuşmaktadır. Metakrilatlanmış fenol kırmızısının 1739 cm^{-1} de metakrilat yapısından dolayı bir pik verdiğini bildirmişlerdir. PR-MA monomerinin 1737 cm^{-1} de verdiği pik bu bilgi ile örtüşmektedir ve sentezin başarısını doğrulamıştır.



Şekil 3.11 : PR ve PR-MA'ya ait FTIR spektrumları.

BC ile PR-MA monomerinin polimerize olabilmesi için BC yüzeyi 3-MPS ile modifiye edilmiştir. BC ve modifiye edilmiş bakteriyel selülozun (BC-MA) FTIR spektrumları Şekil 3.12'de verilmiştir. BC ve BC-MA'nın 3344 cm^{-1} de verdiği bant OH gerilme titreşiminden dolayıdır (Pandey, 2013, 2014; Bakhshpour, 2017). BC ve BC-MA'da görülen $2890\text{--}2950\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki çoklu bandlar alifatik -CH gerilme titreşimini göstermektedir (Pandey, 2013, 2014; Bakhshpour, 2017).

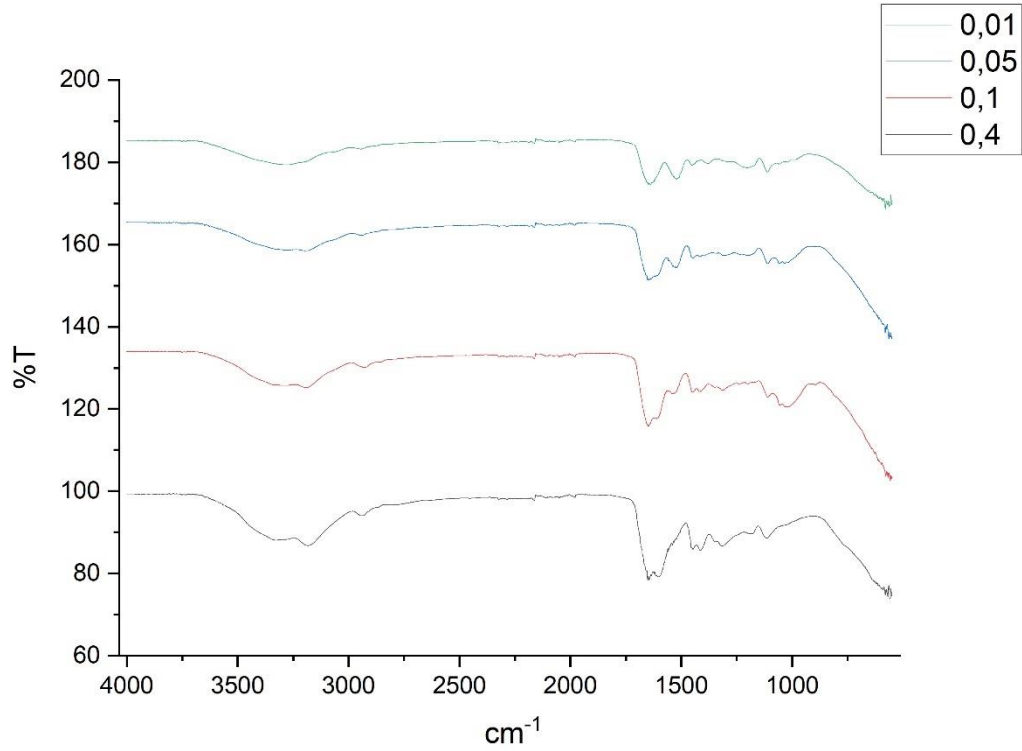
1000-1100 cm^{-1} aralığındaki keskin bantlar -COC gerilme titreşiminden dolayı gözlenmiştir (Pandey, 2013; Bakhshpour, 2017). BC'ye ait spektrumda 1428 cm^{-1} ve BC-MA'dakinde 1436 cm^{-1} de görülen pik -CH₂ bükülme titreşimine atfedilmektedir (Bakhshpour ve diğ, 2017). BC, 1362 cm^{-1} de; BC-MA ise 1376 cm^{-1} de -C-H bükülme titreşimi göstermiştir (Pandey ve diğ, 2013). BC-MA örneğinde 1718 cm^{-1} de görülen keskin bant vinil gruplarına atfedilmiştir ve BC modifikasyon işleminin başarısını göstermektedir (Liu ve diğ, 2017).



Şekil 3.12 : BC ve BC-MA nanofiberlerinin FTIR spektrumları.

BC tabanlı pH duyarlı akıllı yara örtülerinin geliştirilmesi için BC-MA nanofiberi, PR-MA ve akrilamid varlığında polimerize edilmiştir. Farklı akrilamid miktarlarında (0,4; 0,1; 0,05; 0,01) 4 örnek belirlenmiştir. Bu 4 örneğin PR-MA, AIBN, MBAA oranları aynıdır. BC/PR-MA sentezinin polimerizasyonun başarısı FTIR analizi ile doğrulanmıştır (Şekil 3.13). Tüm örneklerde 1650 cm^{-1} de görülen pik vinil gruplarından kaynaklanmaktadır (Liu ve diğ, 2017). 1520-1560 cm^{-1} aralığındaki pikler akrilamidden kaynaklanan karboksilat anyonunun simetrik gerilme moduna atfedilmiştir (Pandey ve diğ, 2014). 3200-3300 cm^{-1} aralığındaki pikler bakteriyel selülozun -OH titreşiminden kaynaklanmıştır (Pandey ve diğ, 2013).

2943-2927 cm^{-1} aralığındaki pikler BC ve akrilamidin üst üste gelen alifatik -CH gerilmesinden ve PR-MA monomerinin fenol gruplarından kaynaklanmaktadır (Pandey, 2014; Liu, 2017). Tüm örneklerde görülen 1417 cm^{-1} pik -CH₂ bükülme titreşimine atfedilmektedir (Bakhshpour ve diğ, 2017). 1300-1340 cm^{-1} aralığındaki pikler -CH bükülme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Pandey ve diğ, 2013). 1000-1100 cm^{-1} aralığındaki keskin bantlar BC kaynaklı -COC gerilme titreşiminden dolayı gözlenmiştir (Pandey, 2013; Bakhshpour, 2017).



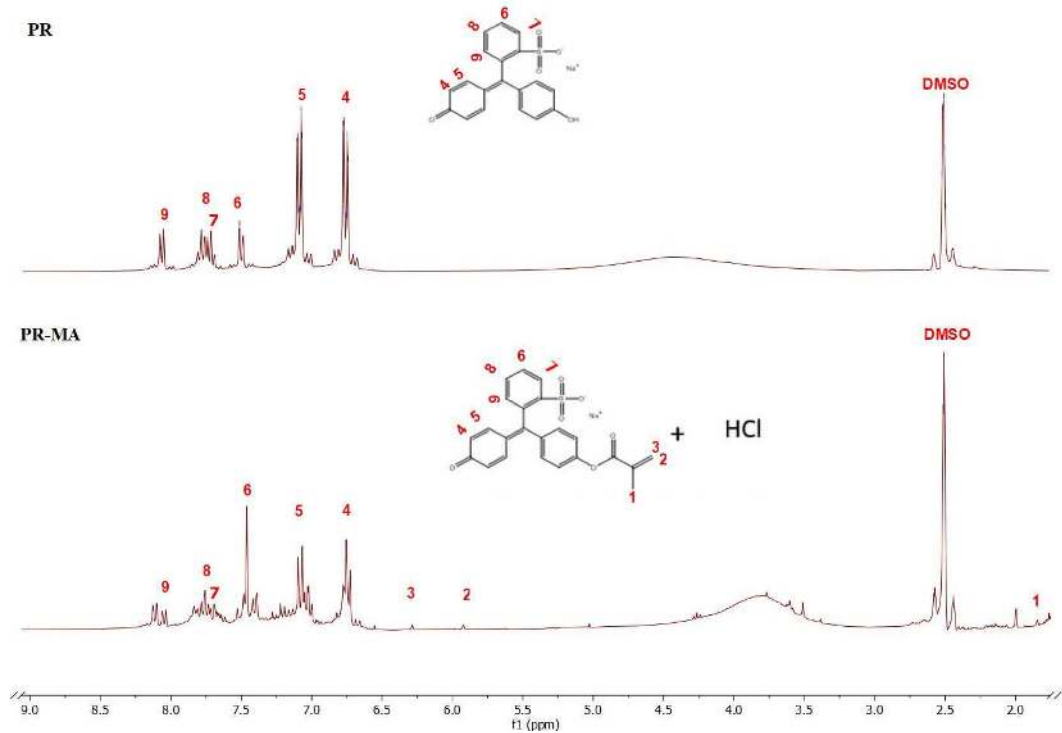
Şekil 3.13 : BC/PR-MA nanofiberlerinin FTIR spektrumları.

3.5.3 NMR analizi

PR ve PR-MA'nın kimyasal yapısı ¹H-NMR analizi ile aydınlatılmıştır. Örneklerin ¹H-NMR spektroskopisi Şekil 3.14'de gösterilmiştir. Her iki spektrumda da DMSO solventinden kaynaklanan band gözlenmiştir. PR-MA monomerinin NMR spektrumunda gözlenen 1,84 ppm'deki (1) tepe noktası, metakrilat üzerindeki -CH₃ protonlarına atfedilmektedir (Hansu, 2023; Cordero, 2022). 5,92 (2) ve 6,28 (3) ppm'de gözlenen singletler CH₃-C=CH₂* vinil protonlarından kaynaklanmaktadır (Cordero, 2022; Olivier, 1980). Bu noktada görülen bölünme karbonil ve vinil gruplarının konjugasyonundan kaynaklanır. Bu ikili singletlerin gözlenmesi monomer sentezinin başarısını doğrulamıştır.

Spektrumda 1,2 ve 3 de gözlenen bu tepelerin, 6,0 ve 6,5 ppm aralığında görülen kaymalar PR-MA'nın yapısındaki metakrilat grubuyla ilgilidir. Spektrumda 6,6 ve 8,2 ppm (4,5,6,7,8,9) aralığında görülen çoklu tepelerin aromatik halkalarda bulunan protonlardan kaynaklandığı gözlenmiştir (She, 2024; Jin, 2011; Lin, 2013). PR-MA monomerinde gözlenen doymamış $-C=C$ bağları PR-MA monomerinin yüksek saflıkta ve başarıyla sentezlendiğini gösterdi.

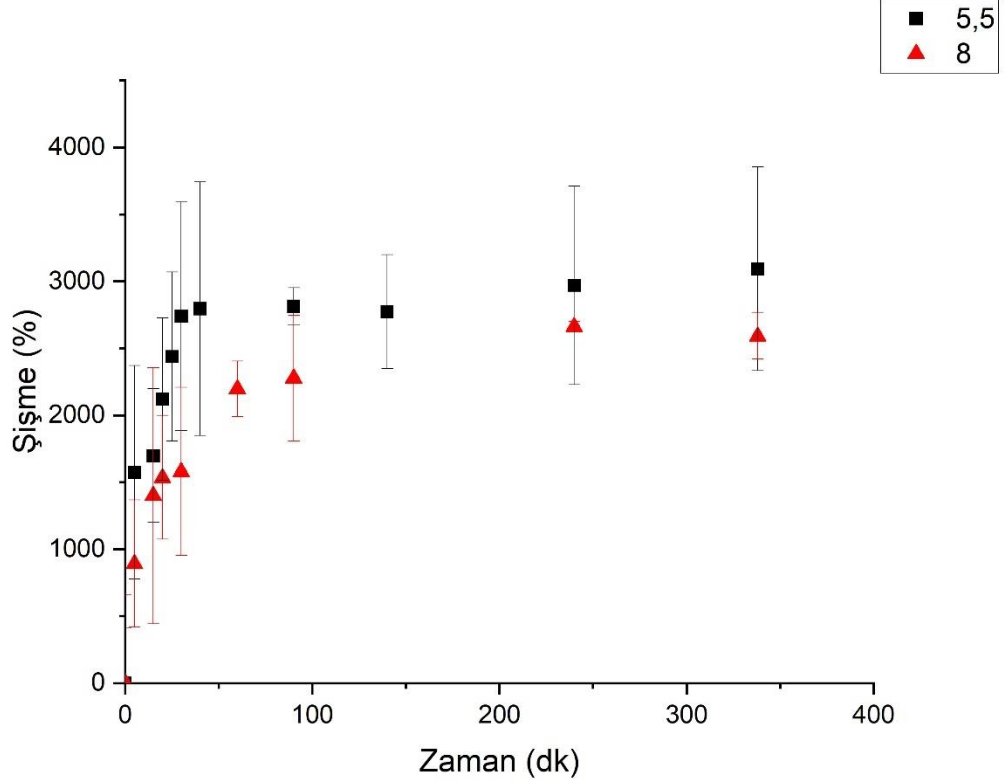
Liu ve ark., fenol kırmızısını metakrilasyon işlemine tabi tutarak MA-PR monomerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen monomerin başarısını 1H NMR spektroskopisi ile göstermişlerdir. MA-PR monomerinin NMR spektrumunda 6,74-8,02 ppm aralığında aromatik halkaların protonlarından kaynaklanan çoklu tepeler elde etmişlerdir. Spektrumda gözlenen 5,57 ve 5,94 ppm deki iki singlet, $-CH_3-C=CH_2^*$ vinil protonlarına atanmıştır. MA-PR spektrumunda 1,81 ppm'de bir tepe gözlenmiş bu tepenin metakrilat üzerindeki CH_3 protonlarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Araştırmacılar 1H NMR analizi sonucunda monomer sentezinin başarılı olduğunu doğrulanmıştır (Lin ve diğ, 2013).



Şekil 3.14 : PR ve PR-MA'ya ait NMR spektrumları.

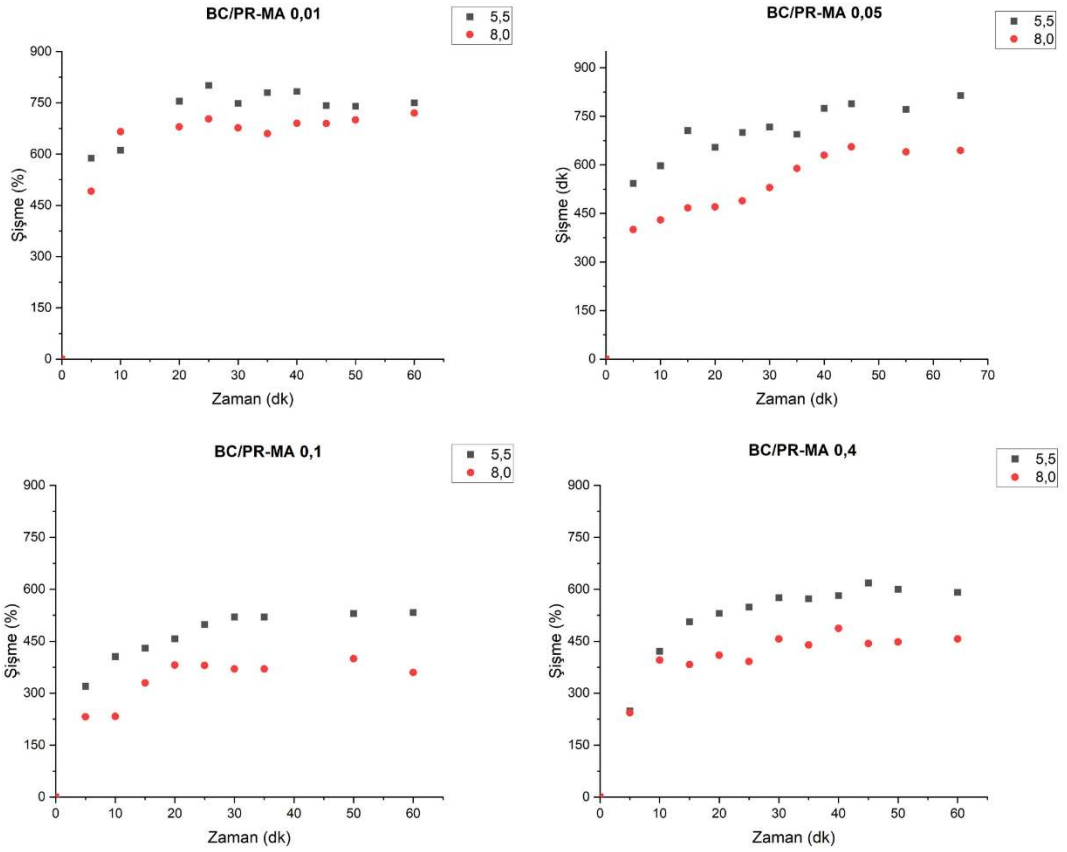
3.5.4 Şişme testi

Yara ortamının nemli olması, yaranın iyileşmesini hızlandırırken, yara örtüsünün yara yüzeyinden ağrısız bir şekilde uzaklaştırılmasını da kolaylaştırır. İdeal yara örtüsü fazla eksüdayı emebilmeli ve iyileşme sürecinde yara bölgesinin nemini optimum koşullarda tutabilmeli, nem dengesini sağlayabilmelidir. Bu nedenle yara örtülerinin şişme davranışının belirlenmesi önemlidir (Lin ve diğ, 2013). BC/PR-MA ve kontrol grubu olarak BC nanofiberlerinin şişme kapasiteleri farklı pH tamponlarında (5,5-8,0) belirlenmiştir. BC nanofiberi pH 5,5'te 338 dakikada %3092 ile en yüksek % şişme değerini vermiştir (Şekil 3.15). Bu sonuç literatürle uyumludur (Tamahkar, 2021). Literatürdeki bu çalışmada, BC yapısına giren ikinci bir ağ yapısı olan PVA hidrojelinin % şişme oranı incelenmiştir. BC, 30 dakikada, BC/PVA hidrojelinin ise 45 dakikada dengeye geldiği rapor edilmiştir. BC ve BC/PVA hidrojellerinin makrogözenekli yapıları nedeniyle su molekülleri, polimerik matriks içinde hızla taşınmıştır. BC, hidrofilik bir yapısı ve yüksek yüzey alanı nedeniyle yüksek şişme kapasitesi sergilemektedir. BC/PVA hidrojelinin şişme kapasitesinin BC'ye göre daha düşük olmasının nedeninin BC'nin gözeneklerinde ikinci bir polimerik ağın oluşması olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmada üretilen BC nanofiberlerin % şişme değerleri 5 dakika boyunca hızla artmış ve 5 dakikadan sonra BC'lerin su alma miktarı dengeye gelmiştir. Bu sonuçlar, BC örneklerinin şişme kapasitesi ve dengeye gelme zamanı hakkında bilgi verirken aynı zamanda şişme davranışının pH'dan bağımsız olduğunu da göstermiştir. Bakteriyel selüloz nanofiberler üç boyutlu ağı yapıları ve yüksek hidrofilik karaktere sahip olmaları ile yüksek oranda su tutma özelliği sergilerler. BC nanofiberin % şişme sonuçları bu bilgiyi doğrulamıştır.



Şekil 3.15 : BC nanofiberinin pH 5,5-8,0 aralığındaki % şişme değerleri.

BC/PR-MA nanofiberlerinin farklı pH'lardaki yüzde şişme değerleri Şekil 3.16'da gösterilmiştir. BC/PR-MA örneklerinde şişme kapasitesinin pH 5,5'te pH 8'e göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Düşük akrilamid miktarı ile sentezlenen BC/PR-MA nanofiberlerinin 20 dakikanın sonunda dengeye geldikleri görülmektedir. Sentezde kullanılan akrilamid miktarı arttıkça bu değer 30 dakikayı bulduğu tespit edilmiştir. Yapıya eklenen akrilamid miktarı arttıkça şişme kapasitesinin azaldığı görülmektedir. Bakteriyel selülozun birbiriyle bağlantılı gözeneklerden oluşan 3-B ağısı yapısının, polimerizasyon reaksiyonu ile yapıya akrilamid ve PR-MA eklenmesi ile daha süngerimsi bir morfolojiye evrildiği SEM sonuçlarında belirtilmiştir. Polimerizasyon sonrasında BC'nin nanofiberleri arasındaki makroporların akrilamid ve PR-MA bazlı polimerik ağısı yapıyla kaplanması ile BC yüzeyindeki hidroksil gruplarının sayısı azalmıştır. Bu nedenle akrilamid oranı arttıkça şişme davranışı azalmıştır. BC/PR-MA nanofiberinin asidik ve bazik pH değerleri arasında farklı şişme davranışı sergilediği görülmüştür. Akrilamid içeren hidrojellerin ortamın pH derecesine göre farklı şişme davranışı sergilediği literatürde belirtilmiştir. Akrilamid içeren hidrojel in çevresel pH'lara karşı tepki vermesi hidrojel in yapısında bulunan fonksiyonel grupların iyonlaşma durumlarından kaynaklanır (Tamahkar ve diğ., 2021)

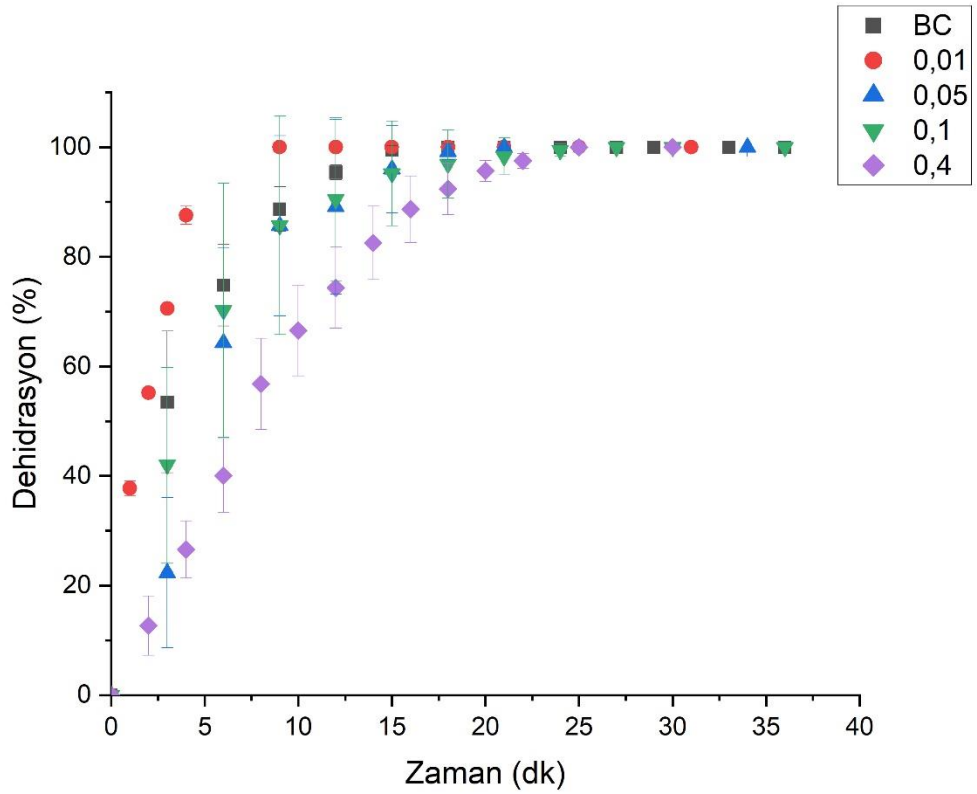


Şekil 3.16 : BC/PR-MA nanofiberlerinin pH 5,5-8,0 aralığındaki % şişme değerleri.

3.5.5 Dehidrasyon testi

Yara örtülerinde su tutma yeteneği yara iyileşmesinde gerekli olan nem dengesinin sağlanabilmesi için önemli bir parametredir. Yara örtülerinden hızlı su kaybı istenmeyen bir durumdur. Yaradan su kaybı gerçekleşmesi durumunda dehidrasyon nedeniyle vücut sıcaklığı düşer ve metabolik hız artar. Bunun sonucunda yaranın iyileşmesi sekteye uğrar (Tamahkar, 2021). Saf su içinde şişirilen BC/PR-MA nanofiberleri ve kontrol grubu olarak belirlenen BC nanofiberleri denge şişmeye geldikten sonra 28°C’de kurumaya bırakılmıştır. Kuruma aşamasında nanofiberlerden olan kütle kaybı takip edilmiştir (Şekil 3.17). BC nanofiberlerin su kaybının ilk 10 dakika boyunca doğrusal olarak arttığı, örneklerin 18 dakika sonunda tamamen kuruduğu gözlenmiştir.

BC/PR-MA nanofiberlerinin su kaybının ilk 20 dakika boyunca doğrusal olarak arttığı görülmüştür. Akrilamid içeriği 0,4 g olan BC/PR-MA yara örtülerinin 25 dakikanın sonunda tamamen kuruduğu belirlenmiştir. BC nanofiberleri BC/PR-MA nanofiberlerine göre daha hızlı kurumuştur ve artan akrilamid içeriği ile kuruma süresi uzatılmıştır. Bunun sebebi BC'nin nanofibroz boşluklarında polimerizasyonun ardından akrilamid ve PR-MA içeren hidrojel yapının oluşmasıdır. Bu yapı BC'nin ağısı yapısının, küçük gözenekli bir yapıya dönüşmesinden kaynaklanmaktadır. Literatürde BC nanofiberlerinin su tutma kapasitesinin çeşitli yöntemlerle arttırıldığı çalışmalar mevcuttur. Kontrollü antibiyotik salımı yapan BC-polivinil alkol (PVA) temelli yara örtülerinin geliştirildiği bir çalışmada, BC membranların su kaybının BC/PVA membranlara göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu durum, PVA içeren membranın iç içe geçen bir ağ yapısı ile, daha küçük gözeneklere sahip olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Tamahkar, 2021). BC'nin yüzey alanı ve gözenek boyutu ne kadar yüksekse, suyu emme ve şişme kapasitesi de o kadar fazladır. Juško ve ark., kronik yaralar için süper emici çapraz bağlı bakteriyel selüloz yara örtüleri geliştirmişlerdir. Çalışmada çapraz bağlanan BC örneklerinin su tutma kapasitelerinin BC'ye göre arttığı gözlemlenmiştir. BC'nin toplam su kaybı 20 dakika sonunda, çapraz bağlanmış BC'lerin ise 240 dakikanın sonunda %33 lük su tutma kapasitesi gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda geliştirilen yara örtüsünün mikrogözenekleri nedeniyle daha yavaş su kaybettiği gözlenmiştir. Bu özellik sayesinde geliştirilen malzemenin aşırı eksüdalı yaraların yanında kuru yaralar için de ümit verici olduğu bildirilmiştir (Ciecholewska-Juško ve diğ, 2021).



Şekil 3.17 : BC/PR-MA nanofiberlerinin % dehidrasyon değerleri.

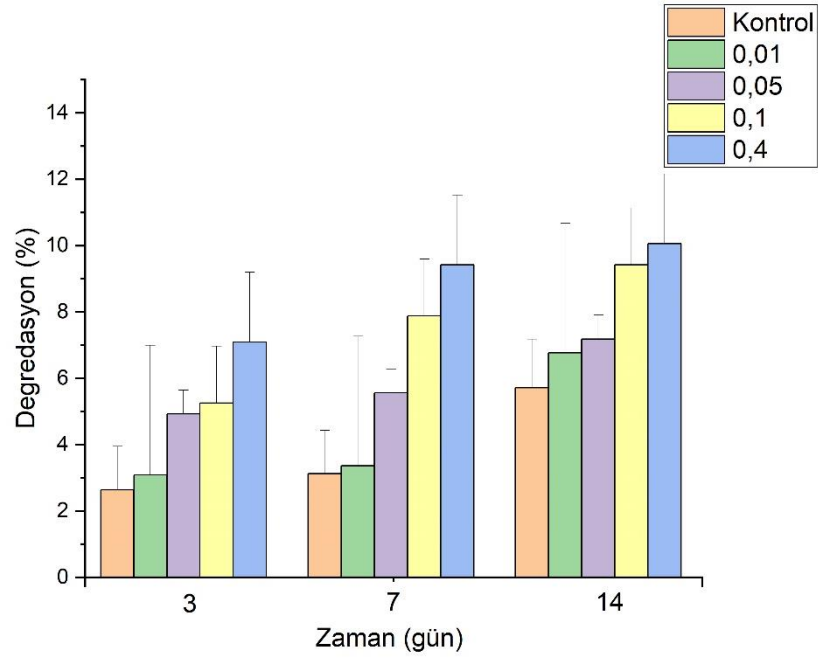
3.5.6 Hidrolitik degradasyon testi

Yara örtülerinin degradasyonu önemli bir parametredir. Yara örtüsünün işlevselliği ve hangi tip yara ortamlarına uygun olduğu sıcaklık ve çevre koşullarına bağlıdır. Yara örtüleri, doku hücreleri biyomalzeme üzerinde çoğalma ve büyüme gösterene kadar yeterli mekanik dayanımı sergilemelidir. Bu nedenle yara örtüsünün bozunma süresinin belirlenmesi önemlidir. BC, selüloz gibi doğada bulunan bazı enzimler tarafından parçalanabilir, insan vücudu selülozu bu enzimleri barındırmadığı için parçalayamaz. Ancak BC nin yapısına eklenen bazı polimerler bozunmasını tetikleyebilir (Torgbo ve Sukyai, 2020).

BC ve BC/PR-MA nanofiberlerin degradasyon çalışmaları saf suda, 3, 7 ve 14 gün boyunca 37 °C de gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.18). BC nanofiberlerinin yapısında, 3 günün sonunda $2,63 \pm 1,30$, 7 günün sonunda $6,11 \pm 4,44$, 14 günün sonunda $9,49 \pm 1,77$ oranında kütle kaybı gözlenmiştir. Farklı akrilamid oranlarında (0,01; 0,05; 0,1; 0,4 g) hazırlanan BC/PRMA nanofiberlerinin degradasyonu incelenmiştir.

BC/PR-MA nanofiberleri (0,01; 0,05; 0,1; 0,4 g) 3 günün sonunda sırasıyla (%) $3,08 \pm 3,97$; $4,92 \pm 6,21$; $5,25 \pm 4,65$; $7,09 \pm 3,94$; 7 günün sonunda $3,36 \pm 4,71$; $5,55 \pm 8,33$; $7,88 \pm 6,42$; $9,42 \pm 3,94$ (%), 14 günü sonunda $6,76 \pm 4,39$; $7,18 \pm 0,72$; $9,41 \pm 1,71$; $10,05 \pm 2,10$ (%) olarak kütle kaybına uğramıştır. BC/PR-MA nanofiberlerinin içeriğindeki akrilamid oranının artmasıyla kütle kaybı yüzdesi orantılı olarak artmıştır. BC/PR-MA ve BC nanofiberleri 14 günün sonunda bile yüksek bir bozunma oranı göstermemiştir; en yüksek degradasyon oranı %10 ile BC/PR-MA 0,4 g akrilamid oranında görülmüştür. Bu sonuçlar BC/PR-MA nanofiberlerinin yara örtüsü olarak stabilitesini uzun süre koruyabileceğini göstermektedir.

Poliakrilamid bozunmaya dayanıklı bir hidrojel olarak bilinmektedir aynı zamanda suda çözünür değildir (T.-H. Yang, 2012). Literatürde poliakrilamid hidrojellerinin hidrolitik degradasyon çalışmaları mevcuttur. Mandal ve ark., kontrollü ilaç salımı için ipek fibroin/poliakrilamid yarı-birbirine nüfuz eden ağ hidrojelleri geliştirmişlerdir. Geliştirilen malzemenin in vitro hidrolitik degradasyonu PBS tamponunda pH 7,4'de 45 gün boyunca incelenmiştir. SF/PAAm 45 günün sonunda %25'lik bir ağırlık kaybı göstermiştir. Saf akrilamid hidrojeller tüm örnekler arasında en az bozunma segileyen örneklerdi, 45 günün sonunda başlangıç ağırlığının %90'dan fazlasını korduğu gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan ipek fibroin ve poliakrilamidin biyolojik olarak parçalanmayan bir polimer olduğu bildirilmiştir. Gözlenen az miktarda ağırlık kaybının matrislerden çapraz bağlanmamış ipek fibroin salınmasından ve hidrojinin yüzeyinin aşınmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar geliştirilen hidrojellerin bozunmaya ve hidrolize dayanıklı olduğunu bildirmiştir (Mandal ve diğ, 2009).

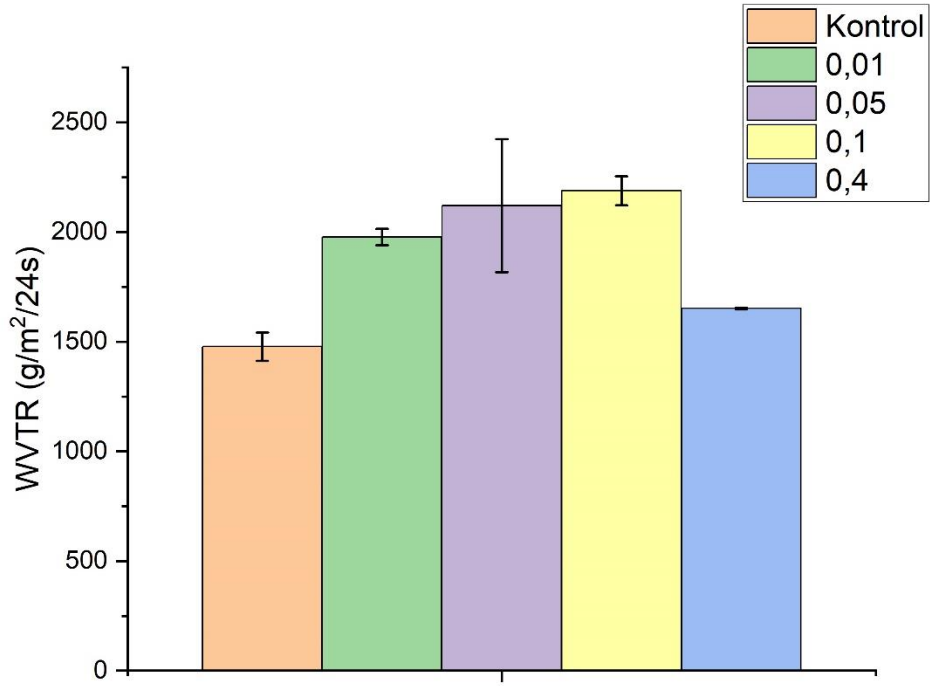


Şekil 3.18 : BC/PR-MA nanofiberlerinin % degradasyon değerleri.

3.5.7 Su buharı geçirgenliği hızı

Su buharı geçirgenlik hızı (WVTR), yara örtülerinde sıklıkla kullanılan bir kalite parametresidir. Yüksek WVTR seviyesine sahip yara örtüleri, yara ortamının susuz kalmasına ve bunun sonucu olarak kabuk bağlamasına sebep olur (Chang, 2016; Aljanyousi, 2023). Düşük WVTR seviyesine sahip yara örtüleri ise yara ortamında yara sıvılarının birikmesine neden olur, bu da bakteriyel enfeksiyon riskini artırır ve iyileşmeyi geciktirebilir (Chang ve Chen, 2016). Sağlıklı derinin WVTR değeri yaklaşık 204 ± 12 g/m²/gün'dür. Enfeksiyon içeren bir yarada bu değer 279 ± 26 g/m²/gün ile 5138 ± 202 g/m²/gün aralığında değişebilmektedir (Li, 2014; Balakrishnan, 2005). Literatürde ideal yara örtüsünün WVTR değerinin 2000-2500 g/m²/gün aralığında olması gerektiği belirtilmektedir (Li ve diğ, 2014). Geliştirilen BC/PR-MA ile BC örneklerinin WVTR değerleri Şekil 3.19'da verilmiştir. BC nanofiberinin WVTR değeri $1477,28 \pm 63,97$ g/m²/gün olarak bulunmuştur. Akrilamid miktarları 0,01; 0,05; 0,1 ve 0,4 g olan BC/PR-MA örnekleri için WVTR değerleri sırasıyla, $1977,5 \pm 37,1$; $2120,6 \pm 303,5$; $2188,5 \pm 66,2$ ve $1651,6 \pm 4,5$ g/m²/gün olarak bulunmuştur.

BC yapısına eklenen akrilamid ve PR-MA içeren polimerik yapının BC'nin WVTR değerini artırdığı tespit edilmiştir. BC ve BC/PR-MA örneklerinin su buharı geçirgenlik değerleri literatürde kabul gören aralığa uymaktadır. Literatürde yapılan çalışmalar ticari yara örtülerine ait WVTR değerlerini raporlamıştır. Buna göre Op Site (Smith & Nephew), Metoderm (ConvaTec Ltd), Duoderm (ConvaTec Ltd) ve Biobrain® yara örtülerine ait su buharı geçirgenlik hızları sırasıyla 792 ± 32 , 823 ± 45 , 886 ± 60 , and 1565 ± 51 g/m²/gün şeklinde verilmiştir (Gharibi ve diğ, 2018). Ticari örtüler ile de kıyaslandığında, bu tez kapsamında geliştirilen tüm BC/PR-MA yara örtülerinin yara iyileşmesini desteklemesi beklenmektedir. WVTR değeri örtülerin morfolojik özellikleri ile de yakından ilgilidir. SEM görüntülerinde BC/PR-MA yara örtülerinin gözeneklilik özellikleri gösterilmiştir. BC/PR-MA nanofiberinin akrilamid oranı arttıkça morfolojisi daha gözenekli ve sünger benzeri bir yapıya evrilmiştir. Literatürde sünger yapıdaki yara örtülerinin WVTR değerlerinin daha yüksek olduğu, bu nedenle yara örtüsü olarak sıklıkla tercih edildikleri bildirilmiştir (Li ve diğ, 2014). BC/PR-MA/0,4 örneğinin %WVTR değeri diğer gruplara göre düşük çıkmıştır. Diğer örnek gruplarıyla karşılaştırıldığı zaman akrilamid miktarında ki fazla artışın negatif bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Akrilamid oranının fazla yükselmesi nedeniyle yapıdaki polimer zincirlerinin yoğunluğun artmasının ve gözenekliliğin azalmasının su buharının geçişini kısıtlayabileceği düşünülmüştür (Bajpai, 2016; Olad, 2019). Diğer gruplarda akrilamid oranında ki artış pozitif bir etki gösterirken belli bir oranın üzerinde akrilamid kullanılmasının su buharı geçirgenliğini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, literatürde belirtilen ideal WVTR değeri ile BC/PR-MA nanofiberlerinin WVTR değerinin benzer olduğunu, BC/PR-MA nanofiberlerin orta/yoğun eksüdalı yaralarda yara ortamının iyileşmesi için yeterli nemi koruyacağını ve rejenerasyon sürecinde epitel hücre göçünü destekleyebileceğini göstermiştir (Balakrishnan ve diğ, 2005).



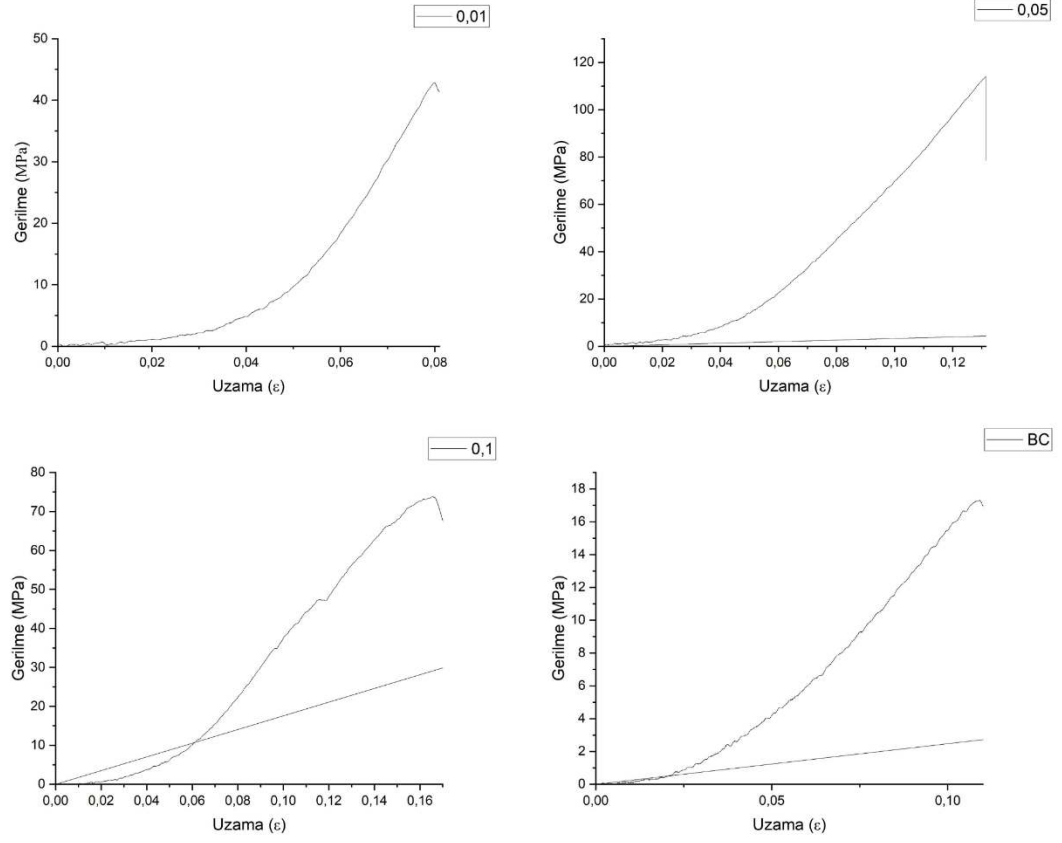
Şekil 3.19 : BC/PR-MA nanofiberlerinin WVTR değeri.

3.5.8 Mekanik dayanım

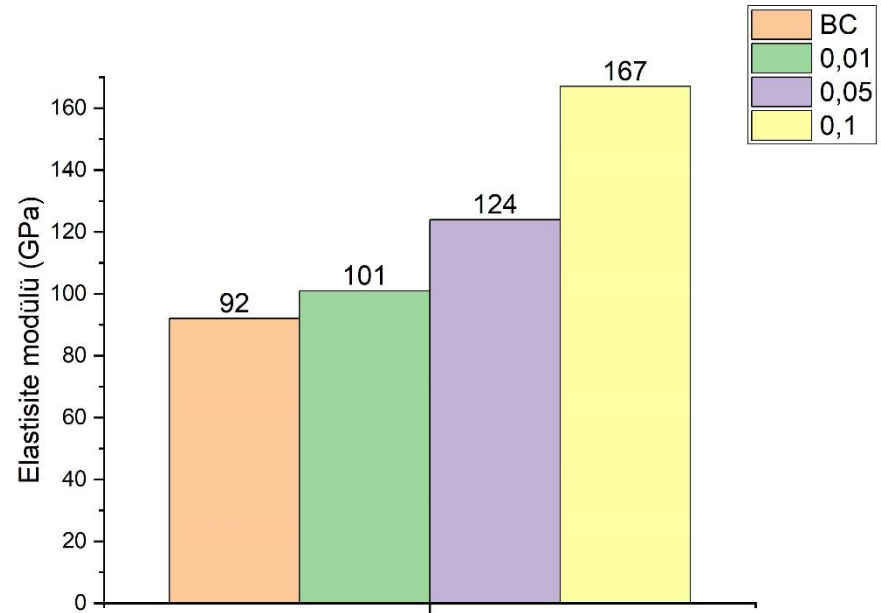
Yara örtülerinin mekanik dayanımları uygulama anında yara örtüsünün yapısal bütünlüğünü koruması için önemli bir faktördür. Yara örtüleri, yara bölgesinde uygulanan stres, hastanın fiziksel hareketleri ve eksüda emilimi gibi çevresel koşullara karşı yüksek dayanım sergilemelidir (Liu ve diğ, 2017).

BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin çekme testi gerçekleştirilerek Gerilme(MPa)/Birim uzama grafiği elde edilmiştir (Şekil 3.20). BC nanofiberleri kopmadan önce 17,26 MPa ile en yüksek gerilme ve 0,10 ile en yüksek uzama değerini vermiştir. BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin elastisite modülü hesaplanmıştır (Şekil 3.21). BC nanofiberinin elastisite modülü 92 GPa olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuç literatürdeki mevcut çalışmalar ile tutarlıdır. Doğal ve alkali olarak işlenmiş bakteriyel selülozun mekanik ve yapısal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada bakteriyel selülozun kopmadan önce %10 ila %20 aralığında gerinim gösterdiği rapor edilmiştir (McKenna ve diğ, 2009).

BC/PR-MA nanofiberleri (0,01; 0,05; 0,1) kopmadan önce sırasıyla 42,79; 113,99; 63,44 (MPa) gerilme ve 0,08; 0,13; 0,16 uzama değeri sergilemiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinin elastisite modülü (GPa) hesaplanmıştır. BC/PR-MA nanofiberlerinin (0,01; 0,05; 0,1) elastisite modülü sırasıyla 101; 124; 167 olarak bulunmuştur. BC/PR-MA nanofiberlerinin gerilme değerleri, elastite modül değerleri ve birim uzama değerleri BC nanofiberinden yüksektir. Bunun nedeninin BC/PR-MA nanofiberinin polimerizasyonunun ardından nanofibroz boşluklarında akrilamid ve PR-MA içeren hidrojel yapının oluşması olduğu düşünülmektedir. Polimer çiftlerinin olduğu yapılarda yüksek hacimli polimer fazı sürekli bir matriks yapısı oluştururken, ikincil faz arayüzler arasında gerilim transferini sağlayarak matriksi güçlendirir. Literatürde BC'ye eklenen polimerlerin çekme dayanımını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. BC/kollajen kompozitlerin karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada BC ve BC/Kollajen kompozitlerin mekanik davranışları incelenmiştir. BC/Kollajen kompozitleri BC nanofiberlerine göre daha yüksek çekme dayanımı sergilemişlerdir. Araştırmacılar BC/kollajen kompozitinin BC'nin çekme dayanımı ve Young modülünü büyük ölçüde yükseltirken kopma uzamasının azalma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir (Zhijiang ve Guang, 2011). Bu tez çalışmasında geliştirilen 0,4 g akrilamid içeriğine sahip olan BC/PR-MA nanofiberinin çekme testi mekanik dayanımının zayıf olması nedeniyle gerçekleştirilememiştir.



Şekil 3.20 : BC/PR-MA nanofiberlerinin çekme testi sonuçları.



Şekil 3.21 : BC/PR-MA nanofiberlerinin elastisite modülü.

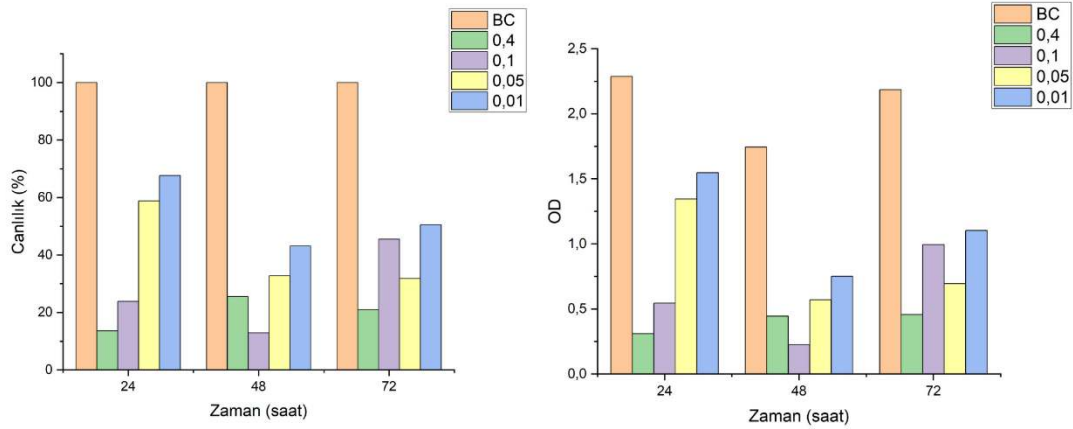
3.5.9 In vitro sitotoksosite

Bu tez çalışmasında, hazırlanan örneklerin hücre canlılığı üzerindeki etkileri MTT hücre canlılık analizi ile değerlendirilmiştir. Örneklerin in vitro sitotoksik özellikleri direkt ve indirekt yöntemler ile incelenmiştir. BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin direkt yöntemin ardından %canlılık ve canlılık değerleri (OD) grafikleri Şekil 3.22’de verilmiştir, %canlılık grafiğinde BC kontrol grubu olarak seçilmiştir, OD grafiğinde ise tüm grupların OD değerine göre karşılaştırması yapılmıştır. BC nanofiberinin OD değeri 24;48;72 saatlerinde sırasıyla 2,29; 1,74; 2,18 dir. BC nanofiberi ince morfolojisi nedeniyle MTT analizi sırasında katlanmıştır. Bu nedenle hücreler BC’nin üzerine tutunamamış ve canlılık değerleri düşmüştür. BC/PR-MA 0,4 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 13,58; 25,53; 20,89, BC/PR-MA 0,1 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 23,82; 12,89; 45,51, BC/PR-MA 0,05 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 58,79; 32,73; 31,78, BC/PR-MA 0,01 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 67,66; 43,11; 50,53 olarak bulunmuştur. BC/PR-MA nanofiberlerinin OD değerleri incelenmiştir. BC/PR-MA 0,4 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 0,31; 0,44; 0,46, BC/PR-MA 0,1 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 0,54; 0,22; 0,99, BC/PR-MA 0,05 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 1,34; 0,57; 0,69, BC/PR-MA 0,01 nanofiberinin canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla 1,55; 0,75; 1,10 olarak bulunmuştur. BC/PR-MA nanofiberlerinin canlılık yüzdesi BC nanofiberiyle karşılaştırıldığında azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçlar OD değerlerine göre incelendiğinde BC nanofiberinin canlılık değeri BC/PR-MA nanofiberlerine göre daha yüksek çıkmıştır. BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin direkt yöntem ile yapılan MTT analiz sonuçları Şekil 3.22’ de verilmiştir. Örneklerin ince morfolojileri hücre tutunmasını zorlaştırdığı için istatistiksel olarak doğru bir sonuç elde edilememiştir. Bu nedenle indirekt yöntem kullanılarak analizler tekrarlanmıştır. BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin indirekt yöntemin ardından % canlılık grafikleri Şekil 3.23’ de verilmiştir. 1:2 oranında seyreltme kullanılmıştır. BC nanofiberinin % canlılık değeri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla $85,23 \pm 0,044$; $85,47 \pm 0,20$; $89,17 \pm 0,15$ olarak bulunmuştur. BC/PR-MA 0,01 nanofiberinin % canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla $89,66 \pm 0,12$; $96,52 \pm 0,18$; $100,40 \pm 0,039$ olarak bulunmuştur.

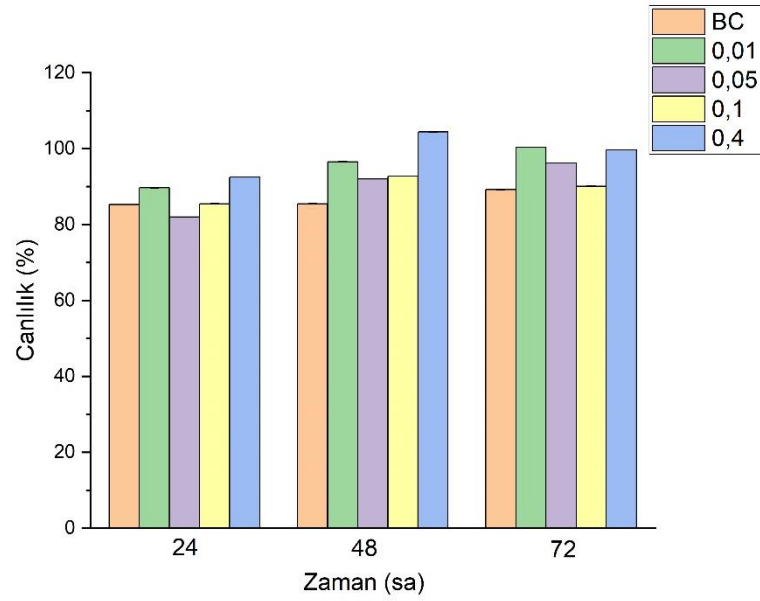
BC/PR-MA 0,05 nanofiberinin % canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla $82,00 \pm 0,06$; $91,95 \pm 0,05$; $96,28 \pm 0,07$ olarak bulunmuştur. BC/PR-MA 0,1 nanofiberinin % canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla $85,47 \pm 0,12$; $92,76 \pm 0,03$; $90,11 \pm 0,16$ olarak bulunmuştur. BC/PR-MA 0,4 nanofiberinin % canlılık değerleri 24;48;72 saatin sonunda sırasıyla $92,44 \pm 0,06$; $104,39 \pm 0,12$; $99,70 \pm 0,06$ olarak bulunmuştur. BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin sitotoksosite sonuçları ISO 10993-5 standartlarına göre değerlendirilmiştir. ISO 10993-5 standartına göre hücre canlılığının %70'in üzerinde olması örneklerin sitotoksik olmadığını göstergesidir (Abanuzoğlu, 2024; ISO, 2009). MTT analizinin ardından tüm örneklerin %70'in üzerinde % canlılık sergilediği gözlenmiştir bu sonuçlar örneklerin L929 fibroblast hücreleri için sitotoksik olmadığını, bu hücre hattında yara örtüsü olarak kullanımın güvenli olduğunu göstermiştir (ISO 10993-5:2009). BC/PR-MA nanofiberlerinin BC nanofiberlere göre canlılık yüzdesi istatistiksel bir artış göstermiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinin içeriğindeki akrilamid ve PR-MA nedeniyle hücre canlılığını desteklediği tespit edilmiştir.

Literatürdeki çalışmalar poliakrilamidin ve BC nanofiberlerin fibroblast hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermediğini bildirmektedir. Poliakrilamid hidrojel ve endoprotez olarak kullanımı avrupa patent ofisi tarafından patentlenmiştir (EP148188). Akrilamid ve metilen bis-akrilamid kullanılarak üretilen poliakrilamid hidrojin sitotoksosite testleri yapılmıştır. Poliakrilamid hidrojin tamamen biyouyumlu olduğu, insan fibroblastları üzerinde herhangi bir sitotoksik etkisi olmadığı, kansorejen ve alerjik olmadığı, bu nedenle enjekte edilebilir ya da implante edilebilir cihazlar olarak kullanılabileceğini bildirilmiştir (Petersen ve diğ, 2001). Yuan ve ark., bakteriyel selüloz nanofiber kümeleriyle zenginleştirilmiş poliakrilamid hibrit hidrojeller (PAM/BC) geliştirmiştir. PAM/BC, BC nanofiber küme süspansiyonunda akrilamid monomerinin yerinde polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. PAM/BC nanofiberlerin sitotoksosite testleri MTT analizi ile değerlendirilmiştir. Hidrojellerden sırasıyla 1;3;6 gün boyunca elde edilen ortamın in vitro hücre canlılığı MC3T3-E1 fibroblast hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Hücre aktivitesi 24 saatin ardından değerlendirilmiştir. Kontrol ve geliştirilen hidrojellerin hücre canlılığının %90'dan yüksek olduğu bulunmuştur, ISO 10993-5 standardına göre sonuçlar karşılaştırıldığında örneklerin sitotoksik olmadığı kabul edilmiştir.

PAM, BC ve PAM/BC hidrojellerinin MC3T3-E1 fibroblast hücre hattında toksik olmadığı ve biyomedikal uygulamalar için kullanımının güvenli olduğu bildirilmiştir (Yuan ve diğ., 2016). Qiu ve ark., yara iyileşmesi için BC-vakkarin (BC-Vac) membranlar geliştirmişlerdir. BC ve BC/Vac membranların sitotoksikite testleri direkt ve indirekt yöntemler kullanılarak incelenmiştir. BC ve BC-Vac membranların L929 hücreleri üzerinde toksik etki göstermediği ve hücrelerin normal bir şekilde çoğaldığı tespit edilmiştir. BC ve BC-Vac membranların 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından hücre canlılığının sırasıyla %121,9 ve %137,5 olduğu tespit edilmiştir. BC-Vac membranların daha yüksek canlılık göstermesinin sebebinin vakkarinin hücre çoğalmasını desteklemesi olduğu düşünülmüştür. 72 saatlik inkübasyon süresinin ardından hücre canlılığının sırasıyla %73,6 ve %80,7 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonunda BC-Vac membranların BC membranlara göre daha düşük toksisite ve daha yüksek biyoyumluluğa sebep olduğu ancak her iki membranında toksik olmadığı, biyomedikal malzeme olarak kullanımının güvenli aralıkta olduğu tespit edilmiştir (Qiu ve diğ., 2016).



Şekil 3.22 : BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin direkt yöntem ile elde edilen %canlılık ve OD grafikleri.

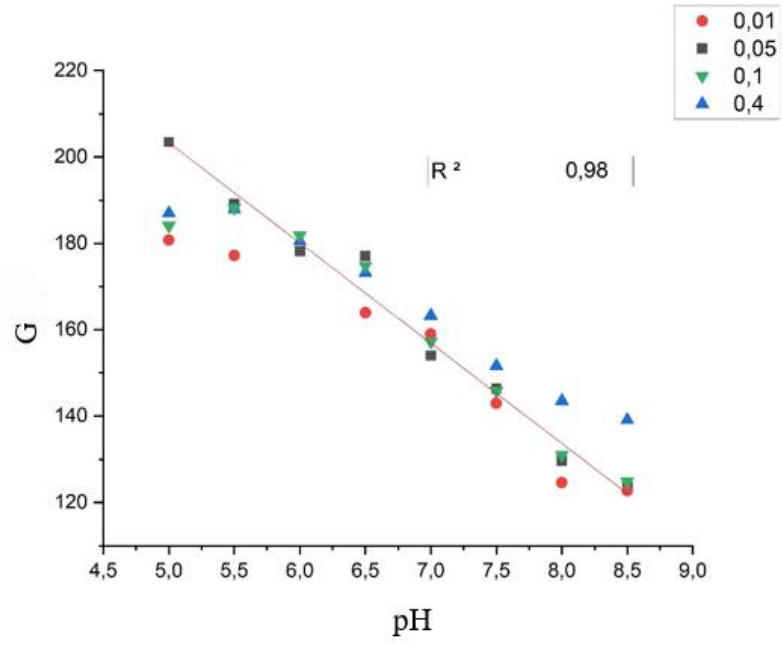


Şekil 3.23 : BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin indirekt yöntem ile elde edilen %canlılık grafiği.

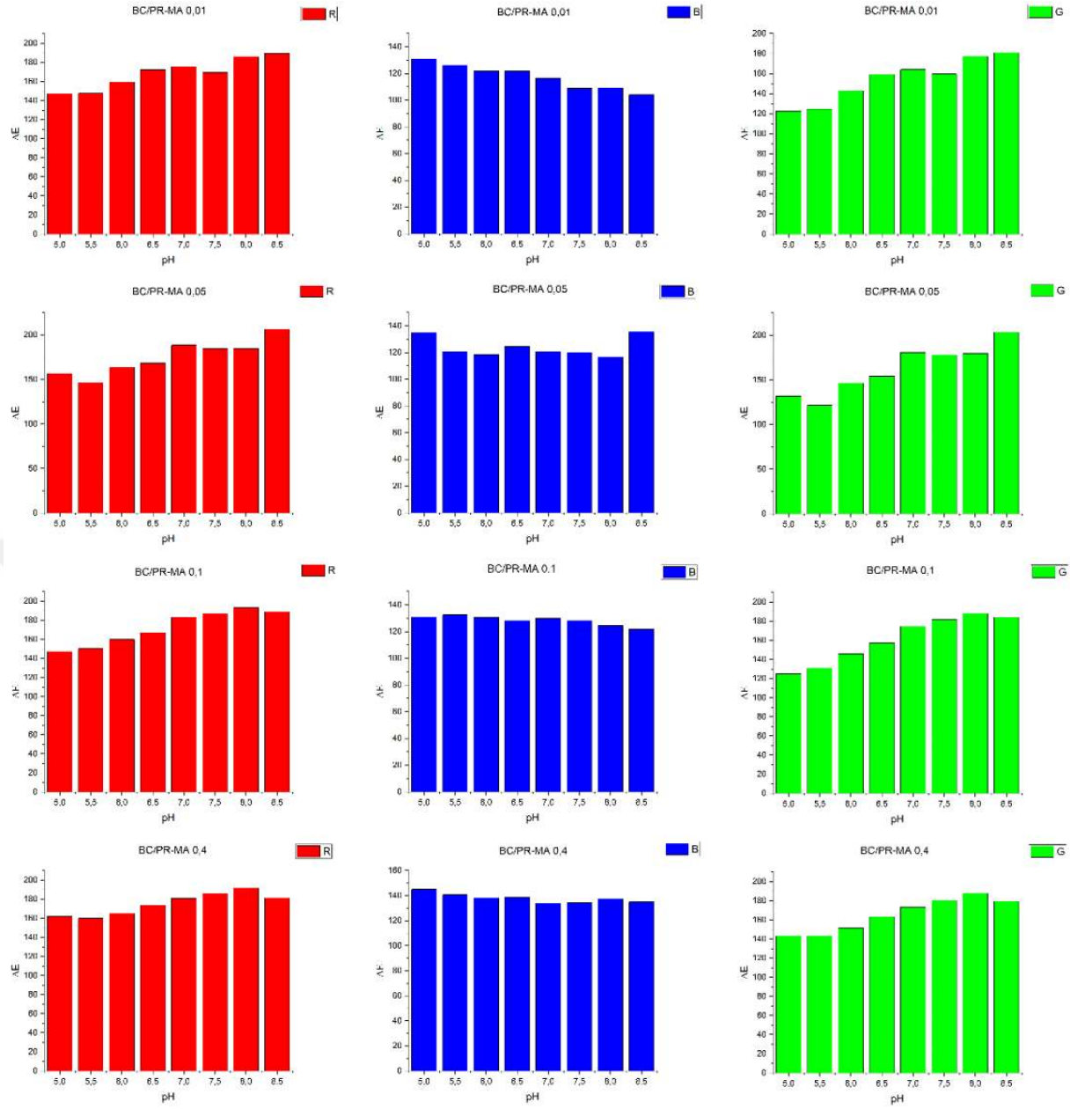
3.5.10 BC/PR-MA diğer kolorimetrik analizleri

RGB değerleri L^*A^*B değerlerinin elde edilmesinde önemli bir rol oynar. Literatürdeki bazı çalışmalar G değerinin pH ile bir korelasyon içerisinde olduğunu bildirmiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinin RGB değerleri hesaplanmıştır. BC/PR-MA nanofiberlerinin RGB değerleri Şekil 3.24’de gösterilmektedir. BC/PR-MA nanofiberlerinin G değerleri ile pH arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.25). Örneğin pH seviyesi arttıkça G değeri düşmüştür. Ortamın pH değerinin bilinmediği durumlarda G değeri ile ortamın pH değerinin tahmin edilebileceği tespit edilmiştir. R ve B değerlerinde bazı pH aralıklarında bu korelasyon bozulduğu için aynı sonuç alınamamıştır.

Pan ve ark. yaptığı bir çalışmada pH ile G değerini karşılaştırmıştır. Çalışmanın sonunda G değeri ile pH arasında korelasyon tespit edilmiştir. Yara ortamının pH değeri bilinmese bile G değeri hesaplanarak gerçeğe çok yakın bir sonuç elde edilebileceği bildirilmiştir (Pan ve diğ, 2019).



Şekil 3.24 : G değerleri ile pH arasındaki ilişki.



Şekil 3.25 : BC/PR-MA nanofiberlerinin RGB değerleri.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Tez kapsamında, Kombuça çayından homojen ve kararlı yapıda bakteriyel selüloz nanofiberlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen BC'ler, 3-metakriloksipropiltrimetoksisilan (3-MPS) çözeltisi ile reaksiyona sokularak başarıyla modifiye edilmiştir (BC-MA). BC-MA'ya ait FTIR spektrumlarında vinil bağlarının tespit edilmesi BC'nin modifikasyon işleminin başarısını göstermiştir.
- Fenol kırmızısı ile metakrilolil klorürün reaksiyonu sonucunda sentezlenen PR-MA monomeri yüksek saflıkta sentezlenmiştir. PR-MA monomerinin sentez başarısı NMR ve FTIR ile karakterize edilmiştir. PR-MA monomerinin FTIR spektrumunda, metakrilat yapısındaki karbonil grubuna ait band 1737 cm^{-1} de ve vinil gruplarına ait band 1677 cm^{-1} 'da belirlenmiştir. NMR spektrumlarında 5,92 ve 6,28 ppm'de gözlenen singletler $\text{CH}_3\text{-C=CH}_2^*$ vinil protonlarına atfedilmiştir. Bu ikili singletlerin gözlenmesi monomer sentezinin başarısını doğrulamıştır.
- PR-MA monomerinin UV-Vis spektrofotometresi ile karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. PR-MA monomeri asidik koşullarda 380'nm maksimum absorbans vermiştir. Bazik koşullarda ise 575'nm de yeni bir pik gözlenmiştir.
- BC/PR-MA nanofiberi farklı polimerizasyon koşulları denenerek optimize edilmiştir. Homojen, boya sızıntısı olmayan ve kararlı yapıdaki BC temelli yara örtülerinin sentezinde 4 farklı akrilamid miktarı (0,01;0,05;0,1;0,4) kullanılmıştır. Örneklerin ortama boya salmadığı UV-vis spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Bu
- BC/PR-MA yara örtülerinin morfolojik yapıları SEM analizi ile incelenmiştir. Analiz sonucunda BC/PR-MA nanofiberinin 3-B nanofibröz yapıda ve gözenekli bir morfolojide olduğu gözlenmiştir. Akrilamid oranı arttıkça nanofiberlerin yüzeyinde pürüzlülüğün arttığı tespit edilmiştir.
- BC/PR-MA nanofiberlerinin şişme analizi gerçekleştirilmiştir. BC/PR-MA nanofiberlerinin akrilamid miktarı arttıkça şişme kapasitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Akrilamid miktarı düşük olan örnekler ortalama 20 dakikada (yaklaşık %700), yüksek olanlar 30 dakikada (yaklaşık %450) dengeye gelmiştir.

- BC/PR-MA nanofiberlerinin dehidrasyon analizi gerçekleştirilmiştir. BC nanofiberler 18 dakikada, BC/PR-MA nanofiberler ise 25 dakikanın sonunda tamamen kurumuştur. BC/PR-MA nanofiberlerinin akrilamid içeriği kuruma süresini uzatmıştır.
- BC/PR-MA nanofiberlerinin hidrolitik degradasyon testleri sonucunda 14 günün sonunda en fazla yaklaşık %10 kütle kaybı görülmüştür.
- BC/PR-MA (0,01; 0,05; 0,1 ve 0,4) örnekleri için WVTR değerleri sırasıyla, $1977,5 \pm 37,1$; $2120,6 \pm 303,5$; $2188,5 \pm 66,2$ ve $1651,6 \pm 4,5$ g/m²/gün olarak bulunmuştur. BC yapısına eklenen akrilamid ve PR-MA içeren polimerik yapının BC'nin WVTR değerini artırdığı tespit edilmiştir. BC/PR-MA yara örtülerinin su buharı geçirgenlik hızı değerlerinin ideal yara örtüsü için belirlenen aralıkta olduğu tespit edilmiştir.
- BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin çekme testi gerçekleştirilmiştir. BC nanofiberleri kopmadan önce 17,26 MPa ile en yüksek gerilme ve %10,94 ile en yüksek uzama değerini vermiştir. BC/PR-MA nanofiberleri (0,01; 0,05; 0,1) kopmadan önce sırasıyla 42,79; 113,99; 63,44 (MPa) gerilme ve %0,08; 0,13; 0,16 uzama sergilemiştir. BC/PR-MA nanofiberinin polimerizasyonunun ardından nanofibroz boşluklarında akrilamid ve PR-MA içeren hidrojel yapının oluşması olduğu düşünülmektedir. Bu polimer yapının, gerilme davranışını güçlendirdiğini göstermektedir.
- BC ve BC/PR-MA nanofiberlerinin fibroblast hücrelerine karşı %canlılık değerinin %70'den yüksek olduğu tespit edilmiştir. Geliştirilen yara örtülerinin toksik olmadığı, yara ortamında kullanımın güvenli olduğu sonucuna varılmıştır.
- BC/PR-MA nanofiberinin kolorimetrik analizinin sonucunda ΔE değerlerinin 5'ten büyük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç örneklerin pH'ya karşı renk değişimlerinin çıplak gözle görülebilir aralıkta olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda BC/PR-MA nanofiberlerinin RGB değerleri incelenmiştir. G değeri ile pH arasında negatif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, pH değeri bilinmeyen örneklerin renk şiddetinin G değeri sayesinde hesaplanabileceğini göstermiştir.

5. KAYNAKLAR

- Abbasipour, M., Mirjalili, M., Khajavi, R., Majidi, M. M.** (2014). Coated Cotton Gauze with Ag/ZnO/chitosan Nanocomposite as a Modern Wound Dressing, *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 9(1), 124-130.
- Abanuzoğlu, M.** (2024). *Mikrobiyal kaynaklı β -glukan ve ekzopolisakkarit (EPS) kombinasyonlarının yara iyileşmesi üzerindeki etki mekanizmasının ortaya konulması ve biyomalzeme olarak değerlendirilmesi*, (Yüksek lisans tezi). Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara
- Agarwal, A., Raheja, A., Natarajan, T. S., Chandra, T. S.** (2012). Development of universal pH sensing electrospun nanofibers, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 161(1), 1097-1101.
- Ahmad, N.** (2022). In Vitro and In Vivo Characterization Methods for Evaluation of Modern Wound Dressings, *Pharmaceutics* 2023, 15(1), 42.
- Aljayyousi, N.Y.A.,** (2023). *Synthesis of ceragenin-loaded hydrogel and investigation of its drug release characteristics*, (Yüksek lisans tezi). Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Bursa
- AL-Kalifawi, E. J., ve Hassan, I. A.** (2014). Factors Influence on the yield of Bacterial Cellulose of Kombucha (Khubdat Humza, *Baghdad Science Journal*, 11(3), 1420-1428.
- Amarasekara, A. S., Wang, D., Grady, T. L.** (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2(2), 1-7.
- An, S. J., Lee, S. H., Huh, J. B., Jeong, S. I., Park, J. S., Gwon, H. J., Lim, Y. M.** (2017). Preparation and Characterization of Resorbable Bacterial Cellulose Membranes Treated by Electron Beam Irradiation for Guided Bone Regeneration, *International Journal of Molecular Sciences* 2017, 18(11), 2236.
- Arafa, A. A., Nada, A. A., Ibrahim, A. Y., Sajkiewicz, P., Zahran, M. K., Hakeim, O. A.** (2021). Preparation and characterization of smart therapeutic pH-sensitive wound dressing from red cabbage extract and chitosan hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1820-1831.
- Asanarong, O., Minh Quan, V., Boonrunsiman, S., Sukyai, P.** (2021). Bioactive wound dressing using bacterial cellulose loaded with papain composite: Morphology, loading/release and antibacterial properties, *European Polymer Journal*, 143, 110224.
- Bajpai, M., Bajpai, S. K., Jyotishi, P.** (2016). Water absorption and moisture permeation properties of chitosan/poly(acrylamide-co-itaconic acid) IPC films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 1-9.
- Bakhshpour, M., Tamahkar, E., Andaç, M., Denizli, A.** (2017). Affinity binding of proteins to the modified bacterial cellulose nanofibers, *Journal of*

chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences, 1052, 121-127.

- Balakrishnan, B., Mohanty, M., Umashankar, P. R., Jayakrishnan, A.** (2005b). Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin, *Biomaterials*, 26(32), 6335-6342.
- Bodhibukkana, C., Srichana, T., Kaewnopparat, S., Tangthong, N., Bouking, P., Martin, G. P., Suedee, R.** (2006). Composite membrane of bacterially-derived cellulose and molecularly imprinted polymer for use as a transdermal enantioselective controlled-release system of racemic propranolol, *Journal of Controlled Release*, 113(1), 43-56.
- Brown, M. S., Ashley, B., Koh, A.** (2018). Wearable technology for chronic wound monitoring: Current dressings, advancements, and future prospects, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6(APR), 350710.
- Chang, W. S., ve Chen, H. H.** (2016). Physical properties of bacterial cellulose composites for wound dressings, *Food Hydrocolloids*, 53, 75-83.
- Choi, S. M., Rao, K. M., Zo, S. M., Shin, E. J., Han, S. S.** (2022). Bacterial Cellulose and Its Applications, *Polymers* 2022, 14(6), 1080.
- Ciecholewska-Juśko, D., Żywicka, A., Junka, A., Drozd, R., Sobolewski, P., Migdał, P., Kowalska, U., Toporkiewicz, M., Fijałkowski, K.** (2021). Superabsorbent crosslinked bacterial cellulose biomaterials for chronic wound dressings, *Carbohydrate Polymers*, 253, 117247.
- Cordero, M., Ruiz, C., Palacio, D. A., Turunen, P., Rowan, A., Urbano, B. F.** (2022). Effect of low aspect ratio one-dimensional nanoparticles on properties of photocrosslinked alginate nanocomposite hydrogels, *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 635-643.
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., Brown, R. M.** (2006). Microbial cellulose--the natural power to heal wounds, *Biomaterials*, 27(2), 145-151.
- Dargaville, T. R., Farrugia, B. L., Broadbent, J. A., Pace, S., Upton, Z., Voelcker, N. H.** (2013). Sensors and imaging for wound healing: a review, *Biosensors & bioelectronics*, 41(1), 30-42.
- Das, S., ve Baker, A. B.** (2016). Biomaterials and nanotherapeutics for enhancing skin wound healing, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4(OCT), 209436.
- Day, K.** (2008). Principles of best practice: Diagnostics and wounds. A consensus document, *World Union of Wound Healing Societies (WUWHS)*. London: MEP Ltd, 2008
- Dayal, M. S., ve Catchmark, J. M.** (2016). Mechanical and structural property analysis of bacterial cellulose composites, *Carbohydrate polymers*, 144, 447-453.
- Devarayan, K., ve Kim, B. S.** (2015). Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 209, 281-286. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2014.11.120>

- El-Wakil, N. A., Hassan, E. A., Hassan, M. L., Abd El-Salam, S. S. (2019). Bacterial cellulose/phytochemical's extracts biocomposites for potential active wound dressings, *Environmental Science and Pollution Research*, 26(26), 26529-26541.
- Eskilson, O., Zattarin, E., Berglund, L., Oksman, K., Hanna, K., Rakar, J., Sivlér, P., Skog, M., Rinklake, I., Shamasha, R., Sotra, Z., Starkenberg, A., Odén, M., Wiman, E., Khalaf, H., Bengtsson, T., Junker, J. P. E., Selegard, R., Björk, E. M., Aili, D. (2023). Nanocellulose composite wound dressings for real-time pH wound monitoring, *Materials Today Bio*, 19, 100574.
- Galliera, E., Massaccesi, L., de Vecchi, E., Banfi, G., Corsi Romanelli, M. M. (2020). Clinical application of presepsin as diagnostic biomarker of infection: overview and updates, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 58(1), 11-17.
- Gao, Y., Nguyen, D. T., Yeo, T., Lim, S. Bin, Tan, W. X., Madden, L. E., Jin, L., Long, Y. K., Aloweni, F. A. B., Liew, Y. J. A., Tan, M. L. L., Ang, S. Y., Maniya, S. D. O., Abdelwahab, I., Loh, K. P., Chen, C. H., Becker, D. L., Leavesley, D., Ho, J. S., Lim, C. T. (2021). A flexible multiplexed immunosensor for point-of-care in situ wound monitoring, *Science Advances*, 7(21).
- Gharibi, R., Yeganeh, H., Abdali, Z. (2018). Preparation of antimicrobial wound dressings via thiol-ene photopolymerization reaction. *Journal of Materials Science*, 53(3), 1581-1595.
- Girard, V. D., Chaussé, J., Vermette, P. (2024). Bacterial cellulose: A comprehensive review, *Journal of Applied Polymer Science*, 141(15), e55163.
- Guinovart, T., Valdés-Ramírez, G., Windmiller, J. R., Andrade, F. J., Wang, J. (2014). Bandage-Based Wearable Potentiometric Sensor for Monitoring Wound pH, *Electroanalysis*, 26(6), 1345-1353.
- Güneş, Ü. Y. (2010). YARA YÖNETİMİNDE "TIME" YAKLAŞIM, *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*. 10(3), 85-92.
- Halib, N., Ahmad, I., Grassi, M., Grassi, G. (2019). The remarkable three-dimensional network structure of bacterial cellulose for tissue engineering applications, *International journal of pharmaceutics*, 566, 631-640.
- Halib, N., Amin, M. C. I. M., Ahmad, I. (2010). Unique stimuli responsive characteristics of electron beam synthesized bacterial cellulose/acrylic acid composite. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2920-2929.
- Hansu, G. H. (2023). *Yara örtüsü uygulamaları için modifiye aljinat/jelatin/hyaluronik asit temelli hidrojellerin sentezi ve karakterizasyonu*, (Yüksek lisans tezi). Hitit Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Polimer Bilim ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Çorum.
- Huang, Y., Zeng, M., Ren, J., Wang, J., Fan, L., Xu, Q. (2012). Preparation and swelling properties of graphene oxide/poly(acrylic acid-co-acrylamide)

- super-absorbent hydrogel nanocomposites. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 401, 97-106.
- ISO, (2009) - *Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi* — Bölüm 5: In vitro sitotoksikite testleri (ISO 10993-5). Retrieved from <https://www.iso.org/standard/36406.html>
- Jankau, J., Błażyńska-Spychalska, A., Kubiak, K., Jędrzejczak-Krzepkowska, M., Pankiewicz, T., Ludwicka, K., Dettlaff, A., Pęksa, R. (2022). Bacterial Cellulose Properties Fulfilling Requirements for a Biomaterial of Choice in Reconstructive Surgery and Wound Healing, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 805053.
- Jankowska, D. A., Bannwarth, M. B., Schulenburg, C., Faccio, G., Maniura-Weber, K., Rossi, R. M., Scherer, L., Richter, M., Boesel, L. F. (2017). Simultaneous detection of pH value and glucose concentrations for wound monitoring applications, *Biosensors & bioelectronics*, 87, 312-319.
- Jin, L., Agag, T., Yagci, Y., Ishida, H. (2011). Methacryloyl-functional benzoxazine: Photopolymerization and thermally activated polymerization, *Macromolecules*, 44(4), 767-772.
- Kamiński, K., Jarosz, M., Grudzień, J., Pawlik, J., Zastawnik, F., Pandya, P., Kołodziejczyk, A. M. (2020). Hydrogel bacterial cellulose: a path to improved materials for new eco-friendly textiles, *Cellulose*, 27(9), 5353-5365.
- Kim, J., Cai, Z., Lee, H. S., Choi, G. S., Lee, D. H., Jo, C. (2011). Preparation and characterization of a Bacterial cellulose/Chitosan composite for potential biomedical application, *Journal of Polymer Research*, 18(4), 739-744.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., Marsch, S. (2001). Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery, *Progress in Polymer Science*, 26(9), 1561-1603.
- Laavanya, D., Shirkole, S., Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation, *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454.
- Lee, K. Y., Buldum, G., Mantalaris, A., Bismarck, A. (2014). More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites, *Macromolecular Bioscience*, 14(1), 10-32.
- Lee, Y. J., An, S. J., Bae, E. Bin, Gwon, H. J., Park, J. S., Jeong, S. I., Jeon, Y. C., Lee, S. H., Lim, Y. M., Huh, J. B. (2017). The Effect of Thickness of Resorbable Bacterial Cellulose Membrane on Guided Bone Regeneration, *Materials*, 10(3), 320.
- Leung, M. Y. K., Liu, C., Koon, J. C. M., Fung, K. P. (2006). Polysaccharide biological response modifiers, *Immunology letters*, 105(2), 101-114.
- Li, X., Li, B., Ma, J., Wang, X., Zhang, S. (2014). Development of a silk fibroin/HTCC/PVA sponge for chronic wound dressing, 29(4), 398-411.

- Lin, W. C., Lien, C. C., Yeh, H. J., Yu, C. M., Hsu, S. H.** (2013). Bacterial cellulose and bacterial cellulose–chitosan membranes for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 603-611.
- Liu, L., Li, X., Nagao, M., Elias, A. L., Narain, R., Chung, H. J.** (2017). A pH-Indicating Colorimetric Tough Hydrogel Patch towards Applications in a Substrate for Smart Wound Dressings. *Polymers*, 9(11), 558.
- Mandal, B. B., Kapoor, S., Kundu, S. C.** (2009). Silk fibroin/polyacrylamide semi-interpenetrating network hydrogels for controlled drug release. *Biomaterials*, 30(14), 2826-2836.
- Marestoni, L. D., Barud, H. da S., Gomes, R. J., Catarino, R. P. F., Hata, N. N. Y., Ressutte, J. B., Spinosa, W. A.** (2021). Commercial and potential applications of bacterial cellulose in Brazil: ten years review, *Polímeros*, 30(4), e2020047.
- Mariani, F., Serafini, M., Gualandi, I., Arcangeli, D., Decataldo, F., Possanzini, L., Tessarolo, M., Tonelli, D., Fraboni, B., Scavetta, E.** (2021). Advanced Wound Dressing for Real-Time pH Monitoring, *ACS Sensors*, 6(6), 2366-2377.
- McKenna, B. A., Mikkelsen, D., Wehr, J. B., Gidley, M. J., Menzies, N. W.** (2009). Mechanical and structural properties of native and alkali-treated bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524, *Cellulose*, 16(6), 1047-1055.
- Melai, B., Salvo, P., Calisi, N., Moni, L., Bonini, A., Paoletti, C., Lomonaco, T., Mollica, V., Fuoco, R., Di Francesco, F.** (2016). A graphene oxide pH sensor for wound monitoring. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS, 2016-October*, 1898-1901.
- Minsart, M., Van Vlierberghe, S., Dubruel, P., Mignon, A.** (2022). Commercial wound dressings for the treatment of exuding wounds: an in-depth physico-chemical comparative study, *Burns & Trauma*, 10.
- Mohd Amin, M. C. I., Ahmad, N., Pandey, M., Jue Xin, C.** (2014). Stimuli-responsive bacterial cellulose-g-poly(acrylic acid-co-acrylamide) hydrogels for oral controlled release drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(10), 1340-1349.
- Mostafalu, P., Tamayol, A., Rahimi, R., Ochoa, M., Khalilpour, A., Kiaee, G., Yazdi, I. K., Bagherifard, S., Dokmeci, M. R., Ziaie, Babak., Sonkusale, S. R., Khademhosseini, A.** (2018). Smart Bandage for Monitoring and Treatment of Chronic Wounds, *Small*, 14(33), 1703509.
- Namazi, H., Rakhshaei, R., Hamishehkar, H., Kafil, H. S.** (2016). Antibiotic loaded carboxymethylcellulose/MCM-41 nanocomposite hydrogel films as potential wound dressing, *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 327-334.
- Negut, I., Grumezescu, V., Grumezescu, A. M.** (2018). Treatment Strategies for Infected Wounds, *Molecules*, 23(9), 2392.
- Ochoa, M., Rahimi, R., Ziaie, B.** (2014). Flexible sensors for chronic wound management, *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, 7, 73-86.

- Olad, A., Eslamzadeh, M., Mirmohseni, A.** (2019). Physicochemical evaluation of nanocomposite hydrogels with covalently incorporated poly(vinyl alcohol) functionalized graphene oxide. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(41), 48025.
- Olivier, E.J.** (1980). *The Structure Elucidation of Germacranolide Sesquiterpene Lactones of the Genus Melampodium by Chemical and Spectral Methods* (Doctoral dissertation). Retrieved from <https://repository.lsu.edu/>
- Omidi, M., Yadegari, A., Tayebi, L.** (2017). Wound dressing application of pH-sensitive carbon dots/chitosan hydrogel, *RSC Advances*, 7(18), 10638-10649.
- Pan, N., Qin, J., Feng, P., Li, Z., Song, B.** (2019). Color-changing smart fibrous materials for naked eye real-time monitoring of wound pH, *Journal of Materials Chemistry B*, 7(16), 2626-2633.
- Pandey, M., Mohamad, N., Amin, M. C. I. M.** (2014). Bacterial cellulose/acrylamide pH-sensitive smart hydrogel: Development, characterization, and toxicity studies in ICR mice model, *Molecular Pharmaceutics*, 11(10), 3596-3608.
- Pandey, M., Mohd Amin, M. C. I., Ahmad, N., Abeer, M. M.** (2013). Rapid Synthesis of Superabsorbent Smart-Swelling Bacterial Cellulose/Acrylamide-Based Hydrogels for Drug Delivery, *International Journal of Polymer Science*, 2013(1), 905471.
- Peate, I.** (2021). The skin: largest organ of the body, *British Journal of Healthcare Assistants*, 15(9), 446-451.
- Pei, X., Sun, M., Wang, J., Bai, J., Bo, X., Zhou, M.** (2022). A Bifunctional Fully Integrated Wearable Tracker for Epidermal Sweat and Wound Exudate Multiple Biomarkers Monitoring, *Small*, 18(46), 2205061.
- Qu, X., Wirsé N, A., Albertsson, A.-C.** (1999). Structural Change and Swelling Mechanism of pH-Sensitive Hydrogels Based on Chitosan and D,L-Lactic Acid, *J Appl Polym Sci*, 74, 3186-3192.
- Qiu, Y., Qiu, L., Cui, J., Wei, Q.** (2016). Bacterial cellulose and bacterial cellulose-vaccarin membranes for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 303-309.
- Rahimi, R., Ochoa, M., Parupudi, T., Zhao, X., Yazdi, I. K., Dokmeci, M. R., Tamayol, A., Khademhosseini, A., Ziaie, B.** (2016). A low-cost flexible pH sensor array for wound assessment, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 609-617.
- Ren, S., Ye, X. P., Borole, A. P.** (2017). Separation of chemical groups from bio-oil water-extract via sequential organic solvent extraction, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 123, 30-39.
- Sepúlveda, R. V., Valente, F. L., Reis, E. C. C., Araújo, F. R., Eleotério, R. B., Queiroz, P. V. S., Borges, A. P. B.** (2016). Bacterial cellulose and bacterial cellulose/polycaprolactone composite as tissue substitutes in rabbits' cornea, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36(10), 986-992. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016001000011>

- She, Y. K., Wang, S. X., Liao, Q., Lin, M. J. (2024).** Transparent and highly organosoluble aromatic polyimides with twisted backbone and bulky side substituents for flexible substrate materials, *Journal of Polymer Science*, 62(6), 1061-1073.
- Shi, L., Ramsay, S., Ermis, R., Carson, D. (2011).** pH in the bacteria-contaminated wound and its impact on clostridium histolyticum collagenase activity: implications for the use of collagenase wound debridement agents, *Journal of wound, ostomy, and continence nursing : official publication of The Wound, Ostomy and Continence Nurses Society*, 38(5), 514-521.
- Tamahkar, E. (2021).** Bacterial cellulose/poly vinyl alcohol based wound dressings with sustained antibiotic delivery, *Chemical Papers*, 75(8), 3979-3987.
- Tamahkar, E., Bakhshpour, M., Denizli, A. (2019).** Molecularly imprinted composite bacterial cellulose nanofibers for antibiotic release, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 30(6), 450-461.
- Tamahkar, E., Özkahraman, B., Özbaş, Z., İzbudak, B., Yarimcan, F., Boran, F., Öztürk, A. B. (2021).** Aloe vera-based antibacterial porous sponges for wound dressing applications. *Journal of Porous Materials*, 28(3), 741–750.
- Tamayol, A., Akbari, M., Zilberman, Y., Comotto, M., Leshia, E., Serex, L., Bagherifard, S., Chen, Y., Fu, G., Ameri, S. J., Ruan, W., Miller, E. L., Dokmeci, M. R., Sonkusale, S., Khademhosseini, A. (2016).** Flexible pH-Sensing Hydrogel Fibers for Epidermal Applications, *Advanced Healthcare Materials*, 5(6), 711-719.
- Torgbo, S., ve Sukyai, P. (2020).** Biodegradation and thermal stability of bacterial cellulose as biomaterial: The relevance in biomedical applications, *Polymer Degradation and Stability*, 179, 109232.
- Tran, M. T., Kumar, A., Sachan, A., Castro, M., Allegre, W., Feller, J. F. (2022).** Emerging Strategies Based on Sensors for Chronic Wound Monitoring and Management, *Chemosensors*, 10(8), 311.
- Wang, J., Tavakoli, J., Tang, Y. (2019).** Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review, *Carbohydrate Polymers*, 219, 63-76.
- Wang, L., Zhou, M., Xu, T., Zhang, X. (2022).** Multifunctional hydrogel as wound dressing for intelligent wound monitoring, *Chemical Engineering Journal*, 433, 134625.
- Yang, P., Zhu, Z., Zhang, T., Zhang, W., Chen, W., Cao, Y., Chen, M., Zhou, X. (2019).** Orange-Emissive Carbon Quantum Dots: Toward Application in Wound pH Monitoring Based on Colorimetric and Fluorescent Changing, *Small*, 15(44), 1902823.
- Yang, T.-H. (2012).** Recent Applications of Polyacrylamide as Biomaterials. *Recent Patents on Materials Science*, 1(1), 29-40.
- Yu, Y., Shen, M., Song, Q., Xie, J. (2018).** Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review, *Carbohydrate polymers*, 183, 91-101.

- Yuan, N., Xu, L., Zhang, L., Ye, H., Zhao, J., Liu, Z., Rong, J. (2016).** Superior hybrid hydrogels of polyacrylamide enhanced by bacterial cellulose nanofiber clusters. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 221-230.
- Zahedmanesh, H., MacKle, J. N., Sellborn, A., Drotz, K., Bodin, A., Gatenholm, P., Lally, C. (2011).** Bacterial cellulose as a potential vascular graft: Mechanical characterization and constitutive model development, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 97B(1), 105-113.
- Zhang, X., Yao, D., Zhao, W., Zhang, R., Yu, B., Ma, G., Li, Y., Hao, D., Xu, F. J. (2021).** Engineering Platelet-Rich Plasma Based Dual-Network Hydrogel as a Bioactive Wound Dressing with Potential Clinical Translational Value, *Advanced Functional Materials*, 31(8), 2009258.
- Zheng, L., Li, S., Luo, J., Wang, X. (2020).** Latest Advances on Bacterial Cellulose-Based Antibacterial Materials as Wound Dressings, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 593768.
- Zhijiang, C., ve Guang, Y. (2011).** Bacterial cellulose/collagen composite: Characterization and first evaluation of cytocompatibility, *Journal of Applied Polymer Science*, 120(5), 2938-2944.
- Zhu, C., Li, F., Zhou, X., Lin, L., Zhang, T. (2014).** Kombucha-synthesized bacterial cellulose: Preparation, characterization, and biocompatibility evaluation, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(5), 1548-1557.

EKLER

EK A : Kolorimetrik analiz sonuçları

EK B : Tezde kullanılan Java kodu



EK A Kolorimetrik analiz sonuçları

Çizelge A.0.1 : 0,01 g akrilamid içeren BC/PR-MA nanofiberinin Java kodu ile hesaplanan LAB ve ΔE değerleri.

pH	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	İlk hali
L	37,90	39,42	45,93	56,54	59,42	63,84	64,62	62,13	63,53
A	25,72	22,54	9,57	1,21	2,49	6,89	8,29	8,34	7,83
B	0,43	8,81	27,18	39,01	45,85	52,83	53,71	58,23	53,15
ΔE	67,82	59,24	36,48	19,01	12,36	5,08	5,91	7,02	6,31

Çizelge A.0.2 : 0,05 g akrilamid içeren BC/PR-MA nanofiberinin Java kodu ile hesaplanan LAB ve ΔE değerleri.

pH	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	İlk hali
L	32,68	37,46	44,12	53,99	62,09	67,90	69,76	69,86	70,86
A	36,19	29,86	17,54	6,01	1,65	4,35	5,80	5,88	7,73
B	0,49	11,02	31,60	47,31	61,55	70,48	71,95	72,14	70,81
ΔE	91,73	78,97	54,49	32,77	14,83	5,06	3,99	3,58	3,98

Çizelge A.0.3 : 0,4 g akrilamid içeren BC/PR-MA nanofiberinin Java kodu ile hesaplanan LAB ve ΔE değerleri.

pH	8.5	8.0	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5	5.0	İlk hali
L	33,87	36,34	40,25	45,01	55,62	59,43	59,23	61,61	59,60
A	29,73	30,83	20,11	12,97	3,67	-2,81	4,71	6,43	6,17
B	3,98	11,37	21,46	38,72	51,68	57,37	57,11	62,34	59,47
ΔE	71,39	65,67	50,69	32,64	14,69	6,95	5,28	5,98	4,76

EK B Tezde kullanılan Java kodu

```
import java.awt.image.BufferedImage;
import java.io.File;
import javax.imageio.ImageIO;
import java.util.Arrays;
@SuppressWarnings("unused")
public class App {

    public static void main(String[] args) throws Exception {

        String imagepath = "src\\fotoğraflar\\";
        int threshold = 20;
        double[] cal_x = {0 , 5 , 10 , 15 , 20 , 25} ;
        double[] cal_y = {0.251, 0.422, 0.617, 0.785, 0.957, 1.121};
        double[] std_de = new double[] {0,0,0};
        File input_file = new File(imagepath);
        BufferedImage img = ImageIO.read(input_file);
        double[][] result = sonuc(img, threshold, std_de, cal_x, cal_y);
        write_result(result);

        // Filtrelenmiş resmin kesilip kaydedilmesi için
        BufferedImage b = filter(img, threshold);
        BufferedImage c = filter(b, 0);
        try {
            File output = new File("src\\filtrelenmiş_fotoğraf\\5.jpg");
            ImageIO.write(c, "png", output);
        } catch (Exception e) {
            e.printStackTrace();
        }
    }

    //-----Fonksiyonlar-----

    public static double[][] sonuc(BufferedImage image, int threshold, double[] standart_de, double[] reg_x, double[] reg_y){
        BufferedImage filtered_img = filter(image, threshold);
        BufferedImage filtered_fixed_img = filter(filtered_img, threshold);
        int width = filtered_fixed_img.getWidth();
        int height = filtered_fixed_img.getHeight();
        /*
         * Bu alana filtrelenmiş fotoğrafı (filtered_fixed_img) kullanarak farklı filtre ve optimizler eklenebilir. (histogram eq vb.)
         */
        int[][] img_arr = image2array(filtered_fixed_img);
        float[][] labimage = new float[height][width];
        int sum_pix = 0;
        float[] RGB = {0,0,0}; // {r,g,b}
        float[] Lab = {0,0,0}; // {l,a,b}
        for (int i = 0; i < height; i++) {
            for (int j = 0; j < width; j++) {
                int[] pixel = argb2rgb(img_arr[i][j]);
                float[] pixellab = RGB2LAB(pixel);
                payloadlabPixels(pixellab, j, i, labimage);
                if (pixel[0] != 0 || pixel[1] != 0 || pixel[2] != 0){
                    sum_pix += 1;
                }
                RGB[0] += pixel[0];
                RGB[1] += pixel[1];
                RGB[2] += pixel[2];
                Lab[0] += pixellab[0];
                Lab[1] += pixellab[1];
                Lab[2] += pixellab[2];
            }
        }
        double[] mean_RGB = new double[] {RGB[0] / sum_pix, RGB[1] / sum_pix, RGB[2] / sum_pix};
        double[] mean_Lab = new double[] {Lab[0] / sum_pix, Lab[1] / sum_pix, Lab[2] / sum_pix};
        double meande = calculateDeltaE(standart_de, mean_Lab);
        double[] mean_de = new double[] {meande};
        double[] regression = LinearRegression(reg_x, reg_y, (float) meande);
        double[][] result = new double[][] {mean_RGB, mean_Lab, mean_de, regression};
        return (double[][]) result;
    }

    private static int[] argb2rgb(int[] pixel){
        int[] rgb = new int[] {pixel[1], pixel[2], pixel[3]};
    }
```

```

        return rgb;
    }

    public static double calculateDeltaE(double[] standart, double[] sample) {
        double deltaL = sample[0] - standart[0];
        double deltaA = sample[1] - standart[1];
        double deltaB = sample[2] - standart[2];

        double deltaL2 = Math.pow(deltaL, 2);
        double deltaA2 = Math.pow(deltaA, 2);
        double deltaB2 = Math.pow(deltaB, 2);

        double deltaE = Math.sqrt(deltaL2 + deltaA2 + deltaB2);
        return (double) deltaE;
    }

    public static void write_result (double[][] result){
        System.out.println("-----Sonuçlar-----");
        System.out.println("ortRGB    : " + Arrays.toString(result[0])           );
        System.out.println("ortLab    : " + Arrays.toString(result[1])           );
        System.out.println("ortDe    : " + Arrays.toString(result[2])           );
        System.out.println("slope    : " + result[3][0]               );
        System.out.println("intercept : " + result[3][1]               );
        System.out.println("r2       : " + result[3][2]               );
        System.out.println("Denkleml : " + "y = " + result[3][0] + "x" + " + " + result[3][1] );
        System.out.println("predict  : " + result[3][3]               );
        System.out.println("-----");
    }

    //-----
    private static int[][][] image2array(BufferedImage image){
        int width  = image.getWidth();
        int height = image.getHeight();
        int channel = 4;
        int[][][] image_arr = new int[height][width][4];

        for (int i = 0; i < height; i++) {
            for (int j = 0; j < width; j++) {
                int pixel = image.getRGB(j, i);
                printPixelARGB(pixel, j, i, channel, image_arr);
            }
        }
        return image_arr;
    }

    public static BufferedImage array2image(int[][][] imageArr) {
        int width = imageArr.length;
        int height = imageArr[0].length;
        BufferedImage image = new BufferedImage(width, height, BufferedImage.TYPE_INT_ARGB);

        for (int i = 0; i < width; i++) {
            for (int j = 0; j < height; j++) {
                int alpha = imageArr[i][j][0];
                int red   = imageArr[i][j][1];
                // mavi ile yeşilin indekslerini değiştirerek renk kayması sorununu çözüm : imageArr[i][j][3] burdaki 3 yazan kısmı
                // değiştirdim
                int green = imageArr[i][j][3];
                int blue  = imageArr[i][j][2];
                int newPixel = (alpha << 24) | (red << 16) | (green << 8) | blue;
                image.setRGB(i, j, newPixel);
            }
        }
        return image;
    }

    private static int[] printPixelARGB(int pixel, int w, int h, int channel, int[][][] image) {
        int alpha = (pixel >> 24) & 0xff;
        int red   = (pixel >> 16) & 0xff;
        int green = (pixel >> 8) & 0xff;
        int blue  = (pixel) & 0xff;
        int[] argb = new int[] {alpha, red, green, blue};
        payloadPixels(argb, w, h, channel, image);
        return argb;
    }
}

```

```

private static void payloadPixels(int[] pixel, int h, int w, int channel, int[][][] image){
    for(int cha = 0; cha < channel; cha++){
        if(cha == 0){
            image[w][h][cha] = pixel[0];
        }
        if(cha == 1){
            image[w][h][cha] = pixel[1];
        }
        if(cha == 2){
            image[w][h][cha] = pixel[2];
        }
        if(cha == 3){
            image[w][h][cha] = pixel[3];
        }
    }
}

//-----Corner filter-----
private static int[][] cornerDetection(BufferedImage image ){
    int width  = image.getWidth();
    int height = image.getHeight();

    //-----Corner calculation-----
    int area_w = Math.round((width * 10)/100);
    int area_h = Math.round((height * 10)/100);

    int u = Math.round((width - ((width * 10)/100)));
    int n = Math.round((height - ((height * 10)/100)));

    //-----Corner filter area cut-----

    BufferedImage C1 = image.getSubimage(0, 0, area_w, area_h);
    BufferedImage C2 = image.getSubimage(u, 0, area_w, area_h);
    BufferedImage C3 = image.getSubimage(0, n, area_w, area_h);
    BufferedImage C4 = image.getSubimage(u, n, area_w, area_h);

    //-----Cut area array values-----
    int[][][] C1_arr = new int[area_h][area_w][4];
    int[][][] C2_arr = new int[area_h][area_w][4];
    int[][][] C3_arr = new int[area_h][area_w][4];
    int[][][] C4_arr = new int[area_h][area_w][4];

    for (int i = 0; i < area_h; i++) {
        for (int j = 0; j < area_w; j++) {
            int C1_pix = C1.getRGB(j, i);
            int C2_pix = C2.getRGB(j, i);
            int C3_pix = C3.getRGB(j, i);
            int C4_pix = C4.getRGB(j, i);
            printPixelARGB(C1_pix, j, i, 4, C1_arr);
            printPixelARGB(C2_pix, j, i, 4, C2_arr);
            printPixelARGB(C3_pix, j, i, 4, C3_arr);
            printPixelARGB(C4_pix, j, i, 4, C4_arr);
        }
    }

    //----- köşe ortalama rgb değerlerinin hesaplanması -----

    int sum_pix = area_h * area_w;
    int[] mean_c1 = {0, 0, 0}; // {R, G, B}
    int[] mean_c2 = {0, 0, 0};
    int[] mean_c3 = {0, 0, 0};
    int[] mean_c4 = {0, 0, 0};
    for (int i = 0; i < area_h; i++) {
        for (int j = 0; j < area_w; j++) {
            mean_c1[0] += C1_arr[i][j][1];
            mean_c1[1] += C1_arr[i][j][2];
            mean_c1[2] += C1_arr[i][j][3];
            mean_c2[0] += C2_arr[i][j][1];
            mean_c2[1] += C2_arr[i][j][2];
            mean_c2[2] += C2_arr[i][j][3];
            mean_c3[0] += C3_arr[i][j][1];
            mean_c3[1] += C3_arr[i][j][2];
            mean_c3[2] += C3_arr[i][j][3];
            mean_c4[0] += C4_arr[i][j][1];
            mean_c4[1] += C4_arr[i][j][2];

```

```

        mean_c4[2] += C4_arr[i][j][3];
    }
}

int[] mean_C1_RGB;
int[] mean_C2_RGB;
int[] mean_C3_RGB;
int[] mean_C4_RGB;
int[][] mean_rgb;
mean_C1_RGB = new int[] {mean_c1[0] / sum_pix, mean_c1[1] / sum_pix, mean_c1[2] / sum_pix};
mean_C2_RGB = new int[] {mean_c2[0] / sum_pix, mean_c2[1] / sum_pix, mean_c2[2] / sum_pix};
mean_C3_RGB = new int[] {mean_c3[0] / sum_pix, mean_c3[1] / sum_pix, mean_c3[2] / sum_pix};
mean_C4_RGB = new int[] {mean_c4[0] / sum_pix, mean_c4[1] / sum_pix, mean_c4[2] / sum_pix};
mean_rgb = new int[][] {mean_C1_RGB, mean_C2_RGB, mean_C3_RGB, mean_C4_RGB};
return mean_rgb;
}

private static BufferedImage filter(BufferedImage image, int threshold) {
    int[][] filter_value = cornerDetection(image);
    int[][][] image_array = image2array(image);
    int[][] minValues = new int[4][3];
    int[][] maxValues = new int[4][3];
    int width = image.getWidth();
    int height = image.getHeight();

    for (int i = 0; i < 4; i++) {
        for (int j = 0; j < 3; j++) {
            minValues[i][j] = Math.max(filter_value[i][j] - threshold, 0);
            maxValues[i][j] = Math.min(filter_value[i][j] + threshold, 255);
        }
    }

    for (int i = 0; i < height; i++) { /** */
        for (int j = 0; j < width; j++) {
            int i_alpha = image_array[i][j][0];
            int i_red = image_array[i][j][1];
            int i_green = image_array[i][j][3];
            int i_blue = image_array[i][j][2];

            for (int c = 0; c < 4; c++) {
                if ((i_red >= minValues[c][0] && i_red <= maxValues[c][0]) &&
                    (i_green >= minValues[c][1] && i_green <= maxValues[c][1]) &&
                    (i_blue >= minValues[c][2] && i_blue <= maxValues[c][2])) {
                    i_alpha = 0;
                    i_red = 0;
                    i_green = 0;
                    i_blue = 0;
                }
            }

            image_array[i][j][0] = i_alpha;
            image_array[i][j][1] = i_red;
            image_array[i][j][2] = i_green;
            image_array[i][j][3] = i_blue;
        }
    }
    BufferedImage filtered_image = array2image(image_array);
    return filtered_image;
}

//-----app.java fonksiyonlar-----
public static float[] RGB2LAB(int[] pixel) {
    int num = 0;
    float[] rgb = new float[3];
    float[] xyz = new float[3];
    float[] Lab = new float[3];
    // rgb -> xyz başlangıç
    for (float value : pixel) {
        value = value / 255.0f;
        if (value > 0.04045f) {
            value = (float) Math.pow((value + 0.055) / 1.055, 2.4);
        } else {
            value = value / 12.92f;
        }
        rgb[num] = value * 100.0f;
        num++;
    }
}

```

```

xyz[0] = (rgb[0] * 0.412453f) + (rgb[1] * 0.357580f) + (rgb[2] * 0.180423f);
xyz[1] = (rgb[0] * 0.212671f) + (rgb[1] * 0.715160f) + (rgb[2] * 0.072169f);
xyz[2] = (rgb[0] * 0.019334f) + (rgb[1] * 0.119193f) + (rgb[2] * 0.950227f);
//rgb -> xyz son
//-----
//xyz -> lab başlangıç
xyz[0] = xyz[0] / 95.047f;
xyz[1] = xyz[1] / 100.0f;
xyz[2] = xyz[2] / 108.883f;
num = 0;
for (float i : xyz) {
    if(i > 0.008856f){
        i = (float) Math.pow(i, 1.0f / 3.0f);
    } else {
        i = (float) (i * 7.787f) + (16.0f / 116.0f);
    }
    xyz[num] = i;
    num += 1;
}
Lab[0] = (xyz[1] * 116.0f) - 16.0f;
Lab[1] = 500.0f * (xyz[0] - xyz[1]);
Lab[2] = 200.0f * (xyz[1] - xyz[2]);
//xyz -> lab son
return Lab;
}

private static void payloadlabPixels(float[] pixellab, int h, int w, float[][][] pixelarray){
    pixelarray[w][h] = pixellab;
}

public static double[] LinearRegression(double[] x, double[] y, float predictde) {
    // kaynak : https://algs4.cs.princeton.edu/code/edu/princeton/cs/algs4/LinearRegression.java.html
    // detaylı inceleme (güzel kaynak): https://algs4.cs.princeton.edu/home/
    double intercept, slope, predict;
    double r2;
    double svar0, svar1;

    if (x.length != y.length) {
        throw new IllegalArgumentException("array lengths are not equal");
    }
    int n = x.length;

    // first pass
    double sumx = 0.0, sumy = 0.0;
    for (int i = 0; i < n; i++) {
        sumx += x[i];
        sumy += y[i];
    }
    double xbar = sumx / n;
    double ybar = sumy / n;

    // second pass: compute summary statistics
    double xxbar = 0.0, yybar = 0.0, xybar = 0.0;
    for (int i = 0; i < n; i++) {
        xxbar += (x[i] - xbar) * (x[i] - xbar);
        yybar += (y[i] - ybar) * (y[i] - ybar);
        xybar += (x[i] - xbar) * (y[i] - ybar);
    }
    slope = xybar / xxbar;
    intercept = ybar - slope * xbar;

    // more statistical analysis
    double rss = 0.0; // residual sum of squares
    double ssr = 0.0; // regression sum of squares
    for (int i = 0; i < n; i++) {
        double fit = slope * x[i] + intercept;
        rss += (fit - y[i]) * (fit - y[i]);
        ssr += (fit - ybar) * (fit - ybar);
    }

    int degreesOfFreedom = n-2;
    r2 = ssr / yybar;
    double svar = rss / degreesOfFreedom;
    svar1 = svar / xxbar;
    svar0 = svar/n + xbar*xbar*svar1;
}

```

```
// Predict value :  
  
predict = ((predictde * slope) + intercept) ;  
double[] resultArray = new double[] { slope, intercept, r2, predict};  
  
return resultArray;  
}  
}
```



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ecem ÇİÇEK KOCABAŞ

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Önlisans** : 2018, Selçuk Üniversitesi, Çumra Meslek Yüksek Okulu, Laboratuvar Teknolojisi Programı
- **Lisans** : 2021, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- Selçuk Üniversitesi, Çumra Meslek Yüksek Okulu, Laboratuvar Teknolojisi Programı, Program ikincisi (3,67)
- Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Fakülte birincisi (3,73)
- Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bölüm birincisi (3,73)
- T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Konya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü-Stajyer
- AL-SAN Gıda- Stajyer

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Bildiri: Development of pH-sensitive Bacterial Cellulose Nanofiber Wound Dressings for Wound Monitoring, Yayın Yeri: EBAT 2023.