



TEKSTİL VE MÜHENDİS
(Journal of Textiles and Engineer)



<http://www.tekstilvemuhendis.org.tr>

Ozonlanmış Yağlar ile İşlem Uygulanmış Dokusuz Yüzeylerin Antibakteriyel Etkinliklerinin İncelenmesi

An Investigation on Antibacterial Activities of Nonwovens Treated with Ozonated Oils

Burcu Sancar BEŞEN¹, Onur BALCI¹, Mehmet ORHAN², Cem GÜNEŞOĞLU³, İ. İrem TATLI⁴

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

³Gaziantep Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Gaziantep, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Online Erişime Açıldığı Tarih (Available online): 30 Aralık 2015 (30 December 2015)

Bu makaleye atıf yapmak için (To cite this article):

Burcu Sancar BEŞEN, Onur BALCI, Mehmet ORHAN, Cem GÜNEŞOĞLU, İ. İrem TATLI (2015): Ozonlanmış Yağlar ile İşlem Uygulanmış Dokusuz Yüzeylerin Antibakteriyel Etkinliklerinin İncelenmesi, Tekstil ve Mühendis, 22: 100, 25-31.

For online version of the article: <http://dx.doi.org/10.7216/1300759920152210003>



Araştırma Makalesi / Research Article

OZONLANMIŞ YAĞLAR İLE İŞLEM UYGULANMIŞ DOKUSUZ YÜZEYLERİN ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Burcu Sancar BEŞEN^{1*}
Onur BALCI¹
Mehmet ORHAN²
Cem GÜNEŞOĞLU³
İ. İrem TATLI⁴

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

³Gaziantep Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, Gaziantep, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Gönderilme Tarihi / Received: 12.10.2015

Kabul Tarihi / Accepted: 21.12.2015

ÖZET: Bu çalışmada, antibakteriyel özelliğe sahip ozonlu yağları içeren tek kullanımlık dokusuz yüzeylerinin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, doymamış yağ asit içeriklerinin yüksek olduğu bilinen zeytinyağı ve sarı kantaron yağı ozonlanarak, GC ve FTIR analizleri ile ozon bağlanma durumları araştırılmış ve antibakteriyel etkinlikleri test edilmiştir. Karakterizasyonu tamamlanan antibakteriyel özellikteki ozonlu yağlar, daha sonra emdirme yöntemi ile dokusuz yüzeyler üzerine aktarılmış ve bu yüzeylerin de antibakteriyel etkinlikleri test edilmiştir. Sonuçlar, ozonlu yağ ile işlem uygulanan tek kullanımlık dokusuz yüzeylerin yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Ozon, bitkisel yağ, ozonlu yağ, antibakteriyel etkinlik

AN INVESTIGATION ON ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF NONWOVENS TREATED WITH OZONATED OILS

ABSTRACT In this study, it was aimed to obtain disposable nonwovens including antibacterial ozonated oil. For this aim, olive oil and st john's wort oil which are known to have high amounts of unsaturated fatty acids were ozonated and the ozonated oils were investigated via GC and FTIR analyses, in order to investigate whether the ozone reacted with the oils. In addition, the antibacterial activities of the ozonated oils were tested. After characterizing the antibacterial ozonated oils, they were applied to nonwoven surfaces and antibacterial activities of the surfaces were also tested. The results showed that disposable nonwoven surfaces including ozonated oils had high antibacterial activity.

Keywords: Ozone, vegetable oil, ozonated oil, antibacterial activity

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: burcusancar87@gmail.com

DOI: 10.7216/1300759920152210003, www.tekstilvemuhendis.org.tr

1. GİRİŞ

Güçlü bir oksidan olan ozon, bu özelliği nedeniyle en güçlü dezenfektanlardan biri olarak bilinmektedir [1,2]. Keşfinden sonraki ilk yıllarda, dezenfeksiyon amacıyla kullanılırken yıllar içerisinde yapılan çalışmalar medikal kullanımını gündeme getirmiştir. Ozonun doğrudan bazı rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı bilindiği gibi, yağların bir bağlayıcı olarak ozonlanıp, ozonlu bitkisel yağ şeklinde kullanıldığı da literatürlerde gözlenmektedir [1-23].

Bitkisel yağlar, %97-98 oranında trigliseridlerden oluşmaktadır. Bu yağlar, menşei ve doğalarına bağlı olarak doymuş ve doymamış yağların çeşitli kompozisyonlarına sahiptir [7]. Bitkisel yağlarda bulunan doymamış yağ asitleri, bu yağlara çok sayıda olumlu özellik kazandırmaktadır. Çift bağlar, çoğunlukla yağların kimyasal modifikasyonlarında önem kazanmıştır. Son zamanlarda bu modifikasyonlardan en çok ilgi çekeni, bitkisel yağların ozonlanmasıdır ve ozonlanmış bitkisel yağlar gıda, kozmetik ve farmasötik gibi endüstrilerin çeşitli uygulamalarında kullanılmaktadır [15]. Ozon gazı, bitkisel yağların doymamış yağ asitlerinde bulunan karbon-karbon çift bağlarıyla (oleik asit, linoleik, linolenik asit vb.) reaksiyona girerek yağa bağlanmaktadır [24]. Bu reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit, hidroksihidroperoksit, aldehit ve ozonit gibi farklı ürünler açığa çıkmaktadır [1].

Hasta veya yararlanmış bir kişinin tedavi amaçlı olarak ozon yağını kendi kendine uygulayabilmesi, ozonlanmış yağların ozon gazı veya ozonlanmış suya göre en önemli artı tarafıdır. Aynı zamanda ozonlanmış yağlar, lokal olarak uygulamaya elverişlidir [24]. Ozonlanmış yağlar, genellikle bir antibakteriyel ürün olarak cilt enfeksiyonlarını tedavi etme amacıyla kullanılmaktadır [20]. Ayrıca, ozonu kalıcı ozonit şeklinde hapseden ozonlanmış zeytin yağının, ileri cilt enfeksiyonlarını ve yaralarını hızlı bir şekilde iyileştirdiği belirtilmiştir [9].

Ozonlu yağların bu avantajları düşünülerek bu çalışmada, doymamış yağ içeriği yüksek olduğu bilinen zeytinyağı ve sarı kantaron yağı laboratuvar şartlarında ozonlama işlemine tabi tutulmuş ve ozonlanan

yağlar %100 viskondan üretilen dokusuz yüzeyler üzerine emdirme yöntemi ile aktarılacak antibakteriyel özellikli tek kullanımlık tekstil yüzeyleri elde edilmeye çalışılmıştır. Ozonlanan yağların ozonu bağlayıp bağlamadığı, FTIR ve GC analizleri ile araştırılmıştır. Ayrıca, ozonlanmış yağların ve bu yağlar ile işlem uygulanmış dokusuz yüzeylerin antibakteriyel etkinlikleri ASTM E2149 test yöntemine göre, *Staphylococcus aureus* (gram pozitif) ve *Escherichia coli* (gram negatif) bakterilerine karşı test edilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu çalışmada, ozonlu yağları üretmek amacıyla, zeytinyağı ve sarı kantaron yağı (aksu vital), 25 gr/sa kapasiteli ozon jeneratörü (Teknozone-TKZ) ve alt tarafında cam difüzör bulunan bir cam reaksiyon kolonu (200 ml hacme, 2 cm çapa ve 90 cm boya sahip); ozonlu yağları aplike etmek amacıyla ise % 100 viskon dokusuz yüzey (spunlace, 40 gr/m²) kullanılmıştır.

2.2. Metot

Ozonlama işlemleri, 100 ml hacminde yağ içeren cam kolona ozon jeneratörü tarafından üretilen ozon gazının cam difüzör vasıtasıyla direkt olarak verilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Yağlar, oda sıcaklığında 3 saat ozonlanmış ve çalışmada ozon debisi 4 lt/dk olarak sabitlenmiştir. Ozonlanan yağlar, daha sonraki analizler için buzdolabında saklanmıştır.

Üretilen ozonlu yağlar, emdirme yöntemi ile dokusuz yüzeylere aktarılmıştır. Ozonlu yağların dokusuz yüzeyler üzerindeki antibakteriyel etkinliğini araştırmak amacıyla, ham (ozonsuz) ve ozon ile işlem yapılan yağlar dokusuz yüzeylere aktarılmıştır. Aplikasyon, laboratuvar tipi fulard ile alınan flotte oranı %70 olacak şekilde 3,5 bar silindir basıncı ile yapılmıştır. Ozonlu yağ aktarılan dokusuz yüzeyler, tek kullanımlık ürünler olarak planlandığından aplikasyon sonrası kurutma yapılmadan hava almayacak şekilde ambalajlarda saklanmıştır.

2.3. Araştırma Yöntemleri

2.3.1. Gaz kromatografisi (GC-FID)

Ozonlama prosesi ile zeytinyağı ve sarı kantaron yağının doymamış yağ asit içeriğindeki değişimi araştırmak için ham (ozonsuz) ve ozonlanmış yağlar GC analizi ile araştırılmıştır. GC analizi, alev iyonlaştırma dedektörü kullanılarak Shimadzu 2010 Plus cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesi yağlar, metillenerek yağ asitlerinin metil esterlerine dönüşmesi sağlanmıştır. Enjeksiyon bloğunun sıcaklığı, 240°C'ye ayarlanarak numune buharlaştırılmış ve buharlaşan numune helyum gazı ile kolona (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm) taşınmıştır. Kolona uygulanan sıcaklık programı ile (80°C'den 240°C'ye 3°C/dk sıcaklık farkı ile) maddeler ayrılmıştır. Ayrılan maddeler, kromatogramlarda % alan olarak sırasıyla hesaplanmıştır.

2.3.2. Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR)

Ozonlanmış yağların ozonu bağlayıp bağlamadığını araştırmak amacıyla, ham ve ozonlanmış yağlara FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Numunelere ait spektrumlar, Perkin-Elmer Spectrum 6700 Explorer marka spektrometresi ile kaydedilmiştir. Örnekler 400 ile 4000 cm⁻¹ frekanslarında, 32 tarama sayısında ve 2 cm⁻¹ çözünürlükte oda sıcaklığında taranmıştır.

2.3.3. Antibakteriyel etkinlik

Ozonlanmış yağların ve bu yağlar ile işlem uygulanmış dokusuz yüzeylerin antibakteriyel etkinlikleri, ASTM E2149 test yöntemine göre test edilmiştir. Bu test, antibakteriyel etkinlik derecesini kantitatif olarak belirleyen bir yöntemdir ve antibakteriyel etkinlik çözeltide yaşayan mikroorganizma sayısına göre değerlendirilmektedir. İşlem uygulanmamış ve işlem uygulanmış numunelere aynı sayıda bakteri aşılansak 24 saat sonraki bakteri sayılarındaki azalma miktarı yüzde olarak hesaplanmaktadır.

Antibakteriyel etkinlik değerlendirilmesinde, gram-pozitif bakteri suşu olarak *Staphylococcus aureus*

(ATCC 6538) ve gram-negatif bakteri suşu olarak *Escherichia coli* (ATCC 35218) seçilmiştir. 1 gram ağırlığındaki numuneler, maksimum çalkalama etkisi sağlayacak şekilde mümkün olduğu kadar küçük parçalar halinde kesilmektedir. Test ve kontrol örnekleri, 3 atm basınç altında 121°C sıcaklıkta 1 saat süre ile sterilize edildikten sonra örneklere 1,0±0,1 mL'lik bakteri kültür çözeltisi (1 Mcfarland standart yoğunlukta; 1,5-3x10⁸ cfu/L) aktarılmakta, 50±1mL'lik tampon çözelti eklenmektedir. "0 saat temas süresi" için distile su ile seri sulandırmalar yapılarak Müller-Hinton II agar besiyerine ekimler yapılmaktadır. Örnekler, 37 °C'de 150 devir/dakika çalkalama hızında 24 saat süre ile inkübe edildikten sonra "24 saat temas süresi" için distile su ile seri sulandırmalar yapılarak Müller-Hinton II agar besiyerine ekimler yapılmaktadır. Bu yöntemde, örnekler üzerine bakteri ekiminden hemen sonra (0 temas zamanı) ve 24 saatlik inkübasyon sonrasındaki bakteri kolonilerinin sayımı standart sayma yöntemi kullanılarak yapılmakta ve iki değer arasındaki bakteri azalma oranı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmaktadır. Hesaplanan % miktar, ne kadar fazla ise antibakteriyel etkinlik o kadar yüksektir.

$$\text{Bakteri azalma oranı (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

A: "0" temas zamanında test örneklerinden elde edilen bakteri sayısı.

B: 24 saat süresince inkübe edilen test örneklerinden elde edilen bakteri sayısı.

3. BULGULAR VE SONUÇ

3.1. GC Analizleri

Ozonlama işlemi ile zeytinyağı ve sarı kantaron yağının doymamış yağ asidi içeriğinin değişimini araştırmak amacıyla, ham ve ozonlanmış yağların yağ asidi içerikleri GC analizi ile araştırılmıştır. Zeytinyağı ve sarı kantaron yağının ozonlama öncesi ve sonrası yağ asidi içerikleri Tablo 1 ve Tablo 2'de sırasıyla verilmiştir.

Tablo 1. Zeytinyağının ozonlama öncesi ve sonrası yağ asidi içeriği

Yağ Asidinin Adı	Altkonma Zamanı	Yağ Asidi İçeriği	
		Ozonlama Öncesi (%)	Ozonlama Sonrası (%)
Tanımlanamayan madde	4,157	-	1,6490
Kaprilik asit	7,473	-	1,3754
Tanımlanamayan madde	8,576	-	30,4931
Palmitik asit	28,380	11,5453	28,8766
Cis-10-Heptadekanoik asit	32,437	-	22,3546
Steraik asit	33,441	2,7129	6,6908
Oleik asit	34,602	73,0687	1,1312
Linoleik asit	36,602	9,1834	0,2792
Gama- Linolenik asit	38,389	0,7172	1,1062
Alfa- Linolenik asit	38,812	0,3128	-
Arasidonik asit	44,507	0,5571	0,0735

Tablo 2. Sarı kantaron yağının ozonlama öncesi ve sonrası yağ asidi içeriği

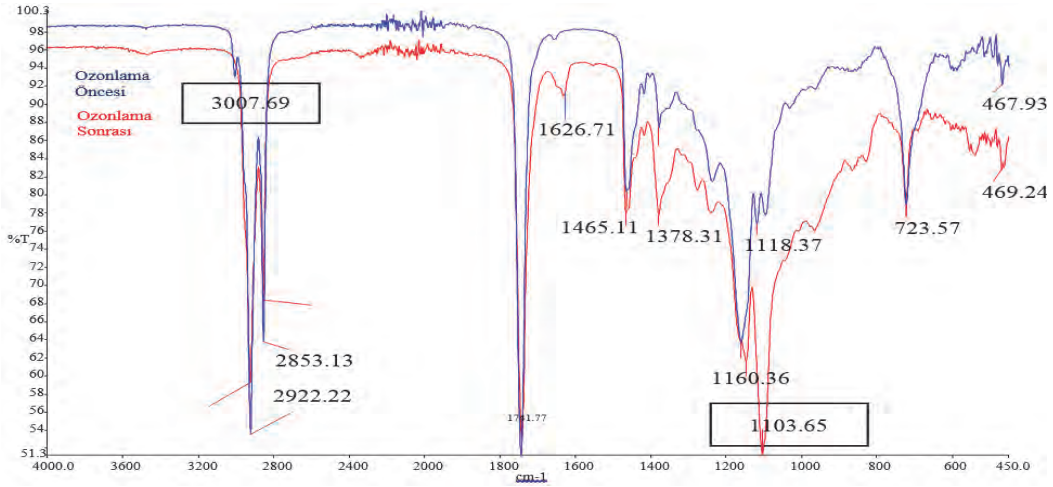
Yağ Asidinin Adı	Altkonma Zamanı	Yağ Asidi İçeriği	
		Ozonlama Öncesi (%)	Ozonlama Sonrası (%)
Tanımlanamayan madde	4,157	-	6,1117
Kaprilik asit	7,473	-	0,8958
Tanımlanamayan madde	8,576	-	14,3282
Palmitik asit	28,380	5,8124	19,2314
Palmiteloik asit	29,904	0,1804	0,4007
Cis-10-Heptadekanoik asit	32,437	-	14,3054
Steraik asit	33,441	3,0388	9,6196
Oleik asit	34,602	37,4842	19,8547
Linoleik asit	36,602	51,5433	6,7182
Gama- Linolenik asit	38,389	0,2231	0,6295
Alfa- Linolenik asit	38,812	0,5925	-
Arasidik asit	44,507	0,1471	0,1152

Ozon, yağların doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girdiğinden, ozonlama işlemi ile yağların doymamış yağ asidi içeriklerinin azalması beklenmektedir. Tablo 1 ve Tablo 2 incelendiğinde, ozonlanmış yağlarda 4. ve 8. dakika itibariyle GC analizi ile tanımlanamayan bir madde içeriğinin bulunduğu görülmektedir. Bu maddenin ozonlama ile oluştuğu ve ozonlama sonrası yağlardaki önemli doymamış yağ asidi olan oleik ve linoleik asit oranlarının da önemli ölçüde azaldığı görülmektedir. Ozonlama işlemi ile doymamış yağ asidi oranlarının azalması, yağlardaki doymamış yağ asitlerinin ozon gazı ile reaksiyona girdiğini doğrulamaktadır.

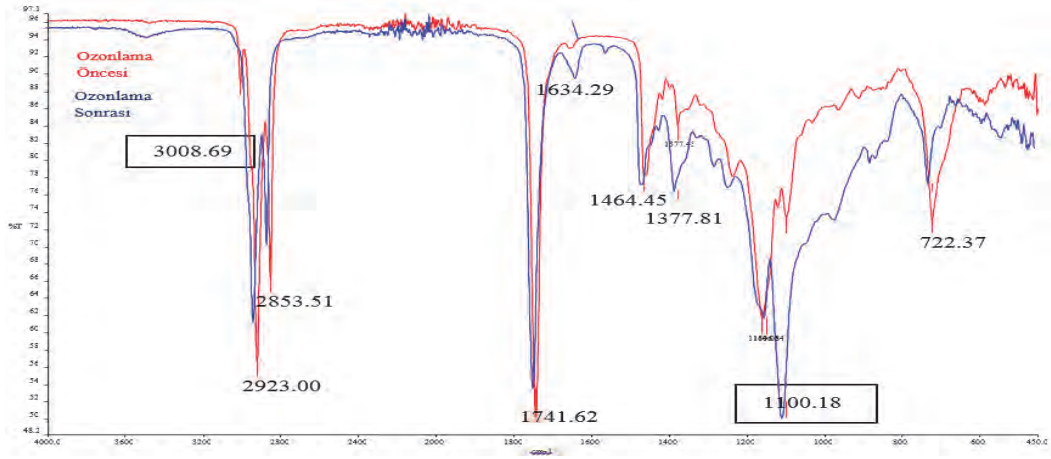
3.2. FTIR Analizleri

Ozonlama işlemi ile zeytinyağı ve sarı kantaron yağının yapısındaki önemli bağların değişimini incelemek için işlem görmemiş ve ozonlanmış yağlara FTIR analizi yapılmıştır. Zeytinyağı ve sarı kantaron yağının ozonlama öncesi ve sonrası IR spektrumları Şekil 1 ve Şekil 2'de sırasıyla verilmiştir.

IR spektrumunda, C=C (~1654 cm⁻¹), =C-H (~3009 cm⁻¹) ve ozonidi gösteren C-O (~1105 cm⁻¹) gerilimleri önemlidir [17,21]. Şekil 1 ve Şekil 2 incelendiğinde; ozonlama ile =C-H bağının görüldüğü frekansta gerilim



Şekil 1. Zeytinyağının Ozonlama Öncesi ve Sonrası IR Spektrumu



Şekil 2. Sarı kantaron yağının ozonlama öncesi ve sonrası IR spektrumu

yoğunluğunda azalma olduğu, ozonidi gösteren C-O bağının görüldüğü frekansta ise her iki yağ için gerilim yoğunluğunda önemli oranda artış olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, ozonun yağlardaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girdiğini ve yağlara bağlandığını kanıtlamaktadır.

3.3. Antibakteriyel Analizler

Ozonlama işlemi ile yağların antibakteriyel özellik kazanıp kazanmadıklarını araştırmak amacıyla, zeytinyağı ve sarı kantaron yağının ozonlama öncesi ve sonrası antibakteriyel etkinlikleri ASTM E2149 yöntemine göre test edilmiş ve % bakteri azalma oranları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. ASTM E2149 test yöntemi göre yağların ozonlama öncesi ve sonrası antibakteriyel etkinlik değerleri

Yağ adı	Bakteri azalma değeri (%)			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Ozonlama öncesi	Ozonlama sonrası	Ozonlama öncesi	Ozonlama sonrası
Zeytinyağı	+ 28,57	- 100,00	+ 2,26	- 100,00
Sarı kantaron yağı	+ 650,00	- 100,00	+ 8,20	- 100,00

* 1 gram ağırlığındaki her bir örneğe aktarılan bakteri konsantrasyonu $2,00 \times 10^5$ (log 5,30) cfu** olarak hesaplanmıştır.

** cfu : Koloni oluşturan birim.

*** (+) olarak verilen % azalma bakteri değerleri, bakteri sayısında artışı, (-) olarak verilen % bakteri değerleri ise bakteri sayısında azalmayı göstermektedir. (-)100 değeri, yüzey üzerinde bulunan tüm bakterin öldüğünü belirtmektedir.

Tablo 3 incelendiğinde, ham zeytinyağı ve ham sarı kantaron yağının 24 saat sonunda ortamdaki her iki bakteri türünde de sayısal olarak artışa neden olurken, ozonlanmış yağların ise ortamdaki tüm bakterileri öldürdüğü görülmektedir. Sonuç olarak, ozonlama ile her iki yağın da her iki bakteri türüne karşı %100 antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan testler sonucu ozonlama işlemi ile antibakteriyel etkinlik kazandığı belirlenen yağların, dokusuz yüzeyler üzerinde nasıl bir etki göstereceğini araştırmak amacıyla, ham (ozonsuz) ve ozon ile işlem yapılan yağlar dokusuz yüzeylere aktarılmış, işlem uygulanmamış ve yağlar ile işlem uygulanmış yüzeylerin antibakteriyel etkinlikleri ASTM E2149 yöntemine göre test edilmiş ve % bakteri azalma oranları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4 incelendiğinde, işlem uygulanmamış dokusuz yüzey ile ham zeytinyağı ve ham sarı kantaron yağı emdirilmiş dokusuz yüzeylerin 24 saat sonunda ortamdaki her iki bakteri türünde de sayısal olarak artışa neden olurken, ozonlanmış yağlar ile emdirilmiş dokusuz yüzeylerin ise ortamdaki tüm bakterileri öldürdüğü görülmektedir. Sonuç olarak, ozonlanmış her iki yağ ile işlem gören dokusuz yüzeylerin her iki bakteri türüne karşı %100 antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

4. DEĞERLENDİRME

Antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellik gösteren ve depolanamayan ozon gazının, bitkisel yağların doymamış yağ asitleri vasıtasıyla taşınarak yağlara antibakteriyel özellikler kazandırdığı bilinmektedir. Ozonlanmış bu yağların cilt enfeksiyonlarını ve yaralarını hızlı bir şekilde iyileştirdiği de literatürde belirtilmiştir. Bu bilgilere dayanarak, çalışmamızda doymamış yağ asit içeriklerinin yüksek olduğu bilinen zeytinyağı ve sarı kantaron yağı ozonlanmış ve ozonlu yağların %100 viskon dokusuz yüzeylere aktarılmasıyla medikal amaçlı kullanılabilir tek kullanımlık tekstil yüzeyleri elde edilmiştir. Ozonlama sonrası, yağlara ozonun bağlandığı ve ozonlu yağların yüksek antibakteriyel özellik gösterdiği yapılan FTIR ve GC analizleri ile birlikte antibakteriyel etkinlik testleri sonucu kanıtlanmıştır. Antibakteriyel etkinliği kanıtlanan ozonlu yağlar, emdirme yöntemi ile dokusuz yüzeylere aktarılmış ve bu yüzeylerin de antibakteriyel özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Böylece, ozonlu zeytinyağı ve sarı kantaron yağı içeren, hem ozonun hem de zeytinyağı ve sarı kantaron yağının faydalarına sahip, medikal amaçla kullanılabilir tek kullanımlık yaş tekstil yüzeylerinin eldesi mümkün olmuştur.

Tablo 4. ASTM E2149 test yöntemi göre yağlar ile işlem uygulanmış yüzeylerin antibakteriyel etkinlik değerleri

Numune adı	Bakteri azalma değeri (%)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
İşlem uygulanmamış dokusuz yüzey (DY)	+ 284,62	+ 6,84
DY+ Zeytinyağı (Ham)	+ 152,10	+ 4,38
DY+ Zeytinyağı (Ozonlu)	- 100,00	- 100,00
DY+Sarı kantaron yağı (Ham)	+ 236,54	+ 3,52
DY+Sarı kantaron yağı (Ozonlu)	- 100,00	- 100,00

* 1 gram ağırlığındaki her bir örneğe aktarılan bakteri konsantrasyonu $2,00 \times 10^5$ (log 5,30) cfu** olarak hesaplanmıştır.

** cfu : Koloni oluşturan birim.

*** (+) olarak verilen % azalma bakteri değerleri, bakteri sayısında artış, (-) olarak verilen % bakteri değerleri ise bakteri sayısında azalmayı göstermektedir. (-)100 değeri, yüzey üzerinde bulunan tüm bakterin öldüğünü belirtmektedir.

KAYNAKLAR

- Sechi, L.A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Dupre, I., Pinna, A., Mollicotti, P., Fadda, G., Zanetti, S., (2001), *Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil (Oleozon)*, Journal of Applied Microbiology, 90, 279-284
- Skalska, K., Ledakowicz, S., Perkowski, J., Sencio, B., (2009), *Germicidal Properties of Ozonated Sunflower Oil*, Ozon: Science & Engineering, 31, 232-237
- Lezcano, I., Nuflez, N., Espino, M., Gomez, M., (2000), *Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil, Oleozon, Against Staphylococcus Aureus and Staphylococcus Epidermidis*, Ozon Science & Engineering, 22, 207-214
- Menendez, S., Falcon, L., Simon, D.R., Landa, N., (2002), *Efficacy of Ozonized Sunflower Oil in the Treatment of Tinea Pedis, Mycoses*, 45, 329-332

5. Jardines, D., Correa, T., Ledea, O., Zamora, Z., Rosado, A., Molerio, J., (2003), *Gas Chromatography–Mass Spectrometry Profile of Urinary Organic Acids of Wistar Rats Orally Treated with Ozonized Unsaturated Triglycerides and Ozonized Sunflower Oil*, Journal of Chromatography B, 783, 517–525
6. Soriano, N.U., Vigo, M.P., Matsumura, M., (2003), *Ozonation of Sunflower Oil: Spectroscopic Monitoring of the Degree of Unsaturation*, JAOCS, 80(10), 997-1001
7. Diaz, M.F., Sazatornil, J.A.G., Ledea, O., Hernandez, F., Alaiz, M., Garcés, R., (2005), *Spectroscopic Characterization of Ozonated Sunflower Oil*, Ozone: Science & Engineering, 27, 247-253
8. Diaz M.F., Nunez, N., Quincose, D., Diaz, W., Hernandez F., (2005), *Study of Three Systems of Ozonized Coconut Oil*, Ozone: Science & Engineering, 23, 153-157
9. Valacchi, G., Fortino, V., Bocci, V., (2005), *The Dual Action of Ozone on the Skin*, British Association of Dermatologists, British Journal of Dermatology, 153, 1096-1100
10. Diaz, M.F., Hernandez, N., Martinez, G., Vidal, G., Gomez, M., Fernandez, H., Garcés, R., (2006), *Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil*, J. Braz. Chem. Soc., 17(2), 403-407
11. Diaz M.F., Gavin J. A., Gomez M., Curtielles V., Hernandez F., (2006), *Study of Ozonated Sunflower Oil Using ¹H NMR and Microbiological Analysis*, Ozone: Science & Engineering, 28, 59-63
12. Tellez, G.M., Lozano, O.L., Gomez, M.F.D., (2006), *Measurement of Peroxidic Species in Ozonized Sunflower Oil*, Ozone: Science & Engineering, 28, 181-185
13. Torres, I.F., Pinol, V.C., Urritia, E.S., Regueiferos, M.G., (2006), *In vitro Antimicrobial Activity of Ozonized Theobroma Oil Against Candida albicans*, Ozone: Science & Engineering, 28, 187-190
14. Sakazaki, F., Kataoka, H., Okuno, T., Ueno, H., Semma, M., Ichikawa, A., Nakamuro, K., (2007), *Ozonated Olive Oil Enhances the Growth of Granulation Tissue in a Mouse Model of Pressure Ulcer*, Ozone: Science & Engineering, 29, 503-507
15. Sadowska, J., Johansson, B., Johannessen, E., Friman, R., Broniarz-Press, L., Rosenholm, J.B., (2008), *Characterization of Ozonated Vegetable Oils by Spectroscopic and Chromatographic Method*, Chemistry and Physics of Lipids, 151, 85–91
16. Zamora, Z., Gonzalez, R., Guanche, D., Merino, N., Menendez, S., Hernandez, F., Alonso, Y., Schulz, S., (2008), *Ozonized Sunflower Oil Reduces Oxidative Damage Induced by Indomethacin in Rat Gastric Mucosa*, Inflammation Research, 57, 39-43
17. Zanardi, I., Travagli, V., Gabbrielli, A., Chiasserini, L., Bocci, V., (2008), *Physico-Chemical Characterization of Sesame Oil Derivatives*, Lipids, 43: 877–886
18. Bocci, V., Borrelli, E., Travagli, V., Zanardi, I., (2009), *The Ozone Paradox: Ozone Is a Strong Oxidant as Well as a Medical Drug*. Medicinal Research Reviews, 29(4), 646-682
19. Omonov, T.S., Kharraz, E., Curtis, J.M., (2011), *Ozonolysis of Canola Oil: A Study of Product Yields and Ozonolysis Kinetics in Different Solvent Systems*. J Am Oil Chem Soc., 88, 689–705
20. Valacchi G., Lim Y., Belmonte G., Miracco C., Zanardi I., Bocci V., Travagli V., (2011), *Ozonated Sesame Oil Enhances Cutaneous Wound Healing in SKH1 Mice*, Wound Repair and Regeneration, 19(1), 107-115
21. Almeida, N.R., Beatriz, A., Micheletti, A.C., Arruda, E.J., (2012), *Ozonized Vegetable Oils and Therapeutic Properties: A Review*, Orbital Electronic Journal of Chemistry, 4(4), 313-326
22. Cirlini M., Caligiani A., Palla G., Ascentiis A.D., Tortini P., (2012), *Stability Studies of Ozonized Sunflower Oil and Enriched Cosmetics with a Dedicated Peroxide Value Determination*, Ozone: Science & Engineering, 34, 293-299
23. Campanati A., Blasio S.D., Giuliano A., Ganzetti G., Giuliodori K., Pecora T., Consales V., Minnetti I., Offidani A., (2013), *Topical Ozonated Oil Versus Hyaluronic Gel for the Treatment of Partial-to Full-Thickness Second-Degree Burns: A Prospective, Comparative, Single-Blind, Non-Randomised, Controlled Clinical Trial*, J.burns, <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2013.03.002>
24. Özler, M., Öter, Ş., Korkmaz, A., (2009), *Ozon Gazının Tıbbi Amaçlı Kullanılması*, TAF Preventive Medicine Bulletin, 8(1), 59-64