



Synthesis of Organophilic Clay-Nanocomposite Containing Sumac Extract for Dermatological Purposes and Investigation of Its Bioactivity

Gülay Gültek^{1,a,*}, Özcan Deniz²

¹ Tecde Anatolian High School, Yeşilyurt Malatya

² Malatya Turgut Ozal University Faculty of Nursing, Battalgazi Malatya

*Corresponding author

Research Article

History

Received: 18/09/2024

Accepted: 08/11/2024

Copyright



This work is licensed under
Creative Commons Attribution 4.0
International License

ABSTRACT

The use of clays for cosmetic purposes has existed since ancient times, and its therapeutic use has existed since prehistory, and today's cosmetic industry uses significant amounts worldwide. Antioxidant and antibacterial compounds are generally used as active ingredients in many cosmetic products. In this study, it was aimed to prepare bioactive organophilic nanocomposites with an innovative approach in order to increase the effectiveness of clay (montmorillonite, MMT) mineral, which is widely used in cosmetic formulations, in line with its intended use and to test its bioactivity. For this purpose, montmorillonite clay obtained from domestic sources was purified by sedimentation method. Montmorillonite clay was made organophilic (OMMT) by using dodecyltrimethyl ammonium chloride solution. Sumac (fruit part), which is among the medicinal plants and used as a spice, was taken from the attar, dried, ground and extracted with water, ethanol and n-hexane separately for 8 hours in a Soxhlet extraction apparatus. The solvents in the extracts were removed under vacuum and the obtained solid was extracted again with water/ethanol solution to obtain food grade sumac extract with 95% yield. The solvents of water and ethanolic extracts were also removed under vacuum. Nanocomposites were prepared with 1%, 3% and 5% sumac extract amount in OMMT and their bioactivity was tested by compatibilization with PEG-400. Bioactivity tests were performed on Nutrient Agar and Violet Bile Red Agar media at 37°C using gram positive *Staphylococcus aureus* and gram negative *Escherichia coli* bacteria growing on the skin surface. All of the clay nanocomposites prepared in three different compositions showed that they had bioactive properties by inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Organophilic montmorillonite, nanocomposite, bioactivity, dermatological clay, sumac extract

Dermatolojik Amaçlı Sumak Özütü İçeren Organofilik Kil-Nanokompozit Sentezi ve Biyoaktivitesinin Araştırılması

Araştırma Makalesi

Süreç

Geliş: 18/09/2024

Kabul: 08/11/2024

Öz

Killerin kozmetik amaçlı kullanımı antik çağlardan beri, terapötik kullanımı ise tarih öncesinden beri var olmuştur ve günümüz kozmetik endüstrisinde dünya çapında önemli miktarda kullanılmaktadır. Birçok kozmetik ürününde genellikle aktif içerik olarak antioksidan ve antibakteriyel bileşikler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, kozmetik formülasyonlarda yaygın olarak kullanılan kil (montmorillonit, MMT) mineralinin kullanım amaçları doğrultusunda etkinliğinin artırılması amacıyla yenilikçi bir yaklaşımla biyoaktif organofilik nanokompozitlerinin hazırlanması ve biyoaktivitesinin test edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla yerli kaynaklardan alınan montmorillonit kili sedimentasyon yöntemiyle saflaştırıldı. Dodesiltrimetil amonyum klorür çözeltisi kullanılarak montmorillonit kili organofilik (OMMT) hale getirildi. Şifalı bitkiler arasında bulunan ve baharat olarak kullanılan sumak (meyve kısmı) attardan alınarak kurutuldu, öğütüldü ve su, etanol ve n-hekzan ile ayrı ayrı 8 saat boyunca Soxhlet ekstraksiyon düzeneğinde özütlendi. Özütlerdeki çözücüler vakum altında uzaklaştırıldı ve elde edilen katı tekrar su/etanol çözeltisi ile özütlenerek %95 verimle gıda kalitesinde (foodgrade) sumak özütü elde edildi. Su ve etanolik ekstraktların çözücüler de vakum altında uzaklaştırıldı. OMMT içerisindeki sumak özütü miktarı %1; %3 ve %5 olacak şekilde nanokompozitleri hazırlandı ve PEG-400 ile uyumlaştırılarak biyoaktiviteleri test edildi. Biyoaktivite testleri, deri yüzeyinde üreyen gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif bakterisi *Escherichia coli* kullanılarak Nutrient Agar ve Violet Bile Red Agar ortamında 37°C'de yapıldı. Üç farklı bileşimde hazırlanan kil nanokompozitlerinin tamamı *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerinin üremesini inhibe ederek biyoaktif özelliğe sahip olduklarını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Organofilik montmorillonit, nanokompozit, biyoaktivite, dermatolojik kil, sumak özütü

^a gulaygultek44@gmail.com

^{ID} 0009-0008-9926-6242

^b ozcandrea123@gmail.com

^{ID} 0009-0003-4875-7192

How to Cite: Gultek G, Deniz O (2023) Synthesis of Organophilic Clay-Nanocomposite Containing Sumac Extract for Dermatological Purposes and Investigation of Its Bioactivity, Journal of Science and Technology, 3(2): 76-86

Giriş

Nanokompozit, özellikleri birbirinden farklı en az iki malzemenin nanometre boyutunda bir araya getirilerek oluşturulan yeni bir malzeme sınıfıdır. Malzemeler, bileşen malzemelerin Nanokompozit malzemeler, bileşenlerin morfolojisine ve arayüzey özelliklerine bağlı olarak bileşenlerin özelliklerinden daha üstün yeni kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olabilir. Nanokompozitlerde, bileşenlerden birinin bir boyutunun en az 100 nm'den daha küçük olması gerekmektedir. Matris içerisindeki nanoparçacıkların etkinliği, eklenen malzeme miktarının normal olarak ağırlıkça sadece %0,5 ila 5 arasında olmaktadır. Kil mineralleri de organik-inorganik nanokompozit oluşturmada ilk sıralarda yer almaktadır (Camargo, 2009).

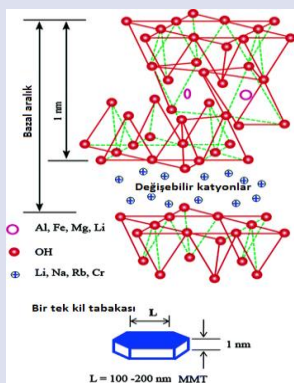
Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde şekil ve büyüklüğü kontrol ederek yapıların, malzemelerin cihazların ve sistemlerin tasarımını, karakterizasyonunu, üretimini ve uygulamasını içeren yenilikçi bir bilimdir. Nanoteknolojinin kullanımı, elektronikten ilaca kadar çeşitli bilim alanlarına yayılmıştır ve nanokozmetik adını alarak da kozmetik alanında uygulamalar bulmuştur. Nanoteknolojinin kozmetik endüstrilerindeki bu yaygın etkisi, renk, şeffaflık, çözünürlük vb. dahil olmak üzere nano düzeyindeki partiküllerin elde ettiği gelişmiş özelliklerden kaynaklanmaktadır. Kozmetik üreticileri daha iyi UV koruması, daha derin cilt penetrasyonu, uzun süreli etkiler, daha fazla renk ve son kat kalitesi vb. sağlamak için bileşenlerin nano ölçekli versiyonlarını kullanır (Raj, 2012).

Kil mineralleri, geleneksel tıpta tedavi amacıyla kullanılan en eski doğal malzemelerden biridir. Geleneksel tıpta, kil mineralleri esas olarak deri hastalıklarını tedavi etmek için kil banyoları olarak harici uygulamalarda kullanılmaktadır. Eski kültürlerden bu yana geçen yüz yıllar içinde kil minerallerinin iyileştirici özellikleri, çeşitli topikal ve içsel rahatsızlıkların tedavisinde modern yaşamda uygulanmaya devam etmektedir (Williams, 2010). Kil mineralleri, yüksek yüzey reaktivitesi (adsorpsiyon ve katyon değişim kapasitesi), koloidal ve şişme kapasitesi, yüksek asit emme kapasitesi ve suda dağılılabirlik gibi özel

fizikokimyasal özelliklere sahiptir; bu da onları eczacılık, kozmetik, veterinerlik, biyomalzemeler dahil olmak üzere farklı biyolojik uygulamalar için uygun kılar (Ghadiri, 2013). Kil mineralleri tabakalı yapıda olmalarından ve tabaka yüküne sahip olmalarından dolayı iyi bir adsorbantlar ve dermatolojik kille muamele edilen ciltte ölü derinin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlar (Dalkıç, 2004).

Kil mineralleri doğal olarak hidrofiliktir (suyu seven) ve organik moleküllerle etkileşmesi zor olmaktadır. Bu nedenle katyonik bir organik bileşikle kolaylıkla organofilik (organik bileşikleri seven) hale getirilebilir ve bu sayede MMT sumaktan elde edilecek olan organik bileşikler kolayca tabakalarının arasına alarak oluşturacağı nanokompozit uygulandığı yüzeyde geniş bir alanda etki gösterme kapasitesine sahip olacaktır. Kuarterner amonyum bileşikler organofilik kil sentezinde başarı ile kullanılmaktadır (Ganguly, 2011).

Kil mineralleri sulu alüminyum fillosilikatlar (örneğin kaolin, $Al_2Si_2O_5(OH)_4$) olup yapılarında değişken miktarlarda demir, magnezyum, alkali metaller, alkali topraklar ve diğer katyonlar içerir. Killer, elde edilmesinin kolay olması, düşük maliyeti ve yüksek adsorpsiyon kapasitesi nedeniyle doğal bir adsorban olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Doğada çok sayıda kil minerali bulunmasına rağmen genellikle kaolin, montmorillonit (MMT) ve zeolit daha fazla ön plana çıkmaktadır (Uddin, 2017). Birçok kil minerali arasında Şekil 1'de görselleri görülen MMT, net negatif yüzey yükü nedeniyle en yaygın kullanılan doğal adsorbantlardan biridir ve katyonik bileşiklerin uzaklaştırılmasında oldukça etkilidir (Toor, 2015). Ancak doğal MMT'nin adsorpsiyon kapasitesi doğrudan MMT'nin kimyasal bileşimi, spesifik yüzey alanı, katyon değişim kapasitesi ve katman yükü ile ilişkili olduğundan adsorpsiyon kapasitesini arttırmak için bazı modifikasyonların yapılması gerekmektedir (Zhou, 2011). Bu modifikasyonlar arasında asit aktivasyonu (Mills, 1950), termal aktivasyon (Taher, 2018), katyonik yüzey aktif madde bileşikler ile muamele, ara katmanların yerinde polimerizasyonu, anyonik organik ve inorganik bileşiklerin bağlanması veya organik bileşiklerin aşılması gibi yöntemler en yaygın olanlardır (Huang, 2017).



Resim 1. Montmorillonit (MMT) mineralinin tabakalı yapısı ve öğütülmüş hali (Fu, 2019)
Figure 1. Layered structure and ground form of montmorillonite (MMT) mineral (Fu, 2019)

Şifalı bitkiler ve baharatlar içerdikleri flavonoidler, vitaminler, esansiyel yağlar ve mineral madde içeriklerinden dolayı ilk çağlardan beri özellikle başta Asya kıtasında olmak üzere hemen hemen her toplumda yaygın olarak kullanılmaktadır. Sumak (*Rhus*) da Akdeniz mutfağında kullanılan yaygın olarak kullanılan en sağlıklı baharatlar arasında yer alır. Yemeklere ekşi bir aroma kazandırmanın yanı sıra diğer tüm baharatlara göre içerdiği antioksidanlar, vitaminler, yağ asitleri ve mineral madde bakımında son derece zengin ve çeşitli olmasından dolayı olağanüstü bir biyoaktif etkiye sahip olup antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antifibrojen, hipoglisemik ve antimikrobiyal özellik göstermektedir (Kossah, 2009). Ve sumak bu özelliklerinden dolayı bir baharat olmaktan çok daha fazlasını hak etmektedir.

Biyoaktif (biyoetken) kavramı canlı bir organizmayı etkileyebilme becerisi olarak tarif edilmektedir. Sumağın sulu ve etanolik ekstraktları da *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris* ve *Shigella flexneri* gibi gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı güçlü bir antimikrobiyal etki göstermektedir (Fazeli, 2007). Sumağın (Şekil 2'de görülen) meyve ve yapraklarının kimyasal madde içeriği tüm baharatlara oranla çok daha fazla esansiyel yağ (β -caryophyllene%16,95, patchoulane %23,87), terpenler (α -pinene, β -caryophyllene), tannenler (gallotannins), organik asitler (malik, sitrik, tartarik, süksinik, fumarik ve askorbik asit), flavonoidler, tokoferoller ve steroller içermektedir (Ravindran, 2012; Matthaus, 2015).

Derimiz vücudumuzu dış çevreye karşı çevreye kaplayan ve diğer organlarımıza göre mikroorganizmalar ile devamlı temas halinde olan en büyük organımızdır. Bu yoğun mikroorganizma temasına karşın, birçok koruyucu faktör nedeni ile cildimizde kolay kolay bakteriyel

enfeksiyon gelişimi gözlenmez. Ancak, koruyucu mekanizmalarının herhangi birinde bozulma yaratan bir durum varlığında bakteriyel enfeksiyon bulguları ortaya çıkar. En sık gözlenen etkenler gram pozitif bakteri olan streptokoklar ve stafilokoklardır (Gül, 2016). Derinin mikroorganizmalara karşı göstermiş olduğu koruyucu faktör değiştiğinde örneğin, beslenme şekli, giyim alışkanlıkları ve temizlik alışkanlıkları gibi faktörler değiştiğinde deride yoğun bir şekilde *Staphylococcus aureus* üremeye başlar (Aksaray, 2009).

Bu çalışmanın amacı doğal bir kil minerali olan montmorillonit ve eski çağlardan beri Anadolu'da baharat olarak kullanılan sumak özütünü kullanarak dermatolojik olarak kullanılacak biyoaktif organofilik kil nanokompozit sentezidir.

Kozmetik sektöründe ve bilimsel literatürde montmorillonitik kilin dermatolojik ve tıbbi amaçlı kullanımına dair çok sayıda ürün ve çalışma görülmektedir (Viseras, 2024). Ancak, sumağın tüm diğer baharatlardan daha fazla sahip olduğu kendine özgü biyoaktif özelliği ile organofilik montmorilloniti içeren bir ürün ya da bilimsel bir çalışma mevcut değildir. Çalışmada, en önemli tabakalı kil mineralleri arasında olan, biyoyoumluluk ve absorpsiyon kapasitesi en iyi olan ve birçok alanda uygulanma imkânı bulan montmorillonit kil mineralinin dermatolojik amaçla kullanımında etkinliğini daha da artırmak için önce organofilik yapılmış, sonra sumak ekstarktı ile biyoaktif nanokompoziti hazırlanmış ve daha sonra da cilde uygulama kolaylığını sağlamak amacıyla FDA (Food and Drug Administration) onaylı PEG-400 ile muamele edilmiştir. Yapılan bu işlemlerle dermatolojik amaçla kullanılacak bu biyoaktif organofilik montmorillonit nanokompozitinin cilde daha iyi yapışması, cilt yüzeyindeki yağ, bakteri ve toksinleri daha etkili bir şekilde alması amaçlanmıştır.



Resim 2. Sumak bitkisi ve öğütülmüş baharatı
Figure 2. Sumac plant and ground spice

Derimiz vücudumuzu dış çevreye karşı çepçevre kaplayan ve diğer organlarımıza göre mikroorganizmalar ile devamlı temas halinde olan en büyük organımızdır. Bu yoğun mikroorganizma temasına karşın, birçok koruyucu faktör nedeni ile cildimizde kolay kolay bakteriyel enfeksiyon gelişimi gözlenmez. Ancak, koruyucu mekanizmalarının herhangi birinde bozulma yaratan bir durum varlığında bakteriyel enfeksiyon bulguları ortaya çıkar. En sık gözlenen etkenler gram pozitif bakteri olan streptokoklar ve stafilokoklardır (Gül, 2016). Derinin mikroorganizmalara karşı göstermiş olduğu koruyucu faktör değiştiğinde örneğin, beslenme şekli, giyim alışkanlıkları ve temizlik alışkanlıkları gibi faktörler değiştiğinde deride yoğun bir şekilde *Staphylococcus aureus* üremeye başlar (Aksaray, 2009).

Bu çalışmanın amacı doğal bir kil minerali olan montmorillonit ve eski çağlardan beri Anadolu'da baharat olarak kullanılan sumak özütünü kullanarak dermatolojik olarak kullanılabilir biyoaktif organofilik kil nanokompozit sentezidir.

Kozmetik sektöründe ve bilimsel literatürde montmorillonitik kilin dermatolojik ve tıbbi amaçlı kullanımına dair çok sayıda ürün ve çalışma görebilmekteyiz (Viseras, 2024). Ancak, sumağın tüm diğer baharatlardan daha fazla sahip olduğu kendine özgü biyoaktif özelliği ile organofilik montmorilloniti içeren bir ürün ya da bilimsel bir çalışma mevcut değildir. Çalışmada, en önemli tabakalı kil mineralleri arasında olan, biyoyoumluluk ve absorpsiyon kapasitesi en iyi olan ve birçok alanda uygulanma imkânı bulan montmorillonit kil mineralinin dermatolojik amaçla kullanımında etkinliğini daha da artırmak için önce organofilik yapılmış, sonra sumak ekstarktı ile biyoaktif nanokompoziti hazırlanmış ve daha sonra da cilde uygulama kolaylığını sağlamak amacıyla FDA (Foodand Drug Administration) onaylı PEG-400 ile muamele edilmiştir. Yapılan bu işlemlerle

dermatolojik amaçla kullanılacak bu biyoaktif organofilik montmorillonit nanokompozitinin cilde daha iyi yapışması, cilt yüzeyindeki yağ, bakteri ve toksinleri daha etkili bir şekilde alması amaçlanmıştır.

Yöntem

Kullanılan Malzemeler

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar, reaktif sınıfı %96 - %98 saflıkta Merck firmasından temin edildi. Saflaştırma ve çözeltilerin hazırlanmasında bidestile saf su kullanıldı.

Çalışmada antibakteriyel ajan kaynağı olarak sumak kullanıldı. Sumak sertifikalı bir firma olan Gurmedan Al. Firmasından temin edildi. Biyoaktivite (antimikrobiyal) testlerinde *Escherichia coli* (ES DII) ve *Staphylococcus aureus* (F6 III) suşları kullanıldı. Bu suşlar Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan (Türkiye) elde edildi.

Sumak Ekstraktı

Sumak meyvesi bir öğütücüde öğütüldü, 20'er gram tartılıp 250'er mL su, etanol ve n-hekzan ile ayrı ayrı 8 saat boyunca Şekil 3'te görülen Soxhlet ekstraksiyon düzeneğinde özütlendi. N-hekzan özütündeki, n-hekzan vakum altında uzaklaştırıldı ve elde edilen katı tekrar su/etanol çözeltisi ile özütlenerek %95 verimle gıda kalitesinde (foodgrade) sumak özütü elde edildi. Su ve etanolik ekstraktların çözücüleri de vakum altında uzaklaştırıldı. Daha sonra örnekler 110 mm filtre kağıdından filtre edildi. Filtrelenen ekstraktlar 40 °C'lik bir fırında kurutuldu. Sulu ekstraktlar distile su ile, etanolik ve n-hekzan ekstraktları ise DMSO ile çözüldü. Tüm ekstraktlar mikroorganizmayı uzaklaştırmak için 0,45 µm membran filtre ile filtrelendi ve deneylerde kullanılana kadar ışıktan korunan bir buzdolabında +4 °C'de saklandı.



Resim 3. Sumağın değişik çözücülerle Soxhlet düzeneğinde özütlenmesi

Figure 3. Extraction of sumac with different solvents in the Soxhlet apparatus.



Resim 4. Sedimentasyon yöntemiyle MMT'in saflaştırılması

Figure 4. Purification of MMT by sedimentation method

Montmorillonitin (MMT) Saflaştırılması

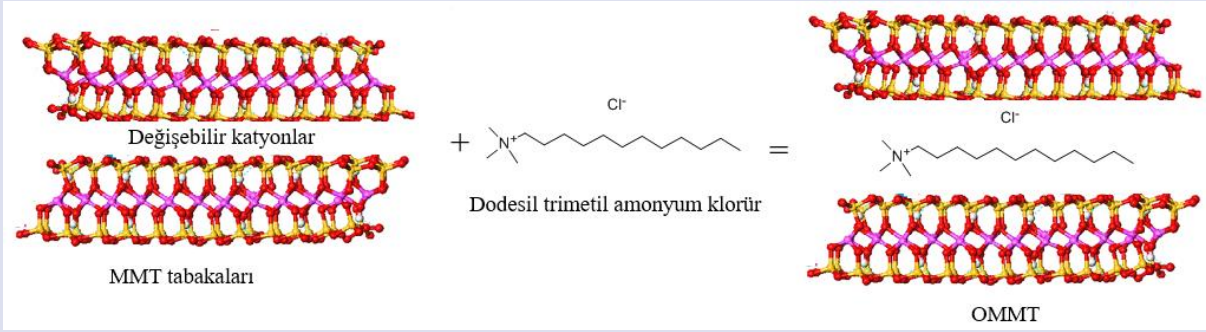
Eczacıbaşı Esan firmasından temin edilen montmorillonitten 10 g alındı ve 250 ml su içerisinde mekanik karıştırıcı ile dağıtıldı. Kil içerisindeki kireç içeriğini gidermek için 1M asetik asit ile damla damla muamele edildi. Başlangıçta bir miktar gaz çıkışı gözlemlendi ve bir süre sonra gaz çıkışı kesildi. Gaz çıkışı bitince asetik asit ilavesine son verildi. Birkaç defa saf su ile yıkandı ve yıkama suyunun asitliği pH kâğıdı ile kontrol edildi. Asitlik gidince yıkama işlemine son verildi. Sonra klasik kil saflaştırma yöntemi olan sedimentasyon yöntemi ile Şekil 4'te görüldüğü şekilde sedimentasyon büretinde saflaştırıldı (Ciftci, 2021).

Organofilik Montmorillonitin (OMMT) Hazırlanması

Kil mineralleri doğal olarak hidrofiliktir (suyu seven) ve organik moleküllerle etkileşmesi zor olmaktadır. Bu nedenle katyonik bir organik bileşikle Şekil 5'te şematik

olarak gösterildiği gibi kolaylıkla organofilik (organik bileşikleri seven) hale getirilebilir ve bu sayede sumaktan elde edilecek olan biyoaktif organik bileşikler kolayca kil mineralinin tabakalarının arasına girerek uygulandığı yüzeyde daha aktif bir etki gösterme kapasitesine sahip olacaktır. Kuarterner amonyum bileşikleri bu işi başarı ile yerine getirmektedir.

Çalışmada, Şekil 6'da görüldüğü gibi bir beherde 1,5 g MMT, 150 mL saf su içerisinde iyice dağıtıldı. Magnetik karıştırıcı ile orta devirde sürekli karıştırılan MMT üzerine 1M dodesil trimetil amonyum klorürün sulu çözeltisi damla damla eklendi. İşleme beher içerisindeki dağılmış MMT'in pamuğumsu görüntü gözlenmesine kadar devam edildi (Paiva, 2008). Saflaştırma ve kurutma işlemlerinin yapılmasından sonra karakterizasyon yapıldı ve ardından sumak ekstraktları ile nanokompozitleri hazırlandı.



Resim 5. MMT'in dodesil trimetil amonyum klorür ile interkalasyonu ile organofilik montmorillonitin (OMMT) hazırlanma işleminin şematik gösterimi

Figure 5. Schematic representation of the preparation process of organophilic montmorillonite (OMMT) by intercalation of MMT with dodecyl trimethyl ammonium chloride.



Resim 6. MMT'in dodesil trimetil amonyum klorür ile organofilik montmorillonitin (OMMT) hazırlanma işlemi

Figure 6. Preparation process of organophilic montmorillonite (OMMT) with dodecyl trimethyl ammonium chloride

OMMT-Sumak Özütleri ile Biyoaktif Nanokompozitlerin Hazırlanması ve Biyoaktivite Testleri

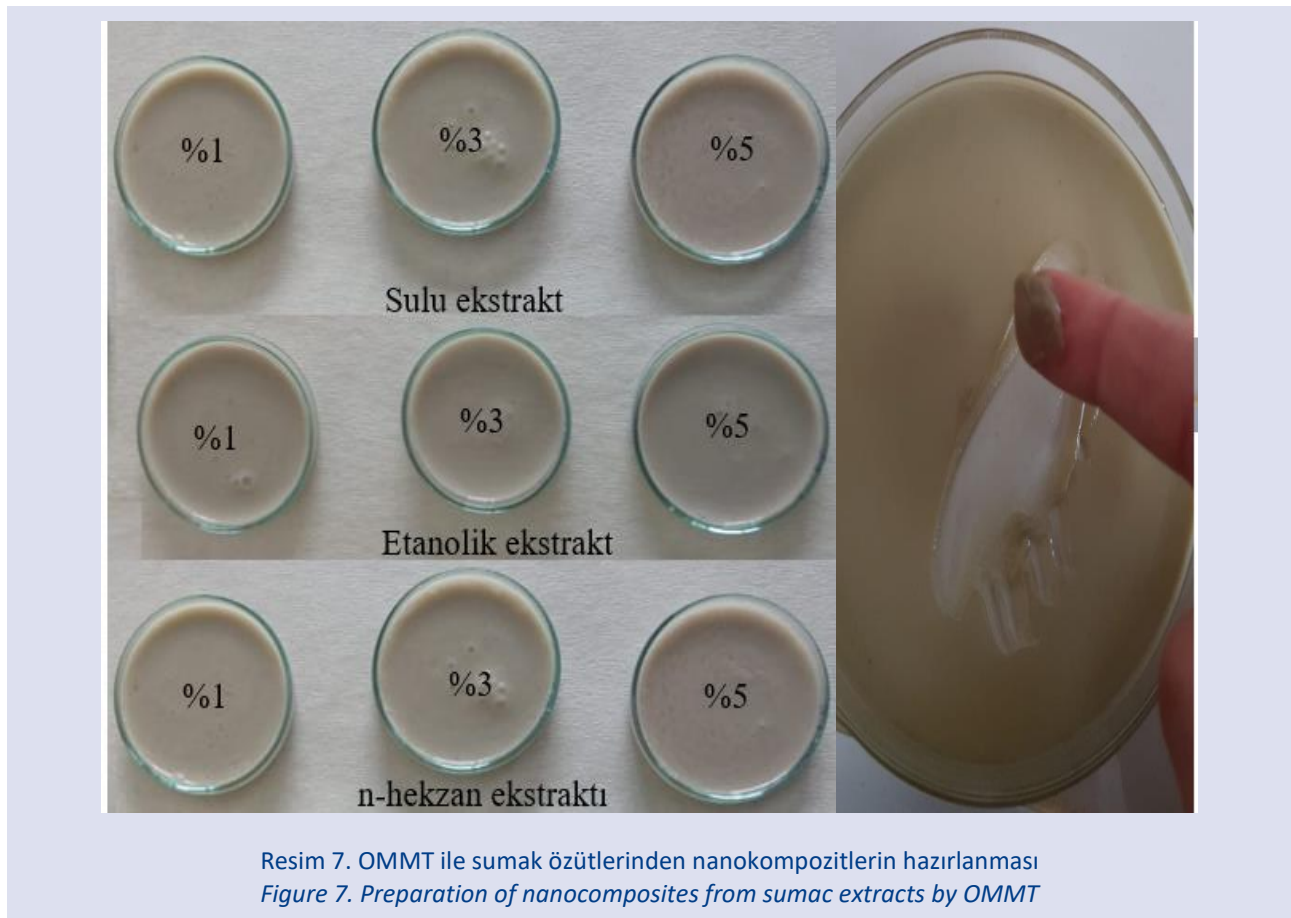
Bölüm 2.3'te anlatıldığı şekilde hazırlanan OMMT'den 1'er g alınarak Tablo 1'de gösterilen oranlarda kilin %1; %3 ve %5'i oranlarında sumak özütleri katılarak Şekil 7'de görüldüğü gibi biyoaktif kil örnekleri sentezlendi. Sumak meyvelerinden elde edilen ve farklı çözücülerle (n-hekzan, distile su ve etanol) hazırlanan ekstraktların ve ekstrakt yüklenen OMMT nanokompozitlerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile ölçüldü. Bu çalışmada kullanılan tipik cilt bakteriyel kontaminantları *E. coli* ve *S. aureus*'tur. Bakteri kültürleri beyin kalp infüzyon suyu (BHIB) besiyerinde 37 °C'de inkübe edildi. Antimikrobiyal

aktiviteler ölçülmeden önce, 0,1 mL bakteri kültürü 20 mL yeni BHIB besiyerine ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri 1,2 mm çapında kâğıt diskler kullanılarak belirlendi ve ekstrakt yüklenen mikrokompzitolerin antimikrobiyal aktiviteleri boş antibiyogram diskleri kullanılarak gerçekleştirildi. Diskler 10 µL antimikrobiyal madde ile empenye edildi. Hazırlanan diskler, daha önce 10⁴ -10⁵ CFU/mL *S. aureus* ve *E. coli* içeren 0,1 mL inokulum ekilmiş beyin kalp infüzyon agar plakalarına yerleştirildi. Plakalar daha sonra 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edildi. Yüklenen diskleri çevreleyen inhibitör zonun çapı ölçüldü.

Tablo 1: OMMT ile sumak özütlerinden hazırlanan nanokompozitlerin bileşimi

Table 1: Composition of nanocomposites prepared from sumac extracts by OMMT

Örnek No	OMMT (1g) (%)	Sulu ekstrakt (%)	Etanolik ekstrakt (%)	n-hekzan ekstraktı (%)	PEG-400 (0,1g)
G-0	100	-	-	-	+
G-1	99	1	-	-	+
G-2	97	3	-	-	+
G-3	95	5	-	-	+
G-4	99	-	1	-	+
G-5	97	-	3	-	+
G-6	95	-	5	-	+
G-7	99	-	-	1	+
G-8	97	-	-	3	+
G-9	95	-	-	5	+



Bulgular

MMT'nin Mineralojik Karakterizasyonu

Çalışmada kullanılan MMT Eczacıbaşı ESAN firmasından bedelsiz olarak temin edilmiş, Tablo 2 ve Tablo 3'te verilen kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları firmadan alınmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Karakterizasyonu

SEM, malzeme karakterizasyonunda son derece önemli bir yere sahip olan ve nanoteknolojisinin ilerlemesinde güçlü ve çok yönlü bir araçtır. Bu çalışmada da SEM, MMT- dodesil

trimetil amonyum klorür (OMMT) nanokompozitlerinin interkalasyon yöntemiyle hazırlanmasının karakterizasyonu amacıyla kullanılmıştır. MMT tabakalı yapıya sahip bir kil minerali olup Şekil 8 (a)'daki SEM görüntüsünden açıkça görülmektedir. MMT su ile kolayca şişip tabakaları arasındaki iyonları değiştirebilmektedir. Bu çalışmada da MMT'nin tabakaları arasında bulunan Na iyonları dodesil trimetil amonyum klorür ile yer değiştirerek MMT'nin tabakaları arasına girmiştir. Bu durum, Şekil 8 (b)'deki SEM görüntüsünde, MMT yaprakçıklarının açılmasından görülmektedir.

Tablo 2: MMT'nin kimyasal analiz sonuçları

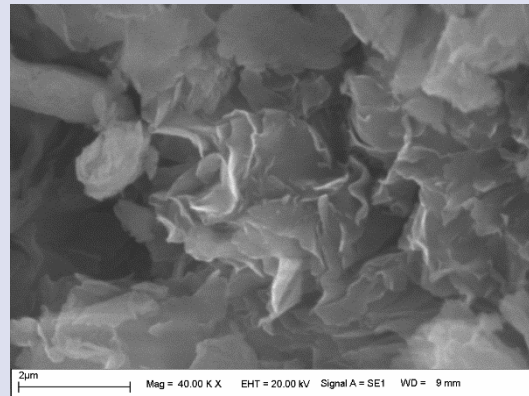
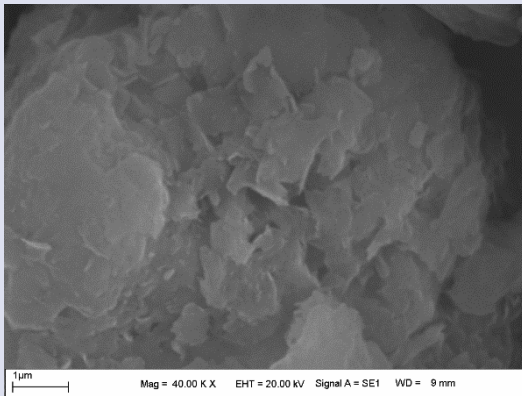
Table 2: Chemical analysis results of MMT

Kimyasal Analiz	%
Isıtma kaybı (L.o.I)	6,50 ± 1,00
SiO ₂	73,00 ± 1,50
Al ₂ O ₃	13,00 ± 1,00
Fe ₂ O ₃	0,70 ± 0,10
TiO ₂	0,05 ± 0,02
CaO	1,10 ± 0,30
MgO	3,00 ± 0,20
Na ₂ O	0,25 ± 0,05
K ₂ O	1,10 ± 0,20

Tablo 3: MMT'nin fiziksel özellikleri

Table 3: Physical properties of MMT

Fiziksel Özellikler		
Katyon değişim kapasitesi	(meq/100gr)	85,0 ± 5,0
Şişme	(ml/2 gr)	12,0 ± 2,0
Sedimentasyon (72 saat)	(ml)	15,0 ± 5,0
Sinterleşme noktası	(°C)	1200
Yığın yoğunluğu	(gr/lit)	800 ± 30
Topaklanma testi		Pozitif
Topak ağırlığı	(gr)	55 ± 5
Su emme	(%)	90 ± 5
Su emme süresi	(sec)	Max. 65
Ağartma-Orijinal	Tonsil Equivalent	0,6
Ağartma-asit aktive		0,7
pH (8% katı)		8,5
Grit içeriği (+75 mm)	(%)	<4
Renk		Beyaz
Açıklık-Koyuluk		94,0 ± 1,0
Rutubet/nem	(%)	<30



Resim 8: (a) MMT ve (b) OMMT'nin SEM görüntüsü
Figure 8: SEM image of (a) MMT and (b) OMMT

MMT ve OMMT Nanokompozitinin Termal Karakterizasyonu

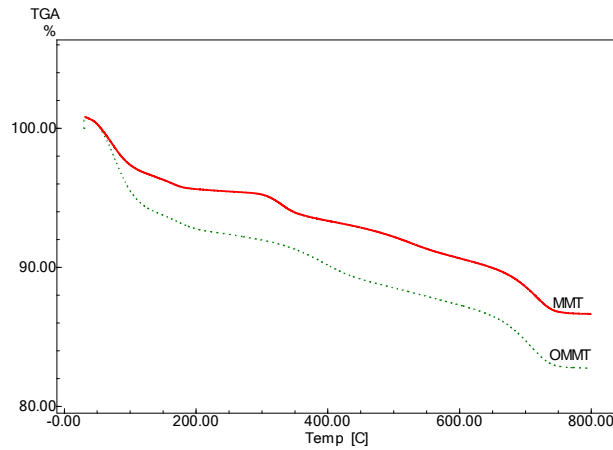
Termal Analiz, bir madde ısıtma veya soğutma şeklinde, kontrollü bir sıcaklık programına tabi tutulurken maddede meydana gelen değişimleri belirleyen analiz yöntemleri tekniğidir. Teknik, bir malzeme veya bir madde hakkında nispeten kısa bir süre içinde güvenilir ve kapsamlı bilgi sağladıkları için endüstrinin her dalında kullanılabilen analiz yöntemleri grubudur. Bu tekniklerden, Termogravimetrik Analiz (TGA) bir maddeye uygulanan programlı ısıtmaya bağlı olarak kütle kaybı veya kazancını belirleyen bir tekniktir. Bu çalışmada TGA ve MMT ve OMMT'nin termal özelliklerini araştırmak için kullanılmıştır.

Şekil 9'da MMT ve OMMT nanokompozitinin TGA termogramları görülmektedir. Killer, türüne bağlı olmakla birlikte, tabakalar arasındaki hidroksil gruplarının sayısına ve bağlanma kuvvetine bağlı olarak 350-450 °C arasında dehidroksilasyona uğrarlar. Bu da TGA'da kütle kaybı

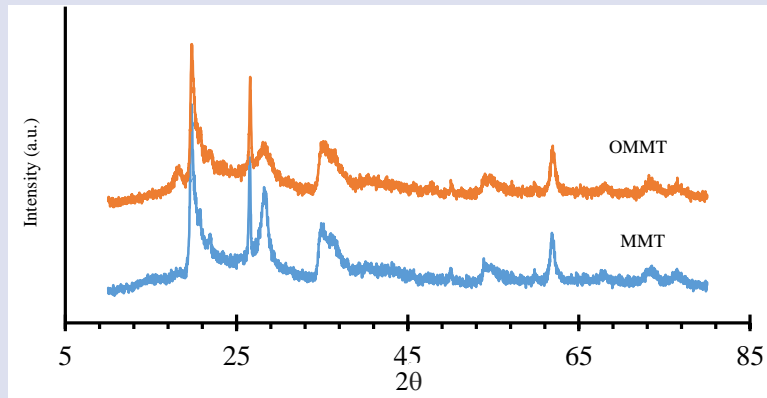
olarak görülür. Bu termogramlar MMT için karakteristiktir. MMT'nin dodesil trimetil amonyum klorür ile interkalasyonunda tabakalar arasındaki hidroksil gruplarına dodesil trimetil amonyum klorür koordine olmuş ve MMT'ye ait 350-400 °C aralığında görülen dehidroksilasyon kaybı OMMT'de görülmemekle birlikte daha yüksek sıcaklıklarda organik grupların kaybı meydana gelmiştir.

MMT ve OMMT Nanokompozitin X-Işınları Kırınımı Kristalografisi (XRD)

XRD killer için önemli bir karakterizasyon yöntemidir. MMT'de tabakalar arası mesafeyi gösteren 2θ , 28° 'deki 001 piki karakteristiktir. Şekil 10'da MMT ve OMMT nanokompozitine ilişkin XRD difraktogramından görüldüğü gibi, tabakalar arasına dodesil trimetil amonyum klorürün girmesiyle tabakalar arasındaki artış 001 pikinin şiddetini azaltmıştır.



Resim 9: MMT ve OMMT'nin TGA termogramı
Figure 9: TGA thermogram of MMT and OMMT



Resim 10: MMT ve OMMT'nin XRD difraktogramı
Figure 10: XRD diffractogram of MMT and OMMT

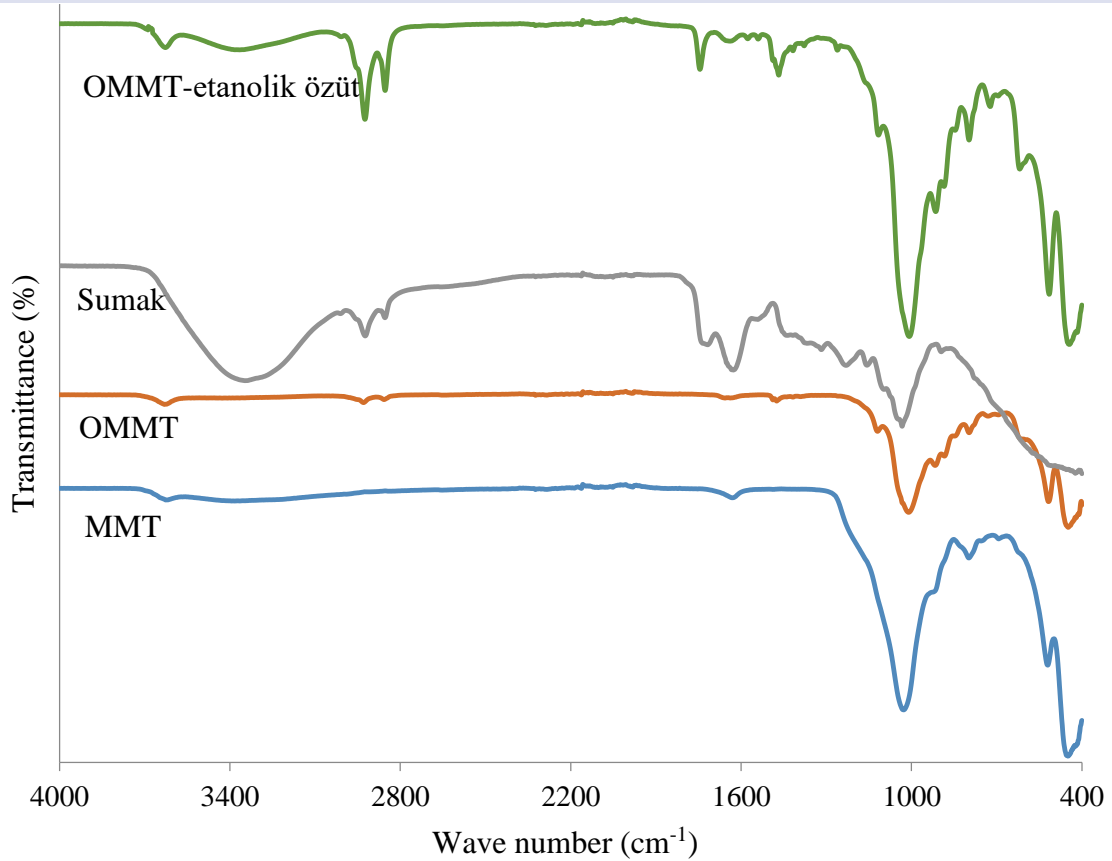
MMT ve OMMT Nanokompozitinin FT-IR Karakterizasyonu

Fourier transform infra red spektroskopi (FT-IR) kullanımı kolay, kısa sürede etkili ve doğru sonuç veren ve madde tüketmeyen en yaygın kullanılan malzeme karakterizasyon yöntemlerinden biridir. Bu çalışmada da FT-IR hem motmorillonitik kil (MMT) hem de OMMT nanokompozitlerin karakterizasyonu amacıyla kullanılmıştır. Şekil 11’de sumak, MMT, OMMT ve OMMT-sumak özüt nanokompozitlerinin FT-IR spektrumu görülmektedir. MMT spekturumunda 3500-3600 cm^{-1} arasında MMT’in tabakalar arası -OH gruplarına ait gerilme ve 1640 cm^{-1} civarında eğilme titreşimleri görülürken OMMT nanokompozit spektrumunda bu piklerin şiddetinin azalmış olması dodesil trimetil amonyum klorürün MMT’in tabakaları arasına girerek aktif -OH gruplarıyla etkileştiğini göstermektedir. Ayrıca dodesil trimetil amonyum klorüre ait 2600-2800 cm^{-1} arasındaki -CH₂- gerilme pikleri organik türlerin MMT tarafından başarıyla interkale edildiğini ve nanokompozitin başarıyla sentezlendiğini göstermektedir.

Sumak özütüne ait FT-IR spektrumunda 3300-3400 cm^{-1} aralığında organik asitlerin hidroksil grupları, 2800-2900 cm^{-1} aralığında aromatik ve alifatik C-H grupları ve 1650-1700 cm^{-1} aralığında ise organik türlerin gerilme titreşimlerine ait pikler görülmektedir. Aynı pikler, OMMT-sumak özütü nanokompozitinde de oransal bileşimine bağlı olarak değişik boyutlarda ancak beklenen yerlerde görülmektedir.

Biyoaktif OMMT nanokompozitlerinin antimikrobiyal etkisi:

Bölüm 2.3’te anlatılan protokole göre yapılan biyoaktivite testlerine ilişkin sumak meyvesinden elde edilen ve farklı çözücülerle (n-hekzan, su ve etanol) hazırlanan ekstraktlar ile yapılan nanokompozitlerinin *E. coli* ve *S. aureus*’a karşı antimikrobiyal aktivite çalışmalarına ilişkin görseller Şekil 12’de görülmekte, sonuçlar ise Tablo 4 ve Tablo 5’te gösterilmiştir. DMSO kontrol olarak kullanılmış ve inhibisyon zon çapı gözlenmemiştir.



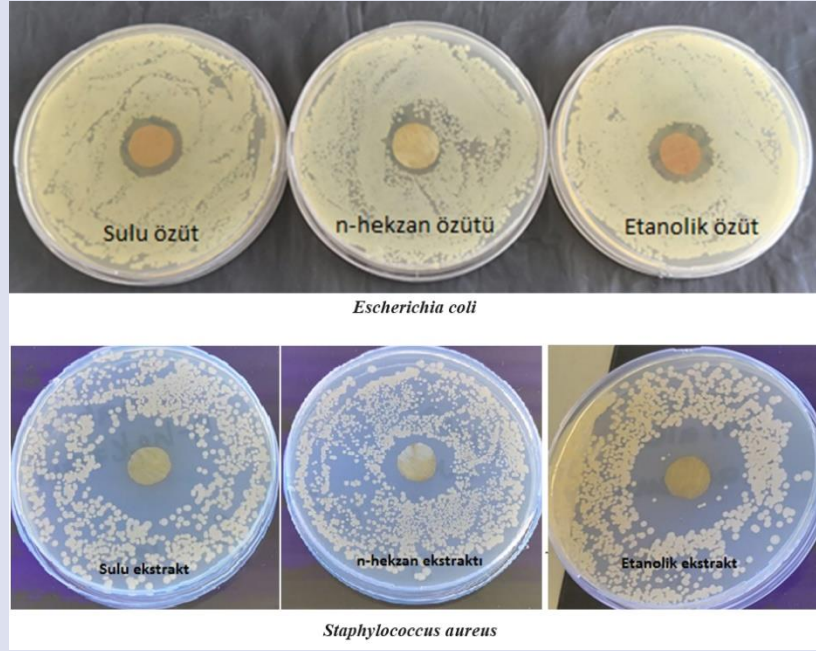
Resim 11: MMT ve OMMT nanokompozitlerinin FT-IR spektrumu
Figure 11: FT-IR spectrum of MMT and OMMT nanocomposites

Tablo 4. Farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri.
Table 4. Antimicrobial activities of extracts prepared in different solvents against tested microorganisms.

Antimikrobiyal ajan	Ekstraksiyon tipi	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
DMSO	Kontrol	-	-
Sumak	Su	++	+++
	n-hekzan	+	++
	Etanol	++	+++

Değerler 5 analizin ortalaması olarak ifade edildi.

-, tespit edilmedi; +: inhibisyon zonunun çapı < 3 mm; ++: inhibisyon zonunun çapı 3-6 mm ve +++: inhibisyon zonunun çapı 6-12 mm.



Resim 12. Biyoaktif OMMT nanokompozitlerinin antimikrobiyal test çalışması görselleri (%3 sumak özütleri içeren görsel için seçildi)

Figure 12. Antimicrobial test study images of bioactive OMMT nanocomposites (selected for the image containing 3% sumac extracts)

Tablo 5. Farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri.
Table 5. Antimicrobial activities of extracts prepared in different solvents against tested microorganisms.

Bakteri	Baharat	Ekstraksiyon tipi	Örnek	Sumak özütü (%)	Antimikrobiyal aktivite (mm)
<i>E. coli</i>	Sumak	Su	G-1	1	5.8 ± 0.4
			G-2	3	6.0 ± 0.7
			G-3	5	8.4 ± 0.5
		Etanol	G-4	1	9.7 ± 0.8
			G-5	3	10.5 ± 0.3
			G-6	5	8.9 ± 0.7
		n-hekzan	G-7	1	3.2 ± 0.6
			G-8	3	4.0 ± 1.1
			G-9	5	4.2 ± 0.5
<i>S. aureus</i>	Sumak	Su	G-1	1	9.4 ± 0.5
			G-2	3	10.6 ± 0.8
			G-3	5	10.2 ± 0.4
		Etanol	G-4	1	11.6 ± 0.5
			G-5	3	11.8 ± 0.2
			G-6	5	12.4 ± 0.1
		n-hekzan	G-7	1	7.1 ± 0.3
			G-8	3	8.3 ± 0.4
			G-9	5	6.9 ± 0.7

Antimikrobiyal aktivite testleri için farklı kompozisyonlar içeren nanokompozitlere ilişkin veriler Tablo 5’te verilmektedir.

Sonuç

Elde edilen bulgulara göre MMT kili başarılı bir şekilde organofilik hale getirildi ve sumanın farklı çözgenlerle elde edilen özütleri başarılı bir şekilde OMMT ile nanokompozit haline getirildi ve *E. Coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı etanolik ekstraktların sulu ve n-hekzan ekstraktına göre daha etkin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulundu. Sumanın tüm çözgenlerle olan ekstarksiyonların antimikrobiyal etkisi *E. Coli*’ye göre *S.aureus*’a karşı daha etkin olduğu gözlemlendi.

Kaynaklar

- Aksaray, S. (2009). Toplum Kaynaklı ve Nozokomiyal Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonlarından İzole Edilen *Staphylococcus Aureus*’ların Mlsb Direnci ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları. T. C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık tezi.
- Camargo, P.H.C.; Satyanarayana, K.G.; Wypych, F. (2009) Nanocomposites: Synthesis, Structure, (Zataria multiXora) against some food-borne bacteria. Food Control 18, 646–649.
- Ciftci, H. (2021). An Introduction to Montmorillonite Purification. Book chapter from Montmorillonite Clay edited by Faheem Uddin. Doi. 10.5772/intechopen.92926.
- Dalgıç, A., Kavak, O., (2004). “Kil Mineralleri ve Sağlık” Dicle Tıp Dergisi 31,73-78.
- Erkin, G., Boztepe, G. (2004). “Akne vulgaris” Hacettepe Tıp Dergisi; 35:207-211.
- Fazeli, M.R.; Amin, G.; Attari, M.M.A.; (2007). Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. Food Control. 18, 646-649.
- Fu, Shaoyun; Sun, Zheng ant et al. (2019). Some basic aspects of polymer nanocomposites: A critical review. Nano Materials Science. 1, 2-30.
- Ganguly, S.; Dana, K.; and et al. (2011). Organophilic Nano Clay: A Comprehensive Review. rans. Ind. Ceram. Soc., 70 (4) 189-206.
- Ghadiri, M., Chrzanowski, W. and Rohanizadeh, R. (2013). Biomedical Applications of Cationic Clay Minerals. J. Name. 1-3
- Gül, Ü. (2016). Derinin Sık Görülen Bakteriyel Enfeksiyonları. Ankara Med J,16(1):98-114.
- Huang, Z. ; Y. Li, W. Chen, J. Shi, N. Zhang, X. Wang, Z. Li, L. Gao, Y. Zhang, Modified bentonite adsorption of organic pollutants of dye wastewater, Mater. Chem. Phys. 202 (2017) 266–276. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.09.028>.
- Kossah, R., Nsabimana C. Ant et al. (2009). Comparative Study on the Chemical Composition of Syrian Sumac (*Rhus coriaria* L.) and Chinese Sumac (*Rhus typhina* L.) Fruits. Pakistan Journal of Nutrition 8, 1570-1574.
- Matthaus, B., Özcan, M.M., (2015). Fatty acid composition, tocopherol, and sterol contents of sumac (*Rhus coriaria* L.) fruits. European Journal of Lipid Science and Technology 117(8).
- Mills, G.A. J. Holmes, E.B. Cornelius, Acid Activation of Some Bentonite Clays, J. Phys. Colloid Chem. 54 (1950) 1170–1185. <https://doi.org/10.1021/j150482a009>.
- Properties and New Application Opportunities. Materials Research, Vol. 12, No. 1, 1-39.
- Paiva, L.B.; Morales, A. R.; Diaz, F. R. V. (2008). Organoclays: Properties, preparation and applications. Applied Clay Science 42, 8–24.
- Raj, S.; Jose, S.; Sumod, U.S.; Sabitha, M. (2012). Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. J Pharm Bioallied Sci. Jul-Sep; 4(3): 186–193.
- Ravindran, P.N, Divakaran M. (2012). Handbook of Herbs and Spices (Second Edition), Volume 2.
- Taher, T.; D. Rohendi, R. Mohadi, A. Lesbani, Thermal Activated of Indonesian Bentonite as A Low-Cost Adsorbent for Procion Red Removal from Aqueous Solution, J. Pure Appl. Chem. Res. 7 (2018) 79–93. <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2018.007.02.351>.
- Toor, M.; B. Jin, S. Dai, V. Vimonse, Activating natural bentonite as a cost-effective adsorbent for removal of Congo-red in wastewater, J. Ind. Eng. Chem. 21 (2015) 653–661. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.03.033>.
- Tüzün, Y., Dolar, N. (2004). “Güncel Akne Tedavisi” Dermatose; 3, 220-229.
- Uddin, M.K. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade, Chem. Eng. J. 308 (2017) 438–462. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.029>.
- Viseras, C.; Sanchez-Espejo, R. and et al. (2024). Clays in Cosmetics and Personal-Care Products. Clays and Clay Minerals. 69, 5: clay minerals in health applications. Published online by Cambridge University Press: 01 January 2024, pp. 501-521.
- Williams, L.B., Haydel S.E. (2010). Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents. Int Geol Rev. 52(7/8): 745–770.
- Zhou, C.H. An overview on strategies towards clay-based designer catalysts for green and sustainable catalysis, Appl. Clay Sci. 53 (2011) 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2011.04.016>.