



Araştırma Makalesi – Research Article

Geliş Tarihi / Received: 04/06/2025

Kabul Tarihi / Accepted: 28/07/2025

Yayın Tarihi / Published: 30/11/2025

Hemostatik Malzemelerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Synthesis and Characterization of Hemostatic Materials

Mehmet Özler¹, Recep Yiğit^{2*}, Erdal Çelik^{3,4,5}

¹Dokuz Eylül Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/ Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı/ İzmir, Türkiye/mkaanozler@gmail.com/<https://orcid.org/0000-0003-0150-0560>

^{2*}Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi/ Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu/ Motorlu Araçlar ve Ulaştırma Teknolojileri Bölümü/ Ankara, Türkiye/recep.yigit@aybu.edu.tr/<https://orcid.org/0000-0002-6263-0636>

³İstanbul Teknik Üniversitesi/ Makine Mühendisliği Fakültesi/ Makine Mühendisliği Bölümü/ İstanbul, Türkiye/erdalcelik@itu.edu.tr/ <https://orcid.org/0000-0002-5922-5488>

⁴Bingöl Üniversitesi/ Rektörlük/ Bingöl, Türkiye/ erdalcelik@bingol.edu.tr/ <https://orcid.org/0000-0002-5922-5488>

⁵Türk Havacılık ve Uzay Sanayii A.Ş. (TUSAŞ)/ Mühendislik Genel Müdürlüğü/ Ankara, Türkiye/ erdalcelik@bingol.edu.tr/ <https://orcid.org/0000-0002-5922-5488>

Teşekkür: Karakterizasyon çalışmaları, çalışmamızda kullanılan malzemelerin temini ve maddi destekleri için Dokuz Eylül Üniversitesi Elektronik Malzemeler Üretim ve Uygulama Merkezi (EMUM) ve TEKNOBİM firmasına teşekkür ederiz.

Etik Beyan: Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur.

Yapay Zeka Etik Beyanı: Yazar bu makalenin hazırlanma sürecinin hiçbir aşamasında yapay zekadan faydalanılmadığını; bu konuda tüm sorumluluğun kendisine(kendilerine) ait olduğunu beyan etmektedir.

Çıkar Çatışması: Çıkar çatışması beyan edilmemiştir.

Finansman: Bu araştırmayı desteklemek için dış fon kullanılmamıştır.

Lisans: CC BY-NC 4.0

Acknowledgements: We would like to thank Dokuz Eylül University Electronic Materials Production and Application Center (EMUM) and TEKNOBİM for their characterization studies, supply of materials used in our study, and financial support.

Ethical Statement: It is declared that scientific and ethical principles were followed during the preparation of this study and that all studies used are stated in the bibliography.

Artificial Intelligence Ethical Statement: The author declares that artificial intelligence was not utilized at any stage of the preparation process of this article and accepts full responsibility in this regard.

Conflicts of Interest: The author(s) has no conflict of interest to declare.

Grant Support: The author(s) acknowledge that they received no external funding to support this research.

License: CC BY-NC 4.0

Hemostatik Malzemelerin Sentezi ve Karakterizasyonu

ÖZ

Bu çalışmada, çeşitli spor dallarındaki travmatik durumlarda, trafik kazalarında ve tıbbi müdahale olmaksızın hemen her durumda kullanılan yüksek uygulanabilirliğe sahip bir hemostatik malzeme üzerinde çalışılmıştır. Hemostatik maddenin sentezlenmesi sırasında doku rejenerasyonu ve onarımı gibi önemli özelliklere sahip olan kitin ve kitosan türevleri kullanılmıştır. Dokunmamış kitin, çeşitli şekillerde kitinin fibriller formunu üretmek için işlenmiştir. Öncelikle kitin nanofibril çözeltileri hazırlanmış ve sprey, jel ve toz numuneleri bakımından giriş malzemeleri olarak tanımlanmıştır. Böylece kitosan saflaştırma işlemlerine tabi tutulmuş ve daha sonra kitosan tuzlarını elde etmek amacıyla fizyolojik bakımından uyumlu olabilecek asitlerle çözündürülmüştür. Elde edilen çözeltilere ilave olarak kan durdurma aşamalarında mühim etkileri olabilecek koagülasyon unsurları da dâhil edilmiştir. Son olarak hemostatik malzemeler İndüktif Eşleşmiş Plazma, Diferansiyel Termal Analiz-Termal Gravimetrik Analiz, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi, X-Işını Kırınımı, X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi ve Taramalı Elektron Mikroskopisi ile ayrıntılı olarak karakterize edilmiştir. Tüm bu parametreler tarafından üretilen hemostatik ajanın travma durumlarında yararlı bir malzeme olacağı öne sürülmüştür.

Anahtar Kelimeler – Hemostatik, Kitin, Kitosan, Kalsiyum, Kan Durdurucu

Öne Çıkanlar

- Travmatik durumlarda, trafik kazalarında ve tıbbi müdahale olmaksızın hemen her durumda kullanılan yüksek uygulanabilirliğe sahip bir hemostatik malzeme üzerinde çalışılmıştır.
- FTIR analizlerine göre, kitosan bünyesindeki aldehit yapılarında bulunan karbonil grubu sayesinde kitosan tuzları kolayca polimerize olarak travma yüzeyinde veya bölgesinde koruyucu bir film görevi görmektedir.
- Kitosan trombositleri aktive edebilir ve daha yüksek anjiyojenik yetenekle yara iyileşmesini teşvik edebilir.
- Üretilen hemostatik ajanın travma durumlarında yararlı bir malzeme olacağı öne sürülmüştür.

Synthesis and Characterization of Hemostatic Materials

ABSTRACT

In this study, a very practical hemostatic material that can be used in traumatic situations in various sports, traffic accidents, and almost any situation without medical intervention was studied. Chitin and chitosan derivatives, which have important properties such as tissue regeneration and repair, were used to synthesize the hemostatic material. The nonwoven chitin was processed to produce the fibrillar form of chitin in various ways. First, chitin nanofibril solutions were prepared and defined as input materials in terms of spray, gel, and powder samples. Thus, chitosan was subjected to purification and then dissolved in physiologically compatible acids to obtain chitosan salts. In addition to the solutions obtained, elements that could have significant effects in the blood stasis phases were also included. Finally, the hemostatic materials were characterized in detail by Inductively Coupled Plasma, Differential Thermal Analysis-Thermal Gravimetric Analysis, Fourier Transform Infrared Spectrometry, X-Ray Diffraction, X-Ray Photoelectron Spectroscopy, and Scanning Electron Microscopy. It is suggested that the hemostatic agent produced by all these parameters will be a useful material in trauma situations.

Keywords - Chitin, Chitosan, Calcium, Blood Stopping

Highlights

- A hemostatic material with high applicability used in traumatic situations, traffic accidents and in almost all situations without medical intervention has been studied.
- According to FTIR analysis, chitosan salts easily polymerize and act as a protective film on the trauma surface or area, thanks to the carbonyl group in the aldehyde structures within chitosan.
- Chitosan can activate platelets and promote wound healing with higher angiogenic ability.
- It has been suggested that the hemostatic agent produced will be a useful material in trauma situations.

I. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre günümüzde travmatik yaralanmalar 44 yaşın altındaki kişilerde önde gelen ölüm nedenidir ve bu yaralanmalardan kaynaklanan ölümlerin %39'unu kontrolsüz kanamalar oluşturmaktadır. Kanama ya da hemoraji, hızı ve süresi ne olursa olsun kanın kan dolaşımına karışmasını ifade eden bir tıp terimidir. Vücut ağırlığının 1/13'ü kandır. İnsan vücudundaki kanın %20'si kanama ile kaybedilirse hayat tehlikeye girer. Bu nedenle kanamanın durdurulması hayat kurtarmak için çok önemlidir. Kılcal damar, venöz ve arteriyel olmak üzere üç tip kanama vardır. Bunlar hayatı tehdit eden ve durdurulması genellikle daha zor olan kanamalardır [1, 2].

Günümüzde beklenenden çok daha fazla kan kaybı nedeniyle daha fazla can kaybı yaşanmakta ve teknolojinin ilerlemesiyle uygulanması kolay, etkili biyomalzemelerin geliştirilmesiyle bu durumun üstesinden gelme olasılığı artmaktadır. Hayat kurtarmaya yönelik kanamayı durdurucu kimyasal ajanların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Geliştirilmesi planlanan biyomalzemeler, kalsiyum, fosfor ve polietilen glikol ile kitosanın doğal biyopolimerinden oluşan sprey, jel ve toz örnekleri gibi parametrelerin ayarlanmasıyla hedeflenen hemostatik malzemelerdir. Çeşitli nanoteknolojik yöntemlerden yararlanılan bu biyomateryal yapılar, maksimum etkinlik için optimize edilmiş üstün hemostatik ajanların yaratılmasıyla sonuçlanmayı amaçlamaktadır. Hedeflenen uygulamalar için stratejik olarak tasarlanan ve öngörülen akıllı biyomateryaller çok çeşitli özellikler sergiliyor. Biyoyumlulukları, doku rejeneratif hızlanması, enfeksiyon profilaksisi ve sezgisel yerleştirme mekanizmalarıyla vurgulanan hemostazı tetiklemek için artırılmış bir eğilim sergilerler. Bu yapısal incelik, bu biyomateryalleri, ilk tıbbi müdahale paradigmalarından ileri biyomedikal uygulamalara kadar çeşitli alanlar için çok yönlü adaylar olarak konumlandırıyor.

Hemostazın birincil amaçları kan kaybını önlemek, sağlığı ve refahı korumak, yarayı korumak ve ilk yardım sırasında etkinliği en üst düzeye çıkarmaktır. Kitosanın karakteristik bir özelliği olan anjiyosarkom birlikteliğinde yeterli granülasyon dokusu oluşumu ve ince kolajen liflerinin düzenli birikimi çalışma kapsamında tercih sebebidir. Nitekim kitin ve kitosan bazlı materyallerin temel biyokimyasal aktiviteleri şu şekildedir; polimorfonükleer hücre aktivasyonunun indüklenmesi, fibroblast aktivasyonu, sitokin üretimi, dev hücre göçü ve tip IV kolajen sentezi [3, 4].

Çeşitli kitin ve kitosan bazlı malzemeler ticari olarak mevcuttur. Bunlardan biri, aseptik koşullar altında yetiştirilen merkezi bir diatom olan thalassiosira fluviatilisteki kitin mikrofibrillerinden yapılmıştır. Fluviatilis, mikrofibriller, dalak kanaması, kardiyak kateterizasyon ve kanayan özofagus varisleri gibi hemostaz gerektiren en zorlu ve kritik koşullar altında test edilen tüm rakip ürünlerden üstündür [5]. C. Yu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada [6], CMCTS-g-PAA hidrojelini etanol ile çöktürerek gözenekli bir karboksimetil kitosan aşılı poliakrilik asit (CMCTS-g- PAA) süper emici polimer hazırlanmıştır. Sonuçlar modifiye süper emici polimerin sitotoksik olmadığını göstermektedir. G. Lalitha ve arkadaşları [7] tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, ellagik asit iyonotropik jelleşme ile hazırlanan kitosan partikülleri içinde kapsüle edilmiş ve fizikokimyasal özellikleri açısından karakterize edilmiştir. Maksimum %49'luk bir kapsülleme verimliliği elde edilmiştir. Bu çalışma, ellagik asit-kitosan sisteminin etkili bir anti-hemorajik sistem olarak potansiyelini göstermektedir.

G. Bon Kang ve arkadaşları [8] jelatin karışımı ve gözeneklilik kontrolünün sinerjik etkilerini incelemişlerdir. Jelatin karışımı kitosan nanofiber matlar yüzey morfolojisi, mekanik özellikler ve ıslanabilirlik açısından değerlendirilmiş ve bir kan pıhtılaşma çalışmasında işlevsel olarak test edilmiştir. Nanofiber matların laboratuvar koşullarında tavşan tam kanı kullanılarak kanın pıhtılaşma etkinliği, kitosan nanofiberlerinden daha üstündü. B. Matthew ve arkadaşları [9] hidrofobik olarak modifiye edilmiş kitosan üzerinde çalışmış, farklı aşırı tiplerinde köpükler ve yoğunluklar hazırlamışlar, karakterize etmişler ve itici gaz olarak dimetil eter kullanarak sprey kutularına paketlemişlerdir. S. Hu-Fan ve arkadaşları [10] tarafından rapor edilen bir çalışmada, düşük viskozitesi, küçük yüzey gerilimi ve organik çözücü ile iyi uyumluluğu nedeniyle süperkritik karbondioksit içinde porojen olarak amonyum bikarbonat partikülleri kullanarak kitosan bazlı hemostatik gözenekli süngerler hazırlamışlardır.

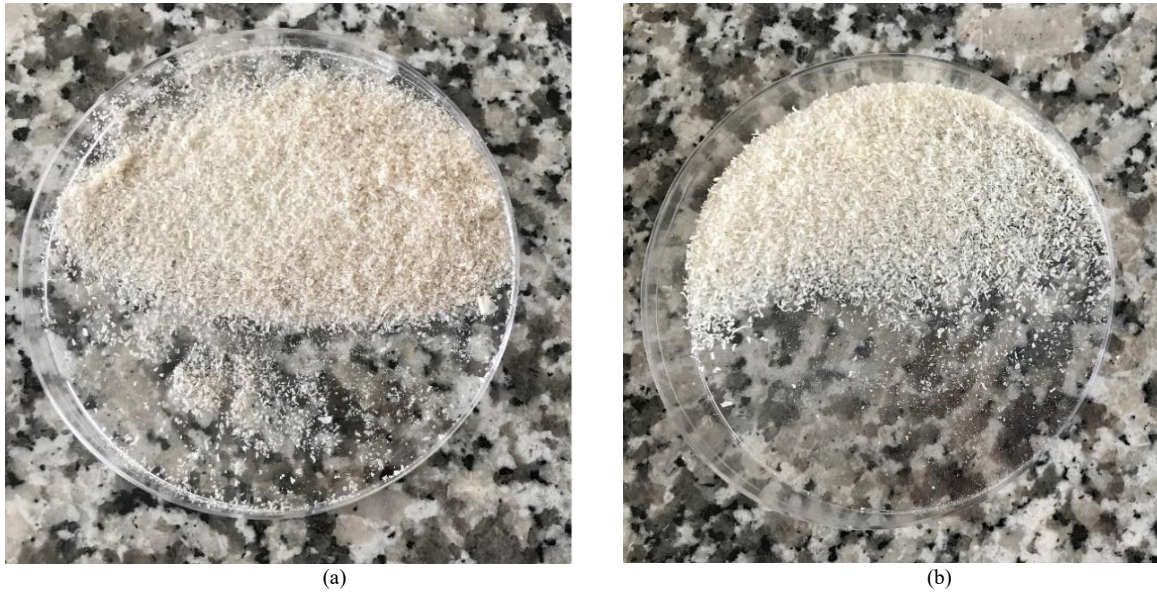
Literatür araştırması sonucunda yapılan çalışmalarda, üretilen hiçbir toz örneğinde en önemli kan durdurucu faktörlerden biri olan kalsiyumun kullanılmadığı tespit edilmiştir. Mevcut çalışmanın göze çarpan ve yaratıcı yönü, bu söylemin kapsamı dâhilinde tanımlanan, kalsiyum ile sinerji oluşturma konusunda belirgin bir eğilim sergileyen ve böylece kanı durdurma etkilerini artıran hemostatik tozların sentezinde yatmaktadır. Kitosan, kalsiyum ile birlikte pıhtılaşma mekanizmasında oldukça etkili bir rol oynar. Bu çalışmada, bu akıllı biyomalzeme, kan durdurucu etkisini artırabilen, biyoyumlu, doku onarımını hızlandıran, enfeksiyonu önleyen ve mekanik

parçalanabilirlik de onu özellikle biyomedikal alanda en umut verici dolgu maddelerinden biri haline getirmektedir. Kitin esasen hücre yapışmasını ve büyümesini destekleyen iyi bir iskele malzemesi olduğundan, asitle muamele edilmiş ürünü olan kitin nanofibril, doku mühendisliğinde iskeleyi kolaylaştırmak için hem takviye edici nanofiller hem de biyoaktif reaktif olarak hareket edebilir.

Kitinin asitle muamelesi, düşük yanal düzen bölgelerini çözerek "nanofibriller" olarak adlandırılan uzun çubuk benzeri nanoparçacıklar (diğer adıyla nanowhiskers veya nanocrystals) elde edilmesini sağlayabilir. Geleneksel asit muamelesinin yanı sıra, kitin nanofibrilleri elde etmek için mekanik muamele veya asit destekli mekanik muamele gibi, yüksek yön oranlı kitin nanofibrili, iyonik sıvı muamelesi ve TEMPO aracılı oksidasyon muamelesi elde edebilen birkaç yaklaşım daha vardır [12].

1.2. Kitosanın Saflaştırılması

Kitosan hammaddesi kalıntıları azaltmak için yıkanmış ve ardından endotoksinlerin varlığından arındırılmıştır. Bu işlem kitosan, kitosan tuzu veya kitosan türevinin bir karışım oluşturmak üzere bir alkali çözeltisi ile temas ettirilmesi yoluyla gerçekleştirilebilir. Bundan sonra, karışım kurutulmadan önce karışım süresi yaklaşık 1 dakika kadar kısa veya yaklaşık 12 saatten daha uzun olabilir. Alkali çözeltisi, pH değeri 7.5'ten büyük olan bir çözelti anlamına gelmektedir. Bu parametre göz önünde bulundurularak 1 M NaOH alkali çözeltisi hazırlanmış ve sırasıyla kitosan ($50 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$) ile 3 saat boyunca havada karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra çözelti kendisiyle birlikte kurutulmuştur. Şekil 2'de kitosanın saflaştırma işleminden önceki ve sonraki ilk ve son hallerinin fotoğrafları verilmiştir.



Şekil 2. Kitosanın (a) saflaştırma işleminden önceki ve (b) sonraki hallerinin fotoğrafları

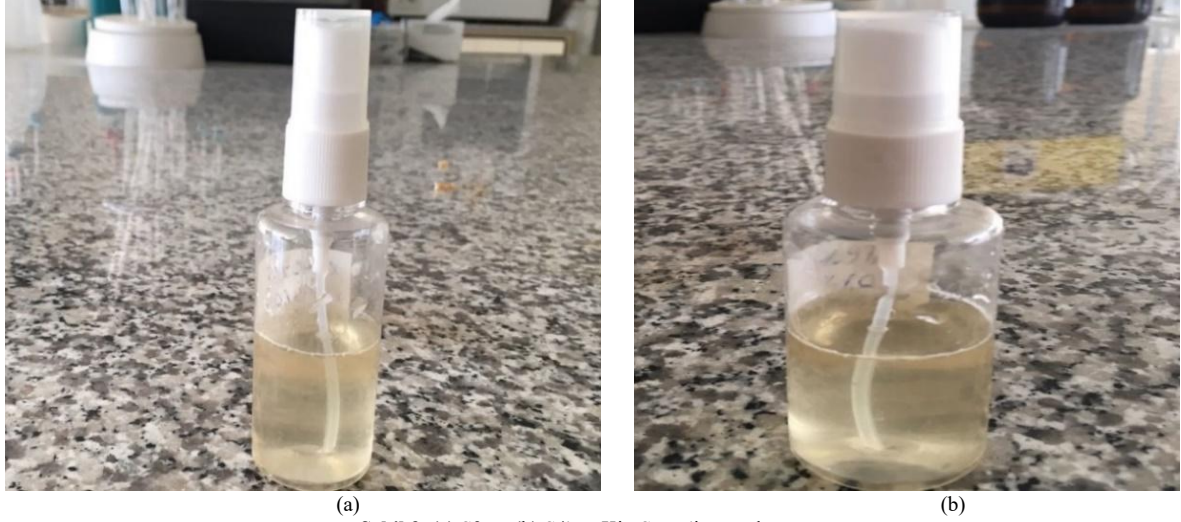
1.3. Spreyin hazırlanması

Tablo 1'de kitin nanofibrilinin hazırlanması, kitosanın kalıntılarında saflaştırılması, kitosanın kitin nanofibril ortamında fizyolojik asit ile çözülmesi ve çözültüye n-Ag ve H_2O_2 parametrelerinin eklenmesi kullanılarak KitoSprey'in S1, S2, S3 ve S4 gibi kodları, formülasyonları ve üretim parametreleri listelenmiştir. Hazırlanan kitin nanofibril süspansiyonu ve glikolik asit/asetik asit belirli oranlarda oda sıcaklığında 30 dakika boyunca havada karıştırılmıştır. Glikolik asit ve asetik asit hazırlanan tozların çözünmesi için kullanılmıştır. Karıştırma işleminden sonra çözültüye belirli miktarda kitosan ve n-Ag- H_2O_2 parametreleri eklenmiştir. Tüm parametreler, çözültü inci rengine ulaşına ve tamamen berraklaşana kadar havada 3 saat boyunca $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de karıştırılmıştır. Şekil 3, S3 ve S4'ten elde edilen KitoSprey'in son halini göstermektedir.

Tablo 1. KitoSprey'in formülasyonları ve üretim parametreleri

Kod	İçerik	Ortam	Sıcaklık ($^\circ\text{C}$)	Süre (dk.)
S1	97,5% CNF + 1% CS	Glikolik Asit % 0.75	40	180
S2	97,5% CNF + 1% CS	Asetik Asit % 0.5	40	180
S3	97,5% CNF + 1% CS + 0.5% Nanosid	Glikolik Asit % 0.75	40	180
S4	97,5% CNF + 1% CS + 0.5% Nanosid	Asetik Asit % 0.5	40	180

CNF: Kitin nanofibril ve CS: Kitosan



Şekil 3. (a) S3 ve (b) S4'ten KitoSprey'in son durumu.

2) Kitojel Üretim Yöntemi

Tablo 2, kitin nanofibrilinin hazırlanması, kitosanın kalıntılarından saflaştırılması, kitin nanofibril ortamında kitosanın fizyolojik asit ile çözülmesi ve CaCl_2 , $(\text{NaPO}_3)_6$ ve polietilen glikol (PEG) faktörlerinin eklenmesi kullanılarak KitoJel'in formülasyonlarını ve üretim parametrelerini içeren G1, G2, G3 ve G4 kodlarını ifade etmektedir.

Tablo 2. KitoJel'in kodları, formülasyonları ve üretim parametreleri

Kod	İçerik	Ortam	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)
G1	97,5% CNF + 4% CS + 0.5% Nanosid + 1% CaCl_2 + 1% $(\text{NaPO}_3)_6$ + 5% PEG	Glikolik Asit 2%	50	360
G2	97,5% CNF + 2% CS + 0.5% Nanosid + 1% CaCl_2 + 1% $(\text{NaPO}_3)_6$ + 5% PEG	Asetik Asit 1%	50	270
G3	97,5% CNF + 4% CS + 0.5% Nanosid + 1% CaCl_2 + 1% $(\text{NaPO}_3)_6$ + 5% PEG + 1% PEO	Glikolik Asit 2%	50	360
G4	97,5% CNF + 2% CS + 0.5% Nanosid + 1% CaCl_2 + 1% $(\text{NaPO}_3)_6$ + 5% PEG + 0.5% PEO	Asetik Asit 1%	50	270

PEG: Poly ethylene glycol ve PEO: Poly ethylene oxide

Sprey üretiminde daha önce anlatıldığı gibi kitosan, kitin nanofibril ortamında fizyolojik asit ile çözülmüştür. Kitosan çözülürken başka bir beherde CaCl_2 ve $(\text{NaPO}_3)_6$ distile su içinde çözülmüştür. CaCl_2 ve $(\text{NaPO}_3)_6$ çözme işleminin sonunda, karışım çözülmüş kitosan çözeltisine ilave edilmiştir. Bu karışımlar 50 °C'de 4, 5 ve 6 saat aralığında karıştırıldı. Homojen çözeltiler elde edildikten sonra, nihai çözeltiye belirli bir miktarda polietilen glikol eklendi. PEG ilavesinden sonra karışım bir hafta boyunca havada kurutma işlemi ile jelleşmeye bırakılmıştır. Şekil 4, sırasıyla G3 ve G4'ten elde edilen KitoJel'in son halini göstermektedir. Jel yapımının amacı travma bölgesine tutunmak ve bu bölgede PEG sayesinde kan durdurucu bir film oluşturmaktır.



Şekil 4. (a) G3 ve (b) G4'ten KitoJel'in son durumu.

3) Hemopowder Üretim Yöntemi

Tablo 3, kitin nanofibrilinin hazırlanması, kitosanın kalıntılarında saflaştırılması ve kitin nanofibril ortamında kitosanın fizyolojik asit ile çözülmesini kullanarak Hemopowder kodlarını (P1 ve P2), formülasyonlarını ve üretim parametrelerini listelemektedir. Hemopowder bir karışım olarak hazırlanmış ve üç ay boyunca kendisiyle birlikte havada kurutulmuştur.

Tablo 3. Hemopowder kodları, formülasyonları ve üretim parametreleri

Kod	İçerik	Ortam	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)
P1	98% (vol) CNF + 4% (wt) CS + CaCl ₂	Glikolik Asit 2% (vol)	50	180
P2	99% (vol) CNF + 2% (wt) CS + CaCl ₂	Asetik Asit 1% (vol)	50	180

Çapraz bağlı ve yüksek karbon içerikli yapısı nedeniyle karışım 50 °C'de 3 saat boyunca havada kurutulmuştur. Bundan sonra, jelleşme süreci uzun bir süre boyunca gerçekleşmiş ve ardından tozlar üretilmiştir. Şekil 5, P1 ve P2'den elde edilen Hemopowder'in son halini göstermektedir. Toz karışımında kalsiyum dışında başka faktörlerin bulunmamasının amacı, tamamen organik bir yapı elde etmek ve kitosanın çapraz bağlı yapısını travma bölgesindeki kanı emmek ve kanın durmasını sağlamak için kullanmaktır. Hemostatik malzemenin toz formu sayesinde travma veya kanama bölgesine penetrasyonu diğer formlara göre daha kolaydır.



Şekil 5. P1 ve P2'den elde edilen Hemopowder'ın son durumu.

C. Karakterizasyon Teknikleri

1) İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma (ICP)

ICP, element tayinleri için kullanılan analitik bir tekniktir. ICP testi katı ve sıvı numuneler üzerinde gerçekleştirilebilir ancak katı bir numune testten önce bir çözelti üretmek için numuneyi bir çözücüde (tipik olarak asit) çözerek sıvı forma dönüştürülmelidir. Numune çözeltisi ICP'ye ince bir damlacık aerosolü olarak verilir. Aerosol, ince bir sis oluşturmak için numuneyi yüksek hızlı argon ile aspire eden bir nebulizör tarafından üretilir. Yapılan ICP analizi ile sprey üretimi sırasında kullanılan gümüş içeriğinin üretim sonunda Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenen sınır değeri aşıp aşmadığı kontrol edilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin analizleri Thermoscientific iCAP 6000 Serisi ICP analiz cihazı ile yapılmıştır.

2) Diferansiyel Termal Analiz-Termal Gravimetrik Analiz (DTA-TGA)

Hemostatik ve tozun termal analizi, jellerin ayrışma davranışı hakkında bilgi edinmek ve termal işlemi buna göre ayarlamak için Perkin Elmer Simultaneous Thermal Analyzer STA6000 DT analiz cihazı kullanılarak incelenmiştir. Sıcaklığa bağlı olarak jel ve tozdaki işlem optimizasyonuna ilişkin daha kesin veriler DTA-TG analizinden sonra elde edilmiştir. Termal veriler, cihazlarla birlikte verilen TA60 yazılım programı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu deneyde, ısıtma rejimi 25 °C'den 600 °C'ye kadar 10 °C/dk. olarak seçilmiştir. Üretilen hemostatik malzemenin jelleşmesi, kurutulması ve depolanması için gerekli sınır sıcaklıklar belirlenmiştir. Malzeme üretildikten sonra faz dönüşümü ve camsı geçiş sıcaklıkları belirlenmiştir.

3) Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR)

FTIR, ilgilenilen organik veya inorganik malzemelerin çeşitli kızılötesi ışık dalga boylarının emilimini ölçmek için kullanılır. Kızılötesi absorpsiyon bantları spesifik moleküler bileşenleri veya yapıları tanımlar ve kızılötesi rejimde frekanslar gösteren kimyasal bağın titreşim hareketleri nedeniyle hemostatik jel ve tozun kimyasal bağlanma bilgilerini sağlar. Zayıflatılmış Toplam Yansıtma (ATR) tekniği, kızılötesi analizlerin en zorlu yönleri olan numune hazırlama ve spektral tekrarlanabilirlikle mücadele ettiği için katı ve sıvı numune analizlerinde devrim yaratmıştır. Tüm jel ve toz numunelerinin kızılötesi spektrumları Perkin Elmer Spectrum BX cihazı ile kaydedilmiştir.

ATR cihazı ile 4000 ile 650 cm^{-1} spektrum aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte üretilen hemostatik malzemenin bağ yapıları ve oluşan bileşikler tespit edilmiştir. Bu analizler sonucunda kullanılan hammaddelerin ne gibi değişikliklere uğradığı ve ne gibi bileşikler ürettiği de belirlenmiştir. Hemostatik malzemelerin analizi Thermoscientific NICOLET iS10 FTIR analiz cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

4) X-Işını Kırınımı (XRD)

XRD, tozlar ve kristaller gibi her türlü malzemeyi analiz etmek için kullanılan birincil tekniklerden biridir. XRD, kristal yapı ve yapısal fazlar hakkında bilgi sağlayabilir. Hemostatik tozların yapısal özelliklerini araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Sentezlenen hemostatik malzemeler Thermoscientific ARL X'TRA XRD analiz cihazı ile yapılan XRD kullanılarak analiz edilmiştir.

5) X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

XPS, bir malzemenin yüzey kimyasını analiz etmek için kullanılan bir tekniktir. XPS, bir malzeme içindeki elementlerin elemental bileşimini, ampirik formülünü, kimyasal durumunu ve elektronik durumunu

ölçülebilir. XPS spektrumları, katı bir yüzeyin bir X-ışını demeti ile ışınlanması ve aynı zamanda analiz edilen malzemenin üst 1-10 mm'sinden yayılan kinetik enerji ve elektronların ölçülmesiyle elde edilir. Yapılan XPS analizi ile üretim sırasında kullanılan malzemelerin üretim sonunda oluşan formda hedef yapıya ulaşım sağlayacağına karar verilmiştir. Üretilen numunelerin analizleri ThermoScientific K-ALPHA Surface analysis XPS Analyzer kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

6) Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

SEM, katı hal numunesinin yüzey morfolojisini incelemek için kullanılan en yaygın analitik yöntemlerden biridir. SEM'de, küçük bir yüksek enerjili elektron ışını numune yüzeyi boyunca taramır. Elektron ışını ve numune arasındaki etkileşim açısından bir dizi radyasyon üretilebilir. Normalde, görüntü oluşumu için iki tür radyasyon kullanılır; birincil geri saçılan elektronlar ve ikincil elektronlar. Geri saçılan elektronlar numunenin bileşimsel ve topografik bilgilerini ortaya çıkarır. Yapılan SEM analizleri ile hammaddelerin yapı ve yüzey morfolojilerinde çeşitli işlemler sonucunda ne gibi değişiklikler olduğu tespit edilmiştir. SEM Taraması COXEM EM-30 Plus+ SEM analiz cihazı ile yapılmıştır.

III. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

A. ICP Analizi

Üretimden sonra belirli miktarda KitoSprey numunesi ICP analizine tabi tutulmuştur. KitoSprey üretiminde kullanılan ve hemorajik bölgede antimikrobiyal aktivite gösterdiği literatürle desteklenerek Ag nanopartikül kullanılmasına karar verilmiştir. ICP analizine göre, Tablo 4'te gösterildiği gibi, Ag nanopartikülünün iyonik halde bulunmadığı ve KitoSprey numunesindeki kitosan ile doğrudan bağlandığı tahmin edilmektedir.

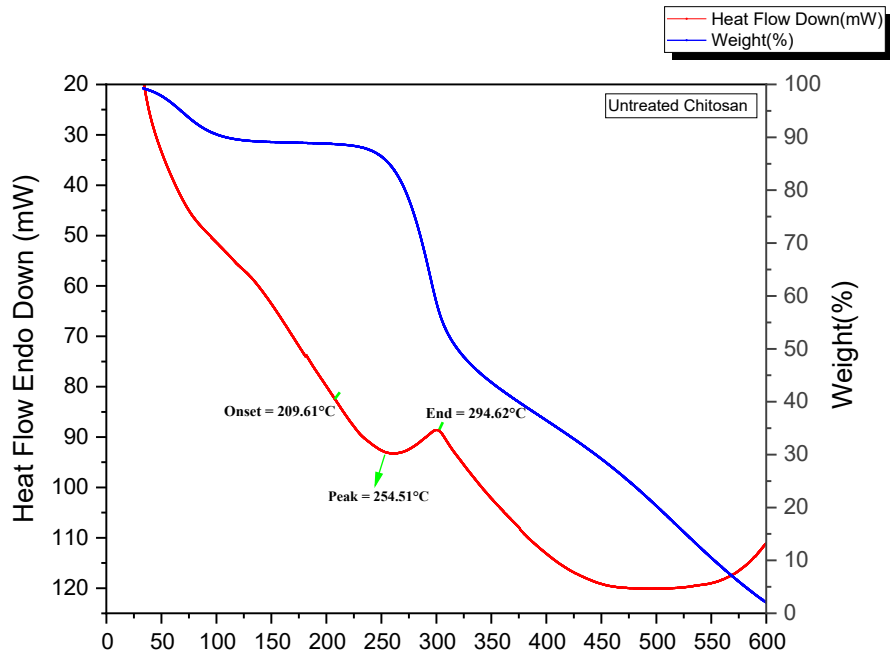
Tablo 4. KitoSprey'in gümüş içeriğinin ICP analizi

Element	Ag3280	Al1855	Al2373	Al3092	As1890	B2497	Ba4554	Be3130	Ca3933
Birim	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
Ortalama	-0.0228	1.524	-1.538	i-5.321	0.0376	-0.6924	-0.0009	-0,0187	86.07
S.Sapma	0.0984	1.517	0.972	0.183	0.1071	0.1998	0.0079	0.0033	1.97
% RSD	432.5	99.57	63.17	3.442	284.9	28.86	889.9	17.81	2.290
1	-0.0747	-0.2059	-1.630	i-5.464	-0.0773	-0.7757	0.0066	-0.0150	88.22
2	-0.0843	2.629	-0.5238	i-5.115	0.1346	-0.8370	-0.0091	-0.0198	84.36
3	-0.0907	2.148	-2.460	i-5.385	0.0554	-0.4644	-0.0002	-0.0213	85.63

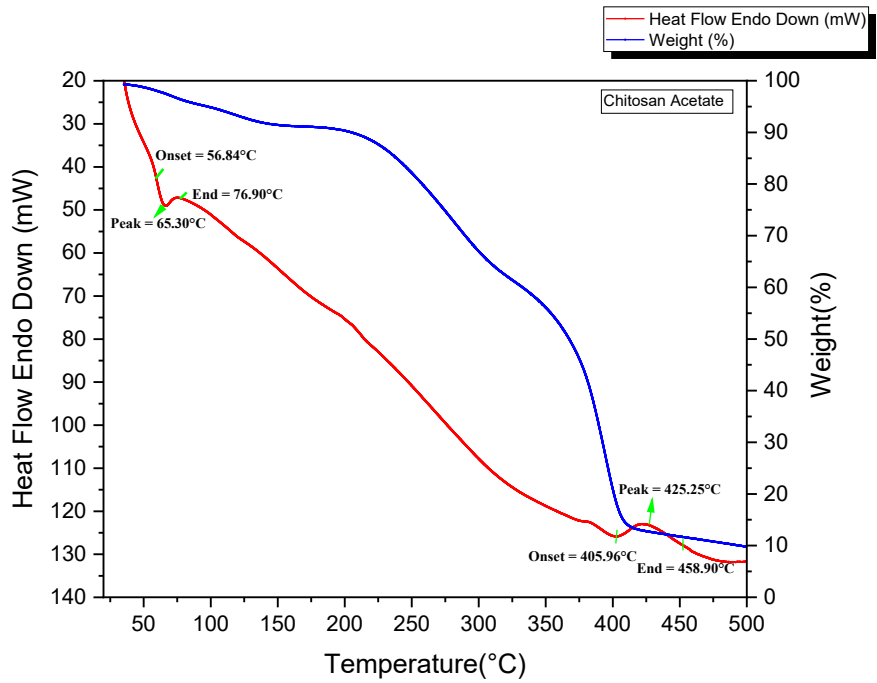
Üretilen KitoSprey örneğinde kullanılan Ag nanoparçacığının hücre canlılığı deneylerinde test edilen çeşitli bakteri ve mikroorganizmalar üzerindeki performansı literatür tarafından da desteklenmiştir [13, 14, 20]. Kitosan - nAg bileşimi kitosanın antimikrobiyal [13] ve antifungal aktivitesinin arttığını göstermektedir [14]. Yine aynı çalışmada R. Jong- Whan ve arkadaşları [13] beş farklı kitosan bazlı çözelti hazırlamış ve dört farklı bakteride hücre canlılığı ile test etmişlerdir.

B. Termal Analiz

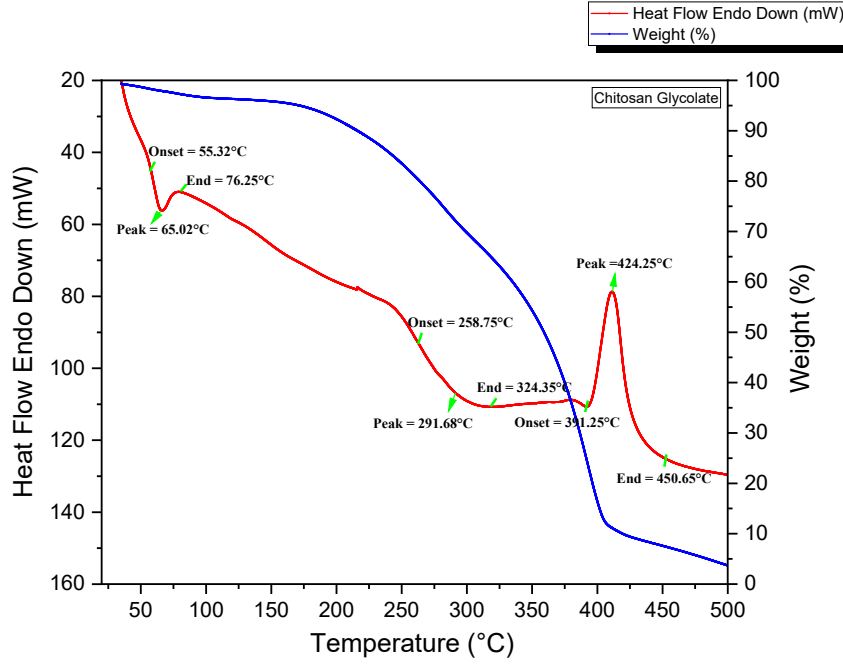
Üretilen kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarından belirli oranlarda numuneler alınarak DTA-TGA analizine tabi tutulmuştur. Bu numuneler üzerinde yapılan analizleri yorumlayabilmek için DTA-TGA analizi ilk olarak Şekil 6.a'da gösterildiği gibi işlem görmemiş kitosana uygulanmıştır. İşlem görmemiş kitosanın DTA-TGA analizi sonucunda, 210-295 °C sıcaklıklar arasında O-H reaksiyonunun yanması dışında önemli bir tespit elde edilmemiştir. Depolama, taşıma ve işleme sıcaklığı özelliklerini belirlemek için kitosan tuzlarının analizi yapılmıştır. İlk üretimde belirli miktarda kitosan asetat ve kitosan glikolat alınmış ve sırasıyla Şekil 6.b ve 6.c'de gösterildiği gibi DTA-TGA analizi yapılmıştır.



(a)



(b)



(c)

Şekil 6. (a) işlenmemiş kitosan, (b) kitosan asetat tuzu ve (c) kitosan glikolat tuzunun DTA-TGA analizi.

Kitosan asetat tuzunun DTA-TGA analizi, işlenmemiş kitosan analizinden farklı olarak 50-80 °C'de ekstra bir pik göstermiştir. Literatürdeki detaylı incelemeler bu kitosanın bu sıcaklık aralığının sonunda ve daha yüksek sıcaklıklarda suda çözünürlüğünü kaybettiğine dair veriler sağlamıştır. Kitosan asetat tuzunun C-O gruplarının yanma sıcaklığı 400 ve 460°C aralığında belirlenmiştir. Kitosan glikolat tuzunun DTA-TGA analizinde, kitosan asetat tuzunun analizi 50-80°C'ye yakın bir pik göstermektedir. Kitosan asetat tuzundan farklı olarak kitosan glikolatın daha fazla kristal pike sahip olduğu belirlenmiştir. Kitosan asetat tuzundan farklı olarak kitosanın O-H gruplarının yanmasını gösteren ve 258-291°C sıcaklıkları arasında kalan bir pik bulunmaktadır. Ayrıca 400-475°C sıcaklıklar arasında kalan pikin C-O gruplarının yanmasını gösterdiği görülmüştür.

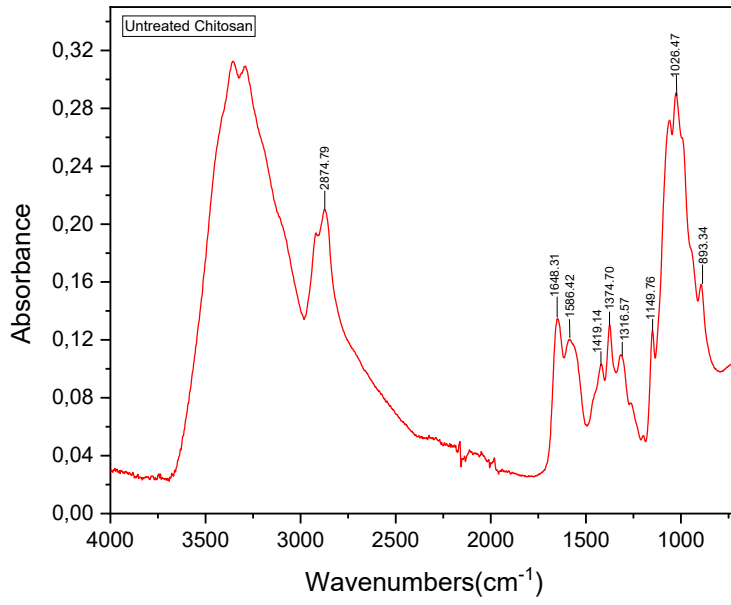
C. Ftr Analizi

Yapılan FTIR analizleri ile jel ve toz örneklerinin kimyasal bağları, bileşikleri ve yapıları belirlenmiştir. Üretilen numuneler genel olarak organik bazlı malzemelerdir. Kitosanı ve içerdiği yapı ve bağları tanıyabilmek için işlem görmemiş kitosan üzerinde FTIR analizi yapılmıştır (Şekil 7.a).

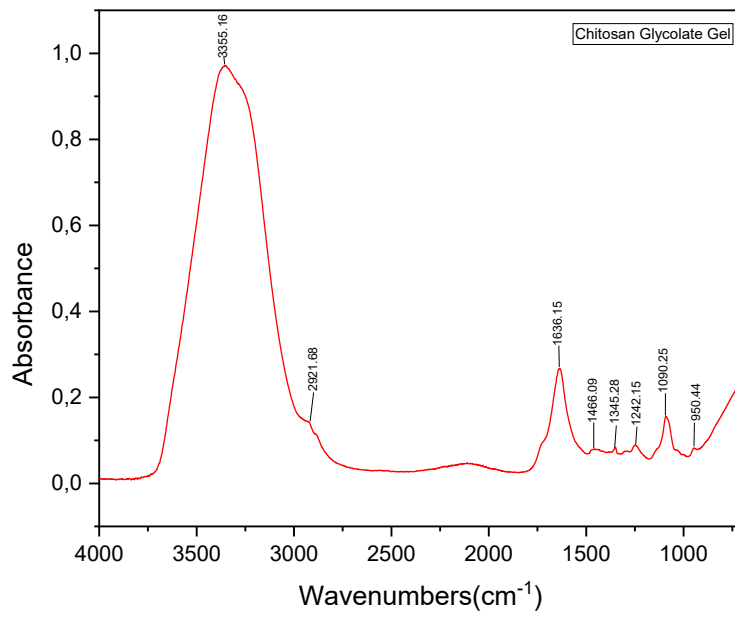
Şekil 7.b'de KitoJel numunesinin FTIR analizi gösterilmektedir. KitoJel örneğinde görülen ilk pik 3355 cm^{-1} dalga boyundadır. Bu da pik yapısında amin (N-H) gruplarının mevcut olduğunu göstermektedir. Aminler; amino asitler, peptitler, proteinler, alkaloidler, DNA ve RNA gibi bileşiklerin yapısında bulunan ve böylece hemostaz dâhil birçok önemli biyokimyasal olayda etkin rol oynayan amino ($-\text{NH}_2$) gruplarıdır.

Şekil 7.c, kitosan asetatın FTIR analizini göstermektedir. İlk iki pikin (3375 ve 3269 cm^{-1}) yapısında fenol ve alkol olduğu bulunmuştur. Sonraki iki pikin (2945 ve 2882 cm^{-1}) yapısında alkan grupları olduğu tespit edilmiştir. Yüzeydeki alkan gruplarının varlığının travma bölgesinde herhangi bir reaksiyon oluşturmadan sadece absorpsiyon adımına yol açması beklenmektedir. Grafikte 2736 ve 2694 cm^{-1} pikleri aralığında aldehit (C=O'nun C-H gerilmesi) gruplarının olduğu görülmektedir. Aldehit yapılarındaki karbonil grubu nedeniyle birçok reaksiyona kolaylıkla katılabilir. Karboksilik asitlerin indirgenme yoluyla alkol vermek için kolayca oksitlendiğini fark etmek önemlidir. Formaldehit ve asetaldehit gibi aldehitler kolayca polimerize olur. Formaldehit, travma yüzeyinde veya bölgesinde koruyucu bir film görevi gören bir bariyer oluşturur.

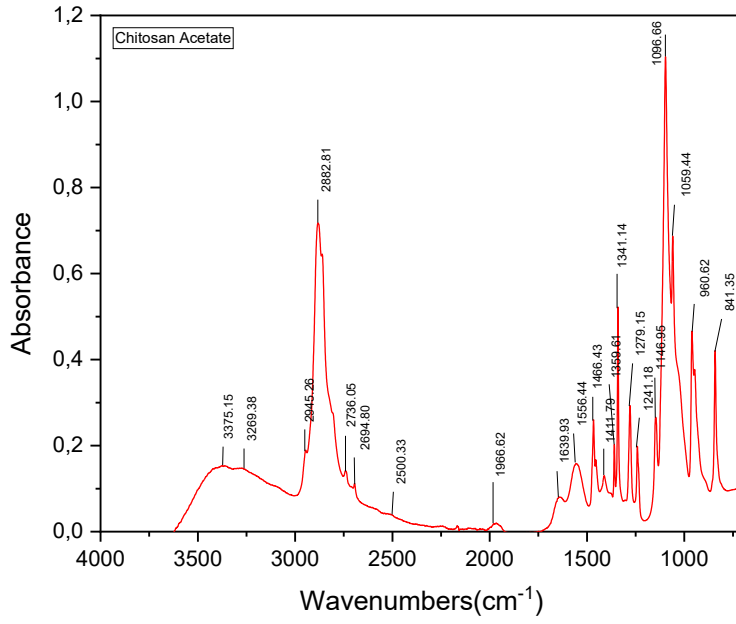
Şekil 7.d'de kitosan glikolatın FTIR analizi sunulmaktadır. Yapıya dâhil edilen polietilen glikol ile hedeflenen yapıya ulaşıldığı tespit edilmiştir. Yapı içerisinde 1400 ile 1600 cm^{-1} (1466 cm^{-1}) arasında CaCl_2 bulunduğu tespit edilmiştir. CaCl_2 'nin yapıda bulunması, kalsiyum ilavesinin başarılı olduğu anlamına gelmektedir. Daha önce de belirttiği gibi, kalsiyumun hemostatik anlamda son derece etkili bir rol oynadığı tespit edilmiştir. 2882 cm^{-1} 'de görülen piki yapıda bir Alkan grubu olduğunu göstermektedir. Ayrıca 1400 ve 1600 cm^{-1} (1466 cm^{-1}) arasında CaCl_2 ilavesinin başarılı olduğu tespit edilmiştir. 1300 ve 1000 cm^{-1} (1242 ve 1090 cm^{-1}) arasında gözlenen pikler yapıdaki ester grubuna işaret etmektedir.



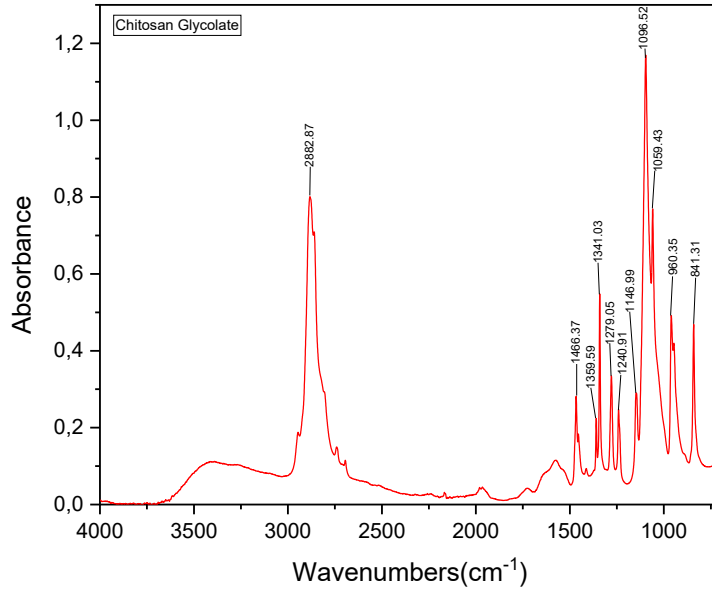
(a)



(b)



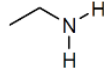
(c)



(d)

Şekil 7. (a) işlenmemiş kitosan, (b) kitosan glikolat jel, (c) kitosan asetat ve (d) kitosan glikolatın FTIR analizi.

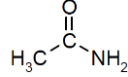
Yapı incelenmiş ve daha sonra jel ve toz örneklerinin analizi için yorumlanmıştır. 3500-3000 cm^{-1} arasında görülen iki pik yapıda amin bulunduğunu göstermektedir. Aminin yapısı Şekil 8.a'da görülebilir. Renksiz, uçucu sıvı amin, aynı zamanda yanıcı sıvıdır ve $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ 'ye sahiptir. Birçok endüstriyel uygulaması vardır ve etil karbamin olarak da adlandırılır.

Amines—Primary:

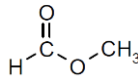
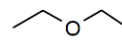
(a)

Alkanes:

(b)

Amides:

(c)

Esters:**Ethers:**

(d)

Şekil 8. (a) Etilamin, (b) Alkan, (c) Amidler, (d) Eter ve Ester gruplarının zincir yapısı.

Pikin 3000-2800 cm^{-1} arasında kalması yapıda bir alkan grubu olduğunu açıklamaktadır. Absorpsiyonlar bu bölgede birkaç farklı pik olarak görülebilir. Bu da yapının H-C-H asimetric ve simetric gerilmesine sahip olduğunu açıklar. Alkanın yapısı Şekil 8.b'de görüldüğü gibidir. Alkan, doymuş alifatik hidrokarbonların, parafinin genel adıdır. Alkanlar, karbona bağlayabilecekleri maksimum hidrojene sahip doymuş hidrokarbonlardır ve genel formülleri $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ 'dir. Parafin, reaksiyon hakkında çok az şey ifade eder. Hidrojen bağı sistemden çıkarıldığında yapı bir alkil haline gelir.

1670-1600 cm^{-1} arasında kalan bir pik (1648.31 cm^{-1}) C=O ile bir amid grubu olduğunu açıklar. Bundan sonra 1586.42 cm^{-1} 'de N-H bend amid grubunun varlığını açıklayan bir pik vardır. Şekil 8.c'de görüldüğü gibi bir amid grubu vardır.

Amid grupları aynı zamanda karboksilik asitler veya karboksilik asitler olarak da adlandırılır. En basit amidler düşük erime noktalı, hidrojen bağı, suda çözünen katılardır. Formamid sıvıdır ve çözücü olarak kullanılır. Polimer yapısında olan amidler (nylon gibi) sentetik elyaf olarak kullanılır. Proteinlerin ve amino asitlerin hemostatik anlamda önemli olduğu da belirtilmektedir. Protein ve peptitlerde amino asitler birbirlerine amidler ile bağlanırlar. Nikotinik, prokainamid ve kalp hastalıklarının yanı sıra hücre solunumunu tedavi etmek için çeşitli ilaçların kombinasyonuna girer. Genel olarak, baharatların aktif bileşeni (biberdeki kapsaisin, karabiberdeki piperin) bir alkil amittir [15].

Son en karakteristik iki pik Şekil 8.d'de 1300-1000 cm^{-1} arasında kalmaktadır. Bu pikler eter ve ester gruplarına aittir. Eterler aynı zamanda en karakteristik zararsız anesteziik maddelerdir. Yapısı alkole çok benzer. Kitosanın yapısında eter bulunması, basit bir anesteziik ürün olarak ve travma anında ağrı kesici olarak kullanılmasını mümkün kılar.

Organik veya inorganik herhangi bir oksijen asidinin kalıntısı ile birleşmiş organik bir radikalden oluşan eterik bir tuz veya bileşik eter; doğal yağlar gliserin ve yağ asitleri, oleik vb. esterlerdir. Çeşitli ester formları vitamin takviyesi olarak da kullanılabilir. Kitosandaki ester gruplarının varlığı, cildi besleyici özelliklerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynar.

1636 cm^{-1} 'de görülen pik alkenler grubuna aittir. C-C = C asimetric streç bağ yapısına sahiptir. Genlerin çok sayıda oksidan ile oksitlenebileceği akılda tutulmalıdır. Oksijen varlığında alkenler karbondioksit ve su açığa çıkarır. Yüzeydeki düşük sıcaklık artışı, yapıdaki bu grubun varlığından kaynaklanmaktadır. Yapıdaki tek bağı karbon, çift bağı karbona göre daha güçlüdür. KitoJel numunesinden travma bölgesine uygulandığında, hasarlı damardan çıkan kanın dışarı kaçmasını engellemesi beklenmektedir.

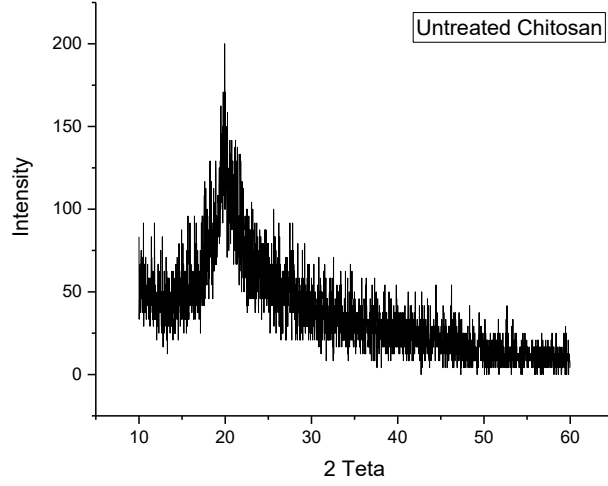
1600 ve 1400 cm^{-1} arasında gözlenen pik (1466 cm^{-1}) yapının CaCl_2 katılımına sahip olduğunu göstermektedir. CaCl_2 'nin kitosana dâhil olduğu ve Ca^{+2} iyonlarının polimerin hidrojen bağlarını zayıflatarak polimer ile etkileşime girdiği görülmüştür. Son olarak, 1300 ve 1000 cm^{-1} (1242 ve 1090 cm^{-1}) arasında gözlenen pikler yapıdaki ester grubuna işaret etmektedir.

D. Faz Analizi

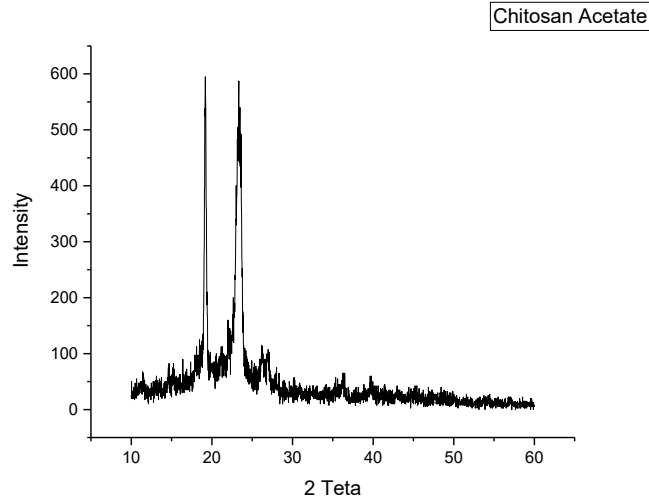
XRD analizi, üretilen kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarından belirli miktarlarda alınan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarındaki faz yapısını değerlendirmek için

öncelikle işlem görmemiş kitosan üzerinde XRD analizi yapılmıştır. İşlem görmemiş kitosanın XRD analizi Şekil 9.a'da gösterildiği gibi meydana gelmiştir. Burada görüldüğü gibi, işlem görmemiş kitosan tamamen amorf ve kristal yapısı olmadığı ortaya çıkmıştır..

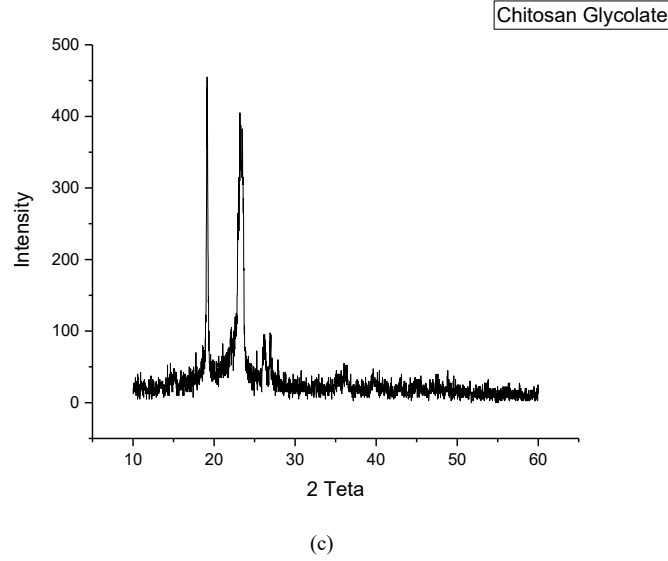
Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarının XRD analizleri Şekil 9.b ve Şekil 9.c'de verilmiştir. Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarının işlem görmemiş kitosana göre kristal pikleri gösterdiği tespit edilmiştir. Bu pikler sonucunda üretilen tuzların normal kitosana göre daha güçlü ve kristal zincir yapıları olduğu tespit edilmiştir. Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarının XRD desenleri benzer davranış göstermiştir ve C.R. Garnpimol vd. tarafından yapılan bir çalışma [16, 19] ile de iyi bir uyum içinde sonuçlar çıktığı görülmüştür. İlgili tez kapsamında elde edilen 15° - 25° 'deki piklerin aynı literatür tarafından desteklendiği ve değerlerin birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarının XRD analizindeki yarı kristal pikler, DTA analizinde elde edilen pikler ile de ilişkili olduğunu göstermiştir.



(a)



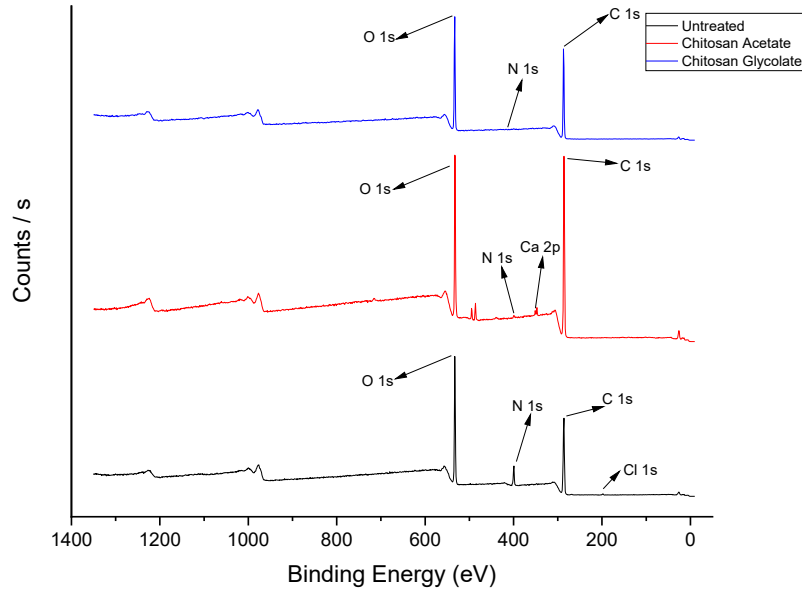
(b)



Şekil 9. (a) işlenmemiş kitosan, (b) kitosan asetat ve (c) kitosan glikolatın XRD desenleri.

E. XPS Analizi

XPS analizi ile üretilen kitosan tuzlarının bileşimleri, bağlanma enerjileri ve yapıdaki elementlerin formülasyonları belirlenmiştir. Aynı analizler DTA-TGA ve FTIR analizleri ile ilişkilendirilmiş ve yorumlanmıştır. Üretilen kitosan tuzlarının formülasyonunu ve element konfigürasyonunu anlamak için, kitosan ve tuzlarının XPS analizi ilk olarak işlenmemiş kitosan üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kitosanın XPS analizi Şekil 10'da görüldüğü gibidir.



Şekil 10. İşlenmemiş Kitosan Aşağıdan yukarıya doğru sırasıyla İşlenmemiş Kitosan, Kitosan Asetat ve Kitosan Glikolat'ın XPS analizleri.

Buna ek olarak, Tablo 5, 6 ve 7 işlenmemiş kitosan, kitosan asetat ve kitosan glikolatın XPS kütle analizlerini göstermektedir. Kitosan ve tuzlarının XPS analizinde görüldüğü üzere karbon, nitrojen ve oksijen bağları yapıdaki yerlerini kaybetmemiştir.

Tablo 5. İşlenmemiş kitosanın XPS kütle analizi.

İsim	Pik BE	FWHM eV	Alan (P) CPS.eV	Ağırlık %	Q
N1s	399.39	1.627	66548.20	7.99	1
O1s	532.90	2.583	405291.86	36.94	1
C1s	286.31	3.230	307154.59	53.65	1
Cl2p	198.21	3.572	6570.94	1.42	1

Tablo 6. Kitosan asetatın XPS kütle analizi.

İsim	Pik BE	FWHM eV	Alan (P) CPS.eV	Atomik %	Q
C1s	285.92	2.967	623555.05	73.87	1
Ca2p	347.27	2.356	34685.40	0.89	1
N1s	399.14	2.741	10455.04	0.73	1
Sn3d	486.20	2.398	77475.18	0.05	1
O1s	532.73	1.418	520494.54	24.46	1

Tablo 7. Kitosan glikolatın XPS kütle analizi.

İsim	Pik BE	FWHM eV	Alan (P) CPS.eV	Atomik %	Q
C1s	283.92	2.678	288020.72	67.72	1
N1s	396.91	-0.255	3094.59	0.43	1
O1s	530.18	2.655	343197.64	31.85	1

İşlenmemiş kitosanda bir miktar klor bulunurken, kitosan tuzlarında klor bulunmaz. Kitosan asetat üretiminde kullanılan kalsiyumun analizde 347.27 eV'de bir pik gösterdiği tahmin edilmektedir. Kalsiyumun iyonik halde kalmak yerine doğrudan yapıya bağlandığı tahmin edilmektedir.

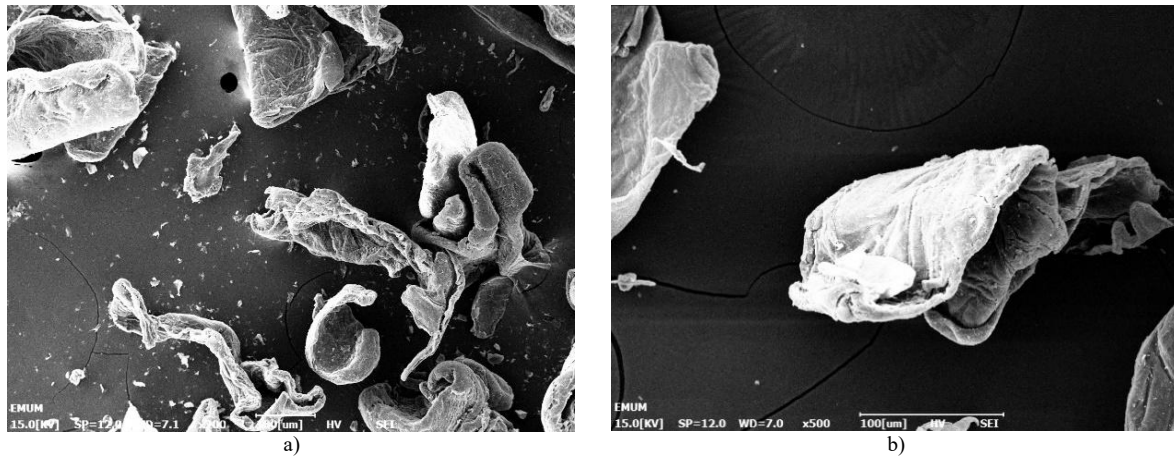
Üretim aşamasında belirli işlemlerden geçirilen kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarında, işlem görmemiş kitosana göre daha yüksek miktarda karbon bulunmuştur. Bu da kitosanın fizyolojik olarak uyumlu asetatları çözerək karbon miktarını arttırdığını düşündürmektedir. Karbon miktarındaki artış çapraz bağlı yapının güçlenmesini desteklemektedir. XRD analizlerinde gözlenen yarı kristal piklerin bu sebepten kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

İşlem görmemiş kitosanın yapısında kalan %5'lik azot miktarı diğer örneklerde çok küçük miktarlarda bulunmuştur. Diğer numunelerdeki azot içeriğinin birbirine yakın olması, numunenin çok yüksek oranlarda polikasyonik yapıya dönüştüğünün bir göstergesidir. Numunelerin polikasyonik yapısı azottan elektronun serbest kalması ile elde edilmektedir. Polikasyonik dönüşümü gerçekleştiren numuneler hemostazın sağlanması için gereklidir. Oksijen miktarındaki azalma, üretim aşamasının reaksiyona girerek oksijen oluşumu ve sistemden uzaklaştırılması ile sonuçlanması olarak açıklanabilir.

F. Mikroyapı

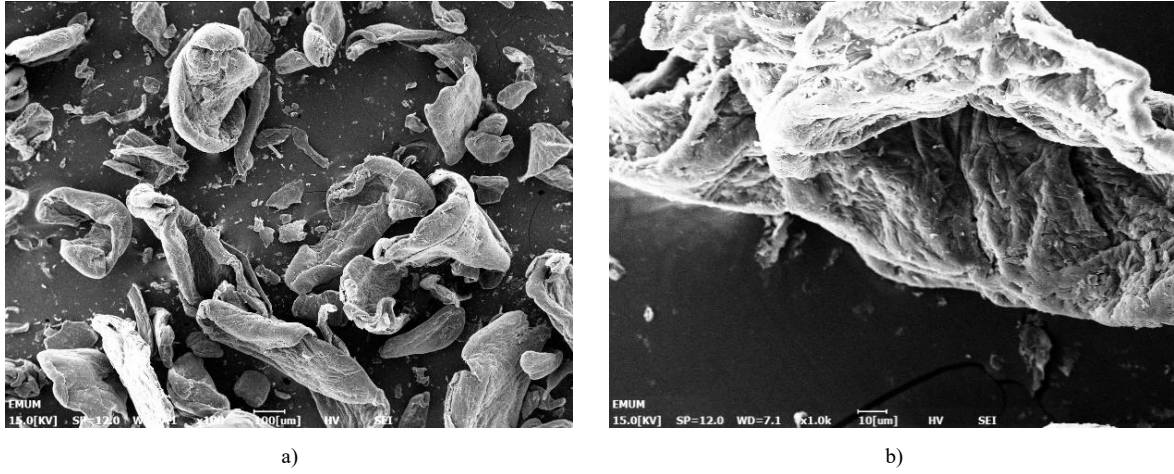
1) Kitin Nanofibril Üretimi ve Karakterizasyonu

Başlangıçta, Şekil 11'de gösterildiği gibi, sonraki analizler için bir referans noktası oluşturmak amacıyla, belirli miktarda kitin, teslim alma sürecinin bir parçası olarak fibril olmayan haliyle analize tabi tutulmuştur (a). Bu işlemlerden sonra, kitin nanofibrilleri üçüncü bölümde anlatıldığı şekilde hazırlanarak kitinin ilk fibrilsiz hali ile karşılaştırılmış ve Şekil 11'de anlatılan analiz gerçekleştirilmiştir. Şekil 11'de görüldüğü gibi, fibril olmayan kitin üzerinde yapılan ilk SEM analizinde, numune morfolojisi fibril yapısından çok daha fazla pul benzeri yapılarla sahiptir (b). Elde edilen verilerin, kitin nanofibril/polikaprolakton kompozit hemostatik malzemeler hazırlayan J. Ya-li ve diğerlerinin bulgularıyla [17, 18] uyumlu olduğu gözlenmiştir.

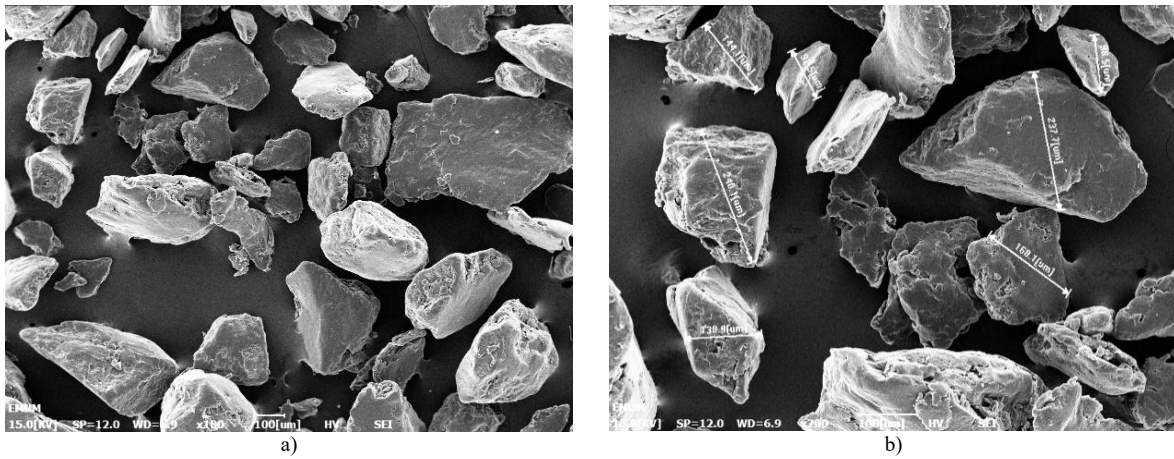
**Şekil 11.** Farklı yüksek büyütmelerde fibril olmayan kitinin SEM görüntüleri.

2) Saf Kitosan ve Kitosan Tuzlarının Morfolojisi ve Yapı Analizi

Deneylere başlamadan önce belirli bir miktarda kitosan Şekil 12'de gösterildiği gibi SEM analizine tabi tutulmuştur. Deney sonrası Şekil 13 ve 14'te gösterildiği gibi elde edilen kitosan tuzları ile deney öncesi kitosan örnekleri arasında çeşitli morfoloji ve yapı karşılaştırmaları yapılmıştır.

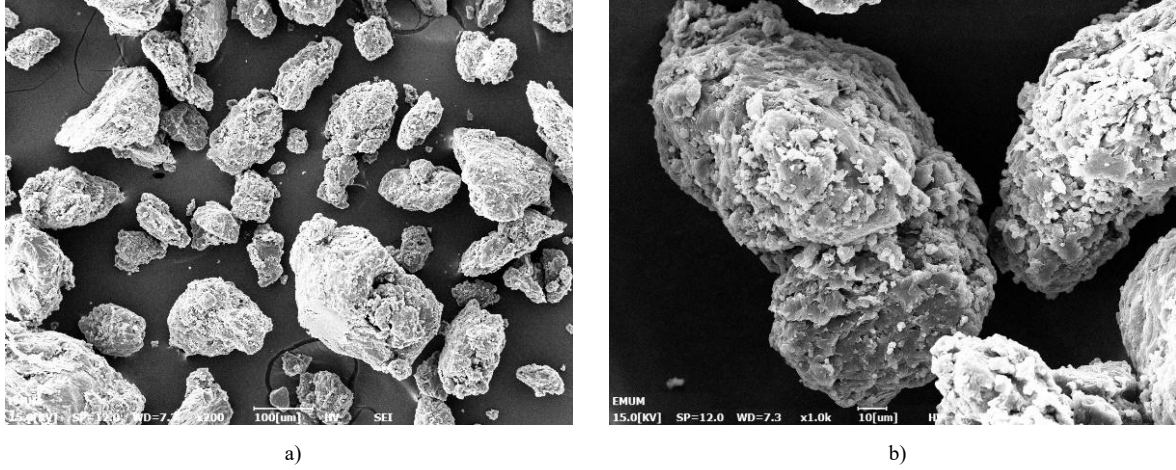


Şekil 12. Saf kitosanın farklı yüksek büyütmelerdeki SEM görüntüleri.



Şekil 13. Kitosan asetat tuzunun farklı yüksek büyütmelerdeki SEM görüntüleri.

Kitosan, Şekil 12'de görüldüğü gibi keyfi bir yapıya ve morfolojiye sahiptir ve bu yapı herhangi bir işlem görmemiştir. Bu dizilimden dolayı yapı dokusuz olarak adlandırılmaktadır. Kitosanın asetik asit glasiyal (%100) ile belirli oranlarda çözündürülmesi ve kendi için kurutulması sonrasında elde edilen kitosan asetat tuzunun yapısı ve morfolojisi Şekil 13'te görüldüğü gibidir. Kitosan asetat numunelerinin SEM analizi, elde edilen kitosan tuzunun daha düzenli bir yapıya ve belirli bir tane boyutuna sahip olduğunu ortaya koymaktadır (ayrıntılar için bkz. Şekil 13). Gerçek şu ki; üretilen kitosan tuzunun belirli bir granül seviyesine sahip olması kanama bölgesinde tutunma kabiliyetini artırır. Benzer şekilde, kitosanın glolik asit (%70) içinde belirli oranlarda çözünmesi ve ardından kurutulmasıyla oluşan kitosan glikolat tuzunun tane yapısı ve morfolojisi Şekil 14'te gösterilmektedir.



Şekil 14. Kitosan glikolat tuzunun farklı yüksek büyütmelelerdeki SEM görüntüleri.

Kitosan glikolat numunelerinin SEM analizi, elde edilen kitosan glikolat tuzunun hem saf kitosana hem de kitosan asetat tuzuna göre daha düzgün bir yapıya ve daha düşük tane boyutuna sahip olduğunu göstermektedir. Üretilen kitosan glikolat tuzunun belirli bir seviyede yarı kristal granüllere sahip olması, travma bölgesinde tutunma ve nüfuz etme kabiliyetini artırdığını göstermektedir.

Daha düşük partikül boyutuna sahip kitosan glikolat tuzları ile travma bölgesinin çukurlaştırılması, aralarında boşluk bırakmaz ve karşılaşılan kan miktarı ile doğru orantılı olarak şişerek travma bölgesinde tıkanıklık benzeri bir yapıya neden olur.

IV. SONUÇLAR VE GELECEK PLANLARI

Bu çalışmanın sonuçları özetlendiğinde, kan durdurma uygulamaları için hemostatik sprey, jel ve toz başarıyla üretilmiş ve sprey, jel ve toz formları sırasıyla KitoSprey, KitoJel ve HemoPowder olarak adlandırılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- İşlem görmemiş kitosanın DTA-TGA analizi sonucunda, üretilen numunelerin endotermik ve ekzotermik reaksiyonları 25 °C ve 500 °C aralığında belirlenmiştir.
- FTIR analizlerine göre, kitosan bünyesindeki aldehit yapılarında bulunan karbonil grubu sayesinde kitosan tuzları kolayca polimerize olarak travma yüzeyinde veya bölgesinde koruyucu bir film görevi görmektedir.
- Çalışmalar, kitosan asetik asit çözeltisinin pozitif yüklü olduğunu göstermiştir. Ayrıca, kitosan trombositleri aktive edebilir ve daha yüksek anjiyojenik yetenekle yara iyileşmesini teşvik edebilir.
- XPS analizleri numunenin kanama alanında hemostaz sağlamak için gerekli olan çok yüksek oranlarda polikasyonik bir yapıya dönüştüğünü doğrulamıştır.
- XRD analizi, işlenmemiş kitosanın amorf yapıda olduğunu ve kristal yapıda olmadığını ortaya koymuştur. Kitosan asetat ve kitosan glikolat tuzlarının işlenmemiş kitosana göre kristal pikler gösterdiği tespit edilmiştir.
- SEM analizlerine göre, belirli bir seviyede yarı kristal granüllere sahip olarak üretilen kitosan tuzları, travma bölgesinde tutunma ve nüfuz etme kabiliyetinde artış göstermektedir.

Ayrıca, hemostatik malzemelerin ön değerlendirmeleri, kan pıhtılaşması ve yara iyileşmesinde potansiyel faydalarını göstermektedir. Araştırma kapsamında üretilen hemostatik malzemelerin amatör performans değerlendirmeleri sonucunda kan durdurma ve yara iyileştirmede kullanımının mümkün olduğu sonucuna varılmıştır. Bu hemostatik malzemelerin hayati önem taşıyan travmatik arteriovenöz yaralanmalarda kullanımı henüz profesyonel kurumlar tarafından kanıtlanmamıştır. Hemostatik malzemeler günümüzde hastaneler dışında günlük hayatta geniş kullanım alanı bulamamıştır. Fakat ilerleyen teknoloji ve bilinç sayesinde hemostatik malzemelerin kullanımının yaygınlaşması beklenebilir. Üretilen malzemelerin piyasadaki muadil ürünlere alternatif olarak kullanılması mümkündür. Bu kapsamdaki malzemelerin günlük hayata entegrasyonu sonucunda ölüm riskinin minimum seviyeye inmesi ve ilk yardım müdahale başarı oranının artması güçlü öngörüler arasındadır.

KAYNAKÇA

- [1] Özler, M. (2017). *Synthesis and Characterization of Nanoscaled Hemostatic Materials*. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı, İzmir.

- [2] McNeilly, B., Samsey, K., Kelly, S., Pennartd, A., & Francis, X. G. (2025). Prehospital Blood Administration in Traumatic Hemorrhagic Shock. *JACEP Open*, 6 (2), 1-6.
- [3] Cannon, JW. (2018). Hemorrhagic Shock. *The New England Journal of Medicine*, 378 (4), 370-379.
- [4] Schaefer, R. M., Bank, E. A., & Krohmer, J. R., et al. (2024). Removing the barriers to prehospital blood: A roadmap to success. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 97 (2), 138-144.
- [5] Howard, J. T., Kotwal, R. S., & Stern, C. A., et al. (2019). Use of combat casualty care data to assess the US Military trauma system during the Afghanistan and Iraq conflicts. *JAMA Surgery*, 154 (7), 600-608.
- [6] Yu, C., Yong, Z., Fengju, W., Weiwei, M., Xinlin, Y., Peng, L., Jianxin, J., Huimin, T., & Yongfa, Z. (2016). Preparation of porous carboxymethyl chitosan grafted poly (acrylic acid) superabsorbent by solvent precipitation and its application as hemostatic wound dressing. *Materials Science and Engineering*, 63, 18–29.
- [7] Lalitha, G., Lakshmi, N. R., Swaminathan, S., & Uma, M. K. (2014). Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agents. *Carbohydrate Polymers*, 111, 215–221.
- [8] Bon Kang, G., Sang Jun, P., Min Sup, K., Yong Jin, L., Jong, K., & Chun, K. (2016). Gelatin blending and sonication of chitosan nanofiber mats produce synergistic effects on hemostatic functions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 89–96.
- [9] Matthew, B. D., William, S., Peter, B., Michael, J. D., Ian, C. M., Erica, H., Tomaz, M., Srinivasa, R. R., & David, R. K. (2015). Hydrophobically-modified chitosan foam: description and hemostatic efficacy. *Journal of surgical research*, 193, 316-323.
- [10] Hu-Fan, S., Ai-Zheng, C., Shi-Bin, W., Yong-Qiang, K., Shi-Fu, Y., Yuan-Gang, L., & Wen-Guo, W. (2014). Preparation of Chitosan-Based Haemostatic Sponges by Supercritical. *Fluid Technology Materials*, 7, 2459-2473.
- [11] Ji, Y., Patricia W. S., Isaac, A. R., & Gary, L. B. (2012). Chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite from a nonaqueous medium suspension. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2313–2319.
- [12] Ji, Y., Kai, L., Xinyuan, S., & Gary L. B. (2014). Electrospinning and characterization of chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite fiber mats. *Carbohydrate Polymers*, 101, 68-74.
- [13] Levy, M. J., Garfinkel, E. M., & May, R., et al. (2024). Implementation of a prehospital whole blood program: lessons learned. *Journal of the American College Emergency Physicians*, 5 (2), 131-142.
- [14] Wang, L. S., Wang, C. Y., Yang, C. H., Hsieh, C.L., Chen, S. Y., Shen, C. Y., Wang, J. J., & Huang, K. S. (2015). Synthesis and Anti-Fungal Effect of Silver Nanoparticles–Chitosan Composite Particles. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 2685–2696.
- [15] Ashenhurst, J. (2025). Alkanlar ve Adlandırma. *Kimya Eğitimi Dergisi*, <https://www.masterorganicchemistry.com>, (2025/10/06).
- [16] Garnpimol, C. R., Thawatchai, P., & Tamotsu, K. (2002). Moist heat treatment on physicochemical change of chitosan salt films. *International Journal of Pharmaceutics*, 232, 11-22.
- [17] Ya-li, J., Patricia, S. W., Isaac, A. R., & Gary, L. B. (2012). Preparation of chitin nanofibril/polycaprolactone nanocomposite from a nonaqueous medium suspension. *Carbohydrate Polymers*, 87, 2313-2319.
- [18] Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16 (10), 2346-253.
- [19] Suri, S. S., Fenniri, H., & Singh, B. (2007). Nanotechnology-based drug delivery systems. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 2 (16), 1-6.
- [20] Torres, G. S., Ocio, M., & Lagaron, J. M. (2008). Development of active antimicrobial fiberbased chitosan polysaccharide nanostructures using electrospinning. *Engineering in Life Sciences*, 8 (3), 303-14.
- [21] Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 339 (16), 693-700.
- [22] Rajalakshmi, R., Indira, M. Y., Aruna, U., Vinesha, V., Rupangada, V., & Krishna, S. B. (2014). Chitosan nanoparticles - an emerging trend in nanotechnology. *International Journal of Drug Delivery*, 6 (3), 204-29.
- [23] Jena, P., Mohanty, S., Mallick, R., Jacob, B., & Sonawane, A. (2012). Toxicity and antibacterial assessment of chitosan-coated silver nanoparticles on human pathogens and macrophage cells. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1805-18.
- [24] Perez, D. M., Alvarado, G. E., Sanchez, S. R., Velasquillo, C., Gonzalez, C., Ganem, R. A., Martinez, C. G., Zavala, A. N., & Martinez, G. F. (2016). Antibiofilm activity of chitosan gels formulated with silver nanoparticles and their cytotoxic effect on human fibroblasts. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Application Engineering*, 60 (1), 317-23.
- [25] Liu, L., Liu, J., Wang, Y., Yan, X., & Sun, D. D. (2011). Facile synthesis of monodispersed silver nanoparticles on graphene oxide sheets with enhanced antibacterial activity. *New Journal of Chemistry*, 35 (7), 1418-23.

- [26] Das, M. R., Sarma, R. K., Saikia, R., Kale, V. S., Shelke, M. V., & Sengupta, P. (2011). Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of graphene oxide sheets and its antimicrobial activity. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, 83 (1), 16-22.
- [27] Zhu, Z., Su, M., Ma, L., Liu, D., & Wang, Z. (2013). Preparation of graphene oxide–silver nanoparticle nanohybrids with highly antibacterial capability. *Talanta*, 117, 449-55.
- [28] Cai X, Lan, M., Lina M, Tan S, Mai W, Zhang Y, Liang Z, Lin Z, Zhang X. (2012). The use of polyethyleneimine-modified reduced graphene oxide as a substrate for silver nanoparticles to produce a material with lower cytotoxicity and longterm antibacterial activity. *Carbon*, 50 (10), 3407-15.
- [29] Veerapandian, M., Zhang, L., Krishnamoorthy, K., & Yun, K. (2013). Surface activation of graphene oxide nanosheets by ultraviolet irradiation for highly efficient antibacterials. *Nanotechnology*, 24 (39), 395-706.
- [30] Chen, J., Peng, H., Wang, X., Shao, F., Yuan, Z., & Han, H. (2014). Graphene oxide exhibits broadspectrum antimicrobial activity against bacterial phytopathogens and fungal conidia by intertwining and membrane perturbation. *Nanoscale*, 6 (3), 1879-89.
- [31] Ocoy, I., Paret, M. L., Arslan, O. M., Kunwar, S., Chen, T., You, M., & Tan, W. (2013). Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *ACS Nano Journal - ACS Publications*, 7 (10), 8972-80.
- [32] Dilşad Onbaşlı, D., Yuvalıcelik, G., Durbilmez, G. D., & Ocoy, I. (2018). Synthesis and Characterization of Chitosan-Silver Nanoparticle and Chitosan-Silver-Graphene Oxide Nanocomposite with Their Determination of Antimicrobial Activies, *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University*, 15 (3), 208-215.