



# TEKSTİL VE MÜHENDİS

## (Journal of Textiles and Engineer)



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

### Antibakteriyel Nanolif Yapılarının Çözeltiden Üfleme Sistemi ile Üretimi ve Karakterizasyonu

#### Production of Nanofibrous Wound Dressings Via Solution Blowing

Emine CANBAY GÖKÇE<sup>1</sup>, Yasin AKGÜL<sup>2</sup>, Ali KILIÇ<sup>3</sup>, Ercan AÇMA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Karabük Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Karabük, Türkiye

<sup>3</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Online Erişime Açıldığı Tarih (Available online):30 Haziran 2018 (30 June 2018)

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

Emine CANBAY GÖKÇE, Yasin AKGÜL, Ali KILIÇ, Ercan AÇMA (2018): Antibakteriyel Nanolif Yapılarının Çözeltiden Üfleme Sistemi ile Üretimi ve Karakterizasyonu, Tekstil ve Mühendis, 25: 110, 78-85.

For online version of the article: <https://doi.org/10.7216/1300759920182511002>

Sorumlu Yazara ait Orcid Numarası (Corresponding Author's Orcid Number) :

<https://orcid.org/0000-0001-5915-8732>



*Araştırma Makalesi / Research Article*

## ANTİBAKTERİYEL NANOLİF YAPILARININ ÇÖZELTİDEN ÜFLEME SİSTEMİ İLE ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Emine CANBAY GÖKÇE<sup>1</sup>

Yasin AKGÜL<sup>2</sup>

Ali KILIÇ<sup>3,\*</sup>

Ercan AÇMA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Teknik Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Karabük Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Karabük, Türkiye

<sup>3</sup>Istanbul Teknik Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Gönderilme Tarihi / Received: 22.10.2017

Kabul Tarihi / Accepted: 12.04.2018

**ÖZET:** Bu çalışmada termoplastik poliüretan (TPU) nanolifler, yenilikçi bir yöntem olan çözeltiden üfleme ile üretilmiştir. Duman ağacı özütü, sokslet ekstraksiyonu ile elde edilmiş ve GC-MS analizine göre elde edilen özütün antimikrobiyal etkinliğe sahip bileşenleri içerdiği görülmüştür. Dolayısıyla TPU nanolifler, antibakteriyel etkinlik kazandırılmak için farklı miktarlarda (2-10 mg/cm<sup>2</sup>) duman ağacı özütü ile mikro döküm yöntemiyle kaplanmıştır. Kaplanan tüm numuneler difüzyon agar testinde *S. Aureus* ve *E.Coli* bakterilerine karşı etkinlik göstermişlerdir. Ancak, SEM görüntülerine göre artan duman ağacı özütü miktarının nanolif morfolojisini olumsuz etkilediği görülmüştür. Bunun sonucunda da nanolif yapılarının hava geçirgenlik değerleri düşmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Nanolifler, çözeltiden üfleme, antibakteriyel etkinlik, yara örtüsü

### PRODUCTION OF NANOFIBROUS WOUND DRESSINGS VIA SOLUTION BLOWING

**ABSTRACT:** In this study, thermoplastic polyurethane (TPU) nanofibers were produced via a novel technique: solution blowing. Smoke tree oil was obtained with soxhlet extraction and according to GC-MS analysis; it was shown that obtained extract includes constituents with high antimicrobial activity. Therefore, TPU nanofibers coated with smoke tree oil at different amounts using drop casting in order to obtain antibacterial nanofibers. All coated nanofibers showed antibacterial activity against to *S.Aureus* and *E.Coli*. On the other hand, SEM images show that increase of amount of smoke tree oil effect to fiber morphology negatively. Thus, air permeability of nanofibers mats decreased significantly.

**Keywords:** Nanofiber, solution blowing, antibacterial activity, wound dressing

\* Sorumlu Yazar/ Corresponding Author: alikilic@itu.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0001-5915-8732>

DOI: 10.7216/1300759920182511002, [www.tekstilmuhendis.org.tr](http://www.tekstilmuhendis.org.tr)

## 1. GİRİŞ

Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon aşamalarından oluşan yara iyileşmesi, oldukça kompleks bir süreçtir [1]. Bu iyileşme sürecinde, yara örtüsünden beklenen özelliklerden biri de antibakteriyel etkinlik göstermesidir [2]. Antibiyotik içeren yara örtüleri, enfeksiyonlara karşı yarayı koruyabilmektedir ancak bilinçsiz antibiyotik kullanımı da bakterilerin ilaçlara karşı dirençlerini arttırmaktadır [3]. Doğal antibakteriyel ajanların, yan etkileri sentetik ürünlere oranla daha azdır ve bu ajanlar üzerine yapılan çalışmalarda, antibakteriyel [4], antioksidan [5], antifungal [6] ve antiviral [7] özelliklere sahip oldukları tespit edilmiştir. Biyosidal ajan kullanımı gerektiren uygulamalarda doğal ajanlar mevcut ürünlere alternatif olmaktadır [8]. Genel olarak bitkilerden elde edilen uçucu yağlardan oluşmakta olan doğal ajanlar, yiyecek saklama [9], kozmetik [10], aromaterapi [11] ve ilaç sektörü [12] gibi birçok alanda kullanılmaktadırlar.

Nanolif yapıları, yüksek yüzey alanı ve ayarlanabilir gözeneklilik gibi üstün özelliklere sahiptirler [13]. Dolayısıyla son yıllarda, mevcut yara örtüsü ürünlerine alternatif olabilecek nanolif yapıları üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Elektroüretim (electrospinning) nanoliflerin üretiminde yaygın olarak kullanılan yöntemdir [14]. Laboratuvar ölçekli üretimler için kurulumu basit ve düşük maliyetli olmasına rağmen bu yöntem endüstriyel uygulamalar için düşük üretim hızı, çevresel faktörlere bağımlı olma ve yüksek elektrik alan gereksinimi sebebiyle güvenlik problemi gibi dezavantajlara sahiptir [15]. Dolayısıyla son yıllarda bu problemleri aşabilmek için hem elektroüretim yönteminin geliştirilmesi [16–18] hem de alternatif yöntemlerin açığa çıkarılması [19] üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Yenilikçi çalışmalardan biri de çözültiden üfleme (solution blowing) yöntemidir. Bu yöntemde, elektriksel kuvvetlerin yerini sıkıştırılmış hava/gaz almıştır [20] ve üretim hızı elektroütime göre 30 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir [20]. Çözültiden üfleme sisteminde, düze vasıtasıyla iç kanaldan polimer çözültisi, dış kanaldan ise basınçlı hava beslenmektedir. Düze ucundan çıkan polimer pnömatik jet kuvvetlerin etkisiyle toplayıcı yüzeye doğru giderken incelmektedir. Aynı zamanda toplayıcı yüzeye doğru yol alan çözülti içindeki çözücünün uzaklaşmasıyla beraber nanolif oluşumu sağlanmaktadır. Bahsedilen avantajlarına rağmen literatürde bu yöntemin biyomedikal uygulamalarda kullanımı üzerine oldukça kısıtlı çalışma vardır.

Bonan vd. [21] %20 oranında *copaifea* bitkisi içeren polilaktik asit (PLA)/polivinilpirolidon (PVP) karışımı nanolifleri çözültiden üfleme ile üretmişlerdir. PVP oranının artması lif çaplarında artışa neden olurken salınımı kolaylaştırarak antibakteriyel etkinliği arttırmıştır. Benzer bir çalışmada Bilbao-Sainz vd. [22] antibakteriyel etkinliğe sahip, tetrasiklin hidroklorür (THC) içeren PLA nanolifleri üretmişlerdir. Bir başka çalışmada ise elektrik alandan bağımsız olmasının avantajı kullanılarak direkt yara üzerine Poli(laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) nanolifleri biriktirilmiştir [23]. Liu vd. [24] biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılan polivinil alkol (PVA) ve kitosan polimerleri ile üretim yapmış ve antibakteriyel etkinlik gözlemişlerdir. Xu vd. yara örtülerinde kullanılabilir hidrojel nanolifleri PLA/PEG/kitosan karışımı ile elde etmişlerdir [25].

Sakız ağacıgiller (*Anacardiaceae*) ailesinin bir cinsi olan duman ağacı bitkisi, yıllardır geleneksel tedavide kullanılmaktadır. Genel olarak Türkiye, Avrupa (orta-güney), Rusya ve Çin'de yetiştirilmektedir [26]. Duman ağacından elde edilen özüt ise antiseptik, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve yara iyileştirici özelliklere sahiptir [27]. Kenan vd. duman ağacı özütünün elde edilmesinde çözücülerin etkinliğini araştırmışlardır. Sonuç olarak kloform ve petrol eteri ile hazırlanan özütlerde antibakteriyel etkinlik görülmemiştir [28]. Pfaller vd. 170 gr duman ağacı bitkisi tozu ve 500 ml etanol kullanarak sokslet ekstraksiyonu sonucu duman ağacı bitkisi özütünü elde etmişlerdir. 150 µg ve 300 µg özüt içeren disklerin 6 farklı mikroorganizmaya (*S.aureus*, *B.subtilis*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *M.lysodeikticus*) karşı antibakteriyel etkinlikleri incelenmiştir. *K.pneumoniae* bakterisine karşı hiçbir etkinlik gözlemlenmez iken *B.subtilis*'e karşı yalnızca 300 µg'da 8±1 mm inhibisyon zonu ölçülmüştür. Diğer bakterilere karşı ise tüm diskler 6±1 mm üzerinde inhibisyon zonuna sahiptirler [29]. Borchardt vd. [30] 2,5 cm boyutundaki bitkiden elde edilen tozunu, 10 ml su:ethanol (80:20) çözücüsü ile ekstrakte etmişlerdir. *S.aureus* ve *P. Aeruginosa* mikroorganizmalarına karşı yapılan difüzyon agar testi sonucunda inhibisyon zonları sırasıyla 13 mm ve 11 mm ölçülmüştür. Duman ağacı özütünün antibakteriyel ve antiinflam-matuvar etkinliği üzerine araştırmalar yapılmasına rağmen nanolifler ile teknik tekstil malzemelerinde kullanımı konusunda çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, termoplastik poliüretan (TPU), biyouyumlu ve elasto-mekanik özelliklerinin iyi olması sebebiyle nanolif yapısı üretimi için seçilmiştir [31]. Üretilen TPU nanoliflere duman ağacı özütü kaplanarak antibakteriyel etkinlik kazandırılmıştır. Nanolif morfolojisi SEM cihazından incelenirken, özütün kimyasal bileşimi ise Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Yara örtüsü kullanımı özelliklerini belirlemek amacıyla da antibakteriyel test ve hava geçirgenlik testi yapılmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

Çözücü olarak kullanılan Etanol (≥%99,9) ve N,N Dimetil formamit (≥%99,8) Merck (Almanya) firmasından, Etil asetat (%99 saflık, 0,9 gr/cm<sup>3</sup> özgül ağırlık ve 88,11 gr/mol) ise ZAG firmasından temin edilmiştir. Polimer malzeme olarak poliester bazlı Termoplastik poliüretan C95, BASF(Almanya) kullanılmıştır. Sert ve yumuşak bölümlere sahip düz parçalara ayrılmış blok polimer olan TPU, 107,010 g/mol molekül ağırlığına ve 1,81 polidispersite indeksine sahiptir. Duman ağacı bitkisi ise iç piyasadan temin edilmiştir.

### 2.2 Metotlar

DeneySEL çalışmaların akış şeması Şekil 1'de gösterildiği gibidir. Özet olarak, polimer hammaddesinden elde edilmiş olan nanolif yapısı üzerine bitki hammaddesinden kazanılan bitki özütünün kaplanması; antibakteriyel, morfolojik ve hava geçirgenliği testlerinin uygulanmasını kapsamaktadır.

### 2.2.1 Duman Ağacı Ekstraksiyonu

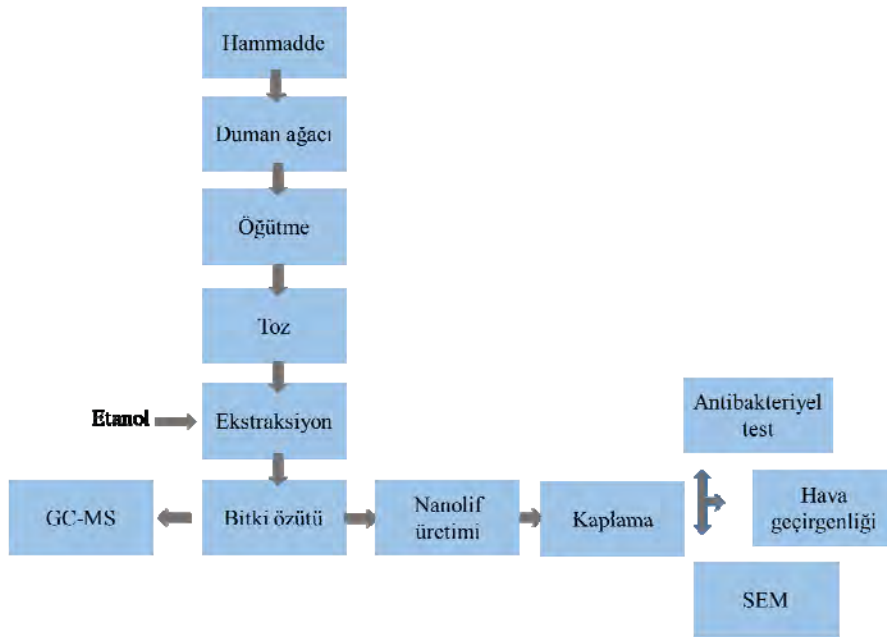
Duman ağacı bitkisi, öğütülerek toz haline getirilmiştir. Ardından 15 gr duman ağacı tozuna, 450 ml etanol ile 120 °C sıcaklıkta 18 saat süreyle sokslet ekstraksiyonu işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonucu elde edilen özüt içerisindeki etanol döner buharlaştırıcı vasıtasıyla vakum altında 70 °C'de 2 saat süreyle uzaklaştırılmıştır.

### 2.2.2 Duman Ağacı Özütünün Kimyasal Analizi

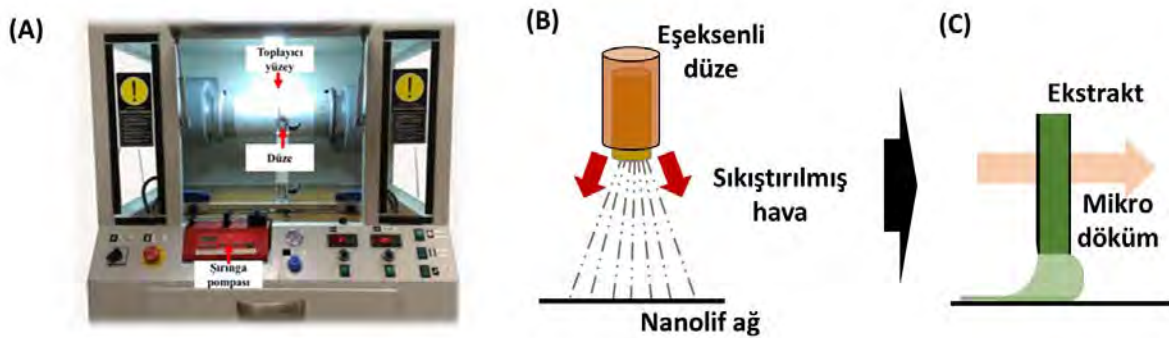
Elde edilen özütlerin kimyasal bileşenlerini analiz etmek için Shimadzu QP2010 Ultra marka Gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi (GC-MS) cihazı kullanılmıştır.

### 2.2.3 Nanoliflerin Üretimi

Ana çözücü olarak N,N- dimetilformamit ve ilave çözücü olarak etil asetat kullanılarak ağırlıkça %13'lük TPU çözeltisi hazırlanmıştır. Şekil 2'de verilen Areka AEROSPINNER L1.0 cihazı ile nanolifler üretilmiştir. Sistem, şırınga pompası, basınçlı hava regülatörü, düze ve toplayıcı yüzeyden oluşmaktadır. Polat vd'nin [20] elde ettiği optimum değerler baz alınarak, şırınga pompasından 10 ml/h hızla beslenen polimer çözeltisi; 3 bar değerindeki basınçlı hava ile bir düzede bir araya geldikten sonra 30 cm uzaklıkta bulunan toplayıcı yüzeyde lif formunda biriktirilmiştir.



Şekil 1. Deneysel çalışmaların akış şeması



Şekil 2. A) Kullanılan çözülden üfleme cihazı (Aerospinner L1.0), B) Çözülden üfleme sisteminin şematik gösterimi C) Mikrodökümle ekstrakt çözeltisinin kaplanması

### 2.2.4 Nanoliflerin Kaplanması

Nanolif yüzeyleri duman ağacı özütü ile mikro döküm (slot die coating) yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Kaplama işlemi için Stepcraft 420 CNC cihazının ucuna pompaya bağlı oluk (1mx5mm) yerleştirilmiştir. Nanolif numuneler x ve y ekseninde 2 boyutlu olarak bu oluğun altında konumlandırılmıştır. Bu şekilde düzlemsel hareket sağlanarak homojen bir şekilde kaplama sağlanmıştır. 1 cm<sup>2</sup>'lik nanoliflerin yüzeylerine 2 mg, 5 mg ve 10 mg miktarlarında duman ağacı özütü kullanılarak kaplama yapılmış ve bu numuneler sırasıyla D2, D5 ve D10 olarak isimlendirilmiştir.

### 2.2.5 SEM Analizi

Nanoliflerin SEM karakterizasyonu için örnekler Quorum SC7620 marka sıçratma (sputter) cihazında altın-palladyum ile kaplanmıştır. Tescan VEGA 3 marka taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak SEM görüntüleri 10.00 kV'ta 1.00-10.00 KX aralığında alınmıştır.

### 2.2.6 Hava Geçirgenliği

Hava geçirgenliği değerleri Prowhite Airtest II cihazı kullanılarak ASTM D737 (38 cm<sup>2</sup>, 125 Pa) standardına göre elde edilmiş ve her numune için 3 ölçüm yapılarak ortalaması hesaplanmıştır.

### 2.2.7 Antibakteriyel Etkinlik

**Difüzyon agar testi:** Antibakteriyel etkinliği belirlemek için *Escherichia coli* (ATCC 8739) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) bakterilerine karşı ilk olarak difüzyon agar testi uygulanmıştır. Sıvı besiyerine bakteri ekimi yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyon fırınında bekletilmiştir. Modifiye edilmiş AATCC 147 test metoduna göre bakteri kültürü içeren sıvı besiyerinden 200 µl alınarak yayma yöntemiyle cam bir çubuk vasıtasıyla katı besiyerine ekim yapılmıştır. Test edilecek numuneler 10 mm çapında dairesel olarak kesildikten sonra katı besiyerine yerleştirilerek 37°C'de 24 saat inkübasyon fırınında tutulmuştur. Standart pozitif kontrol malzeme olarak 10 µl %2'lik klorheksidin sulu çözeltisi emdirilmiş TPU nanolif kullanılmıştır. Antibakteriyel etkinliği saptamak için inhibisyon zonları ölçülerek kıyas yapılmıştır. İnhibisyon zonu çapı, nicel olarak iki malzemenin antibakteriyel etkinliğini kıyaslamak için kullanılmaktadır ve inhibisyon zonu çapı daha büyük olan malzemenin antibakteriyel etkinliğinin de daha fazla olduğu söylenebilir.

**Zamana bağlı antibakteriyel etkinlik testi:** Uygulanan diğer bir testte *E.coli* ve *S.aureus* antibakteriyel etkinliğin zamana bağlı olarak değişimi değerlendirilmiştir. ATCC 8739 standardı baz alınarak yapılan bu testlerde daha önceden katı besiyerine ekilmiş olan bakteri kültüründen bir lup alınarak 50 ml hacminde sıvı besiyerine ekilmiş ve 37 °C'de 10 saat boyunca inkübasyon fırınında tutulmuştur. Bu işlem tamamlandıktan sonra sıvı kültürden 1 ml alınarak 9 ml sıvı besiyeri içeren cam tüplere konulmuştur. Elde edilen sıvı kültür 10<sup>7</sup> derecesine kadar seri

dilüsyon işlemine tabi tutulmuştur. Test numuneleri 4x1 cm<sup>2</sup> boyutunda kesilerek 10<sup>-6</sup> ve 10<sup>-7</sup> derecelerinde sıvı kültürü içeren dilüsyon çözeltileri (9 ml) içeren cam tüplere konulmuş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyon fırınında bekletilmiştir. Pozitif kontrol numunesi olarak %2'lik klorheksidin çözeltisinden 10 µl emdirilmiş TPU nanolif kullanılmıştır. Deney tüplerinden 2., 6. ve 24. saat dilimlerinde 100 µl hacminde örnekler alınarak katı besiyerine yayma yöntemi ile ekilmiş ve 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübasyon fırınında tutulmuştur. Bu süre sonunda numunelerde oluşan koloni sayıları aşağıdaki eşitlik kullanılarak CFU/ml (colony forming unit per ml) biriminden hesaplanmıştır. CFU/ml değerlerinin elde edilmesinde kullanılan eşitlik aşağıda verilmektedir:

$$N=C/[V \times (n1 + 0,1 \times n2) \times d]$$

Bu eşitlikte;

N = Örneğin 1 ml'sinde bulunan mikroorganizma sayısı

C = Sayım yapılan bütün petri kaplarındaki koloni sayısının toplamı

V = Sayım yapılan bütün petri kaplarına dökülen hacim (ml)

n1 = İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan toplam petri adedi

n2 = İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan toplam petri adedi

d = Sayım yapılan ardışık iki seyreltiden daha yoğun olanın seyreltme oranını temsil etmektedir [32].

## 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 3.1 Kimyasal Analiz

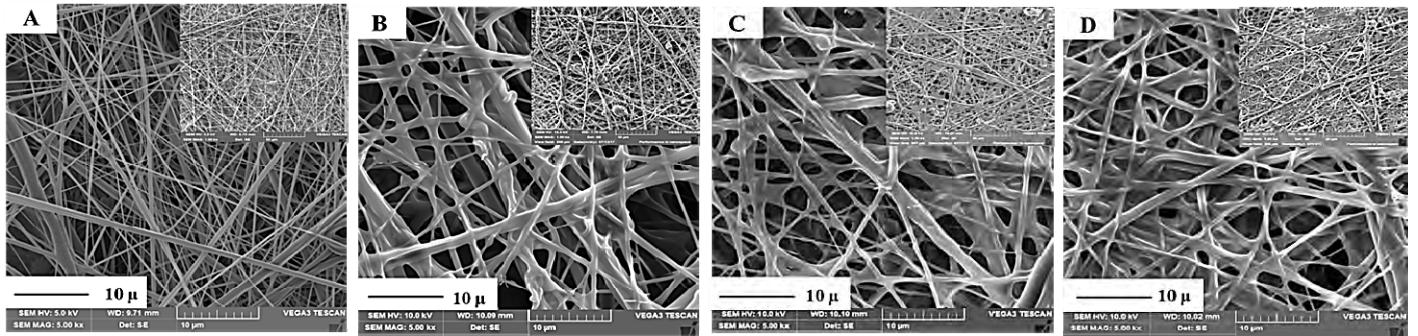
GC-MS analizi sonucunda duman ağacı özütünün bileşenleri ve bu bileşenlerin ağırlıkça yüzde miktarları Tablo 1'de gösterilmektedir. Antibakteriyel özellik gösteren pirogallol [33], kinik asit [34], linoleik asit [35], 3-pentadesil fenol [36] ve öjenol [37] bileşenleri sırasıyla %39,09, %9,9, %9,27, %9,25 ve %2,53 oranında tespit edilmiştir. Böylece duman ağacı özütünün farklı türlerde antibakteriyel bileşen içermesi çok sayıda bakteri türüne karşı etkili olabileceğinin bir kanıtı olarak düşünülmektedir.

### 3.2 Morfolojik inceleme

Şekil 3'te değişen miktarlarda duman ağacı özütü ile kaplanmış TPU nanoliflerin SEM görüntüleri verilmektedir. Şekil 3A'da görüldüğü üzere ham TPU nanolifleri üretilmiştir ve ortalama çap değeri 291 ± 133 nm olarak bulunmuştur. Duman ağacı özütünün nanoliflerin etrafını sararak yapıya yoğun bir şekilde penetre olduğu gözlemlenmiştir. Duman ağacı özütü ile kaplanmış nanolif yapılarında 10 mg/cm<sup>2</sup>'den daha fazla miktarda kaplama özütü kullanıldığında (Şekil 3; D görüntüsü) elde edilen yapının yoğunlaştığı ve gözenekliliğinin azaldığı görülmektedir.

**Tablo 1.** Duman ağacı özütünün bileşenleri ve yüzdeleri

Pik#	İşlem süresi (dk)	% Miktar	Bileşenler
1	9,031	2,23	Melamin
2	11,005	1,28	2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-Piran-4-one
3	12,768	0,35	1,2-Benzendiol
4	13,613	2,12	Hidroksimetilfurfural
5	17,909	2,53	Öjenol
6	18,482	39,09	Pirogallol
7	19,713	0,55	Fosforik asit
8	20,299	2,63	Guanozin
9	21,475	0,42	D-Alloz
10	25,384	9,9	Kinik asit
11	32,600	0,61	Fitol
12	33,997	3,15	Etil gallat
13	34,482	5,28	Pentadekanoik asit
14	35,275	2,25	Heksidekanoik asit
15	38,484	9,27	Linoleik asit
16	45,378	9,25	3-Pentadesil fenol
17	49,883	8,52	Oktadekanoik asit
18	51,807	0,57	Skualen
<b>Total</b>		100	

**Şekil 3.** A) TPU, B) D2/TPU, C) D5/TPU, D) D10/TPU nanoliflerin SEM görüntüleri

### 3.3 Hava geçirgenliği

Değişen miktarlarda duman ağacı özütü ile kaplanmış TPU nanoliflerin hava geçirgenliği testlerinin sonuçları Tablo 2’de verilmektedir. Tablo 3’te görüldüğü üzere uygulanan test sonuçlarına göre 2mg/cm<sup>2</sup>’lik kaplamalar 23±2cm<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup>s mertebesinde hava geçirgenliğine sahipken özüt kaplama miktarları arttıkça nanoliflerin hava geçirgenlik değerlerinde kayda değer bir azalma saptanmıştır. 10 mg/cm<sup>2</sup> kaplama yapılan D10 numunesinde lif yapısı bozulmasa da, hava geçirgenliği %65 oranında azalmıştır.

**Tablo 2.** Duman ağacı özütünün miktarının hava geçirgenliğine etkisi

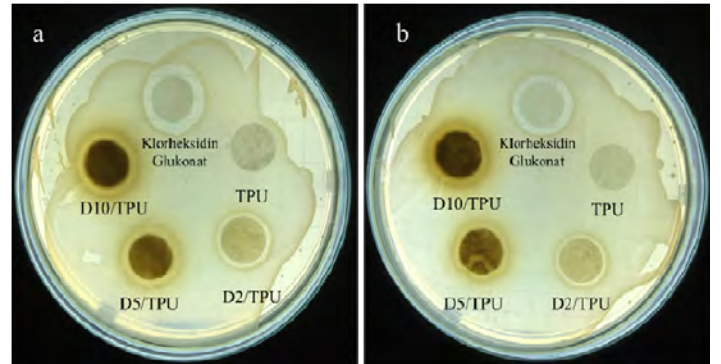
Malzeme	Hava geçirgenliği @ 125 Pa [cm <sup>3</sup> /cm <sup>2</sup> s]
TPU	32 ± 2
D2/TPU	23 ± 2
D5/TPU	15 ± 3
D10/TPU	10 ± 2

### 3.4 Antibakteriyel test

Bu bölümde değişen miktarlarda duman ağacı özütleri ile kaplanmış numunelere *E.Coli* ve *S.Aureus* bakterilerine karşı difüzyon agar ve zamana bağlı olarak antibakteriyel testleri uygulanmıştır.

### Difüzyon agar testi

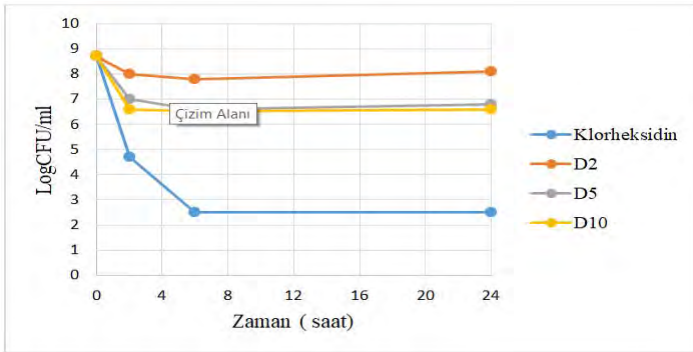
Şekil 4’de farklı miktarlarda duman ağacı bitkisinin özütü ile kaplanmış TPU nanoliflerin *S. Aureus* ve *E. Coli* bakterilerine karşı antibakteriyel test sonuçları gösterilmektedir. Bu test sonuçlarına göre özüt ile kaplanmamış olan TPU nanoliflerde antibakteriyel etkinlik görülmemekte iken duman ağacı özütü içeren nanoliflerde antibakteriyel etkinlik gözlemlenmiştir.

**Şekil 4.** Duman ağacı/TPU ve klorheksidin içeren nanoliflerin a) *E.Coli*, b) *S.Aureus*’a karşı antibakteriyel test görüntüsü

Klorheksidin, D10, D5 ve D2 numunelerinde inhibisyon zon çapları *E.Coli*'ye karşı sırasıyla 28 mm, 25 mm, 24 mm ve 23 mm iken *S.Aureus*'a karşı sırasıyla 27 mm, 25 mm, 24 mm ve 23 mm olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Bu sonuçlarda yola çıkarak duman ağacı özütü ile kaplanmış nanoliflerin *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı yok edici etkiye sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre duman ağacı özütünün miktarının artmasıyla antibakteriyel etkinlikte ciddi bir artış gözlemlenmemiştir.

#### Zamana Bağlı Antibakteriyel Test

Şekil 5, duman ağacı özütü ve klorheksidin ile kaplanmış nanoliflerin *E.Coli*'ye karşı zamana bağlı antibakteriyel testinin sonucunu temsil etmektedir. Test sonuçlarından da görüldüğü üzere klorheksidin içeren nanolif numunede koloni sayısı 6 saat sonunda 6,5 logCFU/ml azalırken 24 saatin sonunda bu miktar neredeyse sabit kalmıştır. D10 numunesinde koloni sayısı 6 saat sonra 2,5 logCFU/ml bir düşüş olurken, 24 saat sonunda bu miktar sabit kalmıştır. D5 ve D2 numunelerinde koloni sayısı 6 saat sonunda sırasıyla 2,5 logCFU/ml ve 1 logCFU/ml azalma gösterirken her iki numunede 24 saat sonra yeniden bakteri oluşumu gözlemlenmiştir.



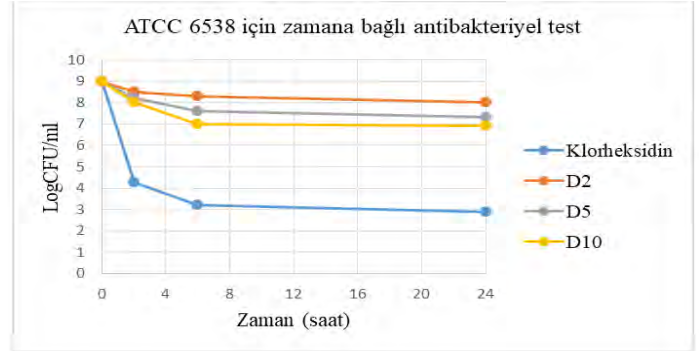
Şekil 5. Duman ağacı/TPU ve klorheksidin içeren nanoliflerin *E.Coli*'ye karşı zamana bağlı antibakteriyel testi sonucu

Şekil 6'da duman ağacı özütü ve klorheksidin ile kaplanmış nanoliflerin *S.Aureus*'a karşı zamana bağlı antibakteriyel testinin sonucu gösterilmektedir. Böylece klorheksidin içeren nanolif numunede 6 saat sonunda koloni sayısı 6 logCFU/ml azalma gözlemlenirken 24 saat sonunda neredeyse sabit kalmıştır. D10, D5 ve D2 numuneleri 6 saat sonunda koloni sayısında sırasıyla 2 logCFU/ml, 1,5 logCFU/ml ve 1 logCFU/ml azalmaya neden olmuştur. Antibakteriyel ajanın yüzeyde bulunması ve tamamının salınması sebebiyle 6-24 saat aralığında koloni sayısı herhangi bir değişime uğramamıştır.

Tablo 3. Duman ağacı özütü ile kaplanmış nanoliflerin *E.Coli* ve *S. Aureus*'a karşı inhibisyon zonları (mm)

Organizmalar	Farklı konsantrasyonlarda inhibisyon zonu çapı (mm)				
	Klorheksidin	D10	D5	D2	TPU
<i>E.coli</i>	28	25	24	23	-
<i>S.aureus</i>	27	25	24	23	-

Zamana bağlı antibakteriyel test sonuçları her iki bakteri türü için antibakteriyel ajan miktarı ile koloni sayısının ters orantılı olduğunu açıkça göstermektedir. Yani nanolif yapıların içermiş oldukları antibakteriyel ajan (duman ağacı özütü) miktarı arttıkça ilk 6 saat içinde ortamdaki koloni sayısının azaldığı gözlemlenmektedir. Yüzeydeki duman ağacı özütünün ilk 6 saat içinde salınması nedeniyle 6-24 saat aralığında koloni sayısının ciddi bir değişime uğramadığı görülmektedir.



Şekil 6. Duman ağacı/TPU ve klorheksidin içeren nanoliflerin *S.Aureus*'a karşı zamana bağlı antibakteriyel testi sonucu

#### 4. DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

Bu çalışma ile elde edilen bulgular aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

- Duman ağacı bitkisinin etanol ile sokslet ekstraksiyonu sonucu elde edilen özüt, antibakteriyel etkinliğe sahip bileşenler (%39,09 oranında pirogallol, %9,9 kinik asit, %9,27 linoleik asit, %9,25 3-pentadesil fenol ve %2,53 öjenol) içermektedir.
- Sırasıyla 2 mg/cm<sup>2</sup> kaplanan TPU nanolifleri (D2), 5 mg/cm<sup>2</sup> kaplanan TPU nanolifleri (D5), 10 mg/cm<sup>2</sup> kaplanan TPU nanolifleri (D10), *S.aureus* bakterisine karşın 24 mm, 25 mm, 27 mm inhibisyon zonu çaplarına sahip iken *E.coli* bakterisine karşın 24 mm, 25 mm, 28 mm inhibisyon zonu çaplarına sahip olduğu görülmüştür.
- Zamana bağlı antibakteriyel test sonuçlarında kaplamaların yüzeyde olması sebebiyle numunelerin antibakteriyel etkinliği 6 saat boyunca sürmüştür. 6 saatten sonra bakteri miktarında azalma görülmemiştir.
- Artan özüt miktarı antibakteriyel etkinlikte dikkat çekici bir artışa neden olmaz iken hava geçirgenlik değerlerinde düşüşe neden olmuştur. Dolayısıyla 2 mg/cm<sup>2</sup> kaplamanın yara örtüsü çalışmalarında kullanılmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, elektroüretim göre kıyasla çok daha yüksek hızlarda üretim kapasitesine sahip, endüstriyel uygulamalara uygun bir yenilikçi yaklaşımla antibakteriyel TPU nanolifler üretilmiştir. Üretilen bu nanolif yapıların duman ağacı özütü gibi antibakteriyel ajan ile birlikte yara örtüsü gibi biyomedikal uygulamalarda ve biyosidal hava filtrelerinde kullanılabileceği öngörülmektedir.

## TEŞEKKÜR

*Bu çalışma İstanbul Kalkınma Ajansı (İSTKA 2016/YNY192) ve İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (İTÜ BAP-38050) tarafından desteklenmiştir.*

## KAYNAKLAR

1. Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
2. Cai, Z., Mo, X., Zhang, K., Fan, L., Yin, A., He, C., & Wang, H. (2010). Fabrication of chitosan/silk fibroin composite nanofibers for wound-dressing applications. *International journal of molecular sciences*, 11(9), 3529–3539.
3. Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K., & Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639–652.
4. Diao, W.-R., Hu, Q.-P., Zhang, H., & Xu, J.-G. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, 35(1), 109–116.
5. Yassa, N., Masoomi, F., Rankouhi, S. R., & Hadjiakhoondi, A. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of *Rosa damascena* from Iran, population of Guilan. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 175–180.
6. Nakahara, K., Alzoreky, N. S., Yoshihashi, T., Nguyen, H. T., & Trakoontivakorn, G. (2013). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 37(4), 249–252.
7. Gilling, D. H., Kitajima, M., Torrey, J. R., & Bright, K. R. (2014). Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus. *Journal of applied microbiology*, 116(5), 1149–1163.
8. Avci, H., Monticello, R., & Kotek, R. (2013). Preparation of antibacterial PVA and PEO nanofibers containing *Lawsonia Inermis* (henna) leaf extracts. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 24(16), 1815–1830.
9. Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7). Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.12492/full>
10. Martins, I. M., Barreiro, M. F., Coelho, M., & Rodrigues, A. E. (2014). Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chemical Engineering Journal*, 245, 191–200.
11. Greenberg, M. J., & Slyer, J. T. (2017). Effectiveness of Silexan oral lavender essential oil compared to inhaled lavender essential oil aromatherapy on sleep in adults: a systematic review protocol. *JBI Database of Systematic Reviews and Implementation Reports*, 15(4), 961–970.
12. Németh-Zámboriné, É., Szabó, K., Rajhárt, P., Lelik, L., Bernáth, J., & Popp, T. (2015). Effect of Nutrients on Drug Production and Essential Oil Content of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(6), 1508–1515.
13. Kim, B.-S., & Kim, I.-S. (2011). Recent nanofiber technologies. *Polymer Reviews*, 51(3), 235–238.
14. Cengiz, F., Krucińska, I., Gliścińska, E., Chrzanowski, M., & Goektepe, F. (2009). Comparative analysis of various electrospinning methods of nanofibre formation. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, (1 (72)), 13–19.
15. Lu, Y., Li, Y., Zhang, S., Xu, G., Fu, K., Lee, H., & Zhang, X. (2013). Parameter study and characterization for polyacrylonitrile nanofibers fabricated via centrifugal spinning process. *European Polymer Journal*, 49(12), 3834–3845.
16. Xu, J., Liu, C., Hsu, P.-C., Liu, K., Zhang, R., Liu, Y., & Cui, Y. (2016). Roll-to-roll transfer of electrospun nanofiber film for high-efficiency transparent air filter. *Nano letters*, 16(2), 1270–1275.
17. Valipouri, A., Ravandi, S. A. H., & Pishevar, A. (2015). Optimization of the parameters involved in fabrication of solid state polymerized polyamide (SSP PA66) nanofibers via an enhanced electro-centrifuge spinning. *Journal of Industrial Textiles*, 45(3), 368–386.
18. Ju, J., Kang, W., Deng, N., Li, L., Zhao, Y., Ma, X., ... Cheng, B. (2017). Preparation and characterization of PVA-based carbon nanofibers with honeycomb-like porous structure via electro-blown spinning method. *Microporous and Mesoporous Materials*, 239, 416–425.
19. Medeiros, E. S., Glenn, G. M., Klamczynski, A. P., Orts, W. J., & Mattoso, L. H. (2009). Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions. *Journal of applied polymer science*, 113(4), 2322–2330.
20. Polat, Y., Pampal, E. S., Stojanovska, E., Simsek, R., Hassanin, A., Kilic, A., Yilmaz, S. (2016). Solution blowing of thermoplastic polyurethane nanofibers: A facile method to produce flexible porous materials. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(9).
21. Bonan, R. F., Bonan, P. R., Batista, A. U., Sampaio, F. C., Albuquerque, A. J., Moraes, M. C., Oliveira, J. E. (2015). In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly (lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera* sp.) oil. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 372–377.
22. Bilbao-Sainz, C., Chiou, B.-S., Valenzuela-Medina, D., Du, W.-X., Gregorski, K. S., Williams, T. G., ... Orts, W. J. (2014). Solution blow spun poly (lactic acid)/hydroxypropyl methylcellulose nanofibers with antimicrobial properties. *European Polymer Journal*, 54, 1–10.
23. Behrens, A. M., Casey, B. J., Sikorski, M. J., Wu, K. L., Tutak, W., Sandler, A. D., & Kofinas, P. (2014). In situ deposition of PLGA nanofibers via solution blow spinning. *ACS Macro Letters*, 3(3), 249–254.
24. Liu, R., Xu, X., Zhuang, X., & Cheng, B. (2014). Solution blowing of chitosan/PVA hydrogel nanofiber mats. *Carbohydrate polymers*, 101, 1116–1121.



25. Xu, X., Zhou, G., Li, X., Zhuang, X., Wang, W., Cai, Z., ... Li, H. (2016). Solution blowing of chitosan/PLA/PEG hydrogel nanofibers for wound dressing. *Fibers and Polymers*, 17(2), 205–211.
26. Demirci, B., Demirci, F., & Başer, K. H. C. (2003). Composition of the essential oil of *Cotinus coggygia* Scop. from Turkey. *Flavour and fragrance journal*, 18(1), 43–44.
27. Novaković, M., Vučković, I., Janačković, P. ja, Soković, M., Filipović, A., Tešević, V., & Milosavljević, S. (2007). Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Cotinus coggygia* from Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(11), 1045–1051.
28. Tunç, K., Hos, A., & Gunes, B. (2013). Investigation of antibacterial properties of *Cotinus coggygia* from Turkey. *Pol. J. Environ. Stud*, 22, 1559–1561.
29. Matić, S., Stanić, S., Solujić, S., Milošević, T., & Niciforović, N. (2011). Biological properties of the *Cotinus coggygia* methanol extract. *Periodicum biologorum*, 113(1), 87–92.
30. Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Ehlke, R. G. F. N. J., Biesboer, D. D., & Bey, R. F. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *Journal of medicinal plants research*, 2(5), 098–110.
31. Sheikh, F. A., Kanjwal, M. A., Saran, S., Chung, W.-J., & Kim, H. (2011). Polyurethane nanofibers containing copper nanoparticles as future materials. *Applied Surface Science*, 257(7), 3020–3026.
32. Halkman, A. K. (2005). Mikroorganizma analiz yöntemleri. Halkman. AK (Eds.), Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Press Ltd. Şti., Ankara, 89–124.
33. Kocaçalışkan, I., Talan, I., & Terzi, I. (2006). Antimicrobial activity of catechol and pyrogallol as allelochemicals. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(9–10), 639–642.
34. Özçelik, B., Kartal, M., & Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical biology*, 49(4), 396–402.
35. McGaw, L. J., Jäger, A. K., Van Staden, J., & Houghton, P. J. (2002). Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. *South African journal of botany*, 68(4), 417–423.
36. Cieślak-Boczula, K., & Koll, A. (2009). The effect of 3-pentadecylphenol on DPPC bilayers ATR-IR and <sup>31</sup>P NMR studies. *Biophysical chemistry*, 140(1), 51–56.
37. Devi, K. P., Nisha, S. A., Sakthivel, R., & Pandian, S. K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of ethnopharmacology*, 130(1), 107–115.