



## Preparing and characterization of St.John's Wort (*Hypericum perforatum*) incorporated wound dressing films based on chitosan and gelatin

Nigar Yıldırım<sup>ID</sup>, İlkur Küçük<sup>ID</sup>\*

Department of Chemical Engineering, Yıldız Technical University, İstanbul, 34220, Turkey

### Highlights:

- Preparation of chitosan-gelatin based wound dressing film
- Incorporation of St.John's Wort to wound dressing film
- Antibacterial effect of St.John's Wort

### Keywords:

- Wound dressing film
- Chitosan
- Gelatin
- St John's Wort
- Antibacterial
- 

### Article Info:

Research Article  
Received: 13.07.2018  
Accepted: 15.10.2018

### DOI:

10.17341/gazimmfd.443639

### Correspondence:

Author: İlkur Küçük  
e-mail: [kucuk@yildiz.edu.tr](mailto:kucuk@yildiz.edu.tr)  
phone: +90 212 383 4761

### Graphical/Tabular Abstract

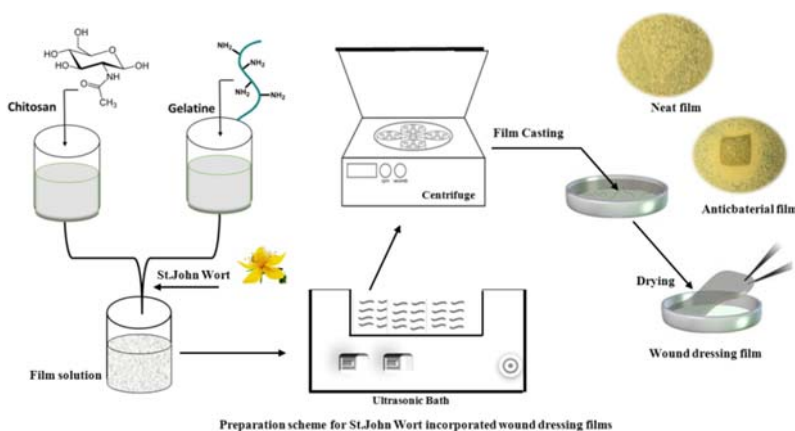


Figure A. Preparation scheme for St.john's wort supported wound dressing films

**Purpose:** The present study aimed to investigate the potential use of St.John's Wort (*Hypericum perforatum*) incorporated films based on chitosan and gelatin as wound dressing.

### Theory and Methods:

Wound infections due to various organisms often lead to challenging complications for public health during wound care management and have been conducted many studies to develop new wound dressing materials which plays critical role in the healing process . A new, innovative wound dressing material still needs to be developed to overcome the current limitations by accompanying the unique features, such as promoted moist environment, rapid wound healing, mechanical protection, non-cytotoxic to healthy tissue, antimicrobial/antifungal effects. In this work, St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) supported wound dressing films based on chitosan and gelatin were prepared by using solvent casting technique. As wound dressing film structures were confirmed by FTIR and optical microscope its physical properties such as thickness, mass, water vapor permission rate (WVPR), water absorption capacity, water content and dressing pH were determined. Also, antibacterial activities were determined by the agar disc diffusion method for gram positive (*S. Aureus*, *B. Subtilis*) and gram negative (*S. Typhi*, *E. Coli*) microorganisms.

### Results:

St.John's Wort (*Hypericum perforatum*) incorporated films that are investigated for their potential as wound dressing films have water absorption capacities of 107-646%, water contents of 6.4-23.1% and water vapor permeability rate (WVPR) of 356.25-984.38 g/m<sup>2</sup>/day respectively. Also, pH values of films were range of 5.26-7.66 and these values are suitable for wound dressing application. It has been observed that all films exhibit antibacterial activity by forming inhibition diameters against four different microorganisms.

### Conclusion:

Material selection is an important step to design an ideal wound dressing. St.John's Wort (*Hypericum perforatum*) incorporated films based on chitosan and gelatin were successfully prepared using a sequential solvent casting method. The results obtained in this study showed that St.John's Wort incorporated films could be used as potential candidates for wound healing application



## Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*) katkılı kitosan ve jelatin esaslı yara örtücü filmlerinin üretimi ve karakterizasyonu

Nigar Yıldırım<sup>1</sup>, İlknur Küçük\*<sup>2</sup>

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 34220, Esenler İstanbul, Türkiye

### Ö N E Ç İ K A N L A R

- Kitosan-jelatin esaslı yara örtücü film hazırlanması
- Yara örtücü filmlerde sarı kantaron katkısı
- Sarı kantaronun antibakteryal etkisi

### Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi  
Geliş: 13.07.2018  
Kabul: 15.10.2018

### DOI:

10.17341/gazimmfd.443639

### Anahtar Kelimeler:

Yara örtücü film,  
kitosan,  
jelatin,  
sarı kantaron,  
antibakteryal

### ÖZET

Bu çalışmada kitosan ve jelatin esaslı, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) katkılı yara örtücü filmler çözelti dökme yöntemi ile hazırlanmıştır. Fiziksel karakterizasyonları kalınlık, kütle, su içeriği, su absorpsiyon kapasitesi ve su buharı geçirgenlik hızı belirlenerek, yapısal ve morfolojik karakterizasyonları ise FTIR ve optik mikroskop kullanılarak incelenmiştir. Antibakteryal aktiviteleri gram pozitif (*S.Aureus*, *B.Subtilis*) ve gram negatif (*S.Typhi*, *E.coli*) mikroorganizmaları için agar disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Yara örtücü film olarak kullanılma potansiyelleri araştırılan filmlerin su içerikleri %6,4-23,1, su absorpsiyon kapasiteleri %107-646 ve su buharı geçirgenlik hızları 356,25-984,38 g/m<sup>2</sup>.gün aralığındadır. Ayrıca hazırlanan tüm filmlerin pH değerleri 5,26-7,66 aralığındadır ve deri pH'ı ile uyumludur. Tüm filmlerin dört farklı mikroorganizmaya karşı inhibisyon çapı oluşturarak antibakteryal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar sarı kantaron içeren kitosan esaslı filmlerin yara örtücü film olarak kullanılma potansiyellerinin olduğunu göstermektedir.

## Preparing and characterization of St.John's Wort (*Hypericum perforatum*) incorporated wound dressing films based on chitosan and gelatin

### H I G H L I G H T S

- Preparation of chitosan-gelatin based wound dressing film
- Incorporation of St.John's Wort to wound dressing film
- Antibacterial effect of St.John's Wort

### Article Info

Research Article  
Received: 13.07.2018  
Accepted: 15.10.2018

### DOI:

10.17341/gazimmfd.443639

### Keywords:

Wound dressing film,  
chitosan,  
gelatin,  
St John's Wort,  
antibacterial

### ABSTRACT

In this work, St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) supported wound dressing films based on chitosan and gelatin were prepared by using solvent casting technique. As wound dressing film structures were confirmed by FTIR and optical microscope its physical properties such as thickness, mass, water vapor permeation rate (WVPR), water absorption capacity, water content and dressing pH were determined. Also, antibacterial activities were determined by the agar disc diffusion method for gram positive (*S. Aureus*, *B. Subtilis*) and gram negative (*S. Typhi*, *E. Coli*) microorganisms. The films that are investigated for their potential as wound dressing films have water absorption capacities of 107-646%, water contents of 6.4-23.1% and water vapor permeability rate of 356.25-984.38 g/m<sup>2</sup>day respectively. Also, pH values of films were range of 5.26-7.66 and these values are suitable for wound dressing application. It has been observed that all films exhibit antibacterial activity by forming inhibition diameters against four different microorganisms. The results obtained in this study showed that St.John's Wort incorporated wound dressing films based on chitosan and gelatin could be used as potential candidates for wound healing application.

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: [kucuk@yildiz.edu.tr](mailto:kucuk@yildiz.edu.tr) / Tel: +90 212 383 4761

## 1.GİRİŞ (INTRODUCTION)

Günümüzde sağlık alanında yürütülen pek çok çalışma konusu içinde yaralar ve iyileşme süreçlerini kapsayan malzemelerin geliştirilmesi üzerindeki çalışmalar hız kazanmıştır [1]. Yara örtücü olarak kullanılan malzemeler yaraların steril tutularak enfeksiyon kapmasının önlenmesi, yaranın iyileşme süresinin kısaltılması, kanın dışarıya akmasını engelleyecek özellikte sıvı absorplayabilmesi ve yaranın iyileşme sürecinde deri bütünlüğünün bozulmadan doğal dokunun korunması gibi durumlarda kritik rol oynarlar [2].

Kitosan kitin türevi katyonik polimer çeşididir. Her yıl yaklaşık yüz milyar ton kitin farklı kaynaklardan elde edilmektedir. Kitosanın çoğunlukla yara örtücü, yapı iskeleti ya da antimikrobiyal ajan uygulamaları vardır [3]. Ayrıca kitosan biyobozunur ve toksik etkisi olmayan biyopolimer olması ile ideal yara örtücü malzemesi olarak ta kullanılabilir. Kitosan temelli yara örtüleri yarayı kapatma, derinin nefes almasını sağlama ve neovaskülarizasyon ile yaranın iyileşmesine katkı sağlama özelliklerine sahiptirler. Yara örtücüler bu özellikleriyle yara kaynaklı uzuv kaybını azaltırlar [4]. Kitosan ayrıca hemostatik ve analjezik etkiye sahip olan, toksik olmayan özellikleriyle yara örtücü malzemesi olarak kullanımı son derece uygun olan biyopolimerdir [5]. Kitosan polisakkarit esaslı biyopolimeri antimikrobiyal etkisi ile ön plana çıkmakta [6] ve yara örtücü film uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır [2].

Jelatin protein esaslı bir biyopolimerdir ve kollajenin hidroliz ürünüdür, toksik değildir, biyouyumludur ve düşük fiyatı ile yara örtücü malzeme olarak kullanılabilir. Jelatin, hayvan derisinden, kemiklerinden ve nadiren de balık yüzgeçlerinden termal denatürasyon ile elde edilen biyoprotein maddedir. Glisin, prolin ve 4-hidroksiprolin olmak üzere temelde üç aminoasit içermektedir. Jelatinin yapısındaki pirolin oranı yüksek ise daha güçlü jel haline gelebilmektedir. Yüksek üçlü helezon yapısı içeriği olan jelatinin su içinde şişme özelliği de artmaktadır. Jelatin ve kitosan biyopolimeri birlikte kullanıldığında filmlerin fiziksel ve mekanik özellikleri iyileştirilebilmektedir [7, 8].

Yara örtücü film çalışmalarında ana yapıya bitkisel ekstraktlar [9], esansiyel yağlar [10] ya da kimyasal katkı maddeleri eklenebilmektedir [11, 12]. Yapıya katılan bu maddeler ile yara örtücü filmlerin fiziksel ve mekanik özellikleri geliştirilebilmekte, yaranın iyileşme süresi kısaltılabilmekte ayrıca zararlı mikroorganizmalardan yaranın korunması sağlanabilmektedir [13, 14].

Sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antidepresif ve antiviral özelliklerinden dolayı küçük yanık ve yaralanmalarda, deri enflamasyonu, sinir ağrısı, anksiyete ve orta şiddetli depresyon gibi dış ve iç kaynaklı hastalıkların tedavisinde çok eski zamanlardan beri kullanılan önemli bir tıbbi bitkidir [15]. Yaralarda, yanık

tedavisinde, böcek ısırıklarında kullanılan sarı kantaronun bunun yanında sinir ağrısı tedavisinde, depresyonda ve sıtma tedavisinde de kullanıldığı bildirilmektedir [15, 16]. Sarı kantaronun toprak üstü kısımları içinde bulunan hiperisinden dolayı antidepresan, biflavonoidleri ve hiperforinden dolayı sedatif, antiinflamatuvar, antiülserojenik ve analjezik; flavonoidlerden dolayı diüretik ve astrenjan; uçucu yağ ise antifilojistik etkiye sahiptir. Bakteri ve mantarlara karşı etkileri araştırılmış ve gram pozitif mikroorganizmalara karşı etkisinin gram negatif mikroorganizmalardan daha yüksek olduğu saptanmıştır [15]. Sarı kantaronun sulu ekstraktının yara sürecindeki epitelizasyon hızını artırarak iyileşme sürecini kısalttığı bilinmektedir [16].

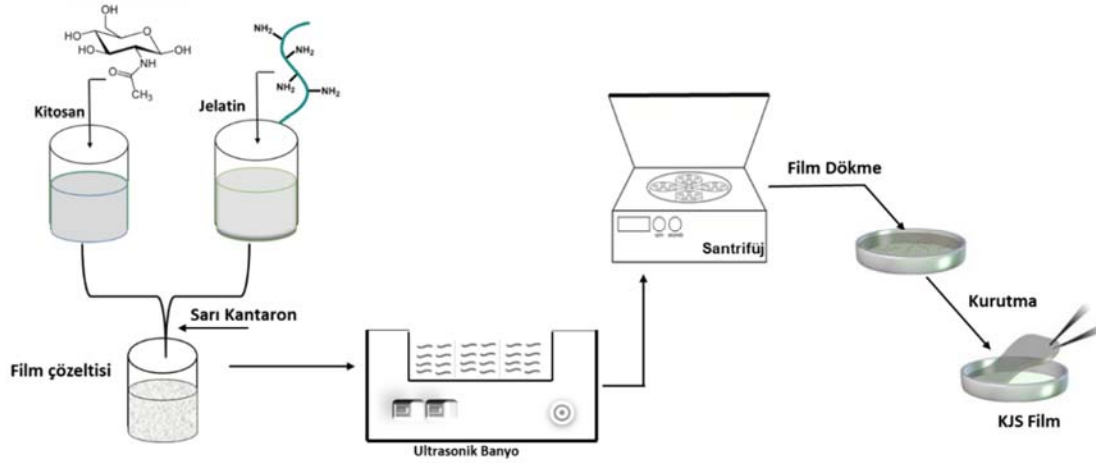
Bu çalışmada, yara örtücü olarak kullanılmak üzere polisakkarit esaslı kitosan biyopolimeri ile protein esaslı jelatin biyopolimerinin çeşitli oranlarda yara bölgesinde ekstrüdayı adsorplayarak yarayı steril tutacak, su buharı geçişine izin vererek yaranın hava almasını sağlayacak filmlerinin hazırlanması ve bu filmlerin yapısına yara iyileştirici ve antibakteriyal özelliği ile bilinen sarı kantaron bitkisel ekstraktının eklenmesi ile filmlere antimikrobiyal özellik kazandırılması hedeflenmiştir. Literatürde kitosan ve jelatin içerikli yara örtücü filmler ve özelliklerine dair çalışmalar olmakla birlikte [7, 8] sarı kantaronun kitosan ve jelatin biyopolimerleri ile bir arada kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## 2.DENEYSSEL METOD (EXPERIMENTAL METHOD)

### 2.1. Film Hazırlanması (Film Preparation)

Kitosan-jelatin içerikli filmin hazırlanmasında kullanılan tipik bir prosedür ise şu şekilde verilebilir: Kitosan (Nu-da Gıda Nebati Yağ ve Yem San. Ltd) ve jelatin (Beşel Endüstriyel Ürünler Tic. A.Ş.) çözeltileri ağırlık yüzdeleri sırasıyla %1 ve %5 olacak şekilde hazırlanmıştır. Gliserin ve tween 80 (Sigma Aldrich ) plastikleştirici olarak seçilmiştir. Suda çözünür sarı kantaron ekstraktı (Nu-da Gıda Nebati Yağ ve Yem Ltd) %5 lik çözelti halinde hazırlanarak yapıya katılmıştır. Ultrasonik banyoda (ALEX Machine Ultrasonic Cleaner) bekletilen film çözeltileri ardından 30 dakika 5000 devir/dakika hızla santrifürlenmiştir. Petri kaplarına dökülen film örnekleri oda sıcaklığında 96 saat kurumaya bırakılmıştır. Şekil 1'de şematik olarak gösterilen deneysel prosedür ile hazırlanan filmlerin kodları Tablo 1'de verilmiştir.

Hayvansal protein olan jelatin ve doğal bir polisakkarit olan kitosanın ana film bileşenleri olarak kullanılması ile hazırlanan yara örtücü filmlerde plastikleştiricinin etkisi incelenmiş, elde edilen film örnekleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Plastikleştiricilerin kullanılmadığı durumda film elde edilememiştir (Şekil 2a). Plastikleştirici olarak gliserin ve tween 80 seçilmiş her iki plastikleştiricinin oranları toplam çözeltinin %0,2 ile %0,5 arasında denenmiş ve gliserin ve tween 80 plastikleştiricilerinin ayrı ayrı kullanıldığı durumlarda hazırlanan filmlerin kırılma ve

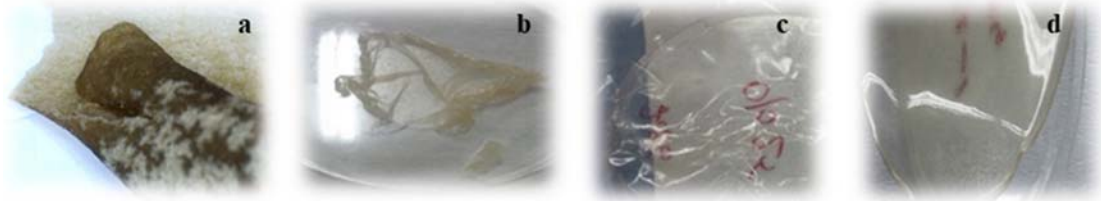


**Şekil 1.** Sarı kantaron katkılı yara örtücü film hazırlama şeması  
(Preparation scheme for St.john's wort supported wound dressing films)

**Tablo 1.** Kitosan-jelatin film kodları (Chitosan-gelatin films code)

KOD	K1J1	K1J1S1	K1J1S5	K1J5S1	K1J5S5	K1J10S1	K1J10S5
KİTOSAN/JELATİN	1:1	1:1	1:1	1:5	1:5	1:10	1:10
SARI KANTARON*	-	%1	%5	%1	%5	%1	%5

\*Toplam monomer oranının ağırlık %'sidir.



**Şekil 2.** Yara örtücü filmlerde plastikleştirici etkisi a) Plastikleştiricisiz b) Gliserin c) Tween80 d) Gliserin ve tween80  
(Plastizer effect on the wound dressing films a) Without plasticizer b) Glycerine c) Tween 80 d) Glycerine and tween80 )

dayanaksız olduğu görülmüştür (Şekil 2b ve 2c). Her iki plastikleştiricinin de kullanıldığı durumda istenen film yapısı elde edilmiş (Şekil 2d) ve sonraki çalışmalarda gliserin ve tween 80 oranı sabit tutulmuştur.

### 2.2. Film Karakterizasyonu (Characterization of Films)

Hazırlanan filmlerin yapı karakterizasyonu Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (FTIR) Bruker Tensor 27 spektrofotometre kullanılarak 4000 ila 400  $\text{cm}^{-1}$  aralığında yapılmıştır. Hazırlanan filmlerin morfolojik özellikleri Olympus BX53 optik mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir.

### 2.3. Kalınlık ve Kütle Ölçümü (Thickness and Mass Measurement)

Petri kaplarına dökülerek hazırlanan filmler 25x25 mm kareler şeklinde kesilmiş ve filmlerin 8 ayrı noktasından Fowler kalınlık ölçer ( $\pm 0.01\mu\text{m}$ ) kullanılarak kalınlıkları belirlenmiştir. Kütle ölçümü için film örneklerinin farklı bölgelerinden 25x25 mm kareler kesilerek yaş ve kuru

ağırlıkları arasındaki fark ile toplam uzaklaşan madde miktarı belirlenmiştir.

### 2.4. Su İçeriği ve Su Absorpsiyon Kapasitesi (Water Content and Water Absorption Capacity)

Filmlerin su içerikleri, filmlerden kare şeklinde kesilen (25x25 mm) ve ilk ağırlıkları ( $M_k$ ) belirlenen örneklerin, 24 saat  $70^\circ\text{C}$ 'de etüvde bekletilerek son ağırlıkları ( $M_s$ ) belirlenmesi ile Denklem 1 kullanılarak hesaplanmıştır [12].

$$\% \text{ Su içeriği} = \left[ \frac{M_k - M_s}{M_s} \right] * 100 \quad (1)$$

Filmlerin su absorpsiyon kapasiteleri ise kare şeklinde kesilen (25x25 mm) ve ilk ağırlıkları ( $M_k$ ) belirlenen film örneklerinin saf su içerisinde 24 saat bekletilmesi ve birer saatlik zaman aralıklarında yaş ağırlıklarının ( $M_y$ ) belirlenmesi ile Denklem 2 kullanılarak hesaplanmıştır [17].

$$\% \text{ Su absorpsiyon kapasitesi} = \left[ \frac{M_y - M_k}{M_k} \right] * 100 \quad (2)$$

### 2.5. Su Buharı Geçirgenlik Hızı (SBGH) (Water Vapour Transmission Rate, WVTR)

Yara örtücü filmlerin su buharı geçirgenlik hızları ASTM 96 metodu modifiye edilerek belirlenmiştir [18]. Silika ile dolu cam kavanozlar hazırlanan filmler ile kapatılarak doygun NaCl çözeltisi içeren desikatöre yerleştirilmiş ve 24 saat boyunca ağırlık değişimleri belirlenmiştir. Daha sonra zamana göre ağırlık değişimi grafiği çizilmiş, elde edilen doğrunun eğimi, film alanına bölünerek su buharı geçirgenlik hızları hesaplanmıştır [19, 20].

### 2.6. pH Ölçümleri (Dressing pH)

Yara örtücü filmlerin pH ölçümleri kare şeklinde kesilen (25\*25 mm) film örneklerinin %0,9 NaCl çözeltisinde 72 saat bekletilerek ve belirli zaman aralıklarında pH'ları belirlenerek gerçekleştirilmiştir [17].

### 2.7. Antibakteryal Aktivite (Antibacterial Activity)

Yara örtücü filmlerin antibakteryal aktivite testleri için agar disk difüzyon metodu kullanılarak gram pozitif bakteriler *B. subtilis*, *S.aureus* ve gram negatif bakteriler *E. Coli*, *S.typhimurium* ile çalışılmıştır. Antibakteryal testlerinden önce, dört mikroorganizma 37 °C'de 24 saat süreyle inkübatörde bekletilerek aktive edilmiştir. Kare şeklinde kesilen filmler (25x25 mm), otoklavdan alınmış agar besiyerlerine ekilmiş ve petrilerin orta kısımlarına steril bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Bakteri içeren filmlerin yerleştirildiği petri kapları inkübe edilmiş ve filmlerin etrafındaki şeffaf zonlar dört farklı açıdan ölçülmüştür.

## 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSION)

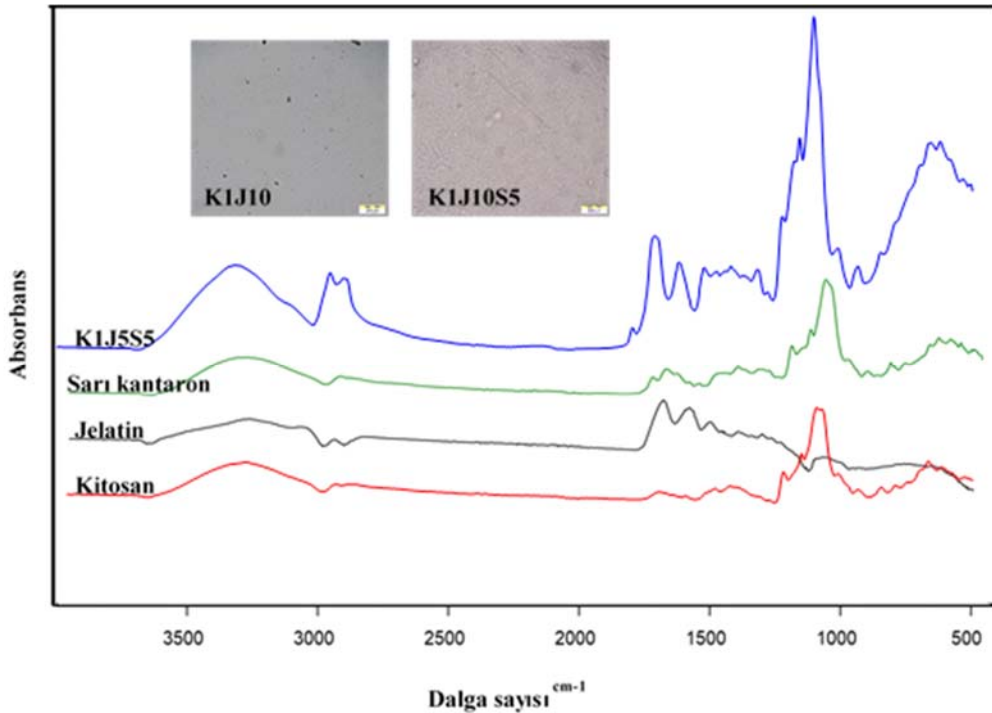
### 3.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometresi (FTIR) ve Morfoloji (Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Morphology)

Hazırlanan yara örtücü filmlerin yapısında kitosan, jelatin ve sarı kantaronun varlığını doğrulamak amacıyla hem saf malzemeler hem de K1J5S5 filmine ait FTIR spektrumları (Şekil 3) karşılaştırılmıştır. Kitosanın FTIR spektrumunda 1100 cm<sup>-1</sup> C-O-C simetrik bölge gerilmesini, 1000 cm<sup>-1</sup> C-N gerilmesini gösterir [21]. Jelatinin FTIR spektrumunda 1500 cm<sup>-1</sup> NH gerilmesini, 1400 cm<sup>-1</sup> C-N gerilmesini gösterir [22]. Sarı kantaronun FTIR spektrumunda ise 1680 cm<sup>-1</sup> C=O gerilmesini, 1400 cm<sup>-1</sup> CH<sub>3</sub> gerilmesini, 1000 cm<sup>-1</sup> C-O gerilmesini ve 520 cm<sup>-1</sup> aromatik C-H düzlem gerilmesini gösterir [21]. K1J5S5 filminin yapısında görülen 1680 cm<sup>-1</sup> piki ve 520 cm<sup>-1</sup> aromatik C-H düzlem gerilmesi sarı kantaronun varlığını doğrulamaktadır.

Ayrıca Şekil 3'te verilen K1J10 ve K1J10S5 yara örtücü filmlerine ait optik mikroskop görüntüleri kitosan ve jelatin esaslı matris içerisinde sarı kantaronun homojen olarak dağıldığını göstermektedir.

### 3.2. Kalınlık ve Kütle Ölçümü (Thickness and Mass Measurement)

Sırasıyla 8,8, 9,1 ve 9,8 cm olmak üzere farklı çaplarda hazırlanan filmlerin kalınlıklarının 36-90 µm arasında ve kütlelerinin 53-91 mg arasında değiştiği görülmüştür. Bununla birlikte hazırlanan her bir filmin kalınlığındaki



Şekil 3. FTIR spektrumları ve optik mikroskop görüntüleri (FTIR spectra and optic microscope images)

değişimin %0,5 ile %1 arasında, kütledeki değişimin ise %1 ile %2 arasında olduğu belirlenmiştir. Farklı çaplarda hazırlanan filmlerin kalınlıkları ve kütlelerindeki bu değişim oraları filmlerin homojen olarak hazırlanabildiğini göstermektedir. Toplam uzaklaşan madde miktarının %94-97 arasında değiştiği görülmektedir. Kitosan-jelatin filmlerinin yapısında kullanılan toplam katı madde (kitosan, jelatin, plastikleştiriciler ve bitkisel katkı) miktarının %3-5 (ağ.) arasında olduğu dikkate alınırsa toplam uzaklaşan madde miktarının %94-97 arasında olması beklenen bir sonuçtur.

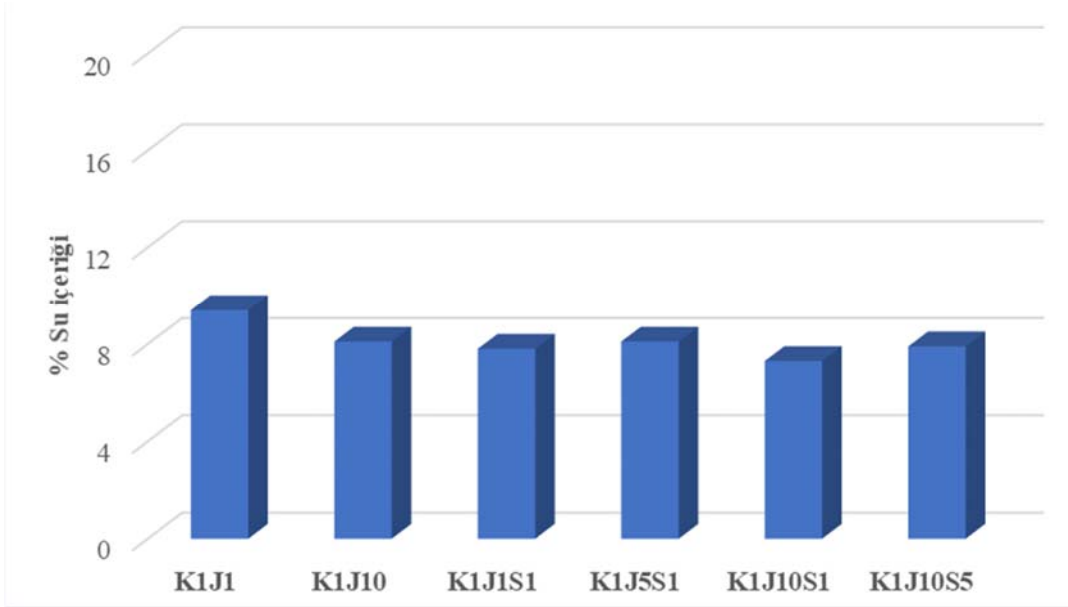
### 3.3. Su İçeriği ve Su Absorpsiyon Kapasitesi (Water Content and Water Absorption Capacity)

Yara örtücü filmlerin yarayı nemli ortamda tutabilme kabiliyeti iyileşme süreci için oldukça önemli bir özelliktir [23]. Hazırlanan filmlerin su içerikleri Şekil 4'de verilmiştir. K1J1 ve K1J10 filmlerinin su içerikleri sırasıyla %9,4 ve

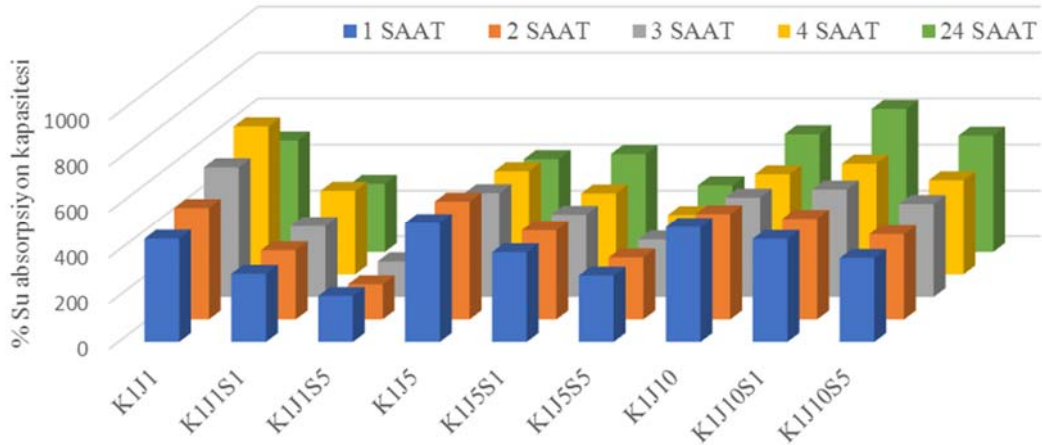
%8,1 olarak belirlenmiştir. Jelatin oranının artmasıyla filmlerin yapısındaki su içeriğinin azaldığı, yapıya katılan sarı kantaronunun da filmlerin su içeriğinde az da olsa bir miktar düşüşe neden olduğu ve sarı kantaron katkılı filmlerin su içeriklerinin %8,1-7,3 aralığında değiştiği belirlenmiştir.

İdeal yara örtücüler yara yüzeyindeki yara sıvısını absorplayabilmelidir [24]. Hazırlanan filmler için hesaplanan su absorpsiyon kapasiteleri Şekil 5'te verilmektedir. Tüm filmlerin su absorpsiyon kapasitesinin 4 saat sonunda dengeye ulaştığı ve filmlerin 24 saat boyunca da yapısal bütünlüklerini korudukları görülmüştür.

Sarı kantaronun filmlerin su absorpsiyon kapasitesinin düşürdüğü, film yapısındaki oranının artmasıyla da bu düşüşün arttığı açıkça görülmektedir. K1J1 filminin su absorpsiyon kapasitesi %646 iken yapıya sarı kantaron katılmasıyla bu oran K1J1S1 için %43 azalarak %362'ye, K1J1S5 için %83 azalarak %107'e kadar düşmüştür. K1J5



Şekil 4. Filmlerin su içeriği (Water content of films)



Şekil 5. Filmlerinin su absorpsiyon kapasiteleri (Water absorption capacities of films)

filminin su absorpsiyon kapasitesi %451 iken yapıya sarı kantaron katılmasıyla bu oran K1J5S1 için %21 azalarak %354'e, sarı kantaron film yapısındaki oranının artmasıyla su absorpsiyon kapasitesi K1J5S5 için %42 azalarak %260'a kadar düşmüştür. K1J10 filminin su absorpsiyon kapasitesi %438 iken yapıya sarı kantaron katılmasıyla bu oran K1J10S1 filmi için %10 artarak %484'e, K1J5S5 için %6 azalarak %412'e kadar düşmüştür.

Yara örtücü film olarak kullanılması hedeflenen filmlerde sarı kantaronun yapıya katılması ile filmlerin hem su içeriklerinde hem de su absorpsiyon kapasitelerinde bir düşme olduğu görülmektedir. Bu durumun sarı kantaronun yapısında bulunan polifenoller ile kitosan arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde tıbbi bitkilerde bulunan fenollerin kitosan ile etkileşimlerinin su ile yapılan hidrojen bağlarında azalmaya ve bu durumun da şişme derecesinde düşüşe sebep olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [12, 22]. Bununla birlikte yara örtücü olarak kullanılan kitosan filmlerinin su absorpsiyon kapasitelerinin %100-900 arasında değiştiği bilinmektedir [25, 26]. Bu çalışmada hazırlanan sarı kantaron katkılı filmlerin su absorpsiyon kapasitelerinin %107-412 arasında değiştiği ve yara örtücü film olarak kullanılmaya uygun olduğu görülmektedir.

#### 3.4. Su Buharı Geçirgenlik Hızı (SBGH) (Water Vapour Transmission Rate, WVTR)

Yara örtücü filmlerin su buharı geçirgenliği bakteri gelişimini engellediği için yüksek olması istenen bir özelliktir [13]. K1J1, K1J5 ve K1J10 filmlerinin su buharı geçirgenlik hızları sırasıyla; 984,38 g/m<sup>2</sup>.gün, 721,88 g/m<sup>2</sup>.gün ve 778,13 g/m<sup>2</sup>.gün olarak hesaplanmıştır. Jelatinin su buharı geçirgenliğinde az da olsa düşüşe neden olduğu, görülmektedir. Sarı kantaron katkılı K1J1S1, K1J10S1 ve K1J10S5 filmlerinin su buharı geçirgenlik hızları sırasıyla; 693,75 g/m<sup>2</sup>.gün, 356,25 g/m<sup>2</sup>.gün ve 393,25 g/m<sup>2</sup>.gün

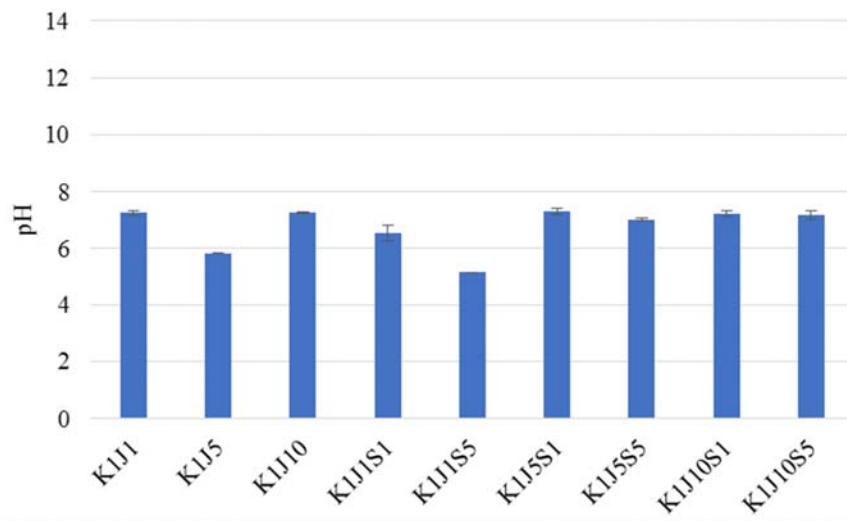
olarak hesaplanmıştır. Yapıya katılan sarı kantaronun fillerin su buharı geçirgenliğinde düşüşe neden olduğu görülmektedir. Bu durum sarı kantaronun film yapısında dolgu malzemesi gibi davranarak gözenek yapısını tıkaması ile açıklanabilir [9]. Normal ciltler için su buharı geçirgenlik hızı 204 g/m<sup>2</sup>.gün olarak verilmektedir [27]. Bununla birlikte, yaralanmış deride, bu değer 200- 5138 g/m<sup>2</sup>.gün aralığında değişebilir [26, 27]. Bu çalışmada hazırlanan sarı kantaron katkılı filmlerin su buharı geçirgenlik hızları değerlerinin 356,25 – 693,75 g/m<sup>2</sup>.gün arasında değiştiği ve yara örtücü film olarak kullanılmaya uygun olduğu görülmektedir.

#### 3.5. pH Ölçümleri (Dressing pH)

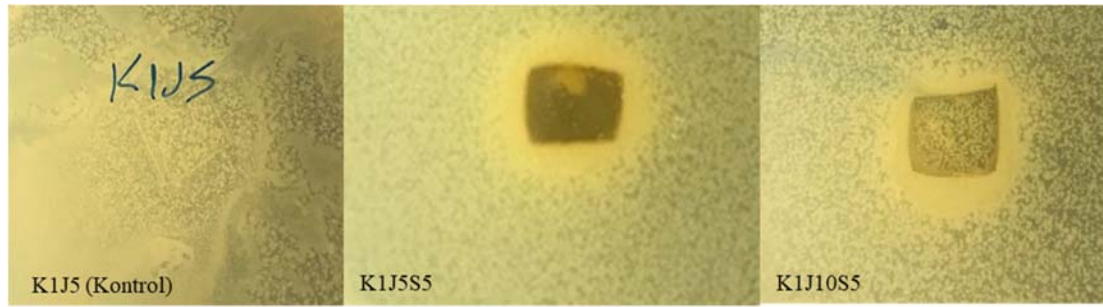
Yara yüzeyi asidik özelliktedir, iyileşmesi için meydana gelecek fibroblast hücreleri de asidik ortamda (pH:4-6,8) çoğalır. Asidik ortamdaki fibroblast hücrelerinin çoğalması, nötralize ve bazik ortamlara göre daha hızlıdır. Bu sebeple yara örtücü filmlerin pH'larının asidik özellikte olması istenen önemli bir parametredir ve derinin pH aralığı 5,25-7,9 dir [17]. Hazırlanan filmlerin pH değerleri 5,26-7,66 aralığındadır (Şekil 6) ve tüm filmlerin pH değerleri deri pH değerleri ile uyumludur.

#### 3.7. Antibakteryal Aktivite (Antibacterial Activity)

Yara örtücü filmlerin en önemli özelliklerinden biri antimikrobiyal etkiye sahip olmaları ve yara bölgesinde oluşabilecek mikroorganizmalara karşı yarayı sararak koruyabilmeleridir [19]. Su buharı geçirgenliği, su emme kapasitesi ve su içeriği özellikleri dikkate alınarak K1J5S5 ve K1J10S5 filmlerinin dört farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Tablo 2'de filmlerin zararlı mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon çapları verilmektedir, her bir filmin antimikrobiyal etki gösterdiği ve inhibisyon çapı oluşturduğu görülmektedir.



Şekil 6. Filmlerin pH değerleri (pH value of films)



**Şekil 7.** Filmlerin *S.Typhi*'e karşı antibakteryal aktivitesi ve inhibisyon bölgeleri  
(Antibacterial activity of films against *S.Typhi* and inhibition zones)

**Tablo 2.** Filmlerin inhibisyon çapları (Inhibition zone of films)

Film	Gram (+)		Gram (-)	
	S.Aureus	B.Cereus	E.Coli	S.Typhi
	inhibisyon çapı (mm)		inhibisyon çapı (mm)	
K1J5 (Kontrol)	19	30	19	--
K1J5S5	23	22	21	22
K1J10S5	21	20	20	24

Kontrol filmi olan K1J5 filmi için en yüksek antimikrobiyal etkinin gram pozitif bakteri olan *B.cereus*'a ait olduğu ve 30 mm inhibisyon çapı oluşturduğu, K1J5S5 ve K1J10S5 filmlerinin *B.cereus*'a karşı oluşan inhibisyon çapını azaltıkları ve bu mikroorganizmaya karşı antibakteryal etkiyi artırmadıkları görülmektedir. K1J5S5 ve K1J10S5 filmlerinin gram pozitif bakteri *S.Aureus* ve gram negatif bakteri *E.coli*'e karşı kontrol filmine kıyaslandığında inhibisyon çaplarında az da olsa bir büyüme görülmektedir. Yapısında sarı kantaron içeren K1J5S5 ve K1J5S10 filmleri en önemli antibakteryal etkiyi gram negatif bakteri *S.Typhi*'e karşı göstermişlerdir. Bu filmlerin *S.Typhi*'e karşı gösterdikleri antibakteryal aktivite ve oluşan inhibisyon bölgeleri Şekil 7 de verilmiştir. *S.Typhi*'e karşı kontrol filmi bir inhibisyon bölgesi oluşturmazken sarı kantaron içeren K1J5S5 ve K1J10S5 filmlerinin sırasıyla 22 ve 24 mm çapında inhibisyon bölgesi oluşturduğu görülmektedir.

#### 4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Yara örtücü olarak kullanılmak üzere kitosan ve jelatin esaslı, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) katkıları ile hazırlanmış ve yapısal ve morfolojik karakterizasyonları FTIR ve optik mikroskop kullanılarak yapılmıştır. Sarı kantaron katkıları filmlerin su içeriklerinin %8,1-7,3, su absorpsiyon kapasitelerinin %107-412 ve su buharı geçirgenlik hız değerlerinin 356,25 –693,75 g/m<sup>2</sup>.gün arasında değiştiği belirlenmiştir. Hazırlanan filmlerin pH değerleri 5,26-7,66 aralığındadır ve bu değerler deri pH değerleri ile uyumludur. Sarı kantaron katkıları olarak hazırlanan filmler özellikle gram negatif bakteri *S.Typhi*'e karşı önemli bir inhibitör etkisi göstermiştir. Elde edilen

sonuçlar bu çalışma ile hazırlanan sarı kantaron katkıları filmlerin su absorpsiyon kapasiteleri, su buharı geçirgenlikleri ve antibakteryal özellikleri ile potansiyel yara örtücü olarak umut verici bir aday olduğunu göstermektedir.

#### KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Simões D., , Sónia P.M., Maximiano P.R., Paula C., António G.M. , Ilídio J.C., Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review, Eur. J. Pharm. Biopharm., 127, 130–141, 2018.
2. Khorasani M.T., Joorablo A., Moghaddam A., Incorporation of ZnO Nanoparticles Into Heparinised Polyvinyl Alcohol/Chitosan Hydrogels For Wound Dressing Application, Int. J. Biol. Macromol., 114, 1203-1215, 2018.
3. Aranaz M., Mengibar R., Harris I., Miralles N., Galed A., Functional Characterization of Chitin and Chitosan, Current Chemistry Biology, 3, 203-230, 2009.
4. Tang F., Lu F., Rong Z., Li B., Yu J., Preparation And Characterization of N-Chitosan As A Wound Accelerator, Int. J. Biol. Macromol., 93, 1295-1303, 2016.
5. Baniyasi H., Ramazani S.A., Mashayekhan S., Fabrication and Characterization of Conductive Chitosan/Gelatin-Based Scaffolds For Nerve Tissue Engineering, Int. J. Biol. Macromol., 74, 360-366, 2015.
6. Kip F., Açikel U., Removal of tetracycline by biocomposites synthesized with immobilization of rhizopus delamar and candida types, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 34(3), 1417-1426, 2019, [https:// doi. or./ 10.17341/ gazimmfd.460539](https://doi.org/10.17341/gazimmfd.460539)
7. Qiao C., Ma X., Zhang J., Yao J.,Molecular Interactions In Gelatin/Chitosan Composite Films, Food Chemistry, 235, 45-50, 2017.
8. Lu Z., Gao J., He Q., Wu J., Enhanced Antibacterial And Wounds Healing Activities Of Microporous Chitosan-Ag/ZnO Composite Dressing, Carbohydr. Polym., 156, 460-469, 2017.
9. Pavlonis A., Baranauskas A., Puidokaite L., Antimicrobial Activity Of Soft And Purified Propolis Extracts, Medicina, 44(12), 977-983, 2008.
10. Memiş, S., Çemen Tohumu Bazlı Nanokil Katkıları Biyobozunur Nanokompozit Film Üretimi ve



- Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2017.
11. Noshirvani N., Ghanbarzadeh B., Gardrat C., Cinnamon And Ginger Essential Oils To Improve Antifungal, Physical And Mechanical Properties Of Chitosan-Carboxymethyl Cellulose Films, *Food Hydrocolloids*, 70, 36-45, 2017.
  12. Souza V.G., Fernando A.L., Pires J.R., Rodrigues P.F., Physical Properties of Chitosan Films Incorporated With Natural Antioxidants, *Industrial Crops&Products*, 107,565-572, 2017.
  13. Çubukçu B., Meriçli A.H., Mat A., Sarıyar G., Sütülpınar N., Meriçli F., *Fitoterapi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 79, 46, İstanbul,2002.
  14. Unlu A.E., Takac S., The kinetics of Rhodotorula glutinis growth and the enhancement of catalase activity in glycerol containing media, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 33(2), 493-501, 2018.
  15. Taş A., Bazı Hypericum Türlerinin Antibakteriyel Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2006.
  16. World Health Organization,WHO Monographs on Selected Medicinal Plants Volume 1-4. <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js2200e/> . Yayın tarihi 2017. Erişim tarihi Ocak 2018.
  17. Devi N. ve Dutta J., Preparation And Characterization Of Chitosan-Bentonite Nanocomposite Films For Wound Healing Application, *Int. J. Biol. Macromol.*, 104, 1897-1904, 2017.
  18. ASTM 96-97, Annual book of ASTM standards, American Society for Testing and Materials, Pennsylvania, 2003.
  19. Kouchak M., Handali S., Boroujeni B.N., Evaluation Of The Mechanical Properties And Drug Permeability Of Chitosan/Eudragit RL Composite Film, *Osong Public Health Research Perspect*, 6, 14-19, 2015.
  20. Wu Z., Huang X., Li Y.C., Xiao H., Wang X., Novel chitosan films with laponite immobilized Ag nanoparticles for active food packaging, *Carbohydr. Polym.*, In press, available online 11 July 2018.
  21. Erdik E., *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*, Gazi Kitabevi, 5.Baskı, Ankara, 2008.
  22. Pal K., Banthia A.K, Majumdar, D.K., Preparation and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Gelatin Hydrogel Membranes For Biomedical Applications, *AAPS PharmSciTech*, 8(1), 142-146, 2007.
  23. Noshirvani N., Ghanbarzadeh B., Gardrat C., Cinnamon And Ginger Essential Oils To Improve Antifungal, Physical And Mechanical Properties Of Chitosan-Carboxymethyl Cellulose Films, *Food Hydrocolloids*, 70:36-45, 2017.
  24. Montaser, A.S., Mohsen, A.M., Ramadan, M.A., Preparation and Characterization of Alginate/Silver/Nicotinamide Nanocomposites For Treating Diabetic Wounds, *Int. J. Biol. Macromol.*, 92,739-747, 2016.
  25. Agarwal T., Narayan R., Maji S., Behere S., Gelatin/Carboxymethyl Chitosan Based Scaffolds For Dermal Tissue Engineering Applications, *Int. J. Biol. Macromol.* , 93:1499-1506, 2016.
  26. Morgado P.I., Ricardo A.A., Correia I.J., Asymmetric Membranes as Ideal Wound Dressings: An Overview on Production Methods, Structure, Properties and Performance Relationship, *J. Membr. Sci.*, 490, 139-151, 2015.
  27. Rezvanian M., Naveed A., Mohd C., Iqbal M.A., Shioh-Fern N., Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications, *Int. J. Biol. Macromol.*, 97, 131–140, 2017.

