

Year  
Yıl **2020**

Volume  
Cilt **4**

Special Issue  
Özel Sayı

p-ISSN: 2651-401X  
e-ISSN: 2651-4028

# ICONST'20

EST-Engineering Science and Technology  
LST-Life Science and Technology  
NST-Natural Science and Technology

[www.iconst.org](http://www.iconst.org)

**Owner:**

Dr. Hamza KANDEMİR

**Editor in Chief:**

Prof. Dr. Kürşad ÖZKAN

**Co-Editor:**

Dr. Mustafa KARABOYACI

**Technical Editors:**

Res. Asst. Abdullah BERAM  
Instructor Serkan ÖZDEMİR

**Layout Editors:**

Instructor Doğan AKDEMİR  
MSc. Tunahan ÇINAR

**Cover designer:**

Instructor Serkan ÖZDEMİR

**Press:**

Kutbilge Association of Academicians  
Distribution, Sales, Publisher; Certificate  
No: 42086  
32040, Isparta, TURKEY

**Contact:**

Kutbilge Association of Academicians,  
32040, Isparta, TURKEY

**Web** : dergipark.gov.tr/bilgesci

**E-mail** : kutbilgescience@gmail.com

**Editorial Advisory Board:**

Ahmet AKSOY, Prof. Dr.  
*Akdeniz University, Turkey*

Amer KANAN, Prof. Dr.  
*Al-Quds University, Palestine*

Cüneyt ÇIRAK, Prof. Dr.  
*Ondokuz Mayıs University, Turkey*

Ender MAKİNECİ, Prof. Dr.  
*İstanbul University, Turkey*

Gülcan ÖZKAN, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

İbrahim ÖZDEMİR, Prof. Dr.  
*Isparta University of Applied Sciences, Turkey*

Kari HELİÖVAARA, Prof. Dr.  
*University of Helsinki, Finland*

Kırali MÜRTEZAOĞLU, Prof. Dr.  
*Gazi University, Turkey*

Mehmet KILIÇ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Mehmet KİTİŞ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Mohamed Lahbib BEN JAMAA, Prof. Dr.  
*INRGREF, Tunisia*

Rene van den HOVEN, Prof. Dr.  
*University of Vet. Med. Vienna, Austria*

Semra KILIÇ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Steve WOODWARD, Prof. Dr.  
*University of Aberdeen, United Kingdom*

**Editorial Board:**

Ali Cesur ONMAZ, Assoc. Prof. Dr.  
*Erciyes University, Turkey*

Asko Tapio LEHTIJÄRVİ, Assoc. Prof. Dr.  
*Bursa Technical University, Turkey*

Halil GÖKÇE, Assoc. Prof. Dr.  
*Giresun University, Turkey*

Kubilay AKÇAÖZOĞLU, Assoc. Prof. Dr.  
*Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey*

Şule Sultan UĞUR, Assoc. Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Ahmet MERT, Assoc. Prof. Dr.  
*Isparta University of Applied Sciences, Turkey*

Ayşe KOCABIYIK, Asst. Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Fecir DURAN, Asst. Prof. Dr.  
*Gazi University, Turkey*

Kubilay TAŞDELEN, Asst. Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel University, Turkey*

Nuri ÖZTÜRK, Asst. Prof. Dr.  
*Giresun University, Turkey*

Ramazan ŞENOL, Asst. Prof. Dr.  
*Isparta University of Applied Sciences, Turkey*

**İmtiyaz Sahibi:**  
Dr. Hamza KANDEMİR

**Editör:**  
Prof. Dr. Kürşad ÖZKAN

**Editör Yardımcısı:**

Dr. Mustafa KARABOYACI

**Teknik Editörler:**

Arş. Gör. Abdullah BERAM  
Öğr. Gör. Serkan ÖZDEMİR

**Mizanpaj Editörleri:**

Öğr. Gör. Doğan AKDEMİR  
Doktorant Tunahan ÇINAR

**Kapak Tasarım:**

Öğr. Gör. Serkan ÖZDEMİR

**Baskı:**

Kutbilge Akademisyenler Derneği,  
Dağıtım, Satış, Yayınevi  
Sertifika No: 42086  
32040, Isparta, TÜRKİYE

**İletişim:**

Kutbilge Akademisyenler Derneği,  
32040, Isparta, TÜRKİYE

**Web** : [dergipark.gov.tr/bilgesci](http://dergipark.gov.tr/bilgesci)

**E-mail** : [kutbilgescience@gmail.com](mailto:kutbilgescience@gmail.com)

**Danışma Kurulu:**

Ahmet AKSOY, Prof. Dr.  
*Akdeniz Üniversitesi, Türkiye*

Amer KANAN, Prof. Dr.  
*Al-Quds Üniversitesi, Filistin*

Cüneyt ÇIRAK, Prof. Dr.  
*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Türkiye*

Ender MAKİNECİ, Prof. Dr.  
*İstanbul Üniversitesi, Türkiye*

Gülcan ÖZKAN, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

İbrahim ÖZDEMİR, Prof. Dr.  
*Isparta Uyg. Bilimler Üniversitesi,  
Türkiye*

Kari HELİÖVAARA, Prof. Dr.  
*Helsinki Üniversitesi, Finlandiya*

Kıralı MÜRTEZAOĞLU, Prof. Dr.  
*Gazi Üniversitesi, Türkiye*

Mehmet KILIÇ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

Mehmet KİTİŞ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

Mohamed Lahbib BEN JAMAA, Prof. Dr.  
*INRGREF, Tunus*

Rene van den HOVEN, Prof. Dr.  
*Viyana Veterinerlik Üniversitesi, Avusturya*

Semra KILIÇ, Prof. Dr.  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

Steve WOODWARD, Prof. Dr.  
*Aberdeen Üniversitesi, Birleşik Krallık*

**Editör Kurulu:**

Ali Cesur ONMAZ, Doç. Dr.  
*Erciyes Üniversitesi, Türkiye*

Asko Tapio LEHTIJÄRVİ, Doç. Dr.  
*Bursa Teknik Üniversitesi, Türkiye*

Halil GÖKÇE, Doç. Dr.  
*Giresun Üniversitesi, Türkiye*

Kubilay AKÇAÖZOĞLU, Doç. Dr.  
*Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Türkiye*

Şule Sultan UĞUR, Doç. Dr.  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

Ahmet MERT, Doç. Dr.  
*Isparta Uyg. Bilimler Üniversitesi, Türkiye*

Ayşe KOCABIYIK, Dr. Öğr. Üyesi  
*Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye*

Fecir DURAN, Dr. Öğr. Üyesi  
*Gazi Üniversitesi, Türkiye*

Kubilay TAŞDELEN, Dr. Öğr. Üyesi  
*Isparta Uyg. Bilimler Üniversitesi, Türkiye*

Nuri ÖZTÜRK, Dr. Öğr. Üyesi  
*Giresun Üniversitesi, Türkiye*

Ramazan ŞENOL, Dr. Öğr. Üyesi  
*Isparta Uyg. Bilimler Üniversitesi, Türkiye*

A peer reviewed international journal, published  
biannually by Kutbilge Association of Academicians.

Yılda iki sayı olarak yayınlanan uluslararası hakemli bir dergi olup,  
Kutbilge Akademisyenler Derneği tarafından yayınlanmaktadır.

The journal is indexed in AcademicKey, Araştırmaz, CiteFactor, Index Copernicus, Eurasian Scientific Journal Index (ESJI), İnfobase Index, ROAD, JIFACTOR, Rootindexing, Science Library Index, Cosmos Index, Directory of Research Journals Indexing (DRJI), International Institute of Organized Research (I2OR), Journal Factor, Google Scholar, Researchbib, Scientific Indexing Service (SIS), ISI (International Scientific Indexing), IPIndexing and ASOS Indeks.

Dergimiz; AcademicKey, Araştırmaz, CiteFactor, Index Copernicus, Eurasian Scientific Journal Index (ESJI), İnfobase Index, ROAD, JIFACTOR, Rootindexing, Science Library Index, Cosmos Index, Directory of Research Journals Indexing (DRJI), International Institute of Organized Research (I2OR), Journal Factor, Google Scholar, Researchbib, Scientific Indexing Service (SIS), ISI (International Scientific Indexing), IPIndexing ve ASOS Indeks'te taranmaktadır.



CONTENTS / İÇİNDEKİLER

Research Articles / Araştırma Makaleleri

- *Mentha piperita* L.'de Dışsal Borlu Gübre Uygulamasının Verim ve Toplam Fenolik Madde Birikimi Üzerine Etkileri / Effects of Exogenous Boron Fertilizer Application in *Mentha piperita* L. on Yield and Total Phenolic Production  
*Özlem Aras Aşçı*..... 1-5
- Electrospun Polyacrylonitrile/Polythiophene Fibers for Phosphate Anion Sensing  
*Neslihan Nohut Maşlakçı*..... 6-12
- Kimyasal Olarak Modifiye Edilmiş Kitosanın Kuvars Kristal Mikroterazi Kullanarak Antibiyofilm Aktivitesinin Değerlendirilmesi / The Assessment of Antibiofilm Activity of Chemically Modified Chitosan Using Quartz Crystal Microbalance  
*Neslihan Nohut Maşlakçı*..... 13-21
- Evaluation of Ship Profiles in Istanbul Port Region with Two-Stage Clustering Analysis  
*Fırat Bolat*..... 33-39

Review Articles / Derleme Makaleleri

- Sağlıklı Yaşamda Üzüm ve Üzüm Ürünleri / Grape and Grape Products in a Healthy Life  
*Özlem Aras Aşçı* ..... 22-32

## *Mentha piperita* L.'de Dışsal Borlu Gübre Uygulamasının Verim ve Toplam Fenolik Madde Birikimi Üzerine Etkileri

Özlem Aras Aşçı<sup>1\*</sup> 

**Özet:** Nane anavatanı Akdeniz Bölgesi olan, dünya üzerinde geniş alanlara yayılmış ve ekonomik önemi yüksek bir bitkidir. Çok yıllık aromatik bir bitki türü olan nane, içerisinde bulunan eterik yağlar ve özellikle mentol, menton, pulegone, carvone bileşikleri ile başta baharat bitkisi olmak üzere, kozmetik, tıp ve ilaç sanayi gibi endüstriyel alanlarda da kullanılmaktadır. Burada sunulan araştırma ile topraktan ve yapraktan püskürtme şeklinde yapılan borlu gübre uygulamalarının dünyada ekonomik anlamda baharat ve tıbbi bitki olarak yetiştirilmekte olan *Mentha piperita* L. türüne ait bitkilerde sürgün uzunluğu, yaş herba verimi, kuru herba verimi, kuru yaprak verimi, klorofil miktarları ve toplam fenolik madde birikimi üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Saksı denemesindeki bitkilere 0, 5, 10, 15 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonlarda sodyum oktaborat gübresi (Na<sub>2</sub>B<sub>8</sub>O<sub>13</sub>.4H<sub>2</sub>O disodyum oktaborat tetrahidrat) iki kez uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, sodyum borat gübresinin, özellikle 10 ve 15 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonlarının, kontrol işlemine kıyasla verim parametrelerini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Toplam fenolik madde miktarını ise 5, 10, 15 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonlarındaki sodyum borat gübresi uygulamalarının sırasıyla %123.87, %119.14 ve %136.02 oranlarında artırdığı tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Nane, sodyum borat, verim, toplam fenolik madde.

## Effects of Exogenous Boron Fertilizer Application in *Mentha piperita* L. on Yield and Total Phenolic Production

**Abstract:** Peppermint is a plant of high economic importance, with its homeland in the Mediterranean region, spread over wide areas around the world. Peppermint a perennial aromatic plant species is used especially as a spice plant with the ethereal oils and menthol, menthone, pulegone, carvone compounds in it, but it is also used in industrial areas such as food, cosmetics, and pharmaceutical industries. The research presented under the light of these determinations, the application of boron fertilizers in the form of spraying from the soil and the foliarly in plants belonging to the *Mentha piperita* L. species, which are economically grown as a spice and medicinal plant in the world, was carried out to determine the effects by the shoot length, fresh herb yield, dry herb yield, dry leaf yield, chlorophyll amounts, and on total phenolic accumulation. Sodium octaborate fertilizer (Na<sub>2</sub>B<sub>8</sub>O<sub>13</sub>.4H<sub>2</sub>O disodium octaborate tetrahydrate) at concentrations of 0, 5, 10, 15 mg L<sup>-1</sup> was applied twice to the plants in the potting experiment. The results showed that sodium borate fertilizer, especially concentrations of 10 and 15 mg L<sup>-1</sup>, significantly increased the yield parameters compared to the control application. It was determined that sodium borate fertilizer applications at concentrations of 5, 10, 15 mg L<sup>-1</sup> increased total phenolic matter accumulation by 123.87%, 119.14%, and 136.02% respectively.

**Keywords:** Peppermint, sodium borohydride, yield, total phenolic matter.

<sup>1</sup>**Address:** Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, 32900, Gelendost/Isparta, Türkiye

**\*Corresponding author:** ozlemaras@isparta.edu.tr

**Citation:** Aras Aşçı, Ö. (2020). *Mentha piperita* L.'de Dışsal Borlu Gübre Uygulamasının Verim ve Toplam Fenolik Madde Birikimi Üzerine Etkileri. Bilge International Journal of Science and Technology Research, 4 (Special Issue): 1-5.

## 1. GİRİŞ

*Mentha piperita* Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait olup otsu, çok yıllık, tüysüz ve kuvvetli kokulu bir bitkidir. Yapraklarının üzerinde bulunduğu kırmızımsı mor ve pürüzsüz sap kısmı kare şeklindedir. Yaprakları kısa (2,5-5 cm), dikdörtgen-oval ve tırtıklı bir yapıdadır. *M. piperita*, *Mentha aquatic* ve *Mentha spicata* arasında raslantısal olarak ortaya çıkmış melez ve steril bir nane türüdür (Shah ve Mello, 2004; Alankar, 2009). *M. piperita* yapraklarında tespit edilmiş major polifenoller rosmarinik asit, kriptoklorojenik asit ve klorojenik asittir (Elansary vd., 2020).

Bor, yüksek yapılı bitkilerde optimum büyüme ve gelişme için gerekli olan temel bir elementtir (Marschner, 1995). İlk kez Warington (1923) tarafından  $H_3BO_3$ ,  $H_2BO_3$  şeklinde bitkilerin 6-60  $\mu\text{g/g}$  miktarları arasında bor içerdiği bulunmuştur. Borun bitki zarları tarafından besin taşınmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Tanada, 1983). Yapılan araştırmalar borun bir düzenleyici veya inhibitör olarak diğer bitki besin maddelerinin birikimini ve kullanımını etkileyebildiğini göstermektedir (Alvarez-Tinaut vd., 1979). Çünkü aşırı miktarda bor, metabolik süreçlere müdahale ederek diğer besin maddelerinin bitkiler tarafından alınmasını etkileyebilmektedir (Corey ve Schulte, 1973). Borun toprak tarafından absorpsiyonu, büyük ölçüde toprak çözeltisinin pH'ına bağlıdır. Toprak tarafından bor absorpsiyonu, pH 3-9 aralığına yükseldiğinde artmaktadır (Barrow, 1989). Bitkilerin kökleri aracılığıyla topraktan aldıkları borun %68'ini yaprakların, %16'sını köklerin, %6'sını gövdenin ve %10'unu meyvelerin bulundurduğu bildirilmiştir (Subedi vd., 1999). Nandede bor eksikliğinin gözle görülür semptomlarının tipik olduğunu belirten Fischer ve Bussler (1984), internodların sınırlı büyümesi, yaprak bozulması, yaprak formunun basitleştirilmesi, yaprakların dökülmesi, korteks dokusunda patlama, renk bozulması, kloroz ve nekroz olabildiğini rapor etmişlerdir.

Yapraktan besin elementi uygulamalarının, çok yıllık bitkilerde önemli bir rol oynadığı görülmüştür. Ayrıca çok yıllık bitkilerden elde edilen mahsullerin hem kalitatif hem de kantitatif yönleri, besin maddelerinin yapraklara uygulanmasıyla iyileştirilmiştir (Brown vd., 1996). Nagy vd. (2008), *Prunus avium* L. bitkisine toprak ve yapraktan üç farklı  $KNO_3$ ,  $Ca(NO_3)_2$  ve  $Na_2B_8O_{13} \cdot 4(H_2O)$  gübresi uygulamışlardır. Uygulanan tüm işlemlerden sadece borun, kontrole kıyasla şeker içeriklerinin artmasında önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada bor uygulamalarının meyvede önemli ölçüde daha düşük asit içeriğine yol açtığı rapor edilmiştir. Hüvely vd. (2020), endüstriyel domateslere yapraktan borlu gübre uygulamasının suda çözünür kuru madde miktarını %0.25 oranında artırdığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda bu uygulama hasat edilen domateslerin verimini artırmıştır. Aynı çalışmada bor gübresi dışında KCl ve Ethrel'de ayrı ayrı uygulanmasına rağmen en yüksek verime borlu gübre uygulamasında ulaşılmıştır. Zeytin ağacına yapraktan farklı konsantrasyonlarda B uygulaması yaptıkları çalışmalarında Hegazi vd. (2018), özellikle 200  $\text{mg L}^{-1}$  bor konsantrasyonunun toplam klorofil, klorofil a ve b ve toplam çözünür şeker miktarını önemli ölçüde artırdığını ancak toplam fenolik madde miktarını kontrole göre düşürdüğünü

bildirmişlerdir. Rajput vd. (2002), Japon nanesi olarak bilinen *Mentha arvensis* 'e mikro besin maddesi olarak 1, 2, 3  $\text{kg ha}^{-1}$  bor uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Bu uygulama sonucunda kontrole göre bitki boylarının uzadığını, yaprak genişliği ve verimin arttığını belirlemişlerdir.

Literatür araştırması, sodyum borat uygulamalarının nanede verimlilik üzerindeki etkilerine yönelik çalışmaların az olduğunu, toplam fenolik madde üzerine ise hiç çalışma olmadığını ortaya koymaktadır. Bu çalışmada sodyum borat gübre uygulamasının *Mentha piperita* L. bitkisinin verim ve toplam fenolik madde miktarı üzerine etkileri incelenmiştir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

Bitkisel materyal olarak nane (*Mentha x piperita* L.)' ye ait bitkiler kullanılmıştır. Nane fideleri 1:1 oranında perlit ve özellikleri ph 5.5-6.8, EC ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ) 220, organik madde %54-60, nem %53.43, su tutma kapasitesi 575.03 ve saflığı %95 olan sakı toprağı karışımı bulunan 12 L'lik saksılara, her birinde 30'ar adet şeklinde dikilmişlerdir. Fideler 3 gün ara ile sulanmışlardır. Sürgün uzunlukları 25 cm olduktan sonra sakı denemelerine toprak ve yaprak gübresi olarak 0, 5, 10, 15  $\text{mg L}^{-1}$  miktarlarında 10 gün arayla 2 kez sodyum borat gübresi ( $Na_2B_8O_{13} \cdot 4H_2O$  disodyum oktaborat tetrahidrat) (ETİDOT-67 marka, suda çözünür bor %20.8) verilmiş ve son uygulamadan 10 gün sonra hasat edilmiştir.

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 10 fide olacak şekilde kurulmuştur.

### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1. Verim kriterlerinin belirlenmesi

##### Sürgün uzunluğu

Her bir bitkinin en uzun sürgününün toprak yüzeyinden en uç kısmına kadarki uzunluğunun cm cinsinden ölçülmesi ile bulunmuştur.

##### Yaş herba verimi

Her bir bitkinin toprak üstü kısmının yaş olarak g cinsinden tartılması ile bulunmuştur.

##### Kuru herba verimi

Bitkinin yaş ağırlığı alınan ve gölgede sabit ağırlığa kadar kurutulan toprak üstü kısmının, g cinsinden tartılması ile bulunmuştur.

##### Kuru yaprak verimi

Bitkinin oda koşullarında ve gölgede kurutulan toprak üstü kısımlarındaki yapraklar saplarından ayrıldıktan sonra g cinsinden tartılması ile bulunmuştur.

##### Klorofil içeriklerinin belirlenmesi

Witham vd. (1971)'nin metoduna göre klorofil analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerde 0.1 g kurutulmuş yaprak örnekleri %80'lik aseton ile özütleme ve 10000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Supernatant kısmı

ayrılmış, geriye kalan posa ise renksiz hale gelinceye kadar %80'lik aseton ile özütlenmiştir. Bundan sonra süspansiyonun bir araya toplanan supernatantları spektrofometrede 645 ve 663 dalga boylarında okunmuşlardır. Klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

$$\text{Klorofil a (mg g}^{-1}\text{)} = [12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})] \times (V / 1000 \times W)$$

$$\text{Klorofil b (mg g}^{-1}\text{)} = [22.91 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})] \times (V / 1000 \times W)$$

$$\text{Toplam klorofil (mg g}^{-1}\text{)} = \text{Klorofil a} + \text{Klorofil b}$$

V= Süpernetantın hacmi (ml)

W= Ekstrakte edilen yaprak ağırlığı (g)

A= Dalga boylarının absorpsiyon değerleri

### 2.2.2. Toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde analizleri Aras Aşçı (2016)'nın metoduna göre yapılmıştır. Buna göre 0.5 g kuru ve toz haline getirilmiş yaprak örneği %0.1 HCl bulunan %70'lik 25 ml metanolde 1 dakika vorteksenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra her biri 30 dakika olmak üzere 2 kez ultrasonik su banyosunda (Bandelin Sonorex RK1000H) ekstrakte edilmişlerdir. Ekstraktlar son olarak filtreden geçirilerek analizde kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965)'ye göre Folin Ciocalteu Kolorimetrik metodu kullanılarak hesaplanmıştır. 765 nm dalga boyunda spektrofotometrede okumalar yapılmış ve toplam fenolik bileşik miktarları standart gallik asit (Sigma: CAS-No: 149-91-7) çözeltisinden hazırlanan körveden yararlanılarak, gallik asit eşdeğeri cinsinden mg g<sup>-1</sup> kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır.

Tüm spektrofotometrik okumalarda absorpsiyon ölçümleri, bir UV / Vis spektrofotometre (Boeco S-22, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### İstatistik Analizler

Veriler SPSS16 yazılımı kullanılarak analiz edildi. Ölçülen tüm özellikler için önemli fark seviyeleri hesaplandı ve ortalamalar Duncan'ın %5 seviyesinde çoklu aralık testleri ile karşılaştırılmıştır.

## 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 3.1. Borlu Gübre Uygulamalarının Verim Üzerine Etkileri

Yürütülen bu çalışmada B uygulamalarının, nane bitkisinin sürgün uzunluğu üzerine olan etkileri Tablo 1'de verilmiştir. İlgili verilerde görüldüğü üzere uygulanan 15 mg L<sup>-1</sup> B' nin sürgün uzunluğunu kontrol ve 10 mg L<sup>-1</sup> B uygulamasına göre olumlu etkisi olmuş ve bu etki istatistiki olarak önemli (P<0.05) bulunmuştur. Benzer şekilde Balcı (2017)'da çay bitkisinde topraktan ve yapraklardan dekara 400 g B uyguladıkları araştırmasında bitkinin hasat tablası altında kalan yaprakları ve hasada esas sürgünlerindeki bor konsantrasyonu ile birlikte bitkinin yaş yaprak verimi ve sürgün boyununda arttığını bildirmiştir.

Yaş herba verimi açısından istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamasına rağmen yapılan uygulamaların yaş herba verimini kontrole göre yükselttiği Tablo 1'den görülmektedir. Dördüncü uygulama olan 15 mg L<sup>-1</sup> B yaş herba veriminde kontrole kıyaslandığında %40'lık bir artışa neden olmuştur.

Denemede kuru herba veriminin en çok 2. ve 4. uygulamalarla sırasıyla bitki başına 2.16 ve 2.47 g olarak istatistiki olarak önemli miktarda arttığı tespit edilmiştir (Tablo 1). Kontrol 0 mg L<sup>-1</sup> B uygulamasında, bitki başına 1.26 g miktarı ile en düşük kuru herba verimini oluşturmuştur. Kuru herba verimine benzer şekilde kuru yaprak veriminde, 5 ve 15 mg L<sup>-1</sup> B uygulamaları da kontrole göre sırasıyla 2.04 ve 1.76 katlık önemli derecede bir ağırlık artışını sağlamışlardır (P<0.05). Bu sonuçlara paralel olarak, Yu vd. (2014) patlıcanın büyümesi, verimi ve kalitesi üzerindeki etkilerini incelemek için tarla denemesi yaptıkları çalışmalarında B'un büyüme teşvik ettiğini ayrıca verimi ve kalitesi üzerinde büyük etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada B uygulamasının gövde çapını %6.45'den %9.09'a, yaprak uzunluğu ve genişliğini ise %8.03'den %9.64 oranında artırdığını bildirmişlerdir.

Klorofil miktarındaki artış sayesinde fotosentez kapasitesi artan bitkilerde verimde artmaktadır. Son yıllarda yürütülen çalışmalar, stoma iletkenliği, fotosentez hızının yanı sıra klorofil içeriği gibi fizyolojik özelliklerin verim kriteri olarak kullanılmasının önemini ortaya koymuştur (Dordas ve Sioulas, 2008; Yıldırım vd., 2009; Yaghini vd., 2020). Tablo 1'de görüldüğü üzere klorofil a, b ve toplam klorofil bakımından 1. ve 2. uygulamalar olan 0 mg L<sup>-1</sup> (kontrol) ile 5 mg L<sup>-1</sup> B uygulaması arasında anlamlı bir fark bulunmamakla beraber istatistiksel olarak en önemli sonuçlar 3. ve 4. uygulamalardan alınmıştır (P<0.05). Buna göre 10 ve 15 mg L<sup>-1</sup> B uygulamaları kontrole göre klorofil a, b ve toplam klorofil miktarlarını kontrole göre oldukça fazla miktarda artırmıştır.



**Çizelge 1.** *M. Piperita*'da borlu gübre uygulamalarının verim üzerine etkileri

Borlu gübre (mg L <sup>-1</sup> )	Sürgün uzunluğu (cm)	Yaş herba verimi (g)	Kuru herba verimi (g)	Kuru yaprak ağırlığı (g)	Klorofil A (mg g <sup>-1</sup> KA)	Klorofil B (mg g <sup>-1</sup> KA)	Toplam klorofil (mg g <sup>-1</sup> KA)
1.Uygulama (0 Kontrol)	37.90 <sup>b</sup>	6.07	1.26 <sup>c</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.89 <sup>b</sup>	0.45 <sup>c</sup>	1.34 <sup>b</sup>
2.Uygulama (5)	40.55 <sup>ab</sup>	7.65	2.16 <sup>ab</sup>	0.90 <sup>a</sup>	1.02 <sup>b</sup>	0.54 <sup>c</sup>	1.56 <sup>b</sup>
3.Uygulama (10)	37.04 <sup>b</sup>	7.38	1.94 <sup>b</sup>	0.86 <sup>ab</sup>	1.32 <sup>ab</sup>	1.76 <sup>a</sup>	3.08 <sup>a</sup>
4.Uygulama (15)	45.84 <sup>a</sup>	8.55	2.47 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	1.84 <sup>a</sup>	1.22 <sup>b</sup>	3.06 <sup>a</sup>
<b>P değeri</b>	0.000010*	0.507176	0.000184*	0.000010*	0.010470*	0.000010*	0.044552*

### 3.2. Borlu Gübre Uygulamalarının Toplam Fenolik Madde Miktarı Üzerine Etkileri

Literatür taramaları sonucu yapılan bu çalışma, toplam fenolik madde üzerine sodyum borat uygulamasının etkisine dair nanedeki ilk çalışma olma özelliğindedir.

Toplam fenolik madde bakımından, kontrol uygulaması 0 mg L<sup>-1</sup> B dışında yapılan bütün uygulamaların istatistiksel olarak (P<0.05) önemli miktarda artış sağladığı Tablo 2 aracılığıyla görülmektedir. Kontrol grubunda 17.344 mg g<sup>-1</sup> KA olan toplam fenolik madde miktarı 2. Uygulamada

38.831 mg g<sup>-1</sup> KA, 3. uygulamada 38.007 mg g<sup>-1</sup> KA ve 4. uygulamada 40.936 mg g<sup>-1</sup> KA olarak tespit edilmiştir. Zeytin yapraklarına bor uygulanan bir çalışmada Hegazi vd. (2018), 100-500 mg L<sup>-1</sup> aralığında farklı bor konsantrasyonlarının toplam fenolik madde miktarını kontrole göre düşürdüğünü bildirmişlerdir. Fenollerin, glikolizden pentoz fosfat yoluna kayma nedeniyle bor eksikliği altında biriktiği bilinmektedir (Marschner 1995). Bu yüzden bor fazlalığı olan bitkilerde fenolik madde miktarı düşmektedir.

**Çizelge 2.** *M. piperita*'da borlu gübre uygulamalarının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkileri

Borlu gübre (mg L <sup>-1</sup> )	Toplam Fenolik Madde (mg g <sup>-1</sup> KA)
1.Uygulama (0 Kontrol)	17.344 <sup>b</sup>
2.Uygulama (5)	38.831 <sup>a</sup>
3.Uygulama (10)	38.007 <sup>a</sup>
4.Uygulama (15)	40.936 <sup>a</sup>
<b>P değeri</b>	0.000454*

## 4. SONUÇ

Gerçekleştirilen çalışmada seçilen konsantrasyonlar içerisinde 4. uygulama olan 15 mg L<sup>-1</sup> B konsantrasyonunun nanede hem verimin hem de fenolik maddelerin yüksek oranda elde edilmesi açısından tavsiye edilebilecek en iyi konsantrasyon olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak *Mentha piperita* bitkisinde sodyum borat gübresinin verime ve toplam fenolik madde birikimine etkileri ile ilgili gelecekteki çalışmalarda daha yüksek konsantrasyonların kullanılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

Alankar, S. (2009). A review on peppermint oil. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2(2), 27-33.

Alvarez-Tinaut, M.C., Leal, A., Agui, I., Recalde-Martinez, L. (1979). Physiological effects of B-Mn interaction in tomato plants, II. The uptake and translocation of macro elements. Analse de Edafologia Agrobiologia, 38(5-6), 991-1012.

Aras Aşçı, Ö. (2016). Hasat Öncesi Metil Jasmonat Uygulamalarının Horoz Karası Üzüm Çeşidinde Verim, Kalite, Sekonder Metabolit Üretimi ve Bazı Biyokimyasal Değişimler Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta. 79s.

Balcı, M. 2017. Bor Uygulamasının Çay Bitkisinde Bor Dağılımı ve Yaş Yaprak Verimi Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. 106 s., Ankara

Barrow, N.J. (1989). Testing a mechanistic model. X. The effect of pH and electrolyte concentration on borate sorption by a soil. Journal of Soil Science, 40(2), 427-435.

Brown, G.S., Kitchener, A.E., McGlasson, W.B., Barnes, S. (1996). The effects of copper and calcium foliar sprays on cherry and apple fruit quality. Scientia Horticulturae, 67(3-4), 219-227.

Corey, R.B., Schulte, E.E. (1973). Factors affecting the availability of nutrients to plants. Eds.: Walsh, L.M., Beaton, J.D., Soil Testing and Plant Analysis. Soil

- Sci. Soc. Am., Inc., Madison, Wisconsin, USA, 23-34 pp.
- Dordas, C.A., Sioulas, C. (2008). Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. *Industrial Crops and Products*, 27(1), 75-85.
- Elansary, H.O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Klimek-Szczykutowicz, M., El-Ansary, D.O., Mahmoud, E.A. (2020). Polyphenol profile and antimicrobial and cytotoxic activities of natural *Mentha* × *piperita* and *Mentha longifolia* populations in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(4), 479.
- Fischer, G., Bussler, W. (1984). Makrosymptome des Bor-Mangels an *Mentha piperita* L. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 147(1), 21-28.
- Hegazi, E.S., El-Motaium, R.A., Yehia, T.A., Hashim, M.E. (2018). Effect of foliar boron application on boron, chlorophyll, phenol, sugars and hormones concentration of olive (*Olea europaea* L.) buds, leaves, and fruits. *Journal of Plant Nutrition*, 41(6), 749-765.
- Hüvely, A., Pető, J., Hegyesi, D. (2020). The impact of different foliar fertilizers on the quantity and nutrient content of industrial tomato. *GRADUS*, 7(1), 75-78.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Academic press. London. 889 pp.
- Nagy, P.T., Thurzo, S., Szabo, Z., Nyeki, J., Silva, A.P., Gonçalves, B. (2008). Influence of foliar fertilization on mineral composition, sugar and organic acid content of sweet cherry. In VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops 868 353-358.
- Rajput, D.K., Rao, B.R., Srivastava, P.C. (2002). Response of coriander (*Mentha arvensis* L. f. *piperascens* Malinv. ex Holmes) to micronutrients. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77(4), 438-440.
- Shah, P.P., Mello, P.M.D. (2004). A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, Vol(3)4.
- Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Subedi, K.D., Gregory, P.J., Gooding, M.J. (1999) Boron accumulation and partitioning in wheat cultivars with contrasting tolerance to boron deficiency. *Plant Soil*, 214, 141-152.
- Tanada, T. (1983). Localization of boron in membranes. *Journal of plant nutrition*, 6(9), 743-749.
- Warington, K. (1923). The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Annals of Botany*, 37(148), 629-672.
- Witham, F.H., Blaydes, D.F., Devlin, R.M. (1971). *Experiments of Plant Physiology*. Von Nostrand Reinhold Co, New York, 55-58.
- Yaghini, F., Sharifi, R.S., Narimani, H. (2020). Effects of supplemental irrigation and biofertilizers on yield, chlorophyll content, rate and period of grain filling of rainfed wheat. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 18(1).
- Yıldırım, M., Akıncı, C., Koç, M., Barutçular, C. (2009). Bitki örtüsü serinliği ve klorofil miktarının makarnalık buğday ıslahında kullanım olanakları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(3), 158-166.
- Yu, L., Wenqiang, W., Ping, L., Yongzhi, Z., Soil, B. (2014). Effects of disodium octaborate tetrahydrate on growth, yield and quality in eggplant. *Journal of Agriculture*, (10), 11.

# Electrospun Polyacrylonitrile/Polythiophene Fibers for Phosphate Anion Sensing

Neslihan Nohut Maşlakçı<sup>1\*</sup> 

**Abstract:** Conducting polymers (CPs) used in fiber structures offer an extraordinary range of materials due to their diverse properties such as electrical and optical properties, the possibility of both chemical and electrochemical synthesis, and ease of processing. Among CPs, polythiophene (PTh) is highly important due to its unique redox electrical behavior, ease of synthesis, and application in many fields.

In this study, 10 wt% polyacrylonitrile (PAN) fibers (P1), 10 wt% PAN/1 wt% PTh fibers (P2), and 10 wt% PAN/3 wt% PTh fibers (P3) were produced using an electrospinning technique. The structural, morphological, thermal, optical, and electrochemical properties of PAN fibers containing different amounts of PTh were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX), Thermogravimetric analysis (TGA), and Cyclic voltammetry (CV), respectively. FTIR, SEM-EDX, and TGA results supported the presence of PTh in PAN fibers.

The electrochemical behaviors of indium-tin-oxide (ITO) glasses coated with the P1, P2, and P3 fibers in phosphate buffer solution (PBS) at various concentrations were assessed by CV. These electrospun fibers containing PTh were used for phosphate anion sensing. For all fiber samples, the oxidation potential increased with a decreasing concentration of phosphate buffer solution. The obtained results indicated that the thermal stability and electrical conductivity of the fibers were affected by PTh. This study shows that PAN fibers containing PTh as anionic sensors can be used as new recognition models.

**Keywords:** Anion sensing, electrospinning, fiber, polyacrylonitrile, polythiophene.

<sup>1</sup>**Address:** Isparta University of Applied Sciences, Gelendost Vocational School,  
Department of Pharmacy Services, 32900, Gelendost/Isparta, Turkey

**\*Corresponding author:** neslihannohut@isparta.edu.tr

**Citation:** Nohut Maşlakçı, N. (2020). Electrospun Polyacrylonitrile/Polythiophene Fibers for Phosphate Anion Sensing. Bilge International Journal of Science and Technology Research, 4 (Special Issue): 6-12.

## 1. INTRODUCTION

In the past few decades, significant advances have been made in nanoscale one-dimensional nanostructures (1D-NS) such as carbon nanotubes, conjugated polymer nanofibers/nanotubes, inorganic semiconducting, and metallic nanotubes/nanowires (Long et al., 2011). Rods, tubes, wires, and fibers with one-dimensional nanostructures (1D-NS) represent the smallest sized structures that can be used for efficient charge transfer. In addition, these structures offer a fascinating optical, electronic, and magnetic property, a large specific surface area, and high mechanical strength. Therefore, these materials are very important for next-generation nanoscale device applications (Long et al., 2011; Ambade et al., 2017). It is known that the physical properties of conducting polymers (CPs) that

modulate the performance of optoelectronic devices are strongly influenced by the molecular orientation, organization, and geometry of the CPs. Therefore, research is increasing day by day to develop new materials with well-defined configurations and improved physical properties. Moreover, CPs mostly need to be nanostructured form to improve device performance. The biggest reason for this is that nanoscale CPs increase redox-mediated charge storage capacity in batteries and supercapacitors thanks to their high specific surface area (Long et al., 2011; Ambade et al., 2017). CPs possess excellent properties such as easy synthesis and processing conditions, chemical and structural diversity, adjustable conductivity, and structural flexibility (Yoon and Jang, 2009; Nambiar and Yeow, 2011; Le et al., 2017).

Recent advances in nanotechnology have allowed the production of versatile CP nanomaterials for a variety of applications including sensors/biosensors, electrochromic devices, electronic and optoelectronic devices, (Yoon and Jang, 2009; Nambiar and Yeow, 2011; Le et al., 2017). In particular, CP nanotubes and nanofibers have a deep impact on both fundamental research and potential applications such as the bio-sensors, nano-diode, nanodevices, nanocomposite materials, tissue engineering, templates for drug delivery, neural interface, and biomedical (Santos et al., 2010; Chen and Dai, 2011; Long et al., 2011; Llorens et al., 2013; Al-Ahmed et al., 2013; Moutsatsou et al., 2017; Mazdi et al., 2017; Park et al., 2019).

Polythiophene (PTh) is an important member of the family inherently conducting polymer (Kaloni et al., 2017). PTh has been widely studied for use in light-emitting diodes, water purification devices, molecular electronics, hydrogen storage, biosensors, and optoelectronic devices (Bouzzine et al., 2015; Kaloni et al., 2017). Generally, PTh and its derivatives are obtained by chemical oxidation and electrochemical synthesis (Bouzzine et al., 2015; Massoumi et al., 2016). However, few studies focused on studying the electrochemical properties of PTh nanofibers (Ambade et al., 2017).

In this study, firstly, nanostructured PTh polymers were synthesized via chemical oxidation polymerization. Then, indium tin oxide (ITO) glasses coated with the fiber membranes of 10 wt% poly(acrylonitrile) (PAN) containing 1 and 3 wt% PTh were prepared for the evaluation of their anion sensing properties. The electrospun fibers were characterized using FTIR, TGA, and SEM-EDX. The anion sensing behaviors of ITO glass substrates coated with 10 wt% PAN (P1), 10 wt% PAN/1 wt% PTh (P2), and 10 wt% PAN/3 wt% PTh (P3) fibers was evaluated using CV in phosphate buffer solution (PBS) prepared at different concentrations.

## 2. MATERIAL AND METHOD

### 2.1. Material

Thiophene ( $C_4H_4S$ , Aldrich), oxidant; iron(III)chloride ( $FeCl_3$ , Merck), chloroform ( $CHCl_3$ , Sigma-Aldrich), methanol ( $CH_3OH$ , Merck) and N,N-dimethylformamide (DMF,  $C_3H_7NO$ , Merck) were used as received. Poly(acrylonitrile) (PAN,  $(C_3H_3N)_n$ , average molecular weight 150.000 g/mol) was purchased from Sigma-Aldrich. Sodium perchlorate ( $NaClO_4$ ,  $\geq 98\%$ , Sigma-Aldrich) was used as a supporting electrolyte for CV studies. Buffer solutions (0.1 M, pH 7.4) prepared in different molarities were prepared with sodium hydroxide (NaOH, Merck), disodium hydrogen phosphate dihydrate ( $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ , Riedel-de Haen) and sodium phosphate monobasic dihydrate ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , Riedel-de Haen).

### 2.2. Chemical synthesis of PTh

PTh was synthesized by chemical in situ oxidative polymerization method described in the literature (Gök et al., 2007). Thiophene (1.92 ml,  $24 \times 10^{-3}$  mol) was mixed with a magnetic stirrer in 70 ml of chloroform. Anhydrous  $FeCl_3$

(8.94 g, 0.055 mol) was dissolved in 180 ml of chloroform and added dropwise to the stirred monomer solution. The [oxidant]/[monomer] molar ratio was adjusted to be 2.3. Polymerization was performed at room temperature for 24 h. The dark brown PTh precipitate was accumulated by filtration and washed with chloroform. It was also washed with methanol to remove residual oxidant from PTh. During this process, the color changed from dark brown to brown. PTh powder was dried under a vacuum dryer at 50 °C for 24 h (Gök et al., 2007).

### 2.3. Preparation of the P1, P2 and P3 electrospun fibers

A concentration of 10 wt% PAN (P1) was dissolved at room temperature in DMF (10 mL). A homogeneous solution of the P1 was prepared by mixing with a magnetic stirrer for 24 h at room temperature. Then, 1 and 3 wt% PTh particles in 10 wt% PAN solution (3 mL) were dispersed at room temperature for 2 h, respectively. The solutions of 10 wt% PAN/ 1 wt% PTh (P2) and 10 wt% PAN/ 3 wt% PTh (P3) were stirred at room temperature for 72 h. Dark brown P2 and P3 solutions were obtained. Fiber production was performed with a hand-made electrospinning system. In the study, EMCO 4300 model direct current converter was used to generate current from a direct current (DC) power supply. The polymer solutions were located into loaded into a plastic syringe with a 24-gauge stainless steel needle. The optimized electrospinning parameters during the process were determined as a solution flow rate of 0.01 mL/h, the application voltage of 12 kV, and a needle tip-to-collector distance of 8 cm.

### 2.4. Characterization of the P1, P2 and P3 electrospun fibers

Redox behaviors of the P1, P2 and P3 fibers between -0.3 and +1.2V were evaluated using a Gamry 300 model potentiostat with a three-electrode system at a scan rate of 100 mV/s.

The behaviors of the anion sensitivity of the P1, P2, and P3 fibers were examined with CV measurements in 0.1 M  $NaClO_4$  electrolyte solution with phosphate buffer prepared in varying concentrations.

Fourier transform infrared (FTIR) spectra of the P1, P2 and P3 fibers were recorded in the range 400–4000  $cm^{-1}$  with a 4  $cm^{-1}$  resolution from KBr pellets on a Fourier transform infrared spectroscopy (PerkinElmer, Frontier, USA) .

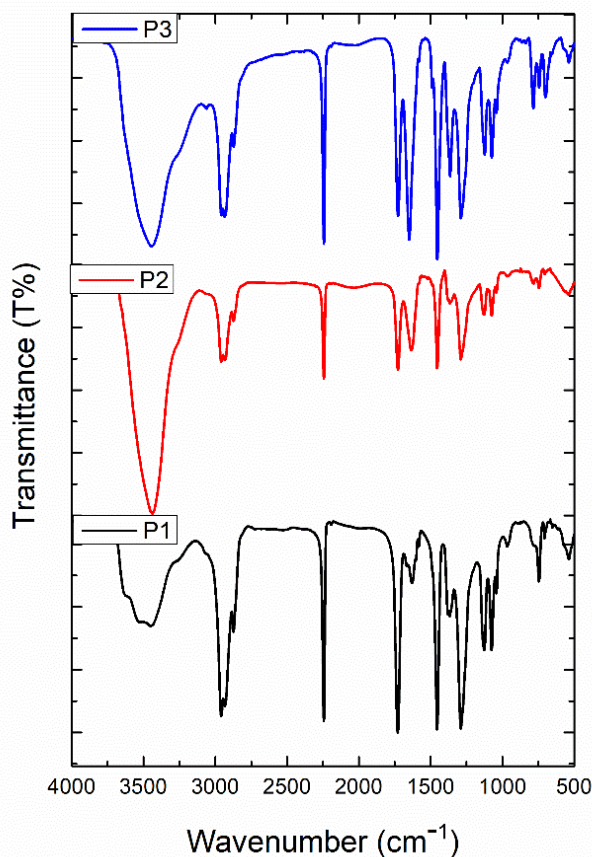
The morphology and elemental composition of fibers were investigated with scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) (Quanta 250 scanning electron microscope and Phillips XL-30S FEG microscope). Thermogravimetric analysis (PerkinElmer, Pyris Diamond Series TG/DTA model, USA) of the fibers was carried out in heating at a rate of 10 °C/min in the presence of an  $N_2$  atmosphere from 25 to 700 °C.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. FTIR results

The FTIR spectra of P1, P2, and P3 fibers are shown in Figure 1. A broad absorption band of the P1 fibers at 3530 and 3448  $\text{cm}^{-1}$  is due to the overlap of the N-H and O-H stretching vibration along the polymer backbone (Zhang et al., 2010; Eren et al., 2014). The absorption bands at 2940, 2242, 1723, 1451, 1072, and 536  $\text{cm}^{-1}$  arise due to CH stretching in CH and  $\text{CH}_2$  groups, C $\equiv$ N stretching, C=O stretching, C-H bending, C-N bending, and C=O twisting, respectively (Zhang et al., 2010; Duan et al., 2012). The strong absorption band of P2 and P3 fibers at 3448  $\text{cm}^{-1}$  is associated with the N-H stretching vibration (Eren et al.,

2014). The absorption bands at 1491 and 1437  $\text{cm}^{-1}$  arise due to C=C asymmetric and symmetric stretching vibrations of thiophene ring, respectively (Gök et al., 2007; Eren et al., 2014). The bands around 1082 and 786  $\text{cm}^{-1}$  belong to the in-plane and out-of-plane C-H aromatic bending vibrations of the substituted thiophene ring (Eren et al., 2014). The band at 835  $\text{cm}^{-1}$  may be attributed to C-S stretching vibration (Gök et al., 2007; Eren et al., 2014). The band at 696  $\text{cm}^{-1}$  are caused by the ring deformation of C-S-C in PTh (Gök et al., 2007). The absorption band between 690 and 1082  $\text{cm}^{-1}$  in the FTIR spectrum of P2 and P3 fibers, due to C-S stretching modes, confirms the incorporation of PTh unit along the polymer backbone.



**Figure 1.** FTIR spectra of P1, P2, and P3 fibers.

#### 3.2. Thermal results

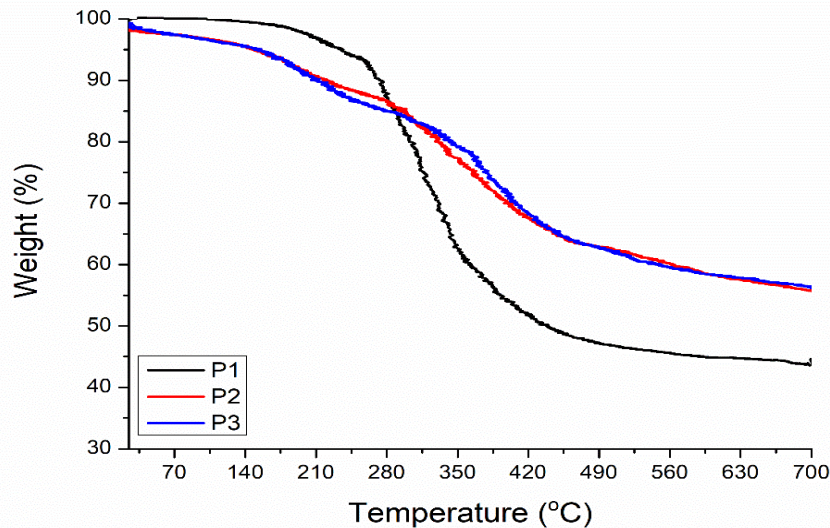
Figure 2 displays the TGA curves of P1, P2, and P3 fibers. The thermal degradation temperatures of samples are listed in Table 1. Due to the loss of moisture embedded in polymer chains, the TGA results of all fiber samples particularly showed an initial weight loss of about 5 % in the range 25-105 °C. While the decomposition stage of P1 fibers was one stage, two-step decomposition was observed for P2 and P3 fibers. However, a sudden decomposition of 14 and 16 % occurs for P2 and P3 fibers in a narrow temperature range of 145-250 °C, respectively. This degradation shows that PTh chains have a weight loss indicating limited thermal stability (Najar and Majid, 2013; Eren et al., 2014). The maximum degradation temperature for P1 fibers is 310 °C. In this step,

while fragmentation of the polymer chain occurs, it leads to weight loss (Wu et al., 2009; Duan et al., 2012).

P2 and P3 fibers containing PTh are more stable up to a temperature of about 350 °C compared to P1 fibers. From 250 °C, continuous degradation starts for the P2 and P3 fibers and the maximum degradation temperature is 353 and 390 °C, respectively. At this temperature the residue left is nearly 71% for P2 fibers and 74 % for P3 fibers owing to PTh, which remains constant up to 700 °C. Residue left for P2 and P3 fibers is 55 and 56 % at 700 °C, respectively, as compared to 43 % for P1 fibers, shows greater thermal stability of P2 and P3 fibers. The thermal stability of P2 and P3 fibers obtained in the presence of PTh is higher than that of pure P1 fibers.

**Table 1.** Thermal degradation temperatures of the fiber samples ( $T_i$ : initial degradation temperature,  $T_m$ : maximum degradation temperature,  $T_f$ : final degradation temperature).

Sample	$T_i$ (°C)	$T_m$ (°C)	$T_f$ (°C)	Residue at 700 °C (wt%)
P1 fibers	206	310	489	43
P2 fibers	145 250	193 353	238 496	55
P3 fibers	141 294	205 390	267 499	56

**Figure 2.** TGA curves for P1, P2, and P3 fibers.

### 3.3. SEM-EDX results

SEM images of all fibers prepared by electrospinning are shown in Figure 3. The P1 and P2 fibers had an average diameter of around  $0.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$  and  $0.6 \pm 0.2 \mu\text{m}$ , together with smooth surfaces, respectively. On the other hand, it was observed that the structure of P3 fibers was degraded, the surface roughness and average fiber diameter ( $1.3 \pm 0.7 \mu\text{m}$ ) increased with the increase in the amount of PTh in the structure of PAN fibers.

Increasing the molecular weight and the polymer solution concentration can facilitate the preparation of uniform fibers and also increase the diameter of the fibers (Jalili et al., 2006; Shao et al., 2012). Due to the fact that PTh was not

completely dissolved in DMF, the fiber diameters of the P2 and P3 mats were clearly increased compared to the fiber diameters of the corresponding P1 mat. The elemental composition of all fibers was determined by EDX. The EDX analysis of the P1, P2, and P3 fiber samples is shown in Figure 4. While the aluminum (Al) observed in all fibers originated from the fiber-collected Al surface, the chlorine (Cl) and iron (Fe) observed in P2 and P3 fibers were caused by impurities in the solution media during chemical synthesis of PTh. The atomic percentage of the element sulfur (S) in the structure of the P1 and P2 fibers is 0.06% and 0.51%, respectively. This small amounts of sulfur trapped on the surface of the PAN fiber indicate the presence of PTh in the fiber.

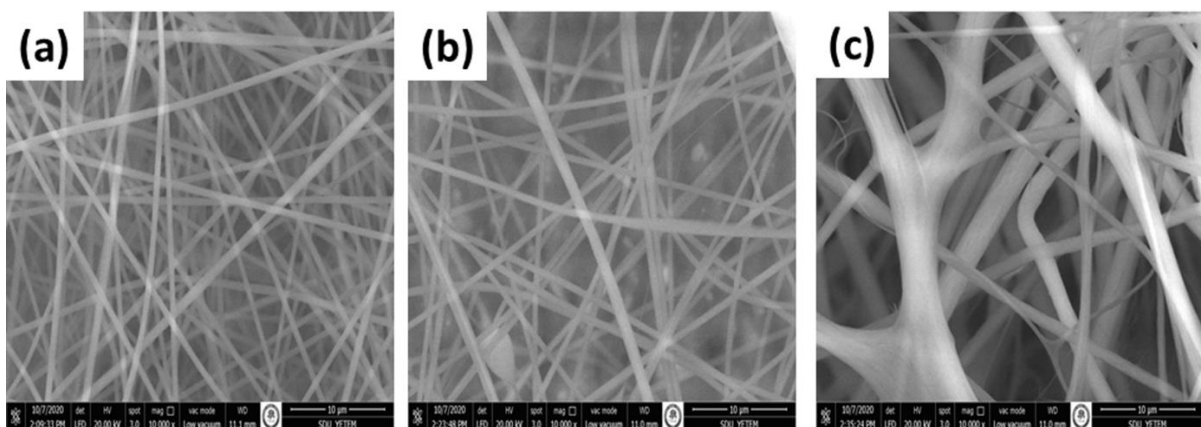
**Figure 3.** Scanning electron micrographs showing of the electrospun fibers of P1 (a), P2 (b), and P3 (c).





Figure 4. EDX spectra images of P1, P2, and P3 fibers.

### 3.4. Electrochemical results

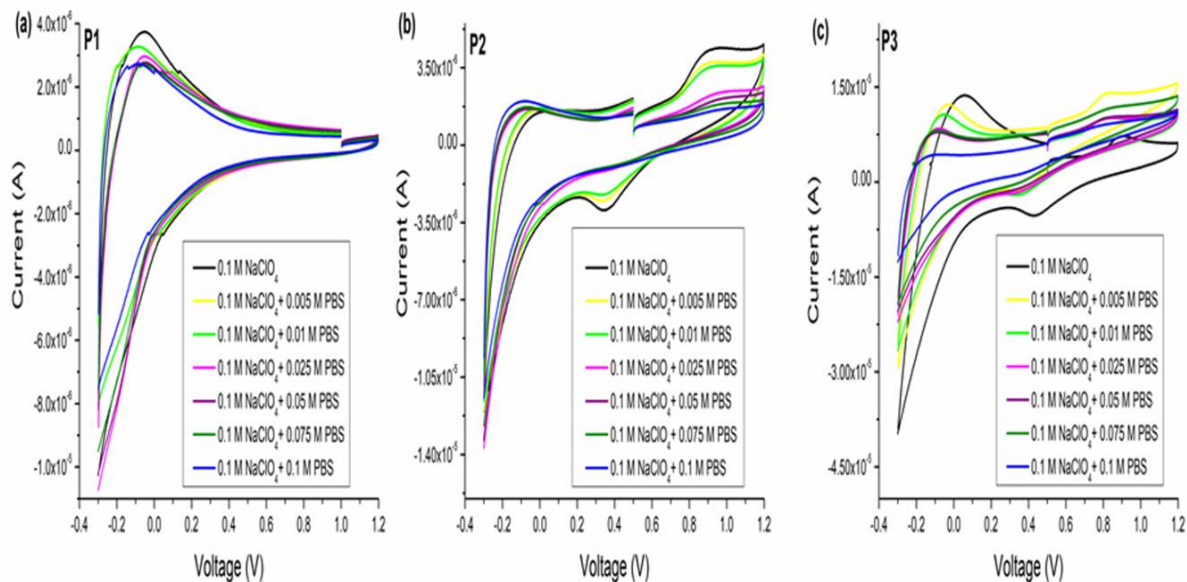
The electroactivity behaviors of the P1, P2, and P3 electrospun fibers were investigated by means of Cyclic voltammetry (CV) in 0.1M NaClO<sub>4</sub> and different concentration of phosphate buffer solution (PBS) (range from 0.005 to 0.1 M) with a three-electrode cell consisting of an ITO coated with fiber as working electrode, a platinum wire auxiliary electrode, and Ag/AgCl as the reference electrode at a scan rate of 100 mV/s. The fiber samples were subjected to potential scans between -0.3 and 1.2 V (vs. Ag/AgCl), as presented in Figure 5.

Table 2 given the redox potential data of the P1, P2, and P3 electrospun fibers. The observed oxidation-reduction peaks are related to the reversible redox reactions of thiophene in ITO glasses coated with P2 and P3 fibers. On the other hand, the P2 and P3 fibers containing PTh showed a sharper CV area than that of the P1 fibers. The presence of polythiophene in the fiber structure contributed to the improvement of the connectivity and electrochemical utilization of PAN fibers during the electrochemical charge-discharge behavior. The conductivity of the fibers was strongly affected by the presence of PTh in the PAN fibers. Figure 5 shows that the peak currents for P2 and P3 electrospun fibers are higher than for P1 electrospun fibers, which indicates that the presence of PTh increases their activity. The CV of the P2 and P3 electrospun fibers shown a typical redox couple with anodic and cathodic peaks at approximately 0.90 and 0.35 V versus the Ag/AgCl electrode, respectively, which was absent in the

P1 fibers. However, shifts in oxidation and reduction peak potentials of P3 fibers were observed with the change in phosphate buffer concentration.

The anion sensitivity measurements of ITO glasses coated with fibers were made in from 0.005 to 0.1M PBS (Figure 5). The oxidation current value of the P1 fibers was  $3.72 \times 10^{-6}$  A for 0.1 M NaClO<sub>4</sub> at -0.05 V. However, the oxidation current values of the P2 and P3 fibers were determined as  $4.28 \times 10^{-6}$  and  $7.17 \times 10^{-6}$  A for 0.1 M NaClO<sub>4</sub> at 0.90 V, respectively (Figure 5, Table 2). The reduction current values for all fibers were valued as a function of the concentrations of PBS.

Especially, in the P2 fibers, a linear decrease was observed in the current values in PBS concentrations ranging from 0.005 to 0.1 M. The highest peak current was observed for P3 fibers at about 0.82 V for 0.005 M PBS (Figure 5c). It was observed that the oxidation-reduction current values of the ITO glasses coated with the P2 fibers were smaller than those of the ITO coated with the P3 fibers. However, the ITO coated with P2 fibers indicated good reversible redox behavior at  $E_{1/2}=0.62$  V ( $E_{1/2}$  called as half-wave potential for a reversible redox couple (at 25 °C)) for the 0.005 M PBS media. The substitution effect of thiophene on electrochemical properties was studied (Nohut Maslakci et al., 2016). In addition, electroactivity increased with an increase in the amount of polythiophene in the fiber (Can et al., 1998; Kiani et al., 2008; Bertuoli et al., 2019).



**Figure 5.** Cyclic voltammograms of the P1 fibers (a), P2 fibers (b), and P3 fibers (c) obtained in 0.1 M NaClO<sub>4</sub>/different concentrations of PBS, at a scan rate of 100 mV/s.

**Table 2.** The oxidation-reduction peak potentials and current values of the P1, P2, and P3 fibers with different concentrations of PBS/0.1M NaClO<sub>4</sub>.

Samples	Potential (V)	Current values for different concentrations of PBS (A)						
		0	0.005	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
	<b>E<sub>oxidation</sub></b>							
P1	-0.05	3.72x10 <sup>-6</sup>	3.26x10 <sup>-6</sup>	3.2 x10 <sup>-6</sup>	2.97x10 <sup>-6</sup>	2.80x10 <sup>-6</sup>	2.74x10 <sup>-6</sup>	2.68x10 <sup>-6</sup>
P2	0.90	4.28x10 <sup>-6</sup>	3.71x10 <sup>-6</sup>	3.54x10 <sup>-6</sup>	2.31x10 <sup>-6</sup>	1.98x10 <sup>-6</sup>	1.73x10 <sup>-6</sup>	1.49x10 <sup>-6</sup>
P3	0.90	7.17x10 <sup>-6</sup>	-	-	-	-	-	-
	0.82	-	1.40x10 <sup>-5</sup>	1.01x10 <sup>-5</sup>	1.03x10 <sup>-5</sup>	1.03x10 <sup>-5</sup>	1.15x10 <sup>-5</sup>	9.20x10 <sup>-6</sup>
	<b>E<sub>reduction</sub></b>							
P1	-	-	-	-	-	-	-	-
P2	0.35	-2.92x10 <sup>-6</sup>	-2.51x10 <sup>-6</sup>	-2.18x10 <sup>-6</sup>	-1.19x10 <sup>-6</sup>	-1.11x10 <sup>-6</sup>	-1.03x10 <sup>-6</sup>	-9.5x10 <sup>-7</sup>
P3	0.43	-5.30x10 <sup>-6</sup>	-	-	-	-	-	-
	0.35	-	-9.6x10 <sup>-7</sup>	-2.11x10 <sup>-6</sup>	-1.25x10 <sup>-6</sup>	-9.63x10 <sup>-7</sup>	-1.03x10 <sup>-7</sup>	-1.11x10 <sup>-6</sup>

#### 4. CONCLUSIONS

This article presents the production of polyacrylonitrile fibers containing different amounts of polythiophene by the electrospinning method, as well as their electrochemical properties and anionic sensing. All fiber samples were successfully characterized. The results of FTIR and EDX analysis proved that the PAN interacts with PTh. The morphology of PAN fibers was greatly affected by the presence of PTh. The oxidation potential of all fibers increased with decreasing phosphate concentration. It was observed that the peak currents of P2 and P3 fibers containing PTh were higher than the P1 fibers. The highest peak current was observed for P3 fibers at about 0.82 V for 0.005 M PBS. However, the ITO coated with P2 fibers showed good reversible redox behavior at  $E_{1/2}=0.62$  V for the 0.005 M PBS media. The results support that PAN fibers containing PTh as anionic sensors can be used as new recognition motifs. The design based on this article can be developed as promising systems for drug-polymer interaction.

#### REFERENCES

- Al-Ahmed, A., Bahaidarah, H.M., Mazumder, M.A.J. (2013). Biomedical perspectives of polyaniline based biosensors, *Advanced Materials Research*, 810, 173-216.
- Ambade, R.B., Ambade, S.B., Shrestha, N.K., Salunkhe, R.R., Lee, W., Bagde, S.S., Kim, J.H., Stadler, F.J., Yamauchi, Y., Lee, S.H. (2017). Controlled growth of polythiophene nanofibers in TiO<sub>2</sub> nanotube arrays for supercapacitor applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 5, 172-180.
- Bertuoli, P.T., Ordoño, J., Armelin, E., Pérez-Amodio, S., Baldissera, A.F., Ferreira, C.A., Puiggali, J., Engel, E., Valle, L.J., Alemán, C. (2019). Electrospun conducting and biocompatible uniaxial and core-shell fibers having poly(lactic acid), poly(ethylene glycol), and polyaniline for cardiac tissue engineering. *ACS Omega*, 4, 3660-3672.
- Bouzzine, S.M., Salgado-Morán, G., Hamidi, M., Bouachrine, M., Pacheco, A.G., Glossman-Mitnik, D. (2015). DFT study of polythiophene energy band



- gap and substitution effects. Hindawi Publishing Corporation, Journal of Chemistry, Article ID 296386, 2015, 1-12.
- Can, M., Pekmez, K., Pekmez, N., Yıldız, A. (1998). Electropolymerization of thiophene with and without aniline in acetonitrile. Turkish Journal of Chemistry, 22, 47-53.
- Chen, C.H., Dai, Y.F. (2011). Effect of chitosan on interfacial polymerization of aniline. Carbohydrate Polymers 84, 840-843.
- Duan, Q., Wang, B., Wang, H. (2012). Effects of stabilization temperature on structures and properties of polyacrylonitrile (PAN)-based stabilized electrospun nanofiber mats. Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics, 51(12), 2428-2437.
- Eren, E., Aslan, E., Uygun Oksuz, A. (2014). The Effect of anionic surfactant on the properties of polythiophene/chitosan composites. Polymer Engineering and Science, 54, 2632-2640.
- Gök, A., Omastova, M., Yavuz, A.G. (2007). Synthesis and characterization of polythiophenes prepared in the presence of surfactants. Synthetic Metals, 157, 23-29.
- Jalili, R., Morshed, M., Ravandi, S.A.H. (2006). Fundamental parameters affecting electrospinning of PAN nanofibers as uniaxially aligned fibers. Journal of Applied Polymer Science, 101, 4350-4357.
- Kaloni, T.P., Giesbrecht, P.K., Schreckenbach, G., Freund, M.S. (2017). Polythiophene: From fundamental perspectives to applications. Chemistry of Materials, 29, 10248-10283.
- Kiani, G.R., Arsalani, N., Hosseini, M.G., Entezami, A.A. (2008). Improvement of the conductivity, electroactivity, and redoxability of polythiophene by electropolymerization of thiophene in the presence of catalytic amount of 1-(2-pyrrolyl)-2-(2-thienyl)ethylene (PTE). Journal of Applied Polymer Science, 108, 2700-2706.
- Le, T.H., Kim, Y., Yoon, H. (2017). Electrical and electrochemical properties of conducting polymers. Polymers, 9(4), 150.
- Llorens, E., Armelin, E., Pérez-Madrigal, M.M., Valle, L.J., Alemán, C., Puiggali, J. (2013). Nanomembranes and nanofibers from biodegradable conducting polymers. Polymers, 5, 1115-1157.
- Long, Y.Z., Li, M.M., Gu, C., Wan, M., Duvail, J.L., Liu, Z., Fan, Z. (2011). Recent advances in synthesis, physical properties and applications of conducting polymer nanotubes and nanofibers. Progress in Polymer Science, 36, 1415-1442.
- Massoumi, B., Farnoudian-Habibi, A., Jaymand, M. (2016). Chemical and electrochemical grafting of polythiophene onto poly(vinyl chloride): synthesis, characterization, and materials properties. Journal of Solid State Electrochemistry, 20, 489-497.
- Mazdi, N.Z.M., Nordin, N.A., Rahman, N.A. (2017). Synthesis and characterisation of highly fluorescent polythiophene based composite nanofibers. Macromolecular Symposia, 371, 129-139.
- Moutsatsou, P., Coopman, K., Georgiadou, S. (2017). Biocompatibility assessment of conducting PANI/chitosan nanofibers for wound healing applications. Polymers, 9, 687, 1-23.
- Najar, M.H., Majid, K. (2013). Synthesis, characterization, electrical and thermal properties of nanocomposite of polythiophene with nanophotoadduct: a potent composite for electronic use. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 24, 4332-4339.
- Nambiar, S., Yeow, J.T.W. (2011). Conductive polymer-based sensors for biomedical applications. Biosensors and Bioelectronics, 26, 1825-1832.
- Nohut Maslakci, N., Eren, E., Demirel Topel, S., Turgut Cin, G., Uygun Oksuz, A. (2016). Electrospun plasma-modified chitosan/poly(ethylene terephthalate)/ferrocenyl-substituted N-acetyl-2-pyrazoline fibers for phosphate anion sensing. Journal of Applied Polymer Science, 133, 43344, 1-7.
- Park, Y., Jung, J., Chang, M. (2019). Research progress on conducting polymer-based biomedical applications. Applied Sciences, 9, 1070, 1-20.
- Santos, A.N., Soares, D.A.W., Queiroz, A.A.A. (2010). Low potential stable glucose detection at dendrimers modified polyaniline nanotubes. Materials Research, 13(1), 5-10.
- Shao, L., Chen, J., Luyao, H.E., Xing, G., Weixi, L.V., Chen, Z., Qi, C. (2012). Preparation of porphyrinated polyacrylonitrile fiber mat supported TiO<sub>2</sub> photocatalyst and its photocatalytic activities. Turkish Journal of Chemistry, 36, 700-708.
- Wu, G.P., Lu, C.X., Ling, L.C., Lu, Y.G. (2009). Comparative investigation on the thermal degradation and stabilization of carbon fiber precursors. Polymer Bulletin, 62, 667-678.
- Yoon, H., Jang, J. (2009). Conducting-polymer nanomaterials for high-performance sensor applications: Issues and challenges. Advanced Functional Materials, 19, 1567-1576.
- Zhang, C., Yang, Q., Zhan, N., Sun, L., Wang, H., Song, Y., Li, Y. (2010). Silver nanoparticles grown on the surface of PAN nanofiber: Preparation, characterization and catalytic performance. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 362, 58-64.

## Kimyasal Olarak Modifiye Edilmiş Kitosanın Kuvars Kristal Mikroterazi Kullanarak Antibiyofilm Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Neslihan Nohut Maşlakçı<sup>1\*</sup> 

**Özet:** Biyomalzemeler üzerinde büyüme ve hücresel bağlanma ile biyofilm oluşumunu engellemek için, yeni biyomalzemeler geliştirilebilir. Bu şekilde biyomalzemeler yeni özellikler kazanabilir. Bu çalışmada, plazma modifiye kitosan (PCh), 5-etoksi-2-metil-benzofuran-3-karboksilik asit (E1) ile kimyasal olarak modifiye edildi. Kimyasal olarak modifiye edilmiş PCh ve PCh-E1 filmlerinin yapıları, X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), Fotoluminesans spektroskopisi (PL) ve Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile incelendi. PCh ve PCh-E1'in elektrospun nanolifleri, destek polimer polivinil alkol (PVA) varlığında yerinde elektroçürme ve kuvars kristal mikroterazi (QCM) kullanılarak, QCM elektrot yüzeyinde mikrogram düzeyinde üretildi. Elektrospun nanoliflerin morfolojileri ve çapları Taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile incelendi. PVA, PVA/PCh ve PVA/PCh-E1'in ortalama lif çapları ve standart sapmaları sırasıyla  $280.0 \pm 58.9$ ,  $104.5 \pm 35.9$  ve  $99.4 \pm 21.9$  nm olarak belirlendi. PVA/PCh nanoliflerinden daha ince çapa sahip PVA/PCh-E1 nanolifler elde edildi. Nanolifler ile kaplanmış QCM elektrot yüzeylerinin *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) karşı antibiyofilm aktiviteleri, QCM ile bağlantılı bir akış hücresi kullanılarak değerlendirildi. PVA/PCh-E1 nanolifleri ile kaplanmış QCM elektrodunda ( $\Delta F$ : -13709.5 Hz,  $\Delta m$ :  $530.3 \mu\text{g cm}^{-2}$ ), PVA/PCh nanolifleri ile kaplanmış QCM elektroduna ( $\Delta F$ : -14552.7 Hz,  $\Delta m$ :  $563.5 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) göre daha az negatif frekans kayması ve kütle artışı belirlendi. QCM sonuçları, PVA/PCh-E1 nanoliflerinin, E1 bileşiğinin olası bir katkısı nedeniyle biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azalttığını gösterdi.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm, Kitosan, Elektroçürme, Lif, Kuvars Kristal Mikroterazi.

## The Assessment of Antibiofilm Activity of Chemically Modified Chitosan Using Quartz Crystal Microbalance

**Abstract:** New biomaterials can be developed to prevent the formation of biofilms on biomaterials through growth and cellular attachment. In this way, biomaterials can gain new properties. In this study, the plasma modified-chitosan (PCh) was chemically modified with 5-ethoxy-2-methyl-benzofuran-3-carboxylic acid (E1). The structures of chemically modified PCh-E1 and PCh films were studied by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), Photoluminescence spectroscopy (PL), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Electrospun nanofibers of PCh and PCh-E1 were produced at the microgram level onto the QCM electrode surface using *in situ* electrospinning and quartz crystal microbalance (QCM) in the presence of a support polymer polyvinyl alcohol (PVA). The morphologies and diameters of electrospun nanofibers were investigated by the Scanning electron microscopy (SEM). The average fiber diameters and standard deviations of PVA, PVA/PCh, and PVA/PCh-E1 were determined as  $280.0 \pm 58.9$ ,  $104.5 \pm 35.9$ , and  $99.4 \pm 21.9$  nm, respectively. Finer diameter PVA/PCh-E1 nanofibers were obtained from the PVA/PCh nanofibers. Antibiofilm activities against *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) of a QCM electrode surfaces coated with nanofibers were evaluated using the flow cell associated with the QCM. When QCM electrode coated with the PVA/PCh-E1 nanofibers was used, less negative frequency shift and the mass increase in ( $\Delta F$ : -13709.5 Hz,  $\Delta m$ :  $530.3 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) was detected compared to the QCM electrode coated with PVA/PCh nanofibers ( $\Delta F$ : -14552.7 Hz,  $\Delta m$ :  $563.5 \mu\text{g cm}^{-2}$ ). QCM results showed that PVA/PCh-E1 nanofibers significantly decrease biofilm formation, due to a possible contribution of E1 compound.

**Keywords:** Biofilm, Chitosan, Electrospinning, Fiber, Quartz Crystal Microbalance.

<sup>1</sup>**Address:** Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, 32900, Gelendost/Isparta, Türkiye

\***Corresponding author:** neslihanohut@isparta.edu.tr

**Citation:** Nohut Maşlakcı, N. (2020). The Assessment of Antibiofilm Activity of Chemically Modified Chitosan Using Quartz Crystal Microbalance. Bilge International Journal of Science and Technology Research, 4 (Special Issue): 13-21.

## 1. Giriş

Yüzey özellikleri, biyomalzemelerin işleyişinde önemli bir rol oynamaktadır. Bakterilerin polisakkarit, protein ve DNA'dan oluşan biyofilm adlı bir tabaka oluşturduğu bilinmektedir (Marcus vd., 2012; Nohut Maslakci vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2018). Özellikle, çevresel etmenlerden korunmak, besin elde etmek ve yeni genetik özellikler kazanmak gibi çeşitli faktörler mikroorganizmaların biyofilm tabakalarını oluşturma nedenleri arasında yer almaktadır (Gülgör ve Korukluoğlu, 2014; Jamal vd., 2018). Bununla birlikte, mikroorganizmaları dış etkenlerden koruyan bu biyofilm tabakası, tıbbi uygulamalar, su arıtma sistemleri ve süt ürünleri işletmeleri gibi birçok alanda ekonomik zararlara neden olmaktadır (Marcus vd., 2012; Nohut Maslakci vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2018). Biyofilm tabakası toprak ve bitki ekolojisi için atık suya göre avantaj sağlarken, gıda ve kağıt endüstrisinde oluşturduğu kabuklar dezavantaj sağlamaktadır (Shi ve Zhu, 2009; Baumann vd., 2009; Tirola vd., 2009; Asri vd., 2018). Dahası, biyofilm biyomedikal implantlarla ilişkili enfeksiyonlarda ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir (Bazaka vd., 2012; Veerachamy vd., 2014; Nohut Maslakci vd., 2018). Biyomalzemeler üzerinde bakteriyel büyüme ve hücre sel bağlanma ile oluşan bu biyofilm tabakası, biyomalzemelerin yüzey modifikasyonu ile önlenir. Böylelikle biyomateryaller yeni özellikler kazanabilir (Bazaka vd., 2012; Nohut Maslakci vd., 2015). Bununla birlikte, oksijen içeren heterosiklik bileşikler çeşitli biyokimyasal alanlarda kullanılmakta ve aynı zamanda çok önemli roller oynamaktadır (Kossakowski vd., 2010; Abu-Hashem vd., 2014). Son yıllarda furan ve benzofuran grupları içeren heterosiklik bileşikler, insektisidal, ağrı kesici, anti-kanser, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antispesifik ve antiinflamatuvar gibi birçok biyomedikal alanlarda oldukça fazla ilgi görmüştür (Iyengar vd., 1987; Matsuura vd., 1996; Gottesdiener, 1999; Malmström vd., 2001; Zeni vd., 2001; Lopez vd., 2002; Dalvie vd., 2002; Meotti vd., 2003; Goncales vd., 2005; Kossakowski vd., 2010; Abu-Hashem vd., 2014; Khodarahmi vd., 2015). Ayrıca, furan ve furanon grupları içeren çeşitli bileşiklerin bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneği üzerinde engelleyici etkilerinin olduğu çalışmalarda bulunmuştur (Lonn vd., 2012; Nohut Maslakci vd., 2017; Nohut Maslakci vd., 2018). Son yıllarda toksik olmayan, biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen doğal bir polimer olan kitosan ve türevlerinin bakteriler üzerindeki etkileri, QCM ve yüksek performanslı kromatografi (HPLC) gibi çeşitli teknikler kullanılarak araştırılmıştır (Nune vd., 2010; Nohut Maslakci vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2018). Özellikle kitosan bazlı nanolifler, diş uygulamaları için nanokompozitler, doku mühendisliği, tıbbi implantlar, kontrollü ilaç salımı, yara sargıları, filtreleme ve biosensörler gibi biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalarda oldukça fazla dikkat çekmiştir (Pillai ve Sharma, 2009; Sun ve Li, 2011; Zou vd., 2012). Ayrıca yüzey hacim oranı oldukça yüksek olan kitosan

liflerinin, biyofilm oluşumuna neden olan bakteri hücrelerinin lif yüzeyine yapışmasını sağladığı ve dolayısıyla bakterilerin etkilerini azalttığı bilinmektedir (Abrigo vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2015). Bununla birlikte, sentetik polimer bazlı nanoliflerde bakteri hücre tanıma modellerinin olmaması, biyomedikal ve sensör uygulamalarını kısıtlamıştır (Kim vd., 2017). Ayrıca, bakteri hücreleri ve lifler arasındaki etkileşimi anlamaya çalışan QCM tekniğinin kullanıldığı çok az sayıda çalışma vardır (Nohut Maslakci vd., 2015; Kim vd., 2017).

Bu çalışmada PCh, E1 ile kimyasal olarak modifiye edildi. Elde edilen PCh ve PCh-E1'in kimyasal yapıları XPS, PL ve FTIR ile karakterize edildi. Modifiye edilmiş kitosan nanolifleri, destek polimer (PVA) varlığında yerinde elektrodeğirme ve QCM tekniği kullanılarak, QCM elektrot üzerinde biriktirildi. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanoliflerinin SEM görüntüleri alınarak lif morfolojisi ve lif boyutları incelendi. Liflerle kaplı QCM elektrot yüzeylerinin *P. aeruginosa* karşı antibiyofilm aktivitesi, QCM ile bağlantılı bir akış hücresi kullanılarak zamana bağlı olarak incelendi. QCM sonuçları, PVA/PCh-E1 nanoliflerinin E1'in olası bir katkısı nedeniyle biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azalttığını gösterdi.

## 2. Materyal ve Yöntem

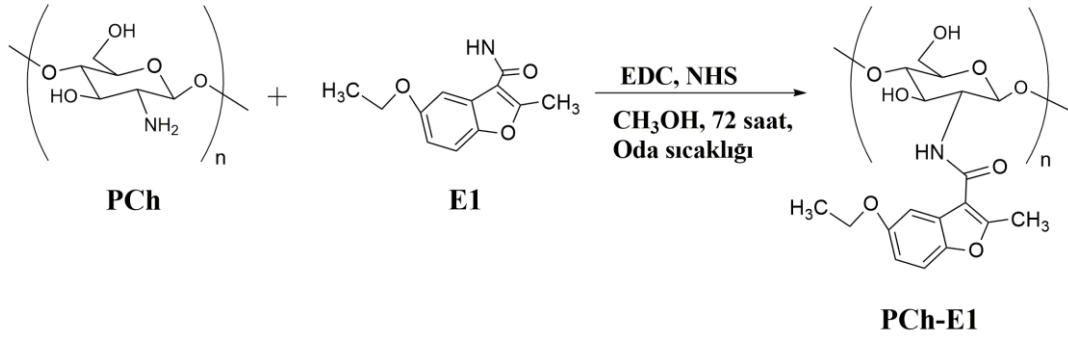
### 2.1. Materyal

5-etoksi-2-metil-benzofuran-3-karboksilik asit ( $C_{12}H_{12}O_4$ ), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC,  $C_8H_{17}N_3.HCl$ , saflık  $\geq 98$ ), N-hidroksisüksinimid (NHS,  $C_4H_5NO_3$ , saflık  $> 97$ ), hidrazin ( $N_2H_4$ , % 98), poli(vinil alkol), kitosan düşük moleküler ağırlık (deasetilasyon derecesi  $> 75$ ) Sigma-Aldrich'ten satın alındı. Sigma-Aldrich'ten alındığı gibi susuz metanol ( $CH_3OH$ , % 99.8) ve asetik asit (glasiyal) ( $C_2H_4O_2$ , % 100) kullanıldı.

Bu çalışmada, kitosanın serbest amino gruplarının işlevini artırmak ve E1 ile moleküler bağlantıyı sağlayabilmek için radyo frekans (RF) hidrazin plazma ile modifiye edilmiş kitosan tozları tercih edilmiştir (Uygun vd., 2011). Altın kaplı kuvars kristal elektrotlar (5 MHz), QCM çalışmalarında kullanılmak üzere seçildi. Elektrodeğirme işleminden önce, elektrot yüzeyleri literatürde belirtildiği gibi piranha çözeltisi (3/1 (v/v) oranında  $H_2SO_4$  / % 30'luk  $H_2O_2$ ) kullanılarak temizlendi (Channasanon vd., 2007; Nohut Maslakci vd., 2015). Biyofilm çalışmaları için Gram-negatif bir bakteri olan *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu seçildi. *P. aeruginosa* bir gece boyunca 35 °C'de Luria-Bertani (LB) sıvı besi yeri (Miller) içerisinde inkübe edildi.

## 2.2. Karakterizasyon

PCh ve PCh-E1 filmlerinin yapıları Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi kullanılarak incelendi. Kızılötesi spektrumlar, PerkinElmer Spectrum BX FTIR sistemi (Beaconsfield, Buckinghamshire, HP91QA, İngiltere) üzerinde oda sıcaklığında preslenmiş KBr peletlerinde 400 ve 4000  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki bölgede kaydedildi. PCh ve PCh-E1 filmlerinin X-ışını fotoelektron spektrumları (XPS), monokromatik AlK $\alpha$ -X ışını kaynağı kullanılarak bir PHI-5000 Versaprobe yöntemi ile 45 açı ve 30 A derinlikte elde edildi. PCh ve PCh-E1 filmlerinin ve E1 nanopartiküllerinin fotoluminesans spektrumları (PL), bir Shimadzu RF 5301PC spektrofotometre ile incelendi. PCh ve PCh-E1 nanoliflerinin morfolojileri Quanta 250 SEM, Phillips XL-30S FEG model taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak analiz edildi.



Şekil 1. PCh-E1 için önerilen reaksiyon mekanizması

## 2.4. PCh ve PCh-E1 Nanoliflerinin Hazırlanması

PCh filmi (çözünürlük süresi: 10 gün) ve PCh-E1 filmi (çözünürlük süresi: 6 gün), ağırlıkça %2 konsantrasyonda homojen çözeltiler hazırlamak için oda sıcaklığında manyetik bir karıştırıcı ile ağırlıkça %2'lik asetik asit çözeltisi içerisinde çözüldü. Reolojik ve düşük elektroğirme özelliklerinden dolayı kitosandan lif elde etmek oldukça zordur (Ohkawa vd., 2006; Klossner vd., 2008). Bu nedenle, PVA, lif üretimi için destek polimer olarak seçilmiştir (Charernsriwilaiwat vd., 2010; Uygun vd., 2011). Ağırlıkça %10 PVA çözeltisi saf suda, 24 saat içinde 70 °C'de hazırlandı. PCh ve PCh-E1 çözeltileri ile PVA çözeltisi 1:1 (v/v) hacim oranlarında hazırlanarak, 4 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 kodlarında iki polimer çözeltisi hazırlandı.

Lif üretimi için çalışmada ev yapımı bir elektroğirme sistemi kullanıldı. Polimer çözeltileri, 0–30 kV aralığında yüksek voltajlı doğru akım (DC) dönüştürücü güç kaynağına (EMCO 4300) bağlı 2 mL'lik bir şırıngaya yerleştirildi. Elektroğirme parametreleri şırınga besleme hızı: 10  $\mu\text{L}/\text{saat}$ , uygulanan elektrik potansiyeli: 22 °C'de 24 kV ve iğne ucu ile topraklanmış QCM elektrot yüzeyi arasındaki mesafe: 10 cm olacak şekilde optimize edildi. İğne ucundan sabit miktarda çözelti vermek için bir şırınga pompası (New Era Pump System Inc., ABD) kullanıldı.

## 2.3. PCh-E1'in Kimyasal Modifikasyonu

İlk olarak, E1 (10 mg), metanol (2.5 mL) içerisinde çözüldü. RF hidrazin plazma ile modifiyeli kitosan (PCh) filmler literatürde belirtildiği gibi hazırlandı (Nohut Maslakci vd., 2015). Daha sonra bu çözelti, başlangıç malzemesi olarak bir PCh film (44.3 mg, kullanılan film boyutu: 1.5x1.5  $\text{cm}^2$ ), EDC (12 mg) ve NHS (2.8 mg) karışımı içeren bir şişeye konuldu (Hoven vd., 2007; Nohut Maslakci vd., 2018). Çözelti, manyetik bir karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında 72 saat karıştırıldı. Modifiye edilmiş PCh-E1 filmleri, iki kez metanol ile yıkandı ve daha sonra 3 gün boyunca bir vakum altında kurutuldu. PCh ve E1'in kimyasal olarak modifiye edilmiş ürünü için önerilen reaksiyon mekanizması Şekil 1'de verilmiştir. PCh ve PCh-E1 filmlerinin kalınlığı sırasıyla yaklaşık 0.143 ve 0.140 mm olarak belirlendi.

## 2.5. QCM-Elektroğirme Çalışması

Araştırma kuvars kristal mikroterazi (RQCM) (Maxtek Inficon, ABD) 5 MHz AT-cut kuvars kristal cihazı, QCM elektrot yüzeyinin nanolif kaplaması sırasında zamanın bir fonksiyonu olarak kütle ve frekans değişikliklerinin yerinde izlenmesi için ve daha sonra *P. aeruginosa* biyofilm oluşumunu gerçek zamanlı olarak değerlendirmek için kullanıldı.

PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanolifleri, 20 dakika süreyle yerinde elektroğirme-QCM işlemleri sırasında dikey olarak konumlandırılmış bir QCM elektrot yüzeyi üzerinde biriktirildi. Çalışmalar 3 kez tekrarlandı. QCM elektrot yüzeyinde biriken liflerin kütle-frekans ilişkisi, aşağıda açıklanan Sauerbrey denklemi ile belirlendi (Denklem 1) (Sauerbrey, 1959):

$$\Delta F = -2F_0^2 \Delta m / [A(\mu\rho)^{1/2}] \quad \text{Denklem (1)}$$

burada  $\Delta F$ , rezonans frekansındaki kaymadır ( $\Delta F = F - F_0$ ) (Hz),  $\Delta m$  ( $\mu\text{g}$ ), kütle değişimi ve A ( $\text{cm}^2$ ), kristal yüzey alanıdır. Kristalin temel frekansı ( $F_0$ ) 5 MHz'dir.  $\rho$ , kuvarsin yoğunluğudur ( $2.648 \text{ g cm}^{-3}$ ).  $\mu$  kuvarsin kayma modülüdür ( $2.947 \times 10^{11} \text{ g cm}^{-1} \text{ s}^{-2}$ ). Yerinde QCM elektroğirme çalışması sırasında, QCM elektrodunda biriken lif örneklerinin rezonans frekansını ( $F$ ) düşürdüğü gözlenmiştir.

## 2.6. QCM ile Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi

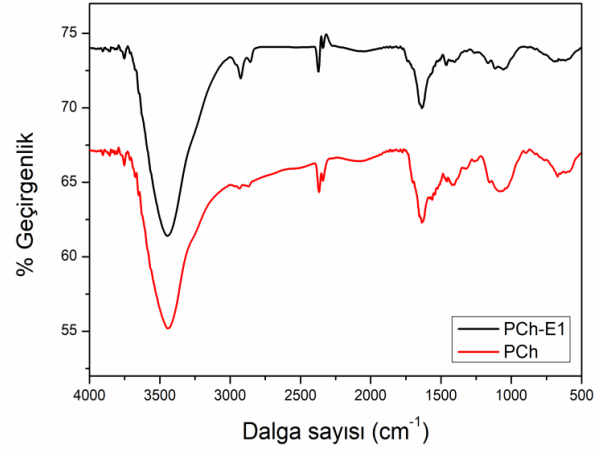
QCM biyofilm deneylerinde lif kaplı altın kaplamalı 5 MHz AT-kesimli kuvars kristali QCM elektrodunun yerleştirildiği bir akış hücresi (Inficon Maxtek, FC-550) kullanıldı. Çalışmada, lifler ile kaplanmış yüzeylerdeki moleküler adsorpsiyon ve etkileşimleri gerçek zamanlı olarak değerlendirmek için QCM kullanıldı. Birim alan başına adsorbe edilen kütle ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) değerlendirilirken, kuvars kristalinin salınım frekansındaki ( $\Delta F$ ) değişiklikler ölçüldü. Böylece adsorbe edilen kütle yapısal özellikleri hakkında yeni bilgiler elde edildi. Akış hücresi, içinden sıvının beslendiği bir giriş ve çıkıştan oluşmakta ve QCM elektrot, üst ve alt tarafı arasında yaklaşık  $0.3419 \text{ cm}^2$ lik bir alanla etkinleştirilmiştir. Kuvars kristal elektrodun rezonans frekans değişimi, elektrotun üst ve alt yüzeylerinin üst üste binmesi ile elde edildi. Elektrot yüzeyinde biriken kütle literatürde belirtildiği gibi izlendi (Nohut Maslakci vd., 2015). Kristaller, QCM çalışmalarında kullanılmadan önce en az 5 dakika boyunca piranha çözeltisi ( $3/1$  ( $v/v$ ) oranında  $\text{H}_2\text{SO}_4 / \% 30$ 'luk  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ile temizlendi, saf su ile durulandı ve son olarak bir azot gaz akışı ile kurutuldu (Channasanon vd., 2007). Bu temizleme işlemi iki kez tekrarlandıktan sonra, QCM elektrotları yerinde elektroçürme tekniği ile kaplandı. Lif kaplı elektrotlar akış hücresine yerleştirildi. 50 cm uzunluğunda ve 1.5 mm iç çapa sahip bir kılcal boru aracılığıyla, Luria-Bertani (LB) suyu (100 mL) akış hücresi içinde, peristaltik bir pompa (Instech, model P720 peristaltik pompa) yardımı ile kapalı bir döngü içinde  $63 \mu\text{L dk}^{-1}$ lık bir akış hızında sürekli olarak pompalandı.

Tüm deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanolif numunelerinin her biri için üç kopya gerçekleştirildi. Çalışmada model organizma olarak seçilen *P. aeruginosa* biyofilm oluşumunu başlatmak için tercih edildi. QCM-biyofilm çalışmalarına başlamadan önce *P. aeruginosa* hücreleri, LB broth'ta  $35^\circ\text{C}$ 'de 24 saat kültürlendi. 24 saatin sonunda, *P. aeruginosa* süspansiyonunun optik yoğunluğu ( $\text{OD}_{600}$ ) 0.1'e ayarlandı, bu yaklaşık  $2.10^6$ – $5.10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ 'e karşılık gelmektedir (Nohut Maslakci vd., 2015). Daha sonra optik yoğunluğu 600 nm'de belirlenen *P. aeruginosa* kültürü, 100 ml Luria-Bertani (LB) besi ortamına ilave edildi ve akış hücresi içerisinden geçirildi.

## 3. Bulgular ve Tartışma

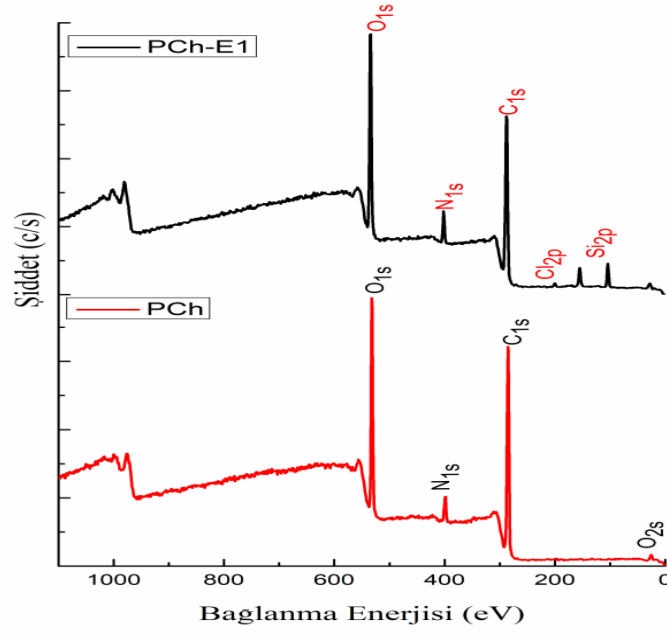
### 3.1. Modifiye PCh ve PCh-E1 Filmlerinin Karakterizasyonu

PCh, PCh-E1 filmlerinin FTIR spektrumları Şekil 2'de gösterilmektedir. PCh filminin karakteristik bantları,  $3434 \text{ cm}^{-1}$ 'de -OH,  $2943 \text{ cm}^{-1}$ 'de -CH,  $1666 \text{ cm}^{-1}$ 'de karbonil grubunun C=O gerilmesi (amid I),  $1598 \text{ cm}^{-1}$ 'de -NH deformasyonu,  $1424 \text{ cm}^{-1}$ 'de -CH<sub>2</sub> gerilme titreşimi,  $1382 \text{ cm}^{-1}$ 'de metil grubunun C-H gerilmesi,  $1260 \text{ cm}^{-1}$ 'de birincil amino grubu (-NH<sub>2</sub>) ve  $1026 \text{ cm}^{-1}$ 'de C-O gerilmesine atfedildi (Nohut Maslakci vd., 2018). PCh-E1 filmi için gözlenen  $3434$ ,  $2928$ ,  $1636$  ve  $1169 \text{ cm}^{-1}$ 'deki karakteristik pikler sırası ile -OH, -CH, C=O (karbonil grubu (amid I)), CH=N ve C-O gerilme bantlarına aittir. Bu karakteristik bantlar, elde edilen modifiye yapıların hem PCh hem de E1 içerdiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 2. PCh ve PCh-E1 filmlerinin FTIR spektrumları

XPS, C<sub>1s</sub>, N<sub>1s</sub> ve O<sub>1s</sub> hatlarının davranışını gözlemleyerek kimyasal bileşimleri analiz etmek için kullanılmıştır (Şekil 3). PCh filmi için C<sub>1s</sub> (285 eV), N<sub>1s</sub> (402 eV) ve O<sub>1s</sub> (530 eV) sinyalleri görülürken, E1'in bağlanması ile C<sub>1s</sub>, N<sub>1s</sub> ve O<sub>1s</sub> sinyalleri sırasıyla 288, 402 ve 533 eV'de gözlenmiştir. 285 eV'deki C<sub>1s</sub> zirvesi, PCh'deki C-C ve C-H kimyasal bağlarına atfedilirken, 286 eV'deki C<sub>1s</sub> zirvesi, PCh-E1'deki C-O veya C-O-C kimyasal bağlarına atfedilmiştir (Nohut Maslakci vd., 2015). Bununla birlikte, PCh-E1 için, safsızlıklardan dolayı 201 eV ve 154-103 eV'de görülen bağlanma enerjilerinin, sırası ile Cl ve Si piklerine ait olduğu gözlenmiştir. C-O (285 eV) kimyasal bağındaki artış, PCh'nin oksijeni C-OH şeklinde yapıya dahil ettiğini göstermiştir (Nohut Maslakci vd., 2015). PCh-E1 filminin karbon atomu konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak, 286 eV'de gözlenen C<sub>1s</sub> pik yoğunluğunda da bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, PCh-E1 filminin atomik oksijen değeri, E1'den dolayı artmıştır (Tablo 1).



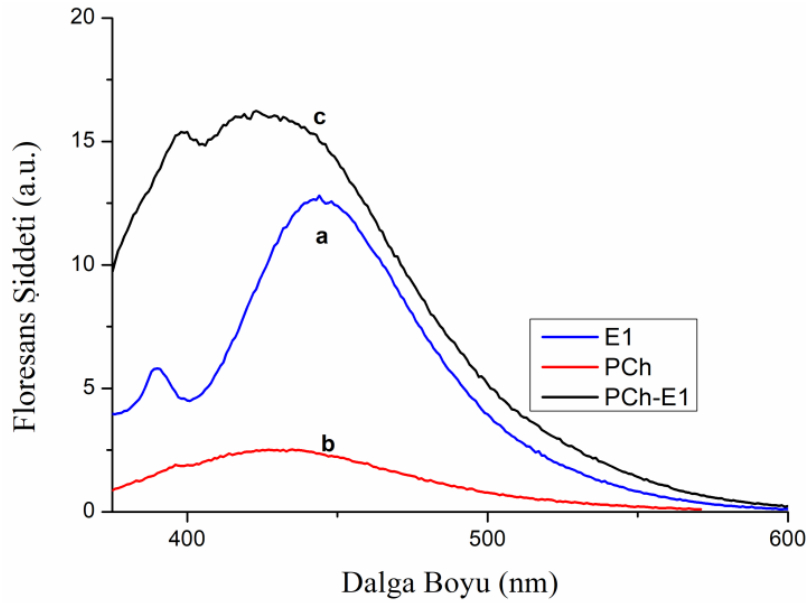
Şekil 3. PCh ve PCh-E1 filmlerinin XPS spektrumları

Tablo 1. PCh ve PCh-E1 filmlerinin atomik değerleri

Örnek	% Atom				
	C <sub>1s</sub>	O <sub>1s</sub>	N <sub>1s</sub>	Si <sub>2p</sub>	Cl <sub>2p</sub>
PCh	67.5	27.0	5.4	-	-
PCh-E1	61.4	28.0	5.6	4.7	0.3

350 nm'lik bir uyarma dalga boyunda alınan E1, PCh ve PCh-E1'in fotoluminesans spektrumlarında sırası ile 445, 430 ve 428 nm'de emisyon pikleri gözlenmiştir (Şekil 4)

(Mi, 2005; Kumar vd., 2010). PCh-E1 spektrumu, Şekil 4'te gösterildiği gibi, maksimum emisyonunda kırmızıya kayma göstermiştir. PCh zincirine bağlı E1 bileşiği, modifiye edilmiş PCh-E1'in maksimum emisyon dalga boyunda bir kırmızıya kaymasına neden olabilir. Bununla birlikte, emisyon dalga boyu, ikame edici yan grupların elektronik konjuge yapılarından önemli ölçüde etkilenir (Nohut Maslakci vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2018). Ayrıca, elektronik etkiye bağlı olarak dalga boyundaki değişiklikler kırmızıya kaymaya neden olabilir (Nohut Maslakci vd., 2015; Nohut Maslakci vd., 2018).



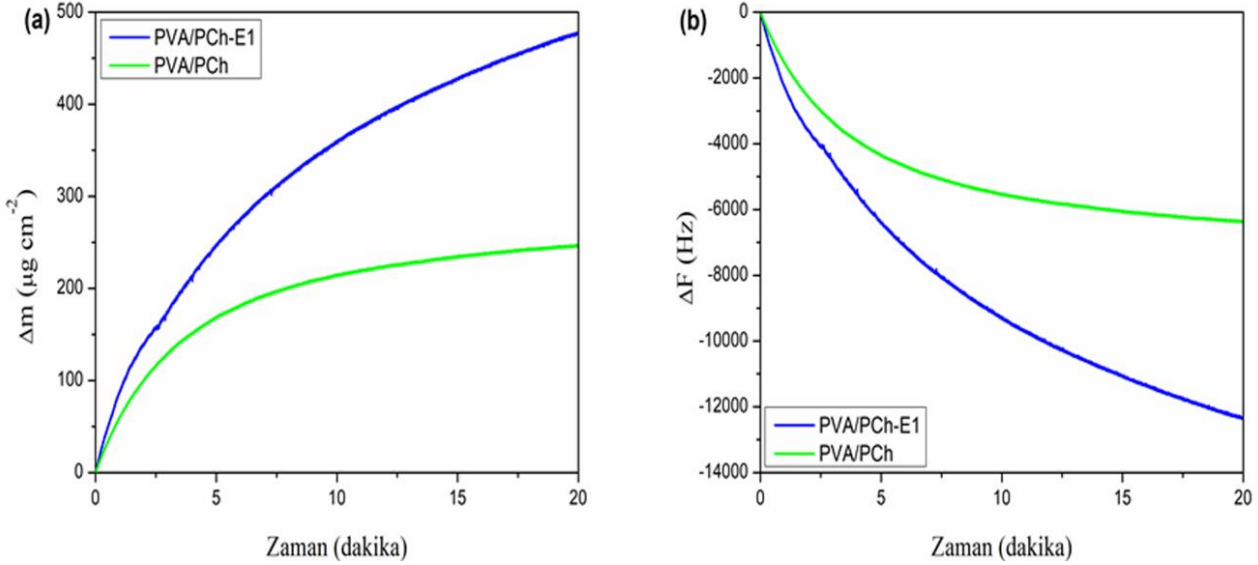
Şekil 4. 350 nm'lik bir uyarma dalga boyunda (a) E1, (b) PCh ve (c) PCh-E1'in PL spektrumları



### 3.2. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 Nanoliflerinin QCM Ölçümleri

QCM elektrot yüzeyinde toplanan PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanoliflerin  $\Delta m$  ve  $\Delta F$  değerleri, zamanın bir fonksiyonu olarak QCM tekniği ile belirlenmiştir (Şekil 5a-b). PVA/PCh-E1 nanoliflerinin QCM ölçümlerinin, PVA/PCh nanoliflere göre nispeten daha yüksek bir frekans kaymasına sahip olduğu gözlemlendi. Elektroğirme işlemine 20 dakika devam edildi. Tablo 2'de verilen verilere dayanarak, QCM elektrot yüzeyinde 20 dakika süreyle

biriken lifler daha sonra biyofilm çalışmaları için kullanıldı. Kütle değişimi, elektrot yüzeyinde biriken liflerin tipine ve liflerde bulunan yapıların moleküler ağırlığına bağlı olarak değişti. 20 dakika boyunca, PVA/PCh-E1 nanoliflerin kütesinin ( $477.1 \mu\text{g cm}^{-2}$ ), PVA/PCh nanoliflerin kütesine ( $246.3 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) kıyasla daha yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 5a ve Tablo 2). Nanolifler yüksek bir spesifik yüzey alanına ve gözenekliliğe sahip olabilmektedir. Bu durum, daha fazla bakterinin yapışması için geniş bir bağlantı alanı sağlayarak daha yüksek bir hassasiyet sağlamaktadır (Wang vd., 2010).



Şekil 5. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanoliflerin QCM elektrot yüzeylerinde oluşumu sırasında zamanın bir fonksiyonu olarak kütle (a) ve frekans (b) değişimi

Tablo 2. QCM elektrot yüzeyinde bırakılan nanoliflerin zamanın bir fonksiyonu olarak kütle ve frekanstaki değişikliklerin ölçülmesi

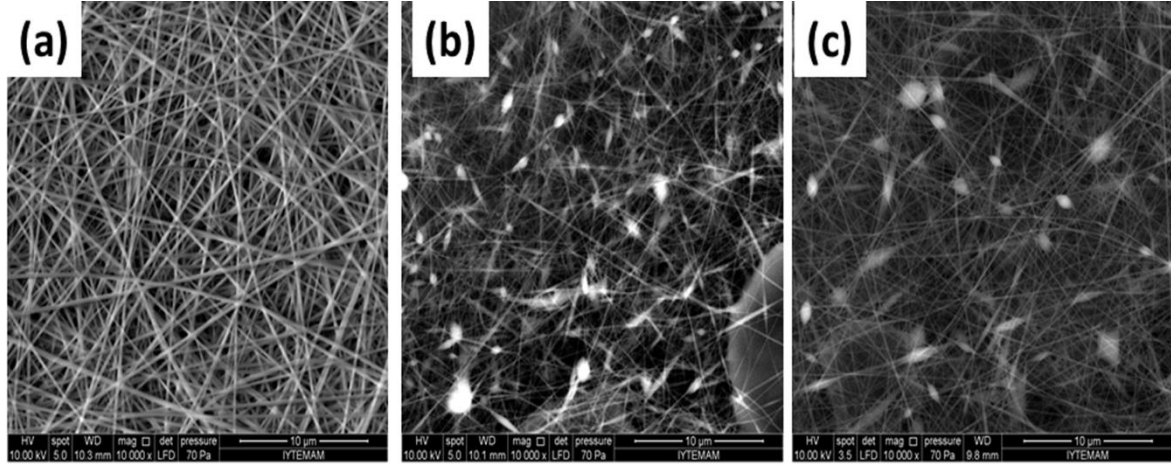
Örnek	$\Delta F$ (Hz)	$\Delta m$ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
PVA/PCh nanolifler	-6365.4	246.3
PVA/PCh-E1 nanolifler	-12346.7	477.1

### 3.3. SEM Sonuçları

Saf PVA, PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanoliflerinin aynı elektroğirme parametrelerinde elde edilen SEM görüntüleri Şekil 6'da gösterilmektedir.

PVA, PCh çözeltisinin nispeten zayıf eğrilebilirliği ve reolojik özelliklerinden dolayı PCh'nin nanoliflerini elde edebilmek için destek polimer olarak seçilmiştir (Zhou vd., 2006; Nohut Maslakci vd., 2015). PVA'nın kitosan karışımına dahil edilmesi, PCh'nin işlenebilirliğinde bir artışa, gerilme mukavemetinde bir azalmaya, nem içeriğinde bir artışa ve karışımdaki PCh ağındaki kristallikte

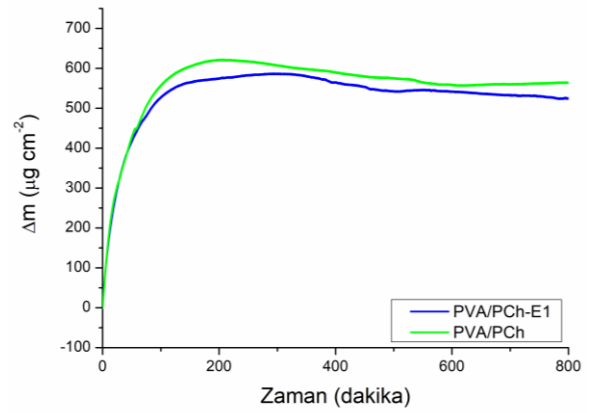
bir azalmaya neden olmuştur (Zhou vd., 2006; Nohut Maslakci vd., 2015). Bu şekilde, homojen çözeltideki PCh içeriği ile daha ince liflerin üretildiği gözlemlendi. Ancak lifler daha kırılğan hale geldi (Gholipour vd., 2009). Nanolifler üretilmiş olmasına rağmen, PCh ve PCh-E1 çözeltilerinin yüksek viskoziteleri nedeniyle lif yüzeylerinde boncuk oluşumu gözlemlenmiştir (Gholipour vd., 2009). Bununla birlikte, Şekil 6b ve c'de görüldüğü gibi, PVA/PCh-E1 nanolifleri, PVA/PCh nanoliflerinden daha az boncuk oluşumuna ve daha ince lif yapılarına sahiptir. Geliştirilen kitosan nanolifleri, homojenlik, gözeneklilik ve kalınlık gibi çeşitli özellikler elde etmek için E1 bileşiği ile daha da modifiye edilebilir. PVA, PVA/PCh ve PVA/PCh-E1'in ortalama lif çapları ve standart sapmaları sırasıyla  $280.0 \pm 58.9$ ,  $104.5 \pm 35.9$  ve  $99.4 \pm 21.9$  nm olarak belirlendi. Önceki çalışmalarda, mikro boyutlu liflerin, lif haritalarına hücre girişine izin verdiği görülürken, daha küçük lif çaplarına sahip lif haritalarının ise yalnızca lif yüzeyinde hücrelerin çoğalmasına izin verdiği gözlemlenmiştir (Eichhorn ve Sampson, 2010; Matsumoto ve Tanioka, 2011; Kargar vd., 2012; Mortimer vd., 2016). Sonuç olarak, bu çalışma PVA/PCh-E1 bazlı nanoliflerin daha ince çaplı olduğunu ve bakteriyel inhibisyonunda daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu durum, PVA/PCh-E1 nanoliflerinin sahip olduğu yüksek yüzey alanına atfedilebilir.



Şekil 6. PVA (a), PVA/PCh (b) ve PVA/PCh-E1 (c) nanoliflerinin SEM görüntüleri

### 3.4. QCM-Biyofilm Çalışmaları

Kuvars kristal mikroterazi (QCM), hücre yüzeyi etkileşimlerini değerlendirmek için bir piezoelektrik kuvars sensörüne bağlanan bir kütlenin frekansındaki değişikliklerin gerçek zamanlı izlenmesini sağlar (Marcus vd., 2012; Nohut Maslakci vd., 2018). *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumu, sabit bir bakteri ortamında PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanolifleri ile kaplanmış QCM elektrot yüzeyleri için değerlendirildi (Şekil 7). 800 dakikadaki negatif frekans kaymaları, Sauerbrey denklemini takiben bir yüzeye bakteri kütesinin eklenmesi ile ilişkilendirilmiştir. QCM elektrodu üzerindeki negatif frekans kaymaları, elektrot yüzeyine yapışan bakteri kütesinde bir artışa karşılık gelmektedir. *P. aeruginosa* kültürü akış hücresinden geçirilirken, lif kaplı QCM elektrot yüzeylerinde 800 dakika boyunca kütle ve frekans değişiklikleri belirlendi.  $\Delta F$ , elektrot yüzeyindeki kütle artışıyla azaldı. PVA/PCh nanoliflerle kaplanmış QCM elektrotunda maksimum negatif frekans kayması ( $\Delta F$ :  $-14552.7$  Hz,  $\Delta m$ :  $563.5 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) gözlemlendi. PVA/PCh-E1 nanolifler ile kaplanmış QCM elektrodu kullanıldığında, PVA/PCh ile kaplanmış QCM elektroduna kıyasla daha az negatif frekans kayması ve kütle artışı ( $\Delta F$ :  $-13709.5$  Hz,  $\Delta m$ :  $530.3 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) gözlemlendi. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanolifler ile kaplanmış elektrot yüzeylerine 800 dakika boyunca yapışan *P. aeruginosa*'nın ortalama kütleleri ve standart sapmaları sırasıyla  $515.8 \pm 47.6$  ve  $527.3 \pm 3.0 \mu\text{g cm}^{-2}$  olarak belirlendi (Şekil 7). Elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla tutarlı olup, PVA/PCh-E1 nanolifleri ile kaplanmış QCM elektrodu, tercih edilen bir biyofilm oluşumu sergiledi. QCM-biyofilm deneyleri, PVA/PCh-E1 nanoliflerle kaplanmış QCM elektrodunun, PVA/PCh nanoliflerle kaplı QCM elektrotuna kıyasla *P. aeruginosa* hücrelerini önemli ölçüde engellediğini gösterdi.



Şekil 7. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanoliflerle kaplanmış elektrot yüzeylerinde *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumu sırasındaki zamana karşı kütle değişimi

### 4. Sonuç

Bu çalışmada PCh, *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumuna karşı biyolojik aktivitesini geliştirmek için E1 ile kimyasal olarak modifiye edildi. XPS, PL ve FTIR analizleri ile E1'in kimyasal reaksiyonlarla PCh film yüzeyine başarıyla modifiye edildiğini doğruladı. PVA/PCh ve PVA/PCh-E1 nanolifleri, yerinde elektroçizme-QCM tekniği ile QCM elektrot yüzeylerine homojen bir şekilde biriktirildi. Nanolifler ile kaplı elektrotların biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi QCM ile incelendi. PVA/PCh-E1 nanolifler ile kaplanmış QCM elektrodun ortalama kütle ve standart sapmasının ( $\Delta m$ :  $527.3 \pm 3.0 \mu\text{g cm}^{-2}$ ), PVA/PCh nanolifler ile kaplı QCM elektrodunkinden ( $\Delta m$ :  $515.8 \pm 47.6 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) daha düşük olduğu belirlendi. Bu durum PVA/PCh-E1 nanoliflerinin biyofilm oluşumunu daha iyi engellediğini gösterdi. Sonuç olarak, PVA/PCh-E1 nanoliflerle kaplanmış QCM elektrot yüzeyi, PCh nanoliflerden daha iyi bir performans sergilemiştir. Elde edilen PVA/PCh-E1 nanolifler, biyomedikal uygulamalar için potansiyel adaylar olarak düşünülebilir.



**KAYNAKLAR**

- Abrigo, M., Kingshott, P., McArthur, S.L. (2015). Electrospun polystyrene fiber diameter influencing bacterial attachment, proliferation, and growth. *Applied Materials & Interfaces*, 7, 7644-7652.
- Abu-Hashem, A.A., Hussein, H.A.R., Aly, A.S., Gouda, M.A. (2014). Synthesis of benzofuran derivatives via different methods. *Synthetic Communications*, 44, 2285-2312.
- Asri, M., Elabed, S., Koraichi, S.I., Ghachtoul N.E. (2018). Biofilm-based systems for industrial wastewater treatment. Hussain, C.M. (ed.), *Handbook of Environmental Materials Management*, Springer, Cham., 1-21pp, [https://doi.org/10.1007/978-3-319-73645-7\\_137](https://doi.org/10.1007/978-3-319-73645-7_137).
- Baumann, A.R., Martin, S.E., Feng, H. (2009). Removal of listeria monocytogenes biofilms from stainless steel by use of ultrasound and ozone. *Journal of Food Protection*, 72(6), 1306–1309.
- Bazaka, K., Jacob, M.V., Crawford, R.J., Ivanova, E.P. (2012). Efficient surface modification of biomaterial to prevent biofilm formation and the attachment of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95, 299–311.
- Channasanon, S., Graisuwan, W., Kiatkamjornwong, S., Hoven, V.P. (2007). Alternating bioactivity of multilayer thin films assembled from charged derivatives of chitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*, 316, 331.
- Charernsriwilaiwat, N., Opanasopit, P., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., Supaphol, P. (2010). Preparation and characterization of chitosan-hydroxybenzotriazole/polyvinyl alcohol blend nanofibers by the electrospinning technique. *Carbohydrate Polymers*, 81, 675-680.
- Dalvie, D.K., Kalgutkar, A.S., Khojasteh-Bakht, C.S., Scott Obach, R., O'Donnell, P.O. (2002). Biotransformation reactions of five-membered aromatic heterocyclic rings. *Chemical Research in Toxicology*, 15, 269-299.
- Eichhorn, S. J., Sampson, W.W. (2010). Relationships between specific surface area and pore size in electrospun polymer fibre networks. *Journal of The Royal Society Interface*, 7, 641-649.
- Gholipour, K.A., Bahrami, S.H., Nouri, M. (2009). Chitosan-poly(vinyl alcohol) blend nanofibers: Morphology, biological and antimicrobial properties. *e-Polymers*, 9(1),1-12.
- Goncales, C.E.P., Araldi, D., Panatieri, R.B., Rocha, J.B.T., Zeni, G., Nogueira, C.W. (2005). Antinociceptive properties of acetylenic thiophene and furan derivatives: Evidence for the mechanism of action, *Life Sciences* 76, 2221–2234.
- Gottesdiener, K., Mehlich, D.R., Huntington, M., Yuan, W.Y., Brown, P., Gertz, B., Mills, S., 1999. Efficacy and tolerability of the specific cyclooxygenase-2 inhibitor DFP compared with naproxen sodium in patients with postoperative dental pain, *Clinical Therapy*, 21, 1301–1312.
- Gülgör, G., Korukluoğlu, M. (2014). Mikroorganizmalar arasında çoğunluk algılanması (Quorum Sensing). *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 83-92.
- Hoven, V. P., Tangpasuthadol, V., Angkitpaiboon, Y., Vallapa, N., Kiatkamjornwong, S. (2007). Surface-charged chitosan: Preparation and protein adsorption. *Carbohydrate Polymers*, 68, 44-53.
- Iyengar, S., Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Murand, P., Werstink, N.H., Timmins, G., (1987). Toxicokinetics of the phototoxic allelochemical  $\alpha$ -terthienyl in three herbivorous lepidoptera. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 29, 1–9.
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M.A., Hussain, T., Ali, M., Rafiq, M., Kamil, M.A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81, 7-11.
- Kargar, M., Wang, J., Nain, A. S., Behkam, B. (2012). Controlling bacterial adhesion to surfaces using topographical cues: a study of the interaction of *Pseudomonas aeruginosa* with nanofiber-textured surfaces. *Soft Matter*, 8, 10254-10259.
- Kim, B.J., Cheong, H., Choi, E.S., Yun, S.H., Choi, B.H., Park, K.S., Kim, I.S., Park, D.H., Cha, H.J. (2017). Accelerated skin wound healing using electrospun nanofibrous mats blended with mussel adhesive protein and polycaprolactone. *Journal of Biomedical Materials Research A*, 105, 218-225.
- Khodarahmi, G., Asadi, P., Hassanzadeh, F., Khodarahmi, E. (2015). Benzofuran as a promising scaffold for the synthesis of antimicrobial and antibreast cancer agents: A review. *Journal of Research in Medical Sciences*, 20(11), 1094–1104.
- Klossner, R.R., Queen, H.A., Coughlin, A.J., Krause, W.E. (2008). Correlation of chitosan's rheological properties and its ability to electrospun. *Biomacromolecules*, 9, 2947-2953.
- Kossakowski, J., Krawiecka, M., Kuran, B., Stefańska, J., Wolska, I. (2010). Synthesis and preliminary evaluation of the antimicrobial activity of selected 3-benzofurancarboxylic acid derivatives. *Molecules*, 15, 4737-4749.
- Kumar, S., Nigam, N., Ghosh, T., Dutta, P.K., Yadav, R.S., Pandey, A.C. (2010). Preparation, characterization, and optical properties of a chitosan-anthraldehyde crosslinkable film. *Journal of Applied Polymer Science*, 2010, 115, 3056-3062.
- Lonn, S.J., Naemi, A., Benneche, T., Scheie, A.A. (2012). Thiophenones inhibit *Staphylococcus epidermidis*

- biofilm formation at non-toxic concentrations, *FEMS Immunology Medical Microbiology*, 65, 326–334.
- Lopez, F., Jett, M., Muchowski J.M., Nitzan D., O'Yang C., (2002). Synthesis and biological evaluation of keterolac analogs. *Heterocycles*, 56, 91-95.
- Malmström, J., Jonsson, M., Cotgreave, I.A., Hammarström, L., Sjödin, M., Engman, L. (2001). The antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno and 1-telluro analogues. *Journal of the American Chemical Society*, 123, 3434-3440.
- Marcus, I.M., Herzberg, M., Walker, S.L., Freger, V. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* attachment on QCM-D sensors: The role of cell and surface hydrophobicities. *Langmuir*, 28, 6396-6402.
- Matsumoto, H., Tanioka, A. (2011). Functionality in electrospun nanofibrous membranes based on fiber's size, surface area, and molecular orientation. *Membranes*, 1(3), 249-264.
- Matsuura, H., Saxena, G., Farmer, S.W., Hancock, R.E.W., Towers, G.H.N. (1996). Antibacterial and antifungal polvine compounds from *Glehnia littoralis* ssp. *leiocarpa*. *Planta Medica*, 62, 256–259.
- Meotti, F.C., Silva, D.O., Santos, A.R.S., Zeni, G., Rocha, J.B.T., Nogueira, C.W. (2003). Thiophenes and furans derivatives: a new class of potential pharmacological agents. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 15, 37-44.
- Mi, F.L. (2005). Synthesis and characterization of a novel chitosangelatin bioconjugate with fluorescence emission. *Biomacromolecules*, 6, 975-987.
- Mortimer, C.J., Burke, L., Wright, C.J. (2016). Microbial interactions with nanostructures and their importance for the development of electrospun nanofibrous materials used in regenerative medicine and filtration. *Journal of Microbial Biochemical Technology*, 8, 195-201.
- Nohut Maslakci, N., Akalin, R.B., Ulusoy, S., Oksuz, L., Uygun Oksuz, A. (2015). Electrospun fibers of chemically modified chitosan for in situ investigation of the effect on biofilm formation with quartz crystal microbalance method. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 54, 8010–8018.
- Nohut Maslakci, N., Ulusoy, S., Uygun Oksuz, A. (2017). Investigation of the effects of plasma-treated chitosan electrospun fibers onto biofilm formation. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 246, 887-895.
- Nohut Maslakci, N., Ulusoy, S., Uygun Oksuz, A. (2018). Investigation of the effects of chemically grafted chitosan nanofibers on *P. aeruginosa* PA01 biofilm formation using quartz crystal microbalance technique. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 669(1), 76-93.
- Nune, V., Sharon, L.W., Osnat, G., Moshe, H. (2010). Reduced bacterial deposition and attachment by quorum-sensing inhibitor 4-nitro-pyridine-N-oxide: The role of physicochemical effects, *Langmuir*, 26, 12089-12094.
- Ohkawa, K., Minato, K.I., Kumagai, G., Hayashi, S., Yamamoto, H. (2006). Chitosan nanofiber. *Biomacromolecules*, 7, 3291-3294.
- Pillai, C.K.S. Sharma, C.P. (2009). Electrospinning of chitin and chitosan nanofibres, *Trends in Biomaterials Artificial Organs*, 22, 179-201.
- Sauerbrey, G. (1959). Verwendung von Schwingquarzen zur Wagung dünner Schichten und zur Mikrowagung. *Zeitschrift für Physik*, 155, 206-222.
- Shi, X., Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 407-413.
- Sun, K., Li, Z.H. (2011). Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning, *Express Polymer Letters*, 5, 342–361.
- Tirola, M., Lahtinen, T., Vuento, M., Oker-Blom, C. (2009). Early succession of bacterial biofilms in paper machines. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36, 929–937.
- Uygun, A., Kiristi, M., Oksuz, L., Manolache, S., Ulusoy, S. (2011). RF hydrazine plasma modification of chitosan for antibacterial activity and nanofiber applications, *Carbohydrate Research*, 346, 259-265.
- Veerachamy, S., Yarlagadda, T., Manivasagam, G., Yarlagadda, P.K.D.V. (2014). Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: A review. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H Journal of Engineering in Medicine*, 228(10), 1083-1099.
- Wang, X., Ding, B., Sun, M., Yu, J., Sun, G. (2010). Nanofibrous polyethyleneimine membranes as sensitive coatings for quartz crystal microbalance-based formaldehyde sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 144, 11-17.
- Zeni, G., Lüdtkke, D.S., Nogueira, C.W., Panatieri, R.B., Braga, A.L., Silveira, C.C., Stefani, H.A., Rocha, J.B.T., (2001). New acetylenic furan derivatives: synthesis and anti-inflammatory activity. *Tetrahedron Letters*, 42, 8927-8930.
- Zhou, Y., Yang, D., Nie, J. (2006). Electrospinning of chitosan/poly(vinyl alcohol)/acrylic acid aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, 102, 5692-5697.
- Zou, A., Huo, M., Zhang, Y., Zhou, J., Yin, X., Yao, C., Zhu, Q., Zhang, M., Ren J., Zhang, Q. (2012). Octreotide-modified N-octyl-O, N-carboxymethyl chitosan micelles as potential carriers for targeted antitumor drug delivery, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 627-640.

## Sağlıklı Yaşamda Üzüm ve Üzüm Ürünleri

Özlem Aras Aşçı<sup>1\*</sup> 

**Özet:** Üzümün iyi bir B1, B6 ve C vitamini kaynağı olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda Mg, K ve Ca gibi mineraller bakımından zengin olmasına rağmen düşük glisemik indeksi olan olağanüstü bir besindir. Üzümde elde edilen pekmezin, demir anemisini azaltıcı ve engelleyici etkileri bulunmaktadır. İnsanlar besin değerleri, sevdikleri tatlar ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle diyetlerine giderek artan oranda üzüm ve üzüm ürünlerini dahil etmektedirler. Bu olumlu etkiler, üzümlerin biyokimyasal yapısında tanımlanan ve esas olarak fenilpropanoidler, izoprenoidler ve alkaloidlerden türetilen 1600'den fazla bileşiğe bağlıdır. Üzüm suyu ve şarap yüksek oranda Fenilpropanoidler olan flavanoidleri ihtiva etmektedir. Üzüm ürünleri içerdikleri flavanoid bileşiklerin potansiyel antioksidan etkisi ile plazmada oksidasyona bağlı DNA hasarını önleyerek antikarsinojenik etkiye sahiptirler. Üzüm çekirdeği, üzüm suyu ve şarapta bulunan bir stilben türevi olan resveratrolün ise anti-mutajenik aktivite göstererek farklı kanser türlerinde tümör oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Bunlara ek olarak yapılan çalışmalar, üzüm ürünleri tüketimi ile alınan resveratrolün virüs gelişimi, kötü kolesterol, yüksek tansiyon, kalp krizi riski, Alzheimer, Parkinson, demans ve nörodejenerasyon gibi birçok hastalığı önlediğini belirlemiştir. Sonuç olarak vitamin, mineral ve antioksidan deposu olan üzüm ve üzüm ürünlerinin tüketimi, yaşam kalitesini düşüren ve bazen ölümcül olabilen hastalıkların önlenmesi açısından oldukça faydalı bir alternatif sunmaktadır. Bu çalışma ile de üzüm ve üzüm ürünleri ile bunların fonksiyonel bileşenlerinin, insan beslenmesinde kullanımlarının sağlık yararlarına vurgu yaparak bir incelemesi ortaya konulmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Üzüm, üzüm ürünleri, sekonder metabolit, polifenoller, sağlık.

## Grape and Grape Products in a Healthy Life

**Abstract:** Grapes are a good source of B1, B6, and C vitamins. It is also an extraordinary food with a low glycemic index despite being rich in minerals such as Mg, K, and Ca. The molasses obtained from grapes has an effect of reducing and preventing iron anemia. People increasingly include grape and grape products in their diets due to their nutritional values, favorite tastes, and positive effects on health. These positive effects are due to more than 1600 compounds describe in the biochemical structure of grapes and derived mainly from phenylpropanoids, isoprenoids, and alkaloids. Flavanoids, which are phenylpropanoids, are found in very high amounts in grape juice and wine. Grape juice and red wine have an anticarcinogenic effect by preventing DNA damage due to oxidation in plasma with the potential antioxidant effect of flavanoid compounds in it. Resveratrol, a stilbene derivative found in grape seed, grape juice, and wine, has been reported to prevent tumor formation in different types of cancer by showing anti-mutagenic activity. However, studies have determined that resveratrol taken with the consumption of grape products or extracts prevents many diseases such as virus development, bad cholesterol, high blood pressure, heart attack risk, Alzheimer's, Parkinson's, dementia, and neurodegeneration. As a result, the consumption of grape and grape products, which are a store of vitamins, minerals, and antioxidants, offers a very useful alternative in terms of preventing diseases that reduce the quality of life and can sometimes be fatal. In this study, the presented a review of grape and grape products and their functional components emphasizing the health benefits of their use in human nutrition.

**Keywords:** Grape, grape product, secondary metabolite, polyphenols, health.

<sup>1</sup>**Address:** Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, 32900, Gelendost/Isparta, Türkiye

**\*Corresponding author:** ozlemaras@isparta.edu.tr

**Citation:** Aras Aşçı, Ö. (2020). Sağlıklı Yaşamda Üzüm ve Üzüm Ürünleri. Bilge International Journal of Science and Technology Research, 4 (Special Issue): 22-32.

## Giriş

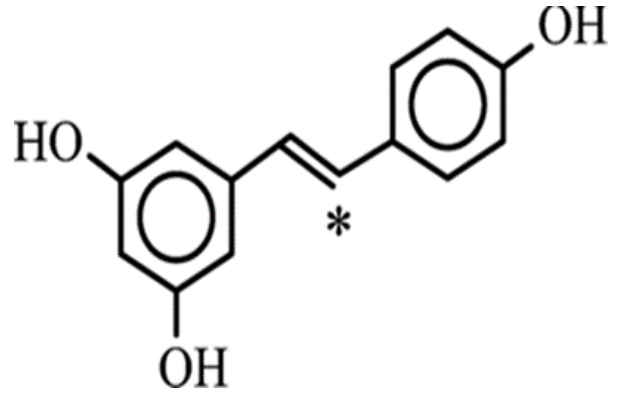
Botanik olarak üzüm, yaprak dökün odunsu yapıda *Vitis* cinsine ait çiçekli bir bitkidir. Üzüm meyvesi klimakterik özellik taşımaz ve salkımlar halinde oluşmaktadır. Meyveleri 15 ila 300'lük salkımlar halinde büyüyen ve koyu kırmızı, siyah, koyu mavi, sarı, yeşil, turuncu ve pembe renkte olabilmektedir (El-Mashharawi, 2020). Üzüm, 7.157.658 ha alanda 79.126 bin ton ile dünyada en çok üretilen meyve türlerinden biri olarak önemlidir (FAO, 2020). Üzümün dünyada bu kadar çok üretilmesinin nedeni, çok zengin tüketim şekillerine sahip olmasıdır. Ağırlıklı olarak sofralık üzüm, kuru üzüm, şarap ve üzüm suyu için kullanılmasının yanı sıra pekmez, sirke, reçel, komposto, pestil, köfter ve bastık şeklinde de tüketilmektedir. Yemeklerde kullanılan salamura yaprak ise üzüm yapraklarından elde edilir. Bunların yanı sıra üzüm çekirdeği, yağı vb. ürünleri ise ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır.

Dani vd. (2012), beyaz ve mor üzüm sularının önemli bir mineral (Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Si, S, Cl) kaynağı olduğu ve bu içeriklerin önemli antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca *V. labrusca* çeşitlerinden elde edilen üzüm sularının antioksidan ve antimutajenik etkileri ile korelasyon gösteren ve bu sayede Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz ve kanser gibi oksidatif stresin neden olduğu bazı hastalıkların önlenmesine katkıda bulunan iyi birer mikro besin kaynağı olduğunu ifade etmektedirler.

Üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin insan sağlığı üzerinde oldukça fazla yararları bulunmaktadır. Üzümün içeriğinde bulunan primer ve sekonder metabolitler sayesinde sağlık üzerine yararları ortaya çıkmaktadır. Bunlardan başlıcaları aşağıda verilmiştir.

### Resveratrol Etkisi

Resveratrol, viniferin olarak bilinen polimer ailesinin ana moleküllerindedir ve trans-3,5,4'-trihidroksistilben (Şekil 2) ve 3,4',5 stilbenetriol olarak bilinen 2 formda ortaya çıkmıştır (Walle, 2011). Özellikle üzümde diğer bitkilere oranla oldukça yüksek miktarlarda bulunan bu sekonder metabolit, biyotik stresler sonucunda bitkinin savunma sistemi tarafından üretilen fitoaleksinin adı verilen bir polifenol çeşididir (Çaylak vd., 2009). Antonioli vd. (2015) ise üzüm posasında ilk kez resveratrolün bir stilben analogu olan piceatannolü tanımlayarak miktarını belirlemişler ve kırmızı üzüm posası ekstraktında (*V. vinifera* L. Malbec üzüm çeşidi) en fazla bulunan flavanollerin (+) - kateşin ve (-) -epikateşin ile en çok bulunan antosiyaninin malvidin-3-glukosid olduğunu bildirmişlerdir. *V. vinifera* meyvelerinin fenolik bileşiminin büyük ölçüde üzüm çeşidine bağlı olduğu bildirilmiştir (de la Cerda-Carrasco vd., 2015).



Şekil 2. Resveratrolün kimyasal yapısı (Piver vd., 2003).

Alkan (2007), resveratrolü doğal bitki antibiyotiği olarak tanımlamıştır. Bowers vd. (2000), resveratrolün antioksidan aktivitesinin, kalp sağlığını korumada etkili olmasının yanı sıra sahip olduğu anti-mutajenik (mutasyonu engelleyen) aktivitesi sayesinde tümör oluşumu ve gelişimiyle alakalı hücrel olayları engelleyerek, COX (siklooksigenaz) aktivitesini önlediğini ifade etmektedirler. Ek olarak, resveratrol tüketiminin bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiği ve oksidatif stresi azaltan antioksidan özelliklerinin yanı sıra çevresel etkilerin, stres ve zayıf beslenme gibi çeşitli faktörlerin neden olduğu oksidatif lezyonlara karşı dokuları koruduğu da bulunmuştur (Chaplin vd., 2018).

Yadav vd. (2009), üzümdeki resveratrolün bazı anti-ensefalitozon (viral iltihaplanmaları durduran) ve anti-antiviral (virüs gelişimini durduran) aktivitelerine değinmişlerdir. Resveratrol'ün polioma virüse (Berardi vd., 2009), influenzaya (Bekhit vd., 2011) karşı antiviral etkiler sergilediği gösterilmiştir.

Houillé vd. (2014) cilt enfeksiyonlarından ölüme kadar gidebilen sistemik enfeksiyonlara neden olan polimorfik bir mantar türü olan *Candida* türlerine karşı resveratrolün anti-fungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Benzer bir çalışmada, üzüm etanol ekstraktının *Fusarium* türlerine karşı anti-fungal aktivitesinin yüksek olduğunu bildirilmişlerdir. Aynı araştırmacılar üzümün anti-fungal özelliğini yüksek polifenol miktarına bağlamışlardır (Fraternali vd., 2015).

Zaidi vd. (2009), mide rahatsızlıklarının hatta barsak kanserlerinin pek çoğunun sebebi olarak görülen *Helicobacter pylori* bakterisine karşı (100 µm) resveratrol uyguladıkları çalışmalarında bakteri hücrelerini tamamen inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Bu konuda üzüm ve üzüm ekstraktlarını kullanarak Brown vd. (2009) ve Brown ve Jiang (2013)'da benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Bedê vd. (2020), yüksek yağlı beslenen farelerde karaciğer hasarına karşı koruyucu olarak resveratrol, üzüm suyu ve kırmızı şarap kullandıkları araştırmaları sonucunda özellikle kırmızı üzüm suyu ve resveratrolün yüksek yağlı beslenmeden dolayı karaciğerde oluşan hepatik histolojik lezyonu ve apoptozu azaltarak dokuyu karaciğer yağlanmasına karşı koruduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde üzüm ve ekstraktlarının karaciğer dokularındaki hasarı engellediğinin gösterildiği çalışmalar mevcuttur



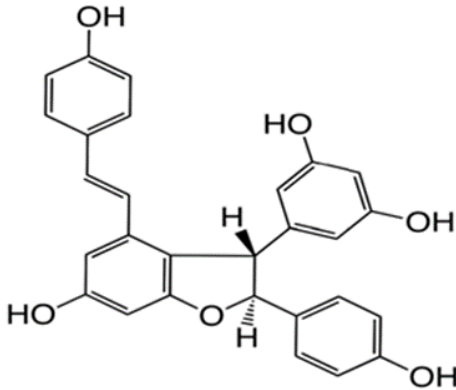
(Dani vd., 2007; Buchner vd., 2014; Carpeno vd., 2015; Farias vd., 2015).

Xia vd. (2010), fareler üzerindeki çalışmalarında resveratrolün, kalp dokularında süperoksit, glutasyon ve katalaz ekspresyonunu ve ROS inaktivasyonunu arttırdığını bildirilmişlerdir. Başka bir çalışmada ise resveratrol tedavisinin kardiyak hipertrofiye karşı koruyucu bir etkisi olabileceği bildirilmiştir (Liu vd., 2005). Ahmet vd. (2017), kronik kalp yetersizliği olan farelere, diyetlerinde uzun süreli resveratrol desteği verdiklerinde, kardiyovasküler yapısal ve fonksiyonel bozukluğu azalttığını ifade etmişlerdir. Üzüm ekstraktı ve resveratrol tedavisi uygulanan kardiyovasküler hastalıklarda kardiyovasküler risk belirteçlerinin düzeylerini azalttığı (Tome Carneiro vd., 2012) ve kan mononükleer hücrelerinde aterotrombotik sinyalleri inhibe ederek kardiyovasküler faydalar sağlayabildiği bulunmuştur (Tome Carneiro vd., 2013).

Yapılan çalışmalara göre resveratrolün, böbrek hasarını önlemek için yararlı bir tamamlayıcı tedavi sağlayabildiğini gösterilmektedir. Kitada vd. (2011), tarafından yapılan yakın tarihli bir çalışmada, araştırmacılar, resveratrolün böbrek hasarını iyileştirdiğini ve farelerin böbreklerinde manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD) (serbest radikalleri tutan çok önemli bir enzimdir) disfonksiyonu ile mitokondriyal biyogenezini arttırdığını bildirmişlerdir.

#### Viniferin Etkisi

Üzümün içerdiği fenolik kompozisyonu büyük ölçüde üzüm çeşidine, çevresel koşullara, yetiştiği coğrafyaya, olgunluk derecesine, hasat sonrası işleme ve depolama gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir (Shi vd., 2003; Bruno ve Sparapano, 2007; Garrido ve Borges, 2013). Asmanın odunsu kısımları, stilbenoidlerin en değerli doğal kaynaklarından biri olarak bilinmektedir ve bunlardan meydana gelen iki ana bileşen, monomeri trans-resveratrol ve dimerlerinden biri olan trans- $\epsilon$ -viniferindir (Şekil 3). Trans-resveratrol'e benzer şekilde, viniferinler bitkiler tarafından mantar enfeksiyonları ve diğer stres koşulları üzerine üretilir (Pezet vd., 2003). Bunlar *V. vinifera*'da (Pezet vd., 2003), üzümlerde (González-Barrio vd., 2006) ve bazı şaraplarda değişen miktarlarda yaprak ve hücre kültürlerinde tanımlanmıştır (Vitrac vd., 2005).



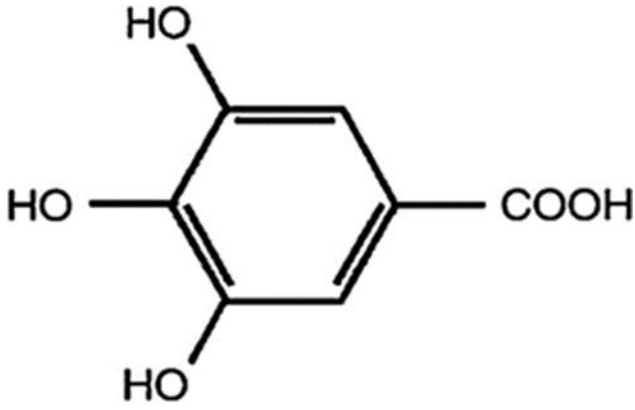
Şekil.3 trans- $\epsilon$ -viniferinin kimyasal yapısı (Morel-Salmi vd., 2014).

Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar biyolojik özelliklerinden dolayı trans- $\epsilon$ -viniferine olan ilgiyi artırmıştır. Bu özelliklerin bazıları insan tıbbi açısından çok ümit vericidir. Viniferinlerin antioksidan (Ha vd., 2009) ve hepatoprotektif (Oshima vd., 1995) özellikler sergiledikleri bulunmuştur. Örneğin, trans- $\epsilon$ -viniferin glukozit, beyin hücrelerini korumak için kullanılabilir yeni bir bileşiktir ve bu nedenle Alzheimer hastalığının tedavisinde faydalı olabileceği bildirilmektedir (Richard vd., 2011). Fu vd. (2012) tarafından trans-(-)- $\epsilon$ -viniferin aktivitesinin beyinde hasara neden olan ve kalıtsal ve tedavi edilemeyen Huntington hastalığında mitokondriyal sirtuin 3'ün aktivitesini arttırdığı, beyin ve sinir hücrelerini koruduğu tespit edilmiştir.  $\epsilon$ -viniferinin *In vitro* ortamdaki lösemi hücrelerinde, insan hepatoma HepG2 hücresi ve kanser hücrelerinde pro-apoptotik ve anti-proliferatif olarak resveratrol'den daha güçlü antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Zghonda vd., 2011). Aynı şekilde Piver vd. (2003), viniferinin, multipl miyelom hücrelerinin ve insan sitokrom P450 enzimlerinin (vücutta kanser riskiyle birlikte artışa geçen enzimler), özellikle CYP1A1, CYP1B1 ve CYP2B6'nın proliferasyonunu inhibe etmede trans resveratrol'den daha etkili olduğunu ifade etmektedirler. Trans- $\epsilon$ -viniferinin, sadece kansere karşı koruyucu bir ajan olarak değil, aynı zamanda seçilmiş kanser hücre hatlarına karşı doğrudan sitotoksitesiteye sahip bir madde olarak da aktif olduğu bulunmuştur (Xue vd., 2014).

Oligostilbenler ayrıca anti-enflamatuar özellikler sergilemektedirler (Choi vd., 2011). Basri vd. (2014) tarafından yayınlanan bir çalışmada sonuçlar çok ümit vericidir ve trans- $\epsilon$ -viniferin ve vankomisin kombinasyonunun, insanlarda ve hayvanlarda ağır enfeksiyonlardan sorumlu bir bakteri olan metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olduğunu göstermektedir.

#### Gallik Asit Etkisi

Gallik asit (GA, 3,4,5-trihidroksibenzoik asit) ve türevleri, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunur ve doğal antioksidanlar olan geniş bir polifenolik bitki sekonder metabolit ailesini temsil etmektedir (Şekil 4). Bunlar, metillenmiş gallik asitler (siringik asit vb.) veya kateşin türevlerinden olan flavan-3-ol'ler veya glikoz, kinik asit veya gliserolün poligalloil esterleri şeklinde mevcuttur (Lu vd., 2006). Kaur vd. (2009), üzüm çekirdeği ekstrelerinin aktif bir bileşeni olan gallik asitin, farelerde prostat kanser hücrelerinin büyümesine karşı antiproliferatif, pro-apoptotik ve anti-tümörjenik etkiler sergilediğini özellikle 22Rv1 (prostat kanser hücresi) büyümesini inhibe ettiğini, apoptozu baskıladığı ve mikrodamar yoğunluğunu azalttığını bildirmişlerdir.

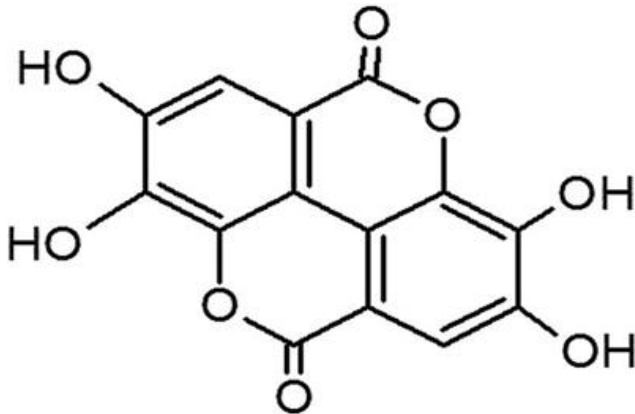


**Şekil 4.** Gallik asitin (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) kimyasal yapısı (Reckziegel vd., 2016).

Pirinçioğlu vd. (2012) fareler de kolesterol ve antioksidan kapasite üzerine Öküzgözü (*V. vinifera* L. cv.) üzüm suyunun etkilerini araştırmışlardır. İçeriğinde  $1208 \mu\text{g mL}^{-1}$  gallik asit ve  $5,2 \mu\text{g mL}^{-1}$  kuarsetin bulunan üzüm suyundan, günlük doz olarak  $2 \text{ mL kg}^{-1}$  farelere verildiğinde 28. Günün sonunda LDL oksidasyonuna karşı koruma sağlayarak antioksidan kapasiteyi artırdığı ve nöroprotektif etkiler gösterdiğini tespit etmişlerdir. Önceki çalışmalar, üzüm suyunun kanser hücresi modellerinde hücre çoğalmasını ve buna bağlı olarak hastalığın ilerlemesini önlediğini göstermiştir (De Moura vd., 2016; Kong vd., 2019).

#### Elajik Asit Etkisi

Elajik asit, üzümde doğal olarak bulunan yararlı metabolitlerin en önemlilerinden bir tanesidir. Elajik asit (4,4', 5,5',6,6'-heksahidroksidifenik asit 2,6,2'6'-dilakton) (Şekil 5) kimyasal yapısı itibarıyla üzümlerde bulunan gallik asitin dimerik bir türevidir. Elajik asit miktarını, muscadine üzümlerinde 100 g taze muscadine üzüm şarabı başına ortalama 5,6 mg ve 100 g taze muscadine üzüm suyu başına ise 10,2 mg konsantrasyonlarda tespit etmişlerdir. Üzüm suyuna oranla şaraptaki miktarının azlığını ise çözünmeyen tortu oluşumuyla ilişkilendirmişlerdir (Talcot ve Lee, 2002).



**Şekil 5.** Elajik asitin kimyasal yapısı (Kang vd., 2016).

Üzüm içeriğindeki elajik asit sayesinde anti-sitotoksik (hücreye toksik şekilde etki edip hücreyi öldüren ya da fonksiyonunu durduran maddeleri etkisiz hale getiren) ve anti-proliferatif (kansere neden olan serbest radikalleri tutan ve etkisiz hale getiren), kemo-preventif (kansere oluşumunu önleyici maddeler) ve anti-viral (viral hastalıklara karşı kullanılan) aktiviteler gibi önemli biyolojik aktiviteler de elajik aside atfedilmiştir (Gerhäuser ve Frank, 2003; Xu vd., 2003). Üzümdeki elajik asitin güçlü anti-oksidatif (oksidasyonu engelleyen) aktiviteye sahip olduğu birçok bilimsel araştırma ile kanıtlanmıştır (Teissedre vd., 1996; Lee, 2004; Han vd., 2006; Kim vd., 2009; Wang vd., 2010; Burin vd., 2014; Karthikeyan vd., 2020; Tošović ve Bren, 2020).

Papoutsis vd. (2005) araştırmalarında üzüm fındık vb. yiyeceklerin ihtiva ettiği elajik asitin, "doğal" seçici östrojen reseptör modülatörleri olarak menopoz sırasında hormon tedavisinde alternatif olarak kullanılabilceğini göstermişlerdir.

#### Diğer Polifenollerin Etkisi

Polifenoller bitkilerde doğal olarak bulunan ve molekül başına birden çok fenol grubunu ihtiva ederek bitkilere rengini veren antioksidan özellikteki maddelerdir. Sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan polifenollerin anti-inflamatuar, hipolipidemik ve antioksidan etkileri vardır (Zern ve Fernandez, 2005). Vitamin ve lif kaynağı olmasının yanı sıra, üzümün kabuğu ve çekirdekleri, vücudun doğal biyolojik süreçlerini artırarak çeşitli sağlık sorunlarını iyileştirmek için işlevsel bir bileşen olarak kullanılabilen polifenollere özgü proantosiyanidinler açısından oldukça zengindir. Üzüm çekirdeği proantosiyanidinleri, kateşinlerin veya epikateşinlerin dimerler, trimerler, tetramerler ve oligomerleri formunda polimerizasyonu ile oluşmaktadır (Lan vd., 2015). Bu proantosiyanidinlerin Wang vd. (2019), HepG2 karaciğer kanseri hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe edebileceğini ve mitojenle aktive olan protein kinazın apoptozu ve fosforilasyonunu baskılayabileceğini rapor etmişlerdir.

Üzüm, üzüm bileşenleri ve kanser üzerine yapılan araştırmalar kolon kanseri, meme kanseri ve prostat kanseri olmak üzere üç kanser türüne odaklanmıştır. Kolorektal kanser için kemoterapi tedavisi sıklıkla mide bulantısı, kilo kaybı gibi önemli gastrointestinal toksisitelere neden olmaktadır. Bu kanser türünde kemoterapi sırasında üzüm çekirdeği ekstresi alan farelerde klinik göstergeleri iyileştirdiği ve kolonik tümörleri azalttığı görülmüştür (Chartier vd., 2020). Dinicola vd. (2012) çalışmalarında üzüm çekirdeği ekstresinin kolon kanseri hücre hatlarından antikanser etkiler gösterdiği ve apoptozu baskıladığı görülmüştür. Bu çalışmada İtalya ve Palieri üzüm çekirdeği ekstresinin neden olduğu büyüme inhibisyonunun, daha önce epigallocateşin ve prosiyanidinler ile kaydedilenden önemli ölçüde daha yüksek olması dikkat çekmiştir. Bunun üzümün yüksek miktardaki lif ve polifenol içeriğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yapılan benzer araştırmalarda üzüm çekirdeği ekstresinin meme kanseri

hücreleri MCF-7'nin proliferasyonunu inhibe ederek gen ekspresyonunu azalttığını rapor etmişlerdir (Chen vd., 2009; Leone vd., 2019).

Günümüzde gıda ve tıp alanında tartışmalara konu olan kolesterol, insanların mücadele ettiği kalp ve damar hastalıklarının oluşumunda oldukça etkilidir. İçerdiği polifenoller sayesinde üzüm ve üzüm ürünlerinden üzüm tozu ve posasının (Vigna vd., 2003; Zern vd., 2005; Jiménez vd., 2008; Tome Carneiro vd., 2012; Zunino vd., 2014; Urquiaga vd., 2015; Vaisman ve Niv, 2015; Han vd., 2016; Martínez-Maqueda vd., 2018; Millar vd., 2018; ), üzüm suyunun (Banini vd., 2006; Hollis vd., 2009; Park vd., 2009; Dohadwala vd., 2010; Siasos vd., 2014), üzüm çekirdeğinin (Preuss vd., 2000; Sano vd., 2007; Kar vd., 2009; Sivaprakasapillai vd., 2009; Mellen vd., 2010; Argani vd., 2016; Taghizadeh vd., 2016) ve üzüm kabuğunun (Yubero vd., 2013) kötü kolestrol ve trigliserit miktarında azalmaya neden olarak yararlı etkilerde bulunduğu ifade edildiği farklı araştırmalar mevcuttur.

Üzümün lifli yapısı tokluk üzerinde potansiyel bir etkiye sahiptir ve karbonhidratların ve trigliseritlerin emilimini azaltır, bu nedenle, şarap posası lifleri bağırsak metabolizmasından artmış butirat üretimiyle ilişkili kardiyovasküler hastalıkların azalmasına yol açar böylelikle diyabetli hastalarda plazma insülininde artış gözlenirken kan şekerinde bir azalma olmaktadır (Baboota vd., 2013). Diğer bir deyişle bu üzüm ürünlerindeki polifenollerin termojenez ve enerji tüketimini artırırken, olası kilo kaybı ile enflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığına ve obezite ile ilgili bozuklukları önlediğine dair güçlü kanıtlar vardır (Wang vd., 2014). Resveratrol, epigallocateşin gallate, fenolik asitler gibi bazı polifenollerin, adiposit (derinin altında üç katman derinliğinde bulunan yağ dokusu) farklılaşmasını ve proliferasyonunu inhibe ederek PPAR $\gamma$  ekspresyonunu azalttıkları bu şekilde antosiyanidinlerin de, adipositleri lipid oksitleyen hücrelere dönüştüren, lipoliz ve lipogenezin düzenlenmesine katkıda bulunan mekanizmaları aktive ederek adipositlerde yağ birikimini azalttıkları bildirilmiştir (Wei vd., 2011; Del Pino-García vd., 2017; Zou vd., 2018).

Şarap yapımında ortaya çıkan posa ürünlerinde, birçok yararlı etkiye sahip olduğu öne sürülen fenolik asitler, resveratrol, kateşinler ve antosiyanidinler gibi lif ve polifenoller dahil olmak üzere bol miktarda biyoaktif bileşik bulunmaktadır. Bu biyoaktif bileşikler bakımından zengin gıdaların tüketilmesinin, antiinflatuar etkileri yoluyla enflamasyonu azalttığı ifade edilmektedir (Maleki vd., 2019).

Üzüm çekirdekleri yaklaşık % 35 lif, % 29 ekstrakte edilebilir fenolik bileşikler, proteinler (% 11), mineral (% 3) ve su (% 7) gibi bileşikler içermektedir (Matthäus, 2008). Üzümler farklı polifenoller içerir ve antioksidatif enzimler yoluyla Nitrik oksit (NO) inaktivasyonunu azaltarak iltihaplanmayı önleyebilmektedir (Haghighatdoost vd., 2020). Proantosiyanidin açısından zengin üzüm çekirdeği ekstresinin, iltihaplanma, kalp damar hastalıkları, hipertansiyon, şeker hastalığı, kanser, peptik ülser, mikrobiyal enfeksiyonlar vb. birçok hastalığa karşı fayda sağladığı farklı ve çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Cetin

vd., 2008; Anastasiadi vd., 2009; Anderson vd., 2009; Dohadwala ve Vita, 2009; Cao vd., 2015; Hosseinzadeh vd., 2017). Üzüm çekirdeği yağı ise a-linolenik asit (x - 3) ve c-linolenik asit (x - 6) gibi % 85 ile 90 arasında değişen yüksek miktarda yağ asitleri (doymamış) içermektedir. Bu yağ asitleri, kardiyovasküler hastalık, kanser, hipertansiyon ve otoimmün bozuklukların azaltılmasıyla ilgilidir (Shinagawa vd., 2015).

Kuru üzümün en yüksek toplam fenolik bileşik konsantrasyonuna ve en yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip meyveler arasında olduğu bilinmektedir ve başlıca fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavanollerdir (Miletić vd., 2014). Meng vd. (2011), dokuz üzüm genotipinin kuru üzümünde on polifenol (gallik, 3,4 dihidroksibenzoik, kafeik, siringik, ferulik, salisilik ve kumarik asitler, kateşin, kersetin ve rutin) rapor etmişlerdir. Bu fenolik maddelerden 4-dihidroksibenzoik asiti en önemlileri olarak rapor etmişlerdir. Kountouri vd. (2013) kuş üzümü ve kuru üzümün insan kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. *In vivo* antiradikal aktivite ve kolon kanseri hücrelerinde kanseri önleyici etkinliği belirlemişlerdir.

## Sonuçlar

Bu derlemede üzüm ve üzümde elde edilen bir takım ürünlerindeki aktif bileşenlerin çeşitli farmakolojik etkilerini antioksidan, antikanser, antibakteriyel ve antidiyabetik aktivitelerinin yanı sıra kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkiler gibi çeşitli yönleri ile özetlenmeye çalışılmıştır. Literatür çalışmaları sonucunda *V. vinifera*'nın sadece tüm meyvesinin farmakolojik etkileri araştırılmakla kalmayıp aynı zamanda çekirdekler, kabuklar, saplar ve posası üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Üzümde bulunan insan sağlığı açısından yararlı sekonder metabolitlerin çokluğu onu değerli bir besin kılmaktadır. Nutrasötik değere sahip diyet bileşenlerine artan ilgi hastalıkları iyileştirme ya da önlemede etkili olan bitki bazı kimyasal bileşenlere karşı ilgiyi artırmaktadır. Üzümün kimyasal kompozisyonundaki resveratrolün yanı sıra diğer polifenoller konusunda da daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Burada sunulan çalışmaların önemi, üzümde ve gıda endüstrisinde yan ürünler olarak üretilen üzüm ürünlerinden elde edilen polifenoller gibi antioksidan bileşikler kullanmaya yönelik artan ilgiyle de paraleldir. Üzüm ve ekstreleri konusunda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar çok ümit vericidir ve çeşitli hastalıkların gelişiminin önlenmesi için bitki sekonder metabolitlerinin gelecekteki kullanımına dair yol gösterici olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Ahmet, I., Tae, H.J., Lakatta, E.G., Talan, M. (2017). Long-term low dose dietary resveratrol supplement reduces cardiovascular structural and functional deterioration in chronic heart failure in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 95(3), 268-274.
- Alkan, R. (2007). Doğal bitki antibiyotiği: resveratrol. *Gıda*, 32(5), 259-262.

- Anastasiadi, M., Chorianopoulos, N.G., Nychas, G.J.E., Haroutounian, S.A. (2009). Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 457-463.
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Williams, C.L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4), 188-205.
- Antoniolli, A., Fontana, A.R., Piccoli, P., Bottini, R. (2015). Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*, 178, 172-178.
- Argani, H., Ghorbanihaghjo, A., Vatankhahan, H., Rashtchizadeh, N., Raeisi, S., Ilghami, H. (2016). The effect of red grape seed extract on serum paraoxonase activity in patients with mild to moderate hyperlipidemia. *Sao Paulo Medical Journal*, 134(3), 234-239.
- Baboota, R.K., Bishnoi, M., Ambalam, P., Kondepudi, K.K., Sarma, S.M., Boparai, R.K., Podili, K. (2013). Functional food ingredients for the management of obesity and associated comorbidities—A review. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 997-1012.
- Banini, A.E., Boyd, L.C., Allen, J.C., Allen, H.G., Sauls, D.L. (2006). Muscadine grape products intake, diet and blood constituents of non-diabetic and type 2 diabetic subjects. *Nutrition*, 22(11-12), 1137-1145.
- Basri, D.F., Xian, L. W., Abdul Shukor, N.I., Latip, J. (2014). Bacteriostatic antimicrobial combination: antagonistic interaction between epsilon-viniferin and vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*, 1-9.
- Bedê, T.P., Jesus, V.A., Souza, V.R., Elias, M.B., Oliveira, F.L., Dias, J.F., Teodoro, A.J., Azeredo, V.B. (2020). Effects of grape juice, red wine and resveratrol on liver parameters of rat submitted high-fat diet. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(2).
- Bekhit, A.E.D.A., Cheng, V.J., McConnell, M., Zhao, J.H., Sedcole, R., Harrison, R. (2011). Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape skin tea infusion. *Food Chemistry*, 129(3), 837-845.
- Berardi, V., Ricci, F., Castelli, M., Galati, G., Risuleo, G. (2009). Resveratrol exhibits a strong cytotoxic activity in cultured cells and has an antiviral action against polyomavirus: potential clinical use. *Journal of Experimental Clinical Cancer Research*, 28(1), 1-7.
- Bowers, J.L., Tyulmenkov, V.V., Jernigan, S.C., Klinge, C.M. (2000). Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology*, 141(10), 3657-3667.
- Brown, J.C., Huang, G., Haley-Zitlin, V., Jiang, X. (2009). Antibacterial effects of grape extracts on *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(3), 848-852.
- Brown, J.C., Jiang, X.P. (2013). Activities of muscadine grape skin and polyphenolic constituents against *Helicobacter pylori*. *Journal of Applied Microbiology*, 114(4), 982-991.
- Bruno, G., Sparapano, L. (2007). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4-6), 210-229.
- Buchner, I., Medeiros, N., Lacerda, D.D.S., Normann, C.A., Gemelli, T., Rigon, P., Funchal, C. (2014). Hepatoprotective and antioxidant potential of organic and conventional grape juices in rats fed a high-fat diet. *Antioxidants*, 3(2), 323-338.
- Burin, V.M., Ferreira-Lima, N.E., Panceri, C.P., Bordignon-Luiz, M.T. (2014). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: evaluation of different extraction methods. *Microchemical Journal*, 114, 155-163.
- Cao, A.H., Wang, J., Gao, H.Q., Zhang, P., Qiu, J. (2015). Beneficial clinical effects of grape seed proanthocyanidin extract on the progression of carotid atherosclerotic plaques. *Journal of Geriatric Cardiology*, 12(4), 417.
- Carpene, C., Gomez-Zorita, S., Deleruyelle, S., Carpene, M.A. (2015). Novel strategies for preventing diabetes and obesity complications with natural polyphenols. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 150-164.
- Çaylak, B.A., Yücel, U., Çetinkaya, N. (2009). Farklı bölgelerin üzümlelerinden üretilen Türk şaraplarında resveratrol düzeyleri. *GIDA The Journal of Food*, 34(6).
- Cetin, A., Kaynar, L., Koçyiğit, I., Hacıoğlu, S.K., Saraymen, R., Oztürk, A., Sağdıç, O. (2008). The effect of grape seed extract on radiation-induced oxidative stress in the rat liver. *The Turkish Journal of Gastroenterology: The Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 19(2), 92-98.
- Chaplin, A., Carpené, C., Mercader, J. (2018). Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutrients*, 10(11), 1651.
- Chartier, L.C., Howarth, G.S., Trinder, D., Mashtoub, S. (2020). Emu oil and grape seed extract reduce tumour burden and disease parameters in murine colitis-associated colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 1, 31
- Chen, C., Liu, C., Zhang, J., Yang, Q., Teng, F. (2009). Grape seed extract inhibit proliferation of breast cancer cell MCF-7 and decrease the gene expression of survivin. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 34(4), 433-437.



- Choi, C.W., Choi, Y.H., Cha, M.R., Kim, Y.S., Yon, G.H., Hong, K.S., Ryu, S.Y. (2011). In vitro BACE-1 inhibitory activity of resveratrol oligomers from the seed extract of *Paeonia lactiflora*. *Planta medica*, 77(04), 374-376.
- Dani, C., Oliboni, L.S., Pra, D., Bonatto, D., Santos, C.E.I., Yoneama, M.L., Henriques, J.A.P. (2012). Mineral content is related to antioxidant and antimutagenic properties of grape juice. *Genetics and Molecular Research*, 11(3), 3154-3163.
- Dani, C., Oliboni, L.S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., Henriques, J.A.P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically-or conventionally-produced grapes. *Food and Chemical Toxicology*, 45(12), 2574-2580.
- de la Cerda-Carrasco, A., López-Solís, R., Nuñez-Kalasic, H., Peña-Neira, Á., Obreque-Slier, E. (2015). Phenolic composition and antioxidant capacity of pomaces from four grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(7), 1521-1527.
- De Moura, C.F.G., Ribeiro, F.A.P., Handan, B.A., Aguiar, O., Oshima, C.T.F., Ribeiro, D.A. (2016). Grape juice concentrate protects rat liver against cadmium intoxication: histopathology, cytochrome C and metalloproteinases expression. *Drug Research*, 66(07), 339-344.
- Del Pino-García, R., Rivero-Pérez, M.D., González-SanJosé, M.L., Croft, K.D., Muñiz, P. (2017). Antihypertensive and antioxidant effects of supplementation with red wine pomace in spontaneously hypertensive rats. *Food Function*, 8(7), 2444-2454.
- Dinicola, S., Cucina, A., Pasqualato, A., D'Anselmi, F., Proietti, S., Lisi, E., Bizzarri, M. (2012). Antiproliferative and apoptotic effects triggered by grape seed extract (GSE) versus epigallocatechin and procyanidins on colon cancer cell lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 651-664.
- Dohadwala, M.M., Hamburg, N.M., Holbrook, M., Kim, B.H., Duess, M.A., Levit, A., Frame, A.A. (2010). Effects of Concord grape juice on ambulatory blood pressure in prehypertension and stage 1 hypertension. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 92(5), 1052-1059.
- Dohadwala, M.M., Vita, J.A. (2009). Grapes and cardiovascular disease. *The Journal of Nutrition*, 139(9), 1788S-1793S.
- El-Mashharawi, H.Q., Abu-Naser, S.S., Alshawwa, I.A., Elkahlout, M. (2020). Grape type classification using deep learning. *International Journal of Academic Engineering Research*, 3(12), 41-45.
- FAO (2020). Food and Agriculture Organization, Grape 1988-2018 Report. Access Date: 07.07.2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#search/Grapefruit%20and%20products>
- Farias, M., Wohlenberg, L.K., Gonçalves, T.K., Schaffer, D.K., Hilger, R.D., Braccini Neto, C., Dani, C. (2015). Effect of grape juice on some biochemical and oxidative stress parameters in serum and liver enzymes of pregnant and lactating rats. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 3(4), 37-46.
- Fraternale, D., Ricci, D., Verardo, G., Gorassini, A., Stocchi, V., Sestili, P. (2015). Activity of *Vitis vinifera* tendrils extract against phytopathogenic fungi. *Natural product communications*, 10(6), 1934578X1501000661.
- Fu, J., Jin, J., Cichewicz, R.H., Hageman, S.A., Ellis, T.K., Xiang, L., Peng, Q., Jiang, M., Arbez, N., Hotaling, K., Ross, C.A., Duan, W. (2012). trans-(−)-ε-Viniferin increases mitochondrial sirtuin 3 (SIRT3), activates AMP-activated protein kinase (AMPK), and protects cells in models of Huntington Disease. *Journal of Biological Chemistry*, 287(29), 24460-24472.
- Garrido, J., Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols-A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844-1858.
- Gerhäuser, C., Frank, N. (2003). New promising chemopreventive agents and mechanisms. In *Mechanisms in Carcinogenesis and Cancer Prevention*, Springer, Berlin, Heidelberg, 289-305 pp.
- González-Barrio, R., Beltrán, D., Cantos, E., Gil, M.I., Espin, J.C., Tomás-Barberán, F.A. (2006). Comparison of ozone and UV-C treatments on the postharvest stilbenoid monomer, dimer, and trimer induction in var. 'Superior' white table grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4222-4228.
- Ha, D.T., Kim, H., Thuong, P.T., Ngoc, T.M., Lee, I., Hung, N.D., Bae, K. (2009). Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity of oligostilbenes from the leaf and stem of *Vitis amurensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2), 304-309.
- Haghighatdoost, F., Gholami, A., Hariri, M. (2020). Effect of grape polyphenols on selected inflammatory mediators: A systematic review and meta-analysis randomized clinical trials. *EXCLI Journal*, 19, 251.
- Han, D.H., Lee, M.J., Kim, J.H. (2006). Antioxidant and apoptosis-inducing activities of ellagic acid. *Anticancer Research*, 26.5A, 3601-3606.
- Han, H.J., Jung, U.J., Kim, H.J., Cho, S.J., Kim, A.H., Han, Y., Choi, M.S. (2016). Combined supplementation with grape pomace and omija fruit ethanol extracts dose-dependently improves body composition, plasma lipid profiles, inflammatory status, and antioxidant capacity in overweight and obese subjects. *Journal of Medicinal Food*, 19(2), 170-180.
- Hollis, J.H., Houchins, J.A., Blumberg, J.B., Mattes, R.D. (2009). Effects of concord grape juice on appetite, diet, body weight, lipid profile, and antioxidant

- status of adults. *Journal of The American College of Nutrition*, 28(5), 574-582.
- Hosseinzadeh, F., Salehi, M., Tanideh, N., Mehrabani, D., Sayarifard, A., Sedighi, A. (2017). The Healing effect of grape seed oil enema with or without sesame oil in acetic acid induced ulcerative colitis of rats. *World Journal of Plastic Surgery*, 6(2), 176.
- Houillé, B., Papon, N., Boudesocque, L., Bourdeaud, E., Besseau, S., Courdavault, V., Clastre, M. (2014). Antifungal activity of resveratrol derivatives against *Candida* species. *Journal of natural products*, 77(7), 1658-1662.
- Jiménez, J.P., Serrano, J., Tabernero, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M.E., García-Diz, L., Saura-Calixto, F. (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*, 24(7-8), 646-653.
- Kang, I., Espín, J.C., Carr, T.P., Tomás-Barberán, F.A., Chung, S. (2016). Raspberry seed flour attenuates high-sucrose diet-mediated hepatic stress and adipose tissue inflammation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 32, 64-72.
- Kar, P., Laight, D., Rooprai, H.K., Shaw, K.M., Cummings, M. (2009). Effects of grape seed extract in Type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: a double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers, vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity. *Diabetic Medicine*, 26(5), 526-531.
- Karthikeyan, M.G., Lavanya, M.V., Dharani, M.N., Nagulan, M.T. (2020). Grapes (*Vitis vitaceae*)-potent medicinal fruit serves as a source of antioxidants and antibacterial agent. *International Journal of Current Science Research and Review*, 3, 1-12.
- Kaur, M., Velmurugan, B., Rajamanickam, S., Agarwal, R., Agarwal, C. (2009). Gallic acid, an active constituent of grape seed extract, exhibits anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-tumorigenic effects against prostate carcinoma xenograft growth in nude mice. *Pharmaceutical Research*, 26(9), 2133-2140.
- Kim, T.J., Silva, J.L., Jung, Y.S. (2009). Antibacterial activity of fresh and processed red muscadine juice and the role of their polar compounds on *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 533-539.
- Kitada, M., Kume, S., Imaizumi, N., Koya, D. (2011). Resveratrol improves oxidative stress and protects against diabetic nephropathy through normalization of Mn-SOD dysfunction in AMPK/SIRT1-independent pathway. *Diabetes*, 60(2), 634-643.
- Kong, B., Wang, X., He, B., Wei, L., Zhu, J., Jin, Y., Fu, Z. (2019). 8: 2 fluorotelomer alcohol inhibited proliferation and disturbed the expression of pro-inflammatory cytokines and antigen-presenting genes in murine macrophages. *Chemosphere*, 219, 1052-1060.
- Kountouri, A.M., Gioxari, A., Karvela, E., Kaliora, A.C., Karvelas, M., Karathanos, V.T. (2013). Chemopreventive properties of raisins originating from Greece in colon cancer cells. *Food Function*, 4(3), 366-372.
- Lan, C.Z., Ding, L., Su, Y.L., Guo, K., Wang, L., Kan, H.W., Gao, S. (2015). Grape seed proanthocyanidins prevent DOCA-salt hypertension-induced renal injury and its mechanisms in rats. *Food Function*, 6(7), 2179-2186.
- Lee, J. (2004). Hydrolytic and antioxidant properties of ellagic acid and its precursors present in muscadine grape. Gainesville (FL): University of Florida. Doctoral thesis, 92 pp.
- Leone, A., Longo, C., Gerardi, C., Trosko, J.E. (2019). Pro-apoptotic effect of grape seed extract on MCF-7 involves transient increase of gap junction intercellular communication and Cx43 up-regulation: A mechanism of chemoprevention. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(13), 3244.
- Liu, Z., Song, Y., Zhang, X., Liu, Z., Zhang, W., Mao, W., Li, N. (2005). Effects of trans-resveratrol on hypertension-induced cardiac hypertrophy using the partially nephrectomized rat model. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32(12), 1049-1054.
- Losso, J.N., Bansode, R.R., Trappey II, A., Bawadi, H.A., Truax, R. (2004). In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(11), 672-678.
- Lu, Z., Nie, G., Belton, P.S., Tang, H., Zhao, B. (2006). Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48(4), 263-274.
- Maleki, S.J., Crespo, J.F., Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 299, 125124.
- Martínez-Maqueda, D., Zapatera, B., Gallego-Narbón, A., Vaquero, M.P., Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J. (2018). A 6-week supplementation with grape pomace to subjects at cardiometabolic risk ameliorates insulin sensitivity, without affecting other metabolic syndrome markers. *Food Function*, 9(11), 6010-6019.
- Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 645-650.
- Mellen, P.B., Daniel, K.R., Brosnihan, K.B., Hansen, K.J., Herrington, D.M. (2010). Effect of muscadine grape seed supplementation on vascular function in subjects with or at risk for cardiovascular disease:

- a randomized crossover trial. *Journal of the American College of Nutrition*, 29(5), 469-475.
- Meng, J., Fang, Y., Zhang, A., Chen, S., Xu, T., Ren, Z., Wang, H. (2011). Phenolic content and antioxidant capacity of Chinese raisins produced in Xinjiang Province. *Food Research International*, 44(9), 2830-2836.
- Miletić, N., Popović, B., Mitrović, O., Kandić, M., Leposavić, A. (2014). Phenolic compounds and antioxidant capacity of dried and candied fruits commonly consumed in Serbia. *Czech Journal of Food Sciences*, 32, 360-398.
- Millar, C.L., Duclos, Q., Garcia, C., Norris, G.H., Lemos, B.S., DiMarco, D.M., Blesso, C.N. (2018). Effects of freeze-dried grape powder on high-density lipoprotein function in adults with metabolic syndrome: a randomized controlled pilot study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 16(9), 464-469.
- Morel-Salmi, C., Julia, A., Vigor, C., Vercauteren, J. (2014). A huge PVDF adsorption difference between resveratrol and  $\epsilon$ -viniferin allows to quantitatively purify them and to assess their anti-tyrosinase property. *Chromatographia*, 77(13-14), 957-961.
- Oshima, Y., Namao, K., Kamijou, A., Matsuo, S., Nakano, M., Terao, K., Ohizumi, Y. (1995). Powerful hepatoprotective and hepatotoxic plant oligostilbenes, isolated from the oriental medicinal plant *Vitis coignetiae* (Vitaceae). *Experientia*, 51(1), 63-66.
- Papoutsis, Z., Kassi, E., Tsiapara, A., Fokialakis, N., Chrousos, G.P., Moutsatsou, P. (2005). Evaluation of estrogenic antiestrogenic activity of ellagic acid via the estrogen receptor subtypes ER $\alpha$  and ER $\beta$ . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7715-7720.
- Park, Y.K., Lee, S.H., Park, E., Kim, J.S., Kang, M.H. (2009). Changes in antioxidant status, blood pressure, and lymphocyte DNA damage from grape juice supplementation. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1171(1), 385.
- Pezet, R., Perret, C., Jean-Denis, J.B., Tabacchi, R., Gindro, K., Viret, O. (2003).  $\delta$ -Viniferin, a resveratrol dehydrodimer: one of the major stilbenes synthesized by stressed grapevine leaves. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5488-5492.
- Pirinçioğlu, M., Kızıl, G., Kızıl, M., Özdemir, G., Kanay, Z., Ketani, M.A. (2012). Protective effect of Öküzgözü (*Vitis vinifera* L. cv.) grape juice against carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Food Function*, 3(6), 668-673.
- Piver, B., Berthou, F., Dreano, Y., Lucas, D. (2003). Differential inhibition of human cytochrome P450 enzymes by  $\epsilon$ -viniferin, the dimer of resveratrol: comparison with resveratrol and polyphenols from alcoholized beverages. *Life sciences*, 73(9), 1199-1213.
- Preuss, H.G., Wallerstedt, D., Talpur, N., Tutuncuoglu, S.O., Echard, B., Myers, A., Bui, M., Bagchi, D. (2000). Effects of niacin-bound chromium and grape seed proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: a pilot study. *Journal of Medicine*, 31(5-6), 227-246.
- Reckziegel, P., Dias, V.T., Benvegnú, D.M., Bouffleur, N., Barcelos, R.C.S., Segat, H.J., Pase, C.S., dos Santos, C.M.M., Flores, E.M.M., Bürger, M.E. (2016). Antioxidant protection of gallic acid against toxicity induced by Pb in blood, liver and kidney of rats. *Toxicology Reports*, 3, 351-356.
- Richard, T., Poupard, P., Nassra, M., Papastamoulis, Y., Iglésias, M.L., Krisa, S., Waffo-Teguo, P., Mérillon, J.M., Monti, J.P. (2011). Protective effect of  $\epsilon$ -viniferin on  $\beta$ -amyloid peptide aggregation investigated by electrospray ionization mass spectrometry. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 19(10), 3152-3155.
- Sano, A., Uchida, R., Saito, M., Shioya, N., Komori, Y., Tho, Y., Hashizume, N. (2007). Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53(2), 174-182.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J.E., Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291-299.
- Shinagawa, F.B., Santana, F.C.D., Torres, L.R.O., Mancini-Filho, J. (2015). Grape seed oil: a potential functional food?. *Food Science and Technology*, 35(3), 399-406.
- Siasos, G., Tousoulis, D., Kokkou, E., Oikonomou, E., Kollia, M.E., Verveniotis, A., Gouliopoulos, N., Zisimos, K., Plastiras, A., Maniatis, K., Stefanadis, C. (2014). Favorable effects of concord grape juice on endothelial function and arterial stiffness in healthy smokers. *American Journal of Hypertension*, 27(1), 38-45.
- Sivaprakasapillai, B., Edirisinghe, I., Randolph, J., Steinberg, F., Kappagoda, T. (2009). Effect of grape seed extract on blood pressure in subjects with the metabolic syndrome. *Metabolism*, 58(12), 1743-1746.
- Taghizadeh, M., Malekian, E., Memarzadeh, M.R., Mohammadi, A.A., Asemi, Z. (2016). Grape seed extract supplementation and the effects on the biomarkers of oxidative stress and metabolic profiles in female volleyball players: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18(9), 1-9.
- Talcott, S.T., Lee, J.H. (2002). Ellagic acid and flavonoid antioxidant content of muscadine wine and juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3186-3192.

- Teissedre, P.L., Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Peleg, H., German, J.B. (1996). Inhibition of In vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(1), 55-61.
- Tome Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., García-Almagro, F.J., Avilés-Plaza, F., Parra, S., Espín, J.C. (2012). Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and Apo B in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: A triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial. *Molecular nutrition food research*, 56(5), 810-821.
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M.J., García-Almagro, F.J., Ruiz-Ros, J.A., Espín, J.C. (2013). Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: a triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 27(1), 37-48.
- Tošović, J., Bren, U. (2020). Antioxidative action of ellagic acid—a kinetic DFT study. *Antioxidants*, 9(7), 587.
- Urquiaga, I., D'Acuña, S., Pérez, D., Dicenta, S., Echeverría, G., Rigotti, A., Leighton, F. (2015). Wine grape pomace flour improves blood pressure, fasting glucose and protein damage in humans: A randomized controlled trial. *Biological Research*, 48(1), 49.
- Vaisman, N., Niv, E. (2015). Daily consumption of red grape cell powder in a dietary dose improves cardiovascular parameters: A double blind, placebo-controlled, randomized study. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(3), 342-349.
- Vigna, G.B., Costantini, F., Aldini, G., Carini, M., Catapano, A., Schena, F., Mezzetti, A. (2003). Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers. *Metabolism*, 52(10), 1250-1257.
- Vitrac, X., Bornet, A., Vanderlinde, R., Valls, J., Richard, T., Delaunay, J.C., Teissédre, P.L. (2005). Determination of stilbenes ( $\delta$ -viniferin, trans-astringin, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol,  $\epsilon$ -viniferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5664-5669.
- Walle, T. (2011). Bioavailability of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215(1), 9-15.
- Wang, L., Huang, W., Zhan, J. (2019). Grape seed proanthocyanidins induce autophagy and modulate survivin in HepG2 cells and inhibit xenograft tumor growth *in vivo*. *Nutrients*, 11(12), 2983.
- Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R., Bapat, P., Kwun I., Shen, C.L. (2014). Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(1), 1-18.
- Wang, X., Tong, H., Chen, F., Gangemi, J.D. (2010). Chemical characterization and antioxidant evaluation of muscadine grape pomace extract. *Food Chemistry*, 123(4), 1156-1162.
- Wei, X., Wang, D., Yang, Y., Xia, M., Li, D., Li, G., Ling, W. (2011). Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside improves obesity and triglyceride metabolism in KK-Ay mice by regulating lipoprotein lipase activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6), 1006-1013.
- Xia, N., Daiber, A., Habermeier, A., Closs, E.I., Thum, T., Spanier, G., Münzel, T. (2010). Resveratrol reverses endothelial nitric-oxide synthase uncoupling in apolipoprotein E knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(1), 149-154.
- Xu, Y.M., Deng, J.Z., Ma, J., Chen, S.N., Marshall, R., Jones, S.H., Johnson, R.K., Hecht, S.M. (2003). DNA damaging activity of ellagic acid derivatives. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 11(7), 1593-1596.
- Xue, Y.Q., Di, J.M., Luo, Y., Cheng, K.J., Wei, X., Shi, Z. (2014). Resveratrol oligomers for the prevention and treatment of cancers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-9.
- Yadav, M., Jain, S., Bhardwaj, A., Nagpal, R., Puniya, M., Tomar, R., Yadav, H. (2009). Biological and medicinal properties of grapes and their bioactive constituents: an update. *Journal of medicinal food*, 12(3), 473-484.
- Yubero, N., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Villanueva, S., Carrion, J.M., Larrarte, E., Moro, C. (2013). LDL cholesterol-lowering effects of grape extract used as a dietary supplement on healthy volunteers. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(4), 400-406.
- Zaidi, S.F.H., Ahmed, K., Yamamoto, T., Kondo, T., Usmanhany, K., Kadowaki, M., Sugiyama, T. (2009). Effect of resveratrol on *Helicobacter pylori*-induced interleukin-8 secretion, reactive oxygen species generation and morphological changes in human gastric epithelial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(11), 1931-1935.
- Zern, T.L., Fernandez, M.L. (2005). Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 135(10), 2291-2294.
- Zern, T.L., Wood, R.J., Greene, C., West, K.L., Liu, Y., Aggarwal, D., Fernandez, M.L. (2005). Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *The Journal of Nutrition*, 135(8), 1911-1917.

- Zghonda, N., Yoshida, S., Araki, M., Kusunoki, M., Mliki, A., Ghorbel, A., Miyazaki, H. (2011). Greater effectiveness of  $\epsilon$ -viniferin in red wine than its monomer resveratrol for inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(7), 1259-1267.
- Zou, J., Chassaing, B., Singh, V., Pellizzon, M., Ricci, M., Fythe, M.D., Kumar, M.V., Gewirtz, A.T. (2018). Fiber-mediated nourishment of gut microbiota protects against diet-induced obesity by restoring IL-22-mediated colonic health. *Cell Host Microbe*, 23(1), 41-53.
- Zunino, S.J., Peerson, J.M., Freytag, T.L., Breksa, A.P., Bonnel, E.L., Woodhouse, L.R., Storms, D.H. (2014). Dietary grape powder increases IL-1 $\beta$  and IL-6 production by lipopolysaccharide-activated monocytes and reduces plasma concentrations of large LDL and large LDL-cholesterol particles in obese humans. *British Journal of Nutrition*, 112(3), 369-380.

## Evaluation of Ship Profiles in Istanbul Port Region with Two-Stage Clustering Analysis

Fırat Bolat <sup>1\*</sup> 

**Abstract:** The increase in industrial production and thus world trade has also increased the significance of the maritime sector further. Ports are of strategic importance as trade points in this sector. Strategies for reducing maritime transport costs and waiting-periods for the ships in ports cause increased competition between ports. Clustering theory focuses on the industries of certain regions defined as industrial zones. Most of the research on the maritime industry focuses primarily on its structure and economic impacts on national economies, without providing detailed information on particular economic and technological activities at the regional level. However, successful clusters are seen as means for regional and national growth. In this context, a two-stage clustering analysis was conducted, considering the different characteristics of the ship profiles that visited the area covering three administrative ports (Ambarlı, Tuzla, İstanbul) of the Istanbul Port Region. The clustering was made according to the type and flags of the ships that visited Istanbul Port Region, the ports they visited and the length of stay in the ports they visited. The clustering characteristics of the Istanbul Port Region were extracted with regard to the ship profiles.

**Keywords:** Clustering Analysis, Maritime, Transportation, Istanbul Port Region

---

<sup>1</sup>**Address:** Istanbul Technical University, Maritime Faculty, Department of Marine Engineering, Istanbul, Turkey

**\*Corresponding author:** bolatf@itu.edu.tr

**Citation:** Bolat, F. (2020). Evaluation of Ship Profiles in Istanbul Port Region with Two-Stage Clustering Analysis. Bilge International Journal of Science and Technology Research, 4 (Special Issue): 33-39.

---

### 1. INTRODUCTION

Clustering is a technique that is used to capture the similarities and differences between homogenous groups of individuals (Saneinejad and Roorda, 2009), institutions, organizations etc. with regard to different characteristics of those groups. The goal of clustering is to group data points that are close (or similar) to each other and identify such groups in an unsupervised manner (Jain et al., 2019).

In economics, on the other hand, clustering theory focuses on the industries of certain regions, which are defined as industrial zones. The theory states that industries concentrating at specific regions create numerous advantages such as less competition and greater profits. The constant presence of an unchanging customer base guarantees their business and a stable income, and the constant presence of suppliers also means low cost for companies (Guadalupe Arredondo-Hidalgo and Guadalupe Covarrubias Gardia, 2019).

In other words, in the last two decades, cluster theory has been defined and adopted as a means to understand better the economic activities in service and knowledge-based regional economies. Clustering generates efficiency, reflects innovation capabilities, and involves the transmission of new business information. This is one of the most important reasons for the tendency of industries to maintain a cluster-like style. The concept of the industrial cluster played an active role in the economy and defined it as a decisive feature in formulating business strategies and industrial policies (Zhang and Lam, 2013).

There are three reasons for cluster development. First, companies or organizations operate at a higher efficiency level. This means that companies or institutions in clusters react more quickly because they are isolated. Second, companies or institutions that work closely with customers or other firms in the clusters create more ideas and put an intense pressure on innovation. They can reach higher levels of innovation because the cluster environment reduces the cost of testing. Third, the level of start-up tends to be higher

in clusters and relies more on external suppliers and business partners. The above conditions will reduce the risk of failure as entrepreneurs can rely on local employment opportunities in other companies in the same field (Chang, 2011).

The increase in industrial production and thus world trade has also increased the significance of the maritime sector further. Ports are of strategic importance as trade points in this sector. Strategies for reducing maritime transport costs and waiting-periods for the ships in ports cause increased competition between ports.

Most of the research on the maritime industry focuses primarily on its structure and economic impacts on national economies, without providing detailed information on particular economic and technological activities at the regional level. However, successful clusters are seen as means for regional and national growth. This study investigates the nature of the impact of ship profiles in Istanbul maritime industry and determines the extent, to which these impacts vary according to ports, ship types, flags, ports density and location within a cluster.

Regarding the economic development of the regions, it is observed that there is a close connection between the intensity of the port activity and the economic development of the region in the Marmara Region. In this respect, Izmit Bay and Istanbul ports are the main regions that make up Marmara ports with their industrial facilities. Istanbul Port Area is comprised of Tuzla, Ambarlı, Silivri, Istanbul and Sile ports. When the data obtained from the Istanbul Port Authority is analyzed, it is seen that the ports that make the most commercial contribution to the country are Ambarlı, Tuzla and Istanbul (URL-1).

In this context, a two-stage clustering analysis was carried out considering the different characteristics of the ship profiles that visited the area covering these three ports (Ambarlı, Tuzla, İstanbul) of Istanbul Port Region. In the analysis, clustering was made with regard to the type and flags of the ships that visited Istanbul Port Region, the ports they visited, and the length of stay in the ports they visited. The clustering characteristics of Istanbul Port Region were extracted according to the ship profiles.

## 2. MATERIAL AND METHOD

The main purpose of this study is to examine the various characteristics of the vessels found in the port area of Istanbul, and to categorize them into two groups via two-stage clustering analysis for evaluating the differences between the identified groups.

### 2.1. Data

It is aimed at clustering the data set used in the study with regard to the following features:

- Ports of call,
- Flags of the ships,
- Length of stay,
- Types of ships.

There were three different ports of call as Ambarlı, Tuzla and Istanbul ports in Istanbul Port Area. The flags of the ships stayed in the harbors were comprised of 29 different countries (Germany, Panama, Portugal, Singapore, Turkey,

etc.). The length of stay feature was handles on a day-to-day basis and was of the continuous data type. The types of ships under scrutiny were container / ro-ro, dry, and tanker.

Based on the measurements of the aforementioned features of the vessels stayed in Istanbul Port Area, 6638 separate cases were obtained from the Istanbul Port Authority. This data was first used to determine the frequency distributions for these four variables. As for the type of port, the Ambarlı port seems to be the port that provided more data (57.2%), followed by Tuzla (31.3%), and Istanbul port (18.9%). Figure 1 presents the flag dispersion as half of the ships (52.5%) carrying Turkish flag, and the other half is split to 28 different country flags (varying between 2% and 9%). When the length of stay feature is considered, it is seen that the vessels stayed in the harbor for an average of 1 to 3 days. When ship type is considered, container / ro-ro vessels ranked first in number (57.8%), dry cargo vessels following them with 31.3%, and tanker type vessels being the third (10.9%).

### 2.2. Analysis

After determining the frequency distribution of the aforementioned features, considering the data obtained from the Istanbul Port Authorities, the clustering analysis, in which the ships are grouped according to the relevant characteristics, was conducted. At this stage, a two-stage clustering analysis was used since the variables discussed in section 3.1 were comprised of categorical and continuous variables, since the study handled a large data set, and since the management could automatically determine the optimal number of clusters. In another study conducted by Ceylan et al. in 2017, the same method was implemented in banking sector and set an example for the analysis of this study (Ceylan et al., 2017).

In this study, the main purpose of using two-stage clustering analysis is to determine different groups by gathering the vessels visited Istanbul Port Region in the same cluster, regarding similar characteristics, and to reveal the significance of the variables for the groups. Thus, the port inspector is expected to have prior knowledge and insight, and to make strategic decisions about specific ships in each group by categorizing the ships arriving at the port area into different groups.

The summary result of the two-stage clustering analysis is shown in Figure 2. In the analysis, the clustering quality range was selected as -1 to +1 scale, and the results indicated that the clustering quality obtained is close to 1, therefore it is "good".

Figure 3 shows cluster distributions that occur regarding the variables. As is seen, the 6638 ships arriving in Istanbul Port Area were divided into two clusters. These two clusters are comprised of 2999 (45.2%) and 3639 (54.8%) ships, respectively. Only one of the voyages of the same ship in 2018 was included in the study and other frequencies were excluded from the data set in order to ensure homogeneity. IBM SPSS V.25 provides information about the significance of each variable on the cluster. In the software, variables with significance level 0.80 and above are considered to have a significant effect on the cluster.



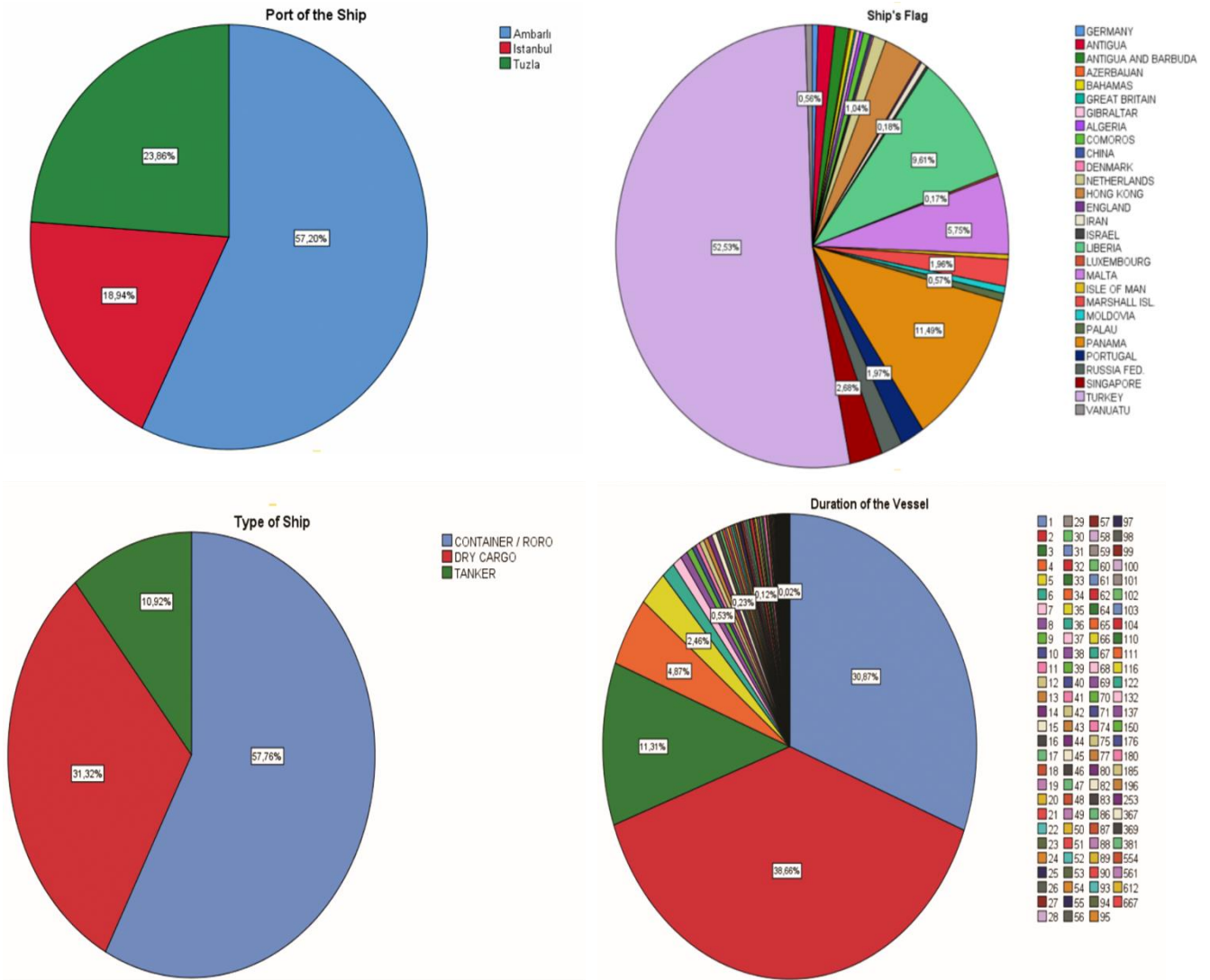


Figure 1. Frequency distributions of data

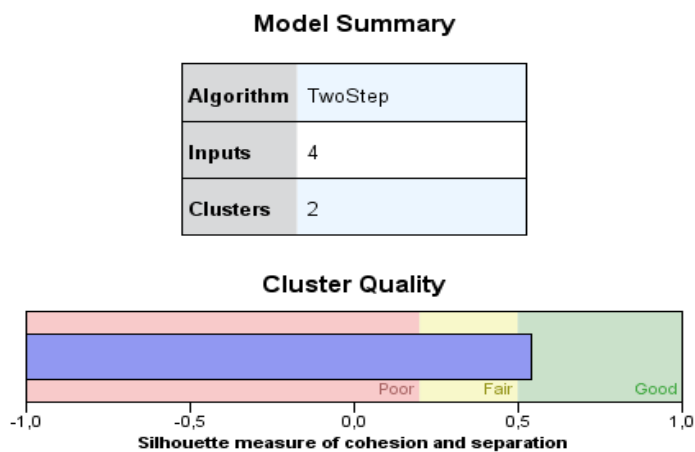


Figure 2. Frequency distributions of data



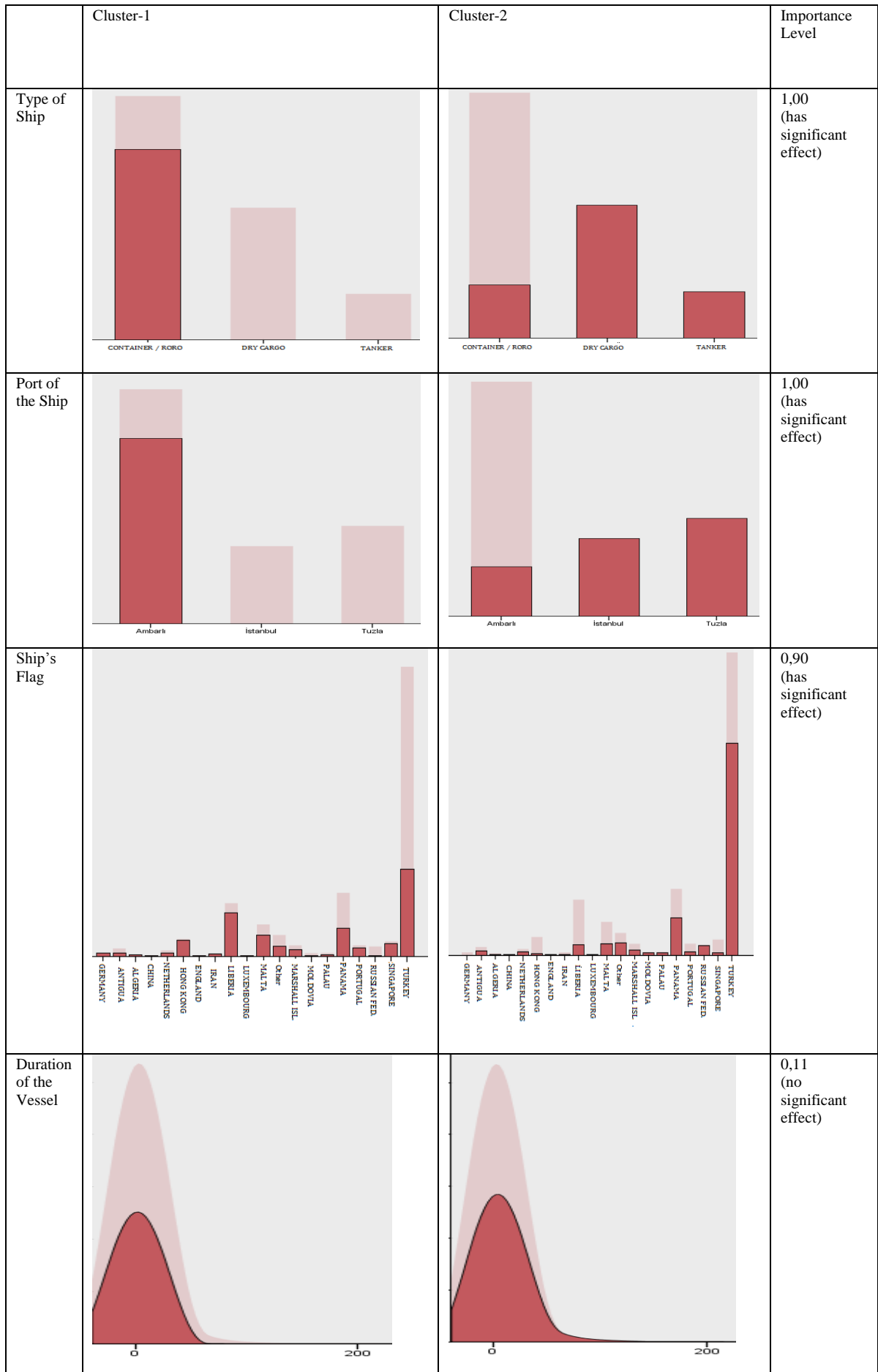
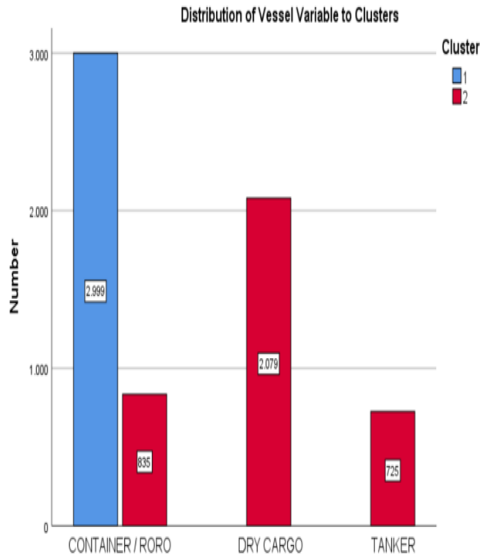


Figure 3. Clusters obtained by two-Stage clustering method

### 3. RESULTS

At this stage, the ship profiles in the two clusters obtained in the analysis are explained generally. The interpretation of the clusters will be based on the type of ships, their flags, the length of their stay in the port and port of call.

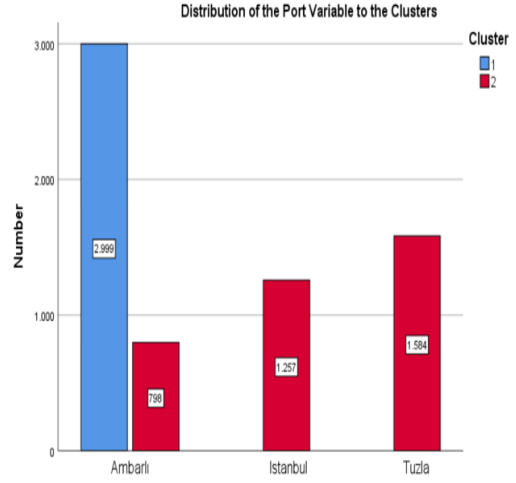
As shown in Figure 4, the type of the vessel was significant in both clusters. While the first cluster is comprised of 100% container / ro-ro vessels, the second cluster also includes dry cargo vessels (57.1%).



	Cluster 1	Cluster 2
Importance Level	1,00	1,00
Container/Roro	2999	835
Dry Cargo	0	2079
Tanker	0	725

**Figure 4.** Distribution of vessel variable to clusters

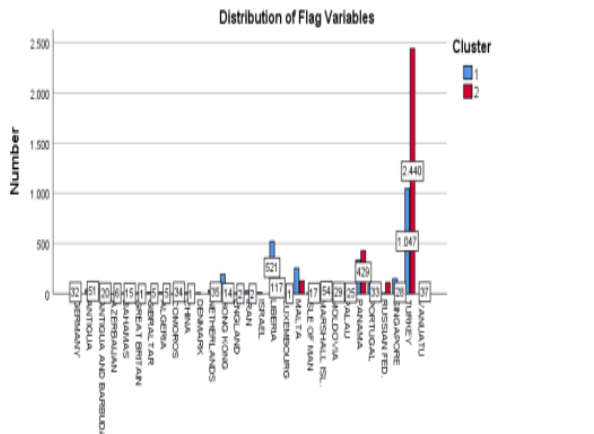
When the port variable in which ships stayed is considered, it is seen that it has a significant effect on both clusters as in Figure 5. The first cluster is only comprised of the vessels staying at the port of Ambarlı (100%), while the second cluster mainly consists of the vessels stayed at the port of Tuzla (43.5%).



	Cluster 1	Cluster 2
Importance Level	1,00	1,00
Ambarlı	2999	798
Istanbul	0	1257
Tuzla	0	1584

**Figure 5.** Distribution of the port variable to the clusters

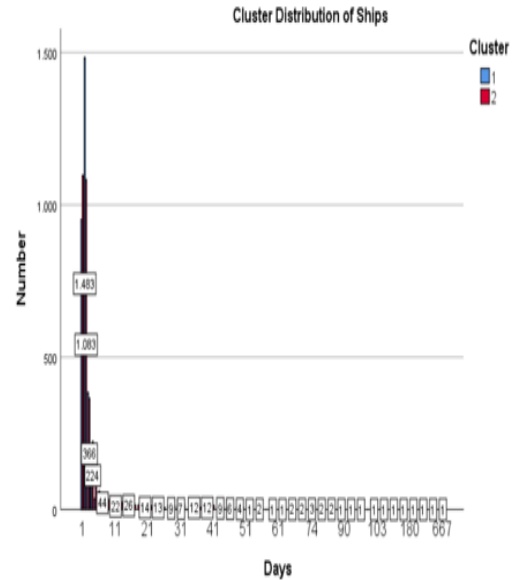
When the distribution of the flag variable in clusters is examined, it is understood that it has significant effect in both clusters as seen in Figure 6. In both clusters, Turkish flagged vessels are a majority with 34.9% and 67.1% respectively. This group is followed by Liberian flagged ships in the first cluster and Panama flagged ships in the second cluster. It is seen that other flagged vessels are less likely to visit Istanbul Port Area. Accordingly, Turkish flagged ships are seen as an important variable among the ships that visited the Istanbul Port Region.



	Cluster 1	Cluster 2
<b>Importance Level</b>	0,90	0,90
Germany	32	0
Antigua	41	51
Antigua and Barbuda	56	20
Azerbaijan	2	6
Bahamas	8	15
Great Britain	8	1
Gibraltar	15	5
Algeria	15	5
Comoros	3	34
China	10	1
Denmark	9	0
Netherlands	34	35
Hong Kong	194	14
England	8	2
Iran	29	2
Israel	12	0
Liberia	521	117
Luxembourg	10	1
Malta	254	128
Isle of Man	7	17
Marshall Isl.	76	54
Moldovia	6	29
Palau	13	25

Figure 6. Distribution of flag variables

When the length of stay of the vessels in various ports of Istanbul Port Area is examined as seen in Figure 7, it was found that the significance level of this variable in both clusters was around 0.11, and it did not have a significant effect on cluster distribution. Therefore, this variable was ignored during the final stage of cluster properties.



	Cluster 1	Cluster 2
<b>Importance Level</b>	0,11	0,11

Figure 7. Cluster distribution of ships

4. DISCUSSION AND CONCLUSIONS

In this study, the analysis of the ships in the ports in the Istanbul Port Area was carried out and a two-stage clustering analysis was conducted regarding the different characteristics of the ships in the ports. Cluster distributions were carried out according to the type of ships, flags, port of call and the length of stay in the ports. Accordingly, two clusters were formed and it was observed that the type, flag and the port variables of the vessels had significant effects on the clusters, while the length of stay in the ports did not have a significant effect on the clusters. Among the variables that affect the clusters significantly, the type and flag of the ship has the greatest importance level (1.00), while the port variable they stay in is the second regarding importance level (0.90). All variables are of equal importance for both sets.

The results of the analyses suggest that the first cluster was comprised of Container / Ro-ro type vessels that visited the port of Ambarlı, while the second group consisted of Turkish flagged, dry cargo type vessels that came to the port of Tuzla. According to the results obtained, the ships that came to Istanbul Port Area were categorized. The categorization indicated which type and which flagged vessels were visited the ports in Istanbul Port Area the most. For the entrepreneurs, who wish to invest in the port sector in Istanbul region, the ship profiles that make calls to this region constitute an important preliminary information for the investment.

Consequently, the commercially significant Istanbul Port Region is dominant with the characteristics specified for the two clusters, and the entrepreneurs who would invest will examine the empty spots based on these characteristics. In addition to the analysis conducted in this study, increasing market awareness, connection with R & D institutes, strategic cooperation operations and related maritime

activities should be considered as other aspects for multi-modal transport planning.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thank the responsible reviewers and editors for their constructive feedback.

## REFERENCES

Chang, Y. C. (2011). Maritime clusters: What can be learnt from the South West of England, *Ocean & Coastal Management*, Volume 54, Issue 6, Pages 488-494, ISSN 0964-5691,

<https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.03.005>.

Ceylan, Z., Gürsev, S., Bulkan, S. (2017). İki aşamalı kümeleme analizi ile bireysel emeklilik sektöründe müşteri profilinin değerlendirilmesi, *Bilişim Teknolojileri Dergisi*, Cilt: 10, Sayı: 4, Ekim, DOI: 10.17671/gazibtd.323951

Guadalupe Arredondo-Hidalgo, M. & Guadalupe Covarrubias Gardia, M. (2019). Automotive Cluster and Territorial Development: The Case of Bajío in Guanajuato Mexico, Paper presented in the 23rd Annual Western

Hemispheric Trade Conference, 3-5 April 2019, Texas A&M International University A. R. Sanchez, Jr. School of Business Center for the Study of Western Hemispheric Trade.

Jain, U., Singh, M., Rishiraj, Verma, R., Vijay, R. & Rastogi, R. (2019). Revision of PV2 based pedestrian crossing warrants in India using clustering techniques, *Transportation Letters*, 11:5, 241-249, DOI: 10.1080/19427867.2017.1415122.

Saneinejad, S. & Roorda, M. (2009). Application of sequence alignment methods in clustering and analysis of routine weekly activity schedules, *Transportation Letters*, 1:3, 197-211, DOI: 10.3328/TL.2009.01.03.197-211.

URL-1, İstanbul Liman Başkanlığı. <<http://www.istanbulliman.gov.tr/>>

Zhang, W. & Lam, J. S. L. (2013). Maritime cluster evolution based on symbiosis theory and Lotka–Volterra model, *Maritime Policy & Management*, 40:2, 161-176, DOI: 10.1080/03088839.2012.757375