



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİĞİ GELİŞTİRİLMİŞ YENİ
BİR NANO-BİYOMALZEMENİN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

AYŞEN KOLAN

Kimya Anabilim Dalı

Fiziksel Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU

II. Danışman

Doç. Dr. Zehra Tuba ŞİŞMANOĞLU

Şubat, 2015

İSTANBUL

Bu çalışma 16/02/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Fiziksel Kimya programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:



İmza

Unvan. Adı Soyadı Prof.Dr.Ayben Kilislioglu
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü



İmza

Jüri Unvan. Adı SOYADI
Prof.Dr.Bahire Filiz ŞENKAL
İstanbul Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakülte Kimya
Bölümü



İmza

Jüri Unvan. Adı SOYADI
Prof.Dr.Yeşim GÜRSEL
İstanbul Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakülte Kimya
Bölümü



İmza

Jüri Unvan. Adı SOYADI
Prof.Dr.Ayşe Zehra AROĞUZ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi Kimya
Bölümü

İmza

Jüri Unvan. Adı SOYADI
Doç.Dr.Gülin Selda Pozan SOYLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi Kimya
Mühendisliği



Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 21876 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora tez çalışmam boyunca değerli fikir ve tecrübeleri ile gerek teorik gerekse deneysel katkıları ile gösterdiği yakın ilgi, destek ve anlayışla bu çalışmamın yapılmasında büyük emeği bulunan Prof.Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU ve Doç. Dr. Tuba ŞİŞMANOĞLU' na;

Çalışmalarım boyunca desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, Arş. Gör.Dr. Selcan KARAKUŞ 'a,

Tüm eğitim, meslek ve özel yaşantım boyunca bana maddi ve manevi büyük destek olan sevgili eşim Nedim KOLAN ve aileme;

Bu çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma ve çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi' ne teşekkürü borç bilirim.

Şubat, 2015

Ayşen KOLAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ	vi
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. BİYOMALZEMELER.....	3
2.1.1. Biyomalzemelerin Tanımı	3
2.1.2. Biyomalzemelerin Hazırlanışı.....	3
2.1.3. Acacia Senegal (Gam arabik)	4
2.2. BİYOMALZEMELERİN KARAKTERİZASYONU	5
2.2.1. X-ışını Difraksiyonu (XRD) Analizi	5
2.2.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi	6
2.2.3. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)	10
2.2.4. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	10
2.3. BAKTERİLER	11
2.3.1. Bakterinin Tanımı	11
2.3.2. Bakterilerin Sınıflandırılması.....	13
2.3.3. Bakterilerin İsimlendirilmesi	13
2.3.4. Antibakteriyel Aktivite	14
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	16
3.1. DENEYİN YAPILIŞI	16
3.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	16
3.1.2.Sıfır Değerlikli Demir Çözeltisi	16
3.1.3. İnorganik ve Organik Faz Çözeltisi.....	16
3.1.4.Acacia Senegal /Fe-Silika Hazırlanması	17

3.2. KULLANILAN CİHAZ VE ALETLER	17
3.2.1. Örneklerin Karakterizasyonu	17
3.2.1.1. X-ışını Difraksiyonu (XRD) Analizi	17
3.2.1.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi.....	18
3.2.1.3. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	19
3.2.1.4. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS).....	20
3.2.1.5. Anti-bakteriyel Aktivitenin İncelenmesi	21
4. BULGULAR.....	22
4.1.X-IŞINI FOTOELEKTRON SPEKTROSKOPİSİ (XPS) ANALİZ SONUÇLARI	22
4.2. X-IŞINI DİFRAKSİYONU (XRD) ANALİZİ SONUÇLARI	23
4.3.TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPU(SEM) ANALİZİ SONUÇLARI	25
4.4. FTIR ANALİZLERİ	29
4.5. TERMOGRAVİMETRİK ANALİZİ (TGA) SONUÇLARI.....	32
4.6. ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE TESTİ SONUÇLARI.....	35
4.6.1. Antibakteriyel Özelliğin Zone İnhibisyon Testi.	35
4.6.2.Antibakteriyel Özelliğin Acaccia Senegal/Fe-Silika Miktarına Bağlı Değişimi.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	54
KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Gam arabik (Acacia Senegal) (GA) ve Zwitterionik (2S,4R)-4-hidroksipirolin (sol); (2R,4S)-4-hidroksipirolin (sağ).....	4
Şekil 2.2: XRD’de tabakalara gelen ve yansıyan ışınların şematik görünümü.	6
Şekil 2.3: Elektron demeti ve numune etkileşimi.....	8
Şekil 2.4: Taramalı Elektron Mikroskopunu oluşturan temel kısımlar.....	9
Şekil 2.5: <i>E.coli</i> ve <i>S.aureus</i> bakterilerinin boyalı SEM görüntüleri	12
Şekil 3.1: X-ışını difraksiyonu (XRD) analizinde kullanılan cihaz.....	18
Şekil 3.2: Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi	18
Şekil 3.3: Termogravimetrik Analiz (TGA) cihazı.....	20
Şekil 4.1: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait XPS spektrumu	22
Şekil 4.2: Acacia Senegal numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı	23
Şekil 4.3: Acacia Senegal/Silika numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı	24
Şekil 4.4: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı	24
Şekil 4.5: Acacia Senegal/Silikanın dağılımına ait SEM görüntüsü.....	25
Şekil 4.6: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait SEM görüntüsü(40000x)	26
Şekil 4.7: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesinde Fe nanotaneçiklere ait SEM görüntüsü (80000x)	27
Şekil 4.8: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesinde Fe nanotaneçiklere ait SEM görüntüsü (150000x)	28
Şekil 4.9: Acacia Senegal’e ait FTIR spektrumu.....	29
Şekil 4.10: Silikaya ait FTIR spektrumu.....	30
Şekil 4.11: Acacia Senegal/Fe-Silika örneğinin FTIR spektrumu.....	31

Şekil 4.12: Acacia Senegal biyopolimerinin termogravimetrik analizi	32
Şekil 4.13: Acacia Senegal/Silikanın termogravimetrik analizi	33
Şekil 4.14: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin termogravimetrik analizi.	34
Şekil 4.15: Acacia Senegal (A tüpü), Acacia Senegal/ Fe-Silika (B tüpü)	36
Şekil 4.16: Besiyerli Kültür Tüpü.....	37
Şekil 4.17: Endo besiyerinde <i>E.coli</i> bakteri kolonileri	38
Şekil 4.18: Çukulatamsı Agar besiyerinde <i>E.coli</i> bakteri koloniler.....	39
Şekil 4.19: Steril besiyeri Muller Hinton	40
Şekil 4.20: Acacia Senegalın çukolata besi yerinde üreyen <i>E. coli</i> 'ye ekim yapıldıktan sonra	41
Şekil 4.21: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin çukolata besiyerinde üreyen <i>E. coli</i> 'ye ekimi yapıldıktan sonra	42
Şekil 4.22: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin endo besiyerinde üreyen <i>E. coli</i> 'ye ekim yapımı	43
Şekil 4.23: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin Muller Hinton besiyerinde üreyen <i>E. coli</i> 'ye ekim yapıldıktan 72 saat sonra	44
Şekil 4.24: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin endo besiyerinde üreyen <i>E. coli</i> 'ye ekim yapıldıktan 72 saat sonra.....	45
Şekil 4.25: <i>S. aureus</i> bakteri kolonileri çukalatalı agar ortamı ve kanlı agar ortamı	46
Şekil 4.26: <i>S. aureus</i> bakteri kolonileri çukalatalı agar ortamı ve kanlı agar ortamında Acacia Senegal ve Acacia Senegal/Fe-Silika	47
Şekil 4.27: Çukalatalı agar ortamında üreyen <i>S. aureus</i> bakteri kolonilerine Acacia Senegal ekimden sonra	48
Şekil 4.28: Çukalatalı agar ortamında üreyen <i>S. aureus</i> bakteri kolonilerine Acacia Senegal /Fe- silika ekimi	49
Şekil 4.29: Acacia Senegal /Fe-Silika nano-biyo malzemesinin Muller Hinton besiyerinde üreyen <i>Staphylococcus aureus</i> bakteri kolonilerine ekimi yapıldıktan sonra.....	50
Şekil 4.30: Çukalatalı agar ortamında üreyen <i>S. aureus</i> bakteri kolonilerine Acacia Senegal /Fe-Silika ekimi yapıldıktan 72 saat sonra etkisi	51
Şekil 4.31: 0,01 gram Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin <i>E. coli</i> besiyerine ekim yapıldıktan 72 saat sonra.....	52
Şekil 4.32: 0,05 gram Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin <i>E. coli</i> besiyerine ekim yapıldıktan 72 saat sonra.....	52

Şekil 4.33: 0,01 gram Acacia Senegal /Fe-Silika <i>S. aureus</i> besiyerine ekimi yapıldıktan 72 saat sonra	53
Şekil 4.34: 0,05 gram Acacia Senegal /Fe-Silika <i>S. aureus</i> besiyerine ekimi yapıldıktan 72 saat sonra	53
Şekil 5.1: Silika, Fe ve Acacia Senegal arasındaki olası etkileşim.....	56
Şekil 5.2: Acacia Senegal/Fe-Silika ile bakteri arasındaki olası etkileşim	59

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
XRD	: X-ray Diffraction/X-ışını Difraksiyonu
XPS veya (ESCA)	: X-ray photoelectron spectroscopy /X-ışını fotoelektron spektroskopisi
FTIR	: Fourier transform infrared spectroscopy/ Fourier infrared spektroskopisi
TGA	: Thermogravimetric Analysis /Termogravimetrik Analiz
SEM	: Scanning Electron Microscopy /Taramalı Elektron Mikroskopisi
GA	: Gum arabic/Acacia senegal
AGP	: Arabinogalactan protein
A maddesi	: Acacia Senegal
B maddesi	: Acacia Senegal / Fe-Silika
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>S.aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
EMB	: Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose/Eosin methilen-mavi laktoz sakaroz

ÖZET

DOKTORA TEZİ ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİĞİ GELİŞTİRİLMİŞ YENİ BİR NANO-BİYOMALZEMENİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Ayşen KOLAN

İstanbul Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman
Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU

II.Danışman
Doç.Dr. Zehra Tuba ŞİŞMANOĞLU

Biyomedikal teknolojide, antimikrobiyal özelliği ve biyoyumluluğu artırılmış yeni malzemeler ile ilgili yapılan araştırmalar, artarak önem kazanmaktadır. Malzemelerin özelliklerini geliştirmede organik yapıya katılan az miktardaki inorganik maddenin, nano dispersiyonunun sağlanması büyük önem taşımaktadır. Yeni malzemenin gelişmiş özellikler gösterebilmesinde, inorganik fazın nano dispersiyonunun sağlanmasının yanında, nano yapıların aydınlatılması da gerekmektedir. Acacia Senegalın yapısına az miktarda inorganik katkı eklenerek, bazı özellikleri önemli derecede geliştirilebilmektedir. Bu çalışmada, demir bağlanmış Silika ve Acacia Senegal kullanılarak hazırlanan, nano-biyomalzemenin, anti-bakteriyel özelliği, yüzey bileşimi ve yapısı analiz edildi. Başlangıçta, hazırlanan Acacia Senegal / Fe-Silika X-ışını Difraksiyonu (XRD), X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ve Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM), Fourier İnfrared Spektroskopisi (FTIR) ve Termogravimetrik Analiz (TGA) kullanılarak karakterize edildi. Bu projenin ikinci kısmında, yeni malzemenin anti-bakteriyel özelliği analiz edildi. Antibakteriyel özelliği artırılmış Acacia Senegal / Fe-Silika nanokompozitinin, yoğun bakım üniteleri ve hastanelerin ameliyathaneleri gibi steril olması gereken ortamlar için faydalı bir malzeme olması beklenmektedir.

Şubat, 2015, 80

Anahtar kelimeler: nano-biyomalzeme, acacia senegal, silika, sıfır değerlikli demir, SEM

SUMMARY

Ph.D THESIS

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF IMPROVED ANTIBACTERIAL PROPERTY OF A NOVEL NANO-BIOMATERIAL

Ayşen KOLAN

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU

Co-Supervisor: Doç. Dr. Zehra Tuba ŞİŞMANOĞLU

In biomedical technology, research on producing new materials with enhanced features such as biocompatibility and antimicrobial properties has gained increasing significance. Stronger properties can be obtained by adding small amount of inorganic nano filler to organic matrix. To achieve improved properties in the new material, nanodispersion of the inorganic phase is very important. Adding a small amount of inorganic additive to the structure of acacia senegal, can improve its antimicrobial properties. Initially, Acacia Senegal / Fe-Silica nanocomposite, was prepared and characterized by X-ray Diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy XPS and Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and Thermogravimetric Analysis (TGA). In the second part of this project, surface characterization of the anti-bacterial activity of this new material was performed. Enhanced anti-bacterial properties of this Acacia Senegal / Fe-Silica nanocomposite are expected to be useful in cases where creation of a sterile environment is essential, such as intensive care units and hospital operating rooms.

February 2015, 80

Keywords: nano-biomaterial, acacia senegal, silica, zero valent iron, SEM

1. GİRİŞ

Yüksek teknolojide, gelişmiş özelliklere sahip yeni malzemelere duyulan ihtiyaç, gün geçtikçe artmaktadır. Malzemenin yapısında nano boyutta değişiklikler yaparak, gelişmiş özellikler elde etmek mümkün olabilmektedir. Bu özelliklerin başında, biyo uyumluluk, antibakteriyel aktivite, mekanik ve termal özellikler sayılabilir.

Yapılan araştırmalarda, bu amaçla organik yapıya inorganik dolgu maddesi katılır ve nano dispersiyonu sağlanır. Böylece elde edilen malzeme, nano-biyomalzeme olarak adlandırılır. Yeni nano biyomalzemenin, çevre dostu ve düşük maliyetli olması açısından biyobozunabilir, toksik olmayan malzemelerden hazırlanması tercih edilir. Son yıllarda, doğal biyopolimerlerin yapısına bazı inorganik katkıların nano dispersiyonu sağlanarak, membran, bariyer, elektrik/elektronik, antibakteriyel gibi özelliklerdeki gelişmeler araştırılmıştır (Zhang ve diğ., 2009; Jayakumar ve diğ., 2005; Joerger 2007; Viswanathan ve Meenakshi, 2010; Huleihel ve diğ., 2009). Bunun yanında, nano-biyomalzemenin çeşitli özelliklerindeki artışı incelemek için dolgu maddesi olarak çoğunlukla kil mineralleri kullanılmıştır (Casariego ve diğ., 2009; Aranda ve diğ., 2006; Bhavesh ve diğ., 2011; Wang ve diğ., 2005; Jayakumar ve diğ., 2010; Huang ve diğ., 2005; Magaña ve diğ., 2008; Chivrac ve diğ., 2009; Chen ve diğ., 2007; Franchini ve diğ., 2009; Krekeler, 2009; Bilotti ve diğ., 2009). Kil mineralleri kullanılarak hazırlanan nano biyomalzemenin antibakterial aktivitesindeki değişim de bazı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır (Xiaoying ve diğ., 2009; Na ve diğ., 2009; Shan-hui ve diğ., 2012; Yang-Su ve diğ., 2010). Biyomedikal teknolojide, malzemelere dolgu maddesi olarak silika nano tanecikleri kullanılarak bazı fiziksel ve biyolojik özellikler araştırılmıştır (Akhilesh ve diğ., 2013) ancak antibakteriyel aktivite pek fazla çalışılmamıştır (Xuan ve diğ., 2010; Xi ve diğ., 2002; Schmitt ve Flemming, 1998). Antibakteriyel özelliğe sahip acacia senegal ile nanobiyokompozit hazırlama konusu çok fazla çalışılmamış olup (Singh ve Singh, 2011, Singh ve Ahmed, 2012); acacia senegal/silika nanobiyokompozitinin antibakteriyel özelliği ile ilgili yayınlanmış bir araştırma mevcut değildir.

Bu çalışmada, Acacia Senegal biyopolimerinin içerisine, silika katılarak, biyopolimer yapıda meydana gelen değişimler nano skalada tayin edilip değerlendirilmiştir.

Yeni biyopolimer Acacia Senegal/Silika ve Acacia Senegal/Silika'ya sıfır değerlikli demirin nano dağılımıyla hazırlanan yeni nano-biyokompozit malzemenin yapısını aydınlatmak için, XRD, XPS, SEM, FTIR ve TGA cihazları kullanılmıştır. Daha sonra da, hazırlanan yeni nano-biyomalzemenin anti-bakteriyel aktivitesi incelenmiştir.

Sonuç olarak, anti bakteriyel özelliği geliştirilmiş, Fe⁰ bağlanmış silika ve Acacia Senegal ile hazırlanan bu yeni nano-biyomalzemenin, sterilizasyonun önemli olan ortamlar için verimli bir katkı malzemesi olduğu söylenebilir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. BİYOMALZEMELER

2.1.1. Biyomalzemelerin Tanımı

Biyomalzemeler, canlı organizmalarda teşhis veya tedavi ve amaçlı organizma içi yada dışında kullanılmak üzere geliştirilmiş doğal ve sentetik tüm malzemelerdir. Doğal polimerler, biyomalzemelerin hazırlanmasında vazgeçilmez kaynaklardır. Biyolojik ortamdaki makromoleküllere çok benzerler. Toksik değildirler ve biyobozunabilirler. Biyobozunabilir polimerler, sentezlenme şekline bağlı olarak dört kategoride değerlendirilebilirler. Bunlar sırasıyla:

- Biyokütlelerden kaynaklı polimerler, bunlara örnek olarak, selüloz verilebilir.
- Mikrobiyal oluşuma bağlı elde edilen polimerler. Örneğin, polihidroksialkanoatlar.
- Agro-kaynaklardan elde edilen monomerler kullanılarak kimyasal olarak sentezlenen polimerler. Örneğin, poli(laktik asit)
- Monomer ve polimerleri fosil kaynaklardan kimyasal sentezle elde edilen polimerler.

2.1.2. Biyomalzemelerin Hazırlanışı

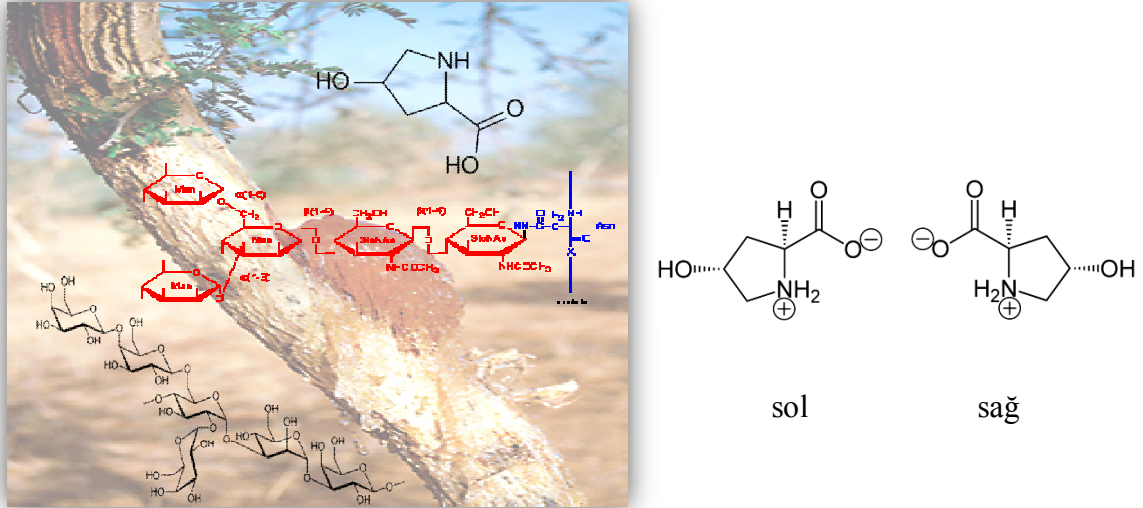
Toksik olmama ve biyobozunabilir olma gibi avantajlarından dolayı biyopolimerler, biyomalzemelerin hazırlanmasında sıklıkla tercih edilirler. Bu avantajlarının yanında kolay bozunmalarının, yüksek sıcaklığa ve pratik uygulamalar için dayanıksız olmaları biyomalzemeleri elverişsiz kılar. Bu nedenle bilim insanları, biyopolimerlerin yapısına nano boyutta inorganik dolgu malzemeleri katarak yapıyı güçlendirmeyi hedeflemişlerdir. Bu şekilde hazırlanan malzemelere, nano biyokompozitler de denir. Nano biyokompozitler hazırlanırken sıklıkla kil mineralleri kullanılır ve buna göre meydana gelen yapı üçe ayrılır:

- Birinci durumda, mikrokompozit denilen yapı oluşur. Buna göre, polimer/kil etkileşiminin zayıf olmasından ötürü polimer kil tabakaları arasına erişemez ve tabakalar yığın halinde kalır. Tabaka aralıkları değişmez.

- İnterkalasyonlu (Intercalated) nanokompozit denilenbu ikinci durumda polimer silikat tabakaları arasına kısmen nüfuz eder. Bunun sonucunda, tabakalar arası mesafe genişler. Tabakaların birbirine paralel ve yığın halindeki görüntüsü değişmez.
- Son olarak eksfoliye nanokompozitte, kil tabakaları birbirinden tamamen ayrılırlar ve kil tabakaları birbirlerinden bağımsız olarak polimer yapı içerisinde dağılırlar.

2.1.3. Acacia Senegal (Gam Arabik)

Gam arabik diğer bir adı ile Acacia Senegal, bir ağaç sıvısı (eksüdatı) olup, genelde Afrika ülkelerinden temin edilir.



Şekil 2.1: Gam arabik (Acacia Senegal) (GA) ve Zwitterionik (2*S*,4*R*)-4-hidroksiprolin (sol) ; (2*R*,4*S*)-4- hidroksiprolin (sağ)

Gıda ve ilaç sanayinde kullanılan önemli bir katkı maddesidir (Phillips ve Williams, 2009, chap. 11). Gam arabik, düşük molekül ağırlıklı polisakkarid ($>M_A 0,25 \times 10^6$) ve yüksek molekül ağırlıklı hidroksiprolin-zenginleştirilmiş glikoprotein ($<M_A 2,5 \times 10^6$) içerir (Anderson ve Stoddart, 1966; Churms ve diğ., 1983; Goodruum ve diğ., 2000). Ancak sonradan görüldü ki, Gam Arabik (Acacia senegal) kompakt arabinogalaktan protein (AGP) (Mahendran ve diğ., 2008) içeren polidispers bir moleküldür (Mahendran ve diğ., 2008). Yüksek derecede dallanmış yapıdadır (Shao-Ping ve diğ., 2013).

2.2. BİYOMALZEMELERİN KARAKTERİZASYONU

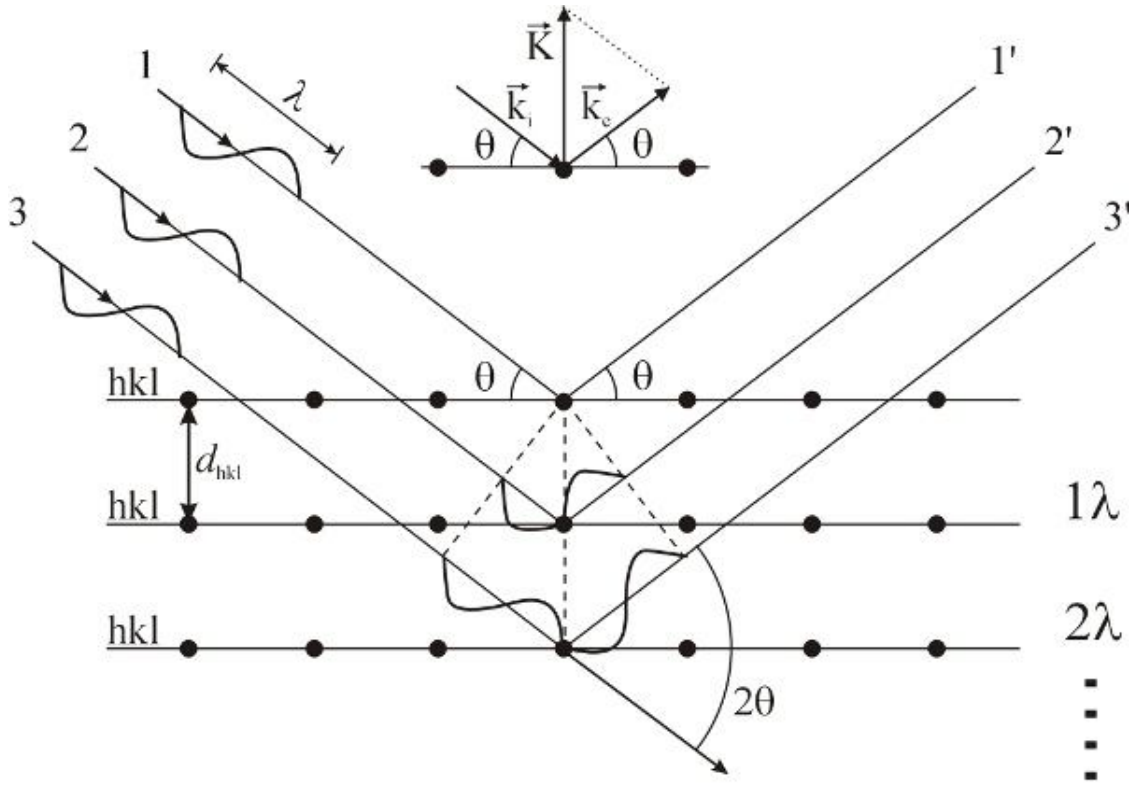
2.2.1. X-ışını Difraksiyonu (XRD) Analizi

Katıların kristal yapılarını incelemek için en çok kullanılan kırınım tekniği X-ışını kırınımıdır. Bu tekniğin ince film analizi için uygun olması, temelde iki nedenden dolayıdır; birincisi, X-ışınlarının dalga boyları, yoğunlaştırılmış maddedeki (condensed matter) atomik mesafeler ölçüsündedir ve bu özellik, yapısal araştırmalarda kullanılmalarını sağlar. İkincisi, X-ışını saçılım teknikleri, yıkıcı değildir ve incelenen numuneyi değiştirmez. Katı malzemelerin incelenmesinde kullanılan X-ışınlarının dalga boyları, atomlar arası mesafelerle kıyaslanabilir büyüklükte olup yaklaşık olarak 0.5 Å ile 2.5Å arasında değişir. X-ışınları kristal yapı üzerine düşürüldüğünde, ışınlar katı yüzeyinden küçük geliş açılarıyla tam yansımaya uğrarlar ve ışınlar kristaldeki atomların paralel düzlemleri tarafından saçılırlar. Kristal yapıdaki bu saçılımlar kırınım olarak 12 adlandırılır ve kırınım çok sayıda atomu içeren saçılmalardan meydana gelir. X-ışınlarının kristal yapıda kırınımı Bragg Kanunu ile açıklanır ve Bragg kanununun en basit şekli aşağıdaki formül ile verilir.

$$2d \sin\theta = n\lambda$$

Burada, d kırınımın gerçekleştiği yüzeyler arası mesafe, θ başlangıç açısı, n bir tamsayı ve λ ışınların dalga boyudur.

Kristallerde X-ışını kırınımı tekniği ile kristalin yapısını belirleme, kristalin mükemmelliği veya fazın saflığını belirleme ve kristalin doğrultularını belirleme gibi bilgiler sağlanır. Bu doğrultular, kırınım deseninde noktalar şeklinde görünür ve buna yansıma denir. Böylece X-ışını difraksiyonu, düzenli dizilmiş saçıcılar (kristal içerisinde tekrarlayan atom düzeni) üzerine çarpan bir elektromanyetik dalgadan kaynaklanır.



Şekil 2.2: XRD’de tabakalara gelen ve yansıyan ışınların şematik görünümü.

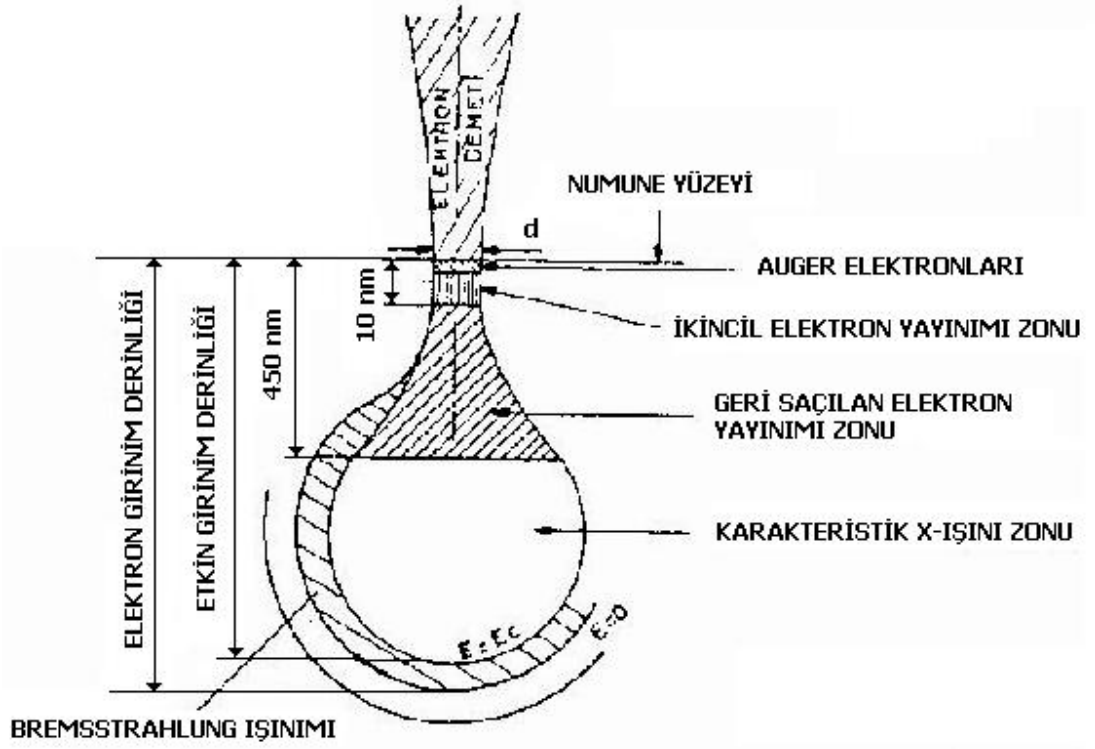
Difraksiyon paterni (kırınım deseni) oluşturmada x-ışınları kullanılmasının sebebi, kristal tabakaları arasındaki mesafeyle aynı mertebede (1–100 angstrom) dalga boyuna sahip olmalarından dolayıdır.

2.2.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi

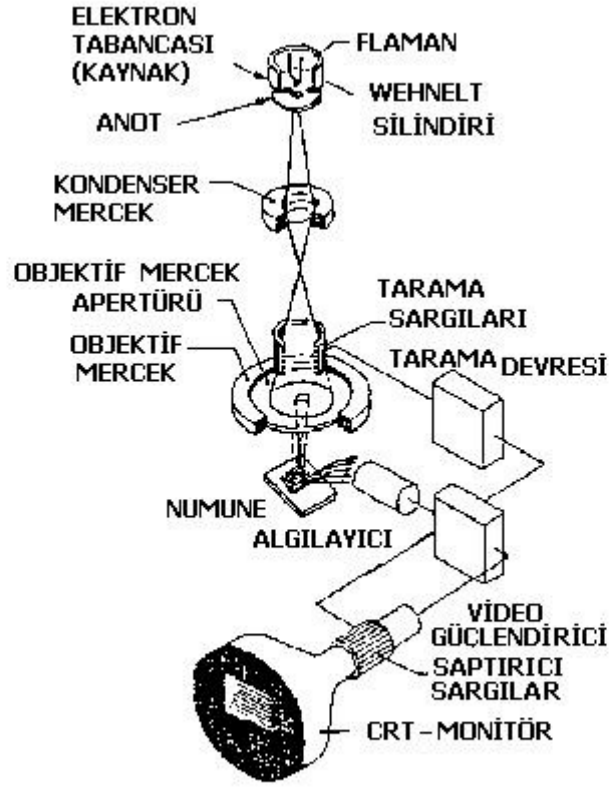
Taramalı Elektron Mikroskopu veya SEM (Scanning Electron Microscope), çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. Manfred von Ardenne öncülüğünde 1930’lı yıllarda geliştirilmiştir. En sık kullanıldığı biçimiyle, yüzeyden yayılan ikincil (secondary) elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin engebeli (topografik) yapısıyla ilişkili bir görüntü oluşturur.

Yüksek enerjili elektron demeti ile numunedeki atomların dış yörünge elektronları arasında elastik olmayan girişim sonucunda düşük enerjili Auger elektronları oluşur. Bu elektronlar numune yüzeyi hakkında bilgi taşır ve Auger Spektroskopisinin

çalışma prensibini oluşturur. Yine yörünge elektronları ile olan girişimler sonucunda yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan demet elektronları numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanırlar. Bu elektronlar ikincil elektron (sekonder elektronlar) olarak tanımlanır. İkincil elektronlar numune odasında bulunan sintilatörde toplanarak ikincil elektron görüntüsü sinyaline çevrilir. İkincil elektronlar numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinlikten geldiği için numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılır. Yüksek voltaj altında ivmelendirilen elektron demeti ile numune arasındaki etkileşim sonuçları Şekil 2. 3' de şematik olarak gösterilmektedir. Bu girişim hacmi su damlası görünümü olarak tanımlanır. Yüksek enerjili demet elektronları numune atomlarının dış yörünge elektronları ile elastik olmayan girişimi sonucunda düşük enerjili Auger elektronları oluşur. Bu elektronlar numune yüzeyi hakkında bilgi taşır ve Auger Spektroskopisinin çalışma prensibini oluşturur. Yine yörünge elektronları ile olan girişimler sonucunda yörüngelerinden atılan veya enerjisi azalan demet elektronları numune yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde toplanırlar. Bu elektronlar ikincil elektron (seconder electrons) olarak tanımlanır. İkincil elektronlar numune odasında bulunan sintilatörde toplanarak ikincil elektron görüntüsü sinyaline çevrilir. İkincil elektronlar numune yüzeyinin 10 nm veya daha düşük derinlikten geldiği için numunenin yüksek çözünürlüğe sahip topografik görüntüsünün elde edilmesinde kullanılır.



Şekil 2.3: Elektron demeti ve numune etkileşimi



Şekil 2.4: Taramalı Elektron Mikroskobunu oluşturan temel kısımlar

Taramalı Elektron Mikroskobu Optik Kolon, Numune Hücresi ve Görüntüleme Sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Şekil 2.4). Optik kolon kısmında; elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için kondenser mercekleri, demeti numune üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta apertürler ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya numune üzerine odaklamaktadır.

Tüm optik kolon ve numune 10^{-4} Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır. Görüntü sisteminde, elektron demeti ile numune girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışınları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve numune

yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

2.2.3. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), incelenen yüzeydeki atomların kimyasal durumu hakkında bilgi edinmek için kullanılacak en uygun yöntemlerden biridir. Kimyasal analiz için elektron spektroskopisi (ESCA) olarak da bilinen bu yöntem, incelenen yüzeydeki atom ya da moleküllerin x ışını bombardımanına tutulmasıyla yüzeyden saçılan elektronların kinetik enerjisinin ölçülmesi prensibine dayanır. XPS ile 10-20 nm derinliğe kadar yüzey analizi yapılabilir. Örnek yüzeyine gelen x ışınlarının açısı değiştirilerek XPS'in yüzey hassasiyeti artırılabilir. Bağlanma enerjisi, her bir elementin her bir elektronu için belli bir değere sahiptir ve bu nedenle o elementin belirlenmesinde kullanılabilir. Böylece, bağlanma enerjisinin ölçümü ile maddede bulunan belli elementler hakkında oldukça ayrıntılı bilgi edinmek mümkündür. Saçılan elektronların yüzeye bağlanma enerjisi ($BE = h\nu - KE - \Phi$) denklemiyle elde edilir. BE: elektronların bağlanma enerjisi, KE: elektronların kinetik enerjisi, $h\nu$: X -ışınlarının enerjisi, Φ : yüzeyden bir elektron uzaklaştırabilmek için gerekli minimum enerji miktarıdır. (Sezen H. 2008).

2.2.4. Termogravimetrik analiz (TGA)

Termal Analiz malzemelerin fiziksel özelliklerinin sıcaklığa bağlı olarak değişiminin incelendiği yöntemdir. Termal Analiz, numune sıcaklığı kontrollü bir şekilde değiştirilirken numunenin fiziksel özelliklerinin (ağırlık, absorplanan ya da açığa çıkan ısının, boyut, iletkenlik, manyetik özellik v.s) sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü yöntemleri içerir. TGA ağırlığın yani numunenin kütesinin, numunenin sıcaklığına ya da zamana göre ölçümüdür. Numune genel olarak sabit sıcaklık değerinde ısıtılır ya da sabit bir sıcaklıkta tutulur. TGA kontrollü örneklerle doğrusal olmayan sıcaklık programları da kullanılabilir. Sıcaklık programı seçimi numune

hakkında istenen bilgiye dayalıdır. Ayrıca TGA deneylerinde atmosfer, reaktif, inert ya da oksit olabilmesinden dolayı çok önemli bir işleve sahiptir.

2.3. BAKTERİLER

2.3.1. Bakterinin Tanımı

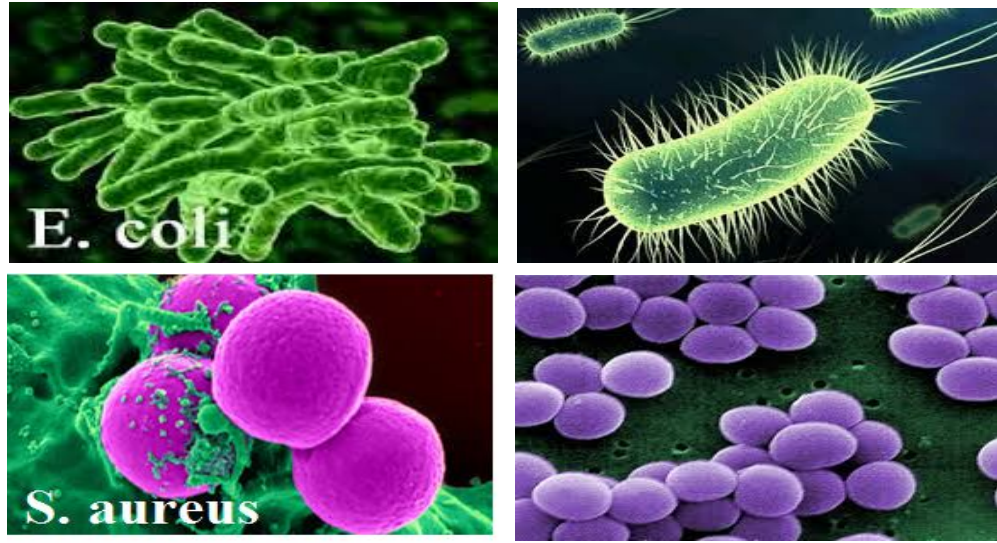
Bakteriler 0,2-2 mikron büyüklüğünde mikroorganizmalardır (1 mikron = 10^6 m.). Bakterilerin sitoplazması “Sitoplazma zarı” denilen bir zar içinde bulunur. Bakterilerin hücre yapıları insan hücrelerinden farklıdır. Bakterilerin sahip oldukları hücresel öğeleri şu şekilde sıralayabiliriz;

- Sitoplazma zarı
- Hücre duvarı
- Kapsül
- Fimbria
- Kamçı
- Çekirdek maddesi
- Ribozom Mezosom
- İnklüzyon cisimciği.

“Sitoplazma zarı” bir bakterinin en iç duvarını oluşturur. “Lipo proteinlerin” yapısında olan sitoplazma zarı, bakterinin sitoplazmasını dışarıdan sarar. Bu zar bakterinin biçimini belirlemekle görevli değildir. Başlıca görevi bakteri içine girecek besin maddelerine karşı seçici bir zar görevini üstlenmiş olmasıdır. Bakteriden dışarı atılacak bazı enzim ve artık maddelerin de seçiciliğini yapar.

“Hücre duvarı” sitoplazma zarının hemen dışında bulunur. Bakterilere özel biçimlerini kazandıracak kadar sert bir yapısı vardır. Hücre duvarının hücre içiyle

dışı arasındaki madde alışverişinde etkin görevi yoktur. Ancak bakteri hücresinin boyanma özelliği etkiler. Kapsül denilen üçüncü bir duvar tabakasına bazı bakteri türlerinde rastlanır. Kapsül, bulunduğu bakteriye özgün bağışıklık özellikleri kazandırır, antibiyotiklere ve fagositoza karşı dirençli kılar. Fimbrialar hareket işleviyle ilgili değildirler. Bakterinin besinle temas yüzeyini daha da artırarak, yakın bir ilişkiye girmelerini ve konak hücreye yapışmalarını sağladıkları düşünülmektedir. Bundan başka özel bir fimbria (seks fimbriyası) bakterinin aynı türden başka bakterilere yapışarak ona genetik madde aracılığı ile bazı özellikleri de aktarmasını sağlamaktır. “Kamçı”, bakterilerin hareketliliğini sağlayan bir uzantıdır. Enfeksiyona sebep olan en etkili ve tehlikeli bakterilerden iyi tanınan gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve gram-negatif *Escherichia coli* (*E.coli*) Şekil 2.5 te görülmektedir.



Şekil 2.5: *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerinin boyalı SEM görüntüleri

“Çekirdek maddesi”, DNA ve/veya RNA içerebilen bakteri içi maddeleridir. Bakterilerin çekirdek zarı bulunmadığı için çekirdek maddesi bakteri ‘içine dağılmış’ olarak bulunur. “Ribozomların görevi”, insan hücrelerindeki ribozomların görevlerinin aynıdır. Bakterilerde-ki ribozomlar bakterinin çoğalma dönemlerinde sayıca artar. Bakterilerdeki “Mezosom” denilen yapılar, sitoplazma zarının bakteri

içine doğru olan kıvrımlarından oluşur. Bakterilerin bölünme olaylarında görev üstlendikleri düşünülmektedir. “İnklüzyon cisimciği” denilen bakteri içi cisimciklerin de depo besin maddeleri oldukları düşünülmektedir.

2.3.2. Bakterilerin Sınıflandırılması

Bakteri türlerini çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Biz burada onları yalnız görünümlerine göre kısaca sınıflayacağız.

“Kok” grubu bakteriler tek tek yuvarlak, mum alevi ya da fasulye biçimindeki bakterilerdir. Bunlar belli bir düzende bir araya geldiklerinde değişik gruplar oluştururlar. Örneğin “Diplolok”lar iki kokun bir araya gelmesiyle oluşurlar. “Streptokok” grubu birçok kokun tespih taneleri gibi arka arkaya dizilmesiyle bir zincir görünümü oluşturur. “Stafilokok” grubunda koklar üzüm salkımına benzer biçimde bir araya toplanmışlardır. “Basil” grubu bakteriler kısa çomak biçimindedirler. Bu grupta tüberküloz ve lepra basilleri yer alır.

Bakteriler, fenotipik, analitikve genotipik özelliklerine göre sınıflandırılır. Bakterilerin tanımlanmasında öncelikle fenotipikolarak, makroskobik, mikroskobik, biyokimyasal özellikleri incelenir. Bakteri kolonilerin rengi, şekli ve kokusu gibi özellikler makroskobik tanımlamada kullanılır. Mikroskobik özelliklerin incelenmesinde ise en sık Gram boyama yöntemi kullanılır. Bakterileri başlıca iki ana sınıfa ayırır. Gram pozitif ve Gram negatif bu yöntem ile, duvar yapılarının farklı olmasından dolayı, Gram pozitif bakteriler mor, Gram negatif bakteriler pembe-kırmızı boyanır. Bu boyama tekniği ile bakteriler ayrıca, yuvarlak (kok), çomak (basil) ve kıvrık (spiral) şekilli olarak sınıflandırılabilir.

2.3.3. Bakterilerin İsimlendirilmesi

Bakteriler isimlendirilirken önce cins ismi (ilk harf büyük) sonra tür ismi (ilk harf küçük) kullanılır ve italik harflerle yazılır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* v.b.

2.3.4. Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite, bakterinin materyal yüzeyinde büyümesini engelleyen yada bakterinin ölümüne yol açan etkidir. Klor gibi çeşitli kimyasallar ve antibiyotikler antibakteriyel etkiye sahip maddelerdir. Günümüzde, antibakteriyel özelliğe sahip yeni malzemelerin keşfi konusunda araştırmalar artmıştır. Burada tercih edilen, insan sağlığı için toksik olmayan ve doğada bozunabilen maddelerdir. Bakteriler yüzeylere bağlanıp biyofilm denen yoğun kümeler oluştururlar. Bu filmler birkaç mikrometre kalınlıktan yarım metre derinliğe kadar değişebilir ve birden çok bakteri, protista ve arke türü içerebilir. Biyofilmlerde yaşayan bakteriler, hücre ve hücre dışı bileşenler ile karmaşık bir düzen oluştururlar. Meydana gelen ikincil yapılar arasında mikrokoloniler de sayılabilir, bunların içinde bulunan kanal şebekeleri gıdaların daha kolay difüzyonunu sağlar (Donlan , 2002; Branda ve diğ., 2005). Doğal ortamlarda, örneğin toprak ve bitkilerin yüzeyinde, bakterilerin çoğunluğu biyofilm aracılığıyla yüzeye bağlanır (Davey ve O'toole, 2000). Biyofilmler tıpta da önemlidir, çünkü bu yapılar kronik bakteriyel enfeksiyonlarda ve vücut içine yerleştirilmiş tıbbi cihazlarda bulunurlar. Biyofilmler içinde kendini koruyan bakterilerin imhası, tek başına ve izole durumda olan bakterilerinkinden çok daha zordur (Donlan, 2002). Bakteriler uygun sıvı ve katı ortamlarda kolayca üreyebilirler. Sıvı besi yerlerine ekilen bir tek koloni, uygun bir besiyeri, sıcaklık ve inkubasyon süresinden sonra üreyerek bir bulanıklık meydana getirir. Diğer bir ifade ile üremenin varlığı kültürün bulanık bir hal almasıyla anlaşılabilir. Ancak, bazı etkenler (mikoplasma, Leptospiralar) gözle zor görülebilen bir bulanıklık oluştururlar. Bazı bakteriler de cansız sıvı ve katı besi yerlerinde üremezler (rickettsia, chlamydia). Bir kısım mikroorganizmalar da çok uzun sürede üreyebilirler (Mikobakteriler gibi). Katı ortamlarda gözle görülebilecek büyüklükte koloniler meydana gelir. Bunlar üremenin varlığını gösteren durumlardır (Arda, 2000).

Bu bakterilerin patojenik türlerinden birisi de yaralarda enfeksiyona yol açabilen *Staphylococcus aureus* dur. Bu bakteri kuru yüzeylerde yaşar ve geçirgenliği artırır. Bu türden olan metisiline-dirençli *S. aureus* hastaneden kazanılan enfeksiyonlarda ana etken olmuştur ve de toplumdan kazanılan enfeksiyonlarda ortaya çıkışı ve sıklığındaki artışı sonucu bu özelliği anlaşılmıştır. *S. aureus* ayrıca toksik şok sendromuna da neden olabilmektedir. 1980'ler boyunca bazı tamponlar *S. aureus*'un

hızla üremesine yol açmış ve bu şekilde kana karışan toksinler salınmıştır. Herhangi bir *S. aureus* enfeksiyonu stafiokokal haşlanmış cilt sendromuna yol açabilir. Bu durum ise derinin kana karışan ekzotoksine verdiği reaksiyon ile oluşur. Ayrıca Piyemi diye adlandırılan bir çeşit septisemiye de yol açabilir. Günümüzde *S. aureus*'un bir çok antibiyotiğe direnç gösteren izolatlarının meydana gelmesi çoğu sağlık kuruluşu için önemli bir problem haline gelmiştir.

Genelde *E. coli* kısaltılmasıyla koli basili, memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan bir bakteri türüdür. İnsanın bir günde dışkı yoluyla vücudundan geçen *E. coli* bakteri sayısı 100 milyar ila 10 trilyon arasındadır. Dışkıyı oluşturan bakteriler başlıca anerobik bakterilerdir, seçmeli anerobik *E. coli* hücrelerinin sayısı diğer bakteri türlerinin binde biri dolayındadır. Bazı *E. coli* tipleri içinde buldukları hayvan için zararsız olmalarına rağmen insana geçtiklerinde hastalık yapabilirler. Bu hastalıklar arasında en ünlüsü sayılan O157:H7 adlı serotip kanlı ishal olup, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, septisemi ve gram-negatif pnömoni de sayılabilir. *E. coli* 'nin, tavuk, dana ve başka hayvanlarda da hastalık yapabildiği görülmüştür.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYİN YAPILIŞI

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

- Demir (III) klorür hekza hidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
- Sodyumborhidrit (NaBH_4) (Merck)
- Etil alkol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck)
- Acacia Senegal (Gam arabik) toz
- Silika (Merck)

3.1.2. Sıfır Değerlikli Demir Çözeltisi

0,066 M $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi 4/1 (v/v) oranında ethanol+su karışımında hazırlandı. NaBH_4 0,1M olacak şekilde saf suda çözüldü. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi bir manyetik karıştırıcı yardımıyla 650 rpm de kuvvetli bir şekilde oda sıcaklığında karıştırılarak üzerine bürete konmuş olan NaBH_4 sulu çözeltisi damla damla katılarak siyah renkte sıfır değerlikli demir (Fe^0) elde edildi.

3.1.3. İnorganik ve Organik Faz Çözeltileri

Bizim çalışma koşullarımızda geçerli olan miktarda Acacia Senegal tartıldı ve 100ml suda karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında çözüldü. Aynı miktarda (1:1 w/w oranında) silika da tartılıp 100ml suda karıştırıcı yardımıyla heterojen karışım hazırlandı. Silikanın suyu dekante edilerek katı faz sulu fazdan ayrıldı. Daha sonra Acacia Senegal çözeltisi silikanın üzerine ilave edilerek sonikatör de 20 dakika birbiri içinde dağılması sağlandı.

3.1.4. Acacia Senegal / Fe-Silika Hazırlanması

Sonkatör yardımıyla birbiri içinde dağılan Acacia Senegal+ Silika çözeltisi manyetik karıştırıcıda 650 rpm kuvvetli karıştırma işlemi oda sıcaklığında yapılırken önceden hazırlanan sıfır değerlikli demir çözeltisi ilave edildi. Ve bu karışım 20 dakika boyunca kuvvetli bir şekilde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra elde edilen bu üçlü çözelti teflon petri kaplara dökülerek etüvde sabit tartıma gelene kadar 100°C de kurutuldu. Bu toz örneğimiz, antibakteri çalışmalarına kadar steril kaplarda vakumlu desikatörde saklandı.

3.2. KULLANILAN CİHAZ VE ALETLER

3.2.1. Örneklerin Karakterizasyonu

3.2.1.1. X-ışını Difraksiyonu (XRD) Analizi

XRD çalışmaları için, İstanbul Üniversitesi İleri Analizler Laboratuvarı (İAL)'nda bulunan Rigaku D/Max-2200/PC XRD Cihazı 200 Vac 3q 20 A/50 Hz güç kapasitesine sahip bir yüksek teknoloji ürünü olup standart ve yüksek sıcaklık fırın üniteleri ile hizmet vermektedir. Cu kaynaklı (A4 1L-Cu / 60 kV, 2.0 kw) X ışını tüpü ve tüpün ani sıcaklık değişimlerini kontrol eden su soğutucusuna (Thermo NESLAB, M 100) sahip olan cihazda monokromatize X-ışını elde edilmesini sağlayan Grafit Monokromatör kullanılmaktadır. X-ışını Toz Difraktometre dedektörünün q-2q ve 2q-q taramaları sonucu kırınım deseni elde edilmektedir. Maddenin X-ışını Kırınım Deseni verilerinin Jade 6.5 yazılım programında bulunan, PDF kart numaralarına sahip yaklaşık 120.000 civarında madde ile karşılaştırılması sonucu Kalitatif Mineral Analizi yapılmaktadır. Cihazın yüksek sıcaklıkta ölçüm almasını sağlayan Yüksek Sıcaklık Fırın Ünitesi mevcuttur. Yüksek Sıcaklık Ünitesi sayesinde termal değişikliğe uğrayan çeşitli maddelerin faz diyagramları ve kristal yapı değişimleri gözlemlenebilmektedir.



Şekil 3.1: X-ışını difraksiyonu (XRD) analizinde kullanılan cihaz

3.2.1.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi

SEM analizleri field-emission SEM (FEI-QUANTAFEG 450) cihazı kullanılarak İstanbul Üniversitesi Kimya Mühendisliğinde yapılmıştır.



Şekil 3.2:Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi

3.2.1.3. Termogravimetrik Analiz (TGA)

TGA da örnek hassas dengenin bir kolundan asılarak fırına konur. Örnekteki kütle değişimi verilen sıcaklıkta ya da programlanmış belli sıcaklık aralıklarında kaydedilir. Kullanılan numune miktarı 5 mg ile 50 mg arasında değişmektedir. Örneğin koyulduğu özel örnek kabı, ortamda oluşacak gazları adsorplamamalıdır ve hiç bir şekilde kataliz etkisi taşımamalıdır. Bu örnek kabı terazinin içerisine yerleştirilir. Terazinin örnek koyulan kısmının dışındaki diğer bütün kısımları fırından izole edilmiştir. Terazi kolları elektromıknatısın kolları arasına yerleştirilmiş bir kola tutturulur. Elektromıknatıstan geçen akım elektrik sinyali olarak kaydedilir. Sistemdeki fırın 25-1600°C arasında, sıcaklığın istenilen sürelerde istenildiği kadar arttırılabilecek şekilde programlanabilir. Fırını ısıtma ve soğutma hızları, sıfırdan biraz daha büyük değerden 200°C/dakika kadar bir aralık içinde seçilebilir. Fırın ısısının teraziye aktarımından kaçınmak için fırın yalıtılır ve dışarıdan soğutulur. Numune nispeten düşük sıcaklıklarda analiz yapılacak ise 300°C kadar dayanıklı olan alüminyum krozeler kullanılır. Yüksek sıcaklıklarda çalışılacak numuneler için ise Pt veya Pt/Rh krozeler tercih edilir. Örneğin oksijenle teması sonucunda oluşacak olan yanma olayını engellemek için sistemden azot veya argon gazı geçirilmelidir. Ayrıca fırın içerisinde oluşan parçalanma ürünlerinin fırın içerisinde kalması, parçalanmanın daha yüksek sıcaklıklarda oluşmasına neden olur. Bu nedenle de sistemden sürekli inert gaz geçirilerek fırının içi temizlenmelidir. Böylece parçalanma daha düşük sıcaklıklarda başlar ve biter. Aynı numune azot, argon veya hava atmosferinde çalışıldığında bozunma eğrilerinin aşamaları ve sıcaklıkları değişebilir, yani madde ortama göre farklı davranışlar gösterebilir. Bu nedenle çalışılacak olan atmosfer ortamının belirlenmesi çok önemlidir.

Bu çalışmada, TGA analizleri, 12,4 mg örnek alınarak N₂ atmosferi altında 10°C /dakika ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

TGA (TGA, Shimadzu TGA-50) çalışmaları İstanbul Üniversitesi Kimya Mühendisliğinde yapılmıştır.



Şekil 3.3: Termogravimetrik Analiz (TGA) cihazı

3.2.1.4. X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektrometreler büyük ve pahalı cihazlardır. Kaynak bir Coolidge tüpüdür. Monokromatik ışın filtrelerle veya bir kristal monokromatörle elde edilir. Örneğin ışınlandırılmasıyla çıkarılan elektronlar bir elektron spektrometreye gönderilir. Spektrometrelerde elektron demetini bir dedektör üzerine odaklayan bir veya daha fazla manyetik alan vardır. Bir elektronun yolu (yörüngesi), onun kinetik enerjisine ve manyetik alanın kuvvetine bağlıdır. Alan şiddeti değiştirilerek elektron enerji spektrumu çizilebilir.

XPS (XPS, Thermo Scientific K-alpha) çalışmaları Koç Üniversitesi Yüzey Bilimi ve Teknoloji Merkezi (KUYTAM) da yapılmıştır.

3.2.1.5. Anti-bakteriyel Aktivitenin İncelenmesi

Hazırlanan yeni malzemenin etkisi *Escherichia coli* ve *Staphlococcus aureus* bakterilerini üzerinde incelendi. Bunun için, çeşitli materyallerden (idrâr, cerahat, apse) çukulata agar, koyun kanlı agar, Endo ve EMB agarlara kültür için ekim yapılarak saf *Escherichia coli* ve *Staphlococcus aureus* bakterileri kolonileri elde edildi. Elde edilen bakteriler iki ayrı Müller hinton besiyerine pasaj yapılarak birinci petriye A maddesi Acacia Senegal ikinci petriye B maddesi Acacia Senegal/Fe-Silika maddesi petrilerin ortasına 8x8 mm'lik alana yerleştirildi. Petriler 37°C'ta etüvde bekletilerek bir gün sonra gerçekleşen etkiler izlendi.

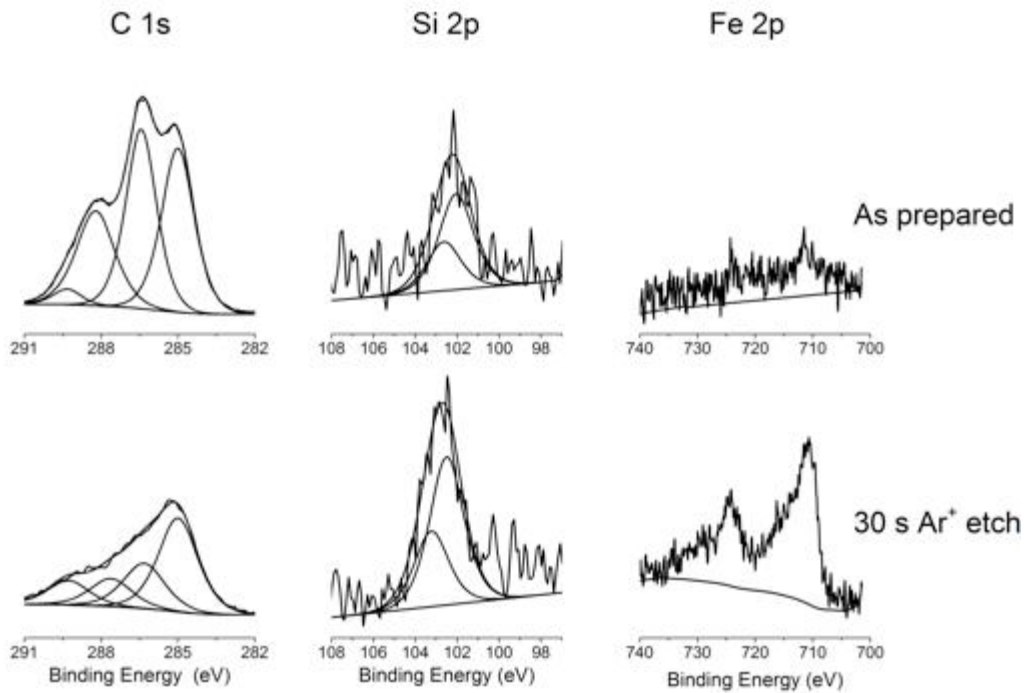
Tüm bakteri çalışmaları Kolan Hastanesi Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

4. BULGULAR

Tez çalışması kapsamında demir bağlanmış silika ve acacia senegal ile hazırlanan yeni nano-biyomalzemenin karakterizasyonuna yönelik gerçekleştirilen analizlerden elde edilen veriler aşağıda verilmiştir.

4.1. X-IŞINI FOTOELEKTRON SPEKTROSKOPİSİ (XPS) ANALİZ SONUÇLARI

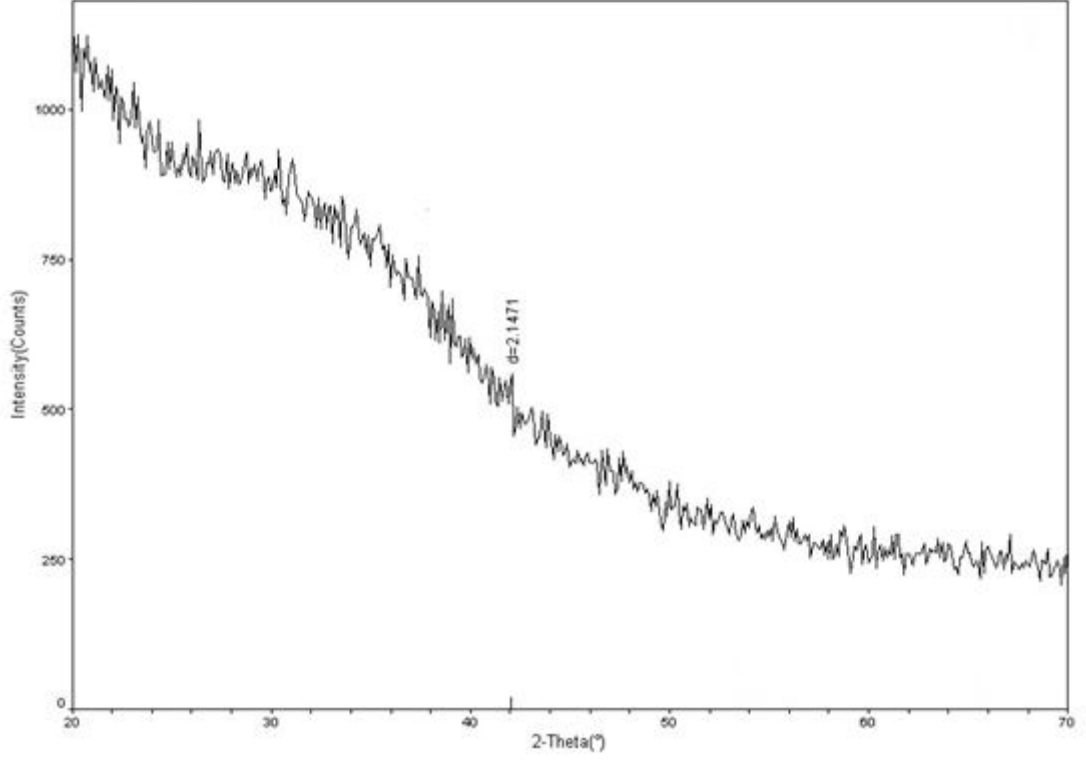
Hazırlanan malzemedeki karbon, silisyum ve demir için yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları şekil 4.1’de görülmektedir. Normal yüzeye ve 30 saniye 1000 eV’luk argon iyonları ile aşındırıldıktan sonra ki yüzeye ait spektrumların pik şiddetleri değişmiştir. Bu durumda, karbon, silisyum ve demirin miktarlarının, malzemenin yüzeyinde ve iç kısımlarında farklı olduğu görülmektedir.



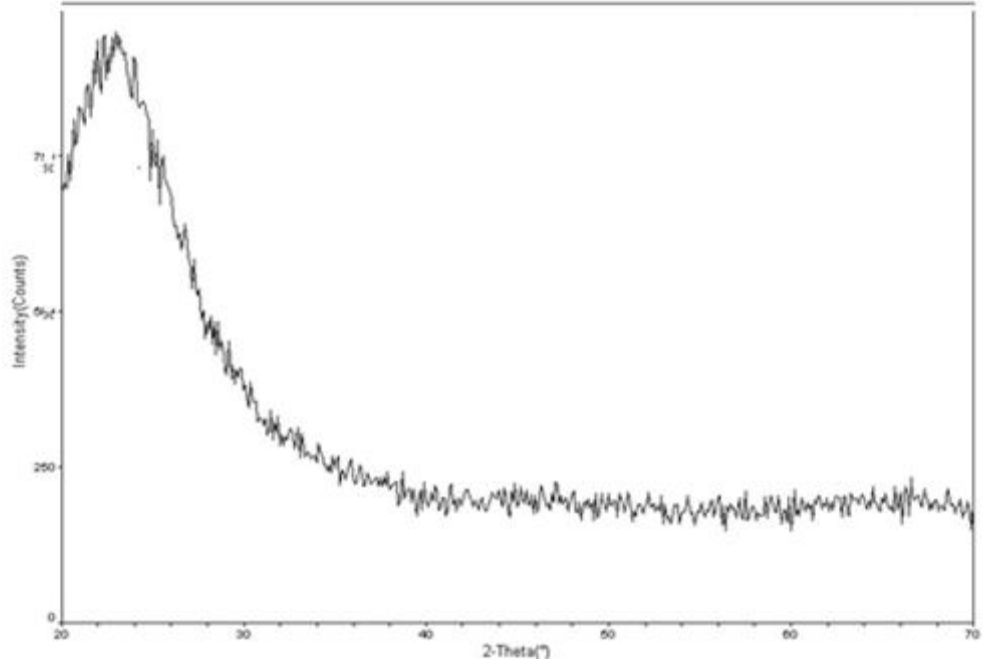
Şekil 4.1: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait XPS spektrumu

4.2. X-IŞINI DİFRAKSİYONU (XRD) ANALİZİ SONUÇLARI

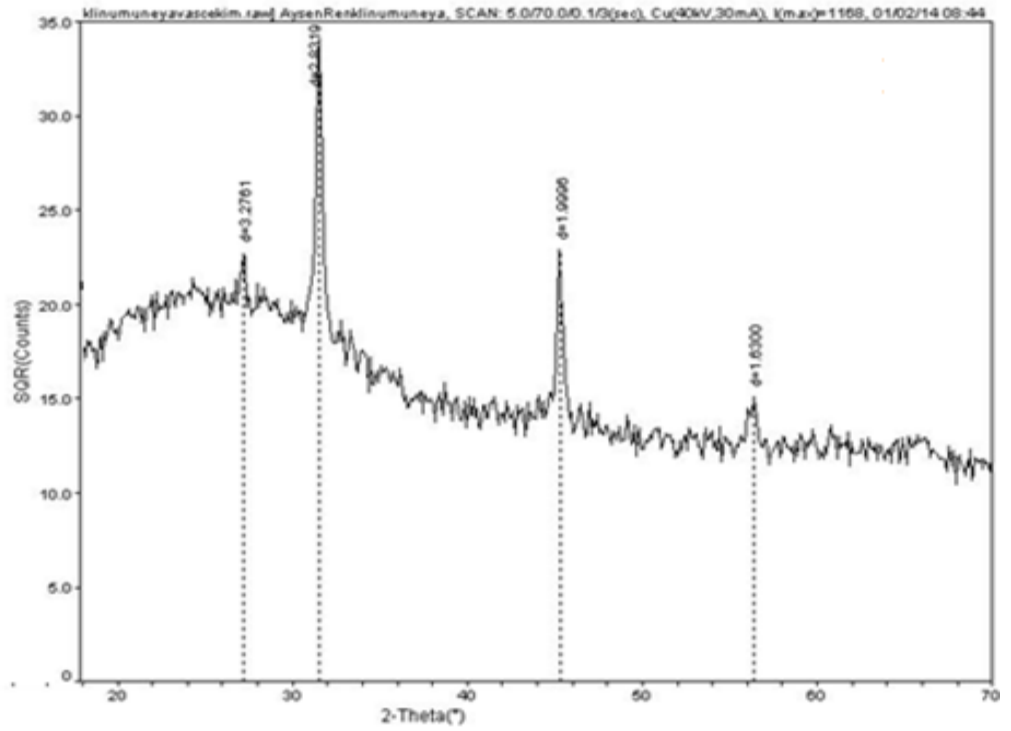
XRD tarama bölgesi 20° - 70° arasında olup $2^{\circ}/\text{dk}$ hız ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2: Acacia Senegal numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı



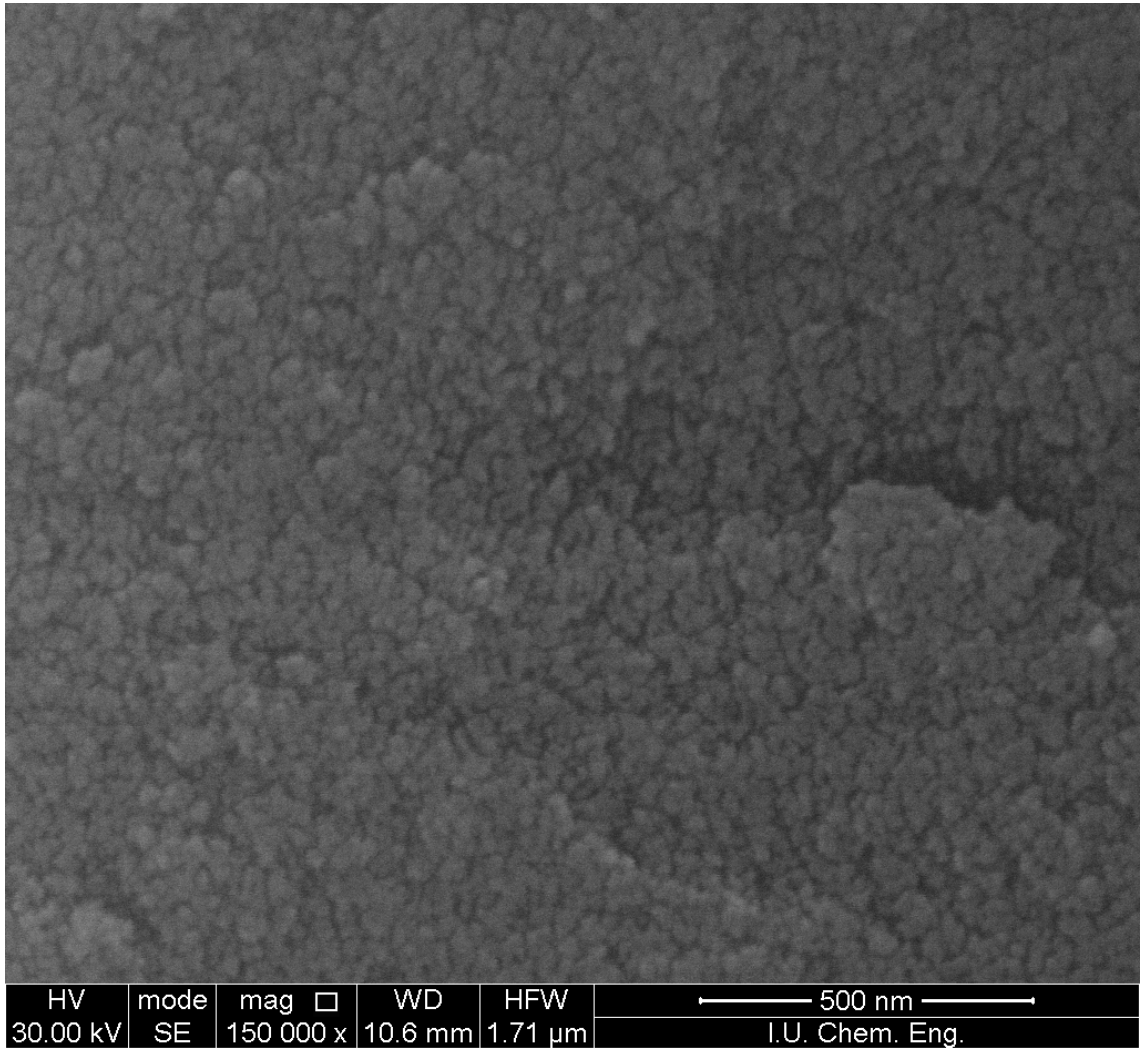
Şekil 4.3: Acacia Senegal/Silika numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı



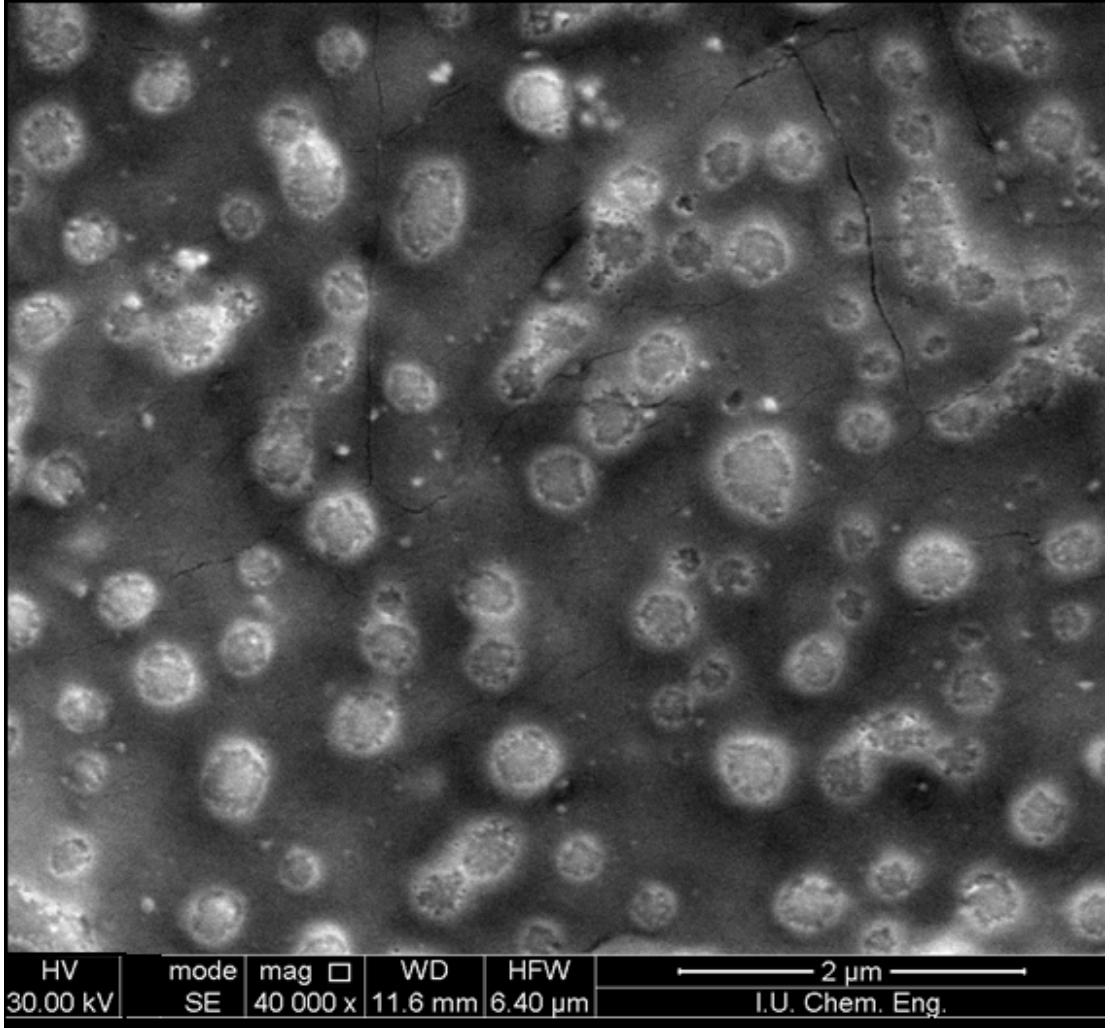
Şekil 4.4: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait X-ışını kırınım diyagramı

Şekil 4.2 ve 4.3 deki geniş pikler, Acacia Senegal ve silikanın amorf yapılarından dolayıdır. Şekil 4.4'te d mesafesi belirlenmiş keskin pikler, Acacia Senegal/Fe-silika numunesindeki kristal yapıya Fe^0 'ye aittir. $2\theta=45,6^\circ$ deki pik Fe^0 'in $2\theta=26,6$ ve $31,9^\circ$ $Fe(II)$ 'nin varlığını gösterir (Yuvakkumar ve diğ., 2011).

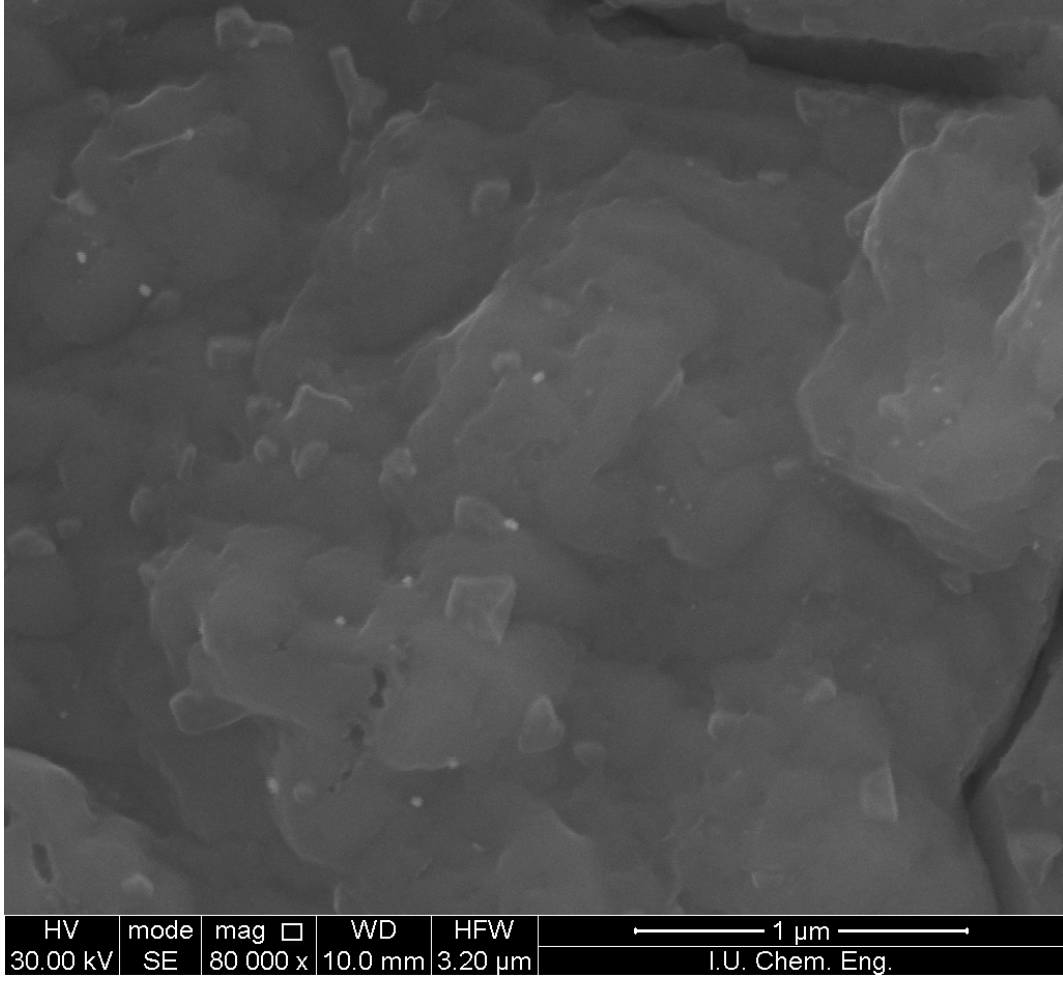
4.3.TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOPU(SEM) ANALİZİ SONUÇLARI



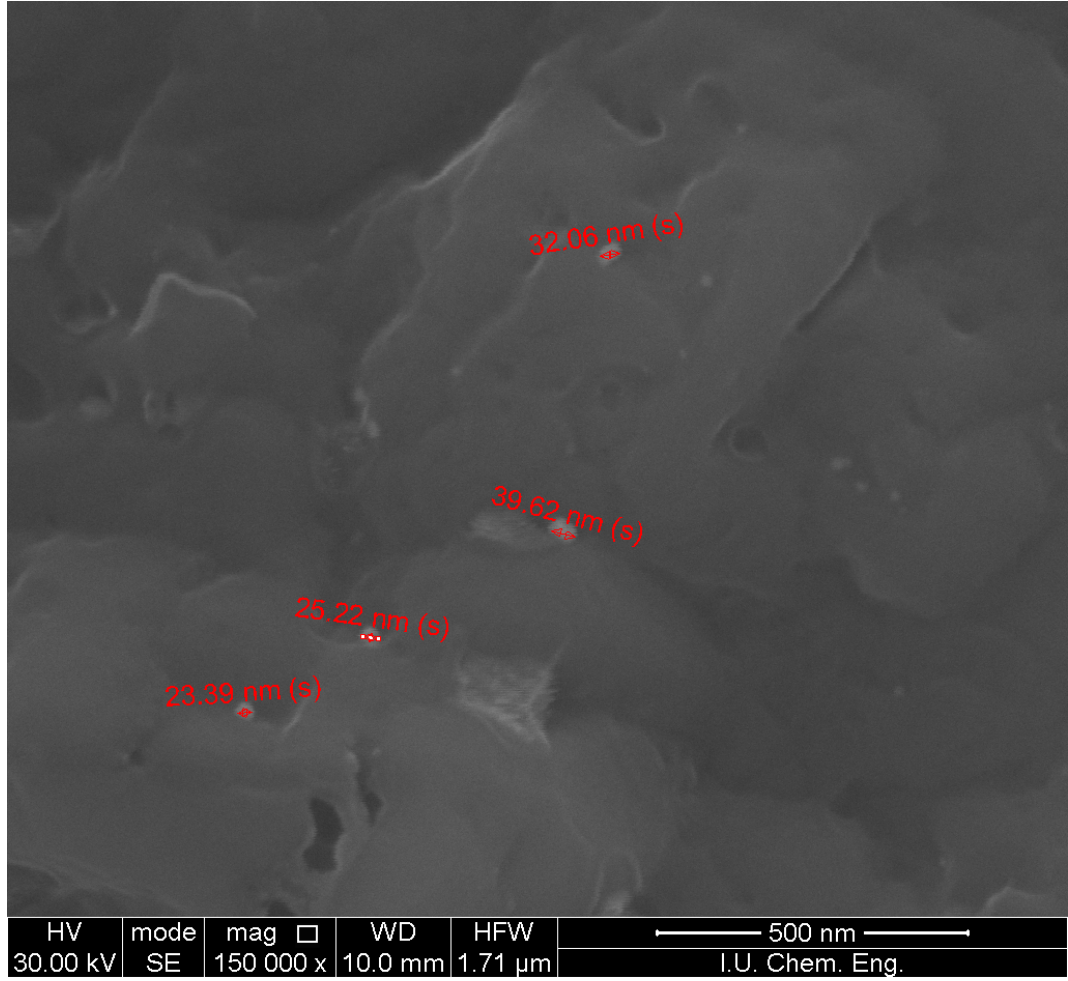
Şekil 4.5: Acacia Senegal/Silikanın dağılımına ait SEM görüntüsü



Şekil 4.6: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesine ait SEM görüntüsü (40000x)



Şekil 4.7: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesinde Fe nanotaneçiklere ait SEM görüntüsü (80000x)

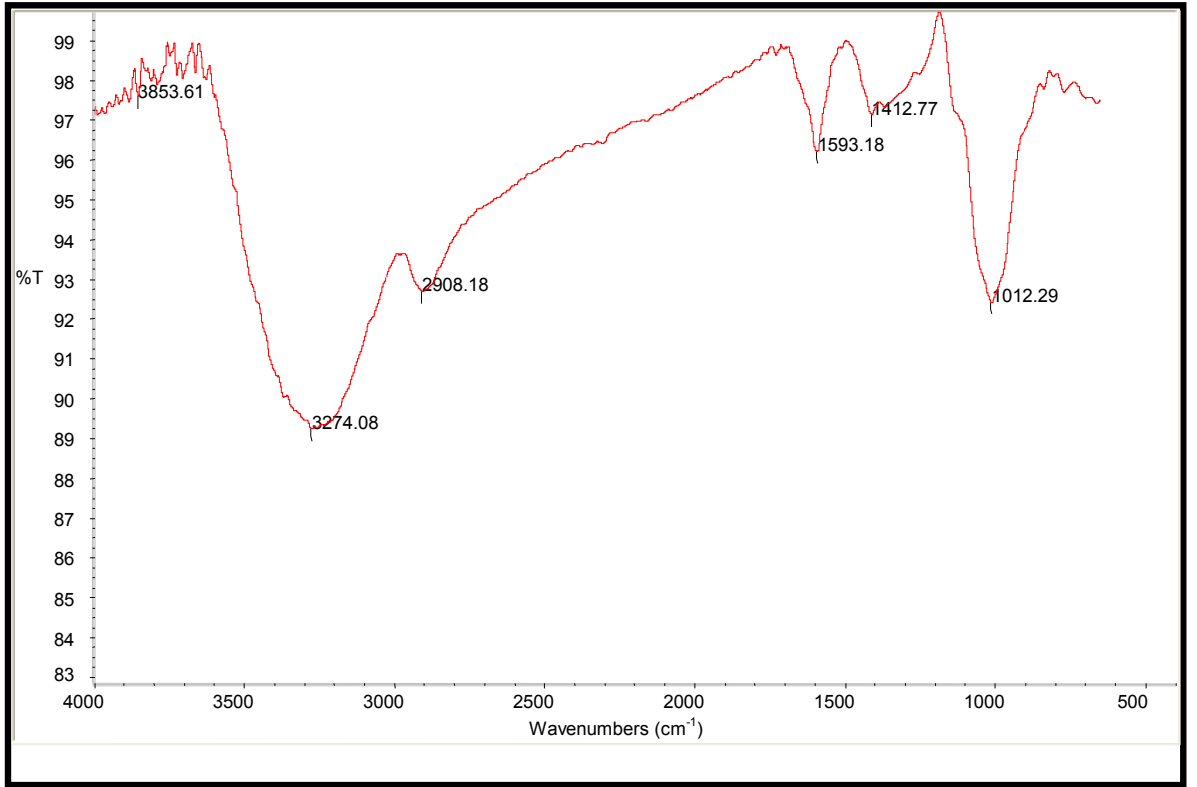


Şekil 4.8: Acacia Senegal/Fe-Silika numunesinde Fe nanotaneçiklere ait SEM görüntüsü (150000x)

Şekil 4.5 de Silikanın Acacia Senegal içerisinde dağılımı (büyütme 150000x) görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, silika taneçikleri mikrometre mertebesinde kümeleşmeye eğilimli olup bu yuzdende nano boyutta dağılması zordur (<http://en.wikipedia.org/wiki/Nanoparticle>; Jian ve diğ., 2011; Marke, 2005; S u s h i l ve diğ., 2006; Frédéric ve diğ., 2011). Yapıya sıfır değerlikli Fe katılarak dispersiyonu sağlandığında elde edilen SEM görüntüleri Şekil (4.6-4.8) 'deki gibidir. Buradan da görüldüğü gibi inorganik faz, küresel biçimde ve mikron altı boyutta (yaklaşık < 40 nm) homojen olarak dağılmaktadır. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi, taneçiklerin çevresinde yer alan beyaz ince hat, silika ve silika yüzeyindeki hidroksil gruplarından ötürüdür. Sıfır değerlikli Fe kürenin iç kısmında yer alan küçük beyaz taneçiklerdir (Sun ve diğ.,2006). SEM görüntülerinde 150000 büyütmede Acacia

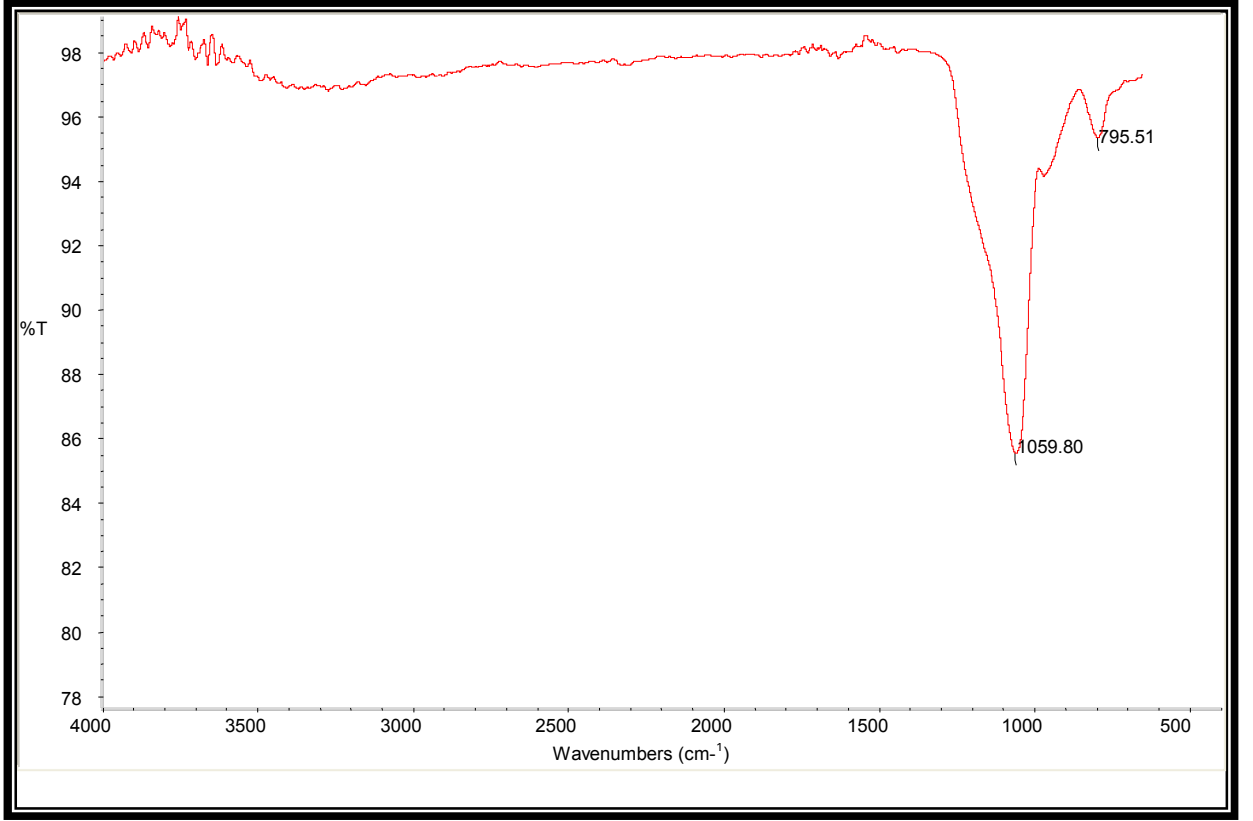
Senegal/Fe-Silikanın yapısında yer alan sıfır değerlikli Fe'nin yaklaşık < 40nm beyaz tanecikler şeklinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.7-4.8) (Mitchell , 2011; Analı'a V.ve diğ.,2014).

4.4. FTIR ANALİZLERİ



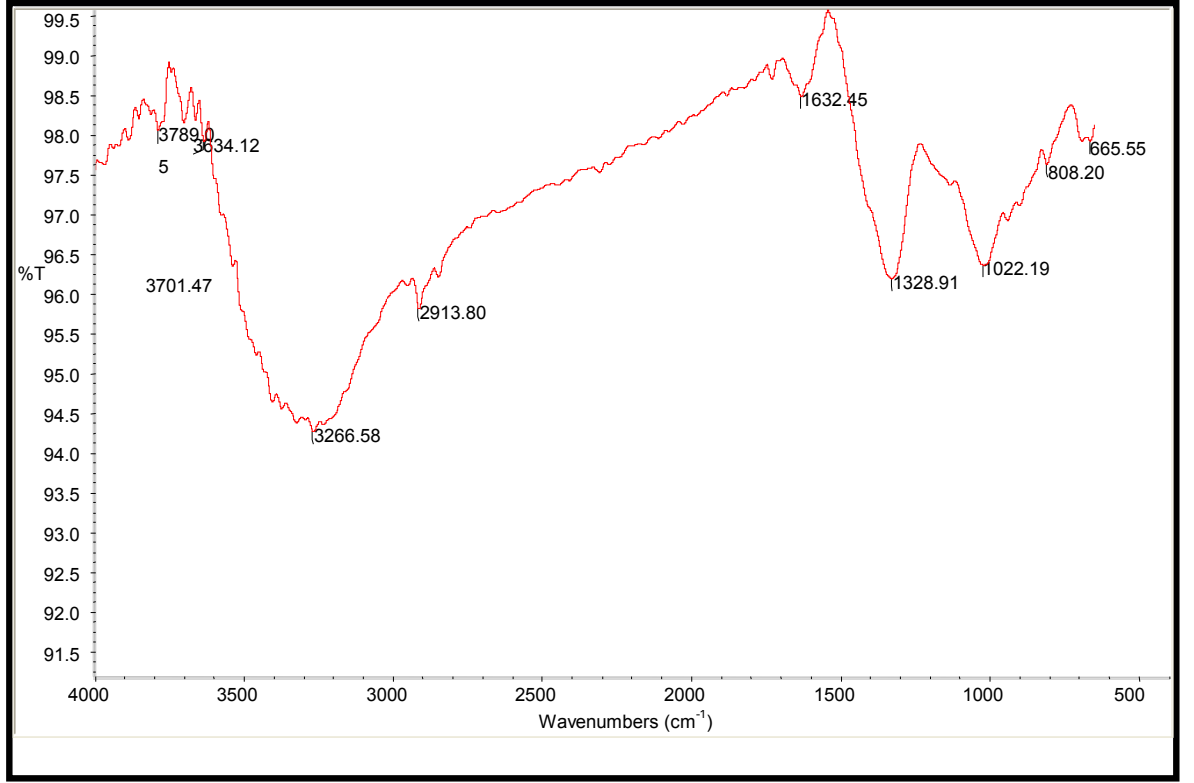
Şekil 4.9: Acacia Senegal'e ait FTIR spektrumu

Şekil 4.9' de görülen Acacia Senegal'e ait FTIR spektrumuna göre; 3300-3000 cm^{-1} arası vibrasyon gerilme O-H (3274 cm^{-1}) ve aynı dalga sayısında -NH bağları ile üst üste gelmişlerdir. 2960-2850 cm^{-1} CH_2 (2908 cm^{-1}) simetrik gerilme. 1610-1550 cm^{-1} karbonil grubuna ait C=O asimetrik gerilme (1593 cm^{-1}), 1400 cm^{-1} de asit yapısında -COO simetrik gerilme (1412 cm^{-1}). 1150-1000 cm^{-1} arası aril yapıda C-O-C simetrik gerilme (1012 cm^{-1}) vardır.



Şekil 4.10: Silikaya ait FTIR spektrumu

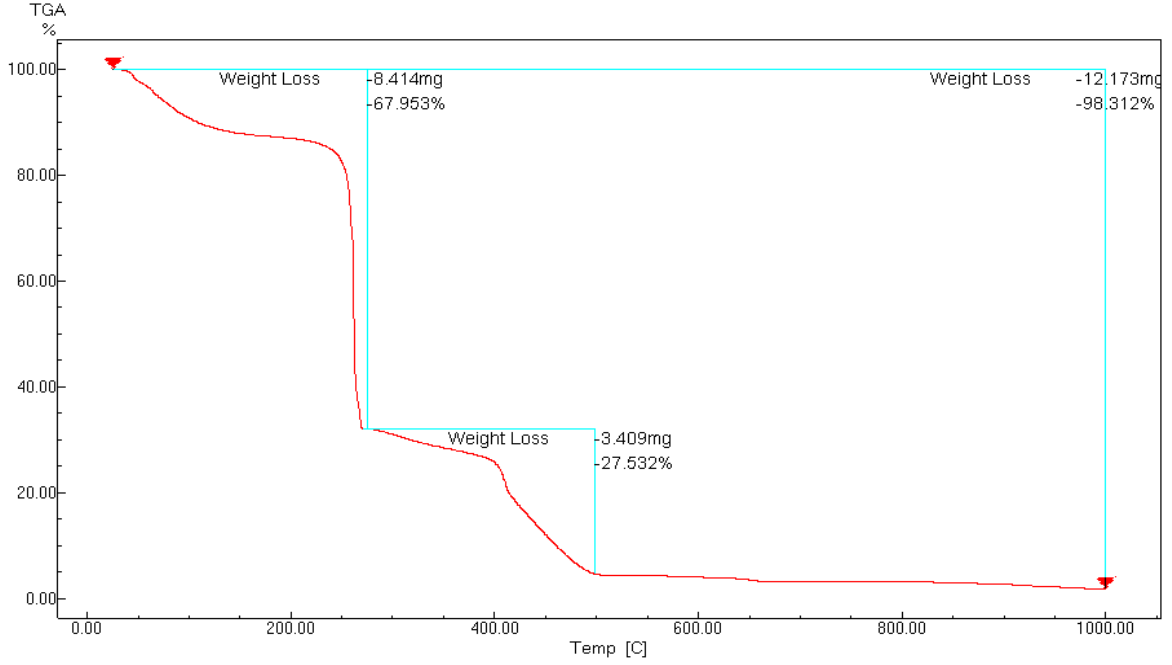
Şekil 4.10' da görülen silikaya ait FTIR spektrumuna göre; 1100-1000 cm^{-1} arası Si-O asimetrik titreşim (1060cm^{-1}), asimetrik Si-OH (975cm^{-1}) ve simetrik Si-O (795cm^{-1}) dir.



Şekil 4.11: Acacia Senegal/Fe-Silika örneğinin FTIR spektrumu

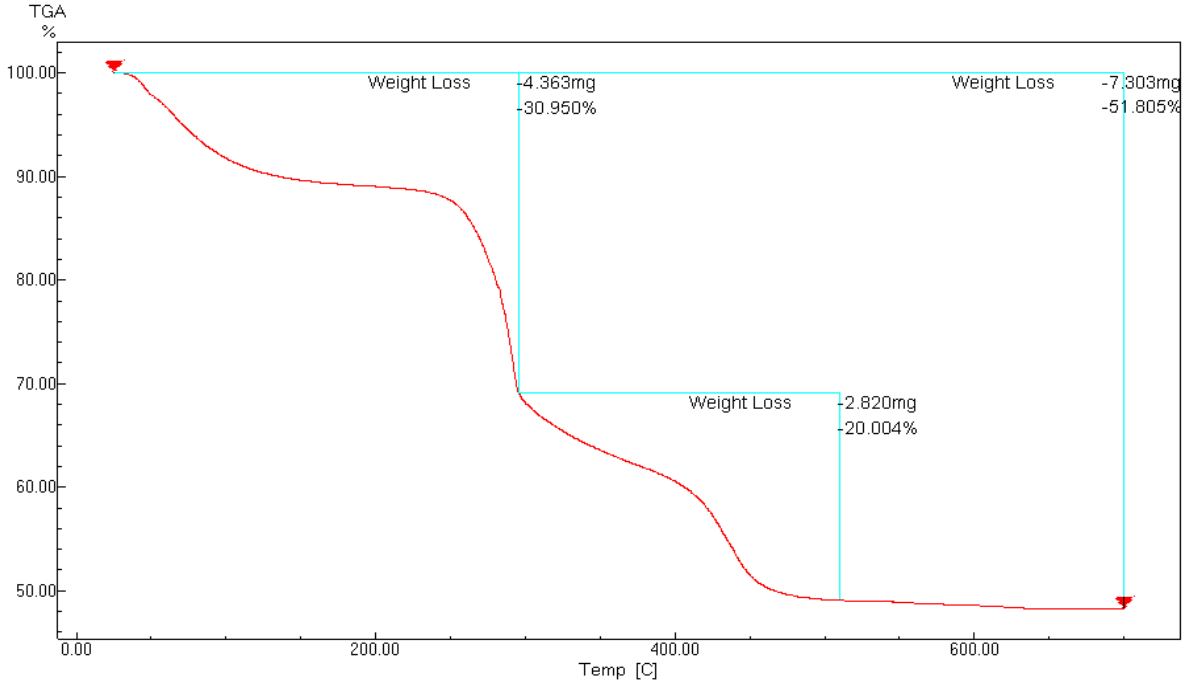
Şekil 4.11’ te görülen Fe⁰ katılmış Acacia Senegal/Silika örneğine ait FTIR spektrumuna göre 1610-1550 cm⁻¹ asit yapısı -COO asimetrik gerilme (1593cm⁻¹) yapı 1632cm⁻¹ gelmiş ve pik oldukça küçülmüştür. 1412cm⁻¹ de asit yapısında -COO simetrik gerilme 1328cm⁻¹ kaymış ve pik şiddetlenmiştir. Si-O yapısının belirgin pikleri metalik demirin ortama girmesiyle üçlü yapıda 808 ve 665 cm⁻¹ arasında oldukça düşük frekanslı asimetrik ve simetrik piklerin oluşmasına sebep vermiştir.

4.5. TERMOGRAVİMETRİK ANALİZİ (TGA) SONUÇLARI



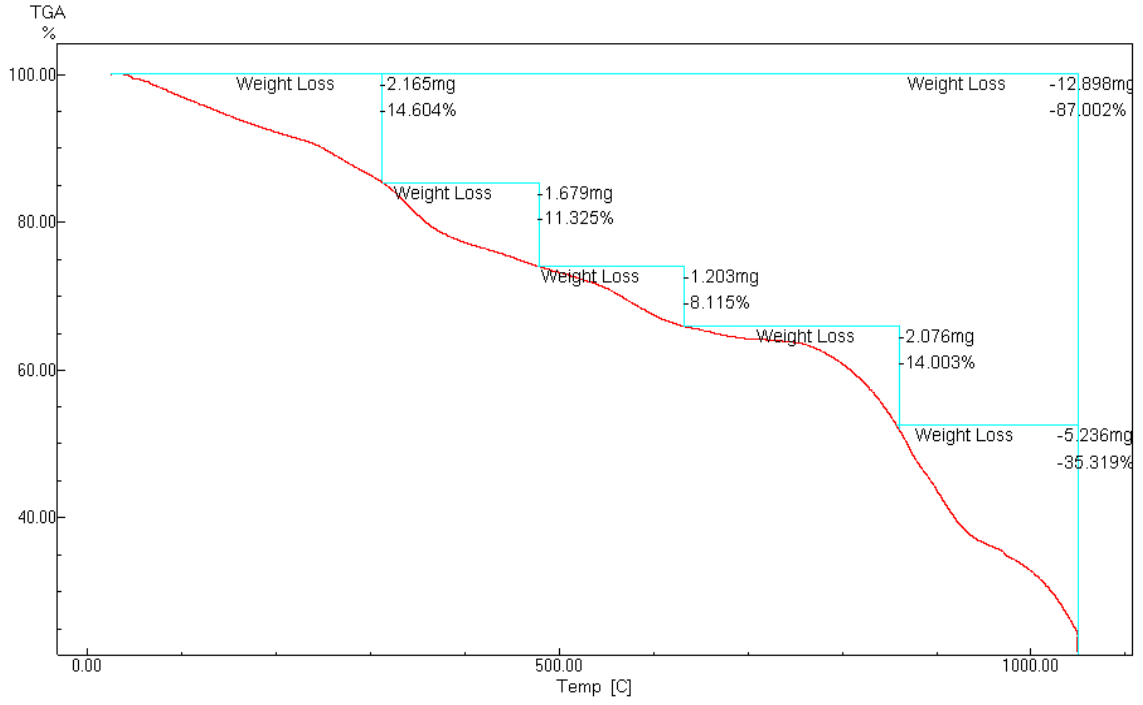
Şekil 4.12: Acacia Senegal biyopolimerinin termogravimetrik bozunma eğrisi

Acacia senegal biyopolimerinin termogravimetrik analizi 20-1000°C aralığında incelendiğinde, biyopolimerin iki adımda tamamının bozunabildiği görülmüş ve toplam ağırlık kaybı %98 olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.12’de verilen termogravimetrik eğride 20-275°C arasında olan birinci adımda çok hızlı bir bozunma gerçekleşerek ağırlık kaybının %68 olduğu görülmektedir. 275-500°C arasında olan ikinci adımda ise %28 değerinde daha düşük bir bozunma meydana gelmiştir. Sonuç olarak, 500-1000°C aralığında çok az (~%2) bir kütleli değişimin meydana gelerek ısıl işlem tamamlanmıştır.



Şekil 4.13: Acacia Senegal/Silikanın termogravimetrik bozunma eğrisi

Silika ve Acacia Senegal ile hazırlanan yeni nano-biyomalzemenin termogravimetrik analizi 20-700°C aralığında incelendiğinde, biyopolimerin iki adımda bozunabildiği görülmüş ve toplam ağırlık kaybı %52 olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.13’de görüldüğü gibi, analiz sonunda 20-300°C arasında olan birinci adımda ağırlık kaybı %31, 300-515°C arasında olan ikinci adımda ise %20 olarak belirlenmiştir. Biyomalzemenin termal bozunması 700°C’de tamamlanmıştır. Sonuç olarak, Acacia Senegal biyopolimerine ilave edilen silika katkısı ile bozunma sıcaklıkları daha yüksek değerlere kaymış ve termal kararlılık artmıştır.



Şekil 4.14: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin termogravimetrik bozunma eğrisi

Demir bağlanmış silika ve Acacia senegal ile hazırlanan yeni nano-biyomalzemenin azot atmosferinde yapılan termogravimetrik analizi 20-1050°C aralığında incelendiğinde, biyopolimerin beş adımda bozunabildiği görülmüş ve toplam ağırlık kaybı %87 olarak hesaplanmıştır. Bozunma adımlarında, arka arkaya yapıdaki kristal su ve bazı organik kısımların ayrıldığı anlaşılmaktadır. Şekil 4.14'deki bozunma eğrisinden 1050°C'den sonrada halen bozunmanın devam ettiği anlaşılmaktadır. Bu da hazırlanan malzemenin ısıl kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Başka bir deyişle, biyopolimer yapısına ilave edilen demir termal dayanıklılığı silika katkılı biyopolimere göre oldukça arttırmıştır. Ayrıca, analiz sonrası platin krozede kok oluşumuna ve yapısal herhangi bir kirliliğe rastlamamıştır.

4.6. ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE TESTİ SONUÇLARI

4.6.1. Antibakteriyel Özelliğin Zone İnhibisyon Testi

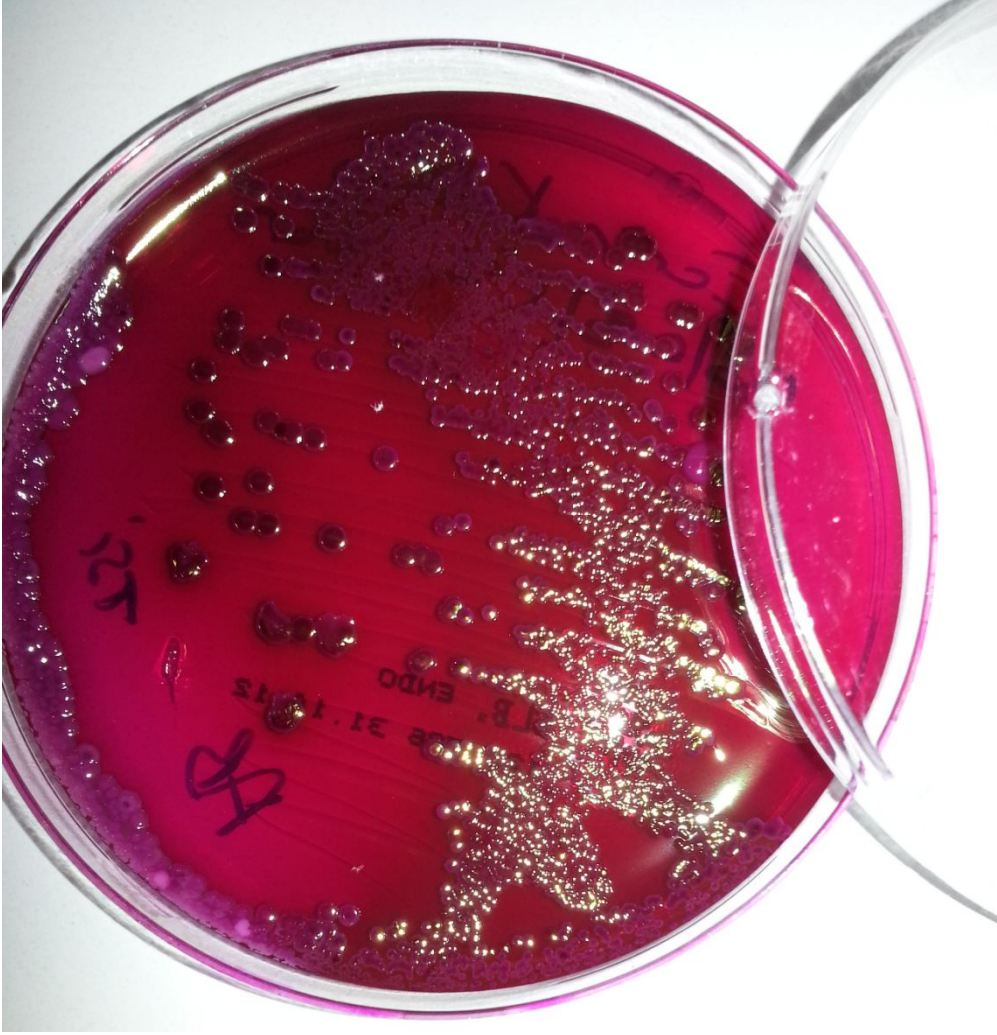
Acacia Senegalın doğal hali ile Fe^0 ve silika kullanılarak elde edilen yeni nano biyomalzemenintoz halindeki görüntüleri Şekil 4.15'te verilmiştir. Bu malzemenin antibakteriyel özelliği bakteri kültürü üzerinde zone inhibisyonu ile test edilmiştir. Bunun için gerekli sarf malzemeleri örneğin, pamuklu eküvyon çubuğu ve taşıma besiyeri içeren tüpten oluşan kullanımahazır, steril bakteriyolojik ürünler kullanılmıştır. Besiyerli Kültür Tüpü, analiz edilecek bölgelerden örnek alınmasını, alınan örnekteki kültürün uzun süre canlılığını kaybetmeden muhafazasını ve uygun koşullarda taşınmasını sağlar (Şekil 4.16).

Yeni malzemenin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine etkisi incelenmiştir. Bunun için, çeşitli materyallerden (idrara, cerahat, apse) çukolata agar, koyun kanlı agar, Muller Hinton, Endo ve EMB agarlara kültür için ekim yapılarak saf *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri kolonileri elde edildi (Şekil 4.17-4.19). Elde edilen bakteriler iki ayrı Müller hinton besiyerine pasaj yapılarak birinci petriye A maddesi (Acacia Senegal) ikinci petriye B maddesi (Acacia Senega/Fe-Silika) petrilerin ortasına 8x8 mm'lik alana yerleştirildi. Petriler 37°C'ta etüvde bekletilerek bir gün sonra gerçekleşen etkiler izlendi. 24 saat sonra A maddesinin bulunduğu yer ve çevresinde bakterinin (*E.coli*) ürediği görülmüştür (Şekil 4.20). 24 saat sonra B maddesinin petrisinde bakteri ürediği ancak petrinin ortasında B maddesinin bulunduğu yer ve çevresinde bakterinin (*E.coli*) üremediği görüldü (Şekil 4.21-4.24). B maddesi petrinin ortasında bakterinin üremesinin durdurulduğu ve her geçen gün maddenin çevresindeki bakterilerin daha fazla yok olduğu bir hafta sonra maddenin çevresindeki zon çapının yaklaşık 30x30 mm'ye ulaştığı görülmüştür (Şekil 4.24).

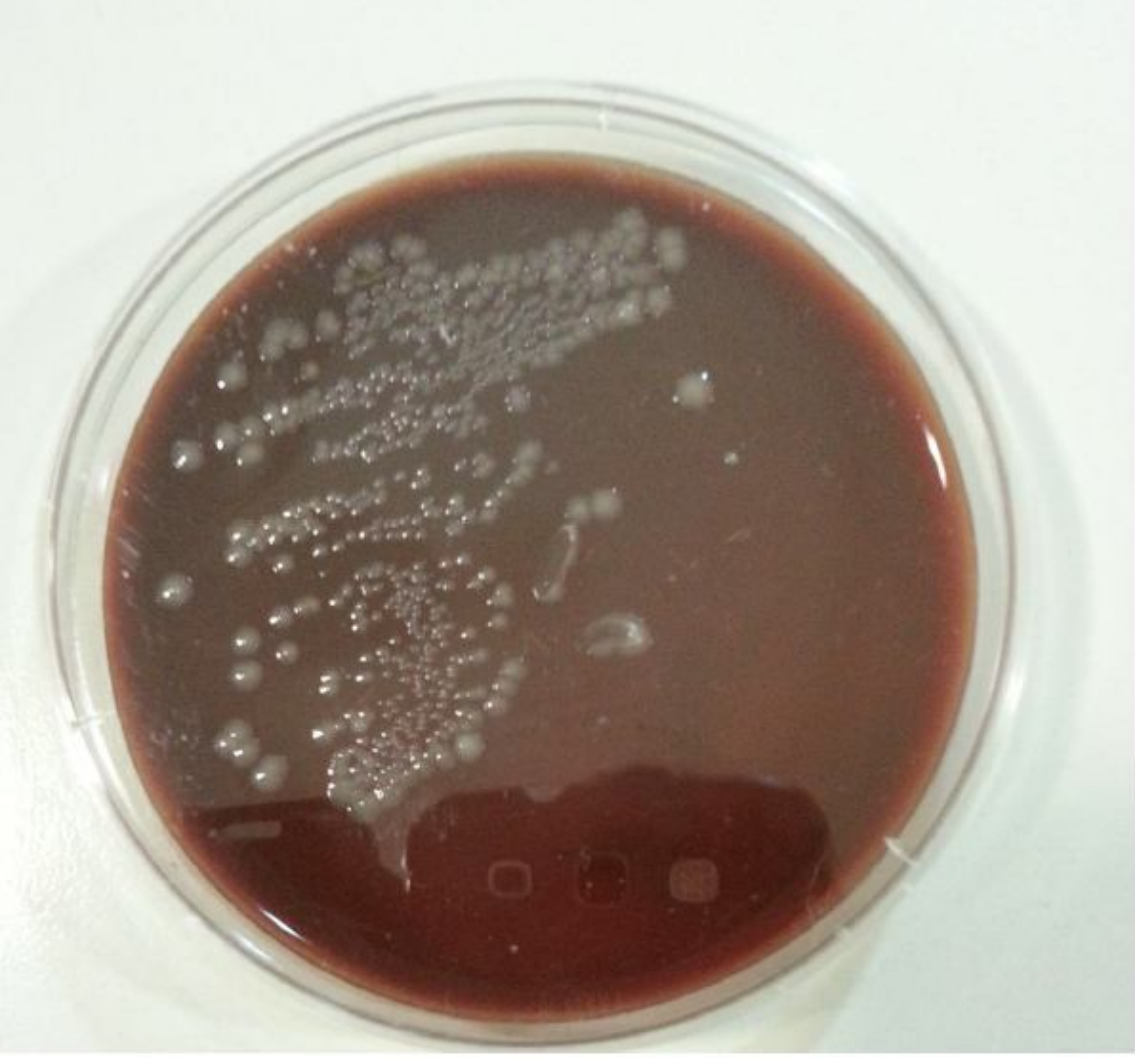
S. aureus bakterisi kolonisi için ortam çalışmaları yapılmıştır (Şekil 4.25-4.26). A maddesi için ekim yapıldıktan 24 saat sonra ekim yerinde bakterinin ürediği görülmüştür (Şekil 4.27). B maddesi ekim yapıldıktan 24 saat sonra ekim yerinde üreme olmadığı ve 72 saat sonra bakterisiz alan çapının büyüdüğü gözlenmiştir (Şekil 4.28-4.30).



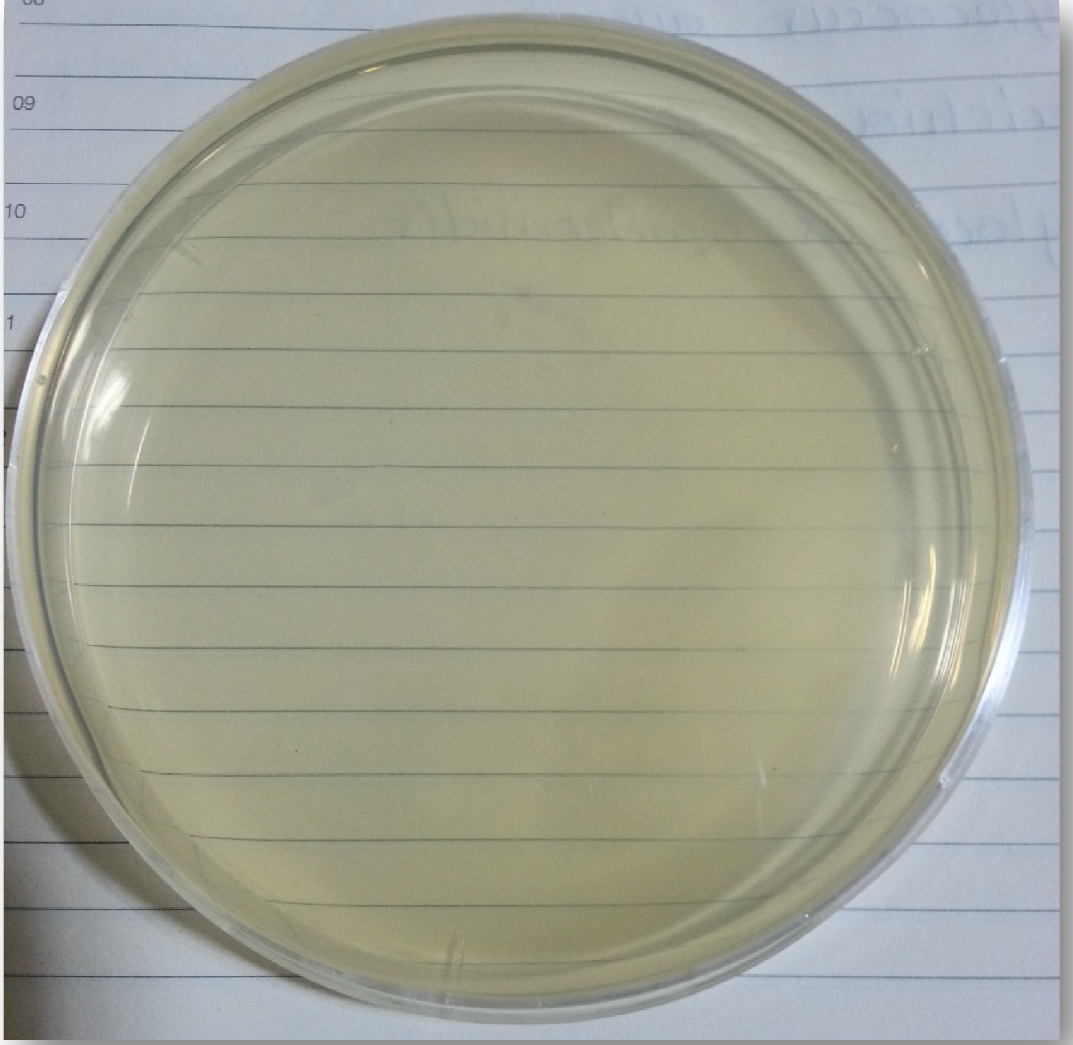
Şekil 4.15: Acacia Senegal (A tüpü), Acacia Senegal/ Fe-Silika (B tüpü)



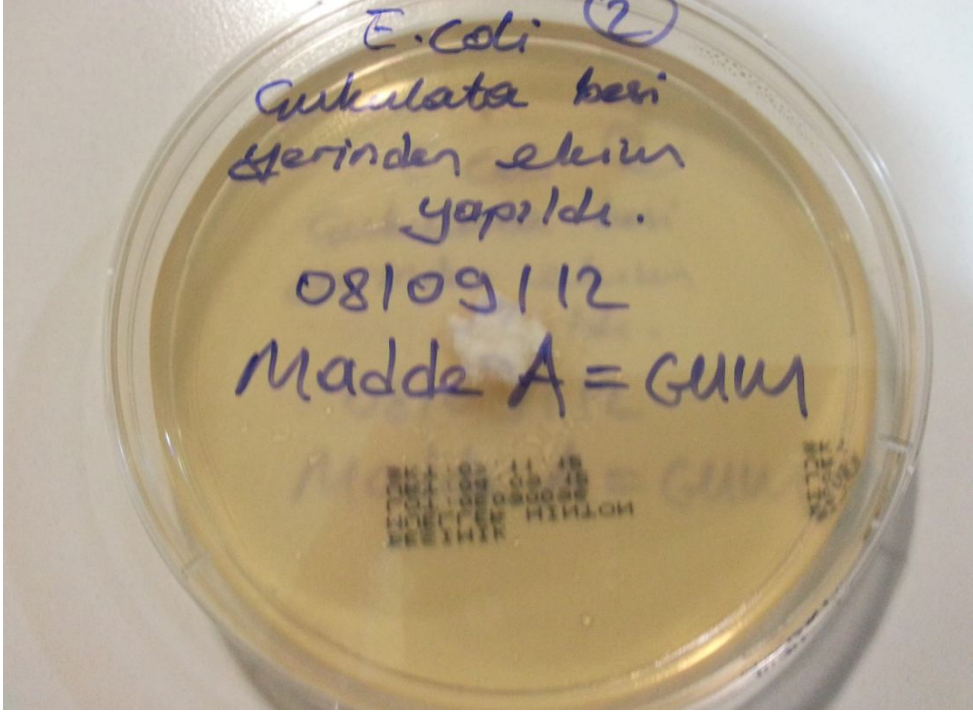
Şekil 4.17: Endo besiyerinde *E.coli* bakteri kolonileri



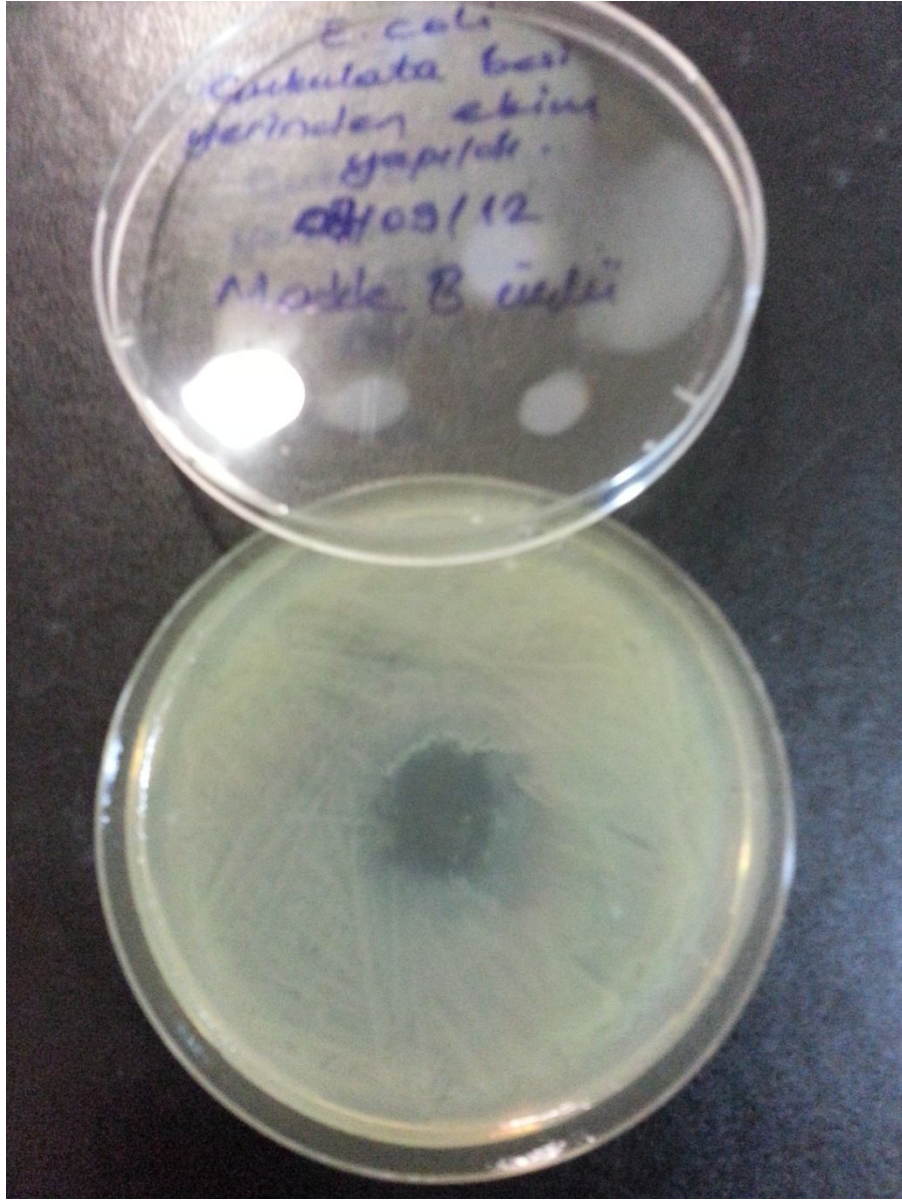
Şekil 4.18: Çukulatamsı Agar besiyerinde *E.coli* bakteri kolonileri



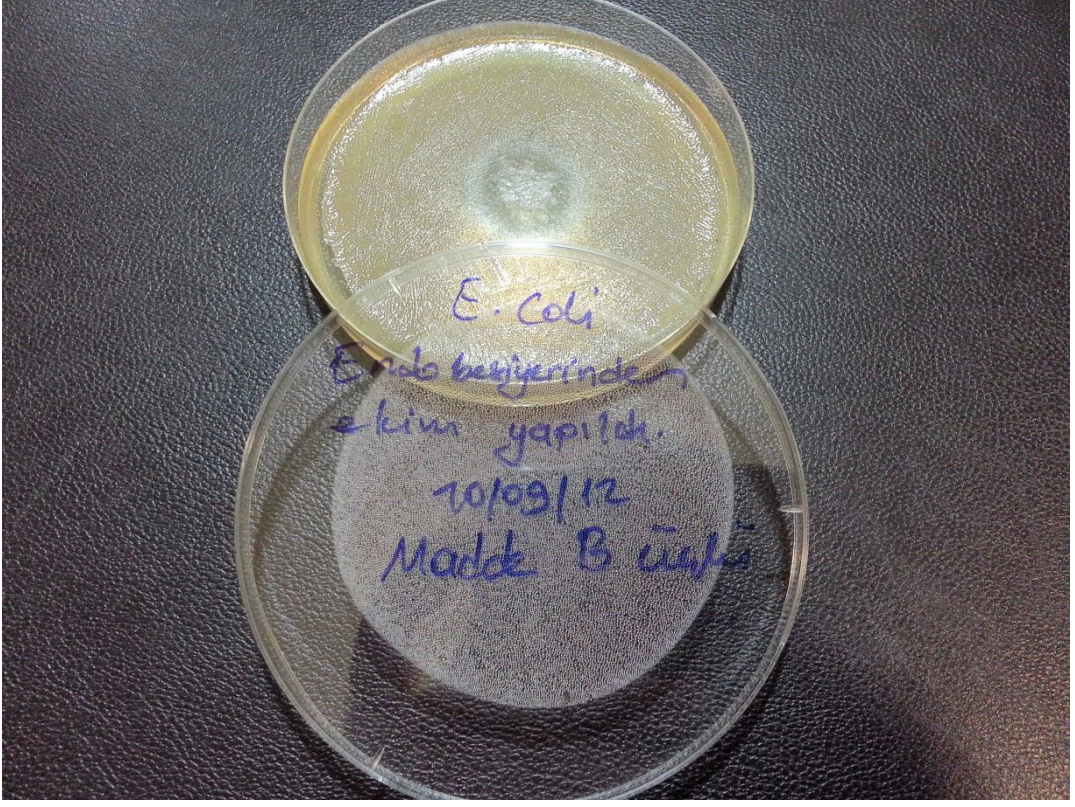
Şekil 4.19: Steril besiyeri Muller Hinton



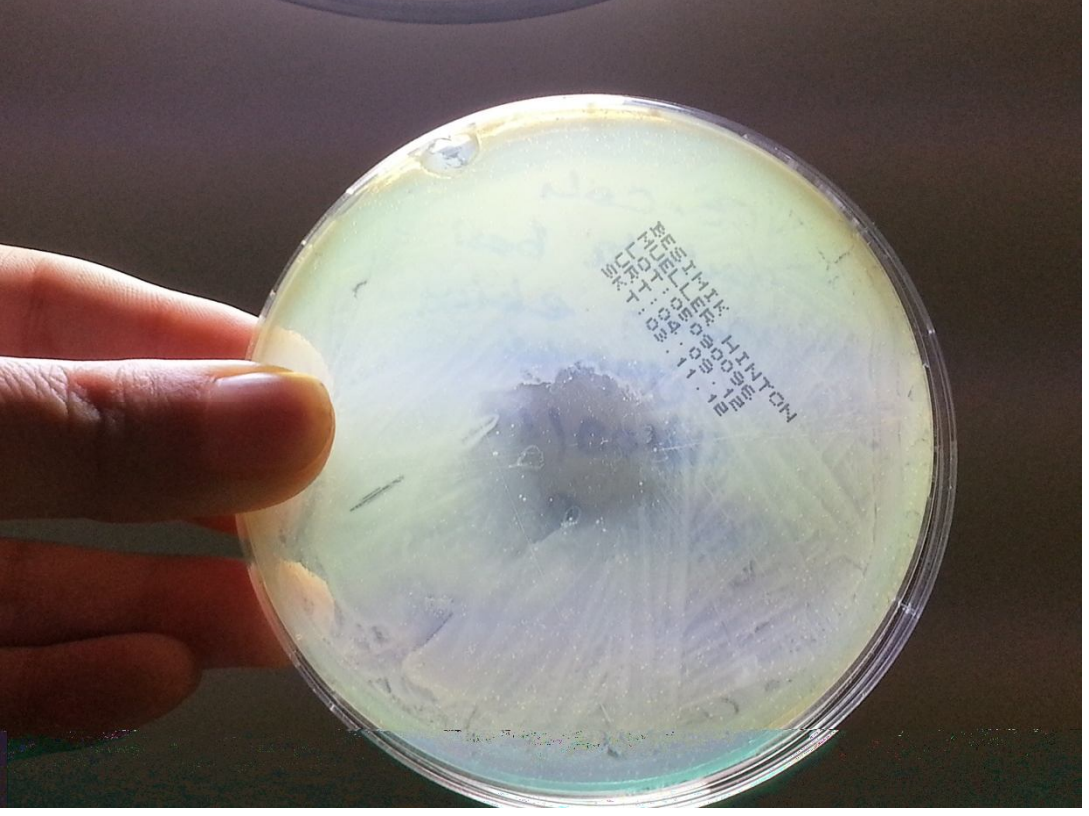
Şekil 4.20: Acacia Senegal'in çikolata besisi yerinde büyüyen *E. coli*'ye ekim yapıldıktan sonra



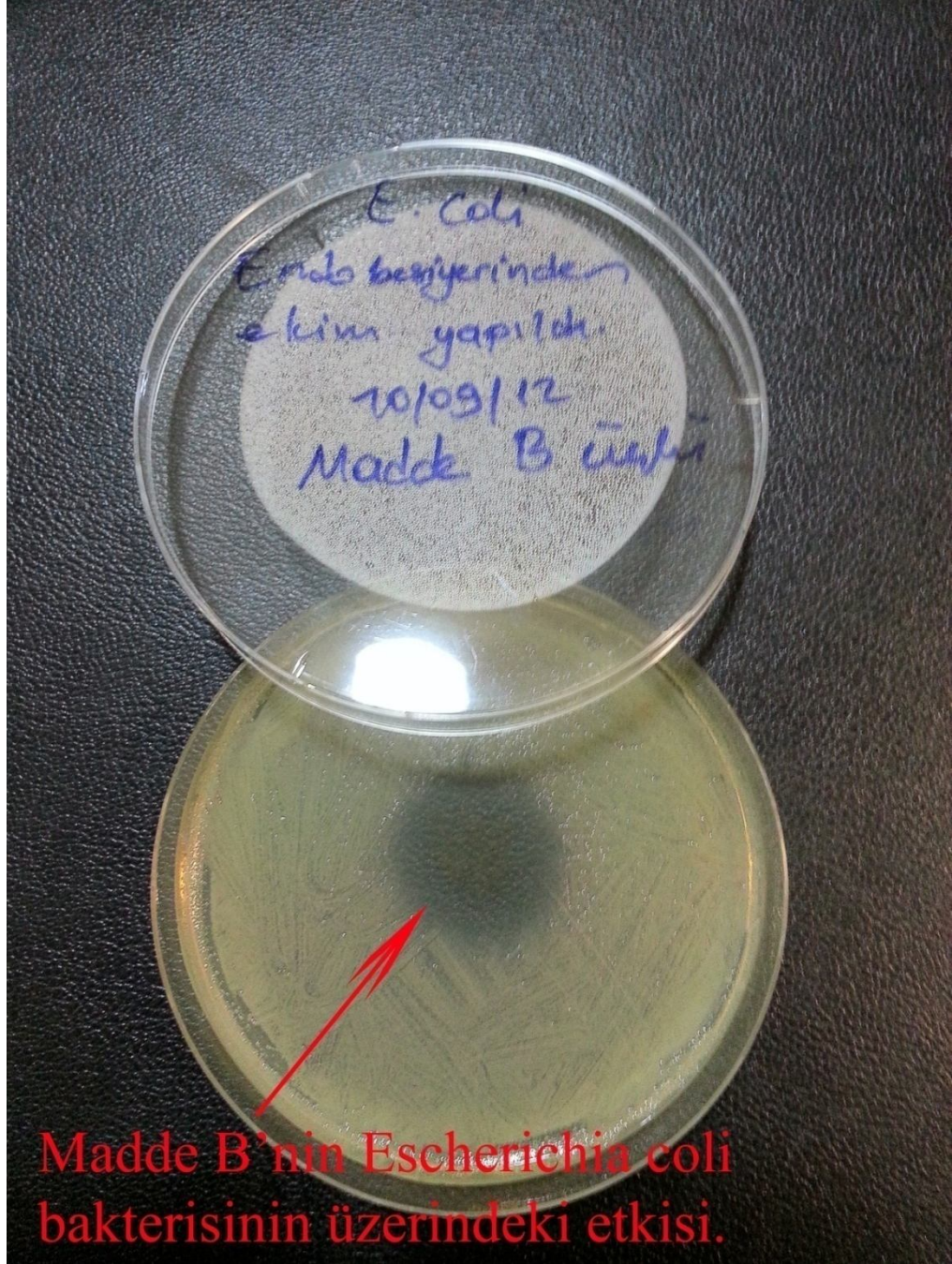
Şekil 4.21: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin çokolata besi yerinde büyüyen *E. coli*'ye ekim yapıldıktan sonra



Şekil 4.22: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin endo besiyerinde büyüyen *E. coli*'ye ekim yapımı



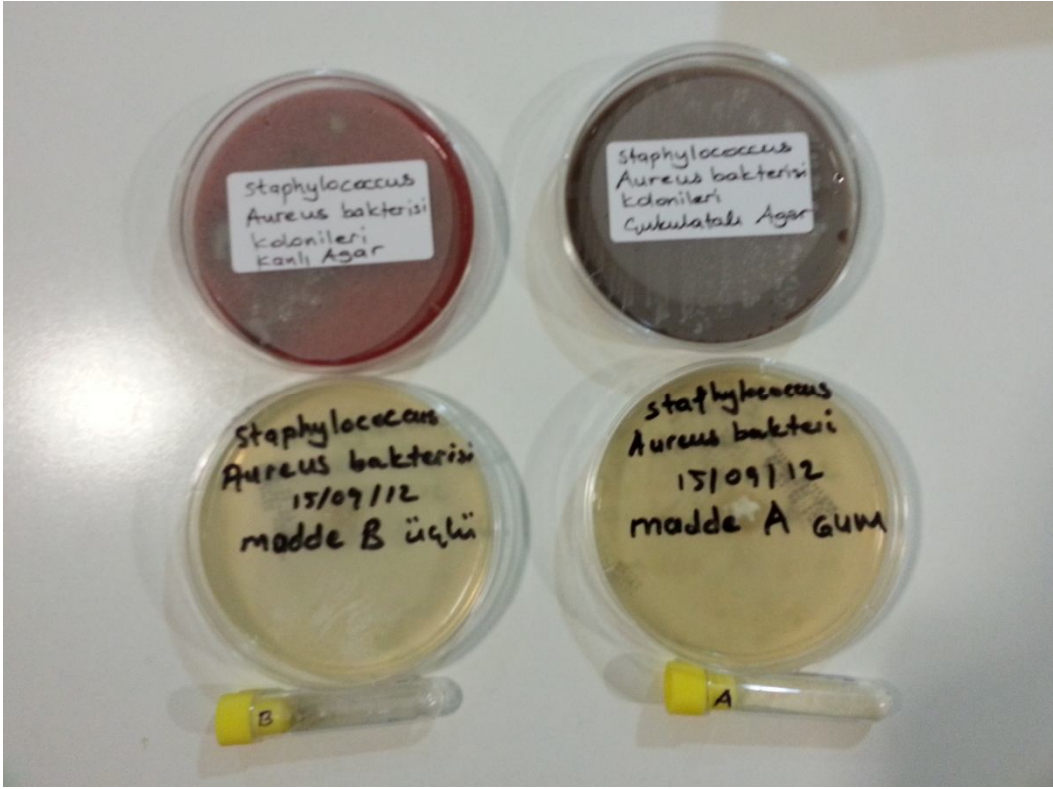
Şekil 4.23: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin Muller Hinton besiyerinde büyüyen *E. coli*'ye ekim yapıldıktan 72 saat sonra



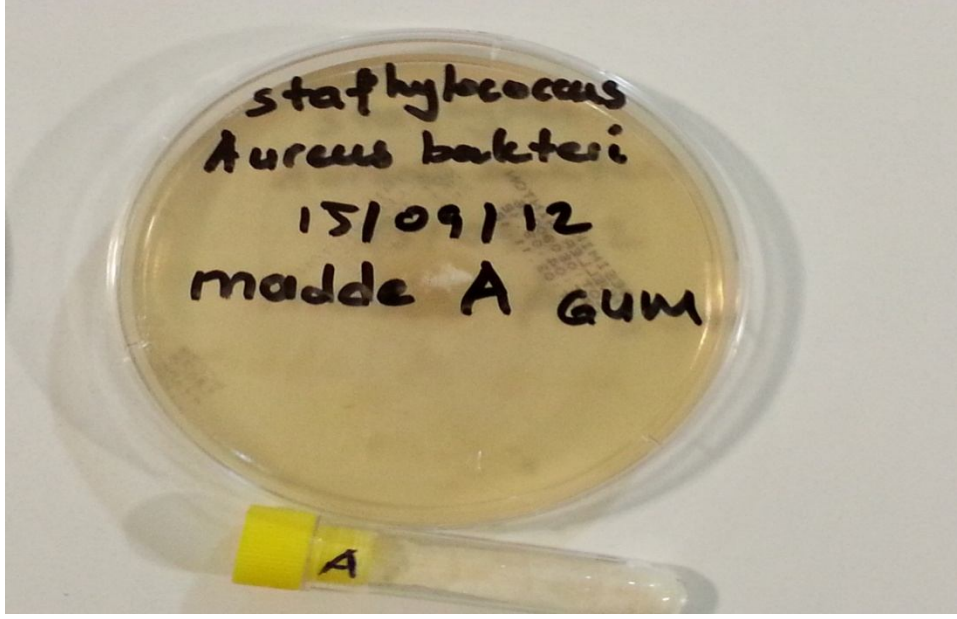
Şekil 4.24: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin endo besiyerinde büyüyen *E. coli*'ye ekim yapıldıktan 72 saat sonra



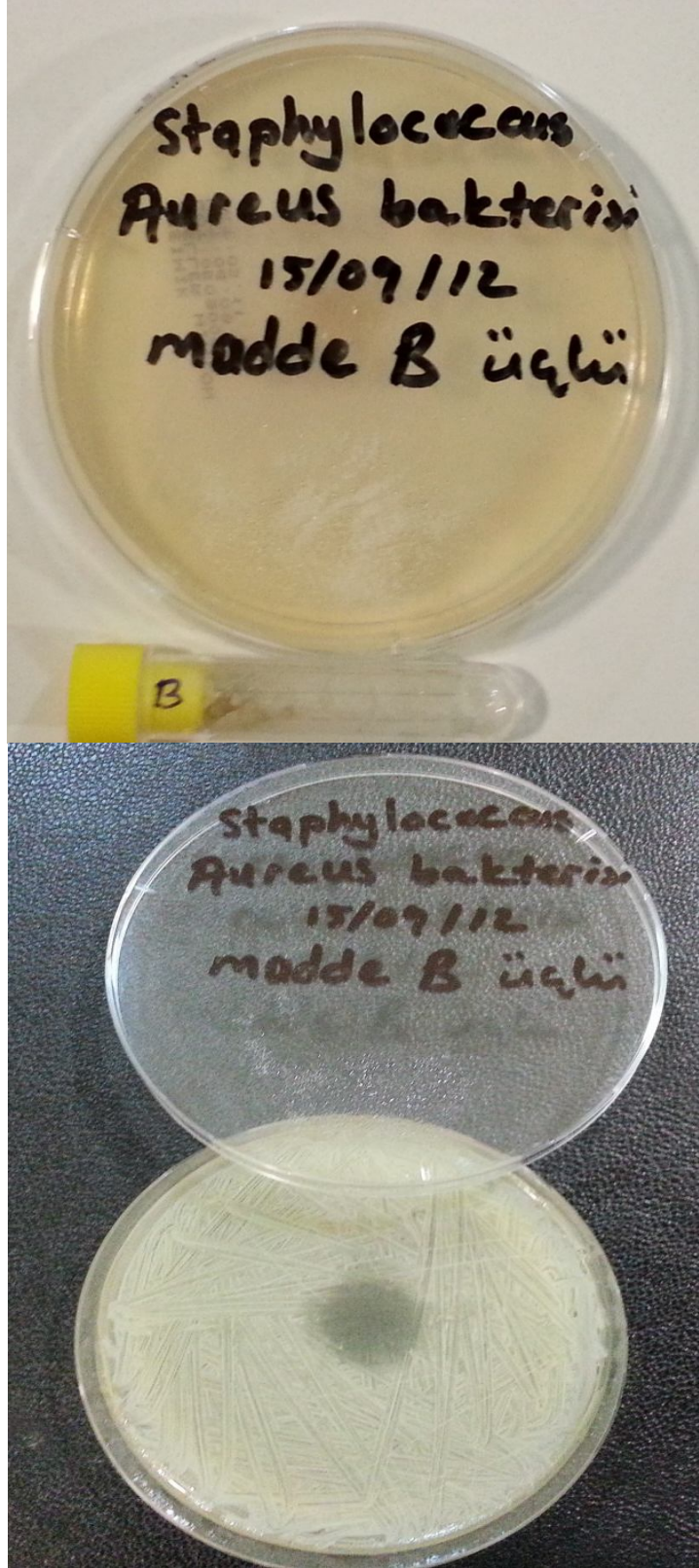
Şekil 4.25: *S. aureus* bakteri kolonileri çukalatalı agar ortamı ve kanlı agar ortamı



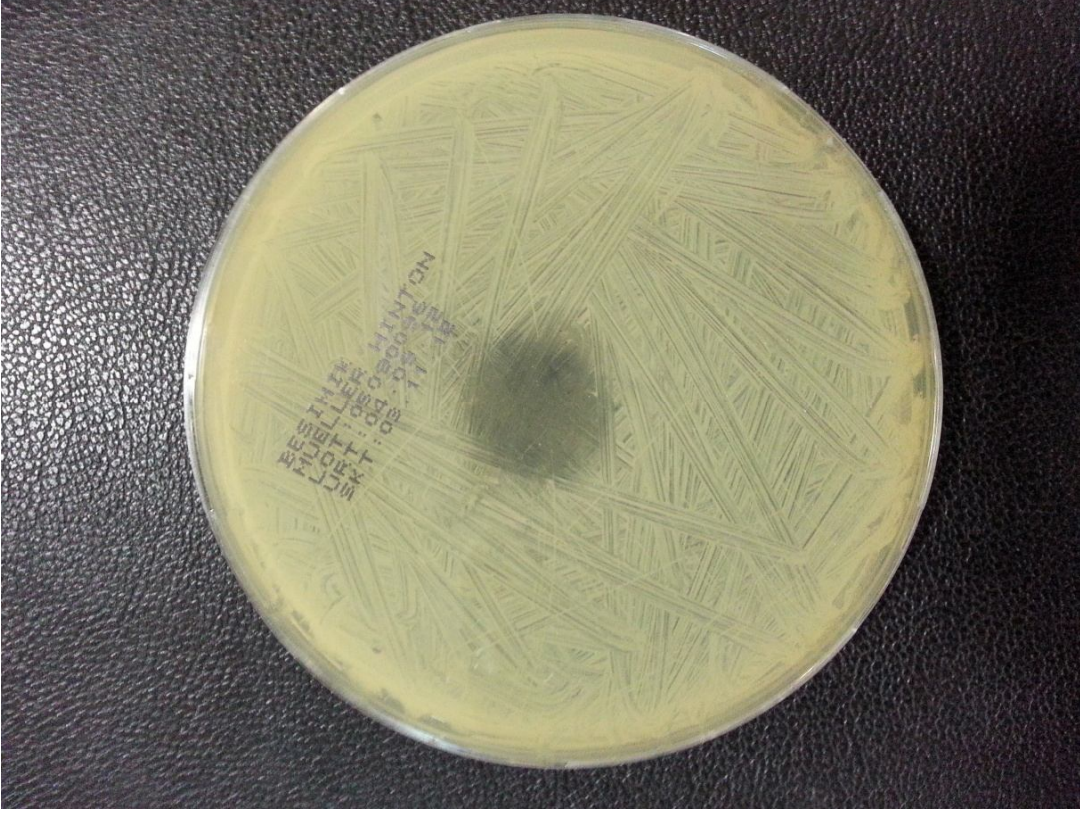
Şekil 4.26: *S. aureus* bakteri kolonileri çukalatalı agar ortamı ve kanlı agar ortamında Acacia Senegal ve Acacia Senegal/Fe-Silica



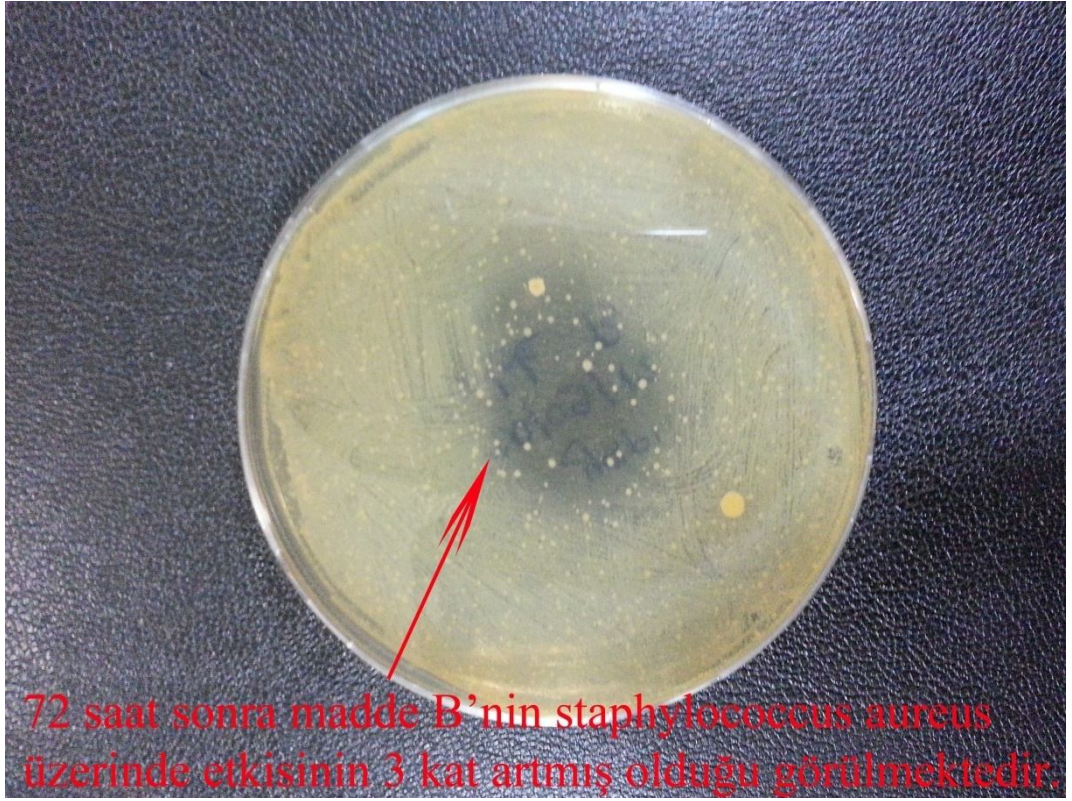
Şekil 4.27: Çukalatalı agar ortamında büyüyen *S. aureus* bakteri kolonilerine Acacia Senegal ekimden sonra



Şekil 4.28: Çokalatalı agar ortamında büyüyen *S. aureus* bakteri kolonilerine Acacia Senegal /Fe-Silika ekimi



Şekil 4.29: Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin Muller Hinton besiyerinde büyüyen *S. aureus* bakteri kolonilerine ekimi yapıldıktan sonra



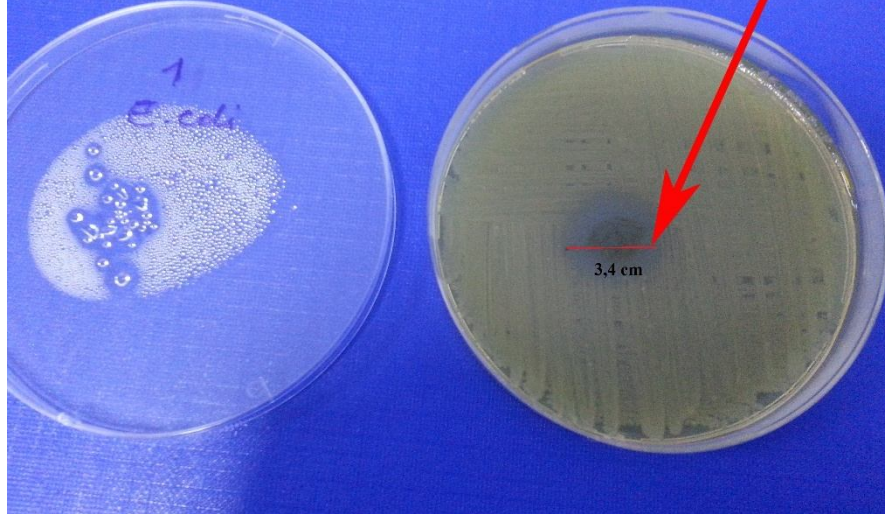
Şekil 4.30: Çukalatalı agar ortamında büyüyen *S. aureus* bakteri kolonilerine Acacia Senegal /Fe- Silika ekimi yapıldıktan 72 saat sonra etkisi

4.6.2. Antibakteriyel Özelliğin Acacia Senegal /Fe-Silika Miktarına Bağlı Değişimi

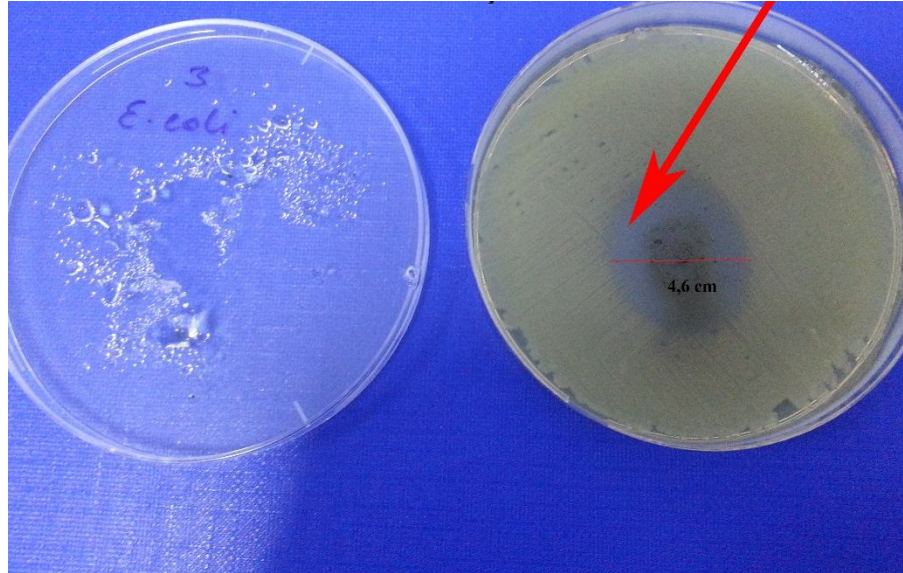
Yeni malzemenin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine etkisi madde miktarına bağlı incelenmiştir. Bunun için madde miktarları 0,01 gram ve 0,05 gram olarak çalışılmıştır. 72 saat sonra B maddesinden (Acacia Senegal/Fe-Silika) 0,01 gram içeren petride bakteri ürediği ancak petrinin ortasında B maddesinin bulunduğu yer ve çevresinde bakterinin (*E.coli*) üremediği ve Şekil 4.31 de zone çapının 3,4 cm olduğu görülmüştür. B maddesi 0,05 gram içeren petride 72 saat sonra bakteri ürediği ancak petrinin ortasında bakterinin üremesinin olmadığı ve zon çapının yaklaşık 4,6 cm ulaştığı görülmüştür (Şekil 4.32).

S. aureus bakterisi kolonisi için de aynı prosedür uygulanmıştır. Şekil 4.33'te B maddesi için 0,01 gram ekim yapıldıktan 72 saat sonra ekim yerinde bakterinin

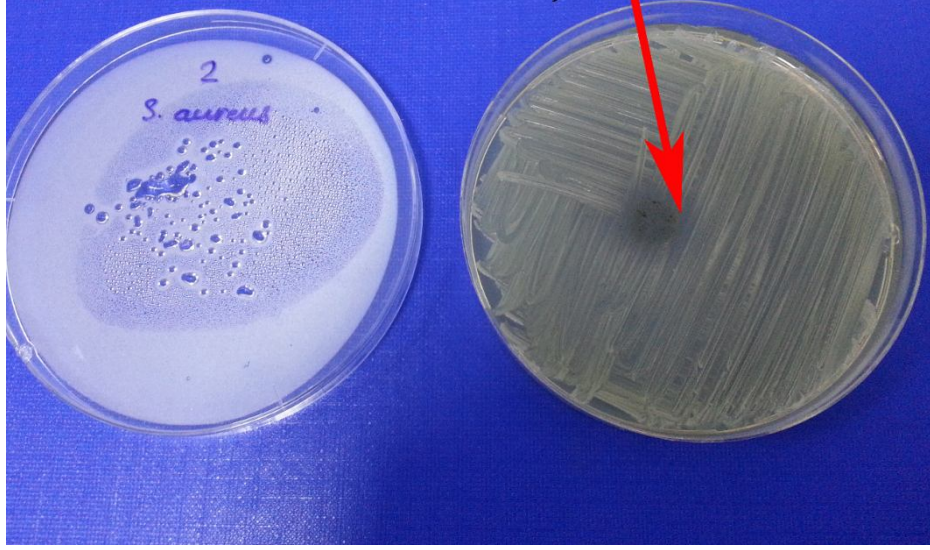
üremediği ancak etkinin az olduğu görülmüştür. B maddesinin 0,05 gramının 72 saat sonra ekim yerinde üreme olmadığı ve geçen süre zarfında bakterisiz alan çapının 4,0 cm olduğu görülmüştür (Şekil 4.34).



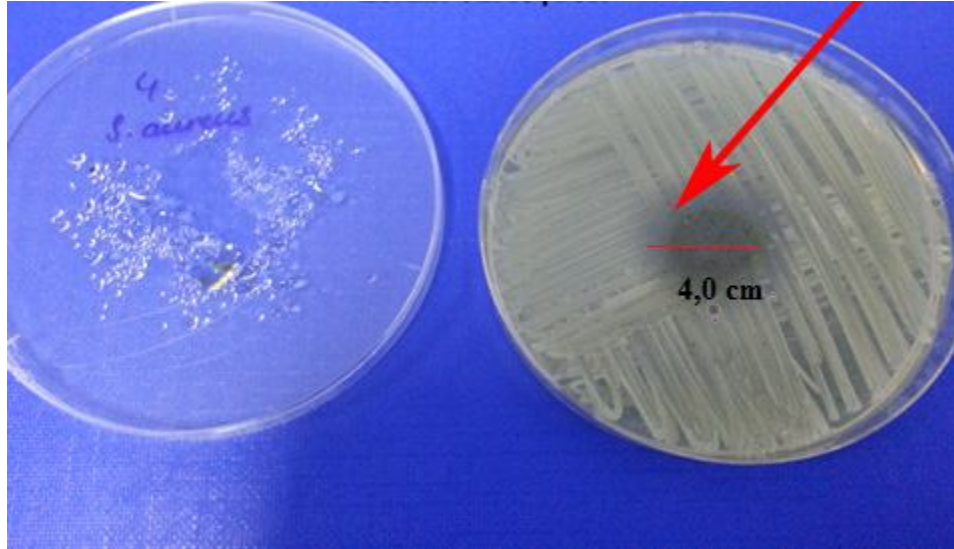
Şekil 4.31: 0,01 gram Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin *E. coli* besiyerine ekim yapıldıktan 72 saat sonra



Şekil 4.32: 0,05 gram Acacia Senegal/Fe-Silika nano-biyomalzemesinin *E. coli* besiyerine ekim yapıldıktan 72 saat sonra



Şekil 4.33: 0,01 gram Acacia Senegal /Fe-Silika *S. aureus* besiyerine ekimi yapıldıktan 72 saat sonra



Şekil 4.34: 0,05 gram Acacia Senegal /Fe-Silika *S. aureus* besiyerine ekimi yapıldıktan 72 saat sonra

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

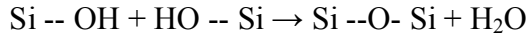
Çevreye dost malzemeler üretmek ve doğayı korumak, insanoğlunun önemli bir sorumluluğudur. Bu amaçla, gelişmiş özelliklere sahip yeni malzemeler hazırlamak için çeşitli biyopolimerler tercih edilir. Ancak her ne kadar stabilizasyon açısından başarılı matriks görevi görseler de, biyopolimerlerin mekanik ve fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Araştırmacılar, biyopolimer içerisine az miktarda bir inorganik dolgu maddesinin, homojen bir şekilde dağılımıyla bunu başarmışlardır (Akhilesh K. G.,ve diğ., 2013). İyileştirilen mekanik özelliklerden kastedilen fiziksel dış streslere dayanıklılıktır.

Bu çalışmada, toksik olmayan ve biyobozunabilir bir biyopolimer olan Acacia Senegal matriks yapı ve stabilizatör olarak kullanılmıştır. Yapının içerisine, dolgu maddesi olarak silika homojen olarak dağıtılmak suretiyle eklenmiştir. Son olarak ta sıfır değerlikli demir (Fe^0) yapıya katılarak amaçlanan antibakteriyel etki sağlanmıştır.

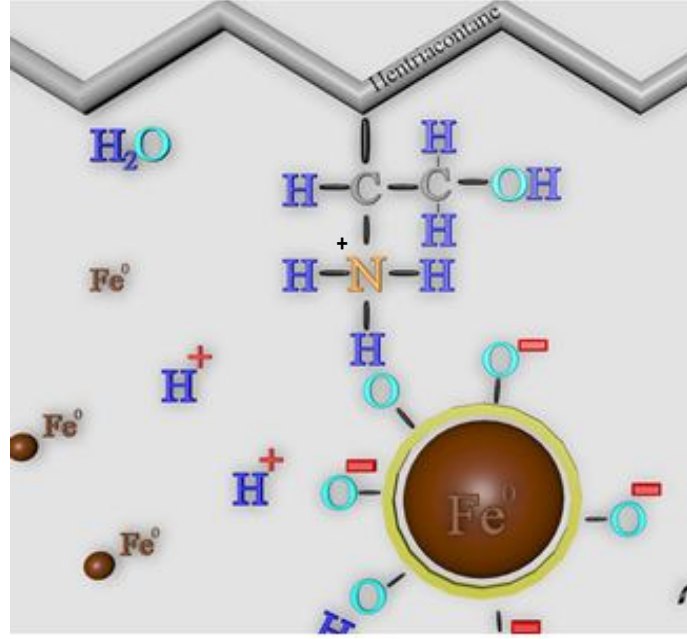
Hem normal yüzey hem de 30 saniye 1000 eV'luk argon iyonları ile aşındırıldıktan sonra ki yüzeye ait XPS spektrumlarında pik şiddetleri farklıdır (Şekil 4.1).Argon iyonları ile aşındırılan tabakanın kalınlığı yaklaşık 0,5-3 nm civarındadır. Acacia Senegaldeki karbona ait bölgede pikler dörde ayrılır. 285,0 eV'ta alifatik karbon, 286,5 eV'ta eterik/amin karbon(C-O/C-N), 288,2 eV'ta karbonil karbonu ve 289,4 eV'ta karboksil karbonudur. Silisyum 102,1 eV'ta $2p_{3/2}$ ile tek dublete ayrılmıştır. Demir 711,2 eV' ta Fe^{2+} ya ait zayıf $2p_{3/2}$ piki gösterir. 1000 eV argon iyonları ile 30 saniye boyunca hafif aşındırma sonrası karbon şiddetinde düşüş gözlenmiştir. Si $2p_{3/2}$ piki 102,5 eV'a kaymış ve şiddetlenmiştir. Demire ait piklerin şiddeti oldukça artmıştır. Pik maksimumu 710,7 eV'ta ve zayıf bir uydu (satellite) pik te 716,2 eV'ta Fe^{2+} 'nin varlığını gösterir. Bu, sıfır değerlikli demir nano taneciklerin yüzeyinin oksidasyonundan dolayıdır (Sun, YP.,ve diğ., 2006).

Şekil 4.3'te d mesafesi belirlenmiş keskin pikler, Acacia Senegal/Fe-silika numunesindeki kristal yapılı Fe^0 aittir. $2\theta=45,6^\circ$ deki pik Fe^0 'ın $2\theta=26,6$ ve $31,9^\circ$ Fe^{2+} 'nin varlığını gösterir (Yuvakkumar R.,ve diğ., 2011). Piklerin şiddetinden Fe^0 ile Fe^{2+} 'nin rölatif miktarlarından fikir edinilebilir.

Yapıyı biraz güçlendirmek için içerisine katılan ve nano boyutta silika kürecikleri aynı zamanda, Fe^0 'in daha homojen dağılmasına katkı sağlamıştır. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) tekniği kullanılarak inorganik fazın biyopolimer içerisinde dağılımı ve tanecik boyutu incelenmiştir. SEM görüntülerine göre silika taneciklerinde kümelenmeler olmuştur. Mikrometre mertebesine ulaşan bu kümeler, yüzeyi -OH grupları ile kaplı silikanın, sonikatör ile muamele esnasında, aşağıdaki reaksiyona göre birbirlerine bağlanmasıyla oluşmaktadır: (Enomoto N.,ve diğ., 1997).



Yüzey yükü nedeniyle silika tanecikleri enerjilerini en aza indirmek için çevrelerindeki silika tanecikleri ile birleşirler. Bunu engellemek için biyopolimer miktarının ayarlanması önemlidir. Küçük silika parçalarının yüzey hidroksi gruplarının deprotonasyonu (-OH gruplarından H kaybı) ile oluşan negatif yüklü uçlar, biyopolimerin yapısında pozitif gruplarla birleşebilir. Örneğin, biyopolimer içerisindeki amino gruplarına bağlanabilir. Sonuçta silika daha stabil hale geçerek kümelenme eğilimi azalır. Bu durumu XPS sonuçları desteklemektedir (Şekil 4.1). Karbona ait piklerin şiddetinde azalmanın yanında demire ait olanın artması, inorganik yapıdaki hidroksil gruplarının karbon amin ve karbonil bağlarına bağlandığı düşünülmektedir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1: Silika, Fe ve Acacia Senegal arasındaki olası etkileşim

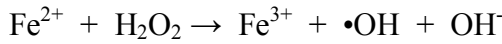
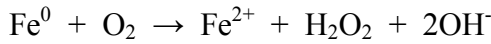
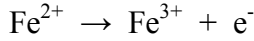
Silika kürecikleri sulu ortamda birbirleri ile etkileşerek makro topaklar oluşturabildikleri gibi aynı ortamda nanokürecikler şeklinde de yer alırlar (Akhilesh K.G., ve diğ., 2013). Bu çalışmada, aynı ortamda her ikisine de rastlanabilmesine rağmen küçük silika kürecikleri Fe^0 taneciklerinin dağılmasında önemli rol oynamıştır. SEM görüntülerinden Fe^0 ve silikanın homojen dağıldığı ve yaklaşık 40 nm altında beyaz renkli parçacıklar oluşturduğu gözlenmiştir.

Şekil 4.11' te görülen Fe^0 katılmış Acacia Senegal/Silika örneğine ait FTIR spektrumuna göre 1610-1550 cm^{-1} asit yapısı -COO asimetrik gerilme 1632 cm^{-1} gelmiş ve pik oldukça küçülmüştür. 1412 cm^{-1} de asit yapısında -COO simetrik gerilme 1328 cm^{-1} kaymış ve pik şiddetlenmiştir. Si-O yapısının belirgin pikleri metalik demirin ortama girmesiyle üçlü yapıda 808 ve 665 cm^{-1} arasında oldukça düşük frekanslı asimetrik ve simetrik piklerin oluşmasına sebep vermiştir.

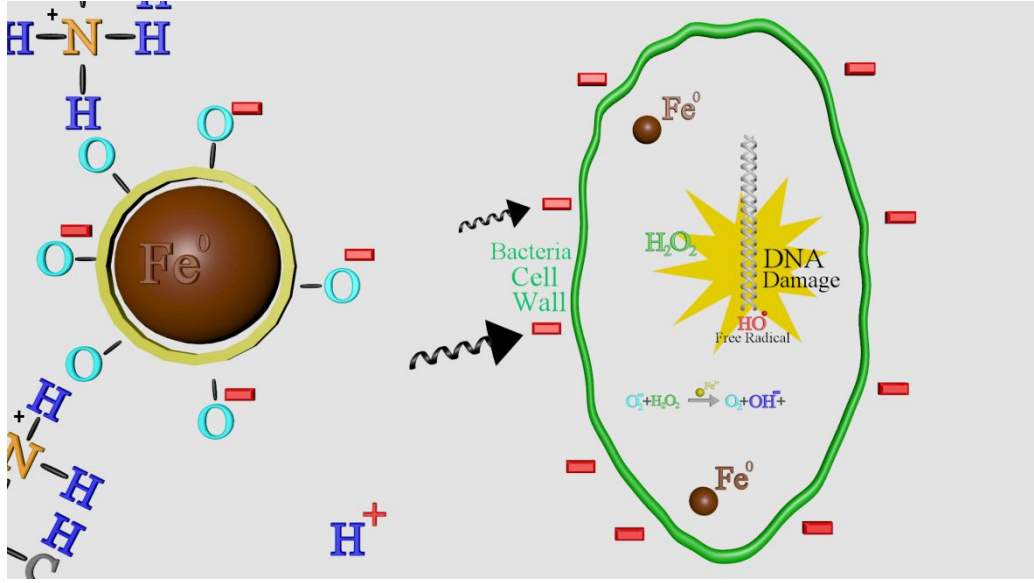
Hazırlanan yeni malzemenin, sıcaklık artışı karşısında, yapısında meydana gelen değişiklikler hakkında fikir edinmek için termogravimetrik analiz (TGA) sonuçları incelenmiştir. 12,4 mg örnek alınarak N₂ atmosferi altında 10 °C /dakika ısıtma hızı ile sıcaklık 20 °C'tan başlayarak 1000 °C' a kadar yükseltilerek yapılan TGA analizlerine göre, demir bağlanmış silika ve Acacia senegal ile hazırlanan yeni nano-biyomalzemenin azot atmosferinde yapılan termogravimetrik analizi 20-1050°C aralığında incelendiğinde, biyopolimerin beş adımda bozunabildiği görülmüş ve toplam ağırlık kaybı %87 olarak hesaplanmıştır. Bozunma adımlarında, arka arkaya yapıdaki kristal su ve bazı organik kısımların ayrıldığı anlaşılmaktadır. Şekil 4.14'deki bozunma eğrisinden 1050°C'den sonrada halen bozunmanın devam ettiği anlaşılmaktadır. Bu da hazırlanan malzemenin ısıl kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Başka bir deyişle, biyopolimer yapısına ilave edilen demir termal dayanıklılığı silika katkılı biyopolimere göre oldukça arttırmıştır. Ayrıca, analiz sonrası platin krozede kok oluşumuna ve yapısal herhangi bir kirliliğe rastlamamıştır.

Geliştirilen yeni nano biyomalzemenin hedeflenen etkin antibakteriyel özelliği, kültür ortamı üzerinde zone inhibisyon tekniği ile incelenmiştir. Bu çalışmada, hazırlanan yeni malzemenin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine etkisi incelenmiştir. Bunun için, çeşitli materyallerden(idrar, cerahat, apse) çukulata agar, koyun kanlı agar, Endo ve EMB agarlara kültür için ekim yapılarak saf *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri kolonileri elde edilmiştir. Elde edilen bakteriler iki ayrı Mülller hinton besiyerine pasaj yapılarak birinci petriye Acacia Senegal (etiket adı: A maddesi) ikinci petriye Acacia Senegal/Fe-silica nano biyomalzemesi (etiket adı: B maddesi) petrilerin ortasına 8x8 mm'lik alana yerleştirilmiştir. Petriler 37°C'ta etüvde bekletilerek bir gün sonra gerçekleşen etkiler izlenmiştir. 24 saat sonra B maddesinin petrisinde bakteri ürediği ancak petrinin ortasında B maddesinin bulunduğu yer ve çevresinde bakterinin (*E.coli*) üremediği görülmüştür. İkinci (B maddesi) petrinin ortasında bakterinin üremesinin durdurulduğu ve her geçen gün daha fazla maddenin çevresindeki bakterilerin yok olduğu bir hafta sonra maddenin çevresindeki zon çapının yaklaşık 30x30 mm'ye ulaştığı görülmüştür. Aynı şekilde ikinci petrideki (A maddesi) maddenin bakteriler üzerindeki etkisi gözlemlenerek B maddesine göre daha zayıf kaldığı görülmüştür. Petrinin ortasında sadece maddenin

olduğu alanın kısmen üremenin durdurulduğu görülmüştür. Bütün bunlardan çıkan nihai sonuç, *Acacia senegal*in içerisine katılan sıfır değerlikli Fe bakteriler üzerinde toksik etkide bulunmuştur. Ancak ortamda gereğinden fazla Fe toksik etkiye neden olabilir (Abdul-Tehrani H., ve diğ.,1999). Sıfır değerlikli demir nano boyutta oldukça reaktiftir. Özellikle biyolojik ortamlarda enzimler aracılığıyla yüksek toksititeye neden olabilmektedir. Demir hücrelerde oksijen alımındaki rolünden ve elektronların enzimler eşliğinde transferinden ötürü önemli bir elementtir. Ancak serbest demirin fazlası zararlı oksijen radikallerinin oluşmasına yol açar bu da, proteinlere ve nükleik asite zarar verir (Andrews N.C.,2005; Andrews, S.C., ve diğ., 2003). Lee ve arkadaşlarının rapor ettiğine göre, küçük Fe⁰ parçacıklarının *E.coli* membranlarından geçebilmesine bağlı olarak, *E.coli*'nin inaktivasyonu meydana gelmektedir (Lee C., ve diğ.,2008). Daha sonra içeri nüfuz eden Fe⁰, hücre içi ortamda oksijen ile tepkimesi sonucu oksidatif strese yol açar. Bu mekanizma ile yürüyen benzer sonuçlar ZnO ve MgO ile çapılan çalışmalarda da elde edilmiştir (Zhang L.,ve diğ., 2007; Makhluaf S., ve diğ., 2005). Sıfır değerlikli Fe'den oluşan elektronlar oksijene geçer bu da H₂O₂ oluşumu ile sonuçlanır (Pourrezaei P.,ve diğ., 2014).



Yukarıda 4 adımda belirtilen reaksiyona göre oluşan hidroksi radikallerinin bakteri DNA'sına verebileceği olası hasarın görüntüsü Şekil 5.2 de gösterilmiştir.



Şekil 5.2: Acacia Senegal/Fe-Silika ile bakteri arasındaki olası etkileşim

Sonuç olarak, elde edilen yeni nano-biyomalzemenin yapı karakterizasyonunda XRD, FTIR, XPS SEM ve TGA'dan elde edilen sonuçların birbirleri ile oldukça iyi uydukları ve yapıda $<40nm$ tanecik yapıya sahip Fe^0 nın Acacia Senegal/Silika biopolimerinde homojen dağılımı sağlanmıştır. Antibakteriyel etkisi incelendiğinde, gram-pozitif *S.aureus* ve gram-negatif *E.coli* bakterilerine karşı oldukça etkili olduğu bu doktora tez çalışmasında elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdul-Tehrani, H., Hudson, A.J., Chang, Y.S., Timms, A.R., Hawkins, C., Williams, J.M., Harrison, P.M., Guest, J.R., Andrews, S.C., 1999, Ferritin mutants of *Escherichia coli* are iron deficient and growth impaired, and fur mutants are iron deficient, *Journal of bacteriology*, 181(5) 1415-1428.
- Akhilesh, K.G., Christian, R., Chia-Jung, W., Burke, K.C., Gudrun, S., 2013, Photocrosslinked nanocomposite hydrogels from PEG and silica nanospheres: Structural, mechanical and cell adhesion characteristics, *Materials science and engineering C*, 33, 1800–1807.
- Anali'a, V. R., Leonardo, F.T., Silvia, E. J., 2014, Natural clinoptilolite–zeolite loaded with iron for aromatic hydrocarbons removal from aqueous solutions, *Journal material science*, 49:614–620.
- Anderson, D.M.W., Stoddart, J.F., 1966, Studies on uronic acid materials part XV: the use of molecular sieve chromatography in studies on Acacia senegal gum (gum arabic), *Carbohydrate research*, 2, 104-114.
- Andrews, S.C., Robinson, A.K., Rodriguez-Quinones F., 2003, Bacterial iron homeostasis, *FEMS microbiology reviews*, 27, 215-237.
- Andrews, NC., 2005, Molecular control of iron metabolism, *Best practice and research clinical haematology*, 18, 2, 159–169.
- Aranda, P., Darder, M., Ferná'ndez-Saavedra, R., Lo'pez-Blanco, M., Ruiz-Hitzky, E., 2006, Relevance of polymer– and biopolymer–clay nanocomposites in electrochemical and electroanalytical applications, *Thin solid films*, 495, 104 – 112.
- Arda, M., 2000, *Bakterilerde üremenin ölçülmesi*, Temel mikrobiyoloji; genişletilmiş ikinci baskı. Medisan Yayın Serisi, 46, 29 bölüm.
- Beveridge, T.J., Murray, R.G., 1980, Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*, *Journal of bacteriology*, 141, 876–887.
- Beveridge, T.J., Forsberg, C.W., Doyle, R.J., 1982, Major sites of metal binding in *Bacillus licheniformis* walls, *Journal of bacteriology*, 150, 1438–1448.
- Bhavesh, D.K, Ghanshyam,V., Joshi, H.M.M., Hari, C.B, 2011, Biopolymer–clay hydrogel composites as drug carrier: Host–guest intercalation and in vitro release study of lidocaine hydrochloride, *Applied clay science*, 52, 364–367.

- Bilotti, E., Zhang, R., Deng, H., Quero, F., Fischer, H.R., Peijs, T., 2009, Sepiolite needle-like clays for PA6 nanocomposites: An alternative to layered silicates, *Composites science and technology*, 69, 15-6.
- Branda, S., Vik, S., Friedman, L., Kolter, R., 2005, Biofilms: the matrix revisited, *Trends microbiology*, 13 (1): 20–26.
- Braun, V., Hantke, K., Köster, W., 1998, Bacterial iron transport: mechanisms, genetics, and regulation. In: Metal Ions in Biological Systems, Sigel, A. and Sigel, H., Eds., Marcel Dekker, New York, 35, 67-145.
- Casariogo, A., Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Cruz, L., Díaz, R., Vicente, A.A., 2009, Chitosan/clay films' properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles' concentrations, *Food hydrocolloids*, 23, 1895-902.
- Chen, H., Zheng, M., Sun, H., Jia, Q., 2007, Characterization and properties of sepiolite/polyurethane nanocomposites, *Materials science and engineering: A*, 445, 725-30.
- Chivrac, F., Pollet, E., Avérous, L., 2009, Progress in nano-biocomposites based on polysaccharides and nanoclays, *Materials science and engineering: R: reports*, 67 (1), 1-17.
- Churms, S.C., Merrifield, E.H., Stephen, A.M., 1983, Some new aspects of the molecular structure of Acacia senegal gum (gum arabic), *Carbohydrate research*, 123, 267-27.
- Corapcioglu, M.Y., Kim, S., 1995, Modeling facilitated contaminant transport by mobile bacteria, *Water resources research*, 31, 2648–2693.
- Cozic, C., Picton, L., Garda, M-R., Marlhoux, F., Le Cerf, D., 2009, Analysis of arabic gum: Study of degradation and water desorption processes, *Food hydrocolloids*, 23, 1930–1934.
- Daughney, C.J., Fein, J. B., 1998, The effect of ionic strength on the adsorption of H^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , and Cu^{2+} by *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*: a surface complexation model, *Journal of colloid and interface science*, 198, 53–77.
- Daughney, C.J., Fein, J.B., Yee, N., 1998, A comparison of the thermodynamics of metal adsorption onto two common bacteria, *Chemical geology*, 144, 161–176.
- Davey, M., O'toole, G., 2000, Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics, *Microbiology and molecular biology reviews*, 64 (4), 847–67.
- Donlan, R., 2002, Biofilms: microbial life on surfaces, *Emerging infectious diseases* 8 (9): 881–90.

- Donlan, R.M., Costerton, J.W., 2002, Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms, *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
- Enomoto, N., Maruyama, S., Nakagawa, Z., 1997, Agglomeration of silica spheres under ultrasonication, *Journal of materials research*, 12, 5, 1410-1415.
- Franchini, E., Galy, J., Gérard, J.F., 2009, Sepiolite-based epoxy nanocomposites: Relation between processing, rheology, and morphology, *Journal of colloid and interface science*, 329, (1), 38-47.
- Frédéric, J., Michel, L., Nicholas, L., Juan, T., Juan, H., Jean-Pol, D., 2011, Iron-based cathode catalyst with enhanced power density in polymer electrolyte membrane fuel cells, *Nature communications*, Volume:2, Article number:416 DOI:doi:10.1038/ncomms1427.
- Fortin, D., Ferris, F. G., Beveridge, T. J., 1997, Surface-mediated mineral development by bacteria, *Reviews in mineralogy and geochemistry* vol. 35, 161–180.
- Goodrum, L.J., Patel, A., Leykam J.F., Kieliszewski, M. J., 2000, Gum arabic glycoprotein contains glycomodules of both extensin and arabinogalactan-glycoproteins, *Phytochemistry* 54, 99-106.
- Huang, H., Yuan, Q., Yang, X., 2005, Morphology study of gold–chitosan nanocomposites, *Journal of colloid and interface science*, 282, 26-31.
- Huleihel, M., Pavlov, V., Erukhimovitch, V., 2009, The use of FTIR microscopy for the evaluation of anti-bacterial agents activity, *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology*, 96, 17–23.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Nair, S.V., Tamura, H., 2010, Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications, *Biotechnology advances*, 28, 142-50.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Reis, R.L, Mano, J.F., 2005, Graft copolymerized chitosan present status and applications., *Carbohydrate polymers*, 62(2), 142–58.
- Joerger, R. D., 2007, Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness, *Packaging technology and science*, 20(4):231–73.
- Jian, Y., Jesus, G.A., Sharraya, A., Alex, L., David, T. M., Milan, M., Andrew, C. K., William, C.T., 2011, Red-luminescent europium (III) doped silica nanoshells: synthesis, characterization, and their interaction with HeLa cells, *Journal of biomedical optics*, 16(6), 066012, doi:10.1117/1.3593003.

- Konhauser, K.O., Fyfe, W.S., Ferris, F.G. Beveridge, T.J., 1993, Metal sorption and precipitation by bacteria in two Amazonian river systems, Rio Solimoes and Rio Negro. Brazil, *Geology*, 21, 1103–1106.
- Konhauser, K. O., 2006, *Introduction to Geomicrobiology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, ISBN: 978-0-632-05454-1.
- Krekeler, M.P.S., 2008, Guggenheim, S., Defects in microstructure in palygorskite–sepiolite minerals: A transmission electron microscopy (TEM) study, *Applied clay science*, 39 (1-2), 98-10.
- Lalonde, S.V., Smith, D.S., Owttrim, G.W., Konhauser, K.O., 2008, Acid–base properties of cyanobacterial surfaces. II: Silica as a chemical stressor influencing cell surface reactivity, *Geochimica et cosmochimica acta*, 72, 1269–1280.
- Lee, C., Kim, J.Y., Lee, W.I., Nelson, K.L., Yoon, J., Sedlak, D.L., 2008, Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on Escherichia coli, *Environmental technology*, 42(13), 4927–4933.
- Lindqvist, R., Enfield, C.G., 1992, Cell density and nonequilibrium sorption effects on bacterial dispersal in ground water microcosms, *Microbial ecology*, 24(1), 25–41.
- Magaña, S.M., Quintana, P., Aguilar, D.H., Toledo, J.A., Ángeles-Chávez, C., Cortés, M.A., León, L., Freile-Pelegrín, Y., López, T., Torres Sánchez, R.M., 2008, Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver, *Journal of molecular catalysis A: chemical*, 281, (1-2), 192-9.
- Mahendran, T., Williams, P. A., Phillips, G. O., Al-Assaf, S., Baldwin, T. C., 2008, New insights into the structural characteristics of the Arabinogalactan-Protein (AGP) fraction of gum Arabic, *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(19), 9269-9276.
- Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R., Gedanken, A., 2005, Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bactericide, *Advanced functional materials*, 15(10):1708–1715.
- Marke, K., 2005, *The elastic and damping properties of magnetorheological elastomers*, Doktora Tezi, Tampere Universitesi Malzeme Bilimi.
- Mitchell, K.K.P., 2011, *Iron(III)-doped, silica: biodegradable, self-targeting nanoparticles*, Doktora Tezi, University of California, San Diego .
- Mccarthy, J. F. Zachara, J. M., 1989, Subsurface transport of contaminants, *Environmental science and technology*, 23, 496–502.
- Na, M., Ning-Lin, Z., Shuang-Quan, Z., Jian, S., 2009, Controlled release and antibacterial activity chlorhexidine acetate (CA) intercalated in montmorillonite, *International journal of pharmaceutics*, 382, 45–49.

- Phillips, G.O., Williams, P. A., 2009, *Handbook of hydrocolloids* (2nd enlarged) Cambridge: Woodhead Publishing Limited. ISBN:978-1-84-569587-3.
- Pourrezaei, P., Alpatova, A., Khosravi, K., Drzewicz, P., Chen, Y., Chelme-Ayala, P., Gamal El-Din, M., 2014, Removal of organic compounds and trace metals from oil sands process-affected water using zero valent iron enhanced by petroleum coke, *Journal of environmental management*, 139, 50-58.
- Rouf, M.A., 1964, Spectrochemical analysis of inorganic elements in Bacteria, *Journal bacteriolgy*, 88, 1545-1549.
- Qiaofang, S., Qingbo, L., Dan, S., Quan, F., Huaiguo, X., 2008, Biopolymer-clay nanoparticles composite system (Chitosan-laponite) for electrochemical sensing based on glucose oxidase, *Materials science and engineering C*, 28, 1372–1375.
- Sezen, H., 2008, *İnce PS/PMMA polimer filmlerin elektriksel özelliklerinin dinamik xps ile incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Bilkent Üniv. Kimya Bölümü.
- Shan-Hui, H., Ming-Chien, W., Jiang-Jen, L., 2012, Biocompatibility and antimicrobial evaluation of montmorillonite/chitosan nanocomposites, *Applied clay science*, 56, 53–62.
- Schmitt, J., Flemming, H., C., 1998, FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis, *International biodeterioration and biodegradation*, 41, (1), 1-11.
- Shao-Ping, N., Cathy, W., Steve, W., Cui, Q.W., Ming-Yong, X., Glyn, O.P., 2013, A further amendment to the classical core structure of gum arabic (Acacia senegal), *Food hydrocolloids*, 31 42-48.
- Singh, V., Singh, S. K., 2011, Synthesis and characterization of gum acacia inspired silica hybrid xerogels for mercury(II) adsorption, *International journal of biological macromolecules*, 48 445–451.
- Singh, V., Ahmed, S., 2012, Silver nanoparticle (AgNPs) doped gum acacia–gelatin–silica nanohybrid: An effective support for diastase immobilization, *International journal of biological macromolecules*, 50 353–361.
- Sun, YP., Li, X., Cao, J., Zhang, W., Wang, H. P., 2006, Characterization of zero-valent iron nanoparticles, *Advances in colloid and interface science*, 120 47–56.
- Sushil, R.K., Jean-Mark, G., Heechul, C., 2006, Arsenic (V) Removal from Groundwater Using Nano Scale Zero-Valent Iron as a Colloidal Reactive Barrier Material, *Environmental science and technology*, 40, 2045-2050

- Viswanathan, N., Meenakshi, S., 2010, Enriched fluoride sorption using alumina/chitosan composite, *Journal of hazardous materials*, 178 (1-3), 226-32.
- Wang, S.F., Shen, L., Tong, Y.J., Chen, L., Phang, I.Y., Lim, P.Q., Liu, T.X., 2005, Biopolymer chitosan/montmorillonite nanocomposites: Preparation and characterization, *Polymer degradation and stability*, 90, 123-31.
- Warren, L.A., Ferris, F.G., 1998, Continuum between sorption and precipitation of Fe(III) on microbial surfaces, *Environmental science and technology*, 32, 2331–2337.
- Xiaoying, W., Yumin, D., Jiwen, L., Jianhong, Y., Weiping, W., John, F. K., 2009, A novel biopolymer/rectorite nanocomposite with antimicrobial activity, *Carbohydrate polymers*, 77, 449–456.
- Xie, W., Xu, P., Wang, W., Liu, Q., 2002, Preparation and antibacterial activity of a water-soluble chitosan derivative, *Carbohydrate polymers*, 50, (1), 35-40.
- Xua, T., Xina, M., Li, M., Huangb, H., Zhoua, S., 2010, Synthesis, characteristic and antibacterial activity of N,N,N-trimethyl chitosan and its carboxymethyl derivatives, *Carbohydrate polymers*, 81, 931–36.
- Yang-Su, H., Sang-Hoon, L., Kyung, H.C., In, P., 2010, Preparation and characterization of chitosan–claynano composites with antimicrobial activity, *Journal of physics and chemistry of solids*, 71 464–467.
- Yuvakkumar, R., Elango, V., Rajendranv., Kannan, N., 2011, Preparation and characterization of zero valent iron nanoparticles, *Digest journal of nanomaterials and biostructures*, 6, 4, 1771-1776.
- Zhang, K., Xu, J., Wang, K.Y., Cheng, L., Wang, J., Liu, B., 2009, Preparation and characterization of chitosan nanocomposites with vermiculite of different modification, *Polymer degradation and stability*, 94, (12), 2121-27.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., York, D., 2007, Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids), *Journal nanoparticle research*, 9(3), 479–489.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Ayşen KOLAN
Uyruğu	T.C
Doğum tarihi, Yeri	1964 , MUĞLA
Telefon	05336614397
E-mail	akolan@kolanhastanesi.com.tr
Web adres	www.kolanhastanesi.com.tr

Eğitim

Derece	Kurum/Anabilim Dalı/Programı	Yılı
Doktora	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/ Kimya Anabilim Dalı /Fiziksel Kimya Programı	2015
Yüksek Lisans	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü /Kimya Anabilim Dalı /Fiziksel Kimya Programı	1991
Lisans	İ.Ü. Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği	1987
Lise	Köyceğiz Naip Hüseyin Lisesi	1982

Makaleler / Bildiriler

Patent: Ayben Kılıslıoğlu, Tuba Şişmanoğlu, Ayşen Kolan, Antibakteriyel acacia senegal/Fe-silika nanobiyokompoziti. 2012/12522 TPE numaralı patent.

Tuncay M., Kolan A. Palmitik asidin etanol-su ortamında çözünürlüğüne yüzey aktif maddelerin etkisi, *VIII. Kimya ve Kimya Mühendisliği Sempozyumu*, Marmara Üniversitesi, 7-11Eylül 1992, İstanbul.

Kılıslıoğlu A., Şişmanoğlu T., Kolan A., Antibakteriyel acacia senegal/Fe-silika nanobiyokompoziti *Selçuk TTO Patent Proje Pazarı*, Selçuk Üniversitesi, 17-19 Kasım 2014, Konya.

Karakuş S., Kolan A., Şişmanoğlu T., Kılıslıoğlu A. Synthesis, characterization of an antibacterial Acecia Gum/Fe silica nano-biocomposite, *NanoTR10, 10th Nano science and Nanotechnology Conference*, 17-21 Haziran 2014, İstanbul, Turkey.