



T.C.  
ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

MACLURA POMIFERA (OSAGE ORANGE) MEYVE ÖZÜTÜNDEN  
ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN MEMBRANLARIN  
KARAKTERİZASYONU

EMİNE MÜGE PEKACAR

Mayıs 2017



T.C.  
ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

MACLURA POMIFERA(OSAGE ORANGE) MEYVE ÖZÜTÜNDEN  
ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN MEMBRANLARIN  
KARAKTERİZASYONU

EMİNE MÜGE PEKACAR

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Rifat BATTALOĞLU

Mayıs 2017

**Emine Müge PEKACAR** tarafından **Yrd.Doç.Dr. Rifat BATTALOĞLU** danışmanlığında hazırlanan **“Maclura Pomifera (Osage Orange) Meyve Özütünden Elektroğirme Yöntemiyle Üretilen Membranların Karakterizasyonu”** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya** Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Bedrettin MERCİMEK (Necmettin Erbakan Üniversitesi)



Üye : Doç. Dr. Özlem SARIÖZ (Ömer Halisdemir Üniversitesi)



Üye : Yrd.Doç.Dr. Rifat BATTALOĞLU (Ömer Halisdemir Üniversitesi)



**ONAY :**

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından .... / .... / 20... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun .... / .../ 20... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.... / .... / 20...

**Doç.Dr. Murat BARUT**

**MÜDÜR V.**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

  
Emine Müge PEKACAR

## ÖZET

### MACLURA POMIFERA(OSAGE ORANGE) MEYVE ÖZÜTÜNDEN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE ÜRETİLEN MEMBRANLARIN KARAKTERİZASYONU

PEKACAR, Emine Müge  
Ömer Halisdemir Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Rifat BATTALOĞLU

Mayıs 2017, 63 sayfa

Bu tez çalışmasında yaygın nanolif elde etme yöntemi olan elektroegirme yöntemi ile maclura pomifera meyve özütü kullanılarak kitosan-etilendiamin tatraasetik asit/polivinilalkol (CS-EDTA/PVA) polimerleri ile nanolif sentezlenmiştir. Nanolif elde etmek için kütlece %3'lük maclura pomifera özütü CS-EDTA/PVA çözeltisine eklenmiştir. Elde edilen nanoliflerin yapısı ve çapları taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak görüntülenmiştir. Kimyasal bağlanma özellikleri ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenmiştir. Nanolifin sıcaklığa bağlı kütle değişimi TGA analizi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise özüt ve nanolifin toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Nanolife ait toplam fenolik madde içeriklerinin zamana bağlı olarak değişimleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar maclura pomifera yüklü nanolifin oluştuğunu göstermiştir. Bu nanolifin sıcaklığa dayanıklı bir yapısı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca fenolik bileşiklerin özütten az miktarda nanolife geçtiği ancak nanolif oluştuktan sonra toplam fenolik madde miktarlarında önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

*Anahtar Sözcükler:* Maclura pomifera, elektroegirme, kimyasal karakterizasyon.

## SUMMARY

### CHARACTERIZATION OF MEMBRANES PRODUCED BY ELECTROSPINNING METHOD FROM MACLURA POMIFERA (OSAGE ORANGE) FRUIT EXTRACT

PEKACAR, Emine Müge  
Ömer Halisdemir University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Rifat BATTALOĞLU  
May 2017, 63 pages

In this study, electrospinning method which is a common method of obtaining nanofibers is used. Nanolif was synthesized with chitosan-ethylenediamine tetraacetic acid / polyvinylalcohol (CS-EDTA / PVA) polymers using macula pomifera fruit extract. To obtain the nanofibers, 3% macula pomifera extract was added to the CS-EDTA / PVA solution. The structure and diameters of the resulting nanofibers were visualized using a scanning electron microscope (SEM). Chemical binding properties were determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). Mass change due to nanofiber temperature was performed by TGA analysis. At the end of the study, the total phenolic content of the extract and nanofiber was determined. The time dependent changes in the total phenolic content of nanolife have been investigated. The results obtained show that the nanofiber is loaded with the extract. It turns out that nanolipine is a temperature resistant structure. In addition, the phenolic compounds transfer to the nanofiber structure in a small amount of the extract. However, it has been determined that there is no significant change in the total amount of phenolic substances after nanofiber formation.

*Keywords:* Maclura pomifera, electrospinning, chemical characterization.

## ÖN SÖZ

Bu tez çalışması, Elektroğirme Yöntemi kullanılarak Maclura Pomifera (Osage Orange) meyvesi özütünden elde edilen membranların kimyasal karakterizasyonları yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında, öncelikle maclura pomifera meyvesi özütü elde edilmiş, bu özüt ve CS-EDTA/PVA polimerleri ile nanolif sentezlenmiştir. Elde edilen nanolifin SEM, TGA ve FTIR analizleri ile yapıları aydınlatılmaya çalışılmış, ayrıca Toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir.

Yüksek Lisans Tez çalışmam sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Rifat BATTALOĞLU'na ve öğrenim hayatım boyunca bana her zaman sonsuz destek olan ve sabır gösteren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Elektroğirme işlemini gerçekleştirilmesi çalışmalarında bana destek olan Ömer Halisdemir Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarından Uzman Dr. Sedef İLK ile Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri Prof. Dr. Tuncay TÜRKEŞ ve Doç. Dr. Osman SEYYAR'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ÖN SÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
BÖLÜM 1 GİRİŞ .....	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 Maclura Pomifera (osage orange, yalancı portakal) .....	4
2.2 Elektroğirme .....	8
2.2.1 Elektroğirme ile nanolif üretim teknikleri .....	10
2.2.2 Elektroğirme yönteminin bazı özellikleri .....	15
2.2.2 Elektroğirme yöntemi ile yapılan bazı çalışmalar .....	16
2.3 Fenolik Maddeler .....	27
BÖLÜM III DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....	30
3.1 Materyal .....	30
3.1.1 Maclura pomifera .....	30
3.1.2 Kullanılan kimyasal maddeler .....	30
3.1.3 Kullanılan cihazlar .....	30
3.2 Yöntem .....	31
3.2.1 Maclura pomifera özütlerinin hazırlanması .....	31
3.2.2 Nanolif sentezi .....	31

3.2.3 Elektroğirme işlemi .....	31
3.2.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi .....	32
3.2.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi ışın spektrometresi (FTIR) analizi.....	32
3.2.6 Termal gravimetrik analiz (TGA) .....	32
3.2.7 Toplam fenolik madde içerikleri .....	33
<b>BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIşMA .....</b>	<b>34</b>
4.1 SEM Analizine Ait Bulgular.....	35
4.2 FTIR Analizine Ait Bulgular .....	37
4.3 TGA Analizine Ait Bulgular.....	38
4.4 Toplam Fenolik Madde İçeriğine Ait Bulgular .....	39
<b>BÖLÜM V SONUÇLAR.....</b>	<b>42</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>45</b>
<b>ÖZ GEÇMİş .....</b>	<b>51</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Maclura pomifera meyvesi ve nanolif örneği toplam fenolik madde içerikleri .....	40
---	----



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Maclura Pomifera (yalancı portakal) ağacı .....	5
Şekil 2.2. Maclura Pomifera (yalancı portakal) meyvesi .....	6
Şekil 2.3. Osajin ve pomiferinin yapısı.....	8
Şekil 2.4. Taylar Konisi (a) ve Spiral hareket yapan polimer çözeltisi (b).....	10
Şekil 2.5. Elektroegirme düzeneği .....	11
Şekil 2.6. Martin ve arkadaşları tarafından geliştirilen Elektroegirme düzeneği .....	12
Şekil 2.7. Srinivasan' a ait elektroegirme düzeneği.....	12
Şekil 2.8. Abvay'a ait elektroegirme düzeneği.....	13
Şekil 2.9. Fiber lif çaplarının elektrik alan şiddeti ve polimer çözelti yoğunluğuna bağlı değişimi .....	14
Şekil 2.10. %25 derişime sahip polimer çözeltisine 21kV gerilim uygulandığında elde edilen fiber liflerinin SEM görüntüsü .....	14
Şekil 2.11. Elektrostatik egirme düzeneği (a) ve Nano liflerin SEM görüntüsü (b).....	15
Şekil 2.12. 19 kV, 21 cm şırınga-toplayıcı mesafesinden elde edilen lif yapısı.....	16
Şekil 4.1. Elektroegirme yöntemiyle elde edilmiş nanolif.....	34
Şekil 4.2 Nanolif SEM görüntüleri .....	36
Şekil 4.3. Nanolif örneğinin FTIR spekturumu .....	37
Şekil 4.4. Nanolif örneğinin TGA grafiği.....	39

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>SEM</b>	Taramalı Elektron Mikroskopu
<b>FTIR</b>	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopi
<b>TGA</b>	Termogravimetrik analiz.
<b>PVA</b>	Polivinil alkol

# BÖLÜM 1

## GİRİŞ

Maclura Pomifera aynı zamanda Osage orange adıyla da bilinmektedir. Halk arasında yalancı portakal ya da ayı elması gibi isimler de verilmiştir. Anavatanı kuzey Amerika olan ve uzun yıllardır ülkemizde süs bitkisi olarak yetiştirilmekte olan Moraceae türüne ait bir bitkidir. Maclura pomifera, önceleri yay ve mobilya yapımında kullanılmış olsa da daha sonraları çit, erozyondan korunma ve rüzgar seti amacı ile kullanılmıştır. Uzun yıllardır bu bitkiden halk arasında ilaç olarak faydalanılmıştır. Halk arasında yaprakları ve kabukları diş tedavisinde, meyvesi ise kanamalı hastalıklar ile birlikte göz ve boğaz hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Sternberg, 1989; Peterson and Brockemeyer, 1953). Ayrıca yaprakları halk arasında kanser tedavisinde de kullanılmaktadır. Maclura Pomifera ağacı üzerine yapılan çok yönlü çalışmalarda, ağacın meyve ve yapraklarının ağır metaller yönünden biyoindikatör olarak kullanılabileceği saptanmıştır. İlimiz genelinde bazı alanlarda bu ağaç uzun yıllardır bulunmaktadır. Elektroğirme, dilimize İngilizce electrospinning kelimesinden geçmiştir. Kısaca elektro+iplik anlamına gelmektedir. Elektroğirme tekniği, mühendislik ve tıp disiplinlerini bir arada barındıran multidisiplinler bir yöntemdir. Bir sıvı çözelti, kuvvetli bir elektrik alanına maruz kaldığında sıvı çözeltinin molekülleri artı ve eksi yük ile yüklenir ve tıpkı mıknatısın zıt kutupları gibi moleküller birbirini itmeye çalışır. Bu itme kuvveti belirli bir seviyeden sonra sıvı çözeltinin sakız gibi uzayarak incelmeye neden olur. Kuruyan sakız benzeri çözelti kesintisiz iplikli fiberler halinde birikir. Bu yöntem ile elde edilen iplikli yapılar insan saçından yaklaşık olarak 20.000 kat daha küçük olabilmektedir. Bu tez çalışmasında; Maclura pomifera bitkisinin meyvesinden elde edilen özütten, elektroğirme yöntemiyle doğal membranlar elde edilmiştir. Elde edilen membranların FTIR, SEM ve FTIR yöntemleri ile yapıları aydınlatılmıştır. Ayrıca meyve ve nanolif yapısındaki toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir.

## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

Bitkiler, insanların temel besin gereksinimlerini karşılaması için gereken primer metabolitlerin (karbonhidrat, protein ve yağların) ana kaynağıdır. Bunların dışında odun, selüloz, zambak, lastik gibi bazı faydalı maddeler de yine bitkilerden sağlanmaktadır. Besin ve enerji sağlama başta olmak üzere yaşamsal bazı değerler taşımakla birlikte, ilaç sanayi başta olmak üzere kimya, besin, kozmetik ve tarımda mücadele sektörlerinde bitkisel kökenli doğal ürünlerden yararlanılmaktadır (Philipson, 1990).

Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin tedavi amaçlı kullanılması, bilim dünyasında uzun zamandan beri ilgi çekici bir çalışma alanı olmuştur. Bu maddeler, önceleri bitkiler tarafından oluşturulan ve herhangi bir işlevi bulunmayan atık maddeler olarak kabul edilmekteydi. Ancak daha sonra bu metabolitlerin çevreyle ilgili bazı işlevlerin gerçekleşmesinde önemli rol oynadıkları anlaşılmıştır (Sökmen ve Gürel, 2001; Cox, 1990).

Tüm bitkilerin tedavi edici özellikleri binlerce yıl önceden bu yana ilgi çekmiştir. Eski tarihlerden bu yana birçok uygarlıkta hastalıklara karşı bitkilerden elde edilen ilaçların kullanımına rastlanmaktadır. 1800' lü yıllarda bitkilerden bazı önemli bileşiklerin elde edilmesi, özellikle 20. yüz yılda analiz yöntemlerinin gelişmesiyle içeriklerin saptanması ve etkilerinin araştırılması önemli olmuştur. (Tanker ve Tanker, 1998).

Bugün tıbbi kökenli bitkiler, geleneksel tedavi yöntemlerinin aktif birer unsuru olarak görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların % 80'inin bu tür tedavi yöntemlerini kullandığını göstermektedir. Bunun yanında, yaklaşık üç milyar insanın da tıbbi bitkileri terapi aracı olarak kullandığını ortaya koymuştur (Eloff, 1998; Keleş vd., 2001).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre bitkisel bir ilaç, bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarını ya da farklı bitkisel materyallerini içerebilir. Bunların bileşimlerini ham veya bitkisel preparatlar halinde taşıyan, günümüz ilaç endüstrisi teknolojisinin tüm

gerek ve kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve etiketlenmiş tıbbi ürünlerdir. Kimyasal olarak tanımlanabilmiş, etken maddelerle kombine edilmiş bitkisel materyal taşıyan ve bitkiden saf olarak izole edilmiş kimyasal madde içeren ürünler bitkisel ilaç olarak tanımlanmaktadır (Çubukçu vd., 2002).

Günümüzde bitkisel ilaçlara ilginin artmasının nedeni, modern ilaçların her hastalığı tedavi etme yeteneğine sahip olmamasıdır. Bunun yanında kimyasal yapıdaki modern ilaçların yan etkilerinin olması ve çok pahalı olması da bir başka neden olarak gösterilebilir. Bitkisel kökenli ilaçların daha çok etkili, daha riskli ve daha pahalı olan sentetik ilaçlarla birlikte kullanımlarında tamamlayıcı bir rol oynamalarına imkan sağlamaktadır. Bununla birlikte tek başlarına kullanımlarında alternatif terapi aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistem enfeksiyonlarında iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir (Alzoreky ve Nakahara, 2003; Menaker vd., 2004; Miguel vd., 2004).

Ticari olarak üretilen antimikrobiyal ilaçların veya kimyasalların enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde rastgele kullanılması, hem insan vücudundaki hem de bitkilerdeki patojen mikroorganizmaların bunlara direnç kazanmalarına neden olmaktadır. Bunun yanında gıda kaynaklı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar en gelişmiş ülkelerde dahil olmak üzere hala dünyanın önemli sorunlarından birisi olarak görülmektedir. Gıdaların açık olarak satışa sunulması, uygun olmayan yerlerde muhafaza edilmesi kontaminasyona neden olmaktadır. Bu nedenle kimyasal bazı maddelerin kullanılması, yiyecekleri bozulmalara sebep olan mikroorganizmalardan korumak için gerekli olmuştur. Ancak kimyasal madde içeren gıdaların insan sağlığı açısından ciddi sonuçlarından dolayı, bunların yerine antimikrobiyal etkisi kontrol edilen aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktlar veya uçucu yağlar tercih edilmeye başlanmıştır (Sökmen vd., 2004; Davis, 1994; Loper vd., 1991; Service, 1995).

Geleceğin teknolojisi olarak görülen elektroğirme tekniği, bir sıvı çözeltiye elektrik alan kuvveti uygulanması esasına dayanmaktadır. Mühendislik ve tıp disiplinlerini birlikte içeren bu teknik sayesinde üretilen ipliksi fiber yapılar kısa zamanda hayatımızın birçok alanına girmiş bulunmaktadır.

İngilizcede electrospinning olarak adlandırılan elektro-spin ya da elektro-eğirme yöntemi, polimer çözeltilerinden nanolif üretmek için geliştirilmiş bir yöntemdir. Yüksek voltaj uygulanması sonucu oluşturulan elektrik alan içerisinde polimer çözeltiler kontrollü bir şekilde nanolifler oluşturabilmektedir. Polimer esaslı nanoliflerin oluşturulması için uygulanmakta olan en kolay yöntem olarak bilinmektedir. Bu yöntem sayesinde çeşitli morfolojik özelliklere sahip yeni nanolifler oluşturulabilmektedir. Elektrospin yöntemi tarihsel olarak 1600'lü yıllara dayanmaktadır. İlk olarak William Gilbert 1600' lü yıllarda bu fenomeni incelemiştir. Christian Friedrich Schönbein ise yüksek nitrat içeren bir fiber yapısını 1847'de üretmiştir. Bu alandaki alınmış ilk patent ise 1900 yılında John Francis Cooley tarafından alınmış olan patenttir.

Sıvı bir çözelti, kuvvetli bir elektrik alana maruz kaldığı zaman sıvı çözeltinin molekülleri artı ve eksi yük ile yüklenir. Tıpkı mıknatısın zıt kutupları gibi moleküller birbirini itmeye çalışırlar. Bu itme kuvveti ile belirli bir seviye sonrası sıvı çözelti sakız gibi uzayarak inceliklenir. Kuruyan sakıza benzeyen çözelti kesintisiz ipliksi fiberler olarak birikir. Bu yöntem ile elde edilen ipliksi yapılar insan saçından yaklaşık olarak 20.000 kat daha küçük olabilmektedir.

## **2.1 Maclura Pomifera (osage orange, yalancı portakal)**

Yalancı portakal adı ile de bilinen maclura pomifera ağacı, kapalı tohumlar türünden familya olarak da dut giller cinsinden bir ağaçtır. Uzun yıllardır özellikle büyük şehirlerde gerek süs bitkisi gerekse çit olarak ta yetiştirilen bir ağaç türüdür. Boyu 20 metreye kadar uzayabilen geniş tepeli bu ağaçtır. Diğer adları Hint portakalı, yalancı portakal, avlu ağacı, ayı elması olarak da adlandırılır.

Yalancı portakal, ağacı kapalı tohumlar türünden familya olarak ta dutgiller cinsinden bir zamanlar İstanbul ve Bursa taraflarında gerek süs bitkisi gerekse çit olarak ta yetiştirilen boyu 20 metreye kadar uzayabilen geniş tepeli bu ağaç türüdür.



**Şekil 2.1.** Maclura Pomifera (yalancı portakal) ağacı.

Bu bitki türünün genç sürgünleri yeşilimsi gri veya açık kahverengi olup çıplaktır üzerinde çok sayıda gövdeyi dış etkenlerden koruyan genç kabukların üzerinde dairesel veya iğ şeklinde koyu renkli kabartılar ve noktalar bulunur. Buna lentisel de denilmektedir. Sürgünlerin üzerinde dikenler vardır, sürgünler koparıldığı veya kesildiği zaman süt görünümülü sıvı akıtmaktadır. Tepe tomurcuğu yandadır. Tomurcukları küçük, yandan basık, küre şeklinde ve az sayıda pul mevcuttur. 5 - 12 cm uzunluğunda olan yaprakları, uzun damla uçlu yumurta şeklindedir, Üst yüzlü yaprak yeşil alt yüzlü yaprak açık yeşildir ve tam kenarlıdır. Meyve ortalama 10 cm çapında portakal görünümünde yeşil renklidir, Ezildiğinde süt salgısı verir, Mayıs - Haziran aylarında küreye benzer çiçekler açar (Armağan, 2011).



**Şekil 2.2.** Maclura Pomifera (yalancı portakal) meyvesi

10-15 cm çapında pütürlü yuvarlak meyveleri portakala benzer. Önceleri yeşilken zamanla sararır. Eylül - Ekim aylarında olgunlaşır ve reçelimsi bir koku yayar. Anavatanı Kuzey Amerika olan ve dikenli bir ağaç türü olan yalancı portakal ağacı dikenli bir ağaçtır. Park ve bahçelerde gölgesi veya süs bitkisi olarak yetiştirilir. Meyvelerin bileşiminde alkaloidlerler, glikozitler, şekerler, asitler, katranlı bazı maddeler, morin ve rutin flavonitleri ve ayrıca C-vitamini bulunur. Meyveleri yüksek tansiyonu düşürücü özelliği de olan yalancı portakal ağacı meyveleri 100 g kuru meyvesi bir litre kaynar suda demlenmek suretiyle günde 2-3 kez birer bardak içilebilir. Ayrıca meyve şırası tereyağ ile karıştırılıp merhem haline getirilerek iltihaplı yaralar üzerine de uygulanır. Gövde kabukları kaynatıldığında ise elde edilen sarı renkli bir boya kumaş boyamada da kullanılmaktadır. Her ne kadar ülkemizde çit ve süs bitkisi olarak yetişse de ana vatanı kuzey Amerika'nın güney batısı taraflarıdır (USDA. 2014 ; Anonim. 2014; Armağan, 2011 ; Gırl, 2014).

Maclura pomifera bitkisinden bazı moleküller izole edilip yapıları aydınlatılmıştır. Bu moleküllerden öne çıkanlar, izoflavin türevi iki major madde olan osajin ve pomiferindir. Taze meyveden elde edilen etil asetat ekstresinin % 25.7'si osajin ve % 36.2'si pomiferinden oluşmuştur (Tsao, 2003).

Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin önemli farmakolojik etkileri bulunmuş olup, antimikrobiyal, antienflamatuar, antitümöral ve antidepresan özellikleri yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Teixeira , 2005).

Maclura pomifera tohumunda, sırasıyla: % 5.88 kül, % 6.72 yağ, % 32.75 yüksek protein içeriği, % 33.89 nem, % 20.76 karbonhidrat ve yağ içerikleri tespit edilmiş olup, 100 gram kuru maddede, potasyum  $421.65 \pm 0.01$ , kalsiyum  $218.56 \pm 0.06$ , magnezyum  $185.00 \pm 0.001$ , demir  $3.25 \pm 0.07$ , çinko  $2.61 \pm 0.02$ , bakır  $1.15 \pm 0.01$  mg mineral ihtiva ettiği bildirilmiştir (Saloua, 2009).

Meyvenin ham yağı, % 13.87 oleik, % 76.19 stearik, % 6.76 ve % 2.40 palmitik asit gibi yağ asitlerini içermektedir. 153 Maclura pomifera tohumunun yağı 100 gram tohumda mg olarak, 18.92  $\alpha$ - tokoferol, 10.80  $\gamma$ -tokoferol, 6.02  $\beta$ -tokoferol ve 6.29  $\delta$ -tokoferol içerdiği tespit edilmiş olup, zengin tokoferol içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Saloua, 2009).

Ayrıca Maclura pomifera önemli türden besinleri yapısında barındıran zengin bir kaynak olup, insan sağlığını olumlu yönde etkileyecek uçucu yağları ve yağda çözünen biyoaktif molekülleri içermektedir (Saloua, 2009).

Bu bitkiden elde edilen deniz tuzu ve metanol ekstresinin çeşitli antioksidan özellikli mantar türleri ile karşılaştırıldığında çok daha iyi antioksidan özellikleri olduğu bildirilmiştir (Carlson, 1940).

Maclura pomifera bitkisinin etil asetat ekstratı % 25.7 civarında osajin (OSJ), % 36.2 oranında pomiferin içermektedir. Maclura pomifera bitkisinden saflaştırılan OSJ, sistematik olarak “5-hydroxy-3-(3-hydroxyphenyl)-8,8-dimethyl-6-(3-methylbut-2-enyl)-4H,8H-pyrano[2,3-]chro-men-4-one” şeklinde tanımlanır. Kapalı formülü  $C_{25}H_{24}O_5$ ’dir(Liskova, 2005).

Aynı bitkide yüksek miktarlarda bulunan OSJ ve pomiferin yapısal olarak benzerdir. İki molekül arasındaki tek fark, 3 nolu karbona bağlı grubun OSJ’de H 37 yerine pomiferinde hidroskil grubunun bağlı olmasıdır. In-vitro antioksidan potansiyel ve kapasiteyi ortaya koyma çalışmaları, pomiferinin güçlü bir antioksidan olduğunu ortaya

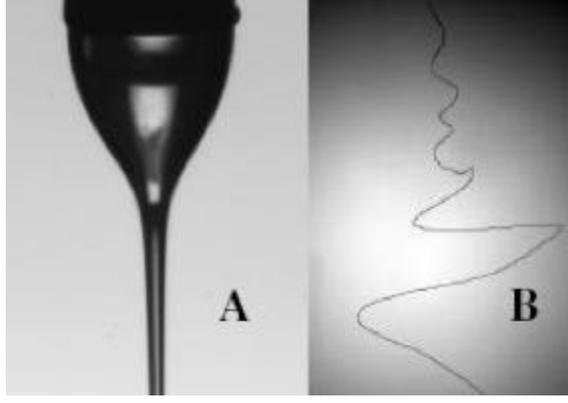


endüstriyel üretim yöntemleri çapı bir mikron ve altında olan fiber oluşumuna imkân vermemektedir. Nano teknoloji beraberinde koruyucu giysi üretiminden, yapay organ üretimine, bakteri dezenfektasyonundan, yüksek kapasiteli uzun ömürlü pil üretimine kadar pek çok alanda çığır açacak pek çok gelişmenin önünü açmaktadır.

Nanolif üretimi alanındaki güçlüklerin aşılması amacıyla farklı yöntemler üzerinde yoğun araştırma ve geliştirme çalışmaları yürütülmektedir. Bu aktif çalışma alanlarından bir tanesi de electrospinning yöntemidir. Elektroğirme, ilk olarak yüksek gerilim altındaki sıvıların davranışlarındaki farklılaşmaların gözlemlenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Bu alanda yapılan ilk çalışmalarda, su damlacıklarına yeterince yakın bir noktada elektrostatik bir alan oluşturulduğunda, damlacıkların konik bir yapı oluşturarak, spiral bir yörünge üzerinden saçıldığı gözlenmiştir (Zeleny, 1914). Daha sonraki yıllarda ise elektrostatik eğirme önemli bir araştırma alanı olarak literatürde fazlaca yer almamıştır (Baumgarten, 1971; Larrondo, 1981).

Elektroğirme yönteminin nanolif üretimde kullanılması ilk olarak 1990'lı yılların başlarında olmuştur. Bu alandaki bazı çalışmalar ile organik polimer çözeltilerinin yüksek gerilimin oluşturduğu elektrostatik alanda saçılarak nanolif yapısı oluşturduğunu göstermişlerdir. Bugün nanolif üretim teknolojisi tekstil endüstrisinden doku mühendisliğine kadar birçok alanda uygulanabilir olması nedeniyle aktif bir çalışma alanı olarak önemini korumaktadır (Khil, 2004; Teo, 2006; Berdy, 2005; Gregory, 2007).

Polimer esaslı nanoliflerin üretimi için kullanılan elektroğirme tekniğinde, uygun bir çözücüde çözünen polimer, ucunda şırınga iğnesi bulunan bir pipetin içine yerleştirilir. Pipetin ucundaki metal yapıdaki iğneye giderek artan bir elektrik alan uygulandığında (1kV-30kV) polimer çözeltisi iğne ucunda önce "Taylor Cone" olarak tanımlanan konik bir yapı oluşturur (Taylor, 1964). Şekil 2.4 a'da yüksek gerilim altında şırınga ucunda oluşan konik yapı görülmektedir. Polimer çözeltilisine uygulanan elektrik alan belirli bir eşik değerini aştıktan (1kV- 5kV) sonra polimer jeti Taylor konisi yapısından ayrılmaktadır. Yüksek gerilimle kutuplaşan polimer molekülleri hareket eksenini doğrultusunda kaotik bir yörüngeyi takip ederek toplayıcı plaka üzerinde rastgele bir ağ yapısı oluşturur (Şekil 2.4 b).



**Şekil 2.4.** Taylar Konisi (a) ve Spiral hareket yapan polimer çözeltisi (b) ( Taylor. 1964)

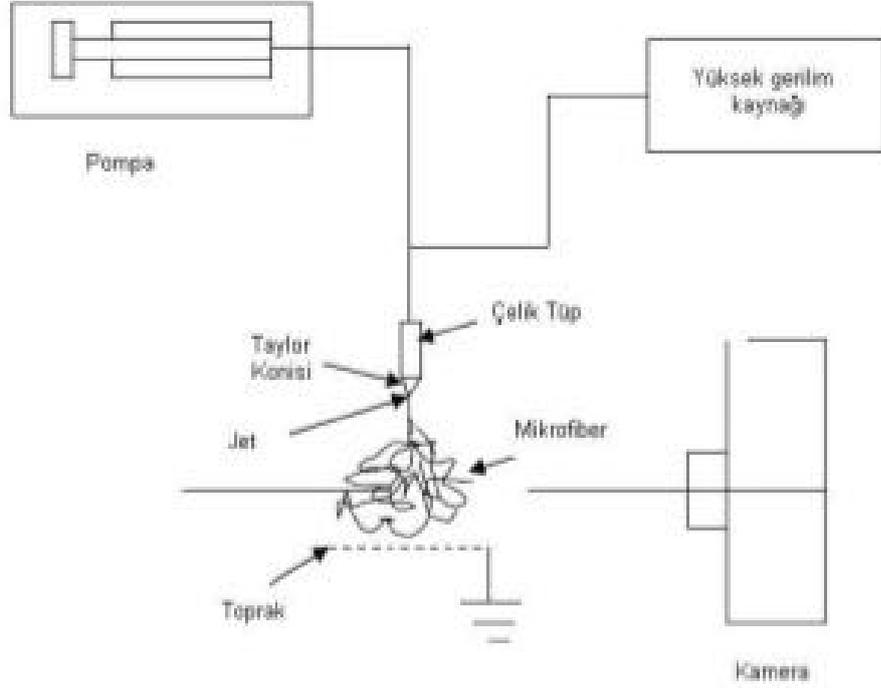
Oluşan fiber ağ şekillerinin çapları uygulanan elektrik alan şiddetine ve polimer yapısına bağlı olarak geniş bir ölçekte (30 nm –1 µm) olabilmektedir. Elektroğirme tekniği ile elde edilen sonuçların umut vaat edici olması çok sayıda araştırmacının dikkatini çekmiştir. Yapılmış olan birçok araştırmada elde edilen fiber yapıların sentezlenmesi kontrolsüz olarak gerçekleştirilebilmiştir (Shin. 2001). Bu durum mevcut yapısı ile elektroğirme tekniğinin nanolif üretim teknolojisinde yaygın kullanımını engellemektedir.

### 2.2.1 Elektroğirme ile nanolif üretim teknikleri

Literatürde bulunan elektroğirme düzenekleri üç temel bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde polimer çözeltisinin saklanmış olduğu ve püskürtme işleminin yapıldığı şırınga benzeri yapıdan oluşabilen ince tüptür. Bu bölüm hem pasif (çözeltinin yer çekimi etkisi ile harekete başlaması) hem de aktif (şırınga pompası gibi bir cihaz yardımı ile çözeltinin püskürtülmesi) yapıda olabilmektedirler. İkinci bölümde yüksek voltaj (5kV-30kV) aracılığıyla jet yörüngesi boyunca oluşturulan elektrik alan bölgesinden, son bölüm ise oluşturulan nanolif yapısının toplandığı düzenekten oluşmaktadır (Ishii. 2008; Abhay. 2002; Koçum.2007).

Elektroğirme tekniği üzerine yapılan ilk çalışmalardan birisi 1971 yılında Baumgarten (Baumgarten. 1971) tarafından gerçekleştirilmiştir. Akrilik tür mikro fiber yapılarının elde edilmesi amacıyla oluşturulan deneysel düzenek Şekil 2.5’de görülmektedir. Çalışmada dimetil formamid içerisinde çözülen polimer, çelik yapıdaki bir tüpe yerleştirilmiştir. Yüksek gerilim ve pompanın uyguladığı itme kuvveti ile tüpten saçılan

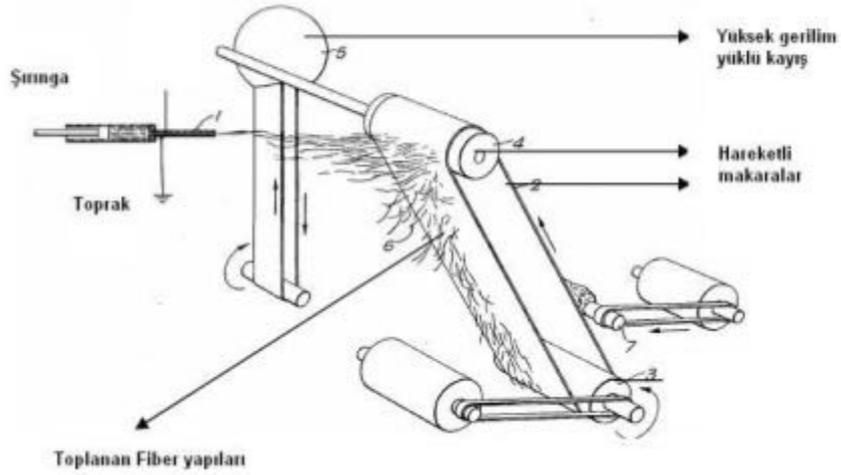
polimerler karmaşık bir hareket karakteristiği göstererek topraklanmış metal plakanın üzerine toplanmıştır. Çözelti hareketinin incelenmesi amacıyla ise yüksek çözünürlüklü bir kamera kullanılmıştır.



**Şekil 2.5.** Elektroğirme düzeneği (Baumgarten. 1977)

Bu çalışma sonucunda çözelti akışkanlığı artırıldığında tüpten ayrılan polimer jetlerinin boyutlarının ve oluşan fiber yapılarının kalınlığının arttığı gözlenmiştir. Tüpe uygulanan itme kuvveti artırıldığında ise polimer jetlerinin boyutlarının arttığı, buna karşın fiber kalınlıklarının kayda değer bir oranda artmadığı gözlenmiştir.

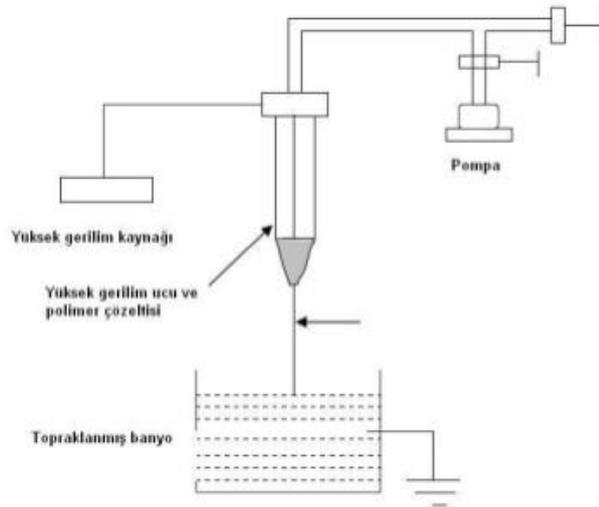
Bir diğer çalışma ise Martin ve arkadaşları (Martin vd. 1977) tarafından yapılmıştır. Söz konusu çalışma kapsamında çeşitli nedenlerle oluşan yara dokularının yapay olarak fiber ağ yapıları ile giydirilmesi hedeflenmiştir. Gerçekleştirilen deneylerde polimer çözeltisi metal uçlu şırınga içerisine yerleştirilmiş ve şırınga iğnesi topraklanmıştır. Bir pompa yardımı ile çözelti, 20kV gerilim ile yüklenen ve gözenekli bir yapıya sahip hareketli bir kayış üzerinden, toplayıcı düzeneğine doğru püskürtülmüştür (Şekil 2.6).



**Şekil 2.6.** Martin ve arkadaşları tarafından geliştirilen Elektroçigirme düzeneği

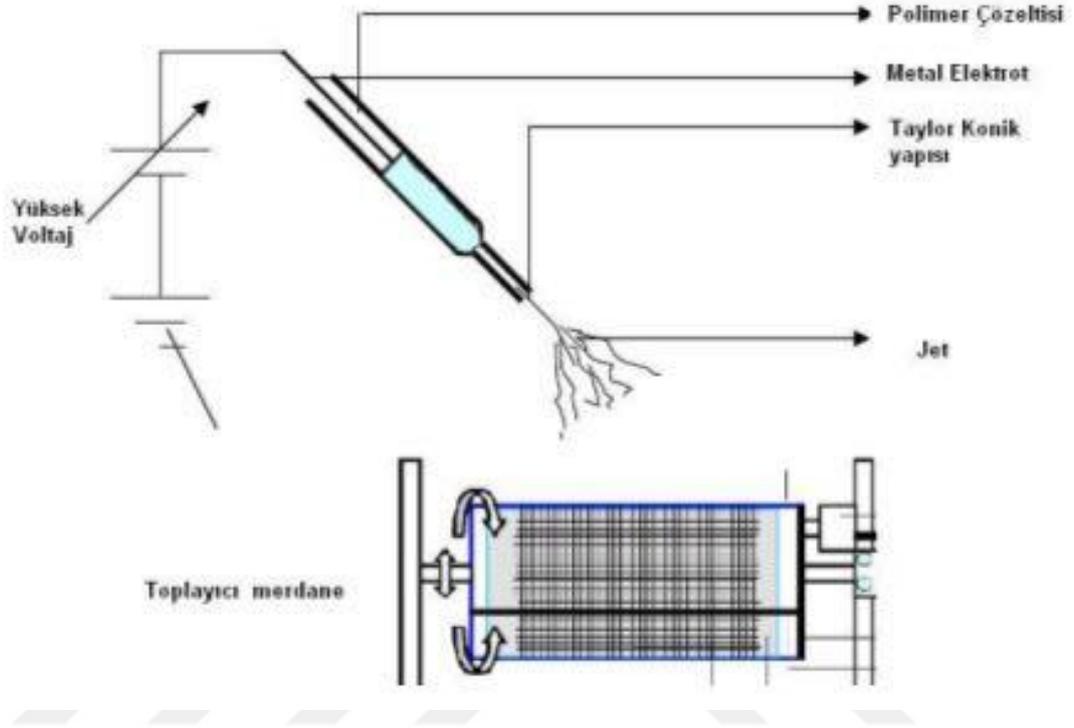
Deneysel çalışmalar sonucunda toplayıcı yapı üzerinde boyutları mikrometre ile santimetre aralığında değişen ve karmaşık bir dizilime sahip fiber ağ yapısı elde edilmiştir.

Srinivasan (Srinivasan, 1994) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise daha önceki yapılan çalışmalardan farklı olarak plastik şırınga içerisindeki polimer çözeltisine yüksek gerilim doğrudan uygulanmıştır (Şekil 2.7). Şırıngadan pompa yardımı ile püskürtülen çözelti bir banyoda toplanmıştır. Daha sonra vakum ortamında kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Deney sonucunda elde edilen fiber yapılarının kalınlıkları birkaç yüz nanometre olarak atomik kuvvet mikroskobu (AKM) altında gözlenmiştir.



**Şekil 2.7.** Srinivasan' a ait elektroçigirme düzeneği

Abvay (Abvay, 2002) tarafından 2002 yılında gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise Şekil 2.8’de görülen yapı kullanılmıştır. Yüksek gerilim ile yüklenen pozitif uç şırınga içerisinde bulunan polimer çözeltisinin içine yerleştirilmiş ve belirli bir açı ile saçılması sağlanmıştır.

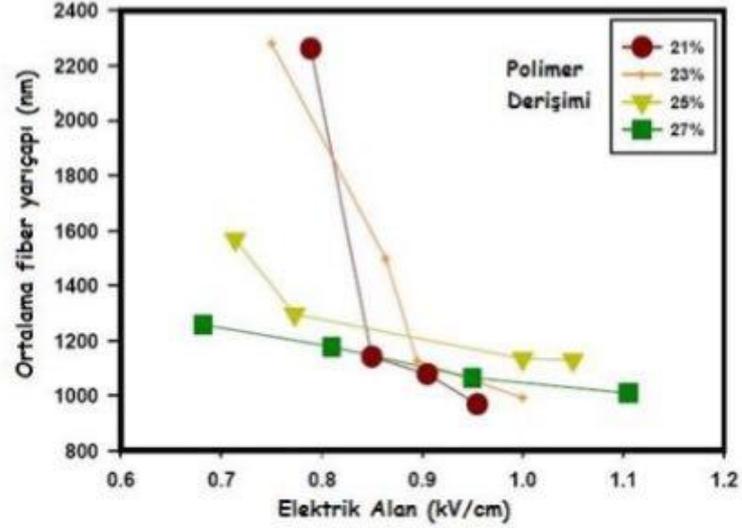


Şekil 2.8. Abvay’a ait elektroçirime düzeneği

Hareket eksenini boyunca buharlaşma ve yüksek gerilimin etkisi incelenerek hareket eden polimerleri toplamak amacıyla yüzeyi alüminyum kaplı hareketli bir merdane kullanılmıştır. Hareketli olan bu merdane yığın halinde oluşan polimer liflerinin düzgün doğrusal bir şekilde dizilimini sağlamak amacıyla sabit toprak plakasına alternatif olarak elektroçirime düzeneğiyle bütünleştirilmiştir. Oluşan nanolifleri incelemek amacıyla ise Tarayıcı Elektron Mikroskobu, TEM, (Scanning Electron Microscope, SEM) kullanılmıştır.

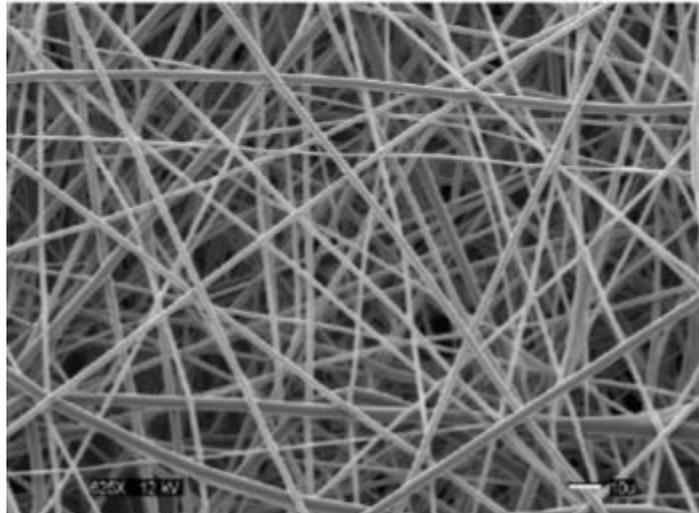
Deneysel çalışma sonucunda elde edilen fiber lif çaplarının istatistiksel değişimi, farklı polimer çözelti derişimleri ve elektrik alan şiddetine bağlı olarak, Şekil 2.9’da görülmektedir.

İstatistiksel çalışmalar, artan elektrik alan şiddeti ile fiber lif çapları arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Polimer çözeltisine uygulanan gerilimin artmasıyla birlikte daha küçük çapa sahip fiber lif yapıları elde edilmiştir.



**Şekil 2.9.** Fiber lif çaplarının elektrik alan şiddeti ve polimer çözelti yoğunluğuna bağlı değişimi

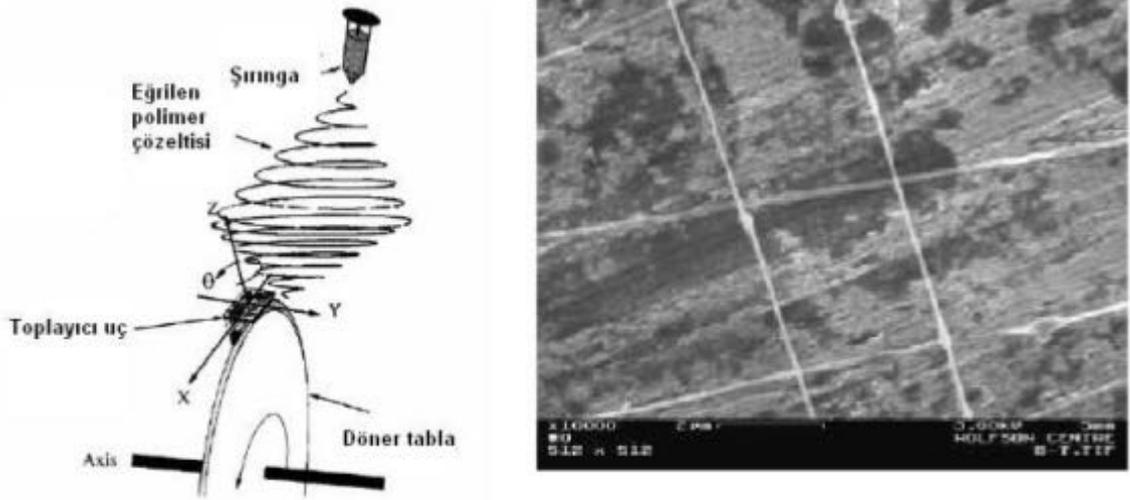
Polimer çözeltisinin derişimi ile fiber çapları arasında ise istatistiksel olarak bir ilişki olduğunu söylemek mümkün görülmemektedir. Şekil 2.10'da elde edilen nanolif ağ yapısının SEM görüntüleri görülmektedir.



**Şekil 2.10.** %25 derişime sahip polimer çözeltisine 21kV gerilim uygulandığında elde edilen fiber liflerinin SEM görüntüsü

Yürütülen çalışma sonucunda, Şekil 2.11’de de görüldüğü üzere, hareketli merdane üzerinde toplanan polimerlerin nano ölçekte karmaşık yapılarını koruduğu gözlenmiştir. Yarin 2004 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada, çeşitli toplayıcı yüzeylerde oluşan karmaşık nanolif yapılarını ayırtmak ve düzenli bir yapıda toplayabilmek amacıyla farklı bir mekanik sistem kullanmıştır. Şekil 2.11’de görülen düzenek şırınga ucundan ayrılan polimer çözeltisini çok ince bir kalınlığa sahip döner merdane üzerinde toplamayı amaçlamaktadır (Yarin, 2004).

Deneylerde 1kV/cm elektrik alan oluşturulmuş ve 100 nm civarında fiber yapıları elde edilmiştir. Şekil 2.11 b’de de görüldüğü gibi döner merdane üzerindeki keskin uç yardımıyla toplanan nano lifler daha önceki çalışmalara göre daha düzenli bir dizilime sahiptir.



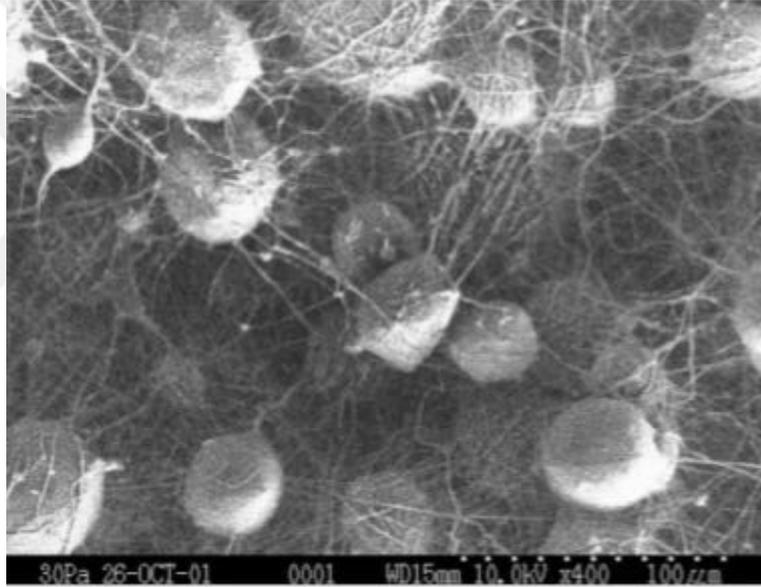
Şekil 2.11. Elektrostatik eğirme düzeneği (a) ve Nano liflerin SEM görüntüsü (b) (Yarin, 2004)

### 2.2.2 Elektroegirme yönteminin bazı özellikleri

Elektroegirme tekniği, alternatif nanolif üretim yöntemlerine göre düşük maliyet, tekrar edilebilirlik ve fiber kalınlığının kontrolü gibi alanlarda avantajlar sağlamasına rağmen fiberin yapısı ve dizilimi açısından rastgelelik içermektedir.

Şekil 2.12’de böyle bir oluşuma örnek olarak Abvay (Abvay, 2002) tarafından gerçekleştirilen Elektrostatik eğirme düzeneğine ait SEM görüntüsü yer almaktadır. Sentezlenen fiber ağ yapısı; elektrik alan şiddeti, çözelti derişimi ve şırınga-toplayıcı plaka arası mesafeye bağlı olarak karmaşık bir yapı oluşturmuştur.

Kontrollü ve düzgün dizilime sahip lifler elde etmek amacıyla yapılan birçok çalışmada kullanılan mekanik düzenek gibi çözümler fiber yapılarının çok düşük çaplara sahip olması ve bu hassasiyette toplayıcı düzeneklerinin üretiminin zorluğu nedeniyle uygulama açısından güçlükler getirmektedir. Bu nedenle elektrostatik eğirme tekniği kullanılarak sentezlenen ağ yapılarının kullanılabilirliğinin artırılması günümüzde aktif bir çalışma alanı olarak literatürde önemli yer tutmaktadır.



Şekil 2.12. 19 kV, 21 cm şırınga-toplayıcı mesafesinden elde edilen lif yapısı (Abvay, 2002)

Çalışma sonucunda, Elektrostatik eğirme düzeneği ile düzgün dağılımlı nanofiberler sentezlenerek, bu yapılara endüstriyel olarak kullanılabilirlik kazandırılır.

### 2.2.2 Elektroēirme yöntemi ile yapılan bazı çalışmalar

Elektroēirme gıdalarda özellikle raf ömrünü arttırmak, besin değerini yükseltmek, gıda bileşenlerini korumak, stabilizasyonu ve yavaş salınımı için kullanılan etkili bir enkapsülasyon yöntemidir. Bir çalışmada, karvakrol yüklü zein nanolif yapıları

üretilmiştir. Tek iğneli elektro eğirme yönteminde zein konsantrasyonu (%32-36 a/h) ve karvakrol miktarı (%1-7 a/a) bağımsız değişken olarak seçilmiş ve iki faktörlü merkezi karma tasarımına göre nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Elektroegirme prosesinde uygulanan voltaj, akış hızı ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe 18 kV, 1 mL/h ve 13.5 cm olarak sabit tutulmuştur. Hazırlanan polimer çözeltilerinin reolojik davranışı, viskozitesi ve elektrik iletkenliği tespit edilmiştir. Electrospun zein yapılarının morfolojisi alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) ile incelenmiştir. Liflerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) kullanılarak belirlenmiştir. Üretilen liflerin enkapsülasyon verimi, su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikleri belirlenmiştir. Nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için E. coli ve S. aureus kullanılarak agar disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Karvakrol miktarındaki artışla iletkenliğin önemli düzeyde düştüğü gözlenmiştir. Zein çözeltisinin konsantrasyonu arttıkça ortalama lif çapı artmıştır. Karvakrol içeriğinin artmasıyla boncuklu yapının oluştuğu gözlenmiştir. Karvakrol yüklü zein nano parçacıklarının termal özelliğinin saf zeinden elde edilen liflere göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Karvakrolün enkapsülasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir. Karvakrolün enkapsülasyon verimi %40±1.9 ile %81±1.7 arasında değişmiştir. Karvakrol mekanik özelliklerin gelişmesini sağlamış ve su buharı geçirgenliğini olumlu yönde etkilemiştir. Liflerin agar üzerinde oluşturduğu zon çapları dikkate alındığında antimikrobiyal özelliğinin S.aureus üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda özellikleri incelenen nanoliflerin aktif paketlemede kullanımının umut verici olduğu düşünülmektedir (Çayır, 2007).

Başka bir çalışma da karbon nanofiber üretimi için gerekli prekürsor fiber olarak poliakrilonitril nanofiberler, sürekli nanofiber üretim yöntemlerinden birisi olan elektroegirme yöntemi ile üretilmiştir. Üretim parametrelerinden voltaj ve çözelti konsantrasyonunun nanofiber yapısı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu şekilde elde edilen poliakrilonitril nanofiberlere uygulanan ısıl işlemler sonucunda karbon nanofiberler başarıyla elde edilmiştir.

Elektro-egirme yöntemiyle nanotüp üretimi için gerekli olan sistem tasarlanarak Bölüm laboratuvarına kurulmuş ve titanyum dioksit nanotüpler bu sistem yardımıyla üretilmiştir.

Nanofiber ve tüplerdeki bağ yapıları ile ısıtma işlem öncesi ve sonrası mevcut fazlar, FTIR ve XRD cihazları kullanılarak saptanmıştır. Fiberlerin ve tüplerin yapıları ve boyutları SEM cihazı ile belirlenmiştir (Süslü, 2009).

Selbes tarafından yapılan bir çalışma da polimer çözeltisi besleme debisi 21-30 mL/h, uygulanan gerilim 28-32 kV ve elektrotlar arası mesafe 19-23 cm deney parametreleri kullanılarak yapılmış ve beş farklı nanofiber filtre tabakası elde edilmiştir. Üretilen nanofibere ait tabaka ağırlıkları 2-4 g/m<sup>2</sup> ve nanofiber çapları 77-200 nm arasında olup, filtrelerin performans tayini için deney setleri hazırlanmıştır. Mikrofiber filtrelerin ve nanofiber tabakaların performans tespiti için basınç kaybı ve partikül tutma testleri gerçekleştirilmiştir. Basınç kaybı testleri 0.3, 0.8 ve 1.3 m/s alın hızlarında, partikül tutma testleri ise 0.3 m/s hava hızında yapılmıştır. Partikül testlerinde 80-120 nm çapa sahip toksik olmayan CaCO<sub>3</sub> nanopartikülleri kullanılmıştır. Partikül testleri 25 dakika boyunca yapılmış basınç kaybı artışı ölçülerek yakalanan partikül miktarı tartılmıştır. Deneylerin sonunda, nanofiber katmanların karakteristikleri ve mikrofiber filtrelerin performans artış miktarı tespit edilmiştir. Partikül yakalama performansının nanofiber katmanlı filtrelerde yüksek olduğu belirlenmiştir. En çok nanopartikül yakalayan filtrenin, 85 g/m<sup>2</sup> gramaja sahip mikrofiber filtre (sekizinci numune) kullanılarak üretilen ikinci nanofiber tabaka olduğu tespit edilmiştir. Sekizinci mikrofiber filtre 2.2 mg nanopartikülü 1.5 mmHg basınç kaybı oluşturarak yakaladığı, nanofiber tabakadan oluşan ikinci numunenin ise 8.6 mg nanopartikülü 14.5 mmHg basınç kaybı oluşturarak yakaladığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, nanofiber tabakanın filtrasyon performansını arttırdığı, nanofiber tabakası kütesinin artmasıyla performansın yükseldiği fakat kritik bir değerden sonra filtrenin tıkanarak ömrünü doldurduğu belirlenmiştir (Selbes, 2013).

Tendon hasarları bir sportif aktivite veya kaza sonrası sıklıkla karşılaşılan kas-iskelet sistemi problemlerinden biridir. Hafif yaralanmalarda sadece dinlenme ile tedavi edilebilmesi mümkünken kopma, yırtılma gibi daha ciddi durumlarda ileri tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu tedaviler otogreft, allogreft ya da zenogreft gibi biyolojik greftler ile yapılabilirken, biyobozunur olmayan polimerik sentetik greftlerin kullanılması da diğer bir seçenektir. Ancak hem biyolojik hem de sentetik greftler birçok problemi de beraberinde getirmektedir. Otogreft kullanımında verici bölgenin sınırlı olması ve hasar görebilmesi söz konusuysa, allogreftlerde immün cevap ve hastalık bulaştırma riski en önemli problemdir. Sentetik greftler ise biyolojik olarak

bozunur olmadıklarından yeni tendon dokusunun oluşumuna izin vermezler ve bir süre sonra immün cevap artar. Son yıllarda bu tedavi yöntemlerine alternatif olarak doku mühendisliği yaklaşımı geliştirilmiştir. İlgili doku hücresinin biyobozunur üç boyutlu bir destek yapıda büyütülmesi ve hastaya implantına dayanan bu yöntemde, kullanılacak destek yapı yani doku iskelesinin 3 boyutlu yapısı, biyouyumluluğu, biyobozunurluğu ve mekanik uygunluğu istenilen en önemli özelliklerdir. Tendon doku mühendisliğinde de doku iskelesi materyali olarak polilaktat, poliglikolat, polilaktat-glikolat kopolimeri gibi sentetik biyobozunur polimerler ve kolajen, kitosan, aljinat, ipek fibroin gibi doğal polimerler önerilmiştir.

Bunlar arasında ipek fibroin biyouyumluluğu, birçok hücre tipinin büyümesini destekleyici özellikleri, yüksek mekanik dayanımı ile öne çıkar. Tendon için 3 boyutlu yapıların hazırlanmasında en uygun yöntemler dokunun yapısı gereği fiber temelli yöntemlerdir. Elektroğirme de bu konuda kullanılan son yılların en ilgi çekici metodlarından biridir. Bu yöntemle nanofiber yapısında membran üretimi mümkündür. Bu tez kapsamında, sentetik polikaprolakton ve doğal ipek fibroin polimerlerinden hazırlanan yönlendirilmiş fiberlere sahip nanofibröz membranlardan oluşan bir doku iskelesi üretilmesi amaçlanmıştır. Polimerlerden yönlendirilmiş fibröz membran üretimi için elektroğirme yöntemi kullanılmıştır. Elektroğirme proses şartlarının değiştirilmesi ile istenilen yönlendirmede nanofiberlere sahip membranlar başarı ile üretilmiştir. Tasarlanan yapıların tendon dokusuna en yakın mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla membranlar, nanofiberlerin aynı yönde ve birbirine dik açı yapacak şekilde iki farklı biçimde birleştirilerek spiral hale getirilmiştir. Membranlardaki fiber yönlendirmesini ve spiral formda hazırlanan doku iskelelerinin morfolojisini incelemek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu'ndan faydalanılmıştır. Mekanik olarak en iyi kombinasyonun belirlenmesi amacıyla çift katmanlı membranlara çekme uzama testi uygulanmıştır (Balta, 2014).

Bir başka çalışmada, opto-elektronik ve foto-katalitik uygulamalara yönelik olarak p-tipi elektrik iletkenliği gösteren ve delafosit yapıya sahip nano-fiberlerin elektro-ğirme yöntemi ile üretimi hedeflenmiştir. Tek fazlı malzeme üretimi amacıyla çözelti hazırlama, nano-fiber toplama ve ısı işlem basamakları optimize edilmiştir. Kompozit nano-fiberler homojen şekilde karıştırılan bakır klorür, krom nitrat ve polivinil pirolidon çözeltisinin elektro-ğirilmesi ile alüminyum altlıklar üzerinde toplanmış, önce 400

°C'de hava ortamında kalsine edilmiş ve ardından yüksek saflıkta azot atmosferinde eş-ısı/eş-zamanlı sinterleme koşulları altında saf  $\text{CuCrO}_2$  nano-fiberler elde edilmiştir. Eş-zamanlı sinterlemede numuneler fırına oda sıcaklığında yerleştirilmiş ve istenilen sıcaklığa (400, 500, 600, 650 ve 700 °C) 5 °C/dk. Isıtma hızı ile çıkılarak bu sıcaklıklarda 1 saat boyunca akan yüksek saflıkta azot gazı altında sinterlenmiştir. Eş-zamanlı sinterleme ile  $\text{CuCrO}_2$  faz oluşumunun 500 °C'de başladığı görülmüş ve 700 °C'de ısı işlem sonucunda tek fazlı ve yüksek miktarda boşluk içeren  $\text{CuCrO}_2$  nanofiber morfolojisi elde edilmiştir. Bununla birlikte eş zamanlı sinterleme koşulları tane irileşmesine sebep olmuş ve yapıda rastgele dağılmış hegzagonal benzeri morfolojiye sahip iri taneler oluşmuştur. Eş ısı sinterlemede ise numuneler fırına 700 °C sıcaklıkta direkt olarak sürülmüş ve farklı bekleme sürelerince (15, 30, 45 ve 60 dk.) bu sıcaklıkta yine akan yüksek saflıkta azot gazı altında sinterlenmiştir. 700 °C'de eş-ısı sinterleme ile saf  $\text{CuCrO}_2$  nano-fiberler kemer benzeri morfolojide ve nispeten daha yoğun olarak üretilmiştir. Eş ısı sinterleme ile plaka benzeri tanelerin boyut ve sayısında da önemli bir azalma kaydedilmiştir. 700 °C'de bir saat sinterlenerek üretilen nanofiberlerin ortalama genişlikleri 150 nm, spesifik yüzey alanları 7,85 m<sup>2</sup>/g ve optik direk bant aralığı da 2,82 eV olarak hesaplanmıştır. Elektriksel iletkenlik ölçümleri sonucu üretilen malzemenin yarı-iletken davranış sergilediği görülmüştür. İletkenliğin ısı aktive olduğu belirlenmiş ve aktivasyon enerjisi 0,157 eV olarak hesaplanmıştır (Çetin, 2016).

Elektroegirme, yüksek yüzey alanına ve gözenekli yapıya sahip nanoliflerin üretimi için sıklıkla kullanılan verimli bir metottur. Bu teknik ile üretilen nanolifler eşsiz özellikleri nedeniyle ilaç; antioksidan ve antibakteriyel maddeler, tat ve koku maddeleri için taşıyıcı matriks olarak büyük bir önem taşımaktadırlar. Bu yöntemle nanolif üretmek için genellikle polimerler kullanılmış olsa da, polimerik yapıda olmayan moleküllerden de nanolifler üretilmektedir. Siklodekstrinler (CD) ilaç, gıda katkı maddeleri, tat ve koku maddeleri, antioksidan ve antibakteriyel maddeler gibi pek çok molekül ile inklüzyon kompleksi (IC) yapabilme özelliğine sahiptir. Dolayısıyla, CD-IC'ler bu tür moleküllerin çözünürlüklerinin artırılması, uçuculuklarının azaltılması ve kontrollü salımlarının sağlanması için kullanılmaktadır. CD-IC'lerin elektroegirme tekniği ile birleştirilmesi dikkat çekici malzemelerin üretilmesinde yeni bir yol açmıştır. (Aytaç, 2016).

Nanolif eldesinde kullanılacak olan Poli(4-vinilpiridin) (P4VP), azobisisobütironitril (AIBN) başlatıcısı kullanılarak, yüzey aktif madde olarak polietilen glikol sorbitan monolaurat (Tween20) ile oluşturulan sulu emülsiyon ortamında 4-vinilpiridin serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Elde edilen P4VP'nin kimyasal yapısı, NMR ve FTIR teknikleri ile karakterize edilmiştir. P4VP nanoliflerinin hazırlanması için elektroğirme yöntemi kullanılmıştır. Elektroğirme yöntemi ile P4VP nanoliflerinin eldesinde, nanolif yapısını etkileyen faktörler iki ana başlık altında incelenmiştir; polimer çözeltisinden kaynaklanan faktörler ve elektroğirme işleminden kaynaklanan faktörler. Polimer çözeltisinden kaynaklanan faktörlerden, derişim, viskozite ve yüzey gerilimi etkisi, N,N-dimetilformamid (DMF) çözücüsünde %15, %20, %22,5 ve %25 (w/w) derişimlerinde, etanol çözücüsünde ise %5, %7,5, %10 ve %20 (w/w) derişimlerinde incelenmiştir. Çözelti derişiminin artmasına bağılı olarak, çözelti viskozitesi ve yüzey gerilimi de artmış, buna bağılı olarak da nanolif morfolojisinde değışiklikler gözlenmiştir. Nanoliflere ait SEM görüntülerinden ortalama nanolif çapları hesaplanmış ve çözelti derişimi arttıkça oluşan nanolifin çapının arttığı, lif yapısındaki boncuk oluşumunun azaldığı görülmüştür. Elektroğirme işleminden kaynaklanan faktörlerden, voltaj, iğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe ve akış hızının nanolif çapı ve morfolojisine etkisi incelenmiştir. %20 (w/w) P4VP/DMF ve %5 (w/w) P4VP/Etanol çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde, iğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe 20 cm'de akış hızı 1,5 mL/saat'te sabit tutulmuş, 19 kV, 21 kV, 23 kV, 26 kV ve 30 kV voltaj uygulanmıştır. Voltajın değıştirilmesi ile elde edilen nanoliflerin ortalama çapları tespit edilmiş ve voltajın artmasıyla nanolif çapında ya da boncuk oluşumunda herhangi bir değışiklik olmadığı gözlenmiştir. İğne ile toplayıcı plaka arasındaki mesafenin etkisi, %20 (w/w) P4VP/DMF ve %5 (w/w) P4VP/Etanol çözeltilerine 19 kV voltaj uygulanarak ve 1,5 mL/saat akış hızında incelenmiştir. İğne ve toplayıcı plaka arasındaki mesafe değerleri 17 cm, 18 cm, 20 cm ve 21 cm olarak değıştirilmiş ve P4VP nanolifleri elde edilmiştir. Mesafenin arttırılmasıyla nanolif çapının DMF çözücüsü için 608 nm'den 552 nm'ye, etanol çözücüsü için 540 nm'den 402 nm'ye azaldığı gözlenmiştir. Akış hızının nanolif çapına ve morfolojisine etkisini incelemek için 19 kV voltaj ve 21 cm iğne ile toplayıcı plaka mesafesinde, %20 (w/w) P4VP/DMF çözeltisi ve %5 (w/w) P4VP/Etanol çözeltileri kullanılmıştır. P4VP/DMF çözeltisi için 1,2 mL/saat, 1,5 mL/saat, 2 mL/saat, 2,5 mL/saat ve 3 mL/saat akış hızında, P4VP/Etanol çözeltisi için 1,5 mL/saat, 2 mL/saat, 2,5 mL/saat ve 3 mL/saat akış hızında nanolifler elde edilmiş ve her iki sistem için de akış hızının değışmesi ile

nanolif çaplarında kayda değer bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Çap ve kullanım kolaylığı açısından uygun nanolif hazırlanması için en uygun şartlar; P4VP/DMF çözeltisi için % 20 (w/w) çözelti derişimi, 19 kV voltaj değeri, 21 cm iğne ile toplayıcı plaka mesafesi ve 1,5 mL/saat akış hızı ve P4VP/Etanol çözeltisi için % 5 (w/w) çözelti derişimi, 19 kV voltaj değeri, 20 cm iğne ile toplayıcı plaka mesafesi ve 1,5 mL/saat akış hızı olarak seçilmiştir. Nanolifler, SEM, EDX, FTIR, XPS, elementel analiz, ve TGA teknikleri ile karakterize edilmiştir. Uygulamadaki kullanımını görmek üzere, optimum koşullarda P4VP/DMF çözeltisiyle elde edilen nanolif ile sulu çözeltilerdeki Cu(II) iyonlarının uzaklaştırma çalışması gerçekleştirilmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Okyay, 2016).

Katkısız ve Ag katkılı TiO<sub>2</sub> nanolifler farklı voltaj değerleri (10, 15, 20 kV), farklı uzaklıklar (16, 14, 12, 10, 8 cm) ve sabit 0,5 ml/sa akış hızı ile üretilmiştir. Örneklerin X-ışını difraksiyonu (XRD), taramalı elektron mikroskopu (SEM), elektron difraksiyon spektroskopisi ve UV ölçümleri 500 °C ısıtma işlemi öncesi ve sonrasında yapılmıştır. XRD ölçümleri örneklerin anataz kristal yapıda olduğunu göstermiştir. SEM görüntüleri örneklerin morfolojisinin ısıtma işlemiyle nasıl değiştiğini göstermiştir. UV ölçümlerinden elde edilen datalar ile örneklerin enerji bant aralığı bulunmuştur. Katkısız ve Ag katkılı TiO<sub>2</sub> nanoliflerin enerji bant aralıkları sırasıyla 3,6 eV ve 2,6 eV bulunmuştur. Sonuç olarak karakterizasyon sonuçlarının literatürle uyumlu olduğu görülmüştür (Okyay, 2014).

Yumuşak doku mühendisliğinde kullanmak amacıyla poli(L-laktid/caprolakton) (70:30) (PLC) kopolimeri, insan göbek bağı kollajeni ve hyaluronik asiti elektro-eğirilerek, nano/mikro fibril doku iskeleleri üretilmiştir. İzole edilen kollajen SDS-PAGE ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. Fiber yapıların mekanik, termal ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla sırasıyla çekme testi, dinamik mekanik analiz, diferansiyel taramalı kalorimetre analizi ve taramalı elektron mikroskopisi gerçekleştirilmiştir. Yarı-sentetik yapılardaki biyolojik içeriği göstermek amacıyla histo-kimyasal boyama yapılmıştır. Tampon çözelti içinde bu yapıların zamanla hidrolize bağlı erozyonu test edilmiştir. Bu düşük maliyetli hibrit doku iskelelerinin hem deri yara örtüsü olarak hem de diğer yumuşak doku hasarlarında iyileşmeye yardımcı olarak kullanılabilirliği in vitro ortamda biyouyumluluk testi ile gösterilmiştir. Bu doku iskeleleri yumuşak dokular ile mekanik ve termal olarak uyumlu olduğu kadar, insan dokusu kaynaklı

hücre dışı matriksi bileşenleri dışında bir biyolojik materyal içermediğinden biyolojik açıdan da oldukça uyumludur, immün yanıtı neden olması beklenmemektedir. Nano/mikro fiber mimarisi, biyouyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri hücre tutunması ve çoğalması açısından büyük avantaja sahiptir. Sonuç olarak, bu hibrit doku iskelesi potansiyel bir yumuşak doku özdesi ve yara örtüsü materyali olmaya adaydır (Dumlu, 2014).

Nanoteknolojik uygulamaların keşfedilmesi ile birlikte malzemelerin nano boyutta benzersiz özellikler gösterdiği anlaşılmıştır. Bu nano malzemeler arasında nanolifler gösterdikleri üstün özellikler nedeniyle, tıbbi tekstillerden endüstriyel ürünlere, ileri teknoloji ürünlerinden askeri amaçlı ürünlere kadar çok geniş bir uygulama alanında kullanılabilirlerdir. Nanofiber üretimi için en etkili teknik "Electrospinning" yöntemidir. Bu, hızla gelişen teknik ile elde edilen liflerin özelliklerinin iyileştirilmesi için birçok modifikasyon yapılmıştır. Bu çalışmada da, elektroğirme (elektrospinning) cihazının üretimi hedeflenmiş olup temel olarak gövde, motorlar ve toplayıcı taşıyan mekanizma, polimer yükleme tablası, polimer besleme ünitesi ve kontrol panelinden oluşan bir profesyonel bir cihaz tasarlanmış ve üretimi gerçekleştirilmiştir. Böylece daha dinamik ve hızlı bir üretim metodu geliştirilmesi amaçlanmıştır (Gülmez, 2013).

İnsan vücudunda zarar gören organların onarımı, yeniden yapılandırılması veya yerini alması için elektroğirme yöntemiyle saf titanyum yüzeyine bor içeren HA kaplanarak, malzemenin bağlanma kabiliyetini arttırmak amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik bor içeren hidroksiapatit nanolifler üretilerek; DTA/TGA, SEM, EDS, AFM, XRD ile yapısal karakterizasyonu, temas açısı ve serbest yüzey enerjileri ölçülerek de yüzey karakterizasyonu yapılmıştır.

İlk olarak sol-jel yöntemiyle katkısız ve borik asit katkılı HA çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra elektroğirme yöntemi kullanılarak alüminyum folyo ve yüzey modifikasyon işlemi uygulanmış saf titanyum üzerine nanolif üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada aynı zamanda akış hızı, elektrik alanı, uç ile levha arasındaki mesafe gibi farklı üretim parametreleri incelenerek; 15 kV voltaj, 6 cm mesafe ve 0,5 ml/sa akış hızında en iyi üretim sonuçları alınmıştır. Üretim sonrası lifler hava ortamında 500 °C`de ısıtılarak gerekli dönüşümler sağlanmıştır. Isıtma işlemi sonrası yapı korunarak 300 nm altında lifler elde edilmiştir. Borik asit katkısının

0,0033 mol olduğu numunelerde, katkısız numunelere göre daha yoğun ve homojen lifler elde edilmiş olup, yüzey alanının ve yüzey enerjisinin artması ile malzemenin adhezyon özelliği geliştirilmiştir (Kk, 2012).

Elektroğirme, geniş bir yelpazede organik ve/veya inorganik malzemelerden ultra ince lifsi yapılar üretmek için basit ve çok yönlü bir yöntemdir. Çözelti ve enstrümental parametreler ayarlanılarak lif çapı ve yüzey/iç yapıları kontrol edilebildiğinden dolayı, elektroğirme nanolifler, kütlesel büyüklükteki aynı malzemelerle elde edilemeyen gelişmiş özellikler sergilerler. Bu tez, elektroğirme nanoliflerin olağanüstü özellikleri ile ilişkili filtrasyon, algılama ve katalitik uygulamalarını incelemektedir. Çalışılan sistemler burada rapor edilmiştir; (i) Bu tezin ilk kısmı, elektroğirme nanolifsi membranların filtrasyon uygulamaları ile ilgilidir. Nanometre boyutunda kitosan lifler, Fe(III), Cu(II), Ag(I) ve Cd(II) iyonlarının sulu çözeltilerden sorpsiyonu için kullanılmıştır. Kitosan liflerin yüzeyi homojen dağılımlı sıfır değerlikli demir nanotanecikler ile işlevselleştirilerek inorganik arsenik türlerinin uzaklaştırılmasında kullanılmıştır. Sürekli akış altında radyoaktif uranil iyonlarının kolon sorpsiyonu, amidoksimlenmiş poliakrilonitril lifler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. (ii) Bu tezin ikinci kısmı, seramik liflerin algılama uygulamalarını sunmaktadır. Elektroğirilmif ZnO liflerin nem sensörü özellikleri, kuartz kristal mikrobals (KKM) metodu kullanılarak ve elektriksel ölçümler yapılarak araştırılmıştır Elektroğirme tekniği CeO<sub>2</sub>/ZnO ve ZnO bazlı nanoliflerin KKM elektrodu yüzeyine depolanması için kaplama işlemi olarak kullanılmıştır. Lif-kaplı KKM sensörü uçucu organik bileşiklerin (UOB) algılanmasında kullanılmıştır. (iii) Bu tezin son kısmı katalitik uygulamalar için hiyerarşik yapılı kompozit nanoliflerin üretimi için bir yaklaşım anlatmaktadır. CeO<sub>2</sub>, LiCoO<sub>2</sub> nclleri ile SiO<sub>2</sub> nanotaneciklerinin birlikte elektroğirilmesi ile hazırlanan bu nanoyapılı malzemeler, Rodamin B nin fotokatalitik bozunmasında kullanılmıştır (Horzum Polat, 2013).

Kitosan molekülü 26,66 Pa düşük basınç, 13,56 MHz Rf frekansta, 100 watt g sağlanarak 30 dakika süreyle Rf- hidrazin plazması ile muamele edilmiştir. Kitosanın plazma muamelesinden sonra yapıdaki amin gruplarının artışı floresans etiketleme tekniği, elementel analiz ile değerlendirilmiştir. Kitosan (Ch) ve plazma muamele edilmiş kitosan (PMCh) moleküllerinin yapısal zellikleri Fourier Transform Infrared

Spektroskopisi (FTIR) ile aydınlatılmış, spektrumlara göre Rf plazma etkisinin molekül üzerinde herhangi bir halka açılması ya da bağ kopmasına sebep olmadığı görülmüştür.

Ch ve PMCh moleküllerinin ısıl kararlılıkları termogravimetrik analiz (TGA) ile incelenmiş, PMCh yapısındaki nem absorpsiyonunun, fonksiyonel grup artışına bağlı olarak, yaklaşık üç kat fazla olduğu görülmüştür. Ch ve PMCh moleküllerinin, amonyum persülfat oksidantı ile kimyasal polimerleşme yöntemiyle sentezlenen poli(3,4 etilendioksitiyofen) (PEDOT) polimeri ile blendleri oluşturulmuş; polivinil alkol (PVA) desteği ile elektroğirme sisteminde nanolifleri elde edilmiştir. Farklı oranlarda ve iki elektrot arası farklı uzaklık mesafelerinden elde edilen nanoliflerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile aydınlatılmış; kimyasal yapıları FTIR ile incelenmiştir. Elektriksel iletkenlik değerleri dört nokta tekniği ile ölçülmüştür. Nanoliflerin elektrokimyasal davranışları ise dönüşümlü voltametri yöntemiyle incelenmiştir. Elektroğirme yöntemiyle elde edilen nanoliflerden PMCh/PVA/PEDOT moleküllerinin lif çapı 170- 200 nm arasında, Ch/PVA/PEDOT moleküllerinin lif çapının ise 190- 246 nm arasında olduğu görülmüştür. Ch/PVA/PEDOT ve PMCh/PVA/PEDOT blendlerinin gram pozitif bakterilere karşı etkinliği test edilmiştir. PMCh molekülünün bulunduğu blend yapısı daha yüksek antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Kırıştı, 2011).

Genel anlamda lifler söz konusu olduğunda 'nano' terimi, lif çapının büyüklüğü hakkında bilgi verir. Bazı araştırmacılar çapı bir mikronun altındaki liflere nanolif derken, diğerleri ise nanolif için çapı 0,3 mikron veya daha az olan lifler tanımını uygun görmüşlerdir. Günümüzde, mevcut lif üretim teknikleriyle çapı bir mikron ve altında lif üretilmediği için bu araştırma kapsamında çapı bir mikron ve altındaki lifler? nanolif olarak kabul edilmiş ve bu lifleri üretmek için en son teknolojilerden biri olan elektro üretim (elektroğirme) yöntemi araştırılmıştır.

Bu çalışmada elektro üretim yöntemi kullanılarak nanolif üretim teknolojisi irdelenmiş ve lif morfolojisi ve sistem incelenmiştir.

Deneysel çalışmalarda elektro üretim yöntemi esnasında işlem değişkenleri olarak; uygulanan voltajın etkisi, toplayıcı ile besleme ünitesi arasındaki mesafenin ve akış hızının etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak voltajın artması ile beslemedeki düzensiz artış

oranından dolayı nanoliflerde düzensizlik ve yüksek çap dağılımı gözlenmiştir. Aradaki mesafenin artması ile lif çapının azaldığı gözlenmiştir (Kaya, 2009).

Kemik, yara izi bırakmadan kendini tamir etme yeteneğine sahip bir dokudur. Ancak, travma, tümör, hastalık veya enfeksiyon sonucu oluşabilecek kritik boyutlu kemik hasarları genellikle komplikasyon riskinin yüksek olduğu greft ameliyatları gerektirmektedir. Kemik dokun mühendisliği kemik greftlerine bir alternatif olarak ortaya çıkar. Öte yandan, hem greftler hem de kemik doku mühendisliği ile oluşturulmuş yapılar genellikle implantasyondan sonra yetersiz damarlanmaya bağlı olarak başarısız olurlar. Damarlanmayı sağlamak ve kemik dokusunun lokal hücre ortamını taklit edebilmek için, in vitro kemik doku mühendisliği çalışmalarında kemik oluşturma potansiyeline sahip hücreler ve endotel hücreler ko-kültüre edilmeye başlanmıştır. Bu çalışmada damar oluşumu sağlanmış bir kemik dokusu üretmek için in vitro araştırmalar yapılmıştır. Bu amaçla, sıçan kemik iliği mezenşimal kök hücreleri (RBMSC), sıçan aort endotel hücreleri (RAEC) ile ko-kültüre edilmiştir. Bu iki tip hücre önce hücre kültürü kaplarında kültüre edilmiş, daha sonra ise elektroegirme yöntemiyle oluşturulmuş poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivaleerat) (PHBV) ve hidroksiapatit (HAp) içeren biyokompozit matiksler üzerine ekilmiştir. Hücrelerin çoğalması MTS testi ile ölçülmüştür. Hücrelerin kokültüre edilmesinin kök hücrelerin kemiğe farklılaşması üzerine etkisi ALP aktivitesi ve von Kossa boyaması ile değerlendirilmiştir. Matiksler üzerindeki hücrelerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiş ve Kolajen Tip I imünokimya boyaması ile hücre dışı matiks oluşumu incelenmiştir (Gürel, 2011).

Hastalıkların teşhisi, bir kişinin sağlık durumu hakkında gerekli bilginin sağlanması için önemli bir faktördür. Kanser teşhisi için biyopsi, endoskopi, manyetik rezonans görüntüleme ve kan testleri gibi bir çok metot bulunmaktadır. Teşhiste en çok kullanılan araçlardan biri ise, insan vücudunda önemli bir yere sahip olan kandır. Kan tüm vücudu dolaşan bir sıvı bağ dokusudur ve içeriğinin %55'inde kan plazmasını bulundurur. Kan proteinlerinin serumdan uzaklaştırılması, kan testlerinde çok önemli bir basamaktır. Kanın içeriğinde bazı nükleik asitler hücre içinde bulunurken, bazıları hücre dışında serbest olarak dolanırlar. Araştırma sonuçları kanser hastalığında kanda serbest halde dolaşan bu nükleik asitlerin onkojenik ve tümör baskılayıcı olarak davrandıklarını göstermektedir. Genomik bölgelerde yer aldıklarından, sayılarındaki artış kanser

hastalığının başlangıcıyla ilgili bir bağlantı kurulmasına olanak sağlamaktadır. Bu tezde kanda birlikte bulunan proteinler ve nükleik asitleri basit, ucuz ve de seçici bir yöntemle ayırmak amacıyla kullanmak için elektroğirme tekniği ile hazırlanmış çeşitli polimerlerden, hedef biyomakromoleküle karşı seçici membran filtreler elde edilmiştir. Tek zincirli DNA ve Bovine Serum Albümini (BSA) kullanılarak hazırlanmış model bir sistem üzerinde elde edilen filtrelerin ayırma kapasitesi incelenmiştir. Elde edilen filtrelerin ayırma kapasitesi pH, filtre yüzeyindeki modifikasyonlar ve fiber çapı gibi parametreleri değiştirerek artırılmıştır. Hidrofobik filtrelerin proteinleri daha çok tutma özelliğine sahip olduğu ve filtre yüzeyine yapılan modifikasyonların ayırma kapasitesi üzerine büyük etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Işık, 2015).

### 2.3 Fenolik Maddeler

Fenoller, oksijenli aromatik bileşiklerden olup, bir veya daha fazla hidroksil (OH) grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahip organik ve kristal yapıdaki maddelerdir. Fenoller, hidroksiaren veya arenoldürler ancak aril alkol değildirler. Örnek olarak; en basit fenol hidroksibenzen veya benzenoldür ama fenil alkol değildirler. Çünkü fenollerin özellikleri, elde edilme yöntemleri ve reaksiyonları alkollere hiç benzemez. “Fenol” adı yaygın olarak kullanılır ( Tüzün, 1996; Uyar, 1998).

Fenoller genellikle ana bileşikleri olan fenolün türevi olarak adlandırılırlar. Aynı molekülde hidroksil grubu ile birlikte karboksil, aldehit ya da keton işlevsel grupları bulunduğu, bu gruplar adlandırmada önceliğe sahip olup, hidroksil grubu bir ön ek olarak adlandırılır. Bazı örnekler Şekil 2.3.’de görülmektedir (Özhan, 2006; Türk, 2009).

Fenoller genelde saf halde iken renksiz ve kristal yapıya sahip maddelerdir. Çok saf olmadığında, hava ve ışıktan etkilendiğinde kırmızı renk gösterirler. Fenol ticari olarak dezenfektan, katalizör, çözücü, bitki koruyucu olarak ve biyolojik örneklerden DNA’yı ayırmak için kullanılır (Er ve Akpınar, 2001).

Fenolik maddeler bitkilerde oldukça yaygın olarak az veya çok bulunur. Bazı meyve ve sebzeler kesildiği veya zedelendiği zaman bir süre sonra okside olarak renklerin değişip esmerleştiği gözlenir. Örneğin, elma, ayva, patates vb. renk değişimi gözlenen meyve

ve sebzelerde polifenoloksidaz enzimleri aktivitesi fazla, bunun yanında askorbik asit miktarları da düşüktür. Esmerleşme görülmeyen meyve ve sebzelerde ya askorbik asit miktarı çok yüksek ve polifenoloksidaz aktivitesi çok düşük veya yoktur. Bitkisel kökenli bütün gıdalarda daima farklı nitelikte ve miktarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerin kendilerine özgü buruk tadını verirler. Fenolik bileşikler gıdalarda renk değişimlerine neden olurlar. Bundan dolayı fenolik maddeler meyve ve sebzelerde çok az bulunmalarına rağmen meyve ve sebze işleme teknolojisi bakımından değişik sorunlara neden oldukları için önemlidirler. Bunlar arasında en önemlisi esmerleşmelerdir.

Meyvelerde bulunan fenolik bileşikler, pigmentasyon, kahverengileşme, tat ve serbest radikal toplayıcıları gibi kalite kavramlarıyla ilgilidir. Meyvelerin sağlığa faydalı etkileri fenolik bileşiklerin antioksidant içeriğiyle ilişkili görülmektedir. Ancak meyvelerin fenolik içeriği hakkında muhtemel bilgiler tam olarak tamamlanamamıştır.

Fenolik bileşikler bitki dokularının normal gelişimi sırasında, enfeksiyon, yaralanma ve UV ışınlarına maruz kalma gibi stres koşulları altında sentezlenmektedir. Bitki fenoller; Basit fenoller (benzoik ve sinamik asit türevleri), kumarinleri, flavonoidleri, stilbenleri, tanenleri, lignanları ve ligninleri içermektedir. Fenolik bileşiklerin dokulardaki ve hücrelerdeki düzeyleri daima aynı değildir. Örneğin hindiba bitkisinde; hidrosikoumarin çiçeklerde yüksek konsantrasyonlarda (%1,65 kuru ağırlık), yapraklarda düşük konsantrasyonlarda (%0,05) bulunmuş, köklerde ise bulunamamıştır (Özhan, 2006; Türk, 2009).

Farklı meyve ve sebzelerin toplam fenolik bileşik içerikleri arasında geniş bir çeşitlilik vardır. Bu farklılıklar bu bileşik gruplarının karmaşıklığından kaynaklanabilir. Fenolik bileşikler meyvelerde hem serbest hem de bağlı formlarda bulunmaktadır. Ancak analizlerde bunlardan bağlı formlarda olanlar dikkate alınmaktadır. Bu yüzden de yapılan analizlerde toplam fenolik miktarı değerinin altında çıkmaktadır (Özhan, 2006).

Fenolik bileşikler hücre duvarı destek materyali olarak büyük öneme sahiptirler. Hücre duvarı ile bütünleşmiş vaziyette bulunurlar. Bunlar için özellikle ligninler mikrobiyal istilaya karşı mekanik destek ve bariyer görevi üstlenirler. Ligninler selülozdan sonra yeryüzündeki en yaygın organik bileşiklerdir (Özhan, 2006; Türk, 2009).

Bitkisel kaynaklı gıdalardaki fenolik bileşiklerin miktarını tam olarak bilmek çok zordur. Çok sayıda tanımlanmayan fenolik madde olması, fenolik bileşik sayısının çokluğu, analiz koşullarında bir fikir birliği oluşmaması gibi nedenlerle gıdaların fenolik madde içeriği ile ilgili veriler hem tamamlanmamıştır hem de bazen çelişkiler içermektedir (Çam, 2005).



## BÖLÜM III

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Maclura pomifera

Tez çalışması kapsamında maclura pomifera meyveleri toplanma işlemi meyvelerin olgunlaştığı ağustos ayında gerçekleştirilmiştir. Örnekler 2015 yılı ağustos ayında İstanbul ili Ümraniye ilçesi Tantavi parkından toplanmıştır. Meyveler üniversitemiz kimya araştırma laboratuvarında kurutulmuş ve analize yapılıncaya kadar bu laboratuvarında muhafaza edilmiştir.

##### 3.1.2 Kullanılan kimyasal maddeler

Analizlerde kullanılan tüm kimyasal maddeler Merck ve Sigma-Aldrich firmalarından temin edilmiştir.

##### 3.1.3 Kullanılan cihazlar

Elektroegirme işlemi için üniversitemiz Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü araştırma laboratuvarında bulunan Tong Li Tech marka TL-pro-BM model çok fonksiyonlu elektoregirme cihazı kullanılmıştır. Nanoliflerin morfolojileri Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan FEI marka, Quanta FEG-250 model taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. FT-IR analizleri yine Aksaray Üniversitesi'nde bulunan Perkin Elmer marka Nicolet 520 spektrofotometre ile yapılmıştır. TGA analizi ise Aksaray Üniversitesi'nde bulunan Hitachi marka ve Exstar SII TG/DTA 7300 model DTA-TG cihazında yapılmıştır. Toplam fenolik madde içeriklerinin belirlendiği analizler ise Shimadzu UV-vis spectrophotometer 1240 cihazı ile Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Maclura pomifera özütlerinin hazırlanması**

Maclura pomifera meyvesinin taze olarak toplanan örnekleri öncelikle steril bir neşter kullanılarak küçük parçacıklara ayrılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi için iki hafta süreyle bekletilmiştir. Kurutulan bitki örnekleri mekanik öğütücü ile toz haline getirilmiştir. Toz haldeki örnekten 10 g alınarak 100 mL %70'lik metanol kullanılarak oda sıcaklığında bir gece beklemeye alınmıştır. Bir gün sonra Whatmann No. 1 filtre kâğıdıyla süzildükten sonra alkolün tamamen uçması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çökelti 10 mL steril serum fizyolojik ile 5 dakika santrifüj edilerek yıkandıktan sonra üst faz uzaklaştırılmıştır. Kalıntı tekrar % 20'lik 5 mL metanol içerisinde oda sıcaklığında bir gece bekletildikten sonra filtre kâğıdıyla süzülerek ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır.

### **3.2.2 Nanolif sentezi**

Nanoliflerin sentezi öncesi maclura pomifera meyvesi homojenizatör kullanılarak suda (% 50, kütle/hacim oranında) homojenize edilmiştir. Ekstrakt petriye dökülerek ve liyofilize edilmiştir. Kitosan çözeltisi asetik asitte çözülmüş kitosan (%2) ve EDTA'nın sudaki çözeltisi (2:1) ile hazırlanmıştır. Kitosan zayıf asitler çözüldüğünde elektroegirme yönteminde nanolif eldesi kolaylaşmaktadır. PVA'nın sudaki çözeltisi 100°C 'de 4 saat karıştırılarak elde edilmiştir. Liyofilize edilmiş maclura pomifera özütü saf suda çözülmüştür. Kütlece 30/70 oranında kitosan-EDTA çözeltisi önce hazırlanan PVA çözeltisi ile karıştırılmış sonra üzerine maclura pomifera özütünden hazırlanmış çözelti ilave edilmiştir.

### **3.2.3 Elektroegirme işlemi**

Hazırlanan çözelti 5 ml'lik paslanmaz çelik uçlu şırınga içerisine çekilerek elektro egirme deney düzeneğine yerleştirilmiştir. Uzaklık sabit tutulup, 15 kV elektrik potansiyelinde nanofiberler üretilmiştir. Nanolifler dönen bir toplayıcıya sarılmış bir alüminyum tabaka üzerine döndürülerek toplanmıştır. Çözelti oda sıcaklığında elektoregirilmiş ve toplama mesafesi yaklaşık 20 cm'de sabitlenmiştir. Çözelti

beslemesi bir şırınga pompası ile yürütülmüş olup, hız, eğirme sırasında 0.25 mL/ s'de sabitlenmiştir (Koski, 2004) .

### **3.2.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi**

Elektrolif çekimleri tamamlanmış nanolifin yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bu işlem için Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan FEI marka, Quanta FEG-250 model taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazından faydalanılmıştır. Alüminyum folyo üzerine toplanan nanolif örnekleri SEM cihazında görüntü almak üzere numune tutuculara 05 cm x 0.5 cm boyutlarında çift taraflı karbon bant yapıştırılarak yerleştirilmiştir. Örnekler görüntü alma işlemi öncesinde argon atmosferinde altın kaplama işlemine tabi tutulmuşlardır. Görüntüleme yöntemi ve buna bağlı yazılımlar ile lif çapları ölçülmüştür.

### **3.2.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi ışın spektrometresi (FTIR) analizi**

Kimyasal analizler için sıklıkla kullanılmakta olan FTIR analizleri ile nanolif örneğinin yapısında bulunan kimyasal bağların infrared spektrumlarının alınması amaçlanmıştır. FT-IR analizleri Aksaray Üniversitesi'nde bulunan Perkin Elmer marka Nicolet 520 spektrofotometre ile yapılmıştır. Toz haline getirilmiş örnekler ile IR bölgede herhangi bir absorpsiyonu bulunmayan KBr ile karıştırılarak 6000 psi basınç altında 13 mm çaplı tabletler hazırlanmıştır. 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  spektral aralıkta ölçümler elde edilmiştir.

### **3.2.6 Termal gravimetrik analiz (TGA)**

Nanoliflerin yapılarının aydınlatılması çalışmaları kapsamında elde edilen örneğe TGA tekniği uygulanmıştır. TGA, sıcaklığın doğrusal olarak artırılması ile maddenin kütsel olarak kaybını ölçmek amacıyla uygulanmaktadır. Bu yöntem örneğin bozunduğu ve buharlaştığı sıcaklıklar ile ilgili bilgi vermektedir. Aynı zamanda örneğin ısıl kararlılığının bir göstergesidir. Örneğin TGA analizi Aksaray Üniversitesi'nde bulunan Hitachi marka ve Exstar SII TG/DTA 7300 model DTA-TG cihazında yapılmıştır. Analiz 25-900°C aralığında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.7 Toplam fenolik madde içerikleri

Toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi toplam dört aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak maclura pomifera meyvesi özütündeki toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş, daha sonra elde edilen nanolif örneğinin bir iki ve üç ay sonunda toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş ve böylece özütten nanolife geçen toplam fenolik madde içerikleri ile nanolifin zaman içerisindeki toplam fenolik madde olası kayıpları araştırılmıştır. Bu işlemlerin her birisi için UV-vis spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis spectrophotometer 1240) kullanılmıştır. Özütteki toplam fenolik madde içeriklerini doğrudan ölçülürken, nanolifin yapısında bulunan toplam fenolik madde içeriklerinin belirlendiği analizlerde nanolif mekanik olarak parçalanmıştır. Bu işlemler için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Folin-Ciocalteu reaktifi fenolik maddeler ile tepkimeye giren bir ajandır. Bu reaktifin 1:10 oranında seyreltilerek hazırlanan Folin-Ciocalteu çözeltisi, 20 µL örneğin 100 µL' ye tamamlanması ile hazırlanmıştır. Analizi yapılan örnek ile reaktifin tepkimesini durdurmak için tepkime başladıktan 2 saat sonra 80 µL % 7'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiştir. Oda sıcaklığında ve bir saat karanlık ortamda bekletilen örneklerin ölçümü 720 nm 'de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen absorban değerleri gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır (Vasquez vd., 1973).

## BÖLÜM IV

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Maclura pomifera meyve özütünden elektroegirme yöntemiyle elde edilen membranların kimyasal yapılarının incelendiği bu tez çalışmasında, yaygın nanolif elde etme yöntemi olan elektrolif çekim yöntemi ile maclura pomifera meyve özütü kullanılarak kitosan-etilendiamin tatraasetik asit/polivinilalkol (CS-EDTA/PVA) polimerleri ile nanolif sentezlenmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4.1.** Elektroegirme yöntemiyle elde edilmiş nanolif

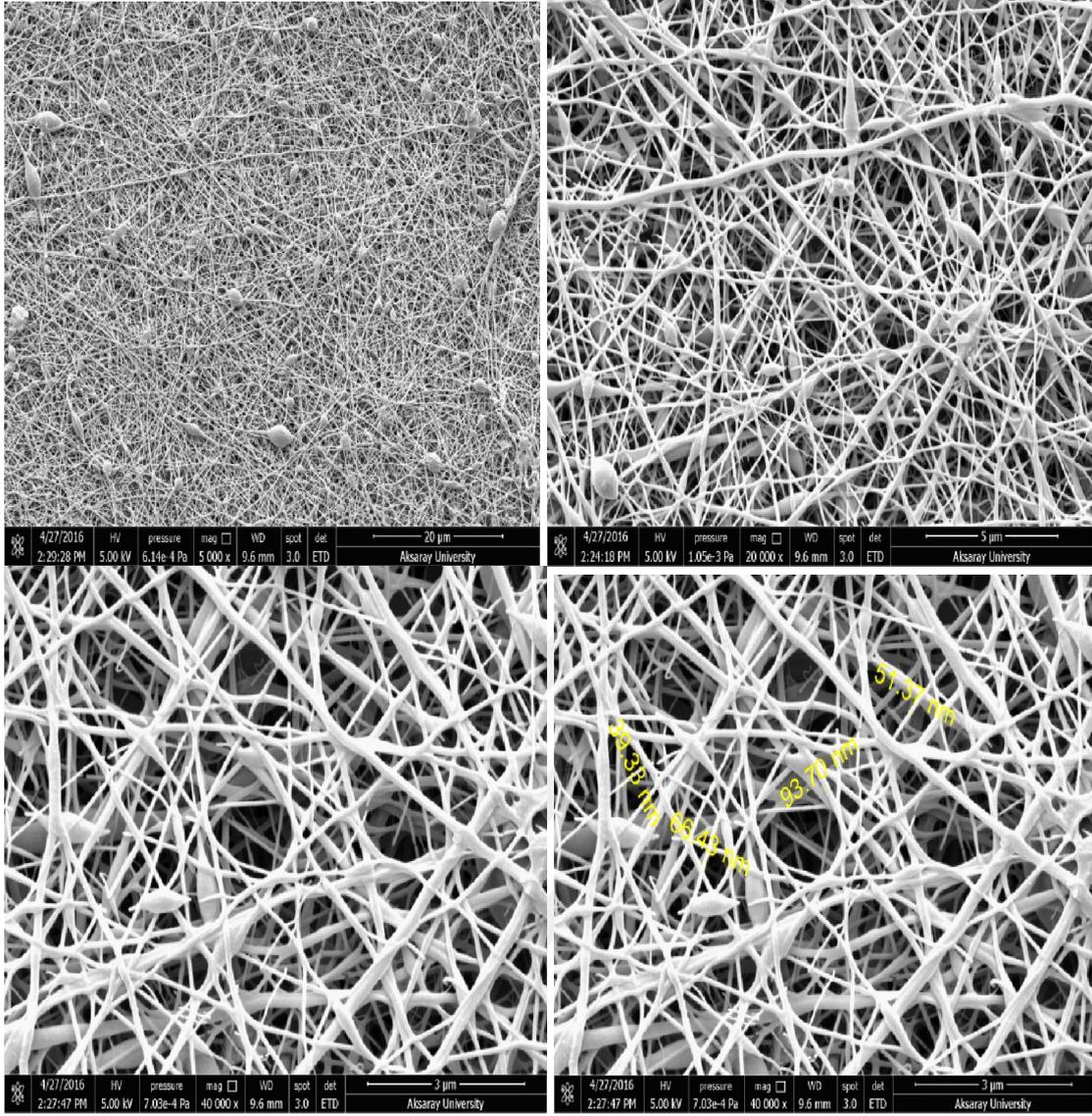
Nanolif elde etmek için kütlece %3'lük maclura pomifera özütü CS-EDTA/PVA çözeltisine eklenmiştir. Elde edilen nanoliflerin yapısı ve çapları taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak analiz edilmiştir. Kimyasal bağlanma özellikleri ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenmiştir. Çalışmanın devamında maclura pomifera yüklü nanoliflerin TGA analizleri gerçekleştirilerek ısıl özellikleri incelenmiştir. Son aşamada ise toplam fenolik madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ilk olarak maclura pomifera meyvesi özütündeki toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş, daha sonra elde edilen nanolif örneğinin bir iki ve üç ay sonunda toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş ve böylece özütten

nanolife geçen toplam fenolik madde içerikleri ile nanolifin zaman içerisindeki toplam fenolik madde olası kayıpları araştırılmıştır.

#### **4.1 SEM Analizine Ait Bulgular**

Maclura pomifera meyve özütü yüklü nanolif örneğinin SEM analizi ile elde edilen görüntüleri incelenmiştir. Örneğin SEM görüntüleri Şekil 4.2.'de görülmektedir. Nanolifin 5000, 20000 ve 40000 kez byltlerek görüntüleri alınmıştır. Elde edilen sonuçlar nanolif boyutlarının 39,33 nm ile 93,70 nm boyutları aralığında değiştiğini göstermiştir. Ayrıca nanolifin yapısında safsızlıklar da göze çarpmaktadır.

Çalışmanın amacı nanolif elde edilmesi olduğu için elde edilen ürünün aydınlatılabilmif yapısı üzerinde yorumlamalar yapılmıştır. Elektro eğirme işleminin Şartlarının değiştirilmesi ve özütün farklı zcler ile muamele edilmesi sonucu elde edilmesi durumunda bu safsızlıkların önüne geçilebileceği ve bu çalışma ile karşılaştırılabileceği düşünülmektedir. Yapının korunması amacıyla voltaj sabit tutulmuştur. Voltajın artırılması nanolif yapısının bozulmasını ve toplanma yüzeyinde oluşacak film oluşumunu engellemektedir. Daha saf nanolif elde edilmesi ancak özüt elde edilmesi ile gerçekleştirilebilecektir.



Şekil 4.2 Nanolif SEM görüntüleri

Elektrolif çekim yöntemiyle elde edilen biyopolimer nanoliflerin doku mühendisliği ve ilaç salımı uygulamalarında kullanım olanaklarının incelendiği bir tez çalışmasında elde edilen nanoliflerin boyutları 16-149 nm aralığında bulunmuştur (Doğan, 2012).

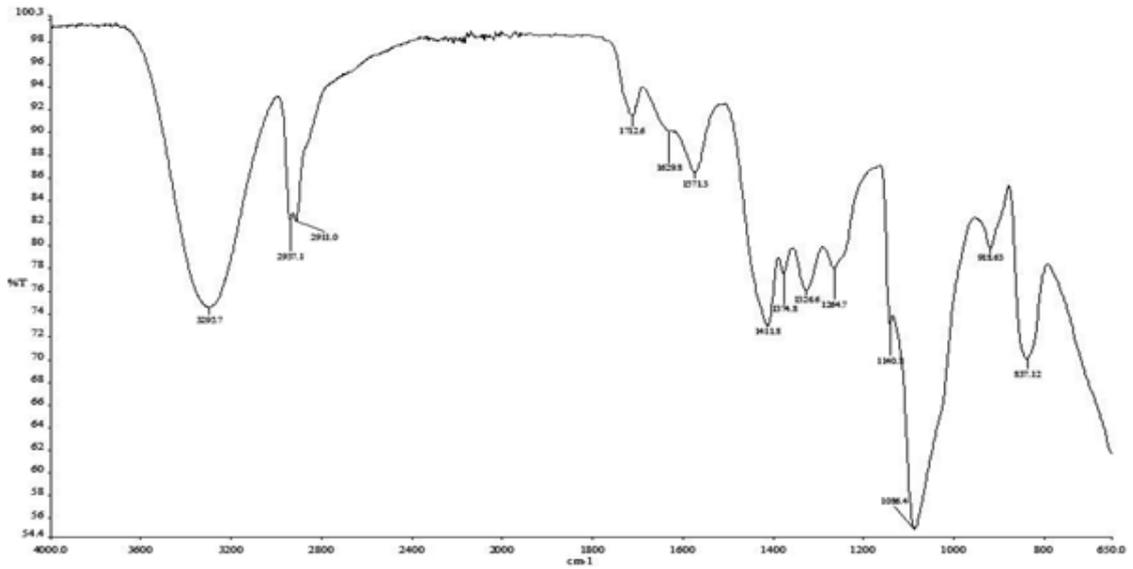
Çiftçi ve arkadaşları nanokil katkılı PVA/Kitosan nanolifleri sentezlemiş ve yapıyı karakterize etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen nanoliflerin çaplarının 110-140 nm arasında olduğunu görmüşlerdir (Çiftçi vd. 2015).

Charernsriwilaiwat ve arkadaşları ise lizozim yüklü kitosan bağlı nanofiberler elde etmişler ve bu nanoliflerin çaplarını 143-209 nm aralığında saptamışlardır. Benzer diğer

tüm çalışmalarda yaklaşık olarak yakın nanolif çaparına ulaşıldığı görülmektedir. Yine benzer çalışmalarda SEM analizleri sonucu elde edilen görüntülerde safsızlıklar içeren baloncuklara rastlanabilmektedir. Bu safsızlıkların engellenmesi için deney şartlarında bir takım değişiklikler yapılması gerektiği yine aynı çalışmalarda belirtilmektedir (Charernsriwilaiwat vd., 2013).

## 4.2 FTIR Analizine Ait Bulgular

Nanolif örneğinin FTIR analizi ile yapısında bulunan kimyasal bağlar incelenmiştir. Elde edilen spektrumlar Şekil 4.3'de görülmektedir.



Şekil 4.3. Nanolif örneğinin FTIR spektrumu

Nanolif örneğinin FTIR spektrumları incelendiğinde; 1042 ve 1371  $\text{cm}^{-1}$ 'de sırasıyla kitosana ait  $\text{CH}_2$  gruplarının asimetrik C-H eğilmesi ve glikozamin kalıntılarının C=O köprü gerilimleri görülmektedir. 2922  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-H gerilimleri, 1782  $\text{cm}^{-1}$ 'de hemiselülozun C=O gerilimleri, 1434  $\text{cm}^{-1}$ 'de alifatik gruplara ait simetrik COO-gerilimleri, 1517  $\text{cm}^{-1}$ 'de alifatik  $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$  pikleri, 1645  $\text{cm}^{-1}$ 'de karboksil gruplarına ait karbonil grupları, 1271  $\text{cm}^{-1}$ 'de ise fenol gruplarının C-O gerilimlerine ait piklere rastlanmaktadır. Elde edilen sonuçlar maclura pomifera özütü yüklü nanolif yapısının oluştuğunu göstermektedir.

Çiftçi ve arkadaşları nanokil katkılı PVA/Kitosan nanolifleri sentezlemiş ve yapıyı karakterize ettikleri bir çalışmada 2941  $\text{cm}^{-1}$ 'de PVA polimerine ait alifatik CH

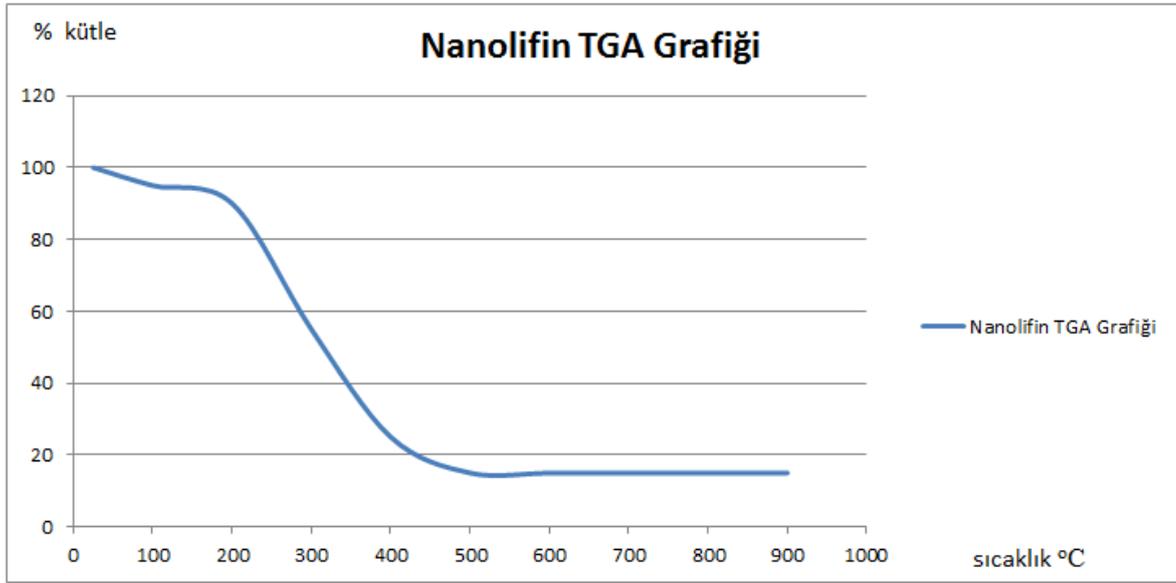
gerilmelerine, 1095 cm<sup>-1</sup>'de ise alifatik CO gerilmelerine rastlamışlardır. Kitosana ait 3450 cm<sup>-1</sup>'de OH, 3295 cm<sup>-1</sup>'de NH, 2926 cm<sup>-1</sup>'de CH<sub>2</sub> asimetrik gerilme, 1660 cm<sup>-1</sup>'de NH piklerine rastlamışlardır (Çiftçi vd., 2015).

FTIR analizleri özellikle meyve özütünün nanolif yapısına yüklenmesinin belirlenmesi açısından önemli olmaktadır.

### **4.3 TGA Analizine Ait Bulgular**

Maclura pomifera özütü yüklü nanolif yapısının aydınlatılması çalışmaları kapsamında elde edilen örneğe TGA tekniği uygulanmıştır. TGA, sıcaklığın doğrusal olarak artırılması ile maddenin kütsel olarak kaybını ölçmek amacıyla uygulanmaktadır. Bu yöntem örneğin bozunduğu ve buharlaştığı sıcaklıklar ile ilgili bilgi vermektedir. Aynı zamanda örneğin ısıl kararlılığının bir göstergesidir. Maclura pomifera yüklü nanolifin 25-900°C aralığındaki sıcaklığa bağlı kütle değişiminin iki aşamada gerçekleştiği görülmektedir. TGA analiz sonucuna ait grafik Şekil 4.4.de görülmektedir. İlk aşamada meydana gelen yaklaşık %10'luk kütle kaybının örneğin yapısındaki nemden kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci aşamada yaklaşık olarak %70'lik kütle kaybının ise yapının bozunmasına bağlı bir kayıp olduğu düşünülmüştür. Bu sonuç aynı zamanda özüt yüklü nanolifin yapısının dayanıklılığını göstermektedir.

Çiftçi ve arkadaşları nanokil katkılı PVA/Kitosan nanolifleri sentezleyerek yapısını karakterize ettikleri çalışmalarında sıcaklığa bağlı kütle kaybının %10 seviyesinde, yapının bozunmasını ise %75 seviyesinde tespit etmişlerdir (Çiftçi vd., 2015).



**Şekil 4.4.** Nanolif örneğinin TGA grafiği

Kütle kaybının sıcaklığa bağlı olarak değişimi yapının incelenmesinde önemlidir. Çünkü kimyasal olarak yapının dayanıklılığının bir ölçüsü olarak görülmektedir. Ayrıca polimerik yapı ile özütün yapıdaki etkileşiminin incelenmesi açısından önemlidir.

#### 4.4 Toplam Fenolik Madde İçeriğine Ait Bulgular

Maclura pomifera meyvesi ve özütün yüklü nanolif örneğinin toplam fenolik madde içeriğini belirlemek için toplam dört aşamada analizler gerçekleştirilmiştir. İlk olarak maclura pomifera meyvesi özütündeki toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş, daha sonra elde edilen nanolif örneğinin bir iki ve üç ay sonunda toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş ve böylece özütten nanolife geçen toplam fenolik madde içerikleri ile nanolifin zaman içerisindeki toplam fenolik madde olası kayıpları araştırılmıştır. Tüm ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Özütün gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde içeriği  $23.09 \pm 0.26$  mg GAE/g meyve olarak bulunmuştur. Maclura pomifera yüklü nanolif için ise üç ayrı toplam fenolik madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler de nanolif elde edildikten sonra ilk üç ay için değerler belirlenmiştir. İlk üç ay içerisinde elde edilen toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla  $2.19 \pm 0.09$  mg GAE/g nanolif,  $2.02 \pm 0.04$  mg GAE/g nanolif ve  $1.89$

$\pm 0.05$  mg GAE/g nanolif olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar özüt içerisinde bulunan fenolik bileşiklerin yaklaşık %10'unun nanolif yapısına geçtiği, ancak nanolif elde edildikten sonra önemli bir fenolik madde kaybının olmadığını göstermiştir. Toplam fenolik madde içeriklerine ait elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de, verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Maclura pomifera meyvesi ve nanolif örneği toplam fenolik madde içerikleri

	Özüt (mg GAE/g meyve)	Nanolif (mg GAE/g nanolif)		
		1. ay	2. ay	3. ay
Toplam				
Fenolik Madde İçeriği	23.09 $\pm$ 0.26	2.19 $\pm$ 0.09	2.02 $\pm$ 0.04	1.89 $\pm$ 0.05

Fenolik bileşikler doğada tüm bitkilerin yapısında bulunmaktadır. Bitkilerin tüm renk, koku ve tat özellikleri yapılarında bulunan fenolik madde bileşenlerine bağlı olarak değişmektedir. Bu tez çalışmasında yapılan analizler sonucunda öncelikle özüt elde edildikten sonraki toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi amaçlanmış ve özütün yapısında bulunan miktarın az bir kısmının nanolif yapısına geçtiği ancak nanolif elde edildikten sonra zamanla toplam fenolik madde içeriğinin önemli oranda değişmediği, dolayısıyla özüt yüklü nanolif yapısına hapsoldüğü sonucuna varılmıştır.

Literatürde çalışmalar incelendiğinde her bir bitki türü için toplam fenolik madde miktarının çok büyük farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir. Bu tez çalışmasında toplam fenolik madde miktarları belirlenirken bu içeriği hangi fenolik içeriğinin oluşturduğu yönünden bir çalışma yapılmamıştır. Toplam fenolik madde miktarının özütten nanolif yapısına geçişi araştırılmıştır.

Altuner ve arkadaşları Maclura Pomifera meyvesinin fenolik madde içeriğini belirledikleri çalışmalarında bu meyve de total fenolik madde miktarını en düşük 316,877  $\mu$ g GAE/mL, en yüksek ise 913, 173  $\mu$ g GAE/mL olarak belirlemişlerdir (Altuner vd, 2012). Bitki örneklerinin fenolik madde içerikleri yetiştiği bölgeye, mevsime ve diğer çevresel faktörlere bağlı olarak büyük değişiklikler

gösterebilmektedir. Bu tez çalışmasında saptanmış olan toplam fenolik madde miktarları özüt olarak değerlendirildiğinde ortalama bir değer olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak nanolif yapısı oluşurken bu miktarın yaklaşık %10 miktarında geçebildiği gözlemlenmektedir. Bu miktarın az olmasının nedeni ayrıca bir araştırma konusu olarak değerlendirilebilir. Ancak nanolif yapısında toplam fenolik madde yapısının zamanla azalmamış olması yapının içerisinde kararlı olarak bulunduğunun göstergesi olarak önemli bir sonuç olarak görülmektedir.



## BÖLÜM V

### SONUÇLAR

Elektroegirme yöntemi kullanılarak maclura pomifera meyve özütünden elde edilen membranların kimyasal yapılarının incelendiği bu tez çalışmasında, maclura pomifera meyve özütü kullanılarak kitosan-etilendiamin tatraasetik asit/polivinilalkol (CS-EDTA/PVA) polimerleri ile nanolif sentezlenmiştir. Nanolif elde etmek için kütlece %3'lük maclura pomifera özütü CS-EDTA/PVA çözeltisine eklenmiştir. Elde edilen nanoliflerin yapısı ve çapları taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılarak analiz edilmiştir. Kimyasal bağlanma özellikleri ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenmiştir. Çalışmanın devamında maclura pomifera yüklü nanoliflerin TGA analizleri gerçekleştirilerek ısıl özellikleri incelenmiştir. Son aşamada ise toplam fenolik madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada ilk olarak maclura pomifera meyvesi özütündeki toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş, daha sonra elde edilen nanolif örneğinin bir iki ve üç ay sonunda toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiş ve böylece özütten nanolife geçen toplam fenolik madde içerikleri ile nanolifin zaman içerisindeki toplam fenolik madde olası kayıpları araştırılmıştır.

Elde edilen nanolif örneği üzerinde yapılan araştırmalar CS-EDTA/PVA polimeri aracılığıyla maclura pomifera meyve özütünün nanolif yapısına yüklenmiş olduğu belirlenmiştir. Nanolife ait SEM görüntüleri 5000, 20.000 ve 40.000 kez büyütülerek incelendiğinde bünyesinde bulunan safsızlıklar ile birlikte nanolifin yapısını hakkında bilgi vermektedir. Yapılan FTIR analizinde elde edilmiş olan pikler incelendiğinde ise yine özütün nanolif yapısına yüklendiği ile ilgili bilgiler vermektedir. TGA analizi sonucunda ilk aşamada %10 seviyesinde gerçekleşen kütle kaybından sonraki aşamanın %70'lerde olması yapının dayanıklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca yine özütün nanolif yapısında yüklü olduğunun bir göstergesidir. Bu üç analiz sonucu nanolif yapısı hakkında bir takım ön bilgilere sahip olmak mümkün olabilmektedir.

Tez çalışmasının devamında tüm bitkiler için önemli bir bileşen olan ve bitkilerin özellikle renk, koku ve tatlarından sorumlu olan fenolik bileşenlere ait toplam fenolik madde miktarları üzerinde bir araştırma yapılmıştır. Meyve üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen toplam fenolik madde miktarının özüt aracılığı ile

nanolif yapısına ne kadar geçtiği belirlenmeye çalışılmıştır. Bu analizler sonucunda fenolik bileşenlerin özüt üzerinden nanolife yapısına geçtiği ama bu miktarın az bir miktar olduğu belirlenmiştir. Nanolif eldesi sonucunda ilk üç ay bekleme sonucunda her bir ay için nanolif yapısındaki toplam fenolik madde miktarları tekrarlanarak incelenmiştir. Zamana bağlı olarak toplam fenolik madde miktarında önemli bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Buda nanolifin farklı amaçlar ile kullanımı durumunda nanolifin kararlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Tez çalışmasının sonuçları bir bütün olarak değerlendirildiğinde bu araştırma sonucundan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. SEM görüntülerinde açıkça görüldüğü gibi nanolif yapısında bazı safsızlıklar bulunmaktadır. Bu safsızlıkları belirlemek için yeni çalışmalar gerçekleştirilebilir.
2. SEM görüntüsünde rastlanmış olan safsızlıkları engellemek amacıyla başlangıçtan itibaren elektroçirime öncesi ve sonrası bazı deney şartlarının değiştirilmesi düşünülebilir. Ancak elektroçirime işlemi sırasında voltaj değişimlerinin nanolif eldesini olumsuz yönde etkilediği bu tez çalışmasında belirlenmiştir.
3. Elde edilen nanolif üzerinde NMR ile birlikte bazı kromatografik analizlerin yapılması yapının aydınlatılması için daha somut verileri göz önüne serecektir.
4. Tez çalışmasına konu olan meyvenin farklı zamanlarda ve farklı bölgelerden toplanarak analizlerin karşılaştırılması olarak yeniden yapılması bölgesel farklılıkların ürün üzerindeki etkisi yönünden önemli karşılaştırma imkanları sağlayacaktır.
5. Toplam fenolik madde içeriğinde hangi fenolik bileşenlerin bulunduğu bilinmemektedir. Yapılacak yeni çalışmalarda kromatografik yöntemlerle bu bileşenlerin tespit edilmesi sağlanabilir.
6. Yine toplam fenolik madde içeriğini oluşturan fenolik bileşenlerin farklı örneklerdeki olası farklı çeşitlenmeleri ve miktarları karşılaştırmalı olarak araştırılabilir.
7. Maclura pomifera özütü yüklü yeni nanolifler etmek için farklı polimerik karışımların denenmesi yeni sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

Bütün bu sonuçlar ile birlikte bu tez çalışmasının yeni yapılacak çalışmalara yön verebilecek bir araştırma olduğu düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

Abhay, M., Formation and Characterization of Electrospun Nonwoven Webs, *Thesis of North Carolina State University*, North Carolina, s. 12, 2002.

Anonim. Maclura pomifera (Raf.) C.K. Schneid.  
<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2501306>. 13.02.2014. 86

Armağan, G., N-Metil- D-Aspartat reseptörleri aracılı nörodejenarasyonda bazı nonsteroidalanti inflamatuvar ilaçların nöroprotektif etkileri, Doktora Tezi, *Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 11, 2011.

Altuner, E. M., İşlek, C., Çeter, T. And Alpas, H., High hydrostatic pressure extraction of phenolic compounds from Maclura pomifera fruits, *African Journal of Biotechnology*, 11(4), 930-937, 2012

Aytaç, Z., Elektroegirme yöntemi ile üretilen siklodekstrin fonksiyonlu nanolifler ve uygulama alanları, Doktora Tezi, *İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, s. 8-9, 2016

Balta, U., Yapay tendon olarak kullanılmak üzere elektro egirme yöntemi ile doğal/sentetik polimerik membranların hazırlanması, Yüksek Lisans Tezi, *Yalova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yalova, s. 10-11, 2014

Baumgarten P. K., Electrostatic spinning of acrylic microfibers, *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 36, s. 71–79, 1971.

Berdy, David, Chong, Henry, Paruchuri, Srinivas, YU, Jian, Hollar, Kathryn, Weitz, David, Bifurcations in Electrospinning: Splitting a Polymer Jet, Weitz Group, *Harvard University*, 2005.

Carlson G.G. and Jones V.H., Some notes on uses of plants by the Comanche Indians. 1. Baskı. Michigan, *University of Michigan Press*, 1940.

Charernsriwilaiwat, N., Opanasopit, P., Rojanarata, T., and Ngawhirunpat, T., Lysozyme-loaded, electrospun chitosan-based nanofiber mats for wound healing, *International Journal of Pharmaceutics*, 427(2), 379-384, 2012.

Çayır, Ö., Elektro eğirme yöntemi ile karavakrol yüklü nanofillerin üretimi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin, s. 5-7, 2007.

Çetin, Ç., CuCrO<sub>2</sub> nano-iplik örgülerinin elektro-eğirme ile üretimi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, s. 8-9, 2016.

Çiftci, Şengül, et al. "Nanokil katkılı PVA/kitosan nanolif sentezi ve karakterizasyonu." *SDÜ Fen Dergisi* 10.1, 2015.

Doğan, G., Elektrolif çekim yöntemiyle elde edilen biyopolimer nanoliflerin doku mühendisliği ve ilaç salımı uygulamalarında kullanım olanaklarının araştırılması, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 6, 2012.

Doshi, J. And Reneker, D.H., Electrospinning process and applications of electrospun fibers, *Journal of Electrostatics*, vol. 35, s.151-160, 1995.

Dumlu, C., Elektroğirme yöntemiyle yumuşak doku mühendisliğinde kullanıma uygun yönlendirilmiş yarı sentetik polimer taşıyıcı üretimi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmit, s. 7-8, 2014.

Gregory, C., Rutledge, Sergey, Fridrikh, V., Formation of fibers by electrospinning, *Advance Drug Delivery Reviews*, vol. 59, s.1384-1391, 2007.

Greish, Y.E., Meatani, M.A., Al Matroushi E.A. and Al Shamsi B., Effects of thermal and chemical treatments on the structural stability of cellulose acetate nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 82, 569-577, 2010.

Girl B. My Osage Orange Trees: Holiday Craft. <http://www.blimpygirl.com/personal-what-not/my-osage-orange-trees-holiday-craft>. Erişim tarihi 13 Şubat 2016.

Gülmez, M., Elektroğirme (electrospinning) makinası tasarımı ve kontrolü, Yüksek Lisans Tezi, *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, s. 13-14, 2013.

Gürel, G., Elektroğirme yöntemiyle oluşturulmuş biyokompozit matriksler üzerinde damar oluşumu sağlanmış kemik dokusu mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi, *Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, s. 9-10, 2011.

Han, S.O., Youk, J.H., Min. K.D., Kang, Y.O. and Park, W.H., Electrospinning of cellulose acetate nanofibers using a mixed solvent of acetic acid/water: Effects of solvent composition on the fiber diameter. *Materials Letters*, 62, 759-762, 2008.

Ishii, Y., Sakai, H. Ve Murata, H.A., new electrospinning method to control the number and a diameter of uniaxially aligned polymer fibers, *Materials Letters*, vol.62, No. 19, s. 3370-3372, 2008.

Kaya, D.A., Elektroğirme yöntemiyle Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.TiO<sub>2</sub> nanoliflerin üretimi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Afyonkarahisar, s. 5-6, 2009.

Khil, Myung-Seob, Bhattarai, ShantaRaj, Kim, Hak-Yong, Kim, Sung-Zoo, Lee, Keun-Hyung., Novel Fabricated Matrix Via Electrospinning for Tissue Engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* vol. 72B, s.117-124, 2004.

Kırıştı, M., Plazma muamele edilmiş kitosaniletken polimer kompozit nanoliflerinin elektroğirme yöntemi ile hazırlanması ve özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, s. 10-11, 2011.

Koçum, C. And Ayhan, H., Design and Construction Of Uniform Glow Discharge Plasma System Operating Under Atmospheric Condition, *Review of Scientific Instruments* vol.78, No.6, 2007.

Kontogiannopoulos, K.N., Assimopoulou, A.N., Tsivintzelis, I., Panayiotou, C. And Papageorgiou, V.P., Electrospun fiber mats containing shikonin and derivatives with potential biomedical applications, *International Journal of Pharmaceutics*, 409, 216-228, 2011.

Koski K., Yim K. And Shivkumar S., Effect of molecular weight on fibrous pva produced by electrospinning, *Materials Letters*, 58: 493-497, 2004.

Küçük, A., Elektroğirme yöntemiyle bor katkılı hidroksiapatit nanoliflerin üretim ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Afyonkarahisar, s. 12-13, 2012.

Larrondo, L., ST John Manley, R., *J. Polym. Sci.:Polym. Phys*, vol. 19,s. 909-921-933, 1981.

Liskova, M., Marek, J., Jankovska, D., Sukupova, L., Zemlicka, M. And Vanco, J., *Osajin Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 2005, 61: 1848-1850.

Martin, G.E., Cockshott, I.D., and Fildes, J.T., Fibrillar Lining For Prosthetic Device, US Patent No. 4.044.404, 1977.

Horzum Polat N., Elektroğirme nanoliflerin filtrasyon işlemlerinde uygulamaları, Doktora Tezi, **İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir, s. 7-9, 2013.

Işık, T., Kanda serbest halde dolaşan nükleik asitlerin elektroğirme lifler ile serumdan ayrılması, Yüksek Lisans Tezi, **İzmir Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir, s.11, 2015.

Okyay, B., Elektroğirme yöntemi ile poli (4-vinilpiridin) nanoliflerinin hazırlanması ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü**, Ankara, s. 13-15, 2016.

Oktay, A.,Metal katkılı TiO<sub>2</sub> nanoliflerin elektroğirme yöntemi ile hazırlanması ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans, **Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta, s. 12, 2014.

Petersan and Brockemeyer, C.F., Peterson, E.W. Brockemeyer The antifungal activity of an aqueous extract of osage orange wood, Am.J. Pharm. Sci. Suppl. Pub. Hlth., 125, pp. 303-310, 1953.

Ruiz-Larrea, M.B., Mohan, A.R., Paganga, G., Miller, N.J., Bolwell, G.P., Rice-Evans, C.A., Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. **Free Radical Research**, 1997, 26: 63-70.

Saloua, F., Eddine, N.I., Hedi, Z., Chemical composition and profile characteristics of Osage orange Maclura pomifera (Rafin.) Schneider seed and seed oil. **Industrial Crops and Products**, 29: 1-8, 2009.

Selbes, M., Elektroğirme yöntemiyle nanofiber tabakalı hava filtresi üretimi ve performans testleri, Yüksek Lisans Tezi, **Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Konya, s. 14-15, 2013.

Shin, Y.M., Hohman, M.M., Brenner, M.P. and Rutledge, G.C., Electrospinning: A whipping fluid jet generates submicron polymer fibers, **Applied Physics Letters**, vol. 78, No. 8, 2001.

Sternburg, Guy, Osage Orange (*Maclura pomifera* (Raf.) Schneider): Species Character, vol. 6. Division of Special Services, Illinois Department of Conservation, Springfield, IL, pp. 1-6, 1989.

Srınovasan, G., Structure and Morphology of Electrospun Polymer Fibers Doctora lDissertation, *The University of Akron*, 1994.

Süslü, A., Elektroğirme yöntemi ile nanofiber ve nanotüp üretimi, Yüksek Lisans Tezi, *Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 9, 2009.

Taylor, G.I., Disintegration of Water Drops in an Electric Field, Proceedings of the Royal Society of London Series A Mathematical and Physical Sciences, vol.280, s. 383, 1964.

Teixeira D.M. and Costa C., Novel methods to extract flavanones and xanthonnes from the root bark of *Maclura pomifera*, *Journal of Chromatography A*, 1062: 175-181, 2005.

Teo, W.E. and Ramakrishna, S.A., Review on Electrospinning Design and Nanofibre Assemblies, *Institute of Physics Publishing*, Nanotechnology, vol 17, No:14, s. R89-R106, 2006.

Tsao R., Yang R. And Young J.C., Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6445-6451, 2003.

Tungprapa, S., Jangchud, I. and Supaphol P., Release characteristics of four model drugs from drug-loaded electrospun cellulose acetate fiber mats. *Polymer*, 48, 5030-5041, 2007.

USDA. *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid. Osage orange. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MAPO>. 13.02.2014.

Vazquez L., Verdu A., Miquel A. and Burlo F., Carbonell-Barrachina, A.A., Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turrón, *European Food Research and Technology*, 225, 757-767, 2007.

Wei H., Bowen R., Cai Q., Barnes S. and Wang Y., Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein, *Experimental Biology and Medicine*, 208: 124-130, 1995.

Wongsasulak, S., Jangchud, I. and Supaphol P., Release characteristics of four model drugs from drug-loaded electrospun cellulose acetate and egg albumen blends, **Journal of Food Engineering**, 98, 370-376, 2010.

Zeleny, J., The electrical discharge from liquid points and A hydrostatic method of measuring the electric intensity at their surfaces, *Physical Review*, vol.3, s. 69-9, 1914, XXI International Congress of Theoretical and Applied Mechanics.

Yarin, A.L. ,Electrospinning of Nanofibers from polymer solutions, FM4,10932 s.,Warsaw, 15 - 21 August 2004.



## ÖZ GEÇMİŞ

Emine Müge PEKACAR, 13.08.1990 tarihinde Meram Konya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Niğde’nin Bor ilçesinde tamamladı. 2009 yılında eğitimine başladığı Niğde Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden Haziran 2013’de mezun oldu. 2014 yılında Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

