

BİYOAKTİF, BİYOBOZUNUR YENİ BİR YARA ÖRTÜ FİLMİ

HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

PREPARATION AND CHARACTERIZATION

OF A NOVEL BIOACTIVE, BIODEGRADABLE WOUND

DRESSING FILM

YASEMİN GÜNAYDIN

Prof. Dr. DENİZ TANYOLAÇ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

KİMYA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2016

YASEMİN GÜNAYDIN' in hazırladığı "**Biyoaktif, Biyobozunur Yeni Bir Yara Örtü Filmi Hazırlanması ve Karakterizasyonu**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'** nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zümriye AKSU

Başkan

.....

Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

Danışman

.....

Prof. Dr. Tülay Durusoy

Üye

.....

Doç. Dr. Cengiz KOÇUM

Üye

.....

Doç. Dr. Dilek ÇÖKELİLER

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Salih Bülent ALTEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Hayatımın anlamları, kalbimin ve ruhumun prensleri

Canım Eşim' e ve Güzel Gözlü Oğlum' a...

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

05.02.2016

YASEMİN GÜNAYDIN

ÖZET

BİYOAKTİF, BİYOBOZUNUR YENİ BİR YARA ÖRTÜ FİLMİ HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

YASEMİN GÜNAYDIN

Doktora, Kimya Mühendisliği

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

Şubat 2016, 145 sayfa

Sunulan tez çalışmasında, literatürde ilk kez ozonize zeytinyağının antimikrobiyal ve hücre yenileyici ajan olarak kullanımı ile etkili bir yara iyileştirme potansiyeline sahip kitre bazlı; özellikle nekrotik, enfekte ve düşük–orta eksüdalı yara dokuları için hızlı ve etkili bir şekilde iyileşme süreci sağlayacak, uygun fiziksel ve mekanik özellikte, şeffaf, yapışkan, biyoaktif, biyouyumlu, literatürde özgün değeri olan yeni yara örtü filmlerinin hazırlanması amaçlanmaktadır.

Çalışmada, farklı deney sistemi tasarımlarıyla bileşen konsantrasyonları (kitre, ozonize zeytinyağı, gliserol, jelatin, genipin), ortam parametreleri ve kullanılacak yöntemler belirlenerek, standartlara uygunluğu test edilmiş yara örtü filmlerinin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılması ve sentez parametrelerinin yapıya olan etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla, Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (FT-IR), Termal Gravimetrik Analiz (TGA), Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (H-NMR) ve Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) kullanılarak yapısal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

Mekanik test analizlerinde çapraz bağlayıcı ajan içermeyen yara örtü filmlerinin kopma anındaki mukavemet değerlerinin 0.30-2.96 MPa ve uzama değerlerinin %14-198 aralığında olduğu, çapraz bağlayıcı ajan içeren filmler için kopma anındaki mukavemet değerlerinin 1-1.87 MPa ve uzama değerlerinin %74-105 aralığında olduğu tespit edilerek deri yüzeyinde rahatlıkla kullanılabilecekleri görülmüştür.

Jelatin ve et model kullanılarak yapılan yara ve deri taklit çalışmaları ile şişme davranışının incelendiği model çalışmalarında, sadece ozonize zeytinyağı içeren yara örtü filmlerinin düşük ve orta eksudalı yaralar için 24 saatten önce değişimlerinin yapılarak, çapraz bağlama işlemi ile hazırlanan yara örtü filmlerinin ise 72 saate kadar yara üzerinde kullanılabileceği görülmüştür.

Sentezlenen saf ozonize zeytinyağının yaklaşık 2700-2800 mEq O₂/kg yağ aralığında yüksek bir peroksit değerine sahip olduğu; ancak hazırlanan yara örtü filmleri için bu değer 793-379 mEq O₂/kg yağ olarak etkili bir yara iyileştirmesi için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır. Sentezlenen ozonize zeytinyağının *E. coli*, *P. auregonisa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği; ancak en güçlü etkiyi *S. aureus* mikroorganizmasına karşı gösterdiği, ozonize zeytinyağı ile hazırlanan yara örtü filmlerinin sadece *S. aureus* mikroorganizması üzerinde etkili olduğu görülmüştür. L929 hücrelerinin canlılığı üzerine yapılan in-vitro sitotoksitite çalışmalarında alınan MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid) analiz sonuçlarından ozonize zeytinyağı ve hazırlanan yara örtü film ekstraktlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre hücre canlılığını sırasıyla minimum ve maksimum olarak %35-%72 ve %47-%91 oranında azalttığı ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın hatta daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermeyip hücrelerin çoğalıp yenilenmesine yardımcı oldukları görülmüştür.

Yara örtü filmlerinin şişme davranışının Korsmeyer-Peppas kinetik modeli ile uyumlu olduğu ve şişme mekanizmasının difüzyon kontrollü olup, Fick tipi difüzyona modeli ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Tüm bu sonuçlar ışığında, tez çalışması kapsamında hazırlanan kitre bazlı ozonize zeytinyağı içerikli biyoaktif, biyoyumlu yara örtü filmlerinin yara dokuları için etkili bir yara iyileşme süreci sağlayacağı, bunun yanında milli ekonomi ile literatüre sahip olduğu özgün değeri ile yüksek katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: ozonize zeytinyağı, kitre, yara örtü filmi, biyoyumlu, biyoaktif

SUMMARY

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF A NOVEL BIOACTIVE, BIODEGREDEABLE WOUND DRESSING FILM

YASEMİN GÜNAYDIN

Doctor of Philosophy, Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ

February 2016, 145 pages

In this study, it is aimed to prepare a transparent, adhesive, bioactive, biocompatible and novel wound dressing film which has an unique value in literature with proper physical and mechanical properties. For this purpose, first time in literature, ozonated olive oil is used as an antimicrobial and cell renewal agent with tracaganth gum based wound films which have high potential of effective wound healing especially on necrotic, infected and low to medium exuding wounds to provide fast and effective healing process.

In the study with different experiment system designs, component concentrations (tracaganth gum, ozonated olive oil, glycerol, gelatin, genipin), experimental conditions and the determination of the methods to be used according to the compliance to standards were tested,

In order to enlighten the functional groups on wound dressing films' surface and determine the effects of synthesis parameters to their structures bu using Fourier Transform Infrared Spectrometer) (FT-IR), Thermogravimetric Analysis (TGA), Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (H-NMR) and Scanning Electron Microscopy (SEM), structural characterization was performed.

In the mechanical test analysis, the wound dressing films that do not include cross linking agent, the values for tensile strength at break and elongation at break were found between 0.30 – 2.96 MPa and %74 – 198, respectively. The

films containing cross linking agent, the values for tensile strength at break and elongation at break were detected between 1– 1.87 MPa and %74 – 105. These results show that the produced wound dressing films can easily be used on the skin surface.

In the model studies in which swelling behaviour was investigated via wound and skin mimic studies by using gelatin and beef wound model, it was seen that the wound dressing films containing only ozonated olive oil can be used for low to medium exuding wounds up to 24 hours while the wound dressing films that were prepared by cross linking process can be used up to 72 hours.

The synthesized pure ozonated olive oil's peroxide value was observed to be high approximately in the interval of 2700-2800 mEq O₂/kg oil. But the value between 793 -379 mEq O₂/kg for the prepared wound dressing films was inferred as sufficient for an effective wound healing. It was seen that synthesized ozonated olive oil had an antimicrobial activity on *E. coli*, *P. auregonisa* and *S. aureus* strains but it had the strongest effect on *S. aureus* strains. On the other hand, the wound dressing films prepared with ozonated olive oil had an antimicrobial effect only on *S.aureus* strain. According to the MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) analysis results taken from the in vitro cytotoxicity studies on L929 cell viability showed that, ozonated olive oil and prepared wound dressing film extractions in every control after 24 hours incubation period, has reduced cell viability respectively at minimum and maximum %35-%72 and %50-%92 respectively. However, it was found that with the optic density values at the end of 48 hours were nearly, even higher than the control group, didn't show cytotoxic effect on cells but helped cell proliferation and regeneration.

It was seen that the swelling behaviour of wound dressing films are consistent with Korsmeyer – Peppas kinetic model and swelling mechanism is diffusion controlled that is consistent with Fick type diffusion model.

In the light of these findings, it can be stated that the prepared with tracaganth gum based ozonated olive oil content bioactive, biocompatible wound dressing films provided effective wound healing process for wound tissues. Besides, for its unique value this study will make important contribution to literature and national economy.

Key words: ozonated olive oil, tracaganth gum, wound dressing film, biodegradable, bioactive

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın asıl mimarı olan ve bize ilham veren, vakitsiz ayrılışının ardından her zaman özlemle ve saygıyla andığım, zengin kişiliğini, akademik tecrübesini, ailesine olan sonsuz sevgisini hep örnek aldığım, değerli akademisyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Abdurrahman TANYOLAÇ' a,

Kendisini tanıdığım andan itibaren hem akademik hem sosyal alandaki bilgi ve tecrübesine hayranlık duyduğum; ailesine olan bağlılığına, çevresine olan sonsuz hoşgörüsüne, hayata tutunma ve her durumda güçlü kalabilme çabasını örnek aldığım, çalışmanın her aşamasında desteğini benden esirgemeyen güler yüzlü sevgili hocam Prof. Dr. Deniz TANYOLAÇ' a,

Tavsiyeleri ve paylaşımları için Tez İzleme Komitesi üyeleri sayın Prof. Dr. Zümriye AKSU' ya, sayın Doç. Dr. İ. Cengiz KOÇUM' a ve sayın Yrd. Doç. Dr. Selis ÖNEL' e

Ozonize zetinyağının hazırlanması aşamasında emeği geçen Dr. Fergül Muhteşem Pullu' ya

Proje kapsamında sağladıkları mali destekten dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne,

Çalışmanın ortaya çıkmasına olanak sağlayan Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü' ne,

Tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen ve emeği geçen Doç. Dr. Aylin GÜRPINAR 'a, Yrd. Doç. Dr. Ceyda DUDAK ŞEKER' e, Dr. Handan SEVİM' e, Yelda ZENCİR' e, Duygu ve Belgin ablaya, Enver abiye,

O güzel kalplerinde bana yer açan, her zaman sımsıcak gülümseyen, hayata ve herseye dair keyifli sohbetler yaptığım, çalışmam esnasında yardımlarını hiç esirgemeyen, yanlarında iken mutluluktan uçtuğum arkadaş hatta kardeş bildiğim meleklerim Işıl' cığıma, Hande' ciğime, Dicle'me ve minik İlkay' ıma;

Desteklerini ve sevgilerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili arkadaşlarım Özge'ye, Pınar' a, Özlem' e.

Yaşamım boyunca verdiğim tüm kararlarda beni destekleyen, benimle gurur duyan benim için her zaman iyiyi ve güzeli isteyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım Annem' e, canım Babam' a ve biricik Kardeşim' e,

Hayatın anlamını onlar sayesinde keşfettiğim, bu uğraşta benim kadar heyecanlanan, benimle yorulan, bana hep destek olan kalbim, ruhum, herşeyim olan canım Eşim' e ve sarı saçlı yeşil gözlü bebek kokulu oğluma Mete'me,

En içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
SUMMARY	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	x
ŞEKİLLER	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Yara Nedir?.....	5
2.1.1. Kapalı Yaralar	5
2.1.2. Açık Yaralar.....	5
2.1.3. Akut Yaralar	6
2.1.4. Kronik Yaralar	6
2.1.5. Nekrotik Yaralar.....	6
2.1.5. Eksüdalı Yara	7
2.2. Yara İyileşmesi	7
2.2.1. İnflamatuar Evre (İnflamasyon)	7
2.2.2 Proliferasyon Evresi (Hücre Çoğalması)	8
2.2.3 Maturasyon Evresi (Olgunlaşma)	8
2.2.4. Primer (Birincil) Yara İyileşmesi.....	8
2.2.5. Sekonder (İkincil) Yara İyileşmesi	8
2.2.6. Tersiyer (Üçüncül) Yara İyileşmesi.....	9
2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	9
2.4. Geleneksel ve Modern Yara Örtüleri.....	10
2.4.1. Üretildikleri Materyale Göre Modern Yara Örtüleri.....	10
2.4.1.1. Hidrokolloid Yara Örtüleri.....	11
2.4.1.2. Aljinat Yara Örtüleri.....	12
2.4.1.3. Hidrojel Yara Örtüleri	13
2.4.2. Fiziksel Şekillerine Göre Modern Yara Örtüleri	14
2.4.2.1. Köpük Yara Örtüleri	14
2.4.2.2 Şeffaf Film Örtüler.....	15

2.4.3. Etken Madde İçeriğine Göre Modern Yara Örtüleri	16
2.4.3.1. Antibakteriyel Ajan İçeren Yara Örtüleri.....	16
2.4.3.2. Büyüme Faktörü İçeren Yara Örtüleri	18
2.5. Ozon	19
2.5.1. Ozonun Tarihçesi	19
2.5.3. Ozonun Fiziksel Özellikleri	19
2.5.4. Ozonun Kimyasal Özellikleri.....	20
2.5.5 Ozonun Medikal Kullanımı	21
2.5.6. Ozonun Tıbbi Kullanım Yöntemleri.....	21
2.5.7. Ozonun Etki Mekanizması.....	22
2.5.7.1. Organik Ortamlarda Ozon Kimyası	22
2.5.7.2. Klinik Ortamda Ozon Etki Mekanizması.....	23
2.5.7.3. Ozonlanmış Yağlar	23
2.5.7.4. Ozonlanmış Yağların Etki Mekanizması ve Peroksit Değerinin Önemi.....	26
2.5.8 Ozonun Biyouyumluluğu ve Toksikitesi.....	28
2.6. Bitkisel Kaynaklı Doğal Biyomalzemeler	28
2.7. Geven Bitkisi ve Özellikleri.....	30
2.8. Polisakkaritlerin Çapraz Bağlanması	32
2.9. Doğal Çapraz Bağlayıcı Ajan-Genipin.....	33
2.10. Hidrojel Filmlerin Şişme Davranışı	35
2.10.1. Hidrojel Filmlerde Difüzyon Mekanizması	35
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	37
3.1. Materyaller	37
3.1.1. Kitre.....	37
3.1.2. Sığır Jelatini	37
3.1.3. Genipin.....	37
3.1.4. Ozonize Zeytinyağı.....	38
3.1.5 Kimyasallar.....	38
3.2. Yöntem	38
3.2.1. Ozonize Zeytinyağı Üretimi	38
3.2.2. Yara Örtü Filmlerin Hazırlanması	39
3.2.3. Çapraz Bağlama Ajan Kullanılarak Yara Örtüsü Filmlerin Hazırlanması	41

3.3. Yara Örtü Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Karakterizasyonu	43
3.3.1. Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR).....	43
3.3.2. Termal Gravimetrik Analizler (TGA)	43
3.3.3. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (H-NMR)	43
3.3.4. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS).....	43
3.3.5. Peroksit Sayısı Tayini.....	43
3.3.5.1. Ozonize Zeytinyağında Peroksit Sayısı Tayini.....	43
3.3.5.2. Yara Örtü Filmlerinde Peroksit Sayısı Tayini	44
3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	44
3.3.7. Jelatin Model ile Yara Taklit Çalışması.....	44
3.3.8. Yara Yüzeyi Taklit Çalışmaları	45
3.3.9. Yara Örtüsü Filmlerin Şişme ve Parçalanma Testi	45
3.3.10. Mekanik Test.....	45
3.4. Antibakteriyel Etkinlik Testi ve İn-Vitro Sitotoksitite Analizleri	46
3.4.1. Antibakteriyel Etkinlik Testi.....	46
3.4.2. İn-Vitro Sitotoksitite Testi.....	47
3.4.2.1. Ozonize Zeytinyağı Ürünlerin İn-Vitro Sitotoksitite Testi	47
3.4.2. Yara Örtüsü Filmlerin İn-Vitro Sitotoksitite Testi	48
4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA	49
4.1. Ön Çalışmalar	49
4.1.1. Uygun Bileşen Konsantrasyonuna Sahip Yara Örtü Filmlerin Hazırlaması	49
4.1.1.1. Uygun Kitre Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	49
4.1.1.2. Uygun Gliserol Konsantrasyonunun Belirlenmesi	49
4.1.1.3. Uygun Ozonize Zeytinyağı Konsantrasyonu	51
4.1.1.4. Fiziksel Yolla Çapraz Bağlanmış Filmlerin Sentez Yöntemi.....	52
4.1.1.5. Kimyasal Yolla Çapraz Bağlanmış Filmlerin Hazırlanması	53
4.1.1.6. Film Kurutma Sıcaklığı ve Homojen Film Dökümü Optimizasyonu	54
4.2. Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi Analizi	54
4.3. Termal Gravimetrik Analizler.....	59
4.4. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi Analizi	63
4.5. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi Analizi	65
4.6. Ozonize Zeytinyağı ve Yara Örtü Filmlerin Peroksit Değerleri	66

4.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi Analizi	72
4.6. Jelatin Model ile Yara Taklit Çalışması	74
4.6. Yara Yüzeyi Taklit Analizi	78
4.7. Yara Örtüsü Filmlerin Şişme ve Parçalanma Özelliklerinin İncelenmesi	80
4.8. Mekanik Test	84
4.9. Hazırlanan Ozonize Zeytinyağı ve Yara Örtü Filmlerinin Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları.....	88
4.10. Ozonize Zeytinyağının Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi (In-vitro sitotoksitite).....	93
4.11. Yara Örtü Filmlerin Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi (In Vitro Sitotoksitite)	99
4.11. Hazırlanan Filmlerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi.....	101
5. SONUÇLAR	105
6. ÖNERİLER.....	113
KAYNAKLAR.....	114
EKLER	139
ÖZGEÇMİŞ	144

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1 Saf ozonun özellikleri [82].....	20
Çizelge 2.2. Difüzyon mekanizmalarını gösteren n değerleri	36
Çizelge 4.1. Literatürde yer alan ozonize zeytinyağlarına ait karakteristik ¹ H-NMR spektrum sinyalleri.....	63
Çizelge 4.2. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ile ticari ozonize zeytinyağının GC-MS analiz sonuçları	65
Çizelge 4.3.Sentezlenen ozonize zeytinyağı ve G-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneği için farklı çözücü ortamlarında yapılan peroksit değeri tayininde harcanan titrant (0.01 N sodyum tiyosülfat) hacimleri	69
Çizelge 4.4. Zeytinyağı, ozonize zeytinyağı ve yara örtüsü film örneklerinin kloroform/asetik asit içinde peroksit değerleri.....	70
Çizelge 4.5. G-O ₂₂ ve GJ ₁ G-OC ₁ kodlu yara örtü film örneklerinin jelatin yara modeli üzerindeki genleşme oranları	75
Çizelge 4.6. G-O ₂₁ , G-O ₂₂ , ve G-O ₂₄ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri	85
Çizelge 4.7. G, G-O ₁₂ , G-O ₂₂ , GJ ₁ ve GJ ₁ -O ₂₂ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri.....	86
Çizelge 4.8. GJ ₁ G-OC ₁ , GJ ₁ G-OC ₂ ve GJ ₁ G-OC ₃ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri.....	88
Çizelge 4.9. GJ ₁ G-OC ₂ , GJ ₂ G-OC ₂ ve GJ ₃ G-OC ₂ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri.....	88
Çizelge 4.10. Ozonize zeytinyağı ve yara örtü film örneklerin farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zon çapları.....	90
Çizelge 4.11.Saf ozonize zeytinyağının L929 hücreleri canlılığı üzerine etkisini gösteren konsantrasyon aralıkları	93
Çizelge 4.12. Gliserol ve zeytinyağı ile seyretilmiş ozonize zeytinyağının L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini gösteren konsantrasyon aralıkları	95
Çizelge 4.13. G, G-O ₂₂ , GJ ₁ G-OC ₁ , GJ ₁ G-OC ₂ , GJ ₁ G-OC ₃ , GJ ₂ G-OC ₂ ve GJ ₃ G-OC ₂ kodlu yara örtü filmleri için sıfır derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine ait kinetik parametreler, yüzdece şişme ve kalınlık değerleri	102

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 Ezilme tipi yara görüntüsü [12]	5
Şekil 2.2 Açık yara tipi görüntüleri [12]	6
Şekil 2.3 Kronik yara görüntüsü [15].....	6
Şekil 2.4 Nekrotik yara görüntüsü [19].....	7
Şekil 2.5 Primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesinin aşamaları [25]	9
Şekil 2.6 Hidrokolloid yara örtüsü görüntüsü [38]	12
Şekil 2.7 Aljinat yara örtüsü görüntüsü [43]	13
Şekil 2.8. Hidrojel yara örtüsü görüntüsü [47].....	14
Şekil 2.9. Köpük yara örtüsü görüntüsü [48].....	15
Şekil 2.10. Şeffaf film yara örtüsü görüntüsü [50]	16
Şekil 2.11. Ozon yağının topikal uygulamasındaki etki mekanizması [104].....	26
Şekil 2.12. Kitrenin kimyasal yapısı [141]	31
Şekil 2.13.Genipinin kimyasal yapısı [156]	34
Şekil 3.1 Kitrenin taş formu ve öğütme sonrası tozu görüntüleri.....	37
Şekil 3.2. Ozon gazı üretimi için tasarlanan deney düzeneği	39
Şekil 3.3 Yara örtü filmlerin hazırlanmasına yönelik akış şeması	40
Şekil 3.4. Çapraz bağlama yapılan yara örtü filmlerin hazırlanmasına yönelik akış diyagramı	42
Şekil 3.5. a) ISO 37 Type 3 normuna uygun kesilen yara örtü numunesi b) Yara örtü filmlerin çekme testi analiz görüntüsü	46
Şekil 4.1 Plastikleştirici ajan içermeyen yara örtü film görüntüsü	50
Şekil 4.2. Yüksek gliserol konsantrasyonu aralığında (% 4-8 v/v) hazırlanan yara örtü filmi görüntüsü	50
Şekil 4.3. Ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) >1 olduğu yara örtü filmine ait görüntü	52
Şekil 4.4. Kitre, jelatin tozu ve JG kodlu yara örtü film örneğine ait FT-IR spektrumları.....	56
Şekil 4.5. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ve ticari ozonize yağına ait FT-IR spektrumları.....	57
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda gliserol ile hazırlanan A) G-O ₁₂ , B)G-O ₂₂ C)G-O ₂₄ kodlu yara örtü filmlerine ait FT-IR spektrumları.....	57

Şekil 4.7. Çapraz bağlama ajanını içermeyen GJ-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneği (B) ve çapraz bağlama ajanı içeren (0.074 (v/v)) GJ ₁ G-OC ₃ kodlu yara ört film örneğine (A) ait FT-IR spektrumları	58
Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda jelatin (%0.6-1.2-2) (w/v)) kullanılarak hazırlanan çapraz bağlanmış A) GJ ₁ G-OC ₂ B) GJ ₂ G-OC ₂ C) GJ ₃ G-OC ₂ kodlu yara örtü filmlerine ait FT-IR spektrumları	59
Şekil 4.9. Kitreye ait TGA ve DTG termogramları.....	60
Şekil 4.10. G kodlu yara örtü film örneğine ait TGA ve DTG termogramları	61
Şekil 4.11. G-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneğine ait TGA ve DTG termogramları	62
Şekil 4.12. GJ ₁ G-OC ₁ kodlu filmine ait TGA ve DTG termogramları.....	63
Şekil 4.13. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ürünü ¹ H-NMR spektrum (0-7 ppm aralığı)	64
Şekil 4.14. Ozonize zeytinyağına ait 7-10 ppm arası ¹ H-NMR spektrum görüntüsü	64
Şekil 4.15. G-O ₂₂ kodlu yara örtü filmi örneğinde asetik asit/kloroform içinde zamanla salınan yağ miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacimleri	67
Şekil 4.16. G-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneği için serum içinde zamanla salınan ozonize zeytinyağı miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacimleri.....	68
Şekil 4.17. a) Saf zeytinyağı b) Ticari ozonize zeytinyağı c) Sentezlenen ozonize zeytinyağı	71
Şekil 4.18. Hazırlanan yara örtü filmlerin yüzey ve kesit yüzeylerine ait SEM görüntüleri a) G b) G-O ₁₂ c) G-O ₂₂ d) GJ ₁ G-OC ₁ e) GJ ₁ G-OC ₂ kodlu yara örtü film örnekleri.....	73
Şekil 4.19. Hazırlanan G-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin yara modeli üzerindeki a) t=0 b) t= 24 c) t=72 saat sonundaki görüntüleri.....	76
Şekil 4.20. Hazırlanan GJ ₁ G-OC ₁ kodlu yara örtü film örneğinin jelatin yara modeli üzerindeki a) t=0 b) t=24 c) t= 72 saat sonundaki görüntüleri.....	77
Şekil 4.21. G-O ₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin farklı zamanlarda alınan et ara yüzey görüntüleri a-1,2) t=0, b-1) t=4, b-2) t=8, b-3) t=24 saat.....	79
Şekil 4.22. GJ ₁ G-OC ₁ kodlu yara örtü film örneğinin farklı zamanlarda alınan et ara yüzey görüntüleri a-1,2) t=0, a-3) t=8,12, 24,72 saat	80
Şekil 4.23. G kodlu filmin şişme testi görüntüleri a) t=0 b) t=2 c) t=4. d) t= 7 saat	81

Şekil 4.24. G, G-O ₁₂ ,ve G-O ₂₂ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme eğrisi.....	81
Şekil 4.25. Farklı genipin konsantrasyonlarında hazırlanan GJG-OC ₁ , GJ ₁ G-OC ₂ , GJ ₁ G-OC ₃ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme eğrileri	82
Şekil 4.26. Farklı jelatin konsantrasyonlarında çapraz bağlama işlemi ile hazırlanan GJ ₂ G-OC ₂ ve GJ ₃ G-OC ₂ yara örtü filmlerine ait şişme eğrileri.....	83
Şekil 4.27. Ozonize zeytinyağı ve saf zeytinyağı (kontrol) emdirilmiş disklerin a,b) <i>E. coli</i> c,d) <i>P. aureginosa</i> e,f) <i>S. aures</i> mikroorganizmalarına etkisi sonucu gözlenen inhibisyon zonları	90
Şekil 4.28. Hazırlanan yara örtü film örneklerin <i>S. aures</i> mikroorganizması üzerine etkileri sonucu gözlenen inhibisyon zonları a,b) G-O ₂₂ ve kontrol filmi c,d) GJ ₁ G-OC ₁ ve kontrol filmi	91
Şekil 4.29. Saf ozonize zeytinyağının L929 hücreleri canlılığı üzerine etkisini gösteren optik görüntüleri a)%1 (v/v) b) %0.4 (v/v) c)%0.1(v/v) d) kontrol	94
Şekil 4.30. Belirlenen konsantrasyonlarda saf zeytinyağı ve gliserol dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.	97
Şekil 4.31. Belirlenen konsantrasyonlarda ZO dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.....	98
Şekil 4.32. Belirlenen konsantrasyonlarda GO dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.....	98
Şekil 4.33. G-O ₂₂ ve GJ ₁ G-OC ₂ kodlu farklı seyrelme oranlarındaki yara örtü film ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda L929 hücre profilasyonuna ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.....	101
Şekil 4.34. G ve G-O ₂₂ kodlu yara örtü filmleri için log (M _t /M _∞) - log (t) grafiği	102
Şekil 4.35. GJ ₁ G-OC ₁ , GJ ₁ G-OC ₂ ve GJ ₁ G-OC ₃ yara örtü filmleri için log (M _t /M _∞) - log (t) grafiği	103
Şekil 4.36. GJ ₂ G-OC ₂ ve GJ ₃ G-OC ₂ yara örtü filmleri için log (M _t /M _∞) - log (t) grafiği	103

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	Gram
lt	Litre
T	Sıcaklık
v/v	hacim/hacim
w/v	ağırlık/hacim
w/w	ağırlık/ağırlık
dak.	Dakika
D	Çap
%S	Yüzde Şişme
C	Konsantrasyon (normalite)
mEq/kg	Milliequivalent /kilogram
n	Difüzyon üsteli
k	Korsmeyer-Peppas model sabiti

Kısaltmalar

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>P. auregonisa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
FT-IR	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
H-NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromotografisi- Kütle Spektrometresi
PV	Peroksit Değeri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
CFU	Koloni sayısı
DMSO	Dimetil sülfoksit
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid
ZO	Zeytinyağı/Ozonize Zeytinyağı
GO	Gliserol/Ozonize Zeytinyağı

1. GİRİŞ

Yara, en basit tanımı ile, yumuşak dokuların normal anatomik yapılarının ve fonksiyonlarının bozulmasıdır. Tıp literatüründe ise yara, deri ya da mukozal dokuların kesilme, yırtılma ya da delinme gibi keskin bir travma neticesinde hasar görmesi olarak tanımlanmaktadır. Yaralar deri bütünlüğüne göre açık ve kapalı, oluş zamanlarına göre akut ve kronik, klinik görüntülerine göre ise temiz, nekrotik veya eksudalı yaralar olmak üzere olarak birçok şekilde sınıflandırılabilir [1].

Yara iyileşmesi; yeni hücrelerin üremesiyle, doku bütünlüğünün yeniden sağlanması ve yaranın anatomik, fizyolojik ve histolojik yapısının yeniden kazanılmasıyla oluşan kompleks, dinamik, biyokimyasal ve sitolojik olaylar sürecidir. Bu süreç inflamasyon, hücre migrasyonu, anjiogenez, matriks sentezi, yeni kollajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücreler, biyokimyasal ve moleküler basamakları içerir. Yara iyileşmesi inflamasyon evresi, proliferasyon evresi ve maturasyon evresi olmak üzere birbiriyle iç içe geçmiş üç ayrı evreden oluşmaktadır. Bu evreler matriks proteinleri, epitel hücreleri, sitokinler ve büyüme faktörleri arasındaki etkileşimler tarafından düzenlenir. Yara iyileşmesi iyileşme mekanizmasına göre; primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi olarak da sınıflandırılmaktadır. Yara iyileşmesinde, dokunun morfolojik ve fonksiyonel bütünlüğünde olumlu ve olumsuz gelişmelere neden olabilecek birçok sistemik ve lokal faktörler yer almaktadır. Yara iyileşmesini etkileyen faktörlere örnek olarak oksijen seviyesi, vasküler bozukluklar, enfeksiyon, mekanik stres, ölü boşluklar, sutureler, sıcaklık, ödem, yaranın lokalizasyonu, sigara kullanımı, beslenme, dolaşım bozuklukları, kalıtsal hastalıklar, yaş, cinsiyet, menapoz, ırk, büyüme faktörleri, kronik hastalıklar ve ilaçlar verilebilir [2].

Yara iyileşmesinin uygun bir şekilde yapılabilmesi ve yaranın enfeksiyon kapmasını önlemek için ilk çağlarda doğal malzemeler olarak bal hamurları, bitkisel lifler ve hayvan yağları kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda bu ürünlerin yerini geleneksel yara örtüleri almıştır. Doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez vb. geleneksel örtüler yara yüzeyini kapatmak, yarayı kuru ve sıcak tutarak dış etkilere korumak ve yara sıvısının emilmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır [3].

Günümüzde yara iyileşmesi 1962 yılında Winter' in "yara iyileşmesinde nemin iyileştirici etkisi" üzerine gerçekleştirdiği çalışma ile ortaya çıkan modern yara bakımı anlayışı esas alınarak gerçekleştirilmektedir. Bu modern anlayışta esas olan, yaranın doğru değerlendirilmesi, gereksiniminin belirlenmesi ve yara iyileşme sürecinde ideal ortam koşullarının sağlanmasıdır. Modern yara örtüleri yara iyileşmesinde ideal koşullara ulaşabilmek adına sürekli geliştirilmektedir. [4].

Modern yara örtüleri üretildikleri materyale göre hidrokolloidler, aljinat örtüler, hidrojel; fiziksel şekillerine göre; köpükler, şeffaf filmler ve etken madde içeriğine göre; antibakteriyel ajan, büyüme faktörü, vitamin ve mineral içeren yara örtüleri olarak sınıflandırılabilir [5]. Yara örtü malzemeleri, çeşitli yaralarda farklı iyileşme süreçlerine göre değişen özellikte, tek başına veya kombine olarak kullanılabilir.

Ozon, (O_3) üç oksijen atomundan oluşan bir gazdır. Ozon, diatomik oksijen molekülüne (O_2) oksijen atomunun eklenmesiyle oluşan son derece kararsız bir moleküldür. Ozon ticari olarak korona akım metodu ile oksijen moleküllerinin (O_2) bir elektrik alanından geçirilmesi yoluyla üretilmektedir. Ozon son derece yüksek oksidasyon kapasitesine sahip bir gaz olduğundan, dezenfeksiyon ve organik/inorganik maddelerin giderimi amacıyla kullanılmaktadır. Endüstride ozonun başlıca kullanım alanlarını kimya, tekstil ve gıda sanayisi oluşturmaktadır [6].

Tıp alanında ozon tedavisi, organizmanın antioksidan ve anti-inflamatuar savunma sistemlerini destekleyen bir tedavi olarak, başta diyabetik ülser olmak üzere tüm zor iyileşen ülserlerin tedavisinde, geriatik şikayetlerde, kalp yetmezliği olan hastalarda, non-spesifik immunmodülasyon ve antioksidan sistemini desteklemede, kronik inflamasyon ile seyreden solunum sistemi hastalıklarında, kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapinin etkinliğini artırmada, savunma sistemini desteklemede, vasküler bozukluklar ile damar endotel hasarına bağlı durumlarda sıklıkla uygulanmaktadır. Ozonlanmış yağlar ozon molekülünün Criegee reaksiyonu sonucunda yağların yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin çift bağları arasında ozonoid olarak stabilize edilmesi sonucu oluşmaktadır. Ozonun deriye ozonlanmış yağlar şeklinde uygulanması deriye daha iyi penetre olabildiğini sağlayarak aktif oksijenin taşınımını

kolaylaştırmaktadır. Ozonun yara üzerindeki direkt etkisi, enfekte olmuş deride yer alan mikroorganizmaların (bakteri, virüs ve mantarlar) hücre zarlarını oksitleyerek parçalaması, indirekt etkisi ise vücudun savunma ve onarım sistemlerini uyarması şeklinde açıklanabilir [7].

Doğal polimerler biyouyumlu, biyobozunur ve herhangi bir toksik özellik göstermemeleri nedeniyle literatürde yara örtü filmlerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Doğal biyopolimerler arasında önemli bir yere sahip olan kitre, geven bitkisinin gövde veya kökünden elde edilen özsuynun kurutulması ile hazırlanan bir zamktır. Kitre zamkı 9000-65-1 CAS numarası ile Amerika Gıda ve İlaç yönetimi (GRAS) tarafından genel olarak güvenilir-zararsız olarak kabul edilmiştir. Polisakkaritler, saponinler, flavonidler ve aminoasitler kitrenin ana bileşenlerini oluşturmaktadır. Kitre ülkemizde ebru sanatı başta olmak üzere süs bebek yapımında, gıda sektöründe kıvam arttırıcı ve emülsiyon stabilizatörü olarak kullanılmaktadır. Toksik ve kanserojen özelliğe sahip olmayan kitrenin dünyada yara ve yanık iyileştirme musilajı, hücre immobilizasyon ve ilaç enkapsülasyonu gibi alanlarda kullanımı yaygındır [8].

Sunulan tez çalışmasında literatürde ilk kez ozonize zeytinyağının antimikrobiyal ve hücre yenileyici ajan olarak kullanımı ile etkili bir yara iyileştirme potansiyeline sahip kitre bazlı; özellikle nekrotik, enfekte ve düşük–orta eksüdalı yara dokuları için hızlı ve etkili bir şekilde iyileşme süreci sağlayacak uygun fiziksel ve mekanik özellikte, şeffaf, yapışkan, biyoaktif, biyouyumlu ve literatürde özgün değeri olan yeni yara örtü filmlerinin hazırlanması amaçlanmaktadır. Literatürde kitrenin yara iyileştirmesinde belirli bir çözücüde çözünmesiyle oluşan jel halinin kullanıldığı bilinmektedir. Gerek literatür gerekse mevcut piyasada yapılan incelemelerde, kitre ile hazırlanan yara örtü filmine rastlanmamıştır. Ülkemizde kendiliğinden yetişen ve daha çok yakacak, hayvan yemi, ebru sanatı, kitre bebek yapımı ile gıda sektöründe stabilizatör olarak kullanılan geven bitkisinin yara örtü materyali olarak kullanımı ile milli ekonomiye katma değer olarak kazandırılması hedeflenmektedir. Ayrıca yapılan literatür ve mevcut piyasa araştırmalarında ozonize zeytinyağının yüksek antibakteriyal aktivite ve eşsiz hücre yenileme özelliklerinden faydalanılarak hazırlanmış herhangi bir yara örtü materyali de bulunmamaktadır.

Bu amaçlar doğrultusunda tez kapsamında ilk olarak farklı deney sistemi tasarımlarıyla bileşen konsantrasyonları, ortam parametreleri ve kullanılacak yöntemler belirlenerek standartlara uygunluğu test edilmiş ve literatürde özgün değeri olan yeni yara örtü filmlerinin hazırlanması için ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir. İkinci bölümde Tanyolaç ve arkadaşları [8] tarafından işletim parametreleri ile reaktör konfigürasyonu arasında geliştirilen istatistiksel model yaklaşımıyla analogik bir ilişki kurularak tasarımı yapılmış ve patent başvurusu için çalışmaların sürdüğu piyasadaki emsallerine göre üstün özellikli ozon jeneratörü ile üretilen ozonize zeytinyağı ve bu yağ ile hazırlanan yara örtü filmlerinin fiziksel ve kimyasal karakterizasyonları ile şişme davranışları incelenmiştir. Son bölümde ise sentezlenen ozonize zeytinyağı ve hazırlanan yara örtü filmlerinin deride enfeksiyonlu yara örneklerinden en sık izole edilen *S. aureus*, *E. coli* ile *P. auregonisa* bakterilerine karşı mikrobiyal inaktivasyonları ile L929 hücrelerinin canlılığına olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla in vitro-sitotoksitite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Milli ekonomiye ve literatüre sahip olduğu özgün değeri ile yüksek katkı sağlayacak tez çalışması kapsamında hazırlanan kitre bazlı ozonize zeytinyağı içerikli yara örtü filmlerinin ulusal ve uluslararası alanda “Biyoaktif Bir Doku Onarım Tabakası (A Bioactive Tissue Repairing Layer) ” başlığı adı altında patentlenebilmesi için gerekli başvurular 2014 yılında Hacettepe Teknoloji Transfer Merkezi ile yapılan işbirliğiyle başlatılmış olup incelemeler yakın zamanda alınan olumlu araştırma raporu ile birlikte süreç içerisinde devam etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara Nedir?

Yara, en basit tanımı ile; yumuşak dokuların normal anatomik yapılarının ve fonksiyonlarının bozulmasıdır. Tıp literatüründe ise yara, deri ya da mukozal dokuların kesilme, yırtılma ya da delinme gibi keskin bir travma neticesinde hasar görmesi olarak tanımlanmaktadır [9]. Yaralar deri bütünlüğüne göre açık ve kapalı veya oluş zamanlarına göre akut ve kronik yaralar olarak sınıflandırılabilir [1, 10].

2.1.1. Kapalı Yaralar

Deri ve mukoza örtüsünün sağlam olduğu ancak derin dokularda anatomik bütünlüğün bozulduğu yaralar kapalı yara olarak adlandırılır. Ezilme, sıyrık ve burkulmalar kapalı yaralara örnek olarak verilebilir (Şekil 2.1). Ezilme tipi yaralarda deride anatomik bütünlük bozulmadan yumuşak dokular ezilmektedir. Derin doku katları bu tür yaralarda birbirinden ayrılmış ve küçük kan damarlarında hasar oluşmuştur. Bu tip yaralanmaların iyileşme süreci duyu sinirlerindeki hasar nedeniyle ağrılı geçebilir ve yara kolayca enfekte olabilir [11].



Şekil 2.1 Ezilme tipi yara görüntüsü [12]

2.1.2. Açık Yaralar

Deri ve mukozayı da içeren anatomik bütünlüğün bozulduğu durumlar açık yara olarak adlandırılır (Şekil 2.2). Yırtılma, kesici delici alet yarası, ateşli silah yarası, cerrahi yaralar, sokmalar ve yanıklar açık yaralara örnek olarak verilebilir. Yırtılma dışındaki yaralanmalarda deri altındaki dokularda ciddi hasarlar görülür [13, 14].



Şekil 2.2 Açık yara tipi görüntüleri [12]

2.1.3. Akut Yaralar

Akut yaralar; yırtılma, sıyrık, delinme, yanık ve kesik gibi geçici bir etken neticesiyle oluşan yaralardır. Akut yaraların belirli bir sürede iyileşmesi beklenir. [1, 15].

2.1.4. Kronik Yaralar

Kronik yaralar iyileşme süreci uzun olup üç aya kadar iyileşme göstermeyen yaralardır (Şekil 2.3). Yara gecikmesi inflamatuvar aşamasında görülür. Akut yaraların aksine kronik yaralarda anabolik ve katabolik fazlardaki denge kaybolmuş durumdadır. Dekübit ülseri, diyabetik ülser, bacak ülseri ve iyileşmeyen ameliyat sonrası yaralar kronik yaralara örnek verilebilir [16, 17].



Şekil 2.3 Kronik yara görüntüsü [15]

2.1.5. Nekrotik Yaralar

Canlı organizma içinde (doku ve organ) ışık mikroskopi ile saptanan ve hücre ölümü sonucu ortaya çıkan morfolojik değişikliklere “nekroz” denir. Nekrotik yara (Şekil 2.4) yüzeyinde siyah ölü tabaka içeren yara tipidir [18].



Şekil 2.4 Nekrotik yara görüntüsü [19]

2.1.6. Eksüdalı Yara

Dokuların iltihap yapan etkenler tarafından zarar görmesi sonucu hasarlı bölgeden çıkan sıvıya eksüda denir. Eksüda bileşim olarak kan plazmasına benzer ve önemli kısmını nekrotik hücre artıkları, fibrinojen, fibrin, kompleman ve immüno globülinler oluşturur. Zedelenme bölgesinde ortaya çıkan eksüda, damar sıvısı ile birlikte hücre de içeriyorsa iltihabi eksüda adını alır. Yara üzerinde oluşan eksüda özelliklerine göre; serumlu, kataral, fibrinli ve irinli eksüda olarak sınıflandırılmaktadır [20].

2.2. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi; inflamasyon, hücre migrasyonu, angiogenez, matriks sentezi, yeni kollajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücresel ve moleküler basamakları içeren kompleks bir süreçtir. Yara iyileşmesi; inflamasyon evresi, proliferasyon evresi ve maturasyon evresi olmak üzere üç evrede incelenir [15, 21].

2.2.1. İnflamatuar Evre (İnflamasyon)

İnflamasyon evresi, yaralanma anında başlayıp, 24-48 saat içinde sonlanır. Bu fazın ilk amacı kanamanın durdurularak; mekanik, bakteriyel ve kimyasal etkilere karşı cevabın oluşturulmasıdır. Yaralanmayı kanama takip eder. Doku travmasının oluşması ile pıhtılaşma mekanizması harekete geçer. Kanamayı durdurmak için önce ilaç ile damar kasılması gerçekleştirilir. Damar genişlemesini takiben yara yatağına hücre göçü başlar ve büyüme faktörlerinin uyarısıyla damar duvarlarındaki boşluklardan kandaki inflamatuvar hücreler yara yatağına göç etmeye başlarlar. Bu evrede parçalı çekirdekli lökosit olarak bilinen nötrofiller

tarafından yabancı cisim ve diğere enfekte edici maddelerin uzaklaştırılması da gerçekleştirilir [14, 22].

2.2.2 Proliferasyon Evresi (Hücre oğalması)

Yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü gün arasında başlayarak ortalama olarak 3 haftada sonlanan evredir. Bu evrede etken olan ana hücreler fibroblast ve endotel hücrelerdir. Fibroplastlar, yaradaki granülasyon dokusunun oluşumu ile epitelizasyon ve yara kontraksiyonunu gerçekleştirirken, endotel hücreler de yeni kan damarları oluşumunu gerçekleştirmektedir. Fibroblast tarafından üretilen kollajen tabakası boyunca kırmızı renkli ve bol damardan oluşan granülasyon dokusu meydana gelir. Granülasyon dokusundaki fibroblastlar farklılaşarak miyofibroblast yapı oluştururlar. Miyofibroblastların kontraksiyonu yara kenarlarını yara merkezine doğru çekerek, yara alanının küçülmesini sağlar [22].

2.2.3 Maturasyon Evresi (Olgunlaşma)

Yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü hafta arasında başlaya ortalama bir yıl kadar devam eden evredir. Maturasyon yara onarım sürecinin son ve en uzun evresidir. Bu evre sürecinde fibroblastların sayıları azalırken net kollajen miktarında artış olmaz. Kollajen lifleri mekanik kuvvetlerin yarattığı stres hattı boyunca dizilime uğrar ve yarada daha fazla gerilim kuvveti meydana gelir. Bu evre sürecinde fazla miktarda hücresel ve damarlı yapıya sahip granülasyon dokusu yavaş yavaş şekil ve yapı değıştirerek daha az hücre ve damara sahip skar dokusuna dönüşür. Deride sertlik ve ödem yok olurken oluşan pembelik kaybolarak soluk hal alır [11].

Yara iyileşmesi, mekanizmasına göre, primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesi olarak da sınıflandırılabilir (Şekil 2. 5) [5, 13, 23].

2.2.4. Primer (Birincil) Yara İyileşmesi

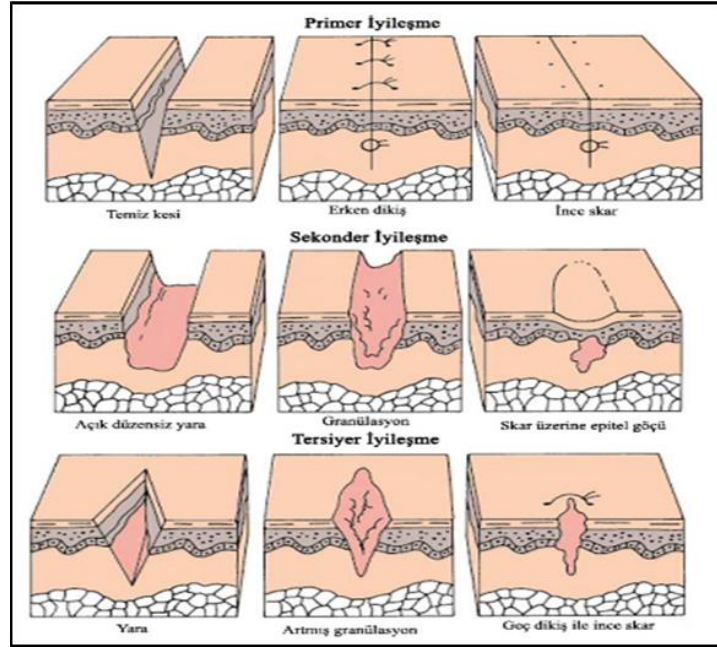
Belirgin bakteriyel kontaminasyon ve doku kaybının olmadığı durumlarda yara kenarlarının direkt yaklaşıştırılarak kapanması sonucu meydana gelen iyileşmedir. Birincil yara iyileşmesinin meydana gelebilmesi için yaranın kenarları düzgün ve aynı hizada bulunmalı, yara temiz ve pansumanı iyi yapılmış olmalıdır. Birincil yara iyileşmesi, yaranın 4-6 günde süratli bir şekilde kapanmasıyla sonuçlanır [24].

2.2.5. Sekonder (İkincil) Yara İyileşmesi

Yara alanında granülasyon dokusunun gelişmesi ile yara alanını açık bırakılarak meydana gelen iyileşmedir. Rejenerasyon ve reepitelizasyon gelişmesi ile iyileşme sağlanır. Sekonder iyileşmede debris, eksuda ve fibrin doku oldukça fazladır. Bu yüzden inflamatuvar evresi uzundur. Primer iyileşmeye göre daha fazla granülasyon dokusu ve kontraksiyon meydana gelir [4, 13].

2.2.6. Tersiyer (Üçüncül) Yara İyileşmesi

Tersiyer yara iyileşmesi gecikmiş primer iyileşmesi olarak da bilinir. Bu tip iyileşmede kontamine olan veya olabileceği düşünülen yara, enfeksiyonu engellemek için açık bırakılır. Bu süre zarfında normal yara temizliği yapılır. Yeterli granülasyon dokusu oluşunca deri kapatılır. Bu tip iyileşmede kollajen yapı bozulmaz ve süreç iyileşme ile tamamlanır [4, 25].



Şekil 2.5 Primer, sekonder ve tersiyer yara iyileşmesinin aşamaları [25]

2.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Mikroskobik bulguların yanında, iyileşme üzerinde etkili biyolojik moleküllerin tespit edilmesiyle yara iyileşme mekanizması daha iyi anlaşılmış ve buna bağlı olarak yara iyileşmesini etkileyen birçok sistemik ve lokal faktör belirlenmiştir [26]. Sistemik faktörlere uygun olmayan cerrahi teknikler, oksijen seviyesi, vasküler bozukluklar, doku iskemi, lokalize enfeksiyon, mekanik stres, ölü boşluklar, sutureler, sıcaklık, hematoma, ödem, yaranın lokalizasyonu, kanser ve sigara kullanımı örnek olarak verilebilir. Lokal faktörlere de beslenme, dolaşım

bozuklukları, kalıtsal hastalıklar, yaş, cinsiyet, menapoz, ırk, büyüme faktörleri, kronik hastalıklar ve ilaçlar örnek olarak verilebilir [27].

2.4. Geleneksel ve Modern Yara Örtüleri

İyi bir yara iyileşmesinin sağlanması ve yaranın enfeksiyon kapmasını önlenmesi için çok eski çağlardan itibaren uygun malzemeler kullanılmaya çalışılmış ve buna yönelik yeni malzemeler geliştirilmiştir. İlk çağlarda yara kapatma amacıyla bal hamurları, bitkisel lifler ve hayvan yağları doğal malzemeler olarak kullanılmıştır [28]. Daha sonraki yıllarda bu ürünlerin yerini doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri almıştır. Geleneksel yara örtülerinin kullanım amacı çoğunlukla yara yüzeyini kapatmak, yarayı kuru ve sıcak tutarak dış etkilere korumak ve yara sıvısının emilmesini sağlamaktır [3]. Geleneksel yara örtüleri, değişimleri sırasında yeni dokuya zarar verip hastada travmaya neden olduklarından bu durum kullanımlarında dezavantaj teşkil etmektedir [29].

Modern yara bakımı; yaranın doğru değerlendirilmesi, gereksiniminin belirlenmesi ve nemli tutulmasını sağlamak amacıyla ortaya çıkmış bir anlayıştır [4].

1962 yılında Winter'in "yara iyileşmesinde nemin iyileştirici etkisi" üzerine gerçekleştirdiği çalışma, modern yara örtülerinin kullanımında yeni bir dönem başlatmıştır [30]. Bu çalışmada; geleneksel anlayışın aksine, yara iyileşmesinin nemli bir ortamda daha hızlı gerçekleştiği belirtilmektedir. Nemli yara ortamı ile enfeksiyon sıklığının ve ağrının azaltılması yanında yara dehidrasyonunun önlenmesi, nekrotik dokuların debridmanı, proliferasyon ve büyüme faktörlerinin salınımı, hücre gelişiminin uyarılması, anjiyogenezin hızlandırılması ve klinik enfeksiyonun önlenmesi sağlanabilmektedir [30, 31].

Modern yara örtüleri; ürettikleri materyale, fiziksel şekillerine ve etken madde içeriklerine göre 3 ayrı şekilde sınıflandırılabilir.

2.4.1. Üretildikleri Materyale Göre Modern Yara Örtüleri

Üretildikleri materyale göre modern yara örtüleri hidrokolloidler, aljinat örtüler ve hidrojel olarak sınıflandırılabilir [32, 33].

2.4.1.1. Hidrokolloid Yara Örtüleri

Hidrokolloid yara örtüleri, elastik adeziv matris içerisinde çözülmüş sodyum karboksimetil selüloz, pektin, jelatin ve sodyum aljinat hidrofilik polimer taneciklerinden meydana gelen ince tabakalar halinde oluşturulan filmlerdir (Şekil 2.6) [34].

Hidrokolloidlerin yapılarında homojen olarak dağılmış halde bulunan hidroaktif parçacıklar yara eksudası ile temas ettiğinde, hidrokolloid matriks yara sıvısını çeker ve zamanla şişerek jel halini alır. Böylece dış ortamdan su, oksijen ve bakterilerin yara yüzeyine geçişine izin verilmezler. Hidrokolloidler, ideal su buharı ve gaz geçirgenliklerinin yanında bakteriler için de bariyer oluşturmaktadırlar. Nekrotik dokuların rehidrasyonunu hızlandırıp hücre yenilenmesine yardımcı olurlar. Kuru nekrotik yaralar ve hafif-orta eksudalı yaralarda kullanımları uygundur.

Hidrokolloidlerin geleneksel yara örtüleriyle karşılaştırıldığında daha fazla eksüda absorplayabildiği ve yara örtüsü değişiminin daha kısa süre gerçekleştirilerek değişim sırasında daha az acıya sebebiyet verdiği görülmüştür. Yaranın iyileşme süreci transparan olanlarda daha kolay izlenebilmektedir [35]. Ayrıca bu örtülerin, damar oluşumunu uyardığı ve yara iyileşme hızını da arttırdığı gözlenmiştir Hidrokolloid yara örtüleri ikincil bir yara örtüsü ile birlikte kullanım için tasarlanmamıştır. Enfeksiyonlu yaralar için tavsiye edilmezler [33].

Ng ve arkadaşları [36], ibuprofen kullanarak çift katman olarak hazırladıkları aljinat bazlı hidrokolloid yara örtülerinde film kalınlığının, su buharı geçirgenlik hızının, morfolojinin ve mekanik özelliklerin, in-vitro ilaç salınımı ile in-vivo yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Aynı çalışmada çift katmanlı filmlerin tek katmanlı filmlere göre daha üstün mekanik özellikler taşıdığı ve iyi bir epidermis tabakası oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Kim ve arkadaşlarının [37] altın nano partiküllerle kaplı hidrokolloid membranların yara iyileştirme potansiyelini fareler üzerinde yaptıkları in-vivo testlerle inceledikleri çalışmada, 15 gün içinde yara iyileşmesinin ve anjiyogenezinin hızlandığı ve altın nano partikül içeren hidrokolloidlerin fareler üzerinde toksik etki yaratmadığı görülmüştür.



Şekil 2.6 Hidrokolloid yara örtüsü görüntüsü [38]

2.4.1.2. Aljinat Yara Örtüleri

Ağırlıklarının 20-30 katı kadar eksuda absorplayabilen hidrofilik karakterdeki aljinat örtüler, bu özelliklerinden dolayı yarayı nemli tutarak hızlı iyileşme sağlayan yara örtü materyalleridir (Şekil 2.7) [33]. Aljinat, kahverengi deniz yosunundan NaOH türü alkali çözeltiler ile ekstrakte edilerek üretilir. Tipik bir aljinat yara örtüsü aljinat çözeltisinin kalsiyum iyonları ile çapraz bağlanması ile meydana gelen jelin kurutulması ile elde edilir [39].

Alginat lifleri, yara salgısı ile temas halinde iken lifteki kalsiyum iyonları vücut sıvısındaki sodyum iyonlarıyla yer değiştirir. Bunun sonucunda, lifin bir bölümü suda çözünebilir özelliğine sahip sodyum aljinata dönüşür. Bu iyon değişimi ile lifin şişmesi ve başlangıçtaki kuru materyalin yara yüzeyinden uzaklaştırılabilen bir jel haline gelmesi sağlanır. Aljinatlardan salınan kalsiyumun iyileşme sürecinde aktif bir rol oynadığı bilinmektedir [39, 40].

Aljinat yara örtüleri, yara üzerinde granülasyon doku oluşumu ve epitelizasyonu artırarak iyileşmeyi hızlandırırlar [39]. Özellikle ağır ve orta yaralarda kullanılan aljinat örtülerinin kuru ve enfekte yaralar için kullanımı önerilmemektedir [41]. Wiegand ve arkadaşları [38] yaptıkları çalışmada iyonik gümüş ve nanokristal gümüş kullanarak hazırladıkları aljinat örtülerinin biyoyumluluk ve antimikrobiyal aktivite özelliklerini inceleyerek, bu örtülerin tümör nekroz faktör, interlekün ve serbest radikal gibi kronik yara parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada aljinatın serbest radikallerin oluşumunu engellediği, eklenen gümüş iyonlarının etkisiyle de aljinat fiberlerin antimikrobiyal etkisinin ve antioksidant

kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada gümüş ekli aljinat yara örtüleri ile yapılan invitro yapılan testlerde insan keratinosit hücrelerinin olumsuz etkilendiği gözlemlenmiştir.

Çözücü dökme metodu kullanarak hazırlanan çalışmada *Centella Asiatica* bitki ekstraktı içeren aljinat bazlı yara örtü filmlerinden ilaç salınımı incelenmiş ve sitotoksitite testleri ile *Centella Asiatica* bitki ekstraktı yüklü aljinat filmlerin insan dermal fibroblastları üzerinde toksik bir etki yaratmadığı tespit edilmiştir [42].



Şekil 2.7 Aljinat yara örtüsü görüntüsü [43]

2.4.1.3. Hidrojel Yara Örtüleri

Hidrojeller, yapılarında yüksek oranda su içeren hidrofilik polimerlerin üç boyutlu ağ yapılı bileşikleridir (Şekil 2.8). Hidrojeller, hidrofilik polimerlerle çapraz bağlanmış jelatin, polisakkarit, polivinilalkol polimetakrilat veya polietilenoksit gibi polimerlerden hazırlanabilir. Yüksek absorpsiyon kapasitesine sahiptirler ve yara yüzeyine yapışmazlar. Ayrıca ağrı dindirici özelliğe sahip olup nemli tutma özelliği ile de yara üzerinde serinletici bir etki yaratırlar. Hidrojellerin, protein ve hücre gibi biyolojik bileşenleri absorbe eğilimi zayıf olduğundan bakterilere karşı yetersiz bariyer özelliğine sahiptirler ve bu nedenle koruma amaçlı ikinci bir örtü gerektirirler [33].

Hidrojeller genellikle az eksudalı veya eksuda içermeyen nekrotik yaralarda kullanılırlar. Yarı geçirgen membranlarla kıyaslanabilir ölçüde su buharı geçirgenliğine sahip olan hidrojel örtülerle, yara yüzeyine lokal olarak ilaç uygulanabilmekte ayrıca jelin çapraz bağlanma derecesi kontrol edilerek ilacın yara bölgesine difüzyonu sağlanabilmektedir [44].

Balakrishnan ve arkadaşları [45] yaptıkları bir çalışmada jelatin, aljinat ve boraks kullanarak toksik olmayan, biyobozunur özelliğe sahip kompozit filmler hazırlamışlardır. Hazırlanan hidrojel film, ağırlığının %90'ı oranında sıvıyı absorbe ederek yara sıvısının birikmesini engellemiştir. Fareler üzerinde yapılan deneylerde de bu hidrojel filmlerin hiçbir yan etki yaratmadan yaraları, yeni epitel doku oluşumu ile, tamamen iyileştirdiği belirtilmiştir. Yapılarında bulunan jelatin ve boraksın da antiseptik özelliği sayesinde, hazırlanan bu filmlerin potansiyel yara örtüsü materyali olarak kullanılabileceği gösterilmektedir

Kokabi ve arkadaşları [46] polimer matriks içerisine organokil ekleyerek, polimer ve jel içeren nanokompozit malzemelerin özelliklerini geliştirmeye yönelik çalışmalar yapmışlardır. Polivinil alkol ve sodyum montmorillonit organokili kullanarak hazırladıkları nanokompozit hidrojel yara örtüsü çalışmasında organokil miktarının, hazırlanan hidrojel yara örtülerinin yapısal, fiziksel ve mekanik özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.



Şekil 2.8. Hidrojel yara örtüsü görüntüsü [47]

2.4.2. Fiziksel Şekillerine Göre Modern Yara Örtüleri

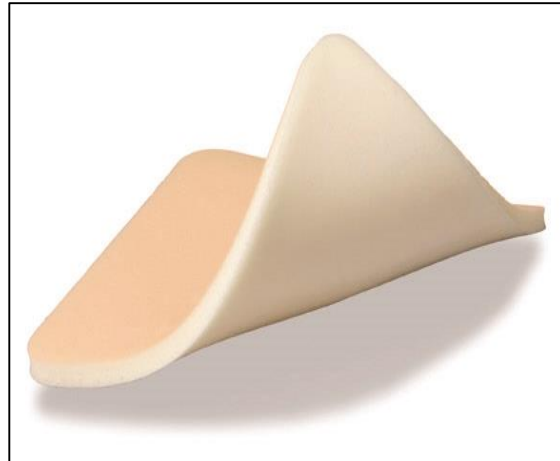
Fiziksel şekillerine göre modern yara örtülerini köpükler ve şeffaf filmler olmak üzere iki gruba ayırılır [5].

2.4.2.1. Köpük Yara Örtüleri

Köpük örtüler esnek ve yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip yumuşak ve gözenekli materyallerdir (Şekil 2.9). Köpükler, poliüretan ve silikon bazlı olabilirler. Bu örtüler, yarayla temas eden birincil veya ikincil örtü olarak da kullanılabilirler. Poliüretan ve hidrofobik veya hidrofilik monomerlerden elde edilebilmektedirler. Islak yara yüzeyine yerleştirildiği zaman kılcal etki sayesinde

yara sıvısı köpük içerisine absorbe olup örtünün diğer tarafına da geçebilmektedir. [5].

Köpük örtüler, yara sıvısının sızmasını önlemek ve bakterilerin penetrasyonunu engellemek için hidrofobik destekten oluşmuş hidrofilik yapılar şeklindedir [11]. Maksimum emme gücüne sahiptirler. Ayrıca buhar geçirgenliğini de dengelerler ve dışardan sıvı geçişine izin vermezler. Bu örtüler, gaz geçişine izin verirler ve yapışmazlar. Köpük örtüler yaraya kolayca uygulanabilen, yarayı nemli tutarak termal izolasyon sağlayan örtülerdir. Yara oyuğu içine konulduklarında tam uyum sağlarlar ve zamanla şişerek genişlerler. Oyuk içinde şişen köpük, yara duvarlarına hafif bir basınç yaparak yara çevresindeki ödemi azaltır ve granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırır. Ancak köpük örtülerin bakteriyel kontaminasyonu engellemeleri sınırlıdır. Nekrotik yaralarda ve orta derecede eksüdalı yaralarda kullanımı önerilir. Köpüklerin, kuru ve kabuklu yaralar için kullanımları uygun değildir [34].



Şekil 2.9. Köpük yara örtüsü görüntüsü [48]

2.4.2.2 Şeffaf Film Örtüler

Yarı-geçirgen filmler olarak da adlandırılan şeffaf film örtülerin bir yüzü akrilik adeziv, diğer yüzü ise poliüretan membranlardır (Şekil 2.10). Yarı-geçirgen filmler çok esnek olup hasta konforunu bozmazlar. Bakterilere karşı iyi bir bariyer görevi görürler. Su geçirmezler ancak yara iyileşmesinde çok önemli olan oksijen, karbondioksit ve su buharını geçirirler. Şeffaf olmaları alttaki yaranın iyileşme sürecinin kolayca izlenmesini sağlar [49]. Emici özelliği olmadığından eksüda birikimine ve maserasyona neden olabilmeleri ve sıklıkla değiştirme gerekliliği önemli dezavantajlarındandır. Bir diğer dezavantajı ise yapışması için etrafında

sağlıklı bir deri olması gerekliliğidir. Bu nedenle yarı-geçirgen filmler daha çok kuru yaralarda kullanılmaktadır. Böylece daha nemli bir yara ortamı oluşabilmekte yaranın kuruması önlenebilmekte ve böylece nekrotik doku otolizine yardımcı olunabilmektedir [16].



Şekil 2.10. Şeffaf film yara örtüsü görüntüsü [50]

2.4.3. Etkin Madde İçeriğine Göre Modern Yara Örtüleri

Etkin madde içeriğine göre modern yara örtüleri; antibakteriyel ajan, büyüme faktörü, vitamin ve mineral içeren yara örtüleri olarak sınıflandırılabilir.

2.4.3.1. Antibakteriyel Ajan İçeren Yara Örtüler

Bu tip yara örtüleri; özellikle diyabetik ayak ülserlerinde, cerrahi ve kaza sonucu oluşan yaralarda enfeksiyonu önlemek veya gidermek için kullanılır. Yara iyileşmesinde yeterli sistemik etkiyi sağlamak için gerekli antibiyotik dozunun fazla olması, aminoglikozitlerin kulak ve böbrekte birikimi gibi hücre ve organ toksisitesine neden olabilmekte, dozun düşük olması ise etkinin azalmasına neden olabilmektedir. Antibakteriyel ajan içeren yara örtülerin kullanımı ile yara bölgesine lokal olarak antibiyotik uygulaması yapıldığından bakteri direnci gelişimi azaltılarak daha etkin yara iyileşmesi sağlanabilmektedir. Özellikle zayıf kan sirkülasyonuna sahip yaraların tedavisinde, sistemik antibiyotik tedavisinin etkisiz kalması nedeniyle yaraya lokal antibiyotik uygulaması tercih sebebidir [51].

Literatürde yara örtüsü çalışmalarında en çok kullanılan antimikrobiyal ajanlar gümüş iyonları ve nanopartikülleri [52], bal [53], siprofloksasin HCl [54], povidon iyodin [55], gentamisin [56], poliheksametilen biguanid [57], metal iyonları [58] ve uçucu yağlardır [59].

Gümüş antibakteriyel ajan olarak başta yanıklar olmak üzere yara tedavisinde eskiden beri kullanılmaktadır. Gümüş; metisilin ve vankomisine dirençli bakteriler, mantar, maya ve küflere karşı etkili bir ajandır. Gümüşün etkisi gümüş iyonlarının bakterideki enzimlerle etkileşerek hücre içerisine dağılması ile başlar. Gümüş iyonları bakterinin DNA'sını bozarak çoğalmasını engellerken, hücre duvarına yapışıp hücre zarının özelliğini bozarak da bakterin ölümüne neden olmaktadır. [60]. Seo ve arkadaşları [61] aljinat çözeltisi içerisinde gümüş nanokristalleri sentezleyip kompozit köpük formunda yara örtüsü geliştirmişlerdir. Hazırlanan yara örtülerin fiziksel karakterizasyonları yapılarak antibakteriyel aktivite, sitotoksitite ve sitokin proinflaması değeri tespit edilmiştir. Literatürde yer alan diğer bir çalışmada ise aljinat ve nişasta kullanılarak hazırlanan kompozit filme gümüş nano kristaller eklenerek yüksek antimikrobiyal özelliğe sahip bir yara örtüsü hazırlanmıştır. Hazırlanan yara örtüsünün etkinliği fareler üzerinde yapılan in-vivo testler ile belirlenmiştir [62]. Karboksimetilselülozun alkali ortamda jelleşmesi ve ortama gümüş nanopartiküllerin eklenmesi ile yapılan çalışmada hidrojel filmin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır [44]. Balın antimikrobiyal ajan olarak kullanıldığı bir başka yara örtüsü çalışmasında jelatin ve kitosan kullanılarak hidrojel yara örtüleri hazırlanmıştır. Bu çalışmada hazırlanan yara örtü filmlerin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği ve böylece yara iyileşme sürecini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır [53]. Polivinilprolidon ve karboksimetil selüloz hidrojellerin kombine kullanıldığı çalışmada antimikrobiyal ajan olarak borik asit kullanılmıştır [63]. Shalumon ve arkadaşları [58] ise elektroçirme yöntemi ile sodyum aljinat, polivinilalkol ve etken madde olarak çinko oksit metal iyonlarının kullanıldığı kompozit fiber matlar hazırlamışlardır. Bu çalışmada %0.5 ve %1 konsantrasyonlarında çinko oksit içeren matların düşük toksitite ve yüksek antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Etken madde olarak kullanılan uçucu yağlar (lavanta, biberiye, karanfil, kekik, nane vb.) ise Gram (-) ve Gram (+) bakteriler dahil birçok mikroorganizmalar için antibakteriyel etki gösterebilen önemli ajanlardandır [64]. Uçucu yağ bileşenlerinden fenol ve timol, bakteri membranını parçalayabilmekte, terpenoidler ve fenilpropanoidler ise lipofilik özellikleri ile hücrenin iç kısımlarına ulaşabilmektedirler [65]. Uçucu yağların sahip oldukları antibakteriyel, antiviral ve

antifungal özelliklerinden yararlanarak hazırlanan birçok yara örtüsü materyalleri de literatürde yer almaktadır [59, 66-69]. Polivinil alkol polimeri içine yabancı iran kekiği yağının eklenmesi ile hazırlanan yara örtü filmlerinin güçlü antioksidant ve antiviral özellik gösterdiği belirlenmiştir [69]. Kanat ve arkadaşları [70], kitosan ve polivinil alkol polimer nane ve nar kabuğu ekstratı ekleyerek oluşturdukları filmlerde fiziksel, mekanik, antimikrobiyal ve antioksidant özelliklerdeki değişimleri incelenmişlerdir. Bu çalışmada hazırlanan filmlerin özellikle *S. aureus* and *B. cereus* bakterilerine karşı yüksek antimikrobiyal özellik gösterdiği görülmüştür. Elektroçirime yöntemiyle mango meyvesi ekstraları kullanılarak hazırlanan kitosan bazlı nanofiber matlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise yapılan in- vivo testler sonucunda matların *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerinin yara üzerinde büyümesini önlediği açıklanmıştır [71].

2.4.3.2. Büyüme Faktörü İçeren Yara Örtüler

Büyüme faktörleri; hücrelerin bölünmesinde, gelişmesinde, farklılaşmasında ve enzim üretiminde görev alan önemli proteinlerdir [72]. Büyüme faktörleri yara iyileştirici özelliklerini anjiyogenezi ve hücrel üremeyi uyarmak yoluyla gösterirler. Bu nedenle büyüme faktörleri yara iyileşmesini tüm aşamalarında önemli bir yere sahiptirler. Büyüme faktörleri hücrel fonksiyonları, endokrin, parakrin, otokrin veya intrakrin mekanizmalarıyla sağlamaktadırlar [4].

Yara iyileşmesinde etkili olarak tanımlanmış büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörü (EGF), trombositlerce salınan büyüme faktörü (PDGF), asidik ve bazik fibroblast büyüme faktörü (FGFs), transforming büyüme faktörü, alfa ve beta (TGF), interlökin I (IL-1), tümör nekroz faktör alfa (TNF) olarak sayılabilir [73-75].

Yara iyileşmesinde koloni simule edici (CSF) büyüme faktörünün yara iyileşmesindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada [10], CSF' nin yara onarımında önemli göreve sahip olduğu ve bu faktörün eksikliğinin iyileşmede gecikmeye ve oluşan dokunun kalitesinde azalmaya sebep olduğunu belirtilmiştir. Lee ve arkadaşları [76] yaptıkları bir çalışmada antibakteriyel etkili gümüş sülfadiazinin tek başına kullanıldığında yara iyileşmesine katkı sağlamadığı ancak epidermal büyüme faktörü ile birlikte uygulandığında yara iyileşmesinin olumlu yönde etkilendiğini belirtmişlerdir. Kollajen ve hiyalüronik asit ile hazırlanan kompozit yara örtüsü çalışmasında ise tobramisin antibiyotiği ile fibroblast büyüme faktörü

içeren malzemenin tek başına antibiyotik içerenlere göre yara iyileşmesinde daha etkili olduğu gösterilmiştir [77].

2.5. Ozon

Ozon, (O_3) üç oksijen atomundan oluşan bir gazdır. Ozon, stratosfer tabakasında güneşin ultraviyole ışınları ile oksijenin etkileşimi sonucu oluşmaktadır. Bir oksijen molekülü (O_2) üçüncü bir oksijen atomuyla birleştiğinde ozon oluşur. İsmi Yunanca koklamak anlamına gelen "Ozien" kelimesinden gelmektedir [78].

2.5.1. Ozonun Tarihçesi

Ozonun varlığı ilk defa 1785 tarihinde Van Marum tarafından belirtilmiştir. Alman bilim adamı Christian F. Schonbein, 1840'da bunun yeni bir madde olduğunu keşfederek ozon adını verilmiştir. Ozon ticari anlamda ilk defa içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılmıştır. Tıbbi amaçla ise ilk defa 1856 yılında ameliyathane dezenfeksiyonunda kullanılmaya başlanmış ve daha sonra da Monaco şehrinin su arıtma tesisinde kullanılmıştır. Soret, 1865 yılında, ozonun kimyasal formülünü bulmuştur. Mariniak ve Delari ozonun, oksijenin allotropik formu olduğunu, Mulliken ve Dewar ise ozonun moleküler yapısını ortaya koymuştur. İlk ozon jeneratörü patenti ise Nicola Tesla tarafından 1900 yılında alınmıştır [79].

Clarke, 1902 yılında ozonu anemi, kanser, diyabet, influenza ve morfin zehirlenmesinde kullanmıştır. Birinci Dünya Savaşı sırasında Wolf A. yaraları ozon ile tedavi etmiştir. Warburg O. 1926 yılında kanserin hücre düzeyinde oksijen azalmasından meydana geldiğini bildirip, bu tespiti ile 1931 ve 1944 yıllarında Nobel ödülü kazanmıştır [80].

Günümüzde ozon, gerek temas süresinin kısa olması ve gerekse de zehirli kalıntı bırakmaması gibi nedenlerle gıda endüstrisinde; yüzey hijyeni, ekipman dezenfeksiyonu ve atık suların arıtılmasında başarı ile kullanılırken, akvaryum, yüzme havuzu, soğutma suları, hastane su sistemlerinin dezenfeksiyonu ile tıp ve diş hekimliği gibi farklı alanlarda da yaygın olarak tercih edilmektedir [81] .

2.5.3. Ozonun Fiziksel Özellikleri

Oksijenin bir allotrop formu olan ozon, genellikle oksijen veya hava ile karışık halde ya da seyreltik olarak bulunabilir. Normal sıcaklıkta mavi renkli bir gazdır.

Ancak düşük konsantrasyonlarda rengi fark edilemez. Sıvı ozon ışık geçirgen olmayıp mavimsi-siyah bir renge sahiptir, kristalleri ise mor mavi renklidir. Fosfor ve kükürt dioksiti hatırlatan kendine has ve keskin bir kokusu vardır. Saf ozonun özellikleri Çizelge 2.1 de gösterilmiştir [82].

Çizelge 2.1 Saf ozonun özellikleri [82]

Moleküler Ağırlık, g	48
Kaynama Noktası, °C	-111.9
Kritik Sıcaklık, °C	-12.1
Erime Noktası, °C	-192
Kritik Basınç, atm	54.6

2.5.4. Ozonun Kimyasal Özellikleri

Normal basınç ve sıcaklıkta gaz halinde olan ve oksijenin bir allotropu olan ozon, kararlı olmayan bir tabiata sahiptir. Sıvı veya gaz ortamında bulunan ozon oksijene dönüşme eğilimindedir ve sıcaklığın artışı bozunma ivmesini artırır. Sıcaklık 270 °C civarına çıkarıldığında bu dönüşüm anında olur. Nem, gümüş, platin, mangan dioksit, sodyum hidroksit, sodyum bikarbonat, brom, klor, azot pentaoksit vb. maddeler ozonun parçalanmasında katalizör etkisi yaparlar. Ozon ayrıca fotokimyasal reaksiyonlarla da bozunur. Ozonun yoğunluğu oksijenin 1,5 katı olup, suda çözünürlüğü şartlara bağlı olarak 10 kat daha fazladır [78].

Ozonun kimyasal reaksiyonları moleküler yapısıyla yakından ilgilidir. Ozonun oksijen atomlarından birisi kolayca ayrılabilir ancak ayrılan oksijen atomu kararlı halde değildir. Bu durum ozonu pratik olarak güçlü bir oksitleyici yapar. Ozon bu güçlü oksitleme özelliğini sıvı çözeltilerde de muhafaza eder. Ozonun sularda oksitleme gücü, pH ve reaksiyon süresine bağlıdır [80].

Ozon oluşumunu gösteren tepkime aşağıdaki gibidir:



Ozon, sahip olduğu reaktif özelliği dolayısıyla canlılarda toksik etki gösterebilmektedir. Ozonun etkilediği başlıca organlar gözler ve akciğerdir. Ozonun düşük konsantrasyonda solunması boğazda irritasyon ve öksürüğe

neden olurken, yüksek konsantrasyonlardaki solunumu akciğer ödemeine yol açabilmektedir [83, 84].

2.5.5 Ozonun Medikal Kullanımı

Ozonun ilk medikal kullanımını Wolff A. savaş askerlerin yaralarını iyileştirmek amacıyla gerçekleştirmiştir [7]. Ozonun tedavi edici bir ajan olarak gündeme alındığı ilk önemli organizasyon ise 1935 yılında Berlin'de toplanan 59. Alman Cerrahi Birliği toplantısıdır [85].

Ozonun sahip olduğu reaktif özellik nedeniyle kullanımı esnasında konsantrasyonuna ve kullanıldığı doza dikkat edilmesi çok önemlidir. Ozonun kullanımı oksijenle birlikte olmalıdır ve bu oranda oksijen %95'den az, ozon ise %5'ten fazla olmamalıdır. Vücutta toksik bir gaz olan azot dioksitin oluşmaması için ise karışıma havanın girmesi engellenmelidir. Ayrıca vücutta emboliye sebep olmamak için ozon gaz olarak damar sistemi içerisine verilmemelidir [86].

Ozon tedavisi organizmanın antioksidan ve anti-inflamatuar savunma sistemlerini destekleyen bir tedavidir. Başta diyabetik ülser olmak üzere tüm zor iyileşen ülserlerin tedavisinde, geriatik şikayetlerde, kalp yetmezliği olan hastalarda non-spesifik immunomodülasyon ve antioksidan sistemini desteklemek, kronik inflamasyon ile seyreden solunum sistemi hastalıklarında, kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapinin etkinliğini artırmak, savunma sistemini desteklemek, vasküler bozukluklar ile damar endotel hasarına bağlı durumlar da ozon tedavisi uygulanmaktadır [7].

2.5.6. Ozonun Tıbbi Kullanım Yöntemleri

Wolf tarafından 1974 yılında majör otohemoterapi (HT) ozon tedavisinin ilk uygulaması yapılmıştır [7]. Ana tedavi yöntemi olan bu sistemde, 50-270 ml kanı vücut dışına alınmış ve ozona dayanıklı bir şişede 5-10 dakika oksijen/ozon karışımıyla temas ettikten sonra sonra intravenöz yolla tekrar geri verilmiştir. Bu yöntemde ozonun sahip olduğu fiziksel ve kimyasal özelliklerden ötürü vücutta hiçbir terapötik etki göstermediği görülmüştür [87].

Minör otohemoterapi: Hastadan alınan 5-10 ml kan enjektör içerisinde 10-15 ml ozon/oksijen karışımı ile muamele edilerek ve kas içine uygulanmıştır. Bu uygulama ile bir çeşit aşı etkisi yaratılarak bağışıklık sisteminin uyarılmasını sağlanmaktadır [87].

Ozonlu su: Ozon/oksijen karışımı ve distile kullanılarak hazırlanmaktadır. Maksimum ozon konsantrasyonu 18-20 µg ozon/ml sudur. Ozonun oda sıcaklığında su içinde yarılanma ömrü 10 saat iken buzdolabı içerisinde yaklaşık 5 günü bulmaktadır. Ozonlu suyun dezenfektan olarak kullanımının yanında ağrı azaltma ve yara iyileştirme gibi özellikleri de bulunmaktadır [88].

Torbalama yöntemi: Özellikle uzuvlardaki enfeksiyon, yara ve lokal deri lezyonlarında uygulanan etkin bir yöntemdir. Şeker hastalarında görülen diyabetik ayak ülserleri buna örnektir. Yöntemde ilk olarak cilt su veya serum ile ıslatılır. Tedavi uygulanacak olan alan özel olarak üretilmiş bir torba ile çevrelenir. Torba ağzında ozon/oksijen karışımının torba içine verilmesini sağlayan giriş ile çıkışını sağlayan bağlantılar bulunmaktadır [89].

Rektal ve vajinal uygulama alanı: Bağırsak ve vajinada görülen patolojik mikro organizmaların uzaklaştırılması amacıyla ozon karışımı polivinil tüp ve spekulum yardımı ile istenilen bölgeye verilmektedir. Tedavi bitiminde ozon gazı kontrollü olarak ortamdaki uzaklaştırılmalıdır. Bu nedenle doktor ve hastanın, gazın toksik etkilerinden kaçınması için vakumlu oda sistemine sahip uygun bir yerde çalışılması gerekir [89].

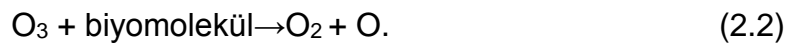
Topikal uygulamalar: Ozon/oksijen karışımının veya ozonlu sıvıların (su, yağ) deri lezyonlarının iyileştirilmesinde cilt üzerine doğrudan verilmesiyle uygulanan bir yöntemdir [87].

2.5.7. Ozonun Etki Mekanizması

Ozonun etki mekanizması kimyasal ve klinik olarak iki şekilde incelenebilir [90].

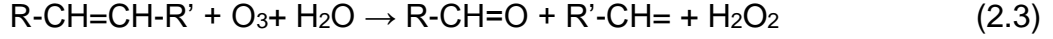
2.5.7.1. Organik Ortamlarda Ozon Kimyası

Ozon gazı su, plazma, lenf veya serum gibi sıvı ortamlarda bulunan biyomolekülleri oksitleyerek; ortama reaktif oksijen verir [91].



Ozon ilk olarak çoklu doymamış yağ asitleri ile daha sonra da antioksidanlar, -SH bileşikleri içeren tiyol bileşikleri, redükte glutatyon ve albümin ile reaksiyona girmektedir. Ozon karbonhidratlarla, enzimlerle, DNA ve RNA ile de miktarına bağlı olarak reaksiyona girebilir [7]. Tüm bu bileşikler ozon karşısında elektron donörü gibi davranarak oksitlenirler. Sonuçta süperoksit, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hipoklorik asit gibi reaktif oksijen türevleri (ROT) oluşur. Bu reaksiyonlardan

en önemlisi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu olup ana reaksiyonu aşağıdaki gibidir [92].



Eşlik (2.3)' de her hidrojen peroksit ile birlikte iki de lipid oksidasyon ürünü oluşmaktadır. Oluşan başlıca lipid oksidasyon ürünleri; lipoperoksil radikalleri, hidroperoksitler, malondialdehit, izoprostan, alkenaller ve 4–hidroksi–2,3–trans nonanaldır [7, 93].

2.5.7.2. Klinik Ortamda Ozon Etki Mekanizması

Bocci'nin "Terapötik Sok" olarak adlandırdığı temel mekanizmada, kanla karşılaşan ozon parçalanarak tek değerlikli oksijen radikali ve oksijen formuna dönüşür [94]. Oksijen kan hücresine ulaşırken tek değerlikli aktif oksijen atomu ise kan plazmasında zincirleme bir dizi etkinin başlamasına sebep olur. İlk etki, kan plazmasında oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂) ve okside lipit ürünlerinin vücudun doğal antioksidan enzimlerini aktive etmesidir. Bu enzimler de başka reaksiyonları tetikleyerek doku yenilenmesinde etkili olan proteinlerin üretimlerinin artışına ve bağışıklık sistemi mediatörlerinin uyarılmasına neden olurlar. Böylece vücudun antioksidan üretim sistemi çalıştırılırken, aynı zamanda kan hücrelerinin oksijen alma kapasitesi de artırılmış olur ki buda kanın daha iyi oksijen taşımaya ve tüm organ ve dokuların kanlanması olanak sağlar. Bu etkiyle hücrelerin beslenmesi, yenilenmesi ve toksinlerden kurtulma süreci hızlanır. Ozon terapinin antioksidan etkisinin yanında, immunomodulatör ve hücre metabolizmayı aktive edici ve etkileri de vardır [91, 95].

Hidrojen peroksit, ozonun tedavi edici özelliklerinden en azından bir kısmından sorumlu ikincil haberci gibi davranmaktadır [96]. İlk özelliği eritrositlerde 2,3-difosfoglisarat düzeyini artırma yoluyla hemoglobin-oksijen ayrışma eğrisinin sağa kaymasına ve böylece oksijenin dokulara daha kolay bırakılmasına neden olmasıdır. Plazmada konsantrasyonu artan hidrojen peroksit kolayca hücrelerin içine diffüze olarak, lökosit ve endotelial hücrelerde çeşitli interferon, interlökin ve transforme edici büyüme faktörü yapımını artıran uyarıları tetiklemektedir [93].

2.5.7.3. Ozonlanmış Yağlar

Yağlar yapılarında bulunan çift bağlı doymamış yağ asitleri sayesinde yağların kolaylıkla ozonlanabilmektedir.

Ozon gazının oleik asit benzeri doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucu ozonoidler oluşur [97]. Criegee reaksiyonu olarak tanımlanan bu tepkimede ozonid, triksolan benzeri karbonil fragmentler aldehit ve peroksitlere dönüşür. Criegee reaksiyonunun mekanizması 3 adımdan oluşmaktadır. Birinci adımda oluşan çok kararsız olan 5 halkalı yapı ikinci adımda bu yapı zwitterion meydana getirmek için kırılır. Üçüncü adımda oluşan bu madde ortamın şartlarına ve olefenik bileşiğin yapısına bağlı olarak değişik reaksiyonlar verir. Bir nötr çözeltide bu madde bir aldehit, keton veya peroksit bileşiği vermek üzere bozunur [98].

Ozon molekülünün Criegee reaksiyonu sonucunda doymamış yağ asidinin çift bağları arasında ozonid olarak stabilize edilmesi, ozonlanmış zeytinyağının oda sıcaklığında 4 ay, 4 °C' de ise 2 yıl stabil kalabilmesine olanak verir. Bu özelliği ozonlanmış yağların topikal uygulanmasını da kolaylaştırmaktadır. Ayrıca ozonun, deriye ozonlanmış yağlar şeklinde uygulanması deriye daha iyi penetre olabilmesini sağlayarak aktif oksijenin taşınımını kolaylaştırmaktadır. Ozonlanmış yağların diğer bir faydalı etkisi de bakteriyel enfeksiyonu azaltması ve inflamatuvar reaksiyonları düzenlemesidir [99, 100].

Ozon, bakterilerin mantarların ve virüslerin inaktivasyonunda kullanılabilecek güçlü bir oksitleyicidir [101]. Ozon, mikroorganizmaların üremesini engelleyerek, nötrale ederek ya da hücre duvarını yıkıma uğratarak dezenfeksiyon sağlamaktadır [102]. Ozon, mikroorganizmanın yapısındaki glikoproteinler, glikolipidler ve aminoasitlere nüfuz ederek hücrenin enzimatik kontrol sistemlerini bloke eder ve hücre üremesini engeller. Hücre membran geçirgenliğinin artmasıyla da ozon molekülleri kolayca hücreye girerek mikroorganizmaların ölümüne sebep neden olabilmektedir [103].

Literatürde çeşitli türde yaraların iyileştirmesinde ozonlanmış yağların potansiyel kullanımını içeren birçok çalışma yer almaktadır [100, 104-106]

Montevecchi ve arkadaşları [107] yaptıkları çalışmada ozonlanmış yağ ile klorheksidin ve povidonyotun *S. aureus* ve *P. gingivalis* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemişler ve sonuçta ozonlanmış yağın *S. aureus* ve peridontal bir bakteri olan *P. gingivalis* üzerinde diğer antiseptiklere göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Kim ve arkadaşları [99] domuzlarda oluşturulan akut kutanöz yaranın iyileşmesinde topikal uygulanan ozonlanmış yağın, kontrol grubuna göre belirgin bir fark yarattığını tespit etmişlerdir. Etkene bakılmaksızın, otitis externa teşhisi konulan hastalarda, ozonlanmış yağ kullanımının klasik uygulamalarla karşılaştırıldığında daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Sechi ve arkadaşları [108] yaptıkları çalışma ile ozonlanmış zeytinyağının *Mikobakteri*, *Stafilokok*, *Enterekok*, *P. auregonisa* ve *E. coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar ve ozonlanmış zeytinyağının tüm bu bakterilere karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Geweely yaptığı bir çalışmada [109] ozonlanmış zeytinyağının antifungal etkisini araştırmış ve *A. fumigatus*, *C. albicans*, *E. floccosum*, *M. canis*, *T. rubrum* patojenik mantarlara karşı ozonlanmış zeytinyağının antifungal etki gösterdiğini bildirmiştir.

Vigna ve Menendez, yaptıkları bir çalışmada [110], kornea ülseri bulunan toplam 59 kediye ozonlanmış susam yağı karışımını lokal olarak uygulayarak başarılı sonuçlar elde etmişlerdir

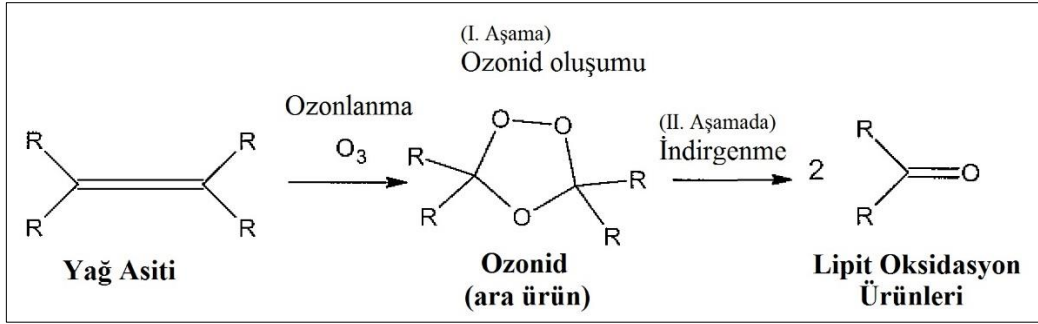
Ozonlanmış zeytinyağı, sarımsak yağı ve mercanköşk yağının kedilerde *O. cynotis* bakterilerinin oluşturduğu enfeksiyon üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırıldığı çalışmada elde edilen sonuçlar ozonlanmış zeytinyağının, *O. cynotis* bakteri enfeksiyonunun tedavisinde alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir [111].

Gümüş içerikli hidrofiber yanık-yara bakım ürünü ile ozonlanmış saf zeytinyağının parsiyel kalınlıktaki yanıkların tedavisindeki etkinliğinin incelendiği diğer bir çalışmada ülser genişliği, fibroblast ve kollajen seviyesi, granülasyon gibi yara-yanık iyileşmesinde kullanılabilecek kriterler üzerindeki etkiler araştırılmıştır. Bu çalışmada ozonlanmış yağın parsiyel kalınlıktaki yanıkların pansumanında diğer ürünler kadar etkili ve düşük maliyet gerektirdiği tespit edilmiştir [112].

Tavşanlarda deneysel enfekte diz protezi modeli oluşturulup, meydana gelen enfeksiyonun ve kıkırdak harabiyetinin önlenmesinde eklem içine uygulanan ozonun etkilerinin araştırıldığı çalışmada diz protez enfeksiyonunun ve kıkırdak harabiyetinin önlenmesinde ozonun antibiyotikler kadar olmasa da etkili olduğu, sonucu çıkarılmıştır [90].

2.5.7.4. Ozonlanmış Yağların Etki Mekanizması ve Peroksit Değerinin Önemi

Ozonlanmış yağların potansiyel etki mekanizmasının oksidatif stres sonrası transkripsiyon faktör NF-κB uyarılışı ile reepitelizasyon ve kollajen indüksiyonu sağlayan VEGF ve Cyclin D1'in üretilmesi olarak açıklanabilir (Şekil 2.11) [105]. Kim ve arkadaşlarının [99], domuz sırtında oluşturdukları ülser deneyi modelinde topikal ozon yağının etki mekanizması araştırılmıştır. Çalışmada, ozon yağı uygulanan grupta görülen trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve transforme edici büyüme faktörü-β (TGF-β) seviyelerindeki artışlar ozon yağının yara iyileşmesinde ve kollajen paternin düzenlenmesinde olumlu etkisini göstermektedir.



Şekil 2.11. Ozon yağının topikal uygulamasındaki etki mekanizması [104]

Ozonlanmış yağlarda fiziko kimyasal özellikler ile kalitenin belirlenmesinde iyodin, asit ve peroksit sayısı ölçümleri büyük önem taşımaktadır [113]. Peroksit değeri (PV), 1000 gr ozon yağında oluşabilecek reaktif oksijen miktarını (mEq/kg) göstermektedir. Peroksit değeri ayrıca ozonlanmış yağların anti-inflamatuar ve antibakteriyel özelliklerinin önemli bir göstergesidir [97, 105, 114, 115]. Asit değeri (AV), 1 gr örnek ozon yağında bulunan serbest asitleri nötralize etmek için gerekli olan potasyum hidroksit miktarının mg olarak miktarını tanımlar. İyodin değeri (IV), 1000 gr örnek ozon yağında bulunan çift bağlarla reaksiyona girecek olan iyodin miktarını gram cinsinden belirtir. İyodun değerinin yaklaşık sıfır olması doymamış yağ asitlerinin ozonla tamamen reaksiyona girdiğini göstergesidir. Ozonlama reaksiyonunda asit ve peroksit değerleri artarken, iyodin değerinin azalması beklenir [7].

Peroksit sayısının sıvı ve katı yağlarda tayini standard iyodimetrik metod ile belirlenmektedir [116]. Bu metotta belirli miktarda tartılan yağ üzerine asetik asit – kloroform çözeltisi eklenerek yağın çözünmesi beklenir. Doymuş potasyum

iyodür çözültisinin de eklenmesiyle, çözülti karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 ila 5 dakika arasında reaksiyona bırakılır. Metod, peroksit oksijenine eşdeğer miktarda iyodun serbest hâle geçmesi ve kalan iyodun da tiyosülfat ile titrasyonu ilkesine dayanır.

Literatürde farklı peroksit değerlerine sahip ozonlanmış bitkisel yağlar (susam, kanola, ayçiçek, zeytin, hindistancevizi) ile yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır [117-119].

Valacchi ve arkadaşları, [105] düşük (949 ± 33 mEq/kg), orta (1631 ± 64 mEq/kg) ve yüksek (3170 ± 101 mEq/kg) peroksit değerlerine sahip ozonlanmış susam yağının akut deri yaralarına karşı terapötik etkilerini araştırmışlardır. SKH1 fareleri üzerinde yapılan bu çalışmada ortalama 1500 mEq/kg peroksit değerinin yara iyileşmesinde en uygun değer olduğu belirtilmiştir. Pai ve arkadaşları [120] 500 mEq/kg ve 700 mEq/kg olmak üzere iki ayrı peroksit değerinde ozonlanmış susam yağının yara üzerinde etkisini araştırdıkları çalışmada; 700 mEq/kg peroksit değeri içeren yağın yüksek süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi gösterdiği ve böylece hızlı bir yara iyileşmesinin gerçekleştiği belirtilmiştir. Öcay [121], meme implantlarında görülebilen kapsül kontraktürünün önlenmesinde ortalama bir peroksit değerine sahip (400-600 mEq/kg) ozon yağının kullandığı bir uzmanlık çalışması hazırlamıştır. Çalışmada; ortalama peroksit değerine sahip ozon yağının olumlu etki göstermesinin submuskuler paket içerisinde kullanılmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ozonlanmış zeytinyağı ile ozonlanmış susam yağının kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin karşılaştırıldığı diğer bir araştırmada, her iki yağ *P. aeruginosa* bakterisi hariç, *S. aureus*, *E. coli* ve *B. subtilis* mikroorganizmalarına karşı eşit derecede antimikrobiyal etki göstermişlerdir. *P. aeruginosa* mikroorganizmasına karşı düşük peroksit değerine sahip (700 mmol-equiv/kg) ozonlanmış ayçiçek yağı en yüksek mikrobiyal etkiyi gösterirken, aynı etkiyi ozonlanmış zeytinyağı yüksek peroksit değerinde (2500 mmol-equiv/kg) göstermiştir [115].

Çeşitli mikroorganizmalara karşı ozonlanmış ayçiçek yağının minimum inhibisyon konsantrasyonunun araştırıldığı çalışmada, 630 mEq/kg'ın üstündeki peroksit değerlerinde ozonlanmış ayçiçek yağı tüm organizmalara karşı tam inhibisyon sağlanmıştır. Diaz ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalarda da yüksek peroksit değerine (1202 mmol-equiv/kg) sahip ozonlanmış ayçiçek yağının yüksek

antimikrobiyal etki göstererek, mikroorganizma büyümesini engellediği belirtilmiştir [122].

2.5.8 Ozonun Biyouyumluluğu ve Toksikitesi

Literatürde ozonlanmış yağların hücreler üzerindeki canlılıklarının değerlendirildiği in vitro-sitotoksitite çalışmaları sınırlı sayıda. Kogawa ve arkadaşları [123] baru tohumu, keten tohumu yağlarını ile ayçiçek yağını farklı reaksiyon sürelerinde ozonladıkları çalışmalarında, bu ozonlanmış yağların tümör özelliğine sahip 6 neoplastik hücre ve tümör özelliği taşımayan NIH/3T3 fibroplast hücre hatlarında in-vitro olarak sitotoksik etkilerinin tayini MTT testi uygulanarak yapmışlardır. Çalışmada farklı peroksit değerlerine sahip ozonlanmış yağların hücre proliferasyonunda %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonlarının yani IG50 dozlarının ortalama olarak <30 mg/ml olarak tespit edilmiştir [123]. Ozonun lokal tedavilerde biyouyumluluğunun araştırıldığı diğer bir çalışmada, ozonlanmış yağın 10-40 µg/mL konsantrasyon aralığında “yarayı iyileştirdiği” ya da epitelizasyonu arttırdığı 80 µg/ml konsantrasyonun üstünde sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir [120].

Nagayoshi ve arkadaşları [124], kök kanallarının yıkanmasında sonik sistemle birlikte kullanılan 4 mg/L ozonlu su ile on dakika ve %2.5 sodyum hipoklorit ile iki dakika yıkama arasında antimikrobiyal etkinliğin yaklaşık olarak aynı olduğunu, sitotoksitite açısından değerlendirildiğinde ise ozonlu su uygulamasının daha avantajlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Huth ve arkadaşları [125], 1.25–20 µg/ml ozonlu suyun ağız epitel hücreleri ve HGF-1 fibroplast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırdıkları bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Ozonlu suyun sitotoksik etkisinin %0.2 klorheksidin diglukonat, %5.25 sodyum hipoklorit, %2.25 hidrojen peroksit ve %3 metronidazol gibi antimikrobiyal ajanlar ile karşılaştırıldığı bu çalışmada, ozonlu suyun biyouyumluluğunun en üst düzeyde olduğu göstermişlerdir [125].

2.6. Bitkisel Kaynaklı Doğal Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir [126]. Biyomalzemeler uygulanma sırasında vücut sistemine uygun cevap verebilme özelliğine sahiptirler. Doğada bozunabildikleri için çevreyi daha az kirletmekte böylelikle, atık sorununu azalttığı için tercih edilmektedirler [127].

Doğal polimerler; biyouyumlu, biyoparçalanabilir olmalarının yansıra, herhangi bir toksik özellik göstermemeleri sebebiyle yara iyileştirme, ilaç salınımı, doku mühendisliği gibi birçok biyomedikal uygulamada sıklıkla kullanılmaktadır [128, 129]. Polisakkarit yapıda; β -glukan, dekstran, selüloz, aljinik asit, hiyaluronik asit, kitin, kitosan, heparin, keratan sülfat, aljinat, agaroz, karrejenan, pektin ve gamlar (zambk); protein yapıda ise; soya proteini, nişasta, kollajen, keratin fibrin, yumurta kabuğu membranları, büyüme faktörleri ve enzimler, literatürde yara örtüsü film hazırlama özelliğine sahip doğal polimerler olarak tercih edilmektedir [130].

Pereira ve arkadaşları [131] aloe vera bitki ekstraktı kullanarak hazırladıkları sodyum aljinat bazlı filmlerde aloe vera kullanımının filmlerin fiziksel özelliklerini arttırdığını görmüşlerdir. Hazırlanan aljinat filmlerin özellikle biyomedikal ve eczacılık alanında potansiyel kullanımının olabileceği de çalışmada vurgulanmıştır. Aynı çalışma grubunun 2013 yılında yayınladıkları başka bir makalede, yara iyileştirilmesinde aljinat ve aloe vera ekstratından yararlanarak kuru ve ıslak formda hidrojel filmler hazırlanmış ve filmlerde aloe vera miktarının artırılmasıyla filmlerin şişme ve in-vitro özelliklerinin olumlu yönde arttığını gösterilmiştir [132]. Yine aynı çalışma grubunun 2014 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada aloe vera/aljinat ile hazırlanan filme, E vitamini de eklenerek yara iyileşmesinin hızlandırılması hedeflenmiştir [133].

Miraftab ve arkadaşları [134] aljinat, karnıyarık otu (*pysillium husk*) ekstraktı ve gümüş karbonat kullanarak hazırladıkları yeni bir hibrid fiber yapıda absorplama kapasitesi ve gümüş salınım hızını ölçmüşlerdir. Çalışmada piyasada bulunan gümüş içerkli ticari yara örtüleri ile karşılaştırmalı olarak sunulmuş ve hazırlanan yeni yapının yara absorplama kapasitesinin ve antimikrobiyal etkinliğinin ticari yara örtülerinden daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

Latince adı *Durio zibethinus L.* olan bitkiden ekstrakte edilen polisakkarit jeller ile hazırlanan yara örtüsü filmler ve fiberlerde antimikrobiyal aktivite ve film karakterizasyonun incelendiği çalışmada *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *E. coli* ve *L. pentosus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivasyon gösteren film ve fiberlerin yanık yaralarında etkili bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir [135].

Ebriyenti ve arkadaşları [136], latince adı *Channa striatus* olan bitki ekstraktı ve fusidik asitten oluşturdukları aerosolü, spreyleme yöntemi kullanarak, deri yüzeyinde ince bir film tabakası oluşturacak şekilde yara örtüsü materyali formunda hazırlamışlardır. Çalışmada hazırlanan filmlerin subuharı geçirgenliği ve mekanik özellikleri araştırılmıştır.

Kitosan, aloe vera jel ve çapraz bağlayıcı olarak genipin kullanılarak hazırlanan yara örtüsü çalışmasında ise filmlerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin genipin eklenmesiyle arttığı belirtilmiştir [137].

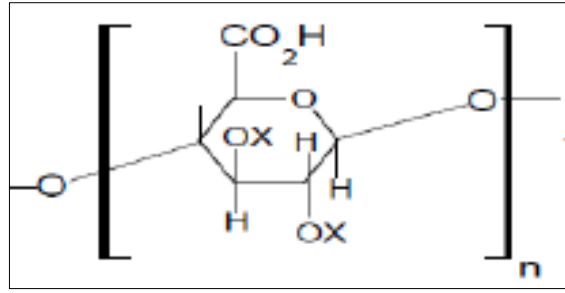
Patil ve arkadaşları [138], latince adı *Pysillium husk* olan bitkiden elde edilen ekstrakt ve polividon-iyot kullanarak hazırladıkları yara örtü filmlerde fiziko kimyasal ve in-vivo yara iyileştirme özelliklerini incelenmiş ve sonuçta filmlerin, *E. coli*, *S. dysentrae*, *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve yara iyileştirmesini hızlandırdığı görülmüştür.

2.7. Geven Bitkisi ve Özellikleri

Latince ismi *Astragalus membranaceus* olan geven bitkisi baklagiller familyasındandır. Anavatanı Batı Asya, Çin, Tayvan ve Kore olan geven bitkisinin yetiştiği bölgeye göre değişen 2000 türü mevcuttur. Çok yıllık bir bitki olan geven beyaz-sarıçiçekli 5-10 cm kadar büyüeyebilen yapıdadır. Kitre (geven otu zamkı) geven otunun gövde veya kökünden elde edilen özsuynun kurutulması ile hazırlanan doğal bir zamkdir (Şekil 2.12). *Astragalus microcephalus* ve *Astragalus gummifer*, *Astragalus brachycalyx* türlerinin zamkları Türkiye, İran, Kafkasya ve Afganistan'da eczacilikta, boya, dokuma ve kağıt sanayisinde kullanılmaktadır [139].

Kitrenin ana bileşenleri polisakkaritler, saponinler, flavonidler, ve aminoasitlerdir. Moleküler ağırlığı 80 kDa olan kitre zamkı kalsiyum, potasyum ve magnezyum tuzlarını içeren asidik heteropolisakkarittir [140].

Kitre bassorin ve tragakantin olmak üzere iki kısımdan oluşur. Suda çözünmeyen ve şişme özelliği ile jel oluşturabilen bassorin, kitrenin % 70'lik bölümünü oluşturan ana kısımdır. Kitrenin %30 'luk kısmını oluşturan trakagantin ise suda çözünerek jel oluşturur [8].



Şekil 2.12. Kitrenin kimyasal yapısı [141]

Kitre 9000-65-1 CAS numarası ile Amerika Gıda ve İlaç Yönetimi tarafından GRAS (genel olarak güvenilir-zararsız) olarak kabul edilmiştir. Toksik, karsenogen, mutajenik ve teratojenik hiçbir özelliğe sahip olmaması sebebiyle insan sağlığına hiçbir zararlı etki göstermeyen kitrenin, hücre büyümesi için de uygun bir ortam sağlamaktadır [142]. Gıda, ilaç, kozmetik sektörlerinde inceltici, kıvam verici, stabilizatör, emülsifiye edici ve çapraz bağlayıcı ajan olarak potansiyel uygulamaları bulunmaktadır. [140, 143, 144]. Literatürde yapılan birçok çalışmada kitre zamkının yapısal, termal, asidite, emülsifiye edici, reholojik, antibakteriyal, antiviral, biyoyumluluk ve biyoparçalanma özellikleri araştırılmıştır [143-146].

Kitre; immünomodulasyon, antioksidan, antitümör, anti-diyabet, antiviral, hepatoprotektif, antiinflamatuvar ve hematopoez gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir [147]. Kitrenin sahip olduğu biyolojik kimyasal ve fiziksel özellikleri sayesinde ebru sanatı, bebek yapımı, yara ve yanık iyileştirme musilajı; hücre immobilizasyon ve ilaç enkapsülasyonu gibi alanlarda kullanımı yaygındır [144, 148].

Kora ve arkadaşları [140], kitre kullanarak çalışmalarında gümüş nanopartiküller sentezlemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin fiziksel karakterizasyonun incelendiği bu çalışmada; gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite araştırılmıştır. *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı yüksek antimikrobiyal etki gösteren partiküllerin biyomedikal alanda potansiyel uygulama alanı bulabileceği belirtilmiştir. Kiani ve arkadaşları [149] kitreden gliserin ve etilen glikol kullanarak çapraz bağlayarak hidrojel filmler hazırlamışlardır. Farklı konsantrasyonlarda çapraz bağlama ajanı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin hidrojel filmlerin şişme özelliğine etkisinin incelendiği bu çalışmada Taguchi deney tasarım metodundan yararlanılmıştır. Kitre, akasya zamkı ve

hidroksipropilmetilselüloz kullanılarak oluşturulan, suda çözünebilir 3 tabakalı matriks tablet olarak hazırlanan başka bir çalışmada ise verapamil HCl salınımı incelenmiştir [150]. Fattahi ve arkadaşları [151], kitreden ester giderme yöntemi ile suda çözünebilir zatk elde etmişlerdir. Elde edilen zatk, çinko ve demir iyonları ile çapraz bağlanarak jel küreler oluşturulmuştur. Biyolojik karakterizasyon sonucunda jel kürelerin HeLa, HepG2 ve L929 hücre hatlarında hiçbir toksik etki göstermediği, demir iyonları ile çapraz bağlanan kürelerin L929 hücrelerine daha iyi tutunduğu ve hazırlanan kürelerin doku mühendisliği ve kontrollü ilaç salınım araştırmaları için uygun malzemeler olduğu vurgulanmıştır. Kitrenin yapısında bulunan arabinoz ve glukoronik asidin proteinlerin yüzeyde koagülasyonunu sağlayarak yara enfeksiyonunu engellediği ve böylece yara iyileşmesinin hızlandırdığı ileri sürülmüştür [142]. Fareler üzerinde yapılan in-vivo araştırmada kitrenin musilaj olarak uygulaması yapılmış ve çalışmada kitrenin içerdiği arabinogalaktanın ve mineral bileşenlerin (kalsiyum ve magnezyum) ve T hücrelerinin indüksiyonunu sağlayarak, B tipi hücrelerin çoğalmasına, deri fibroplast hücrelerinin canlılığının korunmasına ve keratinosit proliferasyonun düzenlenmesine yardımcı olduğu açıklanmıştır. Sahip olduğu potansiyel yara iyileştirme özelliği ile kitrenin özellikle iskemik, diyabetik ayak ülseri ve bası yaralarında kullanılabileceği vurgulanmıştır [152] Bagheri ve arkadaşları [153] ise ilk defa fareler üzerinde kitrenin analjezik etkisini araştırmışlar ve bu etkinin adrenerjik yol ile ilgili olduğunu açıklamışlardır. İlk defa mikroemülsiyon yöntemi kullanılarak kitre ve nane yağı ile antimikrobiyal nanokapsüllerin geliştirildiği başka bir çalışmada, *A. membranaceus* doğal polimerik duvar olarak işlev görmüştür. Alüminyum klorür ve kalsiyum klorür ile yapılan çapraz bağlama işlemi sonucunda hazırlanan kapsüllerin antimikrobiyal ve antiviral özellikleri incelenmiş ve nanokapsüllerin *C. albicans* bakterisine karşı yüksek antimikrobiyal aktivasyon gösterdiği sonucuna varılmıştır [144].

2.8. Polisakkaritlerin Çapraz Bağlanması

Çapraz bağlama; iki veya daha fazla molekülün kovalent bağ ile kimyasal yolla birbirine bağlanma prosesidir. Hidrojellerde çapraz bağlama işlemi, hidrofilik polimer zincirlerin sulu ortamlarda çözünmesini önlemek amacıyla yapılmaktadır.

Polisakkaritlerin çapraz bağlanmasında kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki yöntem kullanılmaktadır. Fiziksel çapraz bağlama işleminde polisakkaritler

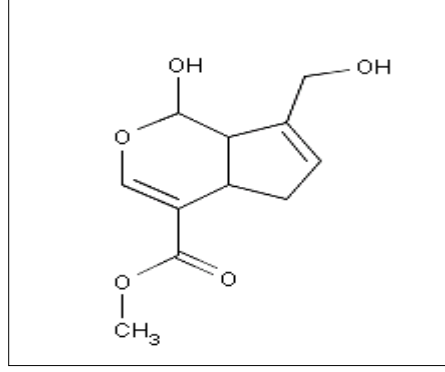
yüzeyde ters iyonlarla çapraz bağlanmış bir ağ oluştururken, polimer zincirleri arasındaki fiziksel etkileşim ile çözünme engellenir. Isı ile muamele, kurutma, ultraviyole ve gamma ışınları fiziksel çapraz bağlama yöntemine örnek verilebilir. Kimyasal çapraz bağlama işleminde ise polimer zincirleri arasında kovalent bağ oluşumuna dayanır. Bu işlem sırasında ters iyonlar polimer içine difüze edilir ve çapraz bağlayıcı ajan molekülleri arasında bağlar ile polisakkaritlerle reaksiyona girer. Çapraz bağlayıcı ajanın konsantrasyonu ve işlemin süresi kimyasal olarak çapraz bağlamayı etkileyen en önemli faktörlerdir. Glutaraldehit, formaldehit, karbodimid, akril azidler, poliepoksi grupları, tanik asit kimyasal çapraz bağlama işleminde kullanılan önemli bağlayıcı ajanlardır. Kimyasal çapraz bağlama işleminde kullanılan jelin biyoparçalanması sonucu toksik kalıntı ortamda birikebilmektedir [154]. Polimerlerin çapraz bağlanması esnasında ortaya çıkan bu dezavantajları önlemek amacıyla yara iyileştirme, doku mühendisliği ve ilaç salınımı gibi biyomedikal alandaki araştırmalarda toksik özellik taşımayan çapraz bağlayıcı ajanlar sıklıkla tercih edilmektedir.

2.9. Doğal Çapraz Bağlayıcı Ajan-Genipin

Genipin, toksik olmayan, biyouyumluluğu yüksek doğal bir çapraz bağlayıcıdır. Genipin latince ismi *Gardenia jasminoides ellis* olan gardenya bitkisi meyvesinden doğal veya sentetik yöntemlerle elde edilir [155].

Molekül formülü $C_{11}H_{14}O_5$ olan genipin, dihidro furan halka yapısına sahiptir (Şekil 2.13) [156]. Proteinik tekstil liflerine renk verme özelliğinden ötürü doğal bir boyadır. Geleneksel Çin tıbbında kolestaz ve hepapatit hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır [157].

Genipinin kendisi renksizdir fakat amino asitler ve proteinler ile anlık reaksiyonlar gerçekleştirilerek mavi pigmentler oluşturur. Bu karakteristik özelliklerinden ötürü gıda ve tekstil endüstrilerinde kullanımı yaygındır.[154]



Şekil 2.13.Genipinin kimyasal yapısı [156]

Toyama ve arkadaşları, genipin ile olan çapraz bağlama reaksiyon mekanizmasını genipinin metil amin ile olan reaksiyonu ile açıklamaya çalışmışlardır. Buna göre reaksiyon genipinin C3 karbonu üzerindeki amin grubuna birincil aminin, nükleofilik atak yapması ile gerçekleşmekte ve bu da halka açılmasına sebep olmaktadır. İkincil aminin aldehyd grubuna bağlanması ile gerçekleşen radikal reaksiyonlar sonucunda oluşan dimerizasyon ile çapraz bağlanma işlemi tamamlanmaktadır [157].

Genipinin toksisite, uygulanabilirlik ve biyouyumluluk özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda glutaraldehitten 10000 kez daha az toksik olduğu kanıtlanmıştır [158], [159].

Literatürde genipinin karakteristik özelliklerinden faydalanılarak gerçekleştirilen birçok araştırma mevcuttur. [160-166].

Silva ve arkadaşları, kitosan ve aloe vera içeren hidrojeli genipin ile çapraz bağlayarak hazırladıkları filmlerde genipin konsantrasyonunun artışıyla fiziksel ve mekanik özelliklerin de arttığını göstermişlerdir [137].

Liu ve arkadaşları [167] yaptıkları çalışmada, alt tabakası genipin ile çapraz bağlı kitosan film, üst tabakası ise soya protein olan dokusuz tekstil yüzeyinden oluşan kolaylıkla doku üzerinden sıyrılabilen, çift katlı kompozit yeni tasarım bir yara bakım ürünü hazırlamışlardır. Elde edilen kompozit malzemenin su tutma özelliği nedeniyle yaranın dehidrasyon riskini azalttığı görülmüştür. Çalışmada gerçekleştirilen hayvan deneyleri ile bu çift-katlı yara pansuman malzemesinin epitelize olduğu kısaca yani hasarlı dokunun mükemmel bir biçimde yenilenme gösterdiği ve böylece kompozitin yenilenmiş dokuya zarar vermeden kolayca sıyrıldığı görülmüştür.

2.10. Hidrojel Filmlerin Şişme Davranışı

Hidrojellerin şişme davranışının belirlenmesi hidrojellerin karakterizasyonunda önemlidir. Hidrojellerin şişme davranışı, dinamik şişme testleri kullanılarak belirlenmektedir. Dinamik şişme çalışmaları sonucu elde edilen veriler, şişme kinetiğine uygun modeller ile matematiksel olarak değerlendirilmektedir [168].

Dinamik şişme çalışmaları için hidrojeller, belli bir miktardaki sulu çözelti içerisine daldırılmakta ve belirlenen aralıklarda sulu çözülden çıkartılıp, hafifçe fazla olan suyu alındıktan sonra sabit bir değere ulaşana dek tartılmaktadır. Çözücünün jele girme ve salım hızı birbirine eşit olduğu anda maksimum şişme değerine yani denge durumuna ulaşıldığı kabul edilir.

$$(\%S) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (2.4)$$

Eşitlikte 2.4' de W_0 ; başlangıç anındaki kuru polimer kütlesini (g), W_t ise t süre sonra şişmiş polimerin kütlesini (g) göstermektedir. Denge durumunda hidrojel maksimum en büyük şişme değerine ulaşmaktadır.

Şişme davranışı gösteren polimerlerin karakterizasyonunda difüzyon türü ve mekanizmasının aydınlatılması için ilk olarak şişme eğrilerinin oluşturulması gerekmektedir. Şişme eğrileri, uygun çözücüye konulan polimerin kütlesindeki değişikliklerin zamanla değişiminin izlenmesi ile oluşturulur.

2.10.1. Hidrojel Filmlerde Difüzyon Mekanizması

Doğal zamklarla hazırlanan film ve tabletlerin şişme ve ilaç salınım davranışlarının belirlenmesinde sıfır ve birinci derece kinetik ile Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modelleri kullanılmaktadır [169]

Korsmeyer-Peppas kinetik modelinde, mekanizmasına bakılmaksızın tabaka, silindir ve küre gibi farklı geometrik şekillere sahip sistemlerden etkin madde salımını tanımlamaktadır. Peppas (1985) tarafından şişen ve kontrollü salım yapan sistemlerde "n" değerlerinin ne olduğu saptanmış ve bu değerlere karşılık gelen salım mekanizmaları belirlenmiştir [170]. Modelde sıvının hidrojel ağ içerisindeki difüzyonun zamana ve difüzyon katsayısının da malzeme özelliklerine bağlı olarak değişimi incelenmektedir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (2.5)$$

Eşitlik 2.5' de M_t ; t anında jelin içerdiği sıvı ağırlığı (g), M_∞ ; dengede absorplanan sıvının kütlesi (g), n; çözücünün difüzyon türünü gösteren şişme üsteli, k; jelle ait karakteristik katsayıdır. Bu eşitlik logaritmik temelde yazılırsa Eşitlik 2.6 elde edilir.

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln k + n \ln t \quad (2.6)$$

Eşitlik 2.6' da, $\log t$ 'ye karşı $\log M_t/M_\infty$ değerleri grafiğe geçirildiğinde elde edilen doğrunun eğiminden ve ordinatı kesim noktasından sırasıyla n ve k değerleri hesaplanmaktadır. Modelde k değerinin n değerine bağlı olmasından dolayı aynı n değerlerine sahip maddeler için doğrudan k değerlerinin karşılaştırılması mümkün olmaktadır.

Çizelge 2.2. Difüzyon mekanizmalarını gösteren n değerleri

Difüzyon üsteli (n)	Difüzyon Mekanizması
≤ 0.5	Fick tipi difüzyon
$0,5 < n < 1$	Fick olmayan tipte difüzyon
1	Süper durum difüzyonu

Çözücünün difüzyon hızı ile hidrojel-çözücü sisteminin durulma hızı hidrojellerde şişmeyi kontrol eden iki önemli parametredir. Difüzyon türü ve mekanizması bu iki parametreye bağlı olmak üzere 3 şekilde sınıflandırılabilir. Fick tipi difüzyonda, polimer zincirleri yüksek hareketliliğe sahip olduğundan, çözücünün penetrasyonuna daha kolay izin verilmektedir. Fick tipi difüzyonda, çözücü difüzyon hızı, durulma hızından, daha küçük olup şişme, difüzyon basamağı ile kontrol edilmektedir. Fick tipi olmayan ya da anormal tip difüzyon; ve durulma hızlarının aynı anda etkili olduğu difüzyon türüdür. Süper durum difüzyonunda difüzyonda ise hızı durulma hızından daha büyük olduğundan şişmeyi kontrol eden basamak durulma hızıdır [168].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu bölümde, tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ile ilgili bilgiler sunulmaktadır. İlk bölümde çalışmalarda kullanılan kimyasal ve doğal malzemeler özetlenmiştir. İkinci bölümde, ozonize zeytinyağının ve yara örtü filmlerin hazırlanma yöntemleri ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Üçüncü bölümde, ozonize zeytinyağının ve yara örtü filmlerinin karakterizasyonu amacıyla yürütülen çalışmalara yer verilmiştir. Son bölümde ise, ozonize zeytinyağının ve hazırlanan yara örtü filmlerinin mikrobiyal inaktivasyona ve hücre canlılığına etkisinin incelendiği antimikrobiyal aktivite ve in vitro sitotoksitite çalışmaları özetlenmiştir.

3.1. Materyaller

Yara örtü filmlerinin hazırlanmasında kullanılan malzemelerin özellikleri Çizelge E1-1 (EK-1)' de gösterilmiştir.

3.1.1. Kitre

Kitre piyasada sarı renkte plaka veya taş parçaları formunda bulunmaktadır. Çalışmada kullanıma hazır hale getirmek için kitre önce mekanik işlem ile küçük parçalara kırılmıştır. Çanaklı değirmende yapılan öğütme işlemiyle toz haline getirilen kitre 210 mikron elekten geçirilerek elenmiş kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Kitrenin taş formu ve öğütme sonrası tozu görüntüleri

3.1.2. Sığır Jelatini

Gıda sektöründe kıvam arttırıcı olarak kullanılan sığır jelatini toz halinde piyasadan temin edilmiştir.

3.1.3. Genipin

Çalışmada çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan genipin CAS:6902-77-8 numarası ile Challenge Bioproducts firmasından temin edilmiştir.

3.1.4. Ozonize Zeytinyağı

Çalışmada antimikrobiyal ajan olarak kullanılan ozonize zeytinyağı Tanyolaç ve arkadaşları [6] tarafından geliştirilmiş olan ozon jeneratörü yardımıyla özel olarak tasarımı yapılmış sürekli karıştırımlı bir reaktörde üretilmiştir.

3.1.5 Kimyasallar

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ozonize Zeytinyağı Üretimi

Çalışmada ozonize zeytinyağı, Tanyolaç ve arkadaşları tarafından işletim parametreleri ile reaktör konfigürasyonu arasında geliştirilen istatistiksel model yaklaşımıyla analogik bir ilişki kurularak tasarımı yapılmış ve patent başvurusu için çalışmaların sürdüğü piyasadaki emsallerine göre üstün özellikli ozon jeneratörü ile üretilmiştir (Şekil 3.2).

Ozonize zeytinyağı üretiminde hacmi 5 litre olan sürekli karıştırımlı bir reaktör kullanılmıştır. Reaktörde karıştırma hızı 250-300 devir/dak. olacak şekilde ayarlanmıştır. Oksijen konsantratöründen %90 saflıkta 5 lt/dak. akış hızında alınıp ozon jeneratörüne beslenen oksijen akımı üzerine 1.5 kHz frekansa sahip 6-10 kV'lık gerilim uygulanmıştır. Ozon jeneratöründe üretilen ozon gazı, bir difüzör aracılığı ile 18 gr ozon/saat akış hızında içinde 2.5-3 lt zeytinyağı bulunan reaktöre gönderilmiştir. Yüksek sıcaklıklarda ozonize zeytinyağının bozulabileceği, yanma ya da patlama riski olabileceği ve ilerleyen reaksiyon süresince viskozitenin artmasıyla karıştırmanın güçleşeceği gözönüne alınarak reaktörün sıcaklığı 35 °C' de sabit tutulmuştur. 24 saat sonunda reaksiyonun tamamlandığı kabul edilmiştir. Ayrıca tahliye kısmında ozon derişiminin artması ve reaktör sıcaklığının düşmesi ile tamamlandığı kabul edilen reaksiyon sonucunda başlangıçta sarı-yeşil renge sahip olan saf zeytinyağının tamamen beyaz-gri bir renge dönüştüğü ve vizkositesinin arttığı gözlemlenmiştir.



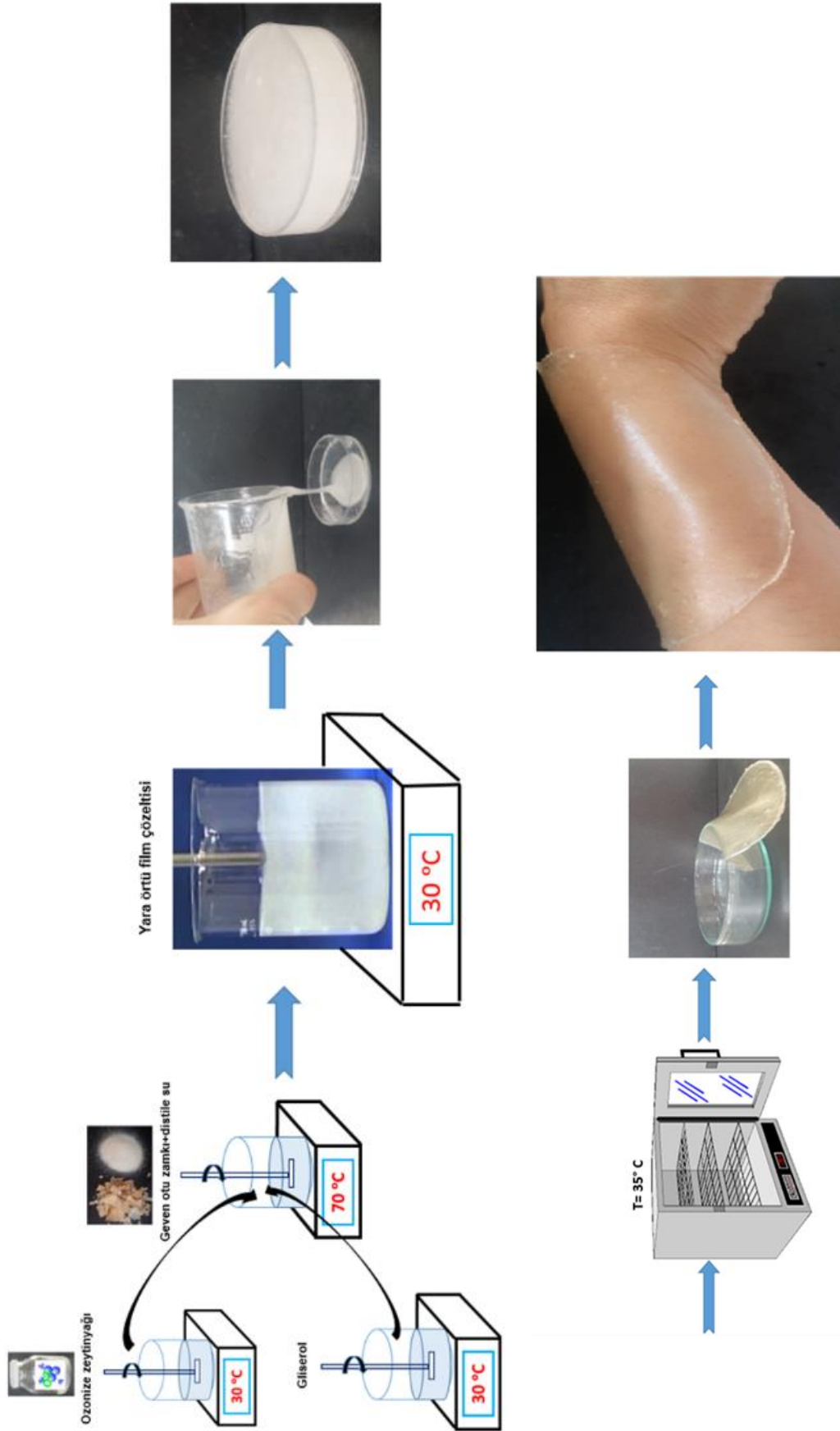
Şekil 3.2. Ozon gazı üretimi için tasarlanan deney düzeneği

3.2.2. Yara Örtü Filmlerin Hazırlanması

Çalışmada hazırlanacak yara örtü filmleri için kullanılacak en uygun kitre, ozonize zeytinyağı ve gliserol konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla konsantrasyonlar sırasıyla %2-4(w/v), %0.5-5 (v/v) ve %0.5-5 (v/v) aralıklarında değiştirilmiştir.

Çizelge E2-(1-5)' de (EK-2) hazırlanan filmler için belirlenen en uygun bileşen konsantrasyonları ve bu filmlere verilen kod adları, Şekil 3.3' de ise kitre, gliserol ve ozonize zeytinyağı içeren G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin hazırlanmasına yönelik örnek bir akış şeması verilmiştir.

Yara örtü materyallerinden G-O₂₂ kodlu film örneği çözücü döküm yöntemi kullanılarak ön denemeler ile belirlenen en uygun bileşen konsantrasyonlarında 30 ml distile su içerisinde % 2'lik (w/v) kitre olacak şekilde hazırlanmıştır [171]. Çözelti 70 °C' ye kadar ısıtılarak yarım saat boyunca tamamen homojen bir hal alana dek ağzı kapalı bir reaktörde karıştırılmıştır. Sıcaklığı 30 °C' ye getirilen çözeltiliye aynı sıcaklıkta son konsantrasyonları %2 (v/v) olacak şekilde sırasıyla ozonize zeytinyağı ve gliserol eklenmiş ve son olarak homojen hale gelen çözeltili 7.5 cm çapındaki cam petri kabına dökülmüştür. Oluşacak yara örtü filminin üzerinde hava kabarcığı oluşumunu engellemek için dökme işlemi çok yavaş gerçekleştirilmiş ve petri kabına dökülen çözeltili oda sıcaklığında yaklaşık 3 saat bekletilmiştir. Son olarak çözeltili film oluşumu için etüvde 35 °C' de yaklaşık 3 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır.



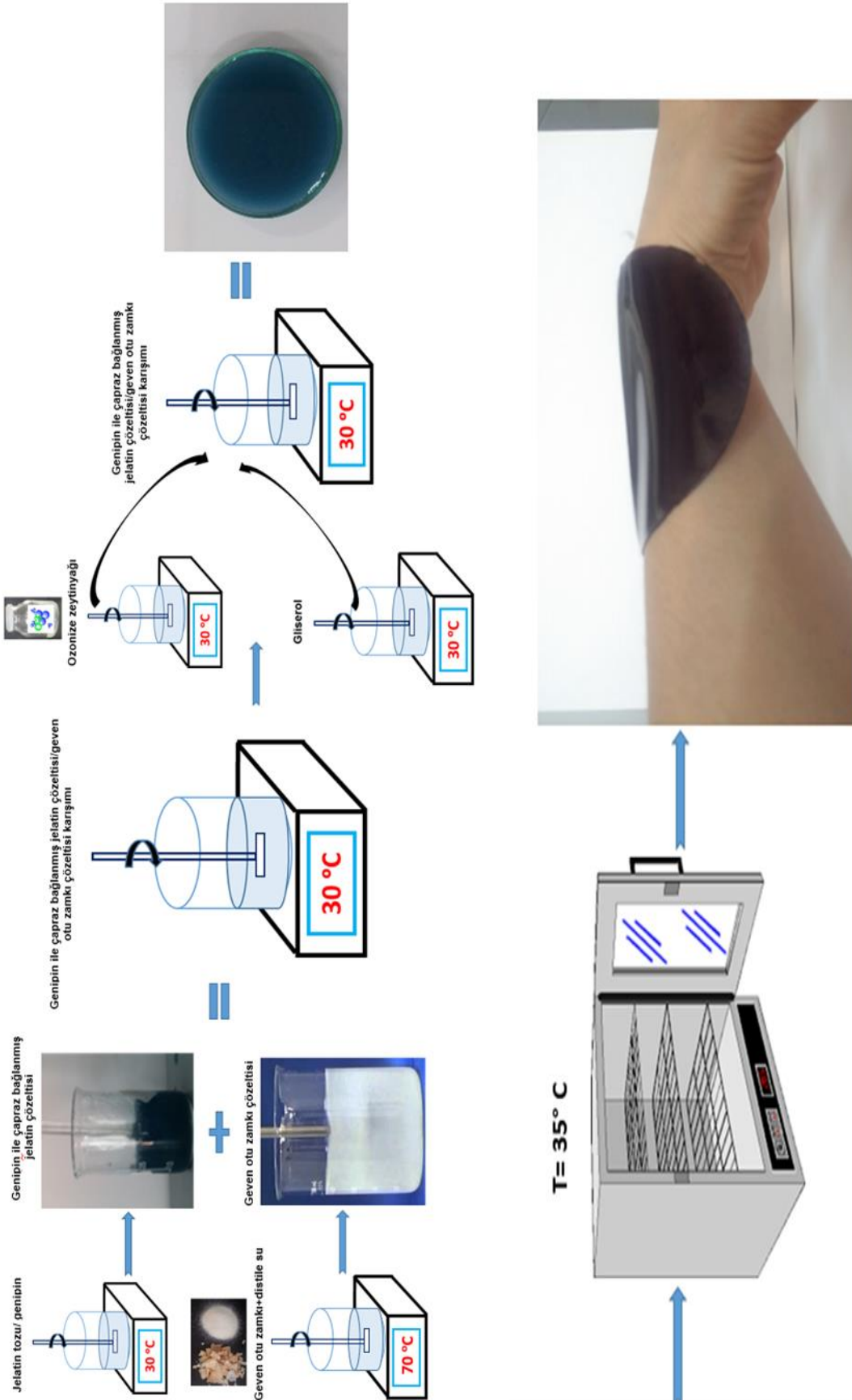
Şekil 3.3 Yara örtü filmlerin hazırlanmasına yönelik akış şeması

3.2.3. Çapraz Bağlama Ajan Kullanılarak Yara Örtüsü Filmlerin Hazırlanması

Çalışmada hazırlanacak çapraz bağlı yara örtü filmleri için kullanılacak en uygun kitre, jelatin, ozonize zeytinyağı, gliserol ve genipin konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla konsantrasyonlar sırasıyla %2-4 (w/v), % 0.3-2 (w/v), %1-7 (v/v) ve %0.0185-0.15 (v/v) aralıklarında değiştirilmiştir.

Çizelge E2-(1-5)' de (EK-2) çalışmada hazırlanan filmlerin bileşen oranları ve bu filmlere verilen kod adları; Şekil 3.4' de ise kitre, jelatin, gliserol, genipin ve ozonize zeytinyağı içeren GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneğinin hazırlanmasına yönelik örnek akış diyagramı verilmiştir.

Çapraz bağlama ajanı kullanılarak hazırlanan GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneği için ön denemeler ile belirlenen belirlenen en uygun bileşen konsantrasyonları; kitre (%2 (w/v)), jelatin (%0.6 (w/v)), ozonize zeytinyağı (%3.5 (v/v)), gliserol (%3.5 (v/v) ve genipin (% 0.018 (v/v), (%60 etanol içerisinde ağırlıkça %2) olarak belirlenmiştir. Hazırlanan jelatin çözeltisine, ürün içerisinde son konsantrasyon %0.018 (v/v) olacak şekilde genipin eklenmiştir. Jelatin ve genipin içeren çözelti 50 °C' de yarım saat süresince üstü kapalı bir beherde karıştırılmış ve çapraz bağlama reaksiyonu ilerledikçe çözeltinin koyu mavi renk aldığı görülmüştür. 70 °C' de jel haline gelen kitre çözeltisine, koyu mavi renk alan jelatin çözeltisi eklenerek 30 °C' de karıştırmaya devam edilmiştir. Çözelti içerisine sırasıyla %3.5 (v/v) oranında ozonize zeytinyağı ve gliserol eklenerek oluşan jel cam petri kabına dökülmüştür. Oda sıcaklığında yaklaşık 3 saat bekletilen çözelti film oluşumu için 35 °C' de ki etüvde yaklaşık 3 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.4. Çapraz bağlama yapılan yara örtü filmlerin hazırlanmasına yönelik akış diyagramı

3.3. Yara Örtü Filmlerin ve Ozonize Zeytinyağının Karakterizasyonu

Hazırlanan yara örtü filmlerin ve sentezlenen ozonize zeytinyağının karakterize edilmesi için gerçekleştirilen analizler aşağıda ayrıntılı bir biçimde anlatılmıştır.

3.3.1. Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (FT-IR)

Çalışmada FT-IR analizleri, Thermo Scientific marka ve NICOLET 6700 model FT-IR cihazı yapılmıştır.

3.3.2. Termal Gravimetrik Analizler (TGA)

Yara örtüsü filmlerin termal gravimetrik analizleri, EXTAR6000 marka ve TG/DTA6300 model TGA cihazı kullanılarak azot ortamında 10 °C/dak. ısıtma hızı ile 25 - 400 °C sıcaklık aralıklarında gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (H-NMR)

Ozonize zeytinyağı için yapı analizi çözücü olarak döteryumlanmış kloroform kullanılarak Bruker marka (250 MHz) cihazda gerçekleştirilmiştir.

3.3.4. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi (GC-MS)

Ozonize zeytinyağı için yapı analizinde Agilent 6890N Network GC System (Agilent Technologies, USA) kullanılmıştır. Kromatografik çalışma Agilent 19091S-433 model kolonda split metot (1/50) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1.0 ml/dak. akış hızında helyum kullanılmıştır. Analizler sıcaklık 35°C' den 20 °C/ dak. artış hızıyla 270 °C' ye yükseltilip bu sıcaklıkta 20 dakika beklenerek gerçekleştirilmiştir.

3.3.5. Peroksit Sayısı Tayini

3.3.5.1. Ozonize Zeytinyağında Peroksit Sayısı Tayini

Ozonize zeytinyağların peroksit sayısının tayini bu tez kapsamında standard iyodimetrik metod reaksiyon süresi modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir [114, 116]. Buna göre; oda sıcaklığında sıvı hale getirilen numuneler 0.5 gr olacak şekilde erlenmayer içinde tartılmış ve üzerine 10 ml kloroform ilave edilerek yağın hızlı çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmüş örnek içine eklenen 15 ml asetik asit ve 0.5 ml doymuş KI çözeltisi ile sarı bir renk alan numune 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda numuneye 30 ml saf su, 1 ml %1'lik (w/v) nişasta çözeltisi eklenerek 0.01 N ayarlı sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir. Aynı prosedür sahit deneme olan saf zeytinyağı için de tekrarlanmış ve ozonize zeytinyağı ve saf zeytinyağı için peroksit sayısı Eşitlik (3.1) yardımıyla hesaplanmıştır.

$$PV = \frac{(V - V_0) * 1000 * c}{m} \quad (3.1)$$

V= Titrasyonda harcanan 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi, (ml)

V₀= Şahit denemede harcanan 0,01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi, (ml)

c= Sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi, (mol/L)

m= Alınan numunenin ağırlığı, (g)

3.3.5.2. Yara Örtü Filmlerinde Peroksit Sayısı Tayini

Yara örtü filmlerinde peroksit sayısı tayininde standard iyodimetrik metod bu çalışmaya özgü modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Buna göre ilk olarak yara örtü film örnekleri 10 ml kloroform içerisinde 15 dakika boyunca bekletilerek yapılarında bulunan ozonize zeytinyağının çözücü içerisinde ekstraksiyonu sağlanmıştır. Daha sonra Bölüm (3.3.5.1)' de anlatılan metot kullanılarak yara örtü filmlerin de peroksit sayısı belirlenmiştir.

3.3.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Çalışma kapsamında hazırlanan yara örtü film örneklerinin yüzey ve kesit alan özellikleri taramalı elektron mikroskobu (QUANTA 400F Field Emission) kullanılarak incelenmiştir. Filmler sıvı azot ile kırılarak kesit alan ölçümüne hazır hale getirilmiştir. Yüzey ve kesit alan film numuneleri analizden önce vakum altında altın ile kaplanmıştır.

3.3.7. Jelatin Model ile Yara Taklit Çalışması

Yara örtü filmlerin orta ve yüksek eksudalı yara üzerindeki genişleme davranışlarının belirlenebilmesi amacıyla jelatin ortam modeli kullanılmıştır [36, 172]. Bu amaçla 100 ml hacminde %0.9 izotonik sodyum klorür çözeltisi (serum çözeltisi) içinde %4' lük (w/v) jelatin çözeltisi hazırlanmış ve 60 °C' de 15 dakika boyunca karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Jelatin çözeltisi içerisinde yara yüzeyini görsel olarak taklit edebilmek amacıyla kırmızı gıda boyası eklenmiştir. Jelatin çözeltisi iki ayrı 8 cm çaplı petri kaplarına eşit hacimde dökülmüş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında ağzı kapalı olarak bekletilmiştir. Yara örtü filmlerinden kesilen 3 cm çapındaki diskler jelatin yüzey üzerine yerleştirilmiştir. Diskler petri kaplarının ağzı kapatılarak oda sıcaklığında jelatin yüzeyinde 24 saat boyunca bekletilmiştir. Yara örtü filmlerinden kesilen disklerin çaplarındaki

değişimler belirli zaman aralıklarında kaydedilmiş ve Eşitlik (3.2) ile genleşme oranları hesaplanmıştır.

$$\text{Genleşme Oranı} = \frac{D_t}{D_0} \quad (3.2)$$

D_0 = Film disk çapı, $t=0$,cm

D_t =Film disk çapı, $t=t$, cm

3.3.8. Yara Yüzeyi Taklit Çalışmaları

Yara yüzeyi taklit çalışmalarında yara örtü filmlerinden kesilen parçaların serum çözeltisi içerisinde 30 dakika boyunca bekletilerek şişmeleri sağlanmış ve daha sonra şişen parçalar et yüzeylerine yerleştirilerek et-film ara yüzeyleri fotoğraflanmıştır.

3.3.9. Yara Örtüsü Filmlerin Şişme ve Parçalanma Testi

Yara örtüsü filmlerin şişme testi analizleri için filmlerden 1.5 cm çapında kesilen diskler 100 mikron naylon filtre bezi (tea bag) içine yerleştirilerek 5 ml serum çözeltisine içerisinde daldırılmış ve 37 °C' de farklı zaman aralıklarında ağırlıklarındaki değişiklik kaydedilmiştir [173]. Kesilen disklerin ağırlıkları sabit bir değere ulaşana dek tartımlara devam edilmiştir. Hazırlanan yara örtü örneklerinin belirlenen zaman periyotları sonundaki % şişme değerleri Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%S = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3.4)$$

% S: % şişme değeri

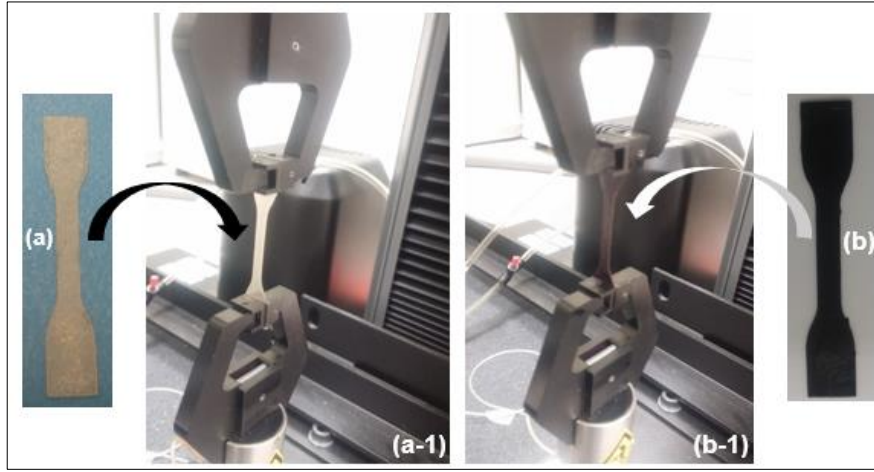
W_0 : Başlangıç anındaki kuru disk kütlesi, gr

W_t : t süre sonra şişmiş diskin kütlesi, gr

3.3.10. Mekanik Test

Yara örtü filmlerin gerilme kuvvetleri ve % uzama değerleri INSTRON 5969MTS model mikro mekanik test cihazında (Şekil 3.5-b) yapılan çekme deneyleri ile belirlenmiştir. Yara örtü filmleri ISO 37 Type 3 (Şekil 3.5-a) normuna uygun olarak kalıp makinası ile kesilmiştir. Çekme cihazı birbirine göre aşağı ve yukarı hareket edebilen deney parçasının bağlandığı iki çene ve bunlara hareket veya kuvvet veren bu iki büyüklüğü ölçen ünitelerden oluşmaktadır. Çenelerden birisi sabit

hızda hareket ettirilerek çekme numunesine sürekli olarak artan çekme kuvveti uygulanmıştır. Kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı mekanik test cihazına bağlı bilgisayar programı yardımıyla hesaplanmıştır. Kopma anında örneğe uygulanan kuvvetin örneğin başlangıçtaki kesit alanına bölünmesiyle gerilim (N/mm²), örneğin boyundaki değişimin başlangıçtaki boyuna oranlanmasıyla da uzama yüzdesi hesaplanmıştır. 10 N' luk hücre yükü kullanılarak gerçekleştirilen çekme testinde film numune boyu 25 mm ve genişlik ise 4.2 mm'dir. Hazırlanan filmlerin uzama ve gerilme özellikleri 5 mm/ dak. çekme hızı kullanılarak 3 tekrarlı olarak test edilmiştir.



Şekil 3.5. a) ISO 37 Type 3 normuna uygun kesilen yara örtü numunesi **b)** Yara örtü filmlerin çekme testi analiz görüntüsü

3.4. Antibakteriyel Etkinlik Testi ve İn-Vitro Sitotoksitite Analizleri

3.4.1. Antibakteriyel Etkinlik Testi

Çalışmada hazırlanan yara örtü film örneklerinin ve ozonize zeytinyağının gram (-) *E. coli* (ATCC 25922), *P. auregonisa* (klinik izolat) ve gram (+) *S. aureus* (ATCC 29213), bakterilerine karşı antibakteriyel etkileri "Disk Difüzyon" testi kullanarak belirlenmiştir. Ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivite çalışmaları için Whatman kağıdından (No:1) 6 mm çapında kesilen disklerle 20 µl örnek emdirilmiştir. Yara örtü film örneklerinin antimikrobiyal testleri için filmlerden 6 mm çapında diskler kesilmiştir. Taze kültürden öze ile alınan mikroorganizmalar sıvı besi ortamında 10⁸ CFU/ml mikroorganizma yoğunluğuna oluşana kadar inkübe edilerek agar katı besi yüzeyine ekimi yapılmıştır. Ozonize zeytinyağı emdirilmiş steril diskler ile yara örtü filmlerinden kesilen diskler de ekim yapılan petrilere yerleştirilmiştir. Petriler kapakları alta gelecek şekilde 35±2 °C'de 24 saat inkübe

edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçülerek inhibisyon değerlendirilmiştir.

3.4.2. In-Vitro Sitotoksitite Testi

Çalışmada hazırlanan ozonize zeytinyağı ile yara örtü filmlerinin biyuuyumluluğunun belirlenebilmesi için yağ ve filmlere in vitro sitotoksitite testi uygulanmıştır.

3.4.2.1. Ozonize Zeytinyağı Ürünlerin In-Vitro Sitotoksitite Testi

Çalışmada L929 hücreleri kullanılarak, ozonize zeytinyağı ve sırasıyla zeytinyağı ve gliserol ile seyreltilmiş örneklerin in vitro sitotoksitite analizleri yapılmıştır. L929 hücreleri, %10 Fetal Bovine Serum (FBS, Biochrom, Germany) %1 Penisilin-Streptomisin (Biochrom, Germany) ve %1 L-Glutamin (Biochrom, Germany) içeren Dulbecco's Modified Eagle's medium-F12 (DMEM-F12) (Biochrom, Germany) besi ortamı içerisinde, 37 °C' de %95 hava ve %5 CO₂ içeren nemli inkübatörde, 96 kuyulu kültür kabında, 2x10⁴ hücre/ml yoğunluğunda 24 saat süreyle kültüre edilmiştir. Analiz edilecek ürünler farklı hacimlerdeki %1 (v/v) DMSO içinde çözülmüştür. %1 (v/v) DMSO içinde çözünen farklı dilüsyonlardaki ozonize zeytinyağı örneklerinden içeren herbir karışımdan 0.2-75 µl aralığında 11 adet numune alınarak 200 mikrolitre besi ortamına ekim yapılmış ve kültür kabı 37 °C' de 24 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda dilüsyonlara ve kontrole ait hücre yapıları mikroskop ile incelenerek fotoğraflanmıştır.

Çalışmada ozonize zeytinyağı ve sırasıyla zeytinyağı ve gliserol ile seyreltilmiş örneklerin kantitatif olarak hücre canlılığı üzerinde etkilerini belirlemek amacıyla MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid) yöntemi kullanılarak in vitro-sitotoksitite testi yapılmıştır. Yöntemde L929 hücreleri kültüre edildikten sonra %1 (v/v) DMSO içinde çözünen farklı dilüsyonlarda kontrol grubundan (zeytinyağı, gliserol) ve ozonize zeytinyağı örneklerini içeren dilüsyonlardan 5, 25, 75 µl numune alınarak 200 mikrolitre besi ortamına ekim yapılmış ve kültür kabı 37 °C' de 24 saat bekletilmiştir. 96'lık plak kuyucuklarında bulunan ortam ve hücre karışımı üzerine, hazırlanmış MTT solüsyonundan 200 µl ilave edililerek 3 saat 37 °C'de ve % 5 CO₂ koşulunda karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda MTT-Besi ortamı çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Her kuyucuğa 100 µL izopropil alkol eklendikten sonra inkübasyonu yapılan hücrelerin, mikroplak

okuyucu spektrofotometre cihazı ile (BİOTEK, µQuant) 570 nm absorban değerinde 24 ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda ölçümleri yapıldı.

3.4.2. Yara Örtüsü Filmlerin İn-Vitro Sitotoksitite Testi

Yara örtü filmlerinin in-vitro sitotoksitite çalışmaları L929 hücreleri ile “ekstrat yöntemi (elution)” kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hücre canlılığının değerlendirilmesi için farklı yara örtü filmlerden 1.2 cm çapında diskler kesilmiş ve farklı hacimlerdeki (10,15 20 ml) serum çözeltilerinde farklı sürelerde 37 °C’de bekletilmiştir. Belirlenen sürelerin sonunda film ekstraları 0.22 µm filtrelerden geçirilerek sterillenmiştir. Strerillenen çözeltilerden 5-75 µl olarak hacim aralığında alınan 5 numune 200 mikrolitre besi ortamına eklenmiş ve kültür kabı 37 °C’de 24 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda filmlere ve kontrole ait hücre yapıları mikroskop ile incelenerek fotoğraflanmıştır.

Çalışmada ozonize zeytinyağı içeren yara örtü filmlerin kantitatif olarak hücre canlılığı üzerinde etkisini belirlemek amacıyla MTT yöntemi kullanılarak in vitro sitotoksitite testi yapılmıştır. L929 hücreleri kütüre edildikten sonra kontrol grubu (serum çözeltilisi) ve 5,10 ml serum çözeltilisinde 24 saat bekletilen film ekstralarından 5-75 µl olarak hacim aralığında numune alınarak 200 mikrolitre besi ortamına ekim yapılmış ve kültür kabı 37 °C’de 24 saat bekletilmiştir. Bölüm 3.4.2.1’ bahsedilen MTT prosedürü izlenerek 24 ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda ölçümler yapılmıştır.

4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu bölümde; sentezlenen ozonize zeytinyağı ve hazırlanan yara örtü filmlerinin fiziksel-kimyasal karakterizasyonları ve antimikrobiyal özellikleri ile L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar sunulmuş ve bu sonuçlar literatür ışığında tartışılmıştır.

4.1. Ön Çalışmalar

4.1.1. Uygun Bileşen Konsantrasyonuna Sahip Yara Örtü Filmlerin Hazırlaması

Çalışmada farklı deney sistemi tasarımlarıyla bileşen konsantrasyonları (kitre, ozonize zeytinyağı, gliserol, jelatin, genipin), ortam parametreleri ve kullanılacak yöntemler belirlenerek standartlara uygunluğu test edilmiş ve literatürde özgün değeri olan yeni yara örtü filmleri hazırlanmıştır.

4.1.1.1. Uygun Kitre Konsantrasyonunun Belirlenmesi

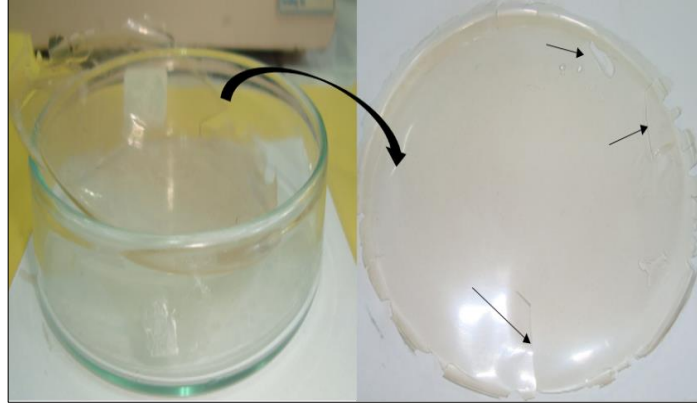
Çalışmada kitre bazlı yara örtü filmlerin hazırlanmasında en uygun kitre konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla, konsantrasyon %1-4 (w/v) aralığında olacak şekilde değiştirilmiştir. Buna göre; %1-2 (w/v) konsantrasyon aralığında hazırlanan kitre kullanılarak hazırlanan filmlerde ozonize zeytinyağının yapı içerisine alınmadığı görülmüştür. %2-4 (w/v) kitre kullanıldığında ise çözeltilerde ise, suda tam olarak çözünmenin gerçekleşemediği ve bunun sonucunda oluşan jel içerisinde yer yer topaklanmaların olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca %2-4 (w/v) konsantrasyon aralığında kitre kullanılarak hazırlanan yara örtü filmlerinin kurutma işleminden sonra homojen bir yapıda olmadıkları da görülmüştür.

Buna göre; çalışmada kitre için %2 (w/v) olarak belirlenen konsantrasyonun suda tam olarak çözünmenin gerçekleştiği, petri kaplarına dökümün kolay olduğu ve sonuçta homojen görüntüde filmlerin hazırlandığı en uygun ve en yüksek konsantrasyon olduğuna karar verilmiştir.

4.1.1.2. Uygun Gliserol Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Plastikleştirici ajan olarak kullanılan gliserol için en uygun konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla gliserol konsantrasyonu %0.5-%8 (v/v) aralığında değiştirilerek yara örtü filmleri hazırlanmıştır. Çalışmada plastikleştirici ajan kullanılmadan sadece kitre ile hazırlanan yara örtü filmlerinin elastikiyetlerinin az, sert ve kırılğan yapıda oldukları görülmüştür (Şekil 4.1). Ayrıca filmlerin kuruma

esnasında yüzeylerinin çatladığı ve döküm sırasında petri kaplarına yapıştıkları da tespit edilmiştir. Yüksek gliserol konsantrasyon aralığında (%4-8 (v/v)) hazırlanan filmler petri kaplarına döküldüğünde üzerlerinde yağ damlacıklarının oluştuğu ve kap içinden kolay sıyrılmalarına rağmen elastik olan yapıları ve mekanik dayanımlarının az olması nedeniyle yer yer yırtılmaların meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.2). Çalışmada sadece kitre kullanılarak hazırlanan yara örtü filmleri için belirlenen en uygun gliserol konsantrasyon aralığının %2-4 (v/v) olduğu tespit edilmiştir.



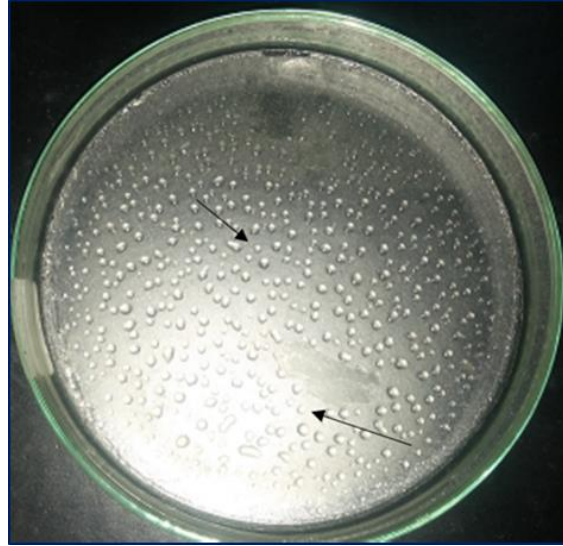
Şekil 4.1 Plastikleştirici ajan içermeyen yara örtü film görüntüsü



Şekil 4.2. Yüksek gliserol konsantrasyonu aralığında (% 4-8 v/v) hazırlanan yara örtü filmi görüntüsü

4.1.1.3. Uygun Ozonize Zeytinyağı Konsantrasyonu

Çalışmada plastikleştirici ajan içermeyen sadece kitre ve ozonize zeytinyağı kullanılarak hazırlanan yara örtü filmlerinin üst yüzeylerinin yağ tabakası ile kaplanmış ve elastik olmayan bir yapıda oldukları görülmüştür. Bu nedenle çalışmalarda en uygun ozonize zeytinyağı konsantrasyonun belirlenmesinde ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) oranı göz önünde bulundurularak yara örtü filmleri hazırlanmıştır. Ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) oranı 1'den yüksek olduğunda ozonize zeytinyağının yara örtü film içerisinde homojen dağılamadığı ve film üzerinde yağ birikiminin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Maızura ve arkadaşlarının [173] lemongrass yağı içerikli aljinat ve nişasta bazlı yenilenebilir filmlerin antibakteriyel ve mekanik özelliklerini inceledikleri çalışmada, film içerisinde gliserol oranının artmasıyla lemongrass yağının matriks yapı içerisinde homojen bir şekilde dağıldığı antimikrobiyal test sonuçlarında artan zon çapı ile tespit edilmiştir. Kitrenin aynı zamanda sahip olduğu yüksek yüzey aktif özelliği sayesinde yağ/su arasında oluşan ara yüzeyi absorbe ederek yüzey gerilimini düşürdüğü ve böylece hazırlanan karışımlarda iyi bir emülsifiye edici özellik gösterdiği bilinmektedir. Kitrenin emülsifiye edici özelliği, yapısında düşük oranda bulunan protein içeriği (<%4 (w/w)) ile ilişkilendirilmektedir [174]. Sonuç olarak çalışmalarda ozonize zeytinyağının kitre çözeltisi içerisinde homojen dağılımını sağlayabilmek için herhangi bir surfaktant kullanımına ihtiyaç duyulmamıştır. Ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) oranının ≤ 1 olduğu durumlarda ozonize zeytinyağının hazırlanan film yapısı içerisinde iyi bir şekilde dağıldığı düşünülmektedir.



Şekil 4.3. Ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) >1 olduğu yara örtü filmine ait görüntü

4.1.1.4. Fiziksel Yolla Çapraz Bağlanmış Filmlerin Sentez Yöntemi

Çalışmada %2 (w/v) kitre ve değişen konsantrasyonlarda ozonize zeytinyağı/gliserol içeren filmlerin; mekanik, şişme, parçalanma ve jelatin yara modeli üzerinde genişleme gibi fiziksel özelliklerinin artırılabilmesi için fiziksel yolla çapraz bağlanma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla hazırlanan yara örtü filmlerinden kesilen diskler kesilerek serum çözeltisi içine atılmış ve örneklerin parçalanma süreleri dikkate alınarak fiziksel yolla yapılan çapraz bağlanmanın filmler üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Fiziksel yolla çapraz bağlanma, polimerlerin bazı moleküller arası kuvvetler (dispersiyon) , kalıcı dipoller, hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler sonucu biraraya gelmesi ile meydana gelmektedir [175].

Çalışmada hazırlanan filmlerde kullanılacak bağlanma ajanlarının doğal içerikli olmalarına dikkat edilmiştir. Doğal biyopolimerler olarak seçilen sodyum aljinat, karboksimetilselüloz ve jelatin çözeltileri ile kitre çözeltisi ile bir araya getirilerek oluşan hidrojen bağları ile fiziksel yolla çapraz bağlı filmler hazırlanmıştır. Hidrojen bağları ile gerçekleşen fiziksel bağlanma ile iki veya daha fazla doğal polimerin bir araya getirilebilmektedir. Jelatin/agar, nişasta/karboksimetilselüloz, hiyaluronik asit/metil sellüloze gibi polimer karışımları hidrojen bağları ile fiziksel yolla bağlanmış jel tipi yapılara örnek verilebilir [176, 177]. Hidrojen bağlı ağ yapılarının en önemli dezavantajı su ve sulu çözeltiler içerisinde kısa sürede parçalanmalarıdır [178]. Çalışmada değişen oranlarda karboksimetil selüloz/kitre

zamkı, aljinat/kitre ve jelatin/kitre (w/w) biyopolimer karışımlarının kullanılmasının hazırlanan filmlerin fiziksel özelliklerini değiştirmediği tespit edilmiştir. Biyopolimer karışımları ile hazırlanan filmlerin serum sıvısı içerinde parçalanma sürelerinin sadece kitre ile hazırlanan filmler ile aynı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada değişen oranlarda sodyum aljinat/kitre (w/w) içeren filmler hazırlanarak, %5 (w/v) CaCl₂ özeltisi içerine daldırma veya %5 (w/v) CaCl₂ ekleme yöntemleriyle iyonik etkileşim sonucu fiziksel çapraz bağlı filmler hazırlanmıştır. Fakat bu yöntemle homojen yapıda filmler hazırlanamamıştır.

Kiani ve arkadaşları [149] kitreyi sırasıyla gliserol ve etilen glikol ile çapraz bağlayarak hidrojel filmler hazırlamışlardır. Farklı konsantrasyonlarda çapraz bağlama ajanı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresinin hidrojel filmlerin şişme özelliğine etkisi incelenmiştir. Yapılan bu çalışmadaki metot izlenerek; yüksek sıcaklıkta (85-95 C) ve 2-3 saat aralığında reaksiyon sresinde kitre zankı çözeltisi ile çapraz bağlı filmler sentezlenmeye çalışılmıştır. Bu metotla sentezlenen filmlerin de serum sıvısı içerisindeki parçalanma sürelerinin sadece kitre zankı ile hazırlanan filmler ile aynı olduğu tespit edilmiştir.

4.1.1.5. Kimyasal Yolla apraz Bağlanmış Filmlerin Hazırlanması

Kitre bazlı yara örtüsü filmlerin kimyasal yolla çapraz bağlanması doğal ve bitkisel kaynaklı bir ajan olan genipin kullanılarak yapılmıştır. Genipin polimer yapılarındaki amino grupları ile reaksiyona girerek çapraz bağlanma reaksiyonunu gerçekleştirmektedir. Çalışmada ilk olarak kitre zankı ile genipin biraraya getirilerek filmler hazırlanmıştır. Fakat kitre içerisinde %4 (w/w)' n altında eser miktarda amino grubu içermesi nedeniyle genipin ile çapraz bağlanmış filmler hazırlanamamıştır [144]. Bu nedenle filmler hazırlanırken kitre ile birlikte yapısında amioasit grupları bulunan doğal bir biyopolimer olan sığır jelatini kullanılarak genipinin bu gruplar üzerinden inter ve intra moleküler yolla kimyasal olarak çapraz bağ yapması sağlanmıştir (şekil E.3.1). Çapraz bağlı filmlerin hazırlanmasında jelatinin ve genipinin uygun konsantrasyonun belirlenmesinde sırasıyla %0.3-3 (w/v) ve %0.0185-0.15 (v/v) aralığında kullanılan konsantrasyonlarda kitre zankı esaslı filmler hazırlanarak deneysel çalışmalar yapılmıştır. Saarai ve arkadaşları [175] çalışmalarında aljinat ve jelatin polimer karışımı matriks yapıların mekanik ve termal özelliklerini arttırmak amacıyla genipin ile kimyasal çapraz bağlama yöntemini kullanmışlardır. Çalışmamızda Saarai ve arkadaşlarının kullandıkları

yara örtü film hazırlama metodundan yararlanılarak genipin ile kimyasal bağlı kitre zamkı esaslı filmler hazırlanmıştır.

4.1.1.6. Film Kurutma Sıcaklığı ve Homojen Film Dökümü Optimizasyonu

Çalışmada hazırlanan yara örtü film çözeltilerinin karıştırma esnasında veya petri kaplarına dökülürken hava kabarcıklarının oluştuğu tespit edilmiştir. Jel çözelti içinde oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi homojen yapıda filmler hazırlanması açısından önemlidir. Çalışmada hava kabarcıklarının giderilmesi için, jel çözeltilerin petri kaplarına dökülmesinden sonra 3 saat boyunca petrilerin oda sıcaklığında bekletilmesiyle sağlanmıştır.

Tanyolaç ve arkadaşları ozonize zeytinyağının üretimi esnasında 45°C sıcaklığın üstündeki değerlerde üründe bozulma ve patlama ya da yanma riski oluşabileceğini tespit etmişlerdir [6]. Liu ve arkadaşları [179] kurutma sıcaklığının genipin ile çapraz bağlanmış jelatin filmlerin kimyasal ve fiziksel yapıları üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışma yayınlamışlardır. Çalışmada yapılan SEM, şişme ve mekanik test sonuçları, 25 °C' de kurutulan filmlerin kimyasal ve fiziksel yapılarının, 80 °C ve -20 °C'de kurutulan filmlere göre daha iyi olduğunu göstermiştir. Aguirre-Alvarez ve arkadaşları [180] genipin ile çapraz bağlanmış jelatin filmlerin farklı sıcaklıklarda kurutulmasının filmlerin mekanik özelliklerindeki değişime etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada kurutma sıcaklığının artışıyla jelatin filmlerin kırılma yapılarının arttığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda ozonize zeytinyağının film içinde yapısal olarak bozunmasını önlemek ve filmlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini arttırmak için kurutma sıcaklığı 35 °C olarak belirlenmiştir.

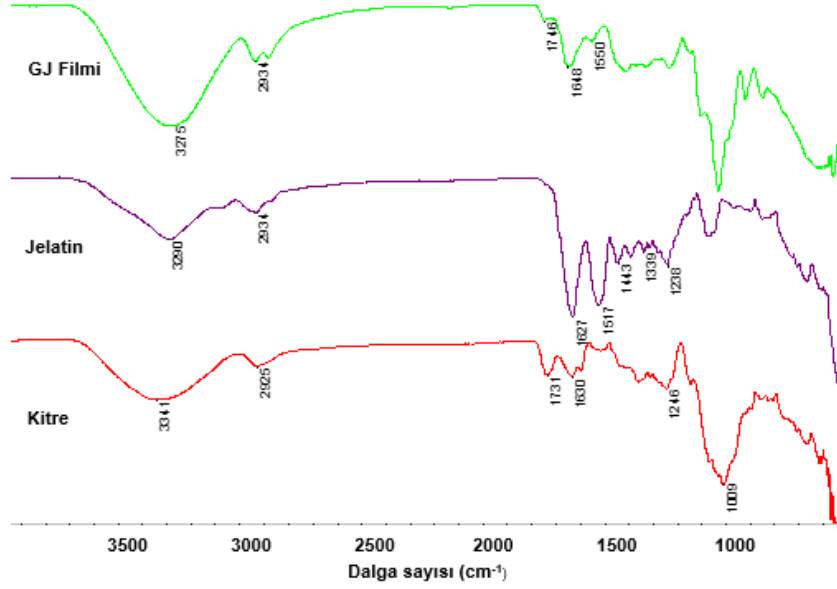
4.2. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi Analizi

Hazırlanan yara örtü filmlerin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılması ve sentez parametrelerinin yapıya olan etkisinin belirlenebilmesi amacıyla Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (FTIR) kullanılarak yapısal karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.4' de sırası ile kitre, jelatin ve GJ (kitre/jelatin/gliserol) kodlu filme ait FT-IR spektrumları gösterilmiştir. Kitre için alınan spektrumda 3341 cm⁻¹' deki geniş band O-H gruplarının esneme titreşimlerini göstermektedir. Aynı spektrumda 2925 cm⁻¹' deki pik kitrenin yapısında bulunan -CH₃, 1731 ve 1630 cm⁻¹' deki pikler ise -COO⁻ gruplara ait

karakteristik pikleri göstermektedir. Yapıda bulunan karboksilik asit ($-\text{COO}^-$) grupları d-galakturonik asitin varlığını işaret etmektedir [140, 141, 149, 181].

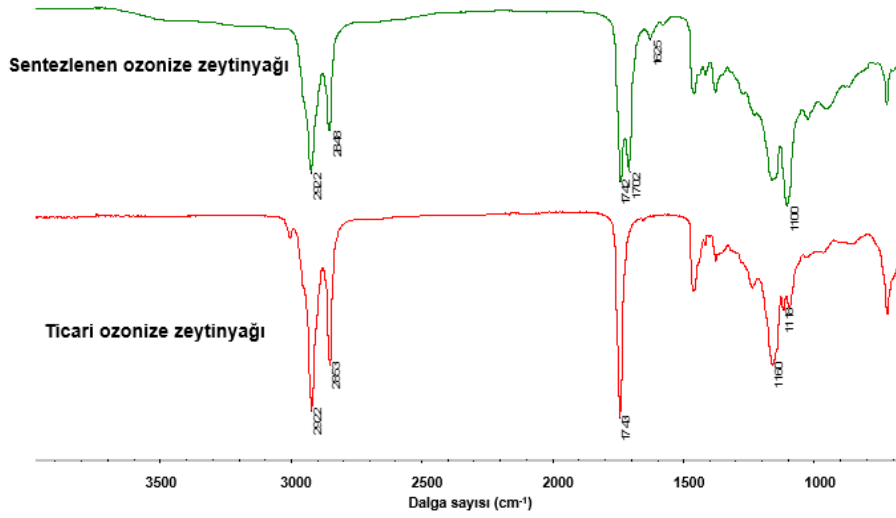
Şekil 4.4' de jelatin tozu için alınan FT-IR spektrumunda gözlenen, 3290 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı O-H, N-H ve molekül içi hidrojen bağlarının (O-H) gerilme titreşimlerini göstermektedir. 1627 ve 1515 cm^{-1} deki absorpsiyon bantları sırasıyla amid I (C=O ve C-N) ve amid II (N-H) gerilim titreşimlerine aittir. Aynı spektrumda 2934 cm^{-1} deki pik C-H bağlarındaki gerilmeyi göstermektedir. 1339 ile 1443 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bandları ise jelatinin sahip olduğu heliks yapının varlığına bağlı olarak ortaya çıkan bantları göstermektedir. [182, 183].

Şekil 4.4' de %2 (w/v) kitre, % 0.6 (w/v) jelatin ve gliserol ile hazırlanan JG kodlu filmi için alınan FT-IR spektrumunda gözlenen 3275 cm^{-1} deki band O-H gruplarının esneme titreşimlerine aittir. Spektrumda kitre ve jelatin tozuna ait 3334 ve 3290 cm^{-1} de gözlenen piklerin JG kodlu filmde 3275 cm^{-1} 'ye kaydığı görülmektedir. Jelatin tozuna ait amid I ve amid II bandlarına ait piklerin JG filminde sırasıyla 1627 ' den 1648 cm^{-1} 'ye ve 1517 ' den 1550 cm^{-1} 'ye kaydığı ve şiddetlerinin azaldığı görülmektedir. Kitrenin 1731 cm^{-1} 'de karboksilik asit gruplarına ait karakteristik bandının ise JG kodlu yara örtü film spektrumunda bulunmadığı görülmektedir. JG film spektrumunda belirlenen bu değişimlerin kitrede bulunan negatif yüklü karboksilik grupları ($-\text{COOH}$) ile jelatinde bulunan serbest pozitif yüklü gruplar ($-\text{NH}_2$) arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil E3-1). Manna ve arkadaşları [184], karboksimetillenmiş guar zamkı ve jelatin ile hazırladıkları filmler için alınan FTIR spektrumunda görülen pikler ile pik şiddetlerindeki değişikliklerin, film yapısında bulunan $-\text{NH}_2$ ve $-\text{COOH}$ grupları arasındaki kovalent etkileşimler sonucu oluşan amid bağlarından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Benzer etkileşim karboksimetilselüloz/jelatin ile hazırlanan mikropartiküller, bakteriyel sellüloz/jelatin içeren filmler ve kitosan/jelatin ile hazırlanan yapı iskeleleri için de tespit edilmiştir [191, 192]. Buna göre; JG kodlu yara örtü film spektrumunda gözlenen pik dalgalı boylarındaki kaymaların, kitre ile jelatinin karakteristik grupları arasındaki fiziksel etkileşimden kaynaklandığı ve bu durumun her iki biyopolimer arasındaki moleküler uyumun bir göstergesi olduğu ile açıklanabilir.



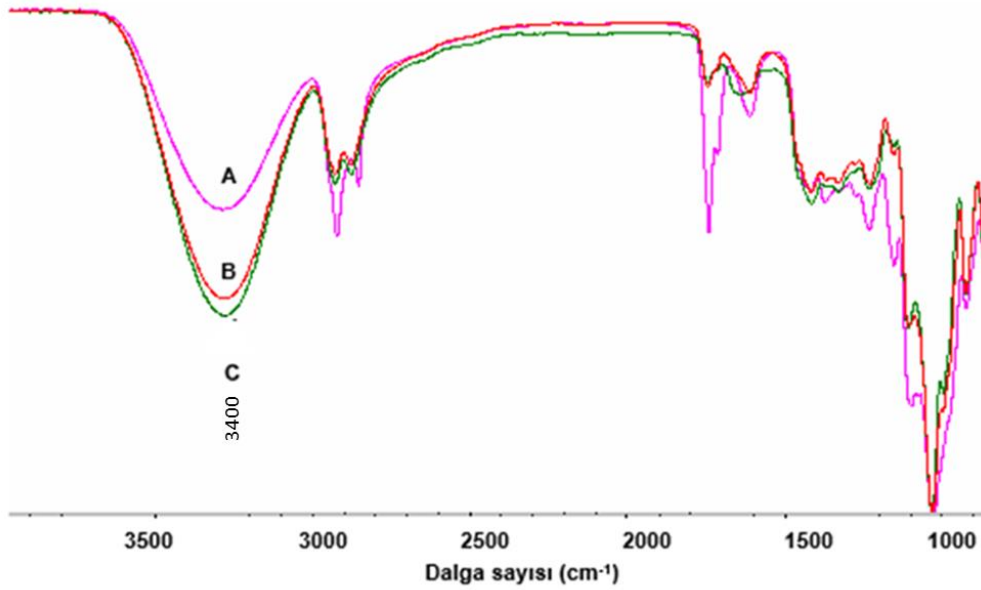
Şekil 4.4. Kitre, jelatin tozu ve JG kodlu yara örtü film örneğine ait FT-IR spektrumları

Şekil 4.5' de sentezlenen ozonize zeytinyağı ve ticari ozonize yağı için alınan FT-IR spektrumları görülmektedir. Literatürde ozonlanmış yağların FT-IR spektrumlarında karakteristik absorpsiyon bantlarının 1654 ve 1740 cm^{-1} 'deki ester grubuna ait karbon çift bağ ($\text{C}=\text{C}$) gerilme bandları ile , 3009 cm^{-1} 'deki ($=\text{C}-\text{H}$) ve 1105 cm^{-1} 'deki ozonid gruplarına ait $\text{C}-\text{O}$ gerilme bantları olduğu rapor edilmiştir [185]. Çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağı için bu pikler 1628, 1740 ve 1104 cm^{-1} de; ticari ozonize yağ için 3007, 1743, 1117 cm^{-1} deki absorpsiyon bandları olarak görülmektedir. Şekil 4.5' de sentezlenen ozonize zeytinyağı için alınan FT-IR spektremunda ise 1742 cm^{-1} de geniş bir absorpsiyon bandı görülürken, ticari ozonize yağ da bu band 1743 cm^{-1} 'de daha keskin bir pik olarak görülmektedir. Literatürde yağların ozonlanma sürelerinin artması ile 1740 cm^{-1} deki metil ester yapıda yer alan karbonil gruplarına ait bandların genişlediği ve 1700 cm^{-1} 'de ise yeni bir pikin oluştuğu bildirilmiştir [186]. Sentezlenen ozonize zeytinyağında 1742 cm^{-1} 'deki geniş bandın yanında 1702 cm^{-1} 'de yeni bir bandın oluştuğu da görülmektedir. Şekil 4.5' de sadece ürünumüzde görülen 1100 cm^{-1} 'deki keskin bandın artan ozonlanma süresi ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür [187]. Yağlarda ozonlanma süresinin artması ile doymamış çift bağ içeren yağ asitleri doymuş hale geçmekte böylece oluşan ozonid/aldehid oranı artarken viskozitesi yüksek, jel kıvamında bir ürün elde edilmektedir [186].



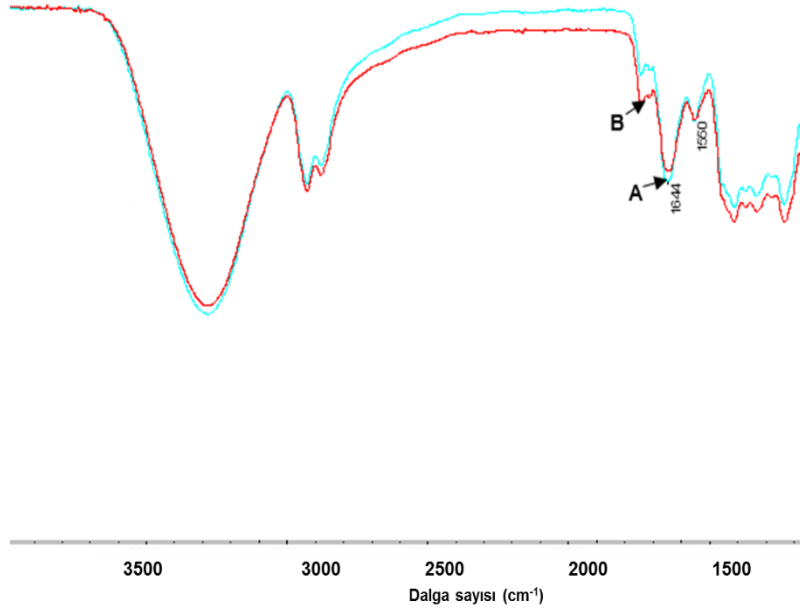
Şekil 4.5. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ve ticari ozonize yağına ait FT-IR spektrumları

Şekil 4.6' da sırasıyla farklı konsantrasyonlarda gliserol ile hazırlanan G-O₁₂, G-O₂₂ ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmleri için alınan FT-IR spektrumları görülmektedir. Spektrumda, gliserol konsantrasyonunun artırılması ile 3000-3500 cm⁻¹ aralığında bulunan O-H gruplarına ait piklerin yoğunluğunun arttığı görülmektedir. Bu durum gliserol ile kitrede bulunan -OH grupları arasında oluşan hidrojen bağlarının sayısındaki artış ile açıklanabilir. Benzer durum Cerqueira ve arkadaşlarının [188] mısır yağı ve gliserol kullanarak hazırladıkları kitosan bazlı filmlerine ait FT-IR spektrumlarında da görülmektedir.

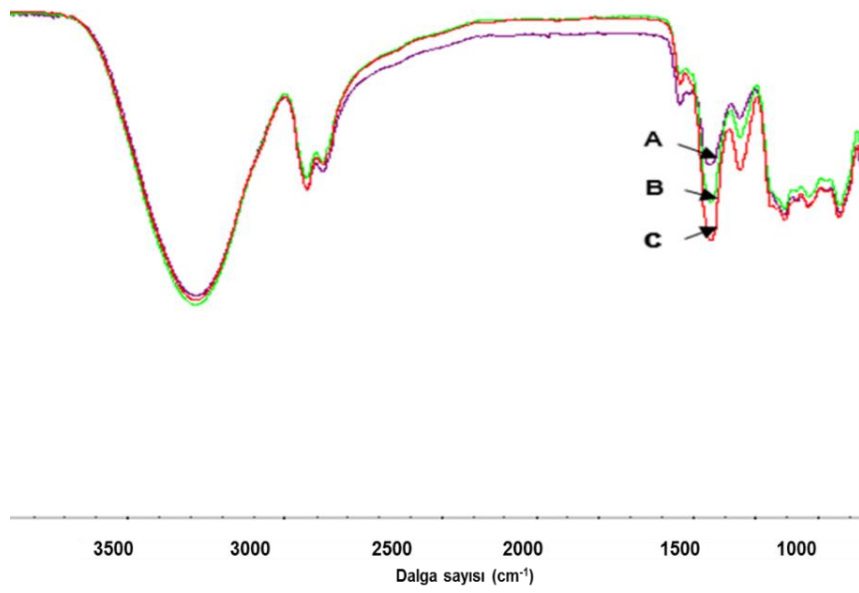


Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlarda gliserol ile hazırlanan A) G-O₁₂, B)G-O₂₂ C)G-O₂₄ kodlu yara örtü filmlerine ait FT-IR spektrumları

Şekil 4.7' de çapraz bağlama ajanı içermeyen GJ-O₂₂ kodlu yara örtü örneği ile genipin ile hazırlanan GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü film örneği için alınan FT-IR spektrumları, Şekil 4.8' de jelatin kullanılarak hazırlanmış GJ₁G-OC₂, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü film örnekleri için alınan FT-IR spektrumları görülmektedir. Şekil 4.7 ve Şekil 4.8' de yer alan spektrumlarda sadece 1630–1640 cm⁻¹ band aralığında oluşan amid I (C=O, C-N) ve 1540–1550 cm⁻¹ aralığında yer alan amid II (N-H) absorpsiyon bantlarına ait pik yoğunluklarının arttığı görülmektedir. Şekil 4.8' de genipinin jelatine bağlanmasıyla ortaya çıkan heterosiklik yapıdaki amid grupları nedeniyle çapraz bağlayıcı ajan içeren yara örtü filmlerinde jelatin konsantrasyonunun artmasıyla amid I ve amid II band yoğunluklarının arttığı görülmektedir. Aynı zamanda amid I bandında görülen artan pik şiddeti jelatine bulunan amino grupları ile genipinde yer alan ester grupları arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu oluşan ikincil amid grubun oluşumu ile de açıklanabilir. Literatürde aljinat/jelatin, kitosan/BSA/jelatin ve kitosan/jelatin polimer karışımlarının genipin ile çapraz bağlanması ile oluşan yapıların FT-IR analizlerinde de benzer sonuçlar rapor edilmiştir [175, 189, 190]



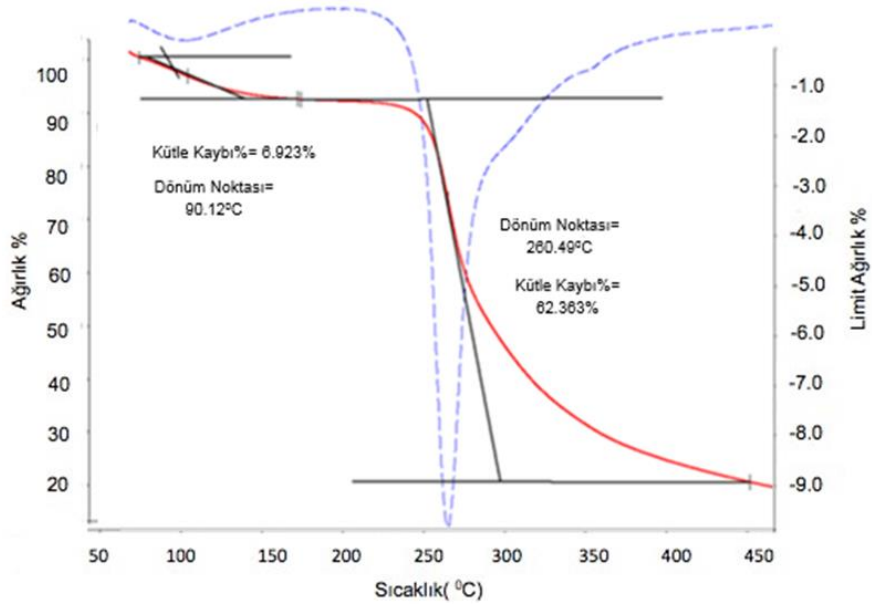
Şekil 4.7. Çapraz bağlama ajanını içermeyen GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği (B) ve çapraz bağlama ajanı içeren (0.074 (v/v)) GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü film örneğine (A) ait FT-IR spektrumları



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda jelatin (%0.6-1.2-2) (w/v) kullanılarak hazırlanan çapraz bağlanmış **A)** GJ₁G-OC₂ **B)** GJ₂G-OC₂ **C)** GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü filmlerine ait FT-IR spektrumları

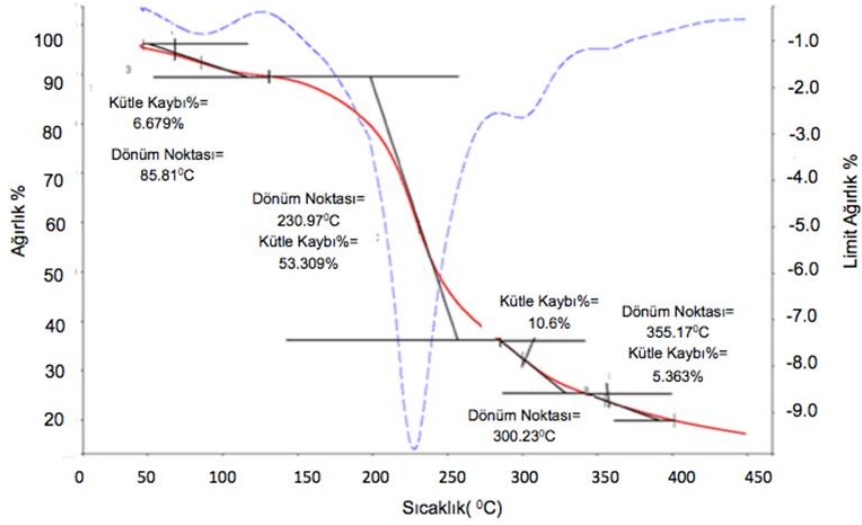
4.3. Termal Gravimetrik Analizler

Şekil 4.9 'da kitreye ait TGA ve DTG (diferansiyel termal gravimetrik analiz) termogramları gösterilmiştir. Kitre zamkının TGA eğrisi diğer birçok biyopolimer gibi iki basamaklı kütle kaybını göstermektedir [191]. Biyopolimerlerin ilk bozunma basamağında suyun buharlaşması ile görülen kütle kaybı yaklaşık %3.68 ile %14.23 arasında gerçekleşmekte ve bu aşamada bir faz geçişi olmaktadır. İkinci kütle kaybı biyopolimerlerin sahip oldukları polisakkaritlerin bozunması ile %45.64 ile %66.07 arasında gerçekleşmekte ve geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleşen bu basamakta hem fiziksel geçiş hem de termal degradasyon gerçekleşmektedir [191]. Çalışmada kitrede suyun buharlaşması ile gerçekleşen kütle kaybı %7 iken ikinci kütle kaybının yaklaşık %63 oranında olduğu görülmektedir. DTG termogramı ise 90 ve 260 °C' de iki endotermik pik içermektedir. Literatürde ise kitre için endotermik pik sıcaklıkları 59 ve 274 °C sıcaklıklar olduğu rapor edilmiştir. Kitre sahip olduğu yüksek endotermik pik sıcaklığı nedeniyle biyopolimerler arasında en yüksek termal kararlılığa sahip bitkisel kaynaklı reçine özelliği taşımaktadır [192].



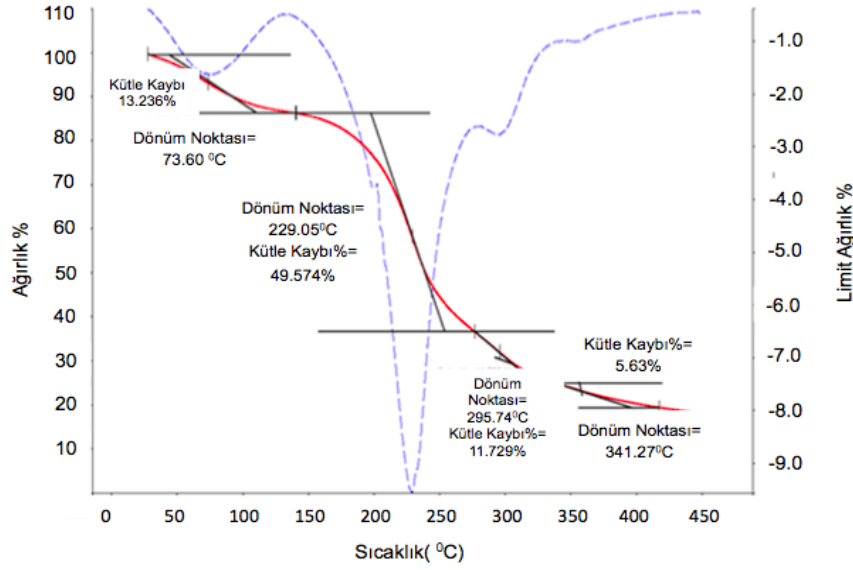
Şekil 4.9. Kitreye ait TGA ve DTG termogramları

Şekil 4.10' de verilen G kodlu yara örtü film örneğine ait TGA eğrisinde 3 adet bozunma basamağı görülmektedir. İlk basamakta suyun buharlaşması ile kütle kaybının %6.7, ikinci basamakta gliserolün etkisiyle oluşan kütle kaybının %53, üçüncü basamakta ise polisakkaritlerin bozunması ile oluşan kütle kaybının %15 olduğu görülmektedir. DTG termogramında endotermik pik sıcaklıklarının sırası ile 85, 230 ve 355 °C olduğu görülmektedir. Benzer durum Martins ve arkadaşlarının [193] k-karragenan ve keçiyoynuzu zamkı kullanarak hazırladıkları yenilebilir film örneklerine ait TGA ve DTG termogramların da görülmektedir.



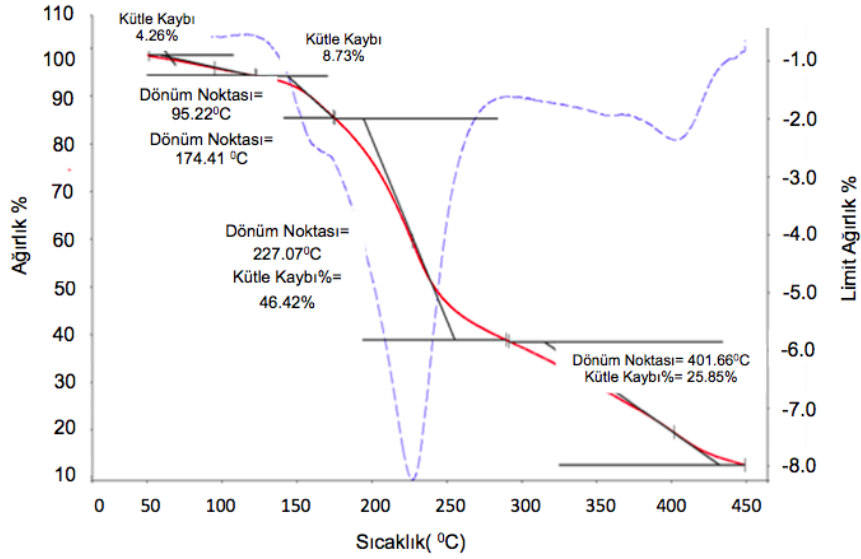
Şekil 4.10. G kodlu yara örtü film örneğine ait TGA ve DTG termogramları

Ozonize zeytinyağı kullanılarak hazırlanan G-O₂₂ kodlu yara örtü filmi örneğinde 4 ayrı bozunma basamağı gözlemlenmiştir (Şekil 4.11). İlk basamakta suyun buharlaşması ile kütle kaybının % 13, ikinci basamakta gliserolün etkisiyle oluşan kütle kaybının %49, üçüncü basamakta polisakkaritlerin bozunması ile oluşan kütle kaybının %11 ve dördüncü basamakta ozonize zeytinyağının etkisiyle oluşan kütle kaybının %5 olduğu görülmektedir. Benzer durum Tongnuanchan ve arkadaşlarının [2] limon, bergamot yağı ve limon yağı kullanarak hazırladıkları balık jelatini bazlı filmlerin TGA sonuçlarında da tespit edilmiştir. G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin termal sıcaklıklardaki değişimler dikkate değer düzeyde olmadığı için ozonize zeytinyağı eklenmesiyle filmlerin termal kararlılığının değişmediği düşünülmektedir.



Şekil 4.11. G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğine ait TGA ve DTG termogramları

Genipin kullanarak hazırlanan GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneğine ait TGA termogramında 4 basamaklı bozunma görülmektedir. Çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği ile karşılaştırıldığında son endotermik pik sıcaklığının genipin eklenmesiyle 341 °C' den 401 °C' ye yükseldiği, TGA eğrisinin ise genişlediği görülmektedir. Bu sonuçlar çapraz bağlayıcı ajan kullanımı ile yara örtü filmlerinin termal stabilitesinin önemli ölçüde arttığının bir kanıtıdır. Benzer durumda Saravanan ve arkadaşları [194] çapraz bağlayıcı ajan olarak glutaraldehyd kullanarak hazırladıkları kitin ve bentonit bazlı filmlerin termal kararlılığının çapraz bağlayıcı ajan içermeyen filmlere göre çok daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir.



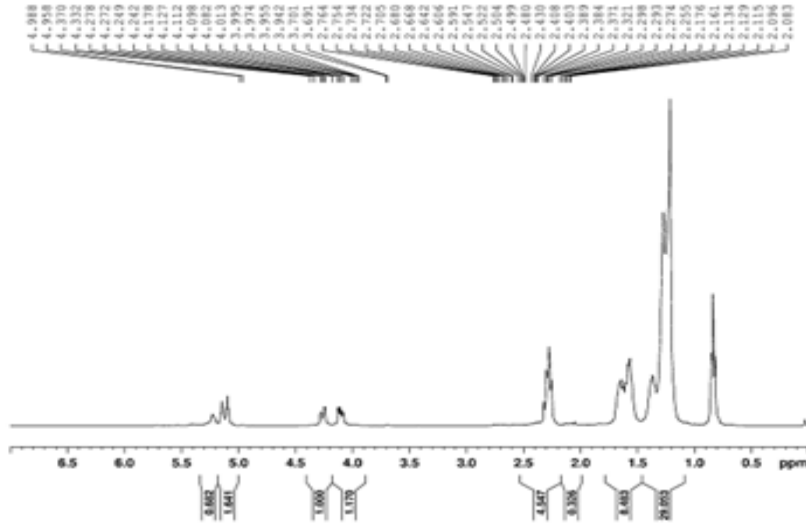
Şekil 4.12. GJ₁G-OC₁ kodlu filmine ait TGA ve DTG termogramları

4.4. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi Analizi

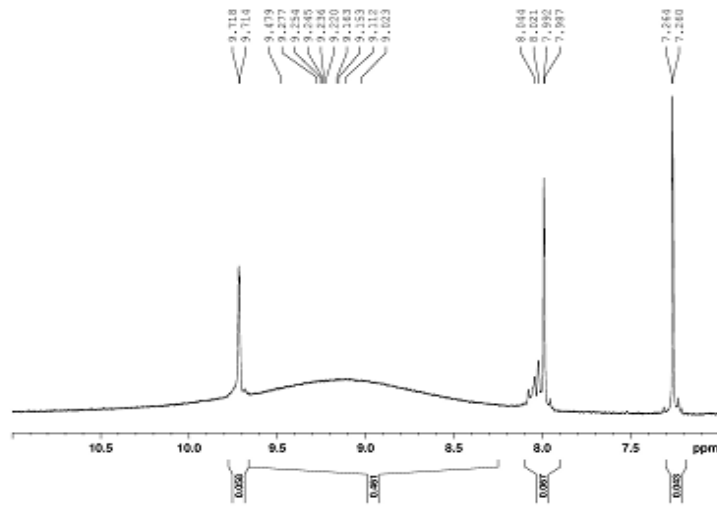
Çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağının karakterizasyonu için alınan ait ¹H-NMR spektrumlarında (Şekil 4.13-14) 9.71 ve 2.5 ppm'deki sinyallerin 1,2,4-trioksolan, aldehit ve α-metilen grubuna ait sinyaller olduğu ve literatürde bu sinyallerin ozonlanmış yağlar için alınan sinyaller (Çizelge 4.1) ile benzer olduğu görülmüştür [186, 195, 196]. Ozon gazının doymamış yağ asitleri ile tepkimesinde çift bağlar kırılarak kararsız ozonid ürünleri oluşmaktadır. Criegee reaksiyonu olarak tanımlanan bu tepkimede ozonid, trioksolan benzeri karbonil fragmentleri, ile aldehit ve peroksitlere dönüşmektedir [187].

Çizelge 4.1. Literatürde yer alan ozonize zeytinyağlarına ait karakteristik ¹H-NMR spektrum sinyalleri

Sinyal (ppm)	Fonksiyonel grup
5.15	1,2,4-trioxolane
9.71	Aldehit
2.5	α-Metilen grup



Şekil 4.13. Sentezlenen ozonize zeytinyağına ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (0-7 ppm aralığı)



Şekil 4.14. Sentezlenen ozonize zeytinyağına ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (7-10 ppm aralığı)

Diaz ve arkadaşlarının 2003 ve 2006 yıllarında ozonlanmış ayçiçek yağının özelliklerini $^1\text{H-NMR}$ kullanarak araştırdıkları çalışmada alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda 5.35 ve 2.76 ppm' de gözlenen sinyallerin yağda bulunan (C=C) çift bağların ozon gazı ile tamamen reaksiyona girmesi ile kaybolmaları gerektiği rapor edilmiştir [2]. Sega ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ozonlanmış susam yağının yapısal özelliklerini $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ analiz sonuçları ile karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Çalışmada alınan $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında yağlardaki karbon çift bağlarının kaybolması ile 5.29, 2.72 ve 2.03–1.96 ppm' de gözlenen sinyallerin düşük, 5.11–5.08, 1.63 ve 1.35 ppm' de gözlenen sinyallerin

ise yüksek yoğunluğa sahip oldukları rapor edilmiştir [197]. Bu çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağı için alınan ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde; spektrumda 5.11–5.08, 1.63 ve 1.35 ppm’ lerde yüksek, 5.29, 2.72 ve 2.03–1.96 ppm’ lerde düşük sinyaller alınırken 5.35 ve 2.76 ppm’ de hiç sinyal alınmadığı görülmektedir (Şekil 4.13). Bu sonuçlar sentezlenen ozonize zeytinyağında çift bağların ozon gazı ile tamamen reaksiyona girmiş olduğunu ve böylece istenilen kalitede ürün elde edildiğini göstermektedir.

4.5. Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi Analizi

Çalışmada zeytinyağından ozonlama işlemi ile sonunda elde edilen okside yağ ürünlerinin neler olduğu GC-MS analizi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ile ticari ozonize zeytinyağının GC-MS analiz sonuçları

Numune	Pik alanları		
	Nonanal	Nonanoik asit	Oleik asit
Ozonize zeytinyağı	2146227	1497205	0
Ticari ozon yağı	250452	0	169037

Saf zeytinyağı bileşiminde %70-85 oranında oleik asit içermektedir [115]. Ozonlama işlemi esnasında ozon, yağın yapısında bulunan oleik asit içinde bulunan karbon-karbon çift bağları ile kolayca reaksiyona girerek okside yağ ürünü olarak nonanal (aldehid) ve nananoik asite (karboksilik asit) dönüşmektedir [198]. Rosado ve arkadaşları [199] GC-MS analizleri sonucunda ozonlanmış ayçiçek yağının doymuş ve doymamış aldehit grupları (heksanol, nonanal, 3-nonenal and malonaldehit) ile karboksilik asit grupları içeren okside yağ ürünlerine dönüştüğünü görmüşlerdir. Cirlini ve arkadaşları ise GC-MS analizi ile ozonlanmış susam yağının karakterizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada nonanal ve nananoik asitin ozonlama sonucu oluşan başlıca bileşenler olduğunu tespit etmişlerdir [198].

Nonanal sahip olduğu anti-kanser özelliğinin yanında tümör büyümesini engellemekte, embriyotoksisite ve teratojenite riskini azaltmakta ve diyabetik

aktivitelerde de pozitif etki göstermektedir. Nonanoik asit ise ölü hücrelerin uzaklaştırılmasında etkili olurken yaşlandırıcılara karşı da direnç gösterebilme özelliğine sahiptir. Pelarjonik asit olarak adlandırılan nonanoik asit mikroorganizmaların özellikle fungusların büyümesini engellemektedir [200].

Çizelge 4.2 'de çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağının ticari ürüne nazaran çok yüksek değerlerde nonanal ve nonanoik asit içerdiği buna rağmen ticari üründe hiç nonanoik asit içermediği görülmektedir. Sentezlenen üründe hiç oleik asite ait pik görülmemesi çift bağların tamamen kaybolduğunun ve ozon gazının çift bağlar arasında tamamen stabil hale getirildiğinin kanıtıdır. GC-MS sonuçları daha önce verilen FTIR ve H-NMR analiz sonuçlarını destekler niteliktedir. Ticari ürünün yapısında bulunan oleik asitin ozonlama işleminin tamamlanmadığının bir göstergesi olup bu sonuç aynı ürüne ait FTIR analiz sonuçları da bu durumu destekler niteliktedir.

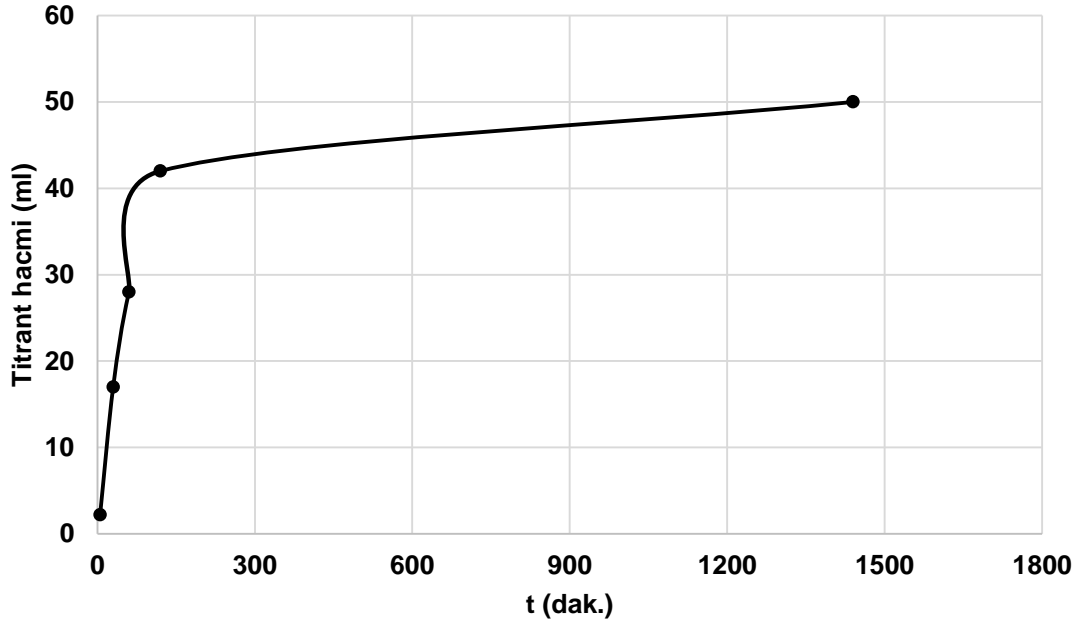
4.6. Ozonize Zeytinyağı ve Yara Örtü Filmlerin Peroksit Değerleri

Peroksit değeri ölçümleri ozonlanmış yağların kalitesini belirlemek açısından oldukça büyük önem taşımaktadır. Peroksit değeri (PV), 1000 gr ozon yağında oluşabilecek reaktif oksijen miktarını (mEq/kg) belirtmektedir.

Peroksit sayısının sıvı ve katı yağlarda tayini standard iyodimetrik metod ile belirlenmektedir [116]. İyodimetrik standart metodunun en önemli dezavantajı toplam peroksit değerini tam olarak belirleyememesidir. Çünkü metottaki iki dakikalık reaksiyon süresi yüksek molekül ağırlığına sahip hidroperoksit, hidrojen peroksit, polimerik peroksit ve diğer organik peroksitlerin iyodür ile reaksiyona girip ortamdaki toplam iyotun serbest hale geçmesi için yeterli olmamaktadır. Tellez ve arkadaşları [114] ozonlanmış ayçiçek yağı kullanarak yaptıkları çalışmalarında tüm peroksit bileşenlerinin reaksiyona girmesi için gerekli sürenin minimum 24 saat olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada 24 saatlik sürenin üstünde devam eden reaksiyonlarda ise peroksidik gruptan karboksilik asit gruplarının oluşması nedeniyle ozonlanmış yağın peroksit değerinde azalma olduğu tespit edilmiştir.

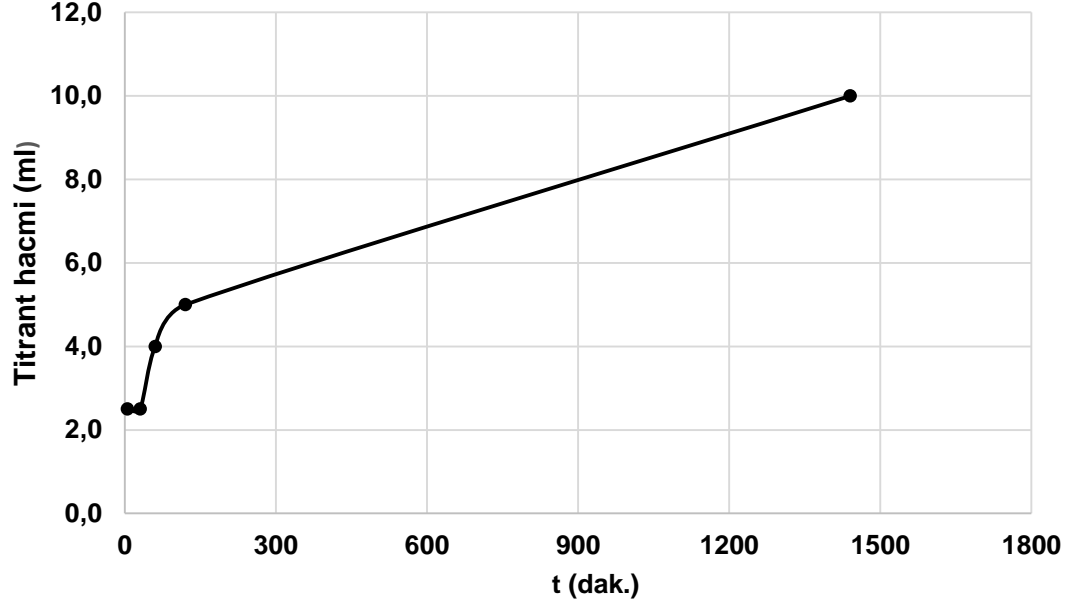
Çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağı ve G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin peroksit değerlerinin belirlenmesi amacıyla çözücü olarak serum ve asetik asit/kloroform kullanılarak ön denemeler gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.15' de G-O₂₂ kodlu yara örtü filmi örneğinden asetik asit/kloroform içinde ortama salınan yağ miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacminin (0.01 N sodyum tiyosülfat) zamanla değişimi verilmektedir. Buna göre; yara örtü filminin asetik asit/kloroform ile temas ettiği süre arttıkça salınan yağ miktarı artmış ve buna bağlı olarak peroksit değeri ile doğru orantılı olarak harcanan titrant hacmi de zamanla artış göstermiştir.



Şekil 4.15. G-O₂₂ kodlu yara örtü filmi örneğinde asetik asit/kloroform içinde zamanla salınan yağ miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacimleri

Şekil 4.16' da G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için serum içinde zamanla salınan ozonize zeytinyağının miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacimlerinin zamanla değişimi verilmektedir. Buna göre serum içinde bekletilen G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğinden salınan yağ miktarındaki artışa bağlı olarak peroksit değeri ile doğru orantılı olarak harcanan titrant hacmi de zamanla artış göstermiştir.



Şekil 4.16. G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için serum içinde zamanla salınan ozonize zeytinyağı miktarına bağlı olarak harcanan titrant hacimleri

Çizelge 4.3' de ozonize zeytinyağı ve G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için serum ve asetik asit/kloroformun kullanıldığı farklı ortamlarda yapılan 24 saatlik peroksit değerleri tayin deneylerinde harcanan titrant hacmi (0.01 N sodyum tiyosülfat) hacimleri yer almaktadır. Çizelgede ozonize zeytinyağı ve G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için harcanan titrant hacimleri karşılaştırıldığında serum içinde harcanan titrant hacimlerin daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeni sulu ortamda lipid oksidasyonun birincil ürünü olan hidroperoksitler kolaylıkla aldehid ve alkol içeren ikincil oksidasyon ürünlerine daha hızlı parçalanmış olabilirler.

Çizelge 4.3. Sentezlenen ozonize zeytinyağı ve G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için farklı çözücü ortamlarında yapılan peroksit değeri tayininde harcanan titrant (0.01 N sodyum tiyosülfat) hacimleri

Harcanan titrant (0.01 N sodyum tiyosülfat) hacimleri (ml)		
Örnek	Serum Çözeltisi İçinde	Asetik Asit/Kloroform İçinde
Ozonize zeytinyağı	20	85
G-O ₂₂	10	50

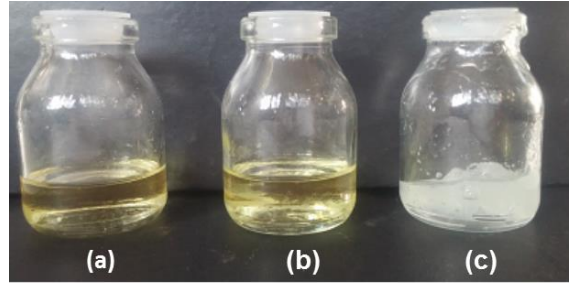
Çizelge 4.4' de saf zeytinyağı, zeytinyağı ile seyreltilmiş ozonize zeytinyağı, GJ₁G-OC₁, G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerine ait hesaplanmış peroksit değerleri ile 6 hafta boyunca ışık altında ve karanlıkta bekletilen GJ₁G-OC₁ yara örtü film örneğine ait peroksit değerleri yer almaktadır.

Çizelge 4.4. Zeytinyağı, ozonize zeytinyağı ve yara örtüsü film örneklerinin kloroform/asetik asit içinde peroksit değerleri

Numune	Peroksit değeri (mEq O ₂ /kg yağ)
Saf Zeytinyağı	19
Ozonize zeytinyağı	2700-2800
%50 (v/v) zeytinyağı ile seyreltilmiş	2600-2700
G-O ₂₂	793
GJ ₁ G-OC ₁	379
GJ ₁ G-OC ₁ (6 hafta ışık altında bırakıldı)	379
GJ ₁ G-OC ₁ (6 hafta karanlıkta bırakıldı)	379

Çalışmada özel olarak tasarımı yapılmış reaktörde üretilen ozonize zeytinyağının yaklaşık 2700-2800 mEq O₂/kg yağ aralığında bir yüksek bir peroksit değerine sahip olduğu görülmektedir. Saf zeytinyağının peroksit değeri 19 mEq O₂/kg yağ olarak bulunmuştur. Sentezlenen ozonize zeytinyağının %50 (v/v) oranında zeytinyağı ile seyreltilmesi ile hazırlanan numunede peroksit sayısında herhangi bir değişim görülmemiştir. Bu durum peroksit sayının yağların sadece ozonlanma reaksiyonu sırasında reaksiyonu etkileyen parametrelerin değiştirilmesiyle değişebileceğini göstermektedir. Literatürde Valacchi ve arkadaşları ürettikleri ozonlanmış susam yağının peroksit değerlerini sırasıyla 949 mEq O₂/kg yağ için düşük, 1631 mEq O₂/kg yağ için orta ve 3170 mEq O₂/kg yağ için ise yüksek peroksit değerleri olarak sınıflandırmışlardır [105].

Şekil 4.17 'de saf zeytinyağı, ticari ozonlanmış zeytinyağı ve sentezlenen ozonize zeytinyağına örneklerine ait görüntülere yer verilmiştir. Çalışmada üretilen ozonize zeytinyağı saf zeytinyağından ve ticari ozonize zeytinyağından daha yüksek viskositeye sahip, jel kıvamında ve beyaz renktedir. Literatürde yağların ozonlanması ile yapılarında bulunan karbon çift bağların azalacağı, tamamen kaybolduğunda ise yüksek viskosite ve yüksek peroksit değerlerinde şeffaf ve kalitesi yüksek ürün elde edileceği belirtilmektedir [120, 201]. Tam olarak ozonlanmış yağın yüksek viskozitede ve jel kıvamında olmasının ürün içindeki ozon molekülünün ozonoid olarak uzun süre stabil kalmasını sağlayarak, raf ömrünü de arttıracığı bilinmektedir [198].



Şekil 4.17. a) Saf zeytinyağı b) Ticari ozonize zeytinyağı c) Sentezlenen ozonize zeytinyağı

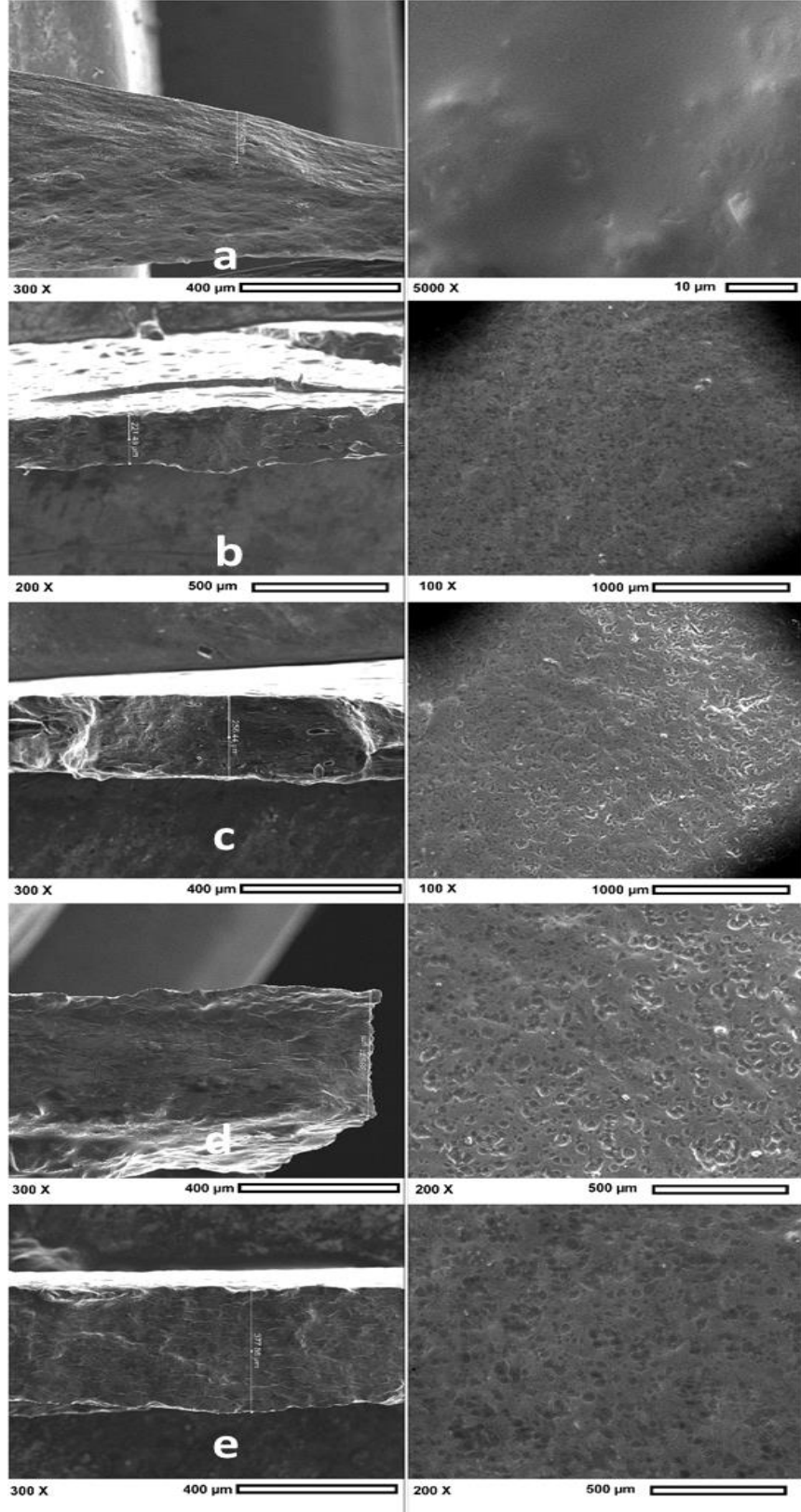
Yapılan literatür ve mevcut piyasa araştırmalarında ozonize zeytin yağının herhangi bir yara örtüsü materyalinde antibakteriyal, antiviral veya antifungal ajan olarak kullanımı ile ilgili hiçbir bilgiye rastlanmamıştır. Özyıldız ve arkadaşları [202] hazırladıkları ozonlanmış kırmızıbiber çekirdeği yağı içeren kapsülleri bir tekstil ürünü içerisine emdirerek elde ettikleri yeni ürün için testler yapmışlar ancak çalışmalarında üretilen ozonlanmış kırmızıbiber çekirdeği yağın peroksit sayısı ile ilgili herhangi bir bilgiye yer vermemişlerdir. Tez kapsamında yapılan çalışmada GJ₁G-OC₁, G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneklerinin peroksit değerlerinin belirlenmesinde takip edilen (Bölüm (3.3.5.2)) prosedür bu çalışmaya özgün olarak hazırlanmıştır. Buna göre G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örnekleri için peroksit değerleri sırasıyla 793 ve 379 mEq O₂/kg yağ olarak tespit edilmiştir. 6 hafta boyunca hem ışık altında hem karanlıkta bekletilen GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örnekleriyle yapılan peroksit sayısı değerlerinin değişmemesi çalışmada hazırlanan filmlerin hem ışık hemde karanlıkta bekletilmesiyle sahip oldukları yapısal özelliklerinin değişmediği sonucunu vermiştir. Çalışmamızda hazırlanan filmlerin 793-379 mEq O₂/kg yağ aralığında sahip oldukları peroksit değerlerinin

yara iyileştirmesi için yeterli olduğu düşünülmektedir. Öcay [121] meme implantlarında görülebilen kapsül kontraktürünün önlenmesinde ortalama bir peroksit değerine sahip (400-600 mEq O₂/kg yağ) ozon yağının kullandığı bir uzmanlık çalışması hazırlamıştır. Çalışmada; ozon yağının antibakteryel, antifungal ve anti-fibrotik etkilerinden yararlanılarak, özellikle meme implantasyonu sonrası gelişen subklinik enfeksiyon kaynaklı kapsül kontraktürünün azaltılabileceği açıklanmaktadır.

4.5. Taramalı Elektron Mikroskopisi Analizi

Şekil 4.18 'de sırası ile G, G-O₁₂, G-O₂₂, GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ kodlu filmlerin SEM görüntüleri verilmiştir. Çalışmada hazırlanan filmler deki ozonize zeytinyağı ve genipin konsantrasyonlarının filmlerin yüzey ve kesit alan morfolojilerine etkileri SEM görüntülerinden yararlanarak açıklanmıştır. SEM analizi için kullanılan yara örtü filmlerin kalınlıkları 150-380 µm arasında değişmektedir. Sadece kitre ve gliserol kullanılarak hazırlanan G kodlu filmin homojen ve gözeneksiz bir yüzeye sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.18-a). Ozonize zeytinyağının film içerisinde konsantrasyonun %1'den, %2' ye (v/v) çıkarılması ile yüzeyde ve kesit alanlarında mikro gözenekli yapıların oluştuğu ve yapıların hem yüzeyde hem de kesit alanında iyi olarak dağıldığı görülmektedir [203, 204] (Şekil 4.18-b,c). Hazırlanan yara örtü filmlerinde ozonize zeytinyağı konsantrasyonu arttıkça filmlerin kalınlıkları da buna bağlı olarak artmıştır. Uçucu yağların filmlere eklendiğinde yapıcı zayıf film matriks yapısının oluşumu ile film kalınlığının arttırdığı da bilinmektedir [205-207].

GJ₁G-OC₁ ve GJ₁G-OC₂ kodlu yara örtü filmlerin SEM görüntüleri incelendiğinde, genipinin jelatin ile yaptığı bağlar nedeniyle kesit alanda yeni bağların oluştuğu, mikro gözeneklerin ise yeni bağlar içinde kısmen kaybolduğu görülmektedir (Şekil 4.18-d,e). Hazırlanan yara örtü filmlerde kullanılan genipinin konsantrasyonunun arttırılması ile oluşan yeni bağların birbirlerine yaklaşarak kesit alan morfolojisini daha sıkı bir yapıya dönüştürdüğü tespit edilmiştir. Bu durumun, hazırlanan yara örtü filmlerin mekanik olarak dayanıklılığını arttırarak filmlerin parçalanma sürelerinin uzamasına yardımcı olacağı düşünülmektedir [208-210].



Şekil 4.18. Hazırlanan yara örtü filmlerin yüzey ve kesit yüzeylerine ait SEM görüntüleri **a) G b) G-O₁₂ c) G-O₂₂ d) GJ₁G-OC₁ e) GJ₁G-OC₂** kodlu yara örtü film örnekleri

4.6. Jelatin Model ile Yara Taklit Çalışması

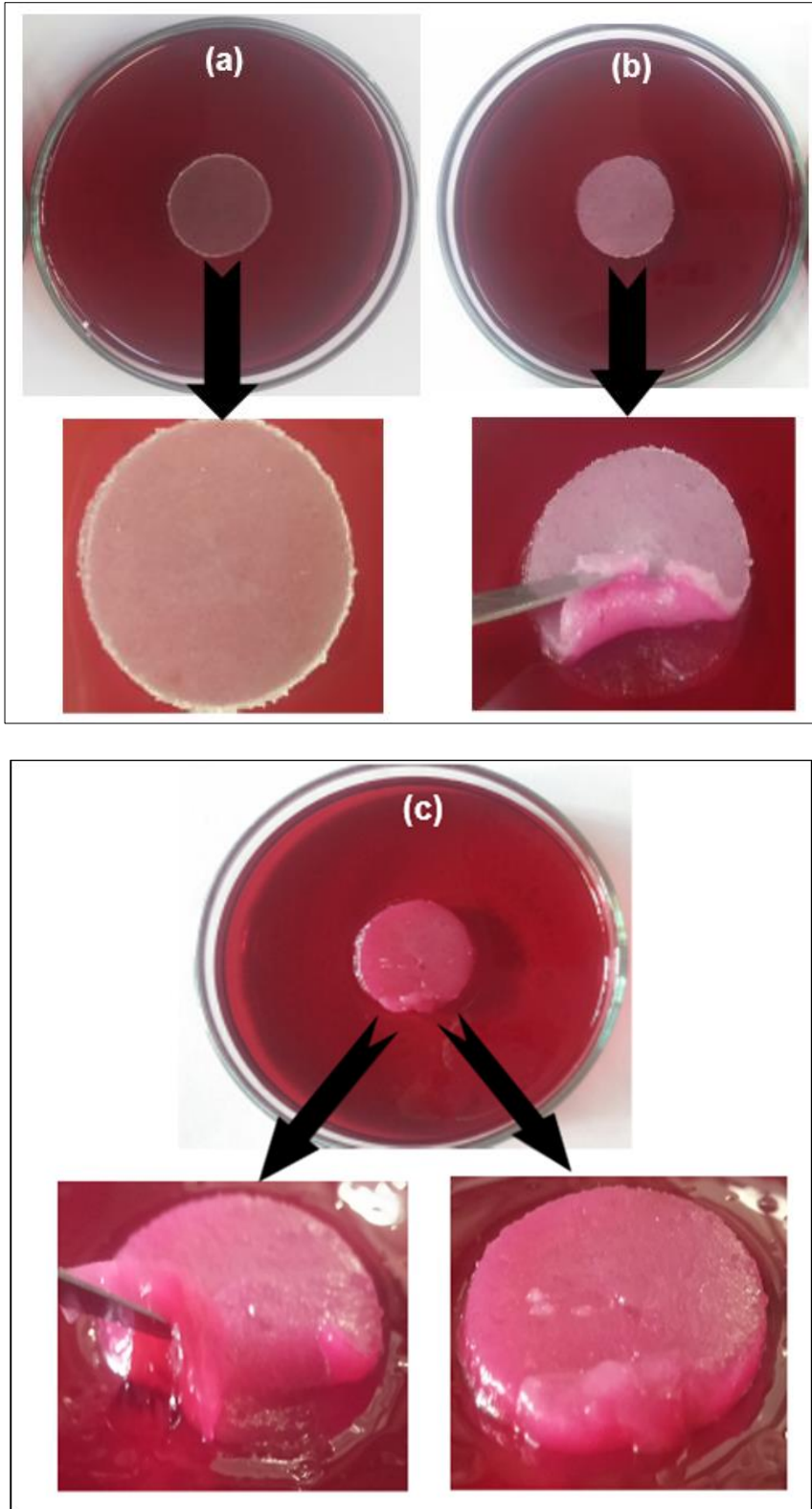
Hazırlanan yara örtü filmlerinin orta ve yüksek eksudalı yara üzerindeki genleşme davranışlarının belirlenebilmesi amacıyla jelatin ortam modeli kullanılmıştır. Hayvan modeli kullanılmadan yara modelini simule eden bu yöntem güvenilir olması ve hızlı sonuç alınabilmesi sebebiyle literatürde sıklıkla kullanılmaktadır [172].

Çizelge 4.5' de G-O₂₂ (400 µm kalınlıkta) ve GJ₁G-OC₁ (500 µm kalınlıkta) kodlu yara film örneklerinin zamanla değişen genleşme oranları (D_t/D_0) görülmektedir. Şekil 4.19 (a, b, c) G-O₂₂ yara örtü film örneğinin, Şekil 4.20 (a, b, c)' de ise. GJ₁G-OC₁ yara örtü film örneğinin 0, 24, 72 saat sonunda alınan genleşme görüntüleri yer almaktadır.

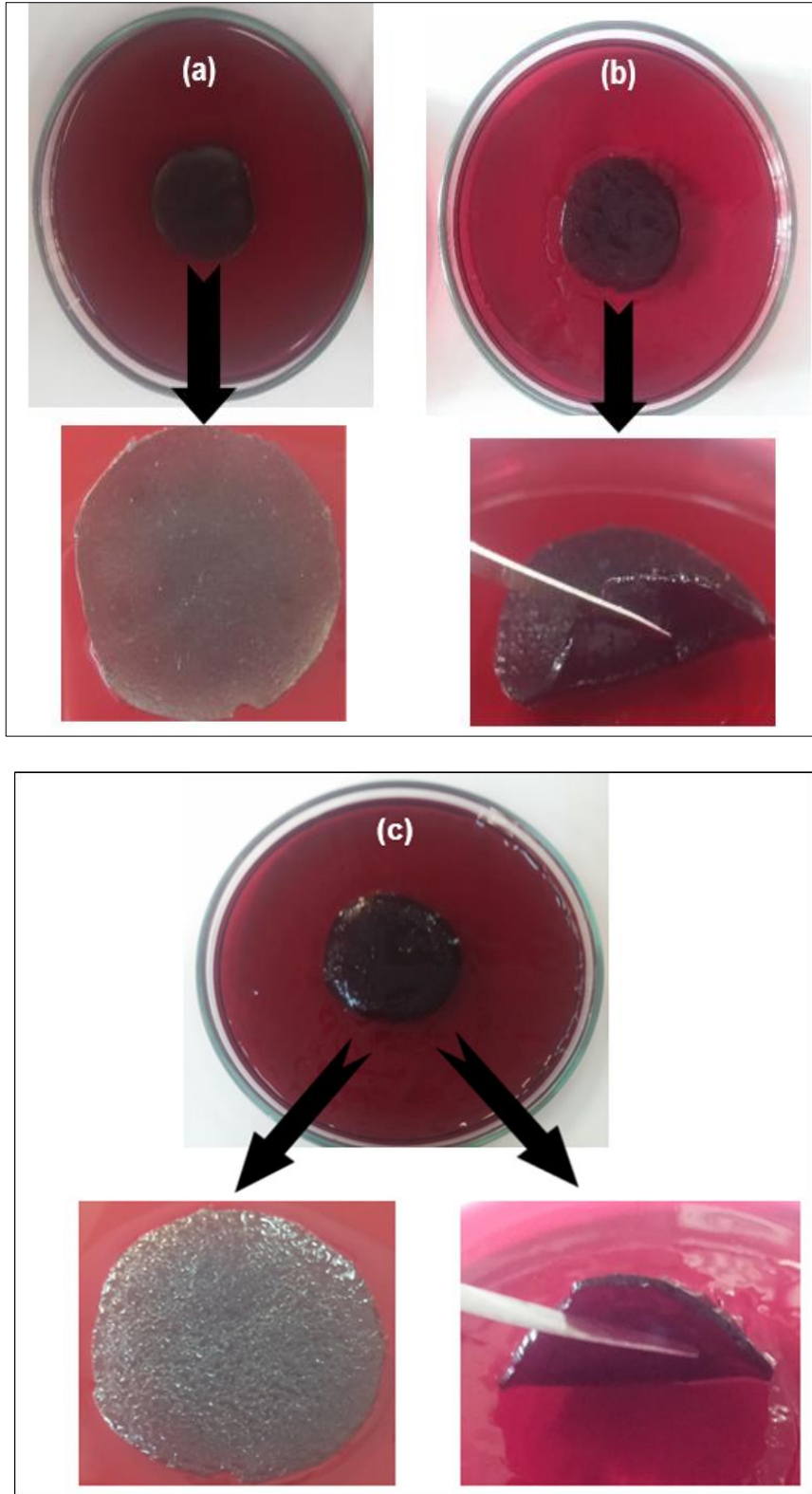
G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin 24 saat içinde en fazla suyu absorplayarak 1.18 oranında genleştiği 72 saat sonunda viskozitesi yüksek jel kıvamında ürüne dönüştüğü görülmektedir. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin 24, 30, 48 saat ve sonraki genleşme oranları zamanla 1.33, 1.38 ve 1.44 olarak saptanmıştır. 48 saat sonunda GJ₁G-OC₁ kodlu film maksimum su miktarını absorplayarak nemli bir film yapısına geçtiği görülmüştür (Şekil 4.20). G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin aksine GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin 72 saat sonunda jelatin yüzeyine yapışmadığı ve kolay bir şekilde yüzeyden uzaklaştırılabildiği görülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalarda kısa sürede film halinden jel haline geçen yara örtüsü filmlerin yara çevresinde birikim yapabileceği ve filmlerin değişimi sırasında hastada ağrı ve rahatsızlık hissi oluşturabileceği rapor edilmiştir [36, 211]. Bu sonuçlar ışığında, G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin düşük ve orta eksudalı yaralarda 24 saatten önce değişiminin yapılması, GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin ise 24-72 saate kadar yara üzerinde kalabilecek şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.5. G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneklerinin jelatin yara modeli üzerindeki genişleme oranları

Zaman (saat)	Genleşme oranı (D _t /D ₀)	
	G-O ₂₂	GJ ₁ G-OC ₁
0	1	1
24	1.18	1.33
30	1.18	1.38
48	1.18	1.4
72	1.18	1.4



Şekil 4.19. Hazırlanan G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğın yara modeli üzerindeki a) t=0 b) t= 24 c) t=72 saat sonundaki görüntüleri

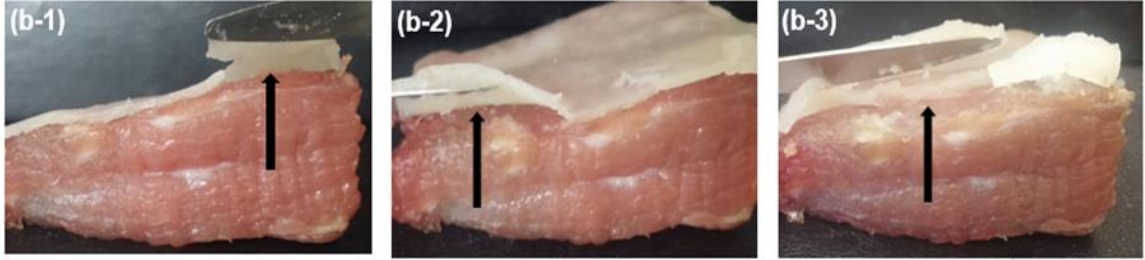
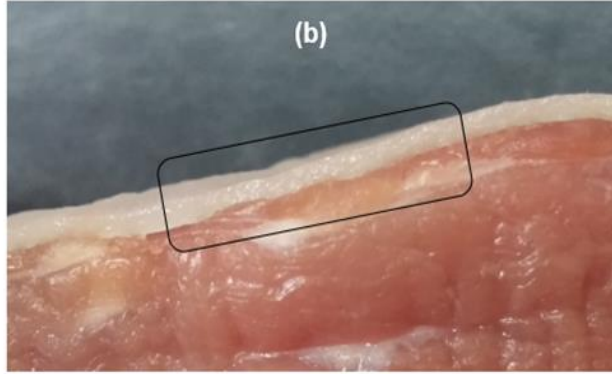
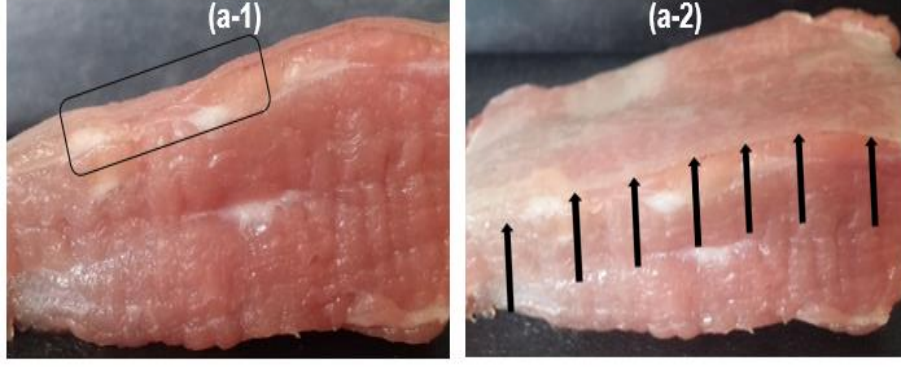


Şekil 4.20. Hazırlanan GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneğinin jelatin yara modeli üzerindeki **a) t=0 b) t=24 c) t= 72** saat sonundaki görüntüleri

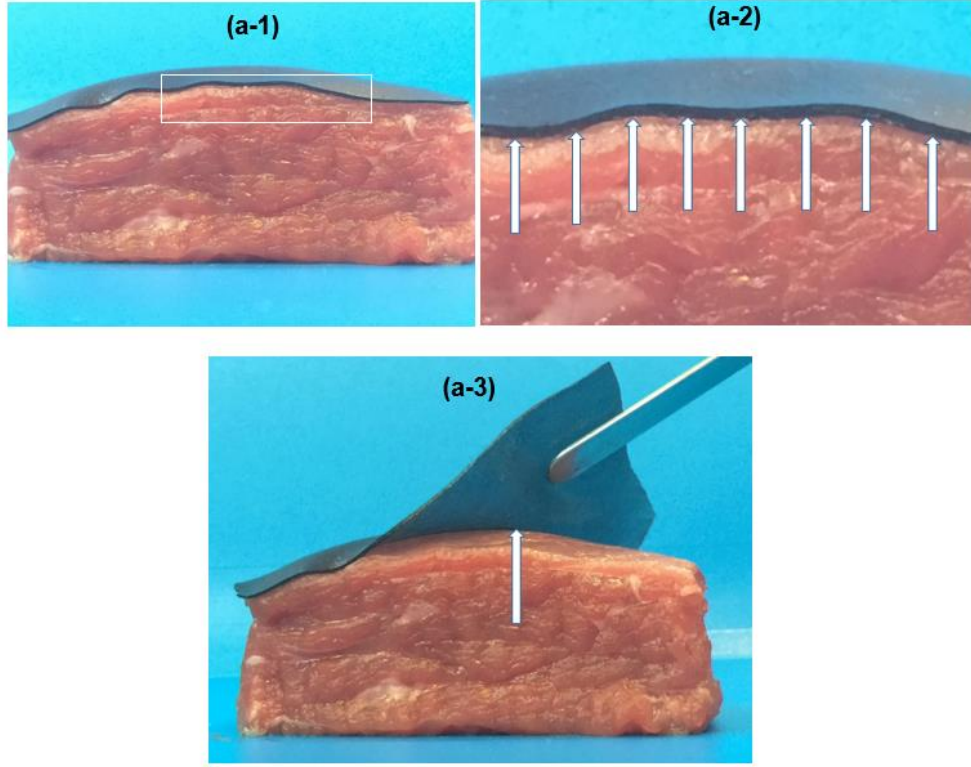
4.6. Yara Yüzeyi Taklit Analizi

Şekil 4.21-22' de G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneklerinin farklı zamanlarda et yüzeyi üzerindeki fotoğrafları gösterilmiştir. 30 dakika boyunca serum çözeltisi içerisinde bekletilerek şişmeleri sağlanan filmlerin et yüzeyine yerleştirilmesi ile yara yüzeyi taklit çalışması gerçekleştirilmiştir. Görüntülerde her iki filmde et yüzeyi ile tamamen temas ederek yüzeyin şeklini aldıkları görülmektedir. G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin et yüzeyindeki yüzey ve kesit alan görüntüsü şeffaf ve ince bir malzeme yapısı sergilemektedir (Şekil 4.21-(a-1,2)). G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin et yüzeyi ile temasından 6 saat sonra sahip olduğu nem tutma özelliği nedeniyle beyaz bir renk aldığı görülmüştür (Şekil 4.21-b). G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin et yüzeyi ile temas süresi arttıkça (6, 24 ve 72 saat) yüzey üzerinde filmin parçalandığı görülmektedir (Şekil 4.21-(b-1,2,3)). GJ₁G-OC₁ kodlu mavi renkli yara örtü film örneğinde bir renk değişikliği olmadığı ve et yüzeyi ile teması sonunda filmin matriks yapısının korunduğu ve yüzeyden kolaylıkla uzaklaştırılabildiği görülmektedir (Şekil 4.21-(b-1,2,3)). Bu sonuçlar ışığında, çok hızlı şişen G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin 24 saatten önce yara yüzeyinden değişim yapılarak ya da parçalanması halinde yara yüzeyinden serum çözeltisi ile yıkanarak uzaklaştırılabileceği, GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin ise 72 saate kadar yara üzerinde kalabilecek şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Hazırlanan yara örtü filmleri ile et yüzeyi arasında hiçbir boşluğun bulunmaması filmlerin sahip oldukları elastikiyet ile yüzeye düzgün bir şekilde yapışabilmesinden kaynaklanmaktadır. Filmlerin yara yüzeyini uygun şekilde kapatması ile ozonize zeytinyağının homojen bir şekilde yara yüzeyinde dağılması sağlanarak hızlı bir yara iyileşmesi gerçekleştirileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.21. G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin farklı zamanlarda alınan et ara yüzey görüntüleri **a-1,2)** t=0, **b-1)** t=4, **b-2)** t=8, **b-3)** t=24 saat



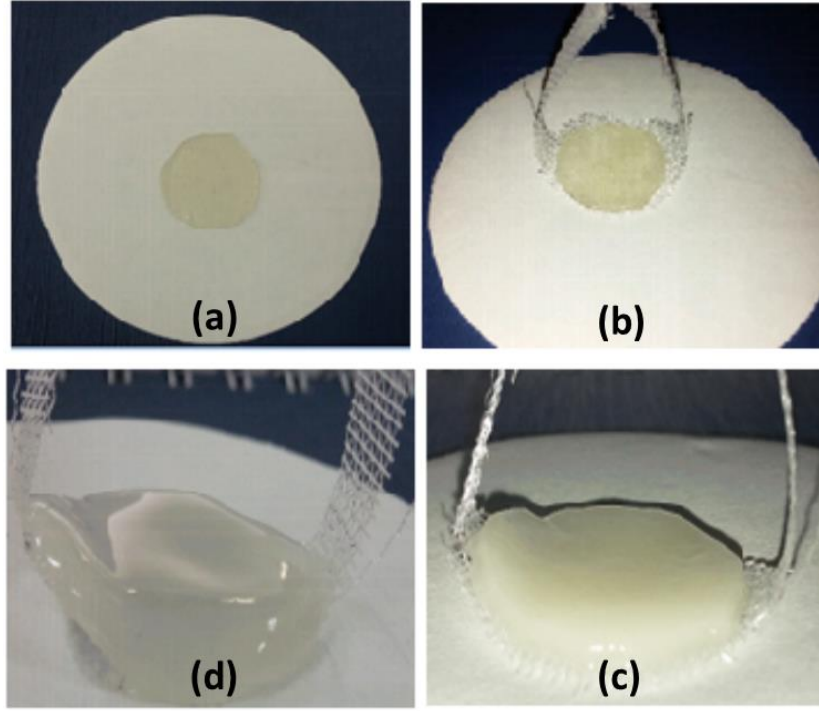
Şekil 4.22. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneğinin farklı zamanlarda alınan et ara yüzey görüntüleri **a-1,2)** t=0, **a-3)** t=8,12, 24,72 saat

4.7. Yara Örtüsü Filmlerin Şişme ve Parçalanma Özelliklerinin İncelenmesi

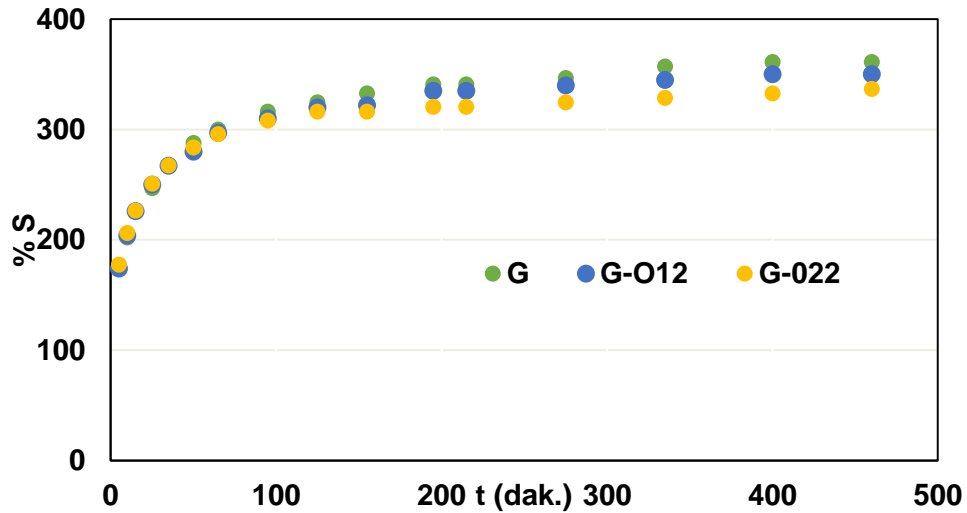
Filmlerin şişme özelliklerini belirlenmesi, yara örtüsü filmlerin yara sıvısını veya eksüdayı absorplama kapasitelerini anlamak açısından önemlidir [183, 212].

Hazırlanan G, G-O₁₂ ve G-O₂₂, kodlu yara örtü filmlerin şişme deneyleri, serum çözeltisi içerisinde farklı zaman aralıklarında örneklerin ağırlıkları tartılarak yapılmıştır. Fizyolojik serum çözeltisi sahip olduğu Ph=7.2 değeri ile yara sıvısını tamamen simule edebilecek özelliğindedir [213]. Şekil 4.24' de G, G-O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme eğrisi grafikleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 4.23' de ise G kodlu yara örtü filmin belli aralıklarda alınan şişme görüntüleri yer almaktadır. Şekil 4.23' de sadece kitre ile hazırlanan filmin 6 saat içinde tamamen şiştiği ve jel haline geldiği görülmektedir. Kitre yapısında karboksilik asit grupları bulunmaktadır [149] Doğal biyopolimerlerde bulunan ve kolaylıkla iyonlaşabilen karboksilik asit gruplarının, filmlerin polimer zincirleri arasındaki hacmi arttırarak filmlerin % şişme değerlerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir [183]. G kodlu yara örtü filminde 6 saat sonunda maksimum % şişme değerine (%360) ulaşılmış (Şekil 4.24) ve bu saatten sonra erozyon nedeniyle ağırlık ölçümü yapılamamıştır. Yapısında ozonize zeytinyağı bulunan G-

O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerinde maksimum % şişme değerleri sırasıyla %350 ve %336 olarak bulunmuştur. Bu durum yara örtü filminin yapısında bulunan ozonize zeytinyağının filmlerin hidrofobisini arttırması dolayısıyla buna bağlı olarak absorplanan serum miktarının azalması olarak açıklanabilir [203]. G-O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerinin serum içerisinde erozyona uğrayarak parçalanma süresinin ozonize zeytinyağı içermeyen G kodlu yara örtü filmi ile aynı olduğu görülmüştür.

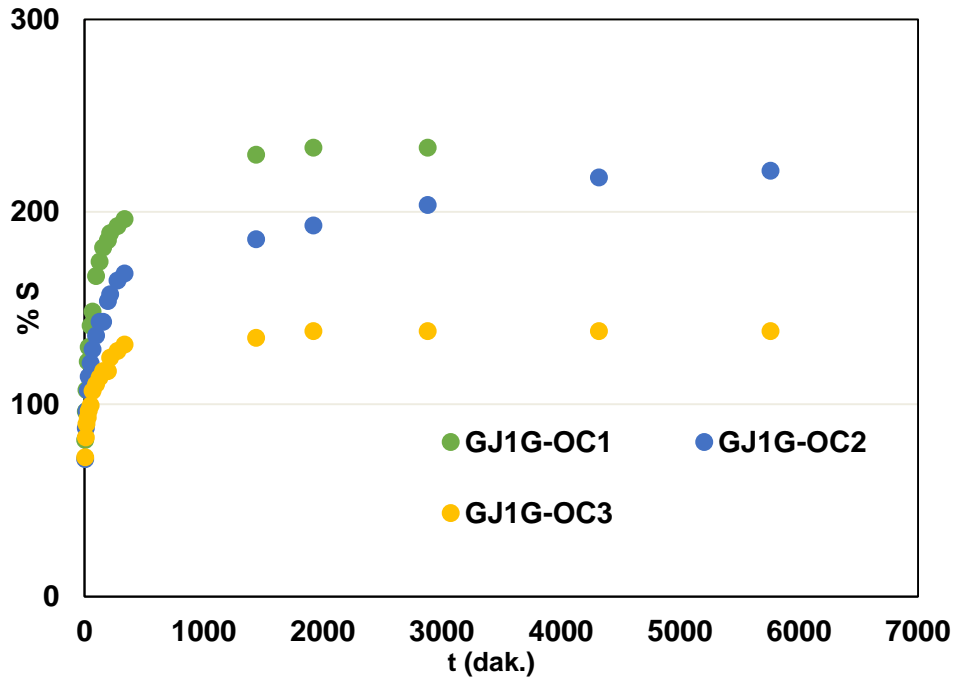


Şekil 4.23. G kodlu filmin şişme testi görüntüleri a) t=0 b) t=2 c) t=4. d) t= 7 saat



Şekil 4.24. G, G-O₁₂,ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme eğrisi

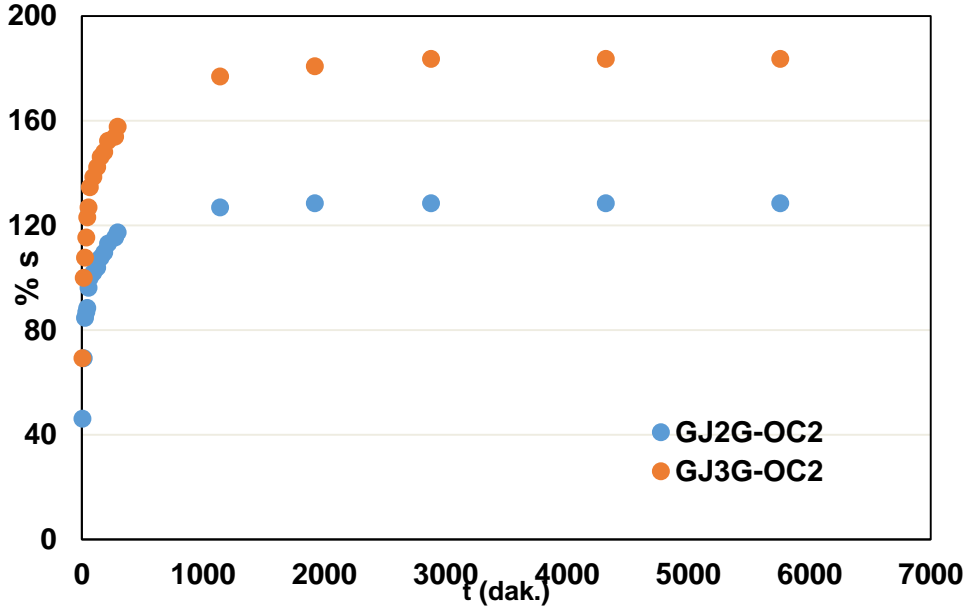
Şekil 4.25’ de farklı genipin konsantrasyonlarında hazırlanan GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme grafikleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Kitrede bulunan karboksilik (-COO⁻) grupları ile jelatinde bulunan amin grupları (-NH₃⁺) arasındaki elektrostatik etkileşim sonucunda meydana gelen polimerik yapıya genipinin de eklenmesiyle intermoleküler ve intramoleküler arası etkileşimler gerçekleşmiş (Şekil E3-1) ve bunun sonucunda, TGA ve SEM analiz sonuçlarında da görüldüğü gibi, termal açıdan kararlı, fiziksel açıdan ise daha dayanıklı ve sıkı bir ağ yapısına sahip filmler elde edilmiştir [175, 183]. Genipin konsantrasyonunun artırılması ile hazırlanan yara örtü filmlerinde sıvı absorplama kapasitelerinde azalma buna bağlı olarak da denge şişme değerlerinde düşüşler gözlenmiştir. Artan genipin konsantrasyonu ile azalan şişme denge değerleri sırasıyla % 233, % 221 ve % 138 olarak belirlenmiştir. Filmlerin serum içerisinde kalma ve erozyona uğrayarak parçalanma süreleri ise sahip oldukları sıkı ağ yapısı dolayısıyla artmıştır. Yüksek genipin konsantrasyonu ile hazırlanan GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerinin 5 güne kadar erozyona uğramadan kaldığı görülmüştür [214].



Şekil 4.25. Farklı genipin konsantrasyonlarında hazırlanan GJG-OC₁, GJ₁G-OC₂, GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerine ait şişme eğrileri

Şekil 4.26’ da farklı jelatin konsantrasyonları kullanılarak gerçekleştirilen yapılan çapraz bağlama işlemi ile hazırlanan GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ yara örtü filmlerine ait şişme grafikleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Jelatin konsantrasyonunun

arttırılması ile hazırlanan yara örtü filmlerinde katı madde miktarındaki artışa bağlı olarak filmlerin sıvı absorplama kapasiteleri de artmıştır. Artan jelatin konsantrasyonu ile şişme denge değerleri de sırasıyla % 128 ve % 183 olarak artış göstermiştir.



Şekil 4.26. Farklı jelatin konsantrasyonlarında çapraz bağlama işlemi ile hazırlanan GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ yara örtü filmlerine ait şişme eğrileri

Yaralarda eksüda seviyesi yara çeşidine göre az, orta ve yüksek olarak tanımlanmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda tipik bir ayak ülserinde eksüda seviyesi 0-1.2/cm²/gün olarak belirlenmiştir [213, 215]. Vinklárková ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karboksimetil selüloz ve ibuprofen kullanarak hazırladıkları yara örtüsü filmlerinin 1 cm²' sinin 8 saat içinde 0,8 g fizyolojik serum absorpladığını ve bu filmlerin orta derecede eksüdalı yaralar için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [213].

G, G-O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerin 1 cm²' sinin 7 saatin sonunda absorpladıkları serum miktarı 1.12 -1.04 aralığındadır. Buna göre G, G-O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerin orta eksüdalı yaralar için kullanımının uygun olabileceği düşünülmektedir. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin 48 saat sonunda absorpladığı serum miktarı 0,88 gr/ cm² iken, GJ₁G-OC₂, GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmler için 72 saat sonunda absorplanan serum miktarları 0.80 ve 0.78 gr/ cm² olarak belirlenmiştir. Buna göre çapraz bağlayıcı ajan kullanılarak hazırlanan yara örtü filmlerinin de orta ve düşük eksüdalı yaralar için kullanılabileceği düşünülmektedir.

4.8. Mekanik Test

Yara örtülerinin sahip olduğu mekanik özellikler, örtülerin deri yüzeyinde veya deri içinde kullanım şekline göre değişiklikler göstermektedir. Yara örtülerinin deri üzerinde etkin bir işlev görebilmeleri için dış ortamdan uygulanacak olası kuvvetlere ve darbelere karşı dayanıklılık göstermesi, yırtılmamaları ve patlamamaları gerekir. Bununla birlikte deri ve yaralı bölgenin formuna kolayca uyum sağlamaları gerek vücut hareketi sırasında gerekse dışarıdan gelebilecek bir kuvvet karşısında esneklik göstermeleri de beklenir. Değişimleri sırasında yara örtülerinin hastaya herhangi bir rahatsızlık vermemesi, deri üzerinde stres yaratmaması da gerekmektedir [21, 216]. Literatürde uzama-çekme testi analizleri sonucunda insan derisi için belirlenen kopma mukavemeti değeri 4.6 - 20 MPa kopma uzaması ise %35-115 olarak belirlenmiştir [217, 218]. Bu değerler yaşa, deri rengine, genetik özelliklere göre farklılık göstermektedir. Yara örtülerinin kalınlık, porosite, gibi fiziksel özelliklerinin yanı sıra üretim tekniklerinin de farklı olması nedeniyle literatürde değişen mekanik özellikte yara örtüleri ile karşılaşılmaktadır [21].

Çalışmada farklı konsantrasyonlarda ozonize zeytin yağı, gliserol ve genipin kullanılarak hazırlanan yara örtü filmlerinin kalınlıkları ile kopma anındaki mukavemet ve uzama değerleri Çizelge 4.6-7-8' de verilmiştir

Ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun sabit tutularak gliserol konsantrasyonunun arttırıldığı çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G-O₂₁, G-O₂₂, ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmlerinde kopma anında uzama değerleri artarken mukavemet değerlerinin azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.6). Gliserol düşük moleküler ağırlığına (92 mol/g⁻¹) sahip bir plastikleştiricidir. Gliserol polimerler arasında oluşan iç bağları azaltıp, yeni hidrojen bağlarının kurulmasına yardımcı olmaktadır [219]. Gliserol sahip olduğu bu özellikler nedeniyle, sorbitol ve Peg 400 gibi plastikleştiricilerin arasında en sık kullanılan plastikleştiricidir [220-222]. Çalışmada gliserol konsantrasyonunun arttırılması ile kitre molekülleri arasındaki bağlar zayıflatılmış ve yeni hidrojen bağlarının oluşumu ile daha esnek yapıya sahip yara örtü filmleri elde edilmiştir. Kopma anındaki uzama değerinin, mukavemet değeri ile ters ilişki göstermesi birçok araştırmacı tarafından da literatürde rapor edilmiştir [219, 223, 224].

Çizelge 4.6. G-O₂₁, G-O₂₂, ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri

Film kodları	Kopma anında mukavemet (MPa)	Kopma anında uzama (%)	Kalınlık (µm)
G-O₂₁	2.12	%14	400
G-O₂₂	0.40	%75	410
G-O₂₄	0.30	%198	420

Gliserol konsantrasyonu sabit tutularak ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun arttırıldığı çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G, G-O₁₂, G-O₂₂, GJ₁ ve GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü film örneklerinde kopma anındaki uzama değerlerinin belli bir ozonize zeytinyağı konsantrasyonuna kadar arttığı daha sonra ise azaldığı (Çizelge 4.7) mukavemet değerlerinin ise artan ozonize zeytinyağı konsantrasyonu ile azaldığı görülmektedir. Benzer sonuç GJ₁ kodlu yara örtü filmine ozonize zeytinyağının eklenmesiyle hazırlanan GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü filmin mukavemet ve kopma anındaki uzama değerlerinde de görülmektedir. Ozonize zeytinyağının eklenmesiyle GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü filmin kopma anında uzama değerleri ile mukavemet değerlerinin azaldığı görülmektedir.

Çizelge 4.7. G, G-O₁₂, G-O₂₂, GJ₁ ve GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri

Film Kodları	Kopma Anında Mukavemet (MPa)	Kopma Anında Uzama (%)	Film Kalınlığı (µm)
G	2.96	%81	400
G-O ₁₂	1.65	%95	405
G-O ₂₂	0.40	%75	410
GJ ₁	2.60	%99	400
GJ ₁ -O ₂₂	1.02	%74	530

Çağrı ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları çalışmada, hazırlanan filmlere eklenen herhangi bir bileşenin filmlerin kopma anındaki uzama ve mukavemet değerlerini azalttığını tespit etmişlerdir [68, 225]. Esansiyel yağlar ile hazırlanan filmlerin heterojen yapıya sahip oldukları bilinmektedir. Zira polimer zincirleri arasında oluşan aşırı etkileşim filmlerin esnekliğini azaltarak, dayanımlarının düşmesine neden olmaktadır [226]. Ahmad ve arkadaşları, bergamot ve limonyağı kullanarak hazırladıkları filmlerde, bergamot yağı oranının %5 'den % 20'ye arttırıldığında filmlerin kopma anındaki uzama ve mukavemet değerlerinin düştüğünü belirtmişlerdir [227]. Uçucu yağlar oda sıcaklığında sıvı halde olduklarından film içerisinde damlacıklar halinde dağılmakta ve filmlerin esnekliğini ve mukavemetinin azalmasına neden olmaktadır [227, 228].

Çalışmada yara örtü filmlerin yapısında bulunan ozonize zeytinyağı konsantrasyonu gliserol konsantrasyonuna yaklaştıkça film yüzeyinde yağ damlacıkları tespit edilmiştir. Ozonize zeytinyağının aşırı kullanımı gliserolün plastikleştirici özelliğini engellemiş ve kitre molekülleri arasındaki bağları kuvvetlendirmiştir. Threepopnatkul ve arkadaşlarının ağırlıkça %10, 20 ve 30 kekik ve citronella yağı kullanarak hazırladıkları filmlerde yüksek konsantrasyonda kekik yağı içeren filmlerin düşük konsantrasyonda kekik yağı içeren filmlere göre daha dayanıklı olduğu buna bağlı olarak da uzama değerlerinin azaldığı görülmüştür.

Ağırlıkça %10, 20 ve 30 citronella yağı kullanılarak hazırlanan filmlerde artan citronella yağı konsantrasyonu ile mukavemet artarken, uzama değerlerinin azaldığı görülmüştür. Bu durum citronella yağı içerisindeki β -citronella bileşeninin proteinler ile etkileşime girerek çapraz bağlayıcı ajan etkisi göstermesi ile açıklanmaktadır [229]. Uçucu yağlar sahip oldukları farklı fenolik bileşenler sebebiyle hazırlanan filmlerde hem plastikleştirici hem de çapraz bağlayıcı ajan etkisi gösterebilmektedir [203].

Çalışmada hazırlanan yara örtü filmlerinde çapraz bağlama işlemi kitreye jelatin eklenerek genipin ile jelatin arasında kimyasal bağın oluşması ile gerçekleştirmiştir (Şekil E-3). Buna göre sadece kitre ile hazırlanan G kodlu yara örtü filmi ile kitre ve jelatin ile hazırlanan GJ₁ kodlu yara örtü filminin mekanik test sonuçları karşılaştırıldığında sırasıyla mukavemet değerlerinin azaldığı ancak kopma anındaki uzama değerlerinin arttığı görülmektedir. Yara örtü filmlerin yapısında bulunan jelatinin filmlere esneklik kazandırdığı söylenebilir.

Çapraz bağlayıcı ajan olarak genipinin kullanıldığı GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerinde ozonize zeytinyağı ve gliserol oranı sabit tutularak genipin konsantrasyonu artırılmıştır (Çizelge 4.8). Buna göre artan genipin konsantrasyonu ile filmlerin belli bir genipin konsantrasyonuna kadar kopma anındaki mukavemet değerlerinin arttığı, yüzde uzama değerlerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Ancak jelatin konsantrasyonu aynı iken genipin konsantrasyonu artırıldığında mukavemet ve uzama değerlerinde pek fazla değişim olmadığı görülmüştür. Bu durumu açıklayabilmek için yapı içerisindeki jelatin konsantrasyonu artırılarak GJ₁G-OC₂, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü filmleri hazırlanmıştır (Çizelge 4.9). Yapıda genipin konsantrasyonun sabit tutularak jelatin konsantrasyonun artırılmasıyla filmlerin kopma anındaki uzama değerlerinin azalması, genipin ile jelatin arasındaki etkileşim artması ve buna bağlı olarak da film elastikiyetinin azalması ile açıklanabilir.

Çizelge 4.8. GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri

Film Kodları	Kopma Anında Mukavemet (MPa)	Kopma Anında Uzama (%)	Film Kalınlığı (µm)
GJ ₁ G-OC ₁	1	%105	500
GJ ₁ G-OC ₂	1.20	%94	510
GJ ₁ G-OC ₃	1.25	%92	470

Çizelge 4.9. GJ₁G-OC₂, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü filmlerin kalınlık, kopma anında mukavemet ve uzama değerleri

Film Kodları	Kopma Anında Mukavemet (MPa)	Kopma Anında Uzama (%)	Film Kalınlığı (µm)
GJ ₁ G-OC ₂	1.20	%94	510
GJ ₂ G-OC ₂	1.87	%86	480
GJ ₃ G-OC ₂	1.75	%74	650

4.9. Hazırlanan Ozonize Zeytinyağı ve Yara Örtü Filmlerinin Antimikrobiyal Duyarlılık Test Sonuçları

Çalışmada hazırlanan ozonize zeytinyağı ile G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu ozonize zeytinyağı içeren yara örtü örneklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasında Gram (+) bakteri olarak *S. aureus* ve Gram (-) bakteri olarak da *E. coli*, *P. auregonisa* kullanılmıştır. Analizlerde saf zeytinyağı emdirilen disk ile ozonize zeytinyağı içermeyen G ve GJ₁G-C₁ kodlu yara örtü film örneklerine ait diskler de kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Yara yeri enfeksiyonları, derinin herhangi bir nedenle fiziksel bütünlüğünün bozulması ve patojenlerin alttaki dokulara yerleşerek çoğalması sonucu oluşmaktadır. Yara yerindeki bakteri kolonizasyonunun literatürde polimikrobiyal etkisi nedeniyle her yaranın infekte olma riski bulunmaktadır. Yarada gram dokuda

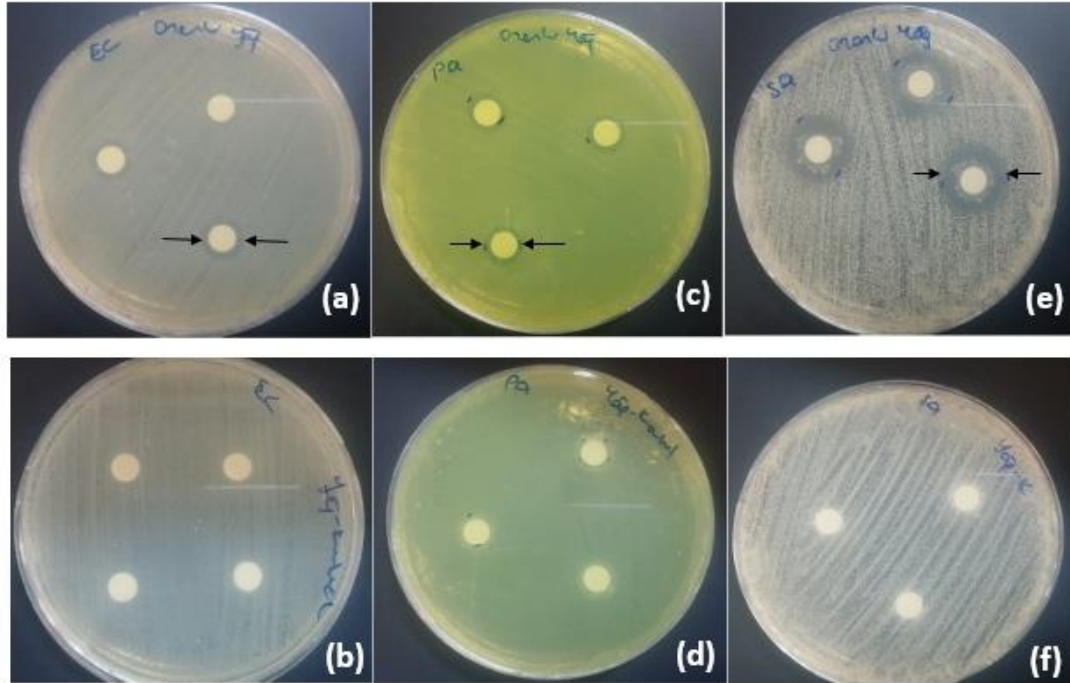
10⁵ CFU (koloni sayısı) /ml' den daha fazla sayıda mikroorganizma varsa yara enfekte kabul edilmektedir. Bakteriyel kaynaklı deri enfeksiyonlarının nedeni çoğunlukla gram-pozitif mikroorganizmalar olup, bu konuda ilk sırayı streptokoklar ve stafilokoklar almaktadır [179]. Gerçekleştirilen klinik çalışmalarda, deride enfeksiyonlu yara örneklerinden en sık izole edilen bakterilerin sırasıyla *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* olduğu bilinmektedir [230]. Sesli ve arkadaşlarının [231], Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ndeki izlenen hastalardan izole edilen patojen mikroorganizmaların dağılımlarını ve antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarını inceledikleri çalışmada en sık izole edilen bakterilerin sırasıyla *S. aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* olduğu görülmektedir. Aynı çalışmada, mikroorganizmaların kliniklere göre dağılımları incelendiğinde *S.aureus*' un tüm klinikler için cerrahi alan enfeksiyonuna neden olan ajanlar arasında ilk veya ikinci sırada yer aldığı tespit edilmiştir. Demir ve arkadaşları [232] yaptıkları klinik çalışmada bakteriyel deri enfeksiyonlarında en sık izole edilen patojen mikroorganizmaların *S. aureus* ve *S. pyogenes* olduğunu bulmuşlardır. Utlu ve arkadaşları [233] implanta bağlı bakteriyel enfeksiyonlardan en sık sorumlu iki bakterinin *S. aureus* ve *E. coli* olarak izole edildiğini tespit etmişlerdir.

Sentezlenen ozonize zeytinyağının ve hazırlanan yara örtü filmlerinin antimikrobiyal duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda ozonize zeytinyağı emdirilmiş disk ile yara örtü film örneklerine ait disklerin etrafında oluşan berrak zonlar, inhibisyonu yani mikroorganizmaların üremediği alanı göstermektedir (Şekil 4.27-28). Zon çapı inhibisyonun gözlemlendiği alanın çapı (disk çapı dahil) ölçülerek tanımlanmıştır. Hazırlanan yara örtü filmlerinden kesilen 6 mm çapındaki diskler için ortalama zon çapları Çizelge 4.10' da verilmiştir.

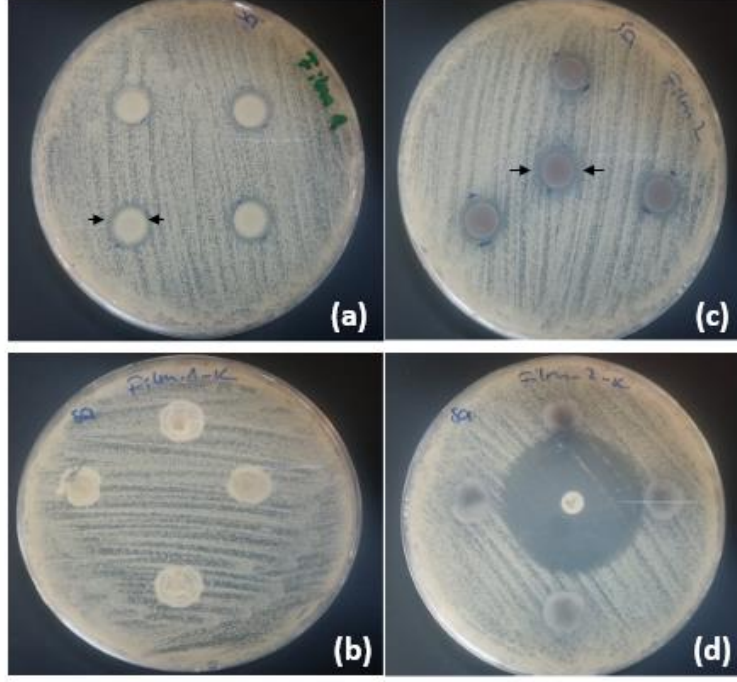
Çizelge 4.10. Ozonize zeytinyağı ve yara örtü film örneklerin farklı mikroorganizmalar üzerine etkileri sonucu ölçülen inhibisyon zon çapları

Numune	İnhibisyon zon çapları (mm)		
	<i>S.aureus</i> (ATCC 29213)	<i>P. aeruginosa</i> (klinik izolat)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)
Ozonize Zeytinyağı	18	11	11
Kontrol (zeytinyağı)	-*	9	-*
G-O ₂₂ kodlu film	11	-*	-*
Kontrol (G kodlu film)	-*	-*	-*
GJ ₁ G-OC ₁ film	12.5	-*	-*
Kontrol (GJG-C ₁ kodlu film)	-*	-*	-*

* - inhibisyon zonu bulunmamaktadır



Şekil 4.27. Ozonize zeytinyağı ve saf zeytinyağı (kontrol) emdirilmiş disklerin a,b) *E. coli* c,d) *P. aureginosa* e,f) *S. aures* mikroorganizmalarına etkisi sonucu gözlenen inhibisyon zonları



Şekil 4.28. Hazırlanan yara örtü film örneklerin *S. aureus* mikroorganizması üzerine etkileri sonucu gözlenen inhibisyon zonları **a,b)** G-O₂₂ ve kontrol filmi **c,d)** GJ₁G-OC₁ ve kontrol filmi

Alınan inhibisyon zon çapları ölçümlerine göre, sentezlen ozonize zeytinyağının tüm test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği ancak en güçlü etkiyi (Çizelge 4.10) *S.aureus* mikroorganizmasına karşı gösterdiği görülmüştür. Çalışmalarda kontrol grubu olarak kullanılan saf zeytinyağının *S.aureus* ve *E. coli* mikroorganizmalarına karşı inhibisyon zonu oluşturmadığı dolayısıyla antimikrobiyal bir etki göstermediği buna rağmen *P.aeruginosa* mikroorganizmasına üzerinde antimikrobiyal bir etki göstererek, ortalama 9 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Montevecchi ve arkadaşları, [107] disk difüzyon yöntemi kullanarak farklı seyrelme oranlarında hazırlanan (1:2-1:128) ozonlanmış yağ, % 0.2 klorheksidin diglukonat ve povidon iyodun *S. aureus* ve *P. gingivalis* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemişler ve sonuç olarak ozonlanmış yağın yüksek seyrelme oranlarında bile *S. aureus* ve *P. Gingivalis* mikroorganizmalarına karşı karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada ölçülen inhibisyon zon çapları karşılaştırıldığında ozonlanmış yağın, *S. aureus* üzerinde daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu görülmüştür. Sechi ve arkadaşları [234] broth dilüsyon yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada ozonlanmış ayçiçek yağının *S. aureus* gram (+) ve *S. epidermidis* gram (-) mikroorganizmalarına karşı aynı

duyarlılıkta antimikrobiyal etki gösterdiğini bulmuşlardır. Sechi, diğer bir çalışmada agar dilüsyon yöntemi kullanarak ozonlanmış ayçiçekyağının mycobacteria, staphylococci, streptococci, enterococci, pseudomonas mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmış ve ozonlanmış yağın tüm mikroorganizmalara karşı önemli derecede antimikrobiyal etki gösterdiğini ancak *Mycobacteria* mikroorganizmasına karşı hassasiyetinin daha fazla olduğunu göstermiştir [108]. Rodrigues (2000) ve Siqueira (2004) [107] yapılan çalışmalarında ozonlanmış ayçiçek yağının *S. aureus* mikroorganizmasına karşı ölçülen inhibisyon zonlarının sırası ile 42.4 mm ve 14 mm olduğu görülmektedir. Bu çalışmalarda ölçülen inhibisyon zonlarının aynı mikroorganizmalar üzerinde farklı değerlere sahip olmasının bir nedeni de çalışmalarda kullanılan ozonlanmış yağların farklı değerlerde peroksit sayısına sahip olmaları şeklinde açıklanabilir. Literatürde yüksek peroksit değerine sahip ozonlanmış yağların mikroorganizmalar üzerinde yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri açıklanmıştır [115, 117]. Díaz ve arkadaşları 360 ve 675 mmol-equiv /kg peroksit aralığında üretilen ozonlanmış ayçiçek yağının *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini mikro dilüsyon yöntemi ile incelemişler ve peroksit değeri arttıkça, her iki bakteri içinde büyümenin olmadığı minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerlerinin azaldığı görmüşlerdir. Aynı çalışmada *S. aureus* mikroorganizması için her iki peroksit değerine sahip ozonlanmış yağlarla yapılan testlerde MİK değerlerinin en düşük seviyede kalması, çalışmada kullanılan ozonlanmış zeytinyağının *S. aureus* mikroorganizmasına karşı daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğinin kanıtı olarak düşünülebilir. Moureu ve arkadaşları [187] 560-2680 mmol-equiv /kg aralığında peroksit değerlerine sahip ozonlanmış yağlar kullanarak *S. aureus*, *E. coli* ve *S. uberis* mikroorganizmaları için en uygun MİK değerlerini bulmaya çalışmışlardır. Çalışmada yüksek peroksit değerine sahip ozonlanmış yağın *S. aureus*, *E. coli* ve *S. uberis* mikroorganizmalarına karşı güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan mikroorganizma türünün ozonlanmış yağlara karşı hassasiyetlerinin farklı olabileceği açıklanmıştır. Skalska ve arkadaşları [235] yaptıkları çalışmada gram-pozitif bakterilerin ozonlanmış yağlara karşı olan dirençlerinin gram-negatif bakterilere göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Gram-negatif bakterilerin ozonlanmış yağlara karşı daha fazla direnç göstermesi bu bakterilerin hücre membranı etrafında hücre duvarına sahip

olmaları ile açıklanabilir. G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filmleri ortalama 11 mm ve 12.5 mm inhibisyon zon çapları ile sadece *S. aureus* mikroorganizması üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneği daha fazla ozonize zeytinyağı içerdiği için *S. aureus* mikroorganizmasına karşı daha büyük inhibisyon zon çapı oluştururken ozonize zeytinyağı içermeyen G ve GJ₁G-C₁ kodlu kontrol filmleri test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Şekil 4.28).

4.10. Ozonize Zeytinyağının Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi (İn-vitro sitotoksitite)

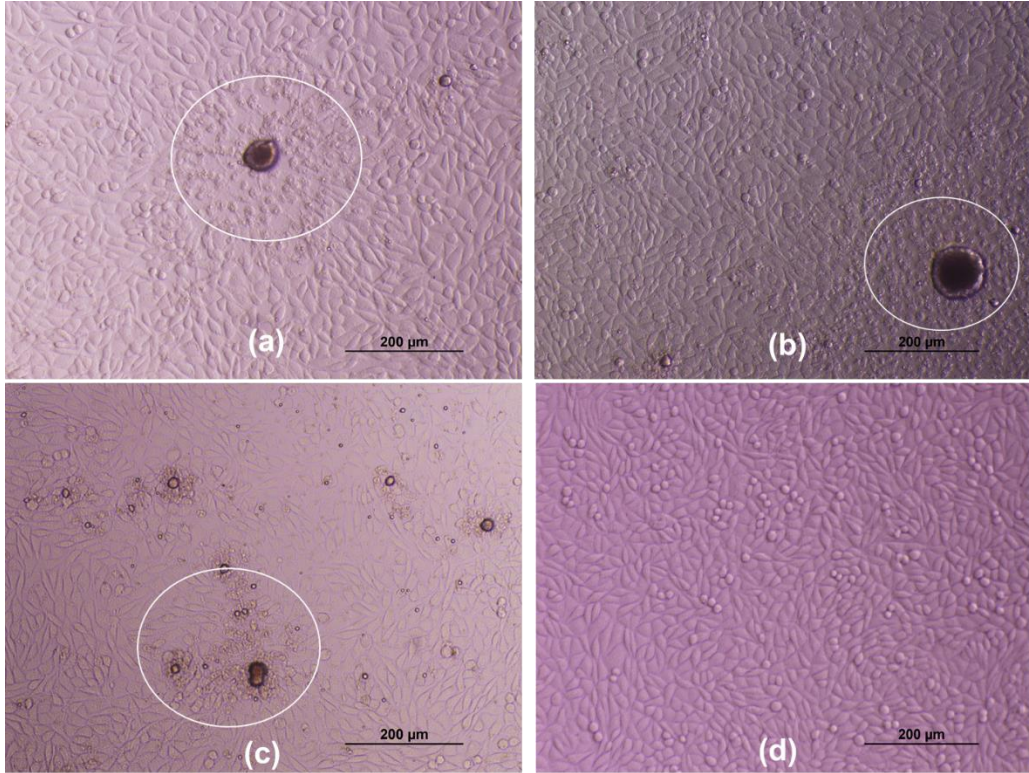
Ozonize zeytinyağının hücre canlılığının değerlendirilmesinde, %1 (v/v) DMSO içerisinde sırasıyla hacimce son konsantrasyon %1, %0.4 ve %0.1 olacak şekilde ozonize zeytinyağı örnekleri hazırlanmıştır. Çalışmalarda hücre üzerinde sitotoksik etki göstermeyen DMSO çözeltisi kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Besi ortamına alınan ozonize zeytinyağı örneklerinin canlı ve ölü hücreler için belirlenen konsantrasyon aralıkları Çizelge 4.11’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Saf ozonize zeytinyağının L929 hücreleri canlılığı üzerine etkisini gösteren konsantrasyon aralıkları

Konsantrasyon (%1(v/v) DMSO içinde)	Besi ortamındaki ozonize zeytinyağı konsantrasyon aralıkları (v/v)	
	Canlı Hücre İçin	Ölü Hücre İçin
%1	≤%0.01	≥%0.025
%0.4	≤%0.03	≥%0.04
%0.1	≤%0.025	≥%0.038

Çizelge 4.11’ de ozonize zeytinyağının DMSO içerisindeki konsantrasyonu %1’ den %0.4 (v/v)’ e düştüğünde canlı hücre için belirlenen maksimum ve ölü hücre için belirlenen minimum ozonize zeytinyağı konsantrasyon değerlerinin azaldığı görülmektedir. Ancak ozonize zeytinyağının DMSO içerisindeki konsantrasyonu %0.1 (v/v)’ ye düşürüldüğünde canlı ve ölü hücre için belirlenen konsantrasyon değerlerinde % 0.4 (v/v)’ e göre önemli derecede bir değişim gözlenmemiştir.

Mikroskop altında alınan görüntülerde hücre canlılığının olduğu konsantrasyon aralıklarında ozonize zeytinyağının disperse olmayan ve damlacıklar halinde toplandığı bölgelerde ölü hücrelerin varlığı da tespit edilmiştir (Şekil 4.29). Bunun nedeni hazırlanan ozonize zeytinyağının oldukça viskoz ve jel kıvamında bir yapıya sahip olmasıdır. Besi ortamında daha iyi dağılabilmesi için ozonize zeytinyağı saf zeytinyağı (ZO) ve gliserol (GO) ile %50 (v/v) oranında seyreltilmiştir. Hazırlanan bu dilüsyonların hücre canlılığı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için %1 (v/v) lik DMSO içerisinde sırasıyla %4, %2, %1, %0.4 ve %0.2 (v/v) olacak şekilde örnekler hazırlanmıştır. Besi ortamına alınan dilüsyon örneklerinin canlı ve ölü hücreler için belirlenen konsantrasyon aralıkları Çizelge 4.12' de verilmiştir.



Şekil 4.29. Saf ozonize zeytinyağının L929 hücreleri canlılığı üzerine etkisini gösteren optik görüntüleri **a)**%1 (v/v) **b)** %0.4 (v/v) **c)**%0.1(v/v) **d)** kontrol

Çizelge 4.12. Gliserol ve zeytinyağı ile seyreltilmiş ozonize zeytinyağının L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini gösteren konsantrasyon aralıkları

Besi ortamındaki ozonize zeytinyağı konsantrasyon aralıkları (% v/v)			
Dilüsyon	Ozonize zeytinyağı konsantrasyonları (%1(v/v) DMSO içinde)	Canlı Hücre İçin	Ölü Hücre İçin
ZO	%4	≤%0.5	≥%1
	%2	≤%0.5	≥%0.04
	%1	≤%0.5	≥%0.75
	%0.4	≤%0.15	-*
	%0.2	≤%0.075	-*
GO	%4	≤%0.5	≥%1
	%2	≤%0.5	≥%0.04
	%1	≤%0.75	-*
	%0.4	≤%0.15	-*
	%0.2	≤%0.075	-*

*(-) ölü hücre olmadığını göstermektedir

Çizelge 4.12' de ZO ve GO dilüsyonlarının % 1 ve % 0.4 seyrelme oranlarında canlı hücre için belirlenen konsantrasyonları sırasıyla ≤%0.5 ve ≤%0.15 (v/v) iken saf ozonize zeytinyağı için belirlenen canlı hücre konsantrasyon değerleri sırasıyla ≤%0.01 (v/v) ve ≤%0.03 (v/v) olarak daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni ozonize zeytinyağının seyreltilmesiyle vizkozitesinin azaltılarak besi ortamında daha iyi disperse olması ya da seyrelmesi ile toksik etkinin azaltılması olarak açıklanabilir.

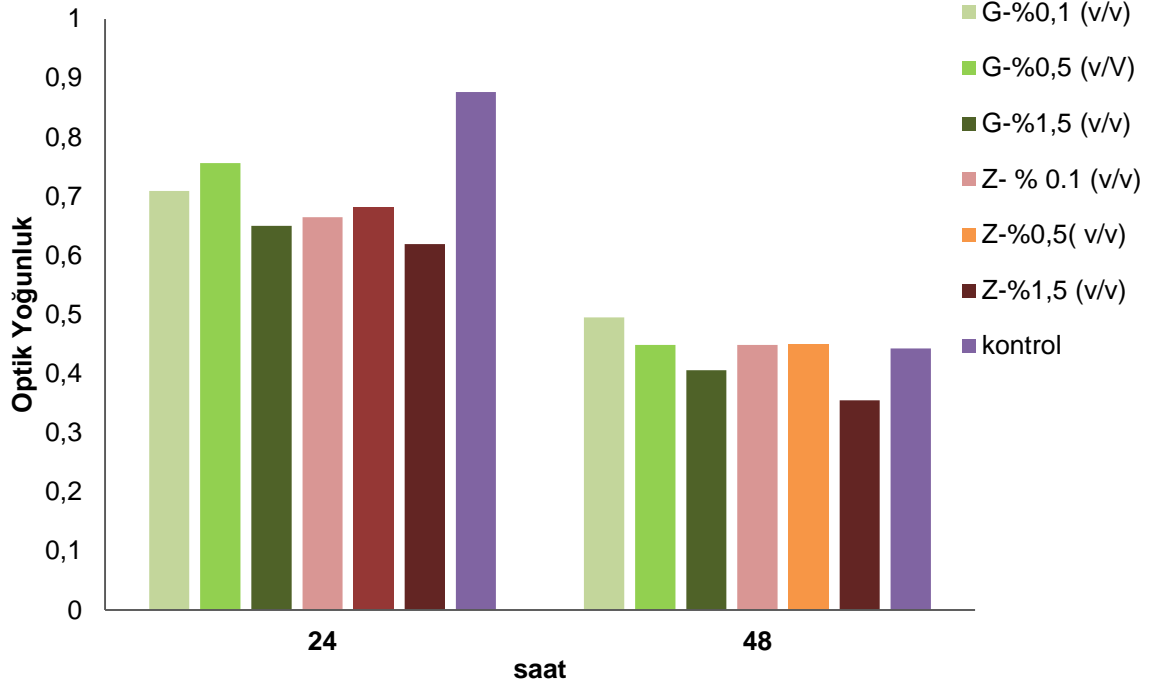
Çizelge 4.12' de ZO ve GO dilüsyonlarının besi ortamındaki canlı ve ölü hücre için belirlenen konsantrasyon aralıkları yaklaşık olarak birbirlerine yakındır. Ancak gliserol ile seyreltilmiş B dilüsyonu için, seyrelme oranı %1' lik konsantrasyonda A dilüsyonundan farklı olarak canlı hücre için belirlenen konsantrasyon aralığı

artmıştır. Bu durum gliserolün ozonize zeytinyağını DMSO içinde daha iyi disperse ettiği şeklinde açıklanabilir.

Sumer ve arkadaşlarının [236] kireçtaşı kaymağı ile zeytinyağı karışımının L929 hücreleri üzerindeki in-vitro sitotoksitesi ile antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmada, kireçtaşı kaymağının birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterirken fibroplast hücreler üzerinde toksik özellik gösterdiğini zeytinyağının ise kısıtlı antimikrobiyal aktivite gösterirken sitotoksik özelliğinin bulunmadığı görülmüştür. Aynı çalışmada kireçtaşı ve zeytinyağı belirli oranlarda karıştırıldığında ise karışımın sitotoksik özelliği azalırken antimikrobiyal etkisinin devam ettiği tespit edilmiştir.

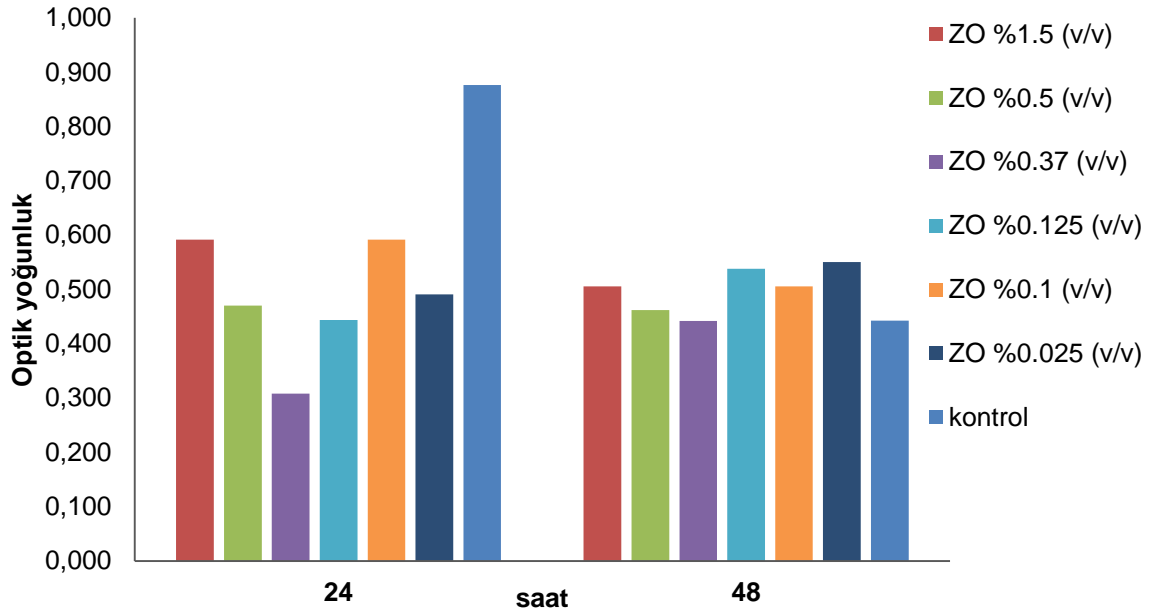
Canlı hücrelerin mitokondrisi, tetrazolyum bileşenini indirgeyerek formazan kristallerine dönüştürmektedir. MTT analizinde, oluşan bu kristaller çözündüğünde ortaya çıkan mor renkli çözeltinin optik yoğunluk değeri belirlenir. Elde edilen bu değer, üremesini devam ettiren canlı hücre miktarı ile doğru orantılıdır.

Yapılan in-vitro sitotoksitite ön çalışmaları (Bölüm 4.10) ışığında saf zeytinyağı, gliserol, ZO ve GO dilüsyonlarının % 0.1 (v/v) lik DMSO içinde hazırlanan %1 ve %0.4 (v/v) lik seyrelme oranlarındaki çözeltilerden son konsantrasyonları %0.08-0.1-0.125-0.375-0.5-1.5 (v/v) olacak şekilde besi yerine ekimler yapılmıştır. Besi yerine ekimi yapılan örneklerin L929 hücre profilasyonuna olan etkilerini kantitatif olarak belirleyebilmek amacıyla 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda örnekler MTT testi uygulanmıştır. Besi yerinde farklı konstrasyonlardaki saf zeytinyağı ve gliserol (Şekil 4.30' da) ile ZO ve GO dilüsyonlarının (Şekil 4.31-4.32) 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerini gösteren MTT test sonuçları göre; saf zeytinyağı ve gliserolün, 24 saat sonunda kontrole göre hücre canlılığını %70 oranında azalttığı ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu durum ilk 24 saat içinde hücrelerin zeytinyağı ve gliserol içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları ile açıklanabilir.

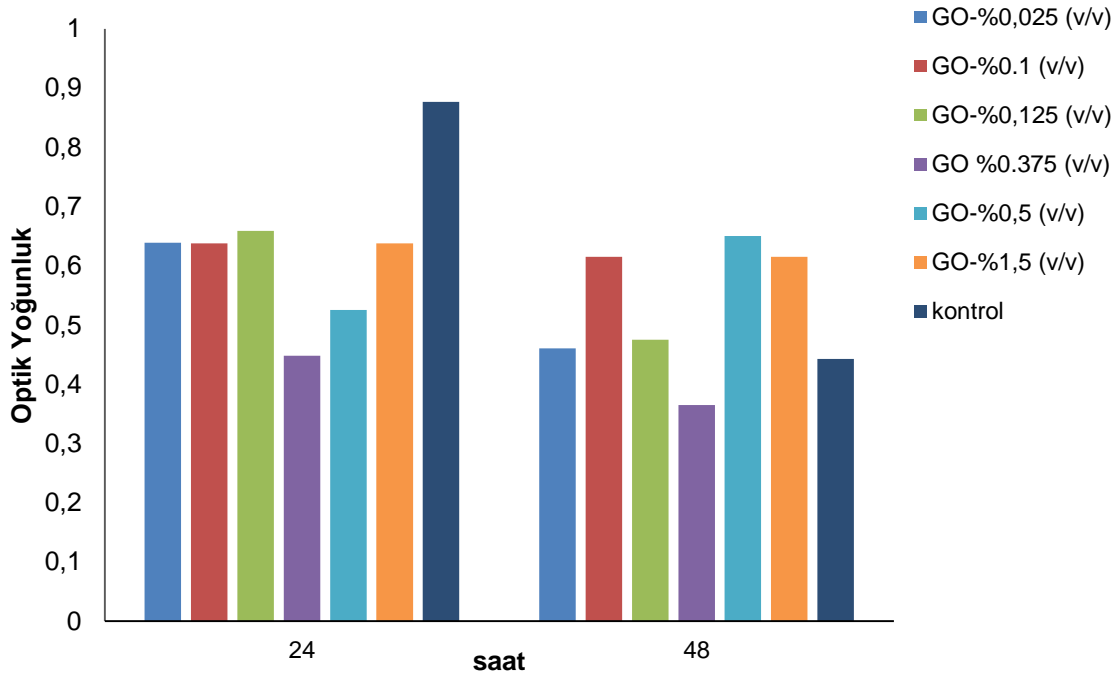


Şekil 4.30. Belirlenen konsantrasyonlarda saf zeytinyağı ve gliserol dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.

Benzer sonuçlar ZO ve GO dilüsyonlarına ait MTT analiz sonuçlarında da görülmektedir. Bu bileşenlerin de 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre hücre canlılığını minimum ve maksimum olarak %35 - %72 oranında azalttığı ve ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın hatta daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu durum, ilk 24 saat içinde hücrelerin ZO ve GO içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları, 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gözlenen kontrole göre daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile de hücrelerin çoğalmalarına neden oldukları için hücre yenileyici özellik taşıdıkları ile açıklanabilir (Şekil 4.31-32).



Şekil 4.31. Belirlenen konsantrasyonlarda ZO dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.



Şekil 4.32. Belirlenen konsantrasyonlarda GO dilüsyonlarının L929 hücrelerinin canlılığına ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.

Literatürde ozonlanmış yağların hücrelerin canlılığı üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği in vitro-sitotoksitite çalışmaları sınırlı sayıdadır. Kogawa ve arkadaşları baru ve keten tohumu yağları ile ayçiçek yağını farklı reaksiyon sürelerinde ozonladıkları çalışmada, ozonlanmış yağların tümör özelliğine sahip 6

neoplastik hücreleri ve tümör özelliği taşımayan NIH/3T3 fibroplast hücre hatları üzerinde in-vitro olarak sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada farklı peroksit değerlerine sahip ozonlanmış yağların hücre proliferasyonunda %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonları (IG50) <30 mg/ml olarak tespit edilmiştir.

4.11. Yara Örtü Filmlerin Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi (In Vitro Sitotoksitite)

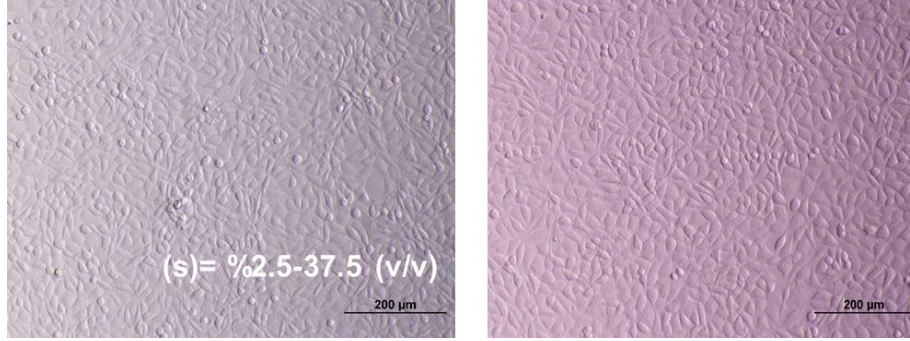
In vitro sitotoksitite testleri, test malzemesinin, hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve hücrelerin morfolojik özellikleri üzerine etkisinin kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği bir test yöntemidir. Çalışmada yara örtüsü filmlerin hücre canlılığının değerlendirilmesinde “ekstrakt test” metodu kullanılmıştır. Ekstrakt metodunda sıvı çözücü içerisinde materyalden çözünen bileşenlerin hücreler ile temas ettirilerek sitotoksitesisi incelenmektedir. Ekstraksiyon sıvısı olarak adlandırılan bu sıvı çözücüler serum, fizyolojik tuz solüsyonu veya diğer uygun çözücülerden biri olabilir.

Çalışmada yara örtüsü filmlerin hücre canlılığının değerlendirilmesinde L929 hücreleri kullanılmıştır. Şekil 4.33’ de sırasıyla 10, 15, 20 ml serum içinde 24 saat boyunca şişirilen G, G₁G-OC₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerin farklı seyrelme oranlarında kontrole karşı L929 hücre canlılığı üzerine etkisini gösteren optik görüntüler yer almaktadır. Alınan optik görüntülerde, serum içinde şişirilen ve farklı seyrelme oranlarda besi ortamına ekimi yapılan GO₂₂ ve G₁G-OC₂ kodlu yara örtü film ekstraktlarının, L929 hücrelerinin canlılığının üzerine sitotoksik bir etki göstermediği kısaca hücre canlılığının korunduğu görülmektedir.

Bajpai ve arkadaşları [211] yeni bir teknik ile mikro kristal selüloz yapıların kitosan içinde homojen dağılımını sağladıkları yara örtü filmleri hazırlamışlardır. Bu çalışmada yara örtü filmlerinin in vitro sitotoksitite testleri filmlerden %12.5, %25 ve %50 ekstraksiyon oranlarında örnekler hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Optik mikroskop altında alınan görüntüler sonucunda %12.5, %25 ve %50 ekstraksiyon oranlarında hücrelerin canlılıklarının korunduğu tespit edilmiş ve hazırlanan filmlerin sitotoksik özellik taşımadıkları sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada hazırlanan yara örtü filmlerine ait farklı ekstraksiyon oranlarındaki örneklerin yer aldığı besi ortamında L929 hücrelerin morfolojik yapılarının kontrol grubuna yakın olduğu ve hücrelerin canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir.

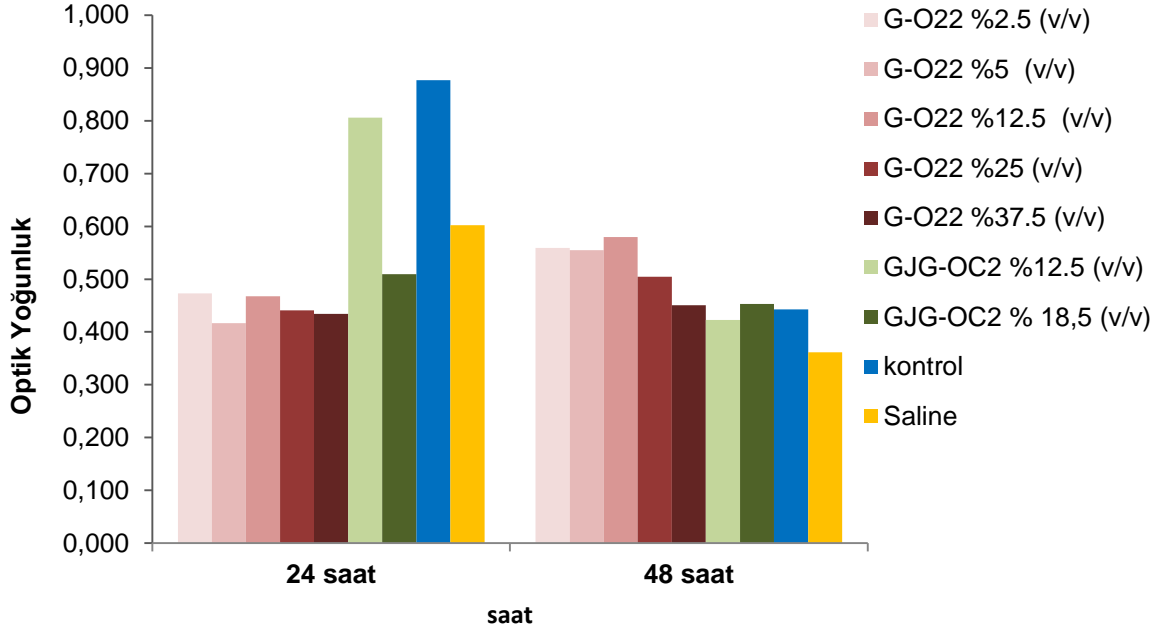
Belirtilen ekstraksiyon oranları için hücre ölümlerinin olmaması çalışmada hazırlanan yara örtüsü filmlerin sitotoksik etki göstermediklerinin bir kanıtıdır.



Şekil 4.33. 10, 15, 20 ml serum içinde 24 saat boyunca şişirilen yara örtü filmlerin kontrole (k) karşı farklı seyrelme oranlarında (s) L929 hücre canlılığı üzerine etkisini gösteren optik görüntüler

Yapılan in-vitro sitotoksitite ön çalışmaları (Bölüm 4.11) ışığında sırasıyla 10 ve 5 serum içinde 24 saat boyunca şişirilen ve farklı seyrelme oranlarda besi ortamına ekimi yapılan G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₂ kodlu yara örtü film ekstraktlarının L929 hücre profilasyonuna olan etkisini kantitatif olarak belirleyebilmek amacıyla 24 ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda MTT analizi uygulanmıştır. Şekil 4.33' de G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₂ kodlu farklı seyrelme oranındaki yara örtü film ekstraktlarının, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini gösteren MTT analiz sonuçları verilmiştir. Alınan MTT analiz sonuçlarından hazırlanan yara örtü filmlerinin 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre hücre canlılığını minimum ve maksimum olarak %47- %91 oranında azalttığı ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın hatta daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu durum ilk 24 saat içinde hücrelerin bu ekstraktları içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları, 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gözlenen kontrole göre daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile de hazırlanan yara örtü film ekstraktlarının hücrelerin çoğalmalarına neden oldukları için hücre yenileyici özellik taşıdıkları ile açıklanabilir (Şekil 4-34).

Buna göre hazırlanan yara örtü filmlerinin içerdiği etken maddeler nedeniyle hücre canlılığı üzerinde hiçbir toksik etki göstermediği hatta hücrelerin yenilenip çoğalması yönünde bir davranış sergiledikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.34. G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₂ kodlu farklı seyrelme oranlarındaki yara örtü film ekstraktlarının 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda L929 hücre profilasyonuna ilişkin altı biyolojik tekrarlı MTT analiz sonuçlarının kolon grafik ile gösterimi.

4.11. Hazırlanan Filmlerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi

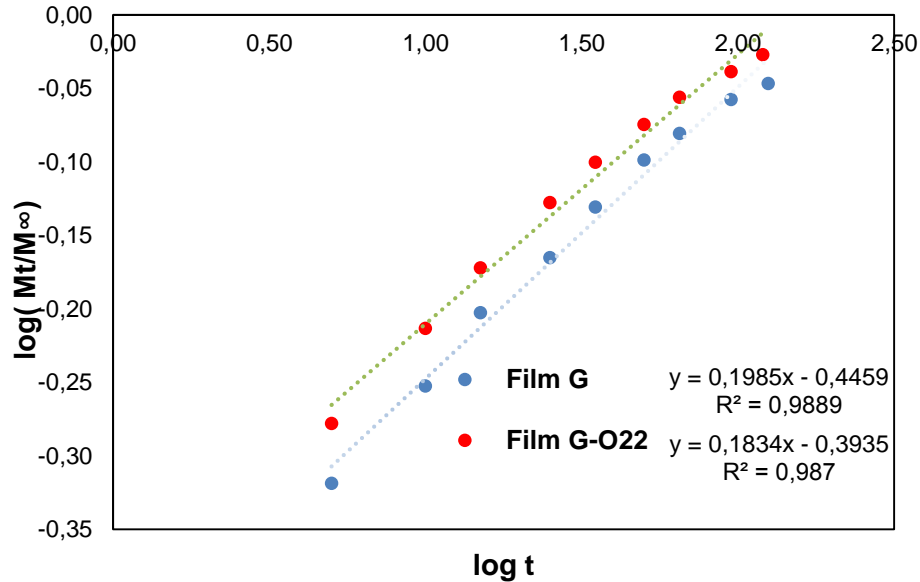
Literatürde doğal zamklar ile hazırlanmış tablet matrikslerin şişme ve kontrollü ilaç salınım kinetiğini inceleyen değişik modeller ortaya atılmış ve bu modellere uygun şişme kinetiği kuramları geliştirilmiştir. Çalışmada hazırlanan yara örtü filmlerin şişme davranışının modellenmesi için, serum sıvısının filmlere difüzyon türünün ve etkin olan kuvvetlerin anlaşılması gerekmektedir. Bu amaçla çalışmada G, G-O₂₂, GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂, GJ₁G-OC₃, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü filmlerin şişme davranışlarının hangi kinetiğe uyduğunu belirlemeye yönelik olarak bulgular, sıfır derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas eşitliklerine uygulanmış ve filmlere ait kinetik parametreler, korelasyon katsayıları (R²), yüzdece şişme ve kalınlık değerleri sonuçlar Çizelge 4.13' de verilmiştir.

Çizelge 4.13' de hazırlanan yara örtü film örnekleri için kinetik modellere ait korelasyon katsayıları karşılaştırıldığında tüm örnekler için Korsmeyer-Peppas modelinin en yüksek korelasyon katsayısı ile en iyi uyumu verdiği görülmektedir.

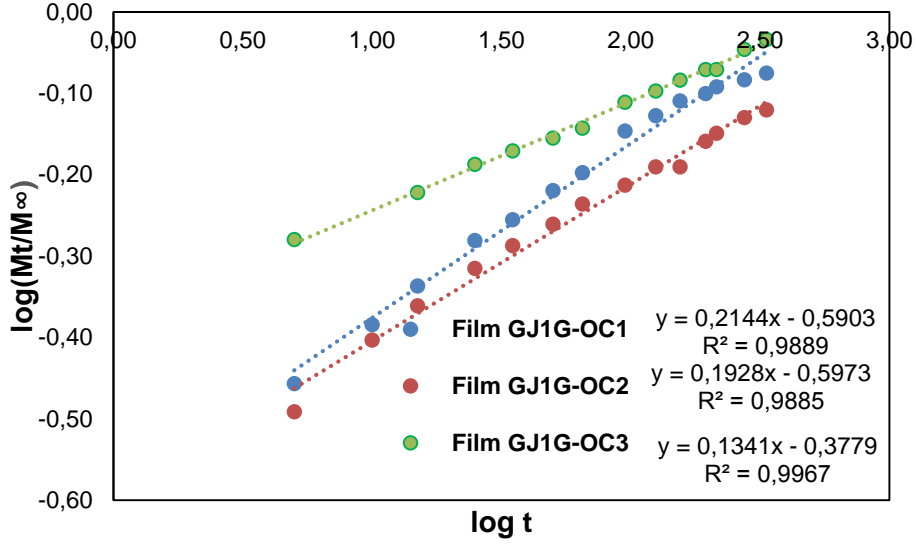
Çizelge 4.13. G, G-O₂₂, GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂, GJ₁G-OC₃, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü filmleri için sıfır derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine ait kinetik parametreler, yüzde şişme ve kalınlık değerleri

Film Kodları	Şişme %	Kalınlık μm	Korsmeyer-Peppas			0.derece	Higuchi
			Difüzyon üsteli (n)	k	R ²	R ²	R ²
G	361	400	0.19	0.35	0.9989	0.7678	0.9455
G-O₂₂	336	410	0.18	0.40	0.9870	0.7373	0.8383
GJ₁G-OC₁	233	500	0.21	0.25	0.9889	0.8576	0.9620
GJ₁G-OC₂	221	510	0.19	0.25	0.9885	0.8225	0.9340
GJ₁G-OC₃	138	470	0.13	0.42	0.9967	0.8700	0.9623
GJ₂G-OC₂	128	480	0,15	0.40	0.9884	0.7881	0.9605
GJ₃G-OC₂	183	650	0,16	0.34	0.9867	0.7881	0.9189

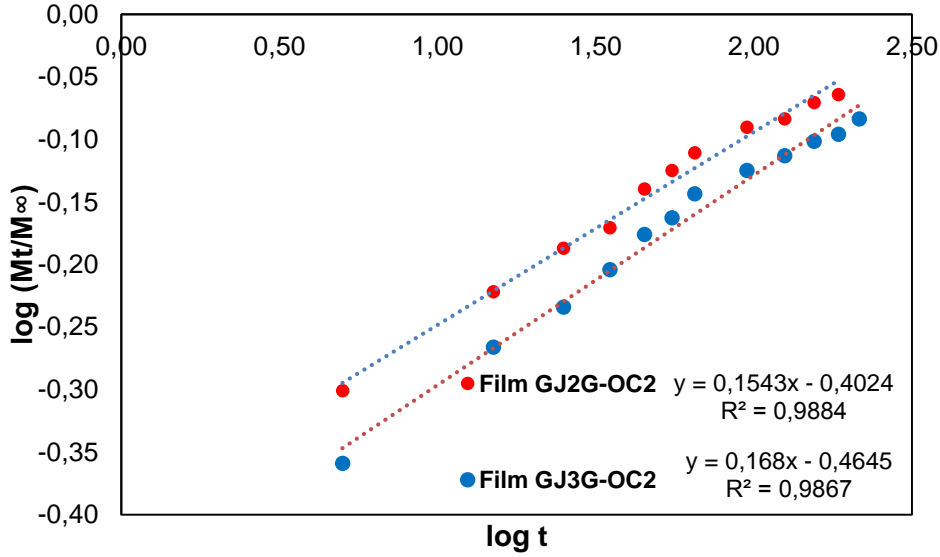
Şekil 4.35, 36 ve 37' de G, G-O₂₂, GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂, GJ₁G-OC₃, GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ kodlu yara örtü film örnekleri için Korsmeyer-Peppas eşitliği kullanılarak çizilen $\log(M_t/M_\infty)$ ' ye karşı $\log(t)$ grafikleri görülmektedir.



Şekil 4.35. G ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmleri için $\log(M_t/M_\infty) - \log(t)$ grafiği



Şekil 4.36. GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ yara örtü filmleri için log (M_t/M_∞) - log (t) grafiği



Şekil 4.37. GJ₂G-OC₂ ve GJ₃G-OC₂ yara örtü filmleri için log (M_t/M_∞) - log (t) grafiği

Çizelge 4.14 incelendiğinde hazırlanan yara örtü filmleri için Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre bulunan difüzyonel üsteli (n) değerleri 0.13 ile 0.20 arasındadır. Bu durum (n<0,5), serum sıvısının filmlere olan difüzyon hızının polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha yavaş olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla burada Fick tipi difüzyonun etkili olup şişme davranışının difüzyon kontrollü olduğu görülmektedir. Literatürde farmasötik teknoloji alanında Korsmeyer-Peppas kinetik modeli kullanılarak etkin madde salınımının incelendiği kitle, ksantan, karaya gibi biyoyumlu ve biyobozunur zamklar ile hazırlanan matriks tabletlerde de benzer sonuçlar gözlenmiştir. Matriks tabletlerden etkin

madde salınımı dozaj formu içerisinde kullanılan polimerin özellikleri ile doğru orantılıdır. Buradaki temel mekanizma sırasıyla polimerin sıvı yüzeyi ile temas etmesi, şişmesi, tablet yüzeyinde jel tabakasının oluşması, polimerin gevşeyerek yüzeyden erzyon ile ortama salınması şeklinde açıklanabilir. Hazırlanan yara örtü filmlerinde de buna benzer mekanizma ile yara iyileşmesinin gerçekleşmesi beklenmektedir.

Ullan ve arkadaşlarının [170], hidroksi propilmetilselüloz ve karaya zıncı kullanarak hazırladıkları tabletlerden losartan potasyumun kontrollü salınım kinetiğini Korsmeyer-Peppas kinetik modeli kullanarak inceledikleri çalışmada, difüzyon üsteli değerleri 0.22-0.59 aralığında bulunmuş ve tabletlerden difüzyon mekanizması Fick ve Fick olmayan difüzyon modeli ile açıklanmıştır.

Nep ve arkadaşlarının [237] grewia zıncı kullanarak hazırladıkları matriks tabletlerin farklı pH ortamlarında şişme davranışını inceledikleri çalışmada, hidrofilik matrislerin difüzyon üsteli değerleri 0.2- 0.4 aralığında bulunmuş ve hazırlanan matrikslerden difüzyon mekanizması Fick tipi difüzyon modeli ile açıklanmıştır. Bajpai ve arkadaşları [211] mikro kristal selüloz yapıların kitosan içinde homojen dağılımı ile hazırladıkları yara örtü filmlerinde şişme davranışını Korsmeyer-Peppas kinetik modeli kullanarak incelemişler ve difüzyon üsteli değerlerini 0.483-0.369 bularak difüzyon mekanizmasını Fick tipi olarak belirlemişlerdir. Çapraz bağlama ajanının konsantrasyonun artırılmasıyla hazırlanan GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ filmlerin difüzyon üstelinin sırasıyla azaldığı görülmektedir. Muhammad ve arkadaşlarının [238] çapraz bağlama ajanı konsantrasyonun üçlü ko-polimer sistemlerin şişme kinetiği üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada ise etilen glikol-dimetakrilat çapraz bağlayıcının konsantrasyonun artırılmasıyla sistemin difüzyon üstelinin 0.65 değerinde 0.47 değerine düştüğü saptanmıştır.

Bajpai ve arkadaşlarının [239] poli(akrilamid-ko-sitiren) ve polivinilalkol kullanarak hazırladıkları yapıda çapraz bağlayıcı ajan konsantrasyon 0.19–0.38 mM aralığında değişirken difüzyon üsteli de 0.36-0.18 aralığında hesaplanmıştır. Polimer yapısında çapraz bağlama ajanının derecesi arttırıldıkça suyun polimer içerisine difüzyon hızı azalmış böylece sınırlayıcı basamak olarak etkinliği artmıştır.

5. SONUÇLAR

Sentezlenen ozonize zeytinyağının karakterizasyonunda FT-IR, ¹H-NMR, GC-MS kullanılarak yapısal analizler gerçekleştirilmiş ve peroksit sayısı, antimikrobiyal aktivite ve in-vitro sitotoksitite testleri yapılmıştır. Çalışmada alınan sonuçlar aşağıda sırasıyla özetlenmiştir.

1. Sentezlenen ozonize zeytinyağı için alınan FT-IR spektremunda 1742 cm⁻¹ de geniş bir absorpsiyon bandı görülürken, ticari ozonize yağ da bu band 1743 cm⁻¹ de daha keskin bir pik olarak görülmektedir. Literatürde yağların ozonlanma sürelerinin artması ile 1740 cm⁻¹ deki metil ester yapıda yer alan karbonil gruplarına ait bandların genişlediği ve 1700 cm⁻¹ 'de ise yeni bir pikin oluştuğu bildirilmiştir. Sentezlenen ozonize zeytinyağında 1742 cm⁻¹deki geniş bandın yanında 1702 cm⁻¹'de yeni bir bandın oluştuğu da görülmektedir. Sadece sentezlenen üründe görülen 1100 cm⁻¹'deki keskin bandın artan ozonlanma süresi ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür.

2. Çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağının karakterizasyonu için alınan ait ¹H-NMR spektrumlarında 9.71 ve 2.5 ppm'deki sinyallerin 1,2,4-trioksolan, aldehit ve α-metilen grubuna ait sinyaller olduğu ve literatürde bu sinyallerin ozonlanmış yağlar için alınan sinyaller ile benzer olduğu görülmüştür. Sentezlenen ozonize zeytinyağı için alınan ¹H-NMR spektrumda 5.11–5.08, 1.63 ve 1.35 ppm' lerde yüksek, 5.29, 2.72 ve 2.03–1.96 ppm' lerde düşük sinyaller alınırken 5.35 ve 2.76 ppm' de hiç sinyal alınmadığı görülmektedir. Bu sonuçlar sentezlenen ozonize zeytinyağında çift bağların ozon gazı ile tamamen reaksiyona girmiş olduğunu ve böylece istenilen kalitede ürün elde edildiğini göstermektedir.

3. GC-MS analizi sonucunda sentezlenen üründe hiç oleik asite ait pik görülmemesi çift bağların tamamen kaybolduğunun ve ozon gazının çift bağlar arasında tamamen stabil hale getirildiğinin kanıtıdır. Sentezlenen ozonize zeytinyağının ticari ürüne nazaran çok yüksek değerde nonanal ve nonanoik asit içerdiği buna rağmen ticari ürünün hiç nonanoik asit içermediği görülmektedir.

4. Çalışmada üretilen ozonize zeytinyağı saf zeytinyağından ve ticari ozonize zeytinyağından daha yüksek viskositeye sahip, jel kıvamında ve beyaz renktedir. Çalışmada özel olarak tasarımı yapılmış reaktörde üretilen ozonize zeytinyağının

24 saatlik reaksiyon süresi kullanılarak yapılan iyodimetrik analiz sonucunda yaklaşık 2700-2800 mEq O₂/kg yağ aralığında bir yüksek bir peroksit değerine sahip olduğu görülmektedir. Sentezlenen ozonize zeytinyağının %50 (v/v) oranında zeytinyağı ile seyreltilmesi ile hazırlanan numunede peroksit sayısında herhangi bir değişim görülmemiştir. Bu durum peroksit sayının yağların sadece ozonlanma reaksiyonu sırasında reaksiyonu etkileyen parametrelerin değiştirilmesiyle değişebileceğini göstermektedir.

5. Çalışmada sentezlenen ozonize zeytinyağının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde Gram (+) bakteri olarak *S. aureus* ve Gram (-) bakteri olarak da *E. coli*, *P. auregonisa* kullanılmıştır. Sentezlenen ozonize zeytinyağının tüm test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği ancak en güçlü etkiyi sahip olduğu 18 mm zon çapı ile yaralardan en sık izole edilen *S.aureus* mikroorganizmasına karşı gösterdiği görülmüştür.

6. Ozonize zeytinyağının hücre canlılığının değerlendirilmesinde, %1 (v/v) DMSO içinde çözünen ozonize zeytinyağının mikroskop altında alınan görüntülerinde hücre canlılığının olduğu konsantrasyon aralıklarında ozonize zeytinyağının disperse olmayan ve damlacıklar halinde toplandığı bölgelerde ölü hücrelerin varlığı tespit edilmiştir. Bu nedenle besi ortamında daha iyi dağılabilmesi için ozonize zeytinyağı saf zeytinyağı (ZO) ve gliserol (GO) ile %50 (v/v) oranında seyreltilmiştir.

7. Besi yerinde farklı konstrasyonlardaki saf zeytinyağı ve gliserol dilüsyonlarının 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerini gösteren MTT test sonuçları göre; saf zeytinyağı ve gliserolün, 24 saat sonunda kontrole göre hücre canlılığını %70 oranında azalttığı ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu durum ilk 24 saat içinde hücrelerin zeytinyağı ve gliserol içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları ile açıklanabilir.

8. Besi yerinde farklı konstrasyonlardaki ZO ve GO dilüsyonlarının 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında L929 hücrelerinin canlılığı üzerine etkilerini gösteren MTT test sonuçları göre; ilk 24 saat içinde hücrelerin ZO ve GO içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları, 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında

gözlenen kontrole göre daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile de hücrelerin çoğalmalarına neden oldukları için hücre yenileyici özellik taşıdıkları ile açıklanabilir.

Çalışmada hazırlanan yara örtü filmleri için ilk olarak en uygun bileşen konsantrasyonunun belirlenmesine yönelik ön çalışmalara yer verilmiştir. Uygun bileşen konsantrasyonlarında hazırlanan yara örtü filmlerinin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel grupların aydınlatılması ve sentez parametrelerinin yapıya olan etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla, FT-IR, TGA, GC-MS, ¹H-NMR ve SEM kullanılarak yapısal karakterizasyon, mekanik test, jelatin model taklit, yara modeli taklit, peroksit sayısı tayini, şişme ve kinetik model, antimikrobiyal ve in-vitro sitotoksitite çalışmalarıyla da diğer karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

1. Hazırlanan yara örtü filmlerde yapılan ön denemeler sonucunda kitre için %2 (w/v) olarak belirlenen konsantrasyonun homojen görüntüde filmlerin hazırlandığı en uygun ve en yüksek konsantrasyon olduğuna karar verilmiştir.

2. Hazırlanan yara örtü filmlerde yapılan ön denemeler sonucunda ozonize zeytinyağı/gliserol (v/v) oranının ≤ 1 olduğu durumlarda ozonize zeytinyağının hazırlanan film yapısı içerisinde iyi bir şekilde dağıldığı düşünülmektedir.

3. Hazırlanan yara örtü filmlerde yapılan ön denemeler sonucunda değişen oranlarda karboksimetil selüloz/kitre zımkı, aljinat/kitre ve jelatin/kitre (w/w) biyopolimer karışımlarının kullanılmasının hazırlanan filmlerin fiziksel özelliklerini değiştirmedığı tespit edilmiştir. Biyopolimer karışımları ile hazırlanan filmlerin serum sıvısı içerisinde parçalanma sürelerinin sadece kitre ile hazırlanan filmler ile aynı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda filmler hazırlanırken kitre ile birlikte yapısında aminoasit grupları bulunan doğal bir biyopolimer olan sığır jelatini kullanılarak genipinin bu gruplar üzerinden inter ve intra moleküler yolla kimyasal olarak çapraz bağ yapması sağlanmıştır.

4. Çalışmamızda ozonize zeytinyağının film içinde yapısal olarak bozunmasını önlemek ve filmlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini arttırmak için kurutma sıcaklığı 35 °C olarak belirlenmiştir.

5. FT-IR spektrumunda kitrenin yapısında bulunan $-CH_3$, 1731 ve 1630 cm^{-1} 'de bulunan pikler $-COO^-$ gruplara ait karakteristik pikleri göstermektedir. Yapıda

bulunan karboksilik asit ($-\text{COO}^-$) grupları d-galakturonik asitin varlığını işaret etmektedir

5. % 2 (w/v) kitre, % 0.6 (w/v) jelatin ve gliserol ile hazırlanan JG kodlu film spektrumunda belirlenen değişimlerin kitrede bulunan negatif yüklü karboksilik grupları ($-\text{COOH}$) ile jelatinde bulunan serbest pozitif yüklü gruplar ($-\text{NH}_2$) arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir.

6. G-O₁₂, G-O₂₂ ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmleri için alınan FT-IR spektrumlarında gliserol konsantrasyonunun artırılması ile 3000-3500 cm^{-1} aralığında bulunan O-H gruplarına ait piklerin yoğunluğunun arttığı görülmektedir. Bu durum gliserol ile kitrede bulunan -OH grupları arasında oluşan hidrojen bağlarının sayısındaki artış ile açıklanabilir.

7. Çapraz bağlama işlemi ile hazırlanan yara örtü filmlerde 1630–1640 cm^{-1} band aralığında oluşan amid I ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{N}$) ve 1540–1550 cm^{-1} aralığında yer alan amid II ($\text{N}-\text{H}$) absorpsiyon bantlarına ait pik yoğunluklarının arttığı görülmektedir.

8. Genipinin jelatine bağlanmasıyla ortaya çıkan heterosiklik yapıdaki amid grupları nedeniyle çapraz bağlayıcı ajan içeren yara örtü filmlerinde jelatin konsantrasyonunun artmasıyla amid I ve amid II band yoğunluklarının arttığı görülmektedir.

9. G kodlu yara örtü film örneğine ait TGA eğrisinde 3 adet bozunma basamağı görülmektedir. DTG termogramında endotermik pik sıcaklıklarının sırası ile 85, 230 ve 355 °C olduğu görülmektedir.

10. Ozonize zeytinyağı kullanılarak hazırlanan G-O₂₂ kodlu yara örtü filmi örneğinde 4 ayrı bozunma basamağı gözlemlenmiştir. G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin termal sıcaklıklardaki değişimler dikkate değer düzeyde olmadığı için ozonize zeytinyağı eklenmesiyle filmlerin termal kararlılığının değişmediği düşünülmektedir.

11. Genipin kullanarak hazırlanan GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneğine ait TGA termogramında 4 basamaklı bozunma görülmektedir. Çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği ile karşılaştırıldığında son endotermik pik sıcaklığının genipin eklenmesiyle 341 °C' den 401 °C' ye yükseldiği, TGA eğrisinin ise genişlediği görülmektedir. Bu sonuçlar çapraz bağlayıcı ajan kullanımı ile yara örtü filmlerinin termal stabilitesinin önemli ölçüde arttığının bir kanıtıdır.

12. Çalışmada sentezlenen G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneğinin peroksit değerlerinin belirlenmesi amacıyla çözücü olarak serum ve asetik asit/kloroform kullanılarak iyodimetrik metot ile 24 saatlik reaksiyon süresince ön denemeler gerçekleştirilmiştir. G-O₂₂ kodlu yara örtü film örneği için harcanan titrant hacimleri karşılaştırıldığında serum içinde harcanan titrant hacimlerin daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeni sulu ortamda lipid oksidasyonun birincil ürünü olan hidroperoksitler kolaylıkla aldehid ve alkol içeren ikincil oksidasyon ürünlerine daha hızlı parçalanmış olabilirler.

13. Yara örtü filminin asetik asit/kloroform ile temas ettiği süre arttıkça salınan yağ miktarı artmış ve buna bağlı olarak peroksit değeri ile doğru orantılı olarak harcanan titrant hacmi de zamanla artış göstermiştir.

14. G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örnekleri için peroksit değerleri sırasıyla 793 ve 379 mEq O₂/kg yağ olarak tespit edilmiştir. 6 hafta boyunca hem ışık altında hem karanlıkta bekletilen GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneklerinin peroksit sayısı değerlerinin değişmediği sonuç olarak çalışmada hazırlanan filmlerin farklı saklama koşullarında peroksit değerlerini koruyabildikleri tespit edilmiştir. Çalışmamızda hazırlanan filmlerin 793-379 mEq O₂/kg yağ aralığında sahip oldukları peroksit değerlerinin yara iyileştirmesi için yeterli olduğu düşünülmektedir.

15. Ozonize zeytinyağının film içerisinde konsantrasyonun %1'den, %2' ye (v/v) çıkarılması ile yüzeyde ve kesit alanlarında mikro gözenekli yapıların oluştuğu ve yapıların hem yüzeyde hem de kesit alanında iyi olarak dağıldığı görülmektedir.

16. SEM analiz sonuçlarından hazırlanan yara örtü filmlerde kullanılan genipinin konsantrasyonunun arttırılması ile oluşan yeni bağların birbirlerine yaklaşarak kesit alan morfolojisini daha sıkı bir yapıya dönüştürdüğü tespit edilmiştir. Bu durumun, hazırlanan yara örtü filmlerin mekanik olarak dayanıklılığını arttırarak filmlerin parçalanma sürelerinin uzamasına yardımcı olacağı düşünülmektedir.

17. Jelatin model taklit analizleri sonucunda G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin 24 saat içinde en fazla suyu absorplayarak 1.18 oranında genleştiği 72 saat sonunda viskozitesi yüksek jel kıvamında ürüne dönüştüğü görülmektedir. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin 72 saat sonunda jelatin yüzeyine yapışmadığı ve kolay bir şekilde yüzeyden uzaklaştırılabildiği görülmüştür.

18. Et üzerinde gerçekleştirilen yara yüzeyi yaklit analizi sonucunda çok hızlı şişen G-O₂₂ kodlu yara örtü filminin 24 saatten önce yara yüzeyinden değişim yapılarak ya da parçalanması halinde yara yüzeyinden serum çözeltisi ile yıkanarak uzaklaştırılabileceği, GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filminin ise 72 saate kadar yara üzerinde kalabilecek şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir. Filmlerin yara yüzeyini uygun şekilde kapatması ile ozonize zeytinyağının homojen bir şekilde yara yüzeyinde dağılması sağlanarak hızlı bir yara iyileşmesi gerçekleştirileceği düşünülmektedir.

19. Hazırlanan G, G-O₁₂ ve G-O₂₂, kodlu yara örtü filmlerin yapılan şişme deneyleri sonucunda, G kodlu yara örtü filminde 6 saat sonunda maksimum % şişme değerine (%360) ulaşılmış ve bu saatten sonra erozyon nedeniyle ağırlık ölçümü yapılamamıştır. Yapısında ozonize zeytinyağı bulunan G-O₁₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerinde maksimum % şişme değerleri sırasıyla %350 ve %336 olarak bulunmuştur. Bu durum yara örtü filminin yapısında bulunan ozonize zeytinyağının filmlerin hidrofobisini arttırması dolayısıyla buna bağlı olarak absorplanan serum miktarının azalması olarak açıklanabilir.

20. Farklı genipin konsantrasyonlarında hazırlanan GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerinde, artan genipin konsantrasyonu ile azalan şişme denge değerleri sırasıyla % 233, % 221 ve % 138 olarak belirlenmiştir. Filmlerin serum içerisinde kalma ve erozyona uğrayarak parçalanma süreleri ise sahip oldukları sıkı ağ yapısı dolayısıyla artmıştır. Yüksek genipin konsantrasyonu ile hazırlanan GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerinin 5 güne kadar erozyona uğramadan kaldığı görülmüştür. Çapraz bağlayıcı ajan kullanılarak hazırlanan yara örtü filmlerinin orta ve düşük eksudalı yaralar için kullanılabileceği düşünülmektedir.

21. Jelatin konsantrasyonunun arttırılması ile hazırlanan yara örtü filmlerinde katı madde miktarındaki artışa bağlı olarak filmlerin sıvı absorplama kapasiteleri artmıştır. Artan jelatin konsantrasyonu ile şişme denge değerleri de sırasıyla % 128 ve % 183 olarak artış göstermiştir.

22. Hazırlanan yara örtü film örnekleri için Korsmeyer-Peppas modelinin en yüksek korelasyon katsayısı ile en iyi uyumu verdiği görülmektedir. Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre bulunan difüzyonel üsteli (n) değerleri 0.13 ile 0.20

arasındadır. Bu durum ($n < 0,5$), serum sıvısının filmlere olan difüzyon hızının polimer zincirlerinin gevşeme hızından daha yavaş olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla burada Fick tipi difüzyonun etkili olup şişme davranışının difüzyon kontrollü olduğu görülmektedir.

23. Ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun sabit tutularak gliserol konsantrasyonunun arttırıldığı çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G-O₂₁, G-O₂₂, ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmlerinde kopma anında uzama değerleri artarken mukavemet değerlerinin azaldığı görülmektedir

24. Gliserol konsantrasyonu sabit tutularak ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun arttırıldığı çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G, G-O₁₂, G-O₂₂, GJ₁ ve GJ₁-O₂₂ kodlu yara örtü film örneklerinde kopma anındaki uzama değerlerinin belli bir ozonize zeytinyağı konsantrasyonuna kadar arttığı daha sonra ise azaldığı mukavemet değerlerinin ise artan ozonize zeytinyağı konsantrasyonu ile azaldığı görülmektedir.

25. Ozonize zeytinyağı konsantrasyonunun sabit tutularak gliserol konsantrasyonunun arttırıldığı çapraz bağlayıcı ajan içermeyen G-O₂₁, G-O₂₂, ve G-O₂₄ kodlu yara örtü filmlerinde kopma anında uzama değerleri artarken mukavemet değerlerinin azaldığı görülmektedir.

26. Kitre ile hazırlanan G kodlu yara örtü filmi ile kitre ve jelatin ile hazırlanan GJ₁ kodlu yara örtü filminin mekanik test sonuçları karşılaştırıldığında sırasıyla mukavemet değerlerinin azaldığı ancak kopma anındaki uzama değerlerinin arttığı görülmektedir.

27. Çapraz bağlayıcı ajan olarak genipinin kullanıldığı GJ₁G-OC₁, GJ₁G-OC₂ ve GJ₁G-OC₃ kodlu yara örtü filmlerinde artan genipin konsantrasyonu ile filmlerin belli bir genipin konsantrasyonuna kadar kopma anındaki mukavemet değerlerinin arttığı, yüzdece uzama değerlerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Ancak jelatin konsantrasyonu aynı iken genipin konsantrasyonu arttırıldığında mukavemet ve uzama değerlerinde pek fazla değişim olmadığı görülmüştür.

28. Hazırlanan yara örtü filmlerinde genipin konsantrasyonunun sabit tutularak jelatin konsantrasyonunun arttırılmasıyla filmlerin kopma anındaki uzama değerlerinin azalması, genipin ile jelatin arasındaki etkileşim artması ve buna bağlı olarak da film elastikiyetinin azalması ile açıklanabilir.

29. Hazırlanan G-O₂₂ ve GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü filmleri ortalama 11 mm ve 12.5 mm inhibisyon zon çapları ile sadece *S. aureus* mikroorganizması üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. GJ₁G-OC₁ kodlu yara örtü film örneği daha fazla ozonize zeytinyağı içerdiği için *S. aureus* mikroorganizmasına karşı daha büyük inhibisyon zon çapı oluştururken ozonize zeytinyağı içermeyen G ve GJ₁G-C₁ kodlu kontrol filmleri test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

30. Çalışmada yara örtüsü filmlerin hücre canlılığının değerlendirilmesinde L929 hücreleri kullanılmıştır. 10, 15, 20 ml serum içinde 24 saat boyunca şişirilen G, GJ₁G-OC₂ ve G-O₂₂ kodlu yara örtü filmlerin farklı seyrelme oranlarında kontrole karşı L929 hücre canlılığı üzerine etkisini gösteren optik görüntülerde farklı seyrelme oranlarında besi ortamına ekimi yapılan GO₂₂ ve GJ₁G-OC₂ kodlu yara örtü film ekstraktlarının, L929 hücrelerinin canlılığının üzerine sitotoksik bir etki göstermediği kısaca hücre canlılığının korunduğu görülmektedir.

31. Alınan MTT analiz sonuçlarından hazırlanan yara örtü filmlerinin 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kontrole göre hücre canlılığını minimum ve maksimum olarak %47- %91 oranında azalttığı ancak 48 saat sonunda kontrol grubuna yakın hatta daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Bu durum ilk 24 saat içinde hücrelerin bu ekstraktları içeren yeni besi yeri ortamına adapte olmaya çalışmaları, 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında gözlenen kontrole göre daha yüksek optik yoğunluk değerleri ile de hazırlanan yara örtü film ekstraktlarının hücrelerin çoğalmalarına neden oldukları için hücre yenileyici özellik taşıdıkları ile açıklanabilir.

6. ÖNERİLER

Tez kapsamında sentezlenen ve hazırlanan yara örtü filmlerinde ilk kez etken madde olarak kullanılan ozonize zeytinyağının fiziksel ve kimyasal karakterizasyonunda ideal ozonlanma değerleri arasında olduğu bulunmuş ve ideal ozonlama süresi içinde elde edilen ürünlerin lokal olarak anaerobik enfeksiyonlara, yanıklara, dekübit ülserlere fistül ve fungal enfeksiyonlarına, ekzemalara, zona gibi dermatolojik lokal deri enfeksiyonları gibi birçok hastalığa iyi geldiği ve hücrelerin yenilenmesinde de rol aldığı bildirilmektedir.

Ülkemizde birçok yerden çok kolay temin edilen ve çeşitli hastalıklarda kullanılan çok sayıda ticari ürün bulunmaktadır. Yaptığımız incelemelerde bu ürünlerin başta peroksit değerleri olmak üzere fiziksel ve kimyasal özelliklerine dair bilgilere rastlanılmamaktadır. Bu tür ürünlerin karşılaştırmalı biyoyararlanımları invitro ve in vivo yöntemlerle değerlendirilmekte ancak in vivo çalışmalardan önce mutlaka in vitro çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Tez kapsamında ilk kez hazırlanan yara örtü filmlerinin in vitro çalışması tamamlanmış olup bundan sonraki aşamada in vivo çalışmalara geçilecektir.

KAYNAKLAR

- [1] Harper, D., Young, A., McNaught, C., The Physiology Of Wound Healing, *Surgery (Oxford)*, 32(9), 445 -450, **2014**.
- [2] Díaz, M. F., Hernández, F., Ledea, O., Sazatornil, J. A. G., Moleiro, J., *H-NMR Study of Methyl Linoleate Ozonation*, in *Ozone: Science & Engineering*, 121-126, **2003**.
- [3] Fleck, C. A., Why "Wet to Dry"?, *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists*, 1(4), 109 -13, **2009**.
- [4] Kurtoğlu, A. H., Karataş, A., Current Approaches to Wound Therapy: Modern Wound Dressings, *Journal of Faculty of Pharmacy*, 38(3), 211 - 232, **2009**.
- [5] Vanessa, J., Joseph, G., Keith, H., Abc of Wound Healing-Wound Dressings, *British Medical Journal*, 332, **2006**.
- [6] Yüksel, Ö., *Atmosferik Basınçta Çalışan Endüstriyel Ac Corona/Dbd Plazma Reaktörlerinin Tasarımı Ve Üretimi*, Yüksek Lisans, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği, Ankara, **2010**.
- [7] Bocci, V., *Ozone a New Medical Drug*, *Science & Engineering*, 22(4), **2011**.
- [8] Fayazzadeh, E., Rahimpour, S., Ahmadi, S.Y., Farzampour, S., Acceleration of Skin Wound Healing with Tragacanth (Astragalus) Preparation an Experimental Pilot Study in Rats., *Acta Medica Iranica*, 52(1), 3 -8, **2013**.
- [9] Falabella, A., Kirsner, R., *Wound Healing Surgery*, 12(9), **2005**.
- [10] Ching, Y., Sutton, L., Yvonne, N., The Use of Growth Factors and Other Humoral Agents to Accelerate and Enhance Burn Wound Healing, *Journal of Plastic Surgery*, **2011**.
- [11] Beldon, P., Basic Science of Wound Healing, *Surgery*, 28(9), 409 -412, **2010**.
- [12] *Anonim*, <http://www.megep.meb.gov.tr/pdf/>, (Ocak, **2016**).

- [13] Grey, J. E., Harding, K. G. Abc of Wound Healing, *Journal of Plastic Surgery*, 12(2), 2011.
- [14] Eming, S. A., Krieg, T., Davidson, J. M., Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms, *Journal of Dermatology*, 127(3), 514-25, 2007
- [15] Anonim, http://www.megep.meb.gov.tr/moduller_pdf/ , (Ocak, 2016).
- [16] Arslantaş, M. K., *İskemik Yara Tedavisinde Yara Tedavisinde Eritropoetin Etkileri*, Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon, İstanbul, 2007.
- [17] Gethin, G., The Significance of Surface Ph in Chronic Wounds, *Wounds UK*, 3(3), 52 -56, 2007.
- [18] Anonim, <http://dent.ege.edu.tr/dosyalar/1.pdf>, (Ocak, 2016).
- [19] Anonim, <http://www.izmirklinik.com/yatak/pdf>, (Ocak, 2016)
- [20] Anonim, <http://www.woundsinternational.com>, (Ocak, 2016).
- [21] Morgado, P. I., Aguiar-Ricardo, A., Correia, I. J., Asymmetric Membranes as Ideal Wound Dressings: An Overview on Production Methods, Structure, Properties and Performance Relationship, *Journal of Membrane Science*, 490, 139-151, 2015.
- [22] Broughton, G. I., Janis, J. E., Attinger, C. E., The Basic Science of Wound Healing, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7), 12 -34, 2006.
- [23] Nwomeh, B. C., Yager, D. R., Cohen, I. K., Physiology of the Chronic Wound, *Clinics in Plastic Surgery*, 25(3), 341 -356, 1998.
- [24] Goldberg, R., Diegelmann, F., Wound Healing Primer, *Surgical Clinics of North America*, 90(6), 1133 -1146, 2010.
- [25] Kondo, T., Ishida, Y., Molecular Pathology of Wound Healing, *Forensic Science International*, 203(1 - 3), 93 -98, 2010.
- [26] Altıparmak, D. M., *Diabetik Ratlarda Kantaronun Deri Yarası*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Erciyes, 2012.

- [27] Guo, S., Dipietro, L. A., Factors Affecting Wound Healing, *Journal of Dental Research*, 89(3), 219 -29, **2010**.
- [28] Spear, M., Wet-to-Dry Dressings-Evaluating the Evidence, *Plastic Surgian Nursery*, 28(2), 92 -5, **2008**
- [29] Harma, B., *Çocuklarda İkinci Derece Yanık Tedavisinde Beş Farklı Yara Örtüsünün Etkinliklerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi*, Uzmanlık Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Sakarya, **2011**.
- [30] Martin, B., Moist Wound Healing, *Ostomy Wound Management*, **2011**.
- [31] Güneş, Ü. Y., Nemli Yara İyileşmesive Oklusif Pansumanların Nemli Yara İyileşmesindeki Önemi, *Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 10(2), 57 -65, **2006**.
- [32] Vanessa Jones, J. E. G., Keith G Harding, Abc of Wound Healing Wound Dressings, *British Medical Journal*, 33, **2006**.
- [33] Stashak, T. S., Farstvedt, E., Othic, A., Update on Wound Dressings: Indications and Best Use, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3(2), 148-163, **2004**.
- [34] Altay, P., Basal, G., Wound Dressings, *Electronic Journal of Textile Technologies*, 4, 109-121, **2010**.
- [35] Heyneman, A., Beele, H., Vanderwee, K., Defloor, T., A Systematic Review of the Use of Hydrocolloids in the Treatment of Pressure Ulcers, *Journal of Clinical Nursing*, 17(9), 1164 -73, **2008**.
- [36] Thu, H. E., Zulfakar, M. H., Ng, S. F., Alginate Based Bilayer Hydrocolloid Films as Potential Slow-Release Modern Wound Dressing, *International Journal of Pharmaceutics*, 434(1 + 2), 375 -383, **2012**.
- [37] Kim, J. E., Lee, J., Jang, M., Kwak, M. H., Go, J., Kho, E. K., Song, S. H., Sung, J., Hwang, D.Y., Accelerated Healing of Cutaneous Wounds Using Phytochemically Stabilized Gold Nanoparticle Deposited Hydrocolloid Membranes, *Biomaterial Science*, 3(3), 509 -19, **2015**.
- [38] *Anonim*, <https://www.google.com.tr/hydrocolloid+dressing>, (Ocak, **2016**).

- [39] Lee, K. Y., Mooney, D. J., Alginate: Properties and Biomedical Applications, *Progress in Polymer Science* 37(1), 106 -126, **2012**.
- [40] Jain, D., Bar-Shalom, D., Alginate Drug Delivery Systems: Application in Context of Pharmaceutical and Biomedical Research, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(12), 1576 -1584, **2014**.
- [41] Gehart, H., *A Study of Alginate Matrices as Anti-Microbial Wound Dressing*, Doctorial National University of Singapore Pharmacy, Singapore, **2009**.
- [42] Sikareepaisan, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P., Preparation and Characterization of Asiaticoside-Loaded Alginate Films and Their Potential for Use as Effectual Wound Dressings, *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1457-1469, **2011**
- [43] *Anonim*, <http://www.careteam.biz/dressings>, (Ocak, **2016**).
- [44] Hebeish, A., Hashem, M., El-Hady, M. M., Sharaf, S., Development of Cmc Hydrogels Loaded with Silver Nano-Particles for Medical Applications, *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 407 -13, **2013**.
- [45] Balakrishnan, B., Mohanty, M., Umashankar, P.R., Jayakrishnan, A., Evaluation of an in Situ Forming Hydrogel Wound Dressing Based on Oxidized Alginate and Gelatin, *Biomaterials*, 26(32), 6335 -42, **2005**.
- [46] Kokabi, M., Sirousazar, M., Hassan, Z. M., Pva + Clay Nanocomposite Hydrogels for Wound Dressing, *European Polymer Journal*, 43(3), 773 - 781, **2007**
- [47] *Anonim*, <http://www.salespromotion.ro>, (Ocak, **2016**).
- [48] *Anonim*, <http://www.biofactpharma.com>, (Ocak **2016**).
- [49] *Anonim*, <http://woundcareadvisor.com>, (Ocak **2016**).
- [50] *Anonim*, http://celekta.en.ec21.com/film_dressing , (Ocak **2016**).
- [51] Zilberman, M., Elsner, J. J., Antibiotic-Eluting Medical Devices for Various Applications, *Journal of Controlled Release*, 130(3), 202 -15, **2008**.
- [52] Fonder, M. A., Lazarus, G. S., Cowan, D. A., Aronson-Cook, B., Kohli, A. R., Mamelak, A. J., Treating the Chronic Wound: A Practical Approach to

the Care of Nonhealing Wounds and Wound Care Dressings, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(2), 185 -206, **2008**.

- [53] Wang, T., Zhu, X. K., Xue, X. T., Wu, D. Y., Hydrogel Sheets of Chitosan, Honey and Gelatin as Burn Wound Dressings, *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 75 -83, **2012**
- [54] Unnithan, A. R., Barakat, N. A. M., Tirupathi Pichiah, P. B., Gnanasekaran, G., Nirmala, R., Cha, Y. S., Jung, C. H., El-Newehy, M., Kim, H. Y., Wound-Dressing Materials with Antibacterial Activity from Electrospun Polyurethane ' Dextran Nanofiber Mats Containing Ciprofloxacin HCl, *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1786 -1793, **2012**
- [55] Liakos, I., Rizzello, L., Bayer, I.S., Pompa, P. P., Cingolani, R., Athanassiou, A., Controlled Antiseptic Release by Alginate Polymer Films and Beads, *Carbohydrate Polymers*, 92(1), 176 -83, **2013**
- [56] Singh, B., Sharma, S., Dhiman, A., Design of Antibiotic Containing Hydrogel Wound Dressings: Biomedical Properties and Histological Study of Wound Healing, *International Journal of Pharmaceutics*, 457(1), 82 -91, **2013**.
- [57] Dilamian, M., Montazer, M., Masoumi, J., Antimicrobial Electrospun Membranes of Chitosan/Poly(Ethylene Oxide) Incorporating Poly (Hexamethylene Biguanide) Hydrochloride, *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 364 -71, **2013**.
- [58] Shalumon, K. T., Anulekha, K. H., Nair, S. V., Nair, S. V., Chennazhi, K. P., Jayakumar, R., Sodium Alginate/Poly (Vinyl Alcohol)/Nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings, *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(3), 247 -54, **2011**.
- [59] Liakos, I., Rizzello, L., Scurr, D. J., Pompa, P. P., Bayer, I. S., Athanassiou, A., All-Natural Composite Wound Dressing Films of Essential Oils Encapsulated in Sodium Alginate with Antimicrobial Properties, *International Journal of Pharmaceutics*, 463(2), 137 -45, **2014**.
- [60] Jung, W. K., Koo, H. C., Kim, K. W., Shin, S., Kim, S. H., Park, Y. H., Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in

- Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli, *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2171 -8, **2008**.
- [61] Seo, S. Y., Lee, G. H., Lee, S. G., Jung, S. Y., Lim, J. O., Choi, J. H., Alginate-Based Composite Sponge Containing Silver Nanoparticles Synthesized in Situ, *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 109 -15, **2012**.
- [62] Marie Arockianathan, P., Sekar, S., Sankar, S., Kumaran, B., Sastry, T. P., Evaluation of Biocomposite Films Containing Alginate and Sago Starch Impregnated with Silver Nano Particles, *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 717-24, **2012**.
- [63] Roy, N., Saha, N., Kitano, T., Saha, P., Development and Characterization of Novel Medicated Hydrogels for Wound Dressing, *Soft Materials*, 8(2), 130-148, **2010**.
- [64] Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V., Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts, *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985-990, **1999**.
- [65] Bayaz, M., Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Akademik Gıda* 12(3), 45 -53, **2014**.
- [66] Khajavi, R., Abbasipour, M., Barzi, M. G., Rashidi, A., Rahimi, M. K., Mirzababa, H. H., Eucalyptus Essential Oil-Doped Alginate Fibers as a Potent Antibacterial Wound Dressing, *Advances in Polymer Technology*, 33(2), **2014**.
- [67] Ge, Y., Ge, M., Sustained Broad-Spectrum Antimicrobial and Haemostatic Chitosan-Based Film with Immersed Tea Tree Oil Droplets, *Fibers and Polymers*, 16(2), 308 -318, **2015**.
- [68] Altıok, D., Altıok, E., Tihminlioglu, F., Physical, Antibacterial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Thyme Oil for Potential Wound Healing Applications, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(7), 2227 -2236, **2010**.
- [69] Kavooosi, G., Nateghpoor, B., Dadfar, S. M. M., Dadfar, S. M. A., Antioxidant, Antifungal, Water Binding, and Mechanical Properties of Poly (Vinyl

- Alcohol) Film Incorporated with Essential Oil as a Potential Wound Dressing Material, *Journal of Applied Polymer Science*, 131(20), **2014**.
- [70] Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., Sharma, A., Active Chitosan + Polyvinyl Alcohol Films with Natural Extracts, *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297, **2012**.
- [71] Charernsriwilaiwat, N., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., Opanasopit, P., Electrospun Chitosan-Based Nanofiber Mats Loaded with Garcinia Mangostana Extracts, *International Journal of Pharmaceutics*, 452(1 + 2), 333 -343, **2013**.
- [72] Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., Tomic-Canic, M., Perspective Article: Growth Factors and Cytokines in Wound Healing, *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585 -601, **2008**.
- [73] Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M.S., Brem, H., Tomic-Canic, M., Growth Factors and Cytokines in Wound Healing, *Wound Repair Regen*, 16(5), 585 -601, **2008**.
- [74] Shiraha, H., Glading, A., Gupta, K., Wells, A., Ip-10 Inhibits Epidermal Growth Factor-Induced Motility by Decreasing Epidermal Growth Factor Receptor-Mediated Calpain Activity, *Journal of Cell Biology*, 146(1), 243 - 253, **1999**.
- [75] Bennett, S. P., Griffiths, G. D., Schor, A. M., Leese, G. P., Schor, S. L., Growth Factors in the Treatment of Diabetic Foot Ulcers, *British Journal of Surgery*, 90(2), 133 -146, **2003**.
- [76] Cho Lee, A. R., Leem, H., Lee, J., Park, K. C., Reversal of Silver Sulfadiazine-Impaired Wound Healing by Epidermal Growth Factor, *Biomaterials*, 26(22), 4670 -6, **2005**.
- [77] Park, S.N., Kim, J.K., Suh, H., Evaluation of Antibiotic-Loaded Collagen-Hyaluronic Acid Matrix as a Skin Substitute, *Biomaterials*, 25(17), 3689 - 98, **2004**.
- [78] Nogales, C., Ozone Therapy in Medicine and Dentistry, *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 9(4), **2008**.

- [79] Rubin, M. B., The History of Ozone *Bulletin for the History of Chemistry* 26(1), 2001.
- [80] Bocci, V., Ozone as Janus: This Controversial Gas Can Be Either Toxic or Medically Useful, *Mediators Inflamm*, 13(1), 3 -11, 2004.
- [81] Daş, E., Gürakan, G. C., Bayındırlı, A., Effect of Controlled Atmosphere Storage, Modified Atmosphere Packaging and Gaseous Ozone Treatment on the Survival of Salmonella Enteritidis on Cherry Tomatoes, *Food Microbiology*, 23(5), 430 -438, 2006.
- [82] Ünal, T., *Ekmek Mayası Endüstrisi Separasyon Prosesiatiksularında Ozon ve Ozon/Hidrojen Peroksit Oksidasyonu İle Renk Giderimi*, Yüksek Lisans, Çevre Mühendisliği, 2011.
- [83] Paolo, N., Bocci, V., Gaggiotti, E., Ozonotherapy, *The International Journal of Artificial Organs*, 27(3), 2004.
- [84] Theis, W. S., Andringa, K. K., Millender-Swain, T., Dickinson, D. A., Postlethwait, E. M., Bailey, S. M., Ozone Inhalation Modifies the Rat Liver Proteome, *Redox Biology*, 2, 52-60, 2014.
- [85] Mordecai B. Rubin, The History of Ozone, *Bulletin for the History of Chemistry*, 26(1), 2001.
- [86] Bocci, V. A., Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art, *Archives of Medical Research*, 37(4), 425 -35, 2006.
- [87] Ozler, M., Akay, C., Oter, S., Ay, H., Korkmaz, A., Similarities and Differences of Hyperbaric Oxygen and Medical Ozone Applications, *Free Radical Research*, 45(11 -12), 1267 -78, 2011.
- [88] Babuçcu, O., Ozone Therapy: Myth and Fact, *Turkish Plastic Surgery* 19(3), 2011.
- [89] Novgorod, N., *Ozone Therapy in Practice*, in *Ozone Therapy in Practice*, N. Novgorod, Editor. 2008.
- [90] Kurtoğlu, A., *Deneysel Enfekte Diz Protezi Modelinde Enfeksiyonun Eredikasyonu Ve Eklem Kıkırdağı Hasarı Üzerinde İntraartiküler Uygulanan*

Ozonun (O3) Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Denizli, **2013**.

- [91] Bocci, V., Borrelli, E., Travagli, V., Zanardi, I., The Ozone Paradox: Ozone Is a Strong Oxidant as Well as a Medical Drug, *Medicinal Research Reviews*, 29(4), 646 -682, **2009**.
- [92] Bocci, V., Borrelli, E., Zanardi, I., Travagli, V., The Usefulness of Ozone Treatment in Spinal Pain, *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 2677-2685, **2015**.
- [93] Bocci, V. A., Zanardi, I., Travagli, V., Ozone Acting on Human Blood Yields a Hormetic Dose-Response Relationship, *Journal of Translational Medicine*, 9, 66-66, **2011**.
- [94] Bocci, V. A., Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art, *Archives of Medical Research*, 37(4), 425 -435, **2006**.
- [95] Bocci, V., Zanardi, I., Travagli, V., Ozone: A New Therapeutic Agent in Vascular Diseases, *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 11(2), 73-82, **2011**.
- [96] Miller, E. W., Tulyathan, O., Isacoff, E. Y., Chang, C. J., Molecular Imaging of Hydrogen Peroxide Produced for Cell Signaling, *Nature Chemical Biology*, 3(5), 263 -267, **2007**.
- [97] Travagli, V., Zanardi, I., Valacchi, G., Bocci, V., Ozone and Ozonated Oils in Skin Diseases: A Review, *Mediators Inflammatory*, 2010, 610418, **2010**.
- [98] Gunten, U., Ozonation of Drinking Water: Part I. Oxidation Kinetics and Product Formation, *Water Research*, 37(7), 1443 -1467, **2003**.
- [99] Kim, H. S., Noh, S. U., Han, Y. W., Kim, K. M., Kang, H., Kim, H. O., Park, Y. M., Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing *Journal of Korean Medical Science*, 24(3), 368-374, **2009**.
- [100] Patel, P. V., Kumar, S., Vidya, G. D., Patel, A., Holmes, J. C., Kumar, V., Cytological Assessment of Healing Palatal Donor Site Wounds and Grafted Gingival Wounds after Application of Ozonated Oil: An Eighteen-Month

- Randomized Controlled Clinical Trial, *Acta Cytologica*, 56(3), 277 -84, **2012**.
- [101] Sharma, M., Hudson, J. B., Ozone Gas Is an Effective and Practical Antibacterial Agent, *American Journal of Infection Control*, 36(8), 559 - 563, **2008**.
- [102] Johansson, E., Claesson, R., van Dijken, J. W. V., Antibacterial Effect of Ozone on Cariogenic Bacterial Species, *Journal of Dentistry*, 37(6), 449 - 453, **2009**.
- [103] Azarpazhooh, A., Limeback, H., The Application of Ozone in Dentistry: A Systematic Review of Literature, *Journal of Dentistry*, 36(2), 104 -116, **2008**.
- [104] Sakazaki, F., Kataoka, H., Okuno, T., Ueno, H., Semma, M., Ichikawa, A., Nakamuro, K., Ozonated Olive Oil Enhances the Growth of Granulation Tissue in a Mouse Model of Pressure Ulcer, *Ozone: Science & Engineering*, 29(6), 503 -507, **2007**.
- [105] Valacchi, G., Lim, Y., Belmonte, G., Miracco, C., Zanardi, I., Bocci, V., Travagli, V., Ozonated Sesame Oil Enhances Cutaneous Wound Healing in Skh1 Mice, *Wound Repair and Regeneration*, 19(1), 107 -115, **2011**.
- [106] Kim, H. S., Noh, S. U., Han, Y. W., Kim, K. M., Kang, H., Kim, H. O., Park, Y.M., Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing, *Journal of Korean Medical Science*, 24(3), 368-374, **2009**.
- [107] Marco Montevicchi, A. D., Monica Cricca, Luigi Checchi, Comparison of the Antibacterial Activity of an Ozonated Oil with Chlorhexidine Digluconate and Povidone-Iodine. A Disk Diffusion Test, *New Microbiologica*, 36, 289-302, **2013**.
- [108] Sechi, L. A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Duprè, I., Pinna, A., Molicotti, P., Fadda, G., Zanetti, S., Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil (Oleozone), *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 279 - 284, **2001**.

- [109] Geweely, G., Antifungal Activity of Ozonized Oliveoil, *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(5), 2006.
- [110] Anonim, <http://www.o3center.org/abstracts/ozologicdiseases.>, (Ocak, 2016).
- [111] Yıpel, F. A., *Kedilerde Kulak Uyuzu (Otodectes Cynotis) Sağaltımında Ozonlanmış Zeytinyağı Ve Bazı Esansiyel Yağların (Allium Sativum L., Origanum Majorana L.) Etkileri*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Afyan, 2014.
- [112] Kaya, S., *Parsiyel Kalınlıktaki Termal Yanıkların Pansumanında Gümüş İçerikli Hidrofiber İle Ozonlu Yağın Karşılaştırılması*, Tıpta Uzmanlık, Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Zonguldak, 2011.
- [113] Zanardi, I., Travagli, V., Gabbrielli, A., Chiasserini, L., Bocci, V., Physico-Chemical Characterization of Sesame Oil Derivatives, *Lipids*, 43(9), 877 - 886, 2008.
- [114] Martinez T. G., Ledea L. O., Díaz G. M. F., Measurement of Peroxidic Species in Ozonized Sunflower Oil, *Ozone: Science & Engineering*, 28(3), 181 -185, 2006.
- [115] Díaz, M. F., Hernández, R., Martínez, G., Vidal, G., Gómez, M., Fernández, H., Garcés, R., Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17, 403-407, 2006.
- [116] Türk Standartları Enstitüsü, *Hayvansal Ve Bitkisel Katı-Sıvı Yağlar-Peroksit Değeri Tayini*. 2006.
- [117] Moureu, S., Violleau, F., Ali Haimoud-Lekhal, D., Calmon, A., Ozonation of Sunflower Oils: Impact of Experimental Conditions on the Composition and the Antibacterial Activity of Ozonized Oils, *Chemistry and Physics of Lipids*, 186, 79-85, 2015.
- [118] Rodrigues de Almeida Kogawa, N., Jose de Arruda, E., Micheletti, A. C., de Fatima Cepa Matos, M., Silva de Oliveira, L.C., Pires de Lima, D., Pereira Carvalho, N.C., Dias de Oliveira, P., de Castro Cunha, M., Ojeda, M., Beatriz, A., Synthesis, Characterization, Thermal Behavior, and Biological

Activity of Ozonides from Vegetable Oils, *The Royal Society of Chemistry*, 5(80), 65427 -65436, **2015**.

- [119] Almeida, N., Beatriz, N., Ozonized Vegetable Oils and Therapeutic Properties: A Review, *The Electronic Journal of Chemistry*, 4(4), 313 - 326, **2012**.
- [120] Pai, S. A., Gagangras, S. A., Kulkarni, S. S., Majumdar, A. S., Potential of Ozonated Sesame Oil to Augment Wound Healing in Rats, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(1), 87 -92, **2014**.
- [121] Öcal, E., *Ozon Yağının Kapsül Formasyonu Üzerine Etkisi*, Tıpta Uzmanlık, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, **2013**.
- [122] Díaz, M. F., Gavín, J. A., Gómez, M., Curtielles, V., Hernández, F., Study of Ozonated Sunflower Oil Using H-NMR and Microbiological Analysis, *Ozone: Science & Engineering*, 28(1), 59 -63, **2006**.
- [123] Kogawa, R., Ojeda, M., Beatriz, A., Synthesis, Characterization, Thermal Behavior, and Biological Activity of Ozonides from Vegetable Oils, *Royal Society Of Chemistry*, 5(80), **2015**.
- [124] Nagayoshi, M., Kitamura, C., Fukuizumi, T., Nishihara, T., Terashita, M., Antimicrobial Effect of Ozonated Water on Bacteria Invading Dentinal Tubules, *Journal of Endodontics*, 30(11), 778 -781, **2004**.
- [125] Huth, K. C., Jakob, F. M., Saugel, B., Cappello, C., Paschos, E., Hollweck, R., Hickel, R., Brand, K., Effect of Ozone on Oral Cells Compared with Established Antimicrobials, *European Journal of Oral Sciences*, 114(5), 435-440, **2006**.
- [126] Abitha, M., Natural Polymers in Pharmaceutical Formulation, *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, 5(1), 205 -231, **2015**.
- [127] Kulkarni Vishakha S., B. K. D., Rathod Sudha S., Natural Polymers - A Comprehensive Review., *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 3(4), **2012**.

- [128] Mogosanu, G. D., Grumezescu, A. M., Natural and Synthetic Polymers for Wounds and Burns Dressing, *International Journal of Pharmaceutics*, 463(2), 127 -36, **2014**.
- [129] Grumezescu, A. M., Improved Wound Dressing: Novel Approaches, *International Journal of Pharmaceutics*, 463(2), 117 -118, **2014**.
- [130] John, M., Thomas, S., Chapter 1 Natural Polymers: An Overview, in Natural Polymers Composites, *The Royal Society of Chemistry* ,1, 1-7, **2012**.
- [131] Pereira, R., Tojeira, A., Vaz, D. C., Mendes, A., Bártolo, P., Preparation and Characterization of Films Based on Alginate and Aloe Vera, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 16(7), 449 -464, **2011**.
- [132] Pereira, R. F., Carvalho, A., Gil, M. H., Mendes, A., Bártolo, P. J., Influence of Aloe Vera on Water Absorption and Enzymatic in Vitro Degradation of Alginate Hydrogel Films, *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 311 -320, **2013**.
- [133] Pereira, G., Guterres, S., Balducci, G., Colombo, P., Sonvico, F., Polymeric Films Loaded with Vitamin E and Aloe Vera for Topical Application in the Treatment of Burn Wounds, *BioMed Research International*, **2014**.
- [134] Miraftab, M., Masood, R., Edward-Jones, V., A New Carbohydrate-Based Wound Dressing Fibre with Superior Absorption and Antimicrobial Potency, *Carbohydrate Polymers*, 101, 1184-90, **2014**.
- [135] Pongsamart, N., Lertchaiporn, J., Novel Water Soluble Antibacterial Dressing of Durian Polysaccharide, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 67-73, **2005**.
- [136] Azmin, E., Bin Bai, S., Mechanical Properties and Water Vapour Permeability of Film from Haruan (*Channa Striatus*) and Fusidic Acid Spray for Wound Dressing and Wound Healing., *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 23(2), 155 -99, **2010**.
- [137] Silva, S. S., Caridade, S. G., Mano, J. F., Reis, R. L., Effect of Crosslinking in Chitosan/Aloe Vera-Based Membranes for Biomedical Applications, *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 581 -8, **2013**.

- [138] Patil, B. S., Mastiholmath, V. S., Kulkarni, A. R., Development and Evaluation of Psyllium Seed Husk Polysaccharide Based Wound Dressing Films, *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 11(2), 123 -129, **2011**.
- [139] Kadioglu, B., Kadioglu, S., Turan, Y., Gevenlerin (Astragalus Sp.) Farklı Kullanım Alanları ve Önemi, *Turkish Journal of Pharmaceutical Science*, **2008**.
- [140] Kora, J., Arunachalam, J., Green Fabrication of Silver Nanoparticles by Gum Tragacanth (Astragalus Gummifer): A Dual Functional Reductant and Stabilizer, *Journal of Nanomaterials*, 2012, 1-8, **2012**.
- [141] Prashar, D., Kalia, S., Sharma, S., Synthesis, Characterization and Evaluation of Electrical Stimulus Sensitive Behavior of Gt-Cl-Poly(Aa) Superabsorbent Hydrogel, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 419 -423, **2012**.
- [142] Moghbel, M., Hemmati, P., Agheli, H., The Effect of Tragacanth Mucilage on the Healing of Full-Thickness Wound in Rabbit, *Arch Iranian Mediators*, 8(4), **2005**.
- [143] Mohamadnia, Z., Zohuriaan-Mehr, M.J., Kabiri, K., Razavi-Nouri, M., Tragacanth Gum-Graft-Polyacrylonitrile: Synthesis, Characterization and Hydrolysis, *Journal of Polymer Research*, 15(3), 173 -180, **2007**.
- [144] Ghayempour, S., Montazer, M., Mahmoudi Rad, M., Tragacanth Gum as a Natural Polymeric Wall for Producing Antimicrobial Nanocapsules Loaded with Plant Extract, *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 514-520, **2015**.
- [145] Verbeken, D., Dierckx, S., Dewettinck, K., Exudate Gums: Occurrence, Production, and Applications, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(1), 10 -21, **2003**.
- [146] Chenlo, F., Moreira, R., Silva, C., Rheological Behaviour of Aqueous Systems of Tragacanth and Guar Gums with Storage Time, *Journal of Food Engineering*, 96(1), 107 -113, **2010**.

- [147] Jin, M., Zhao, K., Huang, Q., Shang, P., Structural Features and Biological Activities of the Polysaccharides from *Astragalus Membranaceus*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 257-66, **2014**.
- [148] Maryam Otadi , S. M., The Survey of Kinetic Behavior of Immobilized Glucose Oxidase on Gum Tragacanth Carrier, *World Applied Sciences Journal*, 5(9), **2011**.
- [149] Kiani, A., Shahbazi, M., Asempour, H., Hydrogel Membranes Based on Gum Tragacanth with Tunable Structure and Properties. I. Preparation Method Using Taguchi Experimental Design, *Journal of Applied Polymer Science*, 124(1), 99 -108, **2012**.
- [150] Siahi, M., Barzegar-Jalali, M., Monajjemzadeh, F., Ghaffari, F., Design and Evaluation of 1- and 3-Layer Matrices of Verapamil Hydrochloride for Sustaining Its Release, *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 6(4), **2005**.
- [151] Fattahi, A., Petrini, P., Munarin, F., Shokoohinia, Y., Golozar, M. A., Varshosaz, J., Tanzi, M. C., Polysaccharides Derived from Tragacanth as Biocompatible Polymers and Gels, *Journal of Applied Polymer Science*, 129(4), 2092 -2102, **2013**.
- [152] Fayazzadeh, S. R., Seyed, M., Shahrokh, F., Acceleration of Skin Wound Healing with Tragacanth (*Astragalus*) Preparation, *Acta Medica Iranica*, 52(1), **2014**.
- [153] Bagheri, S. M., Keyhani, L., Heydari, M., Dashti-R, M. H., Antinociceptive Activity of *Astragalus Gummifer* Gum (Gum Tragacanth) through the Adrenergic System: A in Vivo Study in Mice, *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 6(1), 19 -23, **2015**.
- [154] Yao, C. H., Liu, B. S., Chang, C. J., Hsu, S. H., Chen, Y. S., Preparation of Networks of Gelatin and Genipin as Degradable Biomaterials, *Materials Chemistry and Physics*, 83(2 -3), 204 -208, **2004**.
- [155] Ko, J. H., Yin, H., An, J., Chung, D. J., Kim, J. H., Lee, S. B., Pyun, D. G., Characterization of Cross-Linked Gelatin Nanofibers through Electrospinning, *Macromolecular Research*, 18(2), 137 -143, **2010**.

- [156] Djerassi, C., Nakano, T., Eisenbraun, E. J., James, A. N., Zalkow, L. H., Shoolery, J. N., Terpenoids .47. Structure of Genipin, *Journal of Organic Chemistry*, 26(4), 1192 -8, **1961**.
- [157] Muzzarelli, R., Genipin-Crosslinked Chitosan Hydrogels as Biomedical and Pharmaceutical Aids, *Carbohydrate Polymers*, 77(1), 1 -9, **2009**.
- [158] Tsai, C. C., Huang, R. N., Sung, H. W., Liang, H. C., In Vitro Evaluation of the Genotoxicity of a Naturally Occurring Crosslinking Agent (Genipin) for Biologic Tissue Fixation, *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(1), 58 -65, **2000**.
- [159] Xi-xun, Y., Fei, L., Yuan-ting, X., Chang-xiu, W., In Vitro Study in the Endothelial Cell Compatibility and Endothelialization of Genipin-Crosslinked Biological Tissues for Tissue-Engineered Vascular Scaffolds, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(2), 777 -85, **2010**.
- [160] Elzoghby, A. O., Vranic, B. Z., Samy, W. M., Elgindy, N. A., Swellable Floating Tablet Based on Spray-Dried Casein Nanoparticles: Near-Infrared Spectral Characterization and Floating Matrix Evaluation, *International Journal of Pharmaceutics*, 491(1 -2), 113 -122, **2015**.
- [161] Zhu, Y. Y., Zhao, B. T., Huang, X. D., Chen, B., Qian, H., A Substrate Fed-Batch Biphasic Catalysis Process for the Production of Natural Cross Linking Agent Genipin with *Fusarium Solani* Accc 36223, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(6), 814 -819, **2015**.
- [162] Zeng, S. G., Ye, M. W., Qiu, J. Q., Fang, W., Rong, M. D., Guo, Z. H., Gao, W. F., Preparation and Characterization of Genipin-Cross-Linked Silk Fibroin/Chitosan Sustained-Release Microspheres, *Drug Design Development and Therapy*, 9, 2501-2514, **2015**.
- [163] Wang, R., Neoh, K. G., Kang, E. T., Integration of Antifouling and Bactericidal Moieties for Optimizing the Efficacy of Antibacterial Coatings, *Journal of Colloid and Interface Science*, 438, 138-148, **2015**.
- [164] Songkroh, T., Xie, H. G., Yu, W. T., Liu, X. D., Wang, L., Sun, G., In Situ Forming Chitosan-Based Hydrogel as a Lung Sealant for Biological Lung Volume Reduction, *Science Bulletin*, 60(2), 235 -240, **2015**.

- [165] Smits, F., Castelijns, A., Hest, M., Crosslinked Elp-Based Nanoparticles, Using the Strain Promoted Azide-Alkyne Cycloaddition, *European Polymer Journal*, 62, 386-393, **2015**.
- [166] Shao, X., Ding, K. Y., Liu, J., Color Forming Property of Derivatives and Modification Products of Natural Iridoids with Methylamine, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 110(1), 1 -6, **2015**.
- [167] Liu, B. S., Yao, C. H., Fang, S. S., Evaluation of a Non-Woven Fabric Coated with a Chitosan Bi-Layer Composite for Wound Dressing, *Macromolecular Bioscience*, 8(5), 432 -440, **2008**.
- [168] Blanco, A., González, G., Casanova, E., Pirela, M. E., Briceño, A., Mathematical Modeling of Hydrogels Swelling Based on the Finite Element Method, *Applied Mathematics*, 04(08), 161 -170, **2013**.
- [169] Ofori-Kwakye, K., Mfoafo, K. A., Kipo, S. L., Kuntworbe, N., Boakye-Gyasi, M. E., Development and Evaluation of Natural Gum-Based Extended Release Matrix Tablets of Two Model Drugs of Different Water Solubilities by Direct Compression, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(1), 82-91, **2016**.
- [170] Ulla, M. R., Saisivam, S., Floating Matrix Tablet of Losartan Potassium by Using Hydrophilic Swelling Polymer and Natural, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 435 -446, **2013**.
- [171] Rajesh, N., Siddaramaiah, Feasibility of Xanthan Gum + Sodium Alginate as a Transdermal Drug Delivery System for Domperidone, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(10), 2085 -2089, **2009**.
- [172] Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., Auffret, A. D., Humphrey, M. J., Eccleston, G. M., Lyophilised Wafers as a Drug Delivery System for Wound Healing Containing Methylcellulose as a Viscosity Modifier, *International Journal of Pharmaceutics*, 289(1 + 2), 51 -62, **2005**.
- [173] Maizura, M., Fazilah, A., Norziah, M. H., Karim, A. A., Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Partially Hydrolyzed Sago Starch + Alginate Edible Film Containing Lemongrass Oil, *Journal of Food Science*, 72(6), C324-C330, **2007**.

- [174] Farzi, M., Emam-Djomeh, Z., Mohammadifar, M. A., A Comparative Study on the Emulsifying Properties of Various Species of Gum Tragacanth, *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 76-82, **2013**.
- [175] Saarai, A., *Hydrogels for Biomedical Applications*, Doctorial, Czech Republic, **2012**.
- [176] Giménez, B., López de Lacey, A., Release of Active Compounds from Agar and Agar + Gelatin Films with Green Tea Extract, *Food Hydrocolloids*, 30(1), 264 -271, **2013**.
- [177] Caicco, M. J., Zahir, T., Mothe, A. J., Ballios, B. G., Kihm, A. J., Tator, C. H., Shoichet, M. S., Characterization of Hyaluronan + Methylcellulose Hydrogels for Cell Delivery to the Injured Spinal Cord, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 101A(5), 1472 -1477, **2013**.
- [178] Soman, A., Mathew, F., Alias, M., Interpenetrating Polymer Network (Ipn) + Hydrogels, *The Pharma Innovation Journal*, 3(8), 59 -66, **2014**.
- [179] Çitil, U., Mete, E., Oğuz, O., Deneysel Staphylococcus Aureus Yumuşak Doku Enfeksiyonlarında İbuprofenin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 49(2), 166 -180, **2015**.
- [180] Aguirre-Alvarez, G., Pimentel-González, D. J., Campos-Montiel, R. G., Foster, T., Hill, S.E., The Effect of Drying Temperature on Mechanical Properties of Pig Skin Gelatin Films El Efecto De La Temperatura De Secado Sobre Las Propiedades Mecánicas De Películas De Gelatina De Cerdo, *CyTA - Journal of Food*, 9(3), 243 -249, **2011**.
- [181] Saman, T., Abolfazı, K., Study on Permeability of Bionanocomposite Film Based on Tragacanth Gum - Chitosan *Carbohydrate Polymers*, **2015**.
- [182] Hermanto, S., Sumarlin, L., Fatimah, W., Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Based on Spectroscopic and Electrophoretic Analysis, *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences* 1, 68-73, **2012**.
- [183] Saarai, A., Sedlacek, T., Kasparkova, V., On the Characterization of Sodium Alginate/ Gelatine-Based Hydrogels for Wound Dressing, *Journal of Applied Polymer Science*, **2011**.

- [184] Manna, P.J., Mitra, T., Pramanik, N., Kavitha, V., Gnanamani, A., Kundu, P.P., Potential Use of Curcumin Loaded Carboxymethylated Guar Gum Grafted Gelatin Film for Biomedical Applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 437-446, **2015**.
- [185] Almeida, A. B., Ozonized Vegetable Oils and Therapeutic., *The Electronic Journal of Chemistry*, 4(4), 313 -326, **2012**.
- [186] Soriano, U., Veronica, P., Matsumura, M., Functional Group Analysis During Ozonation of Sunflower Oil Methyl Esters by Ft-Ir and Nmr, *Chemistry and Physics of Lipids*, 126(133 -140), **2003**.
- [187] Moureu, S., Violleau, F., Ali Haimoud-Lekhal, D., Calmon, A., Ozonation of Sunflower Oils: Impact of Experimental Conditions on the Composition and the Antibacterial Activity of Ozonized Oils, *Chem Phys Lipids*, 186, 79-85, **2015**.
- [188] Cerqueira, M., Souza, B., Teixeira, J., Vicente, A., Effect of Glycerol and Corn Oil on Physicochemical Properties of Polysaccharide Films E a Comparative Study, *Food Hydrocolloids* 27, 175-184, **2012**.
- [189] Begam, R. N., Shukla, A. K., Preparation and Characterization of Genipin Crosslinked Gelatin Nanoparticles and Study of Their Water Intake Behavior, *International Journal of Nanomaterials and Biostructures* 5(2), 24-31, **2015**.
- [190] Mi, F. L., Synthesis and Characterization of a Novel Chitosan-Gelatin Bioconjugate with Fluorescence Emission, *Biomacromolecules*, 6(2), 975-987, **2005**.
- [191] *Anonim*, <http://shodhganga.inflibnet.ac.in:8080/.pdf>, (Ocak, **2016**).
- [192] Zohuriaan, M. J., Shokrolahi, F., Thermal Studies on Natural and Modified Gums, *Polymer Testing*, 23(5), 575 -579, **2004**.
- [193] Martins , J., Cerqueira, M., Bourbon , A., Synergistic Effects between K-Carrageenan and Locust Bean Gum on Physicochemical Properties of Edible Films Made Thereof, *Food Hydrocolloids* 2, 29, 280-289, **2012**.

- [194] Saravanan , D., Gomathi, T., Sudha, P. N., Comparative Study of Thermal Stability Using Natural Polymer Blend by Cross Linking, *Archives of Applied Science Research*, 3(6), 3 42-350, **2011**.
- [195] Sadowska, J., Johansson , B., Johannessen , B., Characterization of Ozonated Vegetable Oils by Spectroscopic and Chromatographic Methods, *Chemistry and Physics of Lipids*, 151, 85-91, **2008**.
- [196] Blanco, P., Poznyak, T., Chairez, I., Correlation of Structural Characterization and Viscosity Measurements with Total Unsaturation: An Effective Method for Controlling Ozonation in the Preparation of Ozonated Grape Seed and Sunflower Oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 988-998, **2015**.
- [197] Segaa, A., Zanardia, I., Chiasserinia, L., Gabbriellia, A., Properties of Sesame Oil by Detailed ¹h and ¹³c Nmr Assignments before and Aassignments before and after Ozonation and Their Correlation with Iodine Value, Peroxide Value, and Viscosity Measurements, *Chemistry and Physics of Lipids* 163, 148-156, **2010**.
- [198] Cirlini, M., Caligiani, A., Palla, G., De Ascentiis, A.,Tortini, P., Stability Studies of Ozonized Sunflower Oil and Enriched Cosmetics with a Dedicated Peroxide Value Determination, *Ozone: Science & Engineering*, 34(4), 293 -299, **2012**.
- [199] Ledea, O., Correa, T., Escobar, M., Rosado, A., Molerio, J., Hernández, C., Jardines, D., Volatile Components of Ozonized Sunflower Oil ı Oleozon® ı , *Ozone: Science & Engineering*, 23(2), 121 -126, **2001**.
- [200] O'Brien, P. J., Siraki, A. G., Shangari, N., Aldehyde Sources, Metabolism, Molecular Toxicity Mechanisms, and Possible Effects on Human Health, *Critical Reviews in Toxicology*, 35(7), 609 -662, **2005**.
- [201] Uysal, B., Ozonated Olive Oils and Troubles, *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(2), 49 -50, **2014**.
- [202] Özyildiz, F., Karagönlü, S., Basal, G., Uzel, A., Bayraktar, O., Micro-Encapsulation of Ozonated Red Pepper Seed Oil with Antimicrobial Activity

and Application to Nonwoven Fabric, *Letters in Applied Microbiology*, 56(3), 168 -179, **2013**.

- [203] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Properties and Antioxidant Activity of Fish Skin Gelatin Film Incorporated With Citrus Essential Oils, *Food Chemistry* 134, 1571-1579, **2012**.
- [204] Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., Cháfer, M., Characterization of Edible Films Based on Hydroxypropylmethylcellulose and Tea Tree Essential Oil, *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2102 -2109, **2009**.
- [205] Jouki, M., Yazdi, F., Mortazavi, S., Quince Seed Mucilage Films Incorporated with Oregano Essential Oil: Physical, Thermal, Barrier, Antioxidant and Antibacterial Properties, *Food Hydrocolloids*, 36, 9-19, **2014**.
- [206] Torrieri, E., Cavellaa, S., Masia, P., Effect of Rosemary Oil and an Emulsion of Essential Oils On Structure and Physical Properties of Chitosan Film, *Chemical Engineering Transactions*, 41, **2015**.
- [207] Bonilla, J., Vargas, M., Atarés, L., Chiralt, A., Physical Properties of Chitosan-Basil Essential Oil Edible Films as Affected by Oil Content and Homogenization Conditions, *Procedia Food Science*, 1, 50-56, **2011**.
- [208] Cui, L., Jia, J.F., Guo, Y., Liu, Y., Zhu, P., Preparation and Characterization of Ipn Hydrogels Composed of Chitosan and Gelatin Cross-Linked by Genipin, *Carbohydrate Polymers*, 99, 31-38, **2014**.
- [209] Hezaveh, H., Muhamad, I., Effect of Natural Cross-Linker on Swelling and Structural Stability of Kappa-Carrageenan/Hydroxyethyl Cellulose Ph-Sensitive Hydrogels, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 29(11), 1647-1655, **2012**.
- [210] Meena, R., Prasad, K., Siddhanta, A.K., Preparation of Genipin-Fixed Agarose Hydrogel, *Journal of Applied Polymer Science*, 104(1), 290 -296, **2007**.

- [211] Bajpai, S.K., Chand, N., Ahuja, S., Roy, M.K., Curcumin/Cellulose Micro Crystals/Chitosan Films: Water Absorption Behavior and in Vitro Cytotoxicity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 239-247, **2015**.
- [212] Pereira, R., Mendes, A., Bártolo, P., Novel Alginate Aloe Vera Hydrogel Blends as Wound Dressings for the Treatment of Several Types of Wounds, *Chemical Engineering Transactions*, 32, **2013**.
- [213] Vinklárková, L., Masteiková, R., Vetchý, D., Formulation of Novel Layered Sodium Carboxymethylcellulose Film Wound Dressings with Ibuprofen for Alleviating Wound Pain, *BioMed Research International*, **2015**.
- [214] Kimb, J., Parka, K.J., Kimb, H. J., Development of Polyvinyl Alcohol + Sodium Alginate Gel-Matrix-Based Wound, *International Journal of Pharmaceutics*, 359, 79-86, **2008**.
- [215] Steffansena, B., Herping, S., Novel Wound Models for Characterizing Ibuprofen Release from Foam Dressings, *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 150-155, **2008**.
- [216] Elsner, J., Zilberman, M., Novel Antibiotic-Eluting Wound Dressings: An in Vitro Study and Engineering Aspects in the Dressing's Design, *Journal of Tissue Viability*, 19(2), 54 -66, **2010**.
- [217] Wen, X., Fan, H., Tan, Y., Preparation of Electrospun Pla Nanofiber Scaffold and the Evaluation in Vitro, *Key Engineering Materials*, 288, 139-142, **2005**.
- [218] Li, W., Laurencin, C., Caterson, E., Electrospun Nanofibrous Structure: A Novel Scaffold for Tissue Engineering, *Journal of Biomedical Materials Research*, 60(4), 613 -621, **2002**.
- [219] Sanyang, M., Sapuan, M., Jawaid, M., Sahari, J., Effect of Plasticizer Type and Concentration on Tensile, Thermal and Barrier Properties of Biodegradable Films Based on Sugar Palm (*Arenga Pinnata*) Starch, *Polymers*, 1106-1124, **2015**.
- [220] Tapia-Blácido, D. R., Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Effect of Drying Conditions and Plasticizer Type on Some Physical and Mechanical

Properties of Amaranth Flour Films, *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 392 -400, **2013**.

- [221] Pongjanyakul, T., Puttipipatkachorn, S., Alginate-Magnesium Aluminum Silicate Films: Effect of Plasticizers on Film Properties, Drug Permeation and Drug Release from Coated Tablets, *International Journal of Pharmaceutics*, 333(1 - 2), 34 -44, **2007**.
- [222] Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A., Tensile Properties and Water Vapor Permeability of Sodium Caseinate Films Containing Oleic Acid + Beeswax Mixtures, *Journal of Food Engineering*, 85(3), 393 -400, **2008**.
- [223] Muscat, D., Adhikari, B., Adhikari, R., Chaudhary, D. S., Comparative Study of Film Forming Behaviour of Low and High Amylose Starches Using Glycerol and Xylitol as Plasticizers, *Journal of Food Engineering*, 109(2), 189-201, **2012**.
- [224] Min Wua, L. j. W., Dong Li, Zhi-huai Maoa, Benu Adhikari Effect of Flaxseed Meal on the Dynamic Mechanical Properties of Starch-Based Films, *Journal of Food Engineering* 118, 365 - 370, **2013**.
- [225] Cagri, A., Ustunol, Z., Ryser, E. T., Antimicrobial, Mechanical, and Moisture Barrier Properties of Low Ph Whey Protein-Based Edible Films Containing P-Aminobenzoic or Sorbic Acids, *Journal of Food Science*, 66(6), 865 - 870, **2001**.
- [226] Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A., Effect of Essential Oils and Homogenization Conditions on Properties of Chitosan-Based Films, *Food Hydrocolloids*, 26(1), 9 -16, **2012**.
- [227] Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., Agustini, T.W., Physico-Mechanical and Antimicrobial Properties of Gelatin Film from the Skin of Unicorn Leatherjacket Incorporated with Essential Oils, *Food Hydrocolloids*, 28(1), 189 -199, **2012**.
- [228] Aguirre, A., Borneo, R., León, A. E., Antimicrobial, Mechanical and Barrier Properties of Triticale Protein Films Incorporated with Oregano Essential Oil, *Food Bioscience*, 1, 2-9, **2013**.

- [229] Yanwong, S., Threepopnatkul, P., Effect of Peppermint and Citronella Essential Oils on Properties of Fish Skin Gelatin Edible Films, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 87(1), 012064, **2015**.
- [230] Gündem, N., Cıkman, A., Microorganisms Isolated from Wound Cultures and Their Antibiotic Susceptibilities, *Ankem Dergisi*, 26(4), 165 -170, **2012**.
- [231] Çetin, E., Kaya, S., Taş, T., Cerrahi Alan Enfeksiyonlarında Mikroorganizma Profili Ve Antibiyotik Duyarlılık Durumu, *Ankem Dergisi*, 20(2), 89 -93, **2006**.
- [232] Demir, B., Denk, A., Karlıdağ, G., Uçak, H., Bakteriyel Deri Enfeksiyonlarından İzole Edilen Mikroorganizmaların Antibiyotik Duyarlılığı Ve Ampirik Antibiyotik Tedavisinin Değerlendirilmesi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 28(1), 5 -10, **2014**.
- [233] Utlu, D., Taşatan, E., Öztürk, T., Karaboz, İ., Escherichia Coli Atcc 11230 Ve Staphylococcus Aureus Atcc 6538-P Bakterilerinin Tıpta Kullanılan Bazı İmplant Metallerine Karşı Affinitelerinin İncelenmesi, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 1(5), 12 -20, **2003**.
- [234] Lezcano, I., Nuñez, N., Espino, M., Gómez, M., Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil, Oleozón, against *Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcus Epidermidis*, *Ozone: Science & Engineering*, 22(2), 207 - 214, **2000**.
- [235] Skalska, K., Ledakowicz, S., Perkowski, J., Sencio, B., Germicidal Properties of Ozonated Sunflower Oil, *Ozone: Science & Engineering*, 31(3), 232 -237, **2009**.
- [236] Sümer, Z., Yıldırım, G., Sumer, H., Yıldırım, S., Cytotoxic and Antibacterial Activity of the Mixture of Olive Oil and Lime Cream in Vitro Conditions, *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 10(4), 137 -143, **2013**.
- [237] Nep, E.I., Asare-Addo, K., Ghori, M. U., Conway, B. R., Smith, A. M., Starch-Free Grewia Gum Matrices: Compaction, Swelling, Erosion and Drug

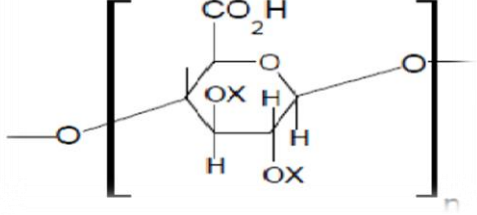
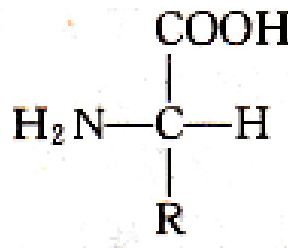
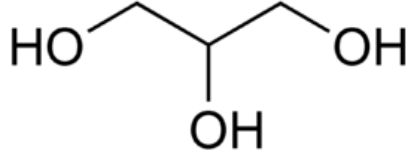
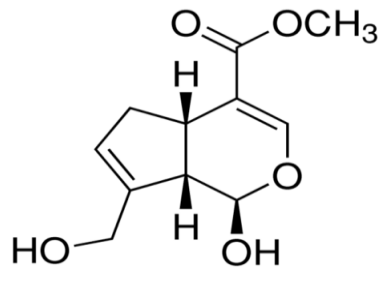
Release Behaviour, *International Journal of Pharmaceutics*, 496(2), 689 - 698, 2015.

- [238] Malana, M. A., Zafar, Z. I., Effect of Cross Linker Concentration on Swelling Kinetics of a Synthesized Ternary Co-Polymer System , *Journal of the Chemical Society*, 30(4), 2012.
- [239] Bajpai, A. K., Bajpai, J., Shukla, S., Water Sorption through a Semi-Interpenetrating Polymer Network (Ipn) with Hydrophilic and Hydrophobic Chains, *Reactive and Functional Polymers*, 50(1), 9 -21, 2002.

EKLER

EK-1

Çizelge E1-1. Yara örtüsü filmlerin hazırlanmasında kullanılan malzemeler

Kullanım gerekçesi	Kimyasal Adı	Kimyasal Yapı
Biyopolimer	Kitre	
Biyopolimer	Jelatin	
Plastikleştirici	Gliserol	
Çapraz bağlayıcı	Genipin	

EK-2

Hazırlanan Yara Örtü Filmleri İçin Belirlenen En Uygun Bileşen Konsantrasyonları

Çizelge E2-1. Değişen ozonize zeytinyağı konsantrasyonlarında hazırlanan filmlerin % son konsantrasyon değerleri ve kodları

Film Kodu	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Son % Konsantrasyon Değerleri				
	Kitre % (w/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	Gliserol % (v/v)	Jelatin % (w/v)	Genipin % (v/v)
G	2	-	2	-	-
G-O ₁₂	2	1	2	-	-
G-O ₂₂	2	2	2	-	-

Çizelge E2-2. Değişen gliserol konsantrasyonlarında hazırlanan filmlerin % son konsantrasyon değerleri ve kodları

Film Kodu	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Son % Konsantrasyon Değerleri				
	Kitre % (w/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	Gliserol % (v/v)	Jelatin % (w/v)	Genipin % (v/v)
G-O ₂₁	2	2	1	-	-
G-O ₂₂	2	2	2	-	-
GO ₂₄	2	2	4	-	-

Çizelge E2-3. Kitre ve jelatin kullanılarak hazırlanan filmlerin % son konsantrasyon değerleri ve kodları

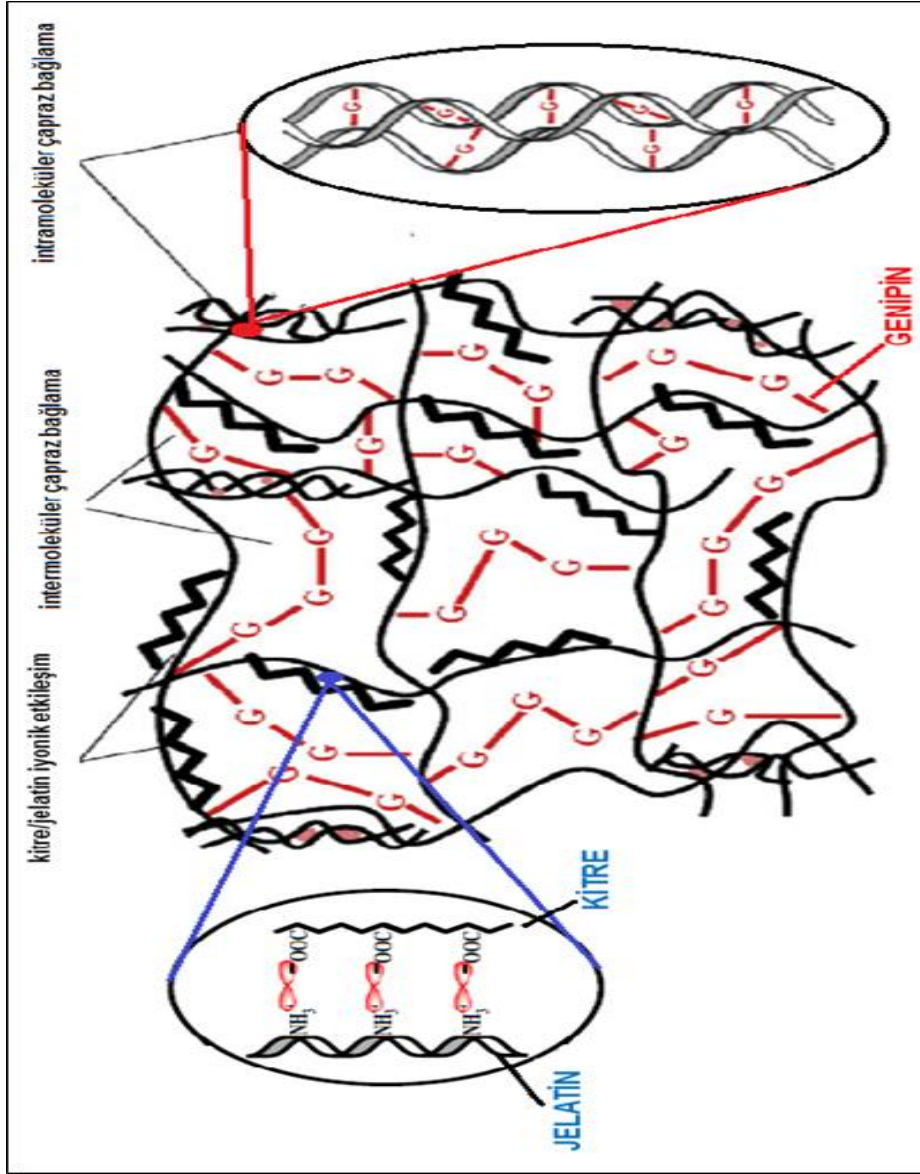
	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Son % Konsantrasyon Değerleri				
Film Kodu	Kitre % (w/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	Gliserol % (v/v)	Jelatin % (w/v)	Genipin % (v/v)
GJ	2	-	2	0.6	-
GJ-O₂₂	2	2	2	0.6	-

Çizelge E2-4. Değişen genipin konsantrasyonlarında çapraz bağlı hazırlanan filmlerin % son konsantrasyon değerleri ve kodları

	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Son % Konsantrasyon Değerleri				
Film Kodu	Kitre % (w/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	Gliserol % (v/v)	Jelatin % (w/v)	Genipin % (v/v)
GJ₁G-OC₁	2	3.5	3.5	0.6	0.018
GJ₁G-OC₂	2	3.5	3.5	0.6	0.037
GJ₁G-OC₃	2	3.5	3.5	0.6	0.074

Çizelge E2-5. Değişen jelatin konsantrasyonlarında çapraz bağlı hazırlanan filmlerin % son konsantrasyon değerleri ve kodları

Film Kodu	Bileşenlerin Film Çözeltisindeki Son % Konsantrasyon Değerleri				
	Kitre % (w/v)	Ozonize Zeytinyağı % (v/v)	Gliserol % (v/v)	Jelatin % (w/v)	Genipin % (v/v)
GJ ₁ G-OC ₂	2	3.5	3.5	0.6	0.037
GJ ₂ G-OC ₂	2	3.5	3.5	1.2	0.037
GJ ₃ G-OC ₂	2	3.5	3.5	2	0.037
GJG-C ₁	2	-	-	0.6	0.018



Şekil E3-1. Hazırlanan yara örtü filmlerinde moleküler arası bağlanma mekanizması

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Yasemin Günaydın
Doğum Yeri: Ankara
Medeni Hali: Evli
E-posta: y.onaran@hacettepe.edu.tr
Adres: Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü
Beytepe Ankara

Eğitim

Lise: Mehmet Emin Resulzade Anadolu Lisesi
Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
Doktora: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: Orta düzey

İş Deneyimi

2007- devam ediyor Araştırma Görevlisi
Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği
Bölümü BEYTEPE / ANKARA

Deneyim Alanları

Biyoteknoloji
Biyomedikal

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Biyoaktif Bir Doku Onarım Tabakası” Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Destek Projesi, Proje No: 7377, Bütçe: 6900 TL, **2015**.

“Biyoaktif Bir Doku Onarım Tabakası” Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Patent Destek Projesi, Proje No: 6788, Bütçe: 12.106 TL, **2015.**

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Günaydın, Y., Tanyolaç, D., Yüksek antimikrobiyal özellikli yeni bir yara örtüsü materyalinin mikrobiyal inaktivasyona etkisinin incelenmesi, UKMK- 11, Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Eskişehir, Türkiye, Eylül, 01-04, 2014 (sözlü sunum)