

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ENDÜSTRİYEL TEKNİK TEKSTİLLERİN**  
**POLİMERİK KAPLAMALARI İÇİN**  
**ANTİBAKTERİYEL KİMYASALLARIN**  
**GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİ MEKANİZMASININ**  
**İNCELENMESİ**

**Görkem GEDİK**

**Mart, 2018**

**İZMİR**

**ENDÜSTRİYEL TEKNİK TEKSTİLLERİN  
POLİMERİK KAPLAMALARI İÇİN  
ANTİBAKTERİYEL KİMYASALLARIN  
GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİ MEKANİZMASININ  
İNCELENMESİ**

**Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Doktora Tezi**

**Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Görkem GEDİK**

**Mart, 2018**

**İZMİR**

## DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

**GÖRKEM GEDİK**, tarafından **PROF. DR. AYSUN AKŞİT** yönetiminde hazırlanan “**ENDÜSTRİYEL TEKNİK TEKSTİLERİN POLİMERİK KAPLAMALARI İÇİN ANTİBAKTERİYEL KİMYASALLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir doktora tezi olarak kabul edilmiştir.



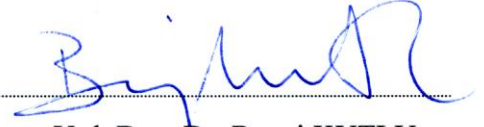
Prof. Dr. Aysun AKŞİT

Yönetici



Doç. Dr. Aylin ZİYLAN

Tez İzleme Komitesi Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Bengi KUTLU

Tez İzleme Komitesi Üyesi



Prof. Dr. Dilek Kut

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Mustafa E. Arayen

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Kadriye ERTEKİN

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

## TEŐEKKÖR

Bu tez alıőması, 00883.STZ.2011-1 numaralı SANTEZ ve 2015.KB.FEN.33 numaralı DEÖ BAP projeleri tarafından desteklenmiőtir. Doktora çalıőmalarım boyunca desteklerini hep hissettiğim aileme, mÖstakbel eőtım Ceren Hilal Gedik'e, danıőmanım Prof. Dr. Aysun Akőtıt'e teőtakkÖrlerimi sunarım. Tez izleme komitesi üyeleri Doç. Dr. Aylin Ziylan ve Yrd. Doç Dr. Bengi Kutlu'ya katkılarından dolayı teőtakkÖr ederim. Tez çalıőmalarım boyunca yardımlarımı esirgemeyen İYTE BİYOMER uzmanı Evrim Balcı Paőtık'a, DEÖ Fizik BölÖmÖ Öğretim üyesi Prof. Dr. Birol Engin'e, DEÖ Fizik BölÖmÖ araştırma görevlisi Ufuk Paksu'ya, baőtta Berkan Mızrak ve ÖzgÖr Özen olmak Özere Rultrans Transmisyon A.Ő. alıőanlarına teőtakkÖrÖ borç bilirim.

GÖrkem GEDİK

# ENDÜSTRİYEL TEKNİK TEKSTİLLERİN POLİMERİK KAPLAMALARI İÇİN ANTİBAKTERİYEL KİMYASALLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİ MEKANİZMASININ İNCELENMESİ

## ÖZ

Günlük yaşamlarımızı patojen ve patojen olmayan sayısız bakteriyle paylaşmaktayız. Zararlı mikroorganizmaların hastalıklara neden olmadan önce etkisiz hale getirilmesi hem birey ve toplum sağlığı açısından hem de ekonomik anlamda önem arz etmektedir. Antibakteriyel tekstil ürünleri de bu mücadelede önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle bazı spesifik alanlarda, hastaneler, toplu kullanıma açık mekanlar, gıda üretimi yapan tesisler, okullar, yatakhaneler, spor tesisleri gibi ortamlarda antibakteriyel tekstil ürünlerinin kullanımı giderek bir seçimden çok zorunluluk halini almaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, antibakteriyel özellik gösteren polimerik kaplı tekstil ürünlerinin üretilmesi planlanmıştır. Bu amaçla polivinilklorür polimeri kaplama polimeri olarak kullanılmıştır. Kaplamalara antibakteriyel fonksiyonellik kazandırmak için kalsiyum oksit, çinko oksit ve magnezyum oksit metal oksit tozları kaplama polimerine katılmıştır. *Listeria innocua* türü bakterinin kullanıldığı çalışmalarda en yüksek antibakteriyel etkinin sağlanabilmesi için gerekli optimum metal oksit konsantrasyonu tespit edilmiştir. Yüksek antibakteriyel etkinliğin elde edilebilmesi için oluşturulması gereken kaplama yapısı irdelenmiştir. Antibakteriyel etki mekanizmasının araştırılması için Elektron Spin Rezonans (ESR) tekniği, diklorofloresin diasetat (DCFH-DA) oksijen radikali probu, floresin kimyasal probu kullanılmıştır. Metal oksit tozlarının oksijen radikali salımı yaptığı veya katalitik etkiye neden olduğu tespit edilmiştir. Bakteri içerisinde oluşan oksidatif stres floresan mikroskop ve mikroplaka okuyucu yardımıyla belirlenmiştir. Kaplama yapısında metal oksit katkısı nedeniyle meydana gelen değişimler FTIR (fourier transform infrared spectroscopy) kullanılarak incelenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Antibakteriyel, kaplama, çinko oksit, kalsiyum oksit, magnezyum oksit, ESR, DCFH-DA, floresin, oksijen radikali, PVC

# DEVELOPMENT OF ANTIBACTERIAL CHEMICALS FOR POLYMERIC COATINGS OF INDUSTRIAL TECHNICAL TEXTILES AND ANALYSIS OF MECHANISM

## ABSTRACT

We share our daily lives with pathogenic or nonpathogenic countless bacteria. Elimination of the pathogenic bacteria before they cause diseases is important to protect individual and community health and also to look out for economical benefits. Antibacterial textiles are a substantial part of this fight against pathogenic bacteria. Especially in some specific areas such as hospitals, public domain, food producing facilities, schools, dorms and gymnasiums usage of antibacterial textiles has become a necessity rather than an option.

In this thesis, it was planned to produce antibacterial polymeric coated textiles. Polyvinyl chloride was used as coating polymer. Calcium oxide, zinc oxide and magnesium oxide powders were doped to coating polymer for antibacterial functionality. Optimum metal oxide concentrations for the maximum antibacterial activity were determined. *Listeria innocua* bacteria was used in antibacterial tests. Suitable coating construction was investigated for the highest antibacterial yield. The act of mechanism was researched with Electron Spin Resonance (ESR) technique, dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) oxygen radical probe and fluorescein chemical probe. It was determined that metal oxides caused oxygen radical releasing or catalytic reactions. The oxidative stress in the bacteria was determined with fluorescence microscope and microplate reader. The changes in the coating structure related to metal oxide doping were monitored with FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy)

**Keywords:** Antibacterial, coating, zinc oxide, calcium oxide, magnesium oxide, ESR, DCFH-DA, fluorescein, oxygen radicals, PVC

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZ .....	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xvi
<b>BÖLÜM BİR – GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1 Tekstilde Kaplama Teknolojisi .....	3
1.1.1 Direk Kaplama.....	5
1.2 Antibakteriyel Tekstil Uygulamaları.....	8
1.2.1 Gıda Sektöründe Antibakteriyel Tekstillerin Kullanımı.....	10
1.2.2 Tekstil Sektöründe Kullanılan Antibakteriyel Maddeler.....	11
1.3 Metal Oksit Tozlarının Antibakteriyel Özellikleri ve Antibakteriyel Etki Mekanizmaları.....	14
1.3.1 Metal Oksitlerin Kimyasal Özellikleri.....	15
1.3.1.1 Metal Oksit Reaktivitesine Yeni Bir Bakış Açısı: Yüzey Hataları..	18
1.3.2 Metal Oksitlerin Antibakteriyel Özellikleri ve Etki Mekanizmaları Üzerine Literatür Araştırması .....	18
1.4 Elektron Spin Rezonans Tekniği.....	29
1.4.1 ESR Tekniğiyle Oksijen Radikalleri Tespiti .....	31
<b>BÖLÜM İKİ - MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>35</b>
2.1 Kaplama İşlemleri .....	35
2.2 Taban Kumaşı.....	37

2.3 Antibakteriyel Fonksiyonellik Kazandırmak İçin Kullanılan Katkı Maddeleri.....	37
2.4 Antibakteriyel Etkinliğin Test Edilmesi.....	37
2.5 Oksijen Radikallerinin Tespit Edilmesi .....	39
2.5.1 Elektron Spin Rezonans Tekniği Kullanılarak Yapılan Ölçümler .....	39
2.5.2 DCFH-DA (Diklorofloresin Diasetat) İle Yapılan Ölçümler.....	42
2.5.2.1 Mikroplaka Okuyucu İle Yapılan Ölçümler .....	43
2.5.2.2 Floresan Mikroskop İle Yapılan Ölçümler .....	43
2.5.3 Floresin İle Yapılan Ölçümler .....	43
2.6 Partikül Boyutu Analizi.....	45
2.7 SEM Görüntüleri ve EDX Taramaları.....	45
2.8 Kütleli Artışın (Add-On) Hesaplanması .....	45
2.9 FT-IR Analizleri .....	46
2.10 Antibakteriyel Etkinliğin Tekrarlı Yıkama İşlemlerine Karşı Direnci.....	46
2.11 Kaplamada Füzyonun ve Katmanlar Arasındaki Adezyonun Değerlendirilmesi.....	46
2.12 Bakterilerin Büyüme Eğrilerinin Çıkarılması ve Metal Oksit Tozlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi .....	46
2.13 Kaplama Kalınlıklarının Ölçümü .....	47
<b>BÖLÜM ÜÇ - BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>48</b>
3.1 Partikül Boyutu Analizi.....	48
3.2 Kaplanmış Numunelerin SEM Görüntüleri Ve EDX Analizleri.....	50
3.2.1 Kalsiyum Oksit İçeren Numunelerin SEM Görüntüleri ve EDX Analizleri .....	53
3.2.2 Çinko Oksit İçeren Numunelerin SEM Görüntüleri ve EDX Analizleri .....	55
3.2.3 Magnezyum Oksit İçeren Numunelerin SEM Görüntüleri Ve EDX Analizleri.....	57
3.3 <i>Listeria innocua</i> türü Bakterilerin Büyüme Eğrileri .....	59
3.3.1 Metal Oksit Tozlarının Bakteri Büyüme Eğrilerine Etkisi .....	60



3.4 Metal Oksit İçeren Kaplanmış Numunelerin Antibakteriyel Etkinlikleri .....	63
3.4.1 Tek Katmanlı Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri .....	63
3.4.2 Çift Katmanlı Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri .....	66
3.4.2.1 Çinko Oksit İçeren Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri .....	66
3.4.2.2 Kalsiyum Oksit İçeren Kaplanmış Örnekler İle Yapılan Testler.....	70
3.4.2.3 Magnezyum Oksit İçeren Kaplanmış Örneklerle Yapılan Testler...	76
3.4.2.4 Kaplamalar Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğin Bakterinin Temas Süresiyle Değişimi .....	79
3.4.2.5 Tekrarlı yıkama işlemlerine karşı antibakteriyel etkinliğin değişimi .....	80
3.5 Kullanılan Metal Oksitlerin Antibakteriyel Etki Mekanizmalarının İncelenmesi .....	81
3.5.1 Elektron Spin Rezonans (ESR) Tekniği Kullanılarak Yapılan Ölçümler.....	81
3.5.1.1 Çinko Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri.....	82
3.5.1.2 Oksijen Radikali Konsantrasyonu Tespiti .....	87
3.5.1.3 Magnezyum Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri .....	90
3.5.1.4 Kalsiyum Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri.....	92
3.5.1.5 Metal oksit tozu içeren kaplanmış numuneler ve DMPO ile yapılan ESR ölçümleri.....	94
3.5.2 Metal Oksit Yüzeylerindeki Oksijen Boşluğu Varlığının ESR Tekniği Kullanılarak İrdelenmesi .....	97
3.5.3 DCFH-DA Probu Kullanılarak Yapılan Ölçümler .....	99
3.5.3.1 Floresan Mikroskop Kullanılarak Yapılan Deneyler .....	99
3.5.3.2 DCFH-DA ve Mikro Plaka Okuyucu ile Yapılan Deneyler .....	106
3.5.4 Floresin (Fluorescein) ile Yapılan Ölçümler .....	107
3.5.4.1 Çinko Oksit İle Yapılan Ölçümler .....	107
3.5.4.2 Kalsiyum Oksit İle Yapılan Ölçümler .....	109
3.5.4.3 Magnezyum Oksit İle Yapılan Ölçümler.....	112
3.6 Kaplamada Füzyonun ve Katmanlar Arası Adezyonun Değerlendirilmesi ....	113
3.7 FTIR (Fourier Transformed Infrared Spectrometry) Analizleri .....	115

**BÖLÜM DÖRT – SONUÇ VE DEĞERLENDİRME .....119**

**KAYNAKLAR .....124**



## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1 Farklı direk kaplama metotları.....	6
Şekil 1.2 Direk kaplamada kullanılan bazı bıçak tiplerine örnekler .....	7
Şekil 1.3 Metilol-5,5-dimetilhidantoin bakteri teması ve rejenerasyonu sonrasındaki dönüşümü.....	12
Şekil 1.4 Metal oksitlerde direk elektron transferi.....	16
Şekil 1.5 Yarıiletken özellik gösteren metal oksitlerin ışık ile uyarılması sonucu elektronların valans banttıan iletken banda geçişi .....	17
Şekil 1.6 Bazı metal oksitlerin bant aralıkları ve bazı radikallerin ve iyonların oluşabilmesi için gereken enerji seviyeleri .....	17
Şekil 1.7 Su moleküllerinin oksijen boşluklarıyla etkileşimi ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> oluşumu.....	24
Şekil 1.8 Elektron için manyetik alanda enerji seviyeleri ve Zeeman yarılması .....	30
Şekil 1.9 Spin tuzaklarının oksijen radikalleriyle reaksiyonları .....	32
Şekil 2.1 İki katmanlı kaplanmış kumaş yapısının optik mikroskop görüntüsü .....	36
Şekil 2.2 Elektron Spin Rezonans cihazı .....	40
Şekil 2.3 Metal oksitlerin farklı yollarla DMPO ile etkileşime sokularak ESR ölçümü yapılması.....	41
Şekil 2.4 DCFH-DA molekülünün hücre içi esterazlarla DCFH molekülüne dönüşümü ardından DCFH molekülünün oksijen radikalleriyle reaksiyonu sonucu floresan DCF molekülüne dönüşümü.....	42
Şekil 2.5 Floresinin molekül yapısı ve floresans özelliğinin sönümlenmesine bir örnek .....	44
Şekil 3.1 Kullanılan metal oksit tozlarının partikül boyutu dağılımları .....	49
Şekil 3.2 Metal oksit içermeyen kontrol numunesine ait SEM görüntüsü.....	51
Şekil 3.3 Kontrol numunesine ait kalsiyum magnezyum ve çinko atomu için EDX haritaları.....	51
Şekil 3.4 Kalsiyum oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri.....	53
Şekil 3.5 Kaplama yüzeyinde görülen parçacığa yapılan EDX nokta taraması sonucu .....	53

Şekil 3.6 %5 kalsiyum oksit içeren numunenin EDX haritası .....	54
Şekil 3.7 %20 kalsiyum oksit içeren numunenin EDX haritası .....	54
Şekil 3.8 %5 ve %20 kalsiyum oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları .....	55
Şekil 3.9 Çinko oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri.....	56
Şekil 3.10 %10 çinko oksit içeren numunenin EDX haritası.....	56
Şekil 3.11 %35 çinko oksit içeren numunenin EDX haritası.....	56
Şekil 3.12 %10 ve %35 çinko oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları .....	57
Şekil 3.13 Magnezyum oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri .....	57
Şekil 3.14 %5 magnezyum oksit içeren numunenin EDX haritası .....	58
Şekil 3.15 %20 manezyum oksit içeren numunenin EDX haritası .....	58
Şekil 3.16 %10 ve %35 çinko oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları .....	58
Şekil 3.17 Listeria innocua türü bakterilerin büyüme eğrisi .....	60
Şekil 3.18. Bakterilerin büyüme eğrisine metal oksit tozlarının etkisi .....	62
Şekil 3.19 % 0,7 MgO içeren numunenin EDX taraması .....	65
Şekil 3.20 Metal oksit içermeyen kontrol numunesi ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları.....	67
Şekil 3.21 %10 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	67
Şekil 3.22 %15 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	67
Şekil 3.23 %20 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	68
Şekil 3.24 %25 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	68
Şekil 2.25 %30 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	68
Şekil 3.26 %30 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	69

Şekil 3.27 Antibakteriyel etkinliğin kaplama polimeri içerisindeki çinko oksit konsantrasyonu ile değişimi .....	69
Şekil 3.28 Metal oksit içermeyen kontrol numunesi ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	71
Şekil 3.29 %1 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	71
Şekil 3.30 %5 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	72
Şekil 3.31 %10 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	72
Şekil 3.32 %15 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	73
Şekil 3.33 %20 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	73
Şekil 3.34 %25 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	73
Şekil 3.35 %30 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	74
Şekil 3.36 %35 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları .....	74
Şekil 3.37 Kalsiyum oksit konsantrasyonu ile antibakteriyel etkinlikteki değişim ...	75
Şekil 3.38 Metal oksit içermeyen kontrol numunesine yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü .....	76
Şekil 3.39 %5 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü .....	76
Şekil 3.40 %10 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü .....	77
Şekil 3.41 %15 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü .....	77
Şekil 3.42 %20 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü .....	77

Şekil 3.43 %25 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü.....	78
Şekil 3.44 MgO içeren kaplamaların antibakteriyel etkinliklerinin konsantrasyonla değişimi .....	78
Şekil 3.45 A:%20 CaO içeren numunenin antibakteriyel etkinliğin bakteri ile temas süresiyle değişimi, B: Bakteri büyüme eğrileri.....	79
Şekil 3.46 Tekrarlı yıkamalarla antibakteriyel etkinlikteki değişim.....	80
Şekil 3.47 Karanlıkta bekletilen DMPO çözeltisinin ESR spektrumu.....	82
Şekil 3.48. UV ışığa maruz bırakılan DMPO çözeltisinin ESR spektrumu.....	82
Şekil 3.49 Işık etkisi olmadan elde edilen, 1 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	83
Şekil 3.50 Işık etkisi olmadan elde edilen, 10 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	83
Şekil 3.51 Işık etkisi olmadan elde edilen, 100 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	84
Şekil 3.52 UV ışık etkisi altında elde edilen, 1 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	84
Şekil 3.53 UV ışık etkisi altında elde edilen, 10 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	85
Şekil 3.54 UV ışık etkisi altında elde edilen, 100 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu.....	85
Şekil 3.55 Literatürde bulunan farklı çalışmalarda DMPO-OH spin bileşiğinin ESR spektrumu .....	86
Şekil 3.56 TEMPO stabil radikaliyle kalibrasyon çalışmasına ait ESR spektrumları .....	88
Şekil 3.57 Spektrumdaki her sinyalin minimum noktası sıfıra eşitlenerek tek tek bütün sinyallerin alanının hesaplanması ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisi.....	89
Şekil 3.58 Magnezyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumu.....	91
Şekil 3.59 Kalsiyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumu .....	92

Şekil 3.60 Kalsiyum oksidin DMPO spin tuzağı üzerindeki etkisi.....	93
Şekil 3.61 Kaplanmış numunelerde değişen çinko oksit konsantrasyonlarında elde edilen ESR spektrumları.....	95
Şekil 3.62 Çinko oksit içerikli kaplanmış numuneler üzerinde tespit edilen oksijen radikali konsantrasyonları .....	96
Şekil 3.63 Çinko oksit tozunun ESR spektrumu.....	97
Şekil 3.64 Magnezyum oksit tozunun ESR spektrumu.....	98
Şekil 3.65 Kalsiyum oksit tozunun ESR spektrumu .....	99
Şekil 3.66 Sadece bakteri içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu .....	100
Şekil 3.67 Bakteri ve DCFH-DA içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu .....	100
Şekil 3.68 Bakteri ve çinko oksit içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu.....	101
Şekil 3.69 Bakteri, çinko oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu.....	102
Şekil 3.70 Bakteri ve magnezyum oksit içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu .....	103
Şekil 3.71 Bakteri, magnezyum oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu .....	103
Şekil 3.72 Bakteri ve kalsiyum oksit içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu.....	104
Şekil 3.73 Bakteri, kalsiyum oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hücrelerine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu .....	104
Şekil 3.74 Mikro plaka okuyucu ile elde edilen floresans değerleri .....	105
Şekil 3.75 10g/L ZnO konsantrasyonunda UV ışık altında 1 saat bekletilen çözeltinin UV-vis spektrumu .....	107
Şekil 3.76 Değişen ZnO konsantrasyonunda UV ışık altında 1 saat bekletilen çözeltinin UV-vis spektrumu.....	108
Şekil 3.77 Karanlıkta ve UV ışık altında 10g/L kalsiyum oksit ve floresinin 1 saatlik etkileşimi sonucu oluşan UV-vis spektrumu.....	109

Şekil 3.78 24 saatlik uygulama ile kalsiyum oksit konsantrasyonundaki değişimin floresinin UV-vis spektrumuna etkisi .....	110
Şekil 3.79 10 g/L MgO konsantrasyonda ve 1 saat etkileşim süresinde UV etkisi altında ve karanlıkta floresin absorbansındaki değişim .....	112
Şekil 3.80 Farklı konsantrasyonlarda MgO ile 24 saat etkileşim süresi sonrası floresin absorbansındaki değişim .....	113
Şekil 3.81 %20 magnezyum oksit katkılı numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri .....	114
Şekil 3.82 %35 çinko oksit katkılı numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri .....	114
Şekil 3.83 %20 kalsiyum oksit katkılı numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri .....	115
Şekil 3.85 Kalsiyum oksit katkılı polimerik kaplamanın FTIR spektrumu .....	116
Şekil 3.86 Çinko oksit katkılı polimerik kaplamanın FTIR spektrumu .....	117
Şekil 3.87 Farklı konsantrasyonlarda kalsiyum oksit katkılanan numunelerde meydana gelen kıvrılma.....	118



## TABLÖLAR LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 1.1 Tekstil üretiminde sıklıkla kullanılan antimikrobiyal katkı maddeleri ve özellikleri.....	11
Tablo 2.1 Kaplama işlemlerinde kullanılan reçete.....	35
Tablo 3.1 Kontrol numunesinin EDX nokta analizi sonuçları.....	52



## BÖLÜM BİR

### GİRİŞ

Zararlı mikroorganizmalara karşı verilen savaş, insanoğlunun en eski mücadelelerinden bir tanesidir. Binlerce hatta milyonlarca yıl boyunca bizlerle beraber evrim ağacının dallarına tırmanmış bu minik canlıların varlığından habersiz olan insanoğlu, çağlar boyunca bulaşıcı hastalıkların önüne geçememiş, hatta büyük salgınlarla kıyıma uğramıştır. Ortaçağda Avrupa'da yaşanan veba salgınlarının en büyük nedeni, o dönemde önemi bilinmeyen, hijyen ve temizlik koşullarına dikkat edilmemesidir. Güney Amerika'nın keşfini takiben, bu kıtadan altın ve gümüş gibi değerli madenleri ülkelerine götüren Avrupalı istilacılar beraberlerinde yerlilerin hiç bağışıklık geliştiremediği mikropları getirmiş ve Güney Amerika yerlilerinin bu hastalıklar yüzünden büyük bir nüfus azalışı yaşamasına sebep olmuşlardır. 1675 yılında Anton van Leeuwenhoek kendi geliştirdiği mikroskopla insanoğluna mikrop dünyasının kapısını araladıktan sonra, bakterilere karşı savunma hattı oluşturulmaya başlanmıştır. Bu aşamadan sonra mikroorganizma kaynaklı hastalıkların iyileştirilmesi ve hastalık insanları etkilemeden önce önlem alınması konularında yapılan çalışmalar bugüne kadar artan bir hızla devam etmiştir.

Günümüzde, birçok bilim dalı antibakteriyellik üzerine araştırmalar yapmaktadır. Antibakteriyel tekstil ürünleri de koruyucu tekstiller kapsamında tekstil mühendisliğinin araştırma alanına girmektedir. Toplum sağlığı söz konusu olduğunda, özellikle bazı alanlarda, antibakteriyel özellik gösteren tekstil malzemelerinin kullanımı bir tercihten çok zorunluluk halini alır. Bu alanlara hastaneler, gıda üretim tesisleri, toplu yaşam alanları, spor merkezleri gibi yerler örnek olarak gösterilebilir. Tekstil ürünleri insan ile direk veya dolaylı olarak temas halindedir. Bu nedenle, kullanılacak antibakteriyel kimyasalın insan sağlığına ve doğaya zararlı olmaması istenmektedir. Bu durumda oldukça kısıtlı bir listeden titizlikle seçim yapmak gerekir.

Taşıyıcı (konveyör) bantlar, modern bir üretim tesisinde hammaddenin, ara ürünlerin veya son ürünlerin prosesler arasındaki ulaşımını sağlayan ekipmanlardır.

Taşıyıcı bantlar, kullanıldıkları endüstri dalının ihtiyaçlarına cevap verebilecek şekilde üretilirler (Heide, 2007). Gıda endüstrisinde üç temel konstrüksiyonda taşıyıcı bant kullanılmaktadır, bunlar: kaplanmış taşıyıcı bantlar, plastik modüler bantlar ve plastik taşıyıcı zincirler olarak sınıflandırılabilir (Heide, 2007). İnsan ve çevre sağlığının birincil öneme sahip olduğu gıda sektöründe, gıdalarla direk temas halinde bulunan taşıyıcı bantların üzerinde zararlı mikroorganizmaların üremesi kesinlikle istenmez. Zayıf temizlik prosedürleri ve kirli ekipmanlar gıda kaynaklı münferit veya salgın birçok hastalığa neden olmaktadır. Tekstil ürünlerine antibakteriyel fonksiyonellik kazandırılmasının önemli nedenlerinden birinin, hastalık yayılmasını önleme ve enfeksiyonlardan korunmanın olduğu düşünüldüğünde (Hebeish ve ark., 2011), gıda ürünleriyle direk temas halinde bulunan polimerik kaplı taşıyıcı bantların antibakteriyel özellik göstermesi önemli önceliklerden bir tanesi olmalıdır.

Çapraz kirlenme, bakteri veya virüslerin kirlenmiş bir üründen kirlenmemiş bir ürüne direk veya indirek yollarla geçmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu geçiş havadan gıdaya, sıvılarda yüzeyden gıdaya ve temas ile yüzeyden gıdaya şeklinde yollar izleyebilir (Perez-Rodriguez ve ark., 2008). Polimerik kaplı konveyör sistemde taşınan gıdalar (tavuk, kırmızı et, balık v.b) düşünüldüğünde temas ile yüzeyden gıdaya çapraz kirlenme yolu akla gelmektedir. Taşıyıcı bantlar sonsuz sistemler oldukları için, herhangi bir noktada oluşacak bakteriyel üreme, çapraz kirlenme yoluyla bütün üretimin etkilenmesine neden olacaktır. Bu nedenle antibakteriyel bir konveyör bandının etkisini tüm yüzeyde, kalıcı şekilde ve uzun süre göstermesi, bunun yanında, kullanılan antibakteriyel kimyasalın gıda ile temasa uygun olması istenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nin gıda ve ilaç konusunda resmi yetkili kurumu olan FDA (Food and Drug Administration), taşıyıcı bant gibi gıdalarla direk temas halinde bulunan malzemelerdeki katkı maddelerini dolaylı gıda katkısı olarak tanımlamaktadır ve bu katkı maddeleri için sınırlamalar getirmektedir.

Tekstil uygulamalarında kullanılmak üzere antibakteriyel etki gösteren birçok kimyasal bulunmakla birlikte bu maddelerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel zararlı etkileri nedeniyle oldukça kısıtlı bir liste içerisinde antibakteriyel madde seçimi yapmak zorunda kalınmaktadır (Schindler ve Hauser, 2004). Özellikle insan

teni ve gıda malzemeleriyle direkt olarak temasta bulunan antibakteriyel tekstil ürünlerinin eldesinde kullanılacak kimyasalların seçiminde çok daha hassas davranmak gerekmektedir. (Schindler ve Hauser, 2004).

Organik bileşiklerin tersine anorganik bileşiklerin sert proses koşullarına dayanıklılığı ve antimikrobiyal etkilerini uzun zaman sürdürebilmeleri, önemlerinin gittikçe artmasında rol oynamaktadır (Cioffi ve Rai, 2012). Bu artışa paralel olarak metal oksit içerikli antibakteriyel ürünler üzerine yapılan araştırmalar da son yıllarda yoğunlaşmıştır. Metal oksitlerin antibakteriyel etkileri biliniyor olmasına rağmen, antibakteriyel etki mekanizmasının incelenmesi, bu etkinin artırılması için gereken parametreler gibi konular oldukça yeni araştırma alanlarıdır. Son dönemde yapılan çalışmalar genel olarak metal oksitlerin oksijen radikalleri üzerinden antibakteriyel etki göstermesi teorisi üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, özellikle gıda üretimi yapan işletmelerde kullanılacak tekstil tabanlı polimerik kaplı taşıyıcı bantların antibakteriyel hale getirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, insan sağlığına olumsuz etkisi olmadığı bilinen metal oksit tozları (özellikle çinko oksit kalsiyum oksit ve magnezyum oksit üzerinde durulmuştur) katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Maksimum antibakteriyel etkinin sağlanabilmesi için oluşturulması gereken kaplama konstrüksiyonu ve kullanılması gereken optimum katkı maddesi konsantrasyonu üzerinde çalışılmıştır. Polimerik kaplı metal oksit içeren tekstil ürünlerinin antibakteriyel etki mekanizması farklı yöntemlerle araştırılmıştır.

## **1.1 Tekstilde Kaplama Teknolojisi**

Kaplanmış tekstil ürünlerinin kullanımı antik çağlara kadar uzanmaktadır. Kaydedilen ilk kaplanmış tekstil ürünleri, Orta ve Güney Amerika yerlileri tarafından kumaşa doğal kauçuk aplike edilmesiyle elde edilmiş su geçirmez kumaş numuneleridir (Sen, 2008). Günümüzde, kaplanmış tekstiller denildiğinde genellikle polimerik kaplı tekstil ürünleri akla gelmektedir. Polimer ve tekstil teknolojisindeki gelişmelerle birlikte kaplanmış kumaşlar geniş bir kullanım alanı bulmakta ve günümüz teknolojisinde önemli yer edinmektedirler (Sen, 2008).

Tekstil terminolojisinde kullanılan iki tekniği açıklamakta fayda vardır; kaplama ve laminasyon. Kaplama işleminde temel olarak viskoz bir formülasyon tekstil materyaline applike edilir. Laminasyon işleminde ise önceden hazırlanmış polimer film veya membran özel adezifler, ısı veya basınç yardımıyla kumaşa yapıştırılır (Sen, 2008). Bu tez kapsamında kaplama tekniği üzerinde durulmuştur.

Kaplanmış kumaş, taban kumaş ve polimerik kaplamadan oluşan kompozit bir yapıdır. Polimerik kaplamanın tekstil materyaline adezyonu yeterli olmalıdır. Kumaş yüzeyine çeşitli tekniklerle aktarılan kaplama maddesinin kalınlığı belirli seviyede tutulur ve kaplama işleminin ardından ısı yardımıyla kürleme işlemi yapılarak polimerik maddenin içerisinde çapraz bağlanma oluşması sağlanır. Eğer proses farklı katmanlarda kaplamayı içeriyorsa, bu durumda katmanlar arasındaki adezyonun yüksek olması beklenir. Görselliği iyileştirmek veya fonksiyonel özellikleri geliştirmek amacıyla ince bir üst katman kaplaması uygulanabilir (Schwartz, 2004; Singha, 2012). Taban kumaşı genellikle dokuma, örme veya dokusuz yüzey kumaşlardan seçilmektedir, braiding kumaşlar nadiren kullanılır. Kumaşın tek yüzü veya iki yüzü birden kaplanabileceği gibi can yeleği örneğindeki gibi kaplama maddesi iki kumaş arasında bulunabilir (Schwartz, 2004). Tekstil materyali, polimer tabakası ile kaplandığında yeni oluşan kompozit materyalin karakteristiği bir araya gelen malzemelerin özelliklerinin kombinasyonunu sergiler (Akovalı, 2012). Kaplanmış tekstil ürünlerinin kopma ve yırtılma dayanımları, uzama davranışları gibi fiziksel özellikleri büyük ölçüde taban kumaşı tarafından belirlenir. Öte yandan, dış etkilere dayanım, geçirgenlik (hava su veya çözücülere karşı), renk haslığı, yüzey düzgünlüğü gibi birçok yüzey özelliği kaplama maddesi tarafından belirlenir. (Akovalı, 2012; Schwartz, 2004). Bu durum göz önünde bulundurularak üretim planlaması yapılmalıdır. Kullanım amacına uygun bir ürün eldesi için kaplama polimeri ve taban kumaşı dikkatli seçilmeli, ihtiyaçları karşılayacak kaplama konstrüksiyonu belirlenmeli uygun kaplama yöntemi kullanılarak aplikasyon gerçekleştirilmelidir.

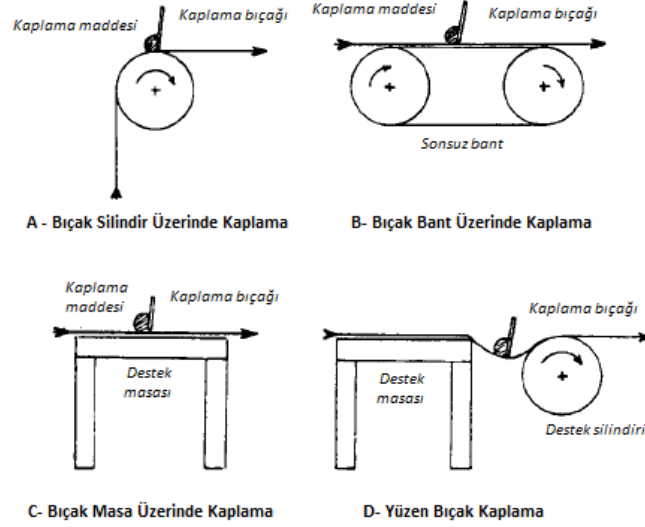
Tekstil endüstrisinde kullanılan farklı kaplama yöntemleri bulunmaktadır. Bu teknikler genel anlamda aktarılan polimer miktarını, yüzey özelliklerini, teknik gereksinimleri ve estetik özellikleri, dizayn edilen doğrultuda ayarlamayı amaçlar.

Bunlardan belki en önemlisi aktarılan polimer miktarının kontrolüdür ve farklı kaplama tekniklerinde bu parametre, kullanılan teknolojiye has yöntemlerle ayarlanır. Örneğin, direk kaplama metodunda bıçağın yapısı, bıçakla kumaş arasındaki açıklık ve bıçağın açısı aktarım miktarını belirlerken silindirik kaplamada silindirler arası açıklık, kumaş geçiş hızı ve sıyırıcı rakle pozisyonu gibi parametreler etkili olur. Bunun gibi örneklerle tekstil sektöründe kullanılan çeşitli kaplama yöntemleri mevcuttur (Fung, 2002).

Kaplanmış tekstil ürünleri farklı amaçlara hizmet edeceklerdir. Bu nedenle her üründen beklentilerin farklı olacağı açıktır. Kaplama yöntemi seçilirken bu durumun göz önünde bulundurulması gereklidir; çünkü kaplama yöntemi ürün özelliklerini etkileyecektir. Çok düşük aktarım miktarlarında rotasyon kaplama veya köpük kaplama metotlarının tercih edilmesi bu duruma örnek olarak gösterilebilir. Bunun dışında kaplama polimeri, kumaş veya son kullanım özellikleri gibi parametreler kaplama metodunun seçiminde etkin olabileceği gibi işletmede mevcut olan teknolojiler de kullanılacak metodu belirler (Fung, 2002; Latta, 1982).

### ***1.1.1 Direk Kaplama***

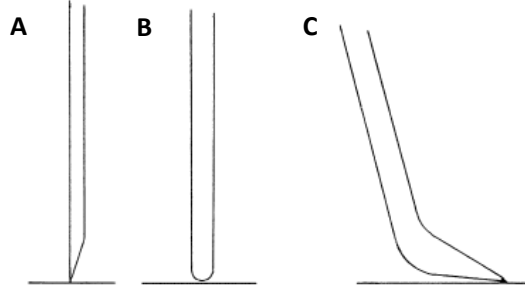
Direk kaplama, tekstil kaplamacılığında en çok tercih edilen metotlardan bir tanesidir. Bıçaklı kaplama olarak da isimlendirilmektedir. Temel olarak, tüm kumaş eni boyunca, kumaş yüzeyine aktarılan polimer pastasının, kumaşın geçişi esnasında kaplama bıçağı tarafından sıyrılarak düzgün bir yüzey oluşturacak şekilde kumaş yüzeyine yayılması işlemidir. Kumaş bıçağın altında hareket ederken sabit bıçak bariyer görevi göstererek viskoz kaplama maddesine dönel (rotatif) bir hareket verir. Kaplama kalınlığı, bıçak ile destek yüzeyi veya silindir arasındaki mesafe ile belirlenir. Önde gelen direk kaplama metotları bıçak silindir üzerinde kaplama, bıçak bant üzerinde kaplama, bıçak masa üzerinde kaplama ve yüzen bıçak kaplama olarak sınıflandırılabilir (Pasquale, 1986; Fung, 2002; Latta, 1982; Smith, 2010; Sen 2008). Şekil 1.1’de farklı direk kaplama yöntemleri şematik olarak gösterilmiştir



Şekil 1.1 Farklı direk kaplama metotları (Latta, 1982)

Yüzen bıçaklı kaplamada kaplama malzemesine uygulanan kuvvet yüksektir. Bu nedenle polimer pastasının kumaş boşluklarına nüfuzu fazladır. Bu teknik ince, hafif ve sızdırmaz kaplamaların yapılması için uygundur. Blanket üniform bir basınç dağılımı sağladığı için kumaşta bir gerilmeye neden olmaz. Bu nedenle, blanket üzerinde kaplama tekniğinin boyutsal stabilitesi kötü olan kumaşlarda kullanımı uygun olmaktadır. Silindir üzerinde kaplama en yaygın kullanılan yöntemlerden bir tanesidir; basittir ve doğru sonuçlar alınır. Kaplama bıçağı kumaş akışının olduğu dönen bir silindir üzerine konumlandırılır. Bıçak ve silindir arasındaki açıklık ayarlanarak kaplama kalınlığı kontrol edilir. Kauçuk kaplı veya çelik silindirler kullanılabilir. Kauçuk kaplı silindirlerin avantajı, kaplanacak kumaş yüzeyindeki düzgünlükleri tolere edebilmesidir bu sayede düzgün bir kaplama yüzeyi elde edilebilir. Bununla birlikte kauçuk silindirler aşınmaya daha yatkındır ve aktarım miktarında değişimlere neden olabilirler (Sen, 2008; Woodruff, 1992). Masa üzerinde kaplama en basit kaplama yöntemlerinden bir tanesidir. Bu yöntemle yapılan kaplamalarda taban kumaşını üniform olmalıdır aksi halde, bıçakla tabla arasına bir düzgünlük geldiğinde, bu durum kaplamaya yansır ve düzgünlük bir yüzey elde edilebilir. Genellikle keskin tip bıçak kullanılır çünkü masa üzerinde kaplamada yüksek penetrasyon genellikle tercih edilmez (Pasquale, 1986).

Direk kaplamada bıçağın yapısı ve kaplama sırasındaki pozisyonu ürün özelliklerine etki eden faktörlerden bir tanesidir (Fung, 2002; Sen, 2008; Shindler ve Hauser, 2004; Smith, 2010) . Farklı yapıdaki bıçak tiplerini Şekil 1.2’de görmek mümkündür.



Şekil 1.2 Direk kaplamada kullanılan bazı bıçak tiplerine örnekler (A: Keskin uçlu bıçak, B: Yuvarlak uçlu bıçak, C: Pabuç bıçak) (Fung, 2002)

Keskin uçlu bıçaklar genellikle hafif kaplamalar için kullanılır. Bıçağın profili keskinleştikçe kaplamanın ağırlığı düşer. Eğer bıçak, iki tarafı da keskin şekilde bir profile sahipse V-tipi olarak adlandırılır ve V tipi bıçaklarda sıkıştırma etkisinden dolayı polimer pastasının penetrasyonu yüksektir. Bıçağın pozisyonu da aktarımı etkileyen önemli faktörlerden bir tanesidir. Bıçak, polimer pastasının aktarım yönüne doğru eğildikçe sıkıştırma etkisi artacağından aktarım miktarı da artar (Sen, 2008; Woodruff, 1992). Yuvarlak uçlu bıçaklarda sıkıştırma etkisi artar, kaplama maddesi kumaş içerisine yüksek hidrolik güçle itilir ve keskin bıçaklı kaplamaya göre daha ağır kaplamaların yapılması mümkündür (Fung, 2002). Pabuç bıçaklı kaplamada bıçağın yapısı nedeniyle kumaş içerisine çok iyi bir şekilde polimer pastası penetrasyonu sağlanır. Eğer kumaş üzerinde önceden yapılmış bir veya daha çok katman kaplama varsa oluşan hidrolik pres yüksek kalitede pürüzsüz bir yüzey eldesine olanak verir (Woodruff, 1992). Pabuç bıçaklı kaplamanın geliştirilmesini mecbur kılan çok önemli bir diğer fenomen vardır. Polivinilklorür (PVC) ve poliüretan (PU) kaplamalarında, malzemelerin yüzey gerilimlerinden dolayı, polimer pastası bıçağın üst kısımlarına doğru hareket edebilmektedir. Zamanla kümeleşen bu birikim kaplamanın üzerine düşerek kalitenin bozulmasına neden olmaktadır. Pabuç



bıçak, özel şekli itibariyle polimer pastasının bu şekilde hareket etmesine izin vermez (Sen, 2008; Woodruff, 1992).

Direk kaplamada genellikle düzgün yüzeyli filament ipliklerden üretilmiş poliester veya poliamid kumaşlar tercih edilir. Eğer eğrilmiş ipliklerden üretilmiş bir kumaş direk kaplama ile kaplanırsa, bıçağın da etkisiyle, lif uçlarının kaplama yüzeyine çıkarak düzgünlük yaratma riski mevcuttur. Fakat çok kalın bir kaplama yapılacaksa bu risk ortadan kalkar (Fung, 2002).

Genellikle sıkı yapıda dokuma kumaşlar direk kaplamada taban kumaşı olarak kullanılırlar. Su geçirmez koruyucu kumaşlar, otomatik kumaşları, tenteler, şişirilebilir malzemeler, taşıyıcı bantlar ve benzeri birçok ürün direk kaplama metoduyla üretilir (Singha, 2012).

## **1.2 Antibakteriyel Tekstil Uygulamaları**

Günlük hayatımızın her evresini mikroorganizmalarla beraber geçirmekteyiz. Günlük aktiviteler esnasında, yemek yerken, uyurken veya çalışırken patojen veya patojen olmayan bakterilerle, mantarlarla, virüslerle ve daha birçok mikroorganizmayla temas halinde olmaktan kaçmamız mümkün olmamaktadır. Bu gerçeklik akla geldiğinde, şu soru cümlesi de ardına eklenmektedir: Peki nasıl korunabiliriz?

Tekstil ürünleri de hayatımızın her noktasına farklı şekillerde girmiştir. Bu nedenle tekstil ürünlerini antibakteriyel özellik göstermeleri için modifiye etmek veya antibakteriyel özellikliler gösteren hammaddelerle üretim yapmak, zararlı mikroorganizmalardan korunmak için önemli bir savunma hattı oluşturabilecektir. Tekstil ürünlerine antibakteriyel özellik kazandırırken iki yaklaşım uygulanabilmektedir. Bunlardan bir tanesi kullanıcıyı korumak ikincisi ise tekstil ürününü korumaktır.

Tekstil malzemeleri yapıları nedeniyle mikroorganizmalar için elverişli yaşam alanı oluşturmaya uygun ortamlardır. Özellikle doğal liflerden üretilen kumaşlar

mantar ve bakterilerin saldırısına açıklardır ve bu tip canlıların yaşaması ve üremesi için uygun ortam sağlamanın yanında kendileri de bu canlılar için besin kaynağı olabilir. Pamuk özellikle mantarların, yünse bakterilerin saldırısına maruz kalmaktadır. (Paul, 2015; Schindler ve Hauser, 2004; Windler ve ark., 2013; Yu ve ark., 2017).

Mikroorganizmalardan zarar gören tekstil ürünlerinde renk değişimi, mukavemet kaybı, kötü koku gibi istenmeyen durumlar oluşabilir. Tekstil ürünlerini korumak için uygulanan antibakteriyel bitim işlemleri bu olumsuzlukların önüne geçmeyi amaçlar. Açık havada kullanılacak çadır bezleri, halatlar, brandalar gibi endüstriyel tekstil ürünleri antimikrobiyal korumaya ihtiyaç duyarlar. Bunun yanında ev tekstilleri, halılar, perdeler, duş perdeleri, yatak örtüleri gibi ürünler de antibakteriyel bitim işlemleri uygulanan ürünlerdendir. Kullanıcıyı koruma odaklı tekstiller ise insan sağlığını yakından ilgilendirmektedir. Bu tekstil ürünleri hastalıkların yayılmasını önlemek ve enfeksiyona açık durumlarda (açık yaralar gibi) koruma sağlamak, istenmeyen kokuların önüne geçmek gibi amaçlarla üretilebilirler. Koruyucu tekstillerin kullanıldığı alanlara hastaneler, bakım evleri, okullar, oteller ve kalabalık kamu alanları örnek olarak verilebilir. Ayrıca iç çamaşırı, çorap gibi tekstil ürünlerinde istenmeyen kokuların önlenmesi için antimikrobiyal apre uygulamaları mevcuttur. (Kim ve Sun, 2001; Paul, 2015; Rathinamoorthy ve Thilagavathi, 2014; Schindler ve Hauser, 2004).

Bununla birlikte özellikle sağlık alanında kullanılan tekstil ürünlerinden bariyer (kirleticilere karşı önleyici) özellik göstermesi de beklenmektedir. Bunun nedeni vücut sıvılarıyla bulaşabilecek mikroorganizmaları uzak tutma çabasıdır. Bu sebeple sağlık hizmetlerinde kullanılan tekstillere hem antibakteriyel hem de kir, su, yağ itici bitim işlemleri uygulanabilmektedir (Scott, 2005).

Tekstil ürünlerine antibakteriyel aplikasyonların yapılmasının diğer bir avantajı da, mikroorganizma kaynaklı kötü koku ve leke gibi olumsuzluklar engellendiği için, yıkama sıklığını azaltmalarıdır. Bu sayede su ve enerji tasarrufu sağlanmaktadır (Windler ve ark., 2013).

İyi bir antibakteriyel bitim işlemi şu şartları yerine getirmelidir (Gao ve Cranston, 2008; Paul, 2015; Sun, 2016):

- Geniş çeşitlilikte mikroorganizmaya karşı etkili olmalıdır.
- İnsan sağlığına ve çevreye zararlı olmamalı, kanunda belirtilen kısıtlamalara ve standartlarda belirtilen şartlara uygun ürün eldesini mümkün kılmalıdır.
- Yıkama işlemlerine dayanıklı olmalıdır.
- Ürün kalitesini olumsuz etkilememelidir (örneğin tutumu bozmamalı veya renk tonunda değişime neden olmamalıdır).
- Diğer tekstil prosesleriyle uyumlu olmalıdır.
- Ekonomik olmalıdır.

### ***1.2.1 Gıda Sektöründe Antibakteriyel Tekstillerin Kullanımı***

Endüstriyel tekstiller de bazı durumlarda antibakteriyelliğin ihtiyaç duyulduğu ürünlerdir. Çapraz kirlenme, bakteri veya virüslerin kirlenmiş bir üründen kirlenmemiş bir ürüne direk veya indirek yollarla geçmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu geçiş havadan gıdaya, sıvılarda yüzeyden gıdaya ve temas ile yüzeyden gıdaya şeklinde yollar izleyebilir(Perez-Rodriguez ve ark., 2008). Gıda sektörünü ele aldığımızda, zayıf temizlik prosedürleri ve kirli ekipmanlar gıda kaynaklı münferit veya salgın birçok hastalığa neden olmaktadır. Tekstil tabanlı taşıyıcı bantlar sonsuz sistemler oldukları için, herhangi bir noktada oluşacak bakteriyel üreme, çapraz kirlenme yoluyla bütün üretimin etkilenmesine neden olacaktır. Bu nedenle antibakteriyel bir konveyör bandın etkisini tüm yüzeyde, kalıcı şekilde ve uzun süre göstermesi, bunun yanında, kullanılan antibakteriyel kimyasalın gıda ile temasa uygun olması istenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nin gıda ve ilaç konusunda resmi yetkili kurumu olan FDA (Food and Drug Administration), taşıyıcı bant gibi gıdalarla direk temas halinde bulunan malzemelerdeki katkı maddelerini dolaylı gıda katkısı olarak tanımlamaktadır ve bu katkı maddeleri için sınırlamalar getirmektedir. (FDA, 1999).

## 1.2.2 Tekstil Sektöründe Kullanılan Antibakteriyel Maddeler

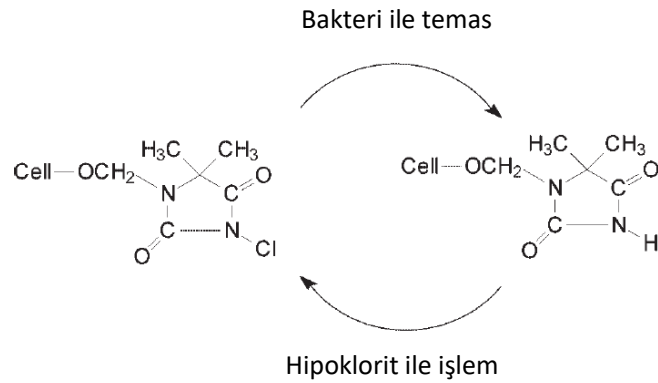
Tekstil üretiminde sıklıkla kullanılan antimikrobiyal kimyasallara örnekler Tablo 1’de görülmektedir. Mikroorganizmaları öldüren kimyasallar biyosit, büyümelerini ve yayılmalarını kontrol altında tutan kimyasallar ise biyostatik olarak adlandırılır. (Sun, 2016).

Tablo 1.1 Tekstil üretiminde sıklıkla kullanılan antimikrobiyal katkı maddeleri ve özellikleri (Gao ve Cranston, 2008; Morais ve ark., 2016; Windler ve ark., 2013)

Antibakteriyel Etken Madde	Kimyasal Yapı	Kullanılan Lif Çeşidi	Kullanım Açısından Avantaj ve Dezavantajları
Kuarterner Amonyum Tuzu		Pamuk Poliester Poliamid Yün	Kovalent bağ yapar, oldukça dayanıklıdır fakat bakteri direnci olasılığı mevcuttur
Triclosan		Poliester Poliamid Polipropilen Asetat Akrilik	Yüksek miktarlara gereksinim duyulur. Bakteri direnci muhtemeldir. Zehirli bileşiklere parçalanır bu yüzden bazı Avrupa ülkelerinde yasaklanmıştır
Gümüş	Ag	Poliester Poliamid Yün Rejenere Selüloz	Salımı yavaştır, yıkamaya dayanıklıdır fakat yapıdaki gümüş tükenebilir. Çevre ve insan sağlığı açısından çekinceler mevcuttur.
Metal Oksitler	ZnO, MgO, CaO, TiO <sub>2</sub> gibi...	Pamuk Yün Poliester Poliamid	Oksijen radikalleri üzerinden etki ederler. Kimyasalın tükenme riski yoktur. Lif ile bağ yapamazlar
Kitosan		Pamuk Poliester Yün	Tutumu kötü yönde etkiler. Dayanımı düşüktür
PHMB (poli(heksametilen biguanid))		Pamuk Poliester Poliamid	Yüksek miktarlara gereksinim duyulur. Bakteriyel direnç olasılığı mevcuttur
N-halaminler		Pamuk Poliester Poliamid Yün	Rejenereasyona ihtiyaç duyar. Kötü koku yapma riski mevcuttur.
Peroksi asitler		Pamuk Poliester	Rejenereasyona ihtiyaç duyar. Dayanımları kötüdür.
Çinko pritiyon		Pamuk Poliester	Liflerle bağ oluşturmaz. İnsan sağlığı açısından risk potansiyeli vardır

Tekstil sektöründe biyosit veya biyostatik etki gösteren birçok kimyasal antimikrobiyal fonksiyon kazandırma işleminde kullanılır ve kullanılan antimikrobiyal maddeler farklı kategorilere ayrılır. Bunlar kontrollü salım yapan kimyasallar, rejenerasyon mekanizmasına sahip kimyasallar, bağ yapan ve bariyer tipi kimyasallar olarak sıralanabilir (Sun, 2016).

Kontrollü salım yapan kimyasallar tekstilde sık kullanılan türlerdir. Bu tip kimyasallar tekstil lifleriyle bağ yapmazlar, lif yüzeyinden veya içerisinden bir rezervuardan uzun zamana yayılmış, yavaş ve kademeli bir salım mevcuttur. Tribütıl kalay oksit (TBTO), diklorofen ve triklosan bu sınıftaki kimyasallara örnek olarak verilebilir. Polihegzametilen biguanid (PHMB) ise bağ yapan kimyasallara örnektir. Bu kimyasalların lifle güçlü bağlar yapabilecek meleküler yapıları vardır ve bağ yaptıklarında da antibakteriyel etkinlik göstermeyi sürdürürler. Rejenerasyon mekanizmasına sahip kimyasallar lif ile bağ yapan kimyasallardır. Söz konusu kimyasallarda antibakteriyel aktiviteyi sağlayan kloramin grupları bulunur. Bakteriyle reaksiyona girip bakteri ölümü gerçekleştikten sonra kimyasal etkinliğini kaybederler. Yapılacak bir hipoklorit yıkamasıyla lif yüzeyindeki kimyasal madde tekrar fonksiyonelliğini kazanır. N-halaminler bu gruba örnek olarak verilebilir. Selüloz lifiyle bağ yapmış durumda olan metilol-5,5-dimetilhidantoin kimyasalının rejenerasyon mekanizması Şekil 1.3'te görülmektedir (Schindler ve Hauser, 2004; Sun 2016)



Şekil 1.3 Metilol-5,5-dimetilhidantoin bakteri teması ve rejenerasyonu sonrasındaki dönüşümü

Metal oksitler sert proseslere dayanımları, insan sağlığı için tehlike teşkil etmemeleri ve etkinliklerini uzun süre muhafaza ettikleri için öne çıkan antibakteriyel maddelerdir (Cioffi ve Rai, 2012) . Metal oksitlerle ilgili detaylı araştırma ilerleyen bölümlerde sunulacaktır.

Kuarternner amonyum bileşikleri tekstil sektöründe sıkça kullanılan antibakteriyel maddelerdendir. Özellikle 12-18 karbonlu zincire sahip olanlar antibakteriyel bitim işlemleri için uygundur. Bu bileşiklerin antibakteriyel özellikleri alkil zincirin uzunluğuyla, perflorlanmış gruplarla ve moleküldeki katyonik amonyum grupları sayısıyla yakından ilgilidir. Katyonik amonyum gruplarıyla negatif yüklü bakteri hücre membranı arasında çekim oluşur. Kuarternner amonyum bileşiği bu sayede hücrenin yaşamsal fonksiyonlarını sekteye uğratar ve kumaş üzerinde kaldığı müddetçe antibakteriyel aktivite göstermeye devam eder (Paul, 2015).

Polibiguanidler biguanid monomerlerden oluşan polimerik polikatyonik aminlerdir. Polimerik zincir uzadıkça etki güçlenir çünkü bu sayede zincir üzerinde daha fazla katyonik bölge bulunmaktadır. Bu tür kimyasalların en çok kullanılan üyelerinden bir tanesi PHMB'dir. PHBM hücre membranını bozarak ölümüne neden olur. PHMB'nin pamuğa bağlanması iyonik etkileşimler ve hidrojen bağları üzerinden olmaktadır. Ayrıca çapraz bağlayıcılar kullanılarak sentetik liflere bağlanmasıyla ilgili çalışmalar da mevcuttur (Gao ve Cranston, 2008; Paul, 2015).

Triklosan suda iyonlarına ayrılmaz bu nedenle yıkama dayanımı iyidir. Etki spektrumu geniştir. Bununla birlikte bakterileri direnci gelişmesi ve triclosanın zehirli parçalanma ürünleri ortaya çıkarması kullanımında çekince yaratan unsurlardır (Morais ve ark., 2016).

Önceden de bahsedildiği üzere antimikrobiyal maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkileri önemli bir konudur. Tekstilde kullanılan antimikrobiyal maddeler deri, ağız veya solunum yoluyla insan vücuduna nüfuz edebilir. Bu noktada deri hassasiyeti, deri florasının bozulması, mutasyonlar ve kansorejen etki gibi çekinceler ortaya çıkmaktadır. Örneğin yapılan araştırmalarda çinko pritiyonun fareler üzerindeki yan etki görülmeyen ağız yoluyla alınan dozu 0.5 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir. Söz

konusu maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkileri üzerindeki çalışmalar devam etmektedir. Antibakteriyel madde kullanımında çekince yaratan bir diğer nokta da bakterilerin direnç geliştirmesidir. Eğer kullanılan antibakteriyel madde tek bir mekanizmayla bakterileri ldürüyorsa ve bu mekanizma klinik olarak kullanılan antibiyotiklerle benzerlik gösteriyorsa bu antimikrobiyal maddeye bakteri direnci gelişmesi olasılığı mevcuttur. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda triclosan, kuarterner amonyum bileşikleri gümüş ve çinko pritiyona karşı direnç geliştiren mikroorganizmalar olduğu tespit edilmiştir (Morais ve ark., 2016; Windler ve ark., 2013).

Gümüş insanlara karşı düşük toksin etkiye sahiptir ve geniş bir spektrumda antibakteriyel etkisi vardır. Oligodinamik etki göstermektedir. Endüstriyel alanda geniş kullanım alanı bulan gümüşün farklı oksidasyon basamaklarında ( $Ag$ ,  $Ag^+$ ,  $Ag^2$ ,  $Ag^{+3}$ ) etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca nano gümüş parçacıklarının antibakteriyel etkisi üzerine yapılmış çok sayıda çalışma vardır. Gümüş iyonları hücre içerisindeki birçok hayati bileşikle reaksiyona girerek hücre ölümüne neden olabilmektedir (Dhiman ve Chakraborty, 2015).

### **1.3 Metal Oksit Tozlarının Antibakteriyel Özellikleri ve Antibakteriyel Etki Mekanizmaları**

Metal oksitlerin antibakteriyel etkileri üzerine geçmiş yıllardan günümüze, farklı mikroorganizma türleriyle birçok araştırma yapılmıştır. Özellikle inko oksit, magnezyum oksit, kalsiyum oksit ve titanyum (IV) oksit gibi bazı seçilmiş metal oksit tozlarının ciddi antibakteriyel etkinlik gösterdiği, daha sonra detaylı olarak inceleneceği üzere, farklı ekiplerin gerçekleştirdikleri çalışmalarla belirlenmiştir. Ne var ki metal oksitlerin reaksiyon mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır ve bağlantılı olarak antibakteriyel etkinliğin mekanizması üzerinde yapılan araştırmalar da günümüzde de sürmektedir. Önerilen antibakteriyel etki mekanizmaları arasında öne çıkan başlıklar; metal iyonu salımı, radikal oksijen türleri (ROS- radical oxygen species) üretimi, hücre membranının mekanik olarak parçalanması ve ortam pH'ının metal oksit tarafından yükseltilmesidir (Sirelkhatim ve ark., 2015; Yamamoto, 2001).

Bu konular ilerleyen bölümlerde gerek literatür araştırmalarıyla gerekse deneysel çalışmalarla ayrıntılı olarak irdelenecektir.

### ***1.3.1 Metal Oksitlerin Kimyasal Özellikleri***

Son yıllarda, metal oksit yüzeylerinde gerçekteşen kimyasal reaksiyonlara ilgi önemli derecede artış göstermiştir. Bu ilginin nedeni metal oksitlerden çok farklı alanlarda yararlanılmaya başlanmış olmasıdır. Atmosfer kimyası, katalizör kimyası, kimyasal sensörler, aşınma bilimi, metalürji, çevre mühendisliği, jeo-kimya, toprak bilimi, yarı iletken bilimi ve temizlik gibi alanlar metal oksit kullanımının görüldüğü bilim dallarına örnek olarak verilebilir (Brown Jr. ve ark., 1999).

Geçiş metallerinin oksitleri endüstrinin katalitik reaksiyon gerektiren dallarında oldukça önemli bir yer edinmişlerdir. Kataliz reaksiyonunu anlayabilmenin yolu yüzey kimyasını anlayabilmekten geçmektedir. Bunun anlamı, metal oksit ve adsorbat arasındaki etkileşimlerin bilinmesi, metal oksit yüzeyinin adsorbantın bağlanması ve kimyasal reaksiyonları nasıl yönlendirdiğinin kavranması gerekmektedir (Kung, 1989).

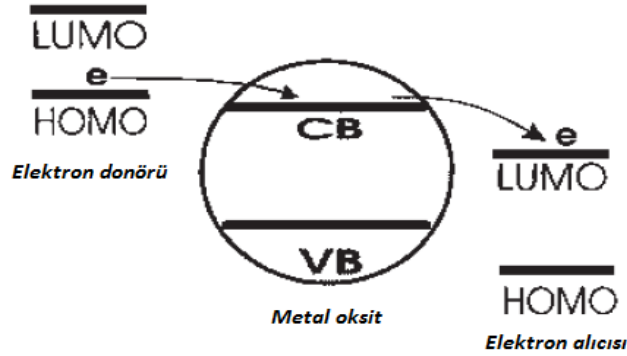
Metal oksit – su solüsyonlarının veya süspansiyonlarının reaktif olmasının nedeni, metal oksit – su arayüzünde asit-baz reaksiyonları gerçekteşmesi, ligand değişimi yapılması, hidronyum iyonlarıyla redoks reaksiyonları gerçekteşmesi, hidroksil grupları, suya geçen metal iyonları ve organik maddelerle oluşturulan bileşiklerdir. Arayüz adsorbsiyonu (lokalizasyonu) elektrostatik etkiler, kimyasal bileşik oluşumu ve hidrofobik etkileşim sonucunda oluşabilir. Metal oksit-su solüsyonu arayüzeyinde gerçekteşen reaksiyonlar oldukça karmaşıktır ve reaksiyonların temelleri atomik seviyede henüz tam anlamıyla anlaşılammıştır. Bu yüzden araştırmacılar söz konusu karmaşık problemi parçalara ayırarak çözüme yoluna gitmişlerdir. Bilim insanları konuyu yapı, bağlanma, reaksiyon ürünleri, reaksiyonların metal oksit üzerindeki etkileri gibi segmentlere ayırarak araştırmalar yapmaktadır (Brown Jr. ve ark., 1999).

Reaksiyonların ve katalitik etkilerin anlaşılabilmesi adına, yarı iletken özellik gösteren metal oksitlerin elektronik yapılarının irdelenmesi faydalı olacaktır. Yarı



iletkenlerin elektronik yapısı incelendiğinde valans bant (valance band) ve iletken bant (conduction band) arasında bulunan bant aralığı tanımlayıcı özellik olarak göze çarpmaktadır. Boş olan en düşük enerjili moleküler orbital LUMO (lowest unoccupied molecular orbital), ve dolu olan en yüksek enerjili moleküler orbital HOMO (highest occupied molecular orbital) olarak tanımlanmaktadır. Valans banttaki elektronik seviyeler tamamen doluyken iletken banttaki elektronik seviyeler ise tamamen boştur. HOMO, valans bandın en yüksek enerji seviyesine denk gelirken, LUMO ise iletken bandın en alt enerji seviyesini temsil etmektedir. Valans bant enerjisi  $E_v$ , iletken bant enerjisi  $E_c$ , bant aralığı ise  $E_g$  ile gösterilir (Jackson ve Hargreaves, 2009; Xu ve Schoonen, 2000).

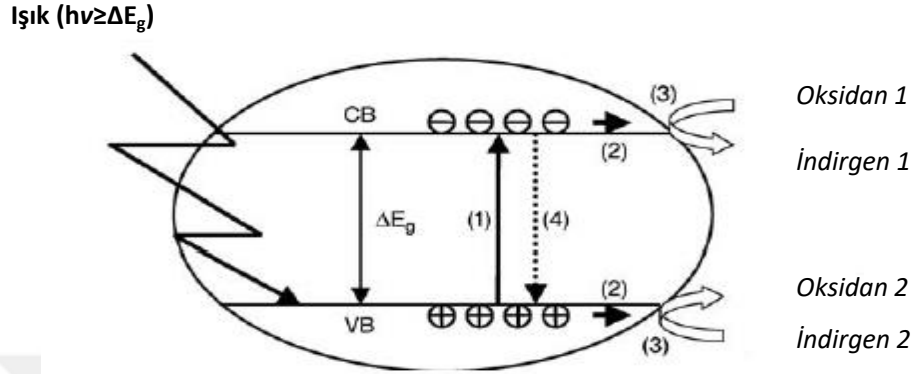
Fotokimyasal veya fotokimyasal olmayan reaksiyonlarda en kritik nokta yarı iletken ve reaksiyona girecek madde arasındaki elektron alış verişidir. Sulu çözeltide bulunan ve metal oksitle etkileşime girecek maddenin redoks potansiyeli enerjisi metal oksidin iletken bant enerjisinden ( $E_c$ ) daha yüksekse elektron donöründen iletken banda direk elektron transferi gerçekleşebilir (Xu ve Schoonen, 2000). Direk elektron transferi şematik olarak Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



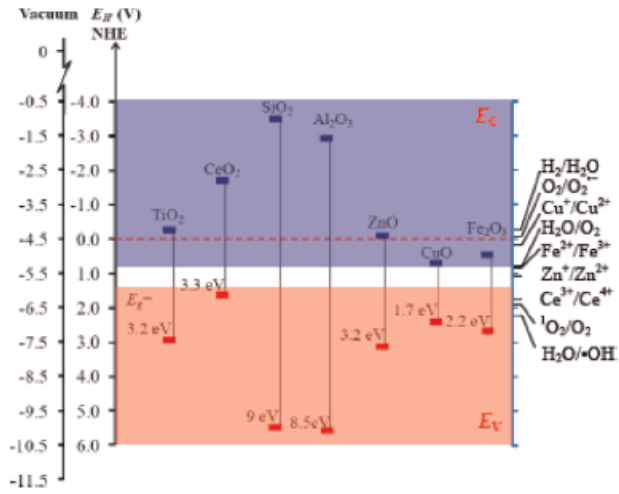
Şekil 1.4 Metal oksitlerde direk elektron transferi (Xu ve Schoonen, 2000)

Metal oksitler bant aralığından ( $\Delta E_g$ ) daha yüksek foton enerjisiyle uyarıldıkları zaman valans banttaki elektron (HOMO) uyarılarak iletken banda geçer (LUMO) bu aşamada valans bantta 'boşluk', iletken bantta ise elektron fazlalığı oluşur. İletken banttaki elektronlar yüksek indirgeme gücüne, valans banttaki boşluklar ise yüksek

oksitleme gücüne sahiptirler (Li ve ark., 2012; Jackson ve Hargreaves, 2009; Xu ve Schoonen, 2000). Yarıiletken özellik gösteren metal oksitlerin ışık ile uyarılması ve bazı metal oksitlerin bant aralıkları sırasıyla Şekil 1.5 ve Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



Şekil 1.5 Yarıiletken özellik gösteren metal oksitlerin ışık ile uyarılması sonucu elektronların valans banttan iletken banda geçişi ( $\Delta E_g$ : Bant aralığı enerjisi) (Jackson ve Hargreaves, 2009)



Şekil 1.6 Bazı metal oksitlerin bant aralıkları ve bazı radikallerin ve iyonların oluşabilmesi için gereken enerji seviyeleri (Li ve ark., 2012)

### *1.3.1.1 Metal Oksit Reaktivitesine Yeni Bir Bakış Açısı: Yüzey Hataları*

Metal oksitlerin reaktivitesini etkileyen, kimyasal etkileşimlerde rol sahibi olabilen diğer bir fenomen metal oksit yapısında moleküler seviyede oluşan hatalardır. Bu hataların belki de en önemlilerinden bir tanesi yüzeyde veya yapının içerisinde oksijen atomunun eksikliğinden dolayı ortaya çıkan oksijen boşluklarıdır. Oksijen atomunun eksik olduğu boşlukta iki elektron hapsedilmiş olarak bulunur. Böylece normalde  $O^{2-}$  anyonunun bulunduğu nokta iki serbest elektron tarafından tutulur. Elektronları oksijen boşluğunda tutan başlıca kuvvet Madelung potansiyelidir. Oksijen boşlukları metal oksitlerin girdiği birçok katalitik reaksiyona ışık tutar. Örnek vermek gerekirse, metal oksidin girdiği bir yükseltgeme reaksiyonu sonucu yüzeyde bir oksijen boşluğu oluşabilir. Eğer moleküler haldeki oksijen gazı malzeme yüzeyi ile reaksiyona girerse  $O_2$ , oksijen boşluğu noktasında parçalanır, yüzeydeki oksijen boşluğuna bir oksijen atomu geçerken bir oksijen de yüksek reaktiviteye sahip atomik oksijen olarak ortaya çıkar (Pacchioni, 2003). Suresh ve arkadaşlarının oksijen hatalarının kalsiyum oksidin elektronik yapısı ve optik özelliklerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, oksijen eksikliğinin sık karşılaşılan bir hata olduğunu, kalsiyum oksidin basit yapısına rağmen ilgi çekici özellikler gösterdiğini belirtmişlerdir. Oksijen eksikliği ile bant yapısının değiştiğinin, HOMO ve LUMO enerji seviyelerinin düştüğünün altı çizilmiştir (Suresh ve ark., 2014).

### *1.3.2 Metal oksitlerin antibakteriyel özellikleri ve etki mekanizmaları üzerine literatür araştırması*

Metal oksitlerin kimyasal açıdan bu denli aktif oluşu antibakteriyel malzemeler konusunda çalışmalar yapan araştırmacıların da dikkatini çekmeyi başarmıştır. Sawai ve ekibi tarafından konuyla ilgili yapılan öncel çalışmalardan bir tanesinde 26 tane seramik tozunun (oksitler, nitritler ve karbidler) antibakteriyel etkisi incelenmiş ve bu seramik tozlarından 10 tanesinin antibakteriyel etki gösterdiği, bu etkinin en yüksek görüldüğü üç seramik tozunun da CaO, ZnO ve MgO olduğu belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada MgO ve CaO'nun antibakteriyel etkisinin kolayca su ve karbondioksit absorbe ederek yüzeyde OH tabakası oluşturmasının yanında oksijen

radikali salımından gerçekleşebileceği öne sürülmüştür. Ayrıca bakteri büyümesini durdurucu etki için yüzeye yakın temas sağlanması gerektiği de belirtilmiştir (Sawai ve ark., 1995). İletkenlik ölçümüyle yapılan kantitatif antibakteriyel aktivite tayininde kalsiyum oksit, *E. coli* bakterisine karşı MgO ve ZnO'dan daha yüksek antibakteriyel etkinlik göstermesine karşın ZnO *S. Aureus* bakterisine karşı bu iki metal oksit tozundan daha etkili olmuştur. (Sawai, 2003). Sawai ve Yashikava tarafından iletkenlik ölçümü metoduyla *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* mantarlarına karşı MgO, CaO ve ZnO'nun antifungal aktivitesi analiz edilmiştir. Magnezyum oksit ve kalsiyum oksidin antifungal aktivitesi tespit edilirken çinko oksit büyümeyi yavaşlatıcı etki göstermesine rağmen incelenen mikroorganizmalara karşı sınırlı antimikrobiyal etki göstermiştir (Sawai ve Yoshikawa, 2004). Çinko oksidin antibakteriyel etkisi araştırıldığında antibakteriyel etkinin oligodinamik (az miktarda metal iyonu salımıyla gerçekleşen antibakteriyel etki) olduğu düşünülerek yapılan deneylerde çinko oksit süspansiyonunun altında bulunan sıvı çökeltide antibakteriyel etki gözlenmemiş, antibakteriyel etkinin toz yüzeyinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Buradan hareketle çinko iyonlarının neden olduğu bir antibakteriyel etkiden söz edilememektedir (Sawai ve ark., 1995). Çinko iyonlarının antibakteriyel etkinlik üzerindeki etkisi konusuna Prasanna ve Vijayaraghavan'ın yaptığı çalışmada da yer verilmiştir. Söz konusu çalışmada, nano ve mikro ölçekli çinko oksit süspansiyonunda, ortama geçen  $Zn^{+2}$  iyonlarının antibakteriyel etkisinin görmezden gelinebilecek düzeyde düşük olduğu belirtilmiştir (Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015). Xu ve ekibinin yaptığı çalışma da bu iki görüşle paralel çizgidedir. Farklı büyüklükteki ve kristal yapısındaki çinko oksit partikülleri üzerinden yapılan çalışmada incelenen çinko oksit parçacıklarından hiçbirinde, salınan  $Zn^{+2}$  iyonu miktarının öldürücü dozlara ulaşmadığı ve bu nedenle  $Zn^{+2}$  iyonu salımının antibakteriyellik açısından göz ardı edilebileceği bildirilmiştir (Xu, ve ark., 2013). Serbest çinko iyonlarının antibakteriyelliğe önemli bir etkisi olmadığı Raghupathi ve ekibinin yaptığı çalışma ile de belirtilmiştir (Raghupati ve ark., 2011). Ananth ve ekibi plazma teknolojisi kullanarak çinko oksit sentezi gerçekleştirmişlerdir. Antibakteriyel etkinliğin kaynağının radikal oksijen türleri yanında çinko iyonları ve partikül morfolojisinden doğan sebepler olduğunu öne sürmüşlerdir (Ananth ve ark.,

2017) . Okyay ve ekibinin yürüttükleri çalışmada ZnO nano çubukların antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ve muhtemel antibakteriyel etki mekanizmasının hidrojen peroksit salımı ve nano çubuğun keskin yapısının hücre membranını yıkıma uğratması olarak belirtmişlerdir. Aynı çalışmada,  $Zn^{+2}$  iyonunun ZnO nano çubukların antibakteriyel etkinlik üzerinde bir etkisi olmadığı öne sürülmüştür (Okyay ve ark., 2015) . Jaisai ve ekibi çinko nano çubuklarla kapladıkları kağıtların antibakteriyel özellik gösterdiğini belirterek, antibakteriyel aktivitenin nedeni olarak oda ışığı altında oksijen radikalleri salımının karanlıkta ise çinko iyonlarını göstermişlerdir (Jaissai ve ark., 2012). Li ve ekibi ise ZnO nano parçacıklarının antibakteriyel etkisinin temel kaynağı olarak  $Zn^{+2}$  iyonları olduğunu belirtmişlerdir (Li ve ark., 2011). Buna karşılık Schwartz ve ekibi çinko iyonlarının antibakteriyelliğe etkisinin, inceledikleri konsantrasyonlarda, sınırlı olduğunu çinko oksit nano parçacıklarının antibakteriyel etki göstermesinin asıl nedeninin radikal oksijen türleri salımı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla beraber çinko oksidin direk olarak hücre yapısını bozucu etki gösteriyor olabileceğini de öne sürmüşlerdir (Schwartz ve ark., 2012).

Xie ve ekibi, *C. jejuni* türü mikroorganizmalar üzerinde çinko oksidin öldürücü etkisini araştırmışlardır. Bakterilerin özellikle dış etkilere karşı savunmaya yönelik genleri üzerine yaptıkları çalışmada, çinko oksidin bakteri hücresi içerisinde oksidatif stres yaratarak ölüme neden olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte antibakteriyel etkinin çinko oksit ve hücre membranı arasındaki direkt veya elektrostatik çekimle etkileşimden veya çinko oksit nano taneciklerinin hücre içerisine girerek oksijen radikalleri üretmesinden kaynaklanabileceğini de belirtmişlerdir (Xie ve ark., 2011). Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çinko oksit nano parçacıklarının *E. coli* bakterilerine karşı güçlü bir antibakteriyel etkinliği olduğu vurgulanmıştır. Çinko oksidin bakteri üzerinde yaptığı etkiler incelendiğinde hücrenin morfolojik yapısında önemli bir değişim olmadığı fakat çinko oksidin hücre membranında bozunma gözlemlendiği ve bu nedenle hücre içi materyallerin dışarı sızdığı, dolayısıyla hücre ölümü gerçekleştiği kaydedilmiştir (Liu ve ark., 2009). Bu görüşü destekler nitelikteki bir başka çalışmada, Jones ve ekibi, birçok patojen bakterinin hücre duvarında tutunmayı ve kolonizasyonu sağlayan proteinlerin

olduğunun ayrıca bakteri savunmasını sağlayan polisakkaritler ve teikokik asit gibi bileşenlerin de hücre duvarında bulunduğunun altını çizmişlerdir. Bakteri yayılmasının ve büyümesinin engellenmesi için temel hedefin hücre duvarı olması gerektiğini vurgulamışlardır. Yaptıkları araştırmada, çinko oksit nano parçacıklarının harici kullanımda enfeksiyonların ve bakteri yayılımının engellenmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Jones ve ark., 2008). Görüldüğü üzere, çinko oksit ve diğer metal oksitlerin antibakteriyel etki mekanizmalarının anlaşılması adına yürütülen çalışmalar hala devam etmektedir ve tartışmalar sürmektedir. Bununla beraber son dönemde özellikle metal oksitlerin oksijen radikali salımı üzerinden antibakteriyel etkinlik gösterdikleri fikri ağır basmaktadır. Bu görüşü destekleyen araştırmalar ve bulgular ikna edici veriler sunmaktadır. Oksijen radikali oluşum mekanizması ise ayrı bir tartışma konusudur.

Hücrelerin mitokondriyal aktiviteleri sırasında, ATP (adenazin trifosfat) sentezlenirken, oksijen radikalleri hücre metabolizmasının yan ürünleri olarak ortaya çıkar. Hücre içerisinde belirli bir miktarda bulunan oksijen radikali, faydalı metabolik faaliyetler için kullanılabilir. Fakat fazla miktarda oksijen radikali oksidatif stres yaratarak hücre içerisindeki reaksiyon mekanizmasını sekteye uğratar. Bu durum proteinlerin bozunması, lipid peroksidasyonunun başlatılmaması ve DNA'da hasar oluşumu gibi zararlar vererek hücrenin yaşamsal faaliyetlerini yerine getirememesine neden olur (Fu ve ark., 2014).

Li ve ekibi UV ışığıyla uyarılmış metal oksitlerden salınan oksijen radikallerini ve antibakteriyel etkiyle korelasyonunu incelemişlerdir. Bu çalışmada nano ve nano boyutta olmayan  $TiO_2$ ,  $CeO_2$ ,  $ZnO$ ,  $CuO$ ,  $SiO_2$  ve  $Al_2O_3$  kullanmışlardır. Kimyasal proplar kullanarak yaptıkları çalışmalarında, farklı metal oksitlerden farklı miktarda  $O_2^-$ ,  $\cdot OH$ ,  $^1O^2$  radikalleri salımı yapıldığını belirtmişlerdir. Salınan toplam oksijen radikali miktarının ortalamasının antibakteriyel aktiviteyle korelasyonunu tespit etmişlerdir. Oksijen radikali salımının metal oksitlerin elektronik yapısından kaynaklanan bant aralığıyla ilgili olduğunu ve UV ışık ile uyarılma sayesinde oksijen radikali salımı gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir. Karanlık koşullarda oksijen radikali salımına dair bir bulguya rastlamadıklarını belirtmişlerdir. (Li ve ark., 2012).

Okyay ve ekibi çinko oksit nano çubuklarının antibakteriyel etki mekanizmasını da inceledikleri çalışmalarında GSH yöntemini kullanarak oksidatif stres ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. GSH, hücre içi antioksidan bir moleküldür ve bu molekül reaktif oksijen türleri tarafından dönüştürülür. Hücre içerisinde bu molekülün miktarındaki değişim gözlenerek oksijen radikali varlığının tespit edilebileceği belirtilmiştir (Okyay ve ark., 2015).

Yamamoto, çinko oksit partikül boyutunun küçüldükçe antibakteriyel etkinin arttığını kaydetmiştir. Bu çalışmada antibakteriyel aktivitenin kaynağı olarak hidrojen peroksit oluşumu gösterilmiştir (Yamamoto, 2001). Zhang ve ekibi çinko oksidin *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkinliğini göstermişler ve baskın etki mekanizmasının oksijen radikalleri üzerinden olduğunu belirtmişlerdir (Zhang ve ark., 2010). Yousef ve Danial 10 farklı patojen ile yaptıkları çalışmada çinko oksit ve nano çinko oksidin antibakteriyel etki gösterdiğini belirtmişlerdir ve etki mekanizması olarak UV ışıkta veya görünür ışıkta uyarılmaya bağlı olarak salınan oksijen radikallerini göstermişlerdir (Yousef ve Danial, 2012). Hirota ve arkadaşları çinko oksit sentezi gerçekleştirerek sentezlenen çinko oksit tozlarının karanlıkta oksijen radikali salımı yaptığını ortaya çıkarmışlardır. Elektron spin rezonans ve kimyasal fotoluminesans yöntemleri kullanılarak oksijen radikali tespiti gerçekleştirilmiştir. Ayrıca radikal tutucu olarak kullandıkları süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle oksijen radikali sinyallerinin sönmelenmesini kaydetmişler ve sonuçların sağlamlasını yapmışlardır (Hirota ve ark., 2010). Jiang ve ekibi  $Al_2O_3$ ,  $SiO_2$ ,  $ZnO$  ve  $TiO_2$  metal oksitlerinin antibakteriyel aktivitelerin parçacık boyutuyla değişimini incelemişlerdir. En güçlü antibakteriyel etkinin çinko oksitle alındığı belirtilen çalışmada, nano parçacıkların nano boyutta olmayan parçacıklardan daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir (Jiang ve ark., 2009).

Huang ve ekibi magnezyum oksitle etkileşime geçen *S. aureus* bakterisinin yapısını FT-IR spektroskopisiyle incelemişlerdir. FT-IR spektrumunda  $1078\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen C-O esneme titreşimlerine ait olan piklerde magnezyum oksit ile etkileşim sonucu göze çarpan bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum bakteri hücre duvarındaki proteinlerin yıkıma uğramasıyla ilişkilendirilmiştir. MgO etkisiyle ortama verilen

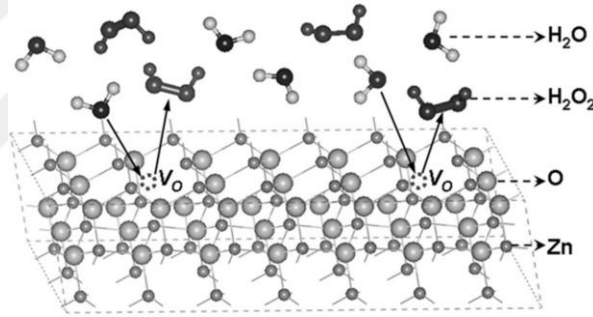
süperoksit anyonunun peptit bağlarındaki karbonil grubuyla reaksiyona girerek protein hasarına neden olduğu belirtilmiştir (Huang ve ark., 2005).

Fiedot ve ekibi tarafından yürütülen araştırmada çinko oksit içeren cerrahi yamaların *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, ve *C. albicans* bakterilerine karşı güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Çinko oksitle temasa giren bakteri hücrelerinde uzama tespit edilmiştir. Bu davranış, UV ışığına maruziyeti veya oksidatif stres sonucu DNA zincirinde meydana gelen hasar sonucu bakterinin acil durum sinyali vermesi olarak yorumlanmıştır. Hücre içerisindeki oksidatif stresin artması RecA proteinini aktive ederek acil durum sinyalini tetiklemiştir. Çinko oksit tarafından salınan hidrojen peroksit miktarının tespiti için  $KMnO_4$  ile titrasyon yapılmıştır. Hidroksil radikallerinin tayini için floresans spektroskopisi kullanılmıştır. Teraftalik asit ile reaksiyona sokulan hidroksil radikallerinin 425 nm'deki emisyonu hidroksil radikallerinin miktarının tespiti için kullanılmıştır. Ayrıca DMPO ile Elektron Spin Rezonans ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Fiedot ve ark., 2017). Evstropiev ve ekibi cam üzerine kapladıkları ZnO ve  $CeO_2$  kristallerinin antibakteriyel özellik gösterdiklerini ve UV ışık altında singlet oksijen salımı yaptıklarını belirtmişlerdir. Singlet oksijen varlığı florimetri yardımıyla belirlenmiştir (Evstropiev ve ark., 2017). Li ve arkadaşları PVC film üzerine çinko oksit nano parçacıklarıyla kaplama yaparak antibakteriyel özelliklerini incelemişlerdir. UV ışık altında *E. Coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etki elde edildiğini bildirmişlerdir. Literatür araştırmalarına bağlı olarak oksijen radikali salımının önemini vurgulamışlardır (Li ve ark., 2010).

Metal oksitlerin, özellikle de görece küçük bant boşluğuna sahip (ZnO,  $TiO_2$  gibi) yarı iletken özellik gösteren materyallerin UV veya görünür ışıkla uyarılması sonucu oksijen radikali salımı yapma mekanizmaları, önceden bir çok literatür çalışmasıyla ortaya konulduğu üzere, oldukça iyi anlaşılmış bir konudur. Bunun yanında yukarıda bahsedildiği üzere metal oksitlerin karanlıkta da antibakteriyel özellik gösterdikleri ve oksijen radikali salımı yaptığı bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ne var ki metal oksitlerin karanlık ortamda oksijen radikali salımı yapma mekanizmaları genel olarak gizemini koruyan bir fenomen olarak kalmıştır. Bu noktada Xu ve ekibinin (Xu ve ark., 2013) ve Prasanna ve Vijayaraghavan'ın (Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015)



yaptıkları çalışmalar karanlıkta oksijen radikali salımına ışık tutabilecek niteliktedir. Xu ve ekibi yaptıkları çalışmada mikro ZnO, nano ZnO ve tetrapod şekilli ZnO iğneciklerinin antibakteriyel özelliklerini, antibakteriyel etki mekanizmasını ve oksijen radikali salımının oksijen boşluklarıyla ilişkisini incelemiştir. DMPO spin tuzağıyla yapılan ESR ölçümlerinde karanlıkta OH radikali salımı yapıldığına dair bir bulguya rastlanılmadığı belirtilmiştir. Bununla birlikte KI ve nişasta testinde karanlıkta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> salımı yapıldığını tespit etmişlerdir. Oksijen boşluklarının (V<sub>o</sub>) tespiti ise XRD ölçümleriyle Zn ve O atomlarının stokiometrik oranlarının karşılaştırılması ve ESR tekniğiyle yapılmıştır. İncelenen üç çeşit ZnO numunesinde, oksijen boşluğu artışıyla beraber hidrojen peroksit miktarında da artış görülmüştür. Bu durum, karanlıkta hidrojen peroksit oluşumuna oksijen boşluklarının neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır (Xu ve ark., 2013). Şekil 1.7’de oksijen boşlukları vasıtasıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu temsili olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.7 Su moleküllerinin oksijen boşluklarıyla etkileşimi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu (Xu ve ark., 2013)

Prasanna ve Vijayaraghavan karanlıkta çinko oksidin antibakteriyel mekanizmasını inceledikleri çalışmalarında hidroksil radikali, süperoksit ve hidrojen peroksit varlığını ESR ölçümleriyle, kimyasal proplar kullanarak UV-vis spektroskopide tespit etmişlerdir. Singlet oksijenin oluşabilmesi için elektronik yapıda “boşluk” olması gerektiği ifade edilerek oksijen boşluğu hatasının singlet oksijen oluşumuna neden olmayacağı belirtilmiştir. Oksijen boşlukları ESR tekniğiyle belirlenerek oksijen radikalleri salımıyla oksijen boşlukları arasında bağlantı kurulmuştur (Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015). Wang ve ekibi, çinko oksidin de dahil olduğu altı metal oksidin ışık ile uyarılması sonucu ortaya çıkan antibakteriyel etkilerini, oksijen radikalleri oluşumunu ve antibakteriyelliğin oksijen

radikalleriyle ilişkisini incelemişlerdir. Oksijen radikali oluşumu sürekli akış kimyasal kemilüminesans yöntemi ile tespit edilmiştir. Nano ve nano olmayan çinko oksitten süperoksit ve hidroksil radikali salımı gerçekleştiği, nano çinko varlığında hidrojen peroksit salımı yapıldığı bildirilmiştir. Süper oksit radikali miktarı ile antibakteriyel etkinlik arasında bağıntı kurulmuştur. Metal oksitlerin katalitik etkisinin nedeni olarak ışık ile uyarılmanın yanında yüzey hatalarının etkili olduğu belirtilmiştir (Wang ve ark., 2017).

Farouk ve ekibi pamuk ve pamuk-poliester kumaşları sol-jel yöntemi kullanarak çinko oksit içerikli hibrit polimerlerle kaplamışlardır. Tekstil malzemelerine antibakteriyel özellik kazandırmayı amaçlayan bu çalışmada *E. coli* ve *M. luteus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkinlik sağlandığı bildirilmiştir. Çinko oksitten H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> salımı, atımlı amperometrik tespitli-yüksek performanslı anyon değişimi kromatografisiyle belirlenmiştir ve antibakteriyel etkinliğin sebebi olarak hidrojen peroksit ve diğer radikaller gösterilmiştir (Farouk ve ark., 2014). Teli ve Kale ürettikleri nano çinko oksidi poliester lifi çekimi sırasında polimer eriyiğine eklemişler ve %1'lik çinko oksit katkısının optimum antibakteriyel özellikler gösterdiğini bildirmişlerdir (Teli ve Kale, 2011).

Sawai ve ekibi kalsiyum oksidin antibakteriyel etkilerinin kinetiğini inceledikleri çalışmalarında, öncelikle kalsiyum oksit süspansiyonunun yüksek pH değerlerinin antibakteriyel etkinlik kaynağı olup olmadığını araştırmışlardır. Yapılan çalışmalarda sodyum hidroksit içeren ve kalsiyum oksitten daha yüksek pH değerlerine sahip çözeltilerin antibakteriyel etkinliklerinin daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu noktada antibakteriyel etkinin sadece yüksek pH ile açıklanamayacağı sonucuna varmışlardır. Ortaya çıkan etkinin katalitik reaksiyonla, seramik yüzeyinden bir elektron verilmesiyle aktif oksijen salımı gerçekleşmesiyle ortaya çıkmakta olduğunu belirtmişlerdir (Sawai ve ark., 2001). Bu noktada Sawai'nin önderliğinde yapılan başka bir çalışmanın altını çizmekte fayda vardır. Söz konusu çalışmada çinko oksit, magnezyum oksit ve kalsiyum oksit tozlarından salınan aktif oksijen tespiti yapılmıştır. Araştırmada kemiluminisans ve oksijen probu analizleri yapılarak bu üç seramik tozundan hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu salımı yapıldığı bildirilmiştir (Sawai ve ark., 1996).

Sawai ve ekibi tarafından yapılan bir diğerk çalışma da magnezyum oksit tozunun antibakteriyel özelliklerinin detaylı olarak incelenmesine yöneliktir. Bu çalışmada MgO tarafından ortama verilen  $Mg^{+2}$  iyonlarının antibakteriyel etki üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir. Magnezyum oksidin antibakteriyel etkinlik gösterebilmesi için bakteri ile temasının önemli olduğu vurgulanmıştır. Magnezyum oksit yüzeyinden aktif oksijen salımı gerçekleştiğı kemilüminisans analizi ile tespit edilmiştir (Sawai ve ark., 2000).

Roy ve ekibi tarafından yapılan çalışmada kalsiyum oksidin antibakteriyel etkisi tespit edilmiş ve gerçekleştirilen görüntü analizleri sonunda hücre yapısının ciddi şekilde bozulduğu belirtilmiş ve bu bozulmanın nedeni olarak oksijen radikalleri gösterilmiştir. (Roy ve ark., 2013).

Çinko oksidin özellikle gıda sektöründeki malzemelerin antibakteriyel özellik kazandırılmasında kullanılması dikkat çekicidir. Örneğın, tavukçuluk endüstrisinde kullanılacak paketleme malzemelerinin antibakteriyel hale getirilmesinde çinko oksit katkılı kalsiyum alginat kullanılmıştır (Akbar ve Anal, 2014).

Metal oksitlerin antibakteriyelliğı üzerine yapılan çalışmalar nano boyuttaki metal oksitler üzerinde de devam etmiş ve nano MgO partiküllerinin antibakteriyel etkisi tespit edilmiştir (Jin ve He, 2011). Halojenlerle ( $Cl_2$ ,  $Br_2$ ) modifiye edilmiş magnezyum oksit nano parçacıkları *E.coli* ve *B. Megaterium* bakterilerine ve *B. subtilis* sporlarına karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Antibakteriyel etkinin nedenlerinden bir tanesinin magnezyum oksidin kurutucu etkisi olabileceğı öne sürülmüştür (Stoimenov ve ark., 2002). Makhluף ve ekibi mikrodalga enerjisi yardımıyla sentezledikleri magnezyum oksit nano kristallerinin antibakteriyel etkinlik gösterdiğini kanıtlamışlardır. Muhtemel etki mekanizmasını magnezyum oksidin katalitik reaksiyonlarla oksijen radikali salımına neden olması olarak tanımlamışlardır. MgO içeren süspansiyonun pH'ı 10,6 olarak ölçülmüştür. Bu yüksek pH değerinin antibakteriyelliğe etkisinin araştırılması için MgO içermeyen salın çözeltisinin pH'ı 10,6'ya ayarlanmıştır. Bu çözeltinin bakterileri öldürücü etkisi bulunmadığı belirtilmiş ve etki mekanizmasında pH'ın rolü olabileceğı konusundaki şüpheler ortadan kalkmıştır (Makhluף ve ark., 2005). Tang ve Lv sentezledikleri

magnezyum oksit nano parçacıklarının antibakteriyel aktivitesini tespit etmişler ve antibakteriyel etki mekanizmasının hala tartışmalı olduğunu ve konuyla ilgili yeni çalışmaların yapılması gerektiğini vurgulamışlardır (Tang ve Lv, 2014).

Tek başına kullanıldığında antibakteriyel etki gösteren metal oksitlerin karışım olarak kullanıldığında da etkili olduğu saptanmıştır. Karışımdaki çinko oranı arttıkça daha yüksek antibakteriyel etki gözlemlendiği vurgulanmıştır (Musevi ve ark., 2012). Bu çalışmayla zıt olarak düşünebilecek görüşler paylaşılan başka bir araştırmada ise MgO/ZnO katı solüsyonun antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Karışımdaki ZnO oranı arttıkça *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitenin düştüğü belirtilmiştir (Yamamoto ve ark., 2000).

Bakır oksit, çinko oksit ve nikel oksitin antibakteriyel özelliklerinin araştırılmasına yönelik bir diğer çalışmada da zeolit içerisinde oluşturulan metal oksit nanopartiküllerinin antibakteriyel etkisi incelenmiş ve 24 saatlik temas sonucu, *E. coli* için bakteri sayılarında, bakır oksitle %87, çinko oksitle ise %54'lük bir azalma gözlemlendiği belirtilmiştir (Hrenovic ve ark., 2012).

Tayel ve ekibi dokuz farklı bakteri türüyle yürüttükleri çalışmada çinko oksit ve nano çinko oksit parçacıklarının gıda kaynaklı bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğini incelemişlerdir. Hem nano hem nano boyutta olmayan çinko oksit tozlarının inceledikleri tüm bakteri türlerine karşı etkili olmakla beraber Gram pozitif bakterilere karşı daha yüksek oranda antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. (Tayel ve ark., 2011).

Sevinç ve Hanley çinko oksit nano parçacıklarını dental kompozitlerde antibakteriyel katkı maddesi olarak kullanmışlardır. (Sevinç ve Hanley, 2010).

Mahendra ve ekibi tarafından yapılan çalışmada *Cochlospermum religiosum* bitkisinin yaprak ekstraktından üretilen çinko oksit nano parçacıklarının, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella typhi* türü bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Üretilen çinko oksidin antibakteriyel ve antimitotik (hücre bölünmesini engelleyici) etkisi bulunduğu belirtilmiştir (Mahendra

ve ark., 2017) Doğal kaynaklardan metal oksit sentezine dair bir diğer çalışmada karides kabuklarından kalsiyum oksit izole edilebilirliği incelenmiş ve üretilen kalsiyum oksit peletlerinin *E. coliye* karşı antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (Gedda ve ark., 2015). Marquis ve ekibi (Marquis ve ark., 2016). *Cissus quadrangularis* bitkisinin sap ekstraktından, Soisuwan ve ekibi (Soisuwan ve ark. 2014) ise deniz canlılarından (mürekkep balığı iç kabuğu, midye kabuğu ve istiridye kabuğu) kalsiyum oksit sentezlemeyi başarmışlardır. Bu tip çalışmalar, antibakteriyel etkileri tespit edilen metal oksit tozlarının, gelecekte, sürdürülebilir ve ekolojik kaynaklardan elde edilebileceğini göstermektedir.

Cho ve ekibi titanyum (IV) oksidin fotokatalitik dezenfektan etkisini inceledikleri çalışmalarında OH radikali salımı ile antibakteriyel etki arasında lineer bağlantı kurmuşlardır. Aradaki açık lineer bağlantının ağırlıklı olarak OH radikali salımından kaynaklandığı belirtilmiştir. (Cho ve ark., 2004).

Sundrarajan ve ekibi magnezyum oksit üretiminde kalsinasyon sıcaklığı değişiminin antibakteriyel aktiviteye etkisini incelemişlerdir. Agar difüzyon yöntemiyle gerçekleştirilen testlerde magnezyum oksidin grap pozitif bakteriler üzerinde deha öldürücü bir etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Kalsinasyon sıcaklığı artışıyla (300-700°C incelenmiştir) partikül boyutunun büyüdüğü ve antibakteriyel özelliklerin olumsuz etkilendiği belirtilmiştir (Sundrarajan ve ark., 2012). Magnezyum oksit molekülü hidratlanarak  $Mg(OH)_2$  molekülüne dönüşür ve magnezyum oksit partikülünün etrafı OH tabakasıyla kaplanmış olur. Yüzey alanı arttıkça, yani partikül boyutu küçüldükçe, yüzeydeki OH miktarı da artar. Buna paralel olarak ortama verilen  $O^{-2}$  gibi oksijen radikalleri miktarı da artar (Al-Hazmi ve ark., 2012; Huang ve ark., 2005)

Literatür çalışmalarında görüldüğü üzere metal oksitlerin antibakteriyel etkisi biliniyor olmasına rağmen bu etkinin kaynağı üzerindeki tartışmalar halen devam etmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunda oksijen radikalleri öncelikli etki kaynağı olarak gösterilmektedir. Ayrıca metal oksitlerin antibakteriyel katkı maddesi olarak tekstil sektöründe kullanımına ilişkin oldukça sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

#### 1.4 Elektron Spin Rezonans Tekniği

Elektron Spin Rezonans (ESR) veya diğer adıyla Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR) tekniği, çeşitli oksit yzeylerde paramanyetik merkezlerle çalışmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. ESR yardımıyla yzey bozuklukları, inorganik veya organik radikaller, metal katyonları veya bazı metal bileşikleri incelenebilir. Paramanyetik turlerin her birinin karakteristik ESR sinyali bulunmaktadır. Fakat bu turlerin manyetik ozellikleri, stabilitesi ve reaktivitesi olum şartlarına gore değişiklik gosterebilir. Bu nedenle incelenen bileşiğin elektronik yapısı iyi bilinmelidir.

Elektron, ekirdek etrafında donmesiyle orbital açısal momentumu bulunan negatif yoklu bir parçacıktır. Elektronun ayrıca kendi etrafında donmesiyle spin açısal momentumu oluşur. Elektron spininin en önemli sonuçlarından birisi de manyetik momenttir. Manyetik moment direkt olarak spin açısal momentumuyla orantılıdır. Bu manyetik moment manyetik alanla etkileşime geçer. Etkileşimin enerjisi şu şekilde tanımlanabilir.

$$E = -\mu \cdot B \quad (1.1)$$

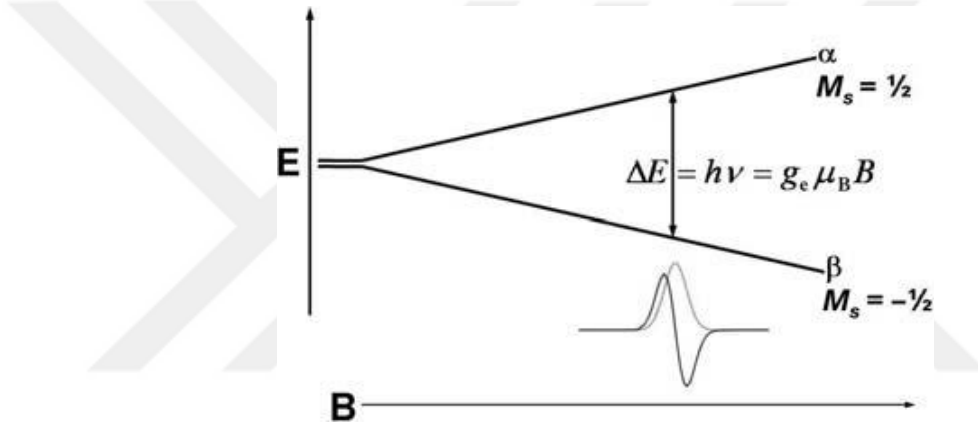
Burada  $\mu$ , manyetik momentini B, manyetik alanı ifade etmektedir.

Atomlardaki veya moleküllerdeki elektronlar çiftler oluşturur. Belirli bir orbitaldeki elektronların spin kuantum sayısı  $s = 1/2$ 'dir. Manyetik bileşenleri  $m_s = +1/2$  veya  $m_s = -1/2$ 'dir. ESR'de sinyal alabilmek için incelenen malzemenin eşlenmemiş elektronu olması gerekir. Manyetik alan içerisindeki bir elektronun manyetik moment vektru spin vektrune bağlı olarak paralel veya anti-paralel olarak yonlenirler. Manyetik alanla birlikte elektronun enerji seviyelerindeki değişime "Zeeman yarılması" denilir. Buradaki enerji seviyelerindeki değişimin ollmesi ESR tekniğinin temelini oluşturur. (Ranby ve Rabek, 1977). Eğer sistem, elektromanyetik radyasyon olarak, bu iki enerji seviyesi arasındaki enerji farkı kadar enerji alırsa elektronun iki enerji seviyesi arasında geçişi mümkün olur. Enerji absorpsiyonu ollr ve bir absorpsiyon spektrumu çıkarılır. Genellikle bu

spektrumun türevi alınarak ESR sinyaline dönüştürülür (Lund ve ark., 2011; Ranby ve Rabek, 1977; Makarova, 2011). Bu geçiş için gerekli enerji şu şekildedir:

$$\Delta E = h\nu = g_e \mu_B B \quad (1.2)$$

Burada  $h\nu$  foton enerjisi,  $g_e$  serbest elektron g-faktörü (2.0023),  $B$  manyetik alan kuvveti,  $\mu_B$  Bohr magnetonu ifade etmektedir. Şekil 1.8’de manyetik alan altında elektron spin değişimlerinin temsili gösterimi görülmektedir.



Şekil 1.8 Elektron için manyetik alanda enerji seviyeleri ve Zeeman yarılması (He ve ark., 2014)

Çoğu atom çekirdeği spin açısal momentumuna sahiptir ve elektronlar gibi manyetik özellikler gösterirler. Eşlenmemiş elektronlar, etraflarında bulunan ve manyetik momente sahip olduklarından dolayı elektronlar üzerinde bölgesel manyetik alan yaratan atomların çekirdeklerinden etkilenirler. Böylece elektron sadece dışarıdan etki eden manyetik alana değil ayrıca çekirdeğin neden olduğu manyetik alana da maruz kalacaktır. Eşlenmemiş bir elektron ve atom çekirdeğinin etkileşimi aşırı ince (hyperfine) etkileşim olarak nitelendirilir. Bu etkileşimin ESR spektrumunda yarattığı etkiye de aşırı ince yarıma (hyperfine splitting) ismi verilir. I spinine sahip bir atom çekirdeğinin  $(2I+1)$  tane manyetik kuantum sayısı bulunur. Bu nedenle çekirdekle aşırı ince etkileşime giren eşlenmemiş elektronun ESR çizgileri

(2I+1) çizgiye yarılr (Assenheim, 1967; Lund ve ark., 2011; Makarova, 2011; Palalı, 2013; Schlick, 2006).

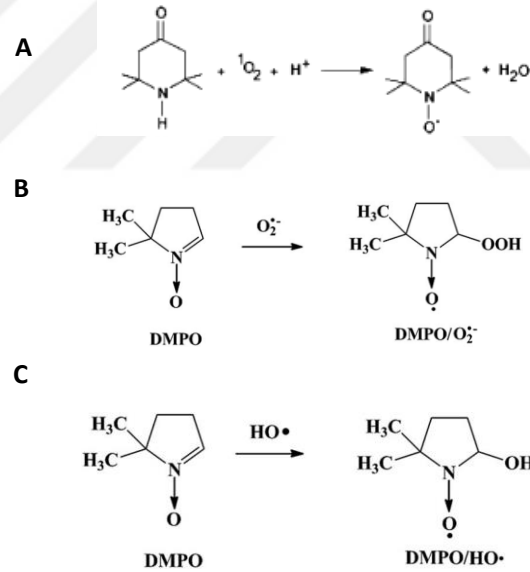
#### ***1.4.1 ESR tekniğiyle oksijen radikalleri tespiti***

Metal oksitlerin radikal oksijen türleri salımıyla antibakteriyel etki göstermesi üzerinde daha önceden durulmuştur. Serbest radikaller çok reaktif ve bu nedenle kısa ömürlü oldukları için ESR analizi için stabilize edilmeleri gerekmektedir. Bu sebeple serbest radikallerin ESR’de incelenebilmesi için spin-tuzağı (spin-trapping) tekniği kullanılmaktadır. Bu yöntemde oldukça reaktif türler spin tuzağı olabilecek bir bileşikle reaksiyona sokulup orijinal radikale göre çok daha stabil ve ESR’de tespit edilebilecek bileşikler elde edilir (Samouilov ve ark., 2004). Nitron, nitrozo ve piperidin/pirolidin grupları olmak üzere üç tip spin tuzağı bulunmaktadır. Bu spin tuzağı kimyasalları farklı serbest radikallerle reaksiyona girerler. Tuzaklanan radikallerle birlikte spesifik aşırı ince yarılma eğilimi göstererek incelenen radikalın tanımlanması hususunda bilgi alınmasına yardımcı olurlar. DMPO nitron yapısında bir spin tuzağıdır ve süperoksit ve hidroksil gibi oksijen radikallerinin tuzaklanmasında kullanılabilir. Spin etiketi kimyasalları ise stabil serbest nitroksit radikalleridir ve ESR’de düşük konsantrasyonda bile tespit edilebilirler. Genellikle, paramanyetik özellik göstermeyen bileşiklerde hareket, uzaklık, yönlenim gibi özelliklerin incelenmesinde kullanılırlar. TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil) spin etiketi kimyasallarına örnek olarak gösterilebilir (He ve ark., 2014).

Hirota ve ekibi ürettikleri çinko oksidin antibakteriyel etkisini ölçtükleri çalışmalarında, çinko oksit yüzeyinden salınan oksijen radikallerinin tespiti için ESR spektroskopisini kullanmışlardır. Bu çalışmada hidroksil radikalının tuzaklanması için DMPO (dimetilpirolin-N-oksit), süperoksidin tuzaklanması için CYPMPO (2-(5,5-dimetil-2-okso-2-5-[1,3,2]dioksafosfinan-2-il)-2-metil-3,4-dihidro-2H-pirol-1-oksit, 5-(2,2-Dimetil-1,3-propoksi siklofosforil)-5-metil-1-pirolin- N-oksit) ayrıca SOD (süperoksit dismutaz) kullanmışlardır. ESR sonuçlarının süper oksit ve hidroksil radikali varlığını doğruladığı belirtilmiştir (Hirota ve ark., 2010)



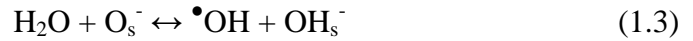
Lipovsky ve ekibi görünür ışıkla uyarılmış çinko oksit üzerine yaptıkları çalışmada hidroksil radikali, süper oksit ve singlet oksijen için sırasıyla 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO, 0.02 M), 5-(dietoksifosforil)-5-metil-1-pirolin- N-oksit (DEPMPO, 0.01 M) ve 2,2,6,6-Tetrametilpiperidin (TEMP, 0.1M) tuzaklarını kullanmışlardır. DMPO hem hidroksil radikali hem de süperoksit için spin tuzağı olarak kullanılabilir. DMPO'nun hidroksil radikaliyle reaksiyonu sonucu DMPO-OH, süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucu DMPO-OOH spin bileşikleri (spin adduct) oluşmaktadır. Bununla birlikte DMPO-OOH spin bileşiği kararsızdır ve DMPO-OH spin bileşiğine dönüşmektedir (He ve ark., 2014; Lipovsky ve ark., 2009). Singlet oksijenin TEMP ile reaksiyonu, hidroksil ve süperoksit radikallerinin DMPO ile reaksiyonları Şekil 1.9'da görülmektedir.



Şekil 1.9 Spin tuzaklarının oksijen radikalleriyle reaksiyonları (A: TEMP ile singlet oksijen reaksiyonu, B: DMPO ile Süperoksit reaksiyonu, C: DMPO ile hidroksil radikali reaksiyonu) (Lipovsky ve ark., 2009; Xu ve ark., 2016)

Applerot ve ekibi, ultrasonik radyasyonla üretilen çinko oksit nanopartikülleri ürettikleri çalışmalarında antibakteriyel aktiviteyi incelemişlerdir. Çinko oksit partiküllerinin sulu çözeltilerinde bulunan oksijen radikallerini ise DMPO spin tuzağı

kullanarak ESR tekniği ile tespit etmişlerdir. Oksijen radikali konsantrasyonunun tespiti için ise stabil bir radikal olan ve spin etiketi olarak kullanılan TEMPO bileşiminin bilinen konsantrasyonlardaki sinyal şiddetlerini DMPO-OH spin bileşiminin sinyalleriyle karşılaştırmışlardır. Karanlıkta oksijen radikali salımının kaynağının metal oksit yüzeyindeki aktif gruplar ve oksijen boşlukları olabileceğini öne sürmüşler ve muhtemel reaksiyonları şu şekilde göstermişlerdir (Applerot ve ark., 2009):



Burada,  $\square$  oksijen boşluklarını, s ise yüzey türlerini göstermektedir

Uchino ve arkadaşları UVA ile uyarılmış  $\text{TiO}_2$ 'nin OH radikali salımını ESR spektroskopisi ile incelemişlerdir. Spin tuzağı olarak DMPO kullanılan bu çalışmada OH salımının kristal şekli ve boyutuyla değiştiği tespit edilmiştir (Uchino ve ark., 2002).

Giamello ve ekibi metal oksitlerin katalitik reaksiyonla oksijen radikali salımına değişik bir yaklaşım getirmişlerdir. Magnezyum oksidin hidrojen peroksit ile etkileşimi incelenmiştir. Katalitik reaksiyon sonunda hidroksil, singlet oksijen ve süperoksit radikallerinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bu radikal türlerinin ortaya çıkar çıkmaz metal oksidin kafes yapısı içerisine hapsedildiği öne sürülmüştür. Reaksiyon mekanizmasının, hidrojen peroksidin katalitik reaksiyonla magnezyum oksitten bir elektron alarak diğer radikal türlerinin ortaya çıkmasına neden olması şeklinde ilerlediği belirtilmiştir (Giamello ve ark., 1993).

Jeong ve ekibi içlerinde çinko oksidin de bulunduğu farklı nano boyuttaki metal oksit yüzeyinden salınan oksijen radikallerini ESR tekniği ile incelemişlerdir. Hidroksil radikali için DMPO, süperoksit için BMPO ( 5-ter-butoksikarbonil-5-metil-1-pirolin-N-oksit) ve singlet oksijen içinse TPC (2,2,5,5-tetrametil-3-pirolin-3-karboksamid) spin tuzaklarını kullanmışlardır. Farklı ışık kaynakları ve karanlıkta yapılan ölçümlerde çinko oksit ile karanlıkta dahi oksijen radikali tespit edilmiştir. Ortaya çıkan radikal miktarı stabil bir radikal olan TEMPOL'ün (4-hidroksil-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil) bilinen konsantrasyonlarındaki ESR sinyalleriyle örneklerden elde edilen sinyallerin karşılaştırılmasıyla yapılmıştır (Jeong ve ark., 2016).



## BÖLÜM İKİ

### MATERYAL VE METOT

#### 2.1 Kaplama İşlemleri

Kaplama işlemleri Ataç marka laboratuvar tipi kaplama cihazıyla yapılmıştır. Kaplamaya müteakip yapılan kürlenme işlemleri Ataç GK40 model laboratuvar tipi kurutucuda 2 dakika süreyle 180°C’de gerçekleştirilmiştir. Kaplama işlemlerinde PVC poli(vinil klorür) polimeri kullanılmıştır. Kaplama reçetesi Tablo 2.1’de görülmektedir.

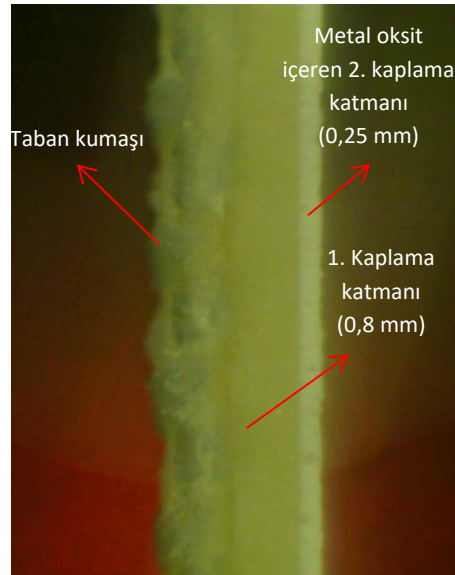
Tablo 2.1 Kaplama işlemlerinde kullanılan reçete

<b>Kullanılan Kimyasal Türü</b>	<b>Ticari Adı</b>	<b>Üretici Firma</b>	<b>Kullanım miktarı (%)</b>
<i>PVC</i>	Solvin 373 MC	INOVYN	54.17
<i>Plastikleştirici</i>	Polimix F400	Polynt	33.17
<i>Epoksi soya yağı</i>	Soyflex 6330	DPV	1.03
<i>Viskozite ayarlayıcı</i>	Viscobyk 4015	BYK	2.71
<i>Köpük kesici</i>	Baysilion % 100	Siff Chemicals	0.54
<i>Plastikleştirici</i>	ATBC (Citrofol BII)	Jungbunzlauer	6.77
<i>Termal stabilizatör</i>	Baerostab NT340 RF	Baerlocher	1,60
<i>Antibakteriyel Katkı Maddesi</i>			<b>%X</b>

Kullanılan plastikleştiricilerden Polimix F400 adipik asit ve polihidrik alkol karışımı, Citrofol BII ise asetil tribütilsitratdır. Bu plastikleştiriciler, gıda ile temasa uygundur.

Bu araştırmada elde edilen veriler değişik alanlarda kullanılacak kaplanmış tekstil ürünlerine uygulanabilecektir. Bununla birlikte, tez kapsamında yapılan çalışmalarda gıda işletmelerinde kullanılan tekstil tabanlı taşıyıcı bantların antibakteriyel hale

getirilmesi üzerine odaklanılmıştır. Katkı yapılmamış polimer pastasının viskozitesi  $26000 \pm 3000$  cP olarak ölçülmüştür. Viskozite ölçümlerinde Brookshield marka viskozimetri kullanılmıştır. İki farklı konstrüksiyonda kaplama işlemleri gerçekleştirilmiştir. İlk yapılan çalışmalarda, antibakteriyel katkı maddeleri direk olarak kaplama polimeri pastası hazırlanırken eklenerek tek katlı kaplama işlemi yapılmıştır. Bu aşamada %0.3, %0.5, %0.7, %1 ve %5'lik konsantrasyonlarda katkı maddesi eklenmesi yapılmıştır. İlerleyen bölümlerde detaylı olarak değinileceği üzere bu konsantrasyonlarda istenilen antibakteriyel etkinlik sağlanamamıştır. Tek katmanlı kaplamada bu konsantrasyonların üzerine çıkılması kaplamanın mekanik özelliklerini gözle görülür biçimde olumsuz etkilemiştir. Bu nedenle yüksek konsantrasyonda etken madde içeren ince bir ikinci kaplama katmanı, standart reçeteye önceden kaplanmış kumaş üzerine uygulanmıştır. Katkı maddeleri, polimer pastası hazırlanması esnasında, belirlenen konsantrasyonlarda eklenmiştir. Taban kaplamasının kalınlığı 0,8 mm, İkinci ince kaplamanın kalınlığı 0,25 mm'dir. İkinci katmanın kaplanması esnasında eklenen antibakteriyel katkı maddesi oranı %1-35'tir. Kaplama sonrası kütleli artış (add-on) miktarı %20 CaO, %35 ZnO ve %20 MgO katkılı kaplamalarda sırasıyla 15.6%, 18.0% ve 16.7% olarak ölçülmüştür. İki katmanlı kaplanmış kumaş yapısı şekil 2.1'de görülmektedir.



Şekil 2.1 İki katmanlı kaplanmış kumaş yapısının optik mikroskop görüntüsü

Polimer pastası hazırlanışı sırasında İKA marka karıştırıcı kullanılmış, karıştırma işlemleri 15 dakika 1500 devir/dakika hızda gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan polimer pastası vakumlu etüvde 0.2 bar basınçta 30 dakika bekletilerek oluşabilecek hava kabarcıklarının ortadan kaldırılması amaçlanmıştır.

## **2.2 Taban kumaşı**

Taban kumaşı bezayağı örgü yapısındadır ve 295 g/m<sup>2</sup> ağırlığa sahiptir. Çözgü iplikleri %100 poliester olup 1670 dtex multifilament ipliklerdir. Atkı iplikleri ise 0.25 mm çapa sahip monofilament %100 poliester ipliklerdir. Çözgü sıklığı 12,5 tel/cm, atkı sıklığı 9,5 tel/cm'dir. Kumaş, Rultrans Transmisyon A.Ş. tarafından tedarik edilmiştir

## **2.3 Antibakteriyel Fonksiyonellik Kazandırmak İçin Kullanılan Katkı Maddeleri**

Metal oksit tozlarının insan sağlığı açısından risk oluşturmaması, gıda maddeleriyle uyumlu olarak kullanılabilmesi, etkinliklerini uzun süre koruyabilmeleri ve ekonomik olmaları gibi sebepler metal oksitlerin antibakteriyel katkı maddesi olarak seçilmesinin başlıca nedenleridir. Metal oksit tozları olarak çinko oksit (ZnO-Sigma Aldrich), magnezyum oksit (MgO (heavy) – Merck) ve kalsiyum oksit (CaO – Sigma Aldrich) ile çalışılmıştır. Kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır. Uygulanan konstrüksiyona göre %0.3 ve %35 konsantrasyon aralığında metal oksit katkısı yapılmıştır. Kullanılan metal oksit tozları mikro boyuttadır. Parçacık boyutuna ilişkin yapılan ayrıntılı inceleme ilerleyen bölümlerde sunulacaktır. Kaplama polimerindeki metal oksit konsantrasyonu metal oksit türüne göre değişiklik göstermektedir. Katkılanan en yüksek ve en düşük konsantrasyonlar elde edilen antibakteriyel etkinlik göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

## **2.4 Antibakteriyel Etkinliğin Test Edilmesi**

Tez kapsamında yapılan tüm antibakteriyel test işlemleri İYTE Biyomer merkezinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, kaplanmış kumaşların antibakteriyel

etkinliği *Listeria innocua* türü bakterilere karşı test edilmiştir. *Listeria innocua* patojen olmayan bir bakteri olmamasına karşın bir gıda işletmesinde bu bakteri türüne rastlanması, *Listeria* kirliliğinin ne kadar geniş çaplı olabileceğinin anlaşılabilmesi bakımından önemli bir belirteçtir. Patojen olan akrabası *Listeria monocytogenes* ile oldukça benzer ekolojik yaşam alanları olduğu için *L. innocua* türünün tespit edilmesi *L. monocytogenes* varlığının kuvvetle muhtemel olduğunun bir göstergesidir. *L. innocua*, araştırmalarda akrabası olan patojen *L. monocytogenes* yerine model bakteri olarak kullanılabilmektedir (Friedly, 2007).

Antibakteriyel testler ASTM E2180-07 *Standard Test Method for Determining the Activity of Incorporated Antimicrobial Agent(s) In Polymeric or Hydrophobic Materials* ve ISO 22196-2011 *Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces* standartlarına göre yapılmıştır. Söz konusu iki standart da plastik malzemelere uygulanmak için geliştirilmiştir. Bu standartlar temel olarak, belirli sayıda bakteri içeren kültürün numune üzerine ekilmesi ve 24 saatlik inkübasyon sonunda numune üzerinden toplanan bakterilerin besi yerine ekilerek 24 saatlik süre sonunda koloni oluşturan ünitelerin (colony forming unit – CFU) sayılarak standart numuneyle karşılaştırılması esas alır. Koloni oluşturan ünitelerin sayısındaki azalma tespit edilir ve antibakteriyel etkinlik yüzde olarak hesaplanır. Sayılamayacak kadar çok koloni oluşturan ünitenin olabileceği tespit edildiği durumlarda ekim işleminin bir dizi seri seyreltme uygulanarak gerçekleştirilir.

ASTM E 2180-07 ve ISO 22196-2011 standartları arasındaki temel farklılık numunelerin üzerine bakteri kültürü ekilmesi sırasında ortaya çıkar. ASTM E 07 standardında belirli ölçülerde kesilen numune üzerine bakteri kültürü damla halinde bırakılır ve inkübasyon bu şekilde gerçekleştirilir. ISO 22196-2011 standardında bakteri kültürü polimerik yüzeye aktarıldıktan sonra bakteri kültürünün üzerine standartta belirlenen boyutlarda bir film tabakası örtülür ardından inkübasyona geçilir.

Tez kapsamında *Listeria innocua* NRLL-B 33314 türü bakteriyle çalışılmıştır. Bakteri süspansiyonları %0,1 pepton (Oxoid) içeren su çözeltisinde hazırlanmıştır. Kültürü yapılacak bakteri süspansiyonunun optik yoğunluğu 0.5 McFarland skalasına

ayarlanmıştır. Kullanılan suş için bu optik yoğunluk  $7 \times 10^8$  CFU/ml'ye denk gelmektedir (Kişisel iletişim: Paşık, 2013). Ardından bakteri süspansiyonundan 1 ml alınarak kullanılacak kültür ortamına aktarılmıştır. ASTM E2180-07 standardı için bu kültür ortamı *agar slurry*dir. 100 ml hazırlanan agar slurry, 0,85 g NaCl (Merck), 0,3 g agar (Oxoid, Agar No.1), 3 g triptik soya broth (Merck) ihtiva eder. ISO 22196-2011 standardında ise 30 g/L soya broth çözeltisi kültür ortamı olarak kullanılmıştır. Bu iki kültür ortamı arasındaki önemli fark *agar slurrynin* daha yoğun kıvamlı olmasıdır. ASTM E 2180-07 standardında numune üzerine aktarılan bakteri kültürünün dışarı akmaması için yoğun olması gerekmektedir. 0,5 McFarland olarak ayarlanan bakteri süspansiyonunun konsantrasyonu kültür ortamına aktarıldığında 100 kat seyrelmiştir.

İnkübasyonun ardından numune üzerindeki bakteri kültürü 100 ml distile su içerisinde (nötralizasyon banyosu) izole edilmiştir. 100 ml su içerisine alınan numuneler öncelikle 1 dakikalık sonikasyon ardından 1 dakikalık vorteks ile çalkalama işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemlerin ardından nötralizasyon banyosundan alınan 100 µl örnek, petri kabındaki besi yerine aktarılmış veya yukarıda bahsedildiği gibi seri seyreltme işlemlerine tabi tutulmuştur. Besi yeri 30 g/L triptik soya broth ve 15 g/L agar içeren triptiksoyagardır (TSA).

Tüm antibakteriyel test işlemleri steril ortamda gerçekleştirilmiş, kullanılacak araç gereçler ve sarf malzemeleri steril tek kullanımlık olarak veya 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek kullanılmıştır. Antibakteriyel ölçümlerden sonra, kullanılan tüm malzemeler 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiş, tek kullanımlık olanlar sterilizasyonun ardından atılmıştır.

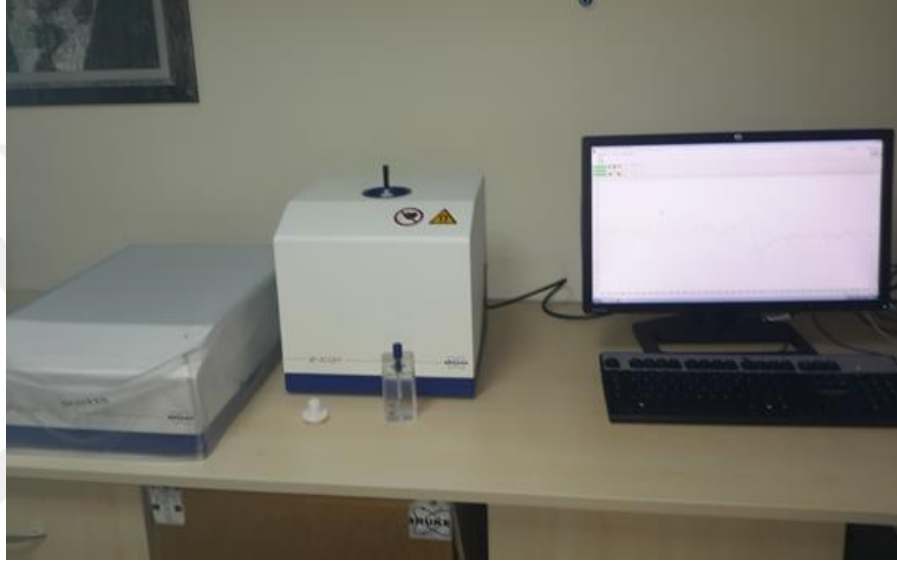
## **2.5 Oksijen Radikallerinin Tespit Edilmesi**

### **2.5.1 Elektron Spin Rezonans Tekniği Kullanılarak Yapılan Ölçümler**

Elektron Spin Rezonans (ESR) tekniği radikal türleriyle çalışmak için uygun bir araçtır. Oksijen radikalleri de belirli yöntemler kullanılarak bu teknikte tespit edilebilir ve konsantrasyon hesabı yapılabilir.

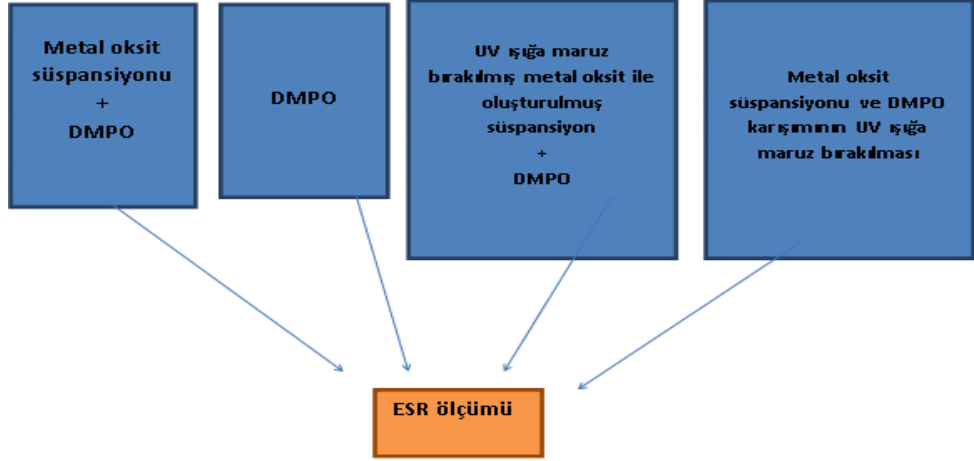


ESR ölçümleri Bruker e-scan F model X-band spektrometreyle yapılmıştır. Ölçüm parametreleri şu şekildedir: Frekans, 9.80 GHz; tarama genişliği, 65G; alıcı kazanımı,  $1.26 \times 10^2$ ; çözünürlük, 512; dönüşüm süresi, 81.92 ms; süre sabiti, 655 ms; tarama sayısı, 2; modülasyon frekansı, 86 kHz. Kullanılan ESR cihazına ait görsel Şekil 2.2’de sunulmuştur.



Şekil 2.2 Elektron Spin Rezonans cihazı (Kişisel arşiv, 2015)

Bu çalışmada, metal oksit tozlarından ve kaplanmış numuneler üzerinden salınan oksijen radikallerinin ESR ile tespit edilebilmesi için spin tuzaklama yöntemi kullanılmıştır. Dimetilpirolin-N-oksit (DMPO) (Sigma Aldrich) hidroksil ve süperoksit radikallerinin tespitinde, 2,2,6,6-tetrametilpiperidin (TEMP) (Sigma Aldrich) ise singlet oksijen radikalının tespitinde spin tuzakları olarak kullanılmışlardır. Spin tuzağı konsantrasyonları DMPO için 0.02 M ve TEMP için 0.1 M’dir. Çözeltilerin hazırlanmasında ultra saf su ( $18.3 \text{ M}\Omega$ ) kullanılmıştır. Spin tuzakları numunelerle farklı yollarla etkileşime sokulmuştur. Öncelikle spin tuzağı içeren kontrol çözeltisinin ESR spektrumu DMPO için bu aşamalar Şekil 2.3’te şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.3 Metal oksitlerin farklı yollarla DMPO ile etkileşime sokularak ESR ölçümü yapılması

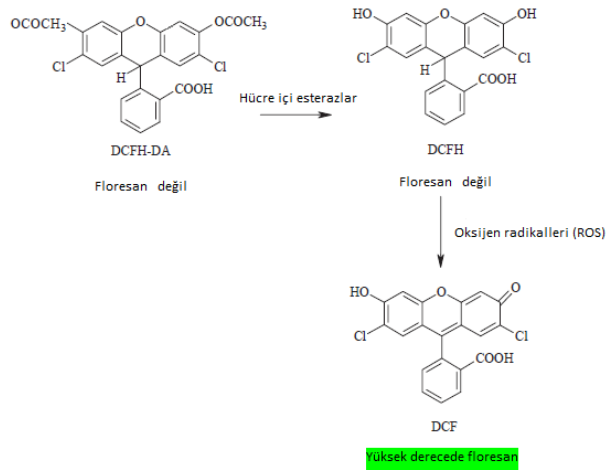
Oksijen radikali salımına UV etkisinin incelenebilmesi için numunelere 360 nm dalga boyunda UV ışığı uygulanmıştır. Numunelerin spin tuzaklarıyla etkileşim süreleri (UV ışık altındaki numuneler için maruziyet süresi) 30 dakika olarak belirlenmiştir. UV ışık görmeyen numuneler karanlıkta hazırlanmış ve bekletilmişlerdir. Spin tuzaklarıyla etkileşime sokulan metal oksit tozu konsantrasyonları 1-100 g/L'dir. Kaplanmış numunelerle çalışılırken 1 ml 0.02 M DMPO çözeltisi numunelerin üzerine damlatılmış ve UV ışık altında veya karanlıkta etkileşime sokulmuşlardır. 30 dakikalık etkileşimin ardından çözelti kapılar cam tüpler vasıtasıyla alınarak ESR tüpünün içine konulmuş ve ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Oksijen radikali konsantrasyonu tespiti, kararlı bir radikal olan TEMPO (2,2,6,6-Tetrametilpiperidin 1-oksil) (Sigma Aldrich) spin etiketi kimyasalının bilinen konsantrasyonlarında (0,1, 1, 2, 5, 10, 15, 20 ve 30  $\mu$ M) alınan ESR sinyallerinin alanları, sinyalin çift katlı integrali alınarak hesaplanmıştır. Elde edilen alan verileri bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmasında kullanılmıştır. DMPO spin tuzağı yardımıyla numune yüzeyinden salınan radikaller yakalanıp ESR ölçümleri alındıktan sonra spektrumdaki sinyal alanları çift katlı integral alınmak vasıtasıyla hesaplanmış ve TEMPO ile çıkartılan kalibrasyon eğrisi kullanılarak numune yüzeyinden salınan oksijen radikali miktarı hesaplanmıştır (Applerot ve ark., 2009; Baum ve ark., 2003; Roubaud ve ark., 1997; Samouilov ve ark., 2004).

### 2.5.2 DCFH-DA (Diklorofloresin diasetat) İle Yapılan Ölçümler

DCFH-DA hücre içi oksidatif stresin belirlenmesinde başvurulan bir kimyasal probdur. DCFH-DA oksijen radikalleri konusunda seçici değildir ve tüm oksijen radikalleriyle etkileşime geçebilir. Bu durumda radikalın türünün belirlenmesi mümkün olmamaktadır fakat hücre içerisindeki oksidatif stres varlığı radikal türü ayırmaksızın belirlenebilmektedir (Aranda ve ark., 2013; Armstrong 2010).

DCFH-DA, floresan özellik göstermeyen bir moleküldür. Hücre membranından geçebilir. Diasetat formundayken oksijen radikalleriyle reaksiyona girmez. Hücre içerisine nüfuz ettikten sonra hücre içi esterazlar asetat gruplarını ayırarak DCFH-DA molekülünün DCFH<sub>2</sub> formuna dönüşmesine neden olurlar. DCFH<sub>2</sub> hücre membranından geçemez dolayısıyla dışarı çıkamaz. Eğer hücre içerisinde oksijen radikali varlığı mevcutsa yükseltgenerek yüksek derecede floresan olan DCF molekülüne dönüşür. Bu sayede akış sitometrisi, floresan mikroskop ölçümleri, mikro plaka ölçümleri gibi yöntemler kullanılarak hücre içi oksidatif stres varlığı tespit edilebilir ve toplam oksijen radikali miktarı hesaplanabilir (Aranda ve ark., 2013; Armstrong ,2010; Rastogi ve ark., 2010). DCFH-DA molekülünün floresan DCF molekülüne dönüşümü Şekil 2.4'te görülmektedir.



Şekil 2.4 DCFH-DA molekülünün hücre içi esterazlarla DCFH molekülüne dönüşümü ardından DCFH molekülünün oksijen radikalleriyle reaksiyonu sonucu floresan DCF molekülüne dönüşümü (Gomes ve ark., 2005)

### 2.5.2.1 Mikroplaka Okuyucu İle Yapılan Ölçümler

Bu çalışma kapsamında hücre içi oksidatif stresin belirlenebilmesi amacıyla DCFH-DA (Fluka) kullanılmıştır. DCFH-DA ile işaretlenen bakteriler çinko oksit kalsiyum oksit ve magnezyum oksitle karanlıkta etkileşime sokularak *Listeria innocua* türü bakteri hücrelerinin iç yapılarındaki oksijen radikallerinin belirlenebilmesi hedeflenmiştir. 96'lık siyah mikro plaka (Thermo) kullanılan deneylerde, mikro plaka hücrelerine bakteri (*Listeria innocua*,  $2.5 \times 10^7$  bakteri), metal oksitler (100g/L), triptik soy broth konulmuştur. 3 saat  $37^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilen örnekler daha sonra  $100 \mu\text{M}$  DCFH-DA eklenmiş ve 1 saat daha aynı sıcaklıkta inkübasyona devam edilmiştir. İnkübasyondan çıkarılan örnekler mikro plaka okuyucuda (Thermo Scientific, Varioskan Flash) florimetrik olarak ölçülmüştür. Deneyler kontrollü olarak gerçekleştirilmiştir, metal oksit tozu içermeyen sadece bakteri içeren numune kontrol numunesidir. Ayrıca her örnek için DCFH-DA içeren ve içermeyen numuneler hazırlanmıştır. Her numuneden 3'er tekrar yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Mikro plaka okuyucuda kullanılan uyarılma ve emisyon dalga boyları sırasıyla;  $\lambda_{\text{ex}}=498\text{nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=522\text{nm}$ 'dir.

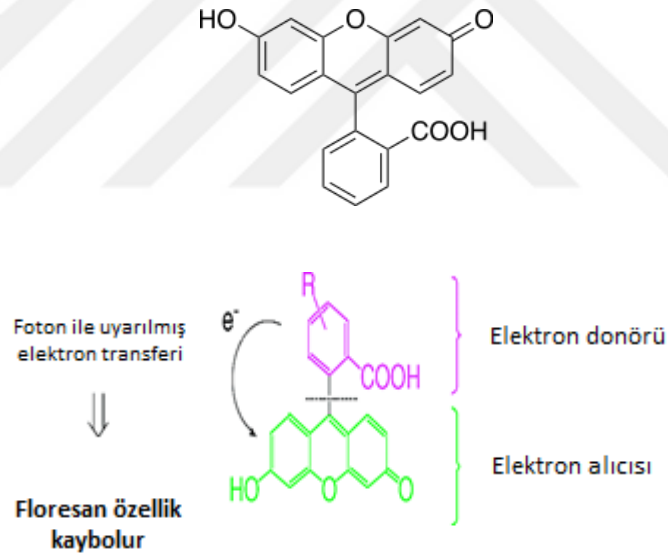
### 2.5.2.2 Floresan Mikroskop İle Yapılan Ölçümler

Floresan mikroskop ölçümleri 96'lık şeffaf mikroplaka içerisinde yapılmıştır. Siyah mikro plakada metal oksit tozlarıyla yapılan mikro plaka okuyucu ölçümlerini takiben numuneler mikropipet vasıtasıyla şeffaf mikroplakaya alınmışlardır. Ölçümlerde Zeiss Axio Observer Z1 model floresan mikroskop kullanılmıştır. Mikroskop görüntülemelerinde uyarılma dalga boyu,  $\lambda_{\text{ex}}=504 \text{ nm}$  ve emisyon dalga boyu,  $\lambda_{\text{em}}=525 \text{ nm}$ 'dir. Görüntüler 40x mercek ile alınmış, ışık süresi (exposure time) 8.4 ms olarak seçilmiştir.

### 2.5.3 Floresin ile yapılan ölçümler

Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC-oxygen radical absorbance capacity) analizi, çeşitli organik ve inorganik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin ölçümünde kabul görmüş bir yöntemdir. ORAC analizinde, floresin sodyum tuzu

gibi floresan bir molekülün, bir oksijen radikali üreticisinin varlığında oksidatif parçalanması ölçülür. Ortamda antioksidan madde bulunması durumunda floresinin parçalanması engellenir ve floresans yoğunluk zamanla değişmez (Armstrong, 2010). Bu prensipten yola çıkılarak metal oksit tozlarının oksijen radikali salımı yapması durumunda, floresinin bozunarak hem görünür bölgedeki absorbansının hem de floresan yoğunluğunun düşeceği düşünülmüştür. Hua ve ekibi tarafından, benzer prensiple yapılan bir çalışmada gümüş ile modifiye edilmiş silikon nanotellerin katalitik etki ile floresinin bozunmasına neden oluşu UV-vis spektrometre ile incelenmiştir (Hua ve ark., 2009). Bardhan ve ekibi tarafından yapılan çalışmada floresin donör molekül olarak kullanılmış, çinko oksit nanotozlarının floresini fotokatalitik etkiyle parçaladığı UV-vis spektroskopi ve florimetrik ölçümlerle tespit edilmiştir (Bardhan ve ark., 2011). Floresinin moleküler yapısı Şekil 2.5'te görülmektedir.



Şekil 2.5 Floresinin molekül yapısı ve floresans özelliğinin sönümlenmesine bir örnek (Miura ve ark., 2003)

Tez çalışması kapsamında yapılan deneylerde floresin sodyum tuzu (Fluka) kullanılmıştır.  $10^{-5}$  M floresin içeren çözelti, çeşitli sürelerde (1-24 saat), farklı konsantrasyonlarda (1-100 g/L), farklı metal oksit tozları (ZnO, MgO, CaO - Sigma)

ile etkileşime sokulmuştur. Ayrıca floresinin katalitik etki ile bozunmasında 360 nm dalgaboyundaki UV ışık etkisi incelenmiştir. UV ışıkta bekleme süresi 1 saattir. Belirli sürelerde işlem gören numuneler 15-20 dakika 2000 devir/dk'da santrifüjlenerek (Selecta) metal oksit tozlarının çökmesi sağlanmıştır.

Katalitik etki sonucu floresindeki bozunma, Perkin-Elmer Lambda 35 UV-vis spektrometre ile ölçülmüş, 300-700 nm dalga boyu arasındaki absorbans spektrumları incelenmiştir. Çözeltideki metal oksit varlığıyla oluşabilecek pH değerlerindeki oynamaları kontrol altında tutabilmek adına fosfat tampon kullanılmıştır. Her deney kontrollü olarak gerçekleştirilmiştir, metal oksit tozu içeren floresin çözeltilerine uygulanan işlemler aynı zamanda sadece floresin içeren çözeltilere uygulanmıştır.

## **2.6 Partikül boyutu analizi**

Kullanılan metal oksit tozlarının partikül boyutu analizleri dinamik ışık saçılımı (dynamic light scattering) metoduyla Malvern Zetasizer cihazıyla yapılmıştır. Dispersant olarak kalsiyum oksit için propan-2-ol (Sigma), çinko oksit için etilen glikol (Sigma), magnezyum oksit için ise su kullanılmıştır.

## **2.7 SEM görüntüleri ve EDX taramaları**

Malzemelerin SEM görüntüleri ve EDX taramaları FEI QUANTA 250 FEG elektron mikroskopuyla alınmıştır. SEM görüntüleri, iki katmanlı kaplamalardan, kullanılan metal okside göre düşük konsantrasyonda ve yüksek antibakteriyelliğin elde edildiği konsantrasyonlarda alınmıştır.

## **2.8 Kütleli artışın (add-on) hesaplanması**

Kaplamaya bağlı kütleli artış aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%W_{\text{add-on}} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (2.1)$$

Burada  $W_{\text{add-on}}$  kütle artışını,  $W_1$  kaplama öncesi kütleyi,  $W_2$  kaplama sonrası kütleyi temsil etmektedir. Numuneler 24 saat süreyle standart şartlar altında (20°C sıcaklık, %65 bağıl nem) kondisyonlandıktan sonra ölçüm yapılmıştır.

## 2.9 FT-IR analizleri

FT-IR analizleri PerkinElmer Spectrum Two FT-IR spektrometrede yapılmıştır. Ölçümler 450-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığında 4  $\text{cm}^{-1}$  çözünürlükte gerçekleştirilmiştir.

## 2.10 Antibakteriyel etkinliğin tekrarlı yıkama işlemlerine karşı direnci

Yıkama işlemlerinde endüstriyel uygulamalar (Kişisel iletişim: Mızrak, 2016) esas alınarak simüle edilmiştir. Yıkama işlemlerinde 4g/L ECE A referans deterjanı kullanılmıştır. Her bir yıkama döngüsü 1 dakikalık süngerle agresif yıkama ve ardından 20 saniyelik durulama işleminden oluşmaktadır. Yıkanmış numuneler daha sonra antibakteriyel etkinlik testine tabi tutulmuştur.

## 2.11 Kaplamada füzyonun ve katmanlar arasındaki adezyonun değerlendirilmesi

Kullanım esnasında kaplama katmanlarının birbirlerinden ayrılmaması antibakteriyel etkinliğin devamı açısından önemlidir. Bu konu hakkında fikir sahibi olabilmek için ASTM D 4005-92, *Standard test method for plastic coated fabrics-completeness of fusion of PVC dispersion coatings* standardı uyarınca deneyler yapılmıştır. Bu standardın esası organik çözügen vasıtasıyla yetersiz füzyon gerçekleşen bölgelerin tespit edilmesine dayanmaktadır. Organik çözügen olarak aseton (Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

## 2.12 Bakterilerin büyüme eğrilerinin çıkartılması ve metal oksit tozlarının antibakteriyel etkinliklerinin belirlenmesi

Metal oksit tozlarının antibakteriyel etkinliklerinin belirlenmesinde mikropilaka okuyucu kullanılmıştır. 96'lık şeffaf mikropilaka okuyucu kullanılan deneylerde 0.25

-25 g/L konsantrasyonlardaki metal oksit tozlarının bakterilerin büyüme eğrisine etkileri incelenmiştir. Kontrol deneylerinde metal oksit tozu kullanılmamış ve bakterilerin büyüme eğrileri oluşturulmuştur. Deneylerde 400 µl triptik soy broth kullanılmıştır. Fotometrik olarak yapılan ölçümler Thermo Scientific, Varioskan Flash cihazında, 405 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. 2 saat aralıklarla yapılan ölçümlerle, kültür ortamındaki bakteri nüfusunun artışı gözlemlenmiştir.

### **2.13 Kaplama Kalınlıklarının Ölçümü**

Kaplama kalınlıklarının ölçümünde Mitutoyo (Illinois, ABD) kalınlık ölçüm cihazı kullanılmıştır. Ölçümlerde önce kaplamasız kumaş kalınlığı ölçülmüş ardından kaplanmış kumaş ölçülerek aradaki fark, kaplama kalınlığı olarak belirlenmiştir.



## BÖLÜM ÜÇ

### BULGULAR VE TARTIŞMA

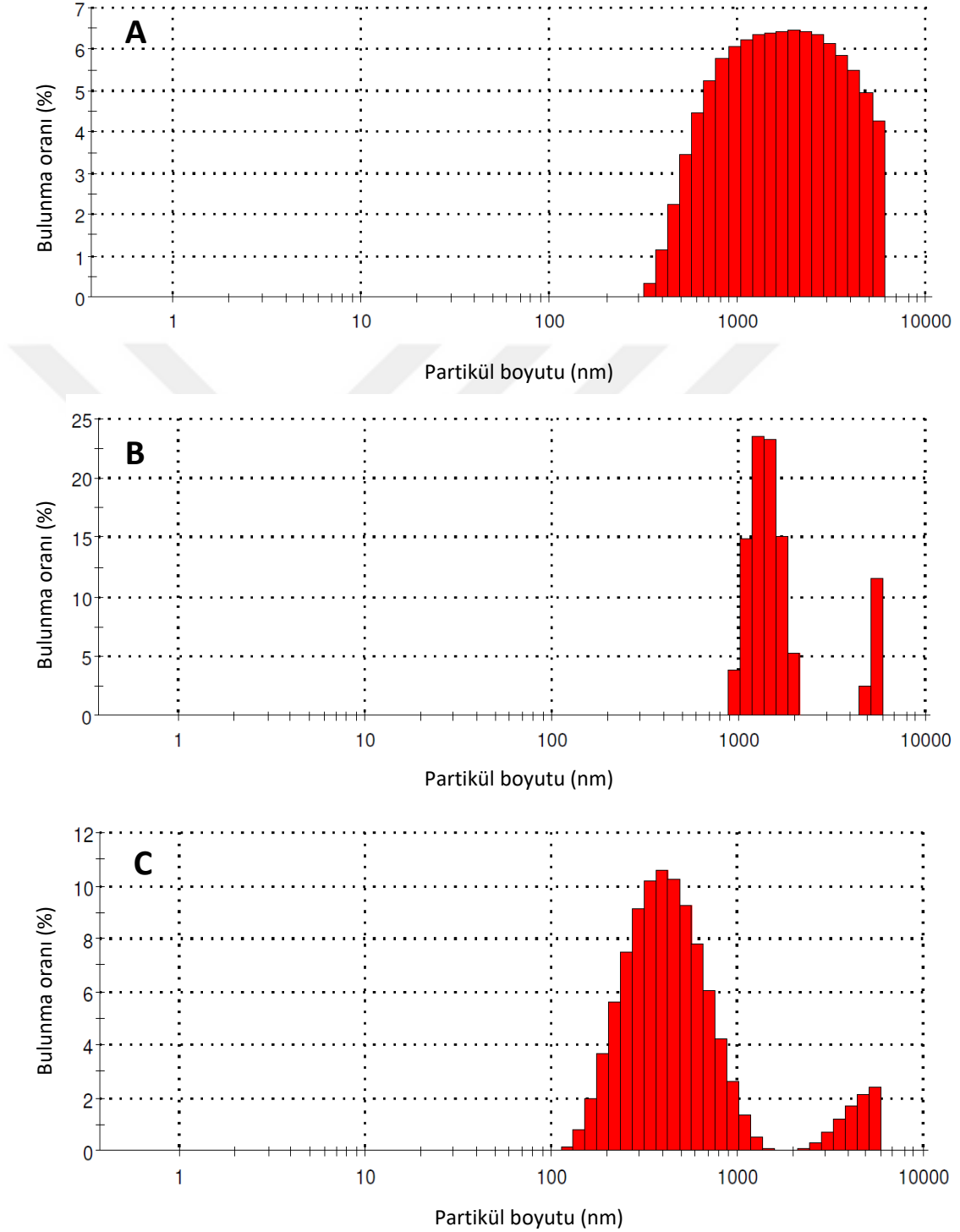
Tez çalışması kapsamında polimerik kaplı tekstil malzemelerine antibakteriyel fonksiyonellik kazandırılması ve metal oksitlerle kazandırılan bu etkinin mekanizmasının detaylı olarak araştırılması hedeflenmiştir. Önceki bölümlerde de belirtildiği üzere antibakteriyel tekstil ürünleri birçok alanda kişi ve toplum sağlığını korumada önemli rol oynamaktadırlar. Bu açıdan bakıldığında antibakteriyel etkinin sağlanması ve etki mekanizmasının anlaşılması öncelikle etkinlik alanının belirlenmesi için gereklidir. Ayrıca antibakteriyel bir ürünün etkinliğinin artırılabilmesi, optimum koşullarda kullanılabilmesi için de etki mekanizmasının anlaşılabilmesi şarttır. Etki mekanizmasının anlaşılmasındaki bir diğer getiri de bu bilgilerden yararlanılarak farklı antibakteriyel etkinlik test yöntemlerinin geliştirilebilmesinin önünün açılmasıdır. Bu bölümde, kaplanan kumaşlara uygulanan antibakteriyel testlerin sonuçları, antibakteriyel etki mekanizmalarının araştırılması sonucu elde edilen veriler ve bu ana konuların etrafında toplanmış diğer teknik ölçümler ve elde edilen verilere yapılan yorumlar sunulmaktadır.

#### 3.1 Partikül boyutu analizi

Antibakteriyel etki için kullanılan metal oksit tozları suda ve polimer pastası içerisinde çözünmemekte, karıştırıldıklarındaki formlarını korumaktadırlar. Bu nedenle metal oksit tozlarının polimer pastası içerisinde mümkün olduğunca homojen şekilde disperse olması gerekmektedir.

Önceki bölümlerde bahsedildiği üzere antibakteriyel etkinin sağlanabilmesi için bakteri (*Listeria* türleri 0,4-0,5  $\mu\text{m}$  x 0,5-2  $\mu\text{m}$  boyutlarındadır (İngiltere Halk Sağlığı Birimi Resmi Raporu, 2014) ile metal oksit tozlarının direk teması önemlidir. Bu nedenle, polimer yapı içerisinde düzgün dağılmış metal oksit tozu içeren kaplanmış bir tekstil numunesinin antibakteriyel etkinliği değerlendirilirken yapılacak yorumlarda partikül boyutu da önemli bir parametre haline gelmektedir. Kalsiyum

oksit, magnezyum oksit ve çinko oksit tozlarının partikül büyüklükleri dağılımı Şekil 3.1’de görülmektedir.



Şekil 3.1 Kullanılan metal oksit tozlarının partikül boyutu dağılımları (A: CaO, B: MgO, C: ZnO)

Kalsiyum oksit tozunun partikül büyüklüğü ortalaması yaklaşık 1400 nm dolaylarındadır. Partikül boyutları yaklaşık 400 nm ile 5600 nm arasında bir dağılım göstermektedir.

Magnezyum oksit tozlarının partikül büyüklükleri çok büyük bir varyasyon göstermemiştir, partikül büyüklükleri 955 nm ile 1990 nm arasında tespit edilmiştir. 4800-5560 nm dolaylarında %14 oranında tespit edilen parçacıkların agregasyon kaynaklı olduğu düşünülmektedir zira yaklaşık 2000 nm boyutundaki parçacıklara %5,3 oranında rastlanırken 4800 nm ye kadar olan büyüklüklerde bir parçacık tespit edilmemiştir. 1281-1484 nm boyutlarındaki parçacık oranı %46,9'dur.

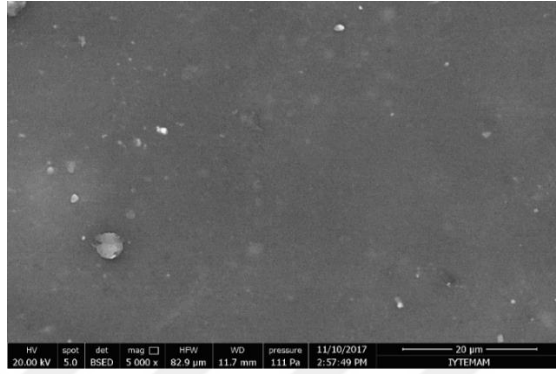
Çinko oksit partiküllerinin boyutu ortalama 378 nm'dir. 295-531 nm boyutlarındaki partiküllerin görülme oranı %49,5'tir. Magnezyum oksitle benzer bir şekilde, agregat oluşumuna bağlı olduğu düşünülen büyük parçacıklar daha çok yaklaşık 3500-5500 nm dolaylarında görülmüştür.

Kullanılan metal oksitlerin partikül boyutları, genel olarak ele alındığında, polimer pastası içerisinde homojen bir şekilde dağılabilecekleri düşünülmüştür. Daha önce de bahsedildiği üzere, antibakteriyel etki için metal oksit tozlarıyla bakterinin direk teması elzemdir. Üretilen kaplama yüzeyinde metal oksit partikülünce fakir bölgeler bulunması, bu bölgelerde bakterilerin hayatta kalarak antibakteriyel etkinliğin sekteye uğraması anlamına gelir. Partikül boyutlarının çok büyük olması bu riski arttıracaktır. *Listeria* türü bakterilerin boyutlarının 0,4-0,5 µm x 0,5-2 µm olduğu hatırlanırsa, kullanılan metal oksit tozlarının boyutlarının bakteri ile temas beklentisini karşılayabilecek büyüklükte olduğu düşünülmektedir.

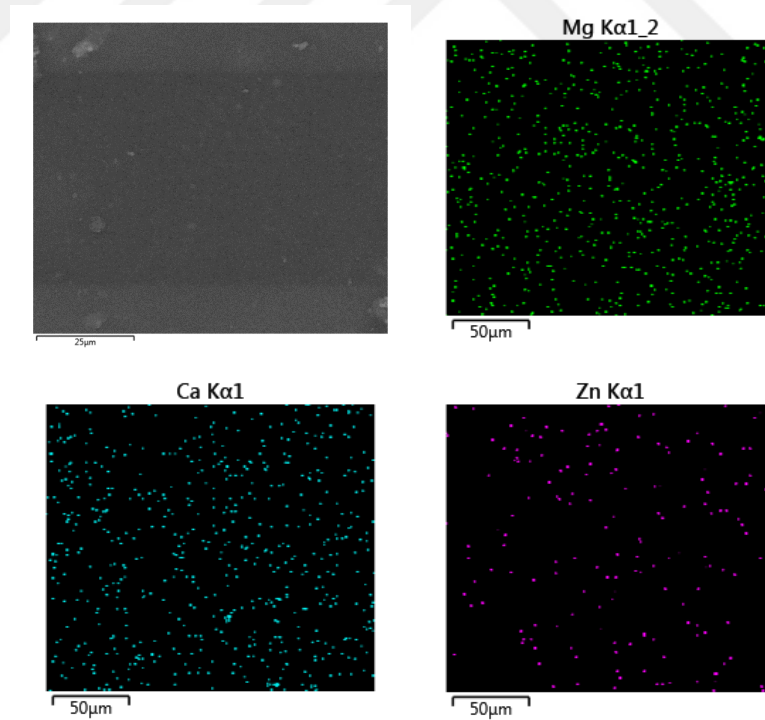
### **3.2 Kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri ve EDX analizleri**

SEM görüntüleri ve EDX taramaları, antibakteriyel aktivite için kaplama malzemesine katılan metal oksit tozlarının yüzeydeki dağılımlarının analiz edilebilmesi açısından önemlidir. Antibakteriyel etkinin kaplanmış tekstil materyalinin tüm yüzeyinde homojen olarak göstermesi beklenir. Metal oksit tozlarının antibakteriyel aktivitesi için bakteriyle direk temasın önemi hatırlandığında

bu beklentinin ancak metal oksit tozlarının yüzeyde minimum boşluk bırakacak şekilde ve olabildiğince düzenli olarak dağılmasıyla sağlanabileceği açıktır. Bu sayede mümkün olduğunca fazla sayıda bakterinin metal oksit tozlarıyla teması gerçekleşmiş olur. Kontrol numunesine ait SEM görüntüleri ve EDX taramaları Şekil 3.2-3.3'te sunulmuştur.



Şekil 3.2 Metal oksit içermeyen kontrol numunesine ait SEM görüntüsü



Şekil 3.3 Kontrol numunesine ait kalsiyum magnezyum ve çinko atomu için EDX haritaları (renkli noktalar ilgili atomu temsil etmektedir)

Kontrol numunesinin SEM görüntüsü incelendiğinde yüzeyde herhangi bir mikro ölçekli çatlak veya deformasyon izine rastlanmamıştır. Bu da bize, kaplama işleminin problemsiz bir şekilde gerçekleşmiş olduğunu teyit etmektedir. Kaplama yüzeyinde belirgin bir yabancı madde kalıntısı varlığı görülmemektedir. Kontrol numunesinin metal oksit içermediği Şekil 'deki magnezyum, çinko ve kalsiyumun EDX haritalarıyla doğrulanmıştır.

Kontrol numunesinin EDX haritalarında kalsiyum, magnezyum ve çinkoya ait bir iz rastlanmamıştır. Şekil 3'teki haritalar üzerinde görülen noktalar gürültü kaynaklı olup taranan atom varlığını göstermemektedir. Haritalar için taranan bölgenin Tablo 1'de sunulan EDX nokta analizi sonuçları EDX haritalarında elde edilen görsel bilgiyi doğrular niteliktedir.

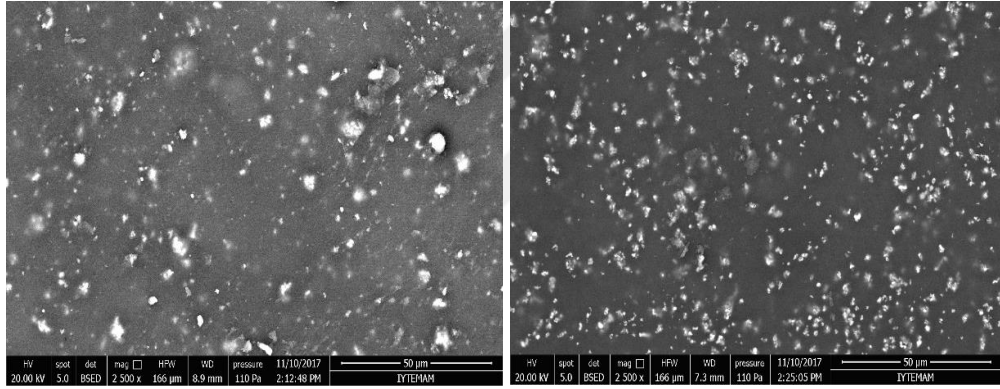
Tablo 3.1 Kontrol numunesinin EDX nokta analizi sonuçları

<b>Element</b>	<b>Ağırlıkça oran (%)</b>	<b>Atomik oran (%)</b>
<b>C</b>	69,55	81,76
<b>O</b>	12,62	11,14
<b>Mg</b>	0,02	0,01
<b>Cl</b>	17,75	7,07
<b>Ca</b>	0,06	0,02
<b>Zn</b>	0,00	0,00

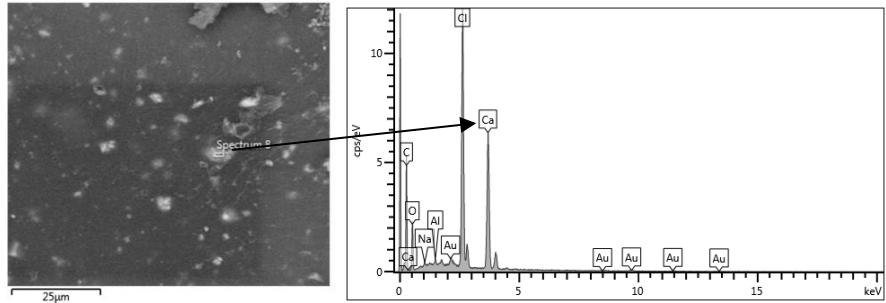
Kontrol numunesindeki kalsiyum magnezyum ve çinko atomlarının ağırlıkça oranları yok denilebilecek kadar düşüktür. Çinko atomuna ait hiçbir iz görülmezken magnezyum ve kalsiyum atomunun sırasıyla onbinde iki ve onbinde altı çıkan ağırlıkça oranlarının gürültü kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Tablo1'deki karbon, oksijen ve klor atomlarının PVC polimerinin ve kaplama reçetesinde bulunan yardımcı maddelerin yapısında bulunduğu açıktır. Bu sonuçlar ışığında, kontrol numunesinin metal oksit içermediği ve metal oksit katkılanan numunelerden elde edilecek verilerin yapılan katkı nedeniyle olacağı anlaşılmaktadır.

### 3.2.1 Kalsiyum oksit içeren numunelerin SEM görüntüleri ve EDX analizleri

Konsantrasyonlardaki artış-azalış ile antibakteriyel etkinlikteki değişim arasındaki bağıntının anlaşılabilmesi adına SEM görüntülerinin önemli bir araç olacağı düşünülmektedir. Daha önce açıklandığı üzere, bakterinin metal oksit tozu ile direk teması elzem olduğundan, antibakteriyel aktivite için metal oksit tozlarının kaplama yüzeyinde bulunması şarttır. SEM görüntüleri ve EDX verileri yardımıyla hem yüzeydeki metal oksit varlığının görülmesi ve metal oksit tozlarının homojen dağılıp dağılmadığının kontrol edilmesi hem de konsantrasyon değişiminin yüzeyde ne gibi etkiler yarattığının anlaşılması mümkün olmaktadır. Şekil 3.4'te kalsiyum oksit içeren numunelere ait SEM görüntüleri sunulmuştur. Şekil 3.5'te yüzeyde görülen bir parçacığa yapılan EDX nokta taraması görülmektedir.



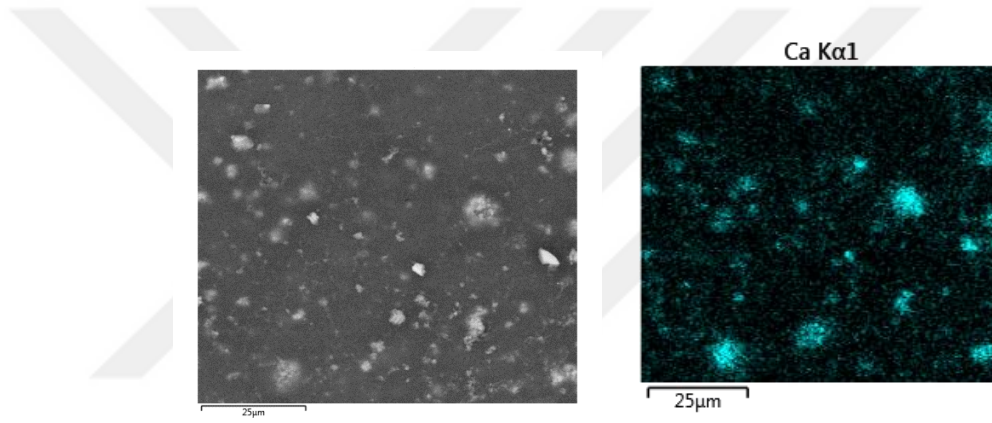
Şekil 3.4 Kalsiyum oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri (Solda: %5 CaO içeren numune, Sağda: %20 CaO içeren numune)



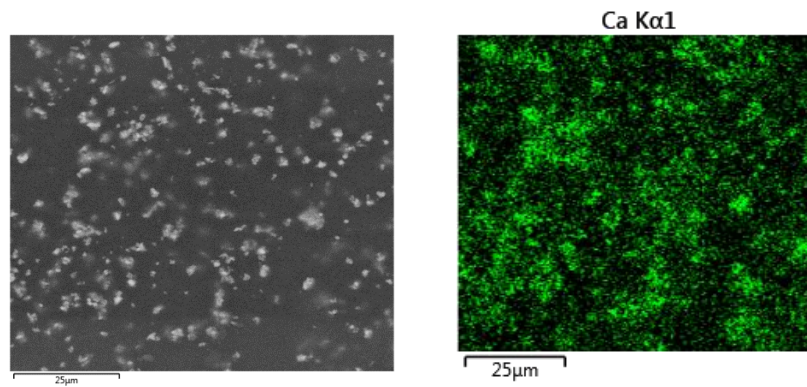
Şekil 3.5 Kaplama yüzeyinde görülen parçacığa yapılan EDX nokta taraması sonucu

%5 ve %20 konsantrasyonda kalsiyum oksit katkılanan numunelerin yüzeylerinde kalsiyum oksit varlığı açıkça görülmektedir. Bu sonuca, kontrol numunesinin SEM görüntüsü (Şekil 3.3) ile yapılan karşılaştırma ve Şekil 3.4'te yüzeyde görülen parçacıklara yapılan kalsiyum atomunun EDX nokta taraması sonucu alınan sonuçlar ile ulaşılmıştır.

EDX nokta taraması sonucunda işaretlenen parçacığın oldukça yüksek oranda kalsiyum içerdiği anlaşılmış ve yüzeydeki partiküllerin CaO olduğunun teyit edilmesi sağlanmıştır. Kalsiyum oksit katkılı numunelerin EDX haritaları Şekil 3.6 ve 3.7'de görülmektedir.

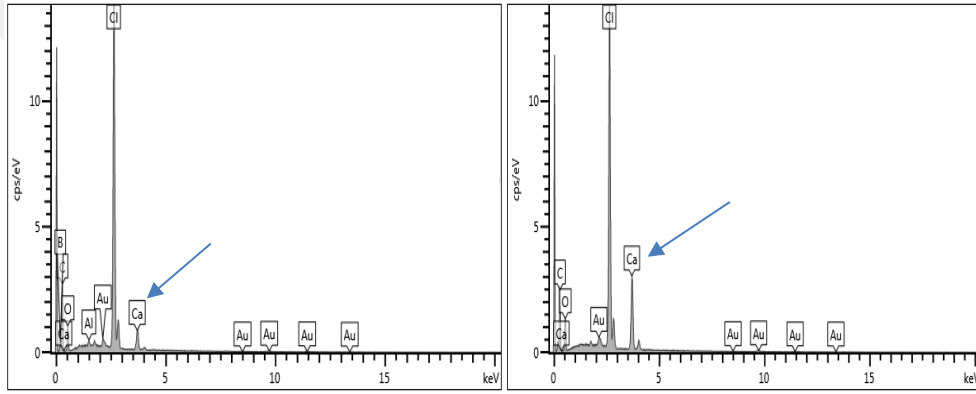


Şekil 3.6 %5 kalsiyum oksit içeren numunenin EDX haritası



Şekil 3.7 %20 kalsiyum oksit içeren numunenin EDX haritası

Konsantrasyon artışıyla birlikte yüzeydeki kalsiyum oksit miktarındaki artış oldukça nettir. Partiküller polimer pastası içerisinde gömülmemiş, yüzeyde etkin bir şekilde dağılım göstermişlerdir. Ayrıca konsantrasyon artışıyla birlikte homojen dağılımın da arttığı açıktır. %5 kalsiyum oksit konsantrasyonunda parçacıkların kümelenme eğiliminde olduğu da anlaşılmaktadır. Şekil 3.8’de EDX haritalandırması için taranan alanların EDX nokta analizi spektrumları görülmektedir. Konsantrasyon artışıyla birlikte yüzeydeki kalsiyum miktarındaki artış barizdir. Kalsiyum atomunun ağırlıkça oranı %5 ve % 20 kalsiyum oksit katkı numunede sırasıyla %0,90 ve %5,87 olarak tespit edilmiştir. SEM görüntülerinden ve EDX haritalarından alınan veriler partikül boyutu analizleriyle de uyumlu görünmektedir.

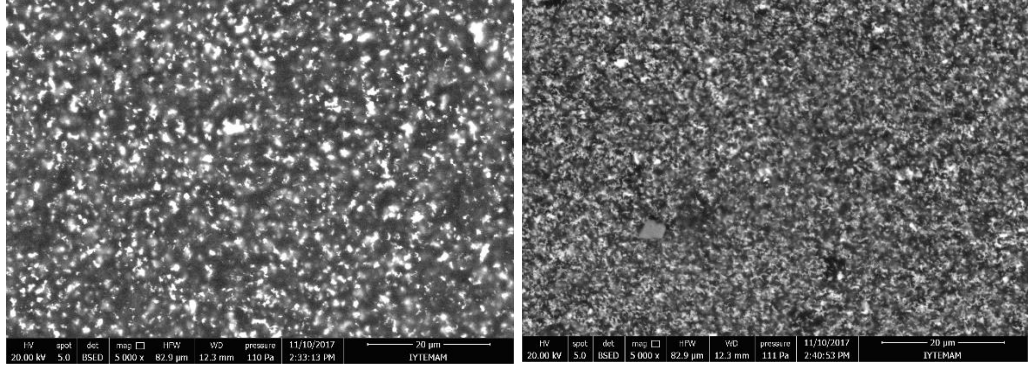


Şekil 3.8 %5 (solda) ve %20 (sağda) kalsiyum oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları

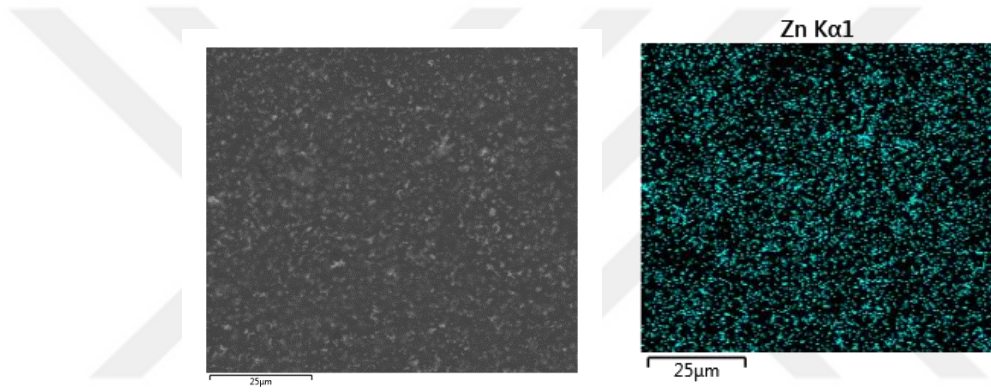
### 3.2.2 Çinko oksit içeren numunelerin SEM görüntüleri ve EDX analizleri

Çinko oksit içeren numunelere ait SEM görüntüleri Şekil 3.9’da sunulmuştur. Çinko oksit içeren numunelerin SEM görüntüleri incelendiğinde yüzeydeki çinko oksit varlığı ve parçacıkların yüzeyi düzgün bir şekilde kapladığı görülmektedir. EDX analizleriyle görsel incelemenin doğrulanması amaçlanmıştır. Şekil 3.10-3.12’de çinko oksit içeren numunelere uygulanan EDX taramalarının sonuçları görülmektedir.

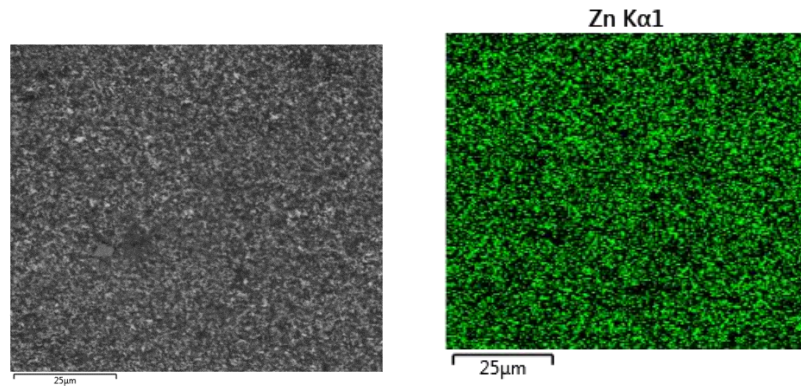




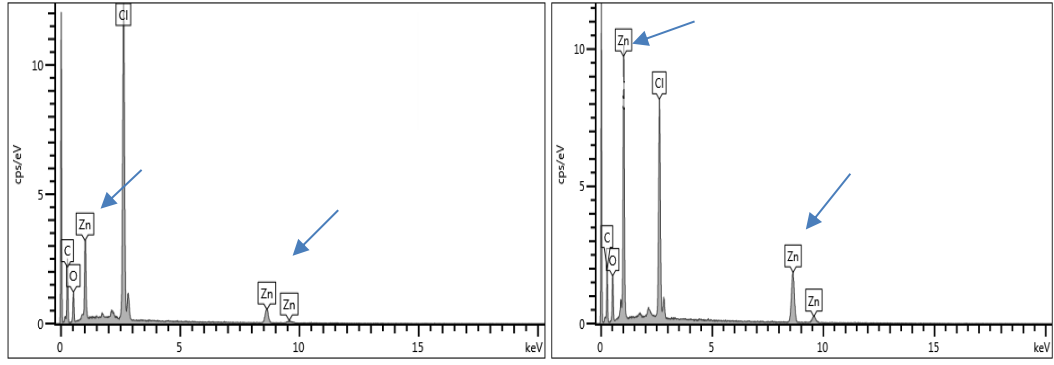
Şekil 3.9 Çinko oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri (Solda: %10 ZnO içeren numune, Sağda: %35 ZnO içeren numune)



Şekil 3.10 %10 çinko oksit içeren numunenin EDX haritası



Şekil 3.11 %35 çinko oksit içeren numunenin EDX haritası

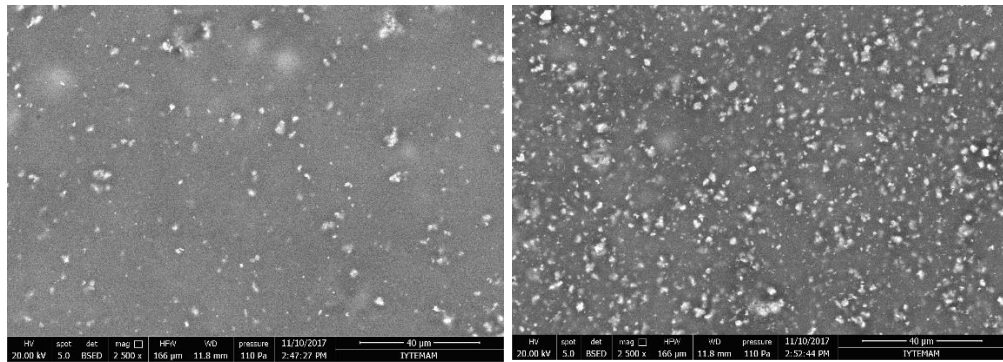


Şekil 3.12 % 10 (solda) ve %35 (sağda) çinko oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları

EDX haritaları incelendiğinde, konsantrasyonun %10'da %35'e çıkartılmasıyla yüzeydeki çinko oksit varlığının belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu, beklenen bir sonuçtur ve yapılan uygulamanın amacına ulaştığını göstermektedir. EDX nokta analizi sonuçları da EDX haritalarındaki görsel verilerle paralel çizgidedir, konsantrasyon artışıyla birlikte yüzeydeki çinko atomu varlığının dikkat çekici şekilde arttığı anlaşılmaktadır.

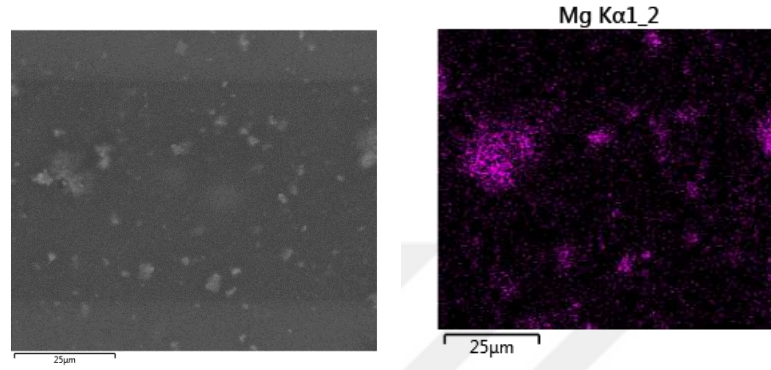
### 3.2.3 Magnezyum oksit içeren numunelerin SEM görüntüleri ve EDX analizleri

Magnezyum oksit içeren numunelere ait SEM görüntüleri Şekil 3.13'te sunulmuştur.

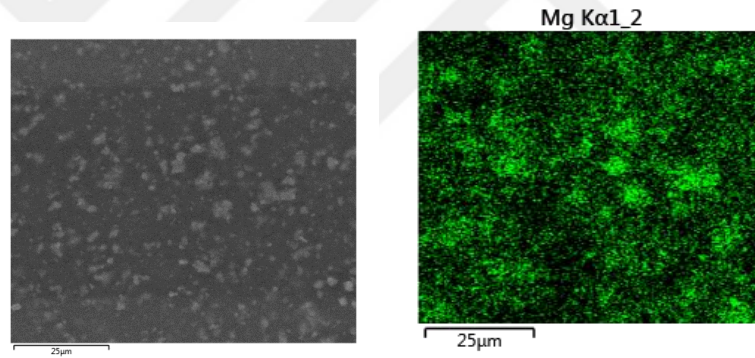


Şekil 3.13 Magnezyum oksit içeren kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri (Solda: %5 MgO içeren numune, Sağda: %20 MgO içeren numune)

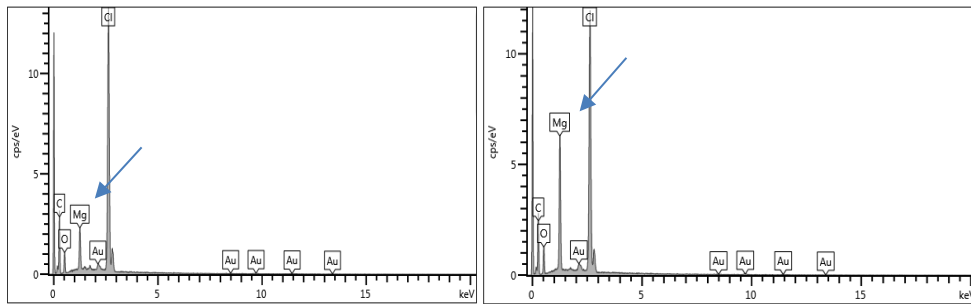
Kalsiyum oksit ve çinko oksit katkılı numunelerle benzer şekilde magnezyum oksit katkılanan numunelerde konsantrasyon artışıyla yüzeydeki metal oksit partikülleri miktarının da dikkat çekici ölçüde arttığı belirlenmiştir. Şekil 3.14-3.16'da magnezyum oksit içeren numunelere uygulanan EDX taramalarının sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.14 %5 magnezyum oksit içeren numunenin EDX haritası



Şekil 3.15 %20 magnezyum oksit içeren numunenin EDX haritası



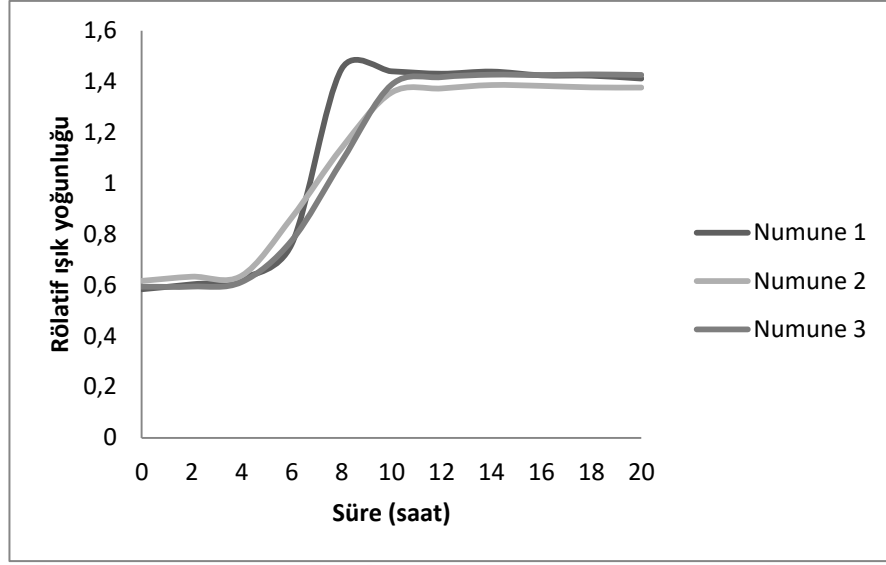
Şekil 3.16 %10 (solda) ve %35 (sağda) çinko oksit içeren numunelerin EDX nokta analizi sonuçları

%20 magnezyum oksit katkılanan numunenin yüzeyinde daha yoğun ve homojen bir dağılım elde edilmiştir. %5 magnezyum oksit katkılanan numunede, kalsiyum oksitle benzer şekilde kümelenme eğilimi görülmüştür. Konsantrasyon artışının yüzeydeki magnezyum oksit artışına neden olduğu EDX nokta analizleriyle de saptanmıştır.

Kullanılan üç metal oksit tozunun (MgO, CaO, ZnO) katkıldığı numunelerin SEM görüntüleri ve EDX analizleri genel olarak değerlendirildiğinde, konsantrasyon artışının istenilen etkiyi sağladığı anlaşılmaktadır. Metal oksit tozları polimer içerisine gömülme yerine kaplama yüzeyinde kalmışlardır. Bu sayede antibakterial etkinliklerini maksimum şekilde göstermeleri sağlanabilecektir.

### **3.3 *Listeria innocua* türü Bakterilerin Büyüme Eğrileri**

Mikrobiyologlar bakterilerin büyüme evrelerini, genellikle, adaptasyon evresi (lag fazı), üssel (logaritmik) çoğalma evresi (log fazı) ve sabit evre (stationary faz) olarak bölümlendirirler. Adaptasyon evresi, bakterilerin yeni girdikleri ortama uyum sağlamaya çalıştıkları dönemdir. Bu aşamada bakteri sayısında önemli bir artış görülmez. Bakteriler bu süreyi hayati işlevlerini yeniden düzenlemek için kullanırlar. Üssel çoğalma evresinde bakteriler en yüksek bölünme yeteneğine sahiptirler. Bu evrede ortamda besin fazladır. Sabit evrede ise bakterilerin üreme hızlarıyla ölüm hızları birbirine eşittir. Besin sıkıntısı yaşanmaktadır ve bu koşullarda gelişme daha fazla devam edemez. Sabit koşullar altında bakteri sayısının zamanla değişiminin grafiği ile bakteri büyüme eğrileri elde edilmektedir (Baranyi ve Pin, 1999; Stumbo, 1973; Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemeleri, b.t.). *Listeria innocua* türü bakteriye ait, 2 saatlik zaman dilimlerinde yapılan ölçümler sonucu oluşturulan büyüme eğrisi Şekil 3.17’de sunulmuştur.



Şekil 3.17 Listeria innocua türü bakterilerin büyüme eğrisi

Şekil 5 incelendiğinde 3 farklı *L. innocua* kültürünün benzer büyüme eğrileri sergilediği görülmektedir. Bakterilerin, yaklaşık ilk 4 saat adaptasyon evresi geçirdiği, 4. ve 10. saatler arasında ise üssel çoğalma evresinde oldukları görülmektedir. Yaklaşık 10. Saatten sonra ise durağan evreye girildiği anlaşılmaktadır. Deneyler toplam 20 saat sürmüştür. İlerleyen aşamalarda ortamdaki besin tükeneceği için bakterilerin eninde sonunda ölüm evresine gireceği açıktır.

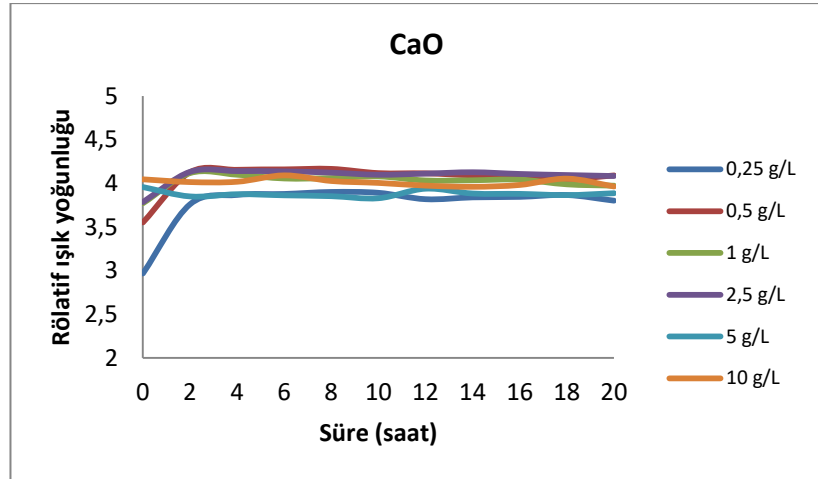
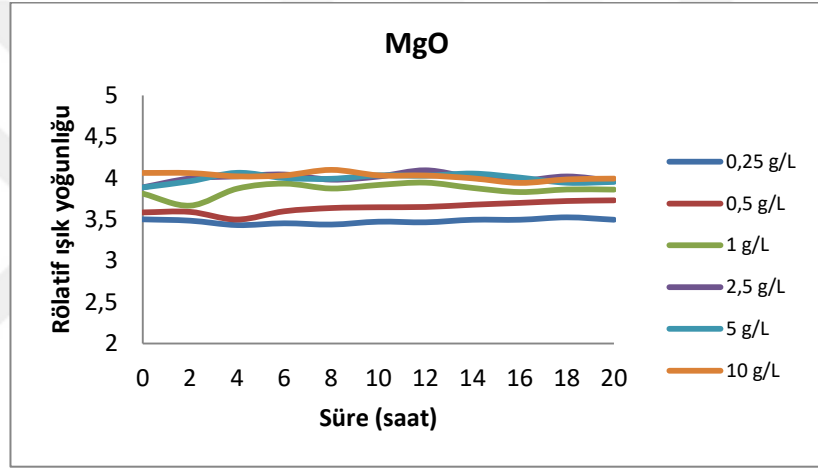
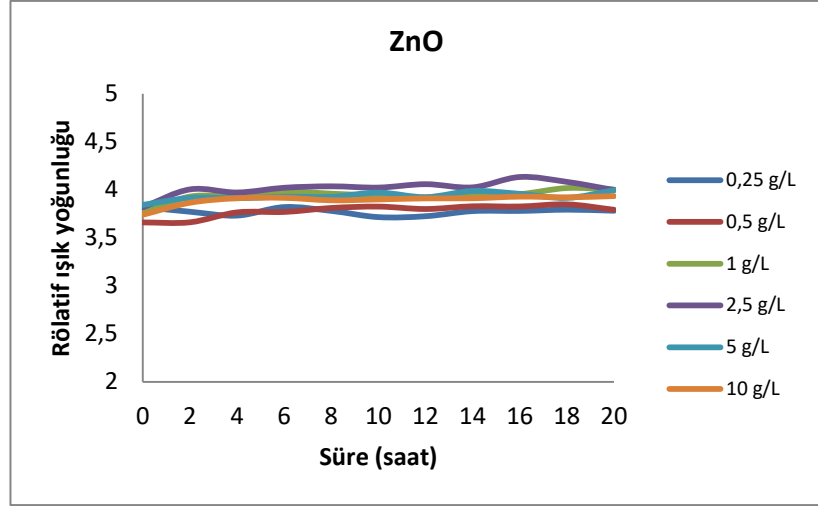
Büyüme eğrilerinin çıkartılması, ilerleyen aşamalarda elde edilecek antibakteriyel aktivite etkinliklerinin değerlendirilmesinde önem arz etmektedir. Katkı maddelerinin, bakteriler üssel olarak üremeye başlamadan antibakteriyel etkinlik göstermelerinin avantajlı olacağı düşünülmektedir.

### 3.3.1 Metal Oksit Tozlarının Bakteri Büyüme Eğrilerine Etkisi

Şekil 3.17 incelendiğinde *Listeria innocua* türü bakterilerin ortama uyum sağlama ve çoğalma davranışlarıyla ilgili net bir perspektif edinilmektedir. Aynı deneyde metal oksit tozlarının bu davranış etkilerinin araştırılması, direk olarak tozların antibakteriyellikleri hakkında fikir verecektir. Metal oksit varlığında elde edilen bakteri büyüme eğrileri Şekil 3.18'de görülmektedir.

Şekil 3.17 ve Şekil 3.18 beraber değerlendirildiğinde metal oksit tozlarının bakteri büyüme eğrisi üzerindeki etkisi açıkça görülmektedir. Ortamdaki metal oksit varlığı dolayısıyla başlangıç reflektans değerleri kontrol numunesine göre yüksek çıksa da zamana göre değişim bize bakteri çoğalmasıyla ilgili fikir verecektir. Tüm metal oksit tozlarının bakterilerin büyüme eğrileri üzerinde etkisi olduğu açıktır. Metal oksit tozlarının antibakteriyel etkinlik göstermediği anlaşılmaktadır ki bu durumda polimerik kaplama maddesi içerisine antibakteriyel etkinlik elde etmek için katkıları mantıklıdır. Ortamdaki metal oksit varlığı dolayısıyla başlangıç reflektans değerleri kontrol numunesine göre yüksek çıksa da zamana göre değişim bize bakteri çoğalmasıyla ilgili fikir verecektir.





Şekil 3.18. Bakterilerin büyüme eğrisine metal oksit tozlarının etkisi

Tüm metal oksit tozları 0,25 g/L konsantrasyondan başlayarak bakterilerin doğal büyüme eğilimlerini sekteye uğratmışlardır. ZnO ve MgO içeren numunelerin reflektansları hemen hemen hiç değişim göstermemiştir. Bu da bize bakterilerin, önceden bahsedilen, ortama uyum sağlama aşamasından öteye geçemediklerini hatta bu noktada büyük ihtimalle öldüklerini göstermektedir. Kalsiyum oksit içeren numunelerde ise metal oksit konsantrasyonu ile uyumlu bir etki gözle çarpılmaktadır; 0,25 g/L – 2,5 g/L kalsiyum oksit içeren numunelerde reflektansın bir miktar arttıktan sonra sabitlendiği görülmektedir. Bu artış miktarı konsantrasyon artışıyla ters orantılı bir şekilde gerçekleşmiştir. Artış yaklaşık 2. saatte son bulmuştur. 5 ve 10 g/L kalsiyum oksit içeren numunelerin reflektansları deney başlangıcından itibaren sabit kalmıştır.

MIC testi, bir antibakteriyel maddenin etkili olabileceği en düşük konsantrasyonun tespitinde kullanılır. Direk olarak metal oksit tozlarının antibakteriyel etkisini görebilmek adına uygulanabilirliği araştırılmıştır. Metal oksit tozlarına MIC testi uygulanmasında bazı dezavantajlar olduğu düşünülmüştür. Metal oksit tozları suda çözünmedikleri için bakteri kültürünün dibine çökerek üstte kalan bakterilerle temasa geçmemektedirler. Çalkalamalı inkübatör kullanılması da yeterli karışımı sağlamamaktadır. Bu nedenle elde edilecek sonuçların tekrarlanabilirlik açısından sağlıklı olmayacağı öngörülmüştür.

### **3.4 Metal Oksit İçeren Kaplanmış Numunelerin Antibakteriyel Etkinlikleri**

#### ***3.4.1 Tek Katmanlı Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri***

Tek katmanlı bir kaplamanın içerisine aktif maddenin karıştırılması kaplanmış bir tekstil ürününe fonksiyonellik kazandırabilmenin en basit ve maliyetsiz yollarından bir tanesidir. Tez çalışmaları kapsamında da öncelikle bu yöntemle antibakteriyel kaplanmış tekstil ürünü üretilmeye çalışılmış, elde edilecek sonuçlar doğrultusunda ürün özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Düşük konsantrasyonda (%0,3-1,5) yapılan metal oksit katkısı ile üretilen materyallerden hiçbiri %100 veya buna yakın antibakteriyel etkinliğe ulaşamamıştır.

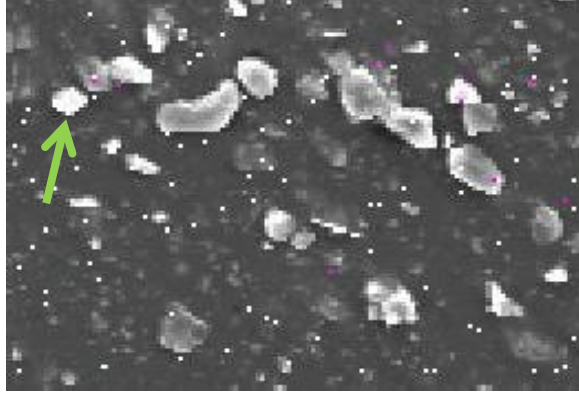


Çinko oksitle yapılan deneylerde % 0,3 konsantrasyonda antibakteriyel etkinlik gözlenmezken % 0,5 çinko oksit katkısıyla % 30 civarında bir etkinliğe ulaşılabilmektedir. % 0,7 çinko oksit içeren numunelerle yapılan tekrarlı deneylerde antibakteriyel etkinlik % 67'ye kadar çıkmış olsa da hiç antibakteriyel özellik göstermeyen numuneler de olmuştur. Bunun üzerine konsantrasyonun artırılması yoluna gidilmiş ve çinko oksit katkısı % 1,5'e kadar çıkartılmıştır antibakteriyel etkinlik % 36 dolayında tespit edilmiştir.

Benzer durum magnezyum oksit ve kalsiyum oksit katkılanan numunelerde de ortaya çıkmıştır. % 0,3 ve % 0,5 magnezyum oksit katkısıyla sırasıyla % 84.6 ve % 91 antibakteriyellik değerlerine ulaşılmıştır. % 0,7 magnezyum oksit katkısıyla en fazla % 84.6 etkinliğe ulaşılmıştır. Aynı konsantrasyondaki bazı numunelerde bakteri kolonilerinde hiç azalma gözlemlenmemiştir. % 0,7 kalsiyum oksit katkısında da antibakteriyel etkinlik maksimum % 22 dolaylarında kalmıştır. Sinerjik etkinin incelendiği % 0,7'lik eşit miktarda kalsiyum oksit çinko oksit ve magnezyum oksit içeren kaplanmış numuneler de antibakteriyel etkinlik göstermemişlerdir.

% 0,3-1,5 metal oksit katkılanması sonucu polimerik kaplanmış tekstil ürününden, antibakteriyel etkinlik elde edilmiştir fakat %100 etkinliğe ulaşamamıştır. Ayrıca bazı tekrarlanabilirlik problemleri ortaya çıkmıştır.

Bu noktada, kullanılan metal oksit konsantrasyonunun düşük kalmış olduğu akla ilk gelen ihtimaldir. Antibakteriyel etki için bakterilerin metal oksitlerle direk teması gerektiği düşünüldüğünde bu, en akla yatkın açıklama olmaktadır. Şekil 3.19'da % 0,7 MgO içeren numunenin EDX taraması görülmektedir. Yüzeydeki magnezyum atomlarının seyrekliği bu görüşü doğrular niteliktedir.



Şekil 3.19 % 0,7 MgO içeren numunenin EDX taraması (Beyaz noktalar Mg atomlarını temsil etmektedir) (MgO parçacığına bir örnek ok ile gösterilmektedir)

Metal oksit miktarının yetersiz gelmesi, yüzeyde seyrek bir dağılıma sebep olmuştur. Bunun sonucu olarak da metal oksit tozlarıyla temas eden bakteriler ölürken metal oksit bulunmayan alanlarda kalan bakteriler çoğalmaya devam etmişlerdir. Antibakteriyel test sonuçlarının homojen olmayan sonuçlar vermesinin sebebinin de bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tekrarlanabilirlik problemlerinde muhtemel bir diğer etkenin kullanılan antibakteriyel test standardı (ASTM E 2180-07) olabileceği düşünülmüştür. Önceki bölümlerde anlatıldığı üzere, belirli bir miktar (1000µl) bakteri kültürü numune parçası üzerine direk olarak aktarılmaktadır. Bu durumda, PVC ile kaplanmış tekstil materyalinin hidrofob yapısı nedeniyle bakteri kültürü damla şeklinde numunenin ortasında toplanmaktadır ve inkübasyon bu şekilde devam etmektedir. Suyun yüzey geriliminden kaynaklanan bu toplanma davranışı tüm numunelerde farklı yüzey alanında bakteri kültürünün materyal yüzeyi ile temasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, suda çözünmeyen metal oksit partiküllerinin antibakteriyel etkisi de farklı olabilmektedir.

Metal oksit konsantrasyonunun bu değerlerin üstüne çıkması, mevcut konstrüksiyonda, ürünün mekanik özelliklerini gözle görülür derecede bozmaktadır. Kaplama kırılmalanmakta, kaplama işlemi zorlanmakta ve kaplama yüzeyinde çatlaklar oluşmaktadır. Bu nedenle hem polimer içerisindeki metal oksit miktarını arttırmaya elverişli hem de ürünün kullanım özelliklerini bozmayacak bir yapı

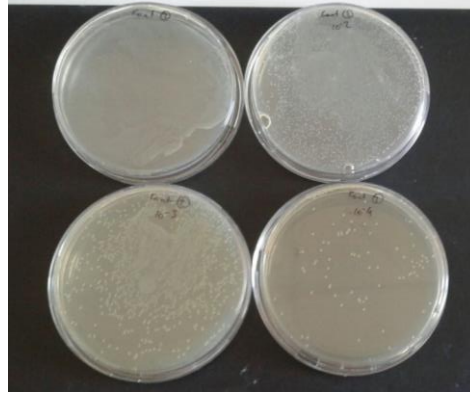
düşünülmesi gerekliliği doğmuştur. Bu noktada standart reçeteyle kaplanmış numune üzerine çok ince ikinci bir yoğun miktarda metal oksit içeren aktif katman kaplanması yoluna gidilmiştir.

### ***3.4.2 Çift Katmanlı Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri***

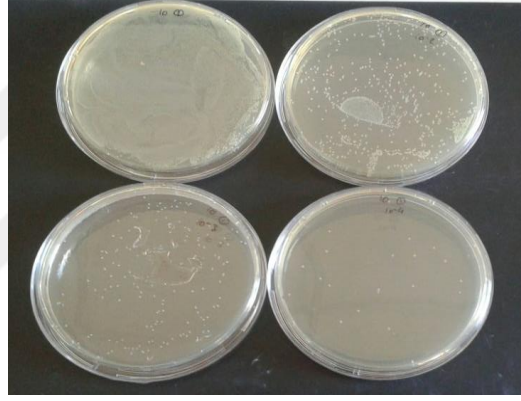
#### ***3.4.2.1 Çinko Oksit İçeren Kaplamaların Antibakteriyel Etkinlikleri***

Çinko oksitle yapılan geçmiş dönemlerdeki deneylerde istenilen yüksek seviyelerdeki antibakteriyel etki sağlanamamıştır. Mekanik özelliklerin bozulmaması gözetilerek, düşük konsantrasyonda çinko oksit doplanmasıyla metal oksit tozlarının polimer içerisine gömüldüğü ve bu nedenle etkinlik gösteremediği düşünülmüştür. Bunlar göz önünde bulundurulduğunda polimer pastasına direk olarak düşük miktarda çinko oksit katkılanmasının bazı dezavantajları ortaya çıkmaktadır. Bu istenmeyen durumları biraraya topladığımızda, düşük antibakteriyel aktivite, homojen olmayan etkinlik gibi problemler karşımıza çıkmaktadır. Söz konusu problemlerin aşılabilmesi için, yüksek çinko oksit konsantrasyonuna sahip ikinci ince (0,2-0,3 mm) bir katmanın, önceden metal oksit içermeyen PVC kaplanmış malzeme üzerine kaplanması yöntemi seçilmiştir.

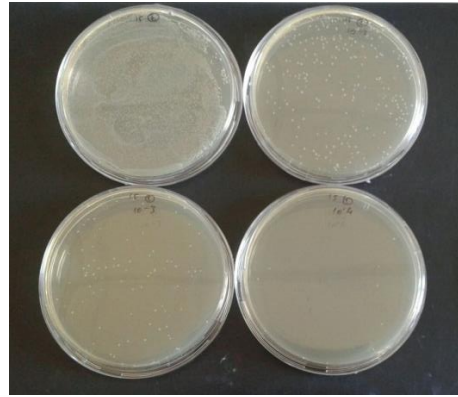
%10-35 arasında değişen konsantrasyonda çinko oksit katkılanmış kaplanmış numunelerin antibakteriyellik testlerine ait petri görüntüleri seri seyreltmelerle birlikte Şekil 3.20-3.26'da sunulmuştur. Antibakteriyel etkinliğin konsantrasyona göre değişimi ise Şekil 3.27'de görülmektedir.



Şekil 3.20 Metal oksit içermeyen kontrol numunesi ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



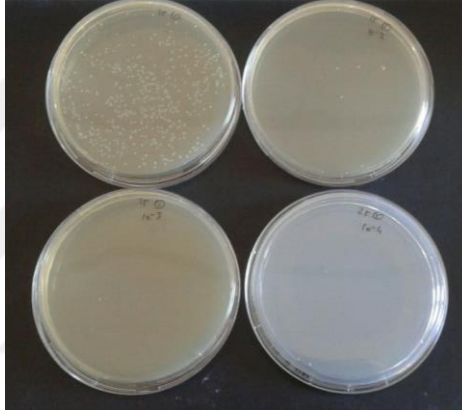
Şekil 3.21 %10 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



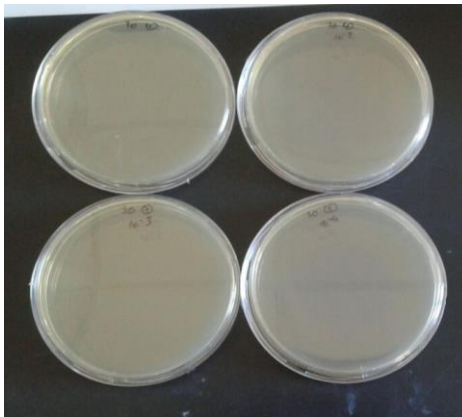
Şekil 3.22 %15 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



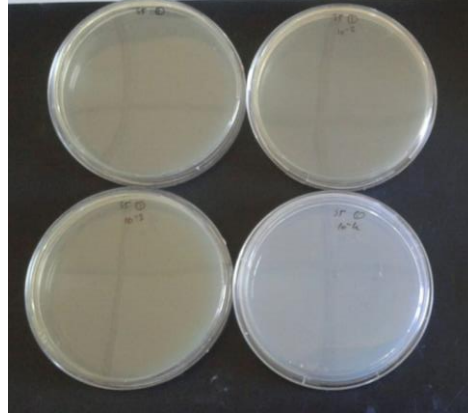
Şekil 3.23 %20 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



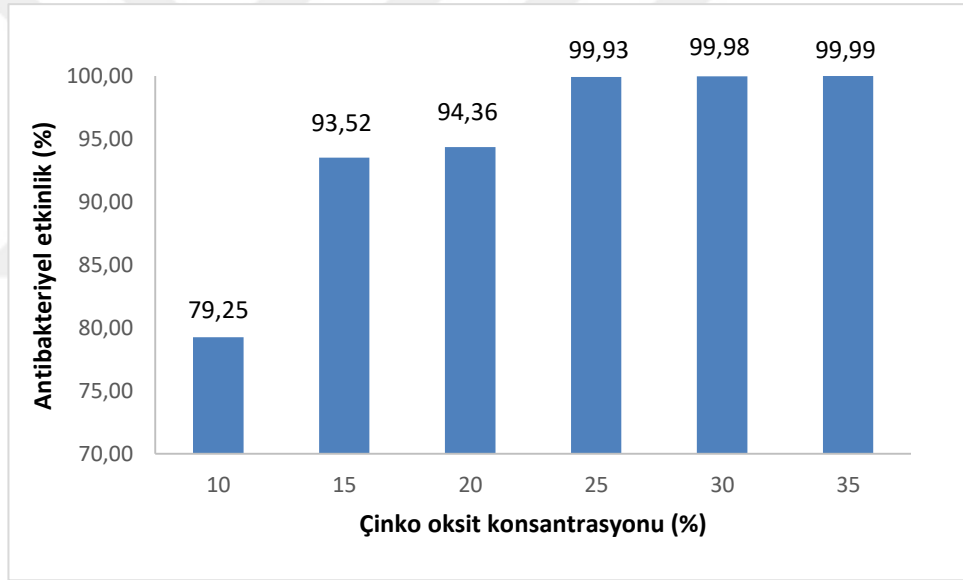
Şekil 3.24 %25 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



Şekil 2.25 %30 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



Şekil 3.26 %35 çinko oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



Şekil 3.27 Antibakteriyel etkinliğin kaplama polimeri içerisindeki çinko oksit konsantrasyonu ile değişimi

Çinko oksit içermeyen kontrol numunesi üzerindeki bakteriyel üremede olumsuz bir durum gözlemlenmemiştir ve herhangi bir kontaminasyon olmadığı görülmüştür. Bu nedenle çinko oksit içeren numunelerin antibakteriyel etkinliğinin çinko oksit katkısı sebebiyle oluşacağını söyleyebiliriz. Yapılan antibakteriyel testler tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar tekrarlı testlerin ortalamalarını yansıtmaktadır.

Bununla birlikte, %10 ve %35 çinko oksit içeren numunelere farklı zamanlarda tekrar testleri uygulanarak sonuçların güvenilirliği sınanmıştır.

Yüzde on çinko oksit içeren numunenin antibakteriyel etkinliği %79.25 olarak belirlenmiştir. Yüzde yüz antibakteriyel etkinlik sağlanamasa da %10 gibi bir konsantrasyondan %80 dolaylarında bir antibakteriyel etkinlik elde edilmesi oldukça önemlidir. Farklı zamanlarda yapılan testlerde yaklaşık %86 ve %73 antibakteriyel etkinlik saptanmıştır. Bu sonuçlar tutarlı bir antibakteriyel aktivite bulunduğunu göstermektedir.

%15 çinko oksit katkısıyla birlikte %10 konsantrasyona göre antibakteriyel aktivitede hızlı bir yükseliş göze çarpmaktadır. %93 civarına kadar çıkan antibakteriyel etkinlik %20'lik konsantrasyonla bir miktar daha artarak %94'e çıkmıştır. Çinko oksit konsantrasyonunun artmasıyla antibakteriyel aktivitedeki artış da yavaşlamıştır bunun nedeni yüzde yüz antibakteriyel aktiviteye yaklaşılmış olmasıdır. %25 ZnO katkılanan numune %99.93 antibakteriyel aktivite gösterirken, %30 ve %35 ZnO içeren numuneler sırasıyla %99.98 ve %99.99 antibakteriyel etkinlik göstermişlerdir. Çok düşük bir farkla da olsa (%30'luk numuneye göre) en yüksek antibakteriyel etkinlik %35 çinko oksit katkılı numunede tespit edilmiştir. Bu numunenin farklı zamanlarda yapılan testinde antibakteriyel etkinliği yine %99.99 olarak ölçülmüştür.

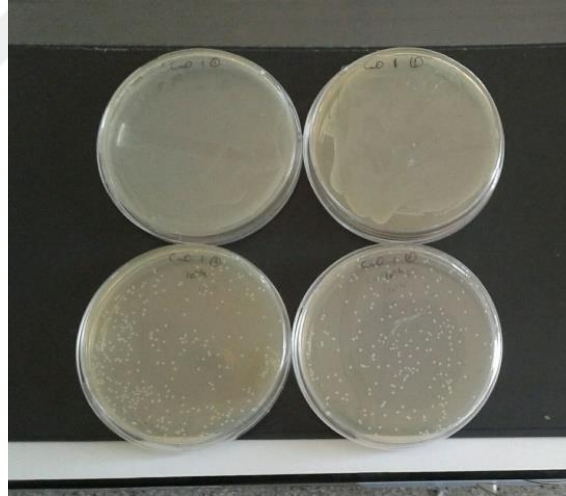
#### *3.4.2.2 Kalsiyum Oksit İçeren Kaplanmış Örnekler İle Yapılan Testler*

Geçmiş dönemlerde yapılmış çalışmalar hatırlanacak olursa, kaplama polimerinin içerisine düşük konsantrasyonda metal oksit katkılanmış ve antibakteriyel aktivite tatmin edici seviyelere çıkamamıştı. Yüksek dozda metal oksit katkısı da taşıyıcı bant numunelerinin mekanik özelliklerini bozmuş, kırılğan bir yapı elde edilmişti. Bu sebeple, ince bir ikinci katmanda yüksek dozda metal oksit kullanımının araştırılması ve antibakteriyel etkinin bu sayede geliştirilmesi planlanmıştı. Bu dönem dahilinde yapılan çalışmalarda, standart bir reçete ile PVC kaplanmış numune üzerine, 0,2 mm kalınlığında ikinci bir katman olarak, yüzde bir ile yüzde otuz beş gibi yüksek konsantrasyon aralıklarında değişen kalsiyum oksit içeren kaplama uygulaması

yapılmıştır. Yapılan testlere ait görüntüler seri seyreltmelerle birlikte Şekil 3.28-3.36’da, elde edilen antibakteriyel etkinlik verileri Şekil 3.37’de görülmektedir.



Şekil 3.28 Metal oksit içermeyen kontrol numunesi ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları

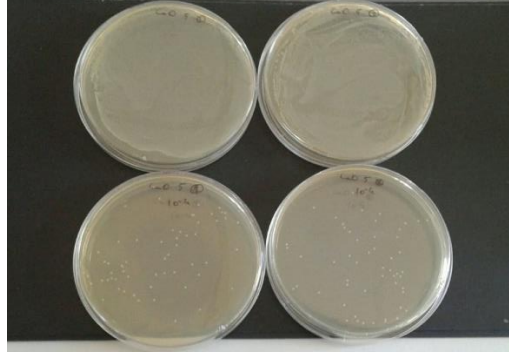


Şekil 3.29 %1 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları

Şekil 3.28’de görüldüğü üzere, kalsiyum oksit içermeyen kontrol numunesi üzerinde bakteriyel üreme oldukça agresif bir şekilde gerçekleşmiştir. Bu nedenle kalsiyum oksit içeren numunelerle yapılan testlerde gözlemlenecek bakteriyel azalmanın kalsiyum oksit kaynaklı olacağını söylememiz mümkündür. %1 kalsiyum

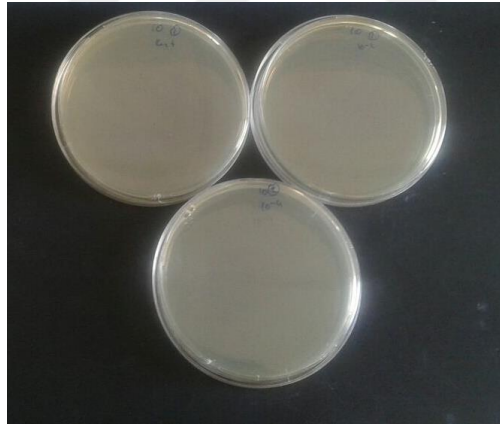


oksit katkısı ile antibakteriyel etki sağlanamamıştır, diğer bir deyişle, kontrol numunesi ile karşılaştırıldığında koloni sayısında bir azalma görülmemiştir.



Şekil 3.30 %5 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları

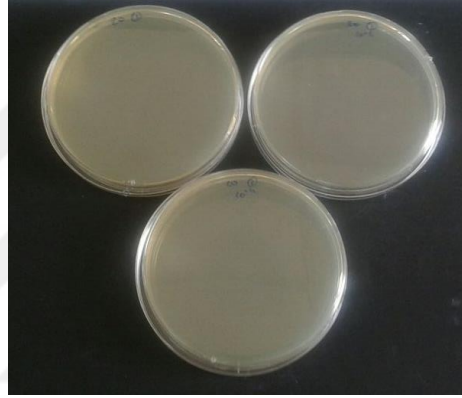
Yüzde beşlik kalsiyum oksit konsantrasyonunda antibakteriyel etki sağlanmaya başlanmıştır. Bu numunenin antibakteriyel etkinliği %74.49 olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonun artmasıyla birlikte antibakteriyel etkinin de arttığı tespit edilmiştir.



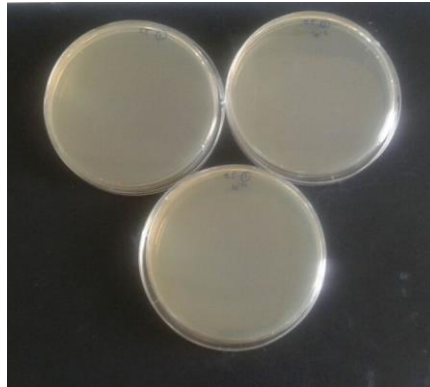
Şekil 3.31 %10 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



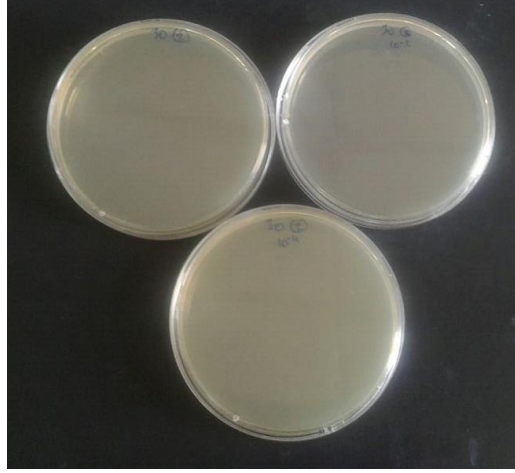
Şekil 3.32 %15 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



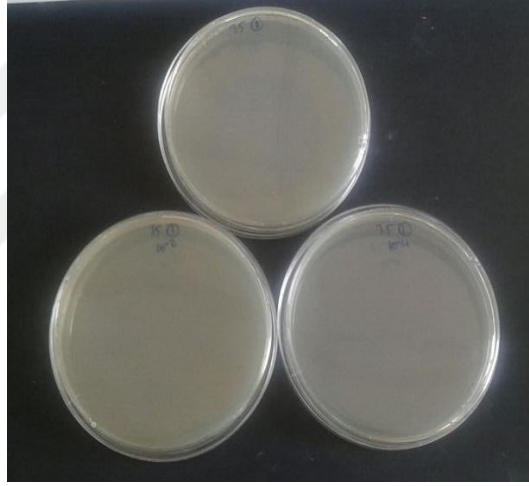
Şekil 3.33 %20 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



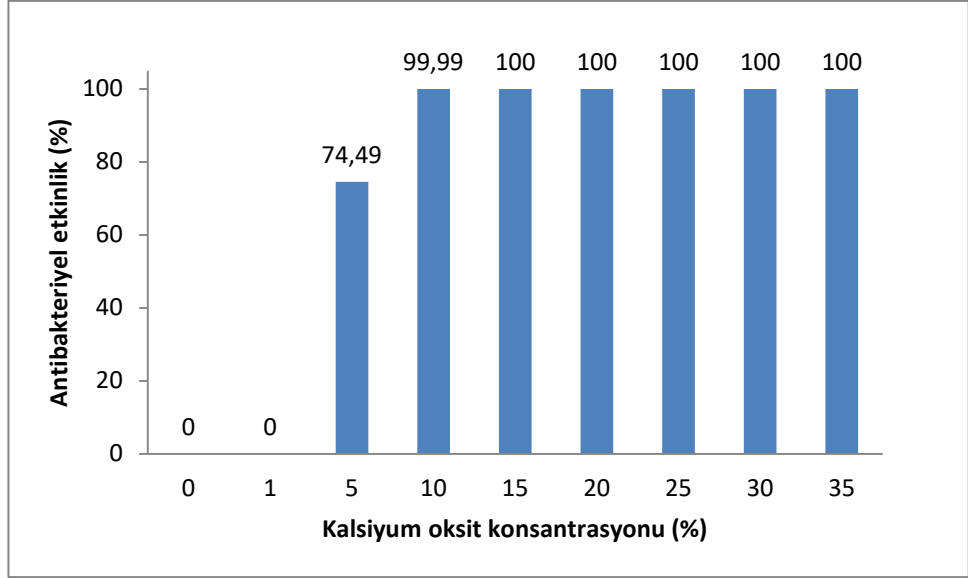
Şekil 3.34 %25 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



Şekil 3.35 %30 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



Şekil 3.36 %35 kalsiyum oksit içeren numune ile yapılan antibakteriyellik testine ait petri fotoğrafları



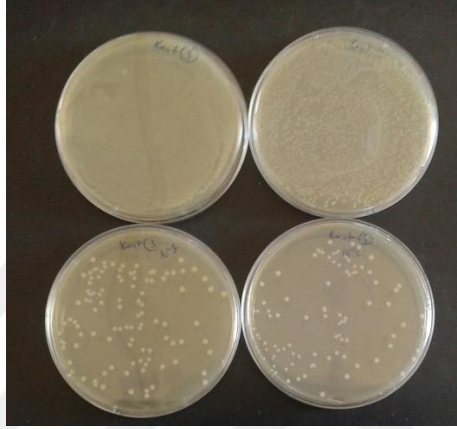
Şekil 3.37 Kalsiyum oksit konsantrasyonuyla antibakteriyel etkinlikteki değişim

Yüzde beş kalsiyum oksit katkısıyla başlayan antibakteriyel etkinlik, %10'luk konsantrasyonla birlikte hızlı bir şekilde yükselmiş ve %99.99'a ulaşmıştır. %10'luk kalsiyum oksit katkılanan numunelerin testlerinde, seyreltilmemiş yayımda sadece bir adet koloni sayılmıştır. Yüzde onun üzerindeki konsantrasyonlardaki (%15-35) numunelerin antibakteriyel etkinlik testlerinde hiçbir koloni gözlemlenmemiştir. %15 konsantrasyonda *Listeria innocua* türüne karşı %100 etkinlik sağlanmıştır ve farklı bakteri türleri için daha değişik konsantrasyonlarda kalsiyum oksit katkılanması düşünüldüğünde bu sonuçlar göz önünde bulundurulabilir. Kalsiyum oksit hem ucuz olması hem de kolay erişilebilir ve yerli kaynaklarla üretilebilir bir ürün olması açısından bu noktada önem kazanmaktadır.

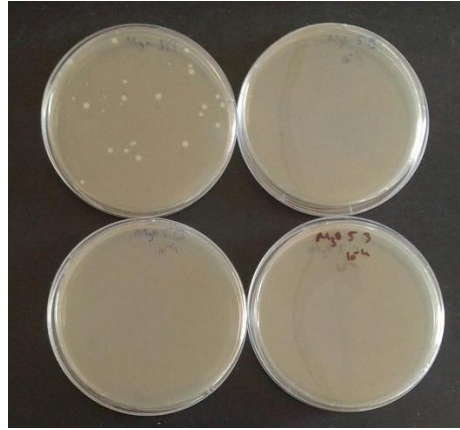
Yapılan deneylerde dikkat çeken noktalardan bir tanesi, yüzde yirmi üzerindeki konsantrasyonlarda kaplama malzemesinin sertleşmesi ve bu sebeple kaplanan malzemenin içe doğru kıvrıldığı gözlemlenmesidir. Yüzde yirmi beş konsantrasyonda hafif şekilde gözlemlenen bu fenomen, yüzde otuz ve yüzde otuz beşlik konsantrasyonlarda daha belirgin hale gelmektedir. Bu yüzden, yüzde yirmilik konsantrasyonda zaten *L. innocua*'ya karşı %100 antibakteriyel etkinlik sağlandığı için, yüzde yirmi kalsiyum oksit konsantrasyonu üzerine çıkılması önerilmemektedir. Kıvrılmanın nedeni ilerleyen bölümde irdelenecektir.

### 3.4.2.3 Magnezyum Oksit İçeren Kaplanmış rneklerle Yapılan Testler

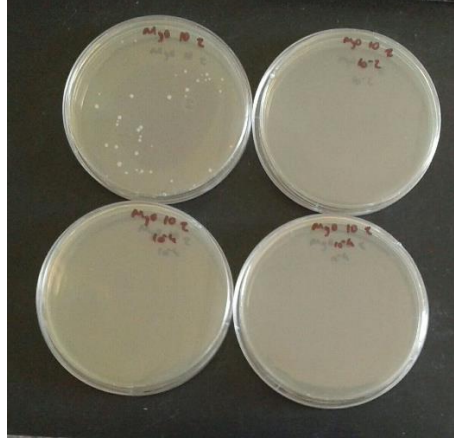
Magnezyum oksit içeren numunelerle yapılan testlerde %5'lik konsantrasyondan itibaren %99,9 antibakteriyel etkinlik gözlenmiştir. Magnezyum oksit içeren kaplamalara yapılan testlere ait örnek petri görüntüleri seri seyreltmelerle birlikte Şekil 3.38-3.43'te ve magnezyum oksit içeren antibakteriyel kaplamaların etkinlikleri Şekil 3.44'te sunulmuştur.



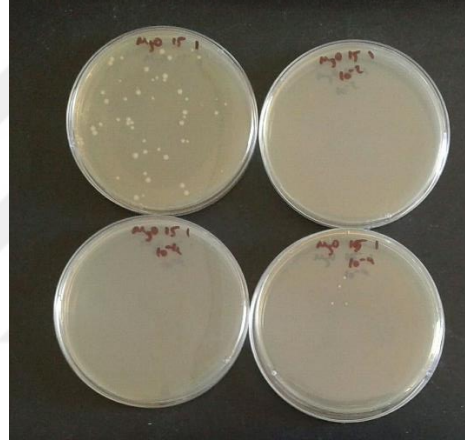
Şekil 3.38. Metal oksit içermeyen kontrol numunesine yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü



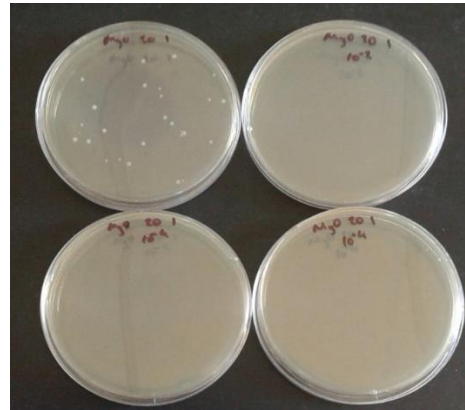
Şekil 3.39 %5 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü



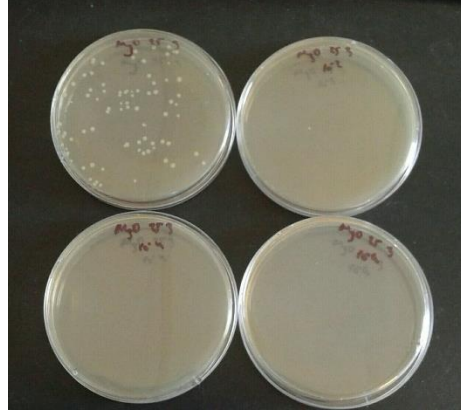
Şekil 3.40 %10 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü



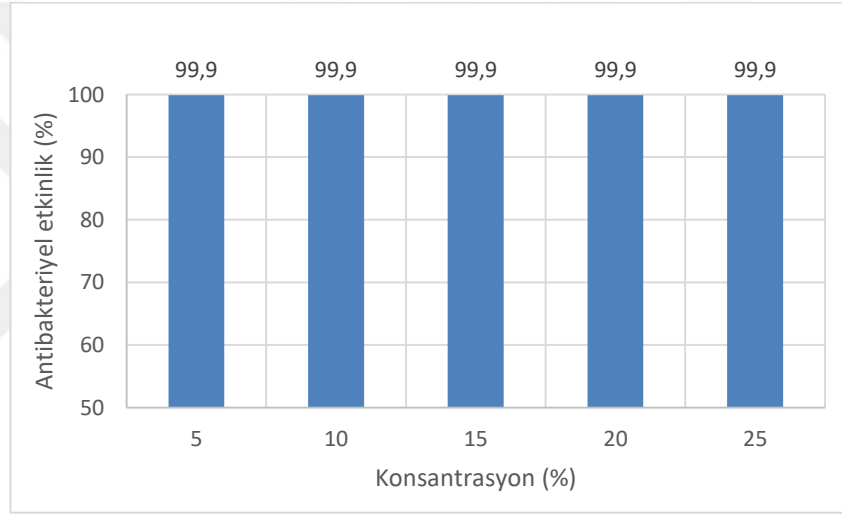
Şekil 3.41 %15 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü



Şekil 3.42 %20 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü



Şekil 3.43 %25 MgO içeren kaplamaya yapılan antibakteriyel etkinlik testine ait petri görüntüsü

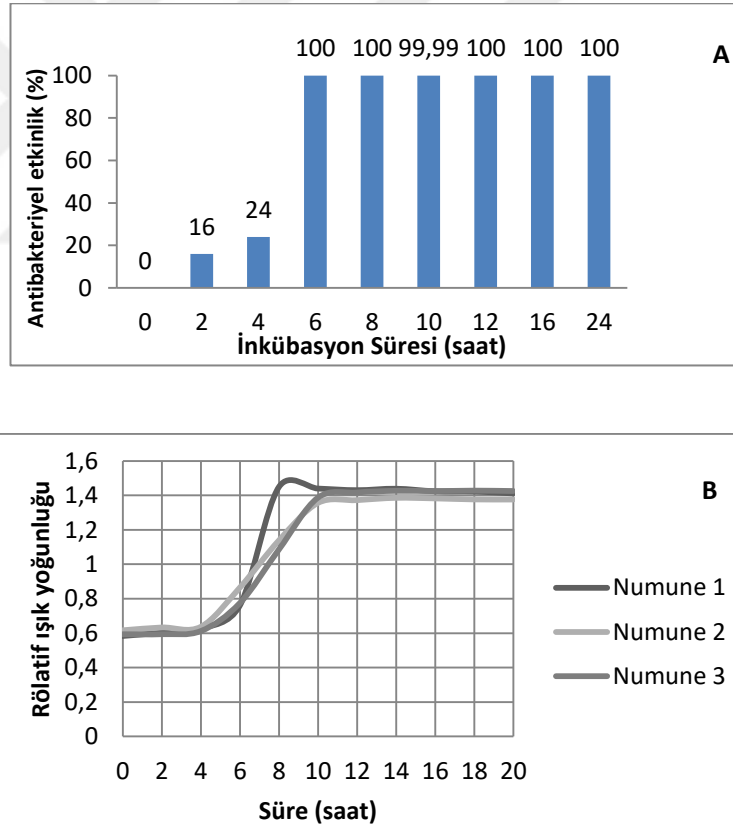


Şekil 3.44 MgO içeren kaplamaların antibakteriyel etkinliklerinin konsantrasyonla değişimi

Magnezyum oksit içeren kaplamalarla yüksek antibakteriyel etkinliğe ulaşılmıştır. Bununla birlikte konsantrasyon artışıyla %100 etkinlik sağlanamamıştır. Testlerde  $10^{-2}$  ve  $10^{-4}$  seyreltmelerde hiçbir koloniye rastlanılmamış fakat seyreltilmemiş numunelerde koloniler tespit edilmiştir. %25 üzerinde konsantrasyon artışı mümkün olmamıştır çünkü bu konsantrasyonun üzerinde bolimer pastası neredeyse katı bir hal almış ve kaplamaya uygun olmaktan çıkmıştır.

### 3.4.2.4 Kaplamalar Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğin Bakterinin Temas Süresiyle Değişimi

Standartta göre (ISO 22196-2011) yapılan antibakteriyel etkinlik testlerinde bakteri ile numunenin inkübasyon şartları altında 24 saatlik teması sözkonusudur. Pratikte, kullanılan antibakteriyel materyalin olabildiğince kısa sürede zararlı mikroorganizmaları etkisiz hale getirmesi beklenir. Bu amaçla, üretilen metal oksit katkılı kaplanmış tekstil materyallerinin maksimum antibakteriyel etkinliği, bakterilerle temas ettikleri hangi zaman aralığında gösterdikleri araştırılmıştır. Standart testlerde kullanılan tüm koşullar aynı tutularak bakteri ile temas süreleri değiştirilmiştir. Bu deney için %20 CaO içeren numune seçilmiştir. Antibakteriyel etkinliğin bakteri ile temas süresiyle değişimi Şekil 3.45'te görülmektedir.



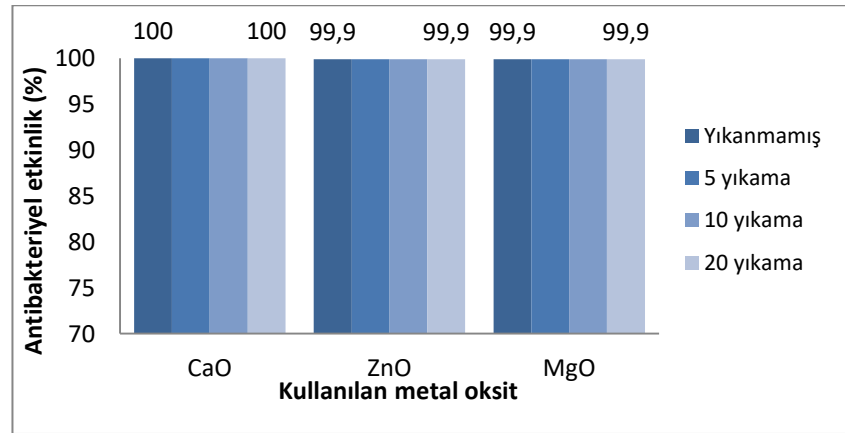
Şekil 3.45 A:%20 CaO içeren numunenin antibakteriyel etkinliğin bakteri ile temas süresiyle değişimi, B: Bakteri büyüme eğrileri



Malzemenin bakteri ile temas süresiyle bakterilerin büyüme eğrisini paralel olarak değerlendirmek daha detaylı bilgiler verecektir. Şekil 3.45'te görüldüğü gibi %20 kalsiyum oksit içeren kaplanmış tekstil numunesi anında temasla (0 saat) antibakteriyel etkinlik göstermemiştir. Bakteri ölümü 2. temas saatinde %16 olarak tespit edilmiş ve artarak 4. saatte %24'e ulaşmıştır. Bu zaman aralığı bakterilerin büyüme eğrisinde lag fazına yani ortama uyum sağlamaya çalıştıkları döneme tekabül etmektedir. Bakterilerin log fazına geçmiş oldukları 6. saatte antibakteriyel etkinlik keskin bir artış en üst seviyeye çıkarak %100'e ulaşmıştır. Log fazının bakterilerin logaritmik olarak çoğaldıkları dönemdir. Buradan yola çıkılarak, metal oksit tozlarının, özellikle bu deney için seçilen kalsiyum oksidin bakterilerin çoğalma evresinde bu denli etkin olması, etki mekanizmasının bakterilerin çoğalma sistemini yani DNA'yı hedef almış olabileceğini akla getirmektedir. 6-24 saatler arası, 10 saat temas dışında (antibakteriyel etkinlik %99,99), bakteri ölümleri %100 olarak tespit edilmiştir. 12 saat ve üzeri bakteri temasının yüksek seviyede antibakteriyel etkinlik için yeterli olacağı anlaşılmıştır.

#### 3.4.2.5 Tekrarlı yıkama işlemlerine karşı antibakteriyel etkinliğin değişimi

Endüstride uygulanan yıkama işlemlerinin benzeri prosedürler metal oksit içerikli polimerik kaplı numunelerin yıkanmasında simüle edilmiştir. Yıkama işlemleri %35 ZnO, %20 MgO, %20 CaO içeren numunelere uygulanmıştır. Tekrarlı olarak yıkanmış numunelerin antibakteriyel etkinlikleri Şekil 3.46'te görülmektedir.



Şekil 3.46 Tekrarlı yıkamalarla antibakteriyel etkinlikteki değişim

Yıkama işlemleri çinko oksit, magnezyum oksit ve kalsiyum oksit katkılı numunelerin antibakteriyel etkinliklerinde bir değişime neden olmamıştır. Bu durum endüstriyel uygulamalar açısından önemlidir. Yüksek antibakteriyel etkinlik elde edilmesine karşın yıkamayla bu etkinin azalması pratik anlamda uygulanabilirlik problemleri yaratacaktır. Üretilen metal oksit katkılı kaplanmış numunelerin 20 yıkamadan sonra yıkanmamış hallerindeki antibakteriyel etkinliklerini muhafaza etmeleri, endüstriyel anlamda kullanılabilir olduklarını göstermektedir.

### **3.5 Kullanılan Metal Oksitlerin Antibakteriyel Etki Mekanizmalarının İncelenmesi**

#### ***3.5.1 Elektron Spin Rezonans (ESR) Tekniği Kullanılarak Yapılan ölçümler***

Önceki bölümlerde detaylı olarak anlatıldığı üzere, ESR tekniği, radikallerle yani eşlenmemiş elektronu bulunan malzemelerle çalışmak için geliştirilmiş bir tekniktir. Oksijen radikallerinin incelenmesi için de ESR oldukça kullanışlı bir araçtır. Bu tez çalışması kapsamında, kullanılan metal oksit tozlarının antibakteriyel etki mekanizmasının araştırılmasında kullanılan yöntemlerden bir tanesi Elektron Spin Rezonans tekniği olmuştur.

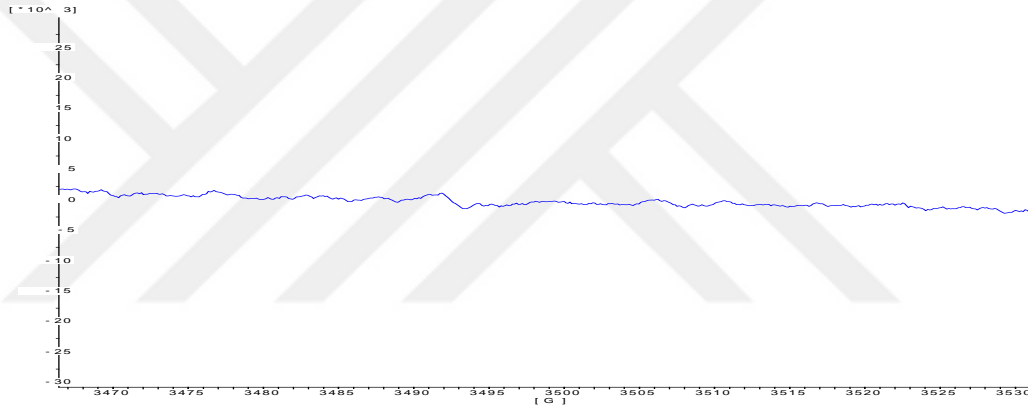
Öncelikli olarak çinko oksit, magnezyum oksit ve kalsiyum oksit tozlarının oksijen radikali salım karakteristikleri incelenmiştir. Ardından kaplanmış kumaşların oksijen radikali salımları araştırılmıştır. TEMPO stabil radikali kullanılarak yapılan ölçümlerle salınan oksijen radikali konsantrasyonu belirlenmiştir. Antibakteriyellik mekanizmasının anlaşılmasıyla daha etkin fonksiyonellik gösteren kaplama kumaşların geliştirilmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir. Yeni antibakteriyel etkinlik test yöntemlerinin geliştirilmesi de antibakteriyel etkinlik mekanizmasının anlaşılmasıyla mümkündür.

ESR tekniği, fizik, kimya, tıp, nükleer araştırmalar gibi birçok temel bilim dalında kullanılmaktadır. Bu çalışmayla birlikte ESR tekniğinin tekstil bilimine de tanıtılması amaçlanmıştır. ESR tekniğinin tekstil mühendisliğinin çok farklı

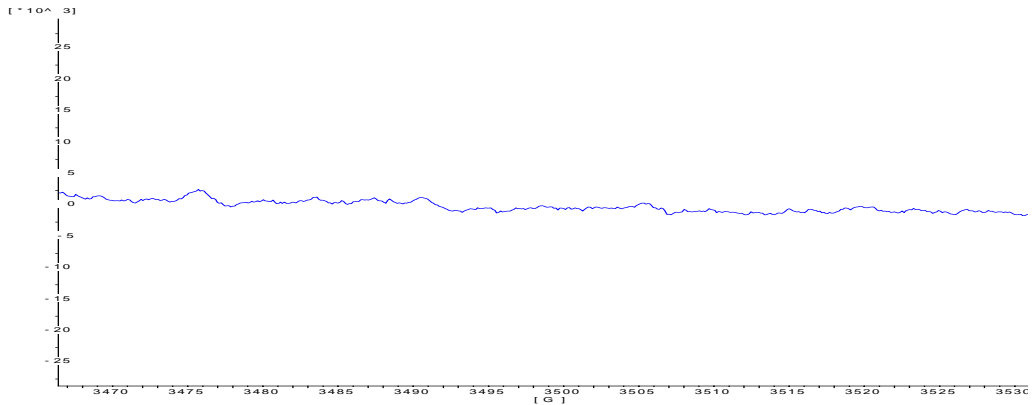
alanlarında kullanılarak problemlerin çözümüne katkıda bulunabileceği öngörülmektedir.

### 3.5.1.1 Çinko Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri

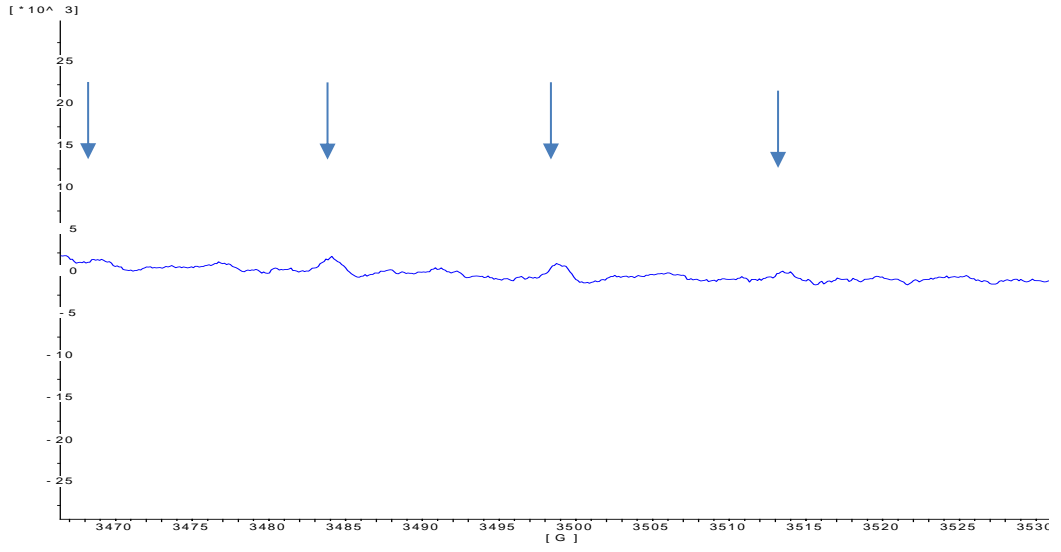
Çinko oksitle yapılan ESR ölçümlerinde hidroksil ve süper oksit radikallerinin tespiti için DMPO, singlet oksijenin tespiti içinse TEMP spin tuzakları kullanılmıştır. TEMP ile yapılan deneylerde çinko oksit ve diğer metal oksit tozlarından sonuç alınamamış, dolayısıyla singlet oksijen varlığı tespiti mümkün olmamıştır. DMPO ile çinko oksit tozları farklı prosedürler izlenerek etkileşime sokulmuştur. Farklı prosedürlerle elde edilen ESR spektrumları Şekil 3.47-3.54'te görülmektedir.



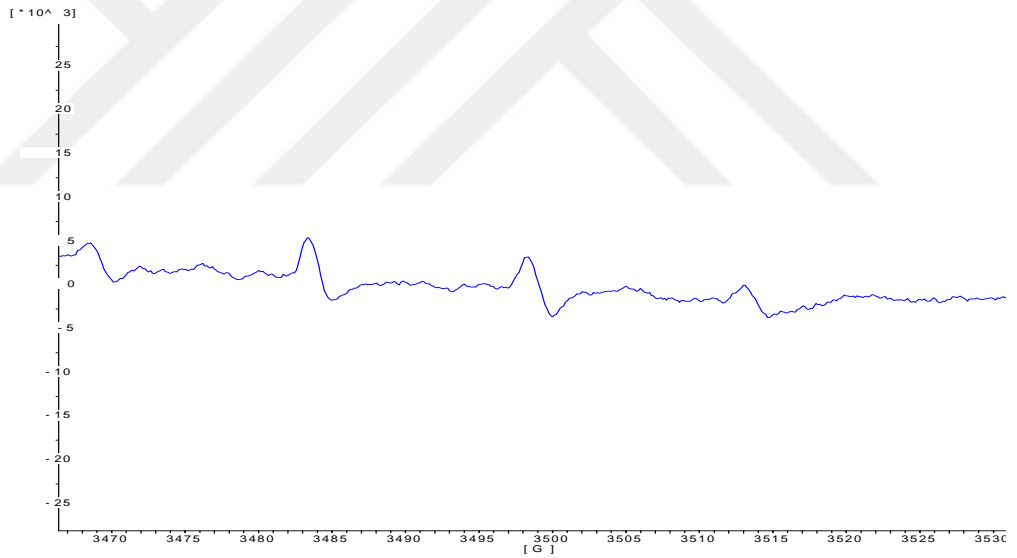
Şekil 3.47. Karanlıkta bekletilen DMPO çözeltisinin ESR spektrumu



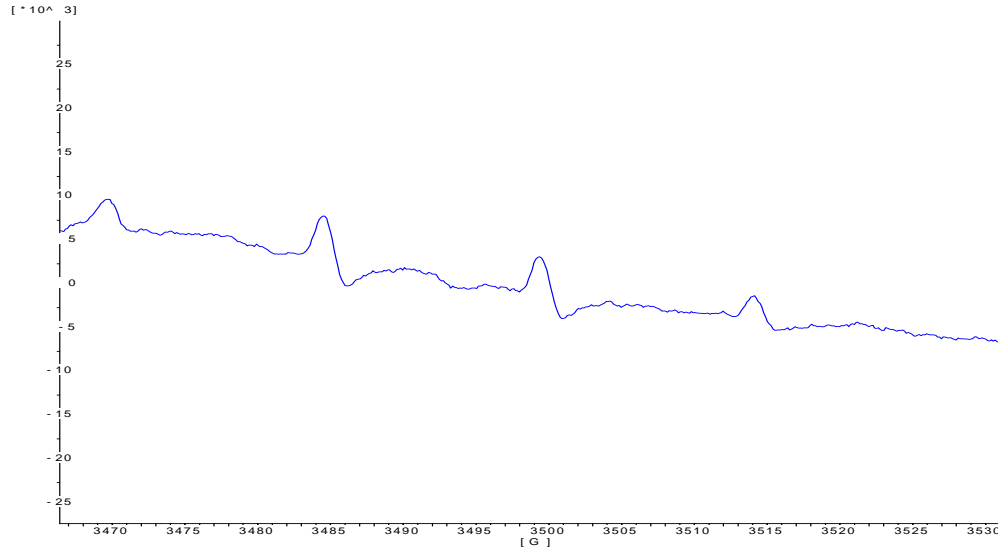
Şekil 3.48. UV ışığa maruz bırakılan DMPO çözeltisinin ESR spektrumu



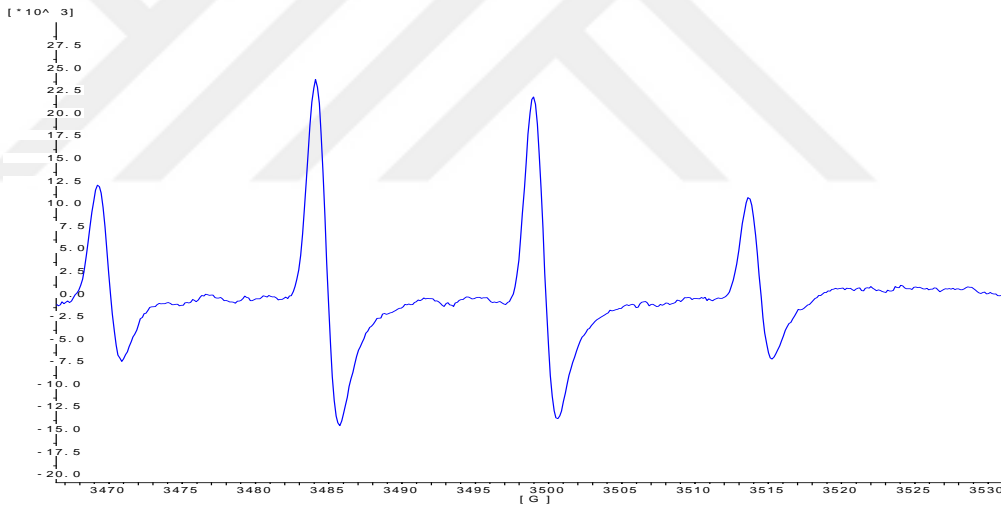
Şekil 3.49 Işık etkisi olmadan elde edilen, 1 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonunun ESR spektrumu



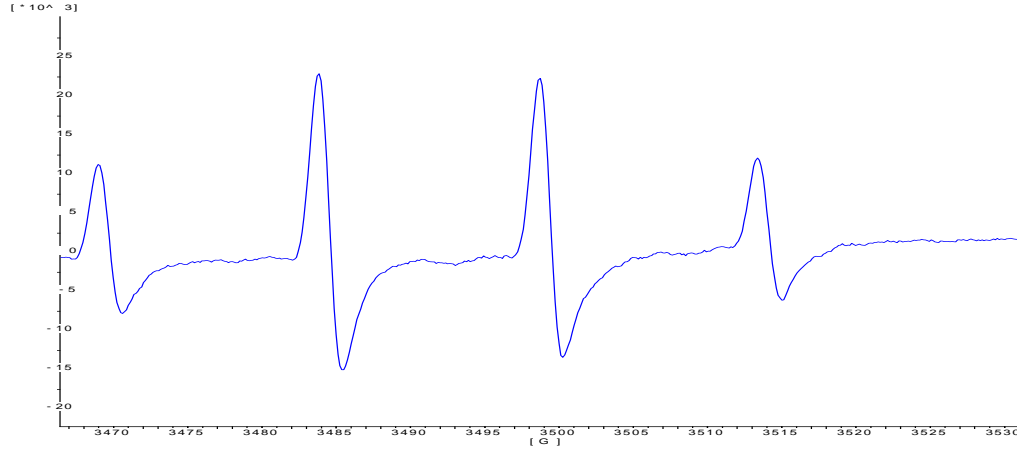
Şekil 3.50 Işık etkisi olmadan elde edilen, 10 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonunun ESR spektrumu



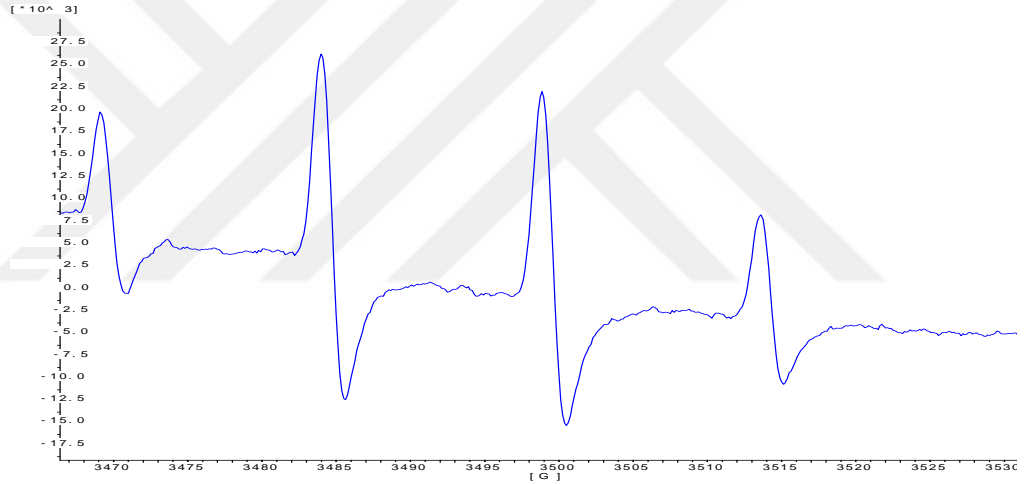
Şekil 3.51 Işık etkisi olmadan elde edilen, 100 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonunun ESR spektrumu



Şekil 3.52 UV ışık etkisi altında elde edilen, 1 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonunun ESR spektrumu

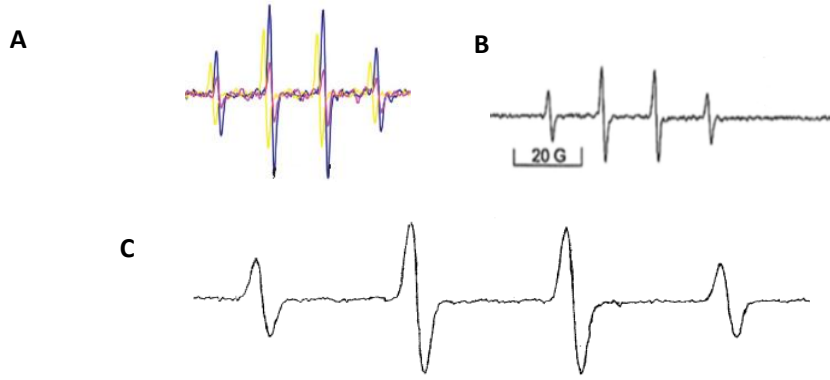


Şekil 3.53 UV ışık etkisi altında elde edilen, 10 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu



Şekil 3.54 UV ışık etkisi altında elde edilen, 100 g/L konsantrasyondaki ZnO-DMPO çözeltisi süspansiyonun ESR spektrumu

DMPO özellikle süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi oksijen radikallerinin tespitinde kullanılmaktadır (He ve ark., 2014). DMPO süperoksitle ve hidroksil radikaliyle sırasıyla DMPO-OOH ve DMPO-OH ürünlerini vermektedir. DMPO-OOH kararsız olup DMPO-OH'a dönüşmektedir (He ve ark., 2014; Lipovsky ve ark., 2009). DMPO-OH karakteristik 4'lü sinyal veren ESR spektrumuna sahiptir (Applerot ve ark 2009). Şekil 3.55'de literatürde yer alan bazı çalışmalara örnekler verilmiştir.



Şekil 3.55 Literatürde bulunan farklı çalışmalarda DMPO-OH spin bileşiğinin ESR spektrumu (A:Applerot ve ark., 2009, B: He ve ark., 2014, C:Uchino ve ark.,2002)

DMPO kullanılarak yapılan ölçümlerde, ZnO süspansiyonundaki oksijen radikali varlığı başarılı olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürdeki verilerle uyumluluk göstermektedir. Şekil 3.47 ve 3.48’de sadece DMPO içeren çözeltinin sırasıyla karanlıkta ve UV ışık etkisi altında oluşan spektrumları görülmektedir. Bu spektrumlarda herhangi belirgin bir sinyal alınamamıştır. Çözeltiye çinko oksit eklenmesiyle DMPO-OH spin bileşiğine ait 4’lü sinyallerden oluşan spektrum Şekil 3.49-3.51’de görülmektedir. Bu spektrumların UV ışık görmemiş çinko okside ait olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Buradan anlaşılacağı üzere çinko oksit, UV ışığı olmadan da oksijen radikali salımı yapabilmektedir. Metal oksitlerin UV ışık etkisi olmadan katalitik etki göstermesi halen tartışılan bir konudur. Farklı metal oksitlerden karanlıkta oksijen radikali salımıyla ilgili görüşler önceki bölümlerde detaylı olarak irdelenmiştir. Çinko oksit, elektronik yapısı nedeniyle, foton enerjisi olmadan da katalitik etki gösterebilmektedir. Diğer bir etken de metal oksit yüzeyinde oluşabilecek yüzey hataları, söz konusu durumda oksijen boşluklarıdır. Karanlıkta yapılan deneylerde çinko oksit varlığında oksijen radikali tespit edilmesinin bu fenomenlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hirota ve ark. (2010) Ve Prasanna ve Vijayaraghavan (2015), deneylerde çinko oksidin karanlıkta oksijen radikali salımı yaptığını belirtmişlerdir. Xu ve ark. (2013) ise çinko oksit yüzeyinden karanlıkta OH radikali üretilmediğini fakat yüzeydeki oksijen boşluklarının artmasıyla ortamda hidrojen peroksit varlığının arttığını belirtmişlerdir. Hidrojen

peroksidin bozunarak farklı oksijen radikalleri ortaya çıkarması olasıdır. Bu sonuçlar bizim tarafımızdan elde edilen verilerle paralellik göstermektedir.

Çinko oksidin UV ışık ile ön muamelesi sinyal şiddetlerinde belirgin bir artışa neden olmamıştır.

UV ışığın oksijen radikali salımı üzerinde dramatik bir etkisi olduğu görülmektedir. Çinko oksit içeren DMPO çözeltilerinin ESR spektrumlarındaki sinyal şiddetlerindeki belirgin artış gözle görülebilecek seviyededir (Şekil 3.52-3.54). UV ışık etkisiyle, çinko oksidin valans bandındaki elektron iletken banda geçerek elektron-boşluk çifti oluşturmaktadır. Bu olgu sayesinde katalitik etki gözlenerek oksijen radikallerinin oluşumu gerçekleşmektedir. Aynı konsantrasyondaki çinko oksit numunelerinin karanlıkta ve UV ışık altında salım yaptıkları oksijen radikali miktarındaki bu fark göz önünde bulundurulursa, fotokatalitik etkinin, çinko oksidin yüzey hataları sebebiyle veya elektronik yapısı nedeniyle karanlıkta gösterdiği katalitik etkiden daha etkili olduğu anlaşılmaktadır.

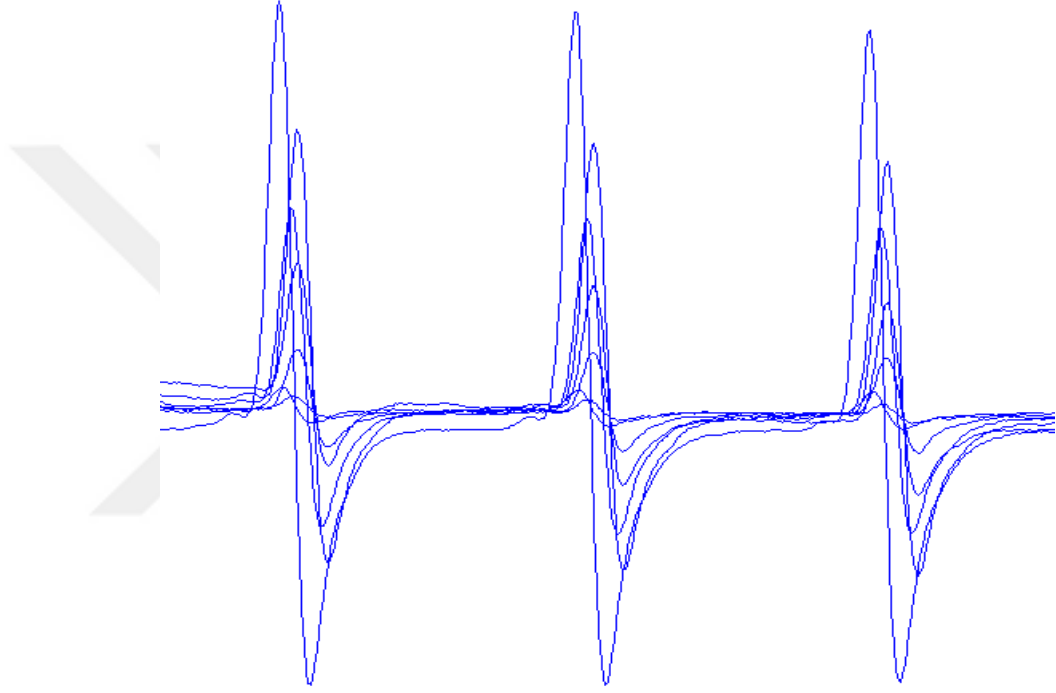
### *3.5.1.2 Oksijen radikali konsantrasyonu tespiti*

Metal oksit bileşiklerinin antibakteriyel etkisinin oksijen radikalleri ile ilişkisi daha önceki dönemlerde belirtilmiştir. Bu aşamada, antibakteriyel etki ile salınan oksijen radikali miktarı arasında bir bağıntı olup olmadığının araştırılması önem arz etmektedir. Zira çalışmanın amaçlarından bir tanesi bu mekanizmanın ortaya konmasıdır. Eğer antibakteriyel etki gösteren minimum oksijen radikali konsantrasyonu tespit edilebilirse, taşıyıcı bantlar üzerinden elde edilecek ESR sinyalleri ile daha sağlıklı antibakteriyel etkinlik yorumu yapılabileceği düşünülmektedir.

Oksijen radikali konsantrasyonu tespiti, kararlı bir radikal olan TEMPO spin etiketinin bilinen konsantrasyonlarında (1, 2, 5, 10, 15, 20 ve 30  $\mu\text{M}$ ) alınan ESR sinyallerinin alanlarının sinyalin çift katlı integrali alınarak hesaplanması sonucu çıkarılan kalibrasyon eğrisi vasıtasıyla yapılmıştır. DMPO spin tuzağı yardımıyla çinko oksit yüzeyinden salınan radikaller yakalanıp ESR ölçümleri alındıktan sonra



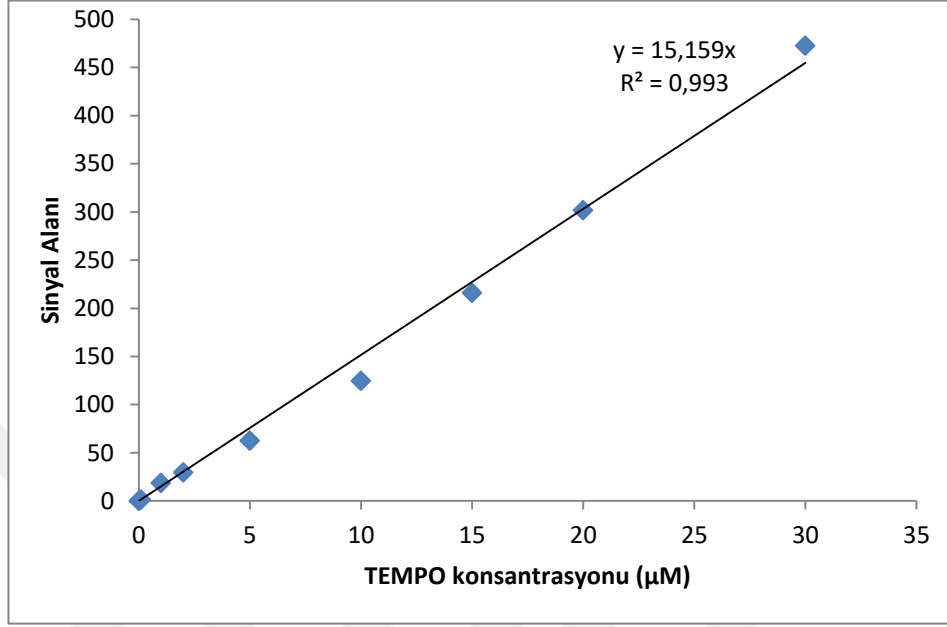
spektrumdaki sinyal alanları çift katlı integral alınmak vasıtasıyla hesaplanmış ve TEMPO ile çıkartılan kalibrasyon eğrisi kullanılarak çinko oksit yüzeyinden salınan oksijen radikali miktarı hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisi için ESR ile yapılan belirli konsantrasyonlardaki (1-30  $\mu\text{M}$ ) TEMPO stabil radikaline ait ESR spektrumları Şekil 3.56'da görülmektedir.



Şekil 3.56 TEMPO stabil radikaliyle kalibrasyon çalışmasına ait ESR spektrumları (1-30  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda TEMPO içeren çözeltilerle yapılan ölçümler)

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde farklı metal oksit yüzeylerinden salınan oksijen radikali miktarı benzer şekilde, TEMPO radikalinin bilinen konsantrasyonlardaki sinyallerinin spin tuzağı vasıtasıyla elde edilen sinyallerle karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. TEMPO ve DMPO-OH radikallerinin ESR sinyalleri ele alındığında, sinyalin en düşük değerdeki noktasının 0 değerinde olmadığı görülmektedir ve sinyalin minimum noktası sıfıra eşitlenmeden yapılan alan hesaplaması gerçek sinyal alanını vermemektedir. Bu noktada ESR spektrumunda her sinyalin minimum noktası sıfıra eşitlenerek tek tek bütün

sinyallerin alanı hesaplanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. TEMPO'nun bilinen konsantrasyonlarıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 3.57'de görülmektedir.



Şekil 3.57 Spektrumdaki her sinyalin minimum noktası sıfıra eşitlenerek tek tek bütün sinyallerin alanının hesaplanması ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisi

Karanlıkta bekletilen 1 g/L çinko oksit-DMPO süspansiyonu için hesaplanan oksijen radikali miktarı 0.3 µM olmuştur . Bu konsantrasyon, ölçümü yapılan numuneler içerisinde en düşüğü olarak göze çarpmaktadır. Daha önceden yapılan metal oksitlerin bakteri büyüme eğrilerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda 1 g/L'lik konsantrasyonun bakteri büyümesine olumsuz etki gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda bu konsantrasyondaki oksijen radikali salımının bakterilerin yaşamsal faaliyetlerinde durdurucu etki yaptığı sonucuna ulaşılabilir. Unutulmaması gereken nokta, ESR için yapılan ölçümlerde DMPO çözeltisinin 30 dakika süreyle çinko oksit tozuyla etkileşime girdiğidir. Klasik anlamda uygulanan antibakteriyellik testlerinde antibakteriyel madde (çinko oksit) 24 saat boyunca bakterilerle temas halinde olmaktadır. Yapılan ölçümlerde dikkat çekici olan bir nokta da UV ışık altında olsun veya olmasın artan çinko oksit konsantrasyonuna karşın hesaplanan oksijen radikali konsantrasyonunda çarpıcı bir değişim olmamasıdır. Karanlık

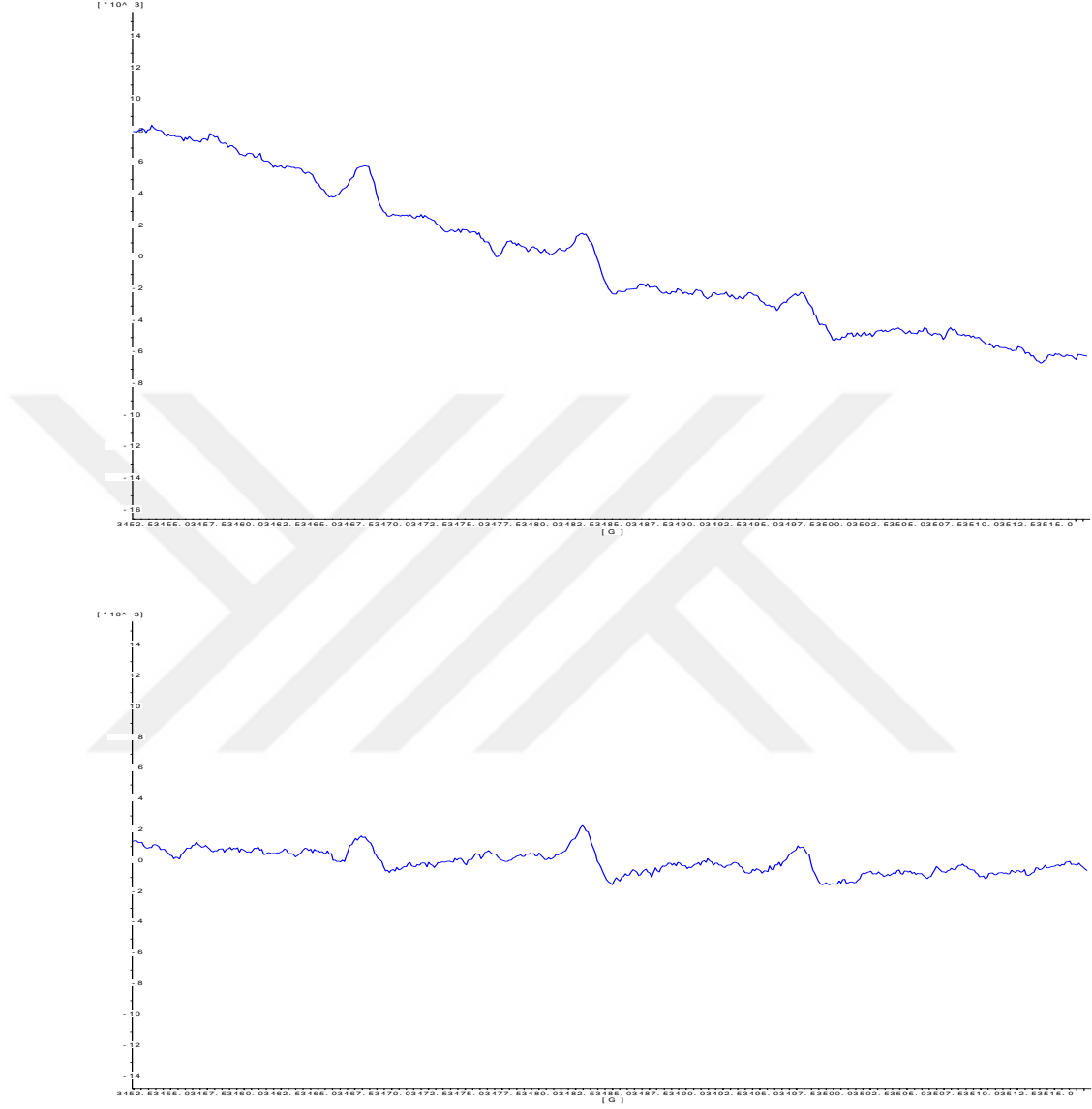
koşullarda DMPO ile etkileşime sokulan 10 ve 100 g/L'lik ZnO süspansiyonlarında tespit edilen oksijen radikali miktarı sırasıyla 1.15 ve 0.82  $\mu\text{M}$ 'dir. UV ışığa maruz bırakılan 1, 10 ve 100 g/L konsantrasyondaki numunelerden salınan oksijen radikali konsantrasyonları sırasıyla 7.78  $\mu\text{M}$ , 7.67  $\mu\text{M}$ , 7.82  $\mu\text{M}$ 'dir.

Özellikle UV ışık altındaki numunelerden salınan oksijen radikali konsantrasyonlarının birbirine oldukça yakın çıkması önemli bir sonuçtur. DMPO çözeltisinin konsantrasyonunun yetersiz kaldığı düşünülmektedir zira teorik olarak her bir oksijen radikali bir DMPO molekülüyle reaksiyona girmektedir, çözeltideki DMPO konsantrasyonunun 0,02 M olduğu düşünüldüğünde, ortaya çıkan oksijen radikali moleküllerinin reaksiyona girebileceği yeterli sayıda DMPO molekülü ortamda bulunmaktadır. Bu noktada, radikal miktarlarının benzer çıkmasının ardında, metal oksit tozunun suda çözünmeyen bir yapıda olmasının yatması olasılıklardan bir tanesidir; metal oksit tozu kümesinin su ile temas eden yüzey alanı sınırlı olabilir. Bununla birlikte çözelti içerisindeki dinamiklerden kaynaklanan bir sınırlama ortaya çıkması olasılığı da vardır, radikallerin birbirini sönmüş olması mümkündür. Bu sonuç, ilerleyen bölümlerde incelenecek olan floresin deneyleriyle de örtüşmektedir.

### *3.5.1.3 Magnezyum Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri*

Magnezyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen Elektron Spin Rezonans spektrumları Şekil 3.58'de görülmektedir. Magnezyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu DMPO-OH spin bileşiğinin karakteristik dörtlü sinyale sahip ESR spektrumu elde edilememiştir. Fakat Şekil 3.58 incelendiğinde üçlü bir sinyal ortaya çıktığı görülmektedir. Ortamda bir radikal mevcudiyeti vardır. Bu sinyal TEMPO stabil radikalının sinyaliyle benzerlik göstermektedir. Bu noktada Fiedot ve ekibinin yaptığı çalışmanın incelenmesinde fayda vardır (Fiedot ve ark., 2017), zira bu çalışmada ortamda yüksek miktarda peroksit varlığıyla DMPO'nun spin bileşiği yerine DMPO'nun oksidasyonu ile üçlü sinyale sahip olan nitroksil radikali ortaya çıktığı belirtilmiştir. Bu görüş, TEMPO sinyaliyle olan benzerliği açıklamaktadır. Buradan hareketle, magnezyum oksidin katalitik reaksiyonlar sonucu oksijen radikali salımı yaptığı veyahut katalitik bir reaksiyonla DMPO'nun oksidasyonuna yol açtığı anlaşılmaktadır. Bu da, MgO tozunun antibakteriyel etkisinin oksijen radikalleri

üzerinden olabileceği savını güçlendirmektedir. İlerleyen bölümlerde magnezyum oksidin oksijen salımı yapmasıyla ilgili başka analizlere de yer verilecektir.



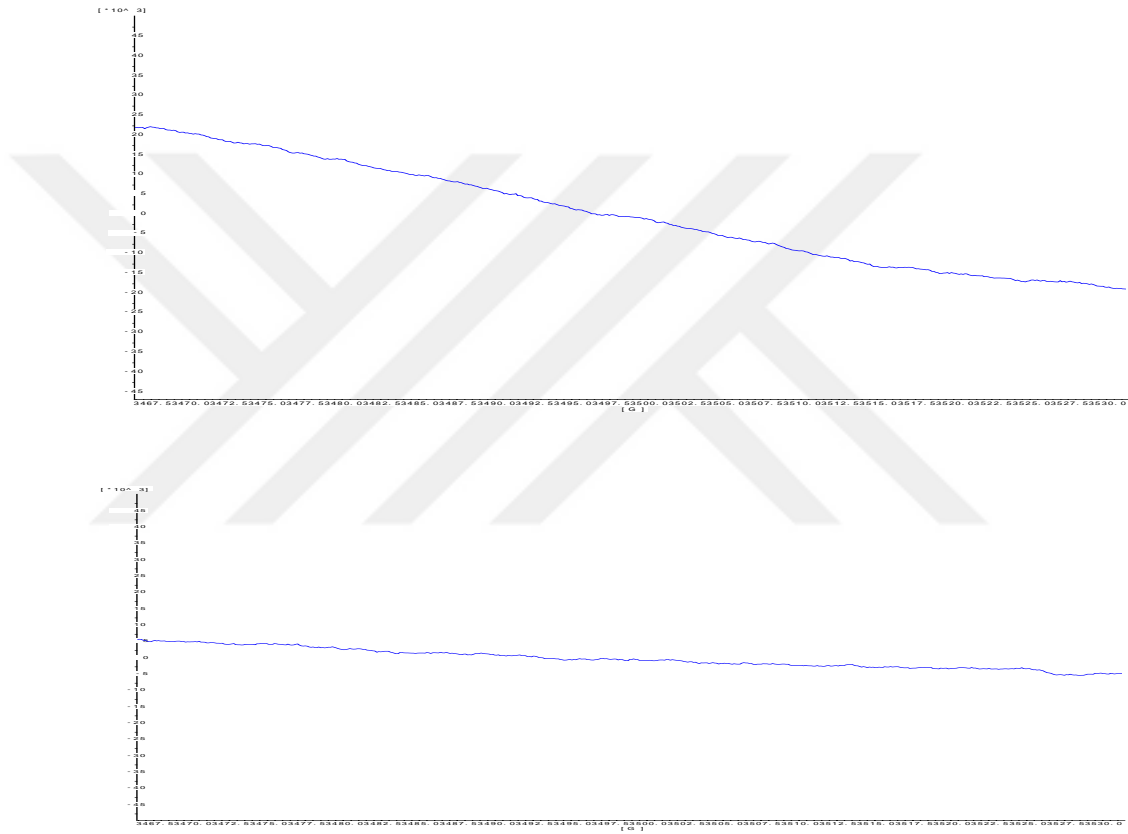
Şekil 3.58 Magnezyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumu (Üstte: Karanlıkta etkileşim, Altta: UV ışık altında etkileşim)

Burada dikkat çeken diğer bir husus da UV ışığı altında ve karanlıkta elde edilen sinyal şiddetlerinin birbirine yakın olduğudur. Bu durumun nedeninin MgO'nun yüksek bant aralığı enerjisi olduğu (7,8 eV düzeyinde (Kurth ve ark., 2006)) düşünülmektedir. Buradan hareketle, deneylerde MgO tozlarına uygulanan UV ışık

kaynağından çıkan fotonların, MgO'nun valans bandındaki elektronları uyararak iletken banda geçişine yetecek enerjiye sahip olmadığı anlaşılmaktadır.

#### 3.5.1.4 Kalsiyum Oksit ve DMPO ile Yapılan ESR Ölçümleri

Kalsiyum oksidin UV ışık altında ve karanlıkta DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumları Şekil 5.59'da görülmektedir.



Şekil 3.59 Kalsiyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumu (Üstte: Karanlıkta etkileşim, Altta: UV ışık altında etkileşim)

Kalsiyum oksidin DMPO ile etkileşimi sonucu ESR'de hiçbir sinyal alınamamıştır. bu noktada süperoksit ve hidroksil radikali yerine singlet oksijen varlığı şüphesi doğmuştur. Fakat singlet oksijen varlığının tespiti için TEMP spin tuzağıyla yapılan deneylerde de bir sonuç alınamamıştır. İleriki bölümlerde görülecek olan floresin ve DCFH-DA deneylerinde kalsiyum oksit ile yüksek miktarda oksijen radikali tespit edilmesine karşın ESR'de oksijen radikali tespit

edilememesi şaşırtıcıdır. Bu durumun açıklığa kavuşabilmesi için tasarlanan deneyde DMPO çözeltisi öncelikle aynı koşullarda CaO ile reaksiyona sokulmuş ardından santrifüjlenen DMPO-CaO süspansiyonu sinyal alınacağı bilinen ZnO ile UV ışık altında reaksiyona sokulmuştur. Deney kontrollü olarak gerçekleştirilmiş ve aynı koşullarda CaO ile reaksiyona girmemiş DMPO çözeltisi de aynı koşullarda ZnO ile reaksiyona sokularak sinyal şiddetlerindeki fark incelenmiştir. Bu ölçüme ait ESR spektrumları Şekil 3.60'da sunulmuştur.



Şekil 3.60. Kalsiyum oksidin DMPO spin tuzağı üzerindeki etkisi (A: CaO-DMPO etkileşimi sonucu elde edilen ESR spektrumu, B: Önce CaO ile etkileşime sokulan DMPO çözeltisinin ardından ZnO ile etkileşime sokulması sonucu elde edilen ESR spektrumu, C: pH 12,6'da çinko oksit ile etkileşim sonucu elde edilen ESR spektrumu D: Aynı DMPO çözeltisiyle direk olarak çinko oksidin etkileşime sokulmasıyla elde edilen ESR spektrumu)

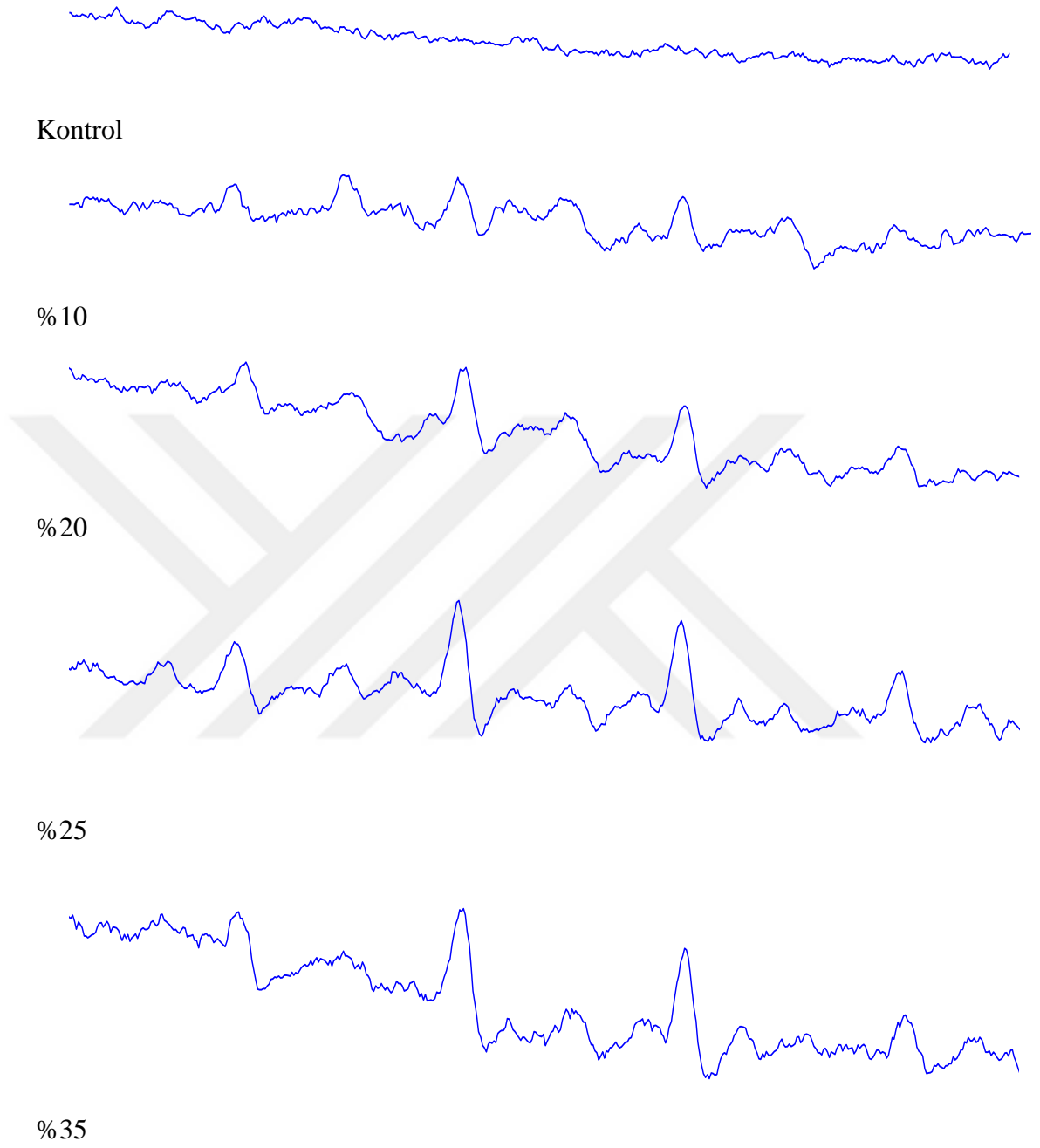
Şekilde sunulan ESR spektrumlarından da anlaşıldığı üzere kalsiyum oksit DMPO'yu etkisizleştirmiş, spin bileşiği yapma kabiliyetini bozmuştur. Çünkü kalsiyum oksitle etkileşime geçen DMPO çözeltisi tekrar ZnO ile etkileşime geçirildiğinde elde edilmesi beklenen ESR sinyali alınamamıştır. Kalsiyum oksidin

ortamın pH'nı 12,6 seviyelerine çıkarmasıyla yüksek baziklikte DMPO'nun işlevini yitirmesi olabileceği akla gelen diğer bir ihtimaldir. Finkelstein ve ekibinin çalışmasında pH'ın yükselmesiyle spin bileşiği sayısının azaldığı belirtilmiştir (Finkelstein ve ark. 1980). Finkelstein ve ekibiyle uyumlu olarak ortam pH'ı kalsiyum oksitle aynı seviyeye getirilerek yapılan ESR ölçümünde ESR sinyal şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir. Fakat sinyal tamamen kaybolmamıştır. Kalsiyum oksidin DMPO'yu spin bileşiği yapamaz hale getirmesinin tek nedeninin yüksek pH olmadığı açıktır. Kalsiyum oksidin DMPO üzerindeki bu etkisinin nedeninin kalsiyum oksidin yüksek miktarda salım yaptığı oksijen radikalleri ile DMPO'nun yapısını bozduğu olabileceği düşünülmektedir.

#### *3.5.1.5. Metal oksit tozu içeren kaplanmış numuneler ve DMPO ile yapılan ESR ölçümleri*

Farklı konsantrasyonlarda çinko oksit içeren kaplanmış malzemeler ile yapılan ölçümlere ait ESR spektrumları Şekil'de görülmektedir. Konsantrasyon hesaplarında ESR ölçümleri her farklı konsantrasyon için en az 5 farklı numuneyle tekrar alınarak yapılmıştır. Şekil 3.60'da görülen sinyaller görsel değerlendirme yapılabilmesi açısından sunulmuş 1 set deneyin sinyalleridir.

Kontrol örneğinden, DMPO varlığında ve UV ışık altında hiçbir sinyal alınamamıştır bu nedenle çinko oksit katkılı numunelerde alınacak sinyallerin çinko oksit kaynaklı olacağı anlaşılmaktadır. %10'luk numuneden ESR sinyali alınmıştır. Bu numunenin sinyal şiddeti, beklentilerle ve numunenin antibakteriyel etkinliğiyle (%79.25) uyumlu olarak, en düşük seviyededir.



Şekil 3.61 Kaplanmış numunelerde değişen çinko oksit konsantrasyonlarında elde edilen ESR spektrumları

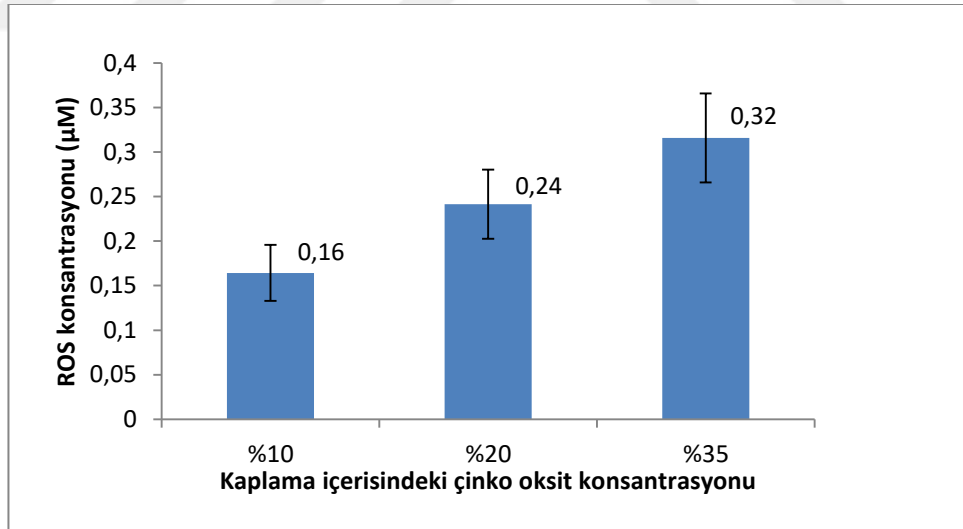
Konsantrasyon artışı ile birlikte sinyal şiddetlerindeki artış da göze çarpmaktadır %15ve 20'lik konsantrasyonlarla yapılan deneylerde de kademeli bir artış söz



konusudur bu numunelerin antibakteriyel etkinlikleri sırasıyla %93 ve %94 seviyelerinde bulunmuştur. Dikkat edilirse %15 ve %20 çinko oksit içeren numunelerin antibakteriyel etkinlikleri ve ESR sinyal şiddetleri birbirlerine yakındır. %25 çinko oksit katkılanan numunenin antibakteriyel etkinliği %99.93 seviyesine çıkmıştır ve bu durum ESR sinyal şiddetindeki artışla paraleldir.

%25 çinko oksit içeren numunenin sinyal şiddeti %15 ve 20 çinko oksit içeren numunelerle karşılaştırıldığında antibakteriyel etkinlikteki artışın izleri ESR sinyallerinde de görülmektedir. En yüksek sinyal şiddeti, öngörülerle paralel olarak, %35 çinko oksit içeren numune ile elde edilmiştir. Hatırlanacağı üzere, %35 ZnO içeren numunenin antibakteriyel etkinliği %99.99 olarak belirlenmiştir.

Oksijen radikali miktarının hesaplanması için TEMPO'nun bilinen konsantrasyonlarıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. %10, %20 ve %35 çinko oksit içeren kaplanmış malzemelerden salındığı tespit edilen oksijen radikali miktarları ise Şekil 3.62'de sunulmuştur.



Şekil 3.62 Çinko oksit içerikli kaplanmış numuneler üzerinde tespit edilen oksijen radikali konsantrasyonları

Çinko oksit içeren polimerik kaplı tekstillerin ESR sinyalleri ile antibakteriyel etkinlikleri arasında bir bağ olduğu sinyal şiddetlerinin incelenmesiyle göze

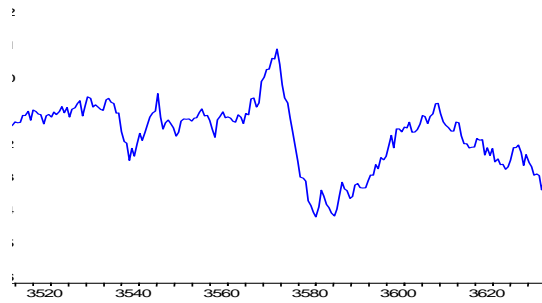
çarpmaktadır. Bu bağın sayısal olarak ifade edilebilmesi için sinyal alanlarının hesaplanarak salınan oksijen radikali miktarının hesaplanması yoluna gidilmiştir.

%10, %20 ve %35 çinko oksit içeren kaplanmış numunelerden sırasıyla 0,16, 0,24 ve 0,32  $\mu\text{M}$  hidroksil ve süperoksit radikali salımı yapıldığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 3.61'deki sinyal şiddetlerinin görsel değerlendirmesiyle ve bu konsantrasyonlarda çinko oksit içeren numunelerin antibakteriyel etkinlik testlerinde elde edilen verilerle uyumludur. Bu durum, ESR'de elde edilen sonuçların antibakteriyel etkinlik hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Elde edilen mevcut veriler yeni bir test metodu geliştirmek için yeterli olmasa da bu alanda yapılacak gelecek çalışmaların önünü açması açısından kayda değerdir.

Kalsiyum oksit ve magnezyum oksit içeren kaplanmış numunelerden bu yöntemle oksijen radikali tespiti, önceki bölümlerde detaylı olarak anlatılan sebeplerden dolayı mümkün olmamıştır.

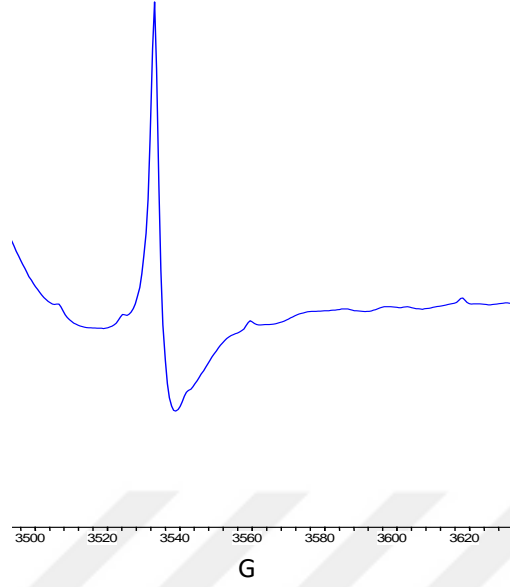
### ***3.5.2 Metal Oksit Yüzeylerindeki Oksijen Boşluğu Varlığının ESR Tekniği Kullanılarak İrdelenmesi***

ESR, metal oksitlerdeki bölgesel hataların incelenmesi için genellikle başvurulan bir tekniktir. Tek yüklü bir oksijen boşluğunda bulunan eşlenmemiş elektron paramanyetiktir ve dolayısıyla ESR'de tespit edilebilir (Xu ve ark, 2013; Vlasenko, 2010). Şekil 3.63 ve 3.64'te sırasıyla çinko oksit ve magnezyum oksit tozlarına ait ESR ölçümlerinin spektrumları görülmektedir.



G

Şekil 3.63 Çinko oksit tozunun ESR spektrumu

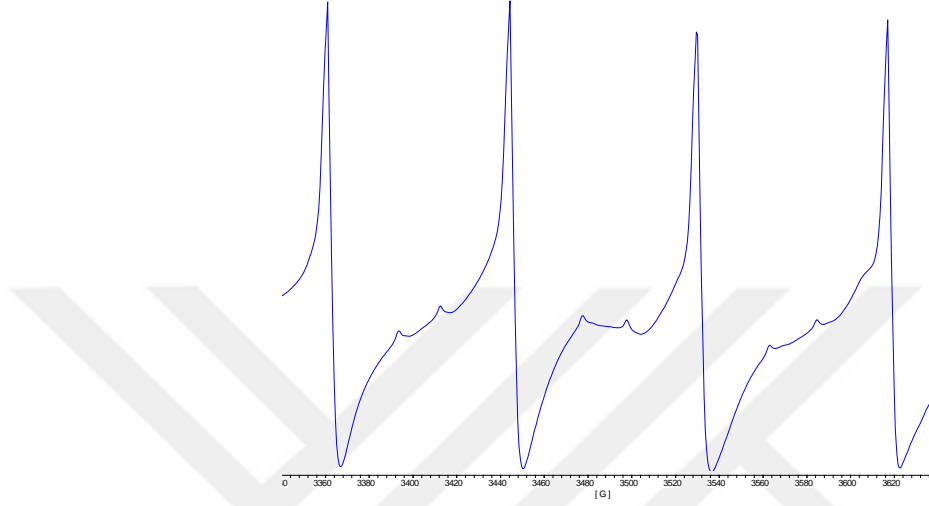


Şekil 3.64 Magnezyum oksit tozunun ESR spektrumu

Çinko oksidin fotokatalitik reaksiyonlarla oksijen radikali salımı yapması iyi anlaşılmiş bir durumdur. Bu çalışma kapsamında, gerek ESR tekniğiyle gerekse DCFH-DA probuyla yapılan deneylerde, kullanılan metal oksitlerin karanlıkta da oksijen radikali salımı yaptığı gösterilmiştir. Karanlıkta oksijen radikali salımı gerçekleşmesi için farklı bir açıklamaya gerek vardır. Metal oksitlerde oluşan yüzey hataları, özellikle oksijen boşlukları, karanlıkta oksijen salımı yapılmasına ışık tutabilir niteliktedir. Çinko oksidin ESR spektrumunda elde edilen tekli sinyal, incelenen çinko oksit numunesinde paramanyetik bir merkez bulunduğunun kanıtıdır. Aynı şekilde, magnezyum oksidin ESR spektrumunda tekli bir sinyal göze çarpmaktadır. Bu sinyal de paramanyetik bir merkezin varlığını ortaya koyar. Literatürde, çinko oksitte bulunan oksijen boşluklarının incelendiği çalışmalarda (Polarz ve ark., 2006; Prasanna ve Vijayaraghavan, 2015; Xu ve ark., 2012; Xu ve ark., 2013) elde edilen bulgular, bu çalışmada elde edilen ESR bulguları ile uyumluluk göstermektedir. Buradan hareketle çinko oksidin ESR spektrumunda görülen paramanyetik merkezin oksijen boşluğu kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Pacchioni, magnezyum oksidin ESR sinyalini incelediği çalışmasında oksijen boşluklarının varlığını ortaya koymuştur. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler Pachioni tarafından elde edilen bulgularla paralel çizgidedir. Bu nedenle

magnezyum oksidin ESR spektrumunda tespit edilen paramanyetik merkezin oksijen boşluğu kaynaklı olduğu düşüncesi ağır basmaktadır.

Kalsiyum oksit tozuna ait ESR spektrumu Şekil 3.65'te görülmektedir.



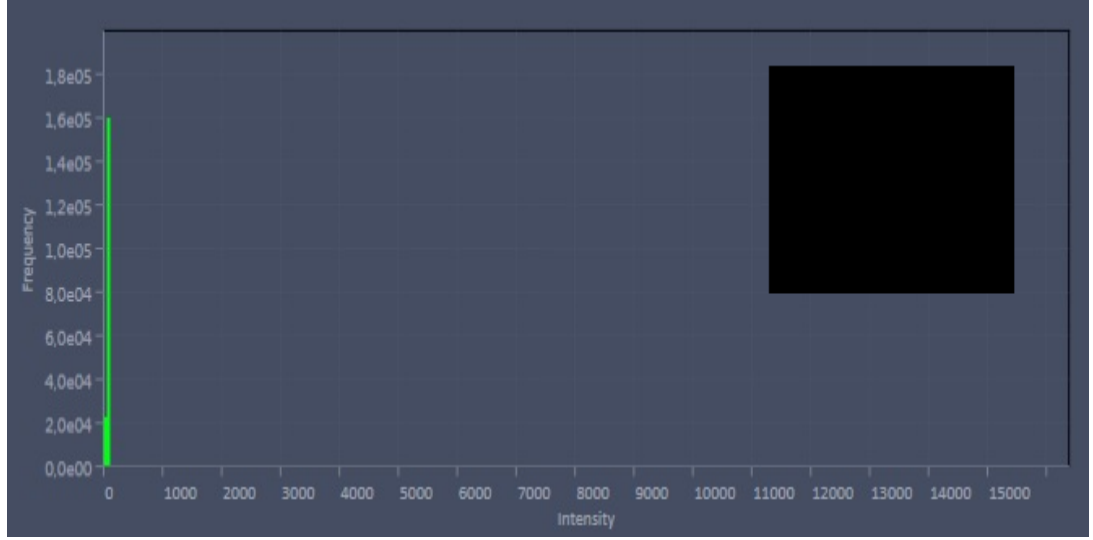
Şekil 3.65 Kalsiyum oksit tozunun ESR spektrumu

Kalsiyum oksidin ESR spektrumu, yapıdaki eser miktarda manganez iyonunu ortaya koymuştur. Bu sonuca literatürde bulunan benzer çalışmalar (de Biasi ve Grillo, 1999; de Biasi ve Grillo, 2014) incelenerek ulaşılmıştır. Bu nedenle kalsiyum oksit üzerinde oksijen boşluğu tespiti mümkün olmamıştır.

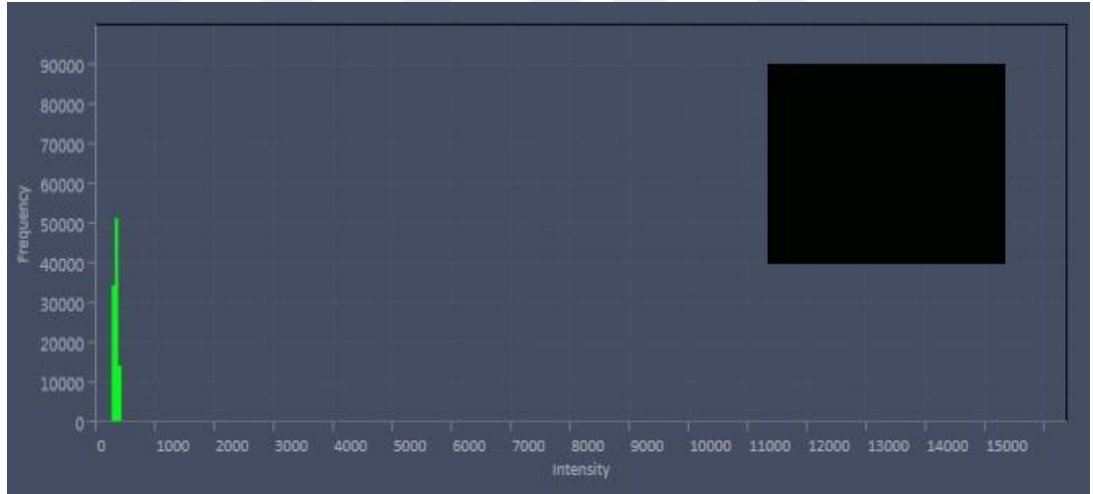
### 3.5.3 DCFH-DA Probu Kullanılarak Yapılan Ölçümler

#### 3.5.3.1 Floresan Mikroskop Kullanılarak Yapılan Deneyler

Şekil 3.66 – 3.73'te örneklerin mikroskop görüntüleri ve floresans yoğunlukları görülmektedir. Görüntülerde bakteriler görülemeyecek kadar küçük olsalar da arka plandaki ışığa DCF ile tepkimeye giren oksijen radikalleri varlığını göstermektedir. Şekil 3.74'te ise mikro plaka okuyucu kullanılarak elde edilen floresans değerleri görülmektedir.



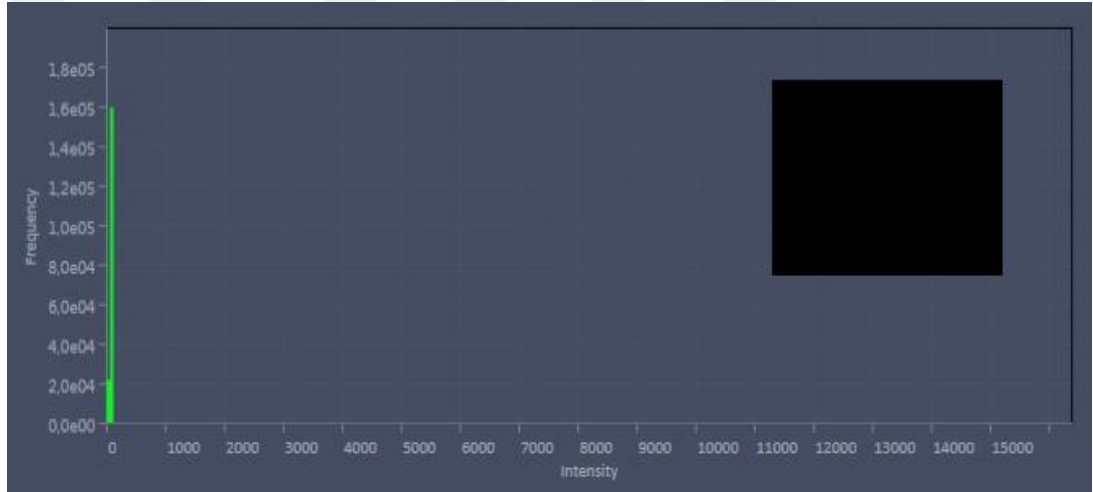
Şekil 3.66 Sadece bakteri içeren mikro plaka hücresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu



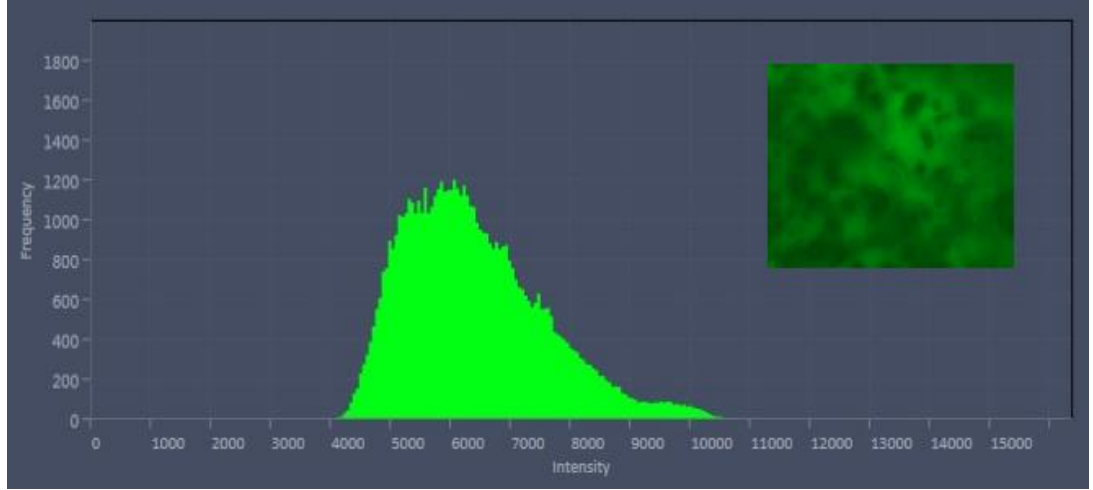
Şekil 3.67 Bakteri ve DCFH-DA içeren mikro plaka hücresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

Elde edilen mikroskobik veriler bizlere kantitatif bir değerlendirmeden ziyade kalitatif bir yorum yapabilmemize imkan vermektedir. Diğer bir deyişle oksijen radikali türü ve miktarı gibi parametreleri tespit etmemiz mümkün olmasa bile metal oksit varlığında hücrenin oksijen radikaline maruz kalıp kalmadığı

anlaşılabilmektedir. Şekil 3.66 ve 3.67, metal oksit içermeyen, sadece bakteri içeren numunelere ait verileri göstermektedir. Bu numunelerden elde edilecek gözlemler metal oksit varlığında alınacak verilerin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Sadece bakteri içeren numunenin herhangi bir ışımaya vermediği görülmektedir ki bu durum öngörüldüğü gibidir. Şekil 3.67 incelendiğinde, floresans yoğunluğunda düşük miktarda bir artış ve mikroskop görüntüsünde belirli-belirsiz bir ışımaya görülmektedir. Metal oksit içermeyen bu numunede bir miktar ışımaya saptanmasının nedeninin, bakterinin kendi metabolizmik faaliyetleri sonucu oluşan oksijen radikalleri olabileceği düşünülmektedir.

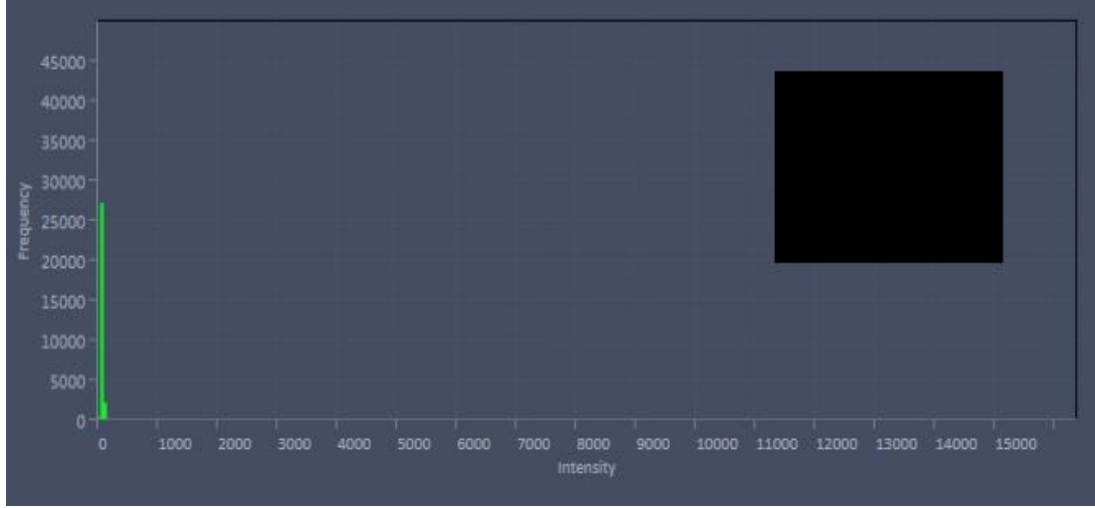


Şekil 3.68 Bakteri ve çinko oksit içeren mikro plaka hücresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

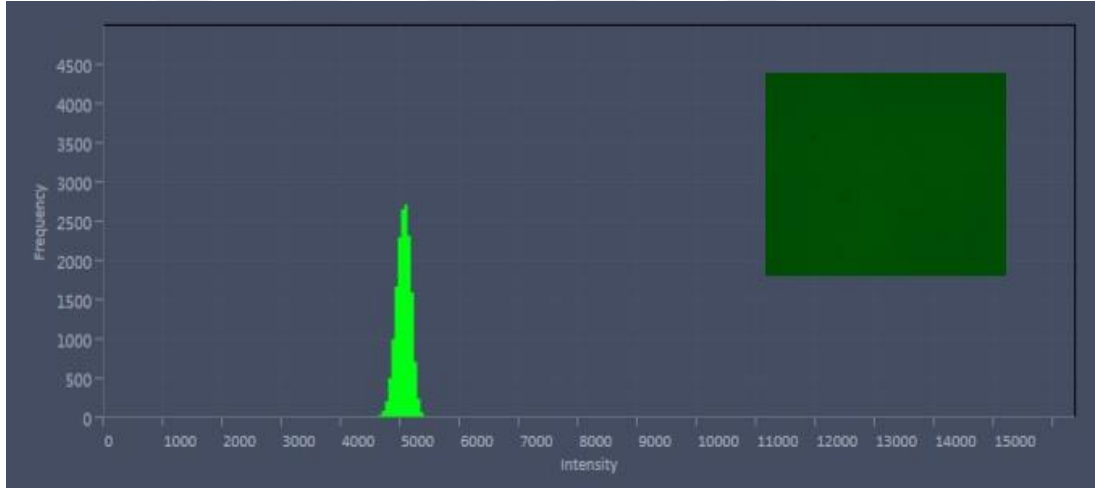


Şekil 3.69 Bakteri, çinko oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hüresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

Şekil 3.68 ve 3.69'da çinko oksit içeren numuneler sunulmuştur. Şekil 3.68 DCFH-DA içermeyen Şekil 3.69'da ise DCFH-DA içeren numune görülmektedir. DCFH-DA içermeyen numunenin floresans yoğunluğu ve mikroskop görüntüsü incelendiğinde belirgin bir ışımaya varlığından söz edilemez. Zaten ortamda floresans özellikli bir madde olmadığı için bu durum doğaldır ve çinko oksidin, inceleme yapılan parametrelerde ışımaya yapmadığını göstermesi açısından önemlidir. Her ne kadar şeffaf mikro plakaya aktarım yapılırken dipteki metal oksit tortusu alınmamaya çalışılsa da bir miktar metal oksidin aktarım sırasında geçmiş olması kuvvetle muhtemeldir. Bu nedenle metal oksidin ayarlanan parametrelerde ışımaya yapmadığının görülmesi olumlu bir sonuçtur. Şekil 3.69'u incelediğimizde kuvvetli bir floresans ışımaya ilk bakışta göze çarpmaktadır. DCFH-DA'nın hücre içerisindeki esterazlar tarafından parçalanıp oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek DCF oluşturmadan floresans özelliği olmadığı hatırlandığında, çinko oksidin oksijen radikali salımı yapmasıyla bakteri hücresi içerisinde bir oksijen radikali varlığından bahsetmemiz mümkündür. Kontrol numunesinde ışımaya olmadığı göz önünde bulundurulduğunda bu ışımaya çinko oksit varlığıyla oluştuğu anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar ESR'de elde edilen verilerle uyumluluk göstermektedir. Karanlıkta ve UV ışık altında çinko oksit varlığında oksijen radikali salımı yapıldığı ESR ile tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında çinko oksidin hücre içerisinde oksijen radikali varlığına sebep olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 3.70 Bakteri ve magnezyum oksit içeren mikro plaka hüresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

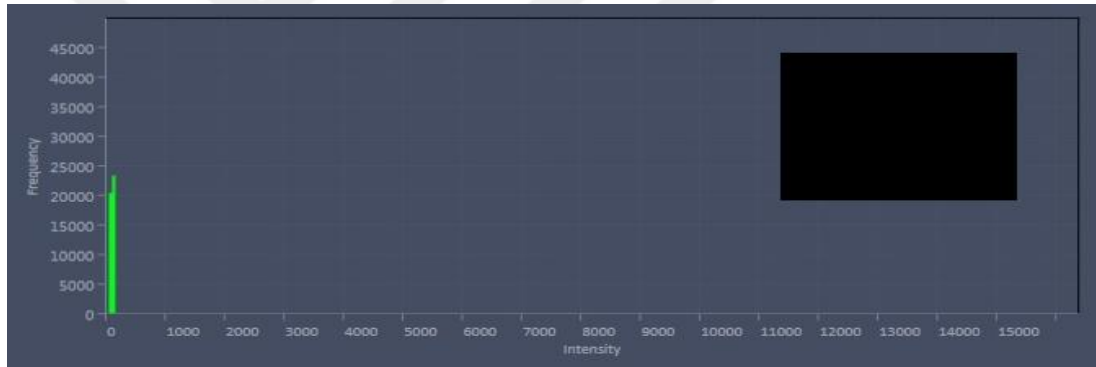


3.71 Bakteri, magnezyum oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hüresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

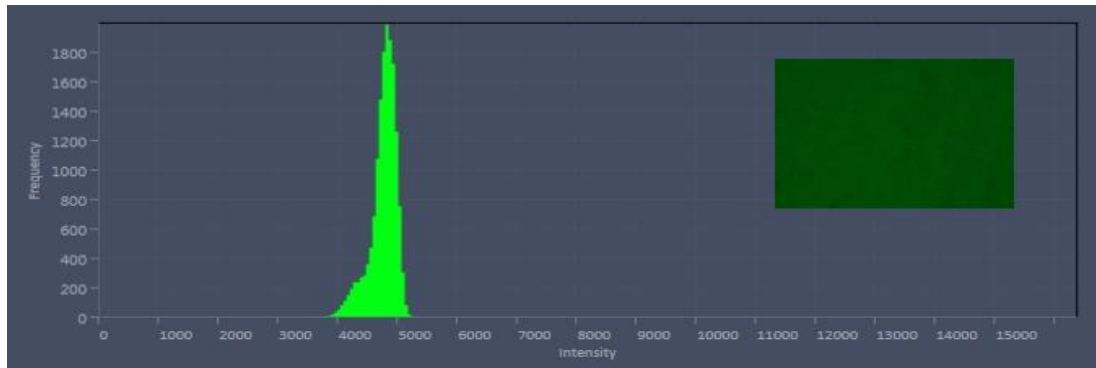
Şekil 3.70 ve 3.71 incelendiğinde DCFH molekülünün magnezyum oksit varlığında DCF'ye dönüşerek floresan hale geldiği görülmektedir. Hem mikroskop görüntüsü hem de floresans yoğunluğu hücre içerisinde oksijen radikali varlığını doğrulamaktadır. Floresinle yapılan deneylerde magnezyum oksit ile oksijen radikali oluşumuna dair bir veri alınamamıştır (ilerleyen bölümlerde değinilecektir).ESR'de



yapılan ölçümlerde ise DMPO'nun magnezyum oksit tarafından yükseltgendiği tespit edilmiştir fakat bu etkinin direk olarak magnezyum oksidin katalitik reaksiyonuyla mı yoksa oksijen radikalleri salımıyla mı gerçekleştiğinin belirlenmesi mümkün olmamıştır. Lakin, DCFH-DA analizi ile oksijen radikali varlığı tespit edilmiştir. Magnezyum oksit içeren numunenin floresansının çinko oksit ve kalsiyum oksit içeren numuneden daha düşük olduğu görülmektedir bu nedenle floresinin bozunmasının UV-vis spektrometrede tespit edilememiş olabileceği akla gelen olasılıklardan bir tanesidir. Prob olarak kullanılan kimyasalların hassasiyetlerinin ve girdikleri kimyasal reaksiyonların farklı olmasının da magnezyum oksit üzerinden salınan oksijen radikali tespitinde farklılıklar yaratmış olabileceği düşünülmektedir. Kalsiyum oksitle yapılan floresan mikroskop ölçümleri Şekil 3.72 ve 3.73'te verilmiştir.



Şekil 3.72 Bakteri ve kalsiyum oksit içeren mikro plaka hüresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

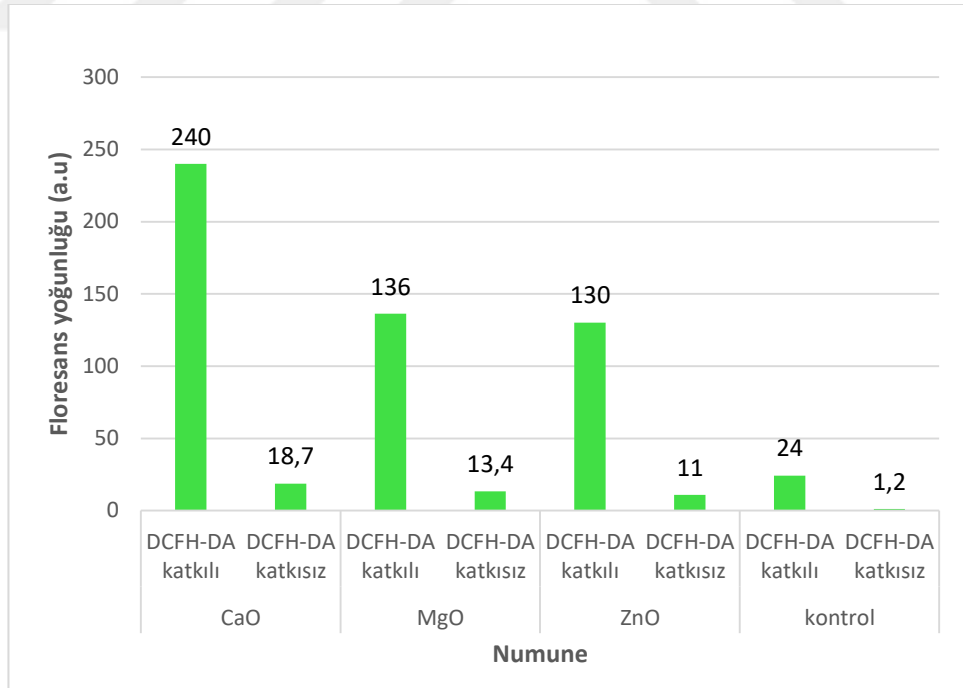


Şekil 3.73 Bakteri, kalsiyum oksit ve DCFH-DA içeren mikro plaka hüresine ait mikroskop görüntüsü ve floresans yoğunluğu

Kalsiyum oksitle yapılan deneylerde DCFH-DA içermeyen numune herhangi bir ışığa vermemiştir. Şekil 3.73 incelendiğinde kalsiyum oksit varlığında da diğer numunelerdeki gibi bariz bir floresanstan bahsetmek mümkündür. Işımanın kaynağının DCFH ile reaksiyona giren, kalsiyum oksit kaynaklı oksijen radikalleri olduğu düşünülmektedir. Kalsiyum oksit floresinin UV-vis absorbansında düşüşe neden olduğu için ortama oksijen radikali salımı yaptığı düşünülmüştür. Bu düşünce şekil 46'daki verilerle de uyumludur. Şekil 3.73, Kalsiyum oksidin hücre içerisinde oksijen radikali konsantrasyonunun artmasına neden olduğu şeklinde yorumlanmaktadır. ESR deneylerinde kalsiyum oksidin bir şekilde DMPO'nun oksijen radikalleriyle spin bileşiği oluşturmasını engellediği tespit edilmiştir.

### 3.5.3.2 DCFH-DA ve Mikro Plaka Okuyucu ile Yapılan Deneyler

Floresan mikroskopla elde edilen veriler mikro plaka okuyucu ile yapılan deneyde de paralellik göstermektedir. DCFH-DA içeren numunelerle mikropilaka okuyucuda yapılan florimetrik ölçüm sonuçları Şekil 3.74'te sunulmuştur.



Şekil 3.74 Mikro plaka okuyucu ile elde edilen floresans değerleri

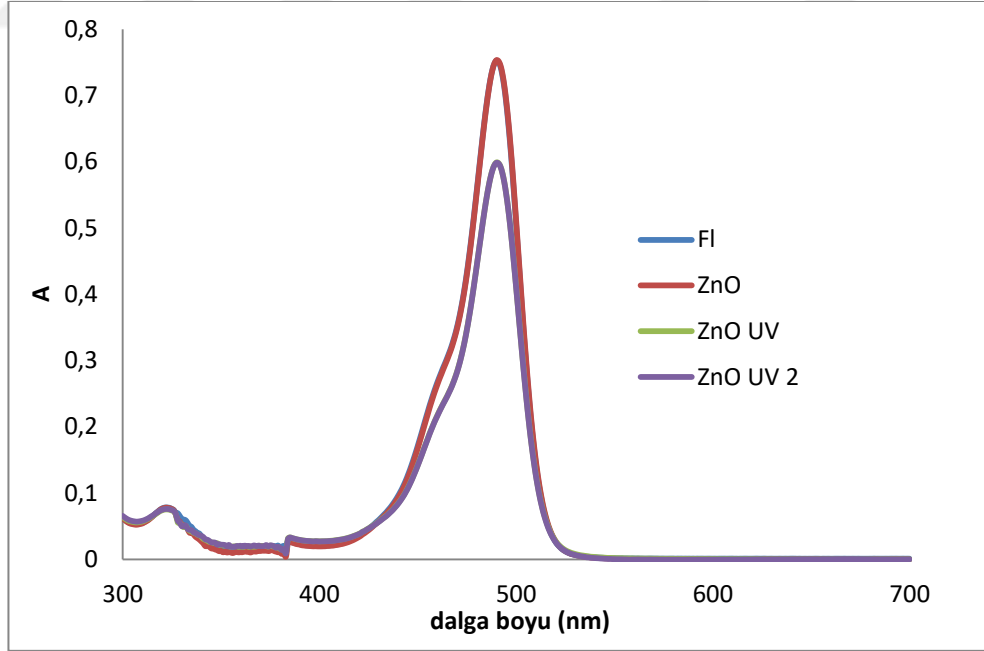
Floresans işaret molekülü içermeyen numunelerin floresansı birbirlerine yakın ve oldukça düşüktür. Bu numuneler içerisinde sadece bakteri içeren numunenin floresansı bir miktar daha düşüktür bunun nedeninin ortamda bulunan metal oksit varlığıyla floresansın küçük bir miktar değişmesi olarak yorumlanabilir. DCFH-DA içeren metal oksit katkılı numunelerin floresansındaki artış bariz bir şekilde görülmektedir. Floresans, özellikle kalsiyum oksit ve DCFH-DA içeren örnekte, bakteri ve DCFH-DA içeren numuneyle karşılaştırıldığında 10 katına çıkmıştır, bu çok ciddi bir artıştır. Magnezyum oksit içeren numunedeki rölatif floresans artışı %460, çinko oksit içeren numunedeki rölatif floresans artışı % 440 olmuştur. Bu sonuçlar bize, hücre içerisinde parçalanmış DCFH-DA'nın oksijen radikalleriyle reaksiyona girdiğini göstermektedir ve deneyde kullanılan metal oksitlerin (MgO, CaO, ZnO) *Listeria innocua* türü bakteri hücrelerinin içinde oksidatif strese neden olduğu konusunda önemli bir kanıttır.

Kalsiyum oksit içeren numunede bu denli yüksek oksijen radikali tespit edilmesi bazı konulara da ışık tutmaktadır. ESR ölçümlerinde kalsiyum oksidin DMPO'nun yapısına yüksek miktarda oksijen radikali salımı nedeniyle zarar vermiş olması savı güç kazanmaktadır. Diğer altı çizilmesi gereken önemli noktalardan biri de antibakteriyel etkinlik testleriyle alakalıdır. Hatırlanacak olursa kalsiyum okside uygulanan testlerde oldukça yüksek antibakteriyel etkinlik sağlanmış ve özellikle %10 kalsiyum oksit katkısı üzerindeki konsantrasyonlarda seyreltilmemiş ekimlerde dahi hiçbir bakteri kolonisine rastlanmamıştır. Magnezyum oksit ve çinko oksit katkılı numunelerde %99,9 gibi oldukça yüksek antibakteriyel etkinlik sağlanmış olmasına karşın çok az miktarda da olsa bakteri kolonisi tespit edilmiştir. Bu sonuçlar mikrop laka ölçümlerinde alınan sonuçlarla paralel çizgide görünmektedir, kalsiyum oksidin neden olduğu yüksek oksidatif stresin yüksek antibakteriyel etkinliğe neden olduğu düşünülmektedir.

### 3.5.4 Floresin (Fluorescein) İle Yapılan Ölçümler

#### 3.5.4.1 Çinko Oksit İle Yapılan Ölçümler

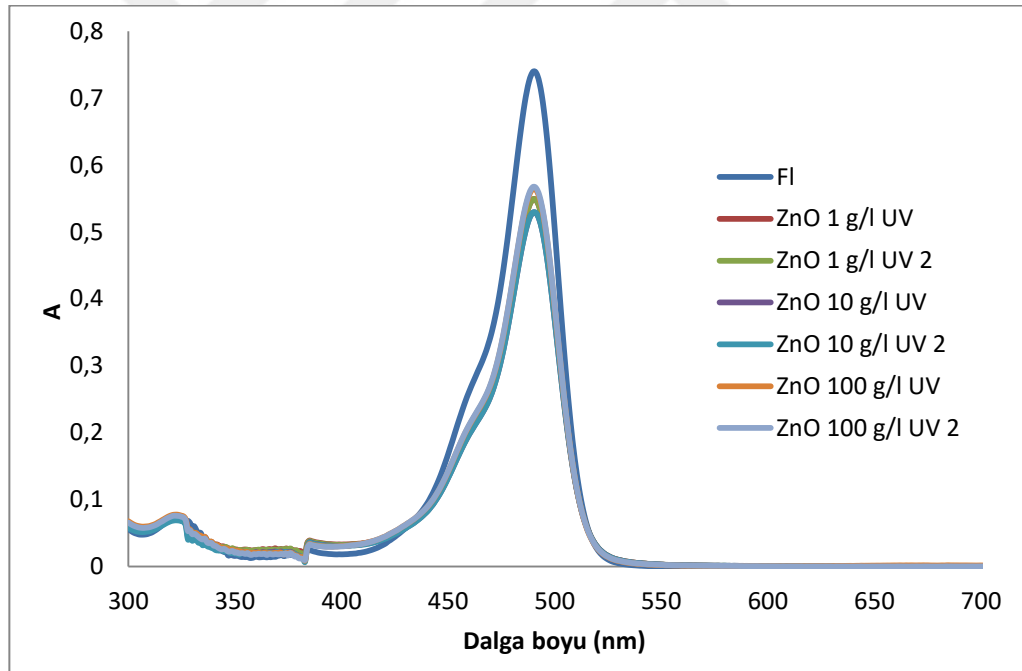
Şekil 3.75'te 1 saat süreyle UV ışık altındaki 10 g/L konsantrasyonda çinko oksidin floresinle etkileşimini gösteren UV-vis absorpsiyon spektrumu görülmektedir. Spektrum 490 nanometre bandında güçlü bir absorpsiyon piki vermiştir. 1 saat süreyle 10 g/L çinko oksit ile karanlıkta etkileşime sokulan floresin çözeltisinin absorpsiyonunda bir düşüş olmamasına karşın UV ışık ile uyarılan örneğin spektrumunda oldukça belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Hatırlanacağı üzere, ESR ile spin tuzaklama yöntemiyle yapılan deneylerde benzer bir sonuçla karşılaşmıştır. 30 dakikalık 10 g/L ZnO ve DMPO çözeltisi etkileşimi sonucunda karanlıkta yapılan ölçümlerde 1.15  $\mu\text{M}$ , UV ışık altındaki etkileşim sonucunda 7.67  $\mu\text{M}$  oksijen radikali saptanmıştır. Şekil 3.75 incelendiğinde UV-vis ile yapılan ölçümlerde, işlem görmemiş floresin çözeltisinin 490 nm'deki rölatif absorbansı 0.75 dolaylarındayken 1 saat UV ışık maruziyetiyle 0.59'a düşmüştür.



Şekil 3.75 10g/L ZnO konsantrasyonunda UV ışık altında 1 saat bekletilen çözeltinin UV-vis spektrumu

Gerek bu tez çalışması kapsamında yapılan çalışmalarda, gerekse literatürde bulunan araştırmalarda çinko oksidin katalitik etkisi ve katalitik etki sonucu oksijen radikali oluşumu oldukça detaylı olarak irdelenmiştir. UV-vis spektrumda görülmekte olan floresinin bozunması sonucu absorpsiyondaki düşüşün, büyük oranda oksijen radikalleri kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. Bununla beraber, çinko oksit molekülünde UV ışık etkisi ile oluşan elektron-boşluk çiftlerinin yani katalitik etki yaratan olgunun direk olarak floresinin bozunmasına etkisi olup olmadığı, eğer etkisi varsa hangi ölçüde olduğu bilinmemektedir.

Şekil 3.76’da UV ışık altında, değişen çinko oksit konsantrasyonuyla floresinin UV-vis absorpsiyon spektrumundaki değişim görülmektedir. Kontrol deneylerinde, ortamda metal oksit bulunmadığı durumda floresinin 1 saatlik UV ışık maruziyetinde UV-vis absorpsiyon spektrumunda bir değişiklik meydana gelmemektedir.



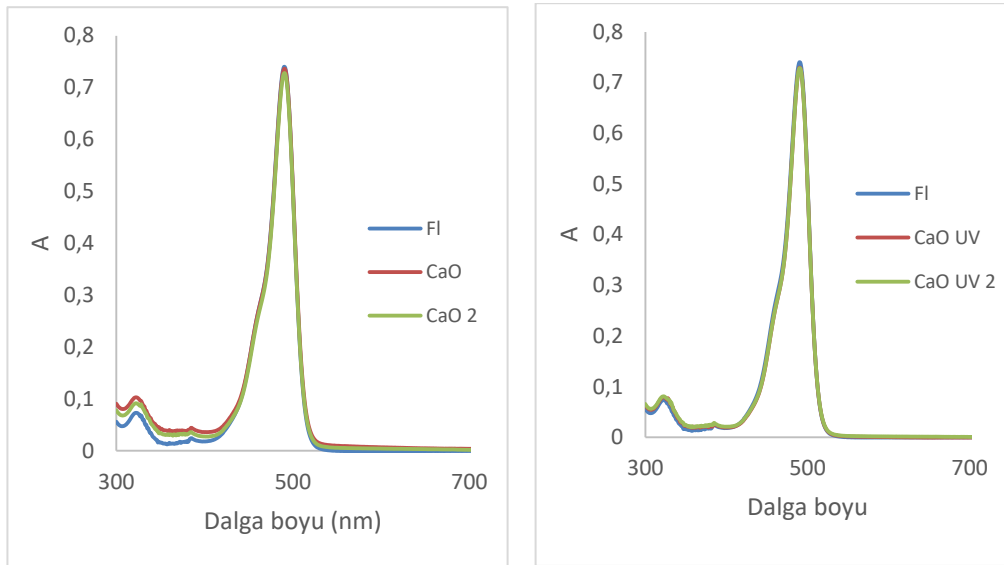
Şekil 3.76 Değişen ZnO konsantrasyonunda UV ışık altında 1 saat bekletilen çözeltinin UV-vis spektrumu

1, 10 ve 100 g/L konsantrasyonlardaki çinko oksitle etkileşime giren floresinin absorpsiyon spektrumunda 491 nm dalgaboyu bandındaki düşüşe konsantrasyonun etkisinin düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar spin tuzaklama yöntemiyle ESR’de

yapılan testlerle uyumluluk göstermektedir. Hatırlanacağı üzere ESR ölçümlerinde 1, 10 ve 100 g/L konsantrasyonlarda sırasıyla 7.78  $\mu\text{M}$ , 7.67  $\mu\text{M}$  ve 7.82  $\mu\text{M}$  oksijen radikali salımı yapıldığı tespit edilmiş, çinko oksit konsantrasyonunun 100 kat artırılmasıyla (1 g/L ve 100 g/L'lik numuneler karşılaştırıldığında) bile kayda değer bir farklılık gözlemlenmemiştir. Floresinle gerçekleştirilen bu deneye ait UV-vis spektrumları incelendiğinde çinko oksitle reaksiyona sokulmayan floresinin 490 nm'deki rölatif absorbansı 0.73 iken 1, 10 ve 100 g/L çinko oksit içeren çözeltilerin absorbansları sırasıyla ortalama 0.55, 0.53 ve 0.56 olarak belirlenmiştir.

#### 3.5.4.2 Kalsiyum Oksit İle Yapılan Ölçümler

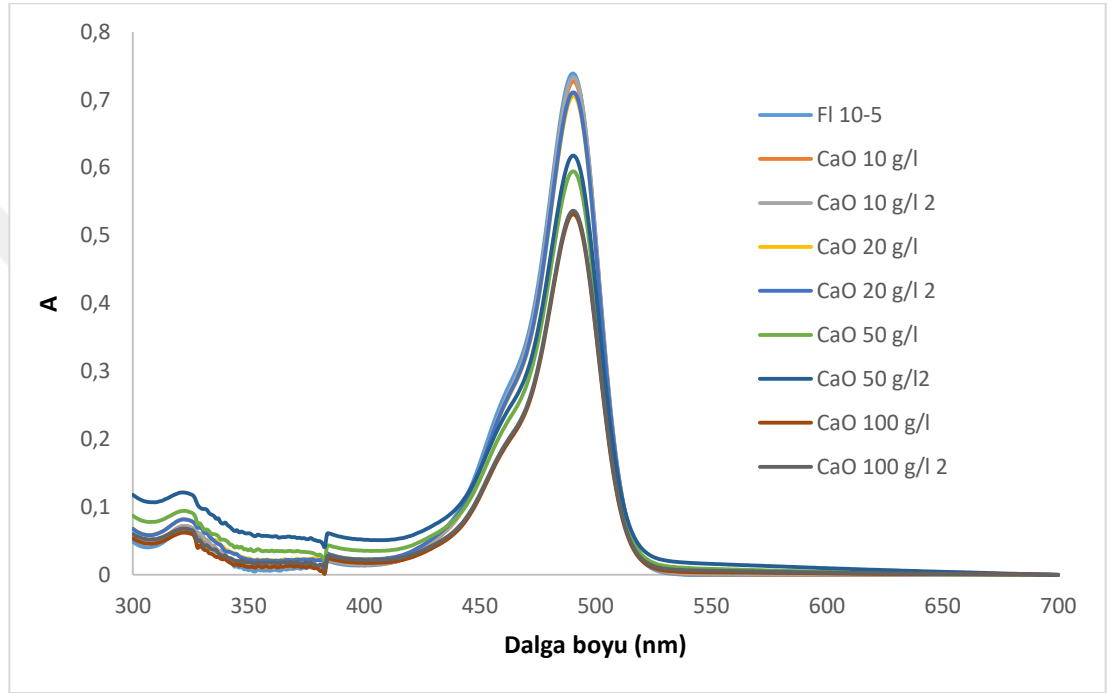
ESR ile yapılan ölçümlerde kalsiyum oksidin oksijen radikali salımı yaptığına dair bir veri alınamamıştır. DMPO spin tuzağı kullanılan deneylerde hidroksil ve süperoksit radikali, TEMP ile yapılan deneylerde singlet oksijen tespit edilememiştir. Bu durum üzerine floresin kullanılarak yeni bir deney düzeneği kurulmuştur. UV ışık altında ve karanlıkta 1 saat bekletilen 10 g/L kalsiyum oksidin floresin çözeltisinin absorbansına olan etkisi Şekil 3.77'de görülmektedir.



Şekil 3.77 Karanlıkta (Solda) ve UV ışık altında (Sağda) 10g/L kalsiyum oksit ve floresinin 1 saatlik etkileşimi sonucu oluşan UV-vis spektrumu

ESR'de alınan sonuçlara paralel olarak, 10 g/L kalsiyum oksidin 1 saat süreyle etki etmesi sonucu floresinin bozunmasına neden olmadığı görülmüştür. Çinko

oksidin aksine, 1 saatlik uygulama ile UV ışığın etkisinin de oksijen radikali salımı üzerine etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak, kalsiyum oksit konsantrasyonunun ve etkileşim süresinin arttırılmasıyla floresinin bozunmasında değişiklik olabileceği düşünülerek 10-100 g/L arasında değişen kalsiyum oksit konsantrasyonlarında 24 saatlik deneyler yapılmıştır ve bu deneylere ait sonuçlar Şekil 3.78’de görülmektedir.



Şekil 3.78 24 saatlik uygulama ile kalsiyum oksit konsantrasyonundaki değişimin floresinin UV-vis spektrumuna etkisi

Kalsiyum oksitle yapılan deneylerde özellikle konsantrasyonun ve etki süresinin artmasının floresinin parçalanmasına etkisinin olduğu görülmektedir. 10 g/L kalsiyum oksit içeren çözeltilerdeki absorbans değerlerinde kayda değer bir değişiklik gözlenmezken, 20 g/L konsantrasyonda bir miktar düşüş gözlenmiş, 50 g/L ve 100 g/L’lik konsantrasyonlarda dikkat çeken bir düşüş tespit edilmiştir. Metal oksitlerle temas etmeyen floresinin 490 nm’deki rölatif absorbansı 0.73, 10 g/L çinko oksit içeren çözeltinin absorbansı 0.73, 20 g/L çinko oksit içeren çözeltinin absorbansı 0.71 olarak tespit edilmiştir. 50 g/L konsantrasyonda yaklaşık %18lik bir düşüş gözlenmiş ve absorbans değerleri yaklaşık 0.60’a inmiştir. 100 g/L

konsantrasyondaki düşüş daha da serttir, %28'lik bir düşüş (ortalama 0.53) gözlenmiştir. Bu sonuçlardan hareketle yüksek konsantrasyonda kalsiyum oksidin etki etmesi sonucu floresinde bozunmaya neden olduğu anlaşılmaktadır.

Hatırlanacağı üzere ESR ile yapılan ölçümlerde DMPO spin tuzağı ile kalsiyum oksitten oksijen radikali salımı yapıldığına dair bir veri elde edilememiştir. Hatırlanacağı üzere kalsiyum oksidin DMPO'nun yapısını bozduğuna ilişkin veriler önceki bölümlerde tartışılmıştır. Floresindeki bozunma da bu verilerle paralel çizgide görünmektedir.

Sawai ve ekibi kalsiyum oksidin antibakteriyel etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kalsiyum oksit ve magnezyum oksit gibi seramik tozlarının bir çok katalizör reaksiyonunda kullanıldığını ve bu özelliklerinin elektron donörü olarak davranmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Süper oksit anyonunun oksijen molekülünün bir elektron alarak indirgendiği ve olası oksijen radikali kaynağının sulu ortamdaki çözünmüş oksijen olabileceği öne sürülmüştür (Sawai ve ark. 2001). Sawai ve ekibinin bir diğer çalışmasında (Sawai ve ark., 1996) ZnO, MgO ve CaO seramik tozlarından oksijen radikali salımının tespiti amacıyla kemiluminisans analizi ve oksijen elektrodu analizi gerçekleştirmişlerdir. Kimyasal prob olarak fenil-10-metil-akridinyum-9-karboksilatflorosülfonat (PMAC) kullanmışlar ve mikro plaka okuyucu kullanarak çalışmışlardır. Magnezyum ve kalsiyum oksit ile oksijen elektrodu yöntemiyle yapılan ölçümlerde oksijen radikali tespit edilemezken kimyasal prob yardımıyla oksijen radikali salımını tespit etmişlerdir (Sawai ve ark., 1996). Oksijen reaksiyonları metal oksit tozlarının yüzeylerindeki aktif indirgen gruplarla ilişkilendirilmektedir. (Baird ve ark., 1972). Ayrıca, Sawai ve ekibi toprak alkali metallerin oksitlerinin yüzeyi OH<sup>-</sup> tabakasıyla kaplı olduğunu belirtmişlerdir. Iizuka ve Tanabe'nin MgO, CaO ve SrO yüzeylerinde piridinin dimerizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada kalsiyum oksit ve magnezyum oksit yüzeyinde O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalinin ESR ile tespit edildiği bildirilmiştir (Iizuka ve Tanebe, 1975).

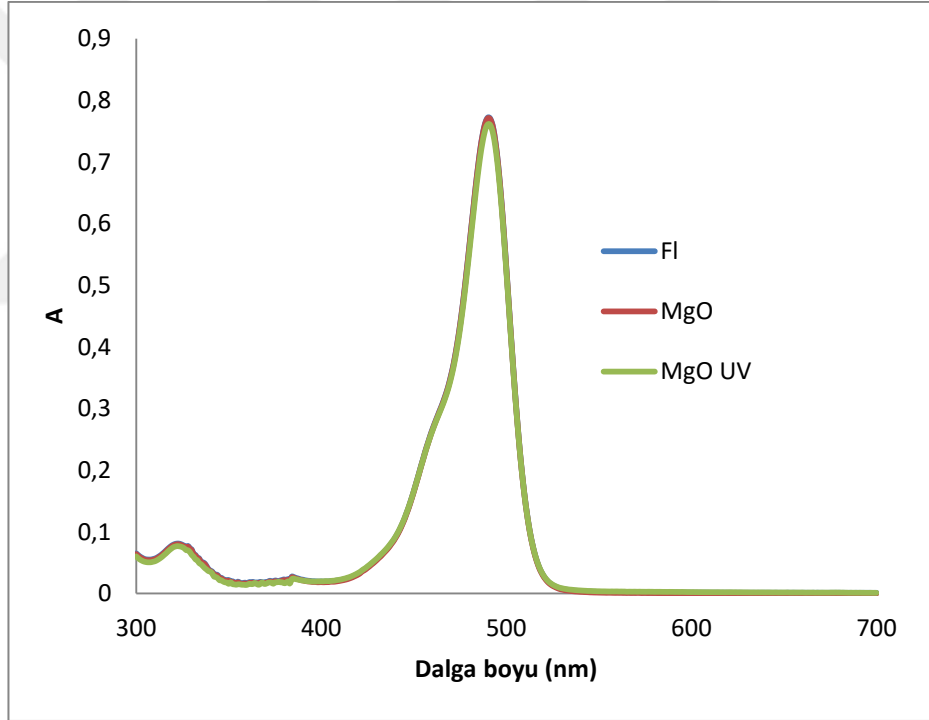
Görüleceği üzere, literatürde yer alan çalışmalarda kalsiyum oksit ve magnezyum oksit yüzeylerinde oksijen radikalleri oluşumuna dair önemli bulgular vardır. Floresin ile yapılan deneylerde floresinin absorbansının düştüğü dolayısıyla bozunma



gerçekleştiği ortadadır. Bu sonuçlar literatürde yer alan bilgiler ve bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen deneyler ışığında değerlendirildiğinde, floresindeki bu bozunmanın oksijen radikalleri vasıtasıyla gerçekleştiği düşünülmektedir.

#### 3.5.4.3 Magnezyum Oksit İle Yapılan Ölçümler

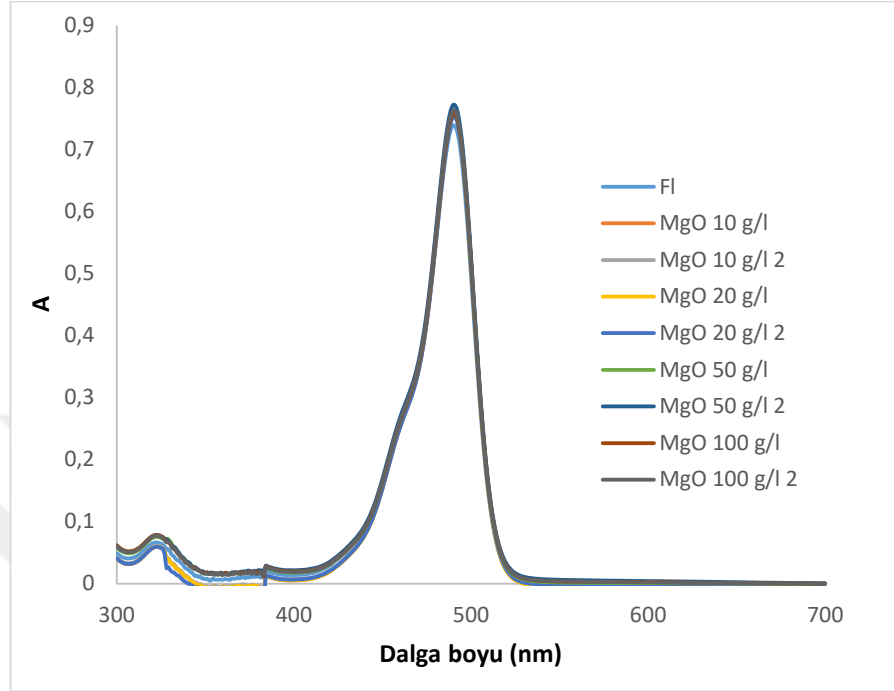
Magnezyum oksidin floresin ile UV ışık etkisinde ve karanlıkta etkileşimi ile elde edilen UV-vis spektrumu Şekil 3.79'da görülmektedir. 10 g/L magnezyum oksit konsantrasyonunda 1 saatlik uygulama ile floresinin absorbansında bir değişim olmadığı saptanmıştır. UV ışığın da absorbans özellikleri üzerinde bir etkisi olmadığı görülmüştür.



Şekil 3.79 10 g/L MgO konsantrasyonunda ve 1 saat etkileşim süresinde UV etkisi altında ve karanlıkta floresin absorbansındaki değişim

Floresin ile yapılan testlerde elde edilen veriler ışığında magnezyum oksit yüzeyinden oksijen radikali salımı yapıp yapılmadığına dair bir yorum yapılamamıştır. Bunun üzerine konsantrasyon ve etkileşim sürelerinin artırılmasının floresin spektrumunda yapacağı değişiklikler araştırılmıştır. Magnezyum oksidin,

floresinle karanlıkta, 24 saat süreyle ve farklı konsantrasyonlarda etkileşimi sonucu elde edilen UV-vis spektrumu Şekil 3.80’de görülmektedir.

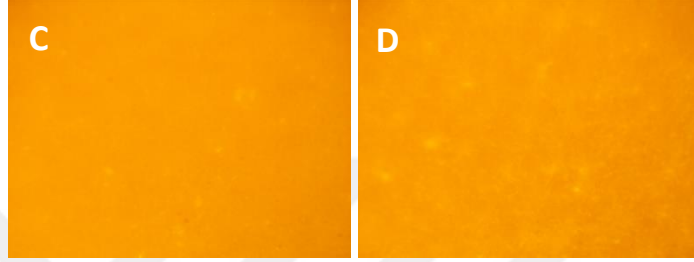
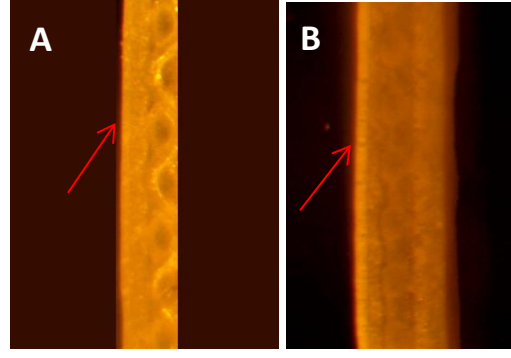


Şekil 3.80 Farklı konsantrasyonlarda MgO ile 24 saat etkileşim süresi sonrası floresin absorbensindeki değişim

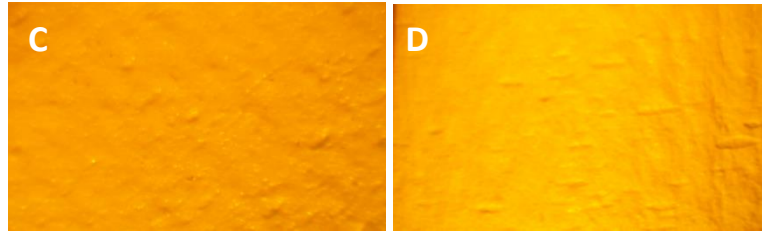
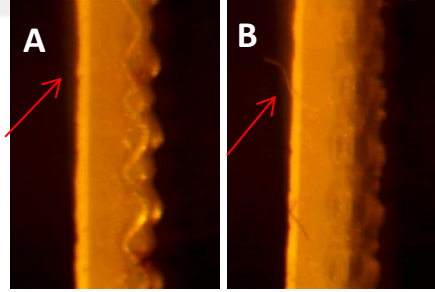
Şekil 7’de görüldüğü üzere etkileşim süresinin uzaması ve konsantrasyonun 100 g/L gibi yüksek seviyelere çıkması dahi floresin absorbensında düşüğe neden olmamıştır. Bu nedenle floresin ve magnezyum oksit etkileşiminden yola çıkarak magnezyum oksidin değişen konsantrasyonlarında, farklı bekleme sürelerinde ve UV ışık etkisi altında veya karanlıkta oksijen radikali salımı yaptığını veya yapmadığına dair bir yorum yapmak mümkün değildir.

### 3.6 Kaplamada Füzyonun ve Katmanlar Arası Adezyonun Değerlendirilmesi

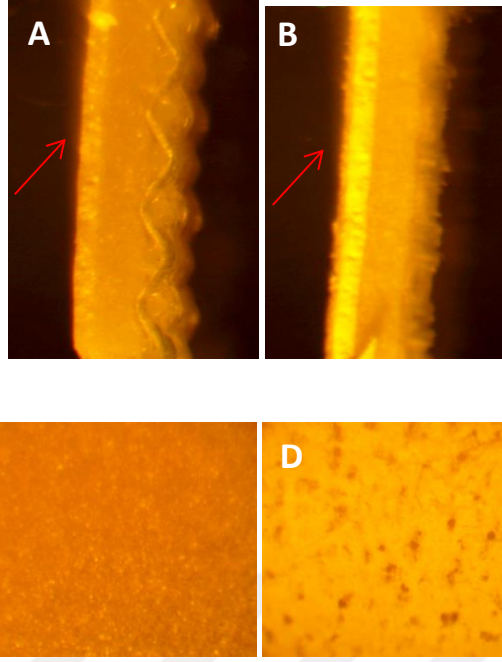
Kaplamada füzyonun değerlendirilmesi için kullanılan ASTM D 4005-92 standardı görsel değerlendirmeye dayanan bir test yöntemidir. İşlem sonrasında yüzeydeki çatlak, delik, ayrılma v.s. durumlar gözlenir. Bu standart uyarınca işleme tabi tutulan kumaş görüntüleri Şekil 3.81 – 3.83’te sunulmuştur.



Şekil 3.81 %20 magnezyum oksit katkılı numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri (A: İşlem görmemiş numunenin kesit görüntüsü, B: İşlem görmüş numunenin kesit görüntüsü, C: İşlem görmemiş numunenin yüzey görüntüsü, D: İşlem görmüş numunenin yüzey görüntüsü)



Şekil 3.82 %35 çinko oksit katkılı numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri (A: İşlem görmemiş numunenin kesit görüntüsü, B: İşlem görmüş numunenin kesit görüntüsü, C: İşlem görmemiş numunenin yüzey görüntüsü, D: İşlem görmüş numunenin yüzey görüntüsü)



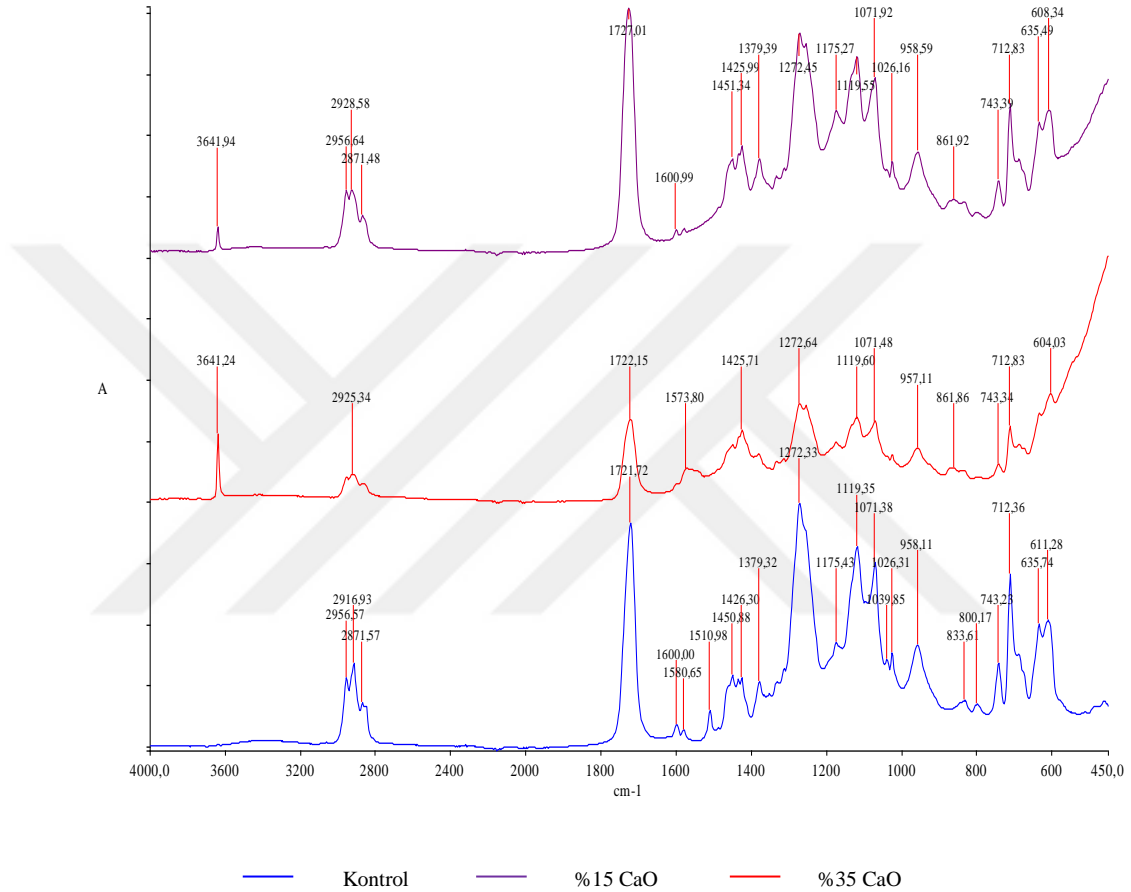
Şekil 3.83 %20 kalsiyum oksit katkıli numunenin analiz öncesi ve sonrası mikroskop görüntüleri (A: İşlem görmemiş numunenin kesit görüntüsü, B: İşlem görmüş numunenin kesit görüntüsü, C: İşlem görmemiş numunenin yüzey görüntüsü, D: İşlem görmüş numunenin yüzey görüntüsü)

Çinko oksit ve magnezyum oksit katkıli kaplama yüzeylerinde herhangi bir deformasyon görülmemektedir. Kalsiyum oksit katkıli kaplama yüzeyinde ise mikro deformasyonlar dikkat çekmiştir. Fakat üç metal oksidin katkılandığı numuneler ayrı ayrı incelendiğinde, üst kaplama katmanı ile taban kaplaması arasında herhangi bir ayrılma gözlenmemiştir. Buradan hareketle, antibakteriyel etki gösteren üst katmanla alt polimer katmanı arasındaki adezyonun ihtiyaçlara cevap verecek yeterlilikte olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar antibakteriyel etkinliğin yıkamaya karşı değişiminin incelendiği testlerle de uyumluluk göstermektedir; tekrarlı yıkamalar sonucu antibakteriyel etkinlikte düşüş olmamıştır.

### 3.7 FT-IR (Fourier Transformed Infrared Spectrometry) Analizleri

FTIR, kimyasal yapıların çalışılmasında önemli bir araçtır. IR spektrum incelenerek kimyasal yapı ve diğer kimyasal bileşenlerle etkileşimler hakkında fikir sahibi olmak mümkündür (Ramesh ve ark., 2007; Silva ve ark., 2011). Bu tez çalışması kapsamında, metal oksit katkısının kaplama polimerinin kimyasal yapısı

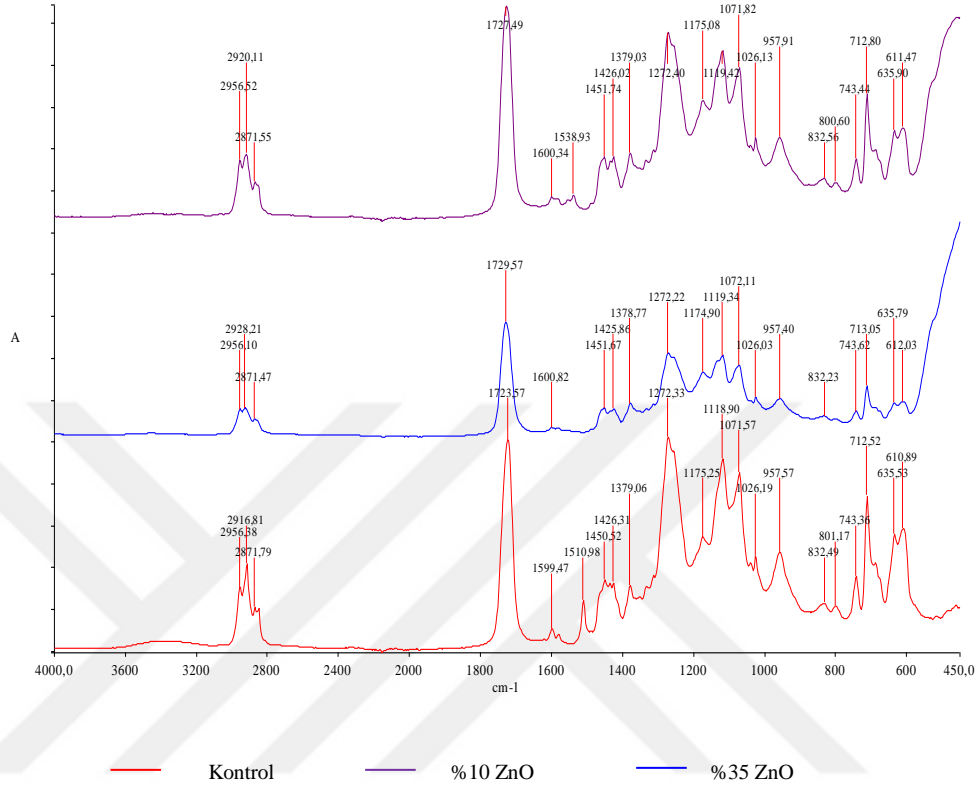
üzerindeki etkilerinin irdelenebilmesi için FTIR analizleri yapılmıştır. Şekil 3.84'te kalsiyum oksit katkılı Şekil 3.85'te çinko oksit katkılı polimerik kaplamalara ait FTIR spektrumları görülmektedir.



Şekil 3.85 Kalsiyum oksit katkılı polimerik kaplamanın FTIR spektrumu

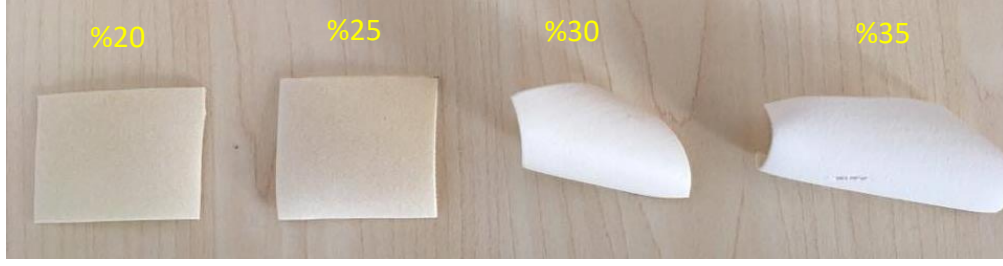
Metal oksit katkılanmamış PVC numunelerinin (Kontrol) FTIR spektrumları literatürdeki çalışmalarla örtüşmektedir (Ramesh ve ark., 2007; Silva ve ark., 2011; Tabb ve Koenig, 1975). 2916 cm<sup>-1</sup> dolayında C-H gerilme titreşimi, 1721 cm<sup>-1</sup> dolaylarında C=O gerilme titreşimi, 833 cm<sup>-1</sup>'de C-Cl gerilme titreşimi, 1272 cm<sup>-1</sup>'de CH sallanma titreşimi, 611 cm<sup>-1</sup> dolayında cis-CH dalgalanma titreşimi, 743 cm<sup>-1</sup>'de CH düzlem dışı açılı bükülmesi tespit (Ramesh ve ark., 2007; Silva ve ark., 2011; Tabb ve Koenig, 1975). Kalsiyum oksit katkılı numunede 3641 cm<sup>-1</sup>'de elde edilen

pik CaO varlığını göstermektedir (Nasrazadani ve Eureste, 2008). Kalsiyum oksit konsantrasyonunun artmasıyla pik alanında artış olduğu görülmektedir.



Şekil 3.86 Çinko oksit katkılı polimerik kaplamanın FTIR spektrumu

Kalsiyum oksit katkısı %20'nin üzerine çıktığında kaplanmış tekstil materyallerinde zamanla kıvrılma ve kaplamada sertleşme gözlemlenmiştir. Farklı konsantrasyonda kalsiyum oksit içeren kaplanmış örneklerin kıvrılmaları Şekil 3.87'de görülmektedir. Yüksek miktarda kalsiyum oksit katkısının polimer pastasına eklenen plastikleştiricinin etkisini azaltarak kaplama polimerinin camsı geçiş sıcaklığını ( $T_g$ ) yükseltmesinin bu duruma neden olduğu düşünülmüştür. FTIR spektrumları incelenerek konuyla ilgili yorum yapmak mümkündür.



Şekil 3.87 Farklı konsantrasyonlarda kalsiyum oksit katkılanan numunelerde meydana gelen kıvrılma

Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği Konseyi plastikleştiricileri, “plastiklerle birlikte kullanılarak plastiklerin esneklik, çalışılabilirlik ve gerilebilirlik gibi özelliklerini geliştiren maddeler” olarak tanımlar (Daniels, 2009). PVC polimer zincirindeki her bir monomer polar karbon-klor bağı içerir. Bu yapısal özellik sayesinde plastikleştiricilerin aromatik halka veya ftalat esterleri gibi polar kısımları polimere van der Waals kuvvetleriyle ve dipol-dipol etkileşimleriyle bağlanırlar (Daniels, 2009). Tabb ve Koenig ve Silva ve ekibi FTIR spektrumunda transmitans veya absorbansta  $1730\text{ cm}^{-1}$  dolayında gözlenen pikin plastikleştirici kaynaklı C=O bağından dolayı ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Deneysel çalışmalar incelendiğinde plastikleştiricinin etkisiyle  $1730\text{ cm}^{-1}$  dolayındaki pik alanının arttığı açık olarak görülmektedir (Silva ve ark., 2011; Tabb ve Koenig, 1975).

Şekil 3.85’te kalsiyum oksit katkılı kaplama malzemelerinin FTIR spektrumları incelendiğinde, %35 kalsiyum oksit katkısıyla birlikte  $1721\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikin şiddetinin dramatik bir düşüş gösterdiği dikkat çekmektedir. %15 kalsiyum oksit katkısında ise belirgin bir düşüş yoktur. Aynı durum çinko oksit katkısı için de geçerlidir fakat %35 çinko oksit katkısındaki düşüş %35 kalsiyum oksit katkısı kadar keskin değildir. Zaten çinko oksit ve magnezyum oksit katkılanan kaplamalarda, incelenen konsantrasyonlarda, herhangi bir deformasyona rastlanmamıştır. Bu durum FTIR sonuçlarıyla uyumludur. Bununla birlikte, %35 kalsiyum oksit katkılı numunede diğer piklerin de düştüğü gözlemlenmiştir. Bunun nedeninin yüzeydeki yoğun kalsiyum oksit tabakası olduğu düşünülmektedir.  $1721\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikteki düşüşün hem bu fenomenin hem de plastikleştiricinin etkisinin azalmasından kaynaklanıyor olması mümkündür

## BÖLÜM DÖRT

### SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Bu tez çalışmasında öncelikli olarak yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip polimerik kaplı kumaşların üretilmesi ve antibakteriyel aktiviteye neden olan mekanizmanın incelenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, kalsiyum oksit, çinko oksit ve magnezyum oksit metal oksit tozları antibakteriyel katkı maddesi olarak kullanılmıştır.

Öncelikle tek katmanlı kaplamalarla çalışılmıştır. Tek katmanlı kaplamalar hem uygulama kolaylığı sağlaması hem de maliyeti düşürmesi açısından önemlidir. Tek katmanlı kaplamalarda kaplamanın mekanik özellikleri kötü etkilendiği için yüksek konsantrasyonlara çıkılamamıştır. En yüksek metal oksit katkı oranı % 1,5 seviyesinde kalmıştır. Bu durum antibakteriyel etkinliği olumsuz etkilemiştir. Metal oksitlerin antibakteriyel aktivite gösterebilmeleri için bakteri ile temasları elzem olduğundan dolayı yüzeyde olabildiğince yoğun metal oksit varlığı olması gerektiği kanaatine varılmıştır. Düşük konsantrasyonda yüzeydeki metal oksit miktarı yetersiz olduğundan çok yüksek antibakteriyel değerlere çıkılamamıştır. Örneğin % 0,7 çinko oksit içeren numunelerle yapılan tekrarlı deneylerde antibakteriyel etkinlik % 67'ye kadar çıkmış olsa da hiç antibakteriyel özellik göstermeyen numuneler de olmuştur. Bunun üzerine konsantrasyonun artırılması yoluna gidilmiştir. % 1,5 çinko oksit katkısı ile % 36 antibakteriyel etkinlik elde edilmiştir. Magnezyum oksit ve kalsiyum oksit katkısı için de benzer durum gözlenmiştir. %1,5' kadar çıkan konsantrasyonlarda %100 antibakteriyellik elde edilememiştir.

Antibakteriyel etkinliği artırmanın yolunun katkı maddesinin yüzeydeki konsantrasyonunun artırılması olduğu düşünülmüştür. Bu amaçla, yüksek konsantrasyonda (%35'e kadar) metal oksit içeren ikinci kaplama katmanı uygulanmıştır. Bu katmanın antibakteriyel fonksiyonellik sağlaması amaçlanmıştır. İkinci katman çok ince yapıda tasarlandığı için kaplamanın mekanik özelliklerini bozmamıştır. Bu sayede %35 çinko oksit içeren kaplamada %99,99, %5 magnezyum oksit içeren kaplamada %99,99 ve %10 kalsiyum oksit içeren kaplamalarda %99,99



antibakteriyel etkinlik sağlanmıştır. Bu denli yüksek antibakteriyel etkinliğe çıkılmış olması, çalışmanın bu açıdan başarıya ulaştığının göstergesidir. Dikkat çeken nokta, kalsiyum oksit ve magnezyum oksit ile çinko okside göre daha düşük konsantrasyonlarda %99,99 antibakteriyel etkinliğe ulaşılmış olmasıdır. Bu noktadan değerlendirildiğinde, magnezyum oksit ve kalsiyum oksidin tekstil kaplamalarında antibakteriyel katkı maddesi olarak kullanımı hem uygulama kolaylığı hem de maliyetlerin daha düşük olması açısından daha avantajlıdır. Kalsiyum oksit ile %15 ve üzerindeki oksantrasyonlarda %100 antibakteriyel etkinliğin elde edilmiş olması da kayda değer bir başka noktadır. Magnezyum oksit ile %5 konsantrasyondan itibaren %99,99 antibakteriyel etkinliğe ulaşılmasına rağmen incelenen hiçbir konsantrasyonda %100 etkinlik sağlanamamıştır. Yani antibakteriyel testlerde hayatta kalan az sayıda koloni tespit edilmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, bu tez çalışması kapsamında incelenen üç metal oksit tozundan kalsiyum oksit ön plana çıkmaktadır. %10-20 kalsiyum oksit katkısı antibakteriyel kaplamalar için tavsiye edilmektedir. FTIR analizlerinden elde edilen veriler doğrultusunda %20 üzerindeki kalsiyum oksit konsantrasyonlarında, plastikleştiricinin etkisinin sönümlenmesinden dolayı kaplanmış malzemelerde kıvrılma ve sertleşme meydana geldiği anlaşılmıştır. Bu nedenle %20 üzerinde kalsiyum oksit katkısı önerilmemektedir. Yapılan füzyon testlerinde çift katlı kaplamalarda katmanların birbirinden ayrılmaması adezyonun yeterli düzeyde olduğunu göstermiştir.

Antibakteriyel mekanizmanın anlaşılması gelecek çalışmalarda antibakteriyel etkinliğin arttırılması, kullanılan malzemenin etkili olacağı mikroorganizmaların tahmin edilmesi, kullanıcının sağlığının korunması ve etki mekanizması baz alınarak yeni test yöntemleri geliştirilmesi gibi konularda aydınlatıcı olacaktır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan metal oksit tozlarının antibakteriyel etki mekanizmasının araştırılması için yapılan çalışmalarda elde edilen veriler literatürle paralel çizidedir. Elde edilen veriler antibakteriyel etkinliğin önemli ölçüde oksijen radikallerinden kaynaklandığını düşündürmektedir. ESR tekniği ve DMPO spin tuzağı kullanılarak yapılan analizlerde çinko oksit tozunun karanlıkta ve UV ışık etkisi altında süper oksit veya hidroksil radikalleri salımına neden olduğu anlaşılmıştır. UV ışıkla uyarılan çinko oksit çok daha yüksek miktarda oksijen

radikalinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Magnezyum oksit ise DMPO'nun oksitlenmesine neden olarak DMPO-OH spin bileşiği sinyalinde daha farklı bir sinyal elde edilmesini sağlamıştır. Kalsiyum oksitle yapılan deneylerde şaşırtıcı bir sonuçla karşılaşmıştır. Kalsiyum oksidin oksijen radikali salımına neden olduğu ESR dışındaki farklı yöntemlerle literatürde gösterilmiş olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu çalışmada uygulanan floresin ve DCFH-DA problemleriyle da kalsiyum oksidin oksijen radikali salımı yaptığına dair bulgular alınmıştır. Fakat, spin tuzağı kimyasalları olan DMPO ve TEMP ile ESR'de yapılan deneylerde süperoksit, hidroksil ve singlet oksijen radikallerinin izlerine rastlanamamıştır. Bunun üzerine uygulanan kontrollü deneylerde kalsiyum oksidin DMPO'nun yapısını bozarak oksijen radikalleriyle spin bileşiği oluşturamayacak hale dönüştürdüğü anlaşılmıştır. Bu sonuç, literatürde bulunmayan bir bilgi olarak dikkat çekicidir.

Çinko oksit içeren kaplanmış numuneler DMPO ile etkileşime sokularak ESR ölçümleri yapılmıştır. TEMPO spin etiketinin bilinen konsantrasyonlarında alınan ölçümlerle oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak salınan oksijen radikali miktarı hesaplanmıştır. UV ışık altında yapılan deneylerde %10, %20 ve %35 çinko oksit içeren numunelerden salınan oksijen radikali miktarları antibakteriyel aktiviteleriyle uyumlu olarak sırasıyla 0,16  $\mu\text{M}$  (%79,25 antibakteriyel aktivite), 0,24  $\mu\text{M}$  (%94,36 antibakteriyel aktivite) ve 0,32  $\mu\text{M}$  (%99,99 antibakteriyel aktivite) olmuştur. Bu sonuçların antibakteriyel aktivite ile oksijen radikali salımı arasındaki bağlantıyı vurgular nitelikte olduğu düşünülmektedir.

DCFH-DA kullanılarak mikro plaka okuyucu ve floresan mikroskopta yapılan deneyler kullanılan metal oksit tozlarının *L. Innocua* türü bakteri hücresi içerisinde oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir. DCFH-da ile yapılan deneyler ESR sonuçlarını doğrular niteliktedir. Dikkat çekici olan nokta, mikropilaka okuyucu ile yapılan deneylerde en yüksek rölatif ışık yoğunluğunun kalsiyum oksit ile elde edilmesi olmasıdır. DCFH-DA ile yapılan deneylerde en yüksek ışımanın kalsiyum oksit ile elde edilmesi, %100 antibakteriyel etkinliğe yalnızca kalsiyum oksitle ulaşılabilmiş olmasını açıklığa kavuşturduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu sonuçlar, DMPO'nun kalsiyum oksit varlığında spin bileşiği oluşturamayacak konuma

gelmesinin de yüksek miktarda salınan oksijen radikallerinin DMPO'nun yapısını bozmuş olabileceği fenomeni ile açıklanabileceğini düşündürmektedir.

UV-vis spektrometrede yapılan ölçümlerde karanlıkta kalsiyum oksitle ve UV ışık altında çinko oksitle etkileşime sokulan floresinin absorbanсында düşüş olduğu kaydedilmiştir. Çinko oksit konsantrasyonunun absorbanstaki düşüşe önemli etkisi olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte, kalsiyum oksit konsantrasyonunun floresinin absorbanсындаki düşüşte önemli bir parametre olduğu anlaşılmıştır. Diğer bulgular ve literatür çalışmaları göz önünde bulundurulduğunda floresinin absorbanсындаki düşüşün oksijen radikalleriyle bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır.

FT-IR sonuçları değerlendirildiğinde, yüksek miktarda kalsiyum oksit katkısının plastikleştiricinin etkisini olumsuz etkileyerek sertleşmeye ve kaplama yapısında kırılmaya neden olduğu anlaşılmıştır.

Kalsiyum oksit, magnezyum oksit ve çinko oksit ucuz olmaları, insan sağlığına zararlı etkileri olmaması, gıda ürünlerinde temasında sakınca bulunmaması ve yerli kaynaklarla üretilebiliyor olmaları açısından antibakteriyel katkı maddesi olarak öne çıkmaktadırlar. Bu tez kapsamında elde edilen veriler sayesinde bu metal oksit tozlarının PVC polimeriyle uyumlu bir şekilde kullanılabileceği ve *L. innocua* türü bakterilere karşı oldukça etkili oldukları görülmüştür. Gelecek çalışmalarda farklı polimer ve bakteri kombinasyonlarıyla araştırmalar yapılması bu metal oksitlerin kullanım alanlarının genişletilmesi konusunda faydalı olacaktır.

Tüm bu bilgiler ışığında, %15-20 konsantrasyonda kalsiyum oksit katkısıyla antibakteriyellik açısından en iyi sonuçların alınabileceği görülmüştür. İnce ve kalsiyum oksit içeren fonksiyonel ikinci katmana sahip iki katmanlı kaplama yapısının uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir. %5-25 magnezyum oksit katkısı ile *Listeria innocua*'ya karşı %99 antibakteriyellik elde edilmiştir. Diğer bakteri türleri için bu konsantrasyon aralığının kullanılması uygundur. Herhangi bir bakteri türüne karşı %5 magnezyum oksit katkısı ile düşük antibakteriyel etkinlik elde edilme ihtimaline karşı konsantrasyon yükseltilebilir. Çinko oksitle *Listeria innocua*'ya karşı %35 konsantrasyonda %99 antibakteriyel etkinlik elde edilmesine karşın diğer

bakteri türlerine karşı daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek etki sağlanması olasıdır.

Elde edilen veriler, bu üç metal oksit tozunun antibakteriyel etki mekanizmalarına ışık tutmuştur. Kullanılan bir antibakteriyel katkı maddesinin etki mekanizmasının bilinmesi antibakteriyel etkinliğin artırılması, uygun konstrüksiyon seçimi, yeni test yöntemleri geliştirilmesi v.s. konular açısından önemlidir. Gelecek çalışmalarda bu konular üzerine eğilinmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir. Örneğin bu çalışmada çinko oksit içeren kaplanmış numune üzerinden salınan oksijen radikali konsantrasyonu belirlenmiştir. Bu yöntemle hızlı sonuçların alınabileceği yeni bir test metodu geliştirilmesi olasıdır. Gelecekte yapılacak ve direkt olarak bu konuya odaklanmış spesifik çalışmalar oksijen radikali konsantrasyonu ve antibakteriyel etkinlik arasında direkt bir korelasyon kurulmasına yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemeleri Platformu. (b.t.). 15.10.2017. [https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/6840/mod\\_resource/content/0/MİKROORGANİZMA%20GELİŞMESİ%20%20I.pdf](https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/6840/mod_resource/content/0/MİKROORGANİZMA%20GELİŞMESİ%20%20I.pdf)
- Akbar, A., Anal, A.K. (2014) Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat poultry meat. *Food Control*, 38, 88-95.
- Akova, G. (2012). *Advances in Polymer Coated Textiles*. Shropshire: Smithers Rapra
- Al-Hazmi, F., Alnowaiser, F., Al-Ghamdi, A.A., Al\_Ghamdi, A.A., Aly, M.M., Al-Tuwirqi, R.M., El-Tantawy, F. (2012). A new large-scale synthesis of magnesium oxide nanowires: Structural and antibacterial properties. *Superlattices and Microstructures*, 52, 200–209.
- Annath, A., Dharaneedharan, S., Seo, H., Heo, M., Boo, J. (2017). Soft jet plasma-assisted synthesis of Zinc oxide nanomaterials: Morphology controls and antibacterial activity of ZnO. *Chemical Engineering Journal*, 322, 742–751.
- Applerot, G., Lipovsky, A., Dror, R., Perkas, N., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. (2009). Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline zno due to increased ROS-mediated cell injury. *Adv. Funct. Mater*, 19, 842–852.
- Aranda, A., Sequedo, L., Tolosa, L., Quintas, G., Burello, E., Castell, J.V., Gombau, L. (2013). Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) assay: A quantitative method for oxidative stress assessment of nanoparticle-treated cells. *Toxicology in Vitro*, 27, 954–963.
- Armstrong, D. (2010). *Advanced protocols in Oxidative Stress II*. New York: Humana Press.

- Assenheim, H.M. (1967). Introduction to Electron Spin Resonance. New York: Springer.
- Baird, M.J., Lunsford, J.H. (1972) Catalytic sites for the isomerization of 1-butene over magnesium oxide. *Journal Of Catalysis*, 26, 440-450.
- Baranyi, J., Pin, C. (1999). Estimating bacterial growth parameters by means of detection times, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 732-736.
- Bardhan, M., Mandal, G., Ganguly T. (2011). Interaction and photodegradation characteristics of fluorescein dye in presence of ZnO nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11, 3418–3426.
- Biasi, R.S., Grillo, M.L.N. (1999). Influence of manganese concentration on the ESR spectrum of Mn<sup>2+</sup> in CaO. *Journal of Alloys and Compounds*, 282, 5–7.
- Biasi, R.S., Grillo, M.L.N. (2014). Investigation of Mn<sup>2+</sup> diffusion in lime (CaO) using electron magnetic resonance. *Materials Research*, 17(2), 434-435.
- Brown Jr., G.E., Henrich, V.E., Casey, W.H., Clark, D.L., Eggleston, C., Felmy, A. (1999). Metal oxide surfaces and their interactions with aqueous solutions and microbial organisms. *Chem. Rev.*, 99, 77-174.
- Cioffi, N., Rai, M. (2012). Nano-Antimicrobials. Londra: Springer
- Cho, M., Chung, H., Choi, W., Yoon, J. (2004). Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO<sub>2</sub> photocatalytic disinfection. *Water Research*, 38, 1069–1077.
- Daniels, P.H. (2009). A brief overview of theories of PVC plasticization and methods used to evaluate PVC-plasticizer interaction. *Journal of Vinyl&Additive Technology*, 15 (4), 219-223.

- Dhiman, G., Chakraborty, J.N. (2015). Antimicrobial performance of cotton finished with triclosan, silver and chitosan. *Fashion and Textiles*, 2(13), 1-14.
- Evstropiev, S.K., Karavaeva, A.V., Dukelskii, K.V., Kiselev, V.M., Evstropiev, K.S., Nikonorov, N.V., Kolobkova, E.V. (2017). Transparent bactericidal coatings based on zinc and cerium oxides. *Ceramics International*, 43 (16), 14504-14510.
- Fiedot, M., Maliszewska, I., Rac-Rumijowska, O., Suchorska-Woźniak P., Lewinska A., Teterycz, H. (2017). The relationship between the mechanism of zinc oxide crystallization and its antimicrobial properties for the surface modification of surgical meshes. *Materials*, 10, 353- 370.
- Finkelstein, E., Rosen, G. M., Rauckman, E. J. (1980). Spin trapping. Kinetics of the reaction of superoxide and hydroxyl radicals with nitrones. *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 4994-4999.
- Friedly, E.C. (2007). *Listeria innocua* use as a surrogate for *Listeria monocytogenes*. Yüksek Lisans Tezi. University of Arkansas: Arkansas
- Fu, P.P., Xia, Q., Hwang, H., Ray, P.C., Yu, H. (2014). Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 64-75.
- Fung, W. (2002). *Coated and laminated textiles*. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Gao, Y., Cranston, R. (2008) Recent advances in antimicrobial treatments of textiles. *Textile Research Journal*, 78(1), 60–72.
- Gedda, G., Pandey, S., Lin, Y., Wu, H. (2015). Antibacterial effect of calcium oxide nano-plates fabricated from shrimp shells. *Green Chemistry*, 17, 3276-3280.

- Giamello, E., Calosso, L., Fubini, B., Geobaldo, F. (1993). Evidence of stable hydroxyl radicals and other oxygen radical species generated by interaction of hydrogen peroxide with magnesium oxide. *J. Phys. Chem.*, 97,5135-5140.
- Gomes A., Fernandes, E., Lima, J.L.F.C. (2005) Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 65. 45–80
- Goodman, D.W., Gratzel, M., Maciel, G., McCarthy, M.Í., Neelson, K.H., Sverjensky, D.A., Toney, M.F., Zachara, J.M. (1999). Metal oxide surfaces and their interactions with aqueous solutions and microbial organisms. *Chem. Rev*, 99, 77-174.
- FDA (1999). *Guidance for industry: Antimicrobial food additives*. 13.10.2017 <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm077256.htm>
- He, W., Liu, Y., Wamer, W.G., Yin, J. (2014). Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 49-63.
- Hebeish, A., El-Naggara M.E., Moustafa Foudaa, M.G., Ramadanb, M.A., Al-Deyabc, S. S., El-Rafie M.H. (2011). Highly effective antibacterial textiles containing green synthesized silver nanoparticles *Carbohydrate Polymers*, 86 936-940.
- Heide, O. (2007), Hygienic design solutions for food conveyor belts. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 89-92.
- Hirota, K., Sugimoto, M., Kato, M., Tsukagoshi, K., Tanigawa, T., Sugimoto, H. (2010) Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. *Ceramics International*, 36, 497–506.



- Hrenovic, J., J. Milenkovic, T. Ivankovic, and N. Rajic. (2012). Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. *J. Hazard. Mater.* 201–202. 260–264
- Hua, J., Shao, M., Cheng, L., Wang, X.a, YanFu, Ma, D.D.D. (2009). The fabrication of silver-modified silicon nanowires and their excellent catalysis in the decomposition of fluorescein sodium. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 70,192–196.
- Huang, L., Li, D., Lin, Y., Evans, D.G., Duan, X. (2005). Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99 (5), 986-993.
- İngiltere Halk Sağlığı Birimi Resmi Raporu. (2014). Identification of *Listeria* species, and other non-sporing gram positive rods (except *Corynebacterium*). Düzenlenme numarası: 3.1. Düzenlenme tarihi: 29.10.2014
- Iizuka, T., Tanabe, K. (1975). The spectroscopic study on the dimerization of pyridine derivatives on the surfaces of MgO, CaO and SrO, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 48 (9), 2527-2530.
- Jackson, D., Hargreaves, J.S.J. (2009). *Metal oxide catalysis*. Wiley-VCH: Weinheim
- Jaissai, M., Baruah, S., Dutta, J. (2012). Paper modified with ZnO nanorods – antimicrobial studies. *Beilstein J. Nanotechnol*, 3, 684–691.
- Jeong, M.S., Yu, K.N., Chung, H.H., Park, S.J., Lee, A.Y., Song, M.R., Cho, M.H., Kim, J.S. (2016). Methodological considerations of electron spin resonance spin trapping techniques for measuring reactive oxygen species generated from metal oxide nanomaterials. *Scientific Reports*, 6, 26347-26246.

- Jiang, Wei., Masheyeki, H., Xing, B. (2009). Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environmental Pollution*, 157, 1619–1625.
- Jin, T., He, Y. (2011). Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *J Nanopart Res.* 13, 6877–6885.
- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T., Manna, A.C. (2008). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett.*, 279, 71–76.
- Kim, Y.H., Sun, G. (2001). Durable Antimicrobial Finishing of Nylon Fabrics with Acid Dyes and a Quaternary Ammonium Salt. *Textile Research Journal*, 71(4), 318-323.
- Kurth, M., Graat, P.C.J., Carstanjen, H.D., Mittemeijer, E.J. (2006). The initial oxidation of magnesium: An in situ study with XPS, HERFD and ellipsometry. *Surface and Interface Analysis*. 38 (5), 931-940.
- Li, M., Zhu, L., Lin, D. (2011). Toxicity of ZnO nanoparticles to escherichia coli: mechanism and the influence of medium components. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 1977–1983.
- Li, X.H., Xing, Y.G., Li, W.L., Jiang, Y.H., Ding, Y.L. (2010). Antibacterial and physical properties of poly(vinyl chloride)-based film coated with ZnO nanoparticles. *Food Science and Technology International*, 16 (3), 225-232
- Li, Y., Zhang, W., Niu, J., Chen Y. (2012). mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal oxide nanoparticles. *ACS Nano*, 6 (6), 5164–5173.

- Lipovsky, A., Tzitrinovich, Z., Friedmann, H., Applerot, G., Lubart, A. G., Lubart, R. (2009). ESR Study of Visible Light-Induced ROS Generation by Nanoparticles of ZnO. *J. Phys. Chem. C*, 113, 15997–16001.
- Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z.Q., Lin, M. (2009) Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1193–1201.
- Lund, A., Shiotani, M., Shimada, S. (2011). *Principles and applications of ESR spectroscopy*. New York: Springer
- Mahendra, C., Murali, M., Manasa, G., Ponnamma, P., Abhilash, M.R., Lakshmeesha, T.R., Satish, A., Amruthesh, K.N., Sudarshana, M.S. (2017). Antibacterial and antimutagenic potential of bio-fabricated zinc oxide nanoparticles of *Cochlospermum religiosum* (L.). *Microbial Pathogenesis*, 110, 620-629.
- Makarova, K. (2011). *New approach to analyse spin probe and spin trap ESR*. Doktora tezi, Wageningen Üniversitesi Hollanda
- Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovic, Y., Jelinek, R., Gedanken, A. (2005). Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bactericide. *Adv. Funct. Mater*, 15, 1708-1715.
- Marquis, G., Ramasamy, B., Banwarilal, S., Munusamy, A.P. (2016). Evaluation of antibacterial activity of plant mediated CaO nanoparticles using *Cissus quadrangularis* extract. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 155, 28–33.
- Mızrak, B., (2016). *Rultrans Transmisyon A.Ş. Kemalpaşa/İzmir. Kişisel iletişim*
- Miura, T., Urano, Y., Tanaka, K., nagano, T., Ohkubo, K., Fukuzumi, S. (2003). Rational design principle for modulating fluorescence properties of fluorescein-based probes by photoinduced electron transfer. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 8666-8671

- Morai, D.S., Guedes R.M., Lopes, M.A. (2016). Antimicrobial approaches for textiles: From research to market. *Materials*, 9, 498-510.
- Musevi, S.J., Şahin, E., Aslani, A. (2012). Synthesis of PbO and PbBr<sub>2</sub> nanopowders from nano-sized lead(II) coordination polymers. *Powder Technology*, 229, 30-36.
- Nasrazadani, S., Eureste, E. (2008). Application of FTIR for quantitative lime analysis. 5-9028-01 numaralı proje raporu. University of North Texas, TeksasKung, H.H.(1989). Transition metal oxides: Surface chemistry and catalysis. Amsterdam: Elsevier.Latta, B.M. (1982). Coating industrial fabrics - a review. *Journal of coated fabrics*, 11, 113-121.
- Okyay, T.O., Bala, R.K., Nguyen, H.N., Atalay, R., Bayam, Y., Rodrigues, D.F. (2015). Antibacterial properties and mechanisms of toxicity of sonochemically grown ZnO nanorods. *RSC Adv*, 5, 2568-2575.
- Pacchioni, G. (2003). Oxygen vacancy: The invisible agent on oxide surfaces. *Chemphyschem*, 4, 1041- 1047.
- Palalı, L. (2013). ESR spin – etiketleme tekniği ile sağlıklı ve enfeksiyonlu kan ve sütlerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi: Konya.
- Pasquale, J.A. (1986). Coating machinery and techniques-A review. *Journal of coated fabrics*, 15, 262-274.
- Paşık, E.B. (2013). İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyomer Laboratuvarı Urla/İzmir. Kişisel iletişim.
- Paul, R. (2015). *Functional finishes for textile*. Cambridge: Woodhead Publishing

- Perez-Rodriguez, F., Valero, A., Carrasco, E., Garcia, R.M., Zurera G. (2008). Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 131-144.
- Polarz, S., Strunk, J., Ischenko, V., van den Berg, M.W.E., Hinrichsen, O., Muhler, M., Driess, M. (2006). On the role of oxygen defects in the catalytic performance of zinc oxide. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 2965–2969.
- Prasanna, V.L., Vijayaraghavan, R. (2015). Insight into the mechanism of antibacterial activity of ZnO: Surface defects mediated reactive oxygen species even in the dark. *Langmuir*, 31, 9155–9162.
- Raghupati, K.R., Koodali, R.T., Manna, A.C. (2011). Size-Dependent Bacterial Growth Inhibition and Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Langmuir*, 27, 4020–4028.
- Ramesh, S., Leen, K.H., Kumutha, K., Arof, A.K. (2007). FTIR studies of PVC/PMMA blend based polymer electrolytes. *Spectrochimica Acta Part A*, 66, 1237–1242.
- Ranby, B., Rabek, J.F. (1977). ESR spectroscopy in polymer research, New York: Springer-Verlag
- Rastogi, R.P., Singh, S.P., Hader, D., Sinha, R.P. (2010). Detection of reactive oxygen species (ROS) by the oxidant-sensing probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* PCC 7937. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 397, 603–607.
- Rathinamoorthy, R., Thilagavathi, G. (2014). Effect of antimicrobial finish on odor control properties of apparel fabric. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*, 9 (1), 1-15.

- Roubaud, V. Sankarapandi, S., Kuppusamy, P., Tordo, P., Zweier, J.L. (1997) Quantitative measurement of superoxide generation using the spin trap 5-(diethoxyphosphoryl)-methyl-1-pyrroline-N-oxide. *Analytical Biochemistry*, 247, 404-411.
- Roy, A., Gauri, S.S., Bhattacharya, M. Bhattacharya, J. (2013). Antimicrobial activity of CaO nanoparticles. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9, 1-8.
- Samouilov, A., Roubaud V., Kuppusamy, P., Zweier J. L. (2004). Kinetic analysis-based quantitation of free radical generation in EPR spin trapping. *Analytical Biochemistry*, 334, 145–154.
- Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M. (1995). Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 28, 288-293.
- Sawai, J., Kawada, E., Kanou, F., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M. (1996). Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29 (4), 627-633.
- Sawai, J., Kajima, H., Hashimoto, A., Shoji, S., Sawaki, T., Hakoda, A., Kawada, E., Kokugan, T., Shimizu, M., (2000) Antibacterial characteristics of magnesium oxide powder. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 187-194.
- Sawai, J., Shiga, H., Kojima H. (2001). Kinetic analysis of death of bacteria in CaO powder slurry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47, 23-26.
- Sawai, J. (2003). Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *Journal of Microbiological Methods*, 54, 177– 182.

- Sawai, J., Yoshikawa, T. (2004) Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 803–809.
- Schindler, W.D., Hauser, P.J. (2004). *Chemical finishing of textiles*. Cambridge: Taylor and Francis.
- Schwartz, P. (2004) *Structure and mechanics of textile fibre assemblies*. Cambridge: Woodhead Publishing
- Schwartz, V.B., Thetiot, F., Ritz, S., Pütz, S., Choritz, L., Lappas, A., Förch, R., Landfester, K., Jonas, U. (2012). Antibacterial surface coatings from zinc oxide nanoparticles embedded in poly( N -isopropylacrylamide) hydrogel surface layers. *Adv. Funct. Mater.*, 22, 2376–2386.
- Sen, A.K. (2008). *Coated textiles: Principles and applications (2nd ed.)*. Florida: CRC Press
- Schlick, S. (2006). *Advanced ESR methods in Polymer Research*. New Jersey: Wiley-Interscience.
- Scott, R. A. (2005). *Textiles for protection*. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Sevinç, B.A., Hanley, L. (2010) Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 94 (1) 22–31.
- Silva, M.A., Viera, M.G.A., Maçumoto, A.C.G., Beppu, M.M. (2011). Polyvinylchloride (PVC) and natural rubber films plasticized with a natural polymeric plasticizer obtained through polyesterification of rice fatty acid. *Polymer Testing*, 30, 478-484.
- Sun, G. (2016). *Antimicrobial textiles*. Cambridge: Woodhead Publishing.

- Singha, K. (2012). A review on coating & lamination in textiles: processes and applications. *American Journal of Polymer Science*, 2(3), 39-49.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H., Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Lett*, 7(3), 219–242.
- Smith, W.C., (2010). *Smart textile coatings and laminates*. Cambridge: Woodhead Publishing.
- Soisuwan, S., Phommachant, J., Wisaijorn, W., Praserttham, P. (2014). The characteristics of green calcium oxide derived from aquatic materials. *Procedia Chemistry*. 9, 53–61.
- Stoimenov, P.K., Klinger, R.L., Marchin, G.L., Klabunde, K.J. (2002). Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, 18, 6679-6686.
- Stumbo, C.R. (1973). *Thermobacteriology in Food Processing (2nd ed.)*. New York: Academic Press
- Sundrarajan, M., Suresh, J., Gandhi, R.R. (2012). A comparative study on antibacterial properties of MgO nanoparticles prepared under different calcination temperature. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7 (3), 983-989.
- Suresh, P. Balamurugan, S., Balamurugan, D. (2014). Electronic and optical studies of CaO with oxygen defects: A DFT approach. *Der Pharma Chemica*, 6(4). 292-297.
- Tabb, D.L., Koenig, J.L. (1975) Fourier transform Infrared study of plasticized and unplasticized poly(vinyl chloride). *Macromolecules*, 8 (6), 929-934.
- Tang, Z., Lv, B. (2014). MgO nanoparticles as antibacterial agent: preparation and activity. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 31 (3), 591-601.



- Tayel, A.A., El-Tras, W.F., Moussa, S., El-Baz, A.F., Mahrous, H, Salem, M.F., Brimer, L. (2010). Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Food Safety*. 31, 211–218.
- Teli, M.D., Kale, R.D. (2011) Polyester Nanocomposite fibers with antibacterial properties. *Adv. Appl. Sci. Res*, 2 (4). 491-502.
- Uchino T., Tokunagaa, H., Andoa, M., Utsumi, H. (2002). Quantitative determination of OH radical generation and its cytotoxicity induced by TiO<sub>2</sub>–UVA treatment. *Toxicology in Vitro*, 16, 629–635.
- Wang, D., Zhao, L., Ma, H., Zhang, H., Guo, L. (2017). Quantitative analysis of reactive oxygen species photogenerated on metal oxide nanoparticles and their bacteria toxicity: the role of superoxide radicals. *Environ. Sci. Technol.*, 51, 10137–10145.
- Windler, L., Height, M., Nowack B. (2013). Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environment International*, 53, 62–73.
- Woodruff, F.A. (1992). Environmentally friendly coating and laminating: New processes and techniques. *Journal of Coated Fabrics*, 21. 240-259.
- Xie, Y., He, Y., Irwin P.L., Jin, T., Shi, X. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*. 77 (7), 2325–2331.
- Xu, F., Li, J., Zhu, T., Yu, S., Zuo, C., Yao, R., Qian, H., (2016) A new trick (hydroxyl radical generation) of an old vitamin (B2) for near-infrared-triggered photodynamic therapy. *RSC Adv.*, 6, 102647–102656.
- Xu, X., Chen, D., Yi, Z., Jiang, M., Wang, L., Zhou, Z., Fan, X., Wang, Y., Hui, D. (2013). Antimicrobial mechanism based on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation at oxygen vacancies in ZnO crystals. *Langmuir*, 29, 5573–5580.

- Xu, X., Xu, C., Dai, J., Hu., J., Hu, J., Li, F., Zhang, S. (2012). Size dependence of defect-induced room temperature ferromagnetism in undoped ZnO nanoparticles. *J. Phys. Chem. C*, 116, 8813–8818.
- Xu, Y., Schoonen, M.A.A. (2000). The absolute energy positions of conduction and valence bands of selected semiconducting minerals. *American Mineralogist*, 85, 543–556.
- Yamamoto, O. (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, 3, 643–646.
- Yamamoto, O., Sawai, J., Sasamoto, T. (2000). Change in antibacterial characteristics with doping amount of ZnO in MgO–ZnO solid solution. *International Journal of Inorganic Materials*, 2, 451–454.
- Yousef, J.M., Danial, E.N. (2012). In vitro antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of zinc oxide and nano-particle zinc oxide against pathogenic strains. *Journal of Health Sciences*, 2(4), 38-42.
- Yu, D., Xu, L., Hu, Y., Lia, Y., Wanga, W. (2017). Durable antibacterial finishing of cotton fabric based on thiol–epoxy click chemistry. *RSC Advances*, 7, 18838–18843.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L., Povey, M., O’Neil, A.J., York, D.W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *J Nanopart Res.*, 12, 1625–1636.