

# **BAKTERİ SELÜLOZUNUN MEKANİK ÖZELLİKLERİNİN ARTTIRILMASI**

## **IMPROVEMENT OF MECHANICAL PROPERTIES OF BACTERIAL CELLULOSE**

**ALPER AYDINLI**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyomühendislik Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

olarak hazırlanmıştır.

**2010**

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BIYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI'ında YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Başkan** : .....  
Prof. Dr. Erhan BİŞKİN

**Üye(Danışman)** : .....  
Prof. Dr. Tülin KUTSAL

**Üye** : .....  
Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU

**Üye** : .....  
Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR

**Üye** : .....  
Doç. Dr. Hülya YAVUZ ERSAN

**ONAY**

Bu tez, ..... /..... / ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Adil DENİZLİ**  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

*Canım Aileme...*

# BAKTERİ SELÜLOZUNUN MEKANİK ÖZELLİKLERİNİN ARTTIRILMASI

Alper AYDINLI

## ÖZ

Biyopolimer filmler son yıllarda dünya çapında ilgi odağı olmuştur. Biyofilmler dönüştürülebilirlik ve tekrar kullanılabilirlik açısından elverişli çevresel avantajları nedeniyle sentetik polimer filmlerle karşılaştırılmaktadırlar. Ancak biyofilmler geniş bir ticari uygulama alanında kullanılmak için gerekli olan mekanik özelliklere sahip değildirler. Doğada en çok bulunan biyopolimer selülozdur ve genellikle bitkilerden elde edilmektedirler. Ayrıca bazı bakterilerde selüloz üretme yetenekleri ile bilinirler. Bakteri selülozu bitki selülozuna göre daha saf elde edilebilmektedir. Saf olarak elde edilen bakteri selülozu yüksek gözenekli yapısı sayesinde doğal kompozit malzemeler elde edebilmek için çok elverişlidir.

Bu çalışmada, *Acetobacter xylinum* bakterisi kullanılarak zamana karşı hücre çoğalma ve selüloz oluşumu gözlenmiştir. Spesifik büyüme hızı  $0.0976 \text{ sa}^{-1}$ , ikilenme süresi ise 7.1 saat bulunmuştur. Daha sonra 21 günlük inkübasyon sonucunda bakteriyel selüloz sentezlenmiştir. Üretilen selülozun çeşitli alkalilerle temizleme işlemi yapılmıştır ve her alkali için 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M ve 0.4 M'lık çözeltiler kullanılmıştır. Potasyum hidroksit, sodyum karbonat ve potasyum karbonat'ın yaygın olarak kullanılan sodyum hidroksit'in aksine mekanik dayanımlarını arttırdığı saptanmıştır. En yüksek gerilme dayanımı  $9.223 \pm 0.557 \text{ MPa}$ 'dır ve 0.4 M'lık potasyum karbonat çözeltisi kullanılarak temizlenen selülozdan elde edilmiştir.

Bakteri selülozunun mekanik dayanımını daha fazla arttırmak için farklı konsantrasyon değerlerinde poli(vinil) alkol çözeltisi kullanılarak modifikasyon yapılmıştır. Gerilme dayanımı % 5'lik çözelti kullanıldığında,  $16.198 \pm 0.309 \text{ MPa}$  bulunmuştur.

Üretilen bakteri selülozlarının modifikasyondan önce ve sonrasında kimyasal yapısının belirlenmesi için Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR) ve yüzey morfolojisinin özelliklerini belirlemek için taramalı elektron mikroskopisi (SEM) kullanılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acetobacter xylinum*, Bakteri Selülozu, Gerilme Dayanımı, Poli(Vinil) Alkol , Alkali ile Temizleme, Modifikasyon, Kompozit Malzeme.

**Danışman:** Prof. Dr. Tülin KUTSAL, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü ve Biyomühendislik Anabilim Dalı

# IMPROVEMENT OF MECHANICAL PROPERTIES OF BACTERIAL CELLULOSE

Alper AYDINLI

## ABSTRACT

Biopolymer films have been the focus of attention worldwide in recent years. Biofilms are compared with synthetic polymer films according to their convenient environmental advantages because of reutilization and recyclability. However biofilms do not have the required mechanical strength needed for a wide range in commercial use. The most available biopolymer in the nature is cellulose which is obtained from plants. And some bacteria are known with their cellulose production ability. Bacterial cellulose can be obtained purer than plant cellulose. Pure bacterial cellulose has a high porous structure and is suitable to be used in natural composites as support material.

In the present study, cell growth and cellulose production of *Acetobacter xylinum* was studied and assessed against the time. The specific growth rate of *Acetobacter xylinum* was found to be  $0.0976 \text{ h}^{-1}$  and its doubling time as 7.1 h. After 21 days of incubation bacterial cellulose was synthesized. 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M ve 0.4 M alkali solutions were prepared for the cleaning of produced bacterial cellulose samples with alkalis. It was also observed that potassium hydroxide, sodium carbonate and potassium carbonate solutions improve the mechanical properties of bacterial cellulose unlike commonly used sodium hydroxide. The highest tensile strength was determined to be  $9.223 \pm 0.557 \text{ MPa}$  and was obtained from the samples cleaned with 0.4 M potassium carbonate solution.

To improve the mechanical strength, bacterial cellulose was modified with variable concentrations of poly(vinyl) alcohol solutions. Tensile strength was found to be  $16.198 \pm 0.309 \text{ MPa}$  when % 5 poly(vinyl) alcohol solution was used.

Surface characteristics of the bacterial cellulose samples before and after modifications were examined using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and the surface morphology was determined with scanning electron microscopy (SEM).

**Keywords:** *Acetobacter xylinum*, Bacterial Cellulose, Tensile Strength, Poly (vinyl) alcohol, Alkaline treatment, Modification, Composite Material.

**Advisor:** Prof. Dr. Tülin KUTSAL, Hacettepe University, Department of Chemical Engineering and Bioengineering Division

## TEŞEKKÜR

*Tez çalışmam boyunca engin bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, bir an olsun desteğini eksik etmeyen saygı değer hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Tülin KÜTSAL'a,*

*Çalışmaların sırasında laboratuvarında çalışma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Erhan BIŞKIN'e,*

*Yüksek lisans eğitimim boyunca değerleri bilgilerinizi benimle paylaşan ve üzerimde emeği olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mehmet MUTLU, Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR ve Yrd. Doç. Dr. İbrahim VARGEL'e,*

*Bu çalışmanın hazırlanmasında tüm sorularıma cevap verip benimle bilgisini paylaşan Dr. Ceyhan BABAÇ ÇETİN'e,*

*Çalışmam boyunca her konuda bana destek olan ve neşeli bir ortamda çalışmalarımı birlikte yürüttüğüm sevgili laboratuvar arkadaşlarım, Hasret Tolga ŞİRİN, Sedat ODABAŞ ve Güneş KİBAR'a,*

*Tüm yaşamım boyunca benden maddi, manevi desteğini esirgemeyen her zaman ve her koşulda yanımda olan, hayatıma neşe katan canım Aileme ,*

*teşekkür ederim.*

Alper AYDINLI  
Ankara, 2010



# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Selüloz.....	3
2.2.Bakteri Selülozu.....	4
2.3. Selüloz Üreten Bakteriler .....	4
2.4. Bakteriyel Selülozun Biyosentezi.....	6
2.5. Bakteriyel Selülozun Üretim Teknikleri.....	7
2.5.1. Statik (durgun) Kültür .....	8
2.5.2 Çalkalamalı Kültür .....	8
2.5.3. Dönen Disk Reaktörler .....	9
2.5.4.Hava Kaldırmalı Reaktörler .....	10
2.6.Üretim Parametreleri .....	11
2.6.1.Karbon Kaynağı.....	11
2.6.2.Sıcaklık.....	12
2.6.3. pH.....	12
2.6.4. Çözünmüş Oksijen Miktarı.....	12
2.6.5. Azot Kaynağı.....	13
2.6.6. Duvar Etkisi.....	13
2.7. Bakteri Selülozunun Kullanım Alanları.....	15
2.7.1 Medikal Alanda Kullanımı .....	15
2.7.2 Gıda Sektöründe Kullanımı.....	17
2.7.3 Kâğıt Sektöründe Kullanımı.....	19
2.7.4 Diğer Kullanım Alanları .....	19
2.8. Bakteri Selülozunun Modifikasyonu .....	20

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	23
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
3.2. Bakteri Selülozunun Sentezlenmesi.....	23
3.2.1. Acetobacter xylinum Stok Kültür ve Aşı Çözeltilisinin Hazırlanması.....	23
3.2.2. Kinetik Çalışmalar.....	25
3.2.2.1. Hücre Çoğalması.....	25
3.2.2.2. Selüloz Oluşumu.....	26
3.2.2.3. Glikoz Tüketimi.....	27
3.3. Bakteri Selülozunun Üretimi.....	27
3.4. Bakteri Selülozunun Temizlenmesi .....	28
3.5. Bakteri selülozunun Poli (Vinil Alkol) ile Modifikasyonu.....	30
3.6. Bakteri Selülozunun Mekanik Test ve Karakterizasyonu.....	30
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	31
4.1. Kinetik Çalışmalar.....	31
4.1.1. Hücre Çoğalması.....	31
4.1.2. Selüloz Oluşumu.....	32
4.1.3. Glikoz Tüketimi.....	33
4.2. Bakteri Selülozunun Üretimi.....	34
4.3. Bakteri Selülozunun Temizlenmesi ve Kurutulması.....	35
4.4. Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi.....	35
4.4.1. Farklı Alkali ve Konsantrasyon Miktarına Göre Mekanik Dayanımın Değişimi.....	35
4.4.2. Farklı Poli(Vinil Alkol) Konsantrasyonlarına Göre Mekanik Dayanımın Değişimi.....	41
4.5. Bakteri Selülozunun Karakterizasyonu.....	43
5. SONUÇLAR.....	53
6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	57
EKLER.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	65

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1.	Selülozun kimyasal yapısı .....	3
Şekil 2.2.	<i>Acetobacter xylinum</i> 'un SEM görüntüsü .....	5
Şekil 2.3.	<i>Acetobacter xylinum</i> tarafından selüloz liflerinin dizilimi .....	6
Şekil 2.4.	<i>Acetobacter xylinum</i> tarafından sentezlenen selülozun biyokimyasal yolu .....	7
Şekil 2.5.	Durgun kültürde üretilmiş bakteri selülozu .....	8
Şekil 2.6.	Çalkalamalı ortamda üretilen bakteri selülozu .....	9
Şekil 2.7.	Dönen disk reaktör.....	9
Şekil 2.8.	Hava kaldırmalı reaktör .....	10
Şekil 2.9.	Bakteriyel selülozun farklı şekildeki kaplarda büyümesi A :maksimum 3mm kalınlık , B:Maksimum 2cm kalınlık, C:10 cm kalınlık.....	14
Şekil 2.10.	Modifiye konik flask deneyi .....	14
Şekil 2.11.	Vücudunda yanık olan bir hasta tedavi esnasında .....	16
Şekil 2.12.	BASYC® markalı farklı iç yarıçaplarında, duvar kalınlıklarında ve uzunluklarda tüpler.....	16
Şekil 2.13.	3. derece ülser yarasındaki iyileşme süreci; (a) tedaviden önce (b) ikinci hafta yaranın sargılı hali (c) ikinci hafta yaranın açık hali (d) yedinci hafta.....	17
Şekil 2.14.	Nata de Coco .....	18
Şekil 2.15.	Test hoparlörlerinin frekans özellikleri (16cm <sup>2</sup> tam aralık koni çeşidi) Kalın çizgi: bakteri selülozu kompoziti, Noktalı çizgi; geleneksel kâğıt.....	19
Şekil 2.16.	Kimyasal temizleme işlemi yapılan bakteri selüloz membranlarının mekanik özellikleri.....	22
Şekil 3.1.	Tek koloni düşürme yönteminin şematik gösterimi.....	25
Şekil 3.2.	Bakteri selülozunu temizlemek için kullanılan düzenek.....	29
Şekil 3.3.	Kuru formdaki bakteri selülozunu kesmek için kullanılan kesme aparatı.....	29
Şekil 4.1.	Zamana karşı hücre çoğalma grafiği.....	31
Şekil 4.2.	İnkübasyon süresi boyunca pH değerinin değişimi.....	32
Şekil 4.3.	Zamana karşı selüloz oluşumu grafiği.....	33
Şekil 4.4.	Zamana karşı selüloz oluşumu fotoğrafları.....	33
Şekil 4.5.	Zamana karşı selüloz tüketimi grafiği.....	34

Şekil 4.6.	Bakteri selülozünün saflaştırma işleminden önceki fotoğrafı.....	34
Şekil 4.7.	Kurutulmuş bakteri selülozların resimleri a) 90 dakika 60 °C b) 8 saat 80°C.....	35
Şekil 4.8.	0.05M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri.....	37
Şekil 4.9.	0.1M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri.....	38
Şekil 4.10.	0.2M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri.....	39
Şekil 4.11.	0.4 M 'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri.....	40
Şekil 4.12.	PVA kullanılarak modifiye edilen selülozların gerilme-uzama Grafikleri.....	42
Şekil 4.13.	Kimyasal olarak temizlenmiş ve modifiye edilmiş bakteri selülozun mekanik özellikleri.....	43
Şekil 4.14.	Alkali çözeltilerle temizlenmemiş selülozun FTIR spektrumu.....	44
Şekil 4.15.	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ile temizlenen selülozların FTIR spektrumları.....	45
Şekil 4.16.	0.4 M'lık çözeltilerle temizlenen selülozların FTIR spektrumları.....	46
Şekil 4.17.	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ile temizlenen ve PVA ile modifiye edilen bakteri selülozünün FTIR spektrumları.....	47
Şekil 4.18.	a) 0.05 M K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . b) 0.1 M K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> . c) 0.2 M K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ve d) 0.4 M K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ile temizlenmiş bakteri selülozünün SEM (X10.000 büyütme, X50.000 büyütme) fotoğrafları .....	49
Şekil 4.19.	0.4 M a) K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> b) Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> c) KOH d) NaOH ile temizlenmiş bakteri selülozünün SEM (X10.000 büyütme, X50.000 büyütme) fotoğrafları.....	51
Şekil 4.20.	0.4 M K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ile temizlenmiş yapılar ve a) %1 PVA ve b) %5 PVA modifiye edilen bakteri selülozünün SEM (X50.000 büyütme) fotoğrafları.....	51

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 3.1. <i>Acetobacter xylinum</i> bakterisinin ilk açıldığı besi ortamı.....	23
Çizelge 3.2. Stok çözelti hazırlamak için kullanılan besi yeri.....	24
Çizelge 3.3. Tek koloni ekimi için hazırlanan besi yeri.....	24
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan besi yeri.....	25
Çizelge 3.5. DNS reaktif bileşenleri.....	27
Çizelge 3.6. Bakteri selülozunun temizlenmesinde kullanılan alkali malzemeler ve konsantrasyon değerleri.....	28
Çizelge 4.1 Farklı alkalilerle temizlenen bakteri selülozunun mekanik dayanım sonuçları.....	36
Çizelge 4.2. PVA ile modifiye edilen Bakteri selülozunun mekanik dayanım sonuçları.....	41
Çizelge 4.3. Bakteri selülozunun fonksiyonel gruplarına ait titreşim frekansları.....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>FTIR</b>	: Fourier Transform infrared Spektrometresi
<b>UV</b>	: Ultraviyole Spektrometresi
<b>DNS</b>	: Dinitro Salisilik Asit
<b>PVA</b>	: Poli(Vinil) Alkol
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil Grubu
<b>CO<sub>3</sub><sup>-2</sup></b>	: Karbonat Grubu
<b>(w/v)</b>	: (ağırlık/hacim)
<b>K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Potasyum Karbonat
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	: Sodyum Karbonat
<b>KOH</b>	: Potasyum Hidroksit
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>t</b>	: Zaman
<b>X<sub>t</sub></b>	: t anındaki hücre konsantrasyonu
<b>X<sub>0</sub></b>	: Başlangıç hücre konsantrasyonu
<b>μ</b>	: Spesifik büyüme hızını (sa <sup>-1</sup> )
<b>t<sub>d</sub></b>	: İkilenme süresi
<b>σ</b>	: Standart Sapma
<b>X<sub>a</sub></b>	: Örneklem Ortalaması
<b>N</b>	: Örneklem Sayısı

## 1.GİRİŞ

Selüloz dünyada en yaygın şekilde bulunan biyopolimerdir. Yaşayan bitki hücrelerinin fotosentez yapması sonucu ortaya çıkan glikoz gruplarının toplanması ile oluşan selüloz, en çok orman ağaçlarından ve pamuktan elde edilmektedir. Bunlar makroskopik, çok hücreli, fotosentetik bitkilerdir ve birbirleriyle aynı ailedendir. Fakat selülozun çoğu, okyanuslarda bulunan tek hücreli planktonlar ya da algler tarafından kara bitkilerinde kullanılan aynı çeşit karbondioksiti kullanarak üretilmektedir (Brown,2006). Selüloz, pamuğun yaklaşık olarak % 94 'ünü, odunun ise % 40-50 'sini oluşturmaktadır. Bunun yanında selüloz, mısır koçanı, soya fasulyesi kabuğu, küspe, pirinç kabuğu, yulaf kabuğu, şeker pancarı posası, keten gibi ürünlerden de elde edilebilmektedir. Ekonomik nedenlerden dolayı farklı selüloz kaynakları, farklı ticari amaçlar için kullanılmaktadır. Kağıt üretilirken odun selülozu tercih edilirken, tekstil de kullanılmak üzere biyolojik olarak neredeyse saf selüloz kaynağı olan pamuk kullanılmaktadır (Brown, 2006, Omri, 2001).

Her yıl yaklaşık olarak 180 milyar ton selüloz üretilmektedir (Jung, 2005). Bunun en büyük kısmı ağaçlardan elde edilmektedir. Odun yaklaşık olarak %50 selüloz, %30 hemiselüloz ve %20 lignin içermektedir. Odunun hamurlaştırılması prosesinde lignin ve hemiselüloz (yapısal olarak farklı polisakkaritler) selülozdan ayrılır (Omri, 2001).

Odun hamuru selüloz işleme için en önemli hammadde kaynağıdır. Bu malzemenin çoğu kağıt ve karton üretmek için ve ayrıca rejenere lif ve film üretiminde (selofan), değişik selüloz eter ve esterlerinin sentezlenmesinde kullanılır. Sanayide üretilen selüloz türevleri kaplama, optik film, farmasötik, gıda maddesi ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Klemm, 2005).

Selüloz mantarlar ve bakteriler tarafından da üretilmektedir. Fakat bunlar fotosentetik aktiviteye sahip değildirler. Bu nedenle fotosentetik organizmalar tarafından üretilirken, glikoza ya da diğer organik substratlara, manitol, fruktoz, sukroz, arabitol, gliserol gibi, ihtiyaç duyarlar (Brown, 2006, Hornung, 2006a).

Bakteriyel selüloz bitkilerden elde edilen selüloza göre üstün özelliklere sahiptir. En önemli özelliği kimyasal olarak saf olmasıdır. Ayrıca doğada kolayca bozunabilmektedir ve uzunlukları 1-9 µm arasında değişen şeritlere, yoğun ve çok

ince ağ yapısına ve yüksek kristalize özelliğe de sahiptir (Bielecki, 2001, Shoda ve Sugano, 2005).

Biyopolimer filmler son yıllarda dünya genelinde ilgilenilen konulardan bir tanesidir. Tekrar kullanılabilirliği, geri dönüőebilirliđi ve çevresel avantajları nedeniyle sentetik polimerlere göre günümüz şartlarında ön plana çıkmışlardır. Birçok araştırmacı gıda paketlenmesi için biyopolimer kaplama ve paketleme filmleri üzerine araştırma yapmaktadır (Mahave ark., 2009 ).

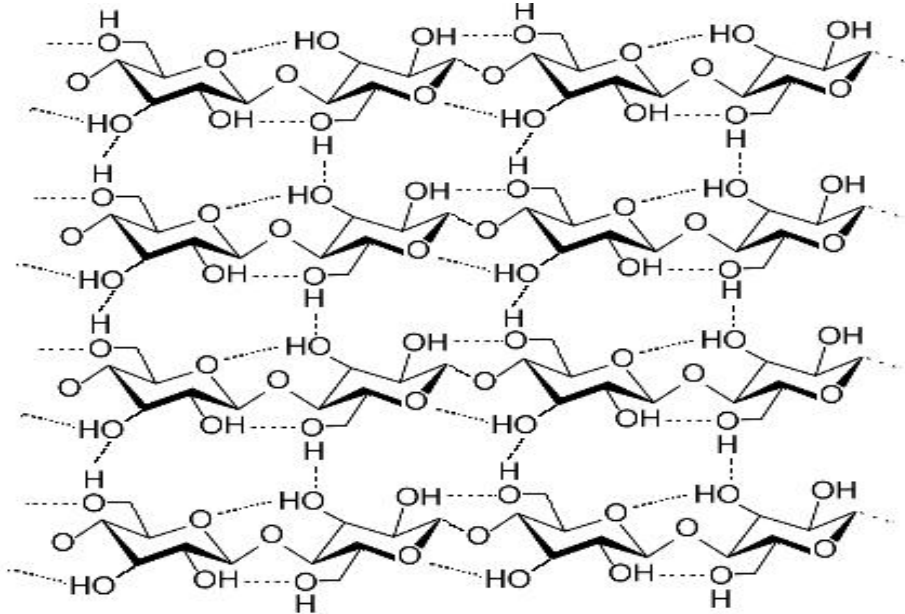
Bu çalışmadaki amaç, ıslak formdayken yüksek mekanik dayanıma sahip olan, fakat kuru formda bu mekanik özelliklerini kaybeden bakteri selülozunun mekanik özelliklerinin, bakterilerden temizleme aşamasında kullanılan farklı alkali malzemelerden nasıl etkilendiğinin araştırılması ve bakteri selülozunu kullanarak suda çözünebilen, toksik olmayan, iyi film oluşturulabilen ve yüksek hidrofilik özelliklere sahip bir polimer olan polivinil alkol ile modifikasyonu sonucunda elde edilen kompozit malzemenin kuru formdaki mekanik özelliklerinin artırılmasıdır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Selüloz

Selüloz,  $\beta$  1-4 glukosidik bağlarla birbirine bağlı tekrarlanan D-glukopiranoz birimlerinin  ${}^4C_1$  konformasyonunda doğrusal dizilmiş halidir. Kristal formda bulunmaktadır. Molekül içerisinde O3-H $\rightarrow$ O5' ve O6 $\rightarrow$ H-O2' ye şeritler arasında O6-H $\rightarrow$ O3' hidrojen bağlarıyla bağlanır (Şekil 2.1). Bundan dolayı ağ yapısı sabit kalır. Her glikopiranoz şeridi bir sonraki sentezlenen zincirle aynı zamanda 180° döner. Tek glikopiranoz şeridi ne az hidrofildir, ne de çok hidrofobiktir. Bu özelliğinden dolayı molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarıyla, sulu çözeltilerde çözünmez bir yapı oluşturur. Selüloz zincirlerinin yanal boyu yaklaşık 0.3 nmdir. Doğal selülozun polimerizasyon derecesi elde edildiği kaynağa göre 1000 ile 30000 arasında değişmektedir, buna karşılık zincir uzunlukları 500 ile 15000 nm arasında değişmektedir. Selüloz bitkilerin lif duvarları içinde bulunmaktadır. Çeşitli bitkilerin lifleri farklı şekil ve boyutlara sahiptir. Pamuk, keten ve hasır lifleri yeterince uzun ve boyutları santimetre aralığındayken, odun lifleri kısa ve 1-3 mm uzunluğundadır. Odun lifleri genellikle burgusuz ve lignin giderme yapıldığında yassılaşılmaya maruz kalırken, pamuk lifleri burguludur. Keten, hasır gibi bitkilerin lifleri düz ve yuvarlaktır ( Chaplin, 2009, Ioelovich, 2008).



Şekil 2.1. Selülozun kimyasal yapısı

## 2.2. Bakteri Selülozu

Bakteri selülozu, bitki selülozuyla aynı kimyasal yapıdadır, fakat makromoleküler yapısı ve özellikleri ile bitki kaynaklı selülozdan ayrılır (Watanabe, 1998 ). Bakteri selülozu'nun başlangıç zincirleri alt iplikçikleri oluşturmak üzere toplanır. Bu alt iplikçikler yaklaşık 1.5 nm genişliğindedir ve doğal olarak meydana gelen lifler arasında en ince grubu oluşturmaktadır. Alt iplikçikler; mikroiplikçikleri, lifleri ve sonunda da şeritleri oluşturmak üzere kristalleşir. Selüloz şeritleri 1.6x5.8 nm boyutunda yaklaşık olarak 46 mikrolifden oluşmaktadır. Şeritlerin uzunlukları 1-9 µm arasında değişen şeritlere, yoğun ve çok ince ağ yapısına ve yüksek kristalize özelliğe sahiptir (Bielecki, 2001, Brown,1976). Bakteri selülozu, bitkisel selülozdan yüksek kristalleşme katsayısı (%60'ın üstünde) ve polimerleşme derecesi ile de farklılık gösterir. Polimerleşme derecesi çoğunlukla 2000–6000 arasında olmakla birlikte (Jonas ve Farah,1998), bazı örneklerde 16000 ya da 20000'e ulaşmaktadır (Bielecki, 2001). Buna karşılık bitkilerde bu değer ortalama 13000–14000 arasında değişmektedir (El-said, 2004).

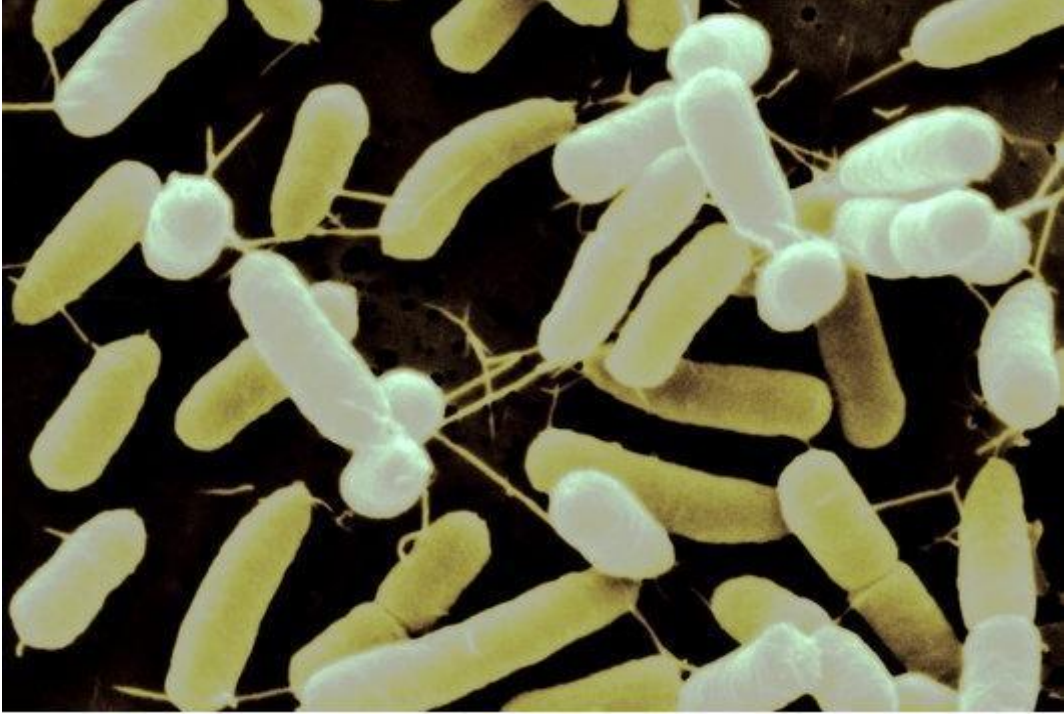
Bakteri selülozunun lifleri bitkiden elde edilen selülozunkinden 100 kat daha incedir. Bu özelliği onu yüksek gözenekli bir malzeme yapmaktadır (Chawla,2009). Ayrıca ağırlığının 100 katı kadar su tutma kapasitesine sahiptir (Shoda ve Sugano, 2005 ).

## 2.3. Selüloz Üreten Bakteriler

Selüloz sadece bitkiler tarafından değil birçok bakteri türü tarafından da sentezlenebilmektedir. Başlıcaları; *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina* ve *salmonella*'dır. *Acetobacter xylinum* tarafından selüloz üretimi ilk defa A.J. Brown tarafından 1886 yılında bulunmuştur. Brown, oksijen ve glikoz varlığında *Acetobacter* hücrelerinin selüloz ürettiğini gözlemlemiştir (Chawla,2009, Klemm,2005). Fakat bakteri selülozu yirminci yüzyılın ikinci yarısından sonra ilgi çekmeye başlamıştır. *Acetobacter xylinum* 'un model organizma olarak kullanılmaya başlaması, Hestrin ve arkadaşları (1947 ve1954) tarafından liyofilize *Acetobacter* hücrelerinin glikoz ve oksijen varlığında selüloz sentezlediğini göstermesiyle olmuştur ( Bielecki, 2001).

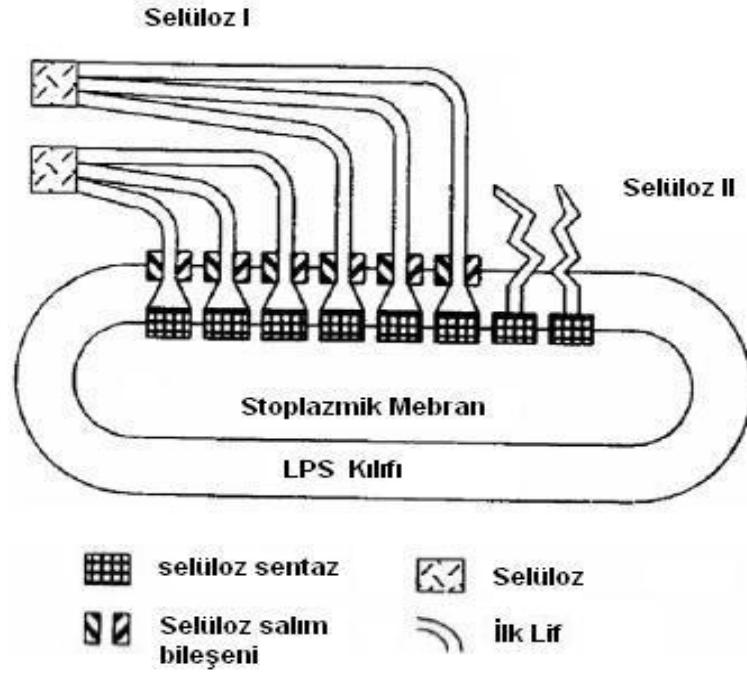
Selüloz üretebilen bakteri türleri arasında, *Acetobacter* türünün (*Gluconacetobacter* olarak tekrar sınıflandırıldı) özellikle selüloz üretmek için

elverişli olduğu bulunmuştur. *Acetobacter xylinum* gram negatif ve elipsoidal formda, ya da çok az kıvrık çubuk biçiminde, zorunlu aerobik bakterilerdir ve 0.6-0.8 x 1.0-4.0  $\mu\text{m}$  boyutlarındadır. Patojenik olmadıkları gibi doğal olarak büyüyen meyva ve meyva ürünlerinin içinde de bulunmaktadır. *Acetobacter xylinum* türü hücre dışı selüloz üretmekte ve bu selüloz kolaylıkla lifli malzeme olarak izole edilebilmektedir (Klemm,2005). şekil 2.2'de *Acetobacter xylinum*'un SEM görüntüsü yer almaktadır.



**şekil 2.2.** *Acetobacter xylinum*'un SEM görüntüsü

*Acetobacter xylinum* selülozu iki formda oluşturmaktadır. Selüloz I, şerit şeklinde polimerken, selüloz II, termodinamik olarak daha kararlı amorf polimerdir. Selüloz I ve selüloz II'nin stoplazmik membranın dışındaki dizilimindeki farklılık şekil 2.3'de verilmiştir. Bakteri selülozunun mikrofibriler yapısı çekme mukavemeti, yüksek polimerizasyon derecesi ve kristallenme indeksi gibi birçok özelliğin ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Chawla,2009). Selüloz I ve II birbirinden X-ışınları, nükleer manyetik rezonans, Raman spektroskopisi ve kızıl ötesi analizleri ile ayrılabilir (Johnson ve Neogi,1989)

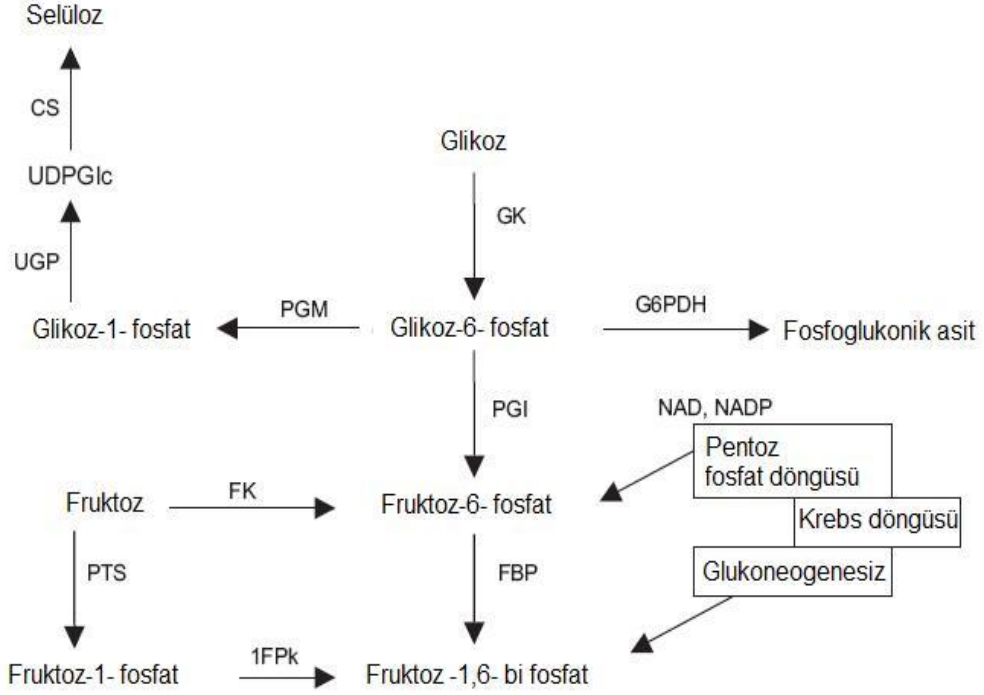


**Şekil 2.3.** *Acetobacter xylinum* tarafından selüloz liflerinin dizilimi

#### 2.4. Bakteriyel Selülozun Biyosentezi

Bakteri selülozunun sentezlenmesi düzenlenmiş birçok basamaktan oluşmaktadır. Bu basamaklar çok sayıda özel enzim ve katalitik ve düzenleyici protein kompleksleri içermektedir (Chawla, 2009). *Acetobacter xylinum* içerisinde karbon metabolizması için kesin olarak belirli olmayan iki yol vardır. Bunlar karbonhidratların oksidasyonu için pentoz fosfat döngüsü, organik asitlerin ve ilgili bileşiklerin oksitlenmesi için krebs döngüsüdür (Ross ve ark.,1991). Bu biyokimyasal reaksiyonlar şekil 2.4' de verilmiştir.

Selüloz sentezi için biyosentetik yol *Acetobacter xylinum*'da oldukça iyi anlaşılmıştır. Glikoz substratından selüloza giden yol pek çok reaksiyon içerir. İlk olarak glikoz glikokinaz (GK) enzimiyle glukoz-6-fosfata, ikinci adımda fosfoglukomutaz (PGM) enzimi ile glukoz-6-fosfat, glukoz-1-fosfata dönüşür. Diğer adımda UDPG pirofosforilaz (UGP) enzimi varlığında glukoz-1-fosfat üridin difosfoglukoza (UDPGlc) dönüştürülür (Saxena, 2001). UDPGlc sentezlenme mekanizması iyi bilinmesine rağmen glikoz polimerizasyonun moleküler mekanizması hala araştırılmaktadır (Chawla, 2009). UDPGlc, selüloz sentezinin öncü maddesidir (Ross ve ark.,1991). Oluşan UDPGlc selüloz sentaz enzimi tarafından substrat olarak kullanılır.



**Şekil 2.4.** *Acetobacter xylinum* tarafından sentezlenen selülozun biyokimyasal yolu

Bitkilerde selüloz, membranda bulunan selüloz sentaz enzimi ile plazma membranında sentezlenirken, *Acetobacter xylinum* bakterisinde selüloz sentaz enzimi stoplazmik membranda bulunur ve selüloz hücre dışı olarak sentezlenir (Çoban, 2008). Selüloz sentezlemeyen ve fenotip olarak negatif mutant olan hücrelerde bu enzimin eksik olduğu belirtilmiş ve bu durum deneysel olarak da gösterilmiştir (Valla, 1989).

## 2.5. Bakteriyel Selülozun Üretim Teknikleri

Bakteriyel selüloz üretimi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin bazıları bakteri selülozu üretiminin ekonomik ve ticari potansiyeli olduğunu göstermektedir. Statik (durgun) kültür, çalkalamalı kültür, dönen disk reaktörler ve hava kaldırmalı reaktörler üretim yöntemlerine örnek gösterilebilir. Üretim yöntemi seçimi ticari amaca bağlı olarak seçilmekte olup, üretilecek olan selülozun yapısı, fiziksel ve mekanik özellikleri doğrudan üretim yönteminden etkilenmektedir (Krystnowicz ve ark., 2002).

### 2.5.1. Statik (durgun) Kültür

Bakteriyel selüloz geleneksel olarak durgun kültür ortamında üretilmektedir. Bu kültür ortamı uzun zaman gerektirmektedir, bu nedenden dolayı verimliliği düşüktür (Jung, 2005). Durgun kültür koşullarında, jelatinimsi zar halindeki bakteri selülozu kültür ortamının yüzeyinde birikmektedir ve bu oluşum selüloz sentezinin kontrolünü zorlaştırmaktadır (şekil 2.5). Çünkü bakterinin ihtiyacı olan düzgün oksijen akımında güçlük oluşmaktadır. Buna rağmen durgun kültür yaygın olarak araştırılmakta ve başarılı ticari selüloz ürünleri üretilmektedir (Krystnowicz ve ark., 2002). Bakteriyel selüloz üretimi hacime bağlı değildir, kültür ortamının yüzey alanına bağlıdır. Bu nedenle yüksek oranda selüloz üretimi için uygun bir yöntem değildir (Shoda ve Sugano, 2005).

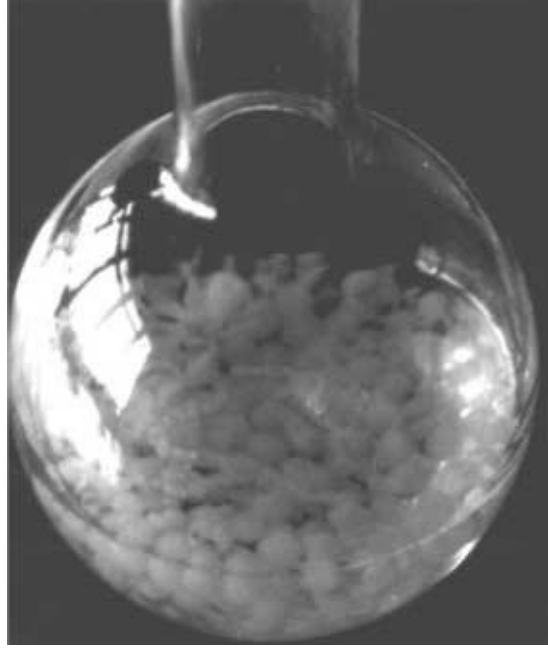


**Şekil 2.5.** Durgun kültürde üretilmiş bakteri selülozu

### 2.5.2. Çalkalamalı Kültür

Çalkalamalı kültürün bakteri selülozunun potansiyel olarak yüksek üretim oranına sahip olmasından dolayı ticari ürünler için daha uygun olduğu düşünülmektedir (Krystnowicz ve ark., 2002). Çalkalamalı kültür şartlarında oluşan kesme gerilmesi sebebiyle selüloz üreten bakteriler, selüloz negatif ( $CeF$ ) mutanlara dönüşerek verimliliği bir miktar düşürmektedir. Buna karşın Jung ve arkadaşları çark tipinin kesme gerilmesini nasıl etkilediği konusunda çalışmalarını sürdürmektedir (Chawla, 2009 ,Jung,2005).

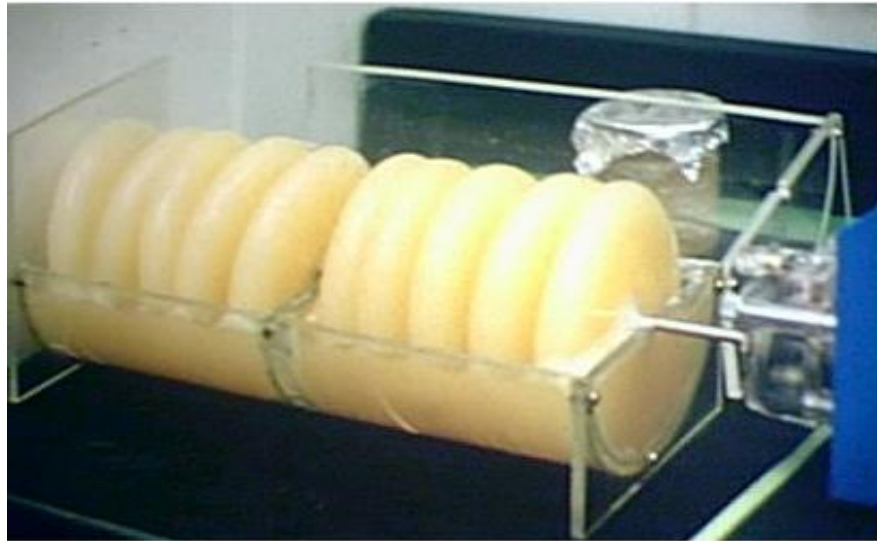
Çalkalamalı kültür yöntemi endüstriyel üretim için uygun görünmektedir (Şekil 2.6) ve çeşitli alanlarda ticari uygulamalara hizmet etmektedir (Watanabe,1998).



**Şekil 2.6.** Çalkalamalı ortamda üretilen bakteri selülozu

### 2.5.3. Dönen Disk Reaktörler

Bakteriyel selüloz, dönen disk reaktörler tarafından, yarısı besi yerine batırılmış, düz, üzerine yuvarlak diskler takılı motor yardımıyla ortasındaki mil tarafından döndürülen bir mekanizma ile üretilir (Mormino ve Bungay,2003 ). Şekil 2.7’de selüloz üretimi gerçekleştirilen dönen disk reaktörü görülmektedir.



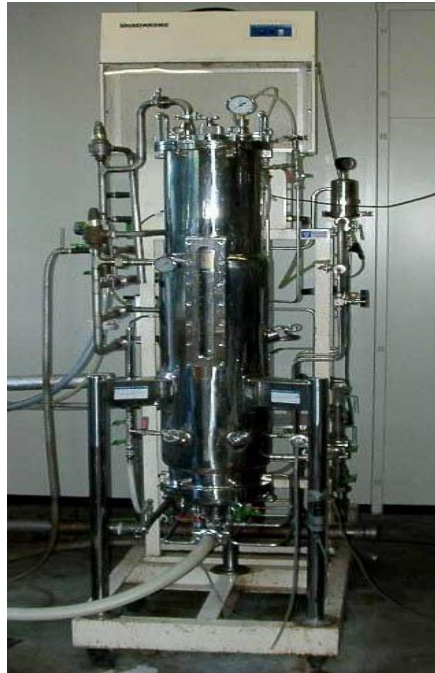
**Şekil 2.7.** Dönen disk reaktör

Dönen disk reaktör aerobik hücrelerin büyümesi için ayarlanmış oranlarda hava ve besi yeri olanağı sağlar. Diskler üzerine yapışan hücrelerin besi yeri ve hava ile temasıyla gerekli olan oksijen ve besinlere ulaşımın kısıtlanmasını ortadan kaldırır (Keefe, 2006, Chawla, 2009).

Krystnowicz ve arkadaşları dönen disk reaktörler için bakteri selülozunun optimum üretim şartlarını besi yeri hacmi, dönüş hızı ve disk sayısı gibi parametreleri değiştirerek araştırmışlardır. Dönüş hızının 4rpm, disk yüzey alanının besi yeri hacmine oranını (S/V) ise  $0.71 \text{ cm}^{-1}$  olduğu zaman maksimum üretimin yapıldığını saptamışlardır (Krystnowicz ve ark., 2002 ).

#### **2.5.4.Hava Kaldırmalı Reaktörler**

Hava kaldırmalı reaktörler birçok mikrobiyal fermentasyonda kullanılmaktadır (Şekil 2.8). Düşük enerji maliyeti, basitliği, yapısı ve ölçek büyütmenin kolaylığı nedeniyle kullanılmıştır. Kesme geriliminin az olmasından dolayı hava kaldırmalı reaktörlerin akışkan olmayan sıvılar için uygun olmadığı düşünülmektedir. Fakat daha önceki çalışmalar bakteri selülozun veriminin çalkalamalı kültürle mukayese edilebilir olduğunu göstermiştir (Chao, 2001, Chao, 1999).



**Şekil 2.8.** Hava kaldırmalı reaktör



Chao ve arkadaşları, hava kaldırmalı reaktörlerde bakteri selülozu birikmesinin çözünen oksijen miktarında azalmaya neden olduğunu ve bunun da verimliliği düşürdüğünü gözlemlemiştir. Oksijence zenginleştirilmiş havanın kültür ortamına verilmesiyle 1 saat içinde üretilen selüloz miktarının 0.059g/L den 0.093 g/L'ye çıktığı bulunmuştur (Chao, 2001)

## **2.6.Üretim Parametreleri**

Bakteriyel selüloz verimliliği üretim koşullarına, çevresel koşullara ve yan ürünlerin oluşumuna bağlıdır. Bunlar üretim yöntemi, karbon ve azot kaynağı, pH, sıcaklık ve çözünmüş oksijen miktarıdır (Shoda ve Sugano, 2005).

### **2.6.1.Karbon Kaynağı**

Bakteri selülozunun üretimindeki en büyük etmen karbon kaynağıdır (Bielecki, 2001). Selüloz üretiminde genellikle karbon kaynağı olarak glikoz ve sükroz kullanılmasına karşın fruktoz, maltoz, ksiloz, nişasta ve gliserol gibi başka karbonhidratlarla da çalışmalar yapılmaktadır (Chawla, 2009 ).

Keshk ve arkadaşları, *Acetobacter xylinum* ATCC 10245'i kullanarak çeşitli karbon kaynaklarının selüloz membran üretim verimliliklerini incelemiştir. Karbon kaynağı olarak glikoz, gliserol, ksiloz, etanol, arabinoz, galaktoz, mannoz, ramnoz, sorboz, laktoz, methanol, fruktoz, sakkaroz, galaktoz, inositol kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonunda dört ana karbon kaynağının verimlilikleri hesaplanmış ve eklenen substrat miktarına göre en yüksek bakteri selüloz verimi %28.7 ile gliserolde bulunmuştur. Ayrıca en çok kullanılan karbon kaynağı olan glikoz için farklı konsantrasyon değerlerindeki selüloz üretimi araştırılmış ve %1'de en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Glikoz konsantrasyonu %2-%3'e çıkarıldığında selüloz verimliliğinin düştüğü görülmüştür (Keshk ve Sameshima, 2005 ).

Jonas ve Farah, karbon kaynağı olarak monosakkaritler, disakkaritler, polisakkaritler, alkoller, organik asitler ve diğer bileşikler karşılaştırmışlardır. Şeker alkolü olan, arabitol ve manitol dışındaki tüm karbon kaynakları glikoz ile karşılaştırıldığında daha az aktif oldukları bulunmuştur. Glikoza göre arabitol 6.2, manitol ise 3.8 kat daha fazla selüloz üretmektedir (Jonas ve Farah, 1998 ).

### 2.6.2.Sıcaklık

Bakteri selülozunun üretimi için literatür çalışmalarında ortam sıcaklığı 25 °C ile 30 °C arasında tutularak optimum miktarda üretildiği görülmektedir (Jonas ve Farah, 1998) .

Son ve arkadaşları *Acetobacter sp. A9* için 20 °C ile 40 °C arasında selüloz üretiminin değişimini gözlemlemiştir. 25 °C in altında herhangi bir selüloz üretiminin olmadığı, 35 °C' in üstünde ise selüloz veriminde azalma olduğu bulunmuştur (Son,2001).

Diğer bir çalışmada, Jonas ve Farah 72 saat sonunda 24 °C'de selüloz üretiminde %50 daha fazla verim alındığını gözlemlemiştir. Fakat bu yöntem endüstriyel amaçlar için istenilen sonuçları vermemiştir ( Jonas ve Farah,1998 ) .

### 2.6.3. pH

Bakteri selülozu üretimi için kültür ortamının optimum pH değeri 4.0 ile 6.0 arasındadır. Selüloz verimi pH 4.0' ün altında düşmektedir. Çünkü selüloz üretimi esnasında oluşan ve ortamda biriken glukonik, asetik ve laktik asit pH değerini düşürmektedir. Bundan dolayı pH'ı optimum aralıkta kontrol altında tutmak önemlidir (Chawla, 2009 ) .

Keshk ve Sameshima glikozun karbon kaynağı olarak kullanımı sırasında kültür ortamına lignosülfonat eklemenin glukonik asit oluşumu ve selüloz üretimi üzerine etkisini araştırmış ve glukonik asit oluşumunun azaldığı, bunun sonucu olarak da selüloz veriminin arttığı görülmüştür (Keshk ve Sameshima, 2005 ) .

Birçok araştırmacı tarafından *Acetobacter xylinum* kullanılarak selüloz üretilmek için optimum pH değeri 5 ile 6 arasında tercih etmektedir. Buna rağmen bu araştırmacıların büyük kısmı tarafından pH 5 en çok tercih edilenidir. (Jonas and Farah,1998).

### 2.6.4. Çözünmüş Oksijen Miktarı

Üretim ortamında bulunan çözünmüş oksijen miktarı selüloz üretimi için önemli bir faktördür. Durgun kültürde substratlar tümüyle difüzyonla transfer olmak zorundadır. Karbon kaynakları için bu mümkünken, oksijen kullanılabilirliği hücre

metabolizması için kısıtlayıcı faktör olmaya başlamaktadır. Bu nedenden dolayı selüloz üretiminde negatif etki olmakta ve selülozun kalitesi düşmektedir (Chawla, 2009 ).

Hwang ve arkadaşları, %2 ile %15 arasındaki çözünmüş oksijen miktarını kontrol altında tutarak kültür ortamındaki çözünmüş oksijen miktarının bakteri selülozu üretimi üzerindeki etkisini araştırmıştır. En yüksek verim %10 oranında çözünmüş oksijen miktarında 15g /L olarak elde edilmiştir (Hwang, 1999).

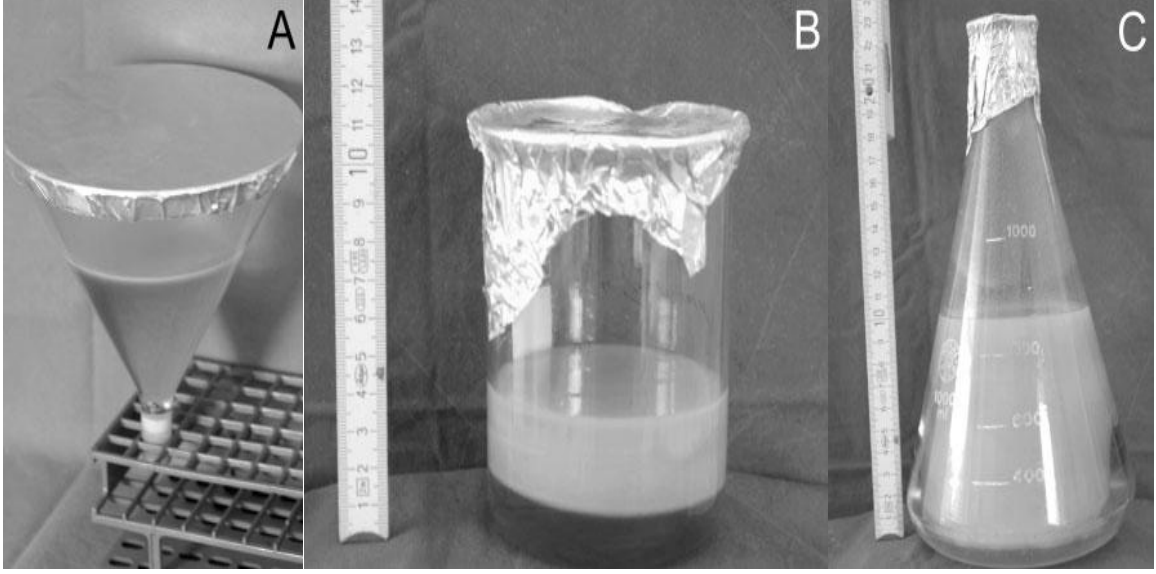
### **2.6.5 Azot Kaynağı**

Bakteri selülozu üretimindeki önemli parametrelerden biri de azot kaynağıdır. Heo ve Son, Kore'de elmadan izole edilen *Acetobacter sp. A9*'u kullanarak farklı azot kaynaklarını % 0,3 (w /v) oranında kullanmıştır. Besi yeri içine azot kaynağı olarak  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $NH_4H_2PO_4$  ve  $(NH_4)_2HPO_4$  kullanıldığında önemli seviyede selüloz elde edilmiştir.  $(NH_4)_2SO_4$  bunların içerisinde 4.69g/L ile en verimlisidir.  $NH_4NO_3$  ve  $NH_4Cl$ ' ün selüloz üretimindeki etkileri zayıftır (Heo ve Son, 2002).

### **2.6.6 Duvar Etkisi**

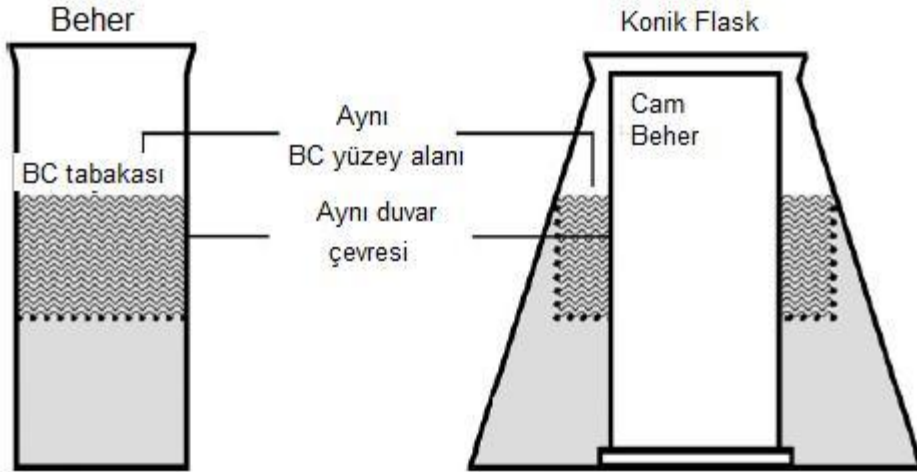
Hornung ve arkadaşları "Duvar etkisi" olarak değerlendirdikleri çalışmalarında üretim yapılan kabın şeklinin etkisini araştırmışlardır. Oksijence zengin üst katmanı yaşayan hücreler kaplamaktadır. Bundan dolayı önceden üretilen selüloz substrat çözültisinin içine doğru hareket etmek zorundadır. Herhangi bir şekilde bu batma hareketi engellenirse, yeni selüloz oluşumu azalacaktır. Eğer üretim yapılan kap dik değilse ve duvarları dışa doğru eğimliyse çok ince bir selüloz tabakası oluşur. Eğer bu kap dik bir beher ise selüloz katmanı ve duvarlar arasında etkileşim vardır. Bu selüloz tabakasının aşağıya batmasına sağlayabilir (Hornung, 2006b).

Şekil 2.9'da aynı süre içerisinde farklı şekillerdeki cam malzeme içindeki bakteriyel selülozun büyüme oranları görülmektedir. Ayrıca duvar etkisinin difüzyon alanından daha etkili bir parametre olduğu da bu çalışmada gösterilmiştir.



**Şekil 2.9.** Bakteriye selülozün farklı şekildeki kaplarda büyümesi; A: Maksimum 3mm kalınlık , B: Maksimum 2cm kalınlık, C:10 cm kalınlık

Şekil 2.10'da aynı yüzey alanı ve duvar çevresine sahip olarak hazırlanmış deney düzeneğinde, beherde üretilen selülozün kalınlığı 2-3 cm'ye ulaşırken, konik flaskın içine yerleştirilmiş olan düzenekte elde edilen selülozün kalınlığının 3-3.5 cm olduğu gözlemlenmiştir (Hornung, 2006b).



**Şekil 2.10.** Modifiye konik flask deneyi

## 2.7. Bakteri Selülozunun Kullanım Alanları

Son yıllarda bakteri selülozunun ticari uygulamalarına olan ilgi artmıştır. Bunlara verilebilecek en önemli örnekler geçici deri ve doku yenileme ürünleri (Biofill, Bioprocess and Gengiflex), düşük kalorili gıda (Nata de Coco ) ve kâğıt üretiminde katkılarıdır. Bu aktiviteler yeni bakteri ırklarının izole edilmesi, genetik modifikasyonlar ve çeşitli laboratuvar kültür parametreleri ile sağlanmaktadır (Klemm, 2005).

### 2.7.1 Medikal Alanda Kullanımı

Bakteri selülozunun büyük ölçekte ticarileştirilmesi ilk defa Johnson & Johnson adlı şirket tarafından 1980 lerin başında olmuştur. Bu şirket bakteri selülozunun farklı tedavi alanları için örtü malzemeleri olarak kullanımı alanında araştırmalara öncülük etmiştir. Fakat Johnson & Johnson kendi icatları dışında büyük ölçek fermentasyon sistemlerindeki problemler nedeniyle herhangi bir ticari ürün piyasaya sürememiştir

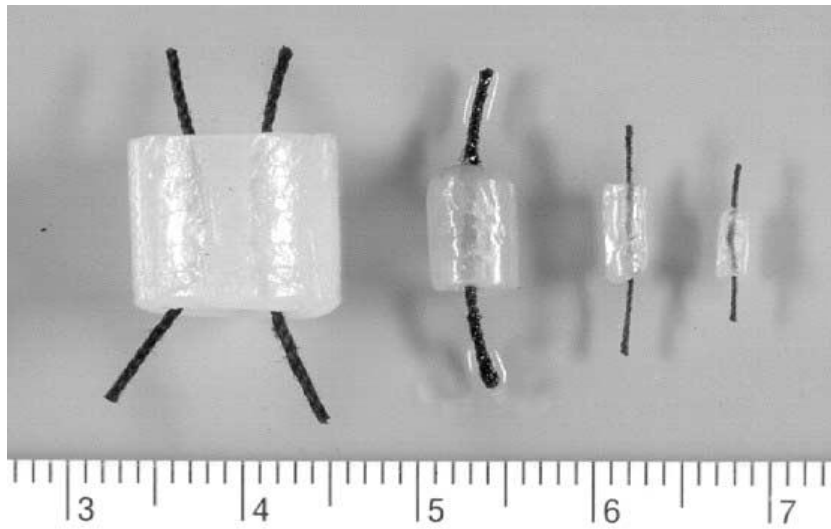
Brezilyalı bir şirket olan “Biofill Produtos Bioetecnicos” selülozun özelliklerini araştırmış ve *Acetobacter* tarafından üretilen bakteri selülozunu baz alan yeni yara iyileştirme sistemi oluşturmuştur. Bu şirketin ürünleri olan Biofill® ve Bioprocess® yanık ve ülser tedavisinde yapay deri olarak, Gengiflex® ise diş eti hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Czaja, 2007).

Biofill® ikinci ve üçüncü derecede yanık ve ülser için bandaj olarak kullanılan başarılı bir üründür. Geçici deri olarak ideal bir ürün olan Biofill® ‘in en büyük dezavantajı hareketli alanlarda uygulandığındaki kısıtlı esnekliğidir. Bunların aksine uygulandığı anda acı dindirmesi, yaraya iyi yapışması, ameliyat sonrası rahatsızlığı azaltması, enfeksiyon oranını azaltması gibi yararları vardır. Yeni deri oluşup Biofill® çıkarıldığında şeffaf selüloz yara muayenesini kolaylaştırır. İyileşme zamanını ve harcanan parayı azalttığı için Biofill® finansal uygulanabilirliğe sahiptir (Holmes, 2004). Şekil 2.11’de yanık tedavisi esnasında neredeyse tüm vücudu selülozla kaplanmış bir hasta görülmektedir.



**Şekil 2.11.** Vücudunda yanık olan bir hasta tedavi esnasında

Bir başka medikal üründe kimyager, biyolog ve cerrahların ortak çalışması sonucunda yapay kan damarı olarak kullanılmak üzere geliştirilen BASYC® (BACTERIAL SYNTHESIZED CELLULOSE) dir. Medikal uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanılmak üzere durgun kültür ortamında cam tüplerin iç içe konularak boru biçiminde üretilmesi sağlanmıştır. BASYC® markalı tüp iç yarıçapı 1mm, uzunluğu 5mm ve duvar kalınlığı 0.7mm olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu parametreler deneysel mikro cerrahi için uygundur. Şekil 2.12' de bakteri selülozundan yapılan yapay kan damarları görülmektedir (Klemm, 2001).



**Şekil 2.12.** BASYC® markalı farklı iç yarıçaplarında, duvar kalınlıklarında ve uzunluklarda tüpler

Diğer bir bakteri selülozu ürünü de Xylos şirketi tarafından üretilen XCell®'dir. Xylos, Johnson & Johnson ile lisans anlaşması yaparak onların selüloz bazlı yara

yanık ürünleri ile ilgili patentlerini kullanmışlardır. Daha sonraları bu şirket kendi üretim teknolojisini geliştirmiş ve XCell®'i antimikrobiyal yara örtü malzemesi olarak 2003 yılında Amerikada satılmaya başlamıştır (Czaja, 2006). 18 ülser hastası üzerinde XCell® kullanılarak yapılan araştırmada uygulamaya riayet etmeyen 2 hasta haricinde geri kalan 16 hastanın 13'ünde yarada büyük ölçüde iyileşme, 1 hastadada tam iyileşme saptanmıştır (Brown ve Punchello, 2003). Şekil 2.13'de 3. derece ülser olan 90 yaşındaki bayan hastanın XCell® kullanılarak yapılan tedavi ile yarasındaki iyileşme süreci gösterilmektedir.



**Şekil 2.13.** 3. derece ülser yarasındaki iyileşme süreci; (a) tedaviden önce, (b) ikinci hafta yaranın sargılı hali, (c) ikinci hafta yaranın açık hali (d) yedinci hafta

### 2.7.2 Gıda Sektöründe Kullanımı

Bakteri selülozu, uzun zincir yapısına sahip, diğer kaynaklardan elde edilenden daha saf, su tutma kapasitesi yüksek, katlanınca şeklini koruyan, üretim esnasında modifikasyonlara uygun bir polimerdir. Bu özellikleri nedeniyle bakteriyel selüloz gıda sanayinde, düşük kalorili tatlı (Nata de Coco), cips, çerez ve şekerlemelerin üretiminde; dolgunluk verici olarak tatlı, dondurma ve salata soslarının bileşiminde, ayrıca sosis ve etlerin kaplanmasında güvenilir ve geniş bir kullanım potansiyeline sahiptir (Dursun, 2006).

Hindistan cevizi suyunun fermantasyonu sonucu oluşan şeffaf, kalın jel halindeki selülozun küp halinde kesilmesi ve şeker şurubuna batırılmasıyla elde edilen Nata De Coco, Filipinlerde yaygın olarak tüketilen bir tatlı çeşididir. Nata De Coco halen Endonezyada büyük miktarlarda üretilmekte ve diyet ürünü olarak ihraç edilmektedir (şekil 2.14). Bununla birlikte farklı bitki özlerinden ve meyva sularından benzer ürünler üretilmektedir. Ananastan üretilen *Nata-de-pina* bunlardan biridir (Iguchi, 2000).



**Şekil 2.14.** Nata de Coco

Gıda sektöründe bir başka potansiyel kullanım alanı ise Akoğlu ve arkadaşları tarafından araştırılmış olan fermente Türk sucuğuna düşük yağ oranlı ve standart ürün elde etmek amacıyla bakteriyel selüloz ilave edilmesidir. İzole edilen ve tanımlanan bakterilerden en yüksek selüloz verimine sahip suş seçilmiş ve statik kültür yöntemiyle yüksek oranda bakteriyel selüloz üretilmiştir. %20 oranında yağ içeren sucuk örneği denemelerde kontrol olarak hazırlanmış ve bu orandan yola çıkarak yağ miktarını belli oranlarda azaltmak ve aynı oranlarda selüloz ilave etmek suretiyle %5, %10, %15 ve %20 oranlarında selüloz içeren 4 farklı sucuk örneği hazırlanmıştır. Sucuk örnekleri standartlara göre fermentasyona bırakılmış ve fermentasyon sonrasında vakum paketlenerek analize hazır hale getirilmiştir. Fiziksel, kimyasal ve duyu analizleri yapılan sucukların analiz sonuçları incelendiğinde %10 selüloz içeren ürünün kontrole en yakın ürün olduğu belirlenmiş ve diyet bir ürün olarak tüketilebileceği önerilmiştir (Akoğlu, 2008).

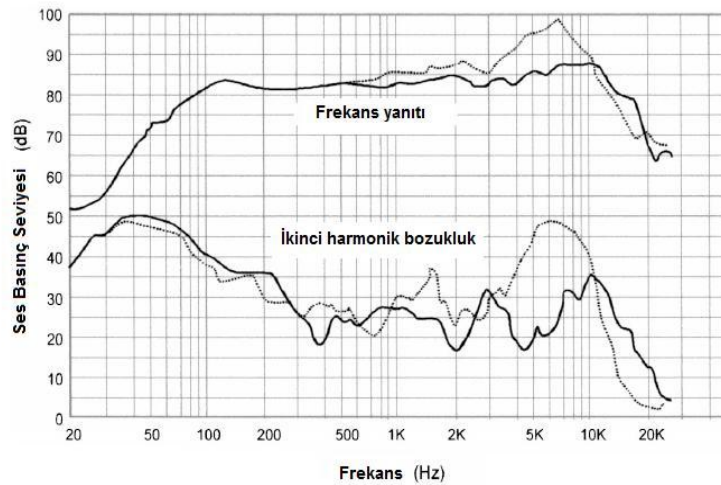


### 2.7.3 Kâğıt Sektöründe Kullanımı

Bakteriyel selüloz, çok iyi mekanik özelliklere sahip olduğundan birinci kalite kâğıt üretiminde kullanılır. Bakteriyel selüloz içerikli kâğıtlar, dolgu ve renk maddesi gibi katkı maddelerini iyi tutabilmeleri yanında aynı zamanda elastik, geçirgen, yırtılmalara-yanmalara dirençli ve suyu emme özelliğine de sahiptirler. Tarihi dokümanların tamirinde kullanılan el yapımı kâğıtların fibrillerine az miktarda bakteriyel selüloz ilave edilmesiyle yıpranmaya dirençli bir etki yaratılmış olur. Bakteriyel selülozu % 1 oranında içeren kâğıtlar ISO 9706:1994 standardında yer almaktadır. Ayrıca bakteriyel selülozdan yüzey kaplamada kullanılan kâğıtlar da üretilmiştir. Bu kâğıtlar cilalı, parlak, düzgün ve gözenekli bir görünüme sahiptir. Yüzde 3 oranında bakteriyel selüloz içeren kaplama kâğıtları, % 20 oranında kaplamaya sahip olan rotogravür kâğıtlarına benzer yüzey direncine ve cila özelliklerine sahiptir (Çoban, 2008).

### 2.7.4 Diğer Kullanım Alanları

Çeşitli uygulamalar arasında bugüne kadar, kullanım düzeyine ulaşmış olan bakteri selülozunun akustik zar olarak kullanımı iki temel özelliğe dayanır; bunlar yüksek ses hızı ve yüksek içsel kayıptır (Iguchi, 2000). Genellikle yüksek ses hızına sahip malzemeler düşük içsel kayba sahiptirler. Fakat bakteri selülozu yüksek ses hızına sahipken ayrıca yüksek içsel kayba da sahiptir, oda geleneksel kağıda eşittir (Yoshinaga, 1997).



**Şekil 2.15.** Test hoparlörlerinin frekans özellikleri (16cm<sup>2</sup> tam aralık koni çeşidi). Kalın çizgi: bakteri selülozu kompoziti , Noktalı çizgi; geleneksel kâğıt

Kompozit kağıt koni diyagramının ses basıncı seviyesi eğrileri şekil 2.15'de görüldüğü gibi ikinci harmonik bozukluk ve frekans yanıtı geniş bir frekans aralığında üstüste gelmektedir. Bu nedenle yüksek duyarlılığa sahip hoparlör ve kulaklıklar Sony tarafından piyasaya sürülmüştür (Iguchi, 2000 ).

Bir diğer çalışma konusu ise elektronik kağıt teknolojisidir. Selüloz (kağıt) her zaman diğer görüntüleme sistemlerinden yüksek yansıtma, kontrast, düşük fiyat ve esnekliği nedeniyle daha iyi olmuştur. Shah ve Brown bakteri selülozunu kullanarak elektronik ekran elde etmeye çalışmışlardır (Shah ve Brown, 2005).

## **2.8. Bakteri Selülozunun Modifikasyonu**

Son yıllarda doğal liflerin termoplastik ve termoset polimerlerle kompozit hale getirilip güçlendirilmesi ilgi çekmektedir. Şimdiye kadar birçok çalışma kısmi biyobozunur kompozit malzemelerin geliştirilmesine odaklanmıştır. Bu kompozit malzemeler biyobozunur olmayan matrikslerle ya da dolgu malzemeleri ile güçlendirilmiş doğal lifleri de içermektedir. Şimdilerde daha çok araştırmacı, yeşil kompozit, ekokompozit ya da biyokompozit olarak adlandırdıkları tamamen bozunabilen kompozit malzemeler geliştirmeye çalışmaktadır (Wan, 2009). Bakteri selülozunun kimyasal yapısı bitki selülozuyla aynıyken, fiziksel ve kimyasal özellikleri farklıdır (Ano, 2009). Bakteri selülozu membranları yüksek mekanik özellikleri ve seçici geçirgenliği nedeniyle çeşitli biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarda önem kazanmıştır. Son yıllarda gıdalar için çevre dostu ve uygun fiyatlı biyobozunur paketleme malzemelerinin geliştirilmesi ve bu malzemelerden yararlanılması ilgi çekmektedir (George, 2005).

Gindl ve Keckes selüloz asetat bütirat bazlı bakteri selülozu katılarak kuvvetlendirilmiş kompozitler hazırlamıştır (Gindl ve Keckes, 2004 ). Yano ve arkadaşları, bakteri selülozu lifleri ile akrilik reçine nanokompozitlerin üretimini araştırmışlardır (Yano ve ark., 2005).

Literatürde nişasta ve bakteri selülozu kompozitlerine dair birçok çalışma mevcuttur, fakat mekanik özellikleri, su tutma kapasitesi, biyobozunması hakkında bilgi bulunamamıştır. Wan ve arkadaşları *Acetobacter xylinum* X2'yi kullanarak bakteri selülozu-nişasta kompozitleri hazırlamışlardır. Numuneler 30mm x 10mm

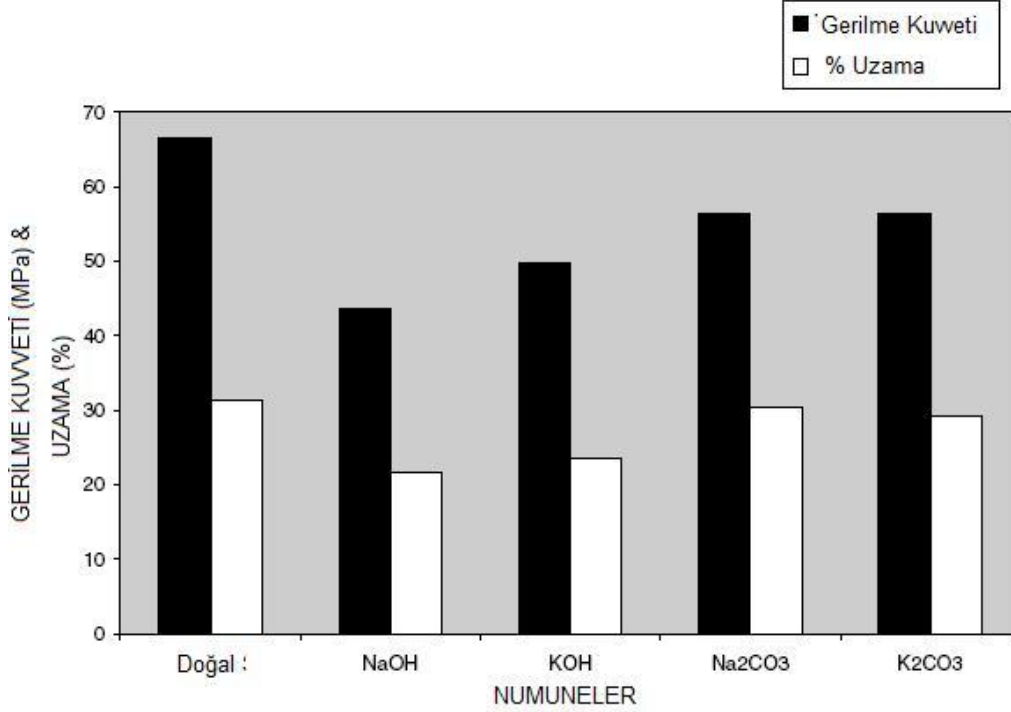
boyutlarında %35 nem içerecek şekilde hazırlanmış ve 5 mm/min hızla test edilmiştir. Test sonucunda bakteri selülozu içermeyen nişasta'nın gerilme dayanımı 13.1 Mpa, uzama miktarı %39.4 elde edilirken, ağırlıkça % 22 oranında bakteri selülozu içeren Bakteri selülozu/nişasta kompozitinin gerilme dayanımı 31.06 Mpa, uzaması ise % 5.3 bulunmuştur (Wan ,2009 )

Bir başka çalışmada *Acetobacter xylinus* ATCC 53524 kullanılarak 48, 72, 96 saat inkübe edilerek hazırlanan bakteri selülozları 0.1 M NaOH çözeltisinde 30 dakika boyunca kaynatılarak bakterilerden temizlenmiştir. Daha sonra 2.63 mm x 14 mm olarak her bir numunenin kalınlık değeri ölçülerek ıslak haldeki gerilme dayanım testleri yapılmıştır. 48, 72, 96 saat sonunda elde edilen doğal selülozların gerilme kuvvetleri sırasıyla 2.22 MPa, 1.61 MPa, 1.23 MPa bulunmuştur. NaOH çözeltisiyle muamele edilen selülozların gerilme kuvvetleri 1.68 MPa, 1.49 MPa, 1.11 MPa olarak saptanmıştır (McKenna ve ark., 2009 )

Yudianti ve Indrarti suda çözünebilen polimerler olan karboksi metil selüloz ve gliserol ile bakteri selülozunu homojenize ederek yapısal ve mekanik özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Karboksi metil selüloz oranları %0, %0.25, %0.50 ve %0.75 olacak şekilde yavaşça 50 °C 'ye ısıtılmış ve Bakteri selülozu ile homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra bu hazırlanan kompozit malzemelere %0.25 ve %0.5 oranında oranında gliserol katılmıştır. Son olarak kompozit malzemeler teflon yüzey üzerinde 40 °C' de etüvde kurutulmuştur. Test için hazır hale gelen malzemeler ISO 527 type 5B'ye göre kesilmiştir. Nemliliği %50±5 olarak ayarlanmış ve çekme hızı 1 mm/dakika olacak şekilde uygulanmıştır. Karboksi metil selüloz oranı arttıkça gerilme dayanımının arttığı saptanmış olup %0.75 oranındayken 167.7 MPa bulunmuştur. Fakat gliserol eklenen kompozitlerin gerilme dayanımının eklenen gliserol miktarı ile daha da düştüğü bulunmuştur (Yudianti ve Indrarti, 2008).

George ve arkadaşları 2 hafta boyunca inkübe edilerek üretimi yapılan bakteri selülozlarını sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum karbonat ve potasyum karbonat ile bakterilerden temizlenip filtre kağıdı arasında 60 °C 'de 10-12 saat bekletilerek mekanik testler için hazırlamıştır. Mekanik testi yapılacak olan kuru bakteri selülozları 5"x1" boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır. Gerilme dayanımı testleri 500 mm/dakika hızla yapılmıştır. Sonuçlar şekil 2.16'da görülmektedir.

0.1M Potasyum karbonat ve sodyum karbonat ile yapılan işlem sonucunda hidroksit grubu içerenlere göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir (George ve ark. ,2005).



**Şekil 2.16.** Kimyasal temizleme işlemi yapılan bakteri selüloz membranlarının mekanik özellikleri

Şeker kamışı piriç ve otlarda amorf haldeki silikanın topraktan alarak polisakkarit matriksinde depolanması ile biyomineralizasyon gerçekleşir. Maeda ve arkadaşları selüloz / silika hibrit yapısını taklit etmeyi denemişlerdir. Bunun için tetra etoksi silan'dan (TEOS) türetilen silanolun sulu çözeltisi içine batırılan bakteri selülozunu kullanmışlardır. Gerilme dayanımı ölçümü için ölçüm uzunluğu 20 mm olan numuneler 10 mm/dakika hızla test edilmiştir. Kuru formda elde edilen bakteri selülozu / silika hibrit yapının elastisite modülü 25 °C 'de 17 GPa, gerilme dayanımı ise 185 MPa bulunmuştur (Maeda , 2006).

### 3.DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez kapsamında kullanılan kimyasalların tamamı yüksek safliktadır ve satın alma yolu ile temin edilmiştir.

#### 3.2.Bakteri Selülozunun Sentezlenmesi

##### 3.2.1. *Acetobacter xylinum* Stok Kültür ve Aşı Çözeltisinin Hazırlanması

Bu tez çalışmasında, Amerika Birleşik Devletleri, Tarımsal Araştırma Kültür Koleksiyonu'ndan (Agricultural Research Service Culture Collection, ARS, USA) liyofilize formda alınmış olan *Acetobacter xylinum* ATCC10245 bakterisi kullanılmıştır.

*Acetobacter xylinum*, çizelge 3.1'de içeriği verilen 200 mL besin ortamında açıldıktan sonra 30 °C, 150 rpm karıştırma hızında 24 saat inkübe edilmiştir. Besi yerinin pH değeri 1 M hidroklorik asit (HCl) kullanılarak pH 5'e ayarlandıktan sonra, 120°C' ta 20 dakika otoklavda steril edilmiştir.

**Çizelge 3.1.** *Acetobacter xylinum* bakterisinin ilk açıldığı besin ortamı

Glikoz	25 g/L
Pepton	3 g/L
Maya özütü	5 g/L

Hazırlanan hücre süspansiyonundan stoklar hazırlanmıştır. Bunun için çizelge 3.2' de verilen çözeltiliye %10 gliserol eklenerek 1'er mL ependorf tüplere konulmuş, 120°C'de 20 dakika otoklav ile sterilizasyonu yapıldıktan sonra bu çözeltiliye öze ucu ile ilk açılan kültürden ekim yapılarak 3 gün, 30°C'de durgun ortamda üretilmiştir. Üç günlük kültürden sonra bu çözeltiler, daha sonra kullanılmak üzere -80°C' da saklanmıştır.

**Çizelge 3.2.** Stok çözelti hazırlamak için kullanılan besi yeri

Glikoz	20 g/L
Pepton	10 g/L
Maya özütü	10 g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8 mM
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12 mM

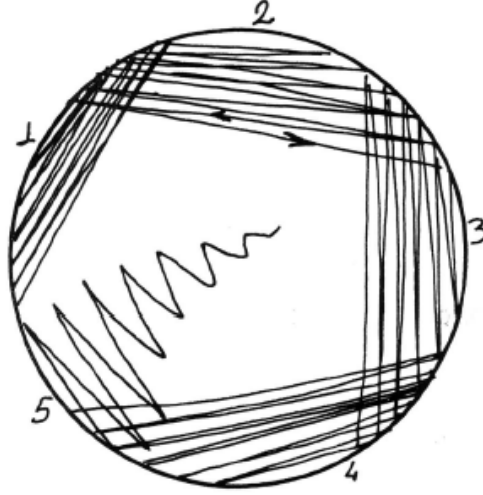
Tek koloni elde edilmesi için, çizelge 3.3'de verilen besi yeri hazırlanır ve daha sonra 120<sup>0</sup> C de 20 dakika otoklavda sterilize edilir. Sterilize edilen besi yeri daha sonra alev altında petri kaplarına aktarılarak soğumaya bırakılır.

**Çizelge 3.3.** Tek koloni ekimi için hazırlanan besi yeri

Glikoz	20 g/L
Pepton	5 g/L
Maya özütü	5 g/L
Agar	15 g/L

Sertleşen yüzey üzerine, -80 °C da saklanan ependorf içindeki stok çözelti öze ucu yardımıyla şekil 3.1' de gösterilen tek koloni düşürme yöntemi ile ekimi yapılır ve 3 gün süreyle 30 °C durgun ortamda inkübe edilir. 3 günlük inkübasyon süresi sonunda üzerinde bakteri kolonileri üremiş olan besi yerleri +4 °C da ki buzdolabında daha sonra gerektiğinde kullanılmak üzere saklanır.

Kullanılacak olan aşığı hazırlamak için, literatürde çok sık kullanılan Hestrin ve Schramm besi yeri olarak da bilinen ve içeriği çizelge 3.4' de verilen besi yeri hazırlanır. Daha sonra pH değeri, 1 M HCl kullanılarak 5–5.1 arasında ayarlanır ve 120 °C de 20 dakika otoklavda sterilize edilir. Alev altında soğumaya bırakılan 100 mL'lik erlen içindeki besi yerine, önceden hazırlanan koloniler transfer edilir ve 30°C de 3 gün boyunca 150 rpm hız ile çalkalamalı etüvde inkübe edilerek standart aşı çözeltisi hazırlanır.



**Şekil 3.1.** Tek koloni düşürme yönteminin şematik gösterimi

3 gün sonunda çalkalamalı ortamdan çıkarılan 100 mL aşı çözeltileri kullanılmak üzere +4 °C deki buzdolabında saklanır. Her üretim öncesi bu işlemler tekrarlanarak standart aşı çözeltisi hazırlanır.

**Çizelge 3.4.** Çalışmada kullanılan besi yeri

Glikoz	20 g/L
Pepton	5 g/L
Maya özütü	5 g/L
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.7 g/L
Sitrik Asit	1.15 g/L

### 3.2.2. Kinetik Çalışmalar

*Acetobacter xylinum* ATCC 10245 bakterisinin kinetik parametrelerini belirlemek amacıyla hücre çoğalması, bakteriyel selüloz oluşumu ve glikoz tüketimi zamana karşı incelenmiş, büyüme hızı hesaplanmıştır (Çetin, 2008).

#### 3.2.2.1. Hücre Çoğalması

Mikroorganizmaların çoğalma evreleri klasik olarak dört evrede gerçekleşmektedir. Gecikme evresi, bu evrede organizmalar ortamdaki substrata göre gerekli enzimleri sentezleyerek ortama uyum sağlamaya başlar. Daha sonra ekspanansiyel büyüme evresi, organizmaların ortama adapte olmalarından sonra

çoğalma hızı sabitlenene kadar artar. Çoğalma hızı sabitlenen mikroorganizmalar durgun evre denilen evreye girerler, burada çoğalma hızı ve ölüm hızı eşittir. Son evre ise gerileme evresidir. Mikroorganizmaların ölüm hızı giderek artar.

*Acetobacter xylinum*'un çoğalma kinetiği zamana bağlı olarak ve uygun seyreltmeler yapılarak katı besi yerine ekilerek oluşan kolonilerin sayımı ile incelenmiştir (Chao, 1999). Oluşan koloniler, koloni oluşum birimi, KOB, cinsinden (colony forming unit, CFU) hesaplanmıştır. Yapılan ekimlerden sadece 30-300 arası koloni oluşturan ekimler sayılmış, bu aralığın dışında kalan seyreltmeler hesaba katılmamıştır. Bakteri konsantrasyonunun hesaplanması için eşitlik 3.1 kullanılmıştır.

$$\text{KOB mL}^{-1} = (\text{oluşan koloni sayısı}) / (\text{son seyreltme}) \quad (3.1)$$

Spesifik büyüme hızının hesaplanması için eşitlik 3.2 kullanılarak zamana karşı  $\ln(X_t/X_0)$  değerleri grafiğe geçirilmiştir. Bu grafiğin eğimi spesifik büyüme hızını ( $\mu$ ) vermektedir.

$$\ln(X_t/X_0) = \mu t \quad (3.2)$$

Bu eşitlikte;  $X_t$ : t anındaki hücre konsantrasyonu,  $X_0$ : başlangıç hücre konsantrasyonu,  $\mu$ : spesifik büyüme hızını ( $\text{sa}^{-1}$ ) göstermektedir.

Mikroorganizmalar, uygun besi yeri ve çevresel koşullar altında hızla ürerler. Koşulların uygunluğu devam ettiği sürece, buna paralel olarak çoğalma da sürekli olur. Hücre sayısının iki katı artması için gereken süreye ikilenme süresi ( $t_d$ ) denir. Eşitlik 3.2'de  $X_t=2x$ ,  $X_0=x$  olduğunda Eşitlik 3.3 elde edilir.

$$t_d = \ln 2 / (\mu) = 0.693 / (\mu) \quad (3.3)$$

### 3.2.2.2. Selüloz Oluşumu

Bakteriyel selülozun oluşumunun gravimetrik olarak takibi için oluşturulan bakteriyel selüloz membranlar 2 M NaOH çözeltisinde 1 saat boyunca 80°C'ta saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. NaOH muamelesi membranların içinde gömülü olan bakterilerin parçalanmasını sağlayarak membranları saflaştırır. Ortamdaki safsızlıkların giderilmesi amacıyla yıkama suyunun pH 'sı nötr olana



kadar membranlar damıtık su ile sürekli yıkanmışlardır. Kurutma etüvünde 80°C'te 8 saat kurutulmuş ve tartımı yapılmıştır (Çetin, 2008).

### 3.2.2.3. Glikoz Tüketimi

Glikoz tüketimi DNS (Dinitro Salisilik Asit) yöntemi ile izlenmiştir. Bunun için glikoz konsantrasyonu 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL olan standart çözeltiler hazırlanır. Hazırlanan standart glikoz çözeltilerden 3 mL alınır ve herbirine çizelge 3.5'te verilen 3 mL DNS reaktifi eklenir. 15 dakika kaynayan su içerisinde bekletilir. Renk oluşumunun ardından herbirine 1 mL sodyum potasyum tartarat çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığına getirilen çözeltiler UV spektrofotometrede 575 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülerek kalibrasyon eğrisi oluşturulur.

**Çizelge 3.5.** DNS reaktif bileşenleri

Bileşikler	%(w/V)
3,5 Dinitro salisilik asit	1.0
Sodyum Hidroksit	1.0
Fenol	0.2
Sodyum Sülfid	0.05

Glikoz miktarının hesaplanması için, örnekler 50 kat seyreltilir ve 3mL örnek üzerine 3mL DNS reaktifi eklenir ve 15 dakika kaynayan su içerisinde bekletilir. Renk oluşumunun ardından herbirine 1mL sodyum potasyum tartarat çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığına ulaşıldığında UV spektrofotometrede 575 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülerek kalibrasyon eğrisine göre glikoz konsantrasyonu hesaplanır.

### 3.3. Bakteri Selülozunun Üretimi

Bu çalışmada kullanılacak bakteri selülozunun üretimi için çizelge 3.4'de verilen besi yeri hazırlanır, pH değeri 1 M HCl kullanılarak 5–5.1 arasında ayarlanır ve 120 °C de 20 dakika otoklavda sterilize edilir. Sterilize edilen besi yerine hacimce %10'nu kadar aşı ilave edilir ve homojen olarak karışması sağlandıktan sonra selülozunun üretilmesi için tepsilerde 21 gün boyunca 30 °C inkübe edilir .

### 3.4. Bakteri Selülozunun Temizlenmesi

Bir önceki aşamada 21 günlük inkübasyon sonunda elde edilen bakteri selülozu üzerinde bakteri içermekte olup, kullanılabilmesi için bu bakterilerden temizlenmesi gerekmektedir. Bunun için literatürde sıklıkla kullanılan sodyum hidroksit'in (NaOH) dışında ayrıca üç farklı alkali malzeme daha kullanılmıştır. Bunlar potasyum hidroksit (KOH), sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), potasyum karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ )'tır. Temizleme işlemi sırasında kullanılan bu malzemeler ve konsantrasyon değerleri çizelge 3.6' da gösterilmiştir.

**Çizelge 3.6.** Bakteri selülozunun temizlenmesinde kullanılan alkali malzemeler ve konsantrasyon değerleri

Sodyum hidroksit ( NaOH)	Potasyum hidroksit ( KOH)	Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	Potasyum karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ )
0,05M	0,05M	0,05M	0,05M
0,1M	0,1M	0,1M	0,1M
0,2M	0,2M	0,2M	0,2M
0,4M	0,4M	0,4M	0,4M

Çizelge 3.6'da verilen çözeltiler 500 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Şekil 3.2' de gösterilen düzenek kullanılarak bakteri selülozu 80 °C'de 1 saat boyunca bekletilerek bakterilerden temizleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemle birlikte ortamda bulunan bakteri hücreleri parçalanarak sulu çözeltiliye geçmektedir. Daha sonra ortamdaki safsızlıkları uzaklaştırmak için bakteri selülozu yıkama suyunun pH'ı nötr olana kadar damıtık su ile yıkanmaya devam edilir. Saflaştırma işlemi sonunda elde edilen bakteri selülozu saf su içerisinde +4 °C deki buzdolabında saklanır. Kontaminasyon riskini azaltmak için selülozların bekletildiği sular haftada bir değiştirilmektedir.



**Şekil 3.2.** Bakteri selülozunu temizlemek için kullanılan düzenek

Sentezlenen selüloz membranlar mekanik testleri yapılmak üzere 60 °C'de 90 dakika boyunca hava üflemeli etüvde kurutulmuştur. Kurutulan selülozların herbiri Şekil 3.3'de verilen kesme aparatı kullanılarak 20x5 mm<sup>2</sup> boyutlarında kesilmiştir.



**Şekil 3.3.** Kuru formdaki bakteri selülozunu kesmek için kullanılan kesme aparatı

### **3.5. Bakteri selülozunun Poli (Vinil Alkol) ile Modifikasyonu**

Bakteri selülozunun mekanik özelliklerinin geliştirilmesi için seçilen diğer bir malzeme de yüksek kopma mukavemetine sahip, tamamen biyobozunur, kokusuz ve toksik olmayan polivinil alkol (PVA)'dür. Modifikasyon işlemi için ağırlıkça %1, %3 ve %5 oranında PVA, 50 °C 100 mL su içerisine ilave edilerek 30 dakika boyunca homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılır.

Daha sonra farklı alkaliler ile saflaştırma işlemi yapılan ve kurutulan bakteri selülozlarından mekanik olarak en iyi sonucu veren selülozun filtre kağıdı ile dikkatli şekilde fazla suyu alınarak, farklı PVA konsantrasyonları içeren çözeltilerin içerisinde 3 gün süreyle bekletilmiştir. Bu süre sonunda kompozit hale gelen selüloz membranlar mekanik testleri yapılmak üzere 60 °C'de 90 dakika boyunca hava üfleme etüvde kurutulmuştur.

### **3.6. Bakteri Selülozunun Mekanik Test ve Karakterizasyonu**

Sentezlenen membranların mekanik testlerinin yapılabilmesi için universal test cihazı (LLOYD Instruments, LRX Internal Extensometer) kullanılmıştır. Testler oda sıcaklığında 500 N kuvvetle ve 5 mm/dak sabit çekme hızı ile yapılmıştır. Her malzeme için en az 5 numune test edilmiş olup en tutarlı 3 tanesi kullanılmıştır.

Üretilen bakteri selülozlarının modifikasyondan önce ve sonra kimyasal yapısının belirlenmesi için FTIR (FTIR 8000 Series, Shimadzu, Japan) spektrofotometresi kullanılmıştır. Örnekler, iyice kurutulmuş KBr kullanılarak % 1(w/w)'lik peletler halinde hazırlanmıştır.

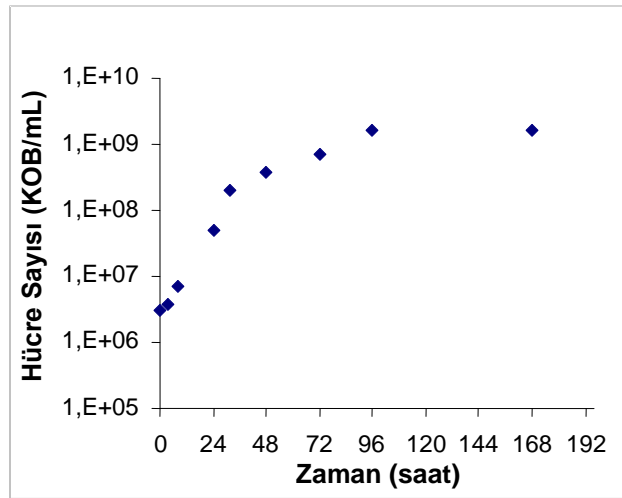
Bakteri selülozunun yüzey morfolojisinin özelliklerini belirlemek için SEM (QUANTA 400F Field Emission SEM) fotoğrafları çekilmiştir. Bunun için iletken olmayan selüloz numuneleri altın ile kaplanarak SEM için hazırlanmıştır.

## 4.DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Kinetik Çalışmalar

#### 4.1.1. Hücre Çoğalması

Zamana karşı hücre çoğalması, koloni sayımı ile incelenmiştir. Hücre çoğalma grafiği şekil 4.1’de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi *Acetobacter xylinum* bakterisinin çoğalma eğrisinde çok küçük bir gecikme evresi bulunmakta ve hemen eksponansiyel üreme evresine geçiş görülmektedir. Eksponansiyel üreme evresi yaklaşık 48 saat devam etmektedir.

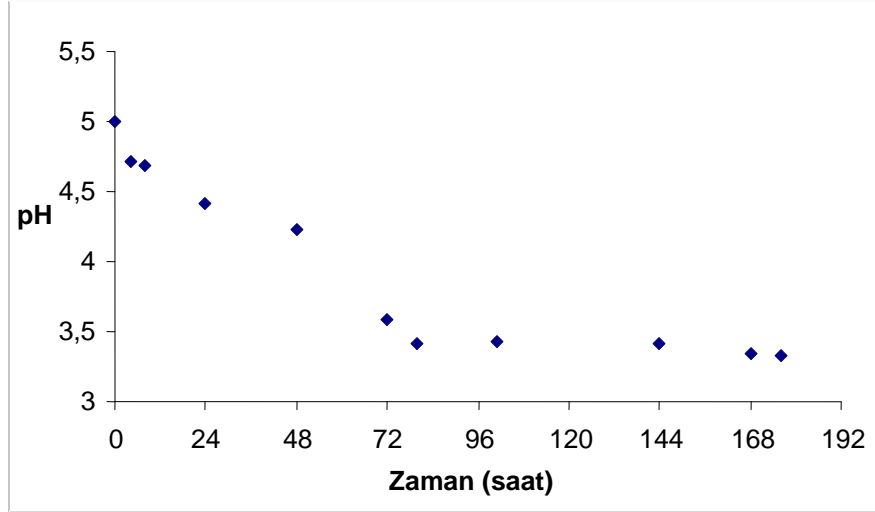


**Şekil 4.1.** Zamana karşı hücre çoğalma grafiği

Yapılan koloni sayımı çalışması sonucunda elde edilen veriler kullanılarak spesifik büyüme hızının ( $\mu$ ) hesaplanması mümkündür. Bunun için zamana karşı  $\ln(X/X_0)$  değerleri grafiğe geçirilmiştir (Ek 1). Eksponansiyel evre ilk 48 saat içerisinde gerçekleştiğinden ilk 48 saatlik olan bölümü ile bu grafik çizilmiştir. Bu grafikten elde edilen eğim  $0.0976 \text{ sa}^{-1}$  olup spesifik büyüme hızını vermektedir. Ayrıca eşitlik 3.3 kullanılarak ikilenme süresi ( $t_d$ ) 7.1 saat olarak bulunmuştur. Cannon’un yaptığı çalışmada, ikilenme süresi çalkalamalı kültürde 4–6 saat, statik kültürde ise 8–10 saat olarak bulunmuştur (Cannon and Anderson, 1991).

Hücre çoğalması ve selüloz oluşumu için karbon kaynağı olarak kullanılan glikoz hücre membrana bağlı dehidrogenaz enzimi ile ilk olarak glukonik aside

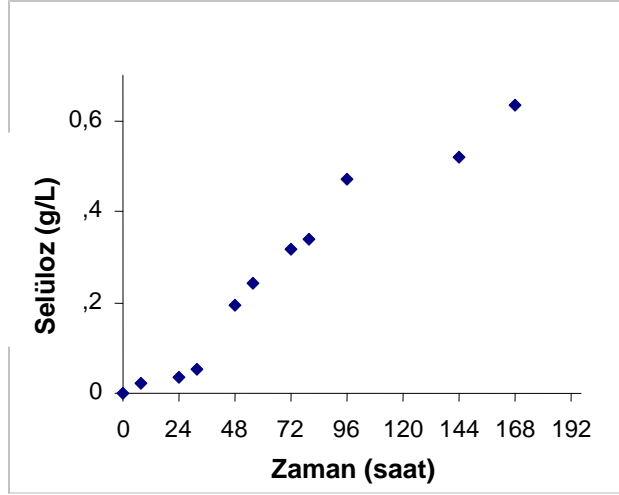
dönüştürülür. Glikozun glukonik aside dönüştürülmesi selüloz üretimi açısından yararlı bir durum değildir. Besi yeri pH'ının keskin bir şekilde düşmesi sadece selüloz oluşumunu etkilemez, aynı zamanda hücre canlılığını da etkiler. Ortamda glikonik asit oluşumundan dolayı besi yeri pH'ının düşüşü şekil 4.2'de gösterilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca pH aralığı 3 – 5 arasındadır ve literatürle uyumludur (Keshk and Sameshima, 2005).



**Şekil 4.2.** İnkübasyon süresi boyunca pH değerinin değişimi

#### 4.1.2. Selüloz Oluşumu

Zamana karşı selüloz oluşumu, gravimetrik olarak incelenmiştir. Şekil 4.3'de zamana karşı selüloz oluşumu verilmiştir. 168 saat sonunda 0.696 g/L selüloz üretildiği bulunmuştur.



**Şekil 4.3.** Zamana karşı selüloz oluşumu grafiği

Şekil 4.4'de de zamana karşı selüloz oluşumu fotoğrafları verilmiştir. Fotoğraflardan da görüldüğü gibi 4 saatte bile selüloz oluşumu gözle görülmekte ve zamanla yüzeyde membran kalınlığı artmaktadır.

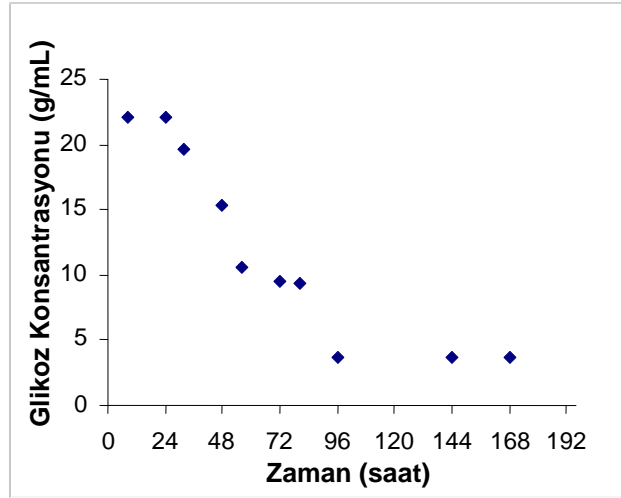


**Şekil 4.4.** Zamana karşı selüloz oluşumu fotoğrafları (soldan sağa: 4, 8, 24, 28, 32, 48, 52 ve 72. saatler)

#### 4.1.3. Glikoz Tüketimi

Glikoz tüketiminin zamana bağlı olarak değişimi, DNS yöntemi ile incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda glikoz çözeltileri ile elde edilen absorbans değerleri ile kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Ek 2). Kalibrasyon grafiğine göre hesaplanan zamana karşı glikoz tüketimi 24 saatten sonra hızlı bir şekilde azalmaktadır. Şekil 4.5' de glikozun yaklaşık % 80' i 96 saatin sonunda tüketilmiştir. Karbon kaynağı

olan glikozun zamanla tüketimi, selüloz üretimiyle çok iyi bir uyum içerisindedir (Klemm et al., 2001)



**Şekil 4.5.** Zamana karşı glikoz tüketimi grafiği

#### 4.2. Bakteri Selülozunun Üretimi

Bu tez çalışmasında kullanılmak üzere bakteri selülozu üretimi gerçekleştirilmiştir. Bakteri selülozunun üretimi 30 °C sıcaklıkta, pH değeri 1 M HCl ile 5-5.1 arasında ayarlanmış besin ortamında, durgun ortamda 21 günlük inkübasyon işlemi sonunda gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.6'da tepside 21 günlük inkübasyon süresi sonunda elde edilen bakteri selülozunun dört farklı alkali malzeme ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmeden önceki hali görülmektedir.

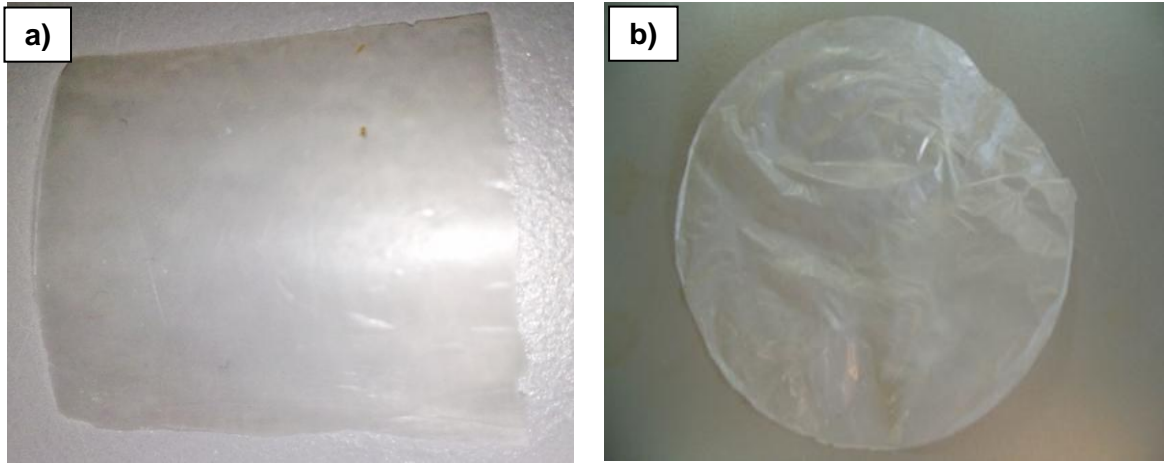


**Şekil 4.6.** Bakteri selülozunun saflaştırma işleminden önceki fotoğrafı



### 4.3. Bakteri Selülozunun Temizlenmesi ve Kurutulması

21 günlük inkübasyon sonunda elde edilen bakteri selülozunun bakterilerden temizlenip saflaştırılması için sodyum hidroksit (NaOH), potasyum hidroksit (KOH), sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ve potasyum karbonat'ın ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) herbiri için 0.05M, 0.1M, 0.2M ve 0.4M 500 mL lik çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler kullanılarak  $5 \times 7 \text{ cm}^2$  boyutlara sahip örneklerin saflaştırılması sağlanmıştır.



**Şekil 4.7.** Kurutulmuş bakteri selülozların resimleri a) 90 dakika 60 °C b) 8 saat 80 °C

Bakterilerden temizlenen selüloz membranlar mekanik testleri yapılmak üzere şekil 4.7.a' da gösterilen hale getirilebilmek için 60 °C'de 90 dakika boyunca hava üfleli etüvde teflon yüzey üzerinde kurutulmuştur. Şekil 4.7.b' de de 8 saat boyunca 80 °C'de kurutulan selüloz görülmektedir (Çetin, 2008).

### 4.4. Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

#### 4.4.1. Farklı Alkali ve Konsantrasyon Miktarına Göre Mekanik Dayanımın Değişimi

Bakteri selülozunun lifleri bitkiden elde edilen selülozdan 100 kat daha incedir. Bu özelliği onu yüksek gözenekli bir malzeme yapmaktadır (Chawla,2009). Ayrıca ağırlığının 100 katı kadar su tutma kapasitesine sahiptir (Shoda ve Sugano, 2005). Bu özelliklerinden dolayı ıslak formdaki bakteri selülozunun mekanik özellikleri

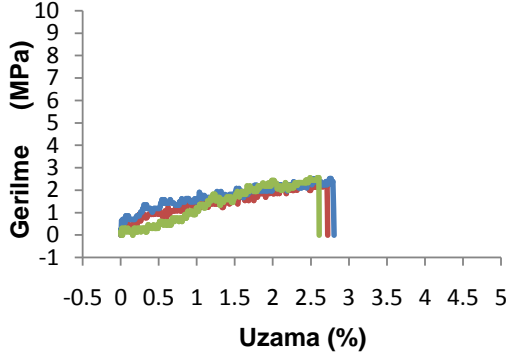
yeterli iken, kuru halde bu özelliğini yeterli derecede koruyamamaktadır. Bu nedenle bakterilerden temizleme işlemi sırasında kullanılan farklı alkali malzemelerin ve bunların farklı konsantrasyon değerlerinin selülozun mekanik dayanımı üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Bunun için daha önceden kurutulan selülozların herbiri 5 mm x 20 mm boyutlarında kesilmiştir. Kesme işlemi uygulanan selülozlar ile yapılan testler sonucunda elde edilen mekanik dayanımların değişimi çizelge 4.1’de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.1** Farklı alkalilerle temizlenen bakteri selülozunun mekanik dayanım sonuçları

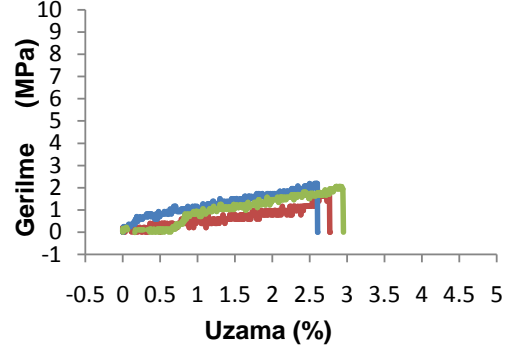
Alkali Konsantrasyonu	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		KOH		NaOH	
	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)
0.05 M	2.461 ±	2.707 ±	1.989 ±	2.773 ±	2.072 ±	3.761 ±	1.271 ±	3.947
	0.112	0.074	0.143	0.142	0.157	0.120	0.205	± 0.131
0.1 M	2.951 ±	2.751 ±	2.809 ±	2.766 ±	2.313 ±	3.424 ±	1.911 ±	2.498 ±
	0.068	0.089	0.214	0.142	0.366	0.093	0.08	0.040
0.2 M	4.859 ±	3.107 ±	3.872 ±	3.417 ±	3.815 ±	2.254 ±	2.867 ±	2.042 ±
	0.428	0.125	0.426	0.103	0.236	0.113	0.498	0.103
0.4 M	9.223 ±	3.981 ±	7.986 ±	4.345 ±	6.241 ±	2.698 ±	5.493 ±	2.342 ±
	0.557	0.103	0.102	0.217	0.213	0.017	0.339	0.091

\*Standart sapmanın hesaplanması(EK 3)

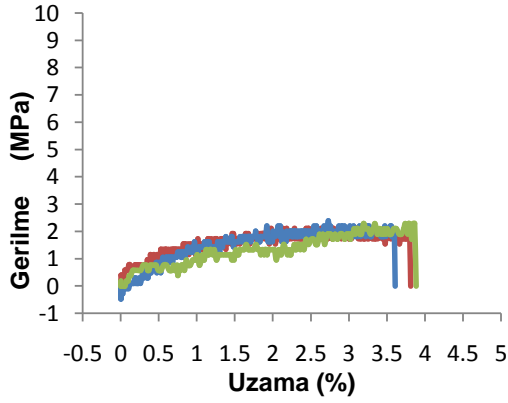
0.05 M’lık konsantrasyona sahip alkalilerle hazırlanmış bakteri selülozunun gerilme-uzama grafikleri şekil 4.8’de verilmektedir. Maksimum gerilme dayanımı 2.461 ± 0.112 MPa’dır ve K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ile temizleme işlemi yapılmış selüloza aittir. Bununla birlikte OH<sup>-</sup> grubuna sahip olan KOH ve NaOH ile temizlenen selülozların dayanımları 2 MPa altında kalırken, uzama miktarının CO<sub>3</sub><sup>-2</sup> gruplarına göre daha fazla olduğu görülmektedir ve en fazla uzamaya 3.947 ± 0.131 ile NaOH çözeltisi ile temizlenen selüloz sahiptir.



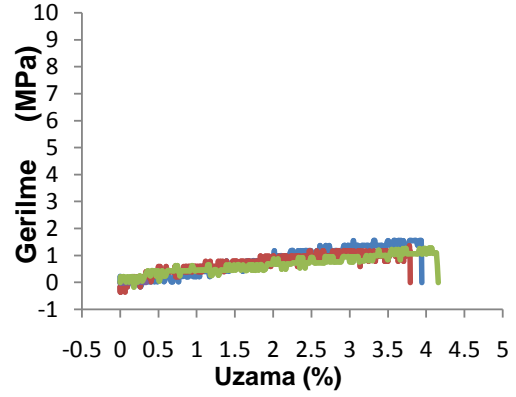
a)  $K_2CO_3$



b)  $Na_2CO_3$



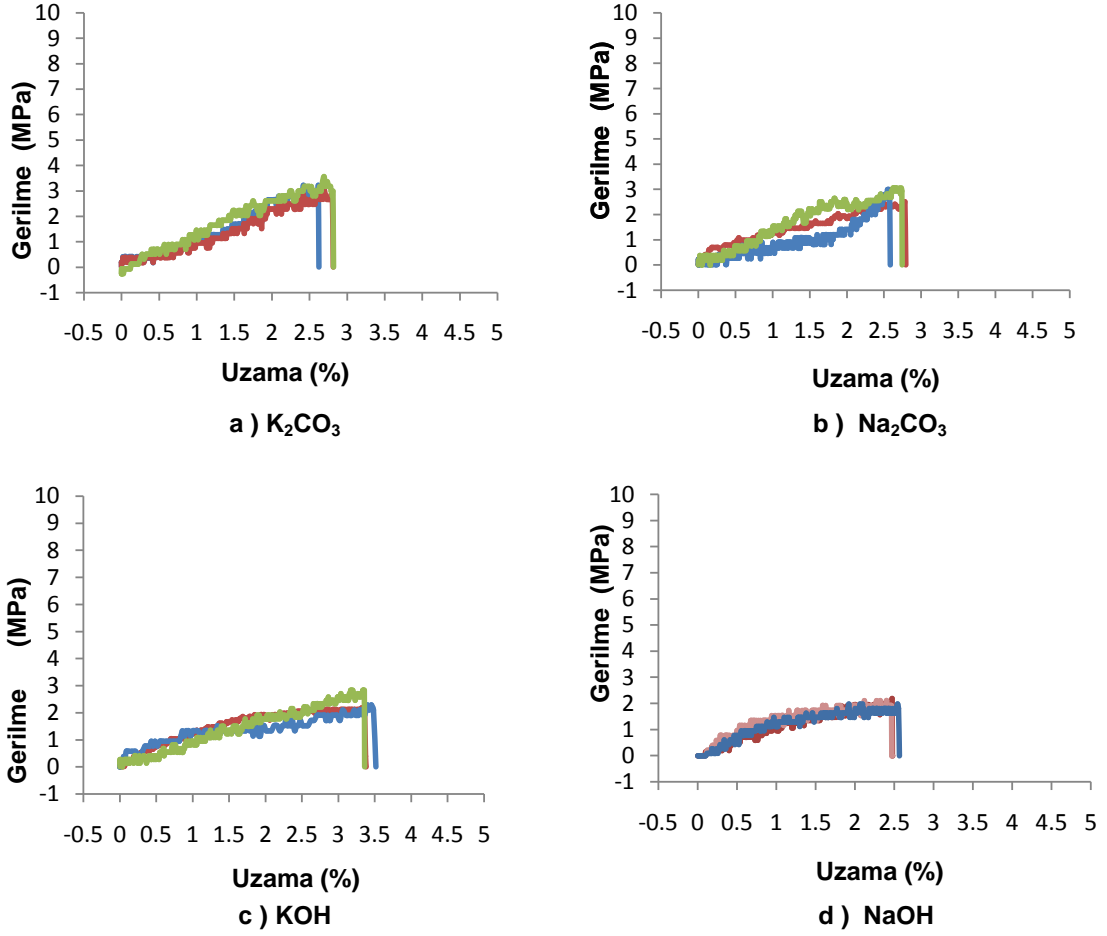
c) KOH



d) NaOH

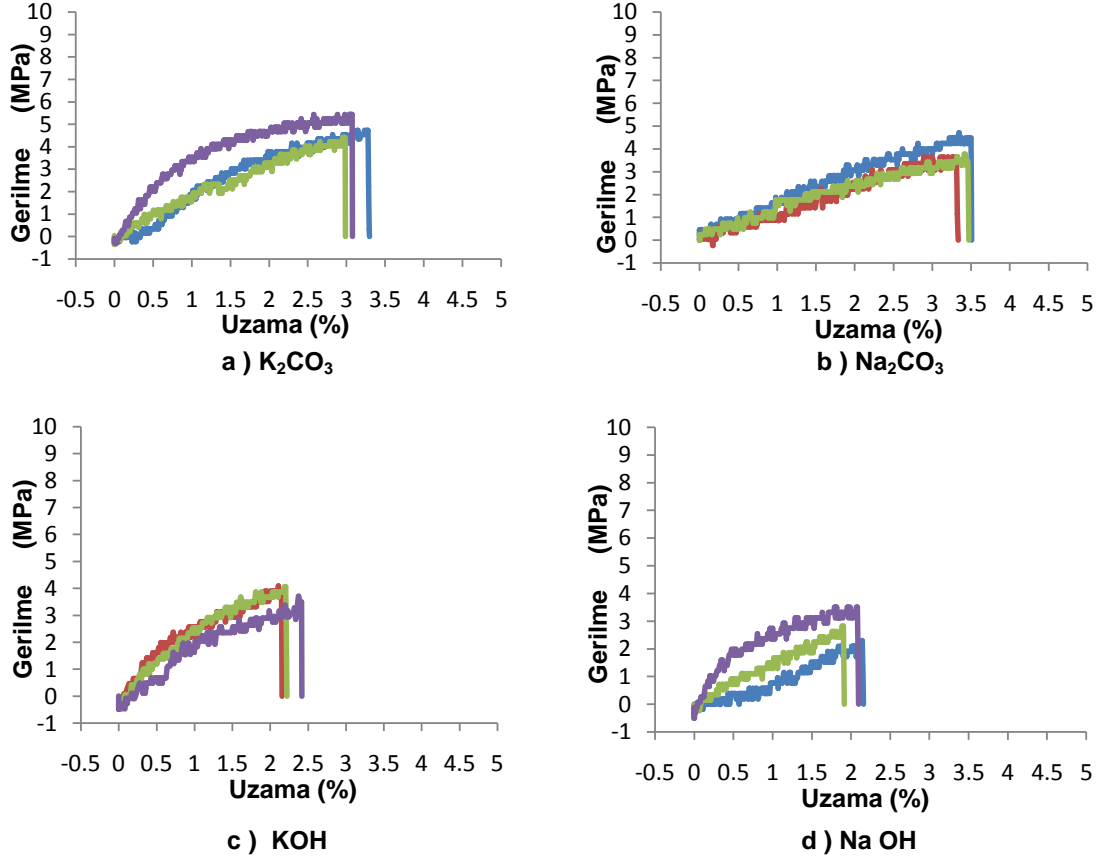
**Şekil 4.8.** 0.05M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri

Şekil 4.9'da ise konsantrasyon değerleri 0.1 M olarak hazırlanmış alkaliler ile temizlenen selülozların gerilme-uzama grafikleri görülmektedir. Burada da  $2.951 \pm 0.068$  Mpa olan gerilme dayanımı ile  $K_2CO_3$  çözeltisi kullanılarak en iyi sonuç elde edilirken, en düşük dayanım  $1.911 \pm 0.08$  Mpa ile NaOH çözeltisi ile temizlenen selüloza aittir. Konsantrasyon değerindeki artışın yaklaşık olarak gerilme dayanımı değerlerini 0.24 MPa ile 0.82 MPa arasında arttırdığı bulunmuştur. Bununla birlikte uzama miktarları  $CO_3^{2-}$  gruplarına sahip alkalilerde sabit kalırken  $OH^-$  grubuna sahip olan alkalilerde düşüş göstermektedir.



**Şekil 4.9.** 0.1M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri

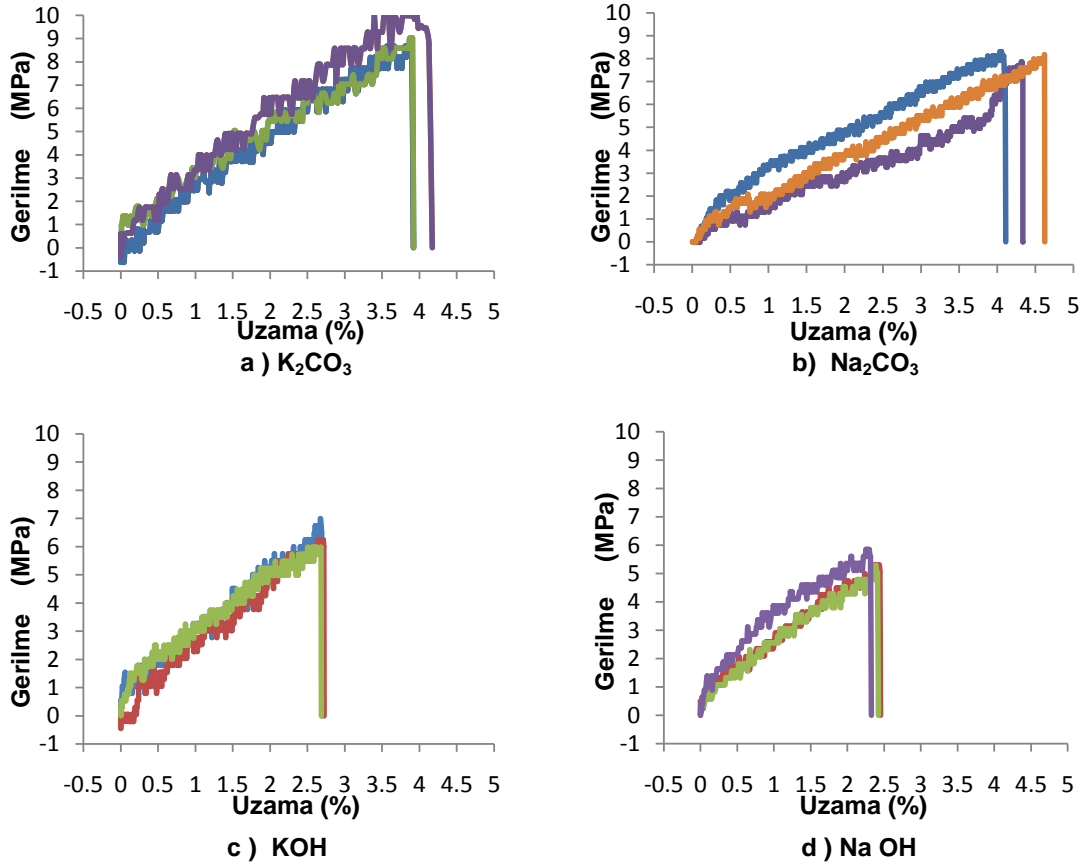
0.2 M'lık çözeltilerle temizlenen selülozlar incelendiğinde test edilen tüm örneklerin gerilme dayanımlarında artış görülmektedir. 0.1 M ve 0.2 M  $K_2CO_3$  çözeltisi ile temizlenen selülozlarda gerilme ortalama 1.908 MPa artarak  $4.859 \pm 0.428$  Mpa ulaşmıştır. Uzama değerlerine bakıldığında 0.05 M ve 0.1 M'lık çözeltilerle temizlenen selülozlarda  $CO_3^{-2}$  grubu içeren alkalilerin gerilmeleri % 2.7 civarlarındayken, 0.2 M'lık çözeltilerde  $K_2CO_3$  için  $3.107 \pm 0.125$  ve  $Na_2CO_3$  içinde  $3.417 \pm 0.103$  'e ulaşmıştır. Fakat  $OH^-$  grubuna sahip olan KOH ve NaOH' uzama değerleri % 2 civarlarına kadar gerilemiştir.



**Şekil 4.10.** 0.2M'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri

0.4 M 'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozlar ile yapılan testlerin sonuçları 0.2 M 'lık çözeltiler kullanılarak hazırlananlarla karşılaştırıldığında, dört alkali malzemeninde gerilme dayanımında yaklaşık olarak %100 artış sağladığı saptanmıştır.  $K_2CO_3$  ile  $9.223 \pm 0.557$  MPa'a kadar ulaşmıştır. Literatürde en çok kullanılan NaOH çözeltisi ile ulaşılan maksimum değer  $5.493 \pm 0.339$  MPa'dır.  $Na_2CO_3$  ve KOH çözeltileri ile ulaşılan maksimum değerler ise sırasıyla  $7.986 \pm 0.102$  ve  $6.241 \pm 0.213$  MPa'dır.

Mekanik testler sonucunda elde edilen verilere göre gerilme dayanımları artan konsantrasyon miktarı ile her alkali için artış göstermektedir. Mwaikambo ve Ansell'in yapmış oldukları çalışmada NaOH çözeltisi kullanılmış ve artan konsantrasyon miktarının gerilme dayanımını bir noktaya kadar arttırdığı bulunmuştur (Mwaikambo ve Ansell. 2006).



**Şekil 4.11.** 0.4 M 'lık çözeltiler kullanılarak temizlenen selülozların gerilme - uzama grafikleri

Ayrıca kullanılan bu dört farklı alkali içerisinde en iyi sonucu verenin  $K_2CO_3$  kullanılarak temizlenen selüloz olduğu. NaOH ile temizlenenin ise en düşük dayanıma sahip olduğu George ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da görülmektedir (George ve ark. . 2005).

Literatürdeki birçok çalışmada bakteri selülozunu temizlemek için 0.1M NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Bu çalışma sonucunda, mekanik dayanım gereken kullanım alanları için diğer alkalilerinde kullanılabilirliği ve daha yüksek mekanik dayanıma sahip bakteri selülozu elde edilebileceği bulunmuştur.

#### 4.4.2. Farklı Poli(Vinil Alkol) Konsantrasyonlarına Göre Mekanik Dayanımın Değişimi

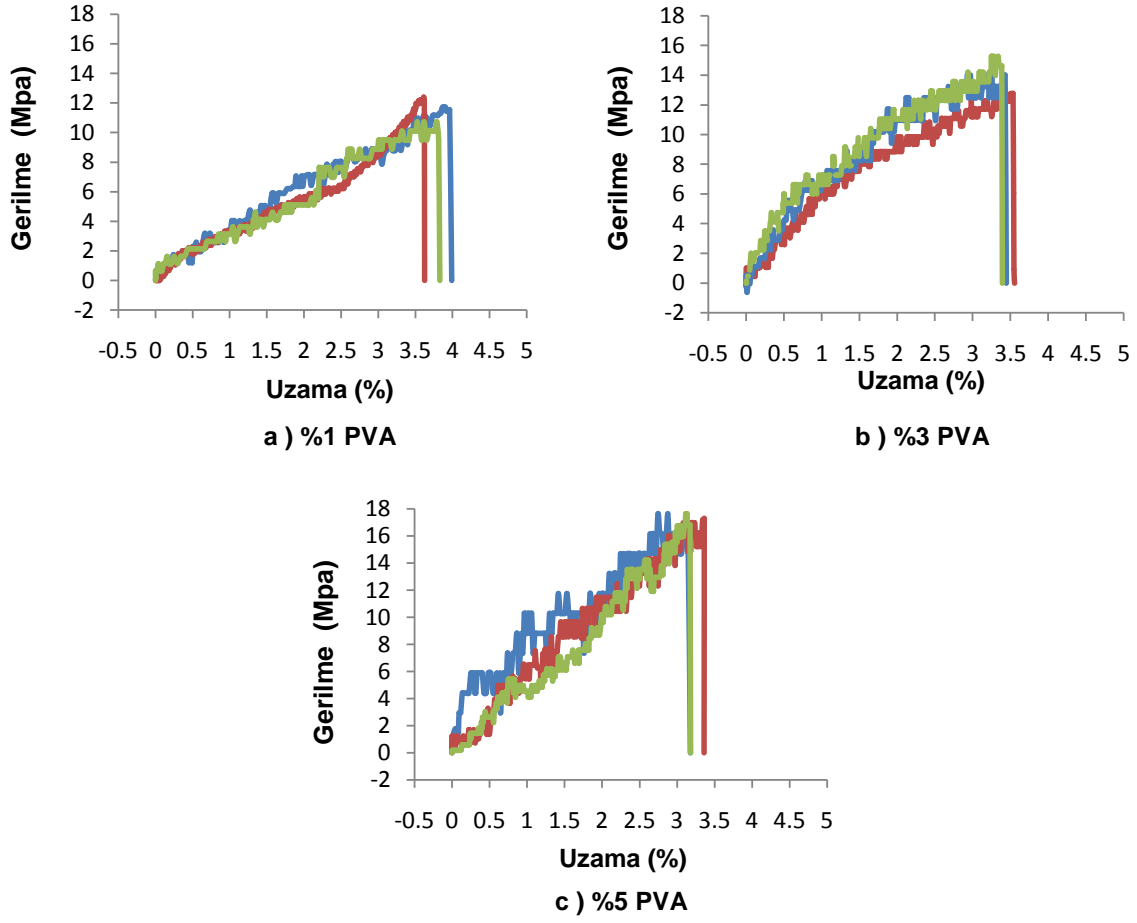
Mükemmel kimyasal direnci, optik ve fiziksel özellikleri sayesinde PVA birçok alanda kullanıma sahiptir. PVA diğer polimerlerle kompozit oluşturularak ya da dolgu malzemesi olarak performans artırıcı olarak kullanılmaktadır. Selüloz gibi doğal polimerlerle etkileştirilmesi, ya da dolgu maddesi olarak kullanılması çevre dostu biyobozunan malzemelerin üretimi için etkin olmasını sağlamaktadır (Maha ve ark., 2009). Bu çalışmada gerilme dayanımını arttırmak ve daha sağlam kompozit bir polimer üretebilmek amacıyla yüksek gözenekli yapıya sahip bakteri selülozu için dolgu maddesi olarak PVA kullanılmıştır. Çizelge 4.2’de farklı PVA konsantrasyonları ile modifiye edilen selülozun gerilme dayanımları verilmektedir.

**Çizelge 4.2.** PVA ile modifiye edilen Bakteri selülozunun mekanik dayanım sonuçları

%1 PVA		%3 PVA		%5 PVA	
Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)	Gerilme dayanımı (MPa)	Uzama (%)
11.278 ± 0.870	3.810 ± 0.139	13.796 ± 0.775	3.465 ± 0.062	16.198 ± 0.309	3.362 ± 0.095

\*Standart sapmanın hesaplanması(EK 3)

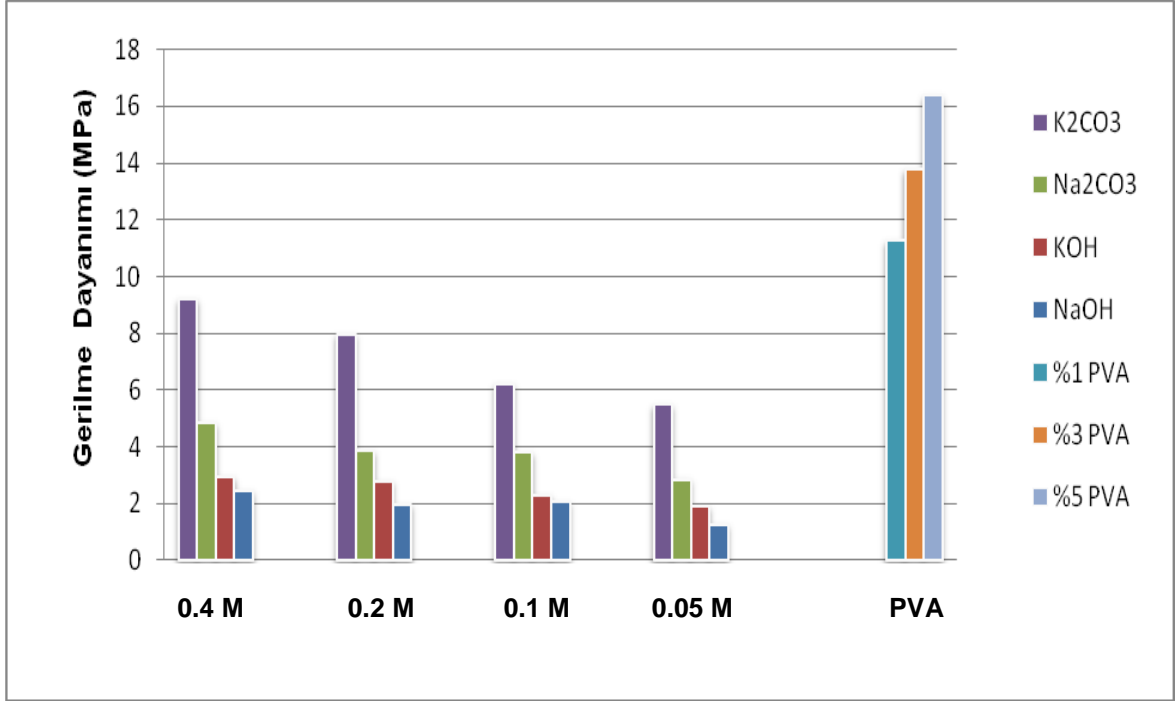
Şekil 4.12’de PVA ile modifiye edilen selülozların gerilme-uzama grafikleri verilmektedir. Modifiye işleminden önce gerilme dayanımı maksimum  $9.223 \pm 0.557$  MPa ulaşabilmiştir. %1, %3 ve %5 konsantrasyonlarda hazırlanan PVA çözeltileri içerisinde modifiye edilen bakteri selülozlarının gerilme-uzama grafiklerine bakıldığında, bu selülozların gerilme dayanımları PVA’nın %1 , %3 , %5’lik konsantrasyon değerlerine göre sırasıyla  $11.278 \pm 0.870$  MPa,  $13.796 \pm 0.775$  MPa ve  $16.198 \pm 0.309$  ‘dur. Gerilme dayanımlarındaki artışa karşın uzama değerlerinde düşüş görülmektedir. %1 PVA ile modifiye olan selüloz %  $3.810 \pm 0.139$  uzarken, %5 PVA ile uzama ancak %  $3.362 \pm 0.095$  ‘ kadar ulaşabilmiştir. Bunun nedeninin selüloz liflerinin arasına penetre olan PVA’nın kurumması sırasında yapının esnekliğini yitirmesine sebep olmasıdır.



**Şekil 4.12.** PVA kullanılarak modifiye edilen selülozların gerilme-uzama grafikleri

Bakteri selülozunun farklı alkalilerin farklı konsantrasyon değerleri ile temizlenmesinin gerilme dayanımını etkilediği, ayrıca PVA kullanılarak modifiye edilen bakteri selülozunun dayanımının diğerlerine göre daha fazla değiştiği şekil 4.13'den de görülmektedir.





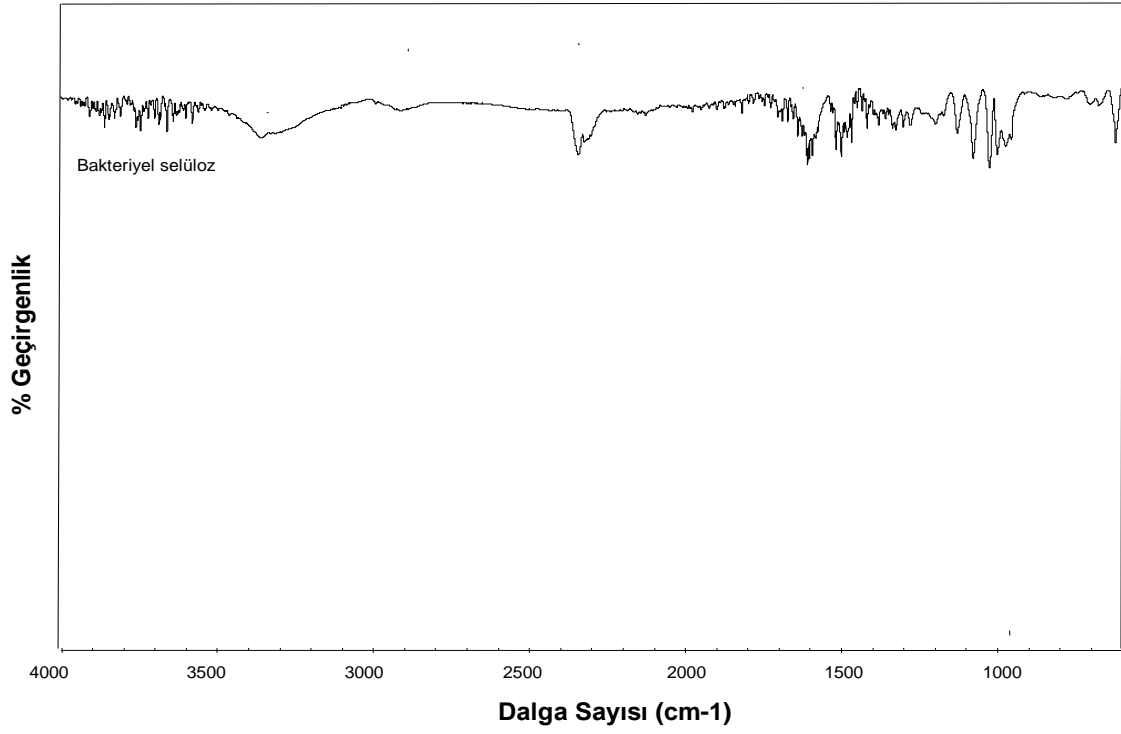
**Şekil 4.13.** Kimyasal olarak temizlenmiş ve modifiye edilmiş bakteri selülozun mekanik özellikleri

#### 4.5. Bakteri Selülozunun Karakterizasyonu

Sentezlenen bakteri selülozlarının karakterizasyonu amacıyla FTIR spektrumları çekilmiştir. Çizelge 4.3'de selüloz molekülünün tanımlanabilmesi için gerekli olan spesifik pikler verilmiştir.

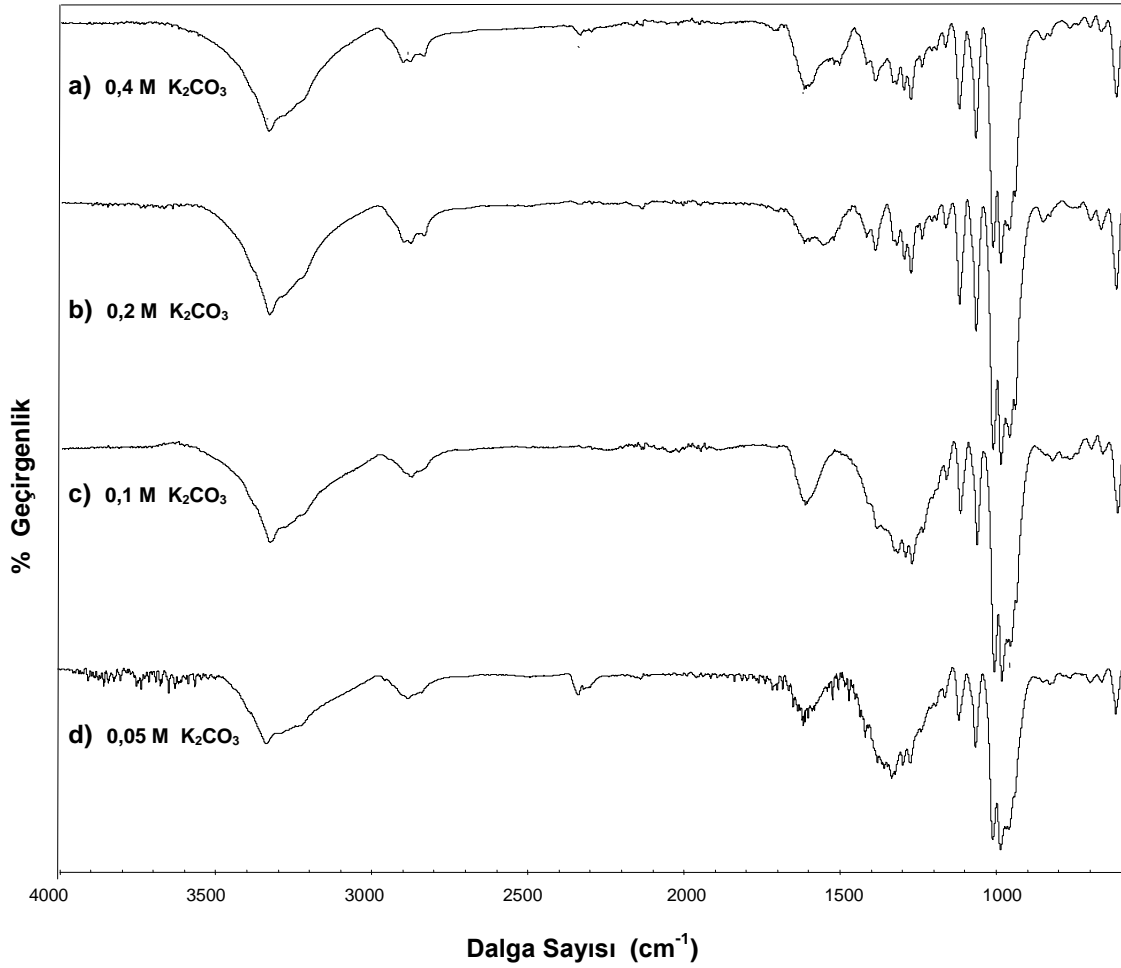
**Çizelge 4.3.** Bakteri selülozunun fonksiyonel gruplarına ait titreşim frekansları

Dalga Sayısı (cm <sup>-1</sup> )	Fonksiyonel grup
3342	OH gerilme. çok güçlü. keskin
2901	CH gerilmesi
1429	HCH ve OCH düzlem içi eğilme titreşimi
1360	CH deformasyon titreşimi
901	COC. CCO. ve CCH deformasyon modları gerilme titreşimleri
665	C-OH düzlem dışı eğilme



**Şekil 4.14.** Alkali çözeltilerle temizlenmemiş selülozun FTIR spekturumu

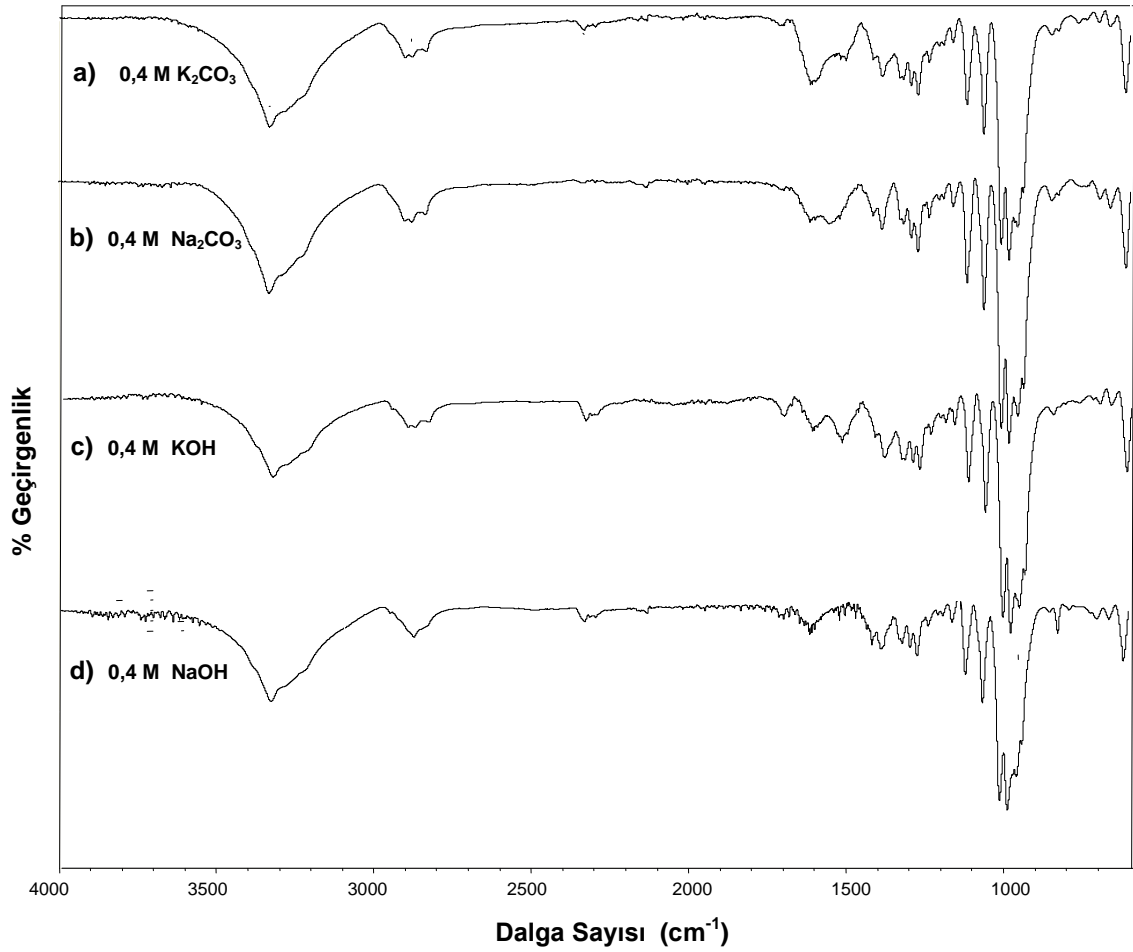
Şekil 4.14'de bakteri selülozunun bakterilerden temizlenmeden önceki halinin FTIR spekturumu verilmiştir. Buna göre çizelge 4.3' de verilen bakteri selülozunun karakteristik piklerini taşımakla birlikte pik şiddetlerinin özellikle  $1000\text{ cm}^{-1}$  civarında düşük olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin yapıda bulunan bakterilerden kaynaklandığı görülmektedir.



**Şekil 4.15.**  $K_2CO_3$  ile temizlenen selülozların FTIR spektrumları

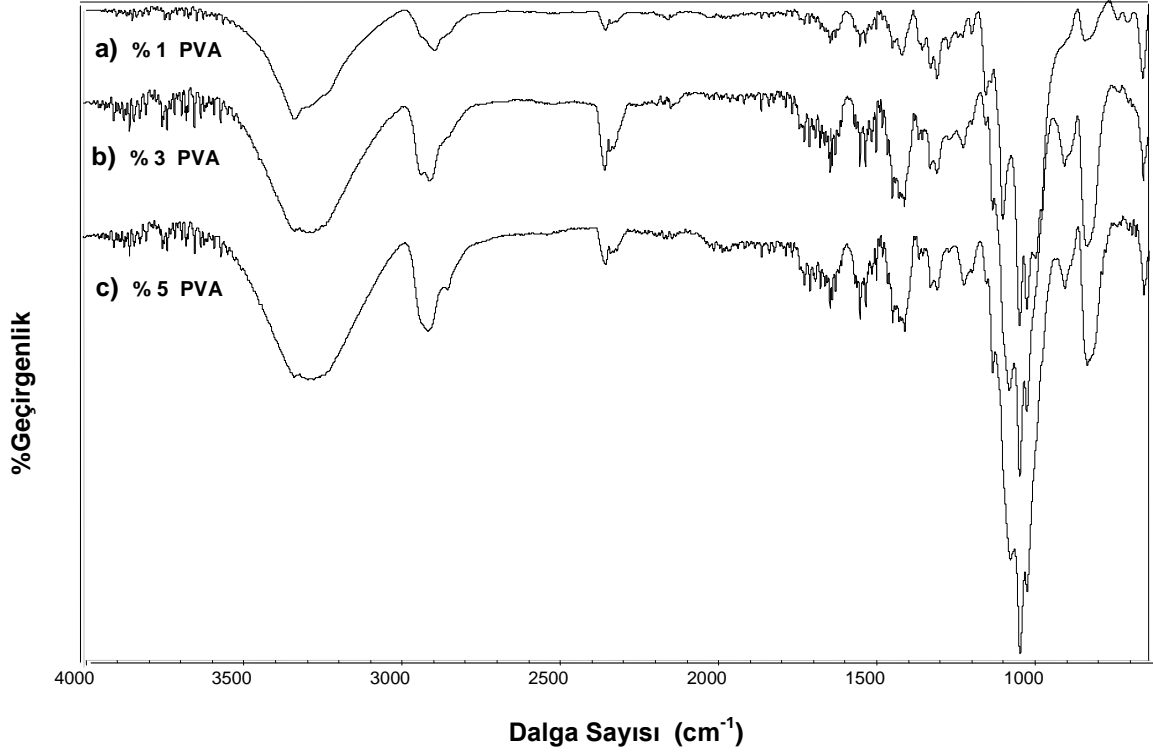
Gerilme dayanımı değerleri dört konsantrasyon değerinde de en iyi sonucu veren.  $K_2CO_3$  ile hazırlanan çözeltilerle temizlenen selülozların FTIR spektrumları şekil 4.15'de verilmektedir.  $3700\text{ cm}^{-1}$  ile  $2900\text{ cm}^{-1}$  arasında OH gerilmeleri görülmektedir.  $K_2CO_3$  'ın konsantrasyon değeri azaldıkça OH gerilmesi  $3349\text{ cm}^{-1}$  den  $3338\text{ cm}^{-1}$  'e, CH gerilmesi de  $2919\text{ cm}^{-1}$  den  $2901\text{ cm}^{-1}$  'e doğru kaymıştır. Ayrıca OH gerilmesinin olduğu bölgedeki pik şiddetinde azalma görülmektedir.  $1650\text{ cm}^{-1}$  civarında görülen OH eğilmeleri yapı içerisinde absorbe olan sudan kaynaklanmaktadır. Şekil 4.15' de görülmekte olan tüm spektrumlardaki bu pik'in şiddeti aynı olup yapılan kurutma işlemi sonucunda yapıda aynı miktarda su

bulduğunu göstermektedir.  $668\text{ cm}^{-1}$  deki C–OH düzlem dışı eğilme pikleri tüm konsantrasyon değerleri için aynı şiddet ve dalga boyundadır.



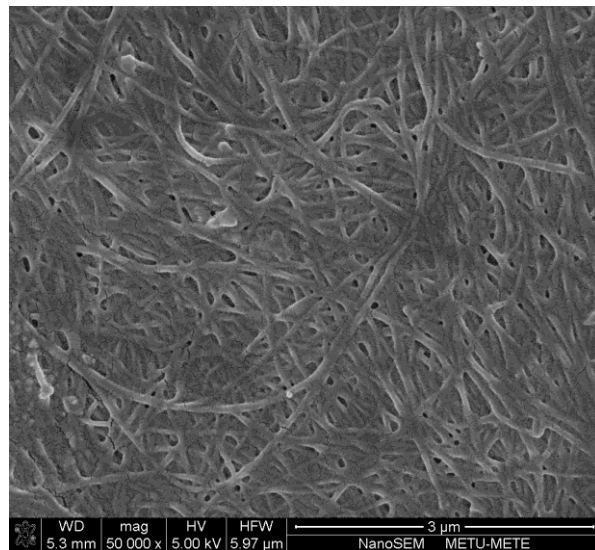
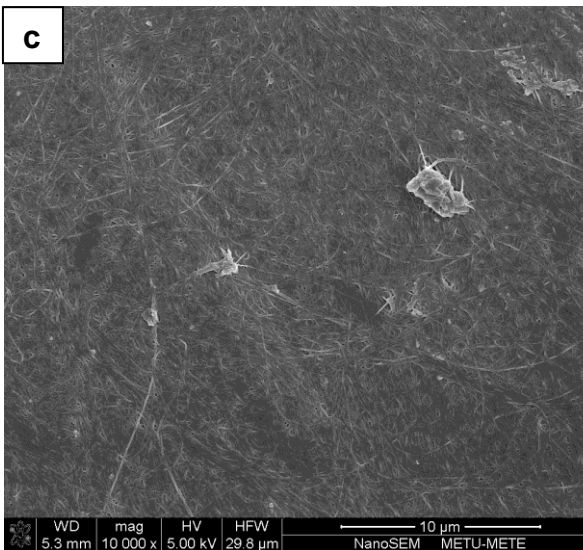
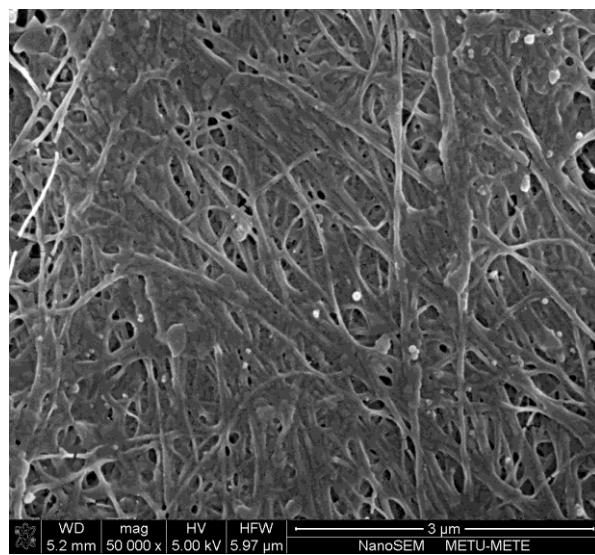
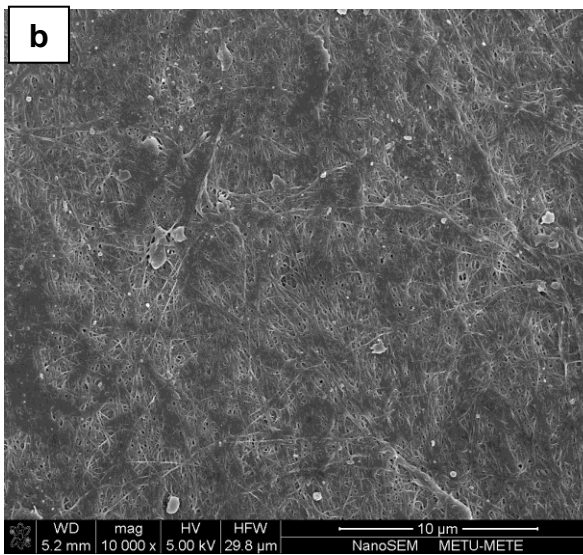
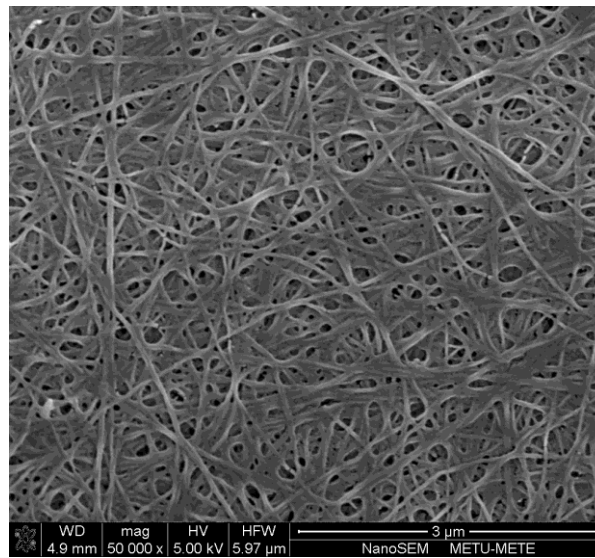
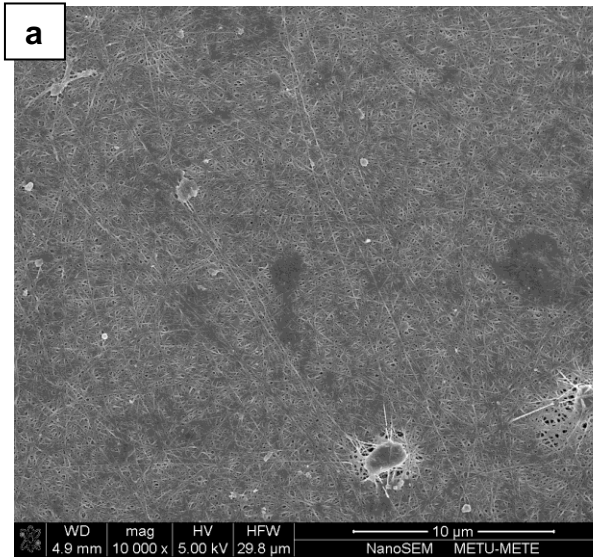
**Şekil 4.16.** 0.4 M 'lık çözeltilerle temizlenen selülozların FTIR spektrumları

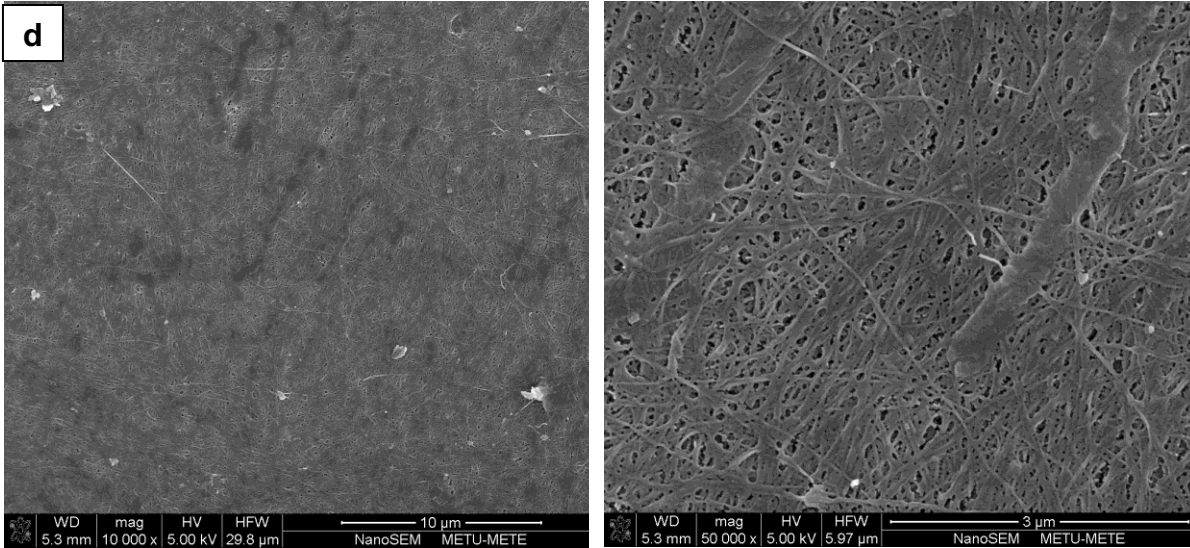
Selülozu bakterilerden temizleme işlemi esnasında kullanılan ve gerilme dayanımları en iyi sonuçları vermiş olan 0.4 M 'lık konsantrasyon değerine sahip alkalilerin FTIR spektrumları şekil 4.16'da görülmektedir.  $3342\text{ cm}^{-1}$  civarındaki OH gerilmelerindeki pik şiddetleri  $\text{CO}_3^{2-}$  grubuna sahip olan alkalilerde daha yüksektir. 0.4 M 'lık  $\text{K}_2\text{CO}_3$  çözeltisi için CH gerilmesi  $2919\text{ cm}^{-1}$  den diğer alkaliler için  $2901\text{ cm}^{-1}$  'e doğru kaymıştır.



**Şekil 4.17.** K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ile temizlenen ve PVA ile modifiye edilen bakteri selülozunun FTIR spektrumları

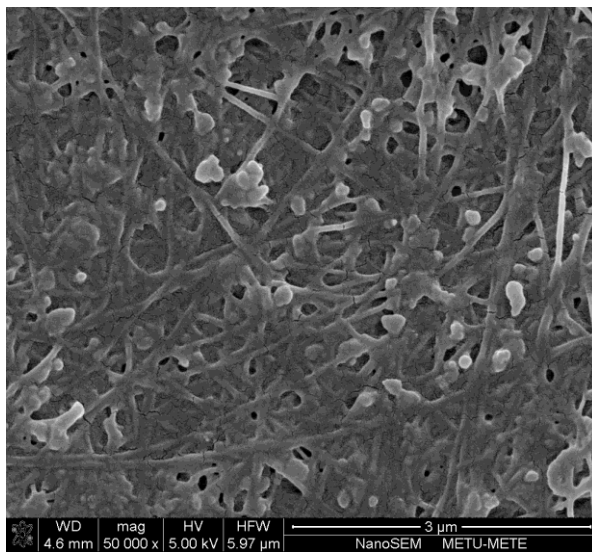
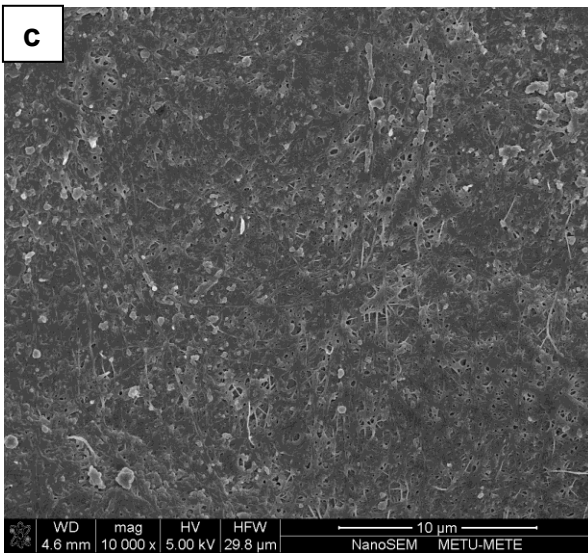
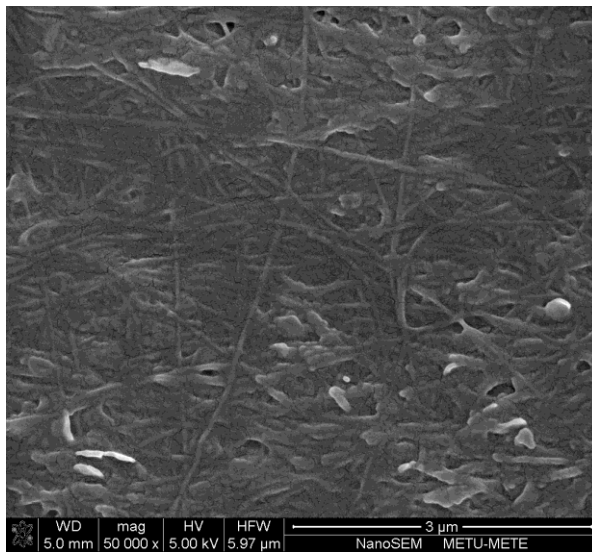
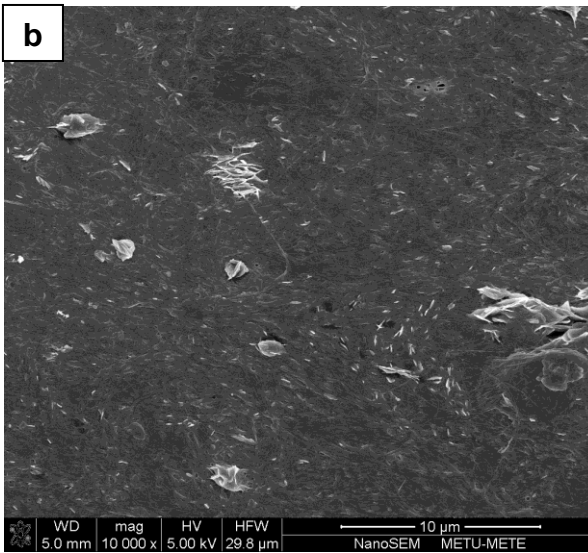
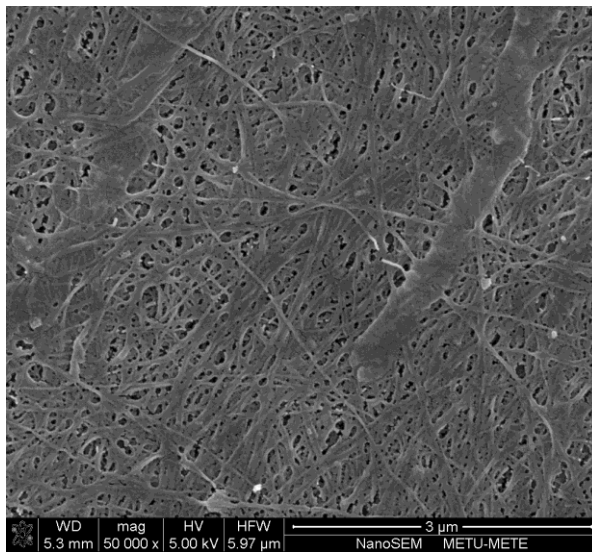
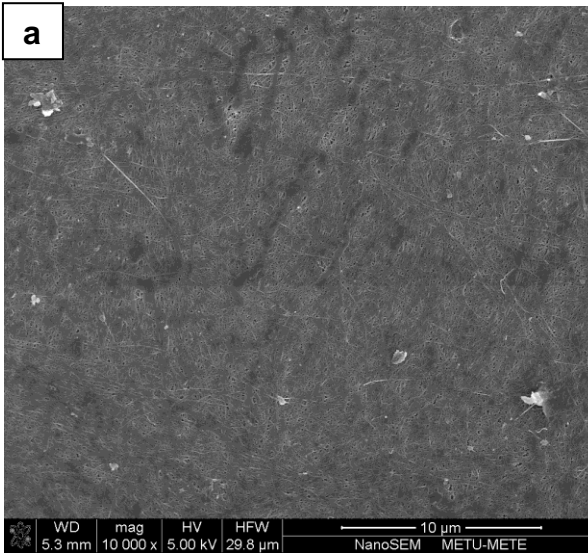
Bakteri selülozunun %1, %3 ve %5 PVA ile modifiye edilmesi sonucu elde edilen kompozit yapıların FTIR spektrumları Şekil 4.17' de verilmektedir. Konsantrasyon değerinin artması 3300 cm<sup>-1</sup>deki OH gerilmesi PVA'dan gelen OH grupları sayesinde arttırmakta ve genişlemektedir. 2900 cm<sup>-1</sup> deki pik alifatik CH gerilme titreşimini temsil etmektedir. Bu pik'in şiddeti artan PVA konsantrasyonu ile artmaktadır. Selüloz yapının içindeki alifatik primer ve sekonder alkoller C-O gerilim titreşimleri 1033 cm<sup>-1</sup> çevresinde pik oluşturmaktadır. Bunun ile birlikte 910 cm<sup>-1</sup> deki COC, CCO, ve CCH deformasyon modları gerilme titreşim pikleri ve 845 cm<sup>-1</sup> deki piklerin şiddetini artmaktadır. Bakteri selülozu ve bakteri selülozu-polivinil alkol kompozitlerinin bağ gerilmeleri arasındaki frekans farkları hidrojen bağları tarafından oluşturulan moleküller arası etkileşimin bakteri selülozunun OH grupları ve PVA arasında meydana geldiğini vurgulamaktadır.



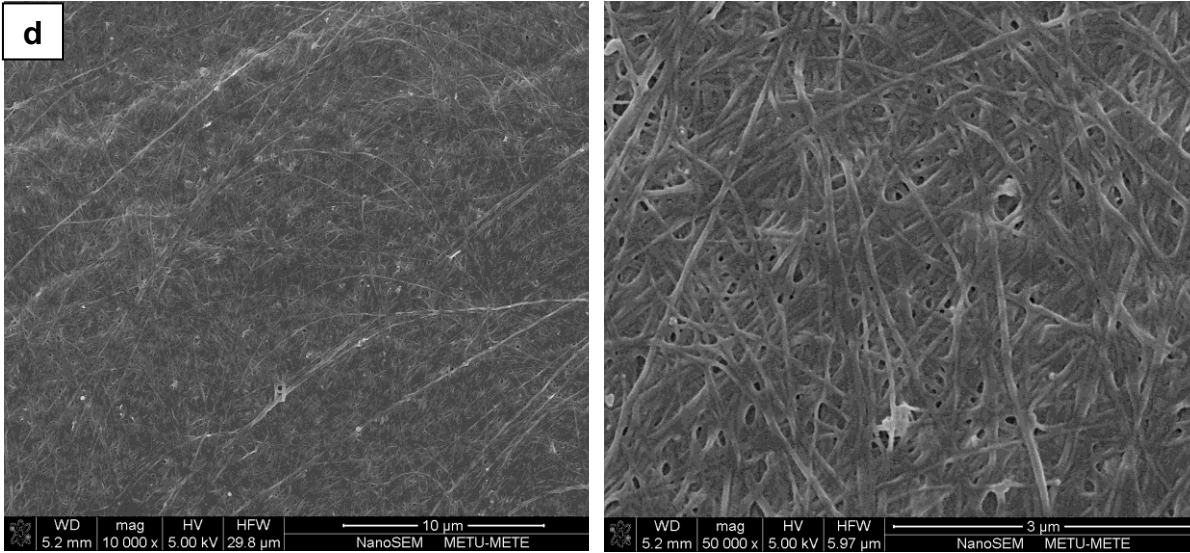


**Şekil 4.18.** a) 0.05 M  $K_2CO_3$ , b) 0.1 M  $K_2CO_3$ , c) 0.2 M  $K_2CO_3$  ve d) 0.4 M  $K_2CO_3$  ile temizlenmiş bakteri selülozunun SEM (X10.000 büyütme, X50.000 büyütme) fotoğrafları

Bakteri selülozunun morfolojik özellikleri SEM ile incelenmiştir. Şekil 4.18'de mekanik olarak en yüksek dayanıma sahip olan  $K_2CO_3$  'ın farklı konsantrasyon değerleri ile temizlenen selülozların SEM fotoğrafları görülmektedir. bakteri selülozunun 0.05 ve 0.1 M  $K_2CO_3$  kullanılarak temizlenen selülozların 50-150 nm arasında kalan fibril çapları daha yoğundur. Diğer taraftan 0.2 ve 0.4 M  $K_2CO_3$  kullanılarak elde edilen selülozların fibril çaplarının 50 ile 100 nm arasında daha yoğun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca temizleme işleminin de başarılı bir şekilde yapıldığı, bu SEM fotoğraflarında bakteri hücrelerinin bulunmadığı görülmektedir.

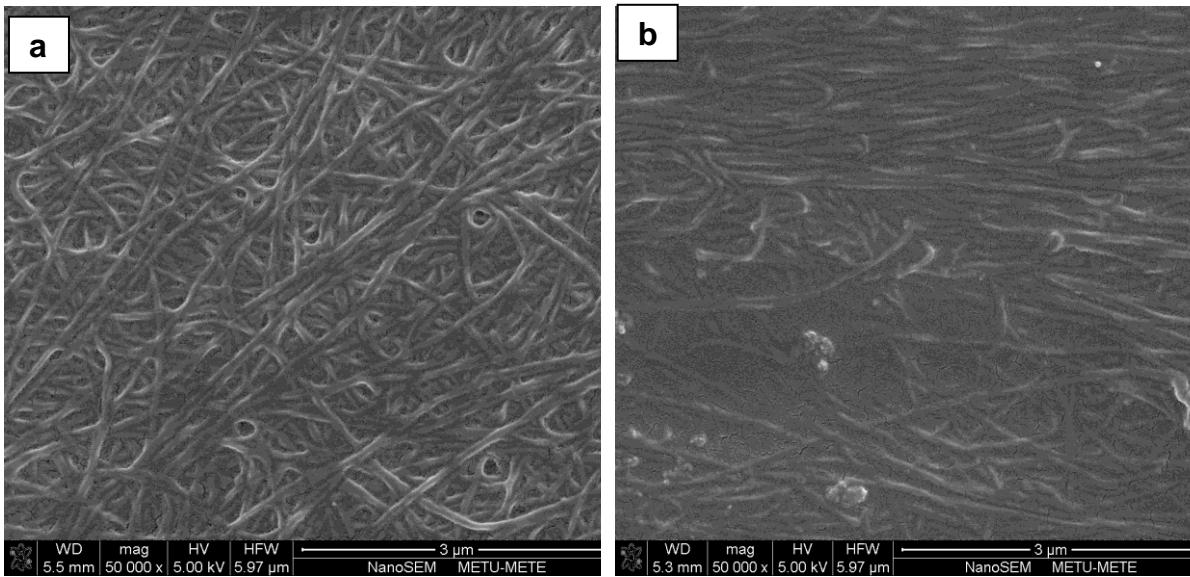






**Şekil 4.19.** 0.4 M a)  $K_2CO_3$  b)  $Na_2CO_3$  c) KOH d) NaOH ile temizlenmiş bakteri selülozunun SEM (X10.000 büyütme, X50.000 büyütme) fotoğrafları

Alkalilerin 0.4 M'lık çözeltileri ile yapılan temizleme işlemlerinden sonra çekilen SEM fotoğrafları şekil 4.19'da görülmektedir.  $CO_3^{-2}$  grubuna sahip olan çözeltilerle yapılan işlem sonucunda fibril çaplarının  $OH^-$  grubu içeren çözeltilerle temizlenenlere oranla daha küçük olduğu görülmektedir. 4 fotoğrafta da ufak boyutlarda safsızlıklar bulunmaktadır. ama bu safsızlıklar KOH çözeltisi ile hazırlanan selülozda çok daha yoğun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun sebebi alkaliden arındırma aşamasında yeterince yıkama yapılmamış olmasından kaynaklandığı söylenebilir.



**Şekil 4.20.** 0.4 M  $K_2CO_3$  ile temizlenmiş yapılar ve a) %1 PVA ve b) %5 PVA modifiye edilen bakteri selülozunun SEM (X50.000 büyütme) fotoğrafları

Son aşama olarak.  $K_2CO_3$  çözeltisi kullanılarak temizlenen ve fiziksel olarak en iyi sonuçları veren selülozlar %1, %3 ve %5 konsantrasyon değerindeki PVA çözeltileri içinde modifiye edilerek PVA'nın yapının içine penetre olması sağlanmıştır. Şekil 4.20'de bu işlemin başarılı olduğu ve selüloz liflerinin arasında dolgu malzemesi olarak PVA'nın bulunduğu görülmektedir. Ayrıca konsantrasyon farkının etkisi lifler arasındaki boşluklu yapının kapanmış olması ile açık bir şekilde görülmektedir. %1 'lik çözelti ile modifiye edilen bakteri selülozunun lif yapısı net bir şekilde görülebilirken. %5 lik çözelti ile hazırlanan selülozlarda neredeyse bu lifli yapı kaybolacak şekilde PVA ile kaplandığı görülmektedir.

## 5. SONUÇLAR

- Bakteri selülozu üretimi için, 30°C sıcaklık, pH'ı 5 olan besi yeri en uygun parametreler olarak seçilmiştir.
- Zamanla hücre çoğalması, koloni sayımı yöntemi ile incelenmiştir. Hücre çoğalma eğrisinde çok küçük bir gecikme evresi bulunmakta ve hemen eksponansiyel üreme evresine geçiş görülmektedir. Yaklaşık 48 saat sonra eksponansiyel üreme evresi sona ermektedir.
- Eksponansiyel evre içerisinde zamana karşı  $\ln(X/X_0)$  değerleri kullanılarak çizilen grafiğin eğimi  $0.0976 \text{ sa}^{-1}$  olup spesifik büyüme hızını göstermektedir.
- İnküleme süresi ( $t_d$ ) 7.1 saat olarak bulunmuştur.
- Bakteri selülozunun oluşumu, gravimetrik olarak takip edilmiştir. 168 saat sonunda ulaşılan en yüksek selüloz konsantrasyonu 0.696 g/L olarak bulunmuştur.
- Glikoz tüketimi DNS (Dinitro Salisilik Asit) yöntemi ile takip edilmiştir. Kolorimetrik bir yöntem olup karbonhidratların uç grubunun yükseltgenmesini tespit eder. 24 saatlik süre sonunda glikoz tüketimi artmaya başlamıştır. Glikozun yaklaşık % 80'i 96 saatin sonunda tüketilmiştir.
- Karbon kaynağı glikozun zamanla tüketimi, selüloz üretimiyle çok iyi bir uyum içerisinde dir.
- Mekanik testlerde kullanılmak üzere, bakteri selülozu üretimi, 30 °C sıcaklıkta, pH 5-5.1 arasında ayarlanmış besi yerinde, durgun kültürde 21 günde gerçekleştirilmiştir.
- 21 günlük inkübasyon sonunda elde edilen bakteri selülozu, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum karbonat ve potasyum karbonat kullanılarak bakterilerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Temizleme işlemi her alkali için 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M ve 0.4 M 'lık konsantrasyon değerleri için yapılmıştır.

- Bakteri selülozünün SEM fotoğraflarına göre, fibril çapı yaklaşık 50-150 nm arasında değişmektedir. Ayrıca saflaştırma işlemlerinin de başarılı bir şekilde yapıldığı, ağ yapısı içerisinde bakteri hücrelerinin bulunmadığı, bu fotoğraflardan görülmüştür.
- Uygulanan mekanik testler sonucunda potasyum karbonat'ın 0.05M, 0.1M, 0.2M ve 0.4 M'lık çözeltilerle yapılan temizleme işlemi sonucunda gerilme dayanımları sırasıyla  $2.461 \pm 0.112$  MPa,  $2.951 \pm 0.068$  MPa,  $4.859 \pm 0.428$  MPa ve  $9.223 \pm 0.557$  MPa'dır.
- Uygulanan mekanik testler sonucunda sodyum karbonat'ın 0.05M, 0.1M, 0.2M ve 0.4 M'lık çözeltilerle yapılan temizleme işlemi sonucunda gerilme dayanımları sırasıyla  $1.989 \pm 0.143$  MPa,  $2.809 \pm 0.214$  MPa,  $3.872 \pm 0.426$  MPa ve  $7.986 \pm 0.102$  MPa bulunmuştur.
- Uygulanan mekanik testler sonucunda potasyum hidroksit'in 0.05M, 0.1M, 0.2M ve 0.4 M'lık çözeltilerle yapılan temizleme işlemi sonucunda gerilme dayanımları sırasıyla  $2.072 \pm 0.157$  MPa,  $2.313 \pm 0.366$  MPa,  $3.815 \pm 0.236$  MPa ve  $6.241 \pm 0.213$  MPa'dır.
- Uygulanan mekanik testler sonucunda sodyum hidroksit 'in 0.05 M, 0.1 M, 0.2M ve 0.4 M'lık çözeltilerle yapılan temizleme işlemi sonucunda gerilme dayanımları sırasıyla  $1.271 \pm 0.205$  MPa,  $1.911 \pm 0.08$  MPa,  $2.867 \pm 0.498$  MPa,  $5.493 \pm 0.339$  MPa'dır.
- Mekanik testler sonucunda tüm konsantrasyon değerlerinde potasyum karbonat çözeltileri ile temizlenen bakteri selülozlarının en iyi sonuçları verdiği görülmüştür.
- Potasyum karbonat'ın farklı konsantrasyonları ile temizlenen bakteri selülozlarının FTIR spektrumları incelenmiştir.  $K_2CO_3$ 'ün konsantrasyon değeri azaldıkça OH gerilmesi  $3349\text{ cm}^{-1}$  den  $3338\text{ cm}^{-1}$  'e, CH gerilmesi de  $2919\text{ cm}^{-1}$  den  $2901\text{ cm}^{-1}$  'e doğru kaymıştır. Ayrıca OH gerilmesinin olduğu bölgedeki pik şiddetinde azalma görülmüştür.

- 0,4 M'lık konsantrasyon değerine sahip alkalilerle temizlenen bakteriyel selülozun FTIR spektrumları incelenmiştir. 3342  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki OH gerilmelerindeki pik şiddetleri  $\text{CO}_3^{-2}$  grubuna sahip olan alkalilerde daha yüksektir. 0.4 M 'lık  $\text{K}_2\text{CO}_3$  çözeltisi için CH gerilmesi 2919  $\text{cm}^{-1}$  den diğer alkaliler için 2901  $\text{cm}^{-1}$  'e doğru kaymıştır.
- %1, %3 ve %5'lik Poli(vinil) Alkol çözeltileri kullanılarak bakteriyel selüloz ile biyobozunur, kompozit polimerler üretilmiştir.
- Mekanik testler sonucunda %1, %3 ve %5'lik Poli(vinil) Alkol çözeltileri ile modifiye edilen 0.4 M'lık potasyum karbonat çözeltisi ile temizlenmiş bakteri selülozlarının gerilme dayanımları sırasıyla  $11.278 \pm 0.870$  MPa,  $13.796 \pm 0.775$  MPa ve  $16.198 \pm 0.309$  MPa bulunmuştur.
- Polivinil Alkol ve bakteri selülozu kompozitlerinin FTIR spektrumları karşılaştırıldığında artan polivinil alkol çözeltisi konsantrasyonu ile 3300  $\text{cm}^{-1}$  deki OH gerilmesi PVA'dan gelen OH grupları sayesinde arttırmakta ve genişlemektedir. 2900  $\text{cm}^{-1}$  deki pik alifatik CH gerilme titreşimini temsil etmektedir. Bu pik'in şiddeti artan Poli(Vinil) Alkol konsantrasyonu ile artmaktadır.
- Polivinil Alkol çözeltileri kullanılarak modifiye edilen selülozların yüksek gözenekliliğe sahip olan lif yapısının çözelti konsantrasyonu arttıkça azalmaya başladığı % 5'lik çözeltide ise neredeyse tüm liflerin kaplandığı SEM fotoğraflarından görülmüştür.
- Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre mekanik dayanımın bakteri selülozun temizlenmesi için kullanılan alkalilere ve konsantrasyon değerlerine bağlıdır. Ayrıca poli(vinil) alkol kullanılarak elde edilen kompozitlerin mekanik dayanımının arttığı da bulunmuştur.

Bu çalışma sonucunda ve literatürdeki veriler sayesinde mekanik dayanımı etkileyen birçok faktör görülmektedir. Bunlar özetle besi yeri çeşidi, kullanılan bakterinin türü, üretim koşulları-süresi, temizlemek için kullanılan alkali çeşidi ve konsantrasyon değeri, kurutma sıcaklığı-süresi ve modifikasyonu için

kullanılan malzemedir. Bir sonraki adımda bu parametreler göz önünde bulundurularak ve farklı kombinasyonlar denenerek Őimdi kullanılan sentetik filmlere rakip, evre dostu ve gerekli mekanik özelliklere sahip biyopolimerler elde etmek mümkün olacaktır.

## 6.KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akoğlu, A., Yakar, N., akır, İ., akmakçı, M. L., Karahan, A.G., Ertaş, H., 2008, Fermente Türk Sucuğu Üretiminde Bakteriyel Selüloz Kullanımı ve Etkilerinin Araştırılması, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum
- Ano, T., Sugano, Y., 2009, Production of biocellulose (bacterial cellulose) <http://www.res.titech.ac.jp/~junkan/english/cellulose/>
- Bielecki S., Krystynowicz A., Turkiewicz, M. ve Kalinowska, H., 2001, Bacterial Cellulose, 40-46.
- Brown, R.M., Willison J.H.M., Richardson C.L. 1976. Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: Visualization of the site of synthesis and direct measurement of the in vivo process. *Cell Biol*, 73(12), 4565–4569.
- Brown-Etris, M., Punchello, M., 2003, Evaluation of XCell® Cellulose Wound Dressing on Wound Healing of Pressure Ulcers, [http://www.xcellwoundcare.com/\\_file\\_storage/G3.2-\\_Pressure\\_Ulcer-Etris\\_6\\_24.pdf](http://www.xcellwoundcare.com/_file_storage/G3.2-_Pressure_Ulcer-Etris_6_24.pdf)
- Brown, M.R, 2006, Microbial Cellulose: A New Resource for Wood, Paper, Textiles, Food and Specialty Products, <http://www.botany.utexas.edu/facstaff/facpages/mbrown/position1.htm>
- Cannon, R.E. & Anderson, S.E. (1991). Biogenesis of Bacterial Cellulose Critical Reviews in Microbiology, Vol. 17, pp. 5-46.
- Chao, Y., Ishida, T. , Sugano, Y., Shoda, M., 1999 , Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L Internal-Loop Airlift Reactor, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 68, No: 3
- Chao, Y., Sugano, Y., Shoda, M., 2001 , Bacterial cellulose production under oxygen-enriched air at different fructose concentrations in a 50-liter, internal-loop airlift reactor
- Chaplin, M., 2009, Cellulose , <http://www.lsbu.ac.uk/water/hycel.html>
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A. ve Singhal, R. S. , 2009, Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications, *Fermentative Production of Microbial Cellulose*, *Food Technol. Biotechnol.* 47 (2) 107–124
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S. and Brown, M.R., 2006, Microbial Cellulose- The Natural Power to Heal Wounds, *Biomaterials*, 27, 145-151.

- Czaja, W. K., Young, D. J., Kawecki, M. , ve Brown, R. M. , 2007, The Future Prospects of Microbial Cellulose in Biomedical Applications, *Biomacromolecules*, Vol. 8, No. 11
- Çetin, C.E., Bakteri Selülozu Üretimi, Biyobozunur Hale Getirilmesi ve Hücrelerle Etkileşiminin İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik A.B.D, Ankara
- Çoban, E. P., Bıyık, H.H., 2008, Asetik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Alternatif Selüloz, *OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* Cilt: 06 Sayı: 2 Sayfa: 19-26
- Dursun, D., Yakar N., Çakır, İ., Çakmakçı, M. L., 2006, Mikrobiyel Selüloz Üretimi ve Gıda Sanayiinde Kullanımı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu
- El-Saied H., Basta A.H., Gobran R.H., 2004, Research progress in friendly environmental technology for the production of cellulose products (bacterial cellulose and its application). *Polym-Plast Technol*, 43(3), 797–820
- Gindl, W., Keckes, J., 2004, Tensile properties of cellulose acetate butyrate composites reinforced with bacterial cellulose. *Compos Sci Technol* 64, 2407–13.
- George, J., Ramana, K.V., Sabapathy, S.N., ve Bawa, A.S., 2005, Physico-mechanical properties of chemically treated bacterial (*Acetobacter xylinum*) cellulose membrane , *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21:1323–1327
- Helena L. Chum , 1989 , Assesstment of Biobased Materials , s.1-8
- Heo, M.-S. ve Son, H.-J., 2002, Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures , *Biotechnol. Appl. Biochem.* 36, 41–45
- Holmes, D., 2004, Bacterial Cellulose, A thesis presented for the degree of Master of Engineering in Chemical and Process Engineering, Department of Chemical and Process Engineering, Vol. University of Canterbury, Christchurch, New Zealand
- Hornung, M., Ludwig, M., Gerrard, A. M., Schmauder, H.-P., 2006a, Optimizing the Production of Bacterial Cellulose in Surface Culture: Evaluation of Product Movement Influences on the Bioreaction (Part 1), *Eng. Life Sci.* 6, No. 6, 537–545



- Hornung, M., Ludwig, M., Gerrard, A. M., Schmauder, H.-P., 2006b, Optimizing the Production of Bacterial Cellulose in Surface Culture: Evaluation of Product Movement Influences on the Bioreaction (Part 2), *Eng. Life Sci.* 6, No. 6, 546–551
- Hwang, J. W., Yang, Y. K., Hwang, J. K., Pyun Y. R. ve Kim, Y. S., 1999, Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture , *Journal of Bioscience and Bioengineering* Volume 88, Issue 2, Pages 183-188
- Iguchi, M., Yamanaka, S., Budhiono, A. , 2000, Bacterial cellulose—a masterpiece of nature’s arts , *Journal of Material Science* 35 , 261– 270
- Ioelovich, M., 2008, Cellulose as Nanostructured polymer: Ashort Review , *BioResources* 3(4) , 1403-1418
- Johnson D.C, Neogi A.N. 1989. Sheeted products formed from reticulated microbial cellulose. *US Patent, 4863565.*
- Jonas, R. ve Farah, L. F., 1998, Production and application of microbial cellulose, *Polymer degradation and Srabilirity* 59 101-106
- Jung, J.Y., Park, J. K., Chang H. N., 2005, Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells , *Enzyme and Microbial Technology* 37 347–354
- Keefe, A. J. , 2006, Fluid Dynamic Properties of Bacterial Cellulose and Application
- Keshk, Sherif M.A.S. ve Sameshima, K. , 2005 , Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production , *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (6), pp. 478-482
- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., Marsch, S., 2001, Bacterial synthesized cellulose – artificial blood vessels for microsurgery, *Prog. Poly. Sci.*, 26, 1561-1603.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P. Ve Bohn, A., 2005, Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material, *Angew. Chem. Int. Ed.* , 44, 3358 – 3393
- Krystnowicz, A., Czaja, W., Jezierka, A.W., Miskiewicz, M.G., Turkiewicz, M. and Bielecki, S., 2002. Factors Affecting the Yield and Properties of Bacterial Cellulose, *Journal of Industrial Microbiology&Biotechnology*, 29, 189-185.

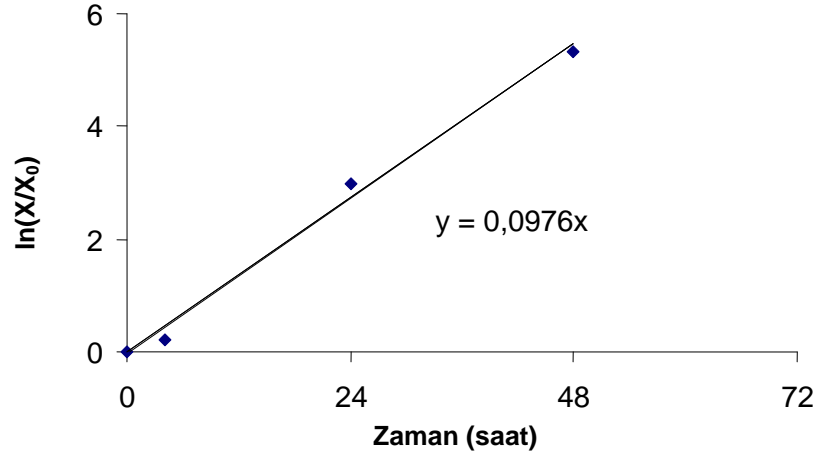
- Maeda, H. , Nakajima , M., Hagiwara , T. , Sawaguchi, T. , Yano, S., 2006 ,  
Bacterial cellulose/silica hybrid fabricated by mimicking biocomposites ,  
J Mater Sci 41:5646–5656
- Maha M. I., Waleed K. El-Zawawy , Mona A. N. , 2009 , Synthesis and  
characterization of polyvinyl alcohol/nanospherical cellulose particle  
films ,Carbohydrate Polymers 79 s: 694–699
- McKenna , B. A., Mikkelsen, D., Wehr , J. B., Gidley , M. J., Menzies, N. W.,  
2009, Mechanical and structural properties of native and alkali treated  
bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC  
53524 , Cellulose DOI 10.1007/s10570-009-9340-y
- Mormino R., ve Bungay, H. , 2003, Composites of bacterial cellulose and paper  
made with a rotating disk bioreactor, Appl Microbiol Biotechnol 62,  
503–506
- Mwaikambo L. Y. , Ansell M. P. , 2006 , Mechanical properties of alkali treated  
plant fibres and their potential as reinforcement materials. I. hemp  
fibres , Journal of materials science , vol. 41 pp. 2483-2496
- Nata de Coco Boom and the Philippines, [www.american.edu/TED/coconut.htm](http://www.american.edu/TED/coconut.htm)
- Omri, 2001, Cellulose Processing ,s.1-17
- Ross, P., Mayer, R., Benziman, M., 1991, Microbiological Reviews, 55, 35-58.
- Saxena, I. M., Dandekar, T., Brown, R. M., 2001 ,Mechanisms in Cellulose  
Biosynthesis
- Shah, J., Brown, R. M., 2005, Towards electronic paper displays made from  
microbial cellulose, Appl Microbiol Biotechnol (2005) 66: 352–355
- Shoda, M., Sugano, Y., 2005 , Recent Advance in Bacterial Cellulose  
Production , Biotechnology and Bioprocess Engineering , 10:1-8
- Son, H.J., Heo, M.S., Kim, Y.G. ve Lee, S.J., 2001. Optimization of  
Fermentation Conditions for the Production of Bacterial Cellulose by a  
Newly Isolated *Acetobacter* sp. A9 in Shaking Conditions,  
Biotechnology and Applied Biochemistry, 33, 1-5.
- Valla, S., Coucheron, D.H., Fjaervik, E., Kjosbakken, J., Weinhouse, H., Ross,  
P., Amikam, D. and Benziman, M. 1989. Cloning of a gene involved in  
cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinus*: complementation of  
cellulose negative mutant by UDPG pyrophosphorylase structure gene.  
Mol. Gen. Genet., 217:26-30.

- Wan, Y.Z., Luo, H., He, F., Liang, H., Huang, Y., Li, X.L., 2009 , Mechanical, moisture absorption, and biodegradation behaviours of bacterial cellulose fibre-reinforced starch biocomposites , *Composites Science and Technology* 69 , 1212–1217
- Watanabe, K., Tabuchi, M., Orinaga, M., Y., Yoshinaga, F., 1998, Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture, *Cellulose* 5, 187±200
- Yano, H., Sugiyama, J., Nakagaito, AN., Nogi, M., Matsuura, T., Hikita, M., 2005, Optically transparent composites reinforced with networks of bacterial nanofibers. *Adv Mater* 17:153–5.
- Yoshinaga, F., Tonouchi, N., Watanebe, K., 1997, Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. , *biosci. Biotech. Biochem.* , 61 (2) , 219-224
- Yudianti R. , Indrarti L. , 2008, Effect of water soluble polymer structure and mechanical properties of bacterial cellulose composites, *Journal of applied science* 8 (1) :177-180
- Zhijiang C. ve Jaehwan K. , 2009 , Bacterial cellulose/poly(ethylene glycol) composite: characterization and first evaluation of biocompatibility , *Cellulose* , Volume 17, Number 1 , s: 83-91

## EKLER

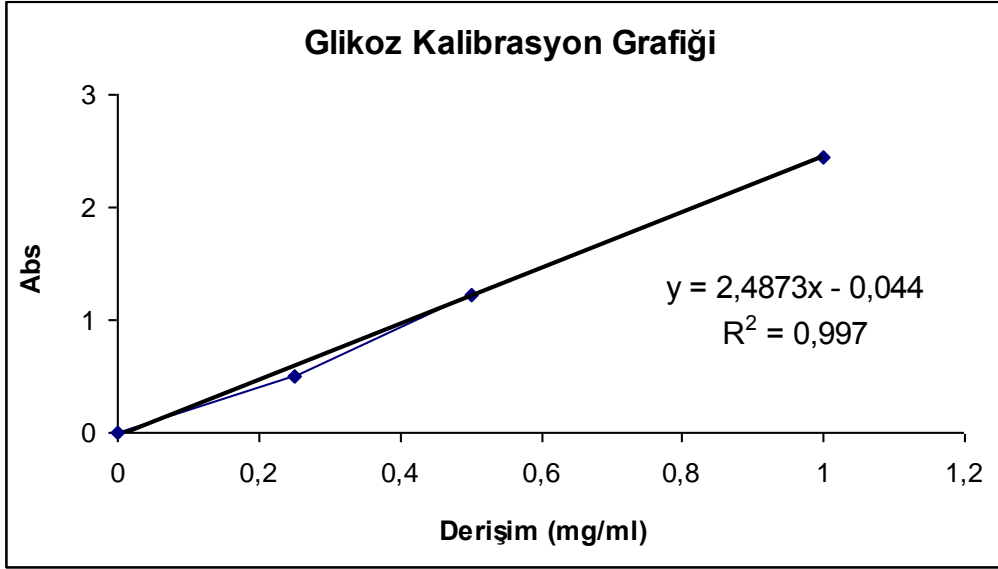
### Ek 1

#### Spesifik büyüme hızının belirlenmesi



## Ek 2

### Glikoz derişimi tayini için DNS yöntemi ile hazırlanan kalibrasyon grafiği



### Ek 3

#### Standart sapmanın hesaplanması

Standart sapma değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanır.

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_i - X_a)^2}$$

Bu eşitlikteki;  $\sigma$  : Standart Sapma,  $\{X_1, X_2 \dots X_N\}$  : Örneklem Değerleri ,  $X_a$  : Örneklem Ortalaması,  $N$  : Örneklem Sayısı

#### Örnek hesaplama :

{ 5.976 , 6.497 , 6.249 }

$$N = 3$$

$$X_a = \frac{(5.976 + 6.497 + 6.249)}{3} = 6.241$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{3} \left( (5.976 - 6.241)^2 + (6.497 - 6.241)^2 + (6.249 - 6.241)^2 \right)} = 0.213$$

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Alper AYDINLI

Doğum Yeri : Merzifon / AMASYA

Doğum Tarihi : 04 / 08 / 1983

Medeni Durum : Bekar

Adresi : Kent Koop Mah. 7. Cad. Tok 84 Sitesi D/1 Yenimahalle / ANKARA

Elektronik Posta : alperaydinli@yahoo.com

Yabancı Dil : İngilizce

## **EĞİTİM DURUMU**

Lise :1997-2000 Ankara Cumhuriyet Lisesi

Lisans : 2001-2006 İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İzmir

Yüksek Lisans : 2007-2009 Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik ABD, Ankara

## **İŞ TECRÜBESİ**

2007- .... :Üretim Müdür Yardımcısı, İKSA İnşaat Katkıları Ltd. Şti.

2007-2009 :TÜBİTAK-TEYDEB 3070043 no'lu proje :Orman ve Tarım Atıklarından Biyoteknolojik ve Elektro-Mekanik Yöntemlerle Kimyasal Beton ve Çimento Katkı Maddelerinin Üretilmesi, Proje Mühendisi