

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİ ATIĞINDAN ANTİMİKROBİYAL SELÜLOZ ELDESİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Nurten UZUN**

Anabilim Dalı : Kimya

Programı : Kimya

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Oya Atıcı

HAZİRAN 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİ ATIĞINDAN ANTİMİKROBİYAL SELÜLOZ ELDESİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Nurten UZUN
509091056**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 3 Mayıs 2013
Tezin Savunulduğu Tarih : 3 Haziran 2013**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Oya ATICI (İTÜ)

HAZİRAN 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509091056 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Nurten UZUN**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “ **AYÇİÇEĞİ ATIGINDAN ANTİMİKROBİYAL SELÜLOZ ELDESİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Oya ATICI**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Ahmet AKAR**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU
Yalova Üniversitesi

Teslim Tarihi : **3 Mayıs 2013**
Savunma Tarihi : **3 Haziran 2013**

Anneme,

ÖNSÖZ

Tez çalışmam esnasında bana yol gösteren, yardımlarını ve bilgisini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Oya Galioğlu ATICI'ya;

Laboratuvar çalışmalarında ve tez yazım aşamalarında her konuda desteğini gördüğüm Araş. Gör. Cüneyt ÜNLÜ'ye ve değerli arkadaşım Araş. Gör. Ilgın NAR'a;

Beraber çalıştığım, her konuda ilgisini ve yardımını gördüğüm sevgili arkadaşım Nurhan KADAK'a ve sevgili laboratuvar arkadaşlarım Meltem KUTLU, Erdem TEZCAN'a;

Üniversite hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve hayatımı kolaylaştıran değerli dostlarım Havva KARİP, Özden DORUKÖZ, Yeliz ŞİMŞEK, Nermin Simge ÖZTEKİN, Göker ZAFER'e;

Ev arkadaşım ve sevgili dostum Burcu KUTLU'ya;

Hayatım boyunca benimle ilgilenen, bana güvenen ve hoşgörüsünü esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Haziran 2013

Nurten UZUN
(Kimyager)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK KISIM	3
2.1 Ayçiçeği	3
2.1.1 Ayçiçeği kabuğu	4
2.1.2 Ayçiçeği küspesi	4
2.1.3 Ayçiçeği gövdesi	5
2.2 Selüloz	5
2.2.1 Karboksimetil selüloz	8
2.3 Antimikrobiyalite	10
2.3.1 Kuarterner amonyum tuzları	12
2.3.1.1 Mannich reaksiyonu ile kuartern amonyum tuzu elde etme	13
2.3.2 Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	16
3. DENEYSEL KISIM.....	19
3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	19
3.2 Kullanılan Cihaz Ve Yöntemler	20
3.3 Ayçiçeği Atığından Selüloz Eldesi	20
3.3.1 Kullanılan atığa uygulanan işlemler	20
3.3.2 Selülozun Ayçiçeği Atığından Alkali Peroksit ile Ekstraksiyonu	21
3.4 Kuarternize Selüloz Eldesi	21
3.4.1 Selülozun kuarterner amonyum tuzu ile kuarternizasyonu	21
3.4.2 Karboksimetil selülozun kuarterner amonyum tuzu ile kuarternizasyonu	21
3.4.3 Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternizasyonu	22
3.5 İyonik Yapı Tayini	22
3.6 Toplam Azot Miktarı Tayini	23
3.7 Maddelerin Molekül Ağırlığı Tayini	23
3.8 Antimikrobiyalite testi.....	24
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	25
4.1 Ayçiçeği Atığından Selüloz Eldesi ve Karakterizasyonu	25
4.1.1 Ayçiçeği atığına uygulanan işlemler	25
4.1.2 Ayçiçeği atığından selüloz ekstraksiyonu	26
4.2 Karboksimetil Selüloz Eldesi	31
4.3 Kuarternize Selüloz Eldesi ve Karakterizasyonu	32
4.3.1 Selülozun kuarterner amonyum tuzu ile kuarternizasyonu	32

4.3.2 Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternizasyonu	38
4.4 İyonik Yapı Tayini	40
4.5 Selüloz ve Kuarternize Selülozun Antimikrobiyal Aktivitesinin Değerlendirilmesi	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR.....	45

KISALTMALAR

CHPTAC	: 3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür
DMF	: <i>N, N</i> -Dimetil Formamid
DMA	: Dimetil amin
FA	: Formaldehit
FTIR	: Fourier Transform Infra Red
MS	: Modifiye Selüloz
NaOH	: Sodyum Hidroksit
S	: Selüloz

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Yağlı tohumlar arasında ayçiçeği bitkisi.....	3
Çizelge 3.1: İyonik yapı tayini	22
Çizelge 4.1 : Ayçiçeği atığından selülozun ekstraksiyonu	27
Çizelge 4.2 : Çözünen Kısımdan Arındırılmış 5 gram Ayçiçeği Küspesinden 50°C Reaksiyon Sıcaklığında Antimikrobiyal Selüloz Elde Edilme Deney Koşulları ve Neticeleri.....	34
Çizelge 4.3 : Kuarternize selüloza ait azot yüzdeleri ve süstitüsyon dereceleri	36
Çizelge 4.4 : İyonik yapı tayini	41

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Bitki hücre duvarının yapısı	5
Şekil 2.2: Selüloz	7
Şekil 2.3: Selülozun endüstrideki kullanım alanları	8
Şekil 2.4: Kuarterner Amonyum Bileşiği (CHPTAC: 3-kloro-2-hidroksipropil trimetilamonyum klorür)	13
Şekil 2.5: Mannich reaksiyon mekanizmasının özeti	15
Şekil 4.1 : Ayçiçeği atığına uygulanan önışlemler	26
Şekil 4.2 : Ayçiçeği Küspesi Ekstraktının Bileşenlerinin Ayrılması.....	27
Şekil 4.3 : Selüloza ait karakteristik FTIR spektrumu.....	28
Şekil 4.4 : Selülozun yapısında bulunan karbonların numaralandırılması	29
Şekil 4.5 : Selüloza ait katı hal ¹³ C-NMR spektrumu.....	30
Şekil 4.6 : Karboksimetil selüloz eldesi	31
Şekil 4.7 : Karboksimetil selüloza ait karakteristik FTIR spektrumu	31
Şekil 4.8 : Karboksimetil selüloza ait ¹ H NMR spektrumu.....	32
Şekil 4.9 : MS1 ve MS1 Deneyinin Yapıldığı Ayçiçeği Selulozuna ait FT-IR Spektraları	34
Şekil 4.10 : MS11 ve MS11 Deneyinin Yapıldığı Ayçiçeği Selulozuna ait FT-IR Spektraları	35
Şekil 4.11 : Kuarternize edilmiş selüloza ait katı hal ¹³ C-NMR spektrumu.....	36
Şekil 4.12 : Kuarternize karboksimetil selüloza ait FTIR spektrumu	37
Şekil 4.13 : Kuarternize karboksimetil selüloza ait ¹ H-NMR spektrumu	38
Şekil 4.14 : Reaksiyon mekanizması	38
Şekil 4.15 : Karboksimetil selüloz ve kuarternize selüloza ait FTIR spektrumu	39
Şekil 4.16 : Mannich reaksiyon ile oluşan kuarternize selüloza ait ¹ H-NMR spektrumu	40
Şekil 4.17 : Mannich reaksiyon sonucu oluşan kuarternize selülozda köpük oluşumu	41

AYÇİÇEĞİ ATIĞINDAN ANTİMİKROBİYAL SELÜLOZ ELDESİ

ÖZET

Ayçiçeği, tüm dünyada ve Türkiye’de yağ sanayiinde önemli yeri olan bitkidir. Yağı çıkarıldıktan sonra kalan atık kısımları yüksek protein ve karbonhidrat içeriği sayesinde kimya sanayiinde hammadde olarak kullanılabilir.

Selüloz doğada en fazla bulunan polisakkarittir. Bitki hücre duvarında hemiselüloz ve lignin ile birlikte bulunmakta ve bitkiye sağlamlık kazandırmaktadır. Selüloz, glikoz moleküllerinin 1 ve 4 numaralı karbonlarının β -D glikoz biriminin glikozit bağı ile bağlanması sonucu meydana gelmiş kristal polimeridir, yapısı rijittir ve bozunması için sert reaksiyon koşulları gerektirir. Selülozun çeşitli gruplarla modifiye edilmesi ile farklı özelliklere sahip polimerler elde edilmekte ve kimyanın çeşitli alanlarında kullanılmaktadır.

Ortak yaşam alanlarının artması hastalıkları da beraberinde getirmektedir. Bakteri kaynaklı hastalıklar antimikrobiyal özellikli malzemeleri gündeme getirmektedir. Antimikrobiyal aktivite çeşitli şekillerde sağlanabilmektedir. Kuarterner amonyum tuzları antimikrobiyal etki gösteren bileşiklerdir. Mannich reaksiyonu ile kuarterner amonyum tuzları elde edilebilmektedir.

Bu çalışmada, Türkiye’de üretimi gerçekleşen ayçiçeğinin yağı alındıktan sonra geride kalan düşük ekonomik değere sahip atığının, antimikrobiyal ve biyobozunur madde yapımında kullanılarak, değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla atıkta yüksek miktarda bulunan selüloz ve karboksimetilasyon reaksiyonu ile suda çözünürlük kazandırılmış karboksimetil selüloz, kuarterner amonyum tuzu ve Mannich reaksiyonu ile katyonize edilmiş, antimikrobiyal özelliği araştırılarak tekstil ve kozmetik endüstrisinde kullanımı değerlendirilmiştir.

Öncelikle ayçiçeği atığına iki ön işlem uygulanmıştır: yağ bileşenlerinin ve proteinin uzaklaştırılması. Ayçiçeği atığını, organik çözücülerde çözünen kısımları, yağ bileşenleri ve boyar maddelerinden arındırmak amacıyla organik çözücüler (toluen-etanol karışımı) kullanılarak ekstaksiyon yapılmıştır. %5-10 arası yağ bileşeni çözücüye geçmiştir. Devaks ayçiçeği atığına, proteinlerini ayırmak amacıyla pH=12 olan NaOH çözeltisi ile deproteinizasyon yapılmış ve atığın protein yüzdesi %34 olarak bulunmuştur.

Yağ, vaks ve proteinlerinden ayrılmış olan ayçiçeği atığına hidrojen peroksit varlığındaki bazik ortamda, değişik sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon ile lignin ve hemiselülozlarından ayrılmış olan selüloz için en ideal koşulların %10’luk (g/mL) NaOH çözeltisi kullanılarak baz:küspe oranı 16,6 milieşdeğer/g atık olacak şekilde ayarlanıp son konsantrasyonu %0,9 (g/mL) olacak şekilde %35’lik (g/mL) H_2O_2 çözeltisi eklenerek 24 saat 60°C sıcaklıkta olduğu belirlenmiştir. Bu şartlar altında kullanılan küспенin ağırlıkça ortalama %30 kadar selüloz (S) izole edilebilmiştir. Saf olarak elde edilmiş selülozun FTIR ve NMR yöntemleri ile karakterizasyonu yapılmıştır. Molekül ağırlığı 153000 olarak bulunmuştur.

Ayçiçeği selülozü bazık ortamda CHPTAC (3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür) ile reaksiyona sokularak katyonize selüloz elde edilmiştir. Katyonizasyonun en fazla olduğu reaksiyonun %60'lık CHPTAC çözeltisinden 173 g/L, NaOH çözeltisinin 128 g/L kullanıldığı, 2 saat, 25 °C sıcaklıkta yapıldığı belirlenmiştir. Bu şartlar altında ağırlıkça verim %85 olarak hesaplanmıştır. FTIR ve NMR yöntemleri ile spektral olarak karakterize edilen bileşiğin azot miktarı mikro Kjeldahl yöntemi kullanılarak bulunmuştur. En fazla %4,6 olarak bulunan azot miktarı ile süstitüsyon derecesi 1,05 olarak hesaplanmıştır.

Bazık ortamda NaMCA (Sodyum mono klor asetat) ile yapılan karboksimetilasyon reaksiyonu ile suda ve organik çözücülerde çözünmeyen selüloza suda çözünürlük kazandırılmıştır. Spektral yöntemlerle reaksiyonun gerçekleştiği görülmüştür.

Karboksimetillenmiş çözünür selüloz CHPTAC (3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür) ve Mannich reaksiyonu ile iki farklı şekilde kuarternize edilmiştir. CHPTAC ile katyonize edilmiş karboksimetil selülozun azot miktarı %2-3'tür.

Mannich reaksiyonda aktif hidrojen içeren bileşik olarak karboksimetil selüloz, amin bileşiği olarak dimetil amin ve α -hidrojeni taşımayan karbonil bileşiği olarak formaldehit kullanılmıştır. En uygun koşullar 3 mL suda, 3 saat, 40 °C sıcaklıkta, 1,2 mol/L DMA ve 8,5 mol/L FA olduğu bulunmuştur. Reaksiyonun gerçekleştiği FTIR ve NMR yöntemleri ile ispatlanmıştır. Mannich reaksiyonu ile elde edilen kuarternize karboksimetil selülozun azot miktarı ise % 2 ile %3 olarak bulunmuştur. Bu şekilde sentezlenen kuarternize selüloz yüksek köpük yapma kabiliyeti göstermiştir.

Damlatma yöntemi ile selüloz ve katyonik selülozların *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal özellik gösterip gösterilmediğine bakılmıştır. Uygulanan yöntemler ile antimikrobiyel özellik tayin edilememiştir ancak kuarternier amonyum gruplarının teorik olarak antimikrobiyal özellik gösterdiği bilinmektedir.

Kuarternier amonyum grubu ile katyonize edilmiş selüloz elyafının tekstil sanayiinde lif olarak kullanılması düşünülebilir. Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternize edilmesi sonucu oluşan suda çözünür katyonik selülozun ise kozmetik sanayiinde hammadde olarak kullanılması önerilebilir.

ANTIBACTERIAL CELLULOSE SYNTHESIS FROM SUNFLOWER WASTE

SUMMARY

Nowadays, the goal of the creation of a bio-based economy is challenging to agriculture, forestry, chemistry and industry, so the research and developments of the renewable resources are very important for a sustainable development and tackling environmental issues. In our country every year high proportion of different characteristics of industrial wastes is emerging vegetable waste materials, includes mainly cellulose, hemicellulose and lignin.

Sunflower oil industry is an important plant in Turkey and all over the world. The waste of sunflower, which is not used in oil industry, can be used as raw materials in chemical industry because of including high content of proteins and carbohydrates.

Cellulose is the most abundant and enormous renewable polymers in the world. Of all the natural polysaccharides, cellulose is the most abundant polysaccharide available today worldwide and could be a primary chemical resource in the future. Cellulose is located in plant cell walls with hemicellulose and lignin and it gives strengt to plant. Celluloses consist of sets of parallel chains of (1-4) linked β -D glucopyranose units interlinked by planar, intermolecular hydrogen bonds. Its extending properties which are generally strong hypophilic, stable to chemicals, safe to living bodies, reproducible, recyclable, and biodegradable contributes to many aspect and industries such as paper industry, food industry, pharmaceutical, paint and many more. Recently, high cellulose content of agriculture by-products as alternative renewable resources for cellulose production are receiving much attention.

The common living areas increase diseases that are related to bacteria. For this reason, antibacterial material is an important role in the society. Antimicrobial activity can be achieved in various ways. Cationic surface active agent can be used as a disinfectant because of their antimicrobial properties. Quaternary ammonium compounds are the most widely used agents due to their good antibacterial properties, their low toxicity, their lack of skin irritation, their low corrositivity, their good environmental stability, and their excellent cell membrane penetration properties. Quarternary ammonium salts can be prepared by Mannich reaction.

In this study, it is aim that the sunflower waste remaining after oil extraction which has low economic value was evaluated by making antimicrobial and biodegradable material. For this purpose, the cellulose which is located in sunflower waste with high amount and the water soluble carboxymethyl cellulose synthesized by carboxymethylation reaction were cationized with quaternary ammonium salt and Mannich reaction and then the use of textile and cosmetic industries was evaluated by investigating antimicrobial properties of them.

First, two pre-treatment were applied to residues of sunflower: removal of oil components and removal of protein. Sunflower waste was extracted with the organic

solvents that are the mixture of toluene and ethanol to remove the organic soluble components, oil components, and color components. Solvent oil component was between 5-10%. Dewax sunflower residue was deproteinization with NaOH solution at pH = 12 in order to separate proteins. The percentage of protein was found to be 34% of the waste.

The sunflower waste without oil, wax and protein was extracted in the presence of hydrogen peroxide in basic medium at different temperatures and times. For the cellulose does not contain lignin and hemicellulose, the most ideal conditions were found that the solution was 10% (g/mL) NaOH, bas:bagasse ratio was 16.6 milliequivalents/g waste, final concentration of waste was %0,9 (g/mL) using the solution %35'lik (g/mL) H₂O₂, the temperature was 60°C and the time was 24 hours. Under these conditions, up to 30% cellulose could be isolated from the waste. The pure cellulose was characterised by the spectral method of NMR and FTIR. With Kjeldahl nitrogen method, it is evidenced that cellulose did not contain nitrogen. The molecular weight was found to be 153000.

Cationized cellulose was obtained by the reaction of the sunflower cellulose and CHPTAC (3 -chloro-2-hydroxypropyl trimethyl ammonium chloride) in the alkali medium. The most ideal conditions were found that 173 g/L of 60% of CHPTAC solution and 128 g/L of NaOH solution was used at 25 °C and 2 hours. Under these conditions, the weight yield of the reaction was calculated to be 85%. The amount of nitrogen of the compound that was characterised by the spectral method of NMR and FTIR was calculated using micro Kjeldahl method. The a maximum degree of substitution is calculated as 1,05 with 4,6% of nitrogen content.

The cellulose that was insoluble in organic solutions and water was brought water solubility using the carboxymethylation reaction with NaMCA (sodium mono chlorine acetate) at basic medium. The most ideal conditions were found that 10 ml of 15% NaOH solution and 50 ml of isopropyl alcohol (IPA) solution was used at 55°C and 3 hours. Under these conditions, it was seen with spectral method that the reaction was occurred.

Water soluble carboxymethylated cellulose was quartenized in two different ways that were using CHPTAC and Mannich reaction. The nitrogen content of the cellulose which cationised with CHPTAC was between 2-3%.

The carboxymethyl cellulose was used as the compound with active hydrogen, dimethyl amine (DMA) was used as amine compound and formaldehyde (FA) was used as carbonyl compound without α – hydrogen in Mannich reaction. The reaction yield is affected from temperature, time and concentration of cellulose. The most optimum conditions were found 1,2 mol/L of DMA and 8,5 mol/L of FA in 3 ml of the water at 3 hours and 40°C temperature. After finding optimum concentrations, all products were characterised by FTIR and NMR spectral methods. The amount of nitrogen of the cellulose which was quartenized with Mannich reaction was between 2-3%. The quaternized cellulose synthesized in this way shown the ability to do high foam.

By the method of dripping, antimicrobial activity of cellulose and cationic celluloses was tested against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* bacteria. But antimicrobial activity of them could not be determined with the applied methods but it is known in theory that quaternary ammonium compounds have antimicrobial properties.

Cationized cellulose with quaternary ammonium group can be used in textile industry as fibers. The other cationized cellulose which was quaternized with Mannich reaction can be used as a raw material in the cosmetic industry because of the water-soluble property.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye’de ekimi yapılan yıllık bitkiler arasında üretim ve yağ tüketimi bakımından birinci sırayı, ayçiçeği almaktadır. Ayçiçeği, sadece ülkemizde değil dünyada da en önemli yağ elde edilen bitkilerinden biridir. Birleşikgiller (Compositae) familyasının *Helianthus annuus* L. türüne giren ayçiçeği bitkisi tohumlarının, kısmen kabuklu veya kabuksuz olarak, insan ve hayvan sağlığına zararsız çözücüler ile yağının "ekstrakte edilerek-özütlenerek" veya ekspeller ya da adî presle "basınç uygulanarak sıkılarak" alınmasından sonra geriye kalan, %74–90’ı selüloz, lignin, hemiselüloz olan proteince de zengin kalıntılara küspe denir (Atıcı O., 1990). Küspe protein içerdiği için, yem sanayinde katkı maddesi olarak az da olsa kullanılabilir. Kabukların endüstride kullanımı ise önemli bir sorun teşkil etmektedir çünkü kabukların düşük yoğunluğu, depolamak için fazla yer gerektirmekte ve bu nedenle fabrika bunlardan kurtulmak istemektedir. Tohum kabuğunun ekonomik değerinin düşük olması nedeniyle kullanım alanları oldukça kısıtlıdır. Literatür taraması yapıldığında; ayçiçeği tohumu kabuğunun; kalori değeri 3700 kal/g’dan daha düşük olduğu halde ısıtma amacı ile kullanılması, büyükbaş hayvan yemi ve gübre olarak kullanılması, diyabetik şeker üretiminde kullanılan ksilozun elde edilmesi, bazı boyaların uzaklaştırılmasında adsorban olarak kullanılması (Thinakaran N., ve ark., 2008), kabuğun içerdiği şekerlerin enzimler yardımıyla etanole dönüştürülmesi (Sharma S.K., ve ark., 2002), furfural üretimi (Cancalon, P., ve ark., 1971), kereste endüstrisinde dolgu ve yalıtım maddesi olarak kullanılması, gıdalarda doğal katkılı boya olarak kullanılabilecek antociyanin olarak bilinen kırmızı boya maddesinin elde edilmesi gibi, çeşitli alanlarda kullanıldığı çalışmalar karşımıza çıkar.

Son yıllarda ekonomik değeri olan ürünlere dönüştürme çalışmaları (geri dönüşüm), sadece ayçiçeği atığına değil, diğer tüm yıllık bitki atıklarına da uygulanmaktadır (Xiao B ve ark., 2001). Geri dönüşüm çalışmaları, özellikle çevre bilimleri ve teknolojileri alanlarında gittikçe önem kazanmaktadır. Her geçen gün artan nüfus miktarı ve ekonomik büyüme nedeniyle ihtiyaç duyulan selüloz miktarının

karşılanması için alternatif kaynaklar aranmaktadır. Yüzde 30-70 seluloz içeriği ile yıllık bitki atıkları alternatif bir kaynak olarak görülmektedir. Elde edilen selulozun fonksiyonlandırılması ile elde edilen yeni maddeler kimya endüstrisinde pek çok alanda kullanılmakta ve günlük yaşantımızın bir parçası olmaktadır (Heinze T., 1998) .

Bir diğer konu ise son yıllarda hem ülkemiz hem de dünya ülkeleri insan sağlığını tehdit eden çeşitli grip salgınlarında antimikrobiyalite kavramının önem kazanmış olmasıdır. Dünya ülkelerinde Sağlık Bakanlıklarının da teşviki ile kişisel bakım ve hijyen konusu ele alınmış, antimikrobiyal özellikli sıvı sabunların, dezenfektan maddelerin tüm hastane, okul ve kamu dairelerinde kullanımı yaygınlaştırılmıştır.

Ülkemizdeki yıllık ayçiçeği ekimi yıllara göre değişmekle birlikte 650 950 bin ton civarındadır. Yağı ayrıldıktan sonra geri kalan küspe ve çerezlik tanelerin kabuklarının toplamı yaklaşık 550-850 bin ton civarındadır (T.C. Sanayi Ve Ticaret Bakanlığı, 2010). Atık olarak kabul edilen küspe ve kabukların %50'den fazlasının seluloz olduğu düşünülürse, ayçiçeğinin kullanılmayan kısımlarından önemli oranda seluloz eldesinin mümkün olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu bilgilerin ışığında çalışmamızda, Türkiye'de üretimi gerçekleşen ayçiçeğinin yağı alındıktan sonra geride kalan düşük ekonomik değere sahip atığının, çeşitli amaçlarla sanayide kullanılabilecek antimikrobiyal ve biyobozunur madde yapımında kullanılarak, değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Böylelikle elde edilen madde, kimya endüstrisinde kullanılmış olacaktır.

2. TEORİK KISIM

2.1 Ayçiçeği

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), günümüzün en önemli yağ bitkilerinden biridir (Süzer, 2013). Ayçiçeği yağı yemeklik kalitesi yönünden tercih edilen bitkisel yağlar arasında önemli bir yere sahiptir. Dolayısıyla Dünya’da birçok ülkede ekonomik düzeyde tarımı yapılmaktadır. Yurdumuzda da yıllara göre değişmekle beraber yaklaşık 550-600.000 hektar arasında ayçiçeği ekilmektedir. Türkiye’deki ayçiçeği ekiliş alanlarının %73’ ü Trakya-Marmara, %13’ ü İç Anadolu, %19’u Karadeniz, %3’ ü Ege ve %1’i Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerindedir. Türkiye’de ekilen yağlı tohumlar ve ayçiçeği bitkisinin yağlı tohumlar içindeki önemi aşağıdaki çizelgede görülmektedir (Tuik raporu, 2012).

Çizelge 2.1 : Yağlı tohumlar arasında ayçiçeği bitkisi

Yağlı tohumlar				
Yıllar	Ekilen alan		Üretim	
	Toplam	Ayçiçeği	Toplam	Ayçiçeği
2004	6 348 650	5 500 000	2 501 419	900 000
2005	6 437 730	5 660 000	2 421 338	975 000
2006	6 657 682	5 854 000	2 789 149	1 118 000
2007	6 314 526	5 546 778	2 352 383	854 407
2008	6 770 077	5 800 000	2 311 432	992 000
2009	7 022 475	5 840 000	2 396 044	1 057 125
2010	7 688 965	6 414 000	2 969 477	1 320 000
2011	7 742 481	6 557 000	3 227 588	1 335 000
2012	7 614 783	6 046 160	3 138 361	1 370 000

Ayçiçeği ülkemizde ve dünyada yağlık ve çerezlik olmak üzere iki tip olarak yetiştirilir. Ancak bahçelerde süs bitkisi ve kesme çiçek olarak değerlendirilen tipleri de mevcuttur. Yağlık olmayan tipler çerezlik olarak adlandırılır ve tohumları çizgili ve iri, yağlık tiplere göre kalın kabuklu olup, kabuğu çabuk ayrılmaya müsaittir. Bu tiplerden iri olmayanlar ise, kuşyemi olarak değerlendirilmektedir. Yağlık ayçiçeği tipleri ise, genelde siyah renkli, ince kabuklu ve linoleik ve oleik yağ asitleri içeren tiplerdir. Kabuksuz yani ayçiçeği tohumu küspesinde, yağın alınmasına ait yöntem ve kaliteye göre, %30-40 kadar protein, %1,5-9 kadar yağ ve %15-27 kadar selüloz vardır (TSE316, Ayçiçeği tohumu küspesi).

Tarih boyunca ayçiçeğinin yağı ile ilgilenilmiş, küspe ve diğer ürünler yan ürün olarak kabul edilmiş ve daha az önemsenmiştir (Sredanovic ve arkadaşları, 2005). Yağı alındıktan sonra büyük miktarlarda oluşan ayçiçeği küspesi ve kabuğu önemli bir endüstriyel atıktır.

2.1.1 Ayçiçeği kabuğu

Ayçiçeği kabuğu her bitkide olduğu gibi, taneyi kaplar ve dış etmenlerden korur (Url-1). Yağlık ayçiçeği tanesinin toplam ağırlığın yaklaşık % 21-30'u kabuktur. Çerezlik çeşitlerde bu oran % 36-50 arasında değişir. Ancak çerezlik ve yağlık tiplerin kimyasal kompozisyonları arasında, çerezliklerin biraz daha fazla lif içermesi hariç, belirgin bir fark yoktur. Ayçiçeğinde tanedeki kabuk ve yağ oranı arasındaki ters bir korelasyon söz konusudur. Tanedeki yağ oranı arttıkça kabuk oranı düşer. Ayçiçeği tohum kabuğunun içeriğinde %40-50 selüloz, %13-16 lignin, %3-9 protein ve % 0,05-2 oranında yağ bulunur.

Ayçiçeğinden yağ çıkarıldıktan sonra atık olarak oluşan ayçiçeği kabuğu Ayçiçeği kabuğu sulu çözeltilerden organik boyaları uzaklaştırmak için sorbent olarak kullanılmaktadır. Örneğin, orange 16 reaktif boyasını uzaklaştırırken pH'nı, sorbent dozunun, boya konsantrasyonunun, sıcaklık ve zamanın etkisine bakılmış ve sulu çözeltilerden ve atık sulardan orange 16 boyasını uzaklaştırmak için kullanılacak ucuz bir sorbent olduğu gösterilmiştir (Suteu ve arkadaşları, 2011)

2.1.2 Ayçiçeği küspesi

Dünyadaki artan protein ihtiyacını karşılamak için, ayçiçeği küspesinden protein ve diğer besin maddelerinin dönüşümünün etkinliğini artırmak çok önemlidir

(Sredanovic ve arkadaşları, 2005). Ayçiçeği küspesinin gıda zinciri içinde güvenli ve verimli bir şekilde dönüşümü sağlanabilir.

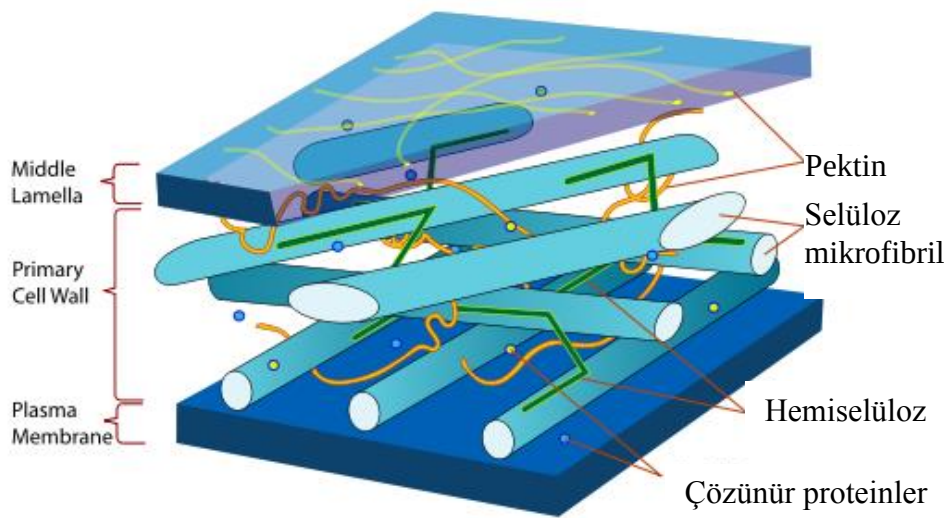
Ayçiçeği küspesinin en büyük dezavantajı fiber yapısının fazla olmasıdır. Kabukların tohumdan ayrılması ayçiçeği proteininin ticari ve besin değerini artırmaktadır. Fakat kabukların küspeden başarılı bir şekilde ayrılması çok kolay değildir ve ayçiçeği küspesinin değerini artırmak için enzimler kullanılmaktadır.

2.1.3 Ayçiçeği gövdesi

Ayçiçeği gövdesi krom (VI)'nın sulu sistemlerden ayrılması için kullanılmaktadır (Jain ve arkadaşları, 2008). Kaynatılmış ve formaldehit ile muamele edilmiş ayçiçeği gövdelerinin adsorban miktarının 4g/L ve pH'ın 2 olduğu sistemlerde adsorban verimliliği %81,7 ve %76,5 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar dahilinde ayçiçeği gövdesi krom (VI) için uygun ve ucuz bir adsorban olarak kullanılabilir.

2.2 Selüloz

Selüloz doğada en fazla bulunan yenilenebilir polisakkarittir (Luo ve Zhang, 2010). Selüloz sağlam, biyoyumlu, hidrofilik ve biyobozunur yapıya sahiptir. Selüloz, hemiselüloz ve lignin ile beraber yüksek bitkilerin hücre duvarının ana bileşenidir. Selüloz ve hemiselüloz doğada en bol bulunan yenilenebilir kaynaklardır ve ligninle beraber bitki atığının kuru ağırlığının %95'ini oluştururlar.



Şekil 2.1 : Bitki hücre duvarının yapısı

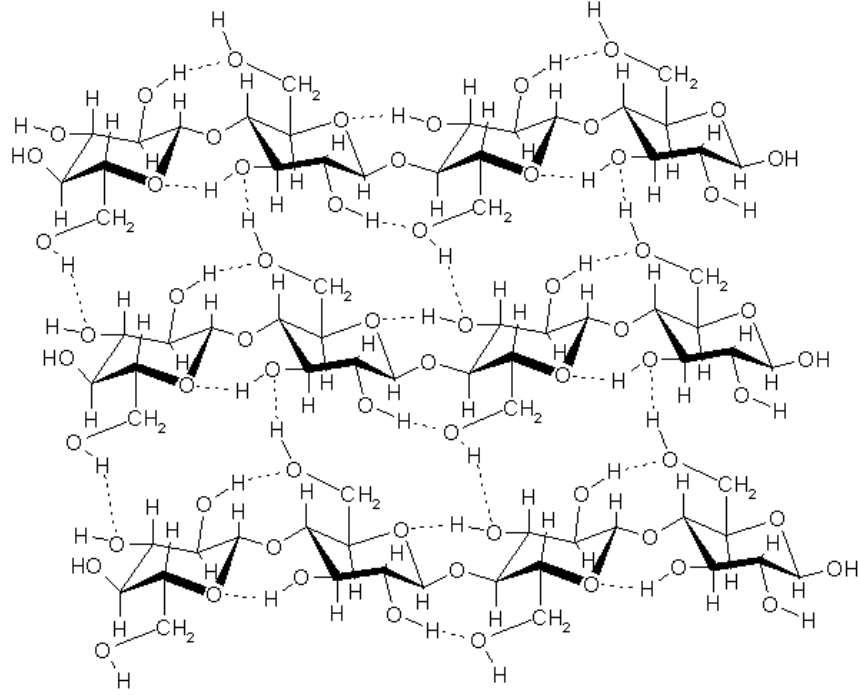
Yüksek bitkilerin odunsu dokularının hücre duvarları (özellikle sert odunların ve yumuşak odunların) mükemmel malzeme özelliklerine sahip olan kompozitlerdir (Şekil 2.1).

Selüloz bitkisel hücre bünyesinde birlikte bulunduğu diğer bileşenlerden (hemiselüloz ve lignin) uzun zincir molekülüne ve kristal yapıya sahip olmasıyla belirgin bir şekilde ayrılmaktadır (Gümüşkaya, 2005). Selülozun sahip olduğu kristal yapı özellikleri elde edildiği orijine bağlı olmakla birlikte, liflerin fiziksel, mekaniksel ve kimyasal özellikleri üzerinde belirleyici bir role sahiptir. Selülozun kristal yapısı sadece orijinine bağlı olarak değil izole edilmesinde kullanılan kimyasal işlemlere de bağlı olarak değişebilmektedir.

Uzun molekül zincirine sahip polimerlerin stabilizasyonu ve düzenli bir yapıya sahip olmaları birbiriyle bağ yapabilen fonksiyonel grupların varlığıyla ilişkilidir. Selüloz zincirinde bu işlevi yerine getiren yani glukoz ünitelerini bir arada tutan üç adet hidroksil (-OH) grubu bulunmaktadır. Bu -OH grupları sadece kristal yapının meydana gelmesinde etkili olmayıp aynı zamanda selülozun kimyasal ve fiziksel özelliklerini ortaya koymakta da etkilidir. Hidroksil grupları O-, N-, ve S- grupları ile hidrojen bağ yardımcıyla ilişki kurabilme yeteneğine sahiptir. Gerek doğal olsun gerekse sentetik polimerlerin kristal yapısının oluşumunda hidrojen bağının önemi çok büyüktür (Fenger ve Wegener, 1989). Selülozun kimyasal özellikleri hemen hemen sadece fonksiyonel gruplarca belirlenmektedir. Bu gruplar genellikle selülozun tüm kimyasal reaksiyonlarına katılmaktadır. Selüloz molekülü bünyesinde fonksiyonel gruplar her glukozanhidrit ünitesindeki 3 alkolik hidroksil grubuyla, üniteler arasındaki oksijen köprüleridir. Hidroksil gruplarının biri primer (C6-OH) ikisi sekonder (C2-OH ve C3-OH) karakterlidir. Bu hidroksil gruplarının asiditesi $C6-OH < C3-OH < C2-OH$ şeklinde artar. Bunun yanında C2-OH grubu iyonize olursa bu durumda 3 nolu karbona bağlı -OH grubunun asiditesi düşer ve C6-OH pozisyonunda da asidite artabilir. Genel olarak, 2 nolu karbona bağlı OH grubu daha fazla asitlik gösterdiğinden esterleştirme reaksiyonları için daha fazla reaktivite gösterir. 6 nolu karbona bağlı OH grubu ise eterleşme reaksiyonları için önemlidir (Ekman ve ark., 1986).

Selüloz, glikoz moleküllerinin 1 ve 4 karbonlarının β -D glikoz biriminin glikozit bağı ile bağlanması sonucu meydana gelmiş kristal polimeridir, yapısı rijittir ve

bozunması için sert reaksiyon koşulları gerektirir. (Şekil 2.2.). Bitkilere esnekliğini veren, yapılarındaki bu selülozdur.

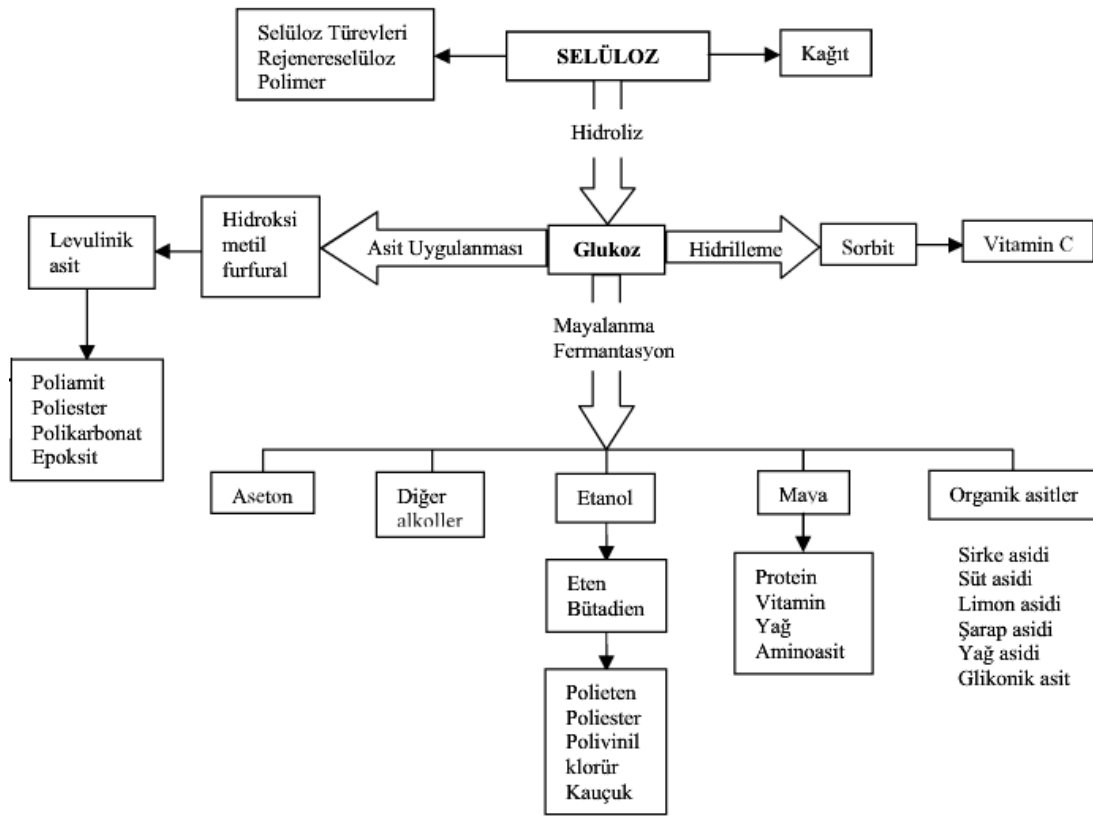


Şekil 2.2: Selüloz

Selüloz molekülleri ($C_6H_{10}O_5$)n formülüne sahip anhidroglukoz birimlerinin uç uca eklenmesiyle oluşmuştur. Bu birimlerin sayısına polimerizasyon derecesi (DP) denir ve birbirlerine 1,4- β -glukozidik bağlarla bağlanmış olup, her iki birimden birisi diğerine göre 180° lik bir dönüşle bağlanmıştır. Bunun sonucu olarak da gerilimsiz lineer bir yapı ortaya çıkmaktadır.

Bütün doğal polisakkaritler içinde, selüloz dünyada en fazla bulunan polisakkarit olduğu için gelecekte birincil kimyasal kaynak olarak kullanılma ihtimalini doğurmaktadır (Song ve arkadaşları, 2010).

Selüloz kimya sektöründe çok fazla alanda kullanılmaktadır. Şekil 2.3'te selülozun kullanım alanları görülmektedir (Fengel ve Wegener, 1989).



Şekil 2.3: Selülozun endüstrideki kullanım alanları

Selüloz ve türevleri endüstride geniş kullanım alanına sahip önemli maddelerdir. Selüloz, türevlerine dönüşürken hidroksil grupları reaksiyona girer. Böylelikle inorganik ve organik asitlerle esterleri, bazı alkollerle eterleri, bazılar ile alkolatları ve asitlerle oksidasyon ürünlerini oluşturdukları gibi halojenürler, aminler ve bazı komplekslerle de reaksiyona girerler (Fengel ve Wegener, 1989). Ayrıca selülozun katyonize edilmesi ile çevre kirliliğine yol açan organik maddelerin temizlenmesinde kullanılan adsorbanlar elde edilmiştir (Wang ve ark., 2009). Katyonik selüloz türevleri protein bazlı ilaç taşınımı sistemlerinde de kullanılmaktadır (Kazlauskø, 2009).

2.2.1 Karboksimetil selüloz

Polisakkaritlerin karboksimetilasyonu çok geniş çaplı çalışılan bir konudur; çünkü kolay bir reaksiyondur ve çıkan ürünler gelecek vaat eden özelliklere sahiptir (Heinze, 2005).

Karboksimetil selüloz ilk olarak 1918 tarihinde sentezlenmiştir ancak 1920'lerin başında IG Farbenindustrie AG tarafından ticari olarak üretilmiştir (Balser ve ark., 1986). Bu tarihten bu yana üretim teknolojisinde, ürün kalitesinde ve ürün etkinliğinde kayda değer gelişmeler olmuştur. Günümüzde farklı kalitedeki karboksimetil selüloz insan yaşamında ve endüstriyel alanda çok fazla uygulama alanı bulmaktadır (Heinze, 2005).

Başlıca gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerinde viskoziteyi geliştirici, emülsiyon stabilizatörü, kıvam artırıcı ve tekstürü iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır.

Suda çözünen tüm hidrokolloidler içinde en çok yönlü fonksiyona sahip olan karboksimetil selüloz, gıda endüstrisinde de yaygın bir şekilde kullanılmakta, katıldığı formülasyonların yapısını, hidrofilik özelliklerini ve fonksiyonel kalitesini olumlu yönde etkileyen önemli bir gıda katkı maddesidir.

Gıda endüstrisinde karboksimetil selülozün sodyum tuzu kullanılırken, gıda dışı özel kullanımlar için K, Ca, NH₄ gibi diğer tuzları da üretilmektedir

Sentetik, suda çözünebilir bir selüloz eteri türevidir olan sodyum karboksimetil selüloz veya selüloz gam, basit bir kimyasal reaksiyon ile üretilmektedir. Bu reaksiyonda odun veya pamuk orjinli selüloz, sodyum hidroksit çözeltisi ile muamele edilmekte ve daha sonra elde edilen alkali selüloz, monokloroasetat veya monokloroasetik asit ile reaksiyona sokulmaktadır. Söz konusu reaksiyon tamamlandıktan sonra elde edilen ürün nötralize edilmekte ve kurutulmaktadır. Gıda saflığında karboksimetil selüloz elde edilmesi sırasında ise bu işlemlere ek olarak, alkol-su karışımı ile yıkanarak tuzlar uzaklaştırılmaktadır.

Reaksiyon sonucunda elde edilen karboksimetil selülozün çözelti özellikleri ve suda çözünürlüğü; substitüsyon derecesine (DS) ve polimerdeki karboksimetil-gruplarının düzenli bir şekilde bağlanmasına bağlı olmaktadır. Genel olarak; 0.3 veya daha az bir DS değerine sahip olan karboksimetil selüloz, alkali içinde çözünmekte, ancak suda çözünmemektedir. Suda çözünebilirlik için 0.45 veya daha yukarı DS değerleri istenmektedir. Ticari olarak üretilen karboksimetil selülozün DS değeri 0.4 ile 1.2 arasında değişirken, gıda saflığında üretilen türünün ise DS değerinin 0.95 ile sınırlı tutulduğu belirtilmektedir.

İyonlanmış karboksil grupları nedeniyle negatif yüklü, uzun ve bükülmez özellikteki moleküllerden oluştuğu için moleküller çözeltide birbirini iter. Bu nedenle

karboksimetil selüloz çözeltileri, stabil yapıda olup ve yüksek viskoziteye sahiptir. Çift değerli katyonlar, karboksimetil selülozu çöktürmekte ve üç değerli katyonların varlığında jel oluşmaktadır. Protein dispersiyonları (özellikle izoelektrik noktalarına yakın pH değerlerinde) ve yumurta beyazı (kurutma ve dondurma işlemlerinde) karboksimetil selüloz kullanımı ile stabilize edilebilmektedir. Süt ürünlerinde ise kazein presipitasyonuna karşı direnç sağlamaktadır.

pH 5-10 arası stabil olup, pH 5'in altında viskozitesi ve stabilitesi azalmakta, bununla beraber asit stabil olan karboksimetil selülozlarda vardır.

Karboksimetil selüloz, ayrıca mikrokristalin selüloza katılarak onun çözünürlüğünü geliştirmekte ve onun özelliklerini değiştirmektedir.

Kokusuz, toksik olmayan ve biyolojik olarak indirgenebilen bir yapıya sahip olan karboksimetil selüloz; çikolatalı içecekler, meyveli yoğurtlar gibi süt ürünlerinde; donmuş balıklar, parmak patates ve patates cipsi gibi donmuş ve kızartılmış ürünlerde; tüm çorba türleri, baharatlı sos, soya sosu, ketçapta; kek ve kek miskleri, tortilla, pasta veya kek üzerine sürülen kremalarda; mayonez gibi emülsifiye soslarda; yumuşak içecek, instant içecek, diyet ve spor içeceklerinde formülasyonlara katılmaktadır.

Diğer önemli bir kullanım alanları diş macunları, Krem ve losyon gibi kozmetik ürünleri ile toz ve sıvı deterjanlardır. Bu ürünlerde bağlayıcı, kıvam artırıcı ve stabilizatör olarak uygulama alanı bulmaktadır. CMC, deterjan, boya, duvar kağıdı tutkalı, kağıt ve mukavva, tekstil, petrol sondaj çamurları, seramik, yiyecek maddeleri, kozmetik ve eczacılık endüstrileri gibi geniş bir alanda stabilizör olarak kullanılmaktadır.

2.3 Antimikrobiyalite

Günümüzde yaşam koşullarının değişmesi ve bireylerin zamanlarının çoğunu ev dışında geçirmeleri, değişen beslenme alışkanlıkları, toplu taşımanın yaygın olarak kullanılması ve uluslararası seyahat olanaklarının artması gibi etmenler, mikro organizmaların toplu yaşam alanlarında kolayca bireyden bireye geçişine ve dolayısıyla bulaşıcı hastalıkların artmasına neden olmaktadır.

Mikroorganizmalar mikrometre boyutunda basit metabolizmalı canlılardır. Mikroorganizma miktarı belli bir oranın üzerine çıktığında, kişisel ve çevresel

özelliklere bağılı olarak değişik şiddetlerde bulaşıcı hastalıklara, hatta salgınlara (Epidemi) yol açabilmektedir. Bu nedenle, yaşadığımız mekanlarda, çalıştığımız ortamlarda ve kullandığımız ürünlerde hijyenin sağlanması, yani çevremizin hastalık oluşturabilecek mikroorganizmalardan arındırılması günlük yaşamımızda giderek önem kazanmaktadır.

Antimikrobiyal zellik fiziksel ve kimyasal yollarla sağlanabilir. Fiziksel yollara desikasyon, filtrasyon, dondurma, ısıtma, nemli ısıl muamele, otoklavlama, pastörizasyon, kuru usu muamelesi, iyonlaştırıcı radyasyon ve UV radyasyonu örnek olarak verilebilir.

Kimyasal antimikrobiyaller ise alkoller, aldehytler, halojenler, ağır metaller, organik asitler, oksidasyon ajanları, fenoller, kuarterner amonyum bileşikleri, yüzey aktif maddeler ve çeşitli gazlardır.

Antimikrobiyal maddelerin bakteriler üzerinde farklı etkileri vardır:

- Bakteri membranının fonksiyonunu bozanlar
- Proteinleri Denatüre Edenler
- Enzim Aktivitesini Bozanlar
- Nükleer Sistemi Bozanlar

Bakteri Membranlarının Fonksiyonunu Bozanlar: Dezenfektanlar, genellikle, yüzey gerilimini düşüren ve ozmotik basıncı yükselten bir karakterde olduklarından, hücre membranlarının yarı geçirgen özelliğinin bozulmasına, beslenmesinin aksamasına, metabolizmanın durmasına ve ölümlere neden olurlar.

Mikropların hipertonic bir ortamda bulunması, içerden dışarı suyun çıkmasına yol açar ve mikroplarda dehidrasyon meydana gelir. Bu durum metabolizmanın bozulmasına sebep olur ve bakteriyi öldürür (plazmoliz). Diğer taraftan da, yüzey geriliminin düşmesi kimyasal maddelerin bakteri yüzeyi ile direk temasa gelmesini kolaylaştırır ve ortamda bulunan maddelerin bakteri yüzeyinde toplanmasına neden olur. Bu durum da, beslenmeyi bozar ve yine bakteriyi öldürür. Bu etkilerin yan ısıra, bazı dezenfektanlar bakteri membranlarında zedelenmeler ve tahribat yaparak membranların bütünlüğünü bozarlar. Aktif ve pasif transport sistemi önemli derecede aksar. Bazıları da hücre duvarını parçalayarak protoplast ve sferoplastların meydana gelmesine neden olur ve sonra bunları da tahrip ederler.

Bu tarzda etkileyen kimyasal maddeler arasında fenol ve fenol bileşikleri, sentetik deterjanlar, organik solventler bulunmaktadır.

Proteinleri Denatüre Edenler: Bazı kimyasal maddeler, mikropların protein karakterinde olan yapısını koagule veya denatüre ederler. Protein özelliğinde olan enzimler, bu tarzdaki kimyasal ajanlardan çok etkilenirler. Enzimlerin denatüre olması bakterinin ölümüne neden olur. Böyle etkileyen kimyasal maddeler arasında asitler ve alkali'ler başta gelirler.

Enzim Aktivitesini Bozanlar: Kimyasal maddelerden bir kısmı, mikroorganizmalardaki enzimlere ve bunların katalitik etkiye sahip olan bölgelerine veya substanlarla birleşen fonksiyonel gruplarına (--SH, amid, imidazol, indol, v.s.) karşı affiniteleri vardır ve bunlarla özel bağlantılar kurarlar. Böyle durumlarda enzimin kimyasal yapısı, biyokimyasal karakteri ve aktivitesi çok fazla değişikliğe uğrar ve inaktive olarak çalışamaz duruma gelir. Örn. siyanidler, sitokrom oksidase'ye; floridler, glikolize; üç değerli arsenik bileşikler karboksilik asit siklusuna ve dinitrofenol oksidatif fosforilasyon'a mani olurlar. Formaldehid, anyonik deterjanlar ve asit boyalar enzimin amino ve imidazol gruplarıyla, kationik deterjanlar, bazik boyalar, enzimlerin asitik grupları ile, sublime de sulfidril grubu ile özel bağlar kurarak enzimlerin aktivitesini bozarlar.

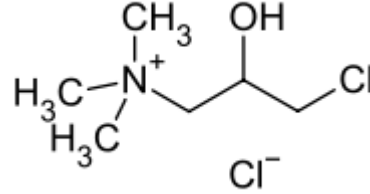
Enzim aktivitesine mani olan maddeler arasında ağır metaller, tuzlar, oksidan ve alkilleyen ajanlar vardır.

Nukleer Sistemi Bozanlar: Boyalar, mikroorganizmaların DNA'sı ile birleşikler oluşturarak bunun aktivitesine, replikasyonuna ve protein sentezine mani olurlar. Bazik boyalar, asit veya nötr boyalardan daha etkili olup, mikrolardaki nukleik asit yapısında bulunan fosforik asit grubu ile reaksiyon verirler. Bunun sonucu olarak ta DNA'nın replikasyonu ve protein sentezleri durur ve bakteriler ölürler. Boyaların mikrobisid ve fungisid etkileri yanı sıra, mutagenik bir özellik de taşırlar.

2.3.1 Kuarterner amonyum tuzları

Birçok kuarter katyonik yüzey aktif maddeler koruyucu yüzey filmi oluştururlar, dolayısı ile bakteriostatik, mikrop öldürücü, küf oluşumunu engelleyici ve algicidal (nemli yüzeyde büyüyen yosun gibi bitkileri öldürme etkili kimyasal madde) aktivitelidir (Atıcı, 1991). Katyonik grubun miktarının antimikrobiyal etkinlik açısından önemi büyüktür (Atıcı, 1994). Eğer katyonik grup miktarı yetersizse,

mikroplar çok miktarda olacaktır. Fakat çoğalma, antimikrobiyal maddenin olmadığı test çözeltisine göre daha yavaş, daha çok katyonik grubun olduğu çözeltiye göre ise daha da yavaş olacaktır. Özet olarak katyonik grup miktarının az ya da çok olması ya tüm mikropların ölümüne (sterilizasyon) ya da bozulmaya neden olur.



Şekil 2.4: Kuarterner Amonyum Bileşiği (CHPTAC: 3-kloro-2-hidroksipropil trimetilamonyum klorür)

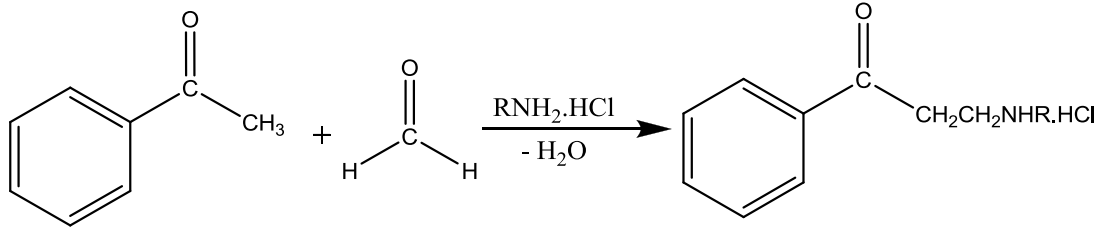
Kuarterner amonyum bileşikleri (Şekil 2.4.) iyi antibakteriyel özelliği, düşük toksisitesi, cilt tahrişine neden olmaması, aşındırıcı etkisinin düşük olması, çevresel kararlılığının iyi olması ve hücre membranına nüfuzunun mükemmel olması nedenleriyle en fazla kullanılan düşük moleküler ağırlıklı antibakteriyel ajanlardır (Roy ve ark., 2008). Kuarterner amonyum gruplu katyonik polimerler ise, geliştirilmiş antibakteriyel aktivitesi, düşürülmüş atık zehirliliği, memelilerde düşük doku tahrişi, verimlilik ve seçiciliğinin yüksekliği ve ömrünün uzunluğu sebepleriyle düşük moleküler ağırlıklı kuarterner amonyum bileşiklerine göre daha avantajlıdır (Block, 1991; Gabrielska ve ark., 1994).

2.3.1.1 Mannich reaksiyonu ile kuarter amonyum tuzu elde etme

Mannich reaksiyonu, özellikle ilaç ve doğal ürünlerin sentezinde ara ürün olarak kullanılan β -amino karbonil bileşiklerinin elde edilmesinde kullanılan kuvvetli sentetik bir metottur (Rafiee, 2010; Kumar, 2008).

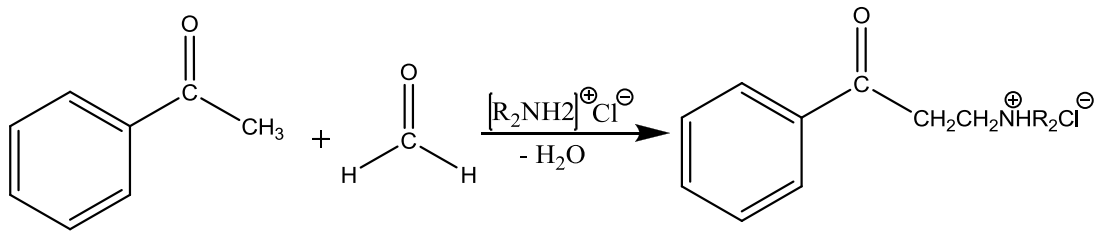
Genel olarak Mannich reaksiyonu, amonyak, primer amin veya sekonder aminin hidroklorürü ile formaldehit ve en az bir aktif hidrojen içeren bileşiklerin kondenzasyonundan meydana gelir. Reaksiyonun temel özelliği, bir aminometil veya sübstitüye aminometil grup ile aktif hidrojen atomunun yer değiştirmesidir. Reaksiyon asitler ve bazlar tarafından katalize edilir. Reaksiyon sonunda elde edilen ürün Mannich bazıdır (Göen, 2001; Ünlü, 2009).

Kondenzasyon, bir primer amin veya bir tuz ile yapılırsa ürün sekonder amindir (2.10).



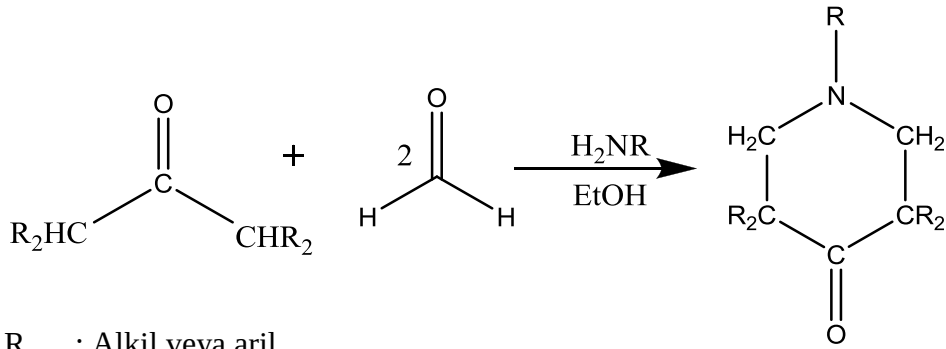
(2.10)

Sekonder amin ise tersiyer amin verecek şekilde reaksiyona girer (2.11).



(2.11)

Aynı molekülde farklı yerlerde aktif hidrojenler varsa birincil amin veya amonyakla yürütülen Mannich tepkimeleri ile halkalaşmış Mannich bazları elde edilir (2.12) (İstanbulu, 2006).

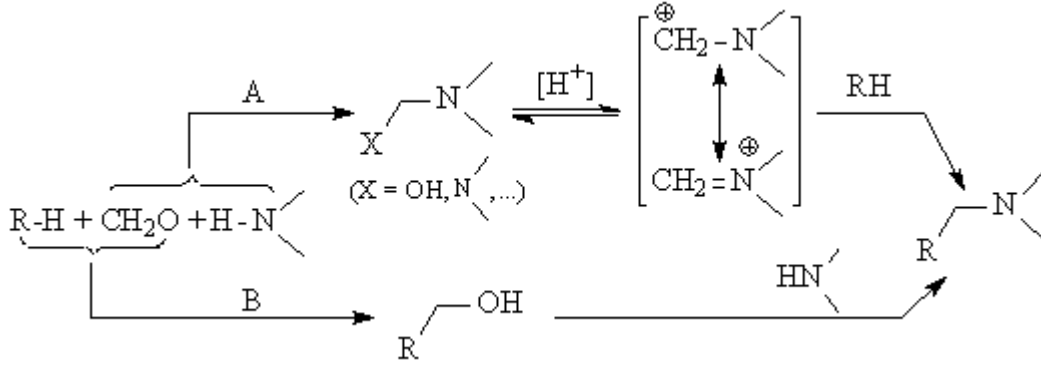


R : Alkil veya aril

R₂ : Hidrojen veya alkil

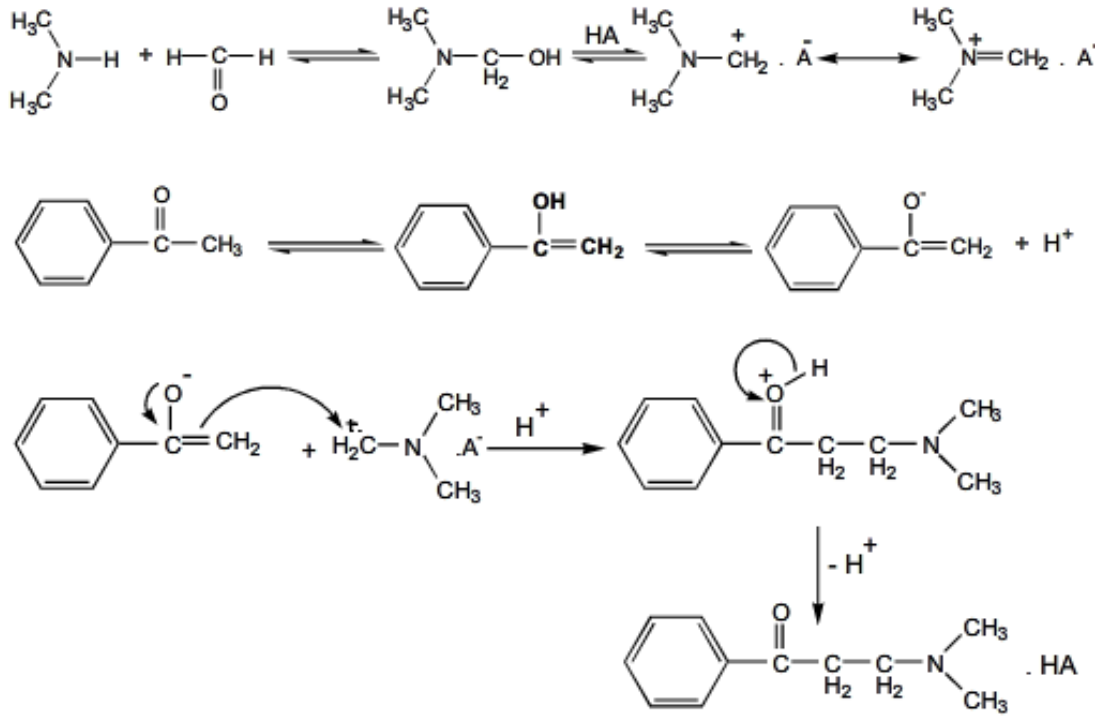
(2.12)

Mannich reaksiyonu mekanizması için çeşitli öneriler vardır. Son çalışmalar Mannich reaksiyonunun Şekil 2.5'te gösterilen iki yoldan birinden yürüdüğünü ve bu durumun reaktanların doğasıyla, reaksiyonun yürüyeceği yönü belirleyen reaksiyon koşullarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.5: Mannich reaksiyon mekanizmasının özeti

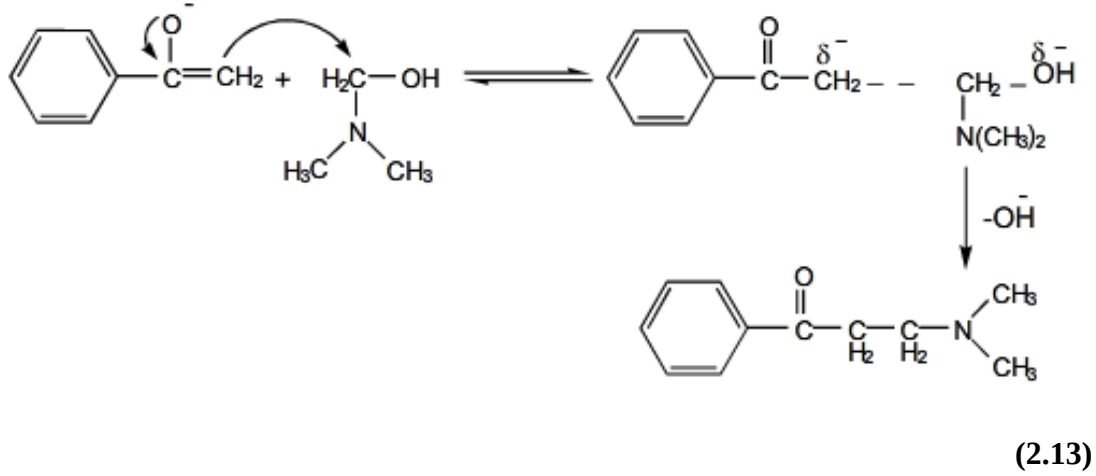
Bunlardan biri bir aldehite amonyak ya da alkil aminlerin katılıp R_2NCH_2OH şeklinde bir metilol katılma ürünü vermesiyle başlar. Bu katılma ürünü su kaybeder ve iminyum tuzu oluşur. Son basamakta iminyum tuzu, karbonil bileşiği gibi aktif hidrojen içeren bir bileşiğin bazik ortamda oluşturduğu enolat iyonu ile reaksiyon verir. Mekanizmanın yürüyüşü daha ayrıntılı olarak (2.12)'de verilmiştir.



(2.12)

Bir diğer yol ise aktif hidrojen taşıyan bileşik ile formaldehitten metilol oluşumudur. Bu yol mümkün gibi gözükme de hidroksi metil türevleri ve alkil aminlerle başarılı reaksiyonlar yapılmış ve Mannich bazı sentezlenmiştir (Ünlü, 2009). Ayrıca bu bazik koşullardaki mekanizma, iminyum iyonu yerine sadece dimetil aminometanol ara

ürünündeki hidroksilin, oluşan asetofenon karbanyonu ile yer değiştirmesi şeklinde de olabilir. Tepkime mekanizması SN2'dir. Mekanizması ayrıntılı olarak (2.13)'de verilmiştir (İstanbulu, 2006).



2.3.2 Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı in-vitro etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir (Demirpek, 2012). Antimikrobiyal duyarlılığı belirlemek için difüzyon ve dilüsyon testleri uygulanır.

Difüzyon testleri “disk difüzyon testi” ve “E-test” olarak ikiye ayrılır. Disk difüzyon testi, rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığının saptanmasında en sık olarak kullanılan yöntem disk difüzyon testleridir. Ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem Kirby-Bauer tarafından geliştirilmiştir ve bu isimlerle de anılmaktadır. Bu test, kâğıt disklere emdirilen antibiyotigin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. E- testte minimum inhibitor konsantrasyonu bulunur. Minimum inhibitor konsantrasyonu; bir mikroorganizmanın gözle görülebilir olarak üremesinin inhibe olduğu en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonudur.

Dilüsyon testleri, bir antimikrobiyal ajanın bir mikroorganizmanın üremesini inhibe etmek veya öldürmek için gerekli olan minimum konsantrasyonunu belirlemek için uygulanır. Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olarak ikiye ayrılır. Tüp dilüsyon yönteminde bakteri üremesini gösteren bulanıklık yönünden incelenir. Bakterinin üremesini önleyen, gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük ilaç konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) olarak değerlendirilir..

Agar dilüsyon yönteminin prensipleri tüp dilüsyon yöntemiyle aynıdır. Tek fark, agar dilüsyon yönteminde antibiyotik sulandırımının agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her plakta antibiyotigin farklı konsantrasyonları bulunur.

3. DENEYSEL KISIM

3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Ayçiçeği atığı	:Trakya Bölgesi'nde yetişen çeşitli ayçiçeklerinin yağı alındıktan sonra kalan kabuklu küspesi.
Sodyum hidroksit	: NaOH, Merck
Hidrojen peroksit	: H ₂ O ₂ , Tekkim, %50'lik sulu çözelti
İzopropil alkol	: IPA, Teknik
Toluen	: Merck
Etanol	: EtOH, Teknik
Hidroklorik asit	: HCl, Merck, %37'lik sulu çözelti
Asetik asit	: Riedel de Haen
Nitrik asit	: HNO ₃ , Merck, %65'lik sulu çözelti
Metanol	: MeOH, Atabay
(3-kloro-2-hidroksipropil)trimetilamonyum klorür	:CHPTAC, Aldrich, %60'lık sulu çözelti
Dimetilasetamid	: DMAC, Merck
Lityum klorür	: LiCl, Teknik
Potasyum sülfat	: K ₂ SO ₄ , Merck
Civa (II) oksit	: HgO, Merck
Sodyum tiyosülfat	: Na ₂ S ₂ O ₃ , Teknik
Sülfürik asit	: H ₂ SO ₄ , Merck, %98'lik sulu çözelti
Borik asit	: H ₃ BO ₃ , Merck
Asitanhidrit	: Merck
Piridin	: Merck
Kloroform	: Merck
Brom fenol mavisi	: Merck
Metilen mavisi	: Merck

3.2 Kullanılan Cihaz Ve Yöntemler

FT-IR Spektrofotometresi	: FT-IR spektrumları, Thermo Nicolet 380 cihazında %1'lik KBr diskleri ile kaydedilmiş ve dalga sayısı cm^{-1} cinsinden verilmiştir.
NMR Spektroskopisi	: ^1H -NMR spektrumları, Bruker 250 MHz NMR Spektrometresi ile kaydedilmiştir ve D_2O ortamında çekilmiştir.
Freeze Dryer	: Chirist, ALFA 1-4 model Laboratuvar tipi Lyofilizatör nem tutan numunelerdeki nemi uzaklaştırmada kullanılmıştır.
Santrifüj	: Centurion Scientific Ltd. ile katı partiküller çöktürülmüştür.
Termal kontrollü manyetik karıştırıcı	: AGE 10.0164, VELP Scientifica srl. ile stabil şartlarda reaksiyon kurulmuştur.
Vakum Etüvü	: Shel-Lab, ürünlerdeki nemi uzaklaştırmada kullanılmıştır.
Etüv	: Heraeus. Maddeleri kurutmada kullanılmıştır.
Ultrasonik banyo	: Bandelin Sonorex ile reaksiyon kurulmuştur.
pH metre	: WTW Series Inolab pH 720. Çözeltilerin pH ayarının yapılmasında kullanılmıştır.

3.3 Ayçiçeği Atığından Selüloz Eldesi

3.3.1 Kullanılan atığa uygulanan ön işlemler

Çalışmada kullanılan ayçiçeği atığı öğütülerek tanecik boyutu 50 meşe getirildi ve homojenize edildi. Homojen atığa iki aşamalı ön işlemler uygulandı:

1. Yağ ve vaksların ayrılması: Soxhlet ekstraktöründe 6 saat 2:1 oranında toluen:etanol çözücüsü ile ekstrakte edildi. Açık havada kurumaya bırakıldı (ASTM, 2001).

2. Proteinlerin ayrılması: Yağ ve vakslarından ayrılmış atık pH'ı 12 olan NaOH çözeltisi içinde, 50-70°C'de, 40-150 dakika boyunca reaksiyona sokuldu (Ayllon-Meixueiro, 2000). Süzme sonucunda ele geçen katı madde 60°C'de 12 saat kurutuldu.

Sonraki reaksiyonlarda bu aşamalardan elde edilen ayçiçeği atığı kullanıldı.

3.3.2 Selülozun Ayçiçeği Atığından Alkali Peroksit ile Ekstraksiyonu

250 ml'lik cam balonun içine belirli miktarda kabuklu küspe, su ve 2 N NaOH çözeltisi koyuldu ve geri soğutucu ile 60-80°C'lik ultrasonik banyo içine yerleştirildi. Geri soğutuculu balon bir saat sonra 60-80°C'deki manyetik karıştırıcıya alındı ve 2 saat sonra belirli miktardaki H₂O₂ sisteme damlatıldı. 3-21 saat sonra reaksiyon sonlandırıldı ve nuçede süzüldü. Süzme sonucunda üst kısımda kalan çökelti %80 asetik asit ve %65'lik nitrik asit ile 120°C'de 15 dakika sabit hızda karıştırıldı ve soğuduktan sonra süzüldü. Çökelti önce etanol, sonra su ve ardından yine etanol ile yıkanarak saflaştırma işlemi tamamlandı ve 60°C'de 16 saat etüvde kurutuldu.

3.4 Kuarternize Selüloz Eldesi

3.4.1 Selülozun kuarternler amonyum tuzu ile kuarternizasyonu

Selüloz %18'lik NaOH çözeltisinde, oda sıcaklığında, 3 saat merseze edildi. Süzme sonucunda ele geçen alkali selüloz, belirli konsantrasyonlardaki NaOH çözeltisi içinde CHPTAC ile 0-50°C'de 1-24 saat reaksiyona sokuldu. Reaksiyon sonucunda oluşan katyonik selüloz pH=7 oluncaya dek saf su ile yıkandı ve süzüldü. 50°C'de 24 saat kurutuldu.

3.4.2 Karboksimetil selülozun kuarternler amonyum tuzu ile kuarternizasyonu

Karboksimetil selüloz elde etmek için 2,5 g selüloz 25°C sıcaklıkta 10 ml %15'lik NaOH ve 50 ml IPA çözeltisi içinde 60 dakika boyunca karıştırıldı. 55°C sıcaklıkta 3 g NaMCA eklenerek 3 saat boyunca karıştırıldı. %90'lık asetik asit ile çözelti nötrale edildi ve süzüldü. %70'lik etanol ile 4 defa yıkandı ve çökelti 60°C sıcaklıkta kurutuldu.

Elde edilen karboksimetil selüloz 3.4.1'de izlenen yol ile kuarternize edilmiştir.

3.4.3 Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternizasyonu

0,1 gram karboksimetil selüloz 3 mL suda çözüldü ve üzerine 2 mL %43,75'lik dimetil amin (DMA) çözeltisi eklendi. 40°C sıcaklıkta çözelti 15 dk boyunca karıştırıldıktan sonra 9 mL %37'lik formaldehit (FA) çözeltisi 10-15 dk içinde damla damla ilave edildi. 3 saat boyunca reaksiyon gerçekleştirildi. Reaksiyon bittikten sonra 2 mL DMA ilave edilip 10 dk daha karıştırıldıktan sonra reaksiyon karışımına 4 N HCl ilave edilerek ortam asidik (pH 2.0-2.5) yapıldı. Kalan çözelti 100 mL izopropil alkole dökülerek ürün elde edildi.

3.5 İyonik Yapı Tayini

Kuarternize selülozun katyonik özellikte olup olmadığı iyonik yapı tayini ile belirlendi.

Çizelge 3.1: İyonik yapı tayini

Aktivite	Renk		
	Metilen mavisi-sodyum rezorsinol ftalat	Metilen mavisi	Brom fenol mavisi
Anyonik	Koyu yeşil	Mavi	Renksiz
Katyonik	Mavi	Renksiz	Mavi
Noniyonik	Renksiz	Soluk mavi	Soluk mavi

İyonik yapı tayininde (Atıcı, 1991) 0,004 g bileşik 20 ml suda çözüldü. 0,1 ml 1N HCl ve 1 ml % 0,02 sulu metilen mavisi çözeltisi ile 10 ml test çözeltisi karıştırıldı. Diğer 10 ml test çözeltisine 0,1 ml N NaOH çözeltisi ve 1 ml % 0,002 sulu bromfenol mavisi çözeltisi ilave edildi. Her bir çözelti 5 ml kloroform ile ekstrakte edildi ve organik fazın rengi Çizelge 3.1'e göre incelenerek maddenin iyonik karakteri belirlendi.

3.6 Toplam Azot Miktarı Tayini

Azot miktarı mikro Kjeldahl yöntemi kullanılarak bulundu (Steyemark, 1961). Analiz edilecek örnekten 5-10 mg kadar alındı. Alınan örnek 0.65 g K₂SO₄ ve 0,016 g HgO katalizörlüğünde 1 ml derişik H₂SO₄ içinde parçalandı. Çözelti organik malzemenin kömürleşmesinden kaynaklanan renk gidene kadar kaynatıldı ve tüm azot amonyum tuzuna çevrildi. Elde edilen asidik çözelti 2 ml su ile seyreltildi, soğumaya bırakıldı. Parçalama balonundaki çözelti Pregl tipi damıtma balonuna alındı, üzerinde 5 ml Na₂S₂O₃:NaOH:H₂O (%5:%50:%45, g/g/g) karışım eklendi. Damıtma süresince damıtma balonundaki çözeltinin siyah olmasına dikkat edildi. Serbest kalan amonyak kızgın su buharı damıtmasıyla, içinde 5 ml %4'lük borik asit çözeltisi ve 3 damla belirteç karışımı (etanol içinde metil kırmızısı-metilen mavisi) bulunan toplama kabına aktarıldı. Ayarlı 0.01N HCl ile yapılan geri titrasyonla azot miktarı yüzde olarak 3.1'de verilen formüle göre bulundu.

$$\%N = \frac{V \cdot mN \cdot 100}{W} \quad (3.1)$$

W : Örnek Miktarı (mg)

mN: 1 ml 0.01 N HCl eşdeğer azot miktarı (0.14008 g)

V: Harcanan HCl miktarı (ml)

3.7 Maddelerin Molekül Ağırlığı Tayini

Selüloz ve katyonik selülozun molekül ağırlığının (M_v) bulunması için viskozite ölçümünü temel alan Mark-Houwink bağıntısından faydalanıldı. Bu amaçla 30°C'ye sabitlenmiş termostatik su banyosunun içinde Ubbelohde viskozimetresiyle ölçümler alındı. Selüloz ve katyonik selülozun 4x10⁻⁴ g/cm³ konsantrasyonda DMAC/%9LiCl ile çözülerek hazırlanan stok çözeltisi üzerinden seyreltilerek ölçümler alındı. İlk olarak çözücünün akış süreleri ölçüldü. Ardından stok çözeltinin akış süreleri ölçüldü ve bu işlem çözelti seyreltilerek devam ettirildi. Tüm akış sürelerinin ayrı ayrı ortalamaları alındı. Çözeltilerin akış süreleri ortalamasının (t), çözücünün akış süreleri ortalamasına (t₀) oranıyla relatif viskozite (η_r) hesaplandı (3.3). Relatif viskoziteden 1 çıkartılarak spesifik viskoziteye (η_{sp}) geçildi (3.4). Solomons-Ciuta eşitliği ile intristik viskozite ([η]) bulundu (3.5).

İntristik viskoziteden de Mark-Houwink denklemi kullanılarak molekül hesabı yapıldı (3.6).

$$\eta_r = t/t_0 \quad (3.3)$$

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 \quad (3.4)$$

$$[\eta] = \sqrt{2 \cdot (\eta_{sp} - \ln \eta_r)} / C \quad (3.5)$$

$$[\eta] = 1,278 \times 10^{-4} \cdot M_v^{1,19} \quad (3.6)$$

3.8 Antimikrobiyalite testi

Malzemenin antimikrobiyal özelliğinin incelenmesi için damlatma yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle göre selüloz ve katyonik selülozun *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal özellik gösterip gösterilmediğine bakıldı. Steril besiyerine, derişimi belli, konsantre bakteri ekimi yapıldı. 5-10 µl çözünmüş numuneler (selüloz ve katyonik selüloz) petri kabına damlatıldı. Uygun ortamda üremeye bırakılan bakterilerin damlatılan bölgelerde üreyip üremediği kontrol edildi. Damlatma yapılan bölgenin zonu, kontrol amacıyla ekilen diğer antibikrobiyal maddelerle (çamaşır suyu, antibiyotik) karşılaştırıldı.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada ayçiçeği atığından yüksek verimle elde edilen selülozun karboksimetilasyonu ve kuarternizasyonu sonucu oluşan modifiye ürünlerinin spektroskopik, kalitatif, kantitatif ve antimikrobiyal özellikleri incelenecek ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak ve değerlendirilecektir.

4.1 Ayçiçeği Atığından Selüloz Eldesi ve Karakterizasyonu

Trakya Bölgesi'nde yetişen çeşitli ayçiçeklerinin, yağı alındıktan sonra kalan kabuklu küspesi kullanılmıştır. Bu küspeden selülozu ekstrakte etmek için ön işlemler uygulanmış; küspe yağ, vaks ve proteinlerinden ayrılmıştır. Ardından alkali ve peroksit ile yapılan kimyasal ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri sonrası selüloz elde edilmiştir.

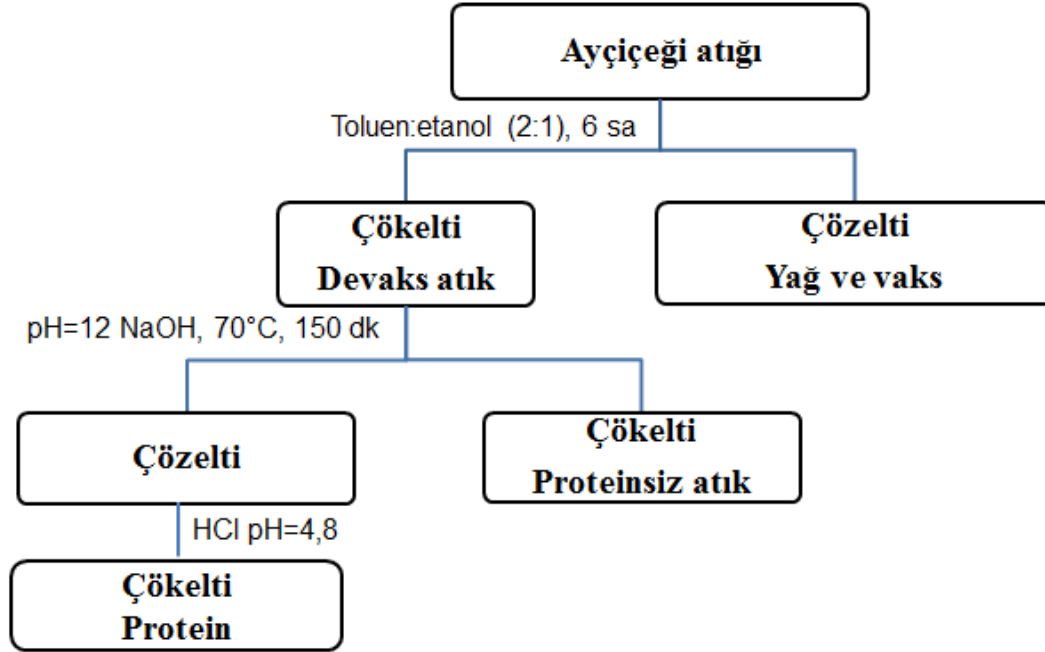
4.1.1 Ayçiçeği atığına uygulanan ön işlemler

Ayçiçeğinin fabrikada yağı alındıktan sonra küspesi ve kabuğu atık olarak oluşur. Bu atıktan selülozu ayırmak için öncelikle yağ ve vakslarından ayrılması gerekmektedir. Bu amaçla kabuklu küspe, soxhlet ekstraktöründe 2:1 oranında toluen:etanol çözücü karışımı ile 6 saat ekstrakte edilmiştir. Yağ ve vaksları ekstrakte etmede kullanılan diğer çözücü de hekzandır ve her iki çözücü ile yapılan ekstraksiyon sonucunda % 6-7 oranında madde çözünmüştür.

Yağ ve vakslarından ayrılan atığa uygulanan ikinci işlem ise alkali ortamda proteinleri uzaklaştırmaktır; çünkü ayçiçeği atığı %34 protein içermektedir. Ayçiçeği atığında bulunan proteinlerin yem sanayiinde önemli bir kullanım alanı olduğu için ve bir süre sonra atıkta küf oluşumuna sebebiyet verdiği için atıktan uzaklaştırılması gerekmektedir. Proteinleri ayırmak için, atık pH=12 olan NaOH çözeltisi içinde önce 50°C'de 40 dakika reaksiyona sokuldu ancak atıkta hala protein tespit edildiği için sıcaklık 70°C'ye, süre ise 150 dakikaya çıkarıldı. Süzme ile çökelti (selüloz, çözünmemiş hemiselüloz ve lignin) ve çözelti (çözünmüş proteinler) birbirinden ayrıldı. Çökelti selüloz ekstraksiyonu için 60°C'de 12 saat kurutuldu. % 30 civarında

maddenin çözeltide kaldığı görüldü. Çözelti pH'nın HCl ile 4,8'e düşürülmesi sonucunda proteinler çöktürüldü.

Şekil 4.1'de uygulanan işlemlerin akış şeması görülmektedir.



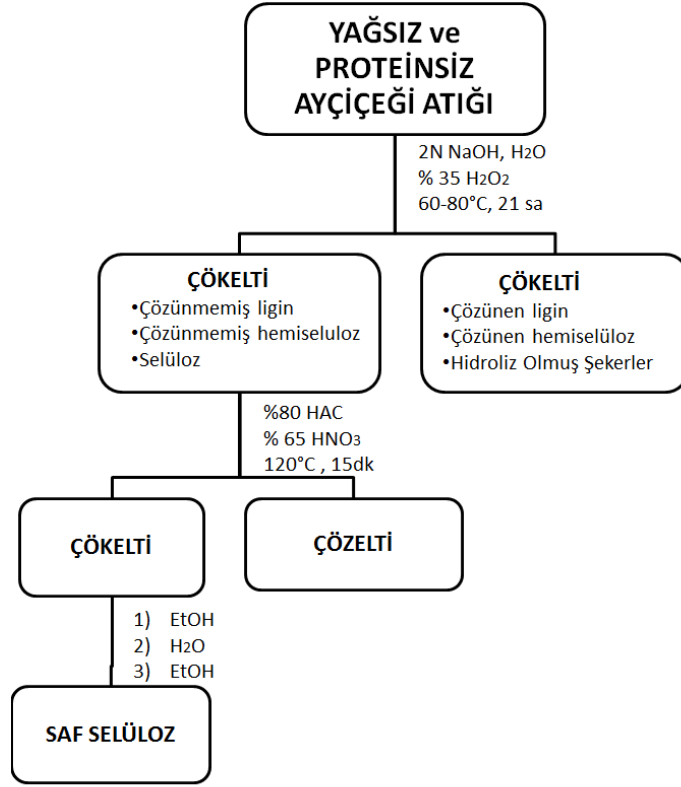
Şekil 4.1 : Ayçiçeği atığına uygulanan ön işlemler

4.1.2 Ayçiçeği atığından selüloz ekstraksiyonu

Ekstraksiyon yöntemi ile çözünen kısımlarından ayrılan ayçiçeği küspesinin selülozunu, hemiseluloz ve ligninden ayırmak için alkali peroksitli ortamda oksidasyon tercih edildi (Şekil 4.2).

Verimin artırılması ve selülozun saf olarak elde edilmesi amacıyla atık miktarına göre NaOH ve H₂O₂ oranları, sıcaklık ve zaman faktörleri değiştirilerek tekrarlandı. Reaksiyonlara ait veriler ve bu verilerin uygulanmasıyla elde edilen verimler Çizelge 4.1'de gösterilmiş, kayda değer olmayan denemeler tabloya eklenmemiştir.

Selüloz ekstraksiyonu için 0,5 mol/L 2 N NaOH ve 1,7 mol/L %35'lik H₂O₂ ile 60°C'de 24 saat sulu ortamda reaksiyon yapıldı (S22). Bu reaksiyon ile ele geçen selülozun verimi %47'dir. Ancak mikro Kjeldahl yöntemi ile yapılan azot tayininde %1,8 azota rastlanmıştır.



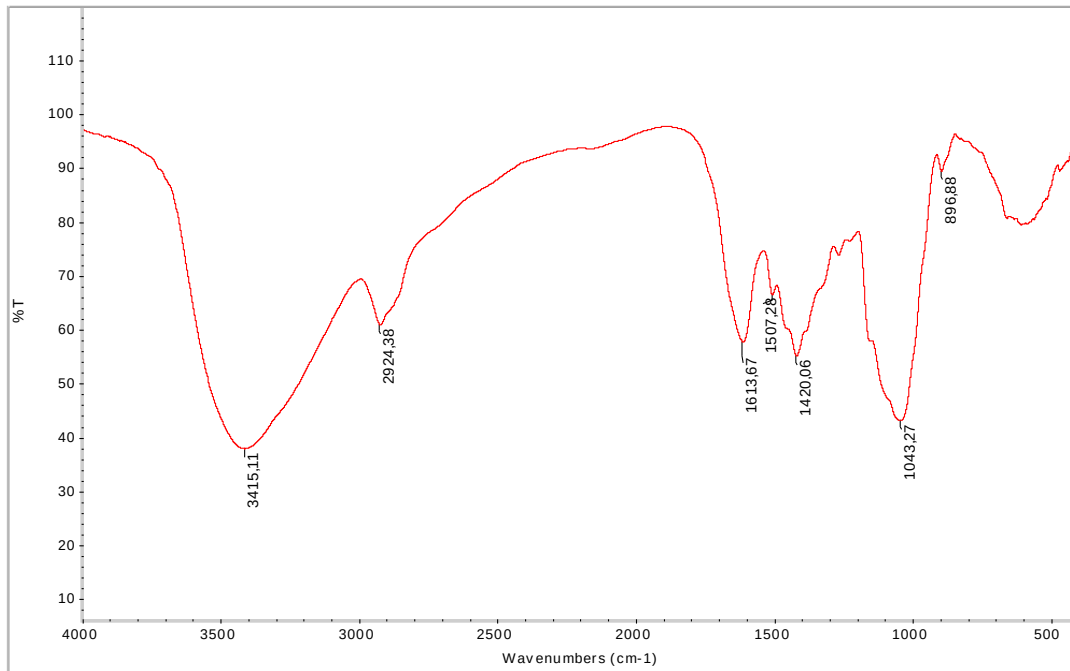
Şekil 4.2 : Ayçiçeği Küspesi Ekstraktının Bileşenlerinin Ayrılması

Çizelge 4.1 : Ayçiçeği atığından selülozun ekstraksiyonu

Deney Kodu	2N NaOH mol/L	%35 H ₂ O ₂ mol/L	H ₂ O ₂ /küspe mmol/g	NaOH/küspe mmol/g	Süre saat	Sıcaklık °C	Selüloz %	Azot %
S22	0,5	1,7	30,9	8,4	24	60	47	1,8
S16	0,5	0,3	6,4	10	3	60	46	1,3
S19	1,5	2,6	29,1	17	24	60	35	1
S15	1,4	1	23,7	33	3	80	30	0,9
S17	0,5	0,8	25,7	16,6	20	80	24	0,8
S18	0,4	1,8	34	8,3	24	60	29	0,7
S13	0,5	0,9	34,2	16,6	24	60	29	0,6

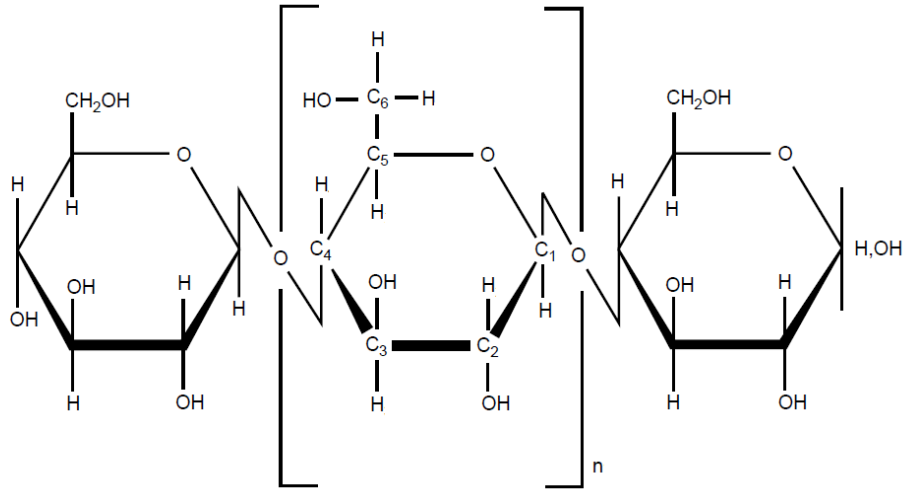
Selülozda bulunan %1,8’lik azot, ayçiçeği atığında bulunan proteinlerin tam olarak uzaklaştırılamadığı şeklinde yorumlanmaktadır. Yani reaksiyon şartlarında atığın bileşenlerine ayrılması tam olarak gerçekleşmemiştir. Daha sonraki deneyde (S16)

gram küspe başına düşen NaOH miktarı artırıldığında ve reaksiyon sıcaklığı 3 saate düşürüldüğünde azot miktarında 0,5 değerlik bir düşüş gözlenmiştir. NaOH ve H₂O₂ miktarları artırıldığında ve reaksiyon sıcaklığı yeniden 24 saate çıkarıldığında verimde ciddi bir azalma (%35) ve azot miktarında da düşüş (0,3) gözlenmiştir (S19). Verimdeki bu azalma atığın parçalanmasının gerçekleştiğini göstermektedir. Ancak burada bir denge söz konusudur; saf selüloz elde etmek için bazı artırdığımızda lignin ve hemiselüloz ile birlikte bir kısım selüloz da parçalanarak çözeltiye geçmektedir. S15 reaksiyonunda ise gram küspe başına düşen H₂O₂ miktarı iki katına çıkarılıp, reaksiyon süresi yeniden 3 saate düşürüldüğünde ve sıcaklık artırıldığında (80°C) azot miktarında %0,1'lik bir azalma görülmüştür. Peroksit miktarı yarıya indirilip reaksiyon süresi artırıldığında ise verimle birlikte azot miktarı da düşmektedir (S17). Baz artırılıp, peroksit ve reaksiyon sıcaklığı düşürüldüğünde ise aynı şekilde azot miktarında ve verimde düşüş gözlenmektedir (S18). S13 reaksiyonunda ise azot değerinin en düşük olduğu (%0,6) baz, peroksit ve süre belirlenmiş ve ele geçen selülozun verimi toplam atık üzerinden %29 olarak belirlenmiştir. Gram küspe başına 34,2 NaOH ve 16,6 H₂O₂ ile 24 saat 60°C'de yapılan reaksiyon koşulları en saf ve en yüksek verimle (%29) selüloz elde etmek için en iyi koşul olarak bulunmuş ve bundan sonraki aşamalara bu selüloz üzerinden devam edilmiştir. %0,6 değerindeki azotun da ihmal edilebilir seviyede olduğuna karar verilmiştir.



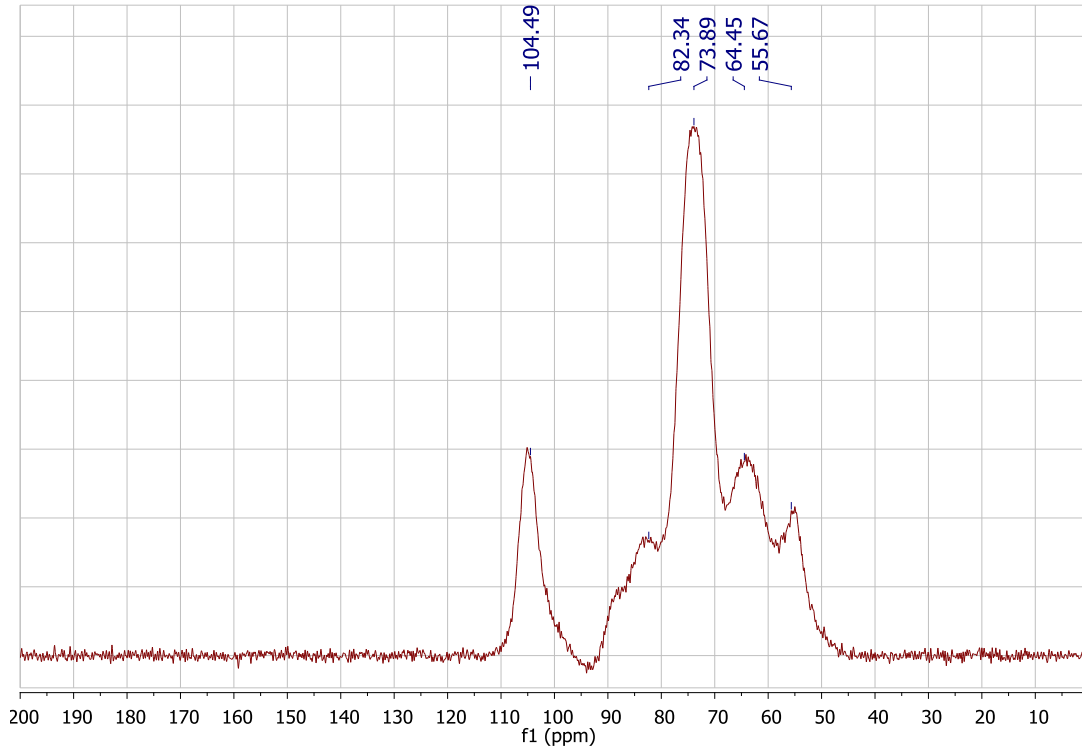
Şekil 4.3 : Selüloza ait karakteristik FTIR spektrumu

Şekil 4.3'te selüloza ait karakteristik FTIR spektrumu görülmektedir. Şekil 4.3'te 3415 cm^{-1} 'de tepe noktası olan geniş O-H gerilme, 2925 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilmeleri 1613 cm^{-1} 'de adsorbe olan suya ait H-O-H deformasyon, 1200-920 cm^{-1} 'lerde çeşitli C-O, C-C gerilme veya C-O-H eğilme bantları selülozda tipik olarak görülen bantlardır. 1507 cm^{-1} 'deki düşük şiddetli bant selüloza bağlı düşük miktardaki ligninin varlığını göstermektedir. 1043 cm^{-1} 'deki bant C-O-H eğilmesidir ve dallanma derecesi tarafından etkilenmektedir. 896 cm^{-1} 'deki bant β glikosidik bağları göstermektedir (Xiao ve diğ., 2001).



Şekil 4.4 : Selülozun yapısında bulunan karbonların numaralandırılması

Selülozun bilinen çözücülerde çözünmemesinden dolayı katı hal NMR yöntemi ile spektrum elde edilmiştir. Şekil 4.5'te ^{13}C -NMR spektrumunda selüloza ait karakteristik pikler görülmektedir. Selüloza ait spektrumlar incelendiğinde 55 ppm'de omuz şeklinde görülen sinyal C6 karbonuna aittir. 64-82 ppm aralığında görülen sinyaller ise C2, C5, C3 ve C4 karbonlarına ait sinyallerdir. Selülozun anomerik karbonuna (C1) ait sinyal ise 104 ppm'de görülmektedir (Isogai, 1997; Hesse ve Jager, t.y.).



Şekil 4.5 : Selüloza ait katı hal ^{13}C -NMR spektrumu

Selülozun molekül ağırlığını hesaplamak için Solomons-Ciuta eşitliği ile intristik viskozite ($[\eta]$) bulundu. İntristik viskoziteden de Mark-Houwink denklemi kullanılarak molekül hesabı yapıldı.

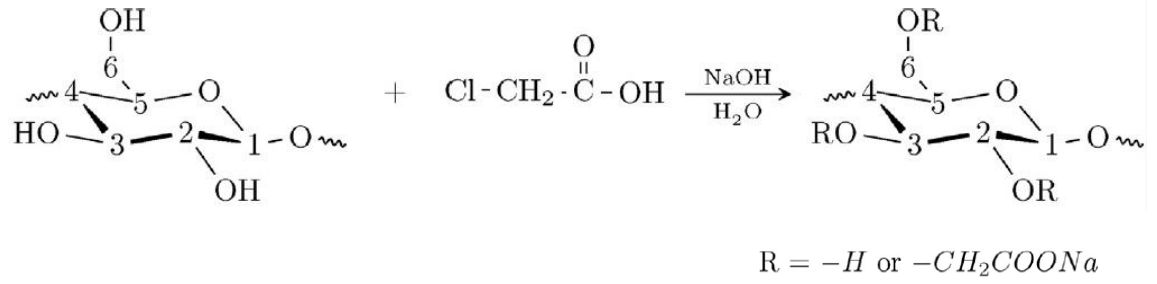
Sonuçlar

$\eta_r = t/t_0$	1,055
$\eta_{sp} = \eta_r - 1$	0,0548
$[\eta] = \sqrt{2 \cdot (\eta_{sp} - \ln \eta_r)} / C$	188,4
$[\eta] = 1,278 \times 10^{-4} \cdot M_v^{1,19}$	152668

Selülozun molekül ağırlığı 152668 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak yapılan çalışmalar sonucunda ayçiçeği atığından yüksek verimle selüloz elde edildi. Ele geçen selülozun spektral yöntemlerle karakterizasyonu sonucunda bulunan verilerin literatür ile uyum içinde olduğu görüldü. Ayçiçeği atığına ön işlem uygulanmış selülozun proteinlerinden ayrılmış olarak elde edilebileceği görüldü.

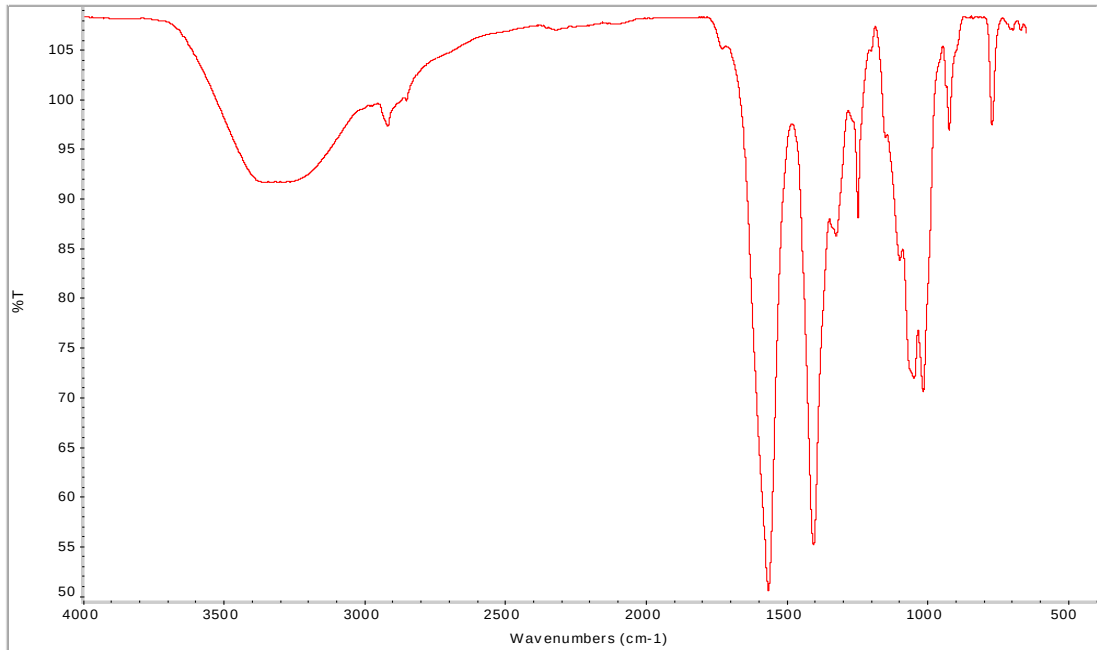
4.2 Karboksimetil Selüloz Eldesi



Şekil 4.6 : Karboksimetil selüloz eldesi

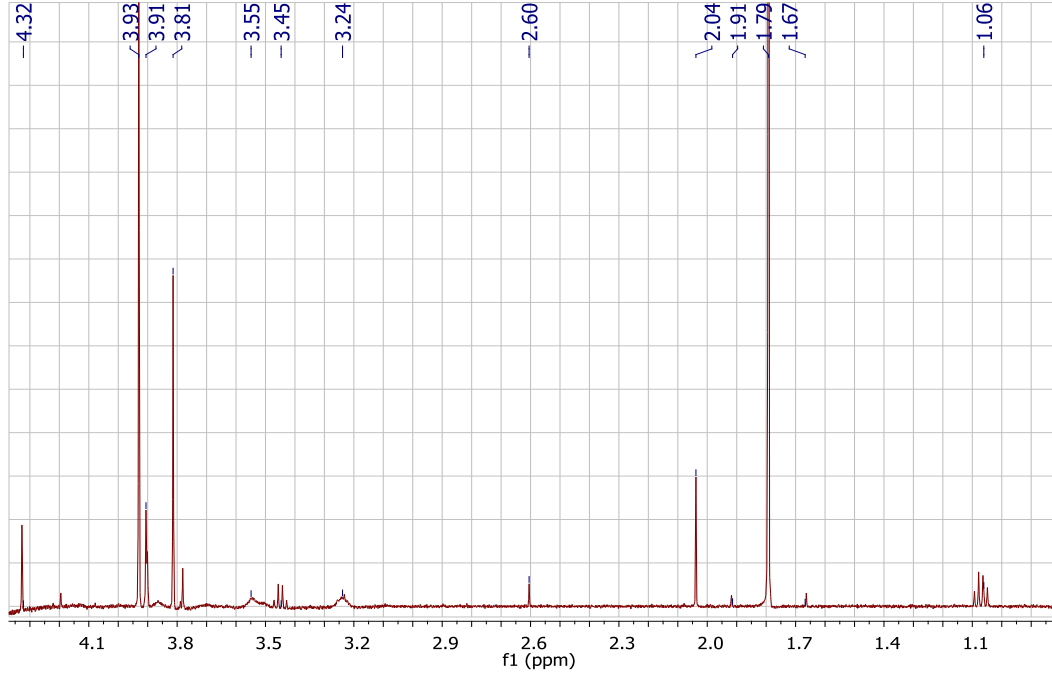
Karboksimetilasyon reaksiyonu ile suda ve organik çözücülerde çözünmeyen selülozun çözünürlüğünün ve bir sonraki adımda yapılacak kuarternizasyonun artırılması düşünüldü. Karboksimetil selüloz elde etmek için 2,5 g selüloz 25°C sıcaklıkta 10 ml %15'lik NaOH ve 50 ml IPA çözeltisi içinde 60 dakika boyunca karıştırıldı. 55°C sıcaklıkta 3 g NaMCA eklenerek 3 saat boyunca karıştırıldı. %90'lık asetik asit ile çözelti nötralize edildi ve süzüldü. %70'lik etanol ile 4 defa yıkandı ve çökelti 60°C sıcaklıkta kurutuldu (Adinugraha ve ark., 2005).

Şekil 4.7'de karboksimetil selüloza ait FTIR spektrumu görülmektedir. Selülozun karakteristik piklerinin yanında özellikle 1730 cm⁻¹'de görülen pik selülozun karboksillendiğini göstermektedir.



Şekil 4.7 : Karboksimetil selüloza ait karakteristik FTIR spektrumu

Karboksimetil selülozun 500 MHz'lik NMR cihazında D₂O çözücüsü içinde çekilen NMR spektrumu şekil 4.8'de görülmektedir. Spektrumda görülen sivri pikler çözücüden veya kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. Karboksimetil selüloza ait pikler 3-5,5 ppm arasında görülmektedir. Anomerik karbona ait pik 5,5 ppm civarında gözlenmektedir. 3 ile 4 ppm arasında selüloza ait karakteristik pikler görülmektedir. Metilen protonu ise 4 ppm civarında pik vermektedir.



Şekil 4.8 : Karboksimetil selüloza ait ¹H NMR spektrumu

Spektral analizler karboksillenme reaksiyonun başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca selülozun karboksimetillenmesi ile çözünürlüğün arttığı gözlenmiş ve kuarternizasyon reaksiyonları karboksimetil selüloz ile yapılmıştır.

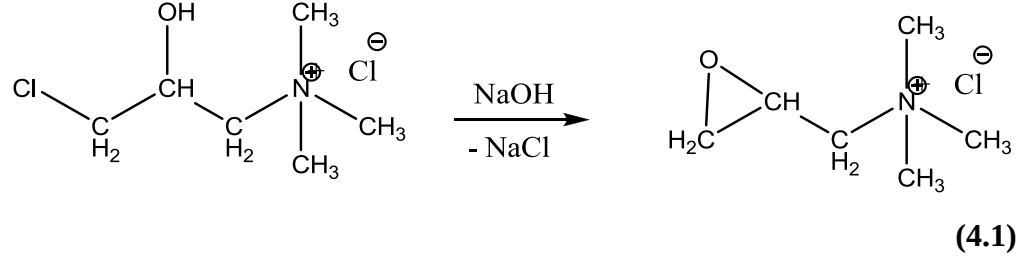
4.3 Kuarternize Selüloz Eldesi ve Karakterizasyonu

Selülozun kuarternizasyonu iki yoldan yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı: İlk olarak kuarternier amonyum tuzu ((3-kloro-2-hidroksipropil)trimetilamonyum klorür), ardından da Mannich reaksiyonu ile kuarternize selüloz elde edildi.

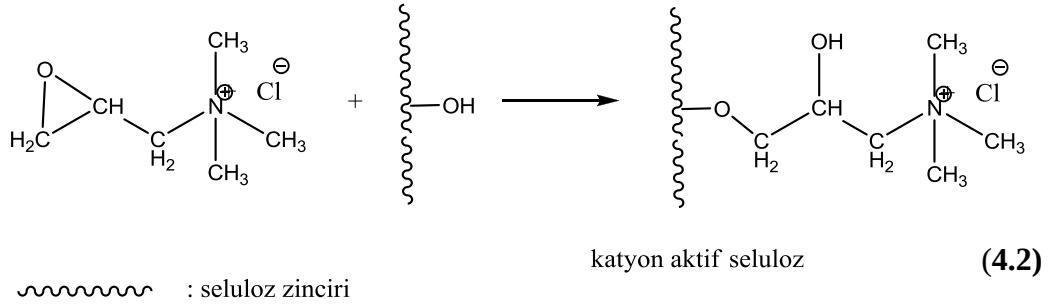
4.3.1 Selülozun kuarternier amonyum tuzu ile kuarternizasyonu

Kuarternier azot bileşikler HCl ve H₂SO₄ ile nötral tuz oluşturan kuvvetli bazdırlar. Sulu alkali çözeltide bile çözünürler. Kuarternier iyonunun katyoniklik aktivitesi ve

kuvvetli baziklığı, seluloz bileşiğine taşınabileceği ve seluloza biraz olsun suda çözünürlük sağlayabileceği düşüncesiyle, 3-kloro-2-hidroksipropil amin grubu $\text{CH}_3\text{-}$ gibi düşük molekül ağırlıklı alkil grupları ile kuvarternize edilmiş olan 3-kloro-2-hidroksipropiltrimetil ammonium klorür (CHPTAC) bileşiği ile bazik ortamda reaksiyona sokuldu. Reaksiyon ortamında uygun reaksiyon koşulları sağlanabilirse ilk olarak CHPTAC bazik ortamda epoksi bileşiği verir (4.1).



İkinci adımda ise epoksit bileşiği ile selulozdaki aktif hidroksi grupları reaksiyona girer (4.2).



Reaksiyonda baz miktarı fazla ise veya kuvarter tuzu ile orantılı değilse selulozla reaksiyon vermeyen ürünler oluşabilir (Shukla D. ve Tyagi V.K., 2006). Yan ürünlerin en az ve kuvarternize edilmiş selulozun en fazla olacağı koşulları sağlayabilmek için çeşitli reaksiyon koşullarında denemeler yapılmıştır. Yapılan deneylerde, uygulanan deney koşulları Çizelge 4.2’de görülmektedir. Çizelgede yer alan sonuçlar parametreler hakkında fikir verebilecek olanlardır.

Yapılan ön denemeler sonucunda, tüm deneylerde reaksiyon sıcaklığı 50 °C olacak şekilde uygulanmış, diğer veriler değiştirilmiştir. 0,5-3 saat reaksiyon süresinde Tabloya bakıldığında, CHPTAC ve NaOH’in mol/L değerlerinin yüksek olduğu 1 numaralı deney koşullarında selulozda %60 dolayında ağırlık artışı belirlenmiştir. CHPTAC ve NaOH’in mol/L değerlerinin ortalama 7 kat daha düşürülmesi ile yapılan deneylerde ise verimde artış olmamıştır.

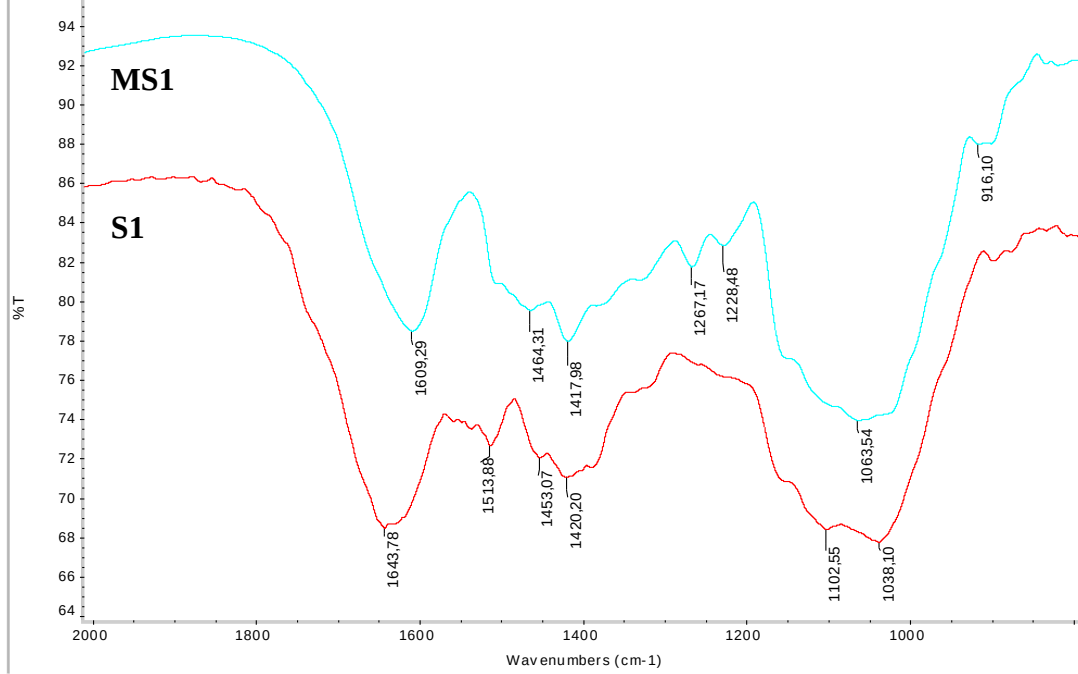
Çizelge 4.2 : Çözünen Kısımdan Arındırılmış 5 gram Ayçiçeği Küspesinden 50°C Reaksiyon Sıcaklığında Antimikrobiyal Selüloz Elde Edilme Deney Koşulları ve Neticeleri

Deney Kodu	Süre (dk)	Su ml	% 60 CHPTAC (mol/L)	2N NaOH (mol/L)	CHPTAC/ selüloz (mol/gr)	NaOH/ selüloz (mol/gr)	Verim (%)**
MS-1*	40	20	1,48	2,25	0,05	0,07	61,2
MS-5*	180	100	0,18	0,36	0,07	0,15	88,7
MS-6	60	95	0,18	0,38	0,02	0,04	58,6
MS-8	60	95	0,18	0,38	0,04	0,09	90,6
MS-10	60	95	0,18	0,38	0,03	0,06	85,9
MS-11	60	95	0,18	0,38	0,09	0,19	97,9

* Ön işleme selülozun çözünen kısımları ayrılmamıştır.

** Selülozun ağırlık değişmesine göre hesaplanmıştır.

Reaktiflerin mol/L değerlerinin etkili olmaması üzerine selüloz başına düşen CHPTAC ve NaOH mol değerleri farklılaştırılmış, NaOH'in kuvarter amonyum tuzunun yarısı ve yarıdan daha az olduğu mol miktarlarında ağırlık artışının %98'lere ulaştığı belirlenmiştir. Reaksiyon süresi etkili değildir. Reaksiyon yarım saat içinde oluşmaktadır.



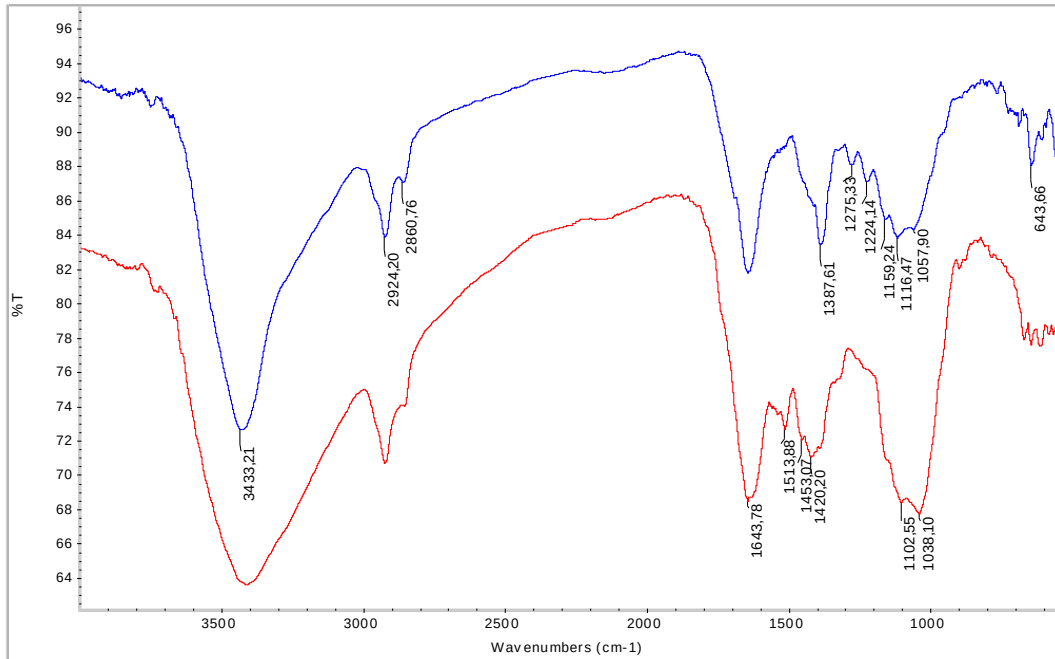
Şekil 4.9 : MS1 ve MS1 Deneyinin Yapıldığı Ayçiçeği Selülozuna ait FT-IR Spektraları

Verimin, indirgen bileşiklerin ayrılmamasından dolayı düşük olmuş olabileceği düşüncesiyle, selüloz gramı başına CHPTAC ve NaOH mol oranı değerleri 0,47

olduğu deneyde ağırlık artışının %90'larda çıkması (Deney No 1 ve 5) ön işleme indirgen bileşiklerin ayrılması yapılmadan da yüksek dönüşüm oranlarına ulaşıldığını göstermiştir.

Şekil 4.9'da MS1 ve S1 deneyinin yapıldığı ayçiçeği selulozuna ait FT-IR spektralleri görülmektedir. Reaksiyon sonrasında ayçiçeği selulozunun 1063 cm^{-1} 'de görülen C–O ve C–O–C gerilim bantlarının ve 1417 cm^{-1} 'de görülen C–N gerilim bantlarının artması, kuvarter amin bileşiği içerdiğini göstermektedir. Ayrıca 1643 cm^{-1} 'de görülen pikin 1609 cm^{-1} 'e kayması reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir (Wang ve ark., 2009).

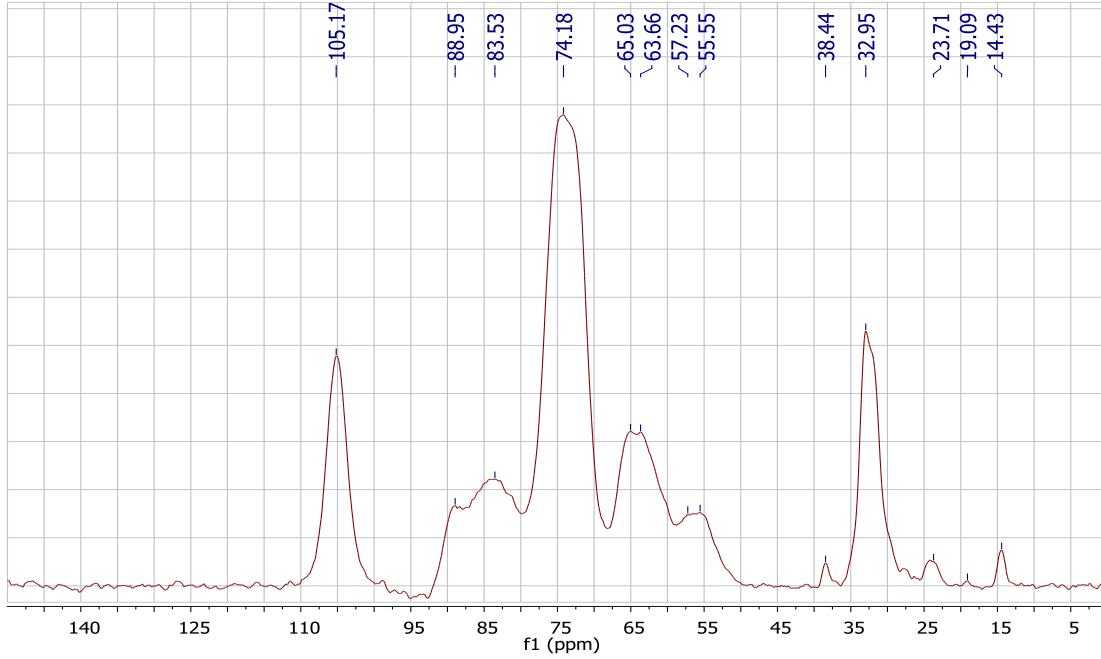
Şekil 4.10'da ise Çizelge 4.2'de daha yüksek ağırlık artışı gösteren MS11 ve MS11 deneyinin yapıldığı ayçiçeği selulozuna ait FT-IR spektralleri karşılaştırıldığında, 1159 , 1058 ve 1387 cm^{-1} 'lerde farklı C–O ve C–N gerilim bantlarının arttığı net bir şekilde kendini göstermiştir. Çizelge 4.2'deki verim artışı ile seluloz molekülünün kuvarternize olmasının artışı paralellik göstermiştir.



Şekil 4.10 : MS11 ve MS11 Deneyinin Yapıldığı Ayçiçeği Selulozuna ait FT-IR Spektralleri

Şekil 4.11'de kuvarternize selüloza ait katı hal ^{13}C -NMR spektrumu görülmektedir. Selüloza ait karakteristik piklerin yanında 32 ppm'de $-\text{CH}_3$, 38 ppm'de $-\text{CH}_2-$, 65

ppm'de OH-CH-, 83 ppm'de O-CH₂ karbonlarına ait pikler görülmektedir. Bu pikler selülozun kuarternize edildiğini göstermektedir.



Şekil 4.11 : Kuarternize edilmiş selüloza ait katı hal ¹³C-NMR spektrumu

Kuarternier amonyum grubunun süstitüsyon derecesinin belirlenmesi için 4.3'te görülen denklem kullanılmaktadır. denklemde yer alan X_N kuarternier selülozun azot içeriğidir. Mikro Kjeldahl yöntemi kullanılarak bulunan azot miktarından süstitüsyon derecesine geçilmiştir.

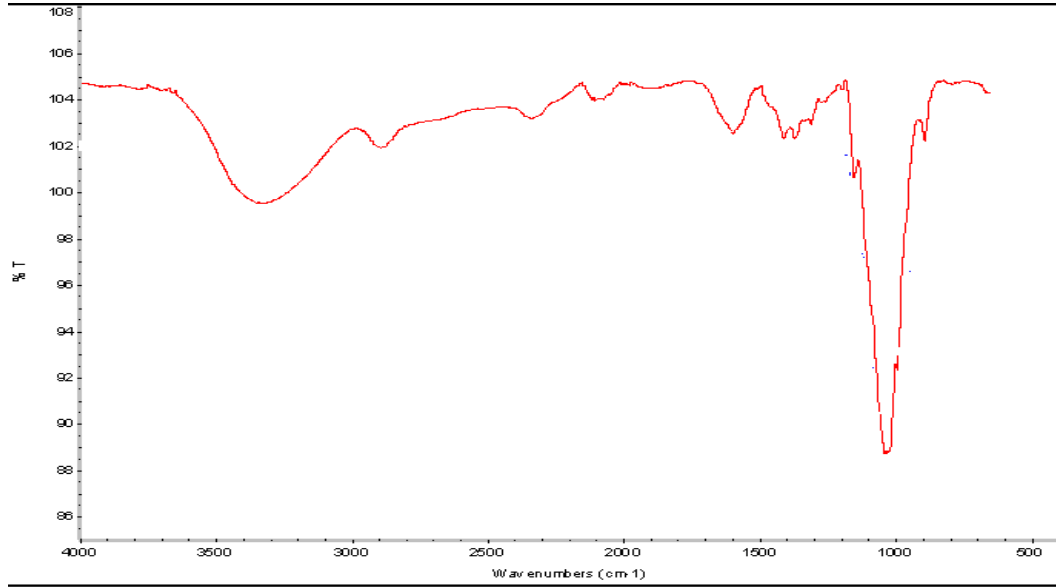
$$Ds = \frac{162 X_N}{1400 - 151.5 X_N} \quad (4.3)$$

Çizelge 4.3'te çeşitli kuarternize selülozların Mikro Kjeldahl yöntemi ile belirlenen azot yüzdeleri ve bu değerlere göre hesaplanan süstitüsyon dereceleri görülmektedir. Analiz edilen en yüksek azot miktarı 4,59'dur. Buna göre en yüksek süstitüsyon derecesi 1,05 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3 : Kuarternize selüloza ait azot yüzdeleri ve süstitüsyon dereceleri

Deney kodu	% N	DS
MS 6	1,02	0,13
MS 8	1,13	0,15
MS 10	4,59	1,05
MS 11	3,76	0,73

Selülozun kuarternier amonyum tuzu ile kuarternize edilmesi sonucunda elde edilen maddenin çözünürlüğü iyi olmadığı için karboksimetil selüloz kuarternier amonyum tuzu ile kuarternize edilmiştir. Böylelikle yüksek çözünürlüğü olan kuarternier amonyum tuzu elde edilmesi amaçlanmıştır.

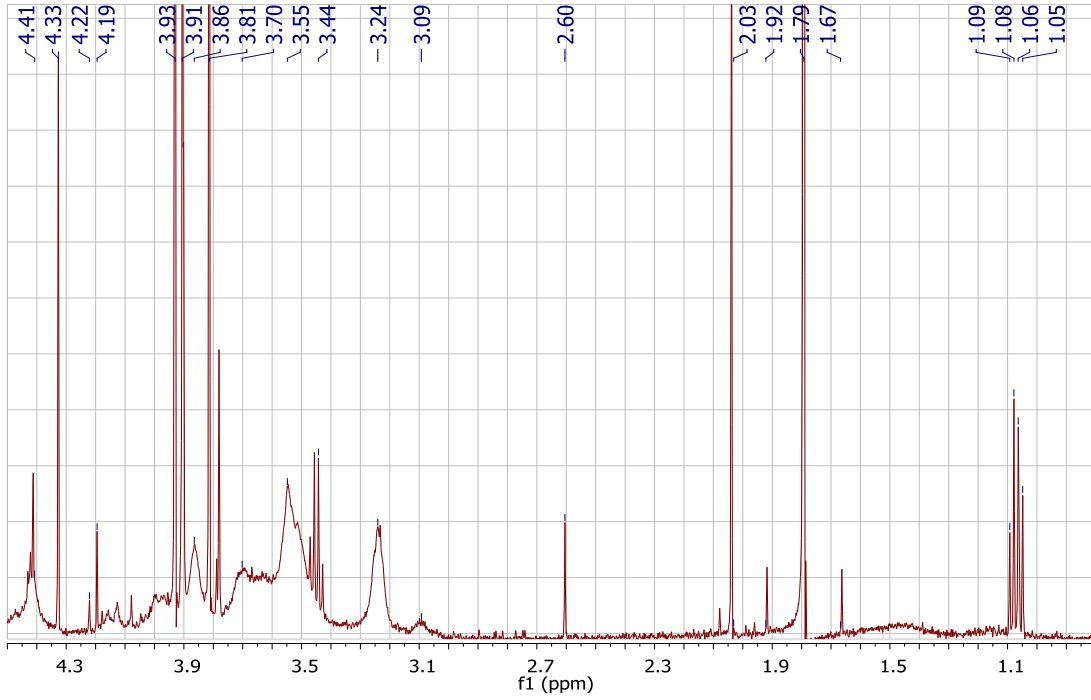


Şekil 4.12 : Kuarternize karboksimetil selüloza ait FTIR spektrumu

Şekil 4.12’de kuarternize karboksimetil selüloza ait FTIR spektrumu görülmektedir. Karboksi grubundan gelen 1730 cm^{-1} ’de görülen pikin kaybolduğu dikkat çekmektedir. 1417 cm^{-1} ’de görülen C-N gerilim bantlarının artması, kuarternier amin bileşiği içerdiğini göstermektedir. Aynı zamanda kuarternier amonyum grubundan kaynaklanan 1063 cm^{-1} ’de görülen C-O ve C-O-C gerilim bantlarının artışı da dikkat çekmektedir.

Şekil 4.13’te kuarternize karboksimetil selülozun 500 MHz’lik NMR cihazında D_2O çözücüsü içinde çekilen NMR spektrumu Şekil 4.8’de görülmektedir. Spektrumda görülen sivri pikler çözücüden veya kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. Karboksimetil selüloza ait pikler 3-5,5 ppm arasında görülmektedir. 3,09 ve 4,41 ppm bölgesindeki piklerin sayısının arttığı dikkat çekmektedir. Karboksimetil selüloza ait piklerle birlikte kuarternizasyondan kaynaklanan çeşitli piklere de rastlanmaktadır.

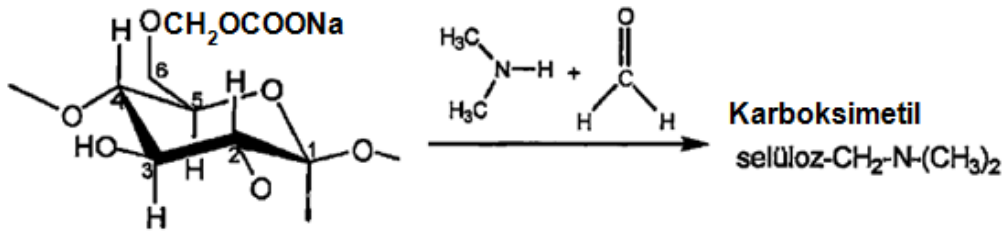
CHPTAC ile kuarternize edilmiş karboksimetil selülozun azot miktarı %2,3 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.13 : Kuarternize karboksimetil selüloza ait ^1H -NMR spektrumu

4.3.2 Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternizasyonu

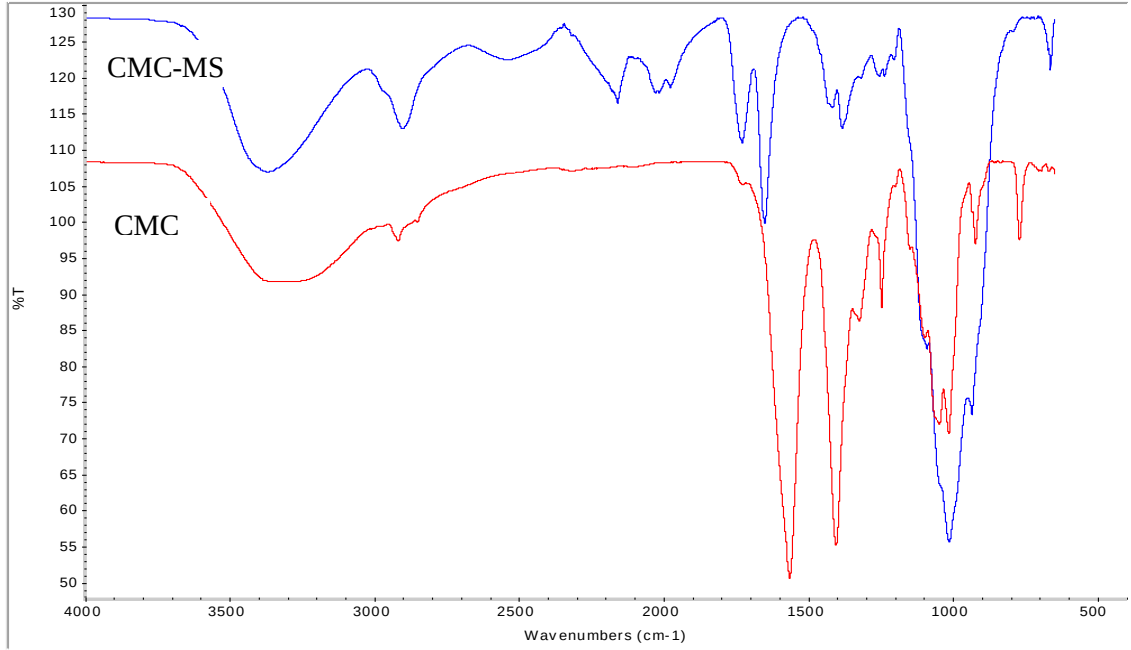
Ayçiçeği atığından elde edilen selülozun sulu bazik ortamdaki Mannich reaksiyonu incelendi. Reaksiyonda aktif hidrojen içeren bileşik olarak selüloz, amin bileşiği olarak dimetil amin ve α -hidrojeni taşımayan karbonil bileşiği olarak formaldehit kullanıldı.



Şekil 4.14 : Reaksiyon mekanizması

0,1 gram karboksimetil selüloz 3 mL suda çözüldü ve üzerine 2 mL %43,75'lik dimetil amin (DMA) çözeltisi eklendi. 40°C sıcaklıkta çözelti 15 dk boyunca karıştırıldıktan sonra 9 mL %37'lik formaldehit (FA) çözeltisi 10-15 dk içinde damla damla ilave edildi. 3 saat boyunca reaksiyon gerçekleştirildi. Reaksiyon bittikten sonra 2 mL DMA ilave edilip 10 dk daha karıştırıldıktan sonra reaksiyon karışımına 4 N HCl ilave edilerek

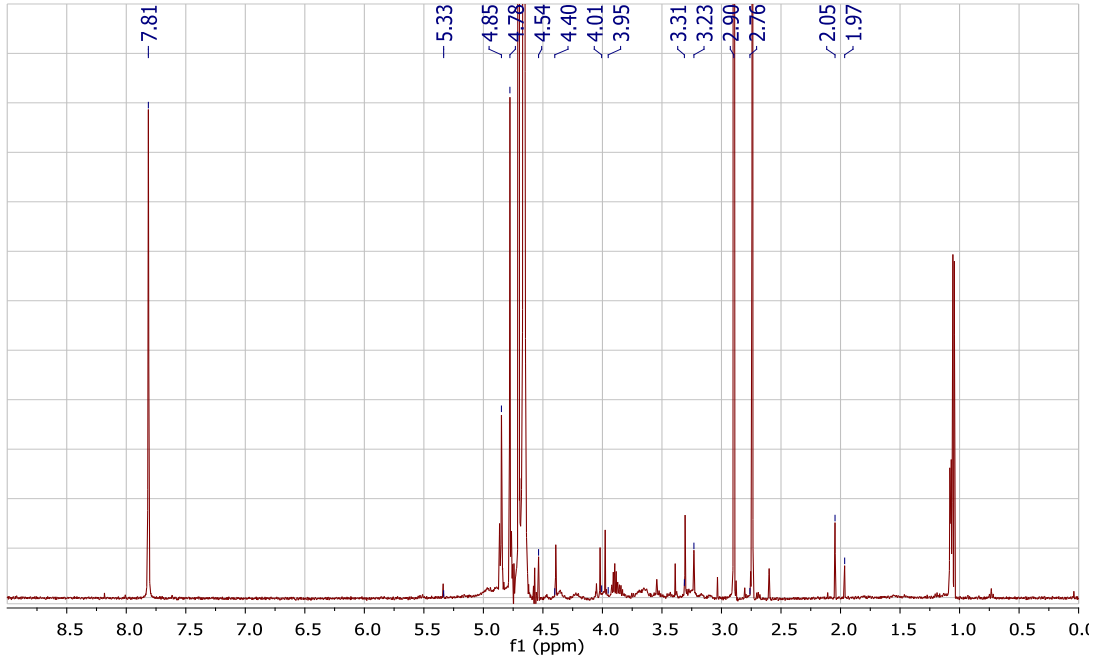
ortam asidik (pH 2.0-2.5) yapıldı. Kalan çözelti 100 mL izopropil alkole dökülerek ürün elde edildi.



Şekil 4.15 : Karboksimetil selüloz ve kuarternize selüloza ait FTIR spektrumu

Elde edilen ürünün spektral analizleri yapıldı. Şekil 4.15'te karboksimetil selüloz ve Mannich reaksiyon sonucu oluşan kuarternize karboksimetil selüloza ait FTIR spektrumu görülmektedir. Karboksimetil selülozda 1600 cm⁻¹'de görülen keskin pikin kuarternize karboksimetil selülozda azaldığı gözlenmektedir. Kuarternize amin grubunun 2 ve 3 numaralı karbon üzerinden selüloza bağlanması beklenmektedir. Ancak FTIR spektrumunda karboksil pikinin şiddetinde görülen azalma 6 numaralı karbon üzerinden de bağlanmanın olduğunu düşündürmektedir. 1200-920 cm⁻¹'lerde C-O, C-C gerilme veya C-O-H eğilme bantlarında gözlenen değişimler de reaksiyonun gerçekleştiğini göstermektedir. 896 cm⁻¹'deki β glikosidik bağları gösteren banttaki büyük kayma da dikkat çekicidir.

1730 cm⁻¹'deki karbonil gerilme bandı teknik hatadan kaynaklanmakta ve temizlik için kullanılan asetonun gelmektedir.



Şekil 4.16 : Mannich reaksiyon ile oluşan kuarternize selüloza ait ^1H -NMR spektrumu

Şekil 4.16’da Mannich reaksiyon sonucu oluşan kuarternize karboksimetil selülozun 500 MHz’lık NMR cihazında D_2O çözücüsü içinde çekilen ^1H -NMR spektrumu görülmektedir. Spektrumda görülen sivri pikler çözücüden veya kontaminasyondan kaynaklanmaktadır. 2,5 ve 5 ppm’de oldukça fazla sayıda pik göze çarpmaktadır. Bu bölgede görülen pikler Mannich reaksiyonunun selülozdaki çeşitli hidroksil gruplarından gerçekleştiğini düşündürmektedir. Kuarternier azot grubu selüloza çeşitli bölgelerden bağlanmıştır.

Mannich reaksiyonu ile kuarternize edilmiş karboksimetil selülozun azot miktarı %2,27 olarak bulunmuştur.

4.4 İyonik Yapı Tayini

Mannich reaksiyonu ile elde edilen kuarternize selüloz yüksek köpük yapma kabiliyeti göstermiştir (Şekil 4.17). Yüksek köpük yapmak kabiliyeti yüzey aktif maddelerin temel özelliğidir. Kendisi de bir yüzey aktif madde olan karboksimetil selüloza kuarternier amonyum grubunun bağlanması ile yeni bir yüzey aktif madde meydana gelmiştir.



Şekil 4.17 : Mannich reaksiyon sonucu oluşan kuarternize selülozda köpük oluşumu

Kuarternize selülozun katyonik özellikte olup olmadığı iyonik yapı tayini ile belirlendi.

Çizelge 4.4 : İyonik yapı tayini

Aktivite	Renk			
	Metilen rezorsinol ftalat	mavisi-sodyum	Metilen mavisi	Brom fenol mavisi
Anyonik	Koyu yeşil		Mavi	Renksiz
Katyonik	Mavi		Renksiz	Mavi
Noniyonik	Renksiz		Soluk mavi	Soluk mavi

İyonik yapı tayininde (Atıcı, 1991) 0,004 g bileşik 10 ml suda çözüldü. 0,1 ml 1N HCl ve 1 ml % 0,02 sulu metilen mavisi çözeltisi ile 10 ml test çözeltisi karıştırıldı. Çözelti 5 ml kloroform ile ekstrakte edildi ve organik fazın rengi Çizelge 4.4'e göre incelenerek maddenin iyonik karakteri belirlendi. Çözünmeyen kuarternize selüloz ile yapılan iyonik yapı tayininde katyonik özelliğe ait metilen mavisinde renksizlik yerine yalnızca renk açılması gözlenmiştir. Bu sonuç selüloz molekülünün yanında selüloza bağlanan kurternize grubunun az olduğunu ve bu nedenle tam bir katyonik yüzey aktif madde özelliği göstermediğini düşündürmektedir.

4.5 Selüloz ve Kuarternize Selülozun Antimikrobiyal Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Damlatma yöntemi ile selüloz ve katyonik selülozun *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal özellik gösterip gösterilmediğine bakıldı.

Steril besiyerine, derişimi belli, konsantre bakteri ekimi yapıldı. 5-10 µl çözünmüş numuneler (selüloz ve katyonik selüloz) petri kabına damlatıldı. Uygun ortamda üremeye bırakılan bakterilerin damlatılan bölgelerde üreyip üremediğı kontrol edildi.

Selülozun antibakteriyel özelliğininin olmadığını kontrol etmek amacıyla antibakteriyelite testi yapıldı. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterinin olduğu petri kaplarına eklenen selülozlarda antibakteriyel alanı ifade eden zon çapı görülmediğı gibi selüloz eklenen bölümlerde ekstra bakteri üremesi görüldü.

Kuarternier amonyum tuzu ile yapılan kuarternize selülozlar için de aynı metotla antibakteriyel aktivite testi uygulandı. Yapılan denemelerde kuarternize selülozun antimikrobiyal özellik göstermediğı görüldü. Kuarternize selülozun yapısındaki kuarternier amonyum grubunun yeterli sayıda olmamasının böyle bir sonuca yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca kuarternier amonyum grubu ile katyonize edilen selülozun suda çözünürlüğünün düşük olmasından dolayı antimikrobiyal etki gösteremediğı de düşünülmektedir.

Karboksimetilasyon ile çözünürlük kazandırılan, kuarternier amonyum tuzu ve Mannich reaksiyonu ile kuarternize edilen selülozların antimikrobiyal özelliklerinin kantitatif olarak incelenmesi için profesyonel bir kuruma analize gönderildi. Antimikrobiyal özellik göstermesi beklenen numunelerin miktarının yetersiz olmasından dolayı analiz yapılamadı.

Antimikrobiyal özellik, uygulanan yöntemler ile tayin edilememiştir ancak kuarternier amonyum gruplarının teorik olarak antimikrobiyal özellik gösterdiği bilinmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ayçiçeği atığını organik çözücülerde çözünen kısımları, yağ bileşenleri ve boyar maddelerinden arındırmak amacıyla organik çözücüler (toluen-etanol karışımı) kullanılarak ekstaksiyon yapıldı. Bu vaksımsı bileşenler daha sonra değerlendirmek üzere saklandı.

Devaks ayçiçeği atığını proteinlerini ayırmak amacıyla NaOH içeren pH=12 çözücüsü ile deproteinizasyon yapıldı ve atığın protein yüzdesi ortamında %34 olarak bulundu.

Yağ, vaks ve proteinlerinden ayrılmış olan ayçiçeği atığına hidrojen peroksit varlığındaki bazik ortamda, değişik sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon ile lignin ve hemiselülozlarından ayrılmış olan selüloz için en ideal koşulların %10'luk (g/mL) NaOH çözeltisi kullanılarak baz:küspe oranı 16,6 milieşdeğer/g atık olacak şekilde ayarlanıp son konsantrasyonu %0,9 (g/mL) olacak şekilde %35'lik (g/mL) H₂O₂ çözeltisi eklenerek 24 saat 60°C sıcaklıkta olduğu belirlenmiştir. Bu şartlar altında kullanılan küспенin ağırlıkça ortalama %29 kadar selüloz (S) izole edilebilmiştir.

Bazik ortamda CHPTAC ile kuarternizasyon yapıldı, en uygun koşulların azot miktarının %4,59 olduğu reaksiyonun %60'lık CHPTAC çözeltisinden 173 g/L, NaOH çözeltisinin 128 g/L kullanıldığı, 2 saat, 25 °C sıcaklıkta yapıldığı belirlenmiştir. Bu şartlar altında ağırlıkça verim % 85 olarak hesaplanmıştır.

Bazik ortamda NaMCA ile yapılan karboksimetilasyon reaksiyonu ile suda ve organik çözücülerde çözünmeyen selülozun çözünürlüğü artırıldı ve bir sonraki adımda yapılacak kuarternizasyon reaksiyonları karboksimetil selüloz üzerine kuruldu.

Antimikrobiyal selüloz elde etmek amacıyla, dimetilamin ve formaldehit kullanılarak Mannich reaksiyonla selüloz modifikasyonu yapılmıştır. En uygun koşullar 3 mL suda, 3 saat, 40 °C sıcaklıkta, 1,2 mol/L DMA ve 8,5 mol/L FA olduğu bulunmuştur.

Selüloz ve kuarternize selülozların antimikrobiyal özellikleri incelenmiş, CHPTAC ile modifiye edilen selülozun *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal özelliği tespit edilememiştir.

Kuarterner amonyum grubu ile katyonize edilmiş selülozun tekstil sanayiinde lif olarak kullanılması düşünülebilir. Karboksimetil selülozun Mannich reaksiyonu ile kuarternize edilmesi sonucu oluşan suda çözünür katyonik selülozun ise kozmetik sanayiinde hammadde olarak kullanılması önerilebilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz yöntemlerin endüstriye uygulanabilirliğinin incelenmesi ve kullanım alanlarının geliştirilmesi gerekir.

KAYNAKLAR

- Adinugraha, M. P., Marseno, D. W., Haryadi,** 2005. Synthesis and characterization of sodium carboxymethylcellulose from cavendish banana pseudo stem (*Musa cavendishii* LAMBERT), Carbohydrate Polymers, Volume 62, Issue 2, 10 November 2005, Pages 164–169.
- Atıcı, O.,** 1991. Yüzey Aktif Maddeler, ITU Faculty of Science and Letters Printing.
- Atıcı, O.,**1994. Gıda Kimyası. İstanbul, İTÜ Matbaası.
- Balser, K., L. Hoppe, T. Eicher, M. Wendel, A.-J. Astheimer,** 1986, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5th ed., W. Gerhartz, Y.S. Yamamoto, F.T. Champbell, R. Pfefferkorn, J.F. Rounsaville, Eds., VCH, Weinheim, New York, vol A5, pp. 419.
- Block, S.S.,** 1991. Disinfection, Sterilization and Preservation; 4th ed.; Lea&Febiger: Philadelphia.
- Canalon, P.,** 1971: Chemical composition of sunflower seed hulls. Journal of the *American Oil Chemists' Society*, **48**(10), 629–632.
- Demirpek, U.,** 2012. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri, Alındığı tarih: 22.04.2013, adres:http://www.klimik.org.tr/wpcontent/uploads/2012/02/12820111_2107-49.pdf
- Ekman, K., Eklund, U., Fora, J., Huttunen , J.I., Selin, J.F., Turunen, O.T.,** 1986. Cellulose Carmate, In Cellulose Structure, Modification and Hydrolysis, Edited by Raymond A. Young and Roger M. Rowell, John Wiley and Sons Inc., New York.
- Fang, J. M., Sun, R.-C. ve Tomkinson, J.,** 2007: Isolation and characterization of hemicelluloses and cellulose from rye straw by alkaline peroxide extraction. *Cellulose*, 87-107.
- Fengel, D., Wegener, G.,** 1989. Wood Chemistry, ultrasucture, reactions, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, NewYork.
- Gabrielska, J., Sarapuk, J., Przystalski, S., Wroclaw, P.,** 1994. Tenside, Surfactants, Deterg., 31, 296–298.
- Göen, D.,** 2001. Dinaftofuranofuran türü bileşiklerin Mannich reaksiyonları. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Heinze T.,** 1998: New Ionic Polymers by Cellulose Functionalization. *Macromolecule Chemical Physics*, **199**, 2341–2364.
- Hesse, S., Jager, C.,** Solid-State Nmr Investigations Of Cellulose And Cellulose Derivatives, Nuclear Magnetiz Rezonance.
- Isogai, A.,** 1997. NMR analysis of cellulose dissolved in aqueous NaOH solutions, *Cellulose* (1997) 4, 99–107.
- İlisulu, K.** 1973: Yağ Bitkileri ve Islahı, Çağlayan Kitabevi, s. 84–137, İstanbul.
- İstanbullu, H.,** 2006. Potansiyel antineoplastik bileşikler olarak bazı heterosiklik moleküllerin Mannich bazları. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Kazlauskas, J.**, 2009. Application Of Cationic Cellulose Derivatives For Protein-Based Drug Delivery. PhD. Thesis, Kaunas University of Technology, Department of Organic Technology.
- Kumar, A. ve Maurya, R. A.**, 2008. An unusual Mannich type reaction of tertiary aromatic amines in aqueous micelles, *Tetrahedron Letters*, 49, 5471-5474.
- Özyurt, İ.**, 2006: Biyokütle atık madde olarak ayçiçeği çekirdeği kabuklarının sınıflandırılması ve elde edilen ürünlerin analizi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul)
- Rafiee, E., Eavani, S., Nejad, F. K. ve Joshaghani, M.**, 2010. Cs_{2.5}H_{0.5}PW₁₂O₄₀ catalyzed diastereoselective synthesis of β amino ketones via three component Mannich type reaction in water, *Tetrahedron*, **66**, 6858-6863..
- Reynolds, T.**, 1997: “Are Antimicrobial Goods for Consumers Worth the Cost?” *Annals of Internal Medicine*, Volume **127** (6), 497-498
- Roy, D., Knapp, J.S., Guthrie, J.T., Perrier, S.**, 2007. Antibacterial Cellulose Fiber via RAFT Surface Graft Polymerization. *Biomacromolecules* 2008, 9, 91–99
- Sharma S.K., Kalra K.L., Grewal H.S.**, 2002: Fermentation of enzymatically saccharified sunflower stalks for ethanol production and its scale up *Bioresource Technology*. **85**, 31–33
- Shaw J. D.**, 1992: Introduction to Colloid and Surface Chemistry, Reed Educational and Professional Publishing Ltd.,
- Shukla D., Tyagi V.K.**, 2006: Cationic Gemini Surfactants. *Journal of Oleo Science*, **55** (8), 381–390.
- Steyermark, A.**, 1961: Quantitative Organic Microanalysis. 2 ed. Academic Press, New York.T.C. Sanayi Ve Ticaret Bakanlığı Teşkilatlandırma Genel Müdürlüğü, 2010 Yılı Ayçiçeği Raporu, Temmuz 2010
- Suteu, D.**, 2011. Removal of Orange 16 reactive dye from aqueous solutions by waste sunflower seed shells.
- Süzer, S.**, 2013. Ayçiçeği Yetiştiriciliği, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Alındığı tarih: 22.04.2013, adres: <http://hayrabolutb.org.tr/media/ziraat/Aycicegi-Tarimi.pdf>
- Thinakaran, N., Baskaralingamb, P., Pulikesi, M., Panneerselvam, P. ve Sivanesan, S.**, 2008: Removal of Acid Violet 17 from aqueous solutions by adsorption onto activated carbon prepared from sunflower seed hull”, *Journal of Hazardous Materials* **151**, 316–322,
- TSE 316**, Ayçiçeği tohumu küspesi, Alındığı tarih: 21.04.2012, adres: <http://www.gidahatti.com/mevzuat/tebligler/yem/kuspenormlari.pdf>
- Türkiye Ziraat Odaları Birliği Ayçiçeği Raporu**, Nisan 2004. Alındığı tarih: 19.03.2012, adres: <http://www.tzob.org.tr/>
- Url-1** <<http://ttae.gov.tr/makaleler/ayckabuk.htm>>, alındığı tarih 21.01.2011
- Url-2** <http://www.mikrobiyoloji.org> Alındığı tarih: 02.01.2013
- Ünlü, C. H.**, 2009. Mısır koçanı ksilanından mikro/nanokompozit eldesi. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Wang, Y., Shi, W., Yu, Y., Chen, X.**, 2009. Synthesization characterization and properties of Quaternary Ammonium Cationic Cellulose. 978-1-4244-2902-8/09.

Xiao B., Sun X.F., Sun R.C., 2001. Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. *Polymer Degradation and Stability*, 74, 307–319.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Nurten UZUN

Doğum Yeri ve Tarihi: Şişli, 23.01.1985

Adres: Caferağa Mahallesi, İlder Ertüzün Sokak, No: 2, D: 16, Kadıköy, İstanbul

E-posta: nurten.uzun@gmail.com

Lisans Üniversitesi: İstanbul Teknik Üniversitesi

Mesleki Deneyim ve Ödüller: Saraçoğlu Turizm ve Çevre Teknolojileri Şirketi'nde Ar-Ge Yöneticisi, (Eylül 2011-)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/ SUNUMLAR: Uzun, N., Atıcı, O., 2013. Antibacterial Cellulose Synthesis from Sunflower Waste, *44th World Chemistry Congress*, IUPAC 2013, August 11-16, 2013, İstanbul, Turkey.