



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ



**BAKTERİYEL NANOSELÜLOZ ÜZERİNDE
KONTROL EDİLEBİLİR ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTEYE SAHİP NANOKOMPOZİTLERİN
İMMOBİLİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Burak SELVİ

Tekstil Mühendisliği Ana Bilim Dalı

İzmir

2024



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BAKTERİYEL NANOSELÜLOZ ÜZERİNDE
KONTROL EDİLEBİLİR ANTİBAKTERİYEL
AKTİVİTEYE SAHİP NANOKOMPOZİTLERİN
İMMOBİLİZASYONU**

Burak SELVİ

Danışman: Doç. Dr. Ebru BOZACI
II. Danışman: Prof. Dr. Andrea ZILLE

Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı
Tekstil Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2024



Burak Selvi tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Bakteriyel Nanoselüloz Üzerinde Kontrol Edilebilir Antibakteriyel Aktiviteye Sahip Nanokompozitlerin İmmobilizasyonu” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 03.05.2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Esen ÖZDOĞAN

.....

Raportör Üye

: Doç. Dr. Ebru BOZACI

.....

Üye

: Prof. Dr. Ümit Halis ERDOĞAN

.....



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Bakteriyel Nanoselüloz Üzerinde Kontrol Edilebilir Antibakteriyel Aktiviteye Sahip Nanokompozitlerin İmmobilizasyonu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

03/05/2024

BURAK SELVİ



ÖZET**BAKTERİYEL NANOSELÜLOZ ÜZERİNDE KONTROL
EDİLEBİLİR ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTEYE SAHİP
NANOKOMPOZİTLERİN İMMOBİLİZASYONU****SELVİ, Burak**

Yüksek Lisans Tezi, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışmanlar: Doç. Dr. Ebru BOZACI, Prof. Dr. Andrea ZILLE

2024, 68 sayfa

Bu tez çalışmasında, Hestrin-Schramm kültür ortamında *Glucoacetobacter hansenii* bakterisi kullanılarak bakteriyel nanoselüloz yapısı üretilmiştir ve üretilen yapı tıbbi amaçlarla kullanılmak üzere dört farklı metal nanopartikül (Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O) ile modifiye edilmiştir.

Metal nanopartiküller ile modifiye edilen bakteriyel nanoselüloz yapının analizleri için SEM-EDS, FT-IR, AAS ve 2 farklı antibakteriyel test (AATCC 147-TM100 ve ASTM E2149) kullanılmıştır.

Analizler sonucunda metal nanopartiküller ile modifiye edilen bakteriyel nanoselüloz yapıların (özellikle gümüş nanopartikül ile modifiye edilen yapı) tıbbi amaçlı kullanılabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel nanoselüloz, metal nanopartikül, tıbbi tekstiller



ABSTRACT**NANOCOMPOSITES IMMOBILIZATION WITH CONTROLLABLE
ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON BACTERIAL NANOCELLULOSE
(BNC)****SELVİ, Burak**

MSc in Textile Engineering

Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Ebru BOZACI, Prof. Dr. Andrea ZILLE

2024, 68 pages

In this study, bacterial nanocellulose structure produced by using *Glucoacetobacter hansenii* bacteria in Hestrin-Schramm culture medium. Therefore, produced structure has modified with four different metal nanoparticles (Ag, ZnO, Cu and Cu₂O) for use medical purposes.

For analyses of bacterial nanocellulose structure modified with metal nanoparticles, SEM, FT-IR, EDS, AAS and 2 different antibacterial tests (AATCC 147-TM100 and ASTM E2149) were used.

As a result of the analyzes, it has been observed that bacterial nanocellulose structures modified with metal nanoparticles (especially, structure which modified one with silver nanoparticle) can be used for medical purposes.

Keywords: Bacterial nanocellulose, metal nanoparticle, medical textiles

İÇİNDEKİLER

İçindekiler

Sayfa

Etik Kurallara Uygunluk Beyanı

Özet	vii
Abstract	ix
İçindekiler.....	xi
Şekiller Dizini	xiii
Tablolar Dizini	xiv
Simgeler Ve Kısaltmalar Dizini.....	xv
1. Giriş.....	1
2. Bakteriyel Selüloz	2
2.1 Bakteriyel Selüloz'un Özellikleri.....	3
2.2 Bakteriyel Selüloz Üretimi	5
2.2.1 Bakteri Türleri	5
2.2.2 Kültür Ortamı.....	6
2.2.3 Üretim Yöntemleri.....	6
2.3 Üretim Sonrası İşlemler	8
2.3.1 Temizleme (Arındırma).....	8
2.3.2 Kurutma	9
2.4 Bakteriyel Selülozun Özelliklerini Etkileyen Parametreler	9
2.5 Bakteriyel Selüloz Kullanım Alanları.....	10
3. Metal Nanopartiküller	12
3.1 Nanopartikül Özellikleri	13
3.2 Metal Nanopartikül Çeşitleri.....	14
3.2.1 Çinko Oksit (Zno)	14
3.2.2 Gümüş (Ag)	15
3.2.3 Bakır (Cu).....	15
3.3 Nanopartikül Üretimi.....	16
3.4 Nanopartikül Kullanım Alanları.....	16
3.5 Önceki Çalışmalar	17
4. Gereç Ve Yöntem.....	19
4.1. Gereç	19

4.2. Yöntem	19
4.2.1. Hestrin-Schramm Kültür Ortamının Hazırlanması.....	20
4.2.2. Bakteriyel Selüloz'un Üretimi.....	20
4.2.3. Metal Nanopartikül Çözeltilerinin Hazırlanması	22
4.2.4. Bakteriyel Selüloz'un Metal Nanopartikülleri İle Modifikasyonu	26
5. Bulgular Ve Tartışma	28
5.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (Sem) Analizi	28
5.2 Eds Analizi	34
5.3 Antibakteriyel Testler	35
5.4. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi Analizi (Aas)	40
5.5. Ft-İr Analizi	41
6. Sonuç	42
Kaynakça	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekiller Dizini

Sayfa

Şekil 2.1 Bakteriyel ve bitkisel selülozun SEM Görüntüleri	3
Şekil 2.2 Bakteriyel selülozun kimyasal yapısı	4
Şekil 2.3 Bakteriyel selülozun yara sargısı olarak kullanımı	11
Şekil 4.1 Kültür ortamında elde edilen bakteriyel selülozlar	21
Şekil 4.2 Elde edilen bakteriyel selüloz.....	21
Şekil 4.3 NaOH çözeltisi içerisinde bakteriyel selülozun ağartma işlemi.....	22
Şekil 4.4 Üç boyunlu balonda bakır oksit sentezi.....	25
Şekil 4.5 Hava Basıncılı Filtreleme Sistemi	26
Şekil 4.6 Modifikasyon Sonrası Bakteriyel Selüloz Numuneleri (a-BNC/Ag, b-BNC/ZnO, c-BNC/Cu, d-BNC/Cu ₂ O).....	27
Şekil 5.1 BNC numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü.....	29
Şekil 5.2 BNC/Ag numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü	29
Şekil 5.3 BNC/ZnO numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü	30
Şekil 5.4 BNC/Cu numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü.....	30
Şekil 5.5 BNC/ Cu ₂ O numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü	31
Şekil 5.6 BNC numunesinin boyuna SEM görüntüsü	31
Şekil 5.7 BNC/Ag numunesinin boyuna SEM görüntüsü	32
Şekil 5.8 BNC/ZnO numunesinin boyuna SEM görüntüsü.....	32
Şekil 5.9 BNC/Cu numunesinin boyuna SEM görüntüsü	33
Şekil 5.10 BNC/Cu ₂ O numunesinin boyuna SEM görüntüsü	33
Şekil 5.11 BNC/Cu ₂ O numunelerinin EDS analizi sonucu (üst sırada soldan sağa; BNC-Ag, BNC-ZnO, alt sırada soldan sağa; BNC-Cu, BNC-Cu ₂ O).....	35
Şekil 5.12 Bakteriyel selüloz numunelerinin antibakteriyel test sonuçları (<i>E. coli</i> bakterisi)	36
Şekil 5.13 Bakteriyel selüloz numunelerinin antibakteriyel test sonuçları (<i>S. aureus</i> bakterisi)	37
Şekil 5.14 AATCC 100- <i>S.aureus</i> , a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu ₂ O fotoğrafları	37
Şekil 5.15 AATCC 100- <i>E.coli</i> , a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu ₂ O fotoğrafları	38
Şekil 5.16 ASTM E2149- <i>S.aureus</i> , a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu ₂ O fotoğrafları	38
Şekil 5.17 ASTM E2149- <i>E.coli</i> , a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu ₂ O fotoğrafları	39
Şekil 5.18 AAS analizi sonuçları.....	40
Şekil 5.19 FTIR analizi sonuçları.....	41

TABLÖLAR DİZİNİ**Tablolar Dizini****Sayfa**

Tablo 4. 1 Hestrin-Schramm kültür ortamı	20
Tablo 4. 2 Bakteriyel selülozun ağartılması	22
Tablo 4. 3 Stok Bakır (Cu) çözeltisi	24
Tablo 4. 4 Stok Bakır (I) Oksit çözeltisi	25

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BS: Bakteriyel Selüloz

BNC: Bakteriyel Nanoselüloz

HS: Hestrin Schramm Kültür Ortamı

NP: Nanoparçacık/ Nanopartikül

Nm: Nanometre

ZnO: Çinko Oksit

Ag: Gümüş

Cu: Bakır

Cu₂O: Bakır Oksit

UV: Ultraviyole

NaOH: Sodyum Hidroksit

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

FT-IR: Fourier Dönüşümü Kızılötesi

AAS: Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi

EDS: Enerji Dispersiv Spektrum

DP : Polimerizasyon Derecesi



1. GİRİŞ

Günümüzde, tıbbi alanda kullanılan malzemelerin çoğu sentetik polimerlerden üretilmektedir. Ancak, bu malzemelerin bazıları mikrobiyal büyümenin inhibisyonunu sağlayamamaktadır veya uzun vadeli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Bu nedenle, doğal esaslı ve biyouyumlu malzemelerin kullanımı giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

Bakteriyel nanoselüloz (BNC), bu bağlamda dikkate değer bir malzeme olarak öne çıkmaktadır. BNC, bakterilerin fermantasyonu yoluyla üretilen ve yüksek saflık, biyouyumluluk ve özel fiziksel özelliklere sahip olan bir selüloz türüdür. Tıbbi tekstil yüzeylerinden yara pansumanlarına kadar çeşitli uygulamalarda kullanılabilen BNC, özellikle enfeksiyonları önlemede etkili bir rol oynamaktadır.

Ayrıca, metal veya metal oksit nanopartiküllerin (örneğin gümüş, çinko oksit, bakır) antimikrobiyal özelliklere sahip olması, tıbbi malzemelerin enfeksiyon riskini azaltmada önemli bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Bu nanopartiküller, yüzeylerde veya içeriklerde kullanılarak malzemelerin antibakteriyel özellikler kazanmasını sağlamaktadır. Bu duruma, tıbbi cihazların, yara bakımının ve cerrahi prosedürlerin daha güvenli ve etkili hale gelmesine katkıda bulunabilir.

Bu tez çalışması kapsamında, Hestrin-Schramm kültür ortamında *Glucacetobacter hansenii* bakterisi kullanılarak bakteriyel nanoselüloz yapısı üretilmiştir. Bu üretim sürecinde, düşük teknoloji gereksinimleri ve ekonomik maliyet avantajlarından faydalanılarak statik kültür yöntemi tercih edilmiştir. Üretilen bakteriyel nanoselüloz yapısı, tıbbi amaçlarla kullanılmak üzere antimikrobiyal etkisi olduğu bilinen dört farklı metal nanopartikül (Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O) ile modifiye edilmiştir.

Metal nanopartiküller ile modifiye edilen bakteriyel nanoselüloz yapısının karakterizasyonu için çeşitli analiz teknikleri kullanılmıştır. Bu teknikler arasında taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılım spektroskopisi (EDS), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), atomik absorpsiyon spektroskopisi

(AAS) ve iki farklı antibakteriyel test yöntemi olan AATCC 147-TM100 ve ASTM E2149 bulunmaktadır. Bu analizler, metal nanopartiküller ile modifiye edilen bakteriyel nanoselüloz yapısının morfolojik, kimyasal ve antibakteriyel özelliklerini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir.

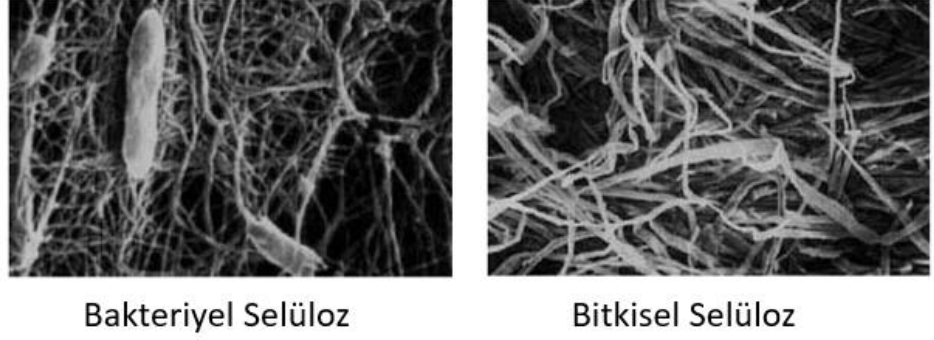
Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar, bakteriyel nanoselülozun biyomedikal uygulamalarda potansiyel olarak etkili bir antimikrobiyal malzeme olarak kullanımını desteklemektedir.

2. BAKTERİYEL SELÜLOZ

Bu bölümde, bakteriyel selüloz, bakteriyel selülozun üretimi, özellikleri, modifikasyonu, kullanım alanları ve nanopartiküllerin özellikleri, üretim yöntemleri, kullanım alanları hakkında daha önceden incelenmiş ve literatürde bildirilmiş çalışmalar incelenmiştir.

Selüloz, Dünya üzerinde en bol bulunan doğal polimerlerden birisidir. Bu polimerlerin çoğunluğu, bitkisel selüloz olarak adlandırılan bitkiler tarafından üretilmektedir. Bitkiler en büyük selüloz kaynağı olmasına rağmen, çeşitli bakteri türleri alternatif bir kaynak olarak selüloz üretme kapasitesine sahiptir. Bakteriyel selüloz (BC) ilk olarak 1886'da A. J. Brown tarafından rapor edilmiştir.

Brown, 1886 yılında, sirke fermantasyonu sürecinde *Gluconacetobacter xylinus* (eski adıyla *Acetobacter xylinum* ve şu anda *Gluconacetobacter hansenii* olarak adlandırılan bakterinin) türü bakterinin, glikoz ve oksijen varlığında bakteriyel selüloz sentezleyebildiğini ve sirke fermantasyonunun yüzeyinde gözlemlenen jelatinimsi bir örtü oluşturduğunu kaydetmiştir (Çoban ve Bıyık., 2008; Costa et. al., 2017).



Şekil 2.1 Bakteriyel ve bitkisel selülozun SEM Görüntüleri (Keshk and El-Kott, 2017)

Selüloz üreten bakteri türleri arasında en çok çalışılan bakteri türü *Gluconacetobacter xylinus* (*Acetobacter xylinum*'dan yeniden sınıflandırılmıştır) olarak adlandırılmaktadır. Özel kültürlenme koşulları altında selüloz üretebilen bakteri türleri selüloz mikrofibrilleri salgılayarak sıvı ortamın yüzeyinde selüloz mikrofibrillerinden ve yaklaşık %97 sudan oluşan, pelikül adı verilen kalın bir jel tabakası üretmektedirler. Bakterilerin selüloz üretmesinin nedeni bilinmemektedir. Ancak bunun hayatta kalmaları için gerekli olduğu, örneğin ultraviyole ışığa karşı veya mantarlara, mayalara ve diğer organizmalara karşı bir koruma görevi gördüğü öne sürülmüştür. Bakteriyel kaynaklı selüloz mikrofibrillerinin avantajı, mikrofibril oluşumunu ve kristalleşmeyi değiştirmek için kültür koşullarını ayarlamamanın mümkün olmasıdır (Moon et.al., 2011).

Bakteriyel selüloz partikülleri, bakteri gövdelerinden ve büyüme ortamından ayrıştırılmış olan çeşitli bakteriler tarafından salgılanan mikrofibriller olarak açıklanabilir. Bakteriden elde edilen mikrofibriller mikron uzunluğunda olmaktadır. Bakteri türü ve kültür ortamı koşullarına bağlı bir morfolojiye sahip geniş bir en-boy oranına sahiplerdir (Moon et.al., 2011).

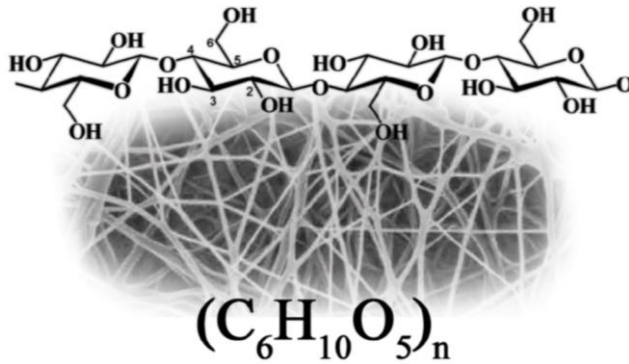
2.1 Bakteriyel Selüloz'un Özellikleri

Bakteriyel selülozun, bakterileri UV ışınlarına karşı koruduğu belirlenmiştir. Kimyasal olarak bitkisel selüloz ile aynı özelliklere sahip olsa da diğer özellikleri bitkilerden elde edilen selülozdan farklıdır. Bakteriyel selüloz yüksek derecede hidrofilik özellik göstermektedir ve su tutma kapasitesi kuru ağırlığının 100 katına

kadar ulaşabilmektedir. Doğal bitkisel selülozdan farklı olarak daha kolay biyolojik parçalanabilme özelliğine sahiptir.

Makroskobik görüntüsü üretildiği kültür ortamı koşullarına göre değişkenlik göstermektedir. Durgun koşullarda (çalkalamasız) sıvı besi ortamının üst yüzeyinde (oksijence zengin olan kısımda) selüloz tabaka oluşmaktadır. Çalkalamalı kültürlerde gelişen bakteriyel selüloz ise düzensiz, kenarları pürüzlü granüller şeklinde oluşmaktadır.

Genel olarak suda çözünmeyen, esnek, gerilme direnci yüksek, elastik bir polimerdir. Ağsı bir yapıya sahip olan polimerin kristalize özelliği yüksektir. Bakteriyel polimerin yüzeyi bitkisel polimerin yüzey alanına göre 200 kat daha büyüktür. İçerdiği sıvı komponentlerden dolayı jelatinimsi bir görünüme sahiptir. Su tutma kapasitesi yüksektir ancak suyun fazlası polimere bağlanmaz ve polimer yavaşça bastırılarak fazla su dışarı verilebilmektedir. Bakteriyel selüloz, metabolizmanın ilk ürünü olan ekstraselüler bir polimerdir ve hücreyi koruyucu olarak görev yapmaktadır. (Çoban ve Bıyık., 2008; Gündüz vd., 2015).



Şekil 2. 2 Bakteriyel selülozun kimyasal yapısı (Mensah et.al., 2021)

Bakteriyel selülozlar polimerizasyon dereceleri bakımından bitkisel selüloza benzerlik göstermektedir. Bakteriyel selüloz 2.000 - 6.000 arasında yüksek polimerizasyon derecesine sahiptir. Doğal bitkisel selüloz liflerinin polimerizasyon derecesi de 2.000-3.000 civarında olmaktadır. (Costa et. al., 2017; Yaman vd., 2007).

1 ila 9 nm genişliğindeki mikro bantlar, benzersiz bir nano yapıya sahiptir.

Moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağları, selüloz zincirlerini bir arada tutmaktadır ve aynı zamanda bakteriyel selüloz liflerine yüksek su tutma özelliğinin yanı sıra yüksek saflık, mekanik direnç, elastikiyet, esneklik, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyoyumluluk ve toksisitenin bulunmamasını sağlamaktadır. Ayrıca alerjiye de neden olmazlar. Bakteriyel selüloz membranları elastiktir, esnektir ve sterilize edilebilmektedir.

Glucoacetobacter sınıfındaki bakteriler gram-negatif bakterilerdir. Asidik maddelere karşı yüksek toleransa sahiptirler. 5,0'ın altındaki pH değerlerinde büyümektedirler, patojendirler ve özellikle yaşamları için sürekli bir oksijen ve karbon kaynağına ihtiyaç duymamaktadırlar (Costa et. al., 2017).

Bakteriyel selüloz, ekstra sellüler matrikse olan benzerliği ve toksik yapıya sahip olmaması sebebiyle yüksek biyoyumluluğa sahiptir. Karbohidrat yapıda olması nedeniyle de non-immunojenik yapıya sahiptir. Bakteriyel selüloz hidrojel yapısında olan bir biyopolimerdir ve bu yapısal özelliği sayesinde antimikrobiyal özelliği sağlayan diğer bileşikler ile modifiye edilebilmektedir (İlmenöz, 2020).

2.2 Bakteriyel Selüloz Üretimi

2.2.1 Bakteri Türleri

Bakteriyel selüloz üretiminde en iyi bilinen ve yaygın olarak kullanılan bakteri türü *Acetobacter* suşlarıdır. Bunun dışında başka bakteri türleri de selüloz sentezlemektedir. Başlıca selüloz üreten bakteri türlerini *Acetobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Sarcina* olarak sıralayabiliriz. Bu bakteri türlerinin biyosentezi tamamen aynı olsa da polimer yapısı farklılık gösterebilmektedir. En iyi selüloz üretimini *Acetobacter xylinum* bakteri türü gerçekleştirmektedir. Bu bakteri türü asetik asit bakterisi olarak da bilinmektedir. *Acetobacter xylinum* bakteri türünü *Glucoacetobacter hansenii*, *Glucoacetobacter europaeus*, *Glucoacetobacter oboediens* ve *Glucoacetobacter intermedius* takip etmektedir (Çoban ve Bıyık., 2008).

2.2.2 Kültür Ortamı

Bakteriyel selülozun elde edilebilmesi için aŗaēıda belirtilmiŗ olan kültür ortamları kullanılabilmektedir. Bunlar arasında, Hestrin Schramm (HS) kültür ortamı, glikoz, maya özütü ve karbonat kültür ortamı ve kombu ayı zt kültür ortamı sayılabilmektedir (Kılınç, 2019).

Ayrıca bakteriyel selüloz üretiminde pahalı olan besi ortamlarının yerine daha ucuz olan beyaz kabak suyu, şeker pancarı atıēı veya peynir altı suyu gibi endüstriyel atıkların kullanıldıēı alıŗmalar da yapılmıŗtır (oban ve Bıyık, 2008).

2.2.3 Üretim Yöntemleri

Bakteriyel selüloz rimi için 4 farklı yöntem kültür yöntemi kullanılabilmektedir. Bunlar; statik, çalkalamalı (karıŗtırmalı), dönen disk reaktörler ve hava asansörü reaktörü kültür yöntemleridir. Kültür yönteminin deēiŗtirilmesi ile farklı bakteriyel selüloz formları retilenilmektedir (Costa et. al., 2017).

Statik kültür yöntemi ile, kültür ortamı yüzeyinde jel benzeri selüloz tabakası oluŗmaktadır. Çalkalamalı (karıŗtırmalı) kültür yönteminde ise küre benzeri ve farklı boyutlarda olan selüloz yapıları oluŗmaktadır. Kültür yöntemi seçimi, selülozdan istenilen nihai uygulamalar haricinde istenilen fiziksel, morfolojik ve mekanik özelliklere göre belirlenmektedir (Wang et.al., 2019).

2.2.3.1 Statik Kültür Yöntemi

Statik kültür yönteminde üretim çok basittir, dŗk teknolojidir ve maliyeti dŗktr. Üretim sırasında keto-glukonik asidin birikmesi nedeniyle ortam pH'ı dŗmektedir ve uygun pH ortamı kaybolmaktadır. Bu sorunun ortadan kaldırılabilmesi için üretim sırasında asetik asit kullanılmaktadır (Kılınç, 2019).

Statik kültür yöntemi, bakteriyel selüloz üretiminde en yaygın olarak kullanılan üretim yöntemidir. Bu yöntemde kaplar taze besin çözeltisi ile doldurulur ve uygun sıcaklık (28-30°C'de) ve pH'da ($4 < \text{pH} < 7$) 1-14 gün süreyle inkübe edilir. Selüloz kültür ortamının yüzeyinde oluşmaktadır. Elde edilen selüloz sarımsı bir renkte olmaktadır. Sıcak su ve sodyum hidroksit kullanılarak yapılan sterilizasyon işlemi sonrası bakteriyel selüloz beyaza dönmektedir ve sonrasında pH değeri nötr olana kadar bol su ile durulanmaktadır. Elde edilen selülozun kalınlığı, kültür ortamında bekleme süresinin artırılması ile artmaktadır. Laboratuvar koşullarında üretim yapılabilecek en kolay ve uygun yöntemdir (Wang et.al., 2019).

Bu üretim yönteminde yüzey/hacim oranı da önemlidir. Önceden yapılmış olan çalışmalar sonucunda yüzey/hacim oranının $0,7 \text{ cm}^{-1}$ - $2,2 \text{ cm}^{-1}$ aralığında olduğu belirtilmiştir.

Bakteriyel selüloz üretimi sırasında keto-glikonik asit miktarının ortamda artması sonucu pH değeri düşmektedir ve uygun pH ortamı kaybolmaktadır. Asetik asidin kullanılması ile bu sorunun önüne geçilmiştir (Kılınç, N., 2019).

2.3.3.2 Çalkalamalı (Karıştırılmalı) Kültür Yöntemi

Çalkalamalı kültür yöntemi tasarımının arkasındaki temel fikir kültür ortamındaki bakterilere oksijen dağılımını geliştirmek veya optimize etmektir.

Bakteriyel selülozun boyut ve şekli, dönme hızı, kültür süresi ve kültür ortamındaki katkı maddesi türleri ile bağlantılıdır. Kültür ortamına farklı katkı maddelerinin ilavesi ile farklı şekillere sahip selülozlar elde edilebilmektedir. Katkı maddesi ilave edilmeden üretilen selülozlar küre benzeri yapıya sahiptir. Kültür süresinin artırılması ile selüloz boyutlarında artış görülmektedir ancak bazı çalışmalar 60 saatten sonraki sürelerde selüloz boyutunda fazla bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir.

Dönme hızının, bakteriyel selülozun küre benzeri oluşumunda etkisi bulunmaktadır. 100 rpm altındaki dönüş hızında küre benzeri yapıları gözlemlenmek

zordur, düzensiz şekiller görülmektedir. 125 rpm dönüş hızında küre benzeri yapılar belirgin hale gelmektedir ve küre çapı yaklaşık 8 mm olmaktadır. 200 rpm üzerindeki hızlarda küre benzeri yapılar oluşmamaktadır (Wang et.al., 2019).

Çalkalamalı kültür yönteminde üretilen selüloz, statik kültür yönteminde üretilen selüloza göre daha düşük polimerizasyon derecesine, kristallik ve mekanik mukavemete sahiptir (Kale ve Altun, 2022).

2.3.3.3. Dönen Disk Reaktörleri Yöntemi

Dönen disk reaktörü yönteminde, ortasındaki mil yardımı ile döndürülen, orta kısmında yuvarlak diskler bulunan reaktör sistemi kullanılmaktadır. Disklerin yarısı besi ortamına batırılmış şekilde yuvarlak diskler üzerinde bakteriyel selüloz üretimi gerçekleştirilir.

Aerobik hücrelerin büyümesi için belirli oranlarda besi ortamı ve hava ayarlanmasına olanak sağlamaktadır. Disklere yapışmış halde bulunan hücrelerin besi ortamı ve hava ile teması sonucu hücrelerin ihtiyaç duyduğu oksijen ve besinlere olan ulaşımın kısıtlanması engellenmiş olmaktadır (Aydınlı, 2010).

2.3 Üretim Sonrası İşlemler

2.3.1 Temizleme (Arındırma)

Bakteriyel selüloz, hava/sıvı arayüzeyinde oluşmaktadır. Bu nedenle selüloz harici ortamda su, bakteri ve diğer bileşenler bulunmaktadır. Selüloz üretimi sonrasında ortamda bulunan selüloz harici tüm diğer bileşenlerin temizlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla önce bakteriyel selüloz su ile kaynatılmaktadır, ardından alkali ortamda işlem görmelidir. Alkali ortamda işlem, bakteriyel selülozun sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile işlem görmesinden ibarettir (Kılınç, 2019).

2.3.2 Kurutma

Bakteriyel selülozun kurutulması 3 farklı yöntem ile gerçekleştirilebilmektedir. Bunlar, oda sıcaklığında kurutma, dondurarak kurutma ve süperkritik kurutmadır.

Oda sıcaklığında kurutma yöntemi en kolay ve ucuz olan kurutma yöntemidir. Selüloz doğal hava ile kurutulmaktadır. İşlem yavaş olmaktadır ve hava şartlarına bağlıdır. Bu işlem ile kurutma birkaç gün sürebilmektedir.

Dondurarak kurutma, liyofilizasyon veya kriyodisikasyon olarak da bilinmektedir. Bozulabilecek özellikteki bir malzemeyi korumak için kullanılan bir dehidrasyon yöntemidir. Malzeme içerisindeki donmuş suyun direkt katı fazdan gaz fazına geçmesi için basıncın düşürülmesi gerekmektedir.

Süperkritik kurutma yöntemi, bir madde içindeki sıvının, yüzey gerilimi ve kılcal gerilme yokluğunda gaza dönüştürüldüğü ve jelleri aerojellere dönüştürmek için en yaygın olarak kullanılan kurutma işlemidir (Kılınç, 2019).

2.4 Bakteriyel Selülozun Özelliklerini Etkileyen Parametreler

Yapılan çalışmalar sonucunda bakteriyel selülozu etkileyen en önemli iki faktörün karbon ve azot kaynakları olduğu belirlenmiştir (Kılınç, 2019).

En yaygın kullanılan ve suş eldesinde ana karbon kaynağı glikozdur. Bakteriyel selüloz üretimine farklı karbon kaynaklarının etkisinin araştırıldığı çalışmalarda en fazla ürün verimliliği sırası ile gliserol, glikoz, fruktoz, maltoz, ksiloz, nişasta, inositol ve sakkaroz olacak şekilde bildirilmiştir.

Bakteriyel selüloz üretimi sırasında kullanılan bakterilerin azota ihtiyacı bulunmaktadır. Bu azot ihtiyacı maya ekstraktı, mısır ıslatma suyu ve kazein hidrolizatları gibi azot kaynakları kullanılarak karşılanabilmektedir. En çok tercih edilen ve kullanılan azot kaynakları maya özütü ve peptondur. Besi yerine azot kaynağı olarak $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ve $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ eklendiğinde önemli miktarlarda selüloz elde edildiği yapılan bazı çalışmalar sonucunda belirlenmiştir.

İçlerinde en verimli azot kaynağının $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ olduğu, en zayıf etkili olanların ise NH_4NO_3 ve NH_4Cl olduğu belirlenmiştir (Kılınç, 2019; Aydın, 2010). Literatürdeki birçok çalışmada, 25-30 °C'nin selülozik üretim için optimum sıcaklık olduğunu belirtilmiştir (Kılınç, 2019).

Bakteriyel selüloz üretiminde en iyi pH aralığının bakteri türüne bağlı olarak 4-7 arasında olduğu belirtilmiştir. Üretim sırasında pH değeri kadar sıcaklığında önemi büyüktür. Selülozun polimerizasyon derecesinin (DP) ve su tutma kapasitesinin en iyi olduğu sıcaklığın 28-30°C olduğu belirlenmiştir (Çoban ve Bıyık., 2008). 25°C'nin altında selüloz üretiminin gerçekleşmediği ve 35°C'nin üzerinde de selüloz veriminde azalmalar olduğu yapılan bazı çalışmalar tarafından belirlenmiştir (Aydın, 2010).

2.5 Bakteriyel Selüloz Kullanım Alanları

Günümüzde tıp ve eczacılık alanlarında bakteriyel selüloz ile yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır. Yapay damar üretimi, hidroksiapatit ile kemik dokusu iyileştirme, yara bantları, yanık tedavisi ve eklem protezi gibi uygulamaları yapılmaktadır (Gündüz vd., 2015).

İlaç endüstrisi, su arıtma, etanol üretimi, elektrik iletkenlerinde veya manyetik malzemelerde kullanılmaktadır (Wang et.al., 2019).

Bakteriyel selülozlardan elde edilen selülozik yara örtüleri medikal tekstiller alanında kullanılmaktadır. Yüksek saflık, güçlü mekanik özellikleri, yüksek su tutma kapasitesi gibi fiziko-kimyasal özelliklerinden nedeni ile, medikal alanda oldukça yaygın kullanım alanına sahiptir. Bakteriyel selüloz ayrıca steril edilebilmektedir. Bakteriyel selülozun elastik özelliği sayesinde bulunduğu yerin şeklini rahatça aldığı ve yaraya çok iyi yapışıp tutunduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, bakteriyel selülozun yara çevresinde nemli bir ortam sağlayarak yaraları daha hızlı iyileştirdiği ve gözenekli yapısının sızıntıları absorbladığını tespit edilmiştir (Koyutürk ve Soyaslan, 2016).



Şekil 2. 3 Bakteriyel selülozun yara sargısı olarak kullanımı (Sabbagh, F. et.al., 2019; Lustri, W. R. et.al., 2015)

Durgun kültürde üretilmiş olan bakteriyel selülozlar medikal tekstiller alanında yara sargılarında kullanılmaktadır. Örneğin Dermafill (yani Xylinum selüloz) selüloz membran sargısı yarı saydam, yarı opak bir biyosentetik selüloz membran sargısıdır. Yara iyileştirmesinde BC özelliklerini geliştirmek için kültür ortamına kitosan ve heparin eklenen çalışmalar da bulunmaktadır. Ayrıca kontakt lens, eldiven ve maskelerde de kullanıldığı görülmektedir. Kemik doku mühendisliği alanında kullanılması için mikro gözenekli yapıya sahip BC yapıları elde etmek amacıyla kültür ortamına parafin mumu mikroküreleri eklenen çalışmalar bulunmaktadır. Yara sargılarında kullanılan BC/glikoz ve BC/Dekstrin kompozit malzemeleri eldesi için kültür ortamına glukoz ve dekstrin de eklenmektedir. Bu kompozit malzemeler yüksek gözeneklilik ve biouyumluluk gibi özelliklere sahiptir (Çoban ve Bıyık., 2008; Wang et.al., 2019).

Bakteriyel selülozun kurutulması sonucunda ses dalgalarını iyi bir şekilde ilettiği belirlenmiştir ve bu özelliği sayesinde akustik membran olarak da kullanılabileceği belirtilmiştir.

Gıda sektöründe Nata de Coco, Nata de Pina (yiyecek olarak) ve Kombuçya Çayı (içecek olarak) olarak da değerlendirilmektedir. Nata de Coco’da karbon kaynağı olarak Hindistan cevizi kullanılırken, Nata de Pina’da ananas kullanılmaktadır. Fermentasyon sonucu oluşan ince selüloz plakası yıkanmakta, kaynatılmakta ve şeker şurubu içerisinde tatlı, meyve kokteyli ve jöle gibi gıda uygulamalarında kullanılmaktadır.

BS ile düşük kalorili gıda ürünleri üretilebileceği belirtilmektedir. Örneğin köftelere %10 oranında BS ilavesinin, köftenin duyusal ve raf ömründe kontrol örnekleriyle benzer özellikler gösterdiği, bu köftelerin sulu ve çiğnenebilir olduğu ve bu nedenle de emülsifiye et ürünlerinde yağ yerine ilave edilebilecek potansiyel bir ürün olarak kabul edilmektedir (Güzel ve Akpınar, 2018) Kompozit malzemelerde fiziksel ve mekanik özellikleri geliştirmek amacı ile dolgu malzemesi olarak da kullanılmaktadır (Gündüz vd., 2015).

Mekanik özelliklerinin çok iyi olması nedeni ile birinci kalite kağıt üretiminde de kullanılmaktadır. Kağıt üretiminde kullanılma nedenlerine yırtılma ve yıpranmalara dayanıklı, suyu emebilmesi, elastik ve geçirgen olmaları eklenebilir. Ayrıca bu özelliklerinden dolayı tarihi dokümanların tamirinde kullanılmaktadırlar. Bakteriyel selüloz ayrıca krem, tonik ve tırnak cilaları gibi ürünlerde de kullanılarak kozmetik alanında kullanılmaktadır (Çoban ve Bıyık., 2008). Bakteriyel selüloz ayrıca krem, tonik ve tırnak cilaları gibi ürünlerde de kullanılarak kozmetik alanında kullanılmaktadır (Çoban ve Bıyık, 2008).

3. METAL NANOPARTİKÜLLER

Nanopartikül kelimesini oluşturan ‘nano’ bileşeni Yunanca ‘cüce’ anlamına gelen nanos kelimesinden gelmektedir. Bir nanometre bir metrenin milyarda biridir (10⁻⁹). Nanoteknoloji, temelde yeni bir organizasyona ve yeni özelliklere sahip malzemeler oluşturmak için atomları, molekülleri ve nano boyutlu parçacıkları hassas ve kontrollü bir şekilde manipüle etmeyi amaçlamaktadır.

Nanoteknolojinin temelleri, parçacık boyutları nanometre aralığına düşürüldüğünde maddelerin özelliklerinin önemli ölçüde değiştiği gerçeğinde

yatmaktadır. Bir yığın malzeme nanometre aralığında bir veya daha fazla boyuta (uzunluk, genişlik veya kalınlık) sahip küçük boyutlu parçacıklara bölündüğünde, tek tek parçacıklar yığın malzemeninkinden farklı beklenmedik özellikler sergiler. Nanometre aralığı, bir malzemenin davranışının yığın malzemelerin “süreklilik benzeri” davranışından atom ve moleküllerin “kuantum benzeri” davranışına geçişiyle karakterize edilir.

Genellikle, nanomalzemeler boyutlardan en az biriyle sınırlı bir boyut aralığıyla tanımlanır. Bu aralık 1-100 nm, 0.1-100 nm, 100 nm'den küçük veya 500 nm'den küçük olabilir. En yaygın ve kabul gören aralık tanımı 1-100 nm aralığıdır (Mishra et.al, 2014).

Nanopartiküllerin tekstilde biriktirilmesi, çok işlevli malzemeler elde etmek için umut verici bir strateji olmuştur. Özellikle antimikrobiyal özellikler, yeni patojenlerin ortaya çıkması ve mevcut olanların yayılması nedeniyle oldukça değerlidir. Tekstil malzemelerini metal nanopartiküller ile işlevselleştirmek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu nedenle, antimikrobiyal özellikleri geliştirmek için kumaşların, ipliklerin ve liflerin metal nanopartiküller ile farklı yöntemlerle işlevselleştirilmesine ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Metal nanopartiküller ve tekstil malzemelerini birleştiren çalışmalar, sağlık ve hijyen ürünleri için enfeksiyon kontrolü ve bariyer malzemesi olarak gelişmiş özelliklere sahip antimikrobiyal malzemeler geliştirmek için değerli fırsatlar yaratmıştır (Abdullah vd., 2019; Mehravani et.al., 2021).

3.1 Nanopartikül Özellikleri

Metal nanopartiküller, yığın halindekielerden farklı olarak benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedir. Bu durum, spesifik elektronik yapılarla sonuçlanan kuantum boyutu etkisine bağlanmaktadır. Antimikrobiyal amaçlar için gümüş nanopartiküller (AgNPs) özellikle ilgi çekmiştir. Bununla birlikte, in vitro çalışmalar karaciğer, nöronal, epitelyal ve murin kök hücreleri üzerindeki toksik etkilerini göstermiştir. AgNP'ler ayrıca suda yaşayan organizmalarda toksisite ve bitkilerde birikim göstermiş, bu da besin zincirine girmelerine neden olmuştur. Bu

durum, antimikrobiyal etkiler elde etmek için diğer metallerin araştırılmasını da arttırmıştır (Mehravani et.al, 2017).

3.2 Metal Nanopartikül Çeşitleri

Birçok metalden elde edilen nanopartiküller gerek akademik alanda gerekse endüstride çeşitli kullanım alanları bulmuştur. Başlıca metal nanopartikülleri arasında gümüş, çinko, bakır ve titanyum örnek olarak verilebilmektedir (Erdoğan vd., 2019).

3.2.1 Çinko Oksit (ZnO)

ZnO, geniş bir uygulama yelpazesine sahip işlevsel, stratejik bir malzemedir. II-VI yarı iletken olarak bilinir, çünkü Zn ve O periyodik tabloda sırasıyla iki ve altı grupta sınıflandırılır. ZnO benzersiz bir optik, kimyasal algılama, yarı iletkenlik, elektrik iletkenliği ve piezoelektrik özelliklere sahiptir. Yakın-UV spektrumunda doğrudan geniş bant aralığı (3,3 eV), oda sıcaklığında yüksek eksitonik bağlanma enerjisi (60 meV) ve doğal n-tipi elektrik iletkenliği ile karakterize edilmektedir. Bu özellikler ZnO'nun çeşitli alanlarda dikkate değer uygulamalara sahip olmasını sağlar. ZnO'nun geniş bant aralığının, elektrik iletkenliği ve optik soğurma gibi özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Organik ve inorganik malzemelere göre daha uzun dayanıklılığı, daha yüksek seçiciliği ve ısı direnci vardır. Nano boyutlu ZnO'nun sentezi, yeni antibakteriyel ajan olarak kullanımının araştırılmasına yol açmıştır. Eşsiz antibakteriyel ve antifungal özelliklerine ek olarak, ZnO-NP'ler yüksek katalitik ve yüksek fotokimyasal aktivitelere sahiptir. ZnO, UVA (315-400 nm) ve UVB (280-315 nm) bölgelerinde antibakteriyel yanıtta faydalı olan ve kozmetikte UV koruyucu olarak kullanılan yüksek optik absorpsiyona sahiptir (Arığ, 2010; Sirelkhatim et.al., 2015; Erdoğan vd., 2019).

3.2.2 Gümüş (Ag)

Bakteriyel selüloz antimikrobiyal özelliği bilinen gümüş elementi ile nanokompozit bir yapı oluşturabilmektedir. Bu oluşturulan nanokompozit yapı yüksek oranlarda antimikrobiyal ve antifungal yapıda olmaktadır (İlmenöz, 2020).

Gümüş iyonları bakterilere karşı çeşitli şekillerde çalışmaktadır; gümüş iyonları, önemli maddelerin hücre zarı boyunca ve hücre içinde taşınması için önemli olan enzim ve proteinlerin tiyol grupları ile etkileşime girmektedir ve gümüş iyonları, bakteri hücre duvarına ve dış bakteri hücrelerine bağlanarak işlevlerini değiştirmektedir. Dolayısıyla gümüş metali ve bileşiklerinin, yaranın enfeksiyonunu önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir. Gümüş metali, fizyolojik sistemde yavaş yavaş gümüş iyonlarına dönüşmektedir ve bakteri hücreleriyle etkileşime girmektedir, dolayısıyla gümüş iyonları normal insan hücrelerine zarar verecek kadar yüksek düzeylerde olmamaktadır. Gümüş nanopartikülleri, yüksek bir spesifik yüzey alanına ve yüksek yüzey atomu fraksiyonuna sahiptir ve bu da yüksek antimikrobiyal aktiviteye yol açmaktadır (Maneerung et.al., 2008; Abdullah vd., 2019; Aytül, 2019).

3.2.3 Bakır (Cu)

Cu NP'nin sentezi hava oksidasyonuna duyarlı olduğundan oldukça zordur. Oksidasyonun önlenmesi, organik ligand, biyolojik ligand ve polimerler gibi sınırlama ajanlarının yaygın olarak kullanılması gerekmektedir. Nanopartiküllerin boyutu ve şekli öncül konsantrasyonu ve reaksiyon koşulu ile kontrol edilebilmektedir.

Cu nanoparçacıkları, bakteriyel filamentasyon ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesi, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve ayrıca bakteriyel hücrelerde DNA bozulması yoluyla hücre öldürülmesine karşı belirgin bir etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalarda, bakır nanopartiküllerinin mantarlardan ziyade bakterilerde daha fazla önleyici aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Bakır nanopartikülleri mikroorganizmalar için oldukça toksiktir, ancak bu antimikrobiyal aktivite büyük ölçüde sentez koşulları, boyut, toplanma durumu, yüzeyinde bulunan polimerler ve sulu çözeltilerdeki nanopartiküllerin yükü ve ayrıca mikroorganizmaların türü gibi faktörlere bağlıdır (Powar et.al., 2019).

3.3 Nanopartikül Üretimi

Metalik nanopartiküller birçok farklı şekilde sentezlenebilir. Nanoparçacıkların (NP'ler) sentezlenmesine yönelik biyolojik yöntemleri incelemek için, karşılaştırmaların yapılmasına ve iyileştirme için bir yöntemin belirlenmesine olanak sağlamak üzere mevcut kimyasal ve fiziksel yöntemlerin net bir şekilde anlaşılması gerekmektedir. Literatürde metalik nanopartiküllerin sentezi üzerine çok sayıda araştırma mevcuttur. Araştırmalar, metalik nanoparçacıkların sentezlenmesi için yoğun olarak prokaryotlara odaklanmıştır. Çevrede bol miktarda bulunmaları ve zorlu koşullara uyum sağlama yetenekleri nedeniyle bakteriler nanopartikül sentezi için iyi bir seçimdir. Ayrıca hızlı büyürler, yetiştirilmeleri ucuzdur ve manipüle edilmeleri kolaydır. Sıcaklık, oksijenasyon ve inkübasyon süresi gibi büyüme koşulları kolayca kontrol edilebilir. He ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, inkübasyon sırasında büyüme ortamının pH'ının değiştirilmesinin farklı boyut ve şekle sahip nanopartiküllerin üretimiyle sonuçlandığı tespit edilmiştir. Optik, katalizör veya anti-mikrobiyal gibi farklı uygulamalar için farklı boyutlarda nanopartiküller gerektiğinden, bu tür özelliklerin kontrol edilmesi önemlidir (Thakkar 2010; Erdoğan vd., 2019; Günay vd., 2021).

3.4 Nanopartikül Kullanım Alanları

Nano parçacıklar çok geniş alanda kullanım alanı bulmaktadır. Tarım alanlarında çok fazla kullanılan herbisit ve pestisit ilaçlarına alternatif olarak antimikrobiyal ajanlar olarak AgNP'lerin kullanımının araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar sonucu AgNP'lerin oldukça ekonomik ve etkili olduğu belirlenmiştir (Abdullah vd., 2019; Erdoğan vd., 2019).

ZnO nanoyapıları elektronik sektöründe varistör yapımında, biyosensör uygulamaları için üretilen elektrotlarda, boya ile duyarlı hale gelen güneş pillerinde elektrot malzemesi olarak, ışık yayan diyot uygulamaları gibi alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca kimya sektöründe antibakteriyel ve mantar önleyici ajan olarak, boya yapımında koku önleyici, UV emici özellik kazandırmak için, kozmetik uygulamalarda kullanılmaktadır (Arıg, 2010).

Çinko oksit (ZnO) nano yapıları sahip oldukları optik ve elektriksel özelliklerinden dolayı araştırmacıların dikkatini çeken çalışma konularındandır (Erdoğan vd., 2019).

Cu nanopartikülleri antibakteriyel farmasötiklerde, tekstil fotokatalizinde, elektrik iletkenlerinde, biyokimyasal sensörlerde, oksidatif kapasitede kullanılmaktadır. Cu NP, plazma yüzey rezonans özelliklerinden dolayı elektronik sistemler için soğutma sıvılarına ve iletken mürekkeplere potansiyel olarak tespit edilmiştir.

Bakterisidal yara bantları, bandajlar ve ilaçların üretiminde bakır nanopartiküllerinin kullanımı biyomedikal alanda büyük bir potansiyel göstermektedir (Powar et. al., 2019).

3.5 Önceki Çalışmalar

Liliana Melro ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, metal nanopartiküller (Au NPs, Cu NPs ve Cu₂O NPs) uygulanmış bakteriyel nanoselüloz yüzeylerin, yara enfeksiyonundan sorumlu en yaygın iki bakteri olan *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı mükemmel etkili olduğunu göstermiştir (Melro et.al., 2023)

Sofu çalışmasında sirke bakterileri tarafından üretilen bakteriyel selülozun nano ölçekteki gümüşü absorbe ederek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ag-BC Nanokompozit tüm patojen bakterilere karşı antibakteriyel inhibisyon bölgesi göstermiş, özellikle *E. coli* bakterisine karşı daha güçlü etki göstermiştir (Sofu, 2019).

Maneerung ve arkadaşları, çalışmalarında dondurularak kurutulmuş gümüş nanopartikül emdirilmiş bakteriyel selülozun *Escherichia coli* (Gram-negatif) ve *Staphylococcus aureus*'a (Gram-pozitif) karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermişlerdir (Maneerung et.al., 2008).

Maria ve arkadaşları çalışmalarında, *Gluconacetobacter xylinus* tarafından üretilen Ag nanopartikül emilmiş bakteriyel nanoselülozun, gümüş nanopartiküllerin varlığı nedeniyle *Escherichia coli*'ye karşı neredeyse %100 antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Maria et.al., 2010).

Hu ve arkadaşları çalışmalarında bakteriyel selülozun (*Acetobacter xylinum* tarafından üretilen) optimize edilmiş koşullar altında ZnO nanopartiküllerinin toplanmasını önlemede önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Hu et.al., 2010).

Mocanu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BC-ZnO-propolis filmlerinin antimikrobiyal sinerjik etkisini *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans*'a karşı değerlendirmişlerdir. Deneysel sonuçlar BC-ZnO'nun Gram-negatif ve ökaryotik hücreler üzerinde hiçbir etkisi olmadığını ortaya koymuştur (Mocanu et.al., 2019).

Berndt ve arkadaşları, çalışmalarında bakteriyel nanoselülozu Ag metal nanopartikülleri ile modifiye ederek *Escherichia coli* bakterisi üzerindeki etkinliğini incelemişlerdir. Elde ettikleri hibritin *Escherichia coli* bakterisi üzerinde güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, uyguladıkları agar difüzyon testleri, bu aktivitenin modifiye edilmiş sargının kendisiyle sınırlı olduğunu ve metal nanopartiküllerin yaraya salınmasını önlediğini doğrulamıştır. Bu nedenle, üretilen hibritler potansiyel olarak yeni antimikrobiyal yara örtüleri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Berndt et.al., 2013).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında medikal alanlarda kullanılmak üzere üretilmiş olan metal nanopartikülleri ile modifiye edilmiş yüksek saflıkta selüloz içeriğine sahip bakteriyel nanoselüloz sentezlenmiş ve özellikleri incelenmiştir. Elde edilen modifiye edilmiş bakteriyel nanoselülozun kimyasal ve fiziksel özellikleri farklı testler ve analizler kullanılarak incelenmiştir.

4.1. Gereç

Tez çalışmasının deneysel aşamaları Minho Üniversitesi/ Portekiz, 2C2T (Centre for Textile Science and Technology) laboratuvarlarında yürütülmüştür. Tez çalışmasında bakteriyel selüloz üretimi için kullanılmış olan *Glucoacetobacter hansenii* bakterisi Minho Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiştir. Bakteriyel selülozun modifikasyonu ve üretimi için gerekli olan metal nanopartiküller (Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O) ve kimyasallar Minho Üniversitesi 2C2T (Centre for Textile Science and Technology) laboratuvarlarından temin edilmiştir.

Modifikasyon işlemlerinde SkySpring Nanomaterials, Inc ticari markasına ait Ag nanopartikülleri (nanopartikül boyutu: 20-30 nm) ve Aldrich ticari markasına ait ZnO nanopartikülleri (nanopartikül boyutu: <50 nm) kullanılmıştır. Tez çalışmalarında Cu ve Cu₂O nanopartikülleri sentezinde Merck ticari markasına ait CuSO₄·5H₂O (bakır sülfat) kullanılmıştır. Elde edilen nanopartiküllerin boyutları sentez sonrasında Cu için 53,9 nm, Cu₂O için 67,6 nm olarak ölçülmüştür.

Karakterizasyon işlemlerinden olan FT-IR analizi için SHIMADZU IRAffinity-1S test cihazı kullanılmıştır.

4.2. Yöntem

Bu tez çalışmasında bakteriyel nanoselüloz üretimi için düşük teknoloji gerekliliği, düşük maliyet ve üretim kolaylığı nedeni ile statik kültür yöntemi

kullanılmıştır. Statik kültür yöntemleri arasından ise Hestrin-Schramm kültür ortamı kullanılmıştır.

4.2.1. Hestrin-Schramm Kültür Ortamının Hazırlanması

Glucoacetobacter hansenii bakterisinden selüloz elde etmek için öncelikle 1 litre Hestrin-Schramm kültür ortamı hazırlanmıştır. 1 litrelik kültür ortamının hazırlanması için aşağıdaki tabloda 4.1’de belirtilmiş olan reçete takip edilmiştir.

Tablo 4. 1 Hestrin-Schramm kültür ortamı

KULLANILAN KİMYASALLAR	MİKTAR (g)
Maya Özütü	5
Pepton	5
MgSO ₄	2,5
Na ₂ HPO ₄	2,7
Sitrik Asit	1,15
Glikoz	20

Yukarıdaki reçetede verilmiş olan glukoz dışındaki tüm kimyasallar 900 ml saf su içerisinde karıştırılmıştır. Viskozite özelliği nedeni ile glukoz ayrı bir kapta 100 ml saf su ile karıştırılarak hazırlanmış ve daha sonradan kültür ortamına ilave edilmiştir. Hazırlanmış olan kültür ortamı sterilize edilmek üzere otoklavda 121°C’de yaklaşık 2 saat işleme tabi tutulmuştur.

4.2.2. Bakteriyel Selüloz’un Üretimi

Bakteriyel selüloz üretimi için *Glucoacetobacter hansenii* bakterisi kullanılmıştır. Minho Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilen bakteriler, önceden hazırlanmış Hestrin-Schramm kültür ortamına sterilize edilmiş ortamda yaklaşık 2 mm boyutunda eklenmiştir. Bakteri ve kültür ortamı karıştırıldıktan sonra 100 ml Erlenmeyer şişelerine dağıtılmış ve 40°C’ye ayarlanmış etüve yerleştirilmiştir. Etüvde 10-15 gün bekletildikten sonra deneylerde kullanılmak üzere Şekil 4.1 ve Şekil-4.2’de de görülen, istenilen boyutlarda bakteriyel selüloz elde edilmiştir. Elde edilen bakteriyel selülozlar sterilize edilmek üzere 121°C’de otoklava yerleştirilmiştir.



Şekil 4. 1 Kültür ortamında elde edilen bakteriyel selülozlar



Şekil 4. 2 Elde edilen bakteriyel selüloz

Sterilizasyondan sonra, bakteriyel selülozlar ağartma için NaOH çözeltisi ile muamele edilmiştir. NaOH çözeltisi Tablo-4.2’de verilmiş olan reçeteye uygun olarak hazırlanmıştır.

Tablo 4. 2 Bakteriyel selülozun ağartılması

KULLANILAN KİMYASAL	MİKTAR (1 lt için)
Saf Su	1 lt
NaOH	40 g

Bakteriyel selülozlar NaOH çözeltisi içinde manyetik bir karıştırıcı ile karıştırılmış ve selülozun rengi turuncu/sarıdan beyaza dönene kadar NaOH çözeltisi günde iki kez değiştirilmiştir. BC beyaza döndüğünde NaOH yerine saf su eklenilmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırmaya devam edilmiştir. Çözeltinin pH değeri her gün kontrol edilmiş ve istenen değere ulaşana kadar (pH: 6-7) günde iki kez saf su değiştirilmiştir.



Şekil 4. 3 NaOH çözeltisi içerisinde bakteriyel selülozun ağartma işlemi

4.2.3. Metal Nanopartikül Çözeltilerinin Hazırlanması

Bu çalışmada modifikasyonlarda kullanılmak üzere 4 farklı metal nanopartikül çözeltisi hazırlanmıştır. Bunlar sırasıyla, Gümüş (Ag), Çinko oksit (ZnO), Bakır (Cu) ve Bakır (I) oksit (Cu₂O)’tir.

4.2.3.1. Gümüş (Ag) Nanopartikülü Çözeltisinin Hazırlanması

5 adet bakteriyel selüloz numunesinde kullanılmak üzere 75 ml Ag NPs çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltinin hazırlanmasında aşağıdaki adımlar izlenmiştir;

- 75 mg Ag nanoparçacık (20-30 nm) 50 ml ultra saf su ile karıştırılmıştır.
- Çözelti 15 dakika boyunca ultrason ile muamele edilmiştir.
- 15 dakika sonra ultrasondan alınan çözeltiye 25 ml ultra saf su eklenmiştir.
- Toplam 75 ml çözelti 20 dakika daha ultrason cihazı ile muamele edilmiştir.
- Ultrasondan alınan çözelti son olarak TIP Ultrasonda 40°C'de 20 dakika muamele edilmiştir.

Tüm işlemler sonunda içerisinde Ag nanopartikülleri bulunan siyah renkli bir çözelti elde edilmiştir.

4.2.3.2. Çinko Oksit (ZnO) Nanopartikül Çözeltisinin Hazırlanması

5 adet bakteriyel selüloz numunesinde kullanılmak üzere 75 ml ZnO NPs çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltinin hazırlanmasında aşağıdaki adımlar izlenmiştir;

- 75 mg ZnO Nanoparçacık (50 nm) 50 ml ultra saf su ile karıştırılmıştır.
- Çözelti 15 dakika boyunca ultrason cihazında muamele edilmiştir.
- 15 dakika sonra ultrasondan alınan çözeltiye 25 ml ultra saf su ilave edilmiştir.
- Toplam 75 ml çözelti 20 dakika daha ultrason ile muamele edilmiştir.
- Ultrasondan alınan çözelti son olarak TIP Ultrasonda 40°C'de 20 dakika muamele edilmiştir.

Tüm işlemler sonunda içerisinde ZnO nanopartikülleri bulunan beyaz renkli bir çözelti elde edilmiştir.

4.2.3.3. Bakır (Cu) Nanopartikül Çözeltisinin Hazırlanması

Sentez için kullanılacak tüm kimyasallar için ayrı ayrı 100 ml stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltiler için Tablo 4.3'te belirtilen reçete kullanılmıştır.

Tablo 4. 3 Stok Bakır (Cu) çözeltisi

KULLANILAN KİMYASALLAR	MİKTAR (100 ml STOK ÇÖZELTİ İÇİN)
Bakır (II) Sülfat (CuSO ₄)	0,25 g
Askorbik Asit	1 g
Sodyum Hipofosfit	0,25 g
NaOH	0,176 g

Stok çözeltiler, tüm kimyasalların ayrı beherlerde 100 ml distile su ile karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

Üç boyunlu balona önceden 100 ml distile su eklenmiştir. Daha sonra manyetik karıştırıcı 65°C sıcaklığa ve 375 rpm'ye ayarlanmıştır.

100 ml suyun içine sırasıyla

1. 30 ml CuSO₄
2. 30 ml askorbik asit
3. 30 ml sodyum hipofosfit
4. Tekrar 10 ml CuSO₄ hızlıca eklenmiştir.

Sıcaklık 85-90°C'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 1 saat bu sıcaklıkta tutulmuş ve kırmızı-kahverengi bir çözelti elde edilmiştir.

Tüm işlemler sonunda pembe-kırmızı bir çözelti elde edilir.



Şekil 4. 4 Üç boyunlu balonda bakır oksit sentezi

4.2.3.4. Bakır (I) Oksit (Cu_2O) Nanopartikül Çözeltisinin Hazırlanması

Sentez için kullanılacak tüm kimyasallar için ayrı ayrı 100 ml stok çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltiler için Tablo 4.4’de verilen miktarlar kullanılmıştır.

Tablo 4. 4 Stok Bakır (I) Oksit çözeltisi

KULLANILAN KİMYASALLAR	MİKTAR (100 ml STOK ÇÖZELTİ İÇİN)
Bakır (II) Sülfat (CuSO_4)	0,25 g
Askorbik Asit	1 g
Sodyum Hipofosfit	0,25 g
NaOH	0,176 g

Stok çözeltiler, tüm kimyasalların ayrı beherlerde 100 ml distile su ile karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

Üç boyunlu balona önceden 100 ml distile su eklenmiştir. Daha sonra manyetik karıştırıcı 65°C sıcaklığa ve 375 rpm'ye ayarlanmıştır.

100 ml suyun içine sırasıyla

1. 30 ml CuSO_4
2. 30 ml askorbik asit
3. 30 ml sodyum hipofosfit
4. 30 ml NaOH
5. Tekrar 10 ml CuSO_4 hızlıca eklenmiştir.

Sıcaklık 85-90°C'ye yükseltilmiş ve yaklaşık 1 saat bu sıcaklıkta tutulmuştur. Tüm işlemler sonunda sarı-turuncu renkli bir çözelti elde edilir.

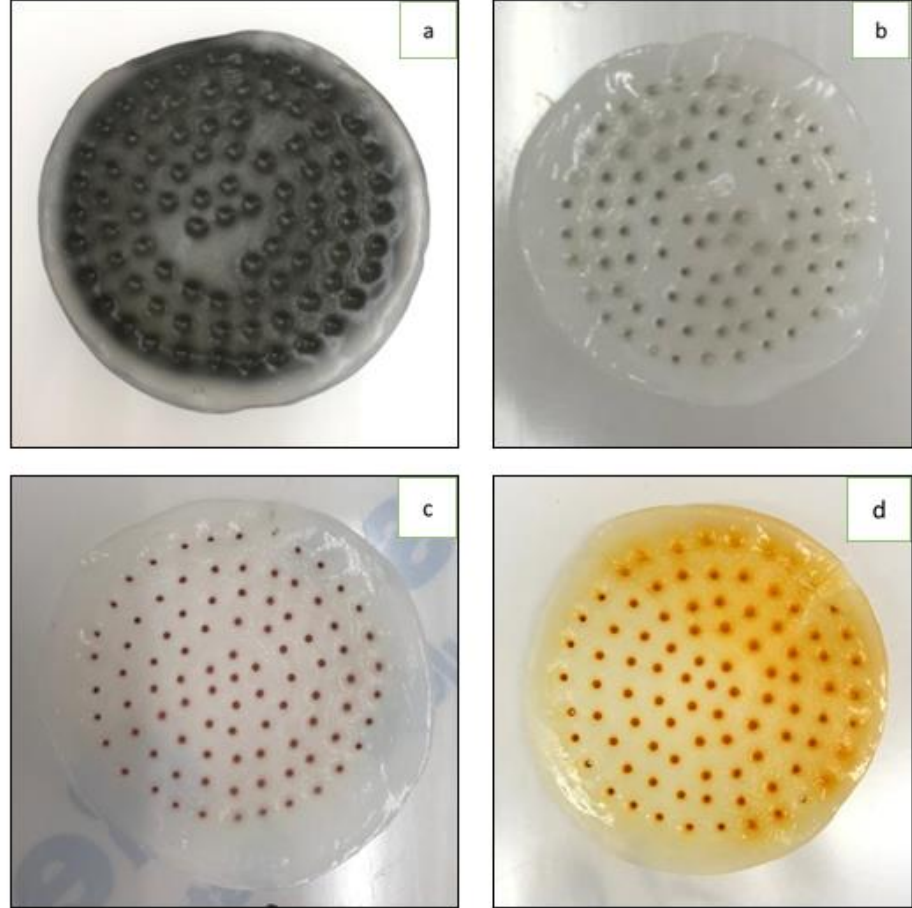
4.2.4. Bakteriyel Selüloz'un Metal Nanopartikülleri ile Modifikasyonu

Nanopartikül içeren çözeltilerin bakteriyel selüloza adsorbsiyonu için hava basınçlı filtreleme (vacuum filtration) işlemi uygulanmıştır (Şekil 4.5). Bu işlemin mantığı; filtre sisteminin hava basıncı sağlayacak olan bir pompa sistemine bağlanması ve elde edilen hava basıncı ile çözeltinin bakteriyel selüloz içerisinden geçirilerek modifikasyonun sağlanmasıdır.



Şekil 4. 5 Hava Basınçlı Filtreleme Sistemi

Modifikasyon sırasında 6 cm ϕ nda seramik filtre kullanılmıştır. Seramik filtrenin içersine 6 cm ϕ nda yuvarlak şekilde kesilmiş olan bakteriyel selüloz yerleştirilmiştir. Çözelti bakteriyel selülozun üzerine dökülmeden önce adsorbsiyon işleminin daha etkili olabilmesi için, filtre ile selüloz arasındaki hava katmanı basınçlı pompa sistemi ile giderilmiştir. Ardından 90 kPa değerinde hava basıncı etkisi altında bakteriyel selülozun üzerine nanopartikül çözeltisi dökülmüştür. Çözeltinin hava basıncı etkisi ile selüloz içersinden geçerken nanopartiküllerin bakteriyel selüloza adsorbsiyonu sağlanmaktadır. Bu işlem yaklaşık olarak 10-15 dk arası sürmektedir. Bakteriyel selüloza nanopartiküllerin adsorbsiyonu sağlandıktan sonra kuruması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüm bu işlem her bir nanopartikül çözeltisi için ayrı ayrı uygulanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4. 6 Modifikasyon Sonrası Bakteriyel Selüloz Numuneleri a-BNC/Ag, b-BNC/ZnO, c-BNC/Cu, d-BNC/Cu₂O]

4.2.5. Karakterizasyon İşlemleri

Tez kapsamında, antibakteriyel aktiviteye sahip nanokompozitlerin bakteriyel nanoselüloz üzerindeki immobilizasyon etkilerinin incelenmesi amacıyla çeşitli karakterizasyon teknikleri kullanılmıştır. Bu teknikler arasında FTIR-ATR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi-Attenuated Total Reflectance), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM-EDS), Atomik Absorpsiyon ve antimikrobiyal analiz (AATCC 100 – TM100'e göre) bulunmaktadır. FTIR-ATR analizi, nanokompozitlerin kimyasal bileşimlerini ve yapılarını belirlemek için kullanılmıştır. SEM-EDS, nanokompozitlerin morfolojik yapılarını ve dağılımlarını incelemek için kullanılmıştır. Atomik absorpsiyon, nanopartiküllerin yoğunluğunu ve dağılımını analiz etmek için önemlidir. Son olarak, antimikrobiyal analiz, nanokompozitlerin bakteriyel büyümeyi inhibe etme yeteneklerini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamlı analizler, nanokompozitlerin bakteriyel nanoselüloz üzerindeki etkilerini anlamak ve potansiyel uygulamalarını belirlemek için önemli bir bilgi sağlamaktadır.

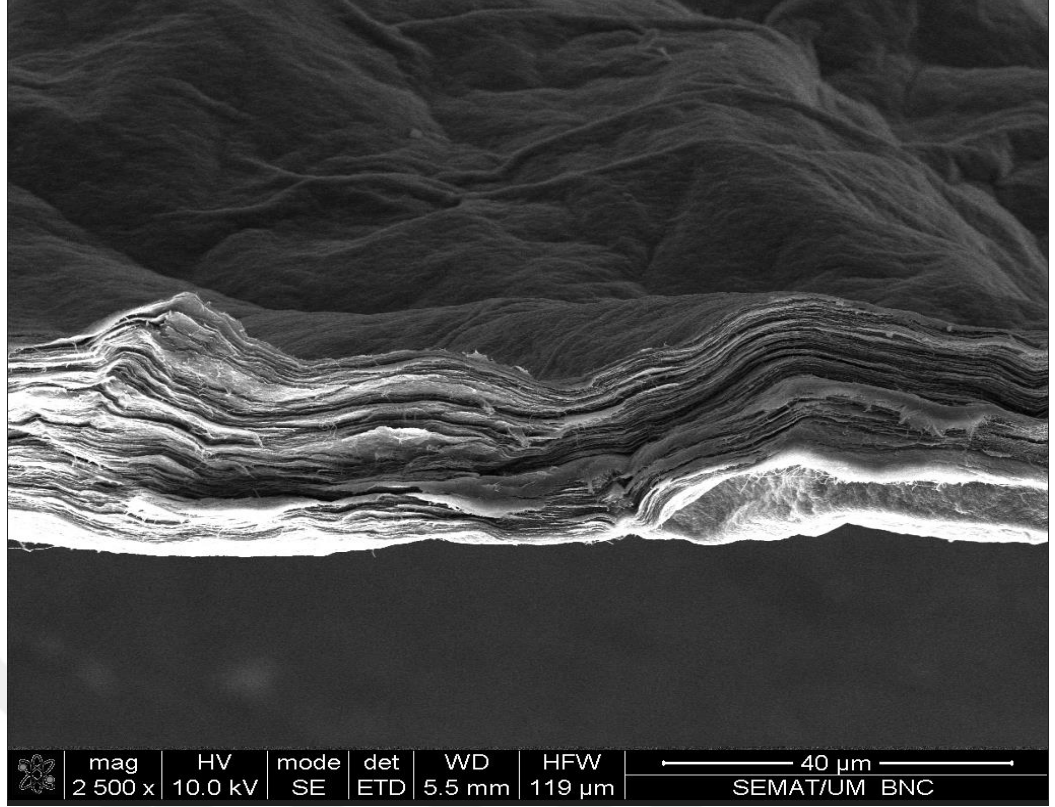
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

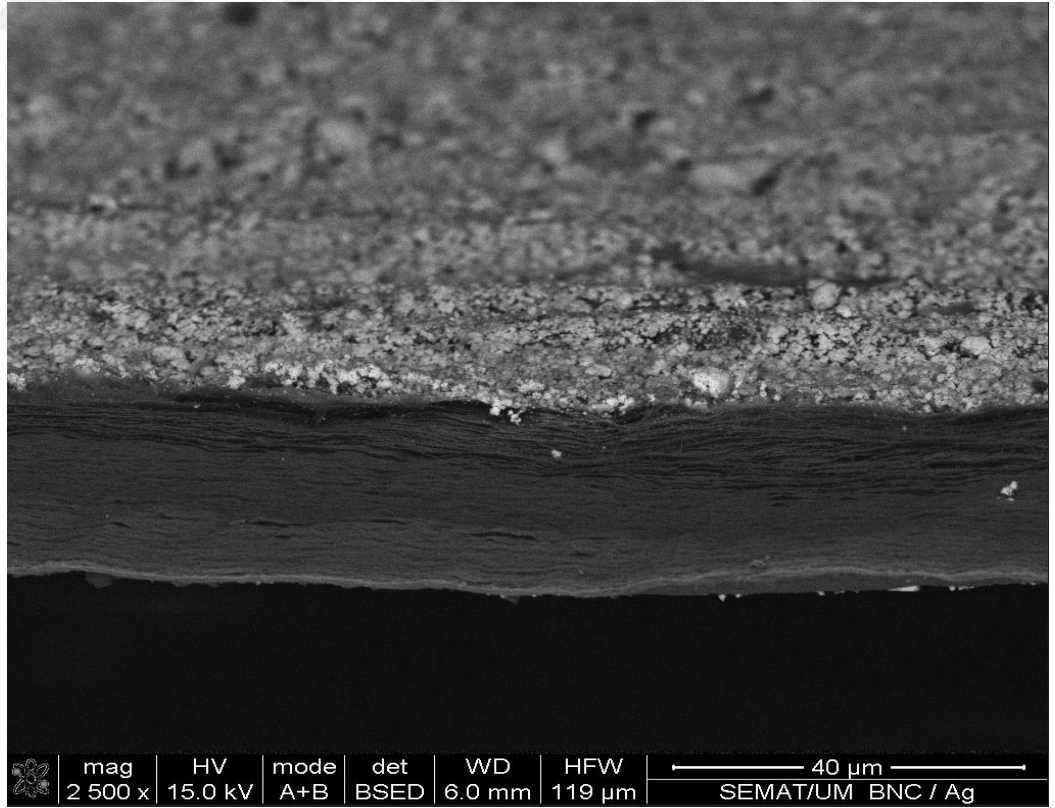
Bakteriyel nanoselüloz numunelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri, numunelerin morfolojisini ve yapısal özelliklerini detaylı bir şekilde incelemek amacıyla elde edilmiştir.

Bu görüntüler, numunelerin yüzey morfolojisini olası nanopartikül dağılımını belirlemek için kullanılmıştır. Elde edilen SEM görüntüleri, Şekil 5.1-5.10'da detaylı bir şekilde sunulmuştur.

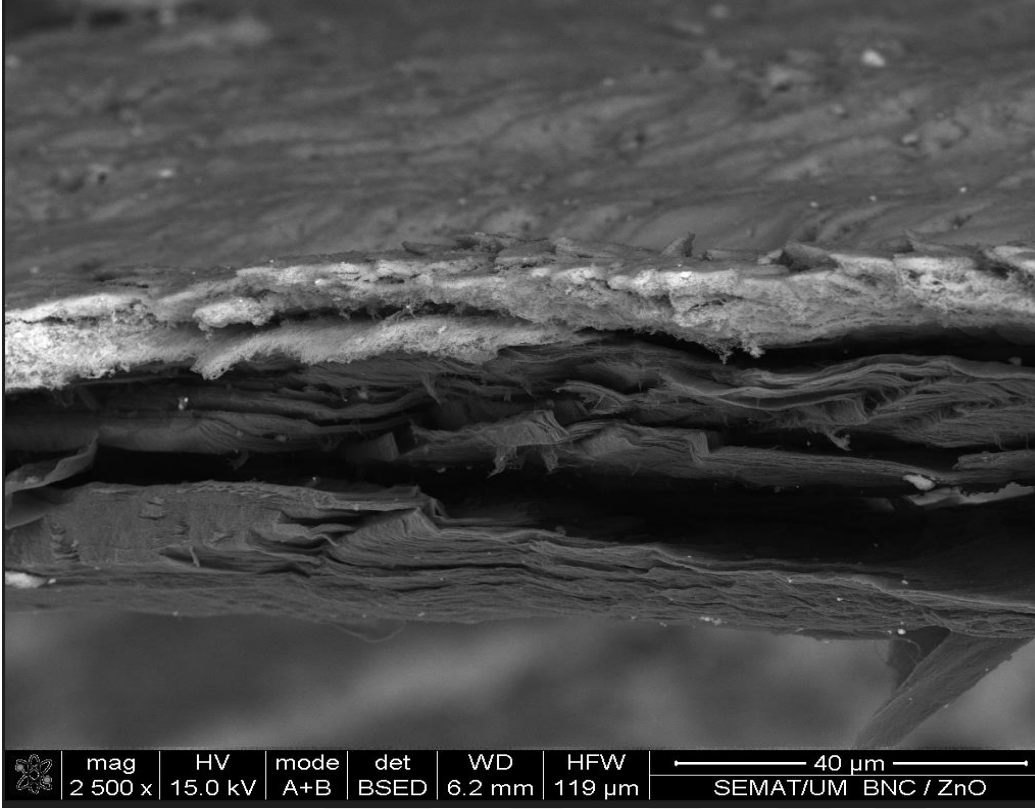
Bu görüntüler, bakteriyel nanoselüloz matrisindeki yapısal özellikleri görsel olarak temsil etmekte olup, nanokompozitlerin tasarımı ve karakterizasyonu için önemli bir kaynak sağlamaktadır.



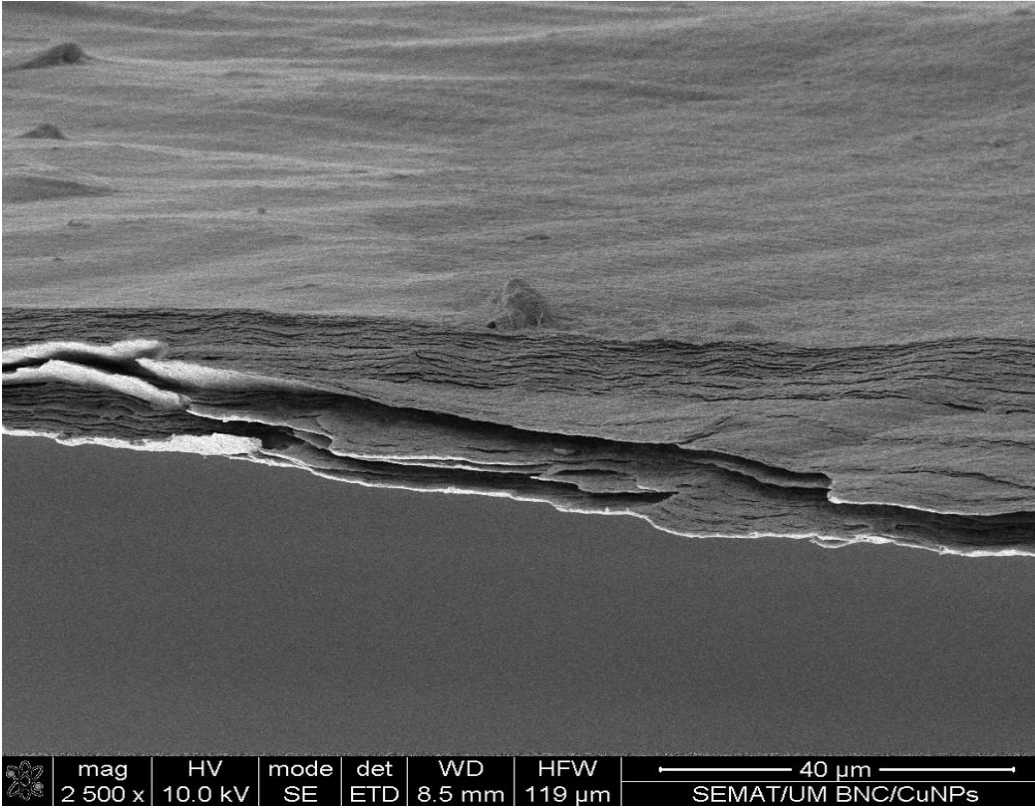
Şekil 5.1 BNC numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü



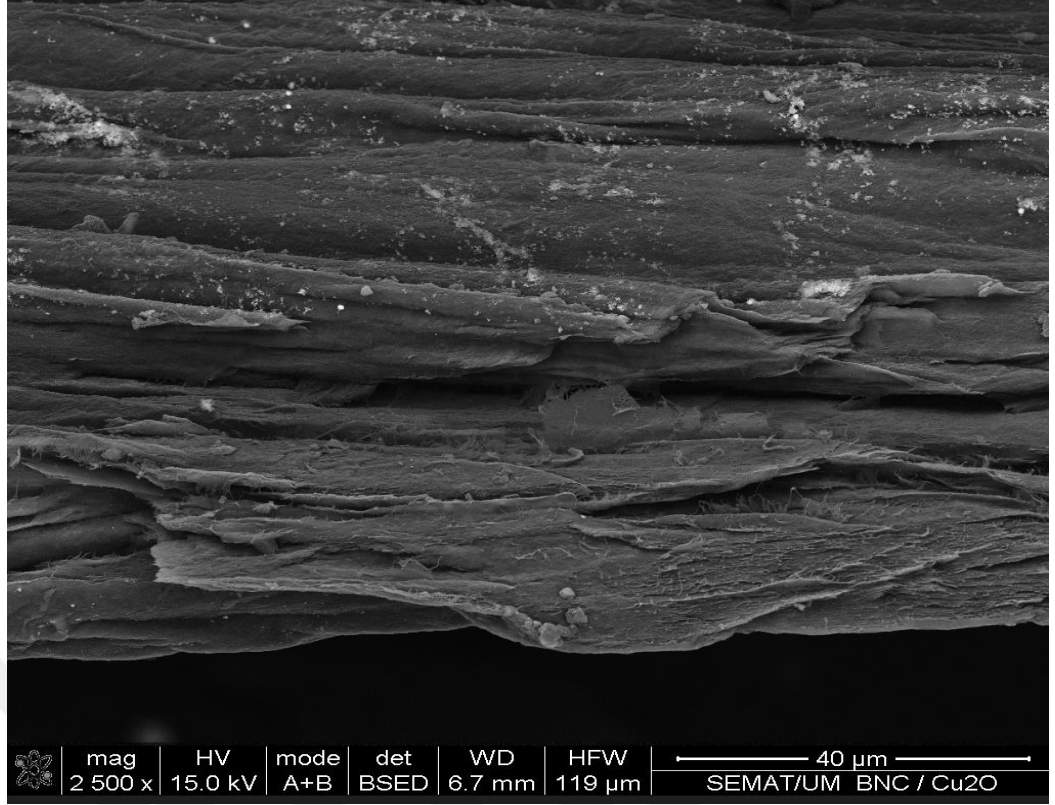
Şekil 5.2 BNC/Ag numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü



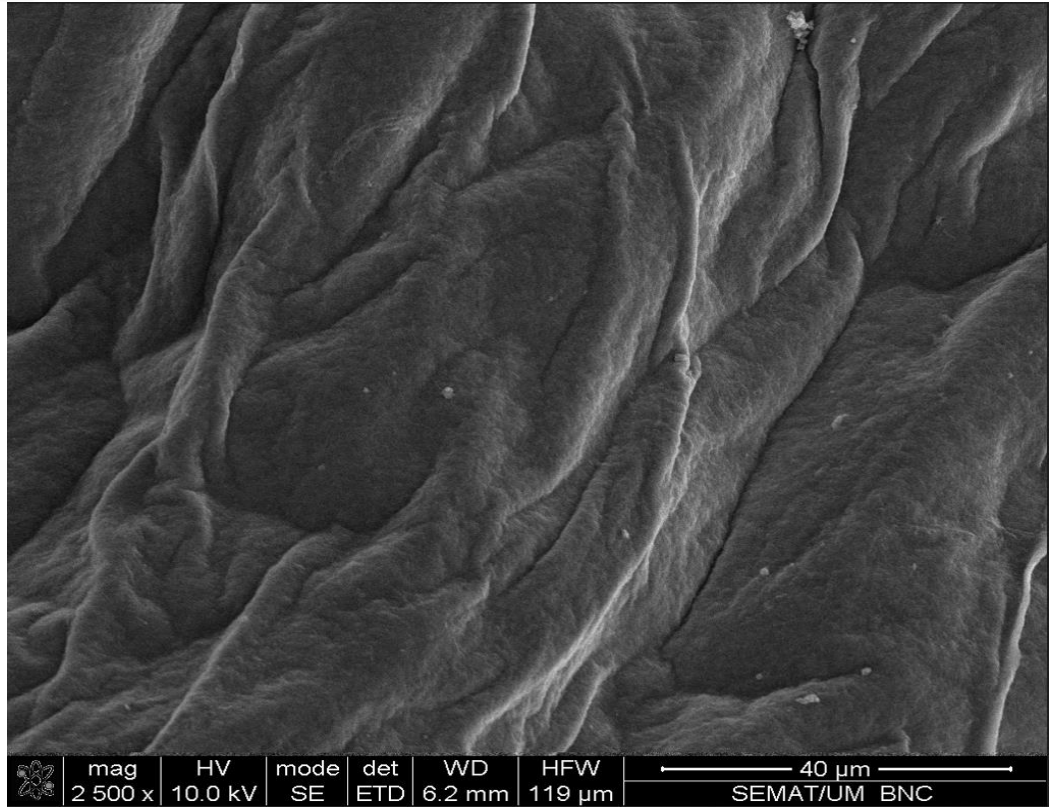
Şekil 5.3 BNC/ZnO numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü



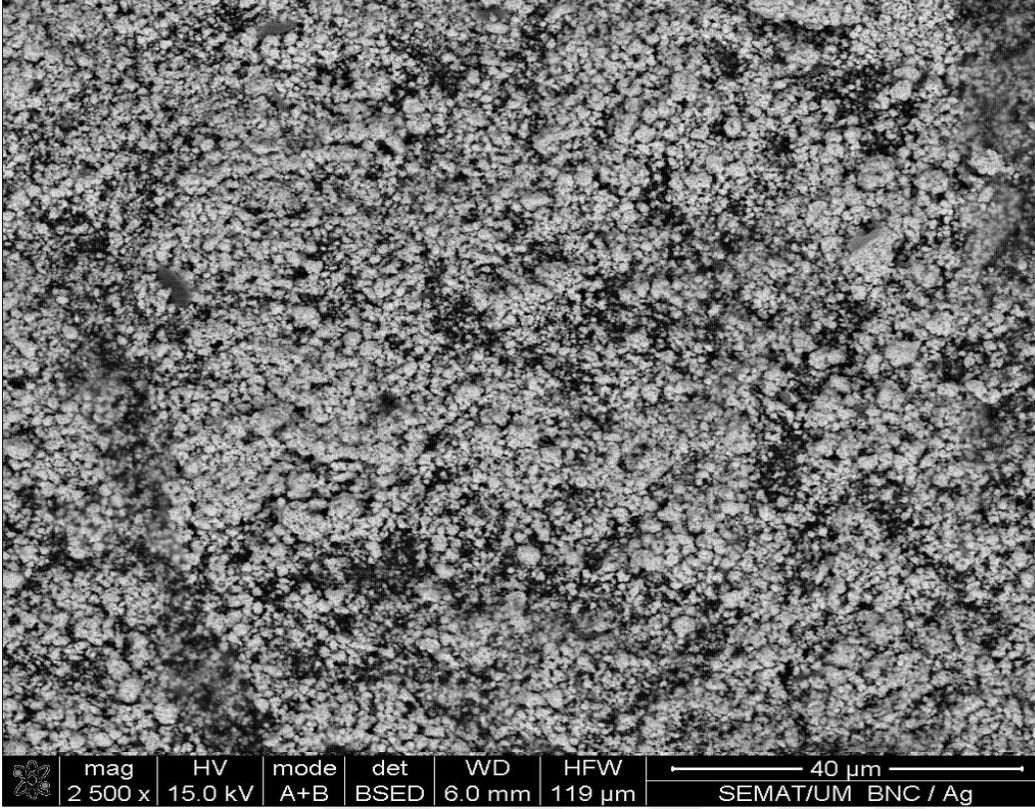
Şekil 5.4 BNC/Cu numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü



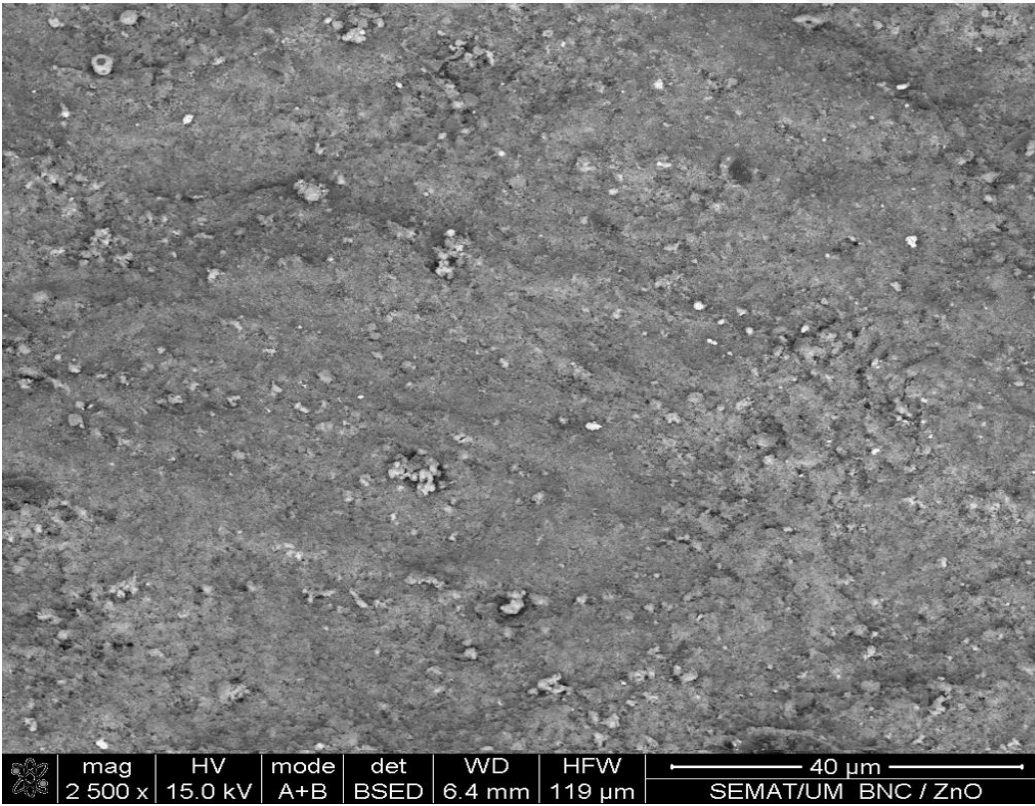
Şekil 5.5 BNC/ Cu₂O numunesinin enine kesitinin SEM görüntüsü



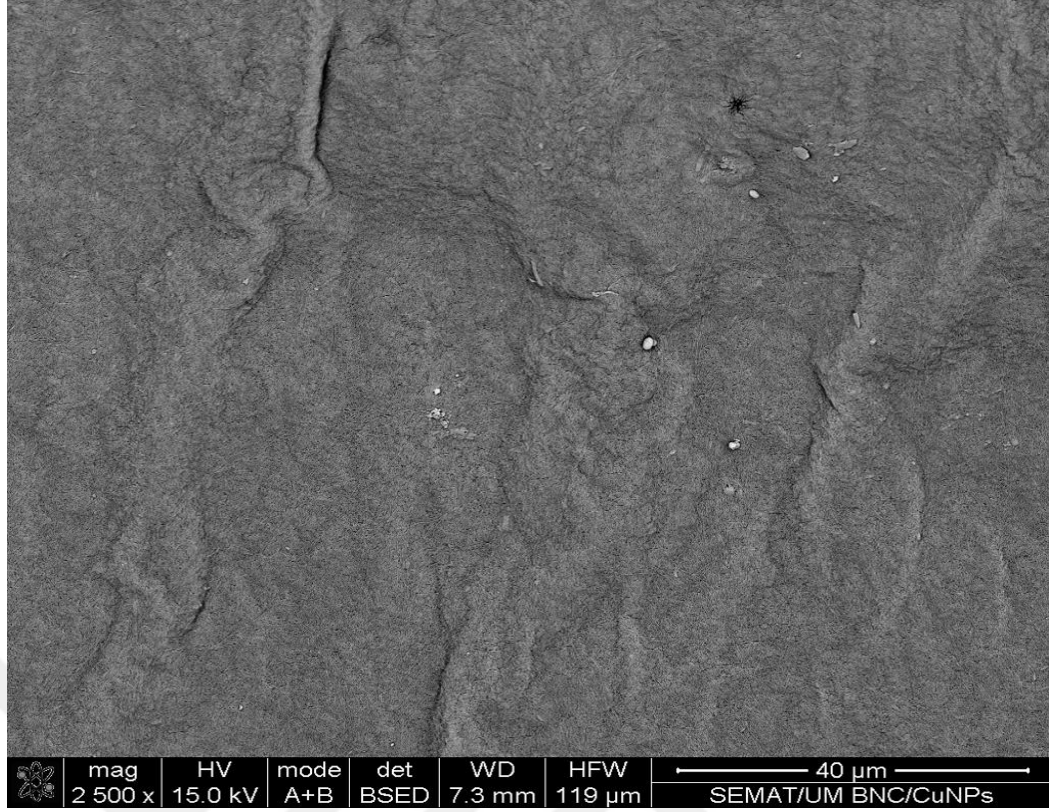
Şekil 5.6 BNC numunesinin boyuna SEM görüntüsü



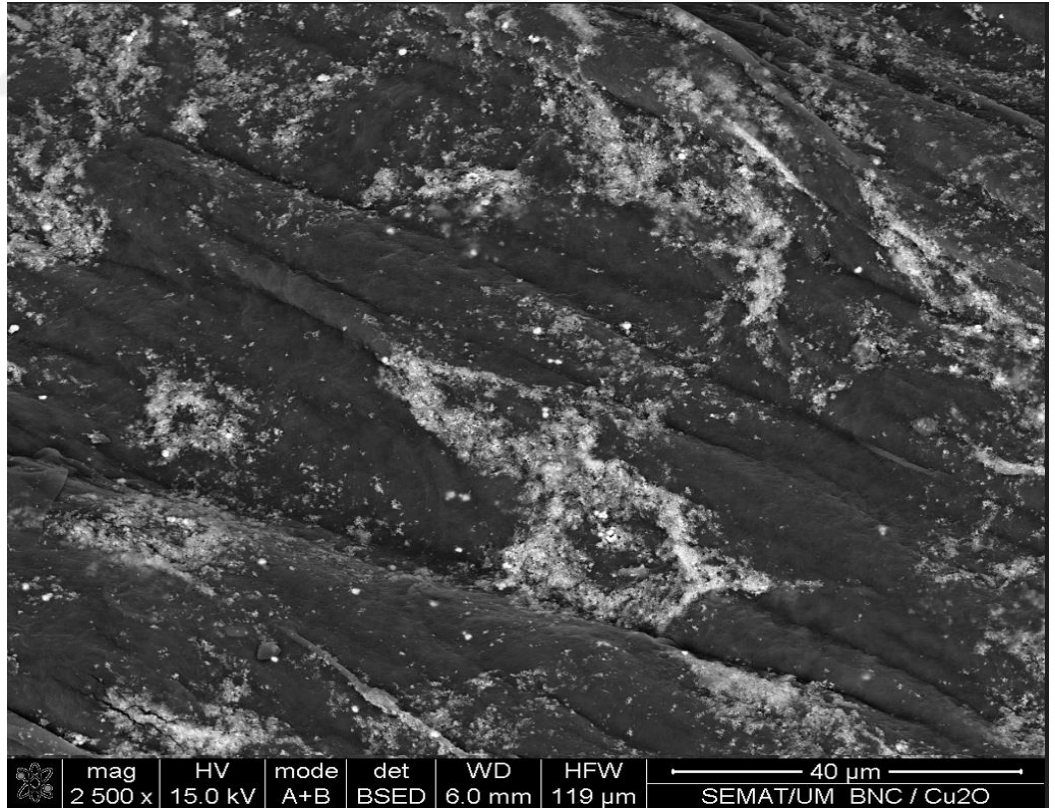
Şekil 5.7 BNC/Ag numunesinin boyuna SEM görüntüsü



Şekil 5.8 BNC/ZnO numunesinin boyuna SEM görüntüsü



Şekil 5.9 BNC/Cu numunesinin boyuna SEM görüntüsü



Şekil 5.10 BNC/Cu₂O numunesinin boyuna SEM görüntüsü

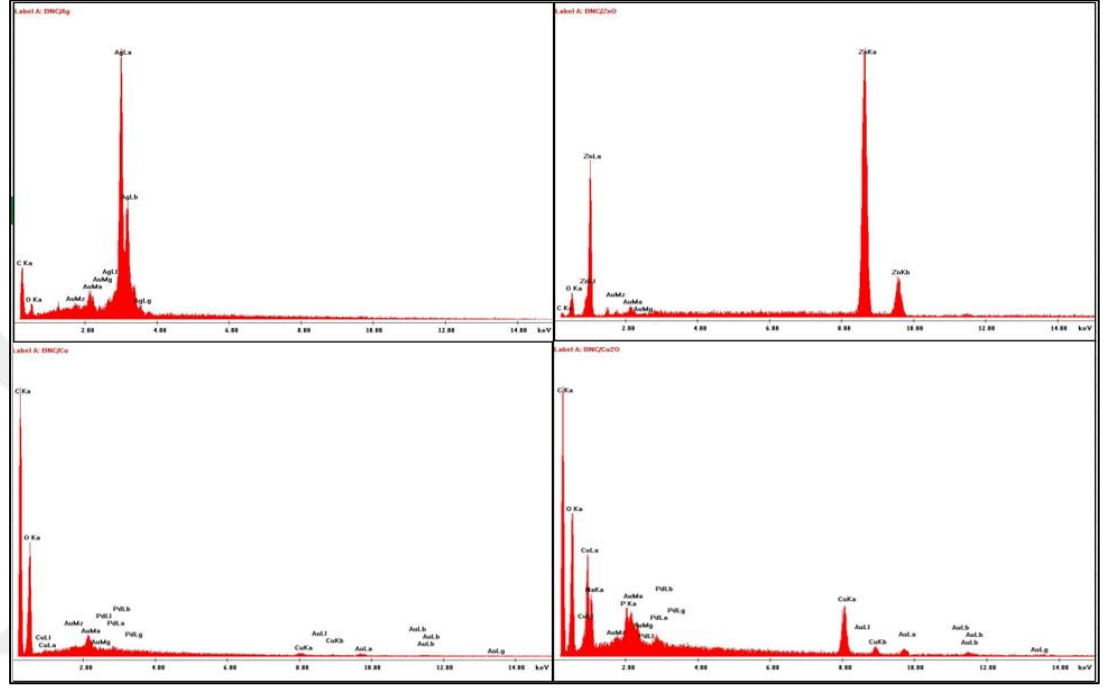
Sentezlenen bakteriyel nanoselüloz ve BNC/Ag, BNC/ZnO, BNC/Cu, BNC/Cu₂O numunelerinin enine kesiti Şekil 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 ve 5.5'te ve boyuna görüntüleri Şekil 5.6, 5.7, 5.8, 5.9 ve 5.10'da verilmiştir. Şekil 5.1a'da üç boyutlu (3D) bir ağ yapısına sahip olduğu görülebilen saf BNC membranının SEM görüntüsünü göstermektedir. Nanometre boyutundaki lifler, ince dokunmuş gözenekli bir yapı oluşturacak şekilde dağıtılmış ve birbirine bağlanmıştır. Bu özel karakteristik, metal iyonlarının süngerimsi yapıya difüze olmasına ve selüloz nanolif yüzeyler boyunca olduğu kadar malzeme boyunca da eşit bir şekilde dağılmasına yardımcı olmaktadır. Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O'un BNC membranına emdirilmesinden sonra, BNC membranının yüzey morfolojisi Şekil 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.7, 5.8, 5.9 ve 5.10'da gösterildiği gibi değişmiştir. Bu mikrograflar sentezlenen kompozit membranların yüzeyinde metal nanopartiküllerin varlığını kanıtlamaktadır. BNC matrisinin karakteristik 3D nanofibriller ağı hala gözlemlenebilmektedir, ancak lifler arasında yapışma gerçekleşmiştir. Bunun nedeninin BNC ve nanopartiküller arasındaki moleküller arası çekim kuvvetleri nedeniyle olduğu düşünülmektedir. BNC membranı yarı saydamken, BNC/Ag, BNC/ZnO, BNC/Cu, BNC/Cu₂O membranlarında renk değişimleri gözle fark edilecek şekilde değişmiştir (Qiu et. al., 2016). Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O nanopartiküller ya tek tek partiküller ya da selüloz matrisi içindeki agregalar olarak açıkça görülebilmektedir (Şekil 5.1-5.10) (Li et. al., 2015)

Polimerlerin indirgeyici ve/veya örtücü maddeler olarak hareket edebildiği ve böylece metal kolloidlerin hazırlanmasında partikül büyümesini önlediği bilinmektedir. SEM görüntüleri kullanılan tüm metal partiküller ile renkli homojen dağılımlı metal nanopartikül içeren membranlar elde edildiğini ve 3 boyutlu nanoyapıya stabilize edebildiğini doğrulamaktadır (de Santa Maria et. al., 2009)

5.2 EDS Analizi

Bakteriyel nanoselüloz numunelerinin EDS (Enerji Dağılım Spektroskopisi) analizi görüntüleri, numunelerin içerdiği elementlerin dağılımını ve yoğunluğunu belirlemek amacıyla elde edilmiştir.

Elde edilen EDS görüntüleri, Şekil 5.11'de detaylı bir şekilde sunulmuştur. Bu görüntüler, numunelerin içerdiği elementlerin dağılımını ve nanopartiküllerin bakteriyel selüloz matrisindeki konumunu görsel olarak göstermektedir. Bu veriler, nanokompozitlerin yapısal özelliklerini ve potansiyel uygulamalarını belirlemek için önemli bir kaynak oluşturmaktadır.



Şekil 5.11 BNC/Cu₂O numunelerinin EDS analizi sonucu (üst sırada soldan sağa; BNC-Ag, BNC-ZnO, alt sırada soldan sağa; BNC-Cu, BNC-Cu₂O)

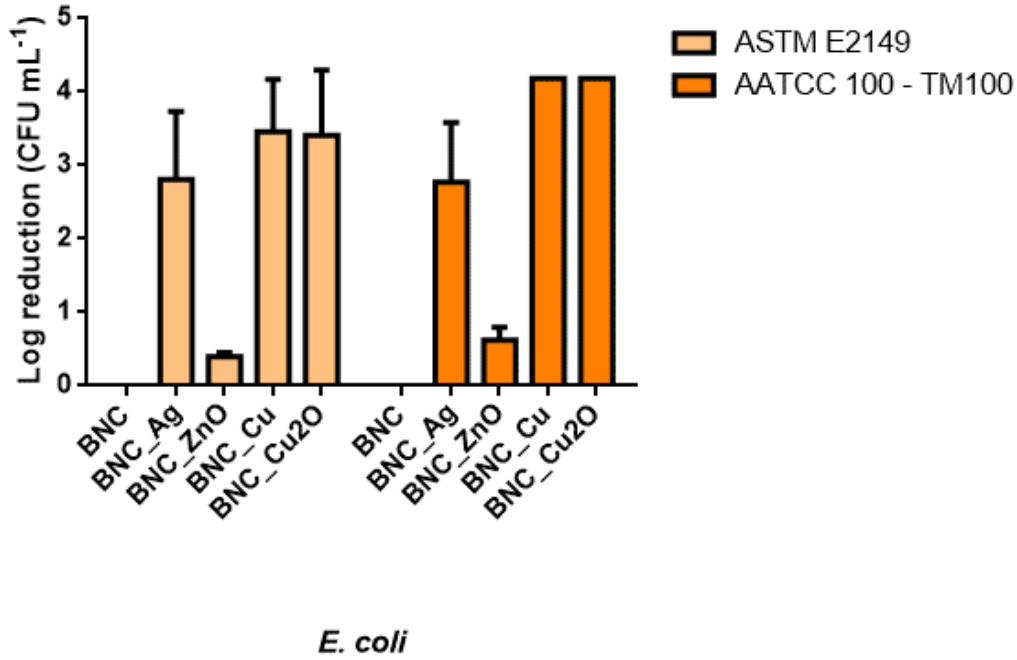
Bakteriyel nanoselüloz ile metal nanopartiküllerin sentezini doğrulamak için, sentezlenen BNC/Ag, BNC/ZnO, BNC/Cu, BNC/Cu₂O kompozitlerinin elementel bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. EDS spektral analizinden elde edilen sonuçlar sentezlenen kompozitlerinin Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O içerdiğini, karbon ve oksijen sinyalinin ise selüloz nanolif yapısından kaynaklandığını göstermektedir (El-Sherbiny et. al., 2022). Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O metal partikülleri ile işlem gören bakteriyel nanoselülozlarda metal partikül miktarları sırasıyla, kütlece %95,83, %98,32, %27,85 ve %24,14 olarak ölçülmüştür. EDS analizi sonuçları da SEM görüntüleri ile uyumlu bulunmuştur (Li et. al., 2015)

5.3 Antibakteriyel Testler

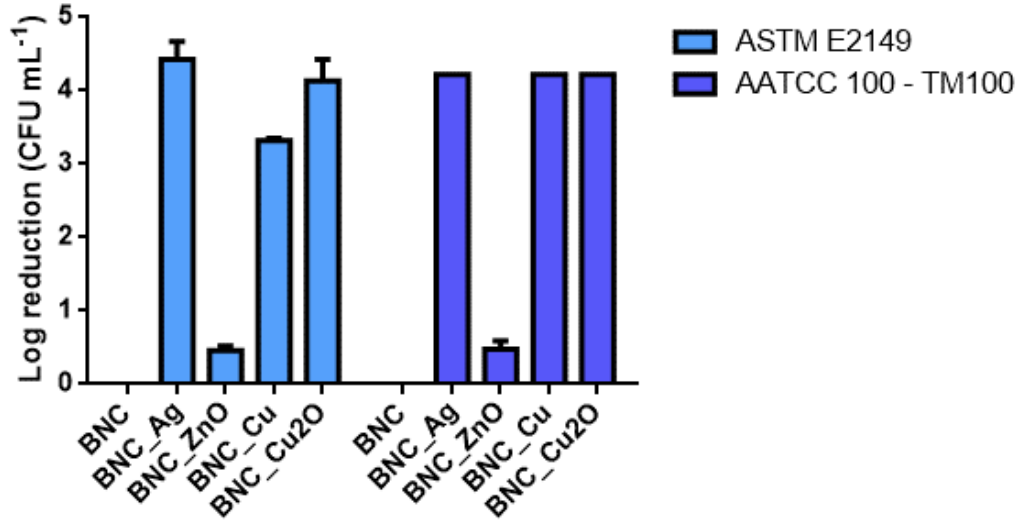
Minho Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bakteriyel nanoselüloz numunelerinin antibakteriyel aktiviteleri Gram (+) bakteri *Staphylococcus aureus* (*S.a*) ve Gram (-) bakteri *Escherichia coli* (*E.c*) kullanılarak AATCC 147-TM100 ve ASTM E2149'a göre test edilmiştir.

Test sonuçları, Şekil 5.14, 5.15, 5.16 ve 5.17'de görsel olarak sunulmuştur.

Bu sonuçlar, bakteriyel nanoselülozun antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmek ve potansiyel tıbbi uygulamalarını belirlemek için önemli bir rol oynamaktadır.

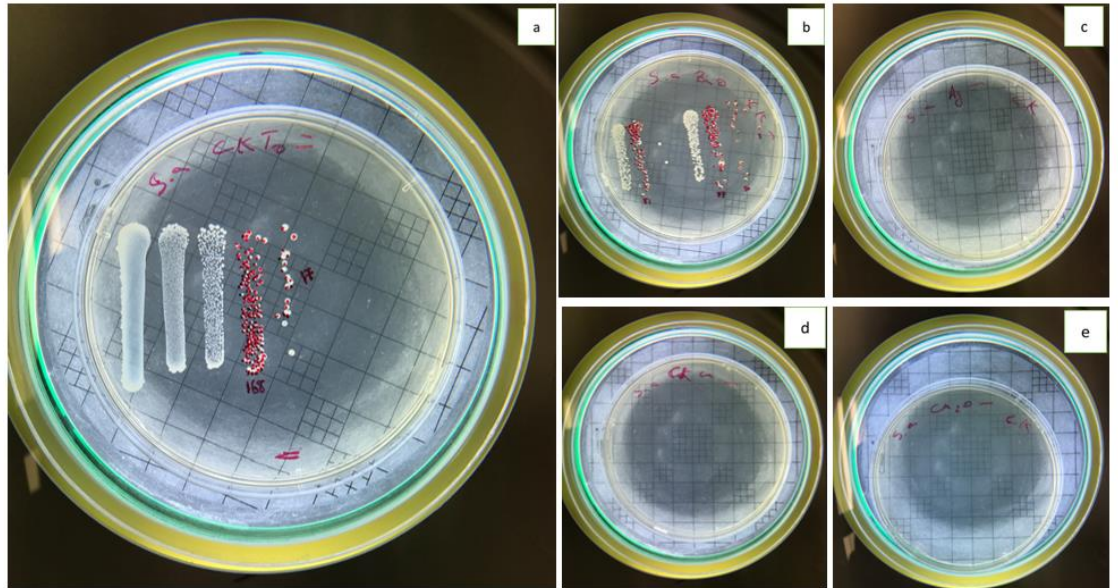


Şekil 5.12 Bakteriyel selüloz numunelerinin antibakteriyel test sonuçları (*E. coli* bakterisi)

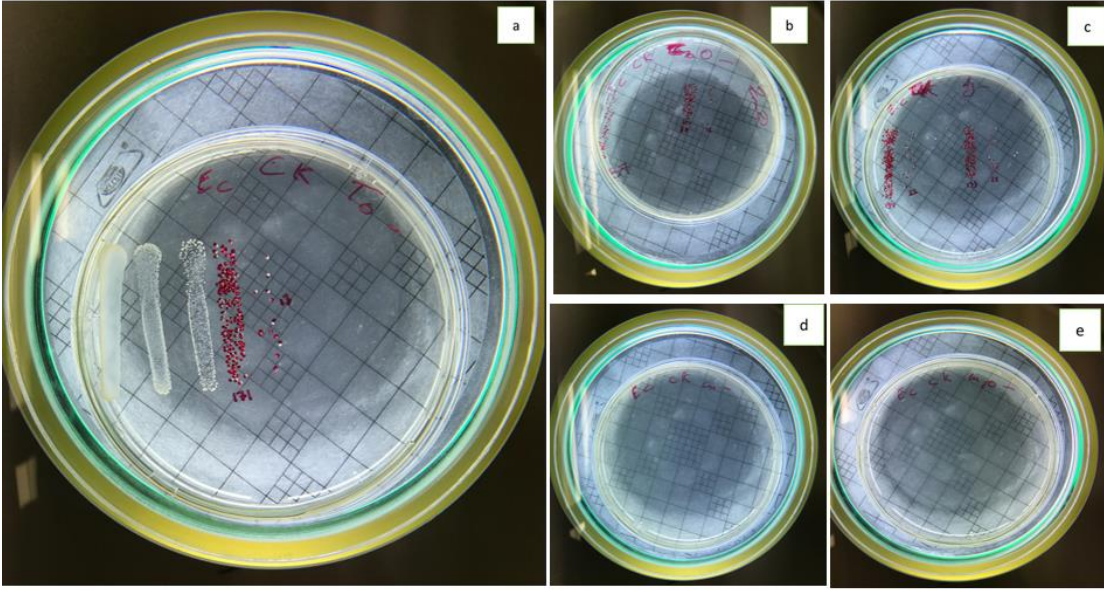


S. aureus

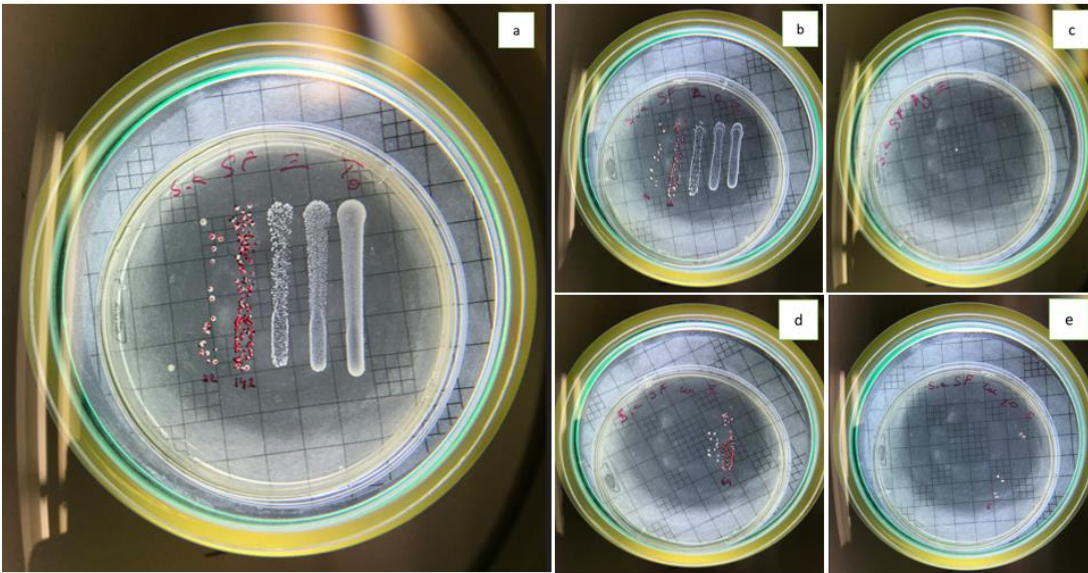
Şekil 5.13 Bakteriye selüloz numunelerinin antibakteriyel test sonuçları (*S. aureus* bakterisi)



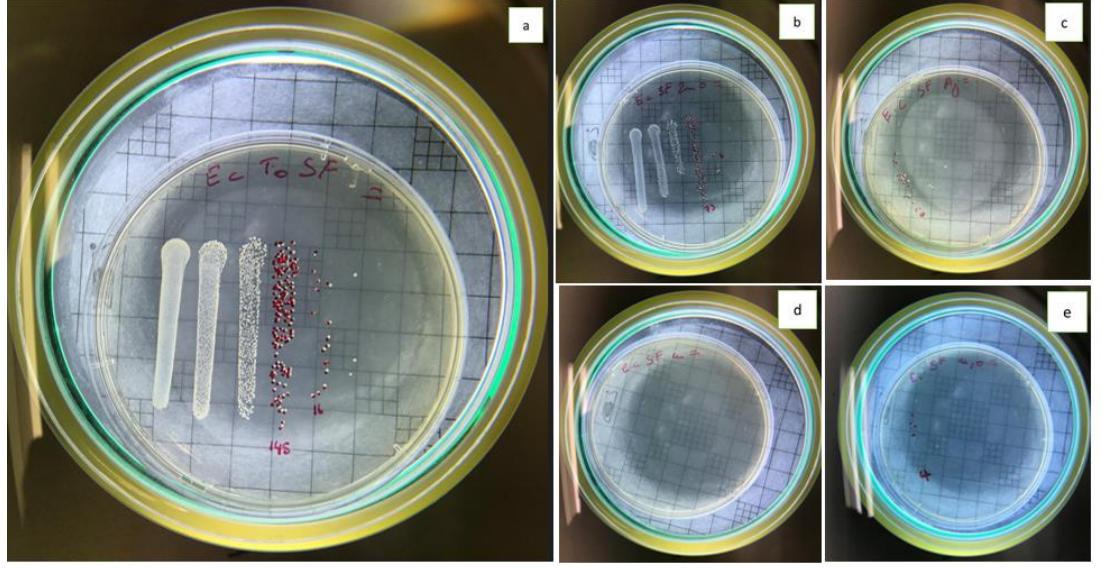
Şekil 5.14 AATCC 100- *S.aureus*, a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu₂O fotoğrafları



Şekil 5.15 AATCC 100- *E.coli*, a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu₂O fotoğrafları



Şekil 5.16 ASTM E2149- *S.aureus*, a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu₂O fotoğrafları



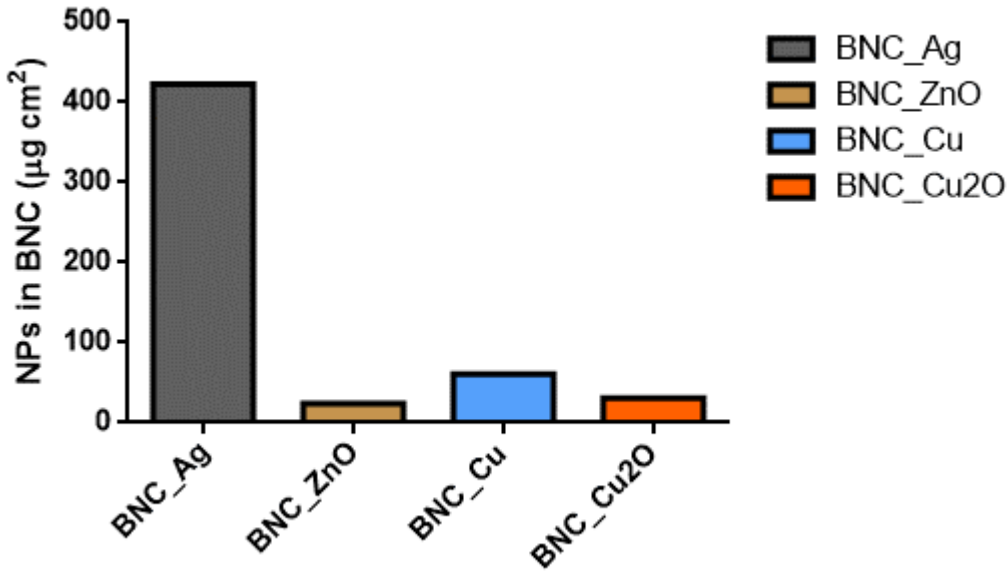
Şekil 5.17 ASTM E2149- *E.coli*, a-T0 Kontrol, b- ZnO, c-Ag, d- Cu, e-Cu₂O fotoğrafları

Farklı metal partikülleri ile işlem gören ve görmeyen bakteriyel nanoselüloz kompozitlerinin antimikrobiyal aktivitesinin kantitatif olarak testi yapılmış ve karşılaştırma için iki yöntem kullanılmıştır (Şekil 5.12 ve Şekil 5.13). Genel olarak, düşük antimikrobiyal aktivite 1-log azalmadan daha az, orta aktivite 1 ile 3-log azalma arasında ve yüksek antimikrobiyal aktivite 3-log azalmadan daha fazla olarak kabul edilmektedir (Gallant-Behm ve ark., 2005). Verilerden görüldüğü üzere, test edilen BNC-ZnO dışındaki tüm BNC kompozitleri her iki test yönteminde de *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı da orta veya yüksek düzeyde antimikrobiyal etki göstermiş ve log azalması 1'in üzerinde olmuştur. Bununla birlikte, en kayda değer antibakteriyel etki BNC/Cu ve BNC/Cu₂O kompozitlerinde gözlemlenmiştir. EDS ve atomik absorpsiyon testlerinde elde edilen sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde en yüksek metal nanopartikül içeriğine sahip kompozitte değil, en düşük metal nanopartikül içeriğine sahip numunelerde en yüksek antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Bu durumun olası nedenleri temel olarak BNV şablonunun mikro yapısına, yani gözenek hacmi ve yüzey alanına ve metal nanopartiküllerin aktivitelerine bağlanmıştır. Daha yüksek gözenek hacmine ve yüzey alanına sahip BNC membranı, nanopartiküllerin membrandan geçmesini ve dış ortama salınmasını teşvik edebilir, böylece daha güçlü bir antimikrobiyal etki gerçekleştirebilir. Ayrıca, çalışmada kullanılan iki test yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal aktivitesinin benzer sonuçlar verdiği görülmüştür (Yang et. al., 2012)

5.4. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi Analizi (AAS)

Bakteriyel nanoselüloz numunelerinin atomik absorbsiyon spektroskopisi analizi sonuçları, numunelerin metal içeriğini belirlemek için gerçekleştirilmiştir. Bu analiz, özellikle numunelerin içerdikleri metal nanopartiküllerin yoğunluğunu ve dağılımını değerlendirmek için önemlidir.

Analiz sonuçları, Şekil 5.18'de detaylı bir şekilde sunulmuştur.



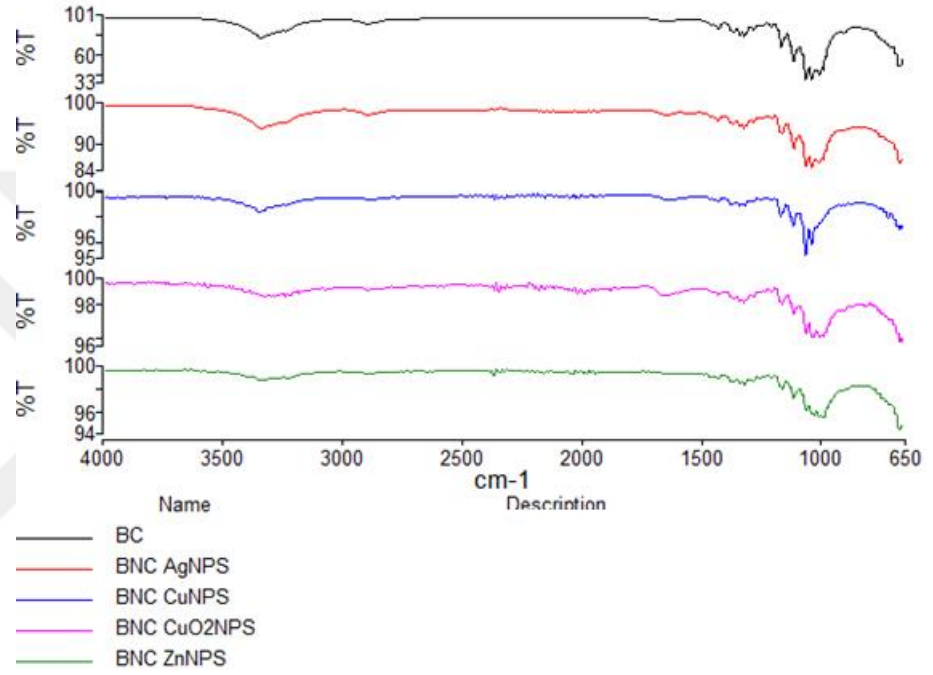
Şekil 5.18 AAS analizi sonuçları

Bakteriyel nanoselülozun negatif yükü ve metal katyonları arasındaki çekim nedeniyle, sentezlenen BNC'ler yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahiptir. Sentezlenen bakteriyel nanoselülozların Ag, ZnO, Cu ve Cu₂O içerikleri sırasıyla 0.827 mg/ml (teoride 1 mg/ml), 0.680 mg/ml (teoride 1 mg/ml), 0.121 mg/ml (teoride 0.5 mg/ml) ve 0.127 mg/ml (teoride 0.5 mg/ml) olarak ölçülmüştür. BNC'lerin metal katyonu ile şelat oluşturabilen ve kompleks bileşik oluşturabilen serbest OH gruplarının varlığı nedeniyle metal katyonunun adsorbansına karşı afiniteye sahiptir (Frag et. al., 2019). BNC'lerin düşük Cu ve Cu₂O içeriklerin yuvarlak tabanlı şişeye yığılma nedeniyle olası deneysel kayıp nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

5.5. FT-IR Analizi

Sentezlenen bakteriyel nanoselülozların yüzeyindeki fonksiyonel gruplarda meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla, FT-IR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi) cihazı kullanılarak detaylı bir analiz gerçekleştirilmiştir.

Bu spektrumlar, Şekil 5.19'da detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 5.19 FT-IR analizi sonuçları

Saf BNC'ye özgü karakteristik bantlar 3340, 1158, 1022 ve 1107 cm⁻¹'de ortaya çıkmıştır ve bu da fazla sayıda -OH'nin varlığına işaret etmektedir. 2900 cm⁻¹ civarındaki pik CH₂'nin gerilme titreşimlerine atanmıştır. 1400 cm⁻¹ ve 1640 cm⁻¹ civarındaki bant sırasıyla karboksil grubunun C-O gerilme titreşimine ve -OH deformasyonuna atanabilir. 1321 ile 1369 cm⁻¹'deki bir pik O-H düzlem içi bükülmeye atanabilir. Şeker halkasının C-O-C ve C-O-H gerilme titreşimleri için 1020 cm⁻¹'de bir bant bulunmaktadır. BNC/Ag, BNC/ZnO, BNC/Cu, BNC/Cu₂O kompozitlerinin FTIR spektrumu, BC'nin tüm karakteristik piklerinin yanı sıra farklı %T değerleri göstermiştir (El-Sherbiny et. al., 2022).

6. SONUÇ

Son yıllarda medikal alanda kullanılan biyomalzemelerin önemi giderek artmaktadır. Bu tez çalışması, doğal esaslı malzemelerin kullanımıyla birlikte yara örtülerine yenilikçi özellikler kazandırılmasını amaçlamaktadır. Bakteriyel selüloz, bu çalışmada öne çıkan bir malzeme olmuştur. Zira, birçok alanda kullanılan bu doğal polimer, biyouyumluğu ve benzersiz fiziksel özellikleri sayesinde tıbbi uygulamalarda önemli bir rol oynamaktadır.

Bu çalışmada öne çıkan bir diğer yenilik, antibakteriyel aktiviteye sahip nanokompozitlerin bakteriyel nanoselüloz üzerine immobilizasyonudur. Bu yaklaşım, metal nanopartiküllerin antimikrobiyal özelliklerini bakteriyel selüloz matrisine entegre etme potansiyeline dayanmaktadır. Metal nanopartiküller, özellikle gümüş, çinko oksit, bakır ve bakır oksit gibi materyaller, güçlü antibakteriyel etkilere sahiptirler. Bu sayede, bakteriyel selüloz üzerine immobilize edildiklerinde, yara örtülerinde mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesine yardımcı olabilirler.

Elde edilen sonuçlar, kullanılan metal nanopartiküllerin bakteriyel selüloz matrisinde stabil bir yapı oluşturduğunu ve bu matrisin antimikrobiyal özelliklerini artırdığını göstermektedir. Ayrıca, üç boyutlu ağ yapısının ve büyük miktarda nano boyutlu gözeneklerin, metal nanopartiküllerin etkili bir şekilde immobilize edilmesine ve antimikrobiyal etkilerinin güçlendirilmesine yardımcı olduğu belirlenmiştir.

Bu bulgular, bakteriyel selüloz ve metal nanopartiküllerin bir araya getirilmesinin, tıbbi uygulamalarda yenilikçi ve etkili antimikrobiyal yara örtüleri gibi ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir adım olduğunu göstermektedir.



KAYNAKÇA

Abdullah, E. R. E. N., Baran, M. F., 2019, Fıstık (*Pistacia vera* L.) Yaprğından Gümüş Nanopartikül (AgNP)'lerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 6(2), 165-173.

Arığ, E., 2010, Nanoyapıda çinko oksit partiküllerinin üretimi ve karakterizasyonu (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü)., ss.5-6

Aydınlı A., 2010, Bakteri Selülozunun Mekanik Özelliklerinin Arttırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi.

Berndt, S., Wesarg, F., Wiegand, C., Kralisch, D., & Müller, F. A. (2013). Antimicrobial porous hybrids consisting of bacterial nanocellulose and silver nanoparticles. *Cellulose*, 20, 771-783.

Costa, A. F. S., Rocha, M. A. V., Sarubbo, L. A., 2017, Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile. *International Journal of Textile and Fashion Technology*, 7, 11-26, 16-19 pp.

Çoban, E. P., Bıyık, H. H., 2008, Asetik asit bakterilerinden elde edilen alternatif selüloz. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 6(2), 19-26.

de Santa Maria, L. C., Santos, A. L., Oliveira, P. C., Barud, H. S., Messaddeq, Y., Ribeiro, S. J., 2009, Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose. *Materials Letters*, 63(9-10), 797-799.

El-Sherbiny, G. M., Abou El-Nour, S. A., Askar, A. A., Mohammad, N. H., Hammad, A.A. 2022, Solar radiation-induced synthesis of bacterial cellulose/silver nanoparticles (BC/AgNPs) composite using BC as reducing and capping agent. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 1-12.

Erdoğan, Ö., Birtokocak, F., Oryaşın, E., Abrak, M., Demirbolat, G. M., Salih, P. A. Ş. A., Çevik, Ö., 2019, Enginar yaprağı sulu ekstraktı kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu, anti-bakteriyel ve sitotoksik etkileri. *Duzce Medical Journal*, 21(1), 19-26., s.20

Farag, S., Ibrahim, H. M., Amr, A., Asker, M. S., El-Shafie, A., 2019, Preparation and characterization of ion exchanger based on bacterial cellulose for heavy metal cation removal. *egyptian Journal of Chemistry*, 62(Special Issue (Part 2) Innovation in Chemistry), 457-465.

Gallant-Behm, C. L., Yin, H. Q., Liu, S., Heggers, J. P., Langford, R. E., Olson, M. E., Burrell, R. E., 2005, Comparison of in vitro disc diffusion and time kill-kinetic assays for the evaluation of antimicrobial wound dressing efficacy. *Wound repair and regeneration*, 13(4), 412-421 pp.

Günay, K., Leblebici, Z., Koca, F. D., 2021, Çinko nanopartiküllerinin (ZnO NP) biyosentezi, karakterizasyonu ve anti-bakteriyel etkisinin incelenmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10(1), 56-66., s.57

Gündüz, G., Nejla, A. Ş. I. K., Aydemir, D., Kılıç, A., 2015, Bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu. *Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Ormancılık Dergisi*, 10(2), 1-10., s.2

Güzel, M., Akpınar, Ö., 2018, Bakteriyel Selülozların Üretimi ve Özellikleri ile Gıda ve Gıda Dışı Uygulamalarda Kullanımı, Akademik Gıda Derleme Makale, 16(2), ss.241-251.

Hu, W., Chen, S., Zhou, B., Wang, H., 2010, Facile synthesis of ZnO nanoparticles based on bacterial cellulose. *Materials Science and Engineering: B*, 170(1-3), 88-92 pp.

İlmenöz, D. D., 2020, Biyomedikal kullanım için gözenekli bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu, Master's thesis, Ege Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, s.6

Kale, İ., & Altun, T. D. (2022). Tasarım Sürecinde Biyolojik İşbirlikleri: Mikrobiyal Selülozdan Maske Üretimi Üzerine Bir Deneme. *Tekstil ve Mühendis*, 29(126), 96-105.

Keshk, S. M., & El-Kott, A. F. (2017). Natural bacterial biodegradable medical polymers: Bacterial cellulose. In *Science and principles of biodegradable and bioresorbable medical polymers* (pp. 295-319). Woodhead Publishing.

Kılınc, N., 2019, Bakteriyel Selüloz Esaslı Tıbbi Tekstil Malzeme Üretimi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, s.18

Koyutürk, A., Soyaslan, D. D., 2016, Yara ve Yanık Tedavisinde Kullanılan Örtüler. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(Özel (Special) 1), 58-65. s.63

Li, Z., Wang, L., Chen, S., Feng, C., Chen, S., Yin, N., Xu, Y., 2015, Facile green synthesis of silver nanoparticles into bacterial cellulose. *Cellulose*, 22, 373-383 pp.

Lustri, W. R., Barud, H. G. D. O., Barud, H. D. S., Peres, M. F., Gutierrez, J., Tercjak, A., ... & Ribeiro, S. J. L. (2015). Microbial cellulose—biosynthesis mechanisms and medical applications. *Cellulose-Fundamental Aspects and Current Trends*, 1, 133-157.

Mocanu, A., Isopencu, G., Busuioc, C., Popa, O. M., Dietrich, P., Socaciu-Siebert, L., 2019, Bacterial cellulose films with ZnO nanoparticles and propolis extracts: Synergistic antimicrobial effect. *Scientific reports*, 9(1), 17687.

Maneerung, T., Tokura, S., Rujiravanit, R., 2008, Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydrate polymers*, 72(1), 43-51 pp.

Maria, L., Santos, A. L., Oliveira, P. C., Valle, A. S., Barud, H. S., Messaddeq, Y., Ribeiro, S. J., 2010, Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles impregnated in bacterial cellulose. *Polimers*, 20, 72-77 pp.

Mehravani, B., Ribeiro, A. I., Zille, A., 2021, Gold nanoparticles synthesis and antimicrobial effect on fibrous materials. *Nanomaterials*, 11(5), 1067.

Melro, L. S. S. F. P., Mehravani, B., Silva, G., Ribeiro, A. I. F., Nicolau, T., Dourado, F., Zille, A., 2023, Antibacterial properties of bacterial nanocellulose functionalized with metal nanoparticles via in situ synthesis.

Mensah, A., Chen, Y., Christopher, N., Wei, Q., 2021, Membrane technological pathways and inherent structure of bacterial cellulose composites for drug delivery. *Bioengineering*, 9(1), pp.3.

Mishra, R., Militky, J., Baheti, V., Huang, J., Kale, B., Venkataraman, M., ... & Wang, Y. (20140). The production, characterization and applications of nanoparticles in the textile industry. *Textile Progress*, 46(2), 133-226.

Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J., 2011, Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3941-3994, p.3946

Muhamad, I. I., Muhamad, S. N. H., Salehudin, M. H., Zahan, K. A., Tong, W. Y., Pa'e, N., 2020, Effect of pandan extract concentration to chromium (IV) removal using bacterial cellulose-pandan composites prepared by in-situ modification technique. *Materials Today: Proceedings*, 31, 89-95.

Powar, N. S., Patel, V. J., Pagare, P. K., Pandav, R. S., 2019, Cu nanoparticle: Synthesis, characterization and application. *Chem. Methodol*, 3(4), 457-480., p.460

Qiu, Y., Qiu, L., Cui, J., Wei, Q., 2016, Bacterial cellulose and bacterial cellulose-vaccarin membranes for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 303-309.

Sabbagh, F., Muhamad, I. I., Pa'e, N., & Hashim, Z. (2019). Strategies in improving properties of cellulose-based hydrogels for smart applications. *Cellulose-based superabsorbent hydrogels*, 2019, 887-908.

Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Mohamad, D., 2015, Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-micro letters*, 7, 219-242.

Sofu, A., 2019, Farklı Metodlarla Elde Edilen Nano Gümüş Parçacıklı/Bakteriyel Selüloz (AG/BS) Nanokompozitin Antibakteriyel Özelliğinin Belirlenmesi, *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 7(1), 161-166.

Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., Parikh, R. Y., 2010, Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 6(2), 257-262.

Wang, J., Tavakoli, J., Tang, Y., 2019, Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods—A review. *Carbohydrate polymers*, 219, 63-76., p.64

Yaman, N., Öktem, T., & Seventekin, N. (2007). Polinozik liflerin üretimi, özellikleri ve kullanım alanları (bölüm 1). *Tekstil ve Konfeksiyon*, 17(3), 170-173.

Yang, G., Xie, J., Hong, F., Cao, Z., Yang, X. 2012, Antimicrobial activity of silver nanoparticle impregnated bacterial cellulose membrane: effect of

fermentation carbon sources of bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 839-845 pp.

Zhong, L., Xu, B., Huang, Z., Xie, J., Li, Y., Huang, S., Yao, M., 2020, Improving the UV protective properties of silk fabric by silane modification. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(22), 48770.

Zhou, H., Zhang, X., Li, Y., and Li, Q., 2018, Modification of cotton fabric with graphene oxide for multifunctional property. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 13(1).

Zhu, X., Zhang, Y., Xu, J., and Huang, W., 2018, Synthesis and characterization of thermally stable and water-resistant coatings based on epoxy acrylate resin and triethanolamine. *Progress in Organic Coatings*, 117, 15-21 pp.

Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. W., Potts, J. R. and Ruoff, R. S., 2010, Graphene and graphene oxide: Synthesis, properties, and applications. *Advanced Materials*, 22(35), 3906-3924 pp.

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimim de dahil olmak üzere, Yüksek Lisans eğitimimde ve bu tez çalışmasında desteğini eksik etmeyen ve bilgi birikimini benimle paylaşan değerli danışman hocam Doç Dr. Ebru BOZACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Minho Üniversitesi/Portekiz'de danışmanlığımı üstelenen, tez çalışmalarımı yürütmemde tüm bilgi birikimini benimle paylaşıp desteğini esirgemeyen 2. danışman hocam Prof. Dr. Andrea ZILLE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Minho Üniversitesi'nde tüm laboratuvar çalışmalarında hep yardımcı olan ve bilgi birikimlerini benimle paylaşmış olan, hep beni motive eden araştırma görevlileri Liliana MELRO, Ana Isabel Ferreira RIBEIRO, Behnaz MEHRAVANI ve Jorge PADRÃO'ya ayrıca teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen annem Selda BOLEVİN ve babam Vahit SELVİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Burak SELVİ

İZMİR, 2024

ÖZGEÇMİŞ

Ad: Burak

Soyad: Selvi

Eğitim Bilgileri

2021-2024 Ege Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Tezli Yüksek Lisans

2014-2020 Tekstil Mühendisliği Lisans Derecesi – Terbiye Opsiyonu

2009-2013 İzmir Karşıyaka Gazi Anadolu Lisesi

Tecrübe

2019-2020 ERA Tekstil – Kumaş Satınalma Sorumlusu

2022-2024 ROTEKS Tekstil – Teklif Müşteri Temsilcisi

Yabancı Dil: İngilizce (B2), İspanyolca (B2)

Bilgisayar Bilgileri

Microsoft Office Programları