



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER
KULLANILARAK BAKTERİYEL SELÜLOZ ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NAZLI BETÜL YILDIRIM

OCAK

NAZLI BETÜL YILDIRIM	BİYOLOJİ ANABİLİM DALI	OCAK 2024
----------------------	------------------------	-----------

**FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER
KULLANILARAK BAKTERİYEL SELÜLOZ ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU**

Nazlı Betül YILDIRIM

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2024

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Nazlı Betül YILDIRIM tarafından hazırlanan “Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Bakteriler Kullanılarak Bakteriyel Selüloz Üretimi ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Dr. Öğr. Üyesi Fadime SEYREKOĞLU

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Munzur Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 25/01/2024

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durum da aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nazlı Betül YILDIRIM

25/01/2024

FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLER KULLANILARAK BAKTERİYEL SELÜLOZ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

(Yüksek Lisans Tezi)

Nazlı Betül YILDIRIM

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2024

ÖZET

Yapılan araştırmalarda ve teknolojinin de ilerlemesiyle birlikte bitkiler olmadan da bazı özel bakteriler tarafından saf selüloz üretilebildiği belirlenmiştir. Selülozun saf olarak elde edilebilmesinin yanı sıra yüksek su tutma kapasitesi gibi özellikleri de eklenince bu konu üzerinde araştırmalar günden güne artmaktadır. Bu çalışmada araştırma kapsamında Amasya iline ait Amasya Elmasından yapılmış ev sirkesi, toprak ve kombucha çayından izole edilen ve saflaştırılan bakterilerin BC üretebilme yetenekleri Hestrin-Schramm besi ortamına ekimleri yapılarak 10 gün inkübasyon sonunda belirlenmiştir. İnkübasyon sonunda besi ortamlarının üzerlerinde pellet oluşturan izolatlar selüloz üretme bakımından pozitif olarak belirlenmiş ve izolatlar arasında selüloz üretme özellikleri karşılaştırılması yapılmıştır. Elma sirkesinden yapılan izolasyon çalışmasında 39 bakteri izole edilip 15 tanesi selüloz üretmiştir, topraktan ise toplam 15 bakteri izole edilip 4 tanesi selüloz üretirken ve kombucha çayından ise 22 bakteri izole edilip 8 tanesinin bakteriyel selüloz ürettiği tespit edilmiştir. Toprak, sirke ve kombucha çayından her birinden en iyi bakteriyel selüloz üreten NBY-T7, NBY-E10, NBY-K1 kodlu izolatlar seçilmiştir. NBY-T7 izolatının ürettiği bakteriyel selülozun yaş ağırlığı 4.01 g/100ml iken kuru ağırlığı 0.056 g, NBY-E10 izolatın ürettiği bakteriyel selülozun yaş ağırlığı 11.22 g/100ml iken kuru ağırlığı 0.123g ve NBY-K1 izolatının ürettiği bakteriyel selülozun yaş ağırlığı 8.5 g/100ml iken kuru ağırlığı ise 0.09g'dır. Su tutma kapasiteleri ise sırasıyla %90,78 (NBY-T7), %98,9 (NBY-E10), %96,23 (NBY-K1) olarak belirlenmiştir. Seçilen bu izolatların MALDI TOF tanı sonuçları ise; *Enterobacter cloacae* 13159_1 CHB (NBY-7T), *Bacillus amyloliquefaciens* ssp *plantarum* CICC 23985 b CICC (NBY-E10) ve *Bacillus cereus* DSM 31T DSM (NBY-K1) olarak tanılanmıştır. Yapılan çalışma ile yüksek su tutma kapasitesine sahip bakteriyel selüloz eldesi gerçekleştirilmiş olup, üretilen BC'ların tanılama işlemleri ise FTIR analizi ve SEM görüntüleme yöntemi ile yapılmıştır. Yapılacak olan sonraki çalışmalar ile bakterilerin farklı pH ve sıcaklıkta BC üretme potansiyelleri belirlenebilir.

Sayfa Adedi : 61
Anahtar Kelimeler : Bakteriyel selüloz, Biyopolimer, Toprak bakterisi, Kombucha çayı
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

PRODUCTION AND CHARACTERISATION OF BACTERIAL CELLULOSE USING BACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT SOURCES

(M. Sc. Thesis)

Nazlı Betül YILDIRIM

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2024

ABSTRACT

With the research and advancement of technology, it has been determined that pure cellulose can be produced by some special bacteria without plants. In addition to the fact that cellulose can be obtained in pure form, research on this subject is increasing day by day, considering its properties such as high water retention capacity. In this study, the ability of bacteria to produce BC, isolated and purified from household vinegar made from Amasya Apple, soil and kombucha tea from Amasya province, was determined after 10 days of incubation by planting them in Hestrin-Schramm medium. At the end of incubation, the isolates that formed pellets on the media were determined as positive in terms of cellulose production, and the cellulose production properties were compared between the isolates. In the isolation study conducted from apple cider vinegar, 39 bacteria were isolated and 15 of them produced cellulose, a total of 15 bacteria were isolated from soil and 4 of them produced cellulose, and 22 bacteria were isolated from kombucha tea and 8 of them produced bacterial cellulose. The isolates coded NBY-T7, NBY-E10, NBY-K1 that produced the best bacterial cellulose from each of soil, vinegar and kombucha tea were selected. The wet weight of the bacterial cellulose produced by the NBY-T7 isolate is 4.01 g/100ml and its dry weight is 0.056 g, the wet weight of the bacterial cellulose produced by the NBY-E10 isolate is 11.22 g/100ml and its dry weight is 0.123g, and the wet weight of the bacterial cellulose produced by the NBY-K1 isolate is 8.5 g/100ml. Its dry weight is 0.09g when it is 100ml. Water retention capacities were determined as 90.78% (NBY-T7), 98.9% (NBY-E10), 96.23% (NBY-K1), respectively. The MALDI TOF diagnostic results of these selected isolates are; It was identified as *Enterobacter cloacae* 13159_1 CHB (NBY-7T), *Bacillus amyloliquefaciens* ssp *plantarum* CICC 23985 b CCCCC (NBY-E10) and *Bacillus cereus* DSM 31T DSM (NBY-K1). With the study, bacterial cellulose with high water retention capacity was obtained. Identification of the produced BCs was carried out by FTIR analysis and SEM imaging method. With the next studies, the potential of bacteria to produce BC at different pH and temperature can be determined.

Number of Pages : 61
Keywords : Bacterial cellulose, Biopolymer, Soil bacteria, Kombucha tea
Advisor : Asst. Prof. Dr. İdris BEKTAŞ

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince her zaman bana destek olan, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak çalışmamı özenli bir şekilde yönlendiren tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ' a, Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarına, OMÜ Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezine (KİTAM) ve Suluova Meslek Yüksekokulu Laboratuvarının tüm akademik ve idari personeline, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, bana tam güvenen canım babam Aslan Kıbrıs Yıldırım'a ve biricik annem Şerife Yıldırım'a, kardeşlerim Zehra ve Mustafa'ya, her aradığım da koşan biricik dayım Muhterem Düzgün'e ve maddi manevi destekçim olan halalarım Tutku Demirkaya ve Radiye Çalık'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Komisyonunca Kabul edilen FMB-BAP 22-0573 No'lu proje kapsamında desteklenmiştir. Projenin yürütülmesindeki desteklerinden dolayı Amasya Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	iv
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
RESİMLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
1. GİRİŞ	1
1.1. Bakteriyel Selüloz ve Özellikleri	3
1.2. Bakteriyel Selüloz Sentezleyen Mikroorganizmalar.....	8
1.3. Bakteriyel Selülozun Biyosentezi	9
1.4. Bakteriyel Selüloz Üretim Yöntemleri.....	10
1.5. Bakteriyel Selüloz Üretimine Etki Eden Parametreler.....	12
1.5.1. Karbon ve azot kaynakların etkisi.....	12
1.5.2. Oksijen, pH ve sıcaklığın etkisi	13
1.6. Bakteriyel Selülozun Kullanım Alanları	13
2. LİTERATÜR	20
3. MATERYAL VE METOD.....	24
3.1. Materyal	24
3.1.1. Besi Ortamları	24
3.1.2. Kullanılan çözücüler	25
3.2. Metot	26

Sayfa

3.2.1. Bakteri izolasyonu.....	26
3.2.2. İzole edilen bakterilerin bakteriyel selüloz üretimlerinin araştırılması ve kullanılacak olan bakterilerin belirlenmesi	28
3.2.3. Bakteriyel selülozun saflaştırılması ve üretim miktarının belirlenmesi.....	29
3.2.4. Bakteriyel selülozun su tutma kapasitesinin belirlenmesi	30
3.2.5. Bakteriyel selülozun SEM (taramalı elektron mikroskop) analizi	31
3.2.6. FTIR analizi	31
3.2.7. MALDI- TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanılanması.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Bakteri izolasyonu.....	33
4.2. Bakteriyel Selüloz Üreten Bakterilerin Belirlenmesi.....	33
4.3. Bakteriyel Selülozun Üretim Miktarı ve Su Tutma kapasitelerinin belirlenmesi	39
4.4. Bakteriyel Selülozun Saflaştırılması ve Kurutulması	39
4.5. Bakteriyel Selülozun SEM Görüntüleri	40
4.6. Bakteriyel Selülozun FTIR Analizi.....	42
4.7. Bakterilerin MALDI-TOF Analiz Sonuçları.....	45
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. BS üreten bazı mikroorganizmalar ve ürettikleri selülozun yapısı.....	9
Çizelge 1.2. BS elde etme yöntemleri.....	11
Çizelge 4.1. Mikroorganima eldesine kullanılan örnekler ve izole edilen izolat sayısı	33
Çizelge 4.2. BS üreten bakteri izolatlarının sayısı.....	33
Çizelge 4.3. Elma sirkesinden izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları,kuru ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri	37
Çizelge 4.4. Kombucha çayından izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri	37
Çizelge 4.5. Toprakta izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları,kuru ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri	38
Çizelge 4.6. Yüksek miktarda selüloz üreten izolatlardan elde edilen BS'nin saflaştırılması ve kurutulması	39
Çizelge 4.7. Bakterilerin MALDİ-TOF tanı sonuçları	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Selülozun kaynaklarına göre sınıflandırılması.	1
Şekil 1.2. Selülozun bitki ve bakterideki sentezi	4
Şekil 1.3. Selülozun fibriller yapısı.....	5
Şekil 1.4. Selüloz üzerindeki hidrojen bağları.	5
Şekil 1.5. Bakteriyel selülozun özellikleri	8
Şekil 1.6. BS biyosentez mekanizması.	10
Şekil 1.7. Bakteriyel selülozun kullanım alanları	14
Şekil 4.1. Standart selülozun ve bakteriyel selülozun FTIR spektrumu	42
Şekil 4.2. NBY-K1 izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu	43
Şekil 4.3. NBY-E10 izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu.....	44
Şekil 4.4. NBY-7T izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu.....	45

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Bakteriyel selüloz	3
Resim 1.2. Bakteriyel selüloz yapısı ve bitkisel selülozun yapısı.....	7
Resim 1.3. Bakteriyel selülozun diş implant tedavisinde kullanılması	15
Resim 1.4. Bakteriyel selülozun yara tedavisinde yapay deri olarak kullanımı.	15
Resim 1.5. Bakteriyel selülozun yapay kan damarı olarak kullanılması	15
Resim 1.6. Bakteriyel selülozdan yapılan Nate coco.....	16
Resim 1.7. Kombucha Çayı.	17
Resim 1.8. Bakteriyel selülozun kâğıt olarak kullanılması.....	17
Resim 1.9. Bakteriyel selülozun gıda ambalajı olarak kullanılması.....	18
Resim 1.10. Bakteriyel selülozla tekstil uygulamaları.....	18
Resim 1.11. Bakteriyel selüloz kullanılarak yapılan kulaklık.....	19
Resim 3.1. Laboratuvara getirilen toprak örnekleri, ev yapımı elma sirke ve kombucha başlangıç kiti.....	24
Resim 3.2. Toprak örneklerinin bakteri izolasyonu için hazırlanması	27
Resim 3.3. Bakteri izolasyonunun yapılması.....	27
Resim 3.4. NA ekilen bakterilerin inkübasyon sonu görüntüsü ve numaralandırılması	28
Resim 3.5. İzole edilen bakterin HSB besi ortamına ekimleri.....	28
Resim 3.6. HSB ekimi yapılan bakterilerin inkübasyona bırakılması	29
Resim 3.7. Bakteriyel Selülozların mikro hif yapılarını incelemek için kullanılan SEM cihazı	31
Resim 3.8. FTIR analizinin yapıldığı cihaz	32
Resim 4.1. Kombucha Mantarı Bakterilerin HSB ekiminin inkübasyon sonunda görüntüsü.....	34
Resim 4.2. Elma sirkesinin bakterilerinin HSB ekiminin inkübasyon sonucundaki görüntüler	35

Resim**Sayfa**

Resim 4.3. Toprak bakterilerin HSB ekiminin inkübasyon sonucundaki görüntüler	36
Resim 4.4. NBY-K1 kodlu izolatın ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x30.000).....	40
Resim 4.5. NBY E-10 kodlu izolatın ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x10.000)	41
Resim 4.6. NBY T-7 kodlu izolatın ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x30.000)	41



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler

Açıklama

°C

Santigrat Derece

%

Yüzde

g

Gram

mg

Miligram

mL

Mililitre

Kısaltmalar

Açıklama

BS

Bakteriyel Selüloz

SEM

Taramalı Elekon Mikroskobu

FTIR

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

EPS

Ekzapolisakkarit

NA

Nutrient Agar

NB

Nutrient Broth

HSA

Hestrin ve Schram Agar

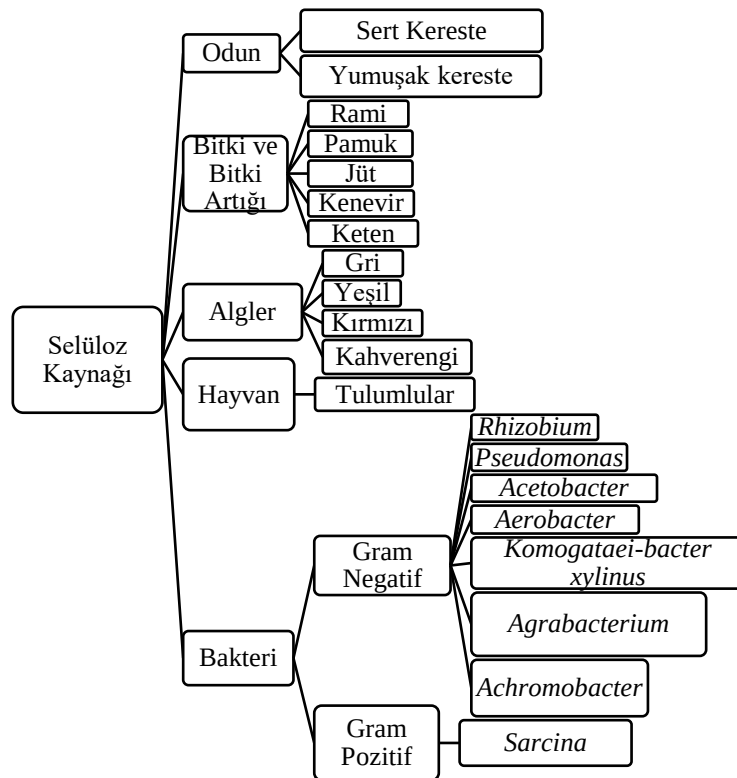
STK

Su Tutma Kapasitesi

1. GİRİŞ

Selüloz 1838 yılında Fransız bilim insanı Anselme Payen tarafından keşfedilmiştir. Payen yapmış olduğu çalışmada çeşitli bitki dokularını amonyak ve asit ile işlem yapmış ardından bu dokulara sırasıyla su, alkol ve eter ile ekstraksiyon yapmış ve bu işlemin sonucunda geriye lifli bir yapının kaldığını saptamıştır. Bu yapının nişasta ile izomerlik gösterdiğini ve molekül formülünü $(C_6H_{10}O_5)_n$ olarak belirlemiştir ve yapısal olarak β -D-glukoz birimlerinden oluşan yüksek moleküler ağırlığa sahip uzun zincirli polisakkarit olduğu belirlenmiştir (Park, Baker, Himmel, Parilla and Johnson 2010; Klemm, Heublein, Flink and Bohn 2005).

Selüloz doğada en çok bulunan ve kolay bir şekilde elde edilebilen ucuz bir biyopolimerdir. Bitki, hayvan, bakteri ve alg gibi çeşitli canlılardan elde edilmektedir (Şekil 1.1). Bitkilerin hücre duvarının yapısında bulunan ve destek sağlayan selüloz; hemiselüloz ve lignin gibi polimerlerle birlikte yer alıp, kompleks yapı oluştururlar bundan ötürü selülozun saf olarak elde edilmesi karmaşık kimyasal yöntemlere dayanmaktadır (Vasconcelos ve diğerleri, 2017; Nobles, Romanovicz and Malcolm, 2001).



Şekil 1. 1. Selülozun kaynaklarına göre sınıflandırılması (Seddiqi ve diğerleri 2021).

Selülozun endüstriyel olarak işlenerek ürüne dönüştürülmesinde en sık kullanılan pamuk ve odundur. Pamuktan elde edilen selüloz en saf haldeyken odunda ise saf bulunmadığından birçok kimyasal kullanılmaktadır. Bu işlem oldukça zahmetli, masraflı ve saflaştırmada kullanılan kimyasalların atıkları çevreye zarar vermektedir (Saxena ve Brown, 1997).

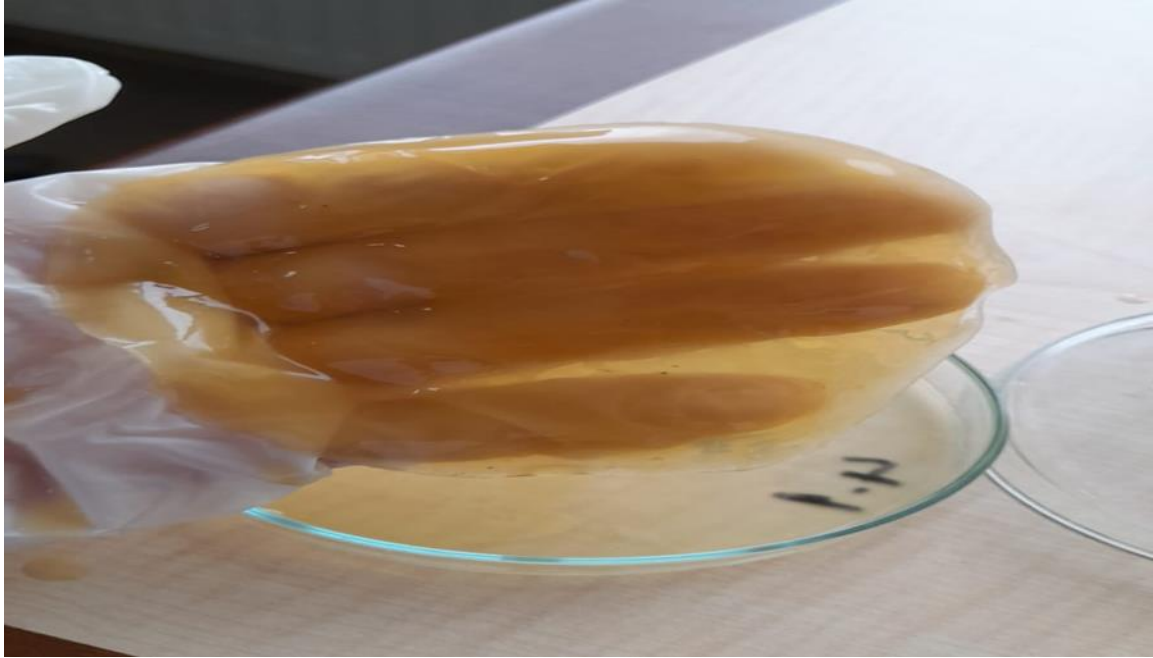
Her geçen gün selülozun çeşitli kullanım alanları artmakta geleneksel olarak kâğıt, boya ve tekstil üretiminde kullanılırken şimdi ise tıpta gıda sanayisinde ve birçok endüstriyel alanlarda önem kazanmıştır. Bunun üzerine selülozun yıllık üretiminin 99 milyon tona ulaşmıştır. Artan talepler üzerine ormanların azalmasına ve tahribatına sebep olmaktadır. Bunun üzerine bilim insanları selüloz üretimi için bitki olmadan da üretebilmenin yollarını aramışlardır. Selüloz üretimi için ikinci bir yol olarak; mikroorganizmaların elde edilebileceği üzerine durmuşlardır. Birçok mikroorganizmalardan ekstrasellular (hücre dışı) polisakkarit (EPS) olan biyopolimerleri sentezleyebilmektedir ve bunun üzerine son 30 yılda selüloz üretebilen bakteriler üzerine çalışmalar yer almaktadır (Akoğlu, Karhan, Çakmakçı ve Çakır 2010).

Bakteriler tarafından sentezlenen selüloz bakteriyel selüloz (BS) olarak adlandırılır (Lisdiyanti ve diğerleri, 2006). Bakteriyel selüloz *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Escherichia*, *Agrobacterium*, *Salmonella* ve *Sarcina* gibi çeşitli bakteriler tarafından üretilen ekstraselüler (EPS) bir polimerdir. En iyi bakteriyel selüloz üreten ve ticari selüloz üretiminde kullanılan bakteri *Acetobacter xylinum*'dur (Yamada, 2000; Yamada, Hoshino and Ishikawa, 1997; Valla ve Kjosbakken, 1981).

Bakteriyel selülozun bitkisel selüloza göre birçok avantajı bulunmaktadır. Bakteriyel selülozun yapısında hemiselüloz ve lignin bulunmadığından oldukça saftır. Bitkisel selüloza göre fibrilleri daha ince ve üç boyutlu ağısı bir yapı göstermektedir. Bakteriyel selülozun su tutma kapasitesi, düzgün liflere sahip olması ve bitkisel selüloza göre daha kısa sürede üretilmesi gibi birçok önemli özelliğinin bulunmasıyla yüksek kalitede dayanıklı kâğıt üretiminde, deri, kozmetik ve tekstil sanayisinde kullanım potansiyeline sahip olmuştur (Tabarsa, Sheykhnazari, Ashori, Mashkour and Khazaeian, 2017; Khandelwal and Windle, 2013; Akoğlu, Karahan, Çakmakçı ve Çakır, 2010).

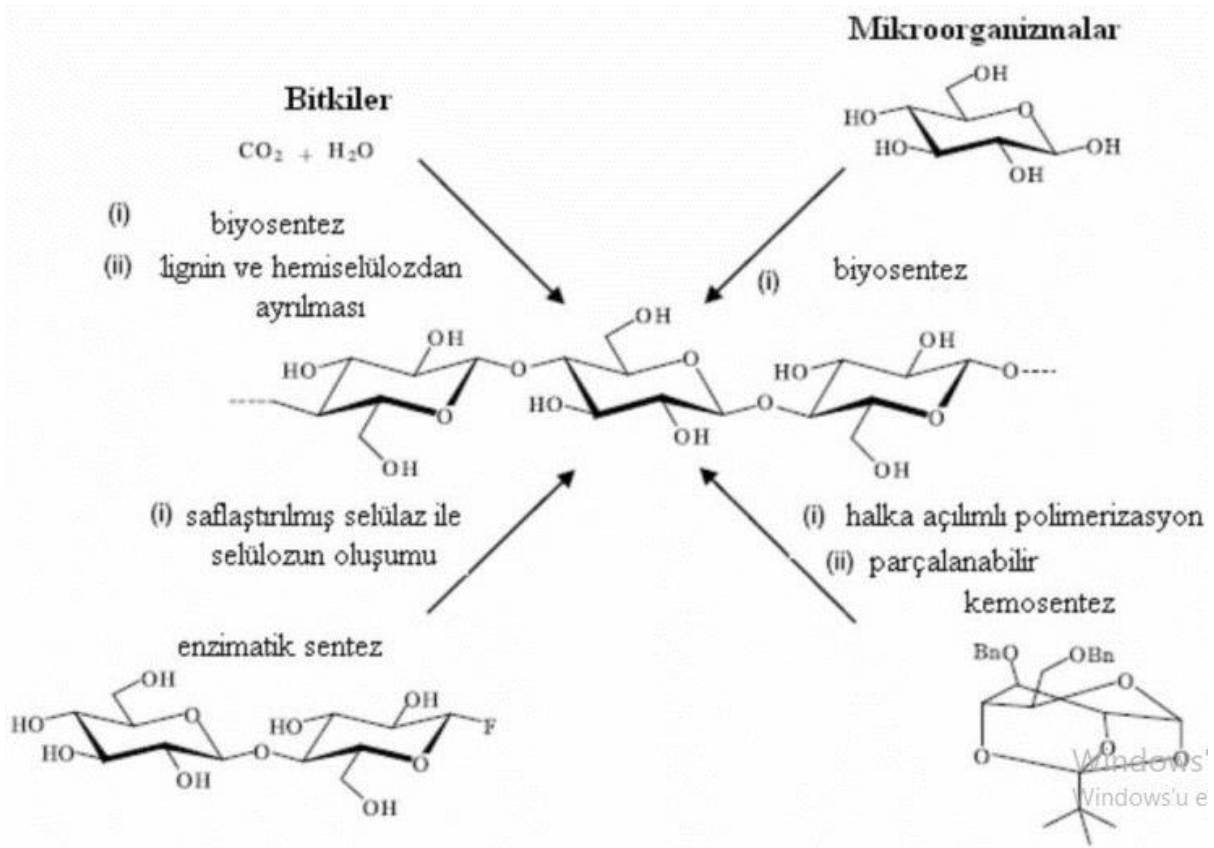
1.1.Bakteriyel Selüloz ve Özellikleri

Brown 1886'da sirkenin fermente olmasını beklerken yüzeyde yarı saydam, jelatinimsi bir membran oluştuğunu fark etti ve bu oluşan yapıyı bir sürü deneylerden geçirip bitkisel selüloza benzediğini saptamıştır. Bu yapının oluşmasını sağlayan sirke bakterisine *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) adını önermiştir (Bielecki, Krystynowics, Turkiewics and Kalinowska, 2001). Mikroorganizmalar tarafından ekstrasellular olarak sentezlenen selüloza bakteriyel selüloz ya da mikrobiyal selüloz denir (Chawla, Bajaj, Survase and Singhal 2009) (Resim 1.1).



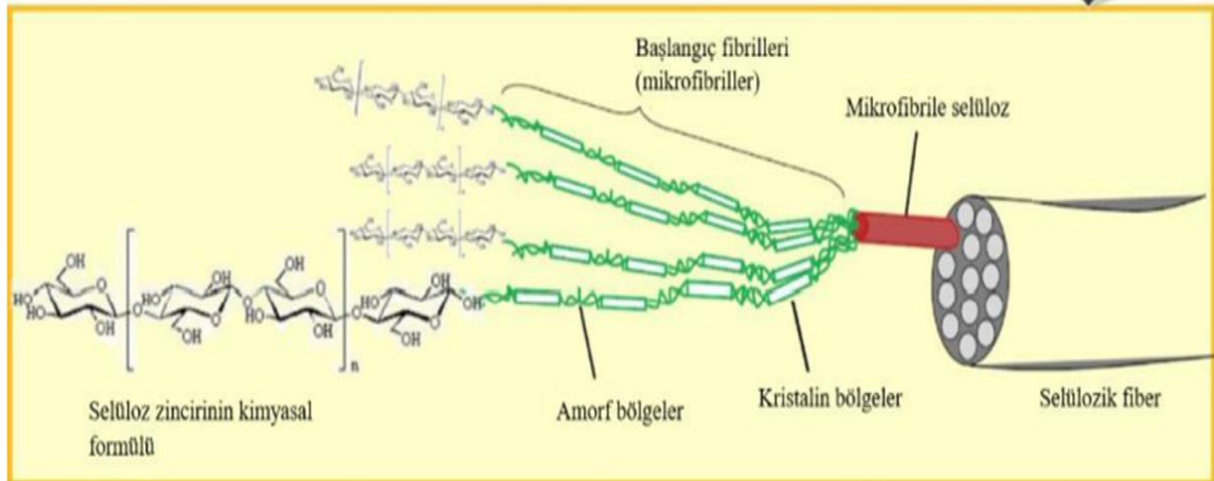
Resim 1.1. Bakteriyel selüloz (Çalışmamızda elde edilen Bakteriyel Selüloz)

Bakteriyel selüloz, bitkisel selülozla aynı kimyasal özelliğe sahipken fiziksel özelliği ve moleküler yapısının farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 1.2) (Klemm, Schumann, Udhardt and Marsch, 2001).

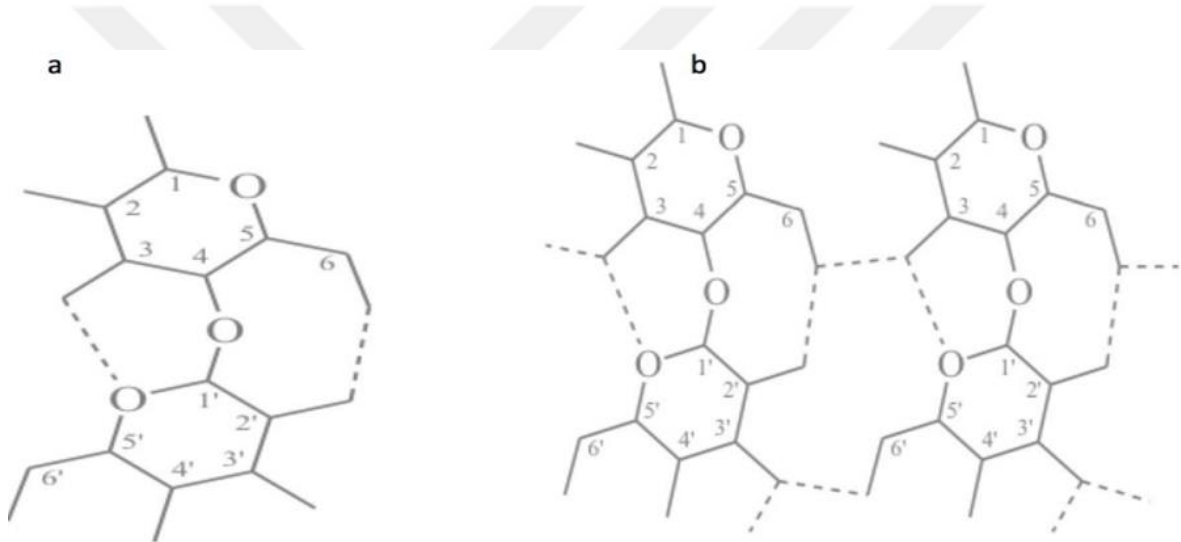


Şekil 1.2.Selülozun bitki ve bakterideki sentezi (Klemm, Schumann, Udhardt and Marsch, 2001).

Bakteriyel selüloz bitkisel selülozdan farklı olarak yapısında lignin ve hemiselüloz içermeyen tamamen saf bir ekzopolisakkarittir. Moleküler yapısı bitkisel selülozda olduğu gibi ortalama 10.000 glikoz monomerlerinin β -1,4 glikozit bağlarıyla bağlanmasıyla oluşur. Selüloz farklı zincir uzunluklarıyla oluşan bir yapıya sahip olup aralarında hidrojen bağları bulundurulur. Bu yapıların en küçüğü elemental fibril 40 selüloz molekülünün birleşmesidir. Bu elemental fibrillerde birleşerek daha büyük mikrofibrilleri oluşturur bunlarında yığılmıyla fibrilleri, fibrillerde selüloz lamelleri oluşur (Şekil 1.3). Ancak bakteriyel selüloz fibrilleri bitkisel selüloza kıyasla 100 kat daha ince olduğu ve yapıların bir araya gelerek 3 boyutlu bir ağ yapısı görülmektedir. Bakteriyel selülozun üç boyutlu ağ yapısını oluşturan hidrojen bağları sayesinde bitkisel selüloza göre su tutma kapasitesi ve hidrofilik özelliği daha fazladır (Şekil 1.4) (Hafizoğlu, 1982; Du Toit ve Lambrechts, 2002).



Şekil 1.3. Selülozun fibriller yapısı (Kırıcı, 2000).

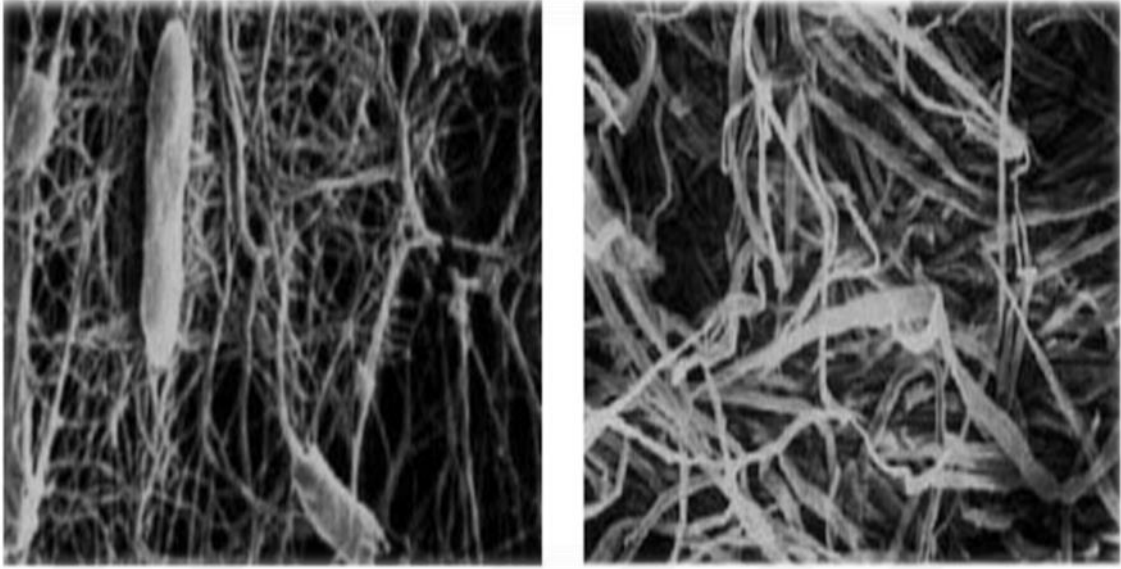


Şekil 1.4. Selüloz üzerindeki hidrojen bağları. a) Hücre içindeki hidrojen bağı b) moleküller arası hidrojen bağları (Hakeem ve diğerleri, 2014).

Yapılan çalışmalara göre bakteriyel selüloz ile bitkisel selüloz arasındaki farklar şu şekilde sıralanmıştır;

- Bakteriyel selülozun bitkisel selüloza göre polimerizasyon derecesi oldukça fazladır. Polimerizasyon derecesi 2000-8000 arasında olup bitkisel selülozun polimerizasyonu ise 13000-14000 arasındadır (Valjama, Sild, Nutt, Pettersson and Johanson, 1999).
- Bakteriyel selülozun kristallik derecesi %74- 96 arasındayken bitkisel selülozda %40 -85 arasında yer alır (Park, Baker, Himmel, Parilla and Johnson, 2010).

- Bakteriyel selülozun fibril ağ çapı, bitkisel selülozun yaklaşık %1'i kadardır. BS şerit şeklinde fibrillerden oluşur, şeritlerin genişliği yaklaşık 100 nanometre ve kalınlığı 3- 8 nm'dir (Yoshinago ve diğerleri, 1997) (Resim1.2).
- BS gerilme kat sayısı 25 Gigapaskal (GPa) iken gerilme kuvveti ise 250 GPa'dır. Bu özelliği de bitkisel selüloza göre mekanik kuvvetlere karşı direnme gücünün fazla olduğunu gösterir (Strauss ve diğerleri, 2001).
- BS su tutma kapasitesi yaklaşık %95 iken bitkisel selülozun ise %25-35 arasında değişir (Rebelo ve diğerleri, 2018).
- BS yapısında geniş hidrojen köprüleri bulunur. Bu hidrojen bağları sayesinde kristalin yapısını oluşturur ve selülozun yaklaşık %85 'ni kapsar. Kristalinitenin fazla olması Bakteriyel selülozu suda çözünememe, reaksiyonda dirençlilik, sertlik ve elastiklik gibi avantajlı hale getirir (Ateş, 1990).
- BS üretimi çevre ve iklim koşullarından bağımsız olup üretim sırasında fiziksel özellikleri kontrol edilebilir. Örneğin besi yeri bileşimi, fermentör tasarımı gibi fiziksel koşullar değiştirilerek üretilecek olan BS kuvvet ve yumuşaklık gibi özellikleri ayarlanabilmir (Geyer ve diğerleri, 1994).
- Bitkisel selülozdan selüloz elde etmek kolay değildir saflık oranı %80'den azdır ve fiziksel ve kimyasal ayırma işlemleri uygulanırken, bakteriyel selüloz da selüloz %99 saf üretilir yapısında hemiselüloz, lignin ve bitki özü yoktur (Fu, Zhang and Yang 2013; Zeng, 2014).
- BS makroskobik morfolojisi üretilme şartlarına bağlıdır. Durgun koşullarda sıvı besi yerinin yüzeyinde selüloz ağını oluştururken, çalkalamalı kültürde düzensiz tanecikli, yıldız şeklinde ve lifli ipçikler besi yerine çok iyi dağılmış şeklinde bulunur (Brown, 1976).
- Bakteriyel selülozun X-ışını Kırınım yöntemi (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Raman spektroskopisi ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) gibi yöntemlerle analiz edilerek dört farklı formu bulunmaktadır: Selüloz I, Selüloz II, Selüloz III ve Selüloz IV şeklindedir (Lisdiyanti, Navarro, Uchimura and Komagata, 2001).



(a) Bakteriyel Selüloz (x 20,000)

(b) Bitkisel Selüloz (x 200)

Resim 1.2. a) Bakteriyel selüloz yapısı b) Bitkisel selülozun yapısı (Bielecki, Krystynowics, Turkiewics and Kalinowska 2001).

Bakteriyel selüloz genel olarak suda çözünemeyen, elastik ve gerilme-çekme mukavemeti yüksek olan bir polimerdir. BS'un jelatinimsi bir yapıda olmasının sebebi yapısında yüksek düzeyde su içermesindendir ve bu su moleküllerinin büyük bölümü selüloza sıkı bir şekilde bağlı olmadığından polimerin yavaşça bastırılmasıyla fazla su dışarı atılır (Yamanaka, Ishihara and Suqiyama, 2000; Watanabe, Tabuchi, Morinaga and Yoshinaga 1998; Johnson ve Neogi, 1989; Gelin ve diğerleri, 2007). Bakteriyel selüloza istenilen özellikler sentez sırasında ya da kültür edilirken kazandırılabilir. Örneğin üretim aşamasında hidrofilik maddelerin eklenmesiyle selülozun hidrofilik özelliği artırılabilir (Yamanaka, 1990). BS insan vücuduna zarar vermediği bunun üzerine gıda bileşiminlerinde, yenilebilir veya antibakteriyel filmler halinde gıda kaplamalarında kullanma potansiyelini doğurmuştur (Akoğlu, Karahan, Çakmakçı ve Çakır, 2010). Şekil 1.5'te ise bakteriyel selülozun özellikleri özetlenmiştir.



Şekil 1.5. Bakteriyel selülozun özellikleri (Czaja, Romanovicz and Brown 2004; Jozala ve diğerleri, 2016).

1.2. Bakteriyel Selüloz Sentezleyen Mikroorganizmalar

Selüloz üreten başlıca bakteriler; *E.coli*, *Acetobacter*, *Salmonella spp.*, *Zoogloea*, *Sarcinia*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *K.pneumoniae*, *Alcaligenes*, *Agrobacterium* ve *Cyanobacteria* türleridir (Klemm, Schumann, Udhardt and Marsch, 2001; Römling, 2002).

En etkin selüloz üreten ve model mikroorganizma olarak kullanılan bakteri *Acetobacter xylinum*'dur (*Komagataeibacter xylinus*). Tüm bakterilerde sentezlenen bakteriyel selüloz biyosentez basamakları aynıdır ama üretilen polimerlerin yapısı mikroorganizmaya göre değişiklik göstermektedir (Çizelge 1.1.) (Ross, Mayer and Benzimen, 1991; Jonas ve Farah, 1998).

Acetobacter xylinum'un neden selüloz ürettiğine dair yapılan araştırmalar sonucunda; selüloz tanelerinin substrat düzeyinde koloniyi desteklediğini, yabancı maddelere karşı

koruduğu ve UV ışınlarının olumsuz etkilerinden koruduğunu bildirmişlerdir (Willam ve Canon 1989).

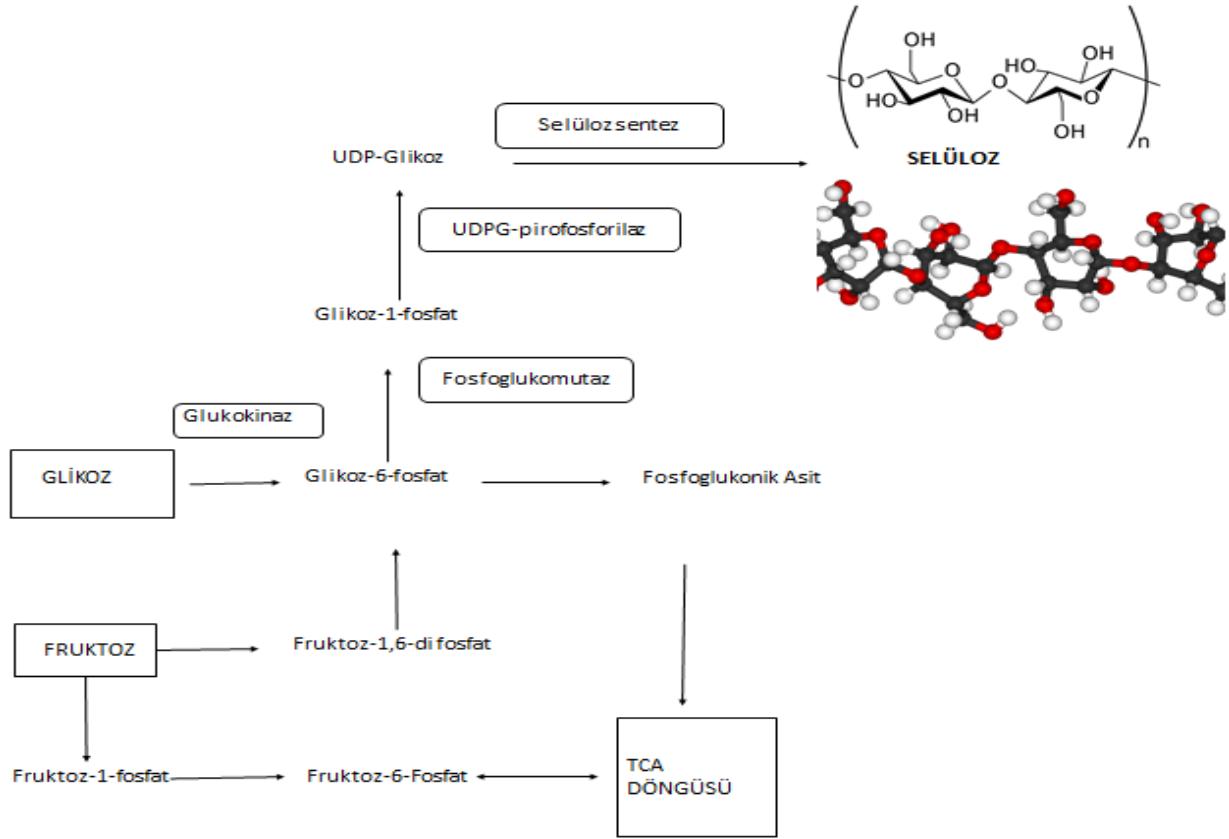
Çizelge 1.1. BS üreten bazı mikroorganizmalar ve ürettikleri selülozun yapısı (Jonas ve Farah, 1998).

Mikroorganizma	Selüloz Yapısı
<i>Gluconoacetobacter</i>	Ekstrasellular pelik
<i>Achromobacter</i>	Kısa fibriller
<i>Sarcina</i>	Amorf selüloz
<i>Rhizobium</i>	Kısa lifler
<i>Acetobacter</i>	Ekstrasellular pelik
<i>Alcaligenes</i>	Selüloz fibriller
<i>Pseudomonas</i>	Belirgin fibril yok
<i>Aerobacter</i>	Selüloz fibriller
<i>Agrobacterium</i>	Kısa fibriller
<i>Zooglea</i>	Belirgin fibril yok

1.3. Bakteriyel Selülozun Biyosentezi

BS biyosentezi için *Gluconacetobacter xylinum* bakterisi model olarak kullanılır ve temel olarak 4 basamaktan meydana gelir. Bu basamakların her birinde çok sayıda enzim ve düzenleyici proteinler yer alırlar. Selüloz sentezinin başlıca maddesi uridin difosfoglikoz (UDPGlc)'dir. Glikoz polimerize olarak β -1,4 glukon zincirleri bir araya gelerek şerite benzer karakteristik bir şekle dönüşür ve bunların yüzlercesi bir araya gelerek selüloz zincirlerini oluşturur ve üretilen selüloz hücreden dışarıya salınır (Şekil 1.6). (Kaya, 2007; Live diğerleri, 2013; Chawla, 2009).

1. Glikoz, glikokinaz enzimi ile glikoz -6-P'a (Fosfat) dönüşür.
2. Glikoz-6-P, fosfoglukomutaz enzimi ile glikoz-1-P 'a (Fosfat) dönüşür.
3. Glikoz-1-P, UDPGlc pirofosforilaz enzimi ile UDPglikoz sentezlenir.
4. UDP-glikoz, selüloz sentez enzimi ile selüloza dönüşür (Holmes, 2004).

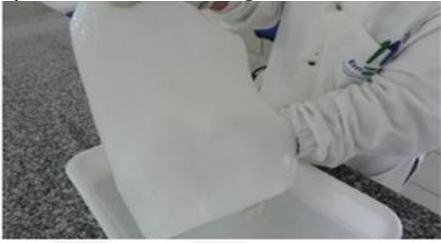
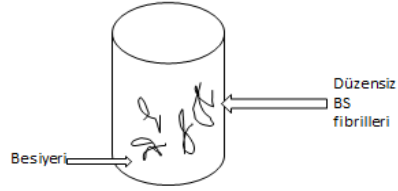
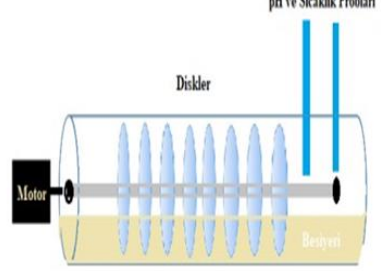
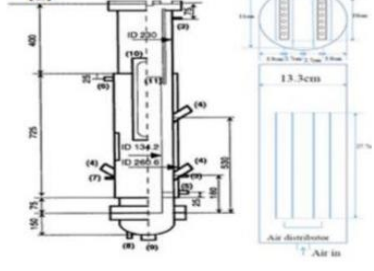


Şekil 1.6. BS biyosentez mekanizması (Kaya, 2007).

1.4. Bakteriyel Selüloz Üretim Yöntemleri

BS istenilene uygun şekilde yumuşak-sert, geniş ölçekli-yarı kesikli gibi özellikler ve maksimum üretim için mevcut üretim olan statik kültüre ek olarak, çalkalamalı kültür, dönen disk reaktörü ve hava asansörü reaktörleri gibi sistemler geliştirilmiştir (Çizelge 1.2) (Shezad, Khan, Khan and Park, 2010; Tse ve diğerleri, 2010; Zeng, 2014).

Çizelge 1.2. BS elde etme yöntemleri

 a) statik kültür düzeneği  b) S.T. elde edilen selüloz	Statik Kültür Yöntemi Bakteriyel selüloz üretiminde en çok tercih edilen yöntemdir. Kültür ortamı yüzey/hacim oranına bağlıdır (Bielecki, Krystynowicz, Turkiewics and Kolinowska 2001). Besi yeri tepsilere dökülür, bakteri aşılır BS 5-20 gün boyunca yetiştir. BS bes yeri yüzeyini kaplar. Oluşan BS yüzeyi kapladığından hücrelere oksijen geçişini engeller ve bakterilerin ölmesine neden olur (Trevina ve diğerleri, 2020). Sentez boyunca hareket ettirilmemesi gerekir buda takibi zorlaştırır. Ölçek büyütmek için büyük alanlar gereklidir. BS sentezinin kontrolü güçtür. Çünkü sentez boyunca hareket ettirilmemesi gerekir (Watanabe, Tabuchi, Morinaga and Yoshinaga, 1998).
 a) Çalkalamalı kültürün düzeneği  b) Ç.K. elde edilen selüloz	Çalkalamalı Kültür Yöntemi Bu kültürleme sonucunda oluşan BS kısa fibrilli, düzensiz şekilli oluşur. Sürekli karıştırıldığından BS fibrilleri bükülmüş ve karışık şekildedir. Oluşan fibriller güçlü değildir (Amon ve diğerleri, 2010). Karıştırma hızı iyi ayarlanmalıdır. Ayarlanmadığı süresince verim düşer ve bakteriler mutasyona uğrayarak BS üretmeyen mutantlara dönüşür (Kouda, Yano and Yoshiaga 1997).
 Dönen disk reaktör düzeneği	Dönen Disk Reaktörü Ortasında dönen bir şafta sabitlenmiş dairesel disklerin yerleştirildiği kaptan oluşur. Dönen diskler bes ortamına temas etmez bakterilerde bu disklere tutunur ve BS üretir (Chao ve diğerleri, 1997). Disklerin dönüyor olması bakterilerin oksijen ihtiyacını kolaylaştırır ve daha dayanıklı ve miktarca fazla BS sentezlenir (Krystynowicz ve diğerleri, 2002). Üretimin diskler arasındaki mesafe dar olduğu için sürekli olamaz ve döndüğünden dolayı üretim sırasında mutant bakteriler oluşur ve disklerin kirlenmesine sebep olur (Ruiz ve diğerleri, 2000).
 Hava kaldırmalı reaktör düzeneği	Hava Kaldırmalı Reaktör Düşük enerji tüketimi ile yüksek verimde BS üretimini sağlar. Ölçek büyütmeyi rahatlıkla yapılabilmesi, karıştırıcı olmaması sayesinde enerji maliyeti düşüktür (Chao ve diğerleri, 2000).

1.5. Bakteriyel Selüloz Üretimine Etki Eden Parametreler

Bakteriyel selüloz üretimi sırasında besi yeri içeriğindeki; karbon, azot, fosfat, kükürt gibi tuzların varlığı ve çevresel koşullar olarak da sıcaklık, pH, fermentasyon süresi, çözünmüş oksijen miktarı gibi durumlarının BS verimliliğini etkilediğini saptamışlardır (Shado ve Sugano, 2005).

1.5.1. Karbon ve azot kaynakların etkisi

BS üretiminde en önemli etmenler karbon ve azot kaynaklardır (Bielecki, Krystynowicz, Turkiewicz and Kalinowska 2001). Yapılan bir çalışmada en fazla bakteriyel selüloz üretiminin karbon ve azot kaynaklı maya ekstratında olduğu tespit edilmiştir (Poyrazoğlu ve Bıyık, 2007). Benzer çalışmada monosakkarit karbon kaynaklarından; D-glikoz, D-ksiloz ve D-ksiloz / D-ksilüloz içeren besi yerlerinde selüloz üretimleri incelenmiş ve en iyi BS üretimin D-glikoz' da olduğu tespit edilmiştir (İshihara ve diğerleri, 2002).

BS verimliliği için başka bir çalışmada ise; disakkaritli karbon kaynaklarından en iyi üretimin sırasıyla früktoz, maltoz, sakkoroz içeren besi yerlerinde gerçekleştiği ve galaktozun ise selüloz üretimi açısından iyi bir karbon kaynağı olmadığını bildirmişlerdir (Çakmakçı, Karahan, Çakır, Gündoğdu ve Akoğlu, 2008).

Besi yeri ortamına karbon kaynağı olarak alkol kaynaklarından; etanol, dietilen glikol, etilen glikol ve gliserol kullanılmış ve en fazla BS üretimi gliserol de olmuştur (Keshk ve Sameshima 2014).

Yapılan bu çalışmaların ardından karbon kaynaklarının selüloz miktarının yanı sıra selülozun özellikleri üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur (Kesh ve Sameshrma, 2005).

Bakteriyel selüloz üretimi yapan bakteriler azot gereksinimi duymaktadırlar ve bunun için maya eksraktı ve kazein hidrolizatları gibi azot kaynakları kullanılmaktadırlar. Azot kaynaklarının eldesi maliyeti artırdığından düşük maliyetli azot kaynakları aranmıştır bunun üzerine kabak suyu, şeker pancar atığı ve beyaz peynir altı suyu gibi ucuz endüstri atıkları çalışmalarda kullanılmıştır (Kesh ve Sameshima, 2005; Krystynowicz ve diğerleri, 2000).

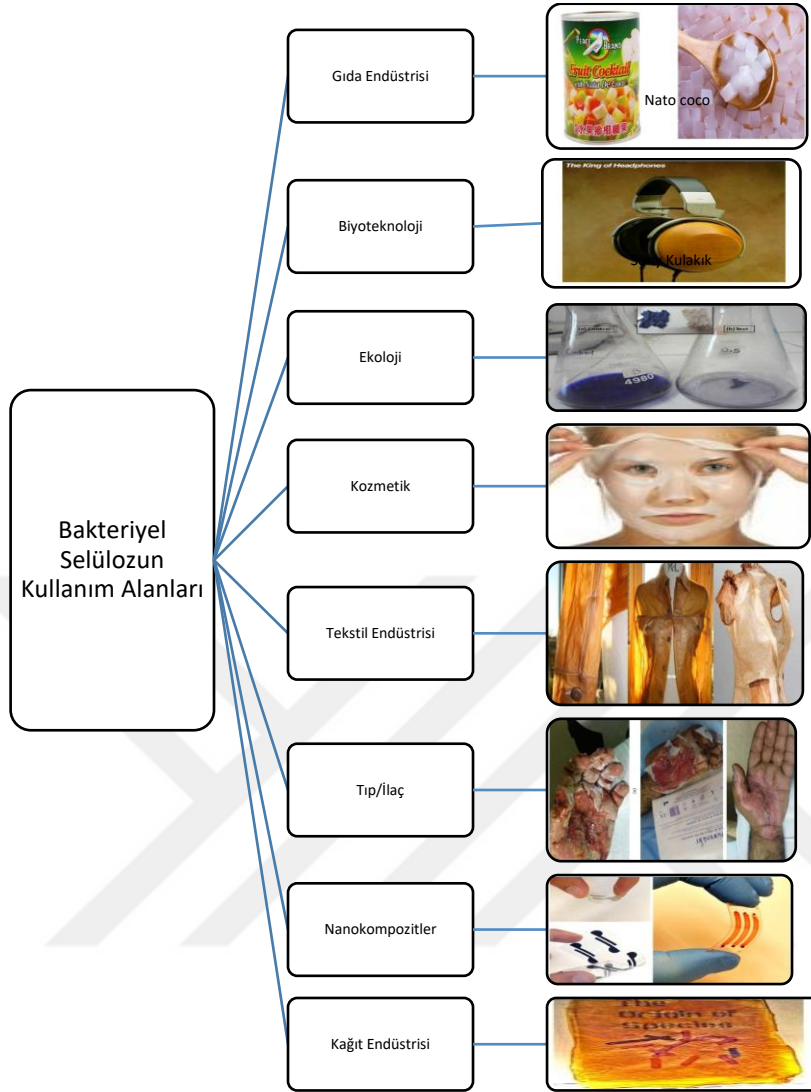
1.5.2. Oksijen, pH ve sıcaklığın etkisi

BS üretimi için uygun üretim parametreleri 4-7 pH ve sıcaklık 28-30⁰ C olarak belirlenmiştir (Moonmaggmee, 2002).

BS için ortamda çözünmüş oksijen miktarı önemli ve kısıtlayıcı bir faktördür. Yapılan bir çalışmada bir ortamda yeterince oksijen miktarı yüksek ve az olduğu ortamlar kullanılmış. Yüksek olan yerde glikoz karbon kaynağı olarak kullanıldığından ortamda glukonik asit birikimi artmış ve selüloz üretimi düşmüştür. Az olduğu ortamda ise kültürlerin gelişmesi için yeterli oran olmadığından üretim verimi düşmüştür. Çalışma sonucunda ortamdaki oksijenin %10 oranında olduğunda en yüksek bakteriyel selüloz üretimi gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Shirai ve diğerleri, 1994). Bu parametrelerin dışında ortama asetik asit ilavesinde bazı suşların BS üretimlerini ve selülozun su tutma kapasitesini artırdığını saptamışlardır (Toda, Asakura, Fukaya, Entani and Kawamura, 1997).

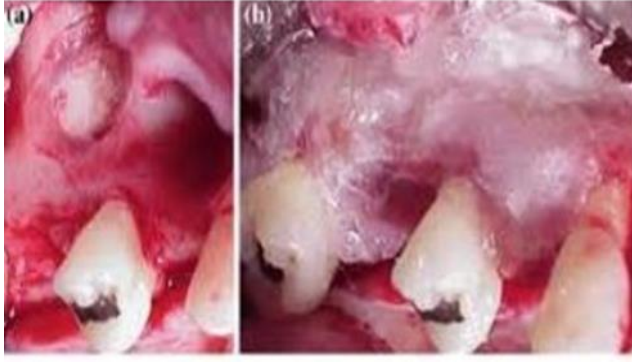
1.6. Bakteriyel Selülozun Kullanım Alanları

Bakteriyel selülozun saf-gözenekli yapısı, yüksek sıvı emme kuvveti, yüksek mekanik mukavetli yapısı gibi özellikleri ile gelişmiş biyometaryal olarak ortaya çıkmıştır (UI Islam, 2015).Bakteriyel selülozun gıda ve içecek işleme, fotokataliz uygulamalarında, boya sanayisinde, ağır metal çıkarmada, biosensör, kâğıt imalatı, paketlenme, filtrasyon malzemesi olarak, tekstil olarak suni deri yapımında, kozmetik sanayisinde; krem, tırnak cilalarında tıp ve ilaç alanları gibi birçok alanda kullanımı araştırılmaktadır (Lin ve Lin, 2004) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Bakteriyel selülozun kullanım alanları

Selüloz'un jelatinimsi bir yapıya sahip olması, sıvılar ve gazlara karşı yüksek geçirgenliğe sahip olması nedeniyle dermatolojik olarak güvenilir kabul edildiğinden tıbbi alanda kullanımı oldukça yaygındır. Brezilya firması olan Biofill Produtos Bioteχνologicos bakteriyel selülozla ilgili üç ürün piyasaya sürmüştür. İlk ürün diş eti hastalıklarında ve diş implant larında kullanılmış (Resim 1.3), ikinci ürün yapay deri olarak, üçüncüsü de ikinci ve üçüncü derece yanıkların tedavisinde kullanılmıştır (Ata ve Ali, 2017) (Resim 1.4).

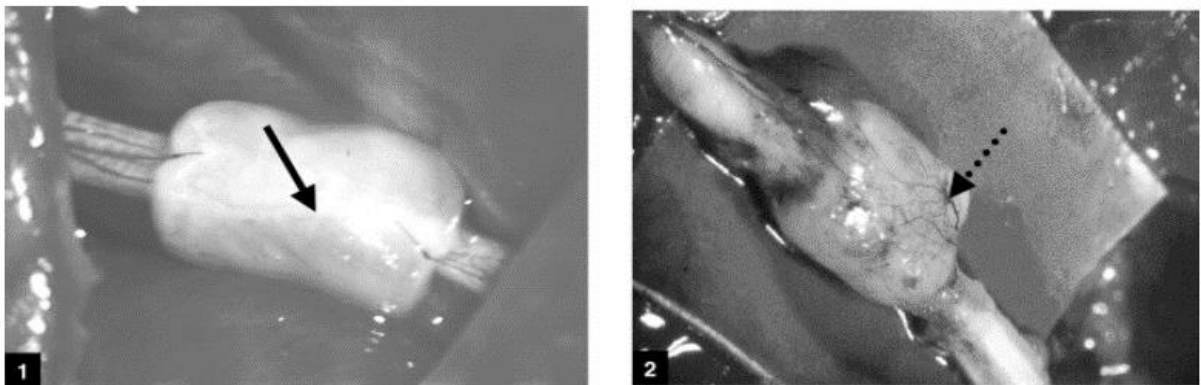


Resim 1.3. Bakteriyel selülozun diş implant tedavisinde kullanılması (Lazaridou, Biliaderis, Roukas and İzydorczyk, 2002).



Resim 1.4. Bakteriyel selülozun yara tedavisinde yapay deri olarak kullanımı (Rodriguez, Canales and Hidaolgo, 2005).

Bakteriyel selüloz katmanında bir çukur oluşturacak şekilde üretilmesiyle yapay kan damarı ve üreter olarak kullanılabileceği ve diğer yapay kan damarlarına göre daha az kan pıhtılaşma riski taşıdığını bildirmişlerdir (Klemm ve diğerleri, 2001) (Resim 1.5).



Resim 1.5. Bakteriyel selülozun yapay kan damarı olarak kullanılması (Degeest ve De Vuyst, 1999).

2012 yılında Âmin ve ark. bakteriyel selüloz film oluşturma özelliğinden dolayı farmasötik kaplamalarda kullanılabileceğini ve bunun üzerine ilaç tableti oluşturmuşlardır (Âmin ve diğerleri, 2012). Bakteriyel selüloz işlenmiş gıdalarda kalorisiz katkı maddesi olarak kullanılabilir. Filipinler’de Nata de coco olarak kullanılmıştır. Nata coco yüksek lif içeriğinden dolayı tüketicilerde serum lipit seviyesini ve kolestrolü düşürdüğünü bildirmişlerdir (Chau, Sugano, Kouda, Yoshinaga and Shoda, 2008) (Resim1.6.).



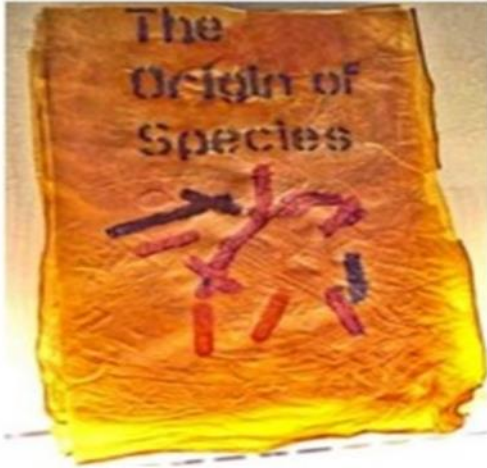
Resim1.6. Bakteriyel selülozdan yapılan Nate coco (Mohite, Salunke and Patil, 2013).

Bakteriyel selüloz dondurma ve çözdürme işleminden sonra işlevini kaybetmemesi özelliğinden dondurma, mayonez gibi çeşitli işlenmiş gıdalarda kıvam artırıcı ve su bağlayıcı olarak kullanılmaktadır (Kim ve diğerleri, 2005). Bakteriyel selüloz yüksek nem tutma özelliği sayesinde gıda ürünlerinin raf ömrünü uzattığı, sert olması gereken gıdalara sertlik ve esneklik kazandırdığı bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2009). Bakteriyel selülozun vegan ürünleri için hayvansal gıda yerine kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada kırmızı pigmente sahip olan *Monascus purpureus* türünün özütü ile birleştirilen bakteriyel selülozun tadı ve rengi aynı sığır etine benzeyen yüksek lifli, düşük kalorili vegan et ürünü olarak hazırlanmışlardır (Mohite, Salunke and Patil, 2013; Zahan ve diğerleri, 2015). Bakteriyel selüloz sentezleyen bakteriler ile çeşitli bitki çaylarıyla fermente edilmesiyle oldukça sağlıklı probiyotikli çay olan kombucha çayı elde edilmiştir (Yassine and Mohamad , 2016) (Resim 1.7).



Resim 1.7. Kombucha Çayı (Hwang, Yang, Hwank, Pyun and Kim, 1999).

Bakteriyel selüloz bir diyet lifi olduğundan 1992 yılında Amerika Gıda ve İlaç İdaresi tarafından Genel olarak güvenli kabul edilen GRAS olarak kabul edilmiştir (Güzel ve Akpınar, 2018). Yapılan bir çalışmada bakteriyel selüloz zincirleri kâğıt hamuruna atılmış, yırtılmaya ve yanmaya karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Bunun yanı sıra hasarlı kâğıt onarılmalarında da kullanılmaktadır (Toda, Asakura, Fukaya, Endani and Kawamura, 1997) (Resim 1.8).



Resim 1.8. Bakteriyel selülozun kâğıt olarak kullanılması

Günümüzün petrol türevli ürünlerinin sebep olduğu çevre kirliliğinin önüne geçmek üzere statik kültür ile geliştirilen bakteriyel selüloz tabaklarından poşet ve gıda ambalaj malzemesi olarak kullanılmaya başlanılmış, elde edilen ürünün dayanıklı oluşu ve doğada 3 ay ile 1 yıl arasında bozunması nedeniyle popüler bir hale gelmiştir (Bilgi, Bayir, Sendemir and Hames 2016) (Resim 1.9).



Resim 1.9. Bakteriyel selülozun gıda ambalajı olarak kullanılması (Du ve diğerleri, 2020).

Tekstil alanında bakteriyel selülozla yapılan değişik tasarımlar literatür arasında yer almıştır (Nam ve Lee, 2016) (Resim 1.10).



Resim 1.10. Bakteriyel selülozla tekstil uygulamaları (Güzel ve Akpınar, 2018; Çobanoğlu ve diğerleri, 2013).

Bakteriyel selülozdan yüksek kalitede ses membranı ve elektronik kâğıt elde edilmiştir. Bakteriyel selüloz kullanılarak SONY tarafından MDR-R10 isimli kulaklık üretilmiştir (Iguchi ve diğerleri, 2000) (Resim 1.11).



Resim 1.11. Bakteriyel selüloz kullanılarak yapılan kulaklık (Iguchi ve diğerleri, 2000).

Gün geçtikçe bakteriyel selülozun kullanım alanları artmaktadır. Bu nedenle çalışmamızın birinci adımı farklı kaynaklardan (toprakta, ev yapımı sirke ve kombucha çayı) bakteri izole edilip ve izole edilen bakterilerin bakteriyel selüloz üretilip üretilmediğini tespit etmektir. İkinci adımda ise selüloz üreten bakterilerin MALDI-TOF ile tanımlanması ve üretilen selülozların SEM ile fibril yapılarına bakılıp FTIR analizi ile karakteristik özelliklerinin belirlenmesidir.

2. LİTERATÜR

1980'den günümüze kadar çalışmaları devam eden Bakteriyel selülozun üretimi, özellikleri ve uygulama alanları ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Akoğlu, Karahan, Çakmakçı ve Çakır (2010), Bakteriyel selülozun daha saf olması, daha iyi su tutma kapasitesine sahip olması gibi özellikleriyle gıda sanayisinde özellikle, düşük kalorili tatlı, cips ve şekerlemelerin üretiminde; dolgunluk verici olarak tatlı, dondurma ve salata soslarının bileşiminde, ayrıca sosis ve etlerin kaplanmasında güvenilir ve geniş bir kullanım potansiyeline sahip olacağını bildirmişlerdir.

Gündüz, Nejla, Aydemir ve Kılıç (2015), *Gluconacetobacter hansenii* (Gossele vd.,) kullanarak saf selülz üreterek bazı özelliklerini incelemiştir. SEM ile incelemesi sonucu selüloz zincirinin çaplarının 20nm-75nm olduğunu ve su tutma kapasitesinin tam kuru ağırlıklarının 91-109 katı olduğunu ve bu sonuçlara göre kullanılan suşun Bakteriyel Selüloz üretimi için uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Gündüz, Aydemir, Nejla ve Gümüş (2016), çalışmalarında CAS kayıt numarası 6318-58-3 olan silikon yağı kullanılarak Bakteriyel selüloz üretimine olan etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla kontrol grubu olarak HS broth ve *Gluconacetobacter hanseii* (Kontrol-BC) kullanılmış diğer tarafta da HS broth+ *Gluconacetobacter hanseii*+ silikon yağı ilave edilmiş (Silikon-BC) ve iki grup inkübasyona aynı gün ve saate bırakılmış ve 14 günün sonunda elde edilen Bakteriyel selülozların su tutma kapasiteleri Kontrol-BC 68,31, Silikon-BC 173,82 katı olarak saptamışlardır. Selüloz verimleri ise Kontrol-BC 1,05 g /L iken silikon-BC'nin 1,234 g/L olduğunu ve bunun üzerine silikon yağının bakteriyel selüloz üretiminde olumlu etkiye sahip olduğunu saptamışlardır.

Aşık (2016), çalışmasında *Gluconacetobacter hanseii* bakterisi kullanarak iki ayrı besi ortamı kullanılarak bakteriyel selüloz üretimine olan etkisine bakmıştır. Piyasadan temin edilen havuç materyali kullanılarak besi ortamı oluşturulmuş bir diğer besi ortamı ise standart besi ortamı olan HS broth kullanılmıştır. Çalışma sonucunda havuçlu besi ortamında elde edilen BS ağırlığı 1,21 gr iken HS brothlu besi ortamında ki ise 0.69 gramdır.

Havucun bakteriyel selüloz üretiminde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve standart besi ortamından başka besi ortamlarında da bakteriyel selüloz üretebildiğini bildirmiştir.

Güzel ve Akpınar (2017), yaptıkları çalışmada evsel sirkeden *Komagataeibacter hanseii* GA2016 izole edip tanılamışlardır. Bu bakteri ile BS üretilmiş ve BS' nin fiziksel, kimyasal ve termal özelliklerini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda üretilen BS' nin yüksek kristaliteye sahip olduğu ve bitkisel selüloza kıyasla lif çaplarının yaklaşık 120 kat daha ince olduğu ve termal kalınlığının bitkisel selüloza kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Yılmaz (2017), *Acetobacter xylinum* tarafından Bakteriyel Selüloz sentezleme süresinin 10 gün olduğunu saptamıştır. Farklı karbon kaynakları kullanılarak BS'nin üretimini değerlendirmiştir. Besi yerine eklenen glikoz, früktoz, mannitol, sükroz ve laktoz gibi basit şekerlerden en yüksek verimin sükroz içeren besiyeri olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada melaslı besiyeri kullanılmış. Melaslı besiyeri için şeker konsantrasyonu 20g/L, 40 g/L ve 80g/L olarak ayarlanmış ve düşük şeker konsantrasyonuna sahip melaslı besiyerinde BS üretimine ulaşılmıştır.

Top (2018), çalışmasında üzüm sirkesinden izole edilen ve tanımlanan *Komagataeibacter xylinus* bakterisi tarafından sentezlenen bakteriyel selülozun üretimi ve karakterizasyonunu yapmıştır. Besiyeri tipi, farklı karbon kaynakları, pH, sıcaklık, yüzey alanı ve inkübasyon sürelerinin selüloz üretimine olan etkisini araştırmıştır. Çalışması sonucunda en iyi BS üretiminin 30°C, pH 6,5'te, 1,06 cm⁻¹ yüzey alanı/ hacim oranında, tek karbaon kaynağı olarak glikoz ilave edildiğinde en iyi BS üretildiğini bildirmiştir. Elde edilen BS örneklerin elektriksel iletkenliğini, 300-400K sıcaklık aralığında incelemiş ve artan sıcaklıkla birlikte iletkenliğinin arttığını ve yarı iletken davranış gösterdiklerini bildirmiştir.

Tiryaki (2021), çalışmasında ev yapımı sirke ve kombucha mantarı çayından bakteri izole etmiş ve bu bakterinin hangisinin selüloz üreticisi olduğunu saptamak istemiştir. Çalışmasının sonunda bakteriyel selüloz üreten bakterilerin idendifikasyonu sonucunda *Gluconacetobacter* cinsine ait olduklarını saptamıştır.

Su ve diğerleri, (2022), üç boyutlu izolasyon katmanı yapısına sahip MXene/bakteriyel selüloz film kullanılarak kağıt bazlı bir basınç sensörü hazırlanmış ve giyilebilir bir ses dedektörü olarak algılama yeteneği de incelemişlerdir. Hazırlanan cihaz, mükemmel kapsamlı mekanik algılama performansının yanı sıra insan fizyolojik sinyallerinin doğru tespitini de sergilediğini ve bir ses dedektörü olarak, yalnızca boğaz kaslarının hareketini

izleyerek farklı ses sinyallerini ve ses özelliklerini tanımakla kalmaz, aynı zamanda ses iletiminin (ses dalgaları da denir) neden olduğu hava basıncı dalgaları aracılığıyla çeşitli doğal sesleri ayırt ettiğini ve ayrıca müzik sinyallerini yakalama ve sunma yeteneğinden dolayı ses görselleştirme teknolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca milimetre ölçeğinde kalınlık, hafif ve bozunabilir ham maddeler, sensörü kullanışlı ve taşınması kolay hale getirerek çevre koruma gereksinimlerini de karşıladığını bildirmişlerdir.

Faria ve diğerleri (2022), mikroplastik (MP) kirliliğinin çağımızın en önemli sorunlarından biri haline geldiğini ve atık su arıtma tesislerindeki (AAT'ler) mevcut filtreleme sistemleri, bakım prosedürleri çevreye zarar veren ve sürdürülemez olan biyolojik olarak parçalanamayan fosil bazlı polimerik filtrelere dayanmaktadır. Bunun üzerine çalışmalarında Bakteriyel selüloz bazlı biyopolimer geliştirdiler. Çalışmanın sonucunda, BC biyopolimerlerinin MP'leri %99'a varan oranda uzaklaştırma verimliliği sergilediğini ve birçok sürekli döngü boyunca yüksek performansı koruduğunu bildirmişlerdir.

Jabbari ve Bakhtiari (2022), sinir yaralanmaları ve nörodejeneratif bozukluklar çok ciddi ve maliyetli tıbbi zorluk olduğu ve hasar görmüş sinir dokusu iyileşemeyebilir ve işlevini geri kazanamayabilir ve sinir dokusu sinir hücresi yenilenmesini kısıtlayabildiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında Bakteriyel selüloz'un iyi mekanik özellikleri, yüksek su tutması, biyouyumluluk, yüksek kristallik, geniş yüzey alanı, yüksek saflık, çok ince ağ yapısı ve selüloz eksikliği nedeniyle insan vücudunda absorbe edilememesi gibi benzersiz özellikleri göz önüne alarak ve uzun vadeli destek gerektiren nörolojik yaralanmalar ve bozukluklar için umut verici bir tedavi olarak kabul edilebileceğini bildirmişler. Ancak BC'nin elektriksel aktiviteden yoksun olduğunu fakat iletken yapılarla birleşerek sinir yenilenme hızını önemli ölçüde artırabileceğini ve elektriksel simülasyonun, sinir yenilenmesinin hızını ve doğruluğunu arttırmanın etkili bir yolu olabileceğini saptamışlardır.

Pan, Li, Ma, Ma and Gao (2023), doğal bir biyokütle olan bakteriyel selülozun, düşük maliyet, yenilenebilirlik, kolay işlenebilirlik, biyolojik parçalanabilirlik ve yüksek saflık gibi avantajlarını göz önüne alarak BC'nin bir substrat bir matris veya hidrojel formunda takviye maddesi olarak hareket ettirilebileceğini ve giyilebilir sensörler ve akıllı elektronikler için olumlu özellik sağlayabileceğini bildirmişler.

Zeng, Yang, Tong and Zhao (2023), bakteriyel selülozun iyi biyouyumluluğu ve üstün mekanik özelliklerinden dolayı geniş uygulama alanlarına sahip olduğunu göz önüne alarak Gümüş nanopartiküller (AgNP) ile işlevselleştirilen BS'nin yara iyileştirme tedavisinde antimikrobiyal bir membran olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

UI-Islam ve diğerleri (2023), çalışmalarında biyomedikal uygulamalar için düşük maliyetli bakteriyel selüloz bazlı nar (*Punica granatum* L.) kabuğu ekstraktı (PGPE) içeren antibakteriyel kompozit geliştirmeyi amaçladılar. Çalışmaları sonucunda BC-PGPE kompoziti *S.aureus* ve *E.coli* büyümesinde sırasıyla %100 ve %50 azalmaya neden olduğunu ve bu kompozitin umut verici bir antibakteriyel yara pansuman malzemesi olabileceğini bildirmişlerdir.

Zhang, Chen, Dong, Nie and Ma (2023), kovalent organik çerçeveler (COF'ler), benzersiz yapıları ve özellikleri nedeniyle atık su arıtımında geniş bir uygulama beklentisine sahiptir; ancak saf COF membranlarının hazırlanması, yüksek sıcaklık ve yüksek basınçta oluşan COF tozlarının çözünmezliği ve işlenemezliği nedeniyle büyük bir zorluk olmaya devam etmiştir. Bu çalışmalarında, bakteriyel selüloz (BC) ve kendine özgü yapıları ve hidrojen bağlama kuvvetlerine sahip porfirin bazlı COF kullanılarak sürekli ve hatasız bir bakteriyel selüloz/kovalent organik çerçeve kompozit membran hazırladılar ve çalışmanın sonucunda BC/COF kompozit membran, COF malzemelerinin su arıtmadaki uygulamasını büyük ölçüde genişleten mükemmel boya ayırma etkilerine ek olarak olağanüstü kirlenme önleyici ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Li ve diğerleri (2023), çalışmalarında bakteriyel selülozla yağ-su emülsiyon ayrımı için uygulamayı ortaya koymuşlardır. Bakteriyel selüloz/ selüloz nanokristalleri (CNC) hidrojelleri daldırma yöntemiyle hazırladılar ve CNC eklenmesiyle BS hidrojellerinin kristallerinin artırmasıyla %97,6 suda yağ ve yağda su emüsyonlarını ayırmada verimliliği artırdığını ve yağ-su emülsiyonları için ayırma akış hızını artırmak için uygulanabilir bir strateji sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada çeşitli kaynaklardan bakteriyel selüloz üreten bakterilerin izolasyonu için; Amasya Merkezi Laboratuvarından alınan toprak örnekleri, Amasya iline has elmalarıyla yapılan ev yapımı elma sirkesi ve hazır komboucha çayı kiti ve bu kaynaklardan izole edilen bakteriler tez çalışmasında materyal olarak kullanıldı (Resim 3.1).



Resim 3.1. Laboratuvara getirilen toprak örnekleri, ev yapımı elma sirke ve kombucha kiti

3.1.1. Besi Ortamları

Nutrient Broth/ Agar

Bakteri izolasyonu ve saflaştırma işleminde kullanılmıştır. Ticari olarak satın alınan (Merck 1.05450) NB besiyeri için 1000 ml saf suya 20 gr ve NA besiyeri için 40 gr eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerinden NA otoklav yapılarak 9 cm çapına steril petri kaplarına 15 ml gelecek şekilde dökülmüştür. NB ise 12 ml'lik cam tüplere 10 ml eklenerek 121°C'de 15 dakika otoklav yapılmıştır.

HS ve HSA besiyeri (Hestrin ve Schram, 1957)

Glukoz	20 gr
Maya eksrakıtı	5 gr
Pepton	5 gr
Citrat	1,15 gr
Na ₂ HPO ₄	2.7 gr
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,1 gr
CaCl ₂	0,2 gr
NaCl	1 gr
Ph	6
Saf Su	1000 ml

250 ml erlenlerde 100 ml olacak şekilde hazırlanan besi yeri duruma göre 0,1 M HCl yâda 0,1 M NaOH eklenerek pH 6 olacak şekilde ayarlanmıştır. Erlenlerin ağızları pamuk ve alimünyum folyo ile güzel bir şekilde kapatılarak. 121⁰ C 1 atm'de 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Bu besiyeri Bakteriyel Selüloz üretimi için belirleyici bir besiyerdir. Aynı zamanda HSA içinde %1,5 gr olacak şekile agar eklenilmesiyle petrilere dökülerek bakterilerin izolasyonu için kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan çözeltiler

Fizyolojik tuzlu su

NaCl	85 gr
Saf su	1000 ml

Saf su içersinde tuzun çözülerek hazırlanmasıdır. Bakteri izolasyonun da dilüsyon aşamasında ve bazı çalışmalarda seyreltme sıvısı olarak kullanılır.

%20'lik gliserol çözeltisi

Gliserol	20 ml
Saf su	80 ml

121⁰ C’de 15 dakika otoklavlanıp steril edilmiştir. Bakterilerin stoklanması eppendorff tüplerine konularak -20⁰ C’de muhafaza edilir (Akçelik,2000).

%3’ lük H₂O₂ çözeltisi

Hidrojen Perosit	10 ml
Saf su	90 ml

Saflaştırılan Bakteriyel selülozu ağartma işleminde kullanılır.

%4’lük NaOH çözeltisi

NaOH	4 gr
Saf su	100 ml

Bakterilerin üretmiş olduğu bakteriyel selülozun saflaştırılmasında kullanılır.

%6’ lık Asetik Asit çözeltisi

Asetik Asit	6 ml
Saf su	94 ml

Elde edilen BS saflaştırılmasında kullanılır.

3.2. Metot

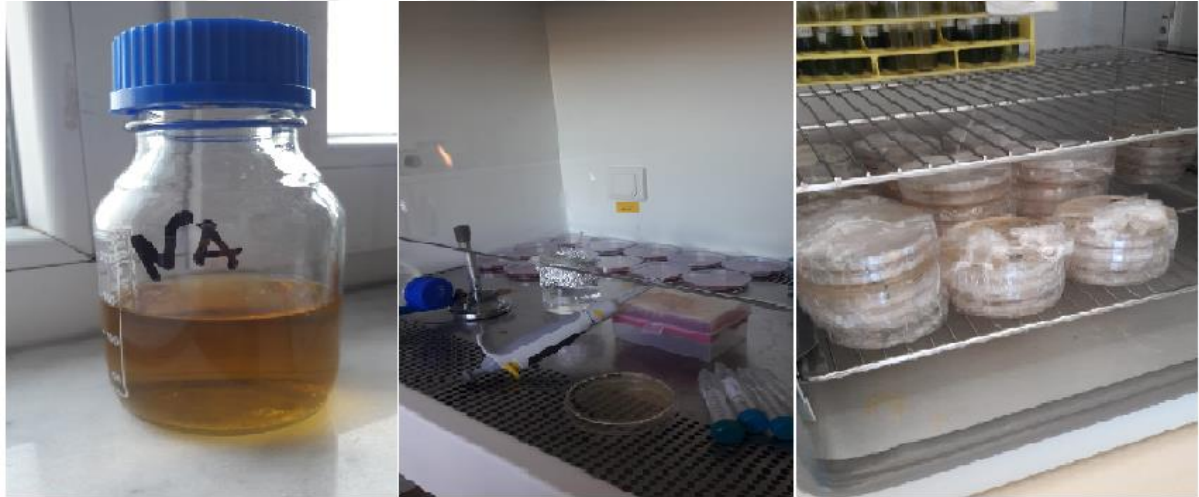
3.2.1. Bakteri izolasyonu

Laboratuvara 9 adet toprak örneği getirilmiştir. Her biri havanda dövülüp 5 gr alınarak, 95 ml fizyolojik tuzlu su (%0,85 NaCl) içerisinde 60 dakika 125 dev dak⁻¹’da çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Resim 3.2). Çalkalama sonunda toprak örneklerinin bulunduğu sıvıdan, Elma sirkesi ve Komboucha çayından dilüsyon serileri hazırlanmıştır.



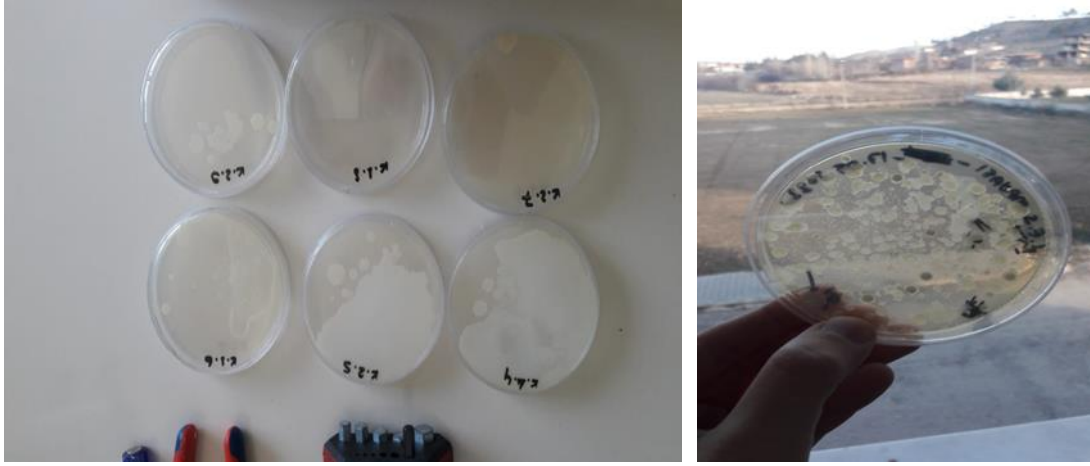
Resim 3.2. Toprak örneklerinin bakteri izolasyonu için hazırlanması

Sıvı örneklerinden 1 ml alınıp içerisinde 9 ml fizyolojik tuzlu su bulunan 12 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Tüp karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra bu şekilde 10 katlık dilüsyon serileri hazırlanmıştır. 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} dilüsyon serilerinden 3 tekerrürlü olmak şartıyla 100 μ l alınarak, NA besi ortamı içeren petrilere drigalski yardımıyla yayma ekimi yapılarak 24 saat 30 C⁰'de inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.3.).



Resim 3.3.Bakteri izolasyonunun yapılması

İnkübasyon sonunda koloniler morfolojik olarak değerlendirilip numaralandırmanın sonunda farklı morfolojik yapıya sahip izolatlar 5ml NB içeren tüplere öze yardımıyla tek tek ekimleri yapılarak 24 saat 27 C⁰'de inkübasyona bırakılarak gelişimleri sağlanmıştır (Resim 3.4).



Resim 3.4. NA ekilen bakterilerin inkübasyon sonu görüntüsü ve numaralandırılması

Saflaştırılan izolatlardan 100µl alınıp ve 1000µl %30 gliserol içeren eppendorff tüplere konularak -20 C⁰'de stoklanmıştır.

3.2.2. İzole edilen bakterilerin bakteriyel selüloz üretimlerinin araştırılması ve kullanılacak olan bakterilerin belirlenmesi

Stoklanan bakterilerden 1000 µl alıp BS üretip üretemediklerini belirlemek için kullanılan ve seçici bir besiyeri olan HS broth 100 ml içeren erlenlere ekimleri yapılmıştır (Hestrin-Schram,1957) (Resim 3.5).



Resim 3.5. İzole edilen bakterilerin HSB besiyerine ekimleri

Ekimi yapılan erlen kaplarında bakteri gelişimini sağlamak için inkübasyonda 27⁰C’de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır. Besi ortamında gelişen bakterilerin besi yerlerinin üzerlerinde jölemsi pelet tabakası oluşturup oluşturamadığı bakımından gözlemlenmiştir. Bakteriyel selüloz üreten bakterilerin besiyeri yüzeyinde elastik, kaygan bir yapı oluşturduğu gözlemlenmiştir (Resim 3.6).



Resim 3.6. HSB ekimi yapılan bakterilerin inkübasyona bırakılması

3.2.3. Bakteriyel selülozun saflaştırılması ve üretim miktarının belirlenmesi

HSB Besiyerinde 10 gün sonra elde edilen selüloz partiküllerini ve tabakasını besi ortamı üzerinde bulunan bakteri ve diğer bileşenlerden ayırmak için temizleme işlemi uygulandı. Erlende oluşan BS tabakası ilk olarak süzülerek etanol içinde tutulmuştur (Zeng, 2014). BS yapısı bozulmadan etkili bir temizlik için %3'lük NaOH 30 dakika boyunca 80⁰C’de muamele edildi (Han, Shim and Kim, 2019). Süzme işlemi yapıldı, süzme kâğıdında kalan Selülozlar %5’lik asetik asitle yıkanıp nötrleştirildi. Saflaştırma işleminin son basamağı olan ağartma işlemi için %5 H₂O₂, 90⁰C ve 110 rpm’de 60 dakika muamele gördü (Han, Shim and Kim, 2019). Elde edilen selülozların yaş ağırlıkları hassas terazi ile tartıldıktan sonra kurutma işlemi içinde 24 saat 35⁰C’de etüve bırakıldı ve kuru ağırlığı hassas terazi ile belirlenmiştir.

Kültür ortamında bakteriyel saflaştırma için en yaygın olarak kullanılan yöntem şu şekildedir:

Elde edilen selüloz 4000xg' de 20 dakika santrifüj edilerek fermentasyon sıvısından toplanır.



Kalan besiyerini uzaklaştırmak için deiyonize su ile yıkanır.



Bakteri hücrelerinden arındırmak için 80⁰ C' de 0.1 M NaOH ile 20 dakika muamele edilir.



NaOH solüsyonu filtre edilir ve ardından selüloz %5 asetik asit ile nötralize edilir.



Deiyonize su ile yıkanır.



Saflaştırılan bakteriyel selüloz hava/ısı/dondurularak kurutulur (Bilecekci, Krystynowicz, Turkiewicz and Kolinowska, 2005).

3.2.4. Bakteriyel selülozun su tutma kapasitesinin belirlenmesi

Yaş ağırlığı ve kuru ağırlığı belirlenen bakteriyel selüloz numunelerinin Su Tutma Kapasitesi (STK) aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Shezad, Khan, Khan and Park, 2010).

$$STK = \frac{Yaş\ Ağırlığı(g) - Kuru\ Ağırlığı(g)}{Yaş\ Ağırlık} \times 100$$

3.2.5. Bakteriyel selülozun SEM (taramalı elektron mikroskop) analizi

Bakteriyel selüloz örneklerin liflerinin morfolojisi ve mikro yapısını görmek için SEM analizi yapılmıştır (Resim 3.7). Etüvde kurutulan BS örnekleri SEM görüntüleri için hazır hale getirilmiş olup OMÜ Karadeniz İleri Teknolojiler Araştırma ve Uygulama Merkezinde (KİTAM) morfoloji analizi için taramalı elektron mikroskobunda 10-30 kV arası bir ayar düzeni uygulanarak görüntüsü alınmıştır.



Resim 3.7.SEM cihazı

3.2.6. FTIR analizi

Çalışmada üretilen bakteriyel selülozun kimyasal yapısını incelemek için FTIR (Fourier Transform Infrared Spektroskopisi) analizi yapılmıştır. FTIR analizi Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Laboratuvarında yapılmıştır (Şekil 3.8). Oda sıcaklığında KBr pellet tekniği ile 4 cm^{-1} çözünürlükte, $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ orta infrared bölgesinde 2 cm^{-1} aralıklar ile 16 tarama sayısı ile yapılmıştır.



Resim 3.8. FTIR analizinin yapıldığı cihaz

3.2.7. MALDI- TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanılanması

Her örnekten en iyi Bakteriyel Selüloz üreten 3 bakteri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) mikroorganizma tanımlama cihazı kullanılarak tanılanması yapılmıştır.

MALDI-TOF MS son yıllarda mikrobiyolojik tanılamada hızlı ve güvenilir olan matriks yardımcı lazer desorpsiyoniyonizasyon uçuş süreli kütle spektroskopisi cihazıdır (Ahmad, Babalola and Tak 2012; Pavlovic ve diğerleri, 2012). Analiz sonucunda, yüksek olasılıklı tür teşhisi; 2.000-3.000 (yeşil renk), cins düzeyinde ve muhtemel tür düzeyinde teşhis; 1.700-1.999 (sarı renk) arasındaki skala değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Uysal, Kurt, Soylu, Kara ve Soylu, 2018).

4. BULGULAR

4.1. Bakteri izolasyonu

Yapılan bakteri izolasyon çalışmasında örneklerin NA besi yerine ekimi sonucunda; farklı morfolojik yapıda topraktan 15, ev yapımı elma sirkesinden 39 ve kombucha çayından 22 bakteri izole edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1.Mikroorganima eldesinde kullanılan örnekler ve izole edilen izolat sayısı

Örnek	Kaynak	İzolat sayısı
Toprak	A.Ü Merkezi Araştırma Lab.	15
Elma sirkesi	Amasya ili ev yapımı	39
Kombucha çayı	Hazır kit	22

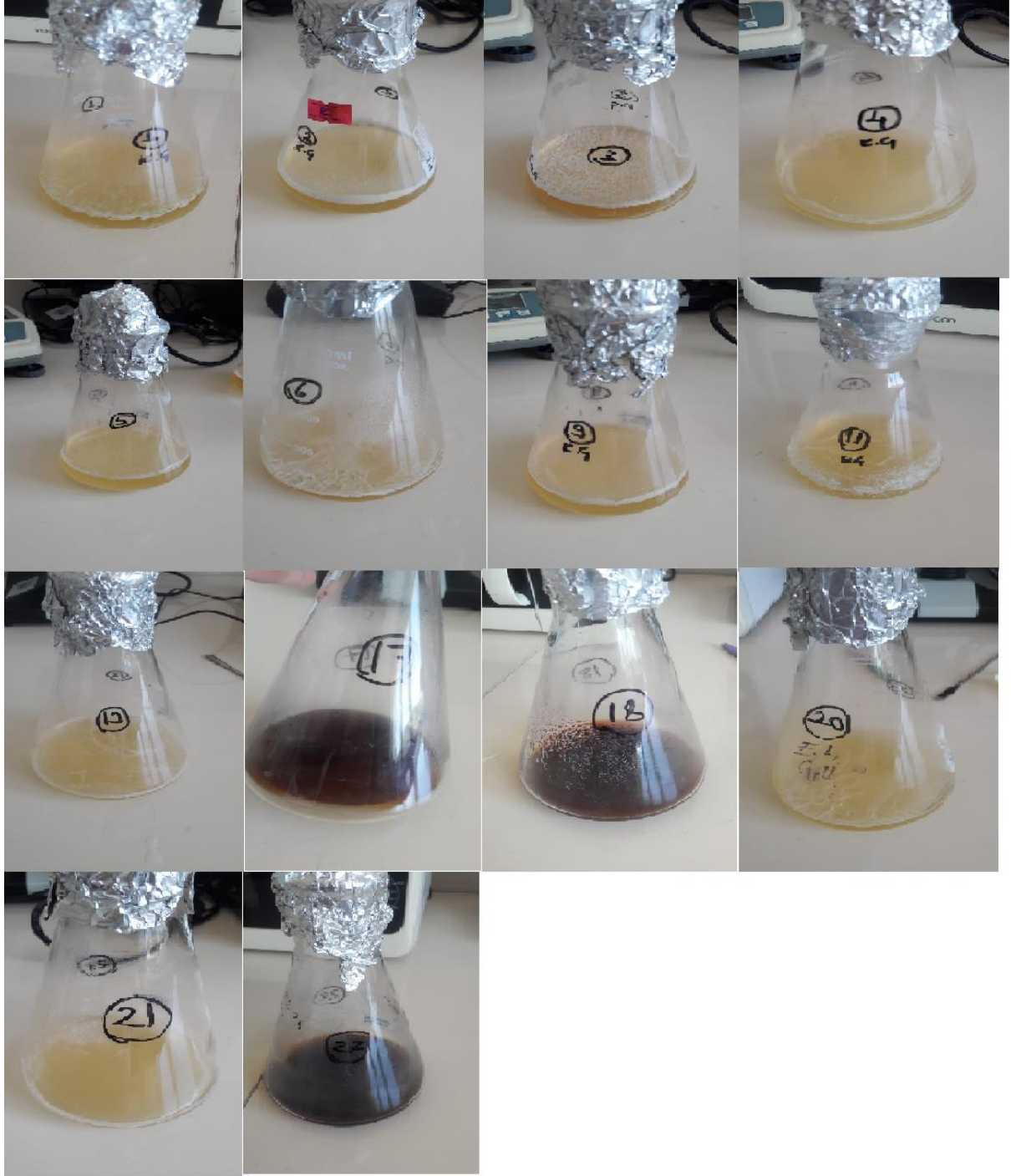
4.2.Bakteriyel Selüloz Üreten Bakterilerin Belirlenmesi

Farklı kaynaklardan izole edilen bakterilerin BS üretebilme özelliklerini belirlemek için özel besi yeri olan HS broth besi yerine topraktan 15 izolat, elma sirkesinde 39 izolat ve kombucha çayından izole edilen 22 izolat ekilmiştir. 10 günlük inkübasyon süresinden sonra HS broth besi yeri üzerinde jölemsi pellet oluşturanlar bakteriyel selüloz üretebilmesi bakımından pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu değerlendirme de toprak bakterinden 4 izolat, elma sirkesinde 15 izolat ve kombucha çayından ise 8 izolatın bakteriyel selüloz ürettiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2) (Resim 4.1;4.2;4.3).

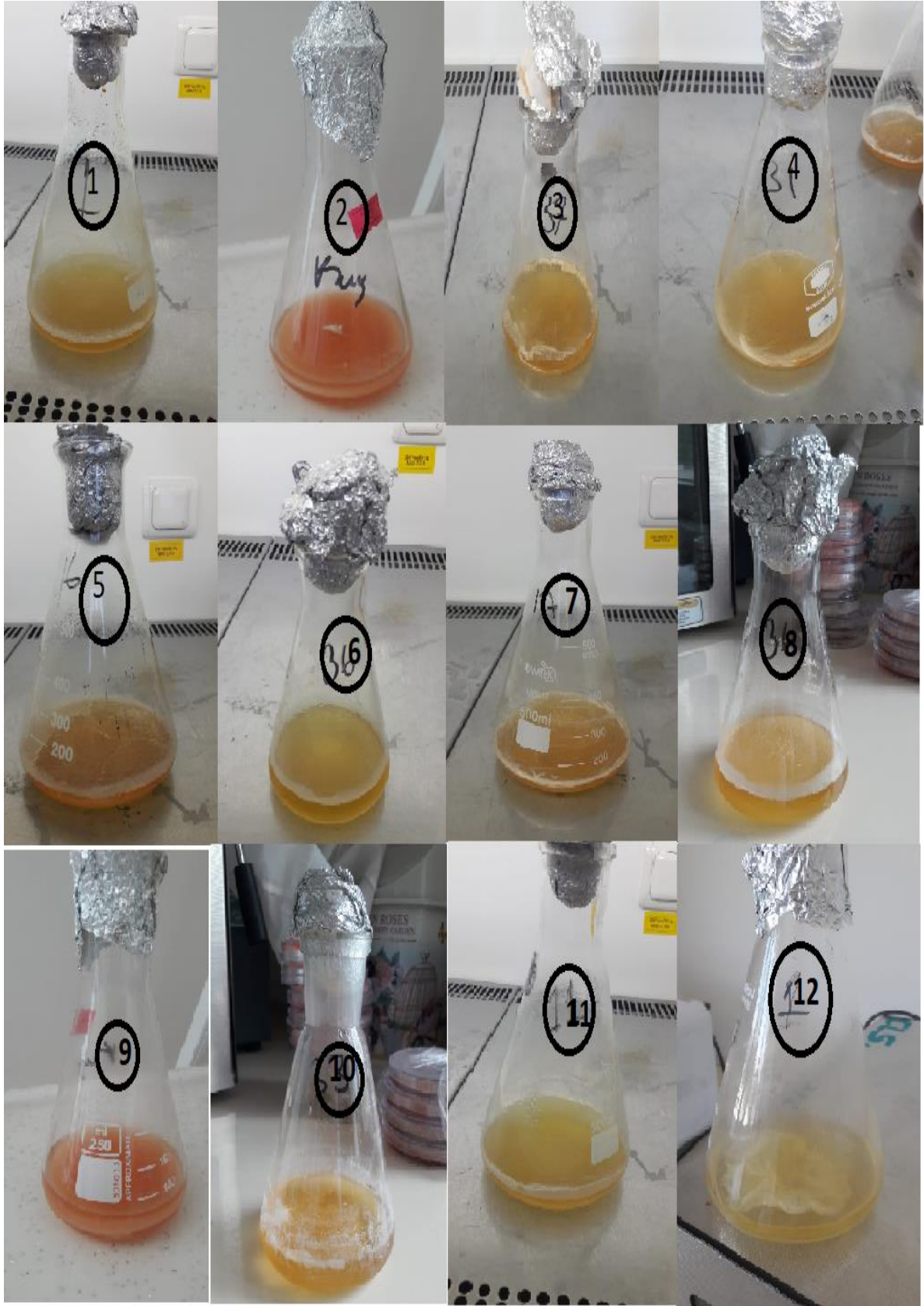
Çizelge 4.2. BS üreten bakteri izolatlarının sayısı

Örnek	Ekilen Suş sayısı	Pellet oluşturan sayısı
Toprak	15	4
Elma sirkesi	39	15
Komboucha çayı	22	8

HS broth besi yerinde yüzey kültür fermantasyon yöntemi ile selüloz üretimleri değerlendirilmiş ve izolatların ürettiği selüloz miktarları (mg/ml) olarak hesaplanmıştır.



Resim 4.1. Kombucha Mantarı Bakterilerin HSB ekiminin inkübasyon sonunda görüntüsü



Resim 4.2. Elma sirkesinin bakterilerinin HSB ekiminin inkübasyon sonucundaki görüntüler



Resim 4.3. Toprak bakterilerin HSB ekiminin inkübasyon sonucundaki görüntüler

4.3. Bakteriyel Selülozun Üretim Miktarı ve Su Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan bakterilerinden, topraktan izole edilen 4 izolat, elma sirkesinden 15 izolat ve kombucha çayında izole edilen 8 izolatın bakteriyel selüloz ürettiği gözlemlenmiştir. Üretilen bakteriyel selülozlar hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları belirlenmiştir. Elma sirkesinden izole edilen ve selüloz ürettiği tespit edilen 15 izolatın ürettikleri selüloz miktarlarının yaş ağırlıklarının 11.22-1.25g/100 ml arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Kambucha çayından ve bakteriyel selüloz ürettiği tespit edilen 8 izolatın ürettiği selülozun yaş ağırlığının ise 8.5-1.71 g/100 ml arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Toprakta izole edilen bakteri izolatları arasında ise 4 izolatın bakteriyel selüloz ürettiği ve üretilen selüloz miktarlarının 4.01-1.98 g/100 ml arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.3. Elma sirkesinden izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları, kuru ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri

İzolat Kodları	Yaş ağırlığı (g/100ml)	Kuru Ağırlığı(g)	Su tutma kapasitesi (%)
NBY-E3	3.192	0.06	81,20
NBY-E4	4.25	0.07	83,52
NBY-E8	5.85	0.072	87,69
NBY-E10	11.22	0.123	98,90
NBY-E11	8.25	0,1	94,90
NBY-E14	6.02	0.182	93,68
NBY-E15	1.25	0,08	67.2
NBY-E16	5.69	0,073	83.22
NBY-E19	6.251	0,092	85.28
NBY-E22	6.916	0,088	87.27
NBY-E25	8.379	0,11	97
NBY-E30	7.714	0,21	97.27
NBY-E31	1.25	0,081	73.6
NBY-E33	3.79	0,064	83.11
NBY-E34	3.27	0,076	82.56

Elma sirkesinden izole edilen bakteri izolatlarının ürettiği bakteriyel selülozların su tutma kapasiteleri değerlendirildiğinde, üretilen selülozların su tutma kapasitelerinin %67,2-98,9 arasında değiştiği tespit edilmiştir. İzolatlar arasında en yüksek oranda su tutma kapasitesine sahip izolat NBY-E10 kodlu izolatın ürettiği selüloz olurken, en düşük su tutma kapasitesine sahip selülozu üreten NBY-E15 kodlu izolat olmuştur.

Çizelge 4.4. Kombucha çayından izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri

İzolat Kodları	Yaş ağırlığı (g/100ml)	Kuru ağırlığı(g)	Su tutma kapasitesi (%)
NBY-K1	8.50	0,09	96.23
NBY-K3	3.11	0,058	81.35
NBY-K11	3.58	0,076	78.77
NBY-K13	5.48	0,066	87.95
NBY-K17	1.71	0,083	71.92
NBY-K20	5.54	0,072	87
NBY-K21	1.53	0,083	84.96
NBY-K22	1.28	0,094	85.93

Selüloz üreten bakterilerin izolasyonu için kullanılan Kombucha çayından ise 8 izolatın bakteriyel selüloz ürettiği ve üretilen bu bakteriyel selülozların su tutma kapasitelerinin %71,92-96,23 arasında değiştiği belirlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek oranda su tutma kapasitesine sahip izolat NBY-K1 kodlu izolatın ürettiği selüloz olurken, en düşük su tutma kapasitesine sahip selülozu üreten NBY-K17 kodlu izolat olmuştur.

Çizelge 4.5. Topraktan izole edilen bakterilerin ürettikleri bakteriyel selülozun yaş ağırlıkları, kuru ağırlıkları ve su tutma kapasiteleri

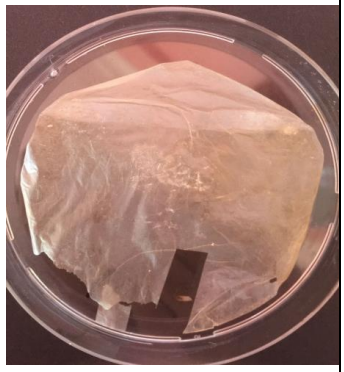
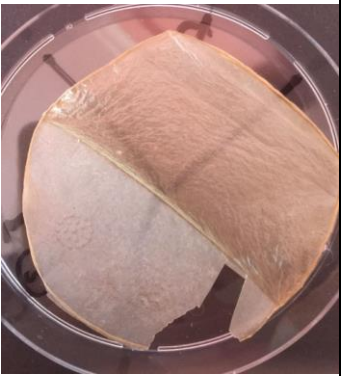
İzolat Kodları	Yaş ağırlığı (g/100ml)	Kuru Ağırlığı	Su tutma kapasitesi
NBY-T2	3.01	0,063	85.71
NBY-T7	4.01	0,056	96
NBY-T9	2.82	0,076	90.78
NBY-T11	1.98	0,091	89.39

Topraktan izole edilen ve bakteriyel selüloz ürettiği tespit edilen 4 izolat arasında, %90,78 ile en yüksek su tutma kapasitesine sahip bakteriyel selülozu üreten NBY-T7 kodlu izolat olurken, en düşük su tutma kapasitesine sahip bakteriyel selülozu (89.39) NBY-T11 kodlu izolat üretmiştir. Farklı kaynaklardan izole edilen bu bakteriler arasında en yüksek miktarda NBY-K1, NBY-E10, NBY-7T kodlu izolatların ürettiği bakteriyel selülozlar seçilerek karakterizasyonu ve mikroorganizmaların tür tayini yapılmıştır.

4.4.Bakteriyel Selülozun Saflaştırılması ve Kurutulması

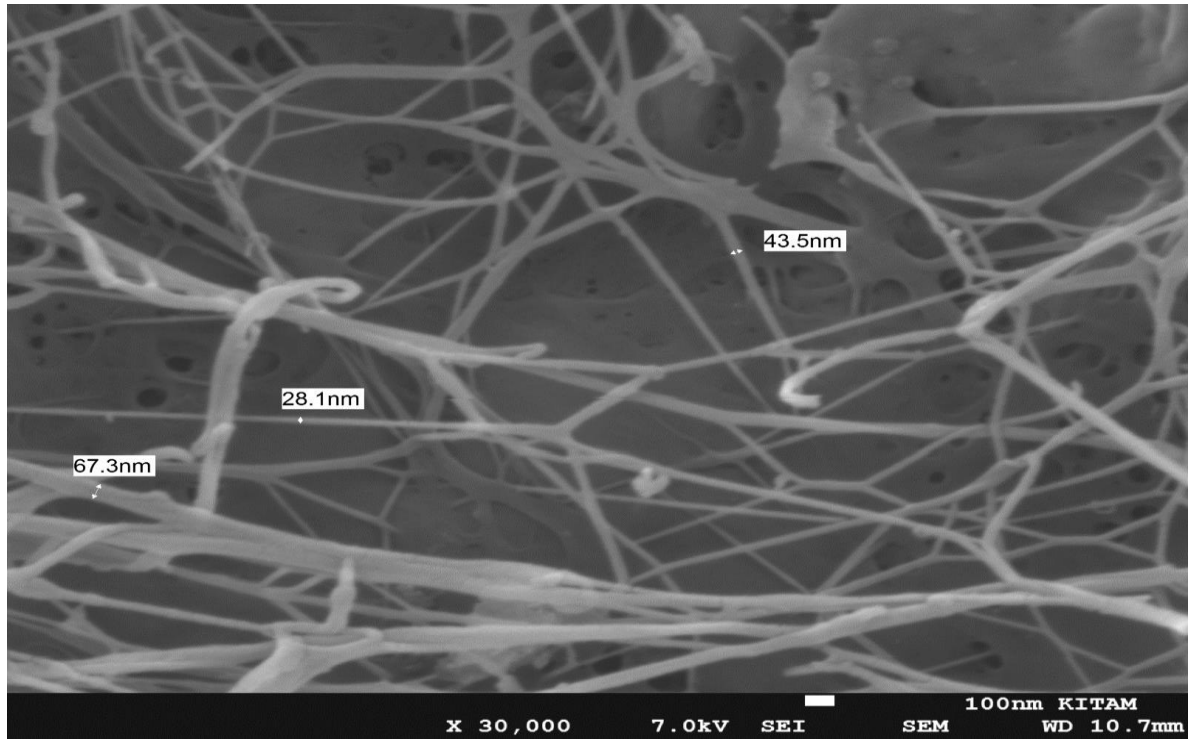
Bakteri izolatları tarafından üretilen BS'lerin saflaştırılma işlemi tamamlandığında şeffaf bir görünüme sahip saf selüloz elde edilmiştir. Kurutma işlemin de etüvde 35⁰C'de 24 saat bekletilerek yapılmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Yüksek miktarda selüloz üreten izolatlardan elde edilen BS'nin saflaştırılması ve kurutulması

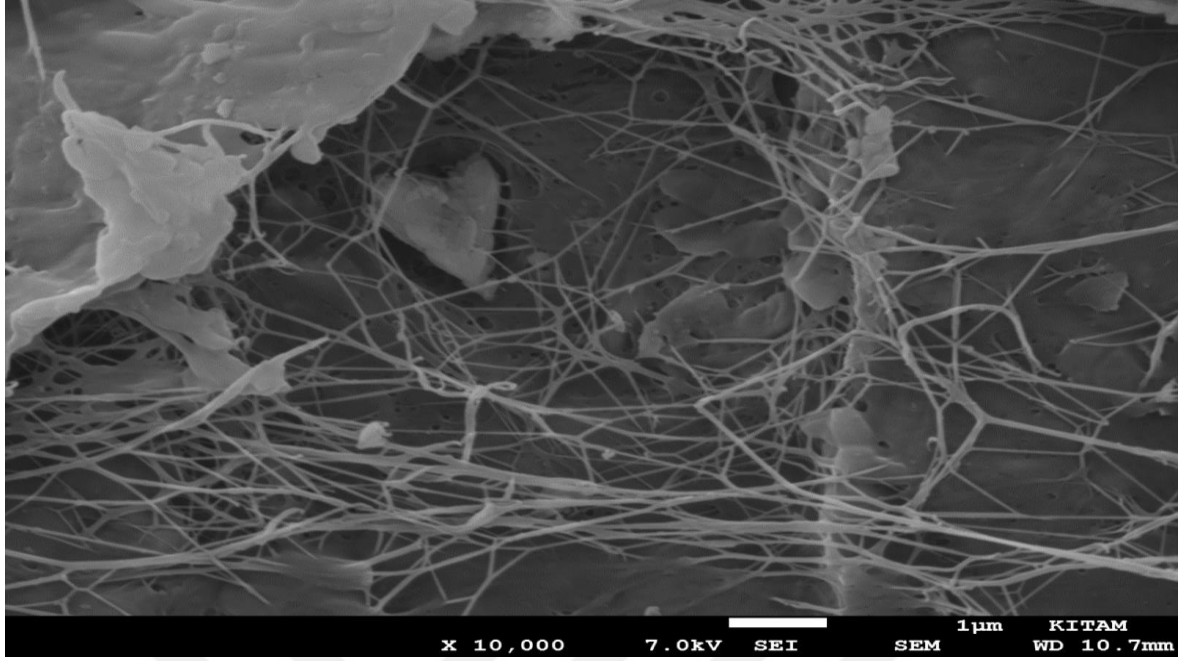
Örnek Adı	BS	Saflaştırılmış BS	Kurutulmuş BS
NBY-K1			
NBY-E10			
NBY-T7			

4.5 Bakteriyel Selülozun SEM Görüntüleri

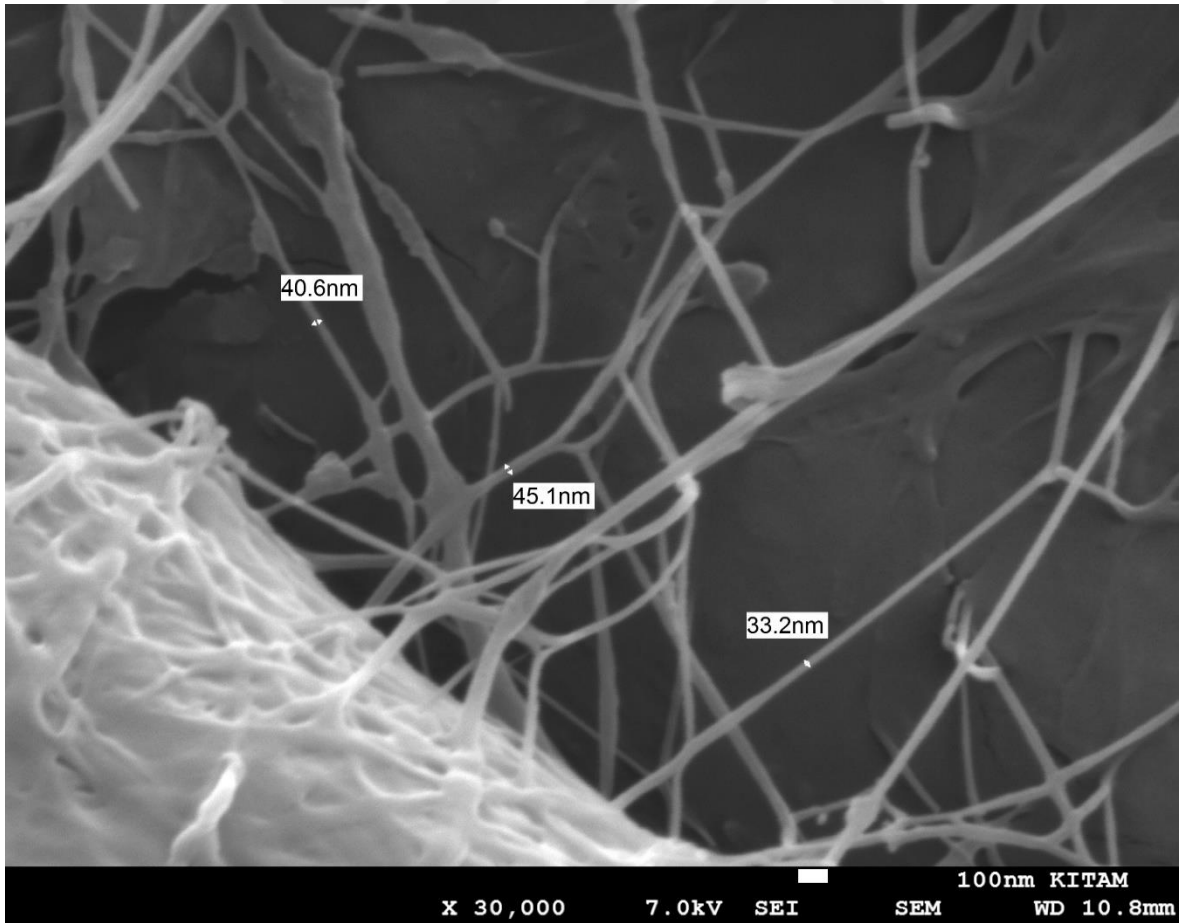
Bakterilerin ürettiği bakteriyel selüloz örnekleri üzerine yapılan SEM analizi ile BS'nin yüzey yapısının morfolojisi belirlenmesi için yapılmıştır. BS'nin farklı bölgelerinden alınan farklı (10000 x-30000x) büyütme SEM görüntüleri incelenmiştir. Bu BS görüntülerin literatürde yapılan çeşitli benzer çalışma sonuçlarındaki bakteriyel selüloz yapısı ile iplik formuna sahip olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra görüntülerde BS yapısı içerisinde bulunan liflerin nanometre boyutunda ve 28.1 ile 67.3 nm arasında değiştiği belirlenmiştir (Resim 4.4-4.5 ve 4.6).



Resim 4.4. NBY-K1 kodlu izolatın ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x30.000)



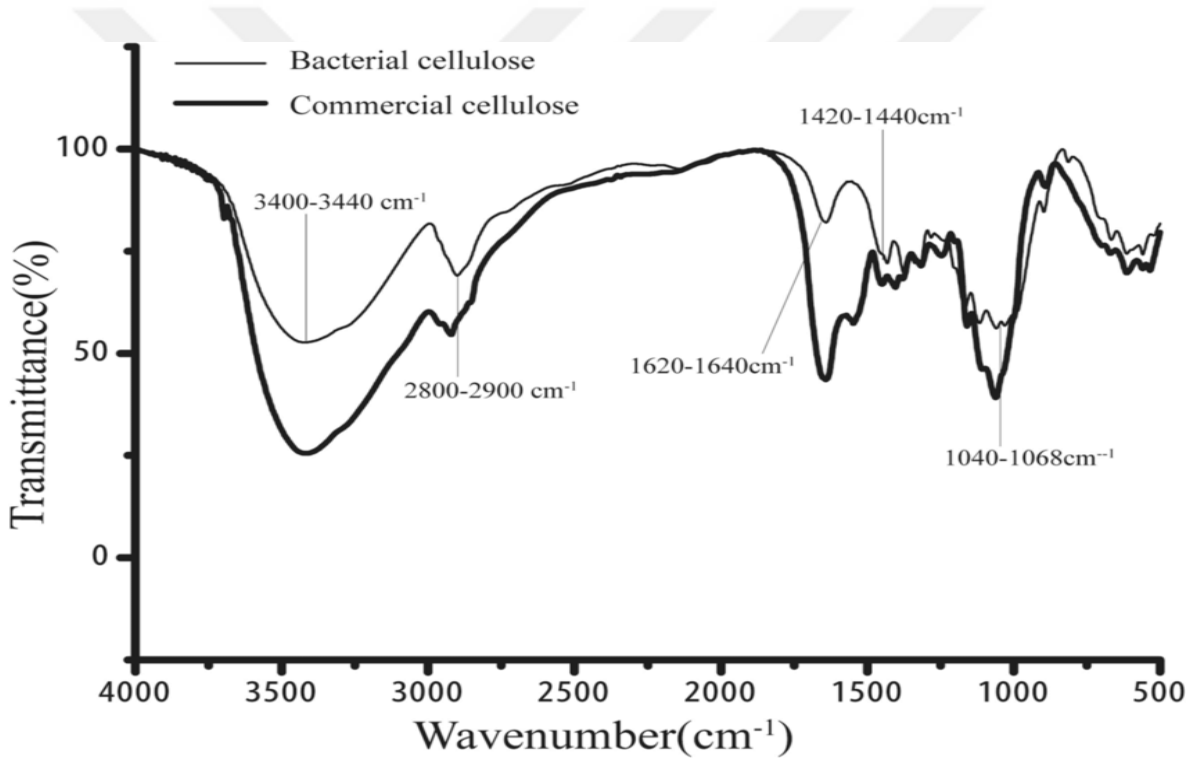
Resim 4.5. NBY E-10 kodlu izolatin ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x10.000)



Resim 4.6. NBY T-7 kodlu izolatin ürettiği selülozun SEM görüntüsü (x30.000)

4.6.Bakteriyel Selülozun FTIR Analizi

Elde edilen bakteriyel selülozların FTIR spektrumu belirlenmiş olup, elde ettiğimiz FTIR sonucu, standart bakteriyel selüloz ve ticari selüloz ile kıyaslanmıştır (Şekil 4.1). Yapılan çalışmalarda BS için karakteristik pik değerlerinin $3400-3440\text{ cm}^{-1}$ 'de hidroksil grupları (-OH), $2800-2900\text{ cm}^{-1}$ 'de metilen gerilme titreşimini (-CH₂-), $1620-1640\text{ cm}^{-1}$ 'de karboksilik grupların varlığını (COOH), $1420-1440\text{ cm}^{-1}$ 'de karbonil grupların varlığını (C=O), 1160 cm^{-1} 'de C-O-C ve $1040-1068\text{ cm}^{-1}$ 'de şeker halkasının CO-C ve C-O-H germe titreşimi ifade ettiği belirtilmektedir (Park and Jung 2003b; Halib, Iqbal, Amin and Ahmad, 2012; Gao ve diğerleri, 2014; Gayathry ve Gopalaswamy, 2014).

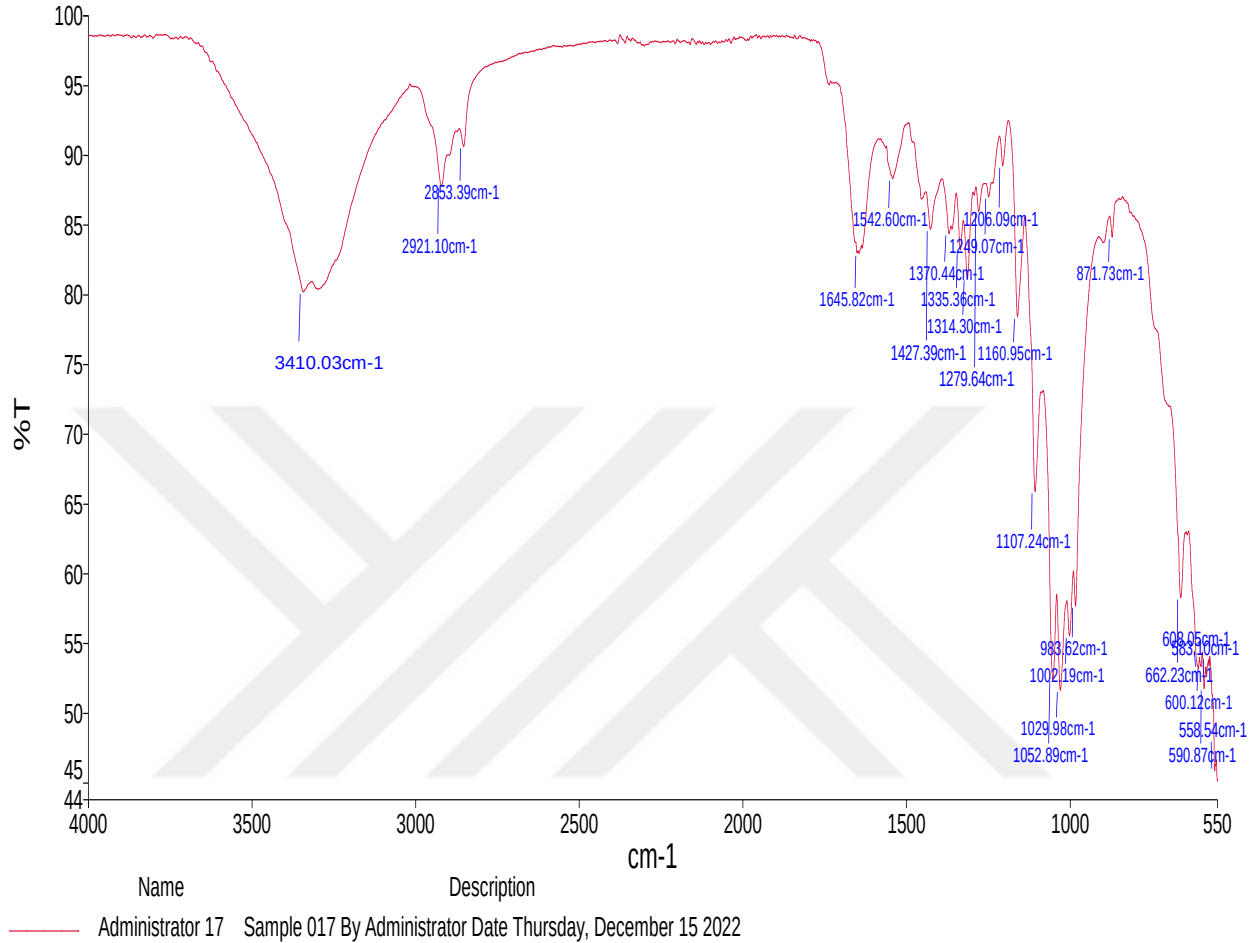


Şekil 4.1.Standart selülozun ve bakteriyel selülozun FTIR spektrumu (Gao ve diğerleri , 2022).

Kurutulmuş BS örneklerinden NBY-K1 örneğinin FTIR spektrofotometre analiz sonucuna göre 3410 cm^{-1} bant bölgesi O-H gerilmesi, 2921 cm^{-1} bant bölgesi C-H gerilmesini, 1645 cm^{-1} bant bölgesinde absorblanan su moleküllerinin titreşiminden oluşan H-O-H gerilmesini, 1542 cm^{-1} bant bölgesi C-O-C ve C-H gruplarını göstermiştir (Şekil 4.2) (El-Saiede, ve diğerleri , 2008; Cakar, Özer, Aytekin and Şahin 2014; Mohite ve Patil, 2014; Khattak ve diğerleri, 2015 (a); Khattak,Khan, UI-Islam, Wahid and Park, 2015 (b); Li ve diğerleri, 2015;

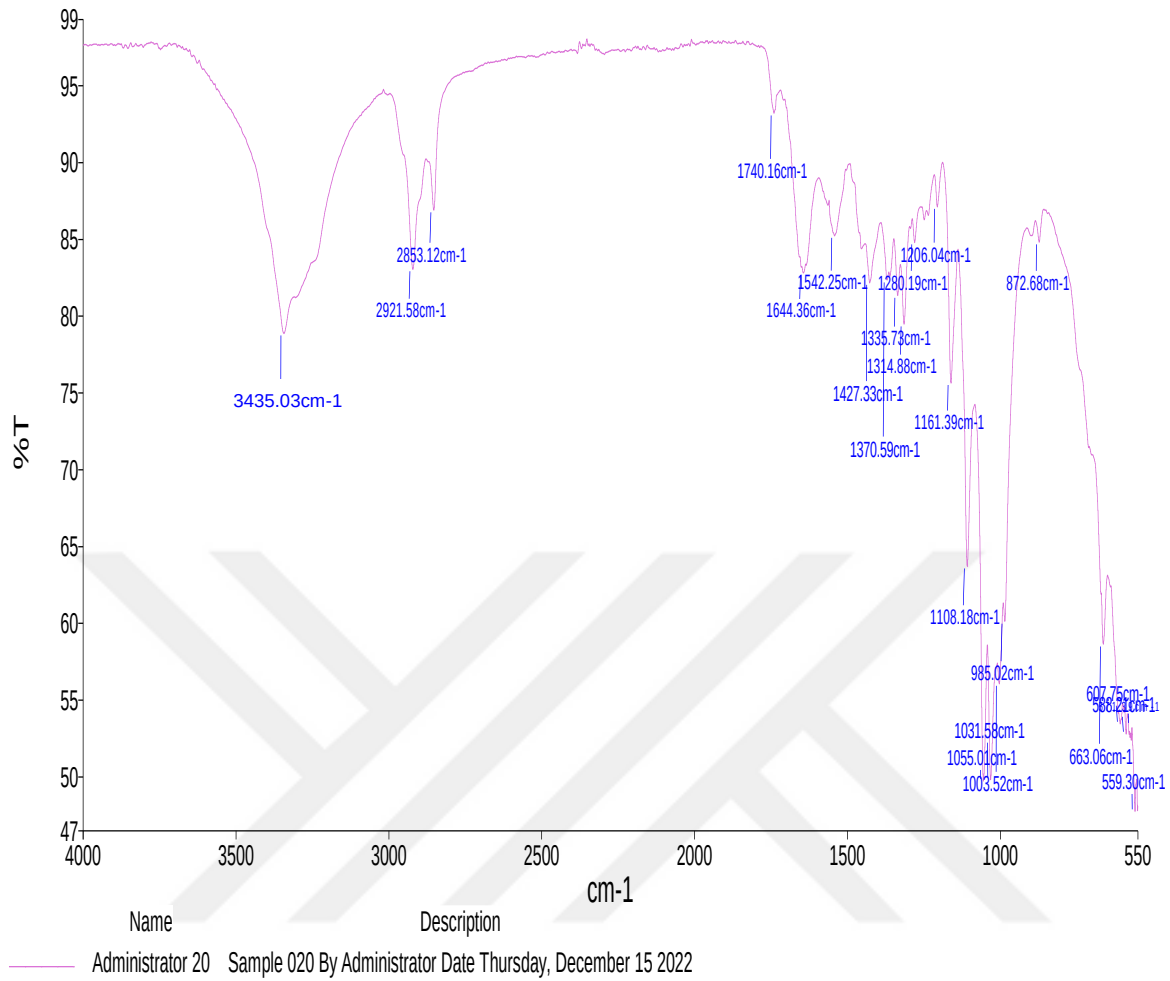
Lim ve diğerleri, 2016; Machado, ve diğerleri, 2016; Yang ve diğerleri, 2016; Yim, Song and Kim, 2016).

3443.03cm⁻¹



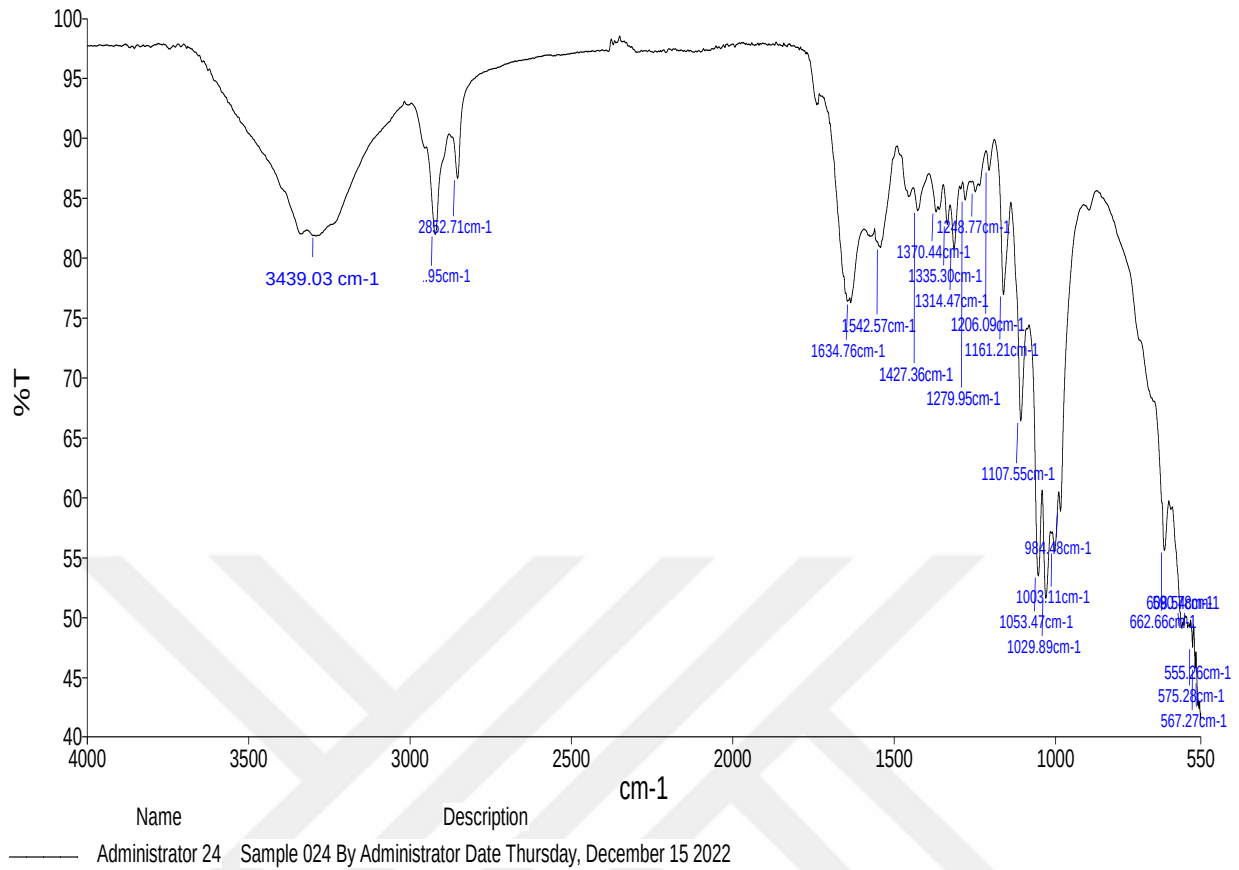
Şekil 4.2.NBY-K1 izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu

Kurutulmuş BS örneklerinden NBY-E10 örneğinin FTIR spektrofotometre analiz sonucuna göre 3435 cm⁻¹ bant bölgesi O-H gerilmesi, 2921 cm⁻¹ bant bölgesi C-H gerilmesini, 1740 cm⁻¹ bant bölgesinde absorblanan su moleküllerinin titreşiminden oluşan H-O-H gerilmesini, 1644 cm⁻¹ bant bölgesi C-O-C ve C-H gruplarını göstermiştir. (Şekil 4.3). (El-Saiede ve diğerleri, 2008; Cakar, Özer, Aytekin and Şahin 2014; Mohite ve Patil, 2014; Khattak ve diğerleri, 2015 (a); Khattak, Khan, UI-Islam, Wahid and Park, 2015 (b); Li ve diğerleri, 2015; Lim ve diğerleri, 2016; Machado ve diğerleri, 2016; Yang ve diğerleri, 2016; Yim, Song and Kim, 2016).



Şekil 4.3. NBY-E10 izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu

Kurutulmuş BS örneklerinden NBY-T7 örneğinin FTIR spektrofotometre analiz sonucuna göre 3439 cm⁻¹ bant bölgesi O-H gerilmesi, 2921 cm⁻¹ bant bölgesi C-H gerilmesini, 2921 cm⁻¹ bant bölgesinde absorblanan su moleküllerinin titreşiminden oluşan H-O-H gerilmesini, 1642 cm⁻¹ bant bölgesi C-O-C ve C-H gruplarını göstermiştir. (Şekil 4.4). (El-Saiede, ve diğerleri, 2008; Cakar, Özer, Aytekin and Şahin 2014; Mohite ve Patil, 2014; Khattak ve diğerleri, 2015 (a); Khattak, Khan, UI-Islam, Wahid and Park, 2015 (b); Li ve diğerleri, 2015; Lim ve diğerleri, 2016; Machado, ve diğerleri, 2016; Yang ve diğerleri, 2016; Yim, Song and Kim, 2016).



Şekil 4.4.NBY-7T izolatu tarafından üretilen bakteriyel selüloz FTIR analiz sonucu.

Bu sonuçlara göre literatür de yer alan bakteriyel selülozun FTIR spektrumu ile çalışma sonucunda elde edilen bakteriyel selüloz örneklerinin değerleri ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

4.8. Bakterilerin MALDI-TOF Analiz Sonuçları

Yapılan bu çalışmada MALDI-TOF analizi ile bakteri izolatlarının tür düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Protein kütle parmak izini kullanan MALDI-TOF, bakteri izolatlarının tanımlanmasında hızlı ve hassas bir yöntemdir. Tanılama sonuçlarına göre farklı kaynaklardan izole edilen ve ürettiği selülozun karakterizasyonu yapılan 3 izolat: NBY-K1 *Bacillus amyloliquefaciens ssp amyloliquefaciens CICC 10075 CICC*, NBY-E10 *Bacillus amyloliquefaciens_ssp_plantarum CICC 23985_b CICC*, NBY-7T *Enterobacter cloacae 13159_1 CHB* olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Analiz sonucunda benzerlik indeksi 2.3-3 arası yüksek olası tür teşhisi, 2.0-2.29 arası güvenilir cins düzeyinde teşhis ve muhtemel tür düzeyinde teşhis, 1.7-1.99 arası muhtemel cins düzeyinde teşhis, 0.0-1.69 arası güvenilirmez teşhis olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.7. Bakterilerin MALDI-TOF tanı sonuçları

Bakteri Kodu	MALDI-TOF Tanı Sonucu	Benzerlik İndeksi	NCBI No
NBY-K1	<i>Bacillus cereus</i> DSM 31T DSM	2.357	1396
NBY-E10	<i>Bacillus amyloliquefaciens_ssp_plantarum</i> CICC 23985_b CICC	2.249	279145
NBY-T7	<i>Enterobacter cloacae</i> 13159_1 CHB	2.399	550

5.TARTIŞMA

Günümüzde popüler çalışmalar içinde yer alan ve ticari ürün olarak pazarlanan bakteriyel selüloz önemli bir biyopolimerdir.1886 'da Brown sirke fermantasyonu üzerine çalışmasında izole ettiği *Acetobacter xylinum* tarafından ve üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda bitkilerde ki selülozla aynı ve daha ince fibrillere sahip olan bu yapıya bakteriyel selüloz adı vererek çalışmaların ilk basamağını oluşturmuştur ve hala bunun üzerine çalışmalar devam etmektedir (Toyosaki ve diğerleri, 1995; Klemm, Huplein, Frink and Bohn 2005). Bakteriyel selüloz bitki selülozundan daha ince fibrillere sahip olmasından ötürü su emme kapasitesi, elastik yapısı ve kendi şeklini koruması gibi özelliklerinden dolayı çalışma kapsamı oldukça genişlemiştir tıptan gıdaya ve kumaş endüstrisi gibi alanlarda ham madde olarak önemli bir yer almaktadır (Magaritis ve Pace 1985; Çoban ve Bıyık 2008).Çalışmamıza benzer bir şekilde yapılan bir çalışmada Gürsoy (2016), süt ürünlerinde fermantasyonda görevli olan Laktik asit bakterilerinin bakteriyel selüloz üretme potansiyellerini araştırmıştır. Elde edilen sonuçlara göre laktik asit bakterilerinin yüksek selüloz üretme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmasının sonucunda en iyi bakteriyel selüloz üreten bakterinin *Lactobacillus rhamnosus olduğunu* ve üretilen BS'un hidrojel yapısının su tutma kapasitesinin yüksek olduğunu ve FTIR sonuçlarındaki OH gruplarına ait geniş bantlar bu durumu desteklediğini bildirmiştir. Jahan, Kumar, Rawat and Saxena (2012), çürük bir meyveden izole edilen bir bakteri ile bakteriyel selüloz (BC) üretimi ve proses optimizasyonu sunmuşlardır. Selüloz üretici bakterilerin izolasyonu ve taranması, toprak, çürük meyveler, sebzeler ve sirke gibi farklı doğal kaynaklardan izole edilip, Hestrin-Schramm ortamı kullanılarak selüloz üretimi açısından taranan toplam 200 bakteri izolatu elde etmişlerdir. İzolatlar arasında yüksek miktarda selüloz üreten bakteriyi moleküler yöntemler kullanarak *Gluconacetobacter sp.* olarak tanımlamışlardır. Besiyeri pH'sı, sıcaklık, çalkalama, karbon/nitrojen kaynakları ve indükleyiciler de dahil olmak üzere kültür koşullarının optimizasyonundan sonra BC üretiminin 0,52'den 4,5 g/l'ye (8,65 kat artış) büyük ölçüde artırıldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız NBY-7T kodlu izolat *Enterobacter cloacae 13159_1 CHB* ürettiği bakteriyel selülozun yaş ağırlığı 4,01 g/100 ml ve kuru ağırlığı ise 0,056 gr'dır. Literatür çalışmalarında Ma ve diğerleri, (2012), *Enterobacter sp.* FY-07, aerobik ve anerobik koşullar altında BC üretebildiğini anoksik oksijenle sınırlı ve havandırılmış koşullar altında 30⁰C' de 72 saat süreyle statik ekimde selüloz üretimin 5 g/l'yi aştığını ve *Enterobacter sp*'nin BC üretimi için oksijene gerekli olmadığını göstermişlerdir. FTIR ve SEM analizleri sonucu BS mikro yapısının

Gluconacetobacter xylinum tarafından üretilen BS ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise Ago, Yamane, Hattori, Ono and Okajima (2006), *Enterobacter* sp çalkalayıcı koşullar altında üretimini gerçekleştirip ve SEM analizi sonucu fibrillerinin çalışmamıza benzer şekile 3µm çapında çok sayıda fibril gösterdiğini bildirmişlerdir. *Bacillus amylliquefaciens*'in BS üretiminin araştırıldığı bir çalışmada Zhu ve diğerleri (2019), *Bacillus amylliquefaciens*'in BS üretimini ve verimini artırmak amacıyla çeşitli karbon ve nitrojen koşullarını araştırdılar ve D-glikoz ve maya ekstraktının BS üretimi için önemli bir etkiye sahip olduğunu ve *Bacillus amylliquefaciens* BS verimi 7,88 g/l ulaştığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise NBY-E10 kodlu izolat *Bacillus amylliquefaciens* ürettiği bakteriyel selülozun yaş ağırlığı 11,22 g/100 ml ve kuru ağırlığı ise 0,123 gr olarak tespit edilmiştir. Li ve diğerleri, (2023), *Bacillus cereus* ve *Komagataeibacyer xylinus*'la birlikte kültürlenmesiyle BC üretmişler ve *Bacillus cereus* tarafından üretilen BC 1,2'den 4,4 g/L'ye ulaştığını bildirmişlerdir. NBY-K1 kodlu izolat *Bacillus cereus* ürettiği bakteriyel selülozun literatür çalışmasından farklı olarak yaş ağırlığı 8.50 g/100 ml ve kuru ağırlığı ise 0,09 gr' dır. Çalışmamızda kullandığımız üç izolatta literatürde elde edilen değerlerden daha yüksek bir değerde selüloz ürettiği belirlenmiş olup bu farkın izolatlar arasındaki genetik farklılıklar olabileceği düşünülmektedir. Su tutma kapasitesi bakteriyel selülozun en önemli özelliklerinden birisidir. Gıda endüstrisinde ve özellikle de tıbbi alanda uygulanabilmesi için su tutma kapasitesinin olabildiğince yüksek olması gerekmektedir (Vandamme ve diğerleri, 1998; Ciechanska, 2004; Ul-Islam ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda ürettiğimiz bakteriyel selüloz örneklerinin su tutma kapasiteleri %67,2 ile 98,9 arasında değiştiği hesaplanmıştır. Lin ve diğerleri (2014), ürettikleri bakteriyel selülozun analizinde su tutma kapasitesini %89 olarak bildirmişlerdir. Kwak vd., (2015), *Acetobacter* sp. suşuyla bakteriyel selüloz üretimi üzerine yaptıkları çalışmada elde ettikleri selülozun su tutma kapasitesini %70 olarak bildirmişlerdir. Erçalışkan (2017), çalışmasında statik ve çalkalamalı koşullarda bakteriyel selüloz elde etmiştir. Statik koşullarda su tutma kapasitesi %88 iken çalkalamalı kültürde %85 olduğunu bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki çalışmalarla paralellik gösterip, değerlendirmelere bakıldığında sahip oldukları yüksek su tutma kapasitesine göre tıbbi alandaki ve gıda endüstrisindeki uygulamalar için uygundur (Lin ve diğerleri, 2016; Kwak ve diğerleri, 2015).

Çalışmamızda elde edilen BS örneklerinin ağısı yapısı SEM ile görüntülenmiştir. Fibril yapılarının bitkisel selüloza göre daha ince ve düzensiz olduğu gözlenmiştir.

Bakteriyel selülozun FTIR spektrumundaki pik şiddetine göre polimorfik yapısı ortaya konulmuştur (Mohite ve Patil, 2014). Cakar, Özer, Aytekin ve Şahin (2014), *Gluconacetobacter xylinus* suşuyla yarı sürekli prosesle ürettikleri bakteriyel selülozun FT-IR analizi sonucunda 3415cm^{-1} bant bölgesinde O-H grubunun, 2999cm^{-1} bant bölgesinde C-H gruplarının, 1058cm^{-1} bant bölgesinde C-O-C grubunun, 1664cm^{-1} bölgesinde karboksilik asit ve 1431cm^{-1} bölgesindeki bantta karboksilat gruplarının olduğunu göstermişlerdir. Khattak, Khan, UI-Islam, Wahit and Park (2015b), yaptıkları çalışmada ürettikleri bakteriyel selülozdaki O-H gruplarının $3356\text{--}3365\text{cm}^{-1}$ aralığındaki bantlarda, C-H gruplarının 2885cm^{-1} bölgesindeki bantta, CH₂ gruplarının 1420cm^{-1} bölgesindeki bantta olduğunu bildirmişlerdir. Kuo ve diğerleri (2016), *Gluconacetobacter xylinus* suşu kullanarak ürettikleri bakteriyel selülozun karakterizasyonunda FT-IR analizini $4000 - 400\text{cm}^{-1}$ dalga sayısında aldıkları ölçümler sonucunda $3430\text{--}3435\text{cm}^{-1}$ bölgelerindeki bantta O-H gruplarının, $2927\text{--}2949\text{cm}^{-1}$ bant bölgesi aralıklarında C-H gruplarının, $\sim 1050\text{cm}^{-1}$ bant bölgesinde C-O-C ve C-O-H gruplarının olduğunu göstermişlerdir. Yim, Song and Kim (2016), yaptıkları çalışmada 3300cm^{-1} bant bölgesinde O-H gruplarının, 2880cm^{-1} bant bölgesinde C-H gruplarının, 1057cm^{-1} bant bölgesinde C-O-C ve C-O-H gruplarının olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamız sonucunda elde edilen FTIR sonuçları belirtilen bulgularla paralellik göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada dünyada ve ülkemizde önem kazanan biyopolimer olan bakteriyel selülozun farklı kaynaklardan ve farklı mikroorganizmalardan sentezlenebildiğini göstermek amaçlanmıştır. Çalışma ile aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

- Yapılan çalışma ile bakteriyel selüloz ele edilmiştir.
- Üretilen bakteriyel selülozun mikroorganizmalar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.
- Elde edilen BS tabakalarının SEM görüntüleri incelendiğinde ilgili literatürler de belirtildiği gibi nano liflerden oluştuğu gözlenmiştir.
- Yapılan FTIR analizi sonucunda yapının ticari selüloz ile aynı özellikleri taşıdığı gözlenmiştir.
- Elde ettiğimiz bakteriyel selülozun karakterize edilmesi sonucunda elde edilen piklerin bakteriyel selüloz ile örtüştüğü tespit edilmiştir.
- İzole ettiğimiz ve bakteriyel selüloz ürettiği tespit edilen bakteriler kodları ile birlikte NBY-K1 *Bacillus cereus* DSM 31T DSM, NBY-E10 *Bacillus amyloliquefaciens_ssp_plantarum* CICC 23985_b CICC, NBY-7T *Enterobacter cloacae* 13159_1 CHB olarak tanımlanmıştır.
- Yapılan bu çalışma ile kâğıdın ana maddesi olan selülozunda bakteriler tarafından üretilerek elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.
- Her üç izolatta SEM ve FTIR analizleriyle bitkisel kaynaklı selülozdan farklı olduğu gözlemlenmiştir. Bitkisel selülozda lignin varken, bakteriyel selülozda gözlenmemiştir ve daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermiş ve bu çalışmaları desteklemiştir.
- Yapılan çalışmada bitki selülozuna göre daha çok ve daha ince fibrillere sahip, su tutma kapasitesi ve esnekliği yüksek bir ürün elde edilmiştir.
- Bitkiden selülozu ayırabilmek oldukça zor ve masraflıdır bakteriler ise ekzopolisakkarit olarak yüzeyde BS üretiliyorlar ve BS'ü besi ortamından ve bakteriden ayırmak oldukça kolay bir yöntemlerle sağlanmaktadır. Yapılacak olan bir sonraki çalışmalar ile çalışmada kullanılan bakterilerin farklı şartlar altında daha fazla selüloz üretebileceği üzerine araştırmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

- Ago, M., Yamane, C., Hattori, M., Ono, H. and Okajima, K. (2006). Characterization of morphology and physical strength for bacterial cellulose produced by an *Enterobacter* sp. *Sen'i Gakkaishi*, 62(11), 258-262.
- Ahmad, F., Babalola, O. and Tak, H. I. (2012). Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(4), 1247- 1255.
- Akoğlu, A., Karahan, A. G., Çakmakçı, M. L. ve Çakır, İ. (2010). Bakteriyel Selülozun Özellikleri ve Gıda Sanayisinde Kullanımı. *Gıda*, 35(2), 127-134.
- Aşık, N. (2016). Farklı besi ortamı ve yüzey-hacim oranları kullanılarak bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ateş, S. (1990). *Pamuk Bitkisi Saplarının Kimyasal ve Enzimatik Yöntemlerle Değerlendirilmesi* (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara).
- Bielecki, S., Krystynowics, A., Turkiewicz, M. and Kalinowska, H. "Bacterial cellulose", *Biopolymers: Vol. 7. Polysaccharides I*, 37-90 (2001).
- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M. and Kalinowska, H. (2005). Bacterial cellulose. *Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents*, 31-84.
- Bilgi, E., Bayir, E., Sendemir-Urkmez, A. and Hames, E. E. (2016). Optimization of bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* using carob and haricot bean. *International journal of biological macromolecules*, 90, 2-10.
- Brown Jr, R. M., Willison, J. H., and Richardson, C. L. (1976). Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: visualization of the site of synthesis and direct measurement of the in vivo process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(12), 4565-4569.
- Brown, A. J. (1886). XLIII.—On an acetic ferment which forms cellulose. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 49, 432-439.
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A. and Singhal, R. S. (2009). Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technology & Biotechnology*, 47(2).
- Chao, Y. P., Sugano, Y., Kouda, T., Yoshinaga, F. and Shoda, M. (1997). Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* with an air-lift reactor. *Biotechnology Techniques*, 11, 829-832.

- Chao, Y., Ishida, T., Sugano, Y., and Shoda, M. (2000). Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L internal-loop airlift reactor. *Biotechnology and bioengineering*, 68(3), 345-352.
- Eryilmaz, J., Cass, G., Akdemir, O., Sener, D., Hamitbeyli, A. and Cobanoglu, O. (2013, May). Microbial cellulose production by *Acetobacter xylinum* and its application for the fashion and textile industry. In *The International Istanbul Textile Congress [Conference proceedings]* (pp. 1-5).
- Czaja, W., Romanovicz, D. and Brown, R. M. (2004). Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. *Cellulose*, 11, 403-411.
- Çakmakçı ML, Karahan AG, Çakır İ, Gündoğdu, A. ve Akoğlu A. 2008. Selüloz üretiminde kullanılacak mikroorganizmaların izolasyonu, moleküler tanısı ve mikrobiyel selülozun gıda sanayinde kullanım olanaklarının araştırılması. TÜBİTAK TOVAG 105O156 nolu proje raporu.
- Cakar, F., Özer, I., Aytekin, A. Ö. ve Şahin, F. (2014). Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. *Carbohydrate Polymers*, 106, 7-13.
- Çoban, E. P. ve Bıyık, H. H. (2008). Asetik asit bakterilerinden elde edilen alternatif selüloz. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 6(2), 19-26.
- Degeest, B. and De Vuyst, L. (1999). Indication that the nitrogen source influences both amount and size of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* LY03 and modelling of the bacterial growth and exopolysaccharide production in a complex medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2863-2870.
- Du Toit, W. J. and Lambrechts, M. G. (2002). The enumeration and identification of acetic acid bacteria from South African red wine fermentations. *International journal of food microbiology*, 74(1-2), 57-64.
- Du, R., Wang, Y., Zhao, F., Qiao, X., Song, Q., Li, S., et all. (2020). Production, optimization and partial characterization of bacterial cellulose from *Gluconacetobacter xylinus* TJU-D2. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 1681-1690.
- El-Saied, H., El-Diwany, A. I., Basta, A. H., Atwa, N. A., and El-Ghwas, D. E. (2008). Production and characterization of economical bacterial cellulose. *BioResources*, 3(4), 1196-1217.
- Erçalışkan, K. (2017). Çeşitli kaynaklardan bakteriyel selüloz üreten bakterilerin izolasyonu ve karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Faria, M., Cunha, C., Gomes, M., Mendonça, I., Kaufmann, M., Ferreira, A., et all. (2022). Bacterial cellulose biopolymers: the sustainable solution to water-polluting microplastics. *Water Research*, 222, 118952.

- Fu, L., Zhang, J. and Yang, G. (2013). Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. *Carbohydrate polymers*, 92(2), 1432-1442.
- Gao, C., Yan, T., Du, J., He, F., Luo, H., and Wan, Y. (2014). Introduction of broad spectrum antibacterial properties to bacterial cellulose nanofibers via immobilising ϵ -polylysine nanocoatings. *Food Hydrocolloids*, 36, 204-211.
- Gao, N., Dai, J., Liu, Y., Li, S., Wang, J., Lu, W., et all. (2022). Cellulose-mediated floc formation by the activated sludge bacterium *Shinella zoogloeoides* ATCC 19623. *BMC microbiology*, 22(1), 1-11.
- Gayathry, G. and Gopalaswamy, G. (2014). Production and characterization of microbial cellulosic fibre from *Acetobacter xylinum*. *Indian J. Fibre Text. Res.* 39: 93-96.
- Gelin, K., Bodin, A., Gatenholm, P., Mihranyan, A., Edwards, K., and Strømme, M. (2007). Characterization of water in bacterial cellulose using dielectric spectroscopy and electron microscopy. *Polymer*, 48(26), 7623-7631.
- Geyer, U., Heinze, T., Stein, A., Klemm, D., Marsch, S., Schumann, D., et all. (1994). Formation, derivatization and applications of bacterial cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 16(6), 343-347.
- Gündüz, G., Nejla, A. Ş. I. K., Aydemir, D., ve Kılıç, A. (2015). Bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu. *Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Ormancılık Dergisi*, 10(2), 1-10.
- Gürsoy, C. (2016). *Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyel Selüloz Üretim Potansiyelinin Araştırılması ve Optimizasyon Çalışmasının Yapılması* (Yayınlanmış yüksek lisans tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Gündüz, G., Aydemir, D., Nejla, A. Ş. I. K. ve Gümüş, H. (2016). Silikon Yağının Bakteriyel Selüloz Üretiminde Verime Olan Etkisi. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(2), 609-616.
- Güzel, M. ve Akpınar, Ö. (2017). *Komagataeibacter hansenii* GA2016 ile bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu. *Gıda*, 42(5), 620-633.
- Hafızoğlu, H., “Orman Ürünleri Kimyası”, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, K.T.Ü Basımevi, Trabzon, 52: 1-245 (1982).
- Halib, N., Iqbal, M. C., Amin. M. and Ahmad, I. (2012). Physicochemical properties and characterization of nata de coco from local food industries as a source of cellulose. *Sains Malaysiana* 41(2): 205–211.
- Han, J., Shim, E. and Kim, H. R. (2019). Effects of cultivation, washing, and bleaching conditions on bacterial cellulose fabric production. *Textile Research Journal*, 89(6), 1094-1104.

- Holmes, D. W. (2004). *Bacterial Cellulose: A Thesis Presented for the Degree of Master of Engineering in Chemical and Process Engineering, Department of Chemical and Process Engineering, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand* (Doctoral dissertation, University of Canterbury).
- Hwang, J. W., Yang, Y. K., Hwang, J. K., Pyun, Y. R., and Kim, Y. S. (1999). Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88(2), 183-188.
- Iguchi, M., Yamanaka, S. and Budhiono, A. (2000). Bacterial cellulose—a masterpiece of nature's arts. *Journal of materials science*, 35(2), 261-270.
- Jabbari, F., Babaeipour, V., and Bakhtiari, S. (2022). Bacterial cellulose-based composites for nerve tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Jahan, F., Kumar, V., Rawat, G., and Saxena, R. K. (2012). Production of microbial cellulose by a bacterium isolated from fruit. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167, 1157-1171.
- Johnson, D. C., and Neogi, A. N. (1989). *U.S. Patent No. 4,863,565*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Jonas, R., and Farah, L. F. (1998). Production and application of microbial cellulose. *Polymer degradation and stability*, 59(1-3), 101-106.
- Jozala, A. F., de Lencastre-Novaes, L. C., Lopes, A. M., de Carvalho Santos-Ebinuma, V., Mazzola, P. G., Pessoa-Jr, A., et al. (2016). Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 2063-2072.
- Keshk SMAS. and Sameshima K. (2005). Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. *Afr J Biotechnol*, 4 (6), 478–482.
- Keshk, S. and Sameshima, K. (2006). The utilization of sugar cane molasses with/without the presence of lignosulfonate for the production of bacterial cellulose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(2), 291. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0265-6>.
- Khattak, W. A., Khan, T., Ul-Islam, M., Ullah, M. W., Khan, S., Wahid, F., et al. (2015). Production, characterization and biological features of bacterial cellulose from scum obtained during preparation of sugarcane jaggery (gur). *Journal of food science and technology*, 52, 8343-8349.
- Khattak, W. A., Khan, T., Ul-Islam, M., Wahid, F., and Park, J. K. (2015b). Production, characterization and physico-mechanical properties of bacterial cellulose from industrial wastes. *Journal of Polymers and the Environment*, 23, 45-53.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P., and Bohn, A. (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte chemie international edition*, 44(22), 3358-3393.

- Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., and Marsch, S. (2001). Bacterial synthesized cellulose—artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in polymer science*, 26(9), 1561-1603.
- Khandelwal, M., and Windle, A. H. (2013). Hierarchical organisation in the most abundant biopolymer—cellulose. *MRS Online Proceedings Library (OPL)*, 1504, mrsf12-1504.
- Kim, H. O., Lim, J. M., Joo, J. H., Kim, S. W., Hwang, H. J., Choi, J. W., et al. (2005). Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. *Bioresource Technology*, 96(10), 1175-1182.
- Kouda, T., Yano, H., and Yoshinaga, F. (1997). Effect of agitator configuration on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 83(4), 371-376.
- Krystynowicz, A., Czaja, W., Wiktorowska-Jeziarska, A., Gonçalves-Miśkiewicz, M., Turkiewicz, M., and Bielecki, S. (2002). Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29(4), 189-195.
- Kwak, M. H., Kim, J. E., Go, J., Koh, E. K., Song, S. H., Son, H. J., et al. (2015). Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter* sp. A10 for burn wound dressing applications. *Carbohydrate polymers*, 122, 387-398.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Roukas, T., and Izydorczyk, M. (2002). Production and characterization of pullulan from beet molasses using a nonpigmented strain of *Aureobasidium pullulans* in batch culture. *Applied biochemistry and biotechnology*, 97, 1-22.
- Li, Z., Wang, L., Hua, J., Jia, S., Zhang, J., and Liu, H. (2015). Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*. *Carbohydrate Polymers*, 120, 115-119.
- Li, W., Huang, X., Liu, H., Lian, H., Xu, B., Zhang, W., et al. (2023). Improvement in bacterial cellulose production by co-culturing *Bacillus cereus* and *Komagataeibacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers*, 313, 120892.
- Li, Z., Wang, M., Li, Y., Ren, J., and Pei, C. (2023). Effect of cellulose nanocrystals on bacterial cellulose hydrogel for oil-water separation. *Separation and Purification Technology*, 304, 122349.
- Lisdiyanti, P., Navarro, R. R., Uchimura, T., and Komagata, K. (2006). Reclassification of *Gluconacetobacter hansenii* strains and proposals of *Gluconacetobacter saccharivorans* sp. nov. and *Gluconacetobacter nataicola* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(9), 2101-2111.
- Lin, K. W., & Lin, H. Y. (2004). Quality characteristics of chinese-style meatball containing bacterial cellulose (Nata). *Journal of food science*, 69(3), SNQ107-SNQ111.

- Lin, S. P., Huang, Y. H., Hsu, K. D., Lai, Y. J., Chen, Y. K., and Cheng, K. C. (2016). Isolation and identification of cellulose-producing strain *Komagataeibacter intermedius* from fermented fruit juice. *Carbohydrate polymers*, 151, 827-833.
- Liu, J., Luo, J., Ye, H., Sun, Y., Lu, Z., and Zeng, X. (2009). Production, characterization and antioxidant activities in vitro of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3. *Carbohydrate polymers*, 78(2), 275-281.
- Machado, R. T., Gutierrez, J., Tercjak, A., Trovatti, E., Uahib, F. G., de Padua Moreno, G., et al. (2016). *Komagataeibacter rhaeticus* as an alternative bacteria for cellulose production. *Carbohydrate polymers*, 152, 841-849.
- Margaritis, A. and Pace, G.W., Margaritis, A. (1985). Microbial polysaccharides. *Comprehensive biotechnology*, 3, 1005-1044.
- Mohite, B. V., Salunke, B. K., and Patil, S. V. (2013). Enhanced production of bacterial cellulose by using *Gluconacetobacter hansenii* NCIM 2529 strain under shaking conditions. *Applied biochemistry and biotechnology*, 169, 1497-1511.
- Ma, T., Ji, K., Wang, W., Wang, J., Li, Z., Ran, H., et al. (2012). Cellulose synthesized by *Enterobacter* sp. FY-07 under aerobic and anaerobic conditions. *Bioresource Technology*, 126, 18-23.
- Moonmangmee, S., Toyama, H., Adachi, O., Theeragool, G., Lotong, N., and Matsushita, K. (2002). Purification and characterization of a novel polysaccharide involved in the pellicle produced by a thermotolerant *Acetobacter* strain. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(4), 777-783.
- Nobles, D. R., Romanovicz, D. K., and Brown Jr, R. M. (2001). Cellulose in cyanobacteria. Origin of vascular plant cellulose synthase. *Plant physiology*, 127(2), 529-542.
- Noro, N., Sugano, Y., and Shoda, M. (2004). Utilization of the buffering capacity of corn steep liquor in bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 64, 199-205.
- Pan, X., Li, J., Ma, N., Ma, X. and Gao, M. (2023). Bacterial cellulose hydrogel for sensors. *Chemical Engineering Journal*, 461, 142062.
- Park, S., Baker, J., Himmel, M., Parilla, P. and Johnson, D. (2010). Research cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulose performance. *Biotechnology for Biofuels*, 3(10), 10.
- Park, J. K., Park, Y. H., and Jung, J. Y. (2003). Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* PJK isolated from rotten apple. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 8, 83-88.
- Poyrazoğlu Çoban, E., and Bıyık, H. H. (2007). *Acetobacter pasteurianus* HBB6 ve *Acetobacter lovaniensis* HBB5 Tarafından Yüzey Kültür Fermentasyonu ile Bakteriyele Selüloz Üretimi. 15. *Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, 28-31.

- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A. N., Sing, A., Busch, U., et al. (2012). A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328(1), 46-53.
- Ross, P., Mayer, R., and Benziman, M. (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological reviews*, 55(1), 35-58
- Rodríguez, M., Canales, E., and Borrás-Hidalgo, O. (2005). Molecular aspects of abiotic stress in plants. *Biotechnología Aplicada*, 22(1), 1-10.
- Römling, U. (2002). Molecular biology of cellulose production in bacteria. *Research in microbiology*, 153(4), 205-212.
- Saxena, I. M., and Brown, R. M. (1997). Identification of cellulose synthase (s) in higher plants: sequence analysis of processive β -glycosyltransferases with the common motif D, D, D35Q (R, Q) XRW '. *Cellulose*, 4, 33-49.
- Su, T., Liu, N., Lei, D., Wang, L., Ren, Z., Zhang, Q., et al. (2022). Flexible MXene/bacterial cellulose film sound detector based on piezoresistive sensing mechanism. *ACS nano*, 16(5), 8461-8471.
- Shezad, O., Khan, S., Khan, T., Park, JK., et al. (2010). Physicochemical and mechanical characterization of bacterial cellulose produced with an excellent productivity in static conditions using a simple fed-batch cultivation strategy. *Carbohydrate Polymers* 82(1):173–180.
- Shoda, M. and Sugano, Y. (2005). Recent advances in bacterial cellulose production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/bf02931175>.
- Tabarsa, T., Sheykhnazari, S., Ashori, A., Mashkour, M. and Khazaeian, A., (2017). Preparation and characterization of rein force papers using nano bacterial cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 334-340.
- Tiryaki, Y. N. (2021). *Kombucha ve sirkeden selüloz üreten mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonu* (Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi).
- Top, B. (2018). *Sirkeden izole edilen asetik asit bakterisi ile selüloz üretimi ve bakteriyel selüloz karakterizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Toda, K., Asakura, T., Fukaya, M., Entani, E., and Kawamura, Y. (1997). Cellulose production by acetic acid-resistant *Acetobacter xylinum*. *Journal of fermentation and bioengineering*, 84(3), 228-231.

- Toyosaki, H., Kojima, Y., Tsuchida, T., Hoshino, K. I., Yamada, Y., and Yoshinaga, F. (1995). The characterization of an acetic acid bacterium useful for producing bacterial cellulose in agitation cultures: the proposal of *Acetobacter xylinum* subsp. *sacrofermentans* subsp. nov. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 41(4), 307-314.
- Tse, M. L. V., Chung, K. M., Dong, L., Thomas, B. K., Fu, L. B., Cheng, K. C. D., et al. (2010). Observation of symmetrical reflection sidebands in a silica suspended-core fiber Bragg grating. *Optics express*, 18(16), 17373-17381.
- Ul Islam, M., Khan, S., Ullah, M. W. and Park, J. K. (2015). Bacterial Cellulose Composites: Synthetic Strategies and Multiple Applications in Biomedical and Electroconductive Fields. *Biotechnology Journal*, 10(12), 1847-1861.
- Ul-Islam, M., Alhajaim, W., Fatima, A., Yasir, S., Kamal, T., et al. (2023). Development of low-cost bacterial cellulose-pomegranate peel extract-based antibacterial composite for potential biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231, 123269.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, E. M., Kara, M., and Soylu, S. (2018, May). Evaluation of the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of some plant fungal pathogenic species. In *International Agricultural Science Congress* (pp. 09-12).
- Valla, S., Coucheron, D. H., and Kjosbakken, J. (1987). The plasmids of *Acetobacter xylinum* and their interaction with the host chromosome. *Molecular and General Genetics MGG*, 208, 76-83.
- Väljamäe, P., Sild, V., Nutt, A., Pettersson, G., and Johansson, G. (1999). Acid hydrolysis of bacterial cellulose reveals different modes of synergistic action between cellobiohydrolase I and endoglucanase I. *European Journal of Biochemistry*, 266(2), 327-334.
- Vasconcelos, N. F., Feitosa, J. P. A., da Gama, F. M. P., Morais, J. P. S., Andrade, F. K., de Souza, M. D. S. M., et al. (2017). Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. *Carbohydrate polymers*, 155, 425-431.
- Watanabe, K., Tabuchi, M., Morinaga, Y., and Yoshinaga, F. (1998). Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture. *Cellulose*, 5, 187-200.
- Watanabe, K., Tabuchi, M., Ishikawa, A., Takemura, H., Tsuchida, T., Morinaga, et al. (1998). *Acetobacter xylinum* mutant with high cellulose productivity and an ordered structure. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(7), 1290-1292.
- Williams, W. S., and Cannon, R. E. (1989). Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*. *Applied and environmental microbiology*, 55(10), 2448-2452.

- Yassine, F., Bassil, N., Flouty, R., Chokr, A., El Samrani, A., Boiteux, G., et al. (2016). Culture medium pH influence on Gluconacetobacter physiology: Cellulose production rate and yield enhancement in presence of multiple carbon sources. *Carbohydrate polymers*, 146, 282-291.
- Yamada, Y., (2000). Transfer of Acetobacter oboediens and Acetobacter intermedius to the genus Gluconacetobacter as Gluconacetobacter oboediens comb nov. and Gluconacetobacter intermedius comb. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 2225-2227.
- Yamada, Y., Hoshino, K. I., and Ishikawa, T. (1997). The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S ribosomal RNA: the elevation of the subgenus Gluonoacetobacter to the generic level. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 61(8), 1244-1251.
- Yamanaka, S., Ono, E., Watanabe, K., Kusakabe, M., and Suzuki, Y. (1990). Hollow microbial cellulose, process for preparation thereof, and artificial blood vessel formed of said cellulose. *European patent*, (0396344).
- Yamanaka, S., and Sugiyama, J. (2000). Structural modification of bacterial cellulose. *Cellulose*, 7, 213-225.
- Yang, X. Y., Huang, C., Guo, H. J., Xiong, L., Luo, J., Wang, B., et al. (2016). Bacterial cellulose production from the litchi extract by Gluconacetobacter xylinus. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 46(1), 39-43.
- Yılmaz, S. (2007). *Alternatif besin yan ürünlerinden bakteriyel selüloz üretimi* (Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi).
- Yim, S. M., Song, J. E., and Kim, H. R. (2017). Production and characterization of bacterial cellulose fabrics by nitrogen sources of tea and carbon sources of sugar. *Process Biochemistry*, 59, 26-36.
- Zahan, K. A., Pa'e, N., and Muhamad, I. I. (2015). Monitoring the effect of pH on bacterial cellulose production and Acetobacter xylinum 0416 growth in a rotary discs reactor. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40, 1881-1885.
- Zeng, A., Yang, R., Tong, Y. and Zhao, W. (2023). Functional bacterial cellulose nanofibrils with silver nanoparticles and its antibacterial application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 123739.
- Zeng, M., 2014. *Bacterial cellulose: Fabrication, characterization and biocompatibility studies*. Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de química, Facultat de Ciències, Doktora Tezi, 126s, Barselona.
- Zeng, X., Small, D. P., and Wan, W. (2011). Statistical optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by Acetobacter xylinum BPR 2001 from maple syrup. *Carbohydrate Polymers*, 85(3), 506-513.

- Zhang, G., Chen, G., Dong, M., Nie, J., and Ma, G. (2023). Multifunctional Bacterial Cellulose/Covalent Organic Framework Composite Membranes with Antifouling and Antibacterial Properties for Dye Separation. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 15(27), 32903-32915.
- Zhu, H., Li, Y., Wang, J., Lin, W.I., and Chen, Y. (2019). Enhancement of bacterial cellulose production in *Bacillus amyloliquefaciens*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 493.



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Nazlı Betül YILDIRIM

Bilimsel Çalışmalar

1.Yıldırım, N.B. ve Bektas, İ. (2023, 2-4 April). *Topraktan İzole Edilen Bazı Bakterilerin Mikrobiyal Selüloz Üretme Özelliklerinin İncelenmesi*. Cukurova 10th International Scientific Researches Conference. Adana, Turkey.463-475. (Sözlü Sunum).

