

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GRAFEN TABANLI MATERYALLERİN ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ÜRETİLEN
HİPOTEZLERİN PAMUKLU KUMAŞ ÜZERİNDE DENENMESİ**

Merve KAŞ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sibel YİĞİTARSLAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2019**



©2019 [Merve KAŞ]

TEZ ONAYI

Merve KAŞ tarafından hazırlanan "Grafen Tabanlı Materyallerin Antimikrobiyal Özelliklerinin Değerlendirilmesi Ve Üretilen Hipotezlerin Pamuklu Kumaş Üzerinde Denenmesi"adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Sibel YİĞİTARSLAN
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Arzu ŞENCAN ŞAHİN
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Fatma Burcu ALP
Süleyman Demirel Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Şule Sultan UĞUR



TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Merve KAŞ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Karbon.....	1
1.1.1. Elmas	4
1.1.2. Fulleren	5
1.1.3. Amorf Karbon	6
1.1.4. Grafit.....	7
1.2. Grafen	8
1.2.1. Grafen çeşitleri	10
1.2.1.1. Grafen oksit	10
1.2.1.2. İndirgenmiş grafen oksit	10
1.2.2. Grafen üretim yöntemleri	11
1.2.2.1. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi	11
1.2.2.2. Grafen oksitin indirgenmesi.....	12
1.2.2.3. Epitaksiyel büyütme	13
1.2.2.4. Grafen üretim yöntemlerinin karşılaştırılması	14
1.2.3. Grafen kullanım alanları	16
1.3. Biyoteknoloji	20
1.3.1. Biyoteknolojinin çeşitleri	20
1.3.1.1. Tarım ve hayvancılık biyoteknolojisi	20
1.3.1.2. Endüstriyel biyoteknoloji.....	21
1.3.1.3. Çevresel biyoteknoloji.....	21
1.3.1.4. Gıda biyoteknolojisi.....	21
1.3.2. Biyoteknolojinin yararları ve riskleri	22
1.3.2.1.Çevresel yararlar	22
1.3.2.2. Sağlıksal yararlar.....	22
1.3.2.3. Tarımsal yararlar	23
1.4. Optimizasyon.....	24
1.4.1. Cevap yüzey metodu (RSM)	25
1.4.2. Deney dizaynları	26
1.4.2.1. Box-Wilson merkez kompozit dizayn	26
1.4.2.2. Box-Behnken dizayn	28
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	39
3.1. Kullanılan malzemeler.....	39
3.2. Mikroorganizmaların hazırlanması.....	40
3.2.1. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917.....	40
3.2.2. <i>Escherichia coli</i>	41
3.2.3. <i>Candida krusei</i>	41
3.2.4. <i>Clostridium difficile</i>	41

3.2.5. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	42
3.3. Sıvı ortam deneyleri	42
3.4. Katı ortam deneyleri.....	43
3.5. Optimizasyon deneyleri	43
3.6. Toplam mikroorganizma sayısı tayini.....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	46
4.1. Sıvı ortam deney sonuçları	46
4.1.1. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917.....	46
4.1.2. <i>Escherichia coli</i>	51
4.1.3. <i>Candida krusei</i>	55
4.1.4. <i>Clostridium difficile</i>	60
4.1.5. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	64
4.2. Katı ortam deney sonuçları.....	69
4.3. Optimizasyon deney sonuçları	75
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	82
KAYNAKLAR	90
ÖZGEÇMİŞ.....	96

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GRAFEN TABANLI MATERYALLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ÜRETİLEN HİPOTEZLERİN PAMUKLU KUMAŞ ÜZERİNDE DENENMESİ

Merve KAŞ

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sibel YİĞİTARSLAN

Bu tez çalışmasının temel materyali olan grafen, yüksek iletkenliğe sahip, bilinen en ince ve dayanıklı materyal olması gibi özellikleriyle özellikle Biyoteknoloji alanında birçok çalışmaya konu olmaktadır. Bu alanda tercih edilen materyallerde aranan temel özelliklerden biri ise antimikrobiyal özelliktir. Literatürdeki çalışmalardan bazıları grafen ve grafen oksitinin bulunduğu ortamda mikroorganizma üremesi görülmesine karşın iyi bir antimikrobiyal özellikte olduğunu savunurken, bazı çalışmalarda ise antimikrobiyal özelliğinin olmadığı açıkça belirtilmiştir. Bu nedenle, tez çalışmasında grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit, katı grafen yüzeyleri ve grafen içerikli %100 pamuklu kumaş varlığında mikroorganizma büyümesinin incelenmesi ve bu materyallerin antimikrobiyal özelliğinin irdelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, altı farklı derişimdeki (5-400 µg GO/mL) grafen oksit çözeltileri ve indirgenmiş grafen oksit içeren sıvı ortamlarda, beş farklı özellikteki mikroorganizmanın büyümesi spektrofotometrik olarak takip edilmiştir. Aynı süreçlerde alınan örnekler katı ortamda çoğaltılıp koloni sayma cihazıyla analizlenerek de mikroorganizma sayısı belirlenmiştir. Çalışmada, patojen olmayan gram negatif bakteri sınıfını temsilen *Escherichia coli* Nissle 1917, patojen gram negatif bakterileri türlerini temsilen *Escherichia coli*, gram pozitif ve patojen özellikte olan bakteriler için *Clostridium dificile*, gram pozitif patojen olmayan bakteriler için *Candida krusei* seçilmiştir. Her mikroorganizma, deneylerde kullanılmadan önce kendine özgü besiyerlerinde aktif hale getirilmiştir. İncelenen bütün grafen oksit derişimlerine sahip sıvı ortamlarda mikroorganizma türüne bağlı olmaksızın standart büyüme eğrisinin oluştuğu tespit edilmiştir. Ancak grafen oksit partiküllerinin mikroorganizma çeşidine bağlı olarak lag, log, durağan ve ölüm fazlarının hem süre hem de oluşumlarında farklılıklar yarattığı gözlemlenmiştir. Ortamda oluşan mikroorganizma sayılarında azalmayla birleştirildiğinde bu durumun grafen oksitinin mikroorganizmaların ikincil metabolik yollarında rol oynayan enzimlerini etkileyebilmesinden kaynaklandığı öngörülmüştür. Sülfirik asit ile aşındırılmış-pürüzlendirilmiş grafen tabakaları üzerine mikroorganizmaya has katı besiyeri ve aktifleştirilmiş mikroorganizma ekilerek yapılan katı ortam deneyleri sonucunda, materyalin kendi hidrofobisitesi nedeniyle

mikroorganizmaların yüzeye tutunamadığı ve pürüzlü yüzeylere çarpan mikroorganizmaların hücre bütünlüğünü koruyamadığı belirlenmiştir. Her hidrofobik veya pürüzlü materyalin antimikrobiyal olmadığı gerçeğinden yola çıkarak grafen oksit emdirilmiş kumaş yüzeyler sıvı besiyeri içerisine daldırılarak mikroorganizmaların büyüme miktarları incelenmiştir. Bu deneyler sonucunda da kumaşa yakın yerlerde katı yüzey bulgularının, sıvı bölgelerde ise daha önce sıvı ortamlarda elde edilen bulguların tekrarlandığı görülmüştür. Dolayısıyla, grafen oksit ve grafen materyallerinin antimikrobiyal özelliğinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu bulguyu doğrulamak adına üç parametrelili üç-seviyeli Box-Behnken deney dizaynı kullanılarak çoklu optimizasyon tekniğiyle mikroorganizma türü, grafen içerikli kumaş boyutu ve grafen oksit derişiminin mikroorganizma büyümesi üzerindeki tekli ve çoklu etkileri analizlenmiştir. Tüm istatistiksel ve fiziksel uygunluk testleri uygulandıktan sonra elde edilen kuadratik model fonksiyonuyla parametrelerin üç-boyutlu yüzey grafikleri bilgisayar programıyla çizdirilmiştir. Kumaş boyutu ve grafen oksit derişimi ne olursa olsun mikroorganizma büyümesinin gerçekleştiği, mikrobiyal büyümenin sadece ortamda mevcut olan besinin kullanım hızından dolayı mikroorganizma çeşitliliğine bağlı olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, ortamda grafen oksitin sıvıya dağılmış veya katıya emdirilmiş halde eklenmesinin mikrobiyal büyüme üzerinde etkisiz olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Grafen, grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit, antimikrobiyal özellik, optimizasyon, Box-Behnken dizaynı.

2019, 97 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF GRAPHENE BASED MATERIALS AND TESTING OF HYPOTHESIS PRODUCED ON COTTON

Merve KAŞ

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Sibel YİĞİTARSLAN

Graphene, which was the basic material of this thesis, is the subject of many studies especially in the field of Biotechnology with its features such as being the finest and durable material with high conductivity. Antimicrobial property is one of the basic properties of the materials preferred in this field. While some of the studies in the literature claim that it has good antimicrobial properties despite the growth of microorganisms being reported in the presence of graphene and graphene oxide, some studies have clearly stated that they do not have antimicrobial properties. Therefore, in this thesis, it is aimed to investigate the growth of microorganisms in the presence of graphene oxide, reduced graphene oxide, solid graphene surfaces and 100% cotton fabric containing graphene and to investigate the antimicrobial properties of these materials. Accordingly, the growth of five different microorganisms was monitored spectrophotometrically in liquid media containing reduced graphene oxide, and graphene oxide solutions of six different concentrations (5-400 GOg / mL). The number of microorganisms were determined by colony counter by taking the samples at the same time and growing them in a solid medium. In the study, *Escherichia coli* Nissle 1917 representing the non-pathogenic gram negative bacteria class, *Escherichia coli* representing the species of gram negative bacteria, *Clostridium difficile* for gram positive and pathogenic bacteria, *Candida krusei* for gram positive non-pathogenic bacteria were selected. Each microorganism was activated on its own media before being used in the experiments. Regardless of microorganism type, standard growth curves formation was determined in liquid media containing all graphene oxide concentrations examined. However, it has been observed that the lag, log, stationary and death phases of graphene oxide particles create differences in both duration and formation depending on the microorganism type. When combined with reduction in the number of microorganisms formed in the environment, it is predicted that this is due to the fact that graphene oxide can affect the enzymes involved in the secondary metabolic pathways of the microorganisms. As a result of solid media experiments containing activated microorganisms on the graphene layers etched with sulfuric acid, it was determined that the microorganism did not capable of holding onto the surface due to materials hydrophobicity, and that microorganisms hitting the rough surfaces did not capable of protecting the cell integrities. Based on the fact that

not every hydrophobic or rough material is antimicrobial, the growth amounts of microorganisms were investigated in liquid medium in which the fabric surfaces impregnated with graphene oxide was immersed. As a result of these experiments, it was observed that the solid surface findings were found as same as those obtained at near the fabric, and the findings obtained in the liquid areas were repeated as those observed previously in the liquid regions. Therefore, it was concluded that graphene oxide and graphene materials had no antimicrobial properties. In order to confirm this finding, single and multiple effects of microorganism type, graphene containing fabric size, and graphene oxide concentration on microorganism growth were analyzed by using multiple optimization technique with three-parameter three-level Box-Behnken experimental design. After performing all statistical and physical fitness tests, three-dimensional surface graphs of the parameters were drawn by computer program with the quadratic model function. Regardless of fabric size and graphene oxide concentration, it was determined that microorganism growth occurs and microbial growth depends only on the variety of microorganisms due to the speed of use of nutrients present in the medium. Thus, it was proven once again, that the presence of graphene oxide in the medium as dispersed in liquid or as impregnated into the solid was to be ineffective on microbial growth.

Keywords: Graphene, graphene oxide, reduced graphene oxide, antimicrobial properties, optimization, Box-Behnken design.

2019, 97 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca gerek maddi gerekse manevi olarak asla beni yüz üstü bırakmayan, akademik anlamda gelişmemi sağlayan ve bilgi birikimini hiç çekinmeden paylaşan, sürekli arkamda olan değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Sibel YİĞİTARSLAN' a teşekkürlerimi sunuyorum.

Hiç kimseye muhtaç olmadan kendi ayaklarımın üzerinde durabilmem için beni eğiten, esas olanın bilgi olduğunu bana öğreten canım annem Hanife KAŞ' a,

denemekten asla vazgeçmememi, önemli olanın hatalardan ders çıkartmak olduğunu bana öğreten ve bu süreçte sürekli motivasyon veren canım babam Murat KAŞ' a,

yanımda görünmez bir melek gibi duran, her ihtiyacım olduğunda bir telefon kadar uzakta olan canım abim Şükrü Kaan KAŞ ve canım yengem Derya KAŞ' a,

küçüklüğümden beri yanımda olan, gerçek bir anne-baba sevgisi ile beni büyüten ve el üstünde tutan canım anneannem Rahime YAZISIZ, canım dedem Ahmet YAZISIZ ve canım dayım Muzaffer YAZISIZ' a,

sonsuz teşekkürlerimi ve sevgimi sunuyorum, iyi ki varsınız.

Üniversite hayatımın sonlarına doğru tanıdığım fakat verdiğim savaşta beni hep destekleyen değerli arkadaşlarım Hilal KARAMAN, Canan YÜKSEL ve İrem ÇELEBİ' ye teşekkür ederim, sizlerle iyi ki yollarımız kesişmiş.

Güveni ve gurur duymasıyla her zaman yanımda hissettiğim, gösterdiği manevi ve teknik desteklerle varlığını es geçemeyeceğim değerli meslektaşım Kadir Aydoğan' a teşekkürlerimi sunuyorum.

Proje ekibi üyeleri olan, deneylerim boyunca bana günlerce okulda eşlik eden Gözde ERKAÇ başta olmak üzere, iyi bir arkadaş ortamı yaratan Sergen ÇETEBOZAN, Atalay DEMİR, Ahmetcan USLU, Mehtmet BAYRAKTAR, Ayşe ŞEN ve Diclecan BULUT' a, teşekkürlerimi sunuyorum.

5044-YL1-17 No`lu Proje ile tezimi maddi anlamda destekleyen S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Bilimde ilerlemenin önemli olduğunu çok önceden vurgulayan, ihtiyacımız olan tek şeyin çalışkan olmak olduğunu belirten, bir kadın olarak bilimle uğraşp bilim insanı olabilmenin yanısıra birçok haklara sahip olmamızı sağlayan Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK' e tüm saygıyla teşekkürlerimi sunuyorum.

Merve KAŞ
ISPARTA, 2019

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Elementel karbon atomunun orbitalleri.....	2
Şekil 1.2. Karbon atomunun başlıca allotropları.....	3
Şekil 1.3. Karbonun faz diyagramı	4
Şekil 1.4. Elmasın kristal yapısı.....	4
Şekil 1.5. Fulleren yapısı a)60 Karbonlu, b) 70 Karbonlu	5
Şekil 1.6. Amorf karbon görünümü	6
Şekil 1.7. Grafitin kristal yapısı.....	7
Şekil 1.8. Grafenin moleküler yapısı.....	8
Şekil 1.9. Grafen ve grafen oksit yapısı.....	10
Şekil 1.10. Grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit yapısı	11
Şekil 1.11. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ile grafen üretimi.....	12
Şekil 1.12. Epitaksiyel Grafen büyütme yöntemi.....	14
Şekil 1.13. Grafen FET, Optik mikroskop görüntüsü.....	17
Şekil 1.14. Hidrojen depolamada grafen kullanımı	18
Şekil 1.15. Grafenin kemik hücre farklılaşması üzerine etkisi.....	19
Şekil 1.16. İlgili alanını dıştan çevreleyen dizaynın geometrik şekli	27
Şekil 1.17. İlgili alanını içten çevreleyen dizaynın geometrik şekli	27
Şekil 1.18. Yük merkezli dizaynın geometrik şekli	28
Şekil 1.19. Box-Behnken Design geometrik görünümü	28
Şekil 2.1. Beş farklı mikroorganizmanın grafen oksitli ortamdaki optik yoğunluğu	31
Şekil 2.2. SEM görüntüleri; a) <i>S. Aureus</i> , b) <i>S. Feacalis</i> , c) <i>E. coli</i> , d) <i>P. aeruginosa</i> ve e) <i>C. albicans</i>	32
Şekil 2.3. SEM görüntüleri; (A) paslanmaz çelik substratta EPD tarafından biriktirilmiş olan GONW, (b) neredeyse dikey nano-duvarların görüntüsü ve (c) nano-duvarların enine kesit görünüşü	33
Şekil 2.4. Grafen oksit şerit boyutuna bağlı hücre canlılığı	34
Şekil 2.5. Farklı bakteri içeren Ag nanoparçacık konsantrasyonları tarafından üretilen inhibisyon bölgesi: 1, kontrol (GO); 2-5, <i>P. aeruginosa</i> ile üretilen inhibisyon bölgeleri (sırasıyla besinsel agarının süspansiyonunun AgNP1, AgNP2, AgNP3 ve AgNP4), 6; kontrol (GO); 7-10, AgNP1 tarafından <i>E. coli</i> ile üretilen inhibisyon zonu, sırasıyla AgNP2, AgNP3 ve AgNP4 derişimlerinde nanoparçacıkların bulunduğu besiyerinde.....	36
Şekil 2.6. Çalışma ortamlarında <i>P.aeruginosa</i> büyüme eğrisi.....	37
Şekil 2.7. Grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit ortamında <i>P.aeruginosa</i> canlılığının kaybı	38
Şekil 4.1. <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyüme eğrisi	47
Şekil 4.2. 5 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi	47
Şekil 4.3. 40 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi.....	48
Şekil 4.4. 50 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi.....	48
Şekil 4.5. 100 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi.....	49
Şekil 4.6. 200 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi.....	49
Şekil 4.7. 400 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi.....	50
Şekil 4.8. r-GO içeren ortamda <i>E.coli</i> Nissle 1917 büyümesi	50

Şekil 4.9. <i>Escherichia coli</i> büyüme eğrisi	51
Şekil 4.10. 5 µg/ mL GO içeren ortamda <i>E.coli</i> büyümesi	52
Şekil 4.11. 40 µg/ mL GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi	52
Şekil 4.12. 50 µg/ mL GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi	53
Şekil 4.13. 100 µg/ mL GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi.....	53
Şekil 4.14. 200 µg/ mL GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi.....	54
Şekil 4.15. 400 µg/ mL GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi.....	54
Şekil 4.16. r- GO içeren ortamda <i>Escherichia coli</i> büyümesi.....	55
Şekil 4.17. <i>Candida krusei</i> büyüme eğrisi	56
Şekil 4.18. 5 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi	56
Şekil 4.19. 40 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi.....	57
Şekil 4.20. 50 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi.....	57
Şekil 4.21. 100 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi	58
Şekil 4.22. 200 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi	58
Şekil 4.23. 400 µg GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi	59
Şekil 4.24. r-GO/mL içeren ortamda <i>Candida krusei</i> büyümesi.....	59
Şekil 4.25. <i>Clostridium difcile</i> büyüme.....	60
Şekil 4.26. 5 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi.....	61
Şekil 4.27. 40 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi.....	61
Şekil 4.28. 50 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi	62
Şekil 4.29. 100 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi	62
Şekil 4.30. 200 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi	63
Şekil 4.31. 400 µg GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi	63
Şekil 4.32. r-GO/mL içeren ortamda <i>Clostridium difcile</i> büyümesi.....	64
Şekil 4.33. <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi.....	65
Şekil 4.34. 5 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	65
Şekil 4.35. 40 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	66
Şekil 4.36. 50 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	67
Şekil 4.37. 100 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	67
Şekil 4.38. 200 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	68
Şekil 4.39. 400 µg GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi	68
Şekil 4.40. r-GO/mL içeren ortamda <i>Lactobacillus acidophilus</i> büyümesi....	69
Şekil 4.41. Mikroorganizma ekildiği anda; a) aşındırılmamış yüzeye sahip grafen katı ortam görüntüsü, b) sülfirik asit ile aşındırılarak üretileen grafen katı ortam görüntüsü	70
Şekil 4.42. Mikroorganizma gelişimi sonunda; a) aşındırılmamış yüzeye sahip grafen katı ortam görüntüsü, b) sülfirik asit ile aşındırılarak üretileen grafen katı ortam görüntüsü	71
Şekil 4.43. <i>E.coli</i> Nissle 1917 bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi	72
Şekil 4.44. <i>E.coli</i> bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi.....	72
Şekil 4.45. <i>C.krusei</i> mantarının grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi..	73

Şekil 4.46. <i>C.difficile</i> bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi	47
Şekil 4.47. <i>L.acidophilus</i> bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi	74
Şekil 4.48. Gerçek ve kuadratik modelle öngörülen sonuçların karşılaştırılması	78
Şekil 4.49. GO derişimi-mikroorganizma çeşidi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiğı	79
Şekil 4.50. Kumaş boyutu-mikroorganizma çeşidi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiğı	80
Şekil 4.51. Kumaş boyutu-GO derişimi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiğı	81



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Karbon atomunun özellikleri	1
Çizelge 1.2. Karbonun bazı allotroplarının fiziksel özellikleri	9
Çizelge 1.3. Grafen üretim yöntemlerinin avantajları	15
Çizelge 1.4. Grafen üretim yöntemlerinin dezavantajları	15
Çizelge 1.5. Biyoteknolojinin yararları ve riskleri	23
Çizelge 1.6. Deney sayısına göre CCC ve BBD karşılaştırması	29
Çizelge 1.7. CCC ve BBD verim karşılaştırması	29
Çizelge 3.1. Box-Behnken Dizayn parametreleri	43
Çizelge 4.1. Box-Behnken deney dizaynı ve sonuçları	75
Çizelge 4.2. Kuadratik Model ANOVA tablosu	76
Çizelge 4.3. Kuadratik modele ait stardart sapma ve R ² değerleri	76
Çizelge 4.4. Kuadratik modelle elde edilen katsayılar tablosu	77
Çizelge 5.1. Sıvı besiyeri içerisindeki <i>E.coli Nissle 1917</i> bulguları	83
Çizelge 5.2. Sıvı besiyeri içerisindeki <i>E.coli</i> bulguları	83
Çizelge 5.3. Sıvı besiyeri içerisindeki <i>Candida krusei</i> bulguları	84
Çizelge 5.4. Sıvı besiyeri içerisindeki <i>Clostridium difficile</i> bulguları	84
Çizelge 5.5. Sıvı besiyeri içerisindeki <i>Lactobacillus acidophilus</i> bulguları	85
Çizelge 5.6. Sıvı ortamda seçilen bütün mikroorganizmaların büyüme bulguları	87
Çizelge 5.7. Grafen oksit içerikli kumaş ortamında bütün mikroorganizmaların büyüme bulguları	88

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AC	Aktif Karbon
BBD	Box-Behnken dizayn
BME	Betamerkaptoetanol
CCC	İlgi alanını dıştan çevreleyen dizayn
CCD	Merkez kompozit dizayn
CCF	Yük merkezli dizayn
CCI	İlgi alanını içten çevreleyen dizayn
CFU	Colony-forming unit
CVD	Kimyasal buhar biriktirme
FET	Alan etkili transistör
GAC	Granüler aktif karbon
GO	Grafen oksit, $\mu\text{g}/\text{mL}$
GONWs	Grafen oksit nanoduvarlar
Gt	Grafit
GtO	Grafit oksit
PAC	Toz aktif karbon
r-GO	İndirgenmiş grafen oksit
RGNWs	Grafen nanoduvarlar
RSM	Cevap yüzey metodu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Taramalı elektron mikroskobu
ϵ	Hata fonksiyonu

1. GİRİŞ

1.1. Karbon

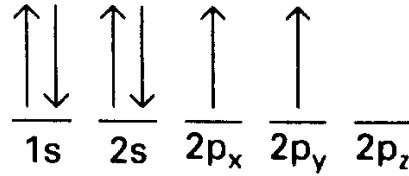
Yaşamın yapıtaşlarından biri olan karbon atomu yer kabuğunun yaklaşık %0,2'sini oluşturan önemli özelliklere sahip bir elementtir. Periyodik tabloda IV-A grubunda yer alan elementlerin içerisinde en düşük atom numarasına sahip (6) bir ametal olan karbonun diğer özellikleri Çizelge 1.1'de verilmiştir. Karbonun rengi doğada bulunduğu biçime göre değişmektedir; elmas biçimindeki karbon şeffaf (elmas beyaz) ve aşırı sert olarak bilinirken, grafit biçiminde bulunan karbon yumuşak dokuda ve siyah opak renktedir (Dresselhaus, 2001).

Çizelge 1.1. Karbon atomunun özellikleri (wikipedia, 2019)

Sembol	C
Periyot, Grup	2.Periyot, 4A grubu
Sınıf	Ametal
Atom numarası	6
Atom kütlesi (g/gmol)	12,01
Renk	Siyah (grafit), Renksiz (Elmas)
Kristal yapı	Kübik
Erime noktası (°C)	4027-4427
Kaynama noktası (°C)	3727
Hal (25°C, 1 atm)	Katı
Yükseltgenme derecesi	-4, +2, +4
Elektron dağılımı	1s ² 2s ² 2p ²

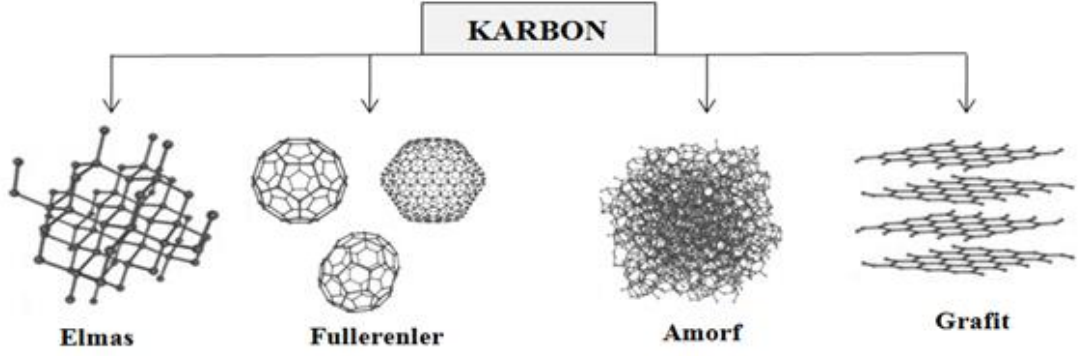
Elementel formda karbon dört adet değerlik elektronu taşımaktadır. Bu dört değerlik elektronun ikisi 2s orbitalini doldururken diğer iki elektronu 2p orbitallerinin içerisinde dağılmış halde bulunmaktadır (Şekil 1.1). Karbon atomunda bulunan elektronların orbitallere yerleştirilmesini gösteren Şekil.1 incelendiğinde, karbondaki üst 2p enerji seviyeleri ve düşük 2s enerji seviyeleri arasındaki enerji farkı, kimyasal bağların bağlanma enerjisiyle karşılaştırıldığında çok küçük kalması sebebiyle, bu elektronların elektronik dalga fonksiyonları birbirleriyle kolayca karışabilmektedir (Mildred ve Dresselhaus, 2001). Karbonun 2s orbitalinde bulunan elektron, 2p orbitaline sıçrayabildiği için karbon dört bağ yapabilmekte, dolayısıyla doğada fazla sayıda karbon bileşiği görülmektedir. Yani kristal fazda değerlik elektronları, karbon türevli malzemelerde kovalent bağ oluşturmada önemli olan 2s, 2p_x, 2p_y ve 2p_z

orbitallerine neden olmaktadır. Kimyada, 2s ve 2p orbitalleri arasında gerçekleşen bu etkileşimler bir başka değişle orbitallerin karışımı hibridleşme, tek bir 2s elektronun 2p orbitali elektronu ile karıştırılması da sp^n ($n=1,2$ veya 3) hibritleşmesi olarak adlandırılmaktadır (Wong ve Akinwande, 2011; Mildred ve Dresselhaus, 2001). Şekil 1.1'de sp^2 hibritleşmesi görülmektedir.



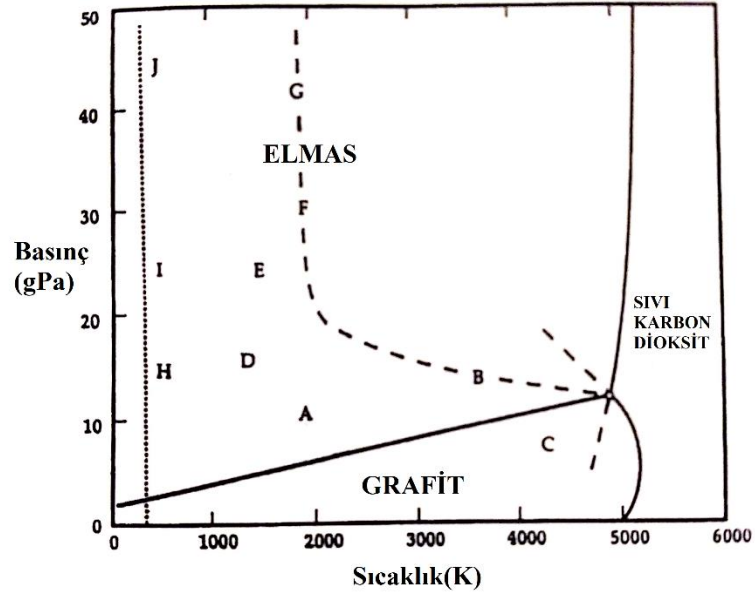
Şekil 1.1. Elementel karbon atomunun orbitalleri

sp^n hibritleşmesindeki çeşitlilik, karbonun çok aktif hale gelmesi ve farklı bileşik, kristal ve allotroplarının üretilmesinde önemli rol oynamaktadır. Allotropi bir elementin uzayda farklı şekillerde dizilmesiyle oluşan yapıya verilen isimdir. Bir elementin allotropu, elementin orijinal hali ile aynı kimyasal özellikleri taşıdığı halde fiziksel özellikleri farklıdır. Karbon atomunun elektronları arasında oluşan hibridizasyon göz önünde bulundurulduğunda doğada birçok karbon allotrobu bulunmaktadır. Şekil 1.2.'de doğal ve yapay olmak üzere karbonun en önemli dört allotropu ve bu allotropların fiziksel yapıları verilmiştir. Elmas, grafit ve fulleren saf karbondan oluşan yapılar olmasına rağmen amorf karbon (aktif karbon) farklı elementleri de içermektedir. Elmas ve grafit doğada gözlemlenebilir karbon allotropları iken fulleren ve amorf karbon üretilerek elde edilmektedir.



Şekil 1.2. Karbon atomunun başlıca allotropları

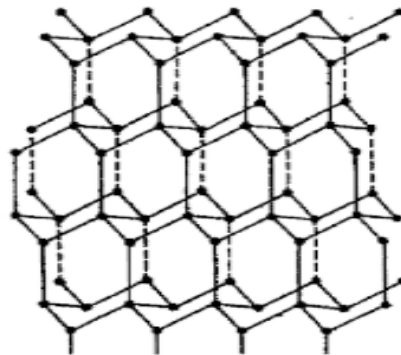
Karbonun faz diyagramı (Şekil 1.3), 1960 yılında elmasın tarihsel sentezini yönlendirmiştir (Bundy vd., 1996). Faz diyagramı incelendiğinde sp^2 bağı yapmış grafit normal ortam koşulları altında karbonun temel haliyken, yüksek sıcaklık ve basınçta ise karbonun fazı, sp^3 bağı yapmış küp elmasa dönüşmektedir. Kesintisiz çizgilerin denge fazının sınırlarını ifade ettiği faz diyagramında A noktası, elmasın grafitten kataliz yardımıyla ticari sentezinin, B noktası hızlı katı fazdaki grafit ile elmas sentezinin, C noktası elmasın grafitte hızlı dönüşümünün, D noktası hegzogonal elmas sentezinin, F noktası kübik elmas üretimi için sıkıştırılan grafitin koşullarını, B-F-G noktaları kübik elmas sentezi için grafitin ya da hegzogonal elmasın koşullarını, H-I-J noktaları sıkıştırılmış grafitin elmas benzeri özellikler kazandığı fakat basınç düşürüldüğünde grafitte geri dönüştüğü koşulları ifade etmektedir. Faz diyagramının diğer alanları ise altıgen elmas (Kasatochkin, vd., 1973; Whittaker, vd., 1985) ve sıvı karbon için stabilite aralıklarını göstermektedir (Dresselhaus ve Steinbeck, 1988). Elmasın sentezinden sonra yeni karbon formlarına ilgi duyulmaya başlanmıştır (Bundy, 1985). Diyagram genel olarak değerlendirildiğinde, sp^2 hibritleşmesinden sp^3 hibritleşmesine geçmek için, yüksek basıncın gerektiğini göstermektedir.



Şekil 1.3. Karbonun faz diyagramı (Bundy, vd., 1996)

1.1.1. Elmas

Elmas ametal özellik gösteren karbonun yüksek basınçta ve sıcaklıkta sıkıştırılması sonucu oluşan kübik bir allotropudur. Elmasın 6, 8 ve 12 yüzlü kristal yapıları da bulunmaktadır (Şekil 1.4). Bu yapıların rengi beyaz, kahverengi, siyah ya da renksiz olabilmektedir. Elmasta karbon atomları sp^3 hibritleşmesi yaparak tetrahedral bir düzen oluşturur. Karbon atomları arasındaki bağlar çok kuvvetlidir. Bu nedenle çok sert ve kararlı bir yapıya sahiptir ve oda sıcaklığında hiçbir madde etki etmez. Elmasın sertliği mineralojide materyallerin sertliğini belirtmek üzere kullanılan mohs sertlik göstergesinde en yüksek değer olan 10 ile ifade edilmektedir (Burchell, 1999).

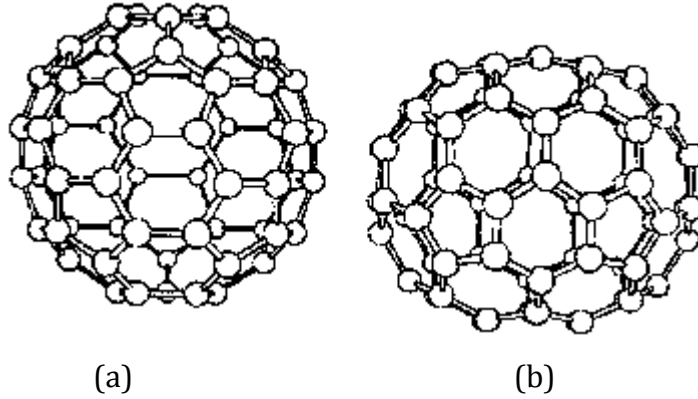


Şekil 1.4. Elmasın kristal yapısı (Burchell, 1999)

Yoğunluğu yaklaşık $3,5\text{gr/cm}^3$ olan elmasın atmosferik koşullarda erime noktası 3547°C 'dir, havada 850°C 'de tutuşur ancak vakum ortamında 1500°C 'de grafitte dönüşür (Şekil 1.3). Elmas hiç serbest elektron taşımadığından elektrik akımını iletmez, fakat bağlarının kuvvetli olması onu çok iyi bir ısı iletkeni yapmaktadır. Elmasın ışığı kırma indisi çok yüksektir, bu özelliği nedeniyle değerli bir ziynet eşyasıdır.

1.1.2. Fulleren

En küçük formu 60 karbondan oluşan, en az 12 beşgen ve 20 altıgen içeren bu yapı, küresel, silindirik veya halkasal görünüme sahiptir (Şekil 1.5). Kroto ve Smalley (Kroto vd., 1985) tarafından keşfedilen kapalı kafes karbon molekülleri ailesine, R. Buckminster Fuller'in (Buckminster Fuller, 1984) tasarladığı kubbelere benzemesinden dolayı "BuckminsterFulleren" ismi verilmiştir. Deneysel olarak ilk kez 1985 yılında, lazerle indirgenmiş grafitin kütle spektrumunda, stabil bir molekül olan 60 karbonlu fulleren yapısı analizlenmiştir (Kroto vd., 1985).

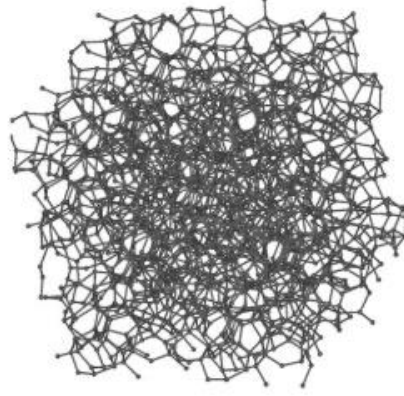


Şekil 1.5. Fulleren yapısı a) 60 Karbonlu, b) 70 Karbonlu

Fullerenin, grafitte benzeyen bağ kararlılığı nedeniyle reaktif bir madde olmamakla birlikte birçok çözücü içerisinde çözünmez.

1.1.3. Amorf Karbon

Amorf yapı, belirli bir kristal yapısı olmayan yani atomların serbest dağılımda yerleştiği yapılara verilen isimdir. Bu yapıyı oluşturan karbon atomları Şekil 6.'da gösterildiği gibi belirli bir düzende dizilmemişlerdir. Bir diğer ismi aktif karbon (AC) olan bu allotrop yaygın olarak adsorpsiyon işleminde kullanılmaktadır.



Şekil 1.6. Amorf karbon görünümü

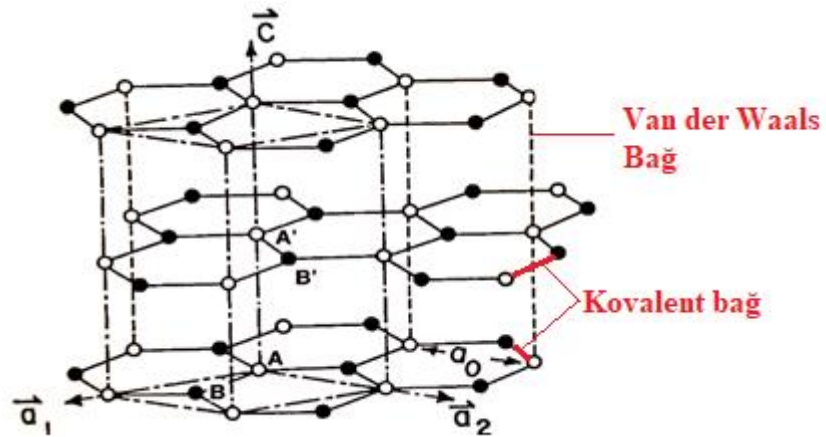
Kokusuz ve siyah toz formunda olan aktif karbonun molekül ağırlığı 12,011 g/gmol ve erime noktası 3500 °C, kaynama noktası 4000 °C den yüksektir. CAS No 7440-44-0 olan AC spesifikasyonlarına göre metan adsorpsiyonu ile ölçülen toplam yüzey alanı yaklaşık 1150 mg²/g 'dır (Anonim, 2018). Aktif karbonun bileşiminde %87-97 oranlarında karbon bulunmaktadır. Geriye kalan yüzdelik kısmı ise azot, oksijen, hidrojen ve kükürt gibi elementler oluşturabilmektedir (Thcoboglanous, 1991). AC üretimi için kullanılan başlıca hammaddeler tahta, kömür, petrol atıkları, kemik ve linyit olarak sıralanmaktadır. Bu hammaddeler karbondioksitin (CO₂), karbonmonoksitin (CO), havanın ve su buharının temelini oluşturduğu bir atmosferde yaklaşık 300 °C ile 1100 °C sıcaklıklar arasında aktifleştirilir ve soğutma işlemi uygulandıktan, gerekli saflaştırma işlemleri yapıldıktan sonra kullanıma hazır hale getirilmektedir (Şengül ve Küçükgül, 2001). Ticari olarak kullanılan aktif karbonun üç çeşidi vardır. Granüler Aktif Karbon (GAC), 0,2-5 mm boyutlara sahip olan sıvı ve gaz faz uygulamalarında kullanılan türdür. Toz Aktif Karbon (PAC) ise 0,18 mm' den küçük AC çeşididir ve GAC gibi hem sıvı hem de gaz fazındaki uygulamalarda kullanılır. Pellet Aktif Karbon (Pellet AC) çeşidi ise 0,8-5 mm boyutlarda üretilir ve sadece gaz fazı

uygulamalarında kullanılmaktadır (Küçükgül, 2004). Aktif karbonun kullanım alanlarını etkileyen en önemli özelliği geniş yüzey alanıdır. Bir gram AC, 1000 m² yüzey alanına sahiptir (Norit, 1983; Morgan ve Fink, 1989). Aktif karbonun büyük kristal formu ve geniş iç gözenek yapısı, geniş iç yüzey alanını oluşturur (Şekil 1.6). Hammaddelerin kolay temin edilmesi, üretiminin ucuz olması ve geniş yüzey alanına sahip olması nedeniyle AC adsorpsiyon işlemlerinde kullanılan meşhur bir adsorbenttir.

1.1.4. Grafit

Grafit elmas ve aktif karbonla karşılaştırıldığında oldukça yumuşak bir yapıdadır. Bükülme özelliğine sahip olan grafitin sertliği 1 mohs, yoğunluğu 2 g/cm³'tür. Oksijenli ortamda 600-670°C'de yanan grafitin erime sıcaklığı 3927°C'dir (Çuhadaroğlu, Kara, 2018).

sp² hibritleşmesine sahip karbon atomlarından oluşan ve Şekil 1.7'de grafitin ideal kristal yapısı verilmektedir. Grafitin iç dizaynı incelendiğinde karbon atomlarının her katmanda birim hücre başına iki atom içeren, açık bir petek ağının düzenlendiği A ve B etiketlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Bu etiket yapısının "ABAB" şeklinde üst üste düzenmesiyle elde edilen türüne *Bernal istifleme* düzenlenmesi denmektedir (Dresselhaus vd., 2001).



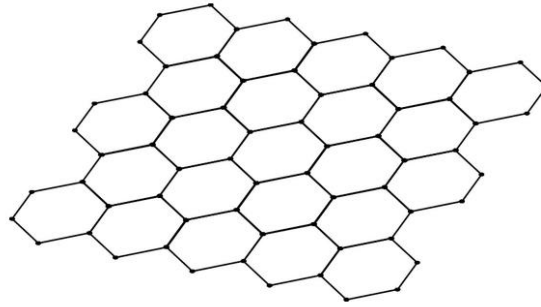
Şekil 1.7. Grafitin kristal yapısı

Grafite yapısında aynı düzlem içerisindeki karbon atomlarının birbirine bağlandığı kovalent bağları kuvvetlidir, fakat düzlemler arasındaki Van der Waals bağları zayıftır. Bu zayıflık sebebiyle katmanlar birbirlerinden kolayca ayrılabilir.

2004 yılında Novoselov ve arkadaşları tarafından grafit üzerine yapılan bir deney sırasında, bu katmanlar arasındaki zayıf bağ nedeniyle karbonun bir türe olan yeni bir materyalin keşfi sağlanmıştır. Grafit tabakalarını ayırdıklarını ve tek bir tabaka elde ettiklerini fark eden araştırma ekibi karbonun bu formuna Grafen adını vermiştir (Novoselov, vd., 2004).

1.2. Grafen

İlk kez 2004 yılında İngiltere’de laboratuvar koşullarında grafitten izole edilen grafen, sp^2 hibritleşmesine sahip karbon atomlarının düzlemsel tek tabaka halinde dizilmesiyle oluşan yapıya verilen isimdir (Şekil 1.8). Grafende karbon atomları çok sıkı bir şekilde dizilmiştir, bu dizilimin içerisinde en küçük atom olan Helyum atomunun dahi geçemediği görülmüştür (Çuhadaroğulları, vd., 2018).



Şekil 1.8. Grafenin moleküler yapısı

Grafenin iç yapısı incelendiğinde C-C bağının uzunluğu yaklaşık olarak $1,42 \text{ \AA}$ iken grafen tabakalarının üstüste gelmesiyle oluşan grafitin, tabakalar arası uzaklığı $3,35 \text{ \AA}$ olarak ölçülmüştür (Novoselov vd., 2004). İki boyutlu yapıların çok ender örneklerinden birisi olan karbonun bu formu, $1s$ ve $2p$ orbitallerinin birleşimi ile 120° açılı sp^2 hibritleşmesi oluştururken açıkta kalan p_z orbitalleri grafen malzemesine önemli özellikler kazandırmaktadır.

Grafenin en çok dikkat çeken özellikleri; 0,345 nm kalınlığıyla bu zamana kadar ölçülebilen “en ince” madde, karbonun “en aktif” formu, ölçülebilen “en dayanıklı” malzeme (ki elmadan daha sert ve çelikten yaklaşık 200 kat daha dayanıklı), bakırdan bir milyon kat daha iletken olmasıyla bilinen “en iyi iletken” ünvanlarını elde etmiştir (Tiyek vd., 2016). Grafen, 2630 m²/g ile yüksek yüzey alanına (Zhu vd., 2010), 1100 GPa ile yüksek mekanik dayanıklılığa (An vd., 2011), 1738 siemens/m ile mükemmel iletkenliğe sahip (Weiss vd., 2012), 5000 W.K/m ile iyi bir ısı iletkenidir (Balandin vd., 2008). Çizelge 1.2’de verilen bilgiler doğrultusunda grafen, karbonun diğer allotropları ile karşılaştırıldığında Yüzey alanı, termal iletkenlik, hareketlilik gibi birçok alanlarda onlardan üstün olduğu görülmüştür (Choi vd., 2012). Grafenin sahip olduğu eşsiz mekanik ve elektronik özellikleriyle birçok çalışmaya konu olmaya devam etmektedir.

Çizelge 1.2. Karbonun bazı allotroplarının fiziksel özellikleri (Choi vd., 2012)

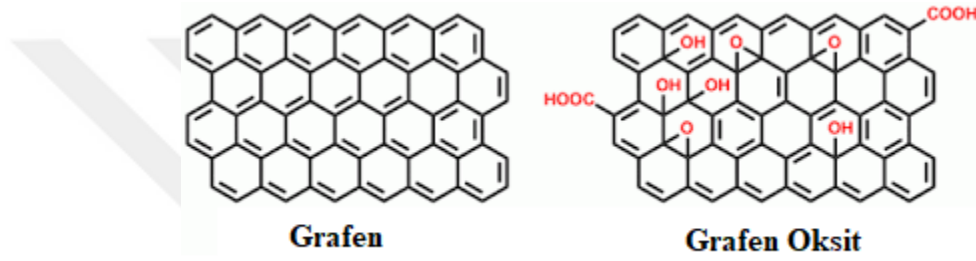
Özellik	Grafen	Karbon Nanotüp	Grafit	Fulleren
Yüzey alanı (m²/g)	2630	1315	10	5
Termal iletkenlik (W/m.K)	5000	>3000 (çok duvarlı KNT)	3000	0,4
Hareketlilik (cm²/Vs)	15000 SiO üzerinde 200.000 serbest halde	100000	13000	0,56
Young modülü (TPa)	1	0,64	1,06	0,01

1.2.1. Grafen Çeşitleri

Grafitin farklı işlemlere maruz bırakılmasıyla oluşturulan başlıca grafen çeşitleri; grafen oksit ve indirgenmiş grafen olarak ikiye ayrılmaktadır.

1.2.1.1. Grafen Oksit

Grafitin güçlü oksitleyici ajanlar kullanılarak yükseltgenmesiyle, sadece tabakaların birbirinden ayrılmasıyla oluşan grafit yapıdaki formudur (Şekil 1.9).



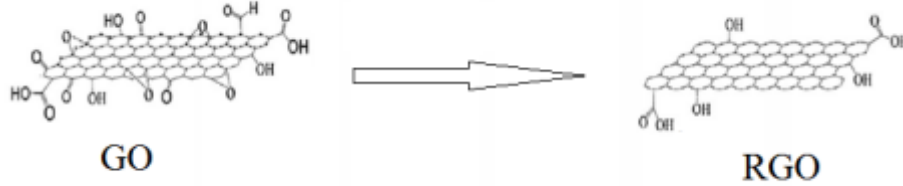
Şekil 1.9. Grafen ve grafen oksitin yapısı

Kimyasal yöntemde, grafitte oksidasyon işlemi ile fonksiyonel gruplar kazandırılmakta ve böylece hidrofilik özellikli grafit oksit (GO) sentezlenmektedir (Tiyek, vd., 2016). Bu özellik, grafit oksidin, sonikasyon kullanılarak su içinde dökülmesini sağlar, Grafit oksit ve grafen oksit arasındaki temel fark, katman sayısıdır. Grafit oksit; bir grafen oksit dispersiyonunda çok katmanlı bir sistemdir. Grafen oksidin avantajlarından biri, oksijen fonksiyonelliğinin varlığından dolayı su ve diğer organik çözücülerde ve ayrıca farklı matrislerde kolay dağılılırlığıdır. Elektrik iletkenliği açısından grafen oksit, sp^2 yapıştırma ağlarının bozulması nedeniyle, yalıtkan bir madde olarak tanımlanmaktadır.

1.2.1.2. İndirgenmiş grafen oksit

İndirgenmiş Grafen Oksit (r-GO) (Şekil 1.10); grafen oksitin hidrazin hidratın ($N_2H_4H_2O$), sodyum bor hidrür ($NaBH_4$) ve formaldehit gibi çeşitli kimyasallarla indirgenme reaksiyonu sonucunda elde edilmektedir (Mindivan, 2019). Hidrazin

hidrat tehlikeli, kararsız bir madde olup özellikle polimerlerin π - π sistemlerine oldukça zarar veren güçlü bir indirgeyicidir (Liu, vd., 2013). Yalıtkan olan grafen oksitin elektriksel iletkenliğin geri kazanılması için, oksijen gruplarının azaltılması sağlanmalıdır. Bu sayede elde edilen indirgenmiş grafen oksitin iletkenliği grafen oksite göre daha fazladır.



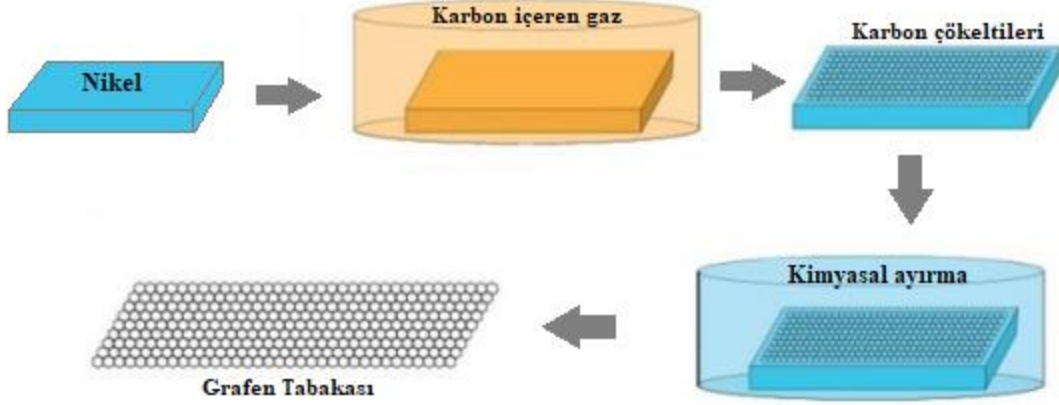
Şekil 1.10. Grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit yapısı (Wang vd., 2013)

1.2.2. Grafen üretim yöntemleri

Literatürde grafenin üretim yöntemleri temel olarak üç başlık altında yoğunlaşmaktadır (Park ve Ruoff, 2009). Bunlar; kimyasal buhar biriktirme yöntemi (Reina vd., 2009), grafen oksitin indirgenmesi (Park ve Ruoff, 2009), mikromekaniksel olarak grafitin tabakalarının ayrılması (Eksfoliasyon) (Novoselov vd., 2004) olarak sıralanabilir.

1.2.2.1. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi

Yöntem Şekil 1.11’de gösterildiği üzere geçiş metalleri üzerine buhar fazında düşük molekül ağırlıklı hidrokarbon gazının içinde bulunan karbon atomlarının biriktirilmesi ve ardından ayırıcı bir ajan ile yüzeyden alınması olarak tanımlanmaktadır (Obraztsov, 2009).



Şekil 1.11. Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ile grafen üretimi (Bedeloğlu ve Taş, 2016)

Nikel filmler Ar ve H₂ gazlarından oluşan atmosferde, 900-1000 °C sıcaklıklarda tavlandıktan sonra H₂ /CH₄ karışımı ile etkileşime maruz bırakılır (Şekil 13) (Bedeloğlu ve Taş, 2016). Bu adımda karbon atomları hidrokarbondan ayrılarak nikel film üzerine yapışarak katı bir çökelti oluşturur. Bu çökeltinin argon gazı içerisinde soğutulmasıyla karbon atomları nikel-karbon ara yüzeyinden ayrılarak nikel filmin üzerinde grafen tabakaları oluşturur (Zhang vd., 2012). Kimyasal buhar biriktirme yönteminde geçiş metali olarak ilk kez Nikel tabakalarını kullanılmıştır fakat günümüzde nikel yerine iridyum (Coraux vd., 2008) ve paladyum (Kwon vd., 2009) üzerine çalışmalar da mevcuttur. Kimyasal buhar biriktirme (CVD) yöntemi, ucuz ve verimli olması açısından grafen üretiminde en çok tercih edilen yöntemdir (Mattevi, vd., 2011). Bu yöntem kusursuz grafen tabakaları üretmek için kabul edilen bir yöntemdir.

1.2.2.2. Grafen oksitin indirgenmesi

Görsel olarak grafen oksitin indirgenmesiyle oksijen gruplarının uzaklaştırılması kahverengiden siyah renge doğru bir değişime neden olur. Bir başka değişle çözeltilerin rengindeki değişim oksijenin azaltılmasının ve yapılan indirgenme işleminin verimini göstermektedir (Chua, Pumera, 2014). İlk olarak, İngiliz bilim insanı Brodie 1859 yılında yaptığı deneyde, grafit tozunun üzerine derişik nitrik asit (%95-98) ve 11-16 gram potasyum klorat eklemiştir. Deney sonucunda aldığı ölçümde grafitin toplam ağırlığının arttığını tespit etmiştir. Bu artışın sebebini

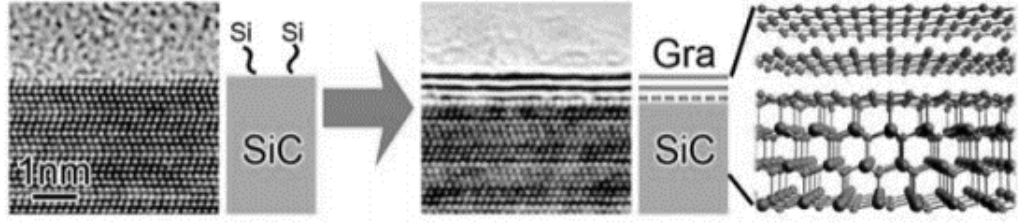
araştırmak için elde ettiği malzemeyi karakterize ettiğinde grafitin deney sonucunda yaklaşık %38'inin oksijen, %2'si kadar hidrojen ve kalan %60'ının karbon olduğunu tespit etmiş ve bu yüzdeleri önceki %96 karbon içeriğine sahip ilk deney sonuçlarıyla karşılaştırdığında grafitin oksitlendiği bulgusuna ulaşmıştır (Brodie, 1859).

Grafen oksit üretimi üzerine yapılan çalışmalardan birisinde de Hummers ve Offeman grafitin oksitlenmesi için Brodie'den farklı bir yol izlemişlerdir. Kullandıkları metotta oksitlenmeyi potasyum permanganat (%99.9) ve derişik sülfirik asit (%98) ile sağlamışlardır. Hummers ve arkadaşlarının yaptığı deneyde kullanılan kimyasalları daha çevreci bir hale getirmek için, 2013 yılında Chen ve arkadaşları derişik sülfirik asit yerine sülfürik asit/fosforik asit karışımını kullanmışlardır ve bu sayede günümüzde hala kullanılmakta olan geliştirilmiş Hummers metodunu ortaya çıkarmışlardır (J. Chen 2013; Dreyer vd., 2010).

Kimyasal indirgenme yöntemlerinde kullanılan metodlara bağlı olarak indirgeyici ajanlar farklılık göstermektedir. Başlıca kullanılan indirgeyici ajanlardan birisi olan borhidridler ilk kez 2008 yılında kullanılmıştır. Yapılan çalışmada altın nanopartiküllerin grafen/oktadesilamin kompleksine adsorpsiyonunu çalışılmıştır (Chua ve Pumera, 2014). Yapılan bir diğer çalışmada üç adımlı sentez tasarlanmıştır ve sentezin ilk adımında sodyum borhidrid kullanılarak indirgenme reaksiyonu oluşturulmuştur. Tüm adımlar tamamlandığında sülfone edilmiş grafen elde edilmiştir (Si ve Samulski, 2008). Bir diğer ajan olan hidrazinler, 2007 yılında Ruoff ve çalışma ekibi tarafından kullanılan hidrazin hidrat ile grafen oksiti indirgemişlerdir (Bedeloğlu ve Taş, 2016). Yoğunlukla kullanılan diğer ajanlar ise sülfür içeren indirgeyici ajanlar (Chen ve Bangal, 2010) ve aliminyumhidridler (Ambrosi vd., 2012) olarak sıralanmaktadır.

1.2.2.3. Epitaksiyel büyütme

Bu yöntemde büyütme şartlarına bağlı olarak silisyum karbür (SiC) tabakası yaklaşık 2000°C'ye kadar ısıtılır. Bu ısıtma sonucu tabakanın ulaştığı sıcaklıkta silisyumun desorpsiyonu başlar ve silisyum karbon atomlarından ayrılır. Geride kalan karbon atomları monokristal ince film şeklinde (epitaksiyel olarak) bir araya gelerek grafeni oluştururlar (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. Epitaksiyel Grafen büyütme yöntemi (Taş ve Bedeloğlu, 2016)

Karbon kaynağı, SiC tabakası olduğundan dolayı yeni katmanlar üretilen ilk katmanın altında çoklu olarak oluşur. Bunun sonucunda da SiC tabakasının kalınlığına bağlı olarak grafenler elde edilir.

1.2.2.4. Grafen üretim yöntemlerinin karşılaştırılması

Grafen üretiminin yöntemlerinin bazılarının, başlangıç malzemesine ve üretim yöntemine göre avantajları Çizelge 3'te dezavantajları Çizelge 4'de verilmiştir.

SiC üzerinde sentezin en büyük dezavantajı; ilk grafen katmanları oluşuktan sonra desorbe olan silisyumun kaçış yolu bulamaması nedeniyle tabakaya yapışması, dolayısıyla da grafen katman büyümesinin sonlanmasına neden olmasıdır (Bedeloğlu ve Taş, 2016).

Termal tavlama yönteminin kullanılması hem indirgenmeyi hem de eksfoliasyonu bir arada içerdiği için avantajlı bir yöntem gibi gözüksede, üretim miktarlarının çok düşük olması ve üretimin yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesi sebebiyle üretilen grafen tabakalarının bozulabileceği göz önünde bulundurulduğunda çok tercih edilen bir yöntem değildir (Pei ve Cheng, 2012; Schniepp vd., 2006).

Mikrodalga yöntemi ile indirgenen grafit oksit, ısınma etkisinin mikroçevrede uniform ve hızlı olması nedeniyle üretilen grafenin bozulma olasılığını düşürmesi bu yöntemin en önemli avantajlarından birisidir.

Çizelge 1.2. Grafen üretim yöntemlerinin avantajları

Başlangıç malzemesi	Üretim yöntemi	Avantajlar
Grafit	Mekanik ayırma	Basit ve ucuz
		Tabakalı yapıdaki farklı malzemelere de uygulanabilir
		Tanıtım amacıyla kullanılabilir
	Grafen oksit indirgenmesi	Ucuz
		Endüstriyel boyutta üretime uygun
Grafit olmayan	SiC üzerinde sentez	Büyük alana sahip tek tabaka ve birkaç tabaka grafen üretimi
		Direkt olarak yalıtkan malzeme üzerinde büyüme
		Altlıklara görece kolayca transfer
	Kimyasal buhar biriktirme yöntemi	Görece büyük alana sahip grafen
		Kendi kendine tek tabakaya sınırlandırma
		Büyük tek kristal büyümesi
		Altlıklara görece kolayca transfer

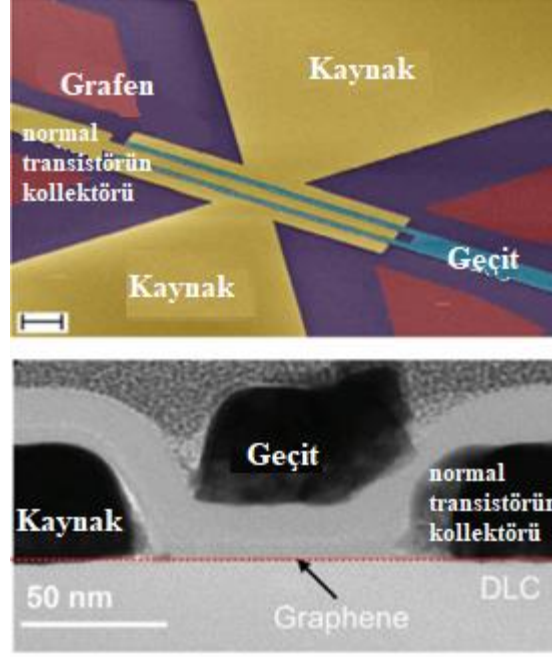
Çizelge 1.3. Bazı grafen üretim yöntemlerinin dezavantajları

Başlangıç malzemesi	Üretim yöntemi	Dezavantaj
Grafit	Mekanik ayırma	Seri üretim için çok verimsiz
		Genellikle birkaç tabaka grafen üretilmekte
		Ürün boyutları başlangıç malzemesi boyutlarıyla sınırlı
	Grafen oksit indirgenmesi	İşlemler elektronik özellikleri bozmakta
Oksitledikten sonra redüklemeye yapılsa bile başlangıçtaki yapıya tamamen dönülemiyor		
		Ürün boyutları başlangıç malzemesi boyutlarıyla sınırlı
Grafit olmayan	SiC üzerinde sentez	Çok özel cihaz ve ekipmanlar gerekli
		Ürün boyutları başlangıç malzemesi boyutlarıyla sınırlı
		Yüksek maliyet
	Kimyasal buhar biriktirme yöntemi	Bir altlıktan diğer altlıklara transfer etmek grafene zarar verebilir
		Yüksek maliyet
		Çok özel cihaz ve ekipmanlar gerekli

1.2.3. Grafen Kullanım Alanları

İmal edilmiş karbon ürünleri mevcut dünya sanayisinde hayati, temel ürünler arasında önemli bir yere sahiptir (Dresselhaus, 2001). Bu ürünlerin üretilmesi için karbonun başlıca allotropları kullanılmaktadır. Bu allotroplardan biri olan grafen bilinen ilk iki boyutlu malzemedir. Grafen sahip olduğu eşsiz özellikleriyle transistör ve sensör üretiminde, enerji teknolojilerinde (Su vd., 2011; Zhang vd., 2013), biyoteknolojide (Wang vd., 2011; Liu vd., 2008) ve ağır metallerin gideriminde adsorbent olarak kullanılmasında potansiyeli çok yüksek bir materyal olduğu görülmüştür.

Grafenin transistör ve sensör üretiminde kullanıldığı ilk çalışma Manchester Üniversitesinde Prof. Dr. Andre Geim tarafından yürütülmüştür. Bu çalışmada bir atom kalınlığında ve en fazla elli atom genişliğinde grafen transistörü geliştirilmiştir. Grafen dik yöndeki elektrik alanına verdiği pozitif tepkiden dolayı alan etkili transistör yapımına (FET; Field effect transistor) uygun bulunmuştur. Bu transistör oda sıcaklığında çalıştığında, devreler arası bağlaç aygıtları ve mantık kapıları gibi elektronik aygıtlar için önem arz etmektedir (Avouris, vd.,2012). Alan etkili transistör tabanlı biyosensörler, FET kapısındaki moleküller arasındaki biyolojik tanıma olaylarına dayanır. Prob ve hedef biyomoleküller arasındaki biyolojik tanıma üzerine, elektrik yükü dağılımı, biyolojik tanıma katmanındaki yük taşıyıcı yoğunluğunu ve dolayısıyla kanalın kaynak ve drenaj arasındaki iletkenliğini değiştirir (Şekil 1.13). Grafen, FET biyosensörlerinin yapımı için ideal bir malzemedir, çünkü sıfır bant aralıklı yarı iletkenidir ve bant aralığı yüzey modifikasyonu ile ayarlanabilmektedir (Pumera, 2011).



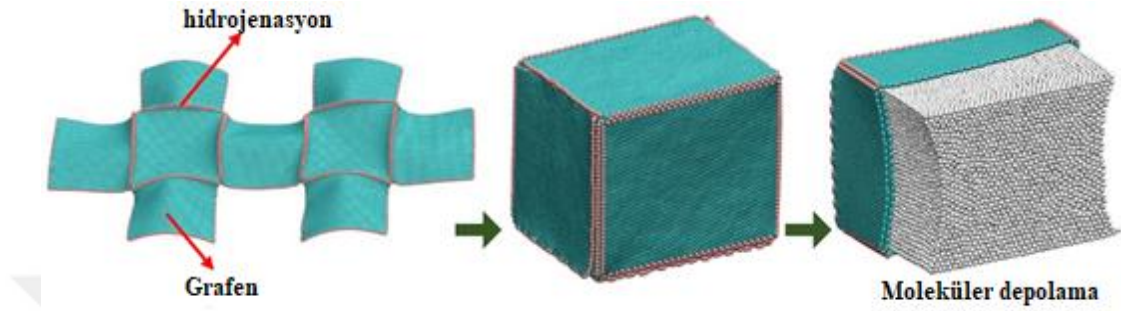
Şekil 1.13. Grafen FET, Optik mikroskop görüntüsü (Avouris, vd.,2012)

Grafen sağlam olduğu kadar, iyi elektrik iletme özelliğine sahip olmasıyla da pil teknolojilerinde kullanılmaya başlanmış bir yapıdır. Elmas kesiklerine dayanacak kadar güçlü bir karbon tabakası olan grafenin, kimyasal pillerde bulunan yolların bileşiminde silonun yerini alabileceği ve pilin ömrünü uzatabileceği yönündeki çalışmalar sürmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Teksas Üniversitesi'nin araştırmacıları, normal pillerden daha güçlü elektrik depoları olan ultrakapasitörleri, grafen tabanlı olarak imal etmiş ve normalin iki katı kapasiteye sahip olan ultrakapasitörler üretildiği görülmüştür (Wikizero, 2019).

Grafenin sensör teknolojisinde kullanılması da bir diğer önemli uygulama alanıdır. Grafenin keşfini gerçekleştiren Andre Geim ve araştırma grubu elamanları grafeni kullanarak azot dioksit moleküllerinin grafen yüzeyine yapışma ve ayrılmasını moleküler hassasiyette tespit etmeyi başarmışlar ve sensör üretimini gerçekleştirmişlerdir (Wikizero, 2019).

Grafenin karbon tabakaları arasındaki uzaklığın minimum derecede olması, grafenin hidrojen depolamada oldukça önemli rol alabileceği ihtimalini doğurmuştur. Artan küresel ısınma ve fosil yakıtların gün geçtikçe azalması araştırmacıları yeni arayışlara itmektedir. Hidrojenin verimli bir şekilde

depolanıp elektrik enerjisi gereken yerlerde kullanılması için Bilkent Üniversitesinden öğretim görevlisi Salim Çıracı ve grubunun yaptığı teorik modellemeler neticesinde, hidrojen atomlarının grafen üzerine yapışması (hidrojenasyon) sonucu oluşan yapının (Şekil 1.14) ağırlığının % 12'si kadar hidrojeni depolayabileceği öngörülmüştür (Ataca vd., 2008).



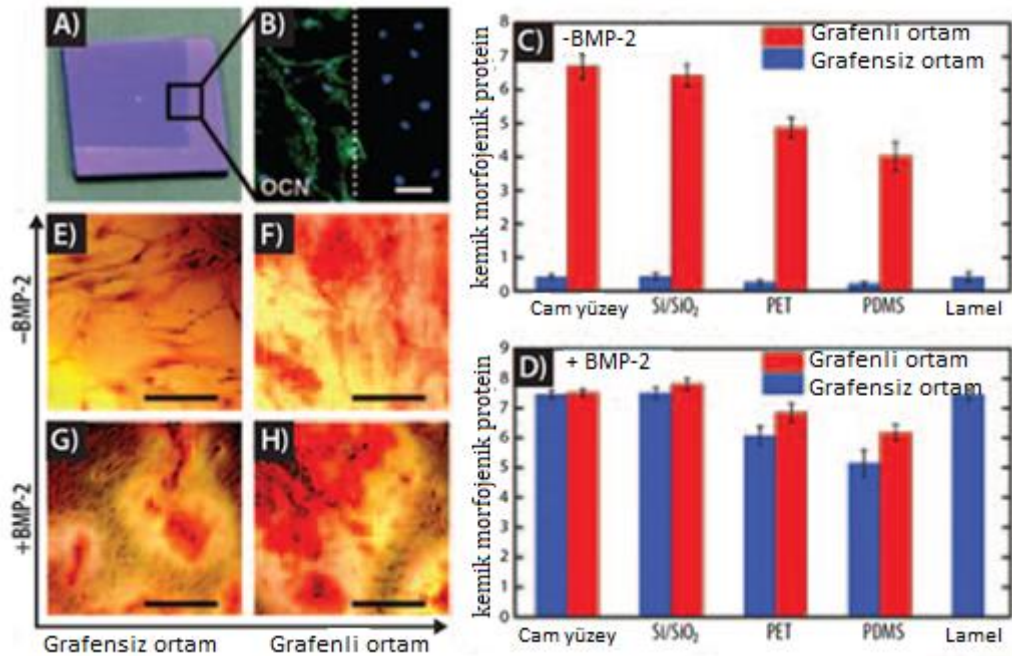
Şekil 1.14. Hidrojen depolamada grafen kullanımı (Zhu ve Li, 2014)

Grafenin biyoteknoloji alanındaki uygulama alanlarından birisini biyosensörler oluşturmaktadır. FET tabanlı biyosensörler, hızlı tepki vermesi, nano ölçekte üretilebilmesi ve diğer elektrokimyasal sensör tiplerine göre daha yüksek hassasiyet sunması gibi avantajlara sahiptir. Bu biyosensörler, temel elektronik özelliklerinden ötürü, CVD yöntemi ile sentezlenen grafen filmler ve mekanik olarak eksfoliyeye edilmiş grafen pulları kullanılarak üretilmektedir. Yapılan çalışmada grafen film, esnek PET platformlarında biriktirilmiş ve çözelti kapılı bir FET biyosensörü oluşturmak üzere glikoz oksidaz (GOD) ile fonksiyonelleştirildi. Grafen FET, portatif, giyilebilir ve implante edilebilir glikoz seviyesinin izlenmesi gereken durumlarda uygulanabileceği sonucuna varıldı. CVD grafen kullanılarak üretilen esnek bir glikoz FET biyosensörü, çift kutuplu transfer karakteristikleri göstermiştir (Kwak, vd., 2012).

Grafenin biyoteknolojideki bir diğer kullanım alanı ise doku mühendisliğidir. Doku mühendisliği uygun fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklere sahip biyoyumlu iskele tasarımına dayanır. Grafen ve türevleri, içsel esneklikleri, yüksek yüzey alanları, adaptasyonları ve işlevsellikleri nedeniyle iskele malzemesi olarak ilgi çekmektedir. İnce filmler şeklindeki GO ve rGO'nun, memeli fibroblast hücrelerinin büyümesi için uygun iskeleler olduğu, çünkü gen

transfeksiyonu ve bazı hücre fonksiyonlarını arttırırken, önemli zararlı etkileri indüklemeyen yüzey kaplama malzemesi olarak iyi biyoyumluluk sergiledikleri görülmüştür (Ryoo, vd., 2010).

Diğer bir çalışmada, insan kök hücrelerinin çoğalması ve çoğaltılması konusunda grafen kaplı platformlar araştırılmıştır (Nayak vd., 2011). Çalışmada CVD metodu ile elde edilen grafen, polietilen siloksan, polietilen tereftalat, cam ve silikon-silikon dioksit platformları kullanılmıştır. Çalışma sonucunda grafen, insan mezenkimal kök hücrelerinin çoğalmasını arttıran ve spesifik olarak kemik hücrelerinin farklılaşmasını hızlandıran ümit veren biyo-uyumlu bir yapı iskelesi olarak bulunmuştur. Şekil 1.15'te verilen çalışma sonuçları incelendiğinde kemik morfojenik protein yokluğunda bile kemik hücrelerinin arttığı görülmektedir. Dikkat çekici bir şekilde grafen, yaygın olarak kullanılan büyüme faktörlerinin yokluğunda bile hücre farklılaşmasını hızlandırmıştır. Bu nedenle implantlara veya yaralanmış dokulara dahil edilmesi, çevresindeki ortamın fizyolojik koşullarını negatif etkilemeyeceği ve büyümeye olumlu yönde etki ettiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 1.15. Grafenin kemik hücre farklılaşması üzerine etkisi (Nayak vd., 2011)

1.3. BİYOTEKNOLOJİ

Biyoteknoloji bitki, hayvan ve mikroorganizmaların yapı ve işleyişlerini anlatan moleküler biyoloji, genetik ve mühendislik bilimlerinin ortaklaşa çalışarak oluşturduğu bir bilim dalıdır. Biyoteknolojinin gelişmesine fizik, kimya, biyokimya, mikrobiyoloji ve moleküler mikrobiyoloji gibi bilim dallarının etkisi vardır (Kolankaya, 2000). Yararlı ürünlerin üretilmesini ve sorunların çözülmesini amaçlayan ve bu amaca ulaşmak için biyolojik sistemlerin kullanıldığı süreç ve teknikleri barındıran genel bir terimdir (TÜSİAD, 2000). 20. yüzyılın son dönemlerinde gerçekleşen biyolojik bilimlerdeki köklü değişiklikler bir teknoloji devriminin meydana gelmesine sebep olmuştur (Mehta ve Gair, 2001).

Ekonomik olması nedeniyle günümüzde endüstride kullanılan biyoteknolojik prosesler gıda sanayisinde ve özellikle eczacılıkta oldukça önem kazanmıştır. (Pamir, 1986). Biyoteknoloji, tarım ve hayvancılık biyoteknolojisi, endüstriyel biyoteknoloji, çevresel biyoteknoloji ve gıda biyoteknolojisi olmak üzere başlıca dört başlık altında incelenmektedir. Bu dört alan kullanılarak üretilen ürünlerin global pazardaki elde ettikleri yüzdeler incelendiğinde, en yüksek değer %77 ile gıda sektörüne ait olduğu belirlenmiştir (Özgen, vd., 2007).

1.3.1. Biyoteknolojinin çeşitleri

1.3.1.1. Tarım ve Hayvancılık Biyoteknolojisi

Biyoteknolojinin en geniş alanlarından birisi olan tarım ve hayvancılık biyoteknolojisi, bitki ve hayvan yetiştirerek gıda üretimin büyük alanını kapsamaktadır. Biyoteknolojinin devreye girdiği bitki yetiştiriciliği bölümünde, bitkilerin dayanıklılığını ve verimini arttırmak için çalışmalar yapılmıştır (Özgen vd., 2007). Bitkilerin hastalıklara karşı olan direncini ve kaliteyi arttırmak için melezleme yapılmaktadır (TÜSİAD, 2000).

1.3.1.2. Endüstriyel Biyoteknoloji

Daha temiz, güvenli ve ekonomik süreçlerin oluşmasını sağlayan enzimler, endüstriyel anlamda tercih edilen biyolojik sistemlerdendir. Örneğin tekstil sektöründe amilaz enzimi; dokuma sırasında kaplama yapıştırıcısı olarak kullanılan nişastayı, tekrar kumaştan ayırmak için tercih edilmektedir (TÜSİAD, 2000). Kimyasal yöntemler yerine üretim süreçlerinde, çevre dostu biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Ayrıca, biyoteknolojik yöntemler kullanılarak yeni enerji kaynaklarının oluşturulması da bu başlıkta değerlendirilmektedir (Sağlam vd., 2003; İskender vd., 2004).

1.3.1.3. Çevresel Biyoteknoloji

Çevre kirliliğinin önlenmesinde kullanılan çevre biyoteknolojisi uygulamaları arasında, mikroorganizmalarla atıkların ve nükleer malzemelerin arıtımı en önemli uygulamalarıdır. Atık suyun arıtılması aşamasındaki biyokimyasal reaksiyonların bakteriler tarafından gerçekleştirildiği çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda kullanılan mikroorganizmaların zararlı atıkları zararsız yan ürünlere dönüştürdüğü görülmüştür (Özgen vd., 2007). Çevresel biyoteknolojinin diğer konusu olan biyosensörler çevresel koşulların kontrolünün sağlanmasında kullanılmaktadır (TÜSİAD, 2000).

1.3.1.4. Gıda Biyoteknolojisi

Biyoteknoloji, geliştirilen yeni teknolojiler sayesinde gıda üretiminde verimliliğin artmasını sağladığı için bu sektörde sıkça kullanılmaktadır. Biyoteknoloji gıda endüstrisinin bugünkü hale gelmesinde son derece önemli bir rol oynamıştır (Mehta ve Gair 2000).

Gıda sektöründe sıkça kullanılan enzimlerin üretilmesini, saflaştırılmasını ve kullanıma hazır hale getirilmesini içeren enzim teknolojisi, başta peynir olmak üzere enzimle gerçekleştirilen bütün gıdaların üretiminde olumlu etkileri olmuştur. Örneğin sütün pıhtılaşarak peynire dönüşmesini hızlandırıcı enzimler

olan rennin kullanımı oldukça fazladır. Üretilen bu mikrobiyal peynir mayaları, ucuz bir alternatif oluşturması olması nedeniyle günümüzde Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır.

Biyoteknolojinin bir alt dalı olan genetik mühendisliği enzim teknolojisinde, genetiği değiştirilmiş gıda üretiminde kullanılmasında bazı ülkelerce etik ve ahlaki açıdan bir sorun olarak algılanmamaktadır (Mehta ve Gair, 2000). Mantarların vitamin ve kanser ilacı üreten formlara dönüşmesi sağlanırsa Hepatit B aşısının genetiği değiştirilmiş bitkilerden elde edilmesine yol açacaktır (TÜSİAD, 2000).

1.3.2. Biyoteknolojinin yararları ve riskleri

Yapılan araştırmalara göre biyoteknolojiye dayalı endüstrilerin sağladığı yararlar nedeniyle 21. yüzyılın endüstrileri olacağı düşünülmektedir (Çizelge 1.5) (Xue and Tisdell, 2000). Bu yararlar çevresel, sağlıksal ve tarımsal olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir.

1.3.2.1. Çevresel yararlar

Biyoteknoloji kullanılarak geliştirilen yöntemler ve sistemler sayesinde, ağır metallerin sebebiyet verdiği toprak ve su kirliliğinin en aza indirgenmesi sağlanmaktadır. Geliştirilen bu sistemler arasında yer alan biyoreaktörler, kirliliği oluşturan kirleticileri ya da çöpleri bünyesine absorbe ederek, toksik özellik göstermeyen birimlere parçalaması çevre kirliliği açısından önemli bir gelişmedir (Xue ve Tisdell 2000).

1.3.2.2. Sağlıksal yararları

Biyoteknolojik yöntemlerle tıp alanında çeşitli ilaç ve aşılar yapılmaktadır. Bazı ilaçların üretildiği bitki ve hayvanlar, hastalıkların görülme seviyesini azaltmada önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, yapılan çalışmaların günümüzde görülen bazı

hastalıkların genetik nedenlerini ortaya çıkarması beklenmektedir (Xue ve Tisdell 2000: 700).

1.3.2.3. Tarımsal yararları

Biyoteknoloji uygulamaları ile tarımda verimi yüksek, soğuğa ve sıcağa dayanıklı çeşitlerin üretilmesi beklenmektedir (Xue ve Tisdell, 2000: 699). Büyük başarılar kazanılan ürün kalitesinin geliştirilmesi uygulamalarında, yüksek proteinli soya, nişasta ve aminoasit içeriği arttırılmış patates, linolenik asit oranı düşük ayçiçeği türleri literatüre kazandırılmıştır. Bunun yanısıra sabun ve deterjan üretimi için daha ucuz hammadde sağlayan yüksek laurate asitli kanola çeşidi tarıma kazandırılmıştır (Özgen vd., 2007). Sürmekte olan çalışmalar arasında aşı etkisi gösterebilecek muz gibi bitkilerin geliştirilmesi yer almaktadır (Özgen vd., 2005).

Biyoteknolojinin olası riskleri Biyoteknoloji Endüstri Kurumu tarafından Çizelge 1.5' te verilen başlıklar altında toplanmaktadır.

Çizelge 1.4. Biyoteknolojinin yararları ve riskleri (Özgen vd., 2007)

Biyoteknolojinin Yararları	Biyoteknolojinin Riskleri
1. Çevresel yararlar Pestisitlerin kullanımının azalması Su ve Toprak Koruma	1. Çevresel riskler Ekolojik dengenin tehdit edilmesi Biyolojik çeşitliliğin azalması
2. Sağlık yararları Tıbbi Ürünlerin Geliştirilmesi Yenebilir Aşılar	2. Güvenlik Riskleri Kontrol Eksikliği Güvenliğin Sağlanmasındaki Güçlükler
3. Tarım ve Gıda İşleme Yararları Yüksek verimlilik Biyoçeşitlilik ve sürdürülebilirlik Hastalıklara karşı korunma	3. Etik Yaklaşımlar “Tanrı’yı Oynama” nın huzursuzluğu Hayvan Sağlığı ile ilgili endişeler Dini Tabular
4. Beslenme ve Gıda Kalitesi Yararları Daha iyi besin ve kalite	

Biyoteknolojinin mikroorganizma yapıları ve mikroorganizmalar üzerinde araştırmakta olduğu en önemi konulardan birisi antimikrobiyal özelliktir.

Biyoteknolojide bir malzemenin antimikrobiyal olabilmesi için, o malzeme hücrede gerçekleşen işleyişe etki ederek hücre bütünlüğünü bozması bir diğer değişle öldürmesi gerekmektedir (Musumeci vd., 2013). Mikroorganizma üremesinin istenmediği durumlarda ve sistemlerde; örneğin tıbbi sistemler ve gıda sektörü uygulamalarında, malzemelerin antimikrobiyal özelliğinin incelendiği çalışmalar giderek artmaktadır (Al-thani vd., 2014; Akhavan ve Ghaderi, 2010; Perreault vd., 2015; Das vd., 2011; Gurunathan vd., 2012).

1.4. Optimizasyon

Optimizasyon; işleyen bir sistemde bulunan bütün değişkenlerin, bu sistem sonucuna olan etkilerini belirlemek ve sonucu istenilen değere ulaştırmak için kullanılan iyileştirici bir yöntemdir. Sistemde bulunan değişkenler hammadde, zaman, çalışma koşulları ve kapasite olabilirken optimizasyonun hizmet ettiği amaçlar ise maliyetin en aza indirgenmesi, verimliliğin artırılması ve kapasite kullanımının en yüksek seviyeye getirilmesi olabilmektedir (Gass, 2000). Optimizasyonda iki temel aşama vardır; bunlardan ilki olan modelleme kısmında gerçek hayatta karşılaşılan problemlerin matematiksel olarak ifadelendirilmesi yapılmaktadır. Diğer aşaması olan çözümlemede, matematiksel ifadesi yapılmış modelin farklı değişken (parametre) değerlerinde bu modeli sağlayan en iyi çözümü elde etmektir (Türkay, 2011).

Geliştirilmek istenen cevabın en iyisini gerçekleştirme sürecini oluşturan optimizasyonun iki çeşidi vardır. Eğer tek bir parametrenin tüm sisteme etkisi araştırılıyorsa bu tip optimizasyon çeşidi tek parametrelili optimizasyon olarak adlandırılır. Tek parametrelili optimizasyonun en büyük dezavantajı, seçilen değişkenin sistemde bulunan diğer değişkenlerle nasıl bir ilişkiye sahip olduğunun tanımlanmasının mümkün olmamasıdır. Optimizasyon tekniklerinde açığa çıkan bu sorun çok parametrelili optimizasyon kullanılarak giderilmiştir. Optimizasyonun diğer çeşidi olan çoklu optimizasyon, değişkenlerin birbiri arasındaki etkileşimlerini ve cevap üzerindeki etkilerini inceleyerek bunlar arasında bağlantı kurulmasını sağlamaktadır. 20.yüzyılın başlangıcından itibaren çoklu optimizasyonun gerçekleştirilmesinde sıklıkla tercih edilen yöntem cevap

yüzey yöntemidir ve yapılan çalışmalarda bu yöntem içerisinde farklı deney dizaynları kullanılmaktadır (Baş ve Boyacı, 2006).

1.4.1. Cevap Yüzey Metodu (RSM)

Cevap-yüzey metodu (RSM) bir dizi deney sonucunda parametreler arasındaki ilişkiyi, seçilen bir veya birden fazla cevap üzerindeki etkisine göre değerlendirilmesinde kullanılan matematiksel tekniklerden oluşan bir methodur (Balci ve Yıldız, 2017). RSM polinomal fonksiyonla parametrelerin etkilerinin tahmin edilmesi ve araştırılmakta olunan cevap yüzeyini şeklen ifade etmesi için tasarlanmıştır. RSM tasarımları proses parametrelerinin en uygun değerlerinin belirlenmesinde, proses sorunlarının ve zayıf noktalarının gideriminde, prosesin kontrol edilemeyen etkilere karşı daha sağlam hale getirilmesinde kullanılmaktadır.

Cevap yüzey metodunun temeli, bir sistemdeki n tane bağımsız değişkene (x) bağlı olarak sistemin cevabının verdiği tepkilerin (y) ölçümüdür.

$$y = f[x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n] \quad (1.1)$$

Metodda elde edilen herhangi bir yüzeyde gözlenen y' değeri ile modelden bulunan y değeri (cevap) karşılaştırıldığında, aralarındaki fark hata fonksiyonunu (ε) ifade etmektedir.

$$y' = f(x) + \varepsilon \quad (1.2)$$

Sistemin davranışını açıklamak için ikinci dereceden (kuadratik) ya da üçüncü dereceden (kübik) bir model kullanımı gerekebilmektedir. Box ve Draper 1987 yılında böyle bir polinomial denklemi Eşitlik 3'teki gibi ifade etmiştir. Bu denklemde y bulunmak istenen cevabı, β_0 model sabitini β_k , β_{kk} ve β_{kj} ifadeleri değişkenlerin katsayılarını, X_k , $X_k X_j$ terimleri kodlanmış bağımsız değişkenleri ve ε_0 ise hata fonksiyonunu ifade etmektedir (Değirmencioğlu ve Yazgı, 2006).

$$y = \beta_0 + \sum_{k=1}^n \beta_k X_k + \sum_{k=1}^n \beta_{kk} X_k^2 + \sum_{k=1}^n \sum_{j=1}^n \beta_{kj} X_k X_j + \epsilon_0 \quad (1.3)$$

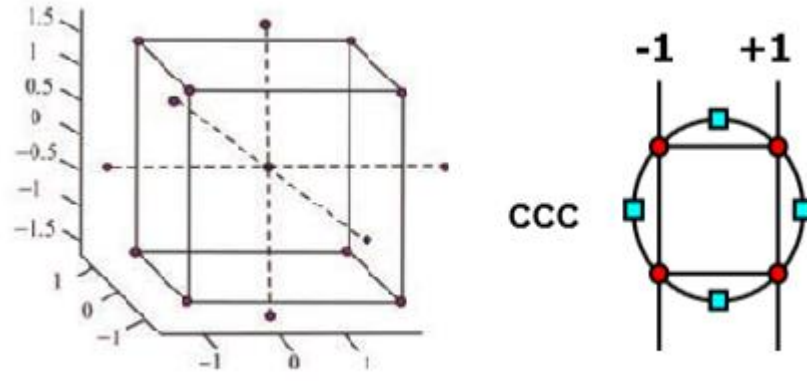
Önerilen bu polinomal fonksiyonla ifade edilen cevap yüzeyi, parametrelerin belirlenen sınırları içerisinde kalması ve merkezdeki deneylerin standart sapması düşük olması şartıyla geçerlidir.

1.4.2. Deney dizaynları

Cevap yüzey yönteminde kullanılan başlıca dizaynlar Box-Wilson Central Composite Design (CCD) ve Box-Behnken Design (BBD)'dir.

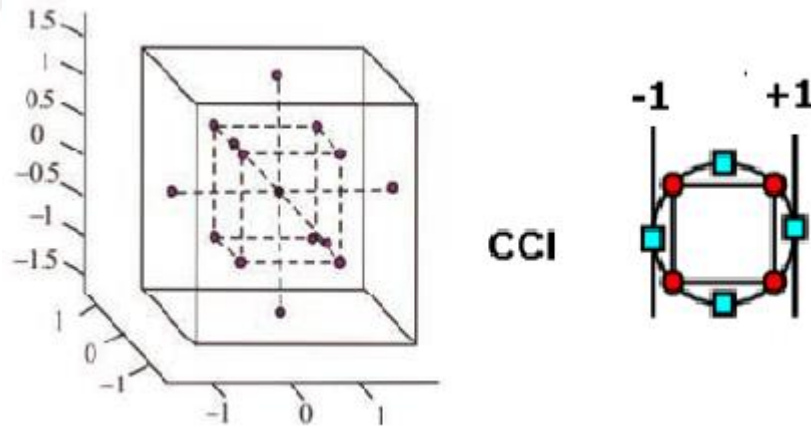
1.4.2.1. Box-Wilson merkez kompozit dizayn

Box ve Wilson tarafından geliştirilen Box-Wilson Merkez Kompozit Dizayn (CCD) modelinde tam ya da kısmi 2^k faktöriyel dağılımını içeren merkez noktalı küp kullanılır. CCD'de parametreler, en yüksek +1,682, en düşük -1,682 ve orta değer ise 0 şeklinde kodlanarak optimizasyon yapılmaktadır. İlgili alanını dıştan çevreleyen, içten çevreleyen ve yük merkezli olmak üzere üç çeşit CCD dizaynı bulunmaktadır. Dizayn geometrisi genellikle parametre aralığında bir küre oluşturur. Şekil 1.16'da gösterilen ilgi alanını dıştan çevreleyen küreyi içeren dizayn (Circumscribed Design) (CCC), deneylerin yapıldığı tüm proses sürecinde yüksek tahminleme yapılmasına olanak vermektedir. Deneylerde kullanılan her parametre için beş seviyeye ihtiyaç vardır. Beş seviyeli dizaynlarda α olarak ifade edilen işlem aralığı, işlem sayısının (z) dördüncü derecen karekökü ($\sqrt[4]{z}$) şeklinde ve eğer sistem tam faktöriyel ise ($\sqrt[4]{2^k}$) şeklinde ifade edilmektedir. Bu dizayn üç boyutlu koordinat sisteminde döndürebilirlik özelliğine sahiptir (Değirmencioğlu ve Yazgı, 2006).



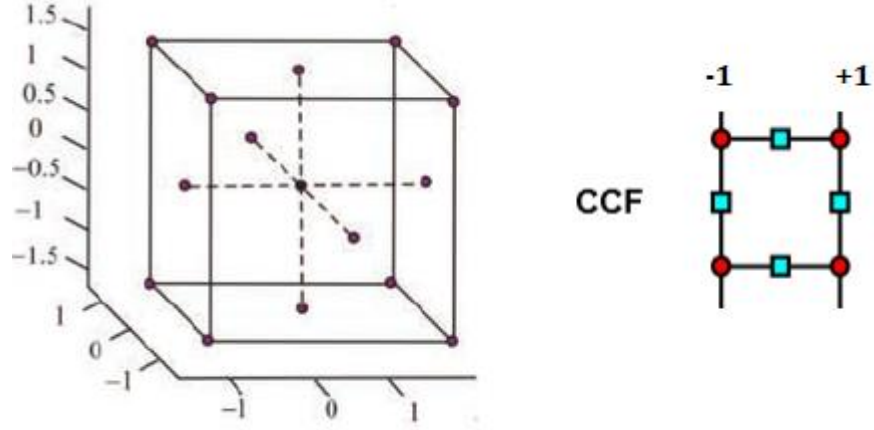
Şekil 1.16. İlgi alanını dıştan çevreleyen dizaynın geometrik şekli

Şekil 1.17’de verilen ilgi alanını içten çevreleyen küreyi içeren dizayn (Inscribed Design) (CCI) ise sadece belirli parametre limitlerinde çalışan tam ya da kısmi faktöriyel dizayn oluşturmada kullanılmaktadır. CCI dizayn CCC dizaynda kullanılan her faktörün α 'ya bölünmesiyle elde edilir ve CCC gibi döndürebilirlik özelliğine sahiptir (Değirmencioğlu ve Yazgı, 2006).



Şekil 1.17.İlgi alanını içten çevreleyen dizaynın geometrik şekli

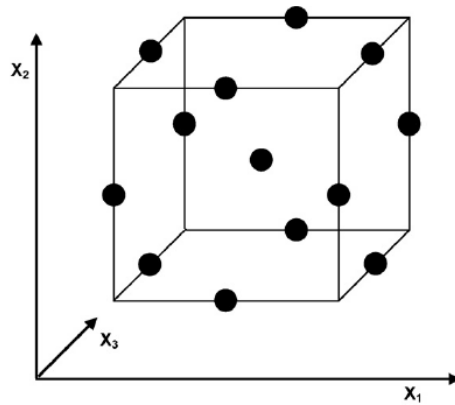
Kompozit dizaynın son çeşidi olan, küre içermeyen, küpün ağırlık merkezini temel alan yük merkezli dizayn (Face Centered Design) (CCF) ise Şekil 1.18’de verilmiştir. Bu dizaynda her parametre için üç seviye gerekmektedir ve bu sistemin döndürebilirlik özelliği yoktur (Değirmencioğlu ve Yazgı, 2006).



Şekil 1.18. Yüke merkezli dizaynın geometrik şekli

1.4.2.2. Box-Behnken dizayn

Box-Behnken Dizayn (BBD), üç seviyeli tamamlanmamış faktöriyel tasarımlarına dayanan, döndürülebilir veya neredeyse döndürülebilir, ikinci dereceden tasarımların bir sınıfıdır (Ferreira vd., 2007). Bir başka değişle bağımsız (tam ya da kısmi faktöriyel dizaynları içermeyen) kübik bir dizayndır. Şekil 1.19'da verilen BBD, bir kübenin merkezinde 3, köşelerinde 12 deneysel çalışma yapılmak üzere, deneylerin sonuçlarını numerik olarak optimize edip, üç boyutlu yüzey grafiklerinin incelendiği bir sistemdir.



Şekil 1.19. Box-Behnken Design geometrik görünümü

BBD'de, parametrelerin deneylerinin yapıldığı noktalar kodlanarak bilgisayar programına girilmektedir. Kodlama, parametrenin maksimum noktasının "+1", minimum noktasının "-1" ve orta noktasının "0" olacak şekilde gerçekleştirilir.

Bağımsız değişken sayısının üç olduğu bir CCD ve BBD ile yapılan optimizasyon süreci için gerekli olan deney tasarımı ve sayısı Çizelge 1.6'da verilmiştir. CCD'de (+1,682) ve (-1,682) seviyelerinin de eklenmesi, tasarımdaki deney sayısının artmasına neden olmaktadır.1

Çizelge 1.5. Deney sayısına göre CCC ve BBD karşılaştırması
(Değirmencioğlu ve Yazgı, 2006)

CCD				BBD			
Deney Sayısı	X ₁	X ₂	X ₃	Deney Sayısı	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0
1	+1	-1	-1	1	+1	-1	0
1	-1	+1	-1	1	-1	+1	0
1	+1	+1	-1	1	+1	+1	-0
1	-1	-1	+1	1	-1	0	-1
1	+1	-1	+1	1	+1	0	-1
1	-1	+1	+1	1	-1	0	+1
1	+1	+1	+1	1	+1	0	+1
1	-1,682	0	0	1	0	+1	-1
1	+1,682	0	0	1	0	-1	+1
1	0	-1,682	0	1	0	+1	+1
1	0	+1,682	0	3	0	0	0
1	0	0	-1,682				
1	0	0	+1,682				
6	0	0	0				
Toplam deney sayısı: 20				Toplam deney sayısı: 15			

Yapılan çalışmalarda BBD ile CCD verimi karşılaştırıldığında (Çizelge 1.7), BBD sonucu yapılan optimizasyonun daha verimli olduğu görülmüştür (Ferreira vd., 2007). BBD'nin hem yapılması gereken deney sayısı hem de yüksek verim değeri içermesi önemli avantajları arasında yer almaktadır.

Çizelge 1.6. BBD ve CCD verim karşılaştırması (Ferreira vd., 2007)

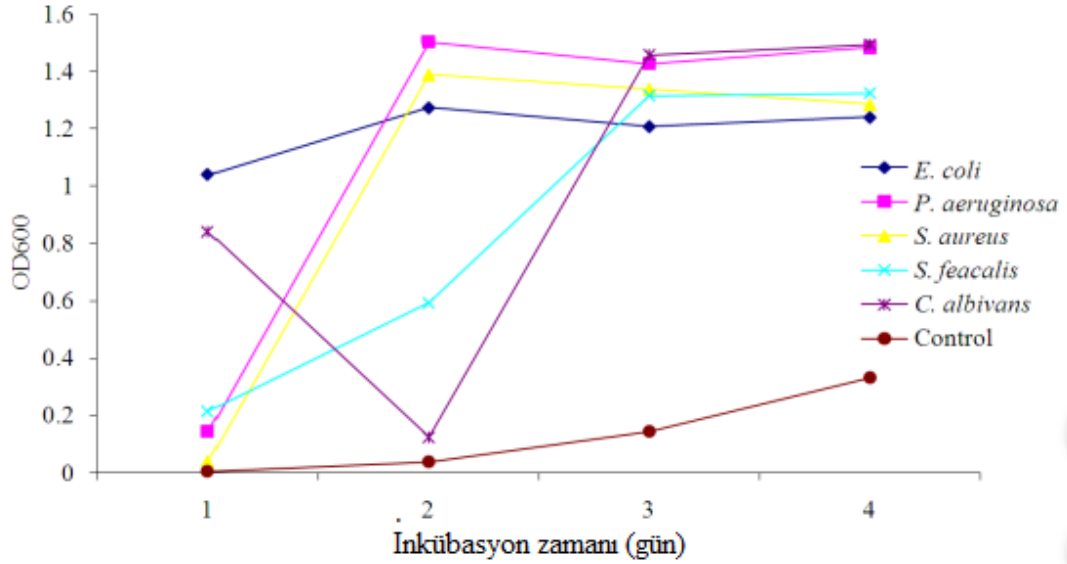
Parametre	Polinomal katsayı miktarı	Deney sayısı		Verim	
		CCD	BBD	CCD	BBD
2	6	9	-	0,67	-
3	10	15	13	0,67	0,77
4	15	25	25	0,60	0,60
5	21	43	41	0,49	0,61
6	28	77	61	0,36	0,46

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Grafen materyalinin eşsiz özelliklerinden yararlanarak, grafen bazlı materyalleri hakkında birçok alanda çalışmalar yapılmaktadır. Tez kapsamında bir açıklık getirilmesi amaçlanan grafen türevlerinin, antimikrobiyal etkisi hakkında literatürde çelişkili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları bu bölümde incelenmiştir.

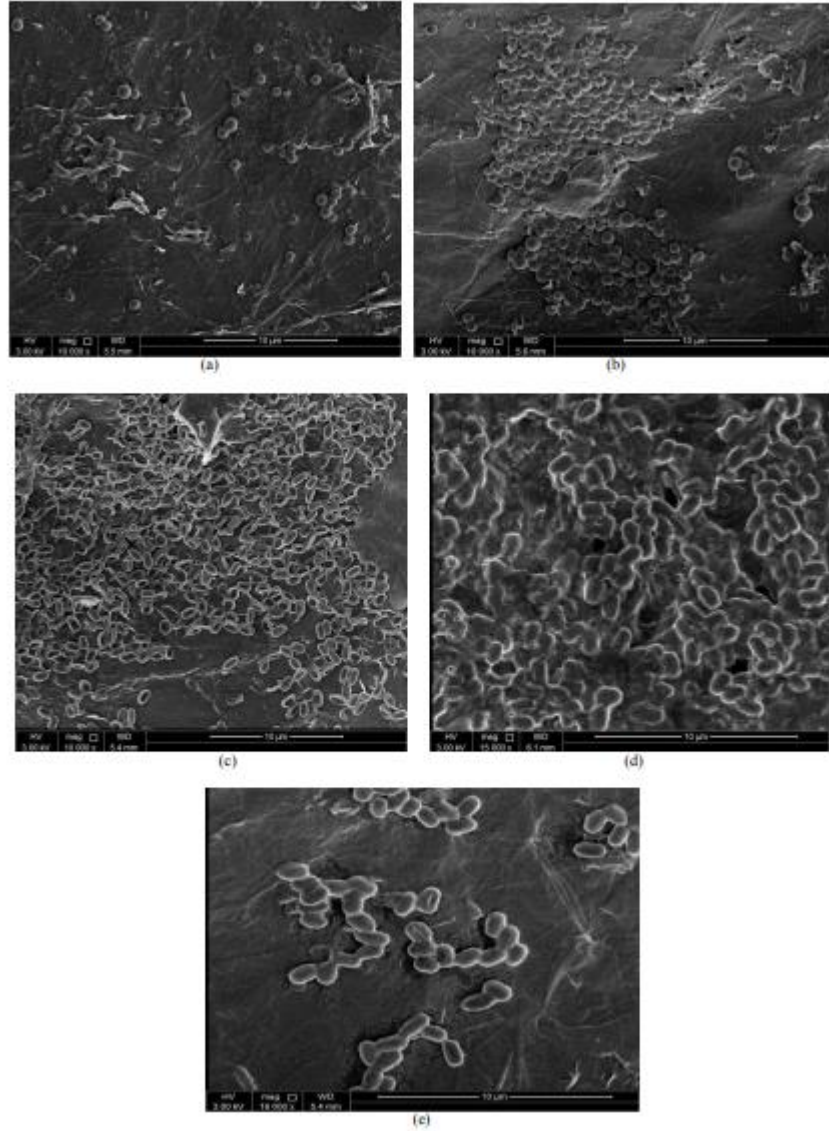
Al-Thani ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada, modifiye edilmiş grafitten Hummers Metodu kullanarak ürettikleri ve karakterize ettikleri grafen oksitinin antimikrobiyal özelliğini spektrofotometrik yöntemle görünür hücreleri tespit ederek incelemişlerdir. Çalışmada iki tane gram negatif (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakteri, iki tane gram pozitif (*Streptococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) bakteri ve bir tane mantar (*Candida albicans*) örneğinden oluşan farklı özellikteki beş mikroorganizma kullanmışlardır. Bu mikroorganizmaları Nutrient Agar içerisinde 24 saat boyunca inkübe ettikten sonra en iyi büyüme gözlenen koloniler seçilerek 10 mL hacimce %0,8'lik tuzlu su çözeltisine aktarıp bir gece boyunca beklemeye almışlardır. İlave edilen mikroorganizma hücrelerinin topaklanmasını önlemek için salin tüpü içinde emülsiyon haline getirmişler ve inokülüm standardını yaklaşık 10⁸ CFU/mL'ye eşit bir 0.5 McFarland'a ayarlamak için 10 dakika 37°C'de inkübe etmişlerdir. İzole ettikleri mikroorganizmaları, içerisinde 10 mg grafen oksit disk bulunan 10 mL Nutrient Broth besiyerine eklemişler ve 30°C sıcaklıkta, 100 rpm karıştırma hızında 24 saat boyunca inkübe etmişlerdir. İnkübasyon sonrasında her bir mikroorganizma için ayrı ayrı inkübe edilen grafen oksitli ortamların, spektrofotometrik ölçüm ile 600 nm dalga boyunda belirli aralıklarla bulanıklığını ölçmüşlerdir. Kontrol grubu olarak içerisinde sadece grafen oksit filmin bulunduğu besiyerini kullanmışlar ve mikroorganizmaların büyümesini sıvı ortamdaki bu kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. Katı ortam denemeleri için, izole ettikleri kolonileri Agar besiyerine ekledikten sonra 5 mm çapındaki grafen oksit disklerini yerleştirmişler ve dört gün inkübe etmişlerdir. Her beş farklı kültürden alınan grafen oksit disklerinin üzerindeki mikroroganizmaların büyümesini, herhangi bir kaplama materyali kullanmadan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelemişlerdir. Yaptıkları

spektrofotometrik analiz sonucu elde edilen optik yoğunlukları grafiğe geçirdiklerinde ve mikroorganizma çeşitlerini kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında ortamda mikroorganizma büyümesinin olduğunu gözlemlemişlerdir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Beş farklı mikroorganizmanın grafen oksitli ortamdaki optik yoğunluğu (Al-Thani vd., 2014)

Grafen oksit disklerinin mikroorganizmalarla inkübasyonu sonucu çekilen SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 2.2), yüzeyde yaşayan mikroorganizmaların olduğunu gözlemlemişlerdir. Şekil 2.2a ve 2.2b, Gram pozitif hücreleri göstermektedir (sırasıyla *S.aureus* ve *S. faecales*). Hayatta kalan hücrelerin çoğunun morfolojileri, yuvarlak şekilli ve pürüzsüz bir şekilde değişmeden kalmıştır. Gram negatif (*E. coli* ve *P. aerogenosa*) hücrelerin çoğunun kırışmış ve hasar görmüş olduğunu ve maruz kaldıktan sonra bütünlüğünü yitirdiğini sonucuna karar vermişlerdir (Şekil 2.2c ve 2.2d). Şekil 2.2e'de daha az etkilenen *C. albicans* hücreleri görülmektedir. GO'nun mantar hücrelerini inhibe etmede daha az etkili olmasının nedenin, muhtemelen mantarların hücre duvarı tipinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

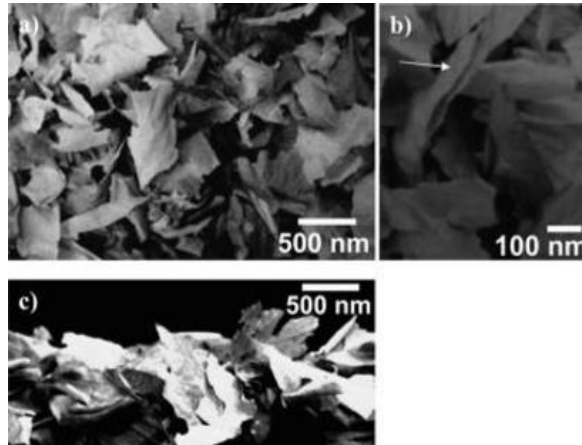


Şekil 2.2. SEM görüntüleri; a) *S. Aureus*, b) *S. Feacalis*, c) *E. coli*, d) *P. aeruginosa* ve e) *C. albicans* (Al-Thani vd., 2014)

SEM görüntülerinde yaşayan mikroorganizmaların görünmesine ve spektrofotometrik ölçümlerde mikroorganizma büyümesini gözlemlemelerine rağmen, Al-Thani ve arkadaşları yaptıkları çalışmanın sonucunda, ürettikleri grafen oksitin mükemmel bir antimikrobiyal özellik gösterdiği sonucuna varmışlardır. Grafen oksitin mikrobiyal büyümeyi inhibe ettiğini ve bununda GO'in farklı mikroorganizmalar için anti-mikrobiyal madde olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir. Bakteri deney sonuçları karşılaştırıldığında *C. albican*'da hücre ölümü daha düşük olduğunu ve bunun sebebinin bu tür hücrelerin prokaryotik bakteriyel hücrelere göre yapılarının daha karmaşık olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Her ne kadar şekil 2.2a ve 2.2b

incelendiğinde gram pozitif bakterilerin hücre şekillerinde bir değişim gözlenmemesine rağmen, üretilen grafen oksit-in nanodüvarların gram pozitif bakterilerinin üzerinde antimikrobiyal özellik açısından daha etkili olduğu sonucuna da varmışlardır.

Bir başka çalışmada Akhavan ve Ghaderi 2010 yılında elektroforetik biriktirme yöntemi (EPD) ile ürettikleri grafen ve grafen oksit-nanodüvarların bir tane gram pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve bir tane gram negatif (*Escherichia coli*) bakteriye karşı toksisitesini incelemişlerdir. Çalışmada ilk olarak kimyasal ekfoliasyon ile sentezlenen Mg²⁺-Grafen oksit tabakalarını içeren bir süspansiyondan EPD yöntemi kullanılarak, paslanmaz çelik üzerinde grafen oksit nanodüvarlar (GONWs) biriktirmişlerdir. Sentezlenen GONWs'ı hidrazin ile indirgeyerek grafen nanodüvarlar (RGNWs) üretmişlerdir. Paslanmaz çelik üzerinden EPD yöntemi ile üretilen GONW'ların taramalı elektron mikroskobu görüntüleri incelendiğinde (Şekil 2.3) tek veya çok katmanlı grafen oksit tabakalarının rasgele biriktirildiği ve yüzeylerinin keskin-dik olduğunu tespit etmişlerdir. Üretilen GONWs ve RGNWs materyallerini kullanarak, bu materyallerin bakterilere karşı ilk defa bakteriyel toksisitesini çalışmışlardır.

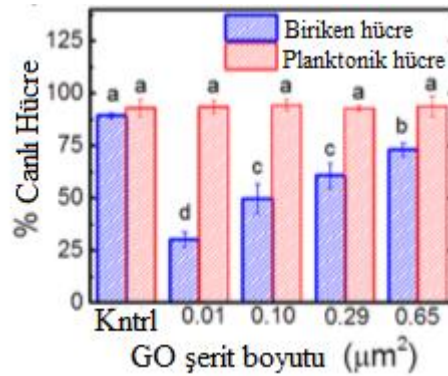


Şekil 2.3. SEM görüntüleri; (A) paslanmaz çelik substratta EPD tarafından biriktirilmiş olan GONW, (b) neredeyse dikey nano-düvarların görüntüsü ve (c) nano-düvarların enine kesit görünüşü

E. coli ve *S. aureus* bakterilerinin hücre zarının, bakteri nanodüvarların çok keskin kenarlarıyla doğrudan temasıyla zarar gördüğünü ve nanodüvarlar tarafından

bakterilerin hücre bütünlüğünün bozulduğunu görmüşlerdir. *S. aureus* bakterisinin gördüğü zararın *E.coli'* ye göre daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır. Bu dik yüzeylerin bakteriler için son derece keskin yüzeyler oluşturduğunu belirtmişlerdir. Hidrazin ile üretilmiş GONW'ların indirgenmemiş GONW'lara göre daha fazla antibakteriyal aktivite sergilediği sonucuna varmışlardır.

Perreault ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları, grafen oksit nano-şeritlerin antimikrobiyal özelliğinin incelendiği çalışmada grafen oksit levha büyüklüğünün toksisite üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Kullandıkları grafen oksit nanoşeriteri Hummers metodu ile üretmişlerdir. Tabaka boyutunun antimikrobiyal özelliğini inceleyebilmek için rob sonikasyonunu kullanarak farklı tabaka alanlarının bulunduğu GO süspansiyonlarını üretmişlerdir. Gram negatif *E. coli* bakterisi ile yürütülen çalışmadan GO kaplı yüzeylerle üç saatlik temastan sonra hücre canlılığını canlı/ölü floresan boyama kullanılarak belirlemişlerdir. GO yüzeyine temas etmeyen bakteri hücreleri için hücre canlılığında bir değişiklik gözlenmezken, tüm GO yüzeylerine bağlı hücrelerin canlılığının azaldığını tespit etmişlerdir (Şekil 2.4). Bu sonuçlar, GO için önerilen antimikrobiyal mekanizmalara uygun olarak, bakteriyel inaktivasyon için bakteri hücreleri ve GO arasında doğrudan temas ihtiyacının olduğunu bulunmuşlardır.



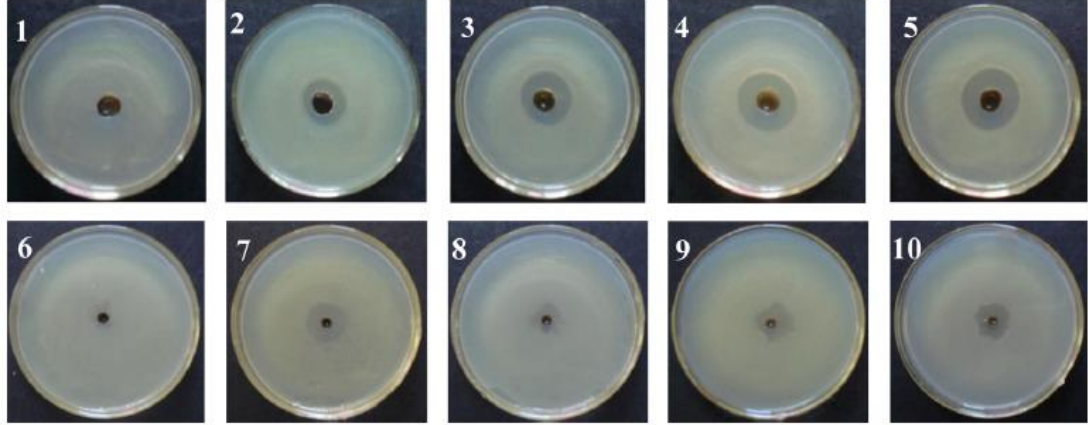
Şekil 2.4. Grafen oksit şerit boyutuna bağlı hücre canlılığı

GO levha büyüklüğünün antimikrobiyal aktiviteye etkisi olduğu tespit edilmiş, Toplu tabakalar için daha yüksek antimikrobiyal aktivite olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak GO'nun antimikrobiyal aktivitesinin artan levha alanı ile birlikte arttığı sonucuna varmışlardır.

Das ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir diğer çalışmada, bir grafen oksit (GO) süspansiyonunda gümüş nitratın kimyasal indirgenmesi ile sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonunu gerçekleştirmişler ve antimikrobiyal özelliğini incelemişlerdir. 10 mL homojen grafen oksiti istenilen miktarda sulu gümüş nitrat ile karıştırarak NaBH_4 varlığında gümüş nanopartikülleri üretmişlerdir. Üretilen gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu işleminde ilk olarak, gümüş nanoparçacıklarını 10 kat seyreltmişler ve UV-görünür spektrofotometre ile 200-800 nm dalga boyu aralığında tarama yapmışlardır. Daha sonra X-ışını kırınımı ve elektron mikroskobu ile görüntü alarak materyalin karakterizasyonunu yaptıklarında, kullanılan grafen oksit tabakalarının üzerinde 5-25 nm büyüklüğündeki gümüş nanopartiküllerinin yığıldığını tespit etmişlerdir. Karakterizasyonun sonucu olarak gümüş nanoparçacıklarının büyüklüğü ve şeklinin gümüş nitrat çözeltisinin derişimine bağlı olduğunu belirlemişlerdir. Üretilen bu materyalin antimikrobiyal aktivitesi, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gram negatif bakterileriyle incelenmiştir. Bakteriyel büyüme kinetiğini, farklı koşullarda Ag nanoparçacık-GO süspansiyonunun eklendiği besiyerinde izlemişlerdir. Bakterileri deneye hazır hale getirmek için Nutrient Broth içerisinde 200rpm karıştırma hızında 30°C sıcaklıkta 24 saat boyunca büyütmüşlerdir. Büyüyen mikroorganizmanın katı besiyerinde bulunduğu ortama farklı gümüş nitrat konsantrasyonlarından ürettikleri 60 µL gümüş nanopartikül çözeltisi eklemişler ve 24 saatlik inkübasyon sonucunda inhibisyon bölgesini incelemişlerdir (Şekil 2.5).

Farklı gümüş nitrat konsantrasyonlarının farklı kodlarla gösterildiği çalışmada, AgNP1 kodlu numunede 1.10^{-3} mol.dm⁻³ gümüş nitrat, AgNP2 denemesinde 2.10^{-3} mol.dm⁻³ gümüş nitrat, AgNP3 numunesinde 4.10^{-3} mol.dm⁻³ gümüş nitrat ve AgNP4 kodlu denemede ise 8.10^{-3} mol.dm⁻³ gümüş nitrat kullanmışlar ve 7-26 mm arasında inhibisyon bölgeleri oluştuğunu görmüşlerdir (Şekil 2.5). Çalışma sonucunda *P. aeruginosa* bakterisinin gümüş nanopartiküllere nispeten daha hassas olduğu ve ortamda inhibisyon bölgesi büyüklüğünün büyükten küçüğe sırasıyla AgNP4'ün 26±1.53 mm (Şekil 2.5(4)), AgNP3'ün 23±1 mm (Şekil 2.5(3)), AgNP2'nin 19±1.53 mm (Şekil 2.5(2)) ve AgNP1' in 16±1.15 mm (Şekil

2.5(1)) olduğunu gözlemlemişlerdir. *E. coli* bakterisi ile yapılan deney sonuçlarında ise, büyüme inhibisyonunun sergilendiğini tespit etmiş ve bu bölgeleri, kontrol grubuyla (Şekil 2.5(6)) karşılaştırdıklarında, AgNP4'te 18 ± 0.58 mm (Şekil 2.5(10)), AgNP3'te 13 ± 1 mm (Şekil 2.5(9)), AgNP2'de 10 ± 1.53 mm (Şekil 2.5(8)) ve AgNP1'de 7 ± 1 mm, (Şekil 2.5(7)) boyutunda olduğu sonucuna varmışlardır.

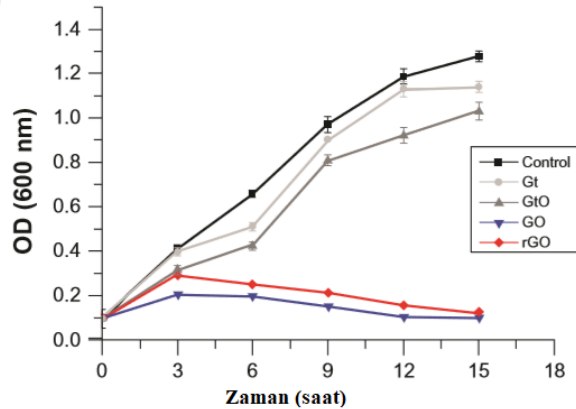


Şekil 2.5. Farklı bakteri içeren Ag nanoparçacık konsantrasyonları tarafından üretilen inhibisyon bölgesi: 1, kontrol (GO); 2-5, *P. aeruginosa* ile üretilen inhibisyon bölgeleri (sırasıyla besinsel agarının süspansiyonunun AgNP1, AgNP2, AgNP3 ve AgNP4), 6; kontrol (GO); 7-10, AgNP1 tarafından *E. coli* ile üretilen inhibisyon zonu, sırasıyla AgNP2, AgNP3 ve AgNP4 derişimlerinde nanoparçacıkların bulunduğu besiyerinde.

Ekip; çalışmanın sonucunda, sentezlenen gümüş nanopartiküllerin çalışılan bakterilere karşı iyi bir antimikrobiyal aktivite sergilediğini ve bu antimikrobiyal aktivitenin gümüş nanopartiküllerin boyutuna ve şekline bağlı olduğunu bulmuşlardır.

Bir başka çalışmada Gurunathan ve arkadaşları 2012 yılında grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksitin ($75 \mu\text{g}/\text{mL}$) *P. aeruginosa* bakterisine karşı antimikrobiyal özelliğini incelemişlerdir. Hummers metoduyla grafit oksitten grafen oksit ürettikten sonra, 10 mM betamerkaptoetanol (BME)'ü 20 mL GO sulu süspansiyonda ($0.1 \text{ mg}/\text{mL}$) çözürüp 2 saat boyunca 60°C 'de karıştırarak grafen oksiti indirgemişlerdir. Çalışmada kullanılan mikroorganizmayı aerobik ortam koşullarında Luria-Bertani (LB) besiyerinde 37°C sıcaklıkta büyütmişlerdir. *P.*

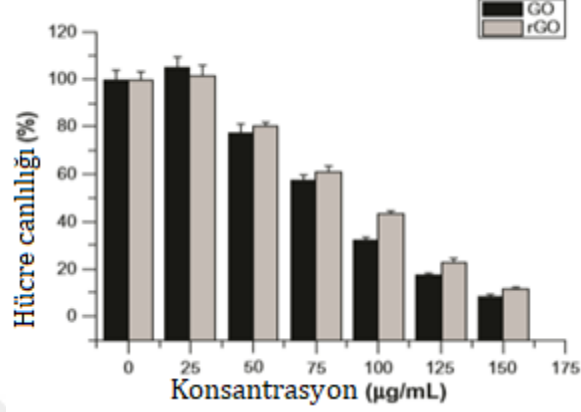
aeruginosa'nın büyüme eğrisini, grafit (Gt), grafit oksit (GtO), grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit (75 µg/mL) olan ve olmayan LB ortamında aerobik koşullar altında 15 saat boyunca incelemişler ve sonuç olarak, bakterinin kontrol suşlarıyla aynı büyüme eğilimini gösterdiği sonucuna varmışlardır. Büyümenin erken döneminde, Gt ve GtO bulunduğu ortamda *P. aeruginosa* benzer bir eğilim sergilemiştir; ancak bu eğilimin geç üstel fazda düşmeye başladığı sonucuna varmışlardır. Spektrofotometrik ölçümler sonucunda 6 saatlik süre boyunca sabit bir şekilde azalma gösterdiğinden, GO ve rGO'nun bakteriyel büyümeyi olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir (Şekil 2.6). GO ve rGO'ya 15 saatlik maruziyetten sonra büyümenin %92 oranında azaldığı sonucuna varmışlardır. Şekil 5.3'de gösterildiği gibi, Gt ve GtO'de, kontrol grubunda olduğu gibi bakteriyel büyüme görülse de ve *P. aeruginosa*'nın büyümesinin GO ve rGO ile yapılan deneyler sonucunda azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, araştırmacılar GO'nun antibakteriyel aktivite oranının rGO'dan daha yüksek olduğu ve Gt/GtO'nun GO ve rGO'ya kıyasla daha düşük antibakteriyel aktivite gösterdiği sonucuna varmıştır.



Şekil 2.6. Çalışma ortamlarında *P.aeruginosa* büyüme eğrisi

Çalışmanın ikinci aşamasında antibakteriyel aktivitelerin grafen bazlı materyallerin konsantrasyona bağlılığını inceleyen ekip, farklı konsantrasyonlarda (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 ve 200 µg / mL) GO veya rGO süspansiyonlarını, 37°C'de 2 saat boyunca *P. aeruginosa* hücreleri ile inkübe etmiştir. Şekil 2.7'de gösterildiği gibi, *P. aeruginosa* canlılığının kaybı, GO veya rGO konsantrasyonunun artmasıyla giderek arttığını göstermişlerdir. Hücreler GO ve rGO'ya maruz kaldığında, sırasıyla 75 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında

önemli canlılık kaybına uğramışlar ve bununla birlikte, 150 µg/mL GO ve rGO ile inkübasyondan sonra bakteri canlılığında maksimum kayıp olduğu sonucuna varmışlardır. Her iki grafen malzemesinde, 175 µg/mL konsantrasyonlarda hiç koloni gözlemlenmemiştir.



Şekil 2.7. Grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit ortamında *P. aeruginosa* canlılığının kaybı

Çalışma bulguları sonucunda grafen bazlı malzemelerin antibakteriyel aktivitelerinin konsantrasyona ve malzemeye bağlı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde, Liu ve arkadaşları (2011) *E. coli* hücrelerinin çoğunun GO veya rGO dispersiyonlarına maruz kaldıktan sonra hücresel bütünlüğünü yitirdiğini ve grafen bazlı materyallerle doğrudan temastan sonra bakteri hücrelerinde geri dönüşü olmayan bir hasar oluşmuş olabileceğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzemeler

Tez kapsamında altı farklı grafen oksit derişiminin (5-40-50-100-200-400 µg GO/mL), indirgenmiş grafen oksitin ve %100 pamuklu kumaşa emdirilmiş grafen oksitin, beş farklı özellikteki mikroorganizmalara (*Clostridium difficile* ATCC 9689, *Candida krusei* ATCC 14243, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* Nissle 1917 ATCC 25922, *Lactobacillus acidophilus*) karşı antimikrobiyal özelliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Kullanılan grafen türevleri (Grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit, grafen tabakaları ve grafen oksit emdirilmiş pamuklu kumaş) Süleyman Demirel Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde öğretim üyesi olan Doç. Dr. Kerim YAPICI tarafından üretilmiş ve temin edilmiştir (Çakmak vd., 2017).

Deneysel süreçte antimikrobiyal özelliğın incelendiğı ortamları oluşturan *Clostridium difficile* ATCC 9689 ve *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) mikroorganizması Teknik Medikal Tic. ve San. LTD. ŞTİ., *Candida krusei* ATCC 14243 (*C. krusei*) ve *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*) mikroorganizmaları Nanogen Medikal tarafından temin edilmiştir. Tezde kullanılan diğeri mikroorganizma çeşidi olan *Lactobacillus acidophilus* Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde öğretim üyesi olan Doç. Dr. Hakan KULEŞAN tarafından temin edilmiştir.

Mikroorganizma büyümesi için gerekli olan besiyerleri bileşenleri analitik saflıkta Süleyman Demirel Üniversitesi Kimya Mühendisliği Laboratuvarından kullanılmıştır.

3.2. Mikroorganizmaların hazırlanması

Mikroorganizma büyümesi için uygun koşullar, her mikroorganizma için aşağıda belirtilen özel besiyerleri kullanılarak sağlandı. Hazırlanan besiyerleri 120°C sıcaklıkta 15 dakika boyunca otoklavdıktan (Hirayama HV-50) sonra ekim için uygun sıcaklığa gelinceye kadar inkübatörde (İldam) bekletildi. %70'lik etanol ile sterilize edilmiş ESCO Laminar Flow Cabinet içerisinde mikroorganizma ekim işlemi yapıldıktan sonra, mikroorganizmaların büyüme sıcaklığına ayarlanan inkübatörde canlandırma işlemi gerçekleştirildi. Her saat başı 600 nm dalga boyunda alınan spektrofotometrik (UV-vis Carry60) ölçümler sonrası elde edilen büyüme eğrilerinden (S-eğrisi) yararlanarak, her bir mikroorganizma için optimum büyüme zamanı Denklem 3.1 kullanılarak hesaplandı ve antimikrobiyal özellik inceleme deneyleri, bulunan bu optimum zamanlara kadar büyütülmüş mikroorganizmalar kullanarak başlatıldı.

$$\text{Optimum Zaman} = \frac{G+D}{2} \quad (3.1)$$

Denklemden bulunan G; mikroorganizmaların log fazının başlangıcını (büyümeye başladığı zamanı) (dk), D; lag fazının başlangıcını (mikroorganizmaların ölmeye başladığı zamanı) (dk) ifade etmektedir.

3.2.1. *Escherichia coli* Nissle 1917

Oksijenli ortamda büyüyen, gram negatif, patojenik olmayan ve mezofilik özellik gösteren bakteri çeşidi olan *Escherichia coli* Nissle 1917 büyümesi için, Tryptic Soy Broth (TSB) kullanılmıştır. Bir litre TSB bileşiminde analitik saflıkta 17g pepton, 3g soya fasulyesiyle üretilen pepton, 2,5g D-glikoz, 5g sodyum klorür (NaCl), 2,5g dipotasyum fosfat (K₂HPO₄), tartılarak bir litre saf suyun içerisinde tamamen çözündürülmüştür. Hazırlanan besiyeri ihtiyaca göre deney şişelerine bölünüp otoklavlandıktan sonra 37°C'ye kadar soğutulmuştur. Liyofilize temin edilen mikroorganizma 200 mL' lik besiyerine, laminar kabin içerisinde steril bir şekilde eklenmiştir, 37°C sıcaklıkta bulunan inkübatörde büyüme bırakılmıştır. Besiyerinde gözle yapılan analiz sonucunda yeterli bulanıklık tespit edildiğinde

deney şişesinden 1000 µL mikroorganizma alınmış, içerisinde 200 mL steril besiyeri bulunan başka bir deney şişesine eklenmiş ve aynı bulanıklık seviyesine ulaşmaya kadar mikroorganizma büyümesi izlenmiştir. Anlatılan yöntemle büyümesi sağlanan mikroorganizmanın aktivasyonu üç kere tekrarlandıktan sonra aktif hale gelen mikroorganizma ile katı-sıvı-kumaş ortam denemeleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. *Escherichia coli*

Gram negatif, patojenik özellikte, mezofilik ve oksijenli ortamda büyüyen *Escherichia coli* bakterisi için uygun koşullar Nutrient Broth (NB) besiyeri kullanılarak sağlanmıştır. Bir litre NB hazırlamak için 5g pepton, 3g meat ekstrakt ve 5g D-glikoz tartılmış ve saf suyun içerisinde çözdürülmüştür. Otoklav işleminden sonra inkübatöre kaldırılan besiyerlerinin sıcaklığının 37°C'ye düşmesi sağlandıktan sonra laminar kabin içinde 200 mL steril NB besiyerine, liyofilize mikroorganizma eklenmiş ve inkübatörde bekletilmiştir. Yeterli bulanıklık oluştuğundan sonra ortamdaki 1000 µL mikroorganizma alınarak ikinci aktifleştirme yapıldı, mikroorganizmanın tamamen canlanması ve ileride yapılacak deneyler için hazır hale getirilmiştir.

3.2.3. *Candida krusei*

Patojenik, gram pozitif, mezofilik ve aerobik özellik gösteren liyofilize mantar *Candida krusei*'nin aktifleştirme ortamı için 20g D-glikoz, 10g yeast ekstrakt, 20g pepton bileşiminden oluşan ve Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) adıyla bilinen ortam kullanılmıştır. Otoklav sürecinden sonra 37°C'de 200 mL steril YEPD içerisinde canlandırılan mikroorganizma, ikinci ve üçüncü çoğaltmadan sonra deneylere hazır bir hale getirilmiştir.

3.2.4. *Clostridium difficile*

Clostridium difficile patojenik, gram pozitif ve anaerobik solunum yapan bir bakteridir. Bu bakterinin aktivasyonunda besiyeri 5g yeast ekstrakt, hacimce

%10'luk sistein, 5g D-glikoz kombinasyonundan oluşmuştur. Besiyeri deney şişelerine bölündükten sonra otoklavlanıp inkübatörde soğutulduktan sonra 200 mL besiyerine laminar kabin içerisinde ekilen mikroorganizmanın aktivasyonu yapılmıştır. Aktive edilen *Clostridium difficile* tez çalışmasının ana deneyleri için hazır hale getirilmiştir.

3.2.5. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus bakterisi gram pozitif, mezofilik özelliğe sahip, aerobik solunum yapan, patojenik olmayan bir bakteri çeşididir. Liyofilize bir halde temin edilen mikroorganizmayı tamamen canlandırmak için MRS besiyeri kullanılmıştır. Kullanılan besiyerinin bir litrelik bileşiminde 5g D-glikoz, 2g dipotasyum fosfat (K_2HPO_4), 10g pepton, 8g meat ekstrakt, 4g yeast ekstrakt, 1ml Tween-80, 0,097g magnezyum sülfat ($MgSO_4$), 0,03573g mangan sülfat ($MnSO_4$), 2g diamonyum hidrojen sitrat ($C_6H_8O_7 \cdot 2NH_3$) ve 8,25g sodyum asetat trihidrat ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) bulunmaktadır. Aktivasyonu sağlanan mikroorganizma, tez çalışmasının ileriki deneyleri için hazır hale getirilmiştir.

3.3. Sıvı Ortam Deneyleri

Tez kapsamında kullanılan aktif hale getirilmiş mikroorganizmalarla, 6 farklı derişimdeki grafen oksit çözeltileri, pamuklu kumaş ve indirgenmiş grafen oksit ile yapılan deneylerin tamamı 200 mL'lik hacme sahip sıvı besiyeri ortamında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan besiyerleri sterilize edildikten sonra mikroorganizmaların büyümesi için gereken ortam koşulları (oksijen ihtiyacı ve sıcaklık) oluşturulmuştur. Daha önce hesaplanan optimum zamanı kullanılarak, mikroorganizmanın en verimli ve genç döneminde ekimi sağlanmıştır. laminar kabin içerisinde ayrı ayrı deney şişelerine, grafen oksit çözeltilerinden 2'şer mL ve indirgenmiş grafen oksitten de 1'er g eklenmiştir. Her bir deney şişesine 1000 µL mikroorganizma eklenerek inkübatörde uygun sıcaklıkta büyümeye bırakılmıştır. Her saat başı spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda ölçümler alınarak, bu absorbans miktarları belirlenmiştir.

3.4. Katı Ortam DeneYleri

Katı ortam deneYleri iki aşamada yapılmıştır. İlk aşamada 1 cm²'lik alana sahip grafen oksit emdirilmiş kumaş (115 g GO/m²) kullanarak 200 mL besiyerinde büyütölen mikroorganizmalar, uygun ortam koşullarında kumaş üzerinde büyümeye bırakılmıştır. Mikroorganizmaları canlandırma sürecinde hesaplanan optimum zaman sonunda kumaş örneklerinin üzerinde mikroorganizma büyümesi koloni sayma cihazı ile belirlenmiştir.

İkinci aşamada, grafen tabaka yüzeylerinin kullanıldığı deneYler için sadece *Lactobacillus acidophilus* bakterisi tercih edildi. Sıvı ortamda büyümesi sağlanan bakteri sıvı besiyeriyle birlikte, katı grafen, tabakalar yüzeyini örtecek şekilde eklenerek Laminar kabin içerisinde optimum büyüme zamanı sonuna kadar bekletilmiştir. Süre sonunda katı yüzeyler koloni sayma cihazı ile analiz edilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir.

3.5. Optimizasyon DeneYleri

Mikroorganizma büyümesinin üzerinde, grafen tabanlı materyallerinin etkisinin araştırılması için yapılan optimizasyonda Box-Behnken dizayn kullanılmıştır. Box-Behnken Dizaynı için kullanılan parametreler ve bu parametrelerin maksimum, minimum ve orta değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Box-Behnken Dizayn parametreleri

Parametre	Kodlanmış değer	-1	0	+1
MO çeşidi	x ₁	<i>E.coli Nissle 1917</i>	<i>L.acidophilus</i> (+) <i>L. rhamnosus</i>	<i>L.acidophilus</i> (+) <i>L.rhamnosus</i> (+) <i>E.coli Nissle</i> <i>1917</i>
GO derişimi (µg/mL)	x ₂	0	200	400
Kumaş boyutu (cm ²)	x ₃	0	1	2

Optimizasyonda mikroorganizma çeşidi olarak seçilen X₁ değişkeni, en düşük noktada ortamda sadece bir tane bakteriyi, en yüksek noktada ise ortamda kompleks bakteri kültürünün bulunduğunu temsil etmektedir. Optimizasyon aşamasında kullanılan her mikroorganizma mezofilik özellik gösterdiği için, tüm deneyler 37°C sıcaklıkta yapılmıştır. Her bir mikroorganizmanın önceden hesaplanan optimum büyüme zamanı incelendi ve ortalamaları alınarak optimizasyon işlemi boyunca (7 saat) süre sabit tutuldu.

Ortamda sadece *E.coli Nissle 1917* bakterisinin bulunduğu deneylerde, ilk olarak 200 mL TSB besiyerinin içerisinde mikroorganizma büyütülmüş daha sonra Box-Behnken dizaynının verdiği deney noktalarında gerçekleştirilecek deneyler için 100'er mL steril besiyerinin içerisine 500 µL mikroorganizma ekilerek deneyler başlatılmıştır. Ortamda *L.acidophilus* ve *L. rhamnosus* mikroorganizmalarının bulunduğu deneylerde, mikroorganizmalar 200 mL MRS Broth içerisinde büyütülmüştür. *L.acidophilus* oksijenli solunum yaparken *L. rhamnosus* bakterisi oksijensiz ortamda gelişim göstermektedir. İki bakteri arasındaki bu solunum farkı göz önünde bulundurularak, büyümenin gerçekleştirildiği deney şişesinin ağzı pamuk yardımıyla hafifçe kapatılmıştır. Bu işlem sayesinde ortama *L.acidophilus* bakterisinin yaşayacağı kadar oksijen girişi ve *L. rhamnosus* bakterisinin ise deney şişesinin alt kısımlarına doğru büyümesi sağlanmıştır. Büyütme işlemi yapıldıktan sonra 100'er mL steril MRS besiyerlerine 500 µL mikroorganizma eklenerek Box-Behnken deney dizaynında verilen 15 adet deney setinde analizler başlatılmıştır.

Bakteri kompleksinin bulunduğu deneylerde hazırlanan besiyerlerinin, hem *E.coli Nissle 1917* hem *L.acidophilus* hem de *L. rhamnosus* büyümesi için gerekli olan spesifik malzemeleri içermesine özen gösterilmiştir. Bir litre modifiye edilmiş kompleks besiyeri için, 17g pepton, 3g soya fasulyesinden elde edilen pepton, 5g D-glikoz, 5g sodyum klorür, 2,5g dipotasyum fosfat, 8g meat ekstrakt, 4g yeast ekstrakt, 1 mL Tween-80, 2g diamonyum hidrojen sitrat, 8,25g sodyum asetat tridihidrat, 0,097g magnezyum sülfat, 0,035g mangan sülfat tartılarak saf su ile karıştırıldı. Hazırlanan besiyeri otoklavlanarak 100 mL'lik deney şişelerine

bölündü ve üzerine 250 µL *E.coli Nissle 1917* ve 250 µL *L.acidophilus- L. rhamnosus* karışımından eklenip deneyler başlatılmıştır.

Hesaplanan optimum süre sonrası (8 saat), her deney şişesinden alınan örnekler 600 nm daga boyunda spektrofotometreyle ölçülmüştür. Ölçüm sonrası absorbans değerlerine, Design Expert ver.10 programı kullanarak Box-Behnken dizaynı uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlarla yüzey grafikleri ve kontur eğrileri çizilmiş ve bulunan modelin uygunluğu kontrol edilmiş ve numerik analizler gerçekleştirilmiştir.

3.6. Toplam mikroorganizma sayısı tayini

Sıvı içerisindeki mikroorganizma gelişimleri spektrofotometrik ölçümlerle aynı süreçlerde birer mililitre örnek alınıp, petri kabı içerisindeki katı besiyerine ekilerek *Candida krusei* için 26°C'de diğer mikroorganizmalar için 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda petri kabı eşit dört parçaya bölünmüş, bölünen parçalardan birinde 1 mm² alan içerisinde kalan mikroorganizma kolonileri koloni sayma cihazında sayılarak sonuç dört ile çarpılmış ve böylece tüm petri kabındaki mikroorganizma sayısına geçiş yapılmıştır. Bulunan mikroorganizma sayısı ile absorbans değerleri ilişkilendirilmiştir. Bu değerler CFU (Colony-forming unit) ile ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

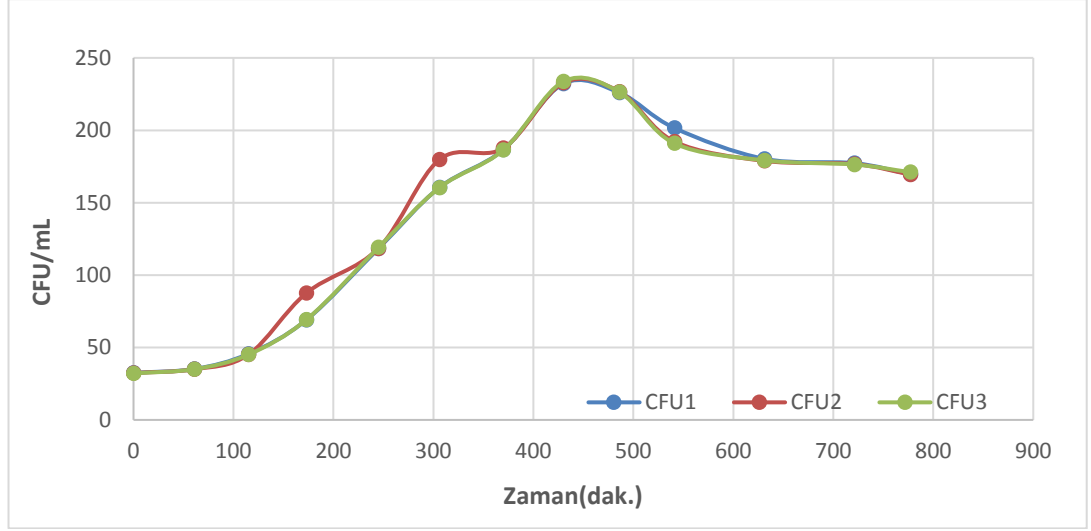
4.1. Sıvı ortam deney sonuçları

Tez kapsamında kullanılan mikroorganizmaların her birine ait temel bileşenleri içeren steril sıvı besiyerleri hazırlanmış, bu ortamlara ekilen mikroorganizmaların gelişim süreçleri 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analizlenmiştir.

4.1.1. *Escherichia coli Nissle 1917*

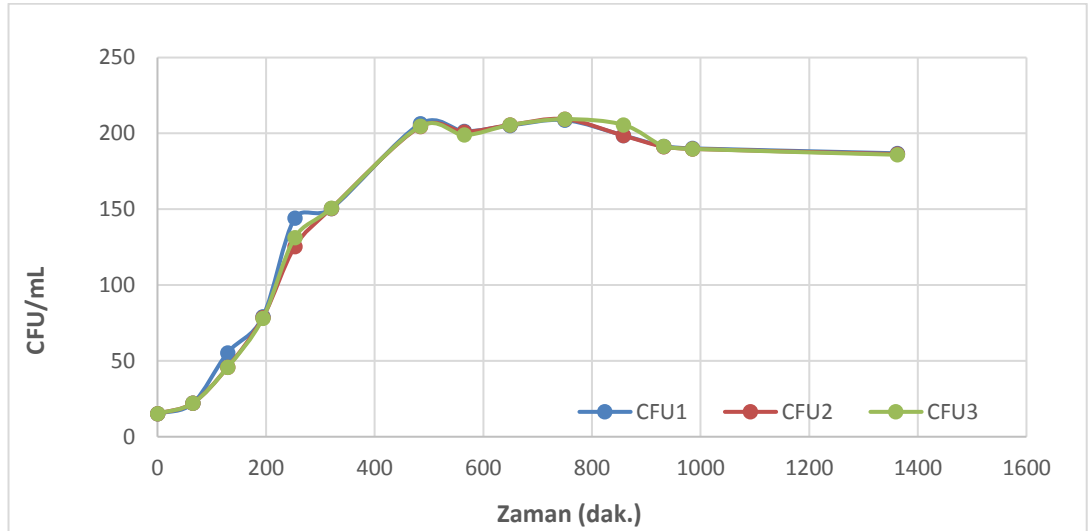
Canlandırılmış mikroorganizma Tryptic Soy sıvı besiyeri içerisine mikropipet yardımı ile 500 µL eklenerek gerçekleştirilen deneyde, her saat başı 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler yapıp, CFU/mL değerleri elde edilmiştir. Bu değerler zamana karşı grafiğe geçirilerek ise Şekil 4.1'deki eğri elde edilmiştir. Liyofilize mikroorganizmanın aniden girdiği sıvı ortama alışma süreci olarak ifade edilen lag fazı, *Escherichia coli Nissle 1917* bakterisinde yaklaşık 115 dakika, ortama alışıp 2ⁿ şekilde büyümeye başladığı evresi olan log fazı ise yaklaşık 315 dakika sürmüştür. Mikroorganizmanın ortamdaki besin ve ortam hacminin yetersiz hale gelmesi sebebiyle ölmeye başladığı ölüm evresi ise yaklaşık 236 dakika sürmüştür.

Grafen oksit derişim deneylerinde kullanmak üzere aktif mikroorganizma elde etmek için log ve lag fazlarının bitiş zamanlarına göre optimum süre 157 dakika olarak hesaplanmıştır. Logaritmik artış fazının ortası olan bu süre; mikroorganizmanın büyümesinin maksimum olduğu noktaya varmak için besiyerinde minimum bekletilmesi gereken süreyi ifade etmektedir.



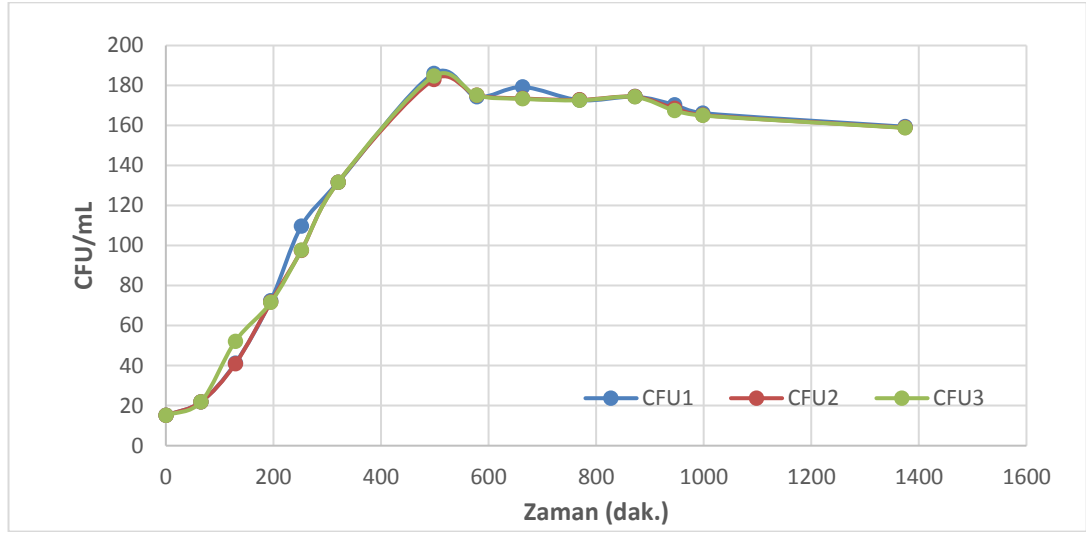
Şekil 4.1. E.coli Nissle 1917 büyüme eğrisi

Tez çalışmasında kullanılan her bir grafen oksit derişimi için, laminar kabinde 200 mL'lik Tryptic Soy sıvı besiyerine 2 mL GO ve 500 µL mikroorganizma eklenip, 37°C sıcaklıktaki inkübatörde bekletilmiştir. 5 µg GO/mL eklenen mikroorganizmanın ortama alışma süresi 65 dakika olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2). Logaritmik artış fazının 484. dakikada bittiği ve 484. dakikada maksimum 204.70 CFU/mL değerine ulaştığı tespit edilmiştir.



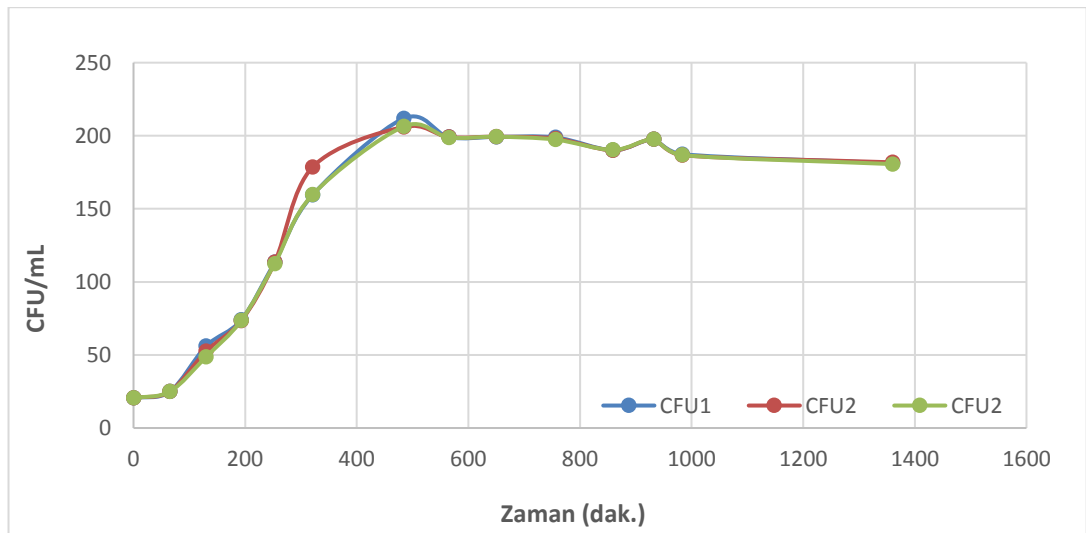
Şekil 4.2. 5 µg/ mL GO içeren ortamda E.coli Nissle 1917 büyümesi

İçeriğinde 40 µg GO/mL bulunan deney sonuçlarında yine 65 dakikalık lag fazı sonrasında başlayan log fazı 433 dakika sürmüştür (Şekil 4.3) 498 dakika sonunda gözlenen maksimum mikroorganizma sayısı ise 184,64 CFU/mL' dir.

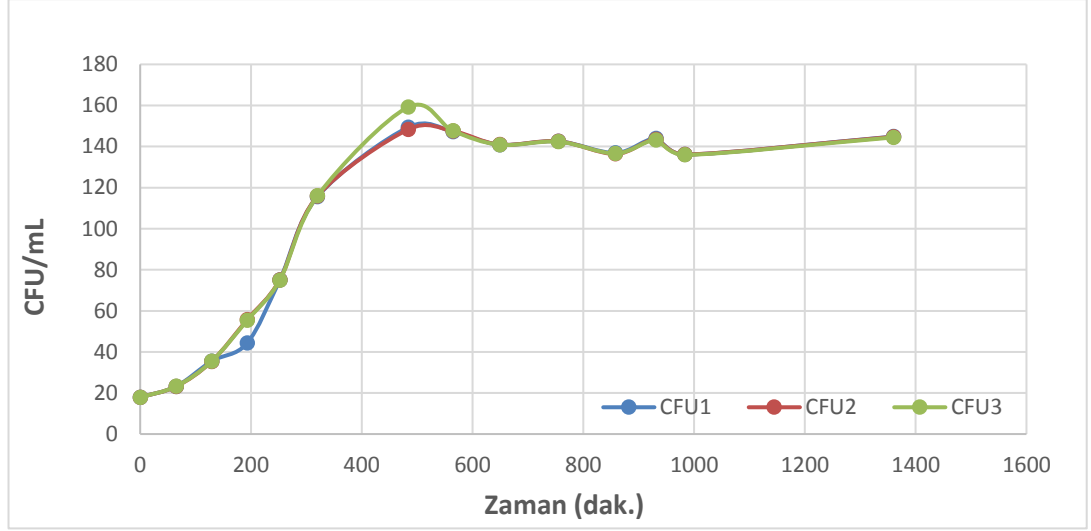


Şekil 4.3. 40 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi

Ortamda 50 ve 100 µg GO/mL grafen oksit derişimlerinin bulunduğu mikroorganizma büyümeleri incelendiğinde, her iki ortamda da maksimum CFU/mL değerlerinin 484. dakikada, sırasıyla 206,29 ve 147,92 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Ayrıca, her iki derişimin bulunduğu ortamda da mikroorganizmanın lag (65 dak.) ve log (419 dak.) fazlarının eşit olduğu tespit edilmiştir.

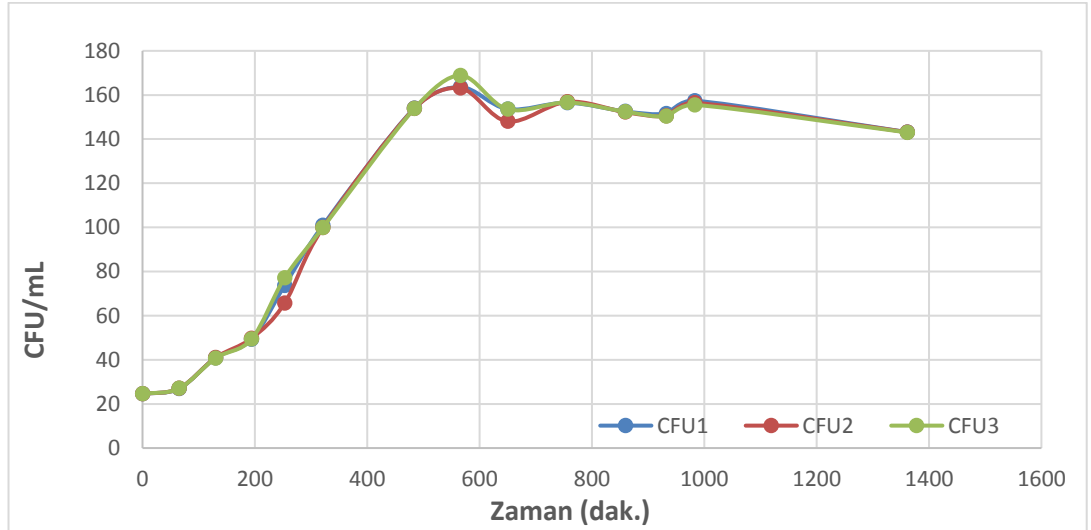


Şekil 4.4. 50 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi

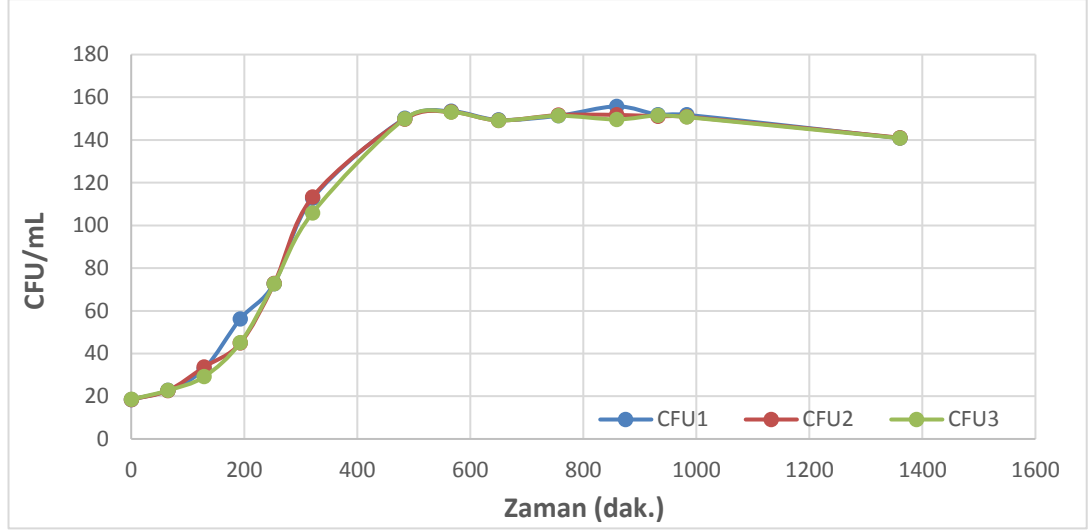


Şekil 4.5. 100 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi

200 µg GO/mL bulunan ortamda, en yüksek CFU/mL değerinin 163,21 olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.6). Buna karşılık 400 µg GO/mL bulunan ortamda, mikroorganizmanın en yüksek CFU/mL değerinin 153,07 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7). İki grafen oksit derişiminin bulunduğu ortamda da mikroorganizmanın log fazının 65-556. dakikalar arasında gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

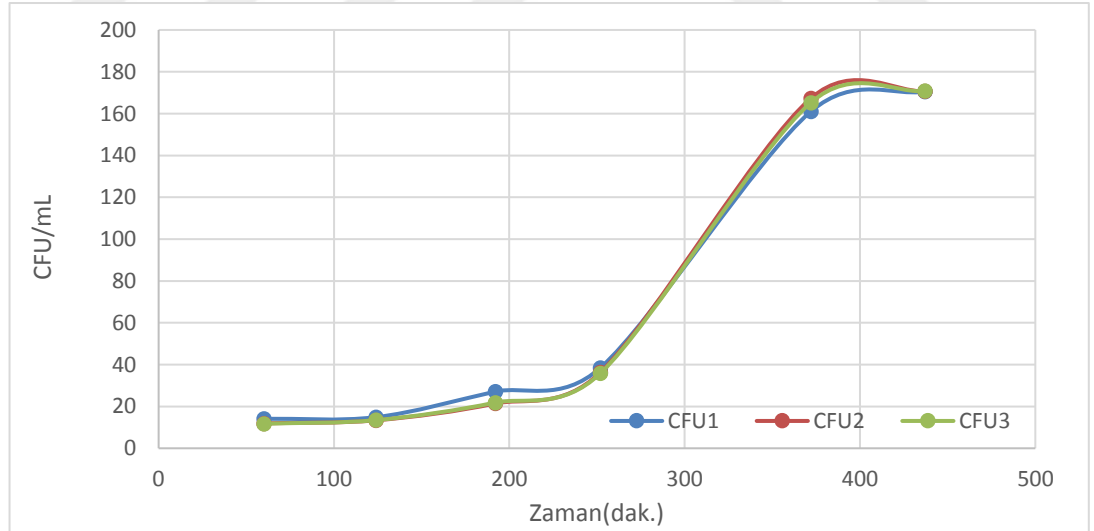


Şekil 4.6. 200 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi



Şekil 4.7. 400 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi

İndirgenmiş grafen oksitin bulunduğu ortamda ise 192 dakikalık lag fazının ardından 245 dakikalık log fazını yaşayan mikroorganizmanın en yüksek CFU/mL değerinin 170,28 olduğu görülmüş ve bu değere ulaşmak için 437 dakika süre geçirmesi gerektiği tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

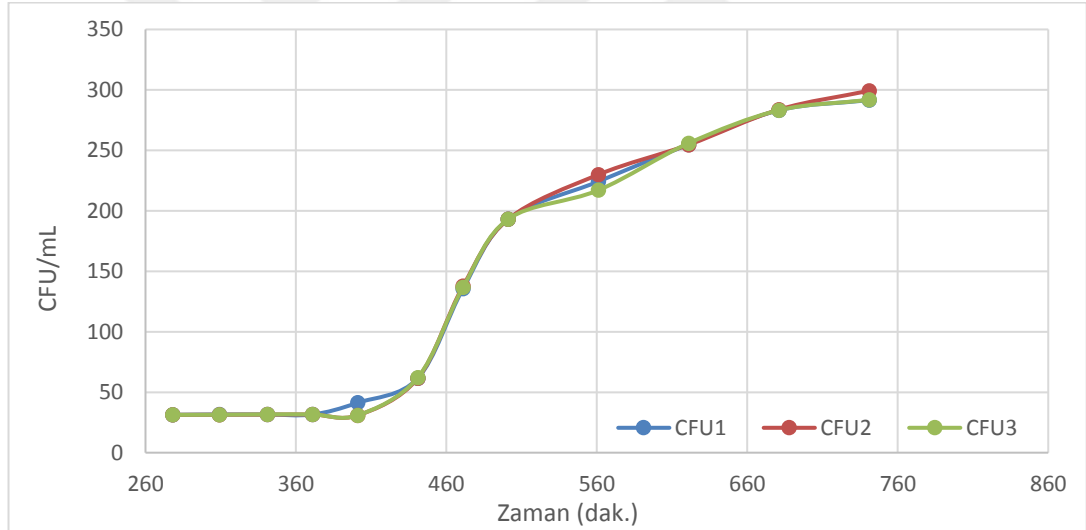


Şekil 4.8. r-GO içeren ortamda *E.coli Nissle 1917* büyümesi

4.1.2. *Escherichia coli*

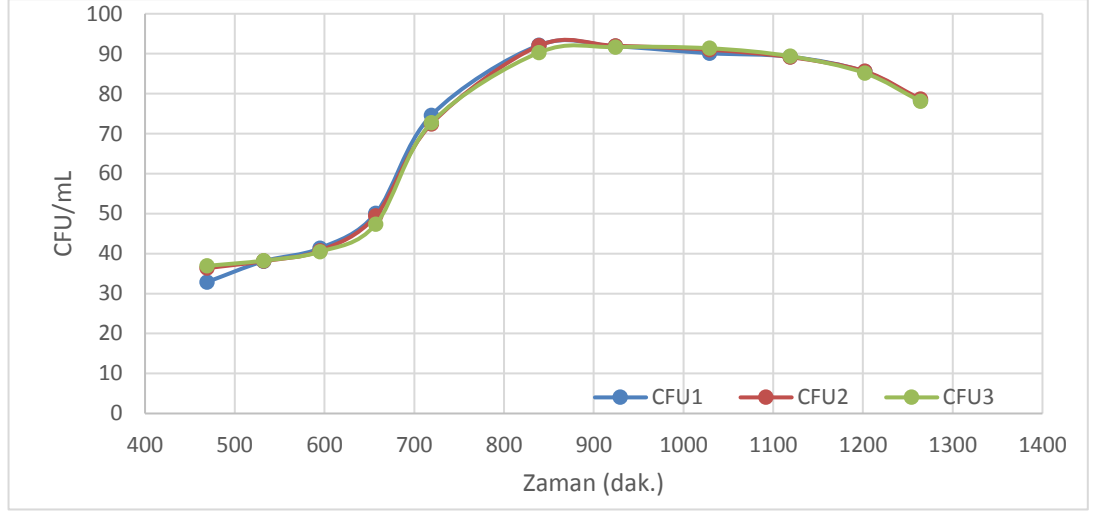
Escherichia coli mikroorganizması kullanılarak yapılan deneylerde bakterinin aktifleştirilmesi için gerekli ortam koşulları Nutrient Broth besiyeri kullanılarak sağlanmıştır. Bütün grafen örneklerinden 2 mL kullanılarak yapılan deneylerde her saat başı 600 nm dalga boyunda ölçümler alınarak, CFU/mL birimine çevirilerek sonuçlar grafiğe geçirilmiştir.

Mikroorganizma büyüme eğrisi incelendiğinde (Şekil 4.9) *E.coli* bakterisinin ortama alışma süresi 401 dakika, logaritmik büyüme evresi ise 170 dakika sürmüştür. En yüksek CFU/mL değeri araştırıldığında, bakterinin 741.dakikada 291,79 CFU/mL değerine ulaştığı görülmüştür. Büyüme eğrisinden elde edilen ve derişim deneylerinde mikroorganizmanın hazır hale getirilmesi için kullanılan optimum süre 170 dakika olarak hesaplanmıştır.



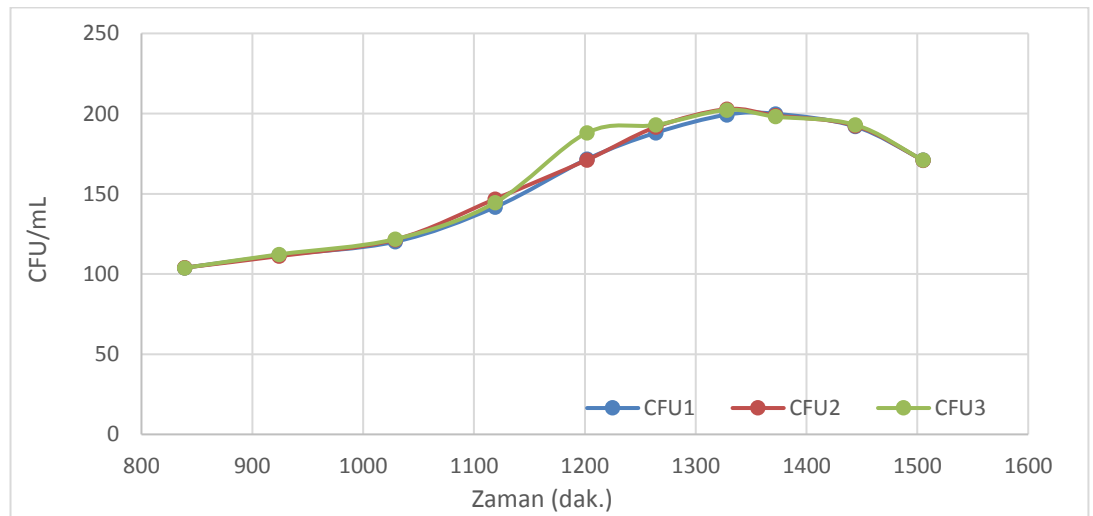
Şekil 4.9. *Escherichia coli* büyüme eğrisi

5 µg GO/mL derişim denemelerinde, lag fazı 595 dakikayla kontrol grubu (büyüme eğrisi) sonuçlarına göre daha uzun sürmüştür. Maksimum CFU/mL olan 91,67 değerine, mikroorganizma 924. dakikada ulaşmış olup bu süreye gelene kadar log fazında 329 dakika geçirmiştir.

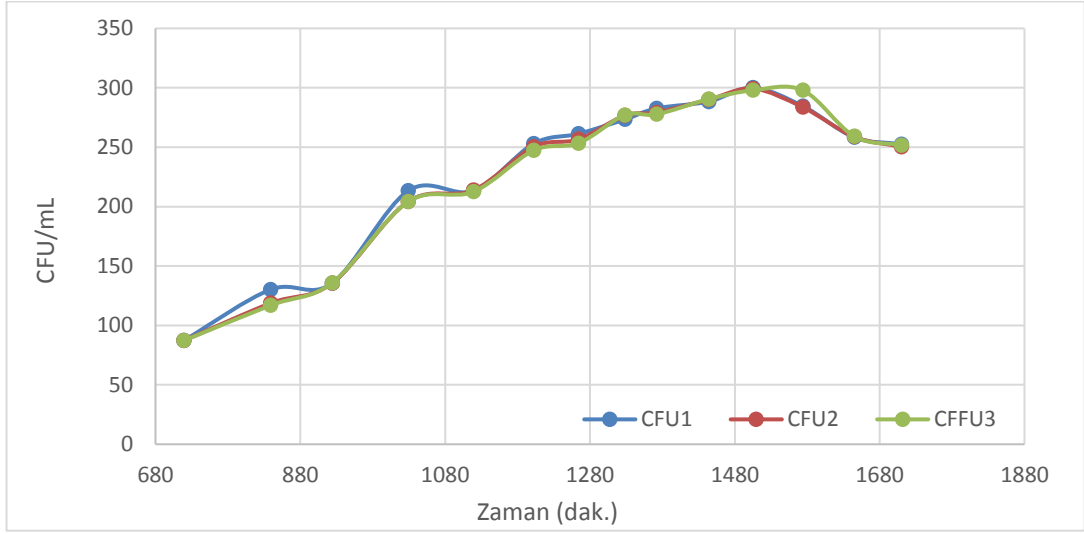


Şekil 4.10. 5 µg/ mL GO içeren ortamda *E.coli* büyümesi

E.coli bakterisinin 40 ve 50 µg GO/mL derişimlerinde grafen oksit içeren ortamlardaki büyüme eğrileri incelendiğinde (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12), bu iki derişimde mikroorganizmanın lag fazlarının sırasıyla 1029 ve 719 dakika sürdüğü tespit edilmiştir. 50 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda mikroorganizma gelişmesini gösteren log fazının (786 dakika), 40 µg GO/mL derişimin bulunduğu ortamdaki mikroorganizma gelişiminin yaklaşık 2,63 katı olduğu bulunmuştur. 50 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda en yüksek CFU/mL olan 297,85'e ulaşmak için mikroorganizma 1505 dakika büyümüştür, 40 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda ise bu değerler sırasıyla 198,13 CFU/mL ve 1372 dakika olarak belirlenmiştir.

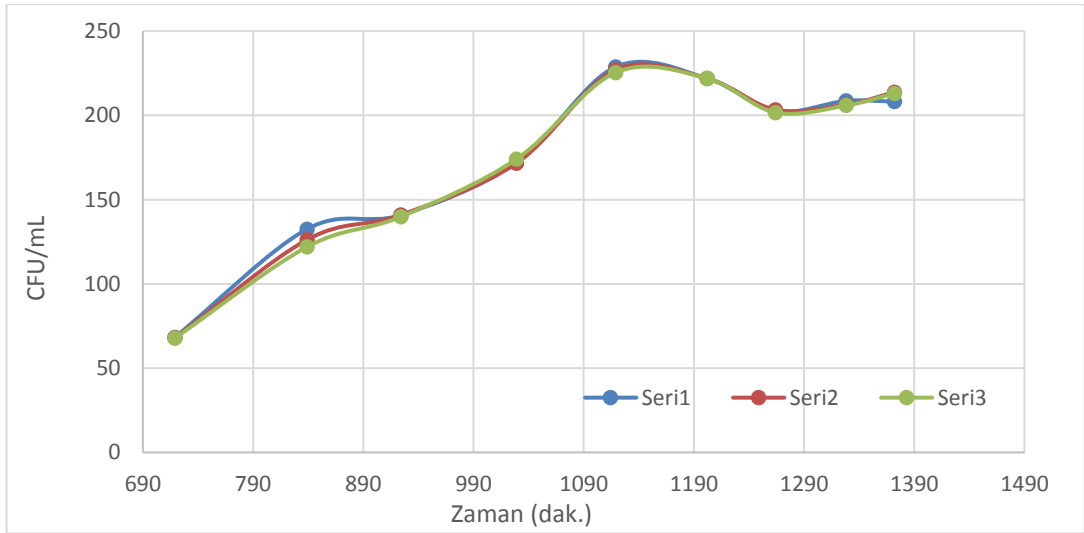


Şekil 4.11. 40 µg/ mL GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi



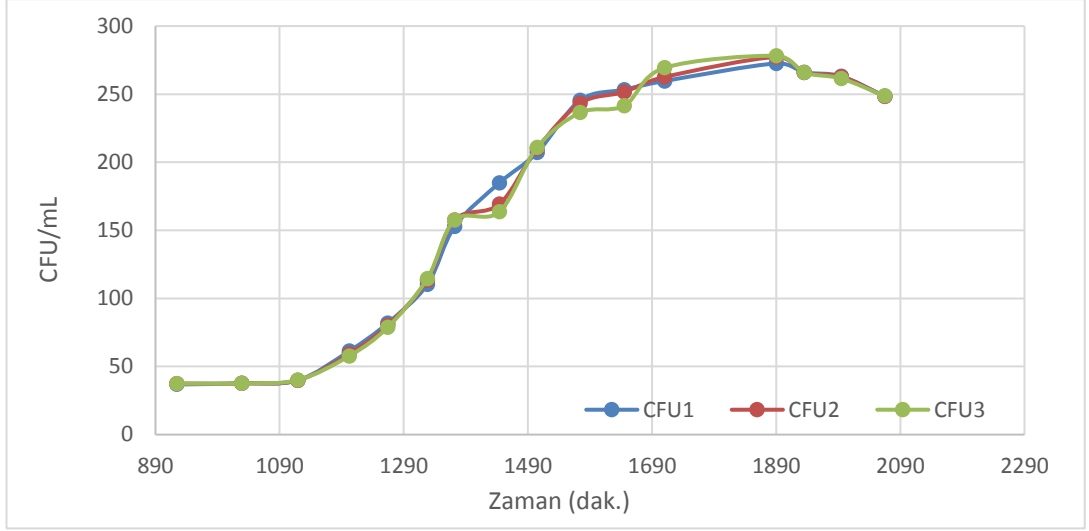
Şekil 4.12. 50 µg/ mL GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi

100 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda (Şekil 4.13), mikroorganizmanın lag fazı 719 dakika, log fazı 400 dakika sürmüştür. Mikroorganizmanın 1119 dakika boyunca besiyerinde büyümesi sonucunda en yüksek CFU değeri olan 255,42 CFU/mL elde edilmiştir.



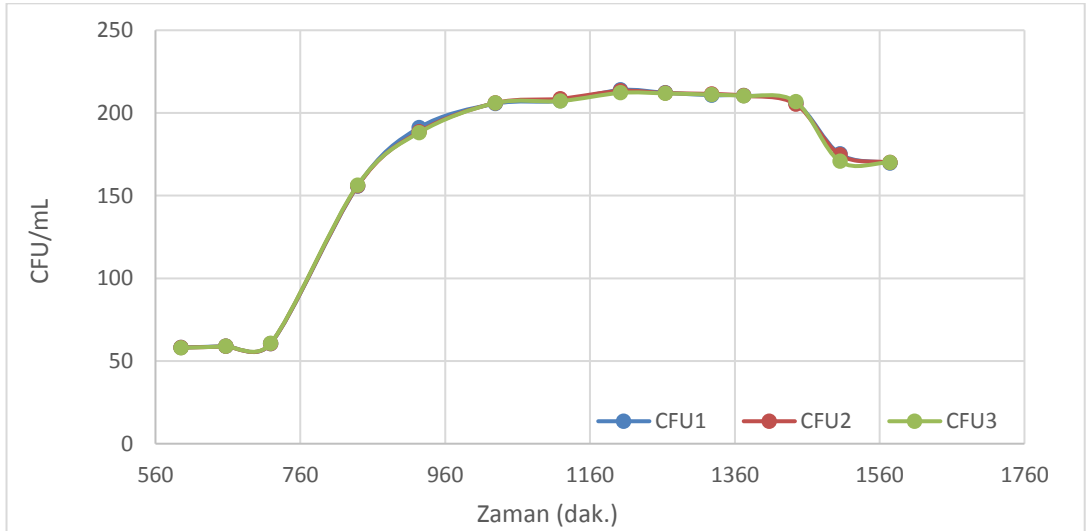
Şekil 4.13. 100 µg/ mL GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi

200 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda (Şekil 4.14) mikroorganizma 1119 dakikada ortama alışmış ve büyüme evresi 771 dakika sürmüştür. 278,14 CFU/mL değerine (en yüksek) ise 1890. dakikada ulaşmıştır.

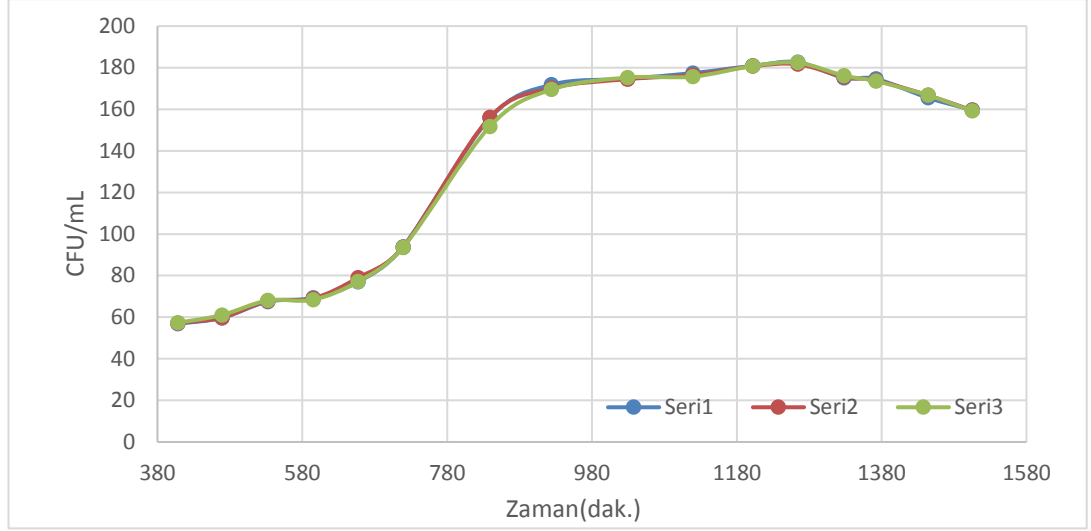


Şekil 4.14. 200 µg/ mL GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi

400 µg GO/mL (Şekil 4.15) ve indirgenmiş grafen oksit (Şekil 4.16) bulunan ortamlarda mikroorganizmaların lag fazları sırasıyla 719 ve 469 dakika sürmüştür. İndirgenmiş grafen oksitin en yüksek CFU/mL değerine (182,38 CFU/mL) ulaşması için geçen süre 1264 dakika olup, 400 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda 1444 dakika sonucunda 206,86 CFU/mL değerine ulaşılmıştır.



Şekil 4.15. 400 µg/ mL GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi



Şekil 4.16. r- GO içeren ortamda *Escherichia coli* büyümesi

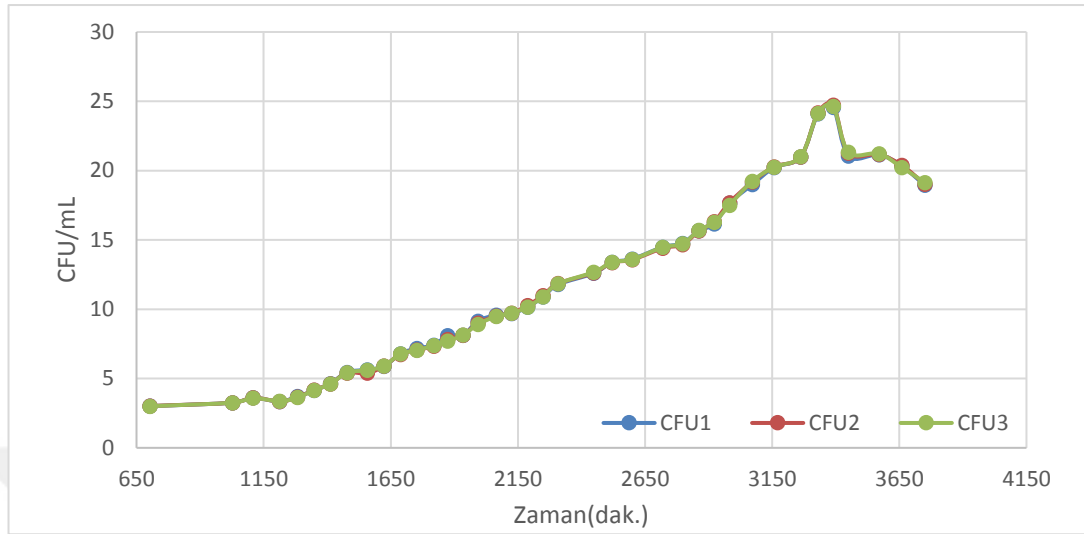
4.1.3. *Candida krusei*

Candida krusei için gelişme ortamı Yeast extract peptone dextrose (YEPD) besiyeri kullanılarak sağlanmıştır. Derişim deneylerinin başlatılması için laminar kabin içerisinde, 5-40-50-100-200-400 µg/mL grafen oksit çözeltilerinden 2 mL alınarak besiyerlerine eklenmiştir. İndirgenmiş grafen oksit (r-GO) denemeleri için, temin edilen r-GO katısından 1 gram alınarak, önceden sterilizasyonu sağlanan 200 mL' lik besiyerine eklenmiştir.

Grafen oksit materyallerinin eklendiği besiyerlerine, mikroorganizmanın aktifleştirildiği ortamdan 500 µL mikroorganizma eklenerek deneyler gerçekleştirilmiştir. Belirli aralıklarla 600 nm dalga boyunda yapılan analizler sonucu elde edilen absorbans değerleri kaydedilmiştir. Daha önceden paralel bir şekilde ilerletilen katı besiyeri yardımıyla elde edilen bu değerler CFU/mL birimine çevirilip, grafikler çizilmiştir.

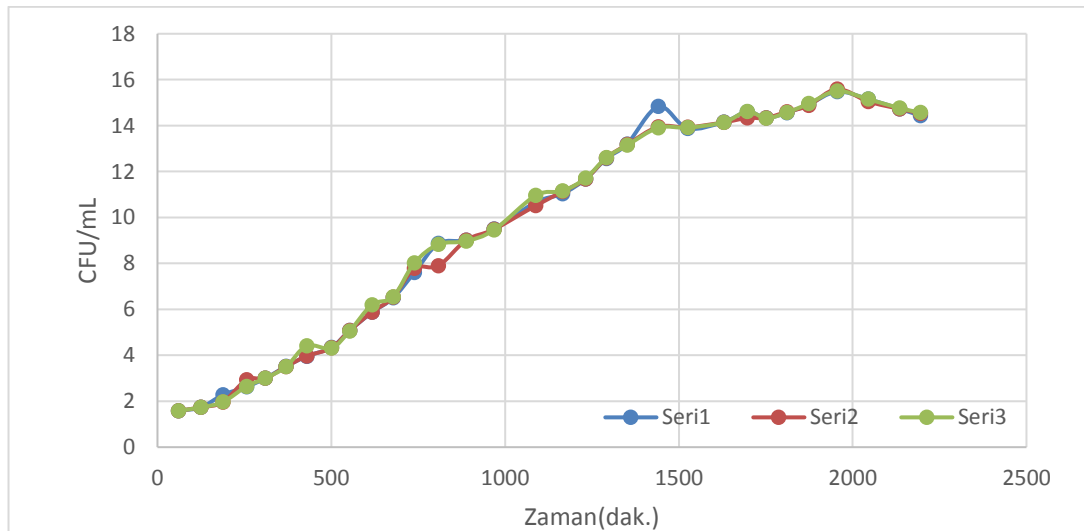
Candida krusei mantarının kontrol grubu olarak kullanılan büyüme eğrisi (Şekil 4.17) incelendiğinde, mantar türünün ortama alışma sürecinin 1213 dakika olduğu bulunmuştur. 24,62 CFU/mL mikroorganizma miktarına 3390. dakikada erişen mantarın logaritmik artış (Log fazı) fazı da 2177 dakika sürmüştür. Büyüme eğrisine göre mikroorganizmanın durağan faza geçmeden ölüm evresine geçtiği gözlemlenmiştir. Bunun nedeni, analiz yapılan bir saatlik süre içerisinde

mikroorganizmanın durağan fazı atlatması ve bu sebeple ani geçişin grafiğe yansımamasıdır.

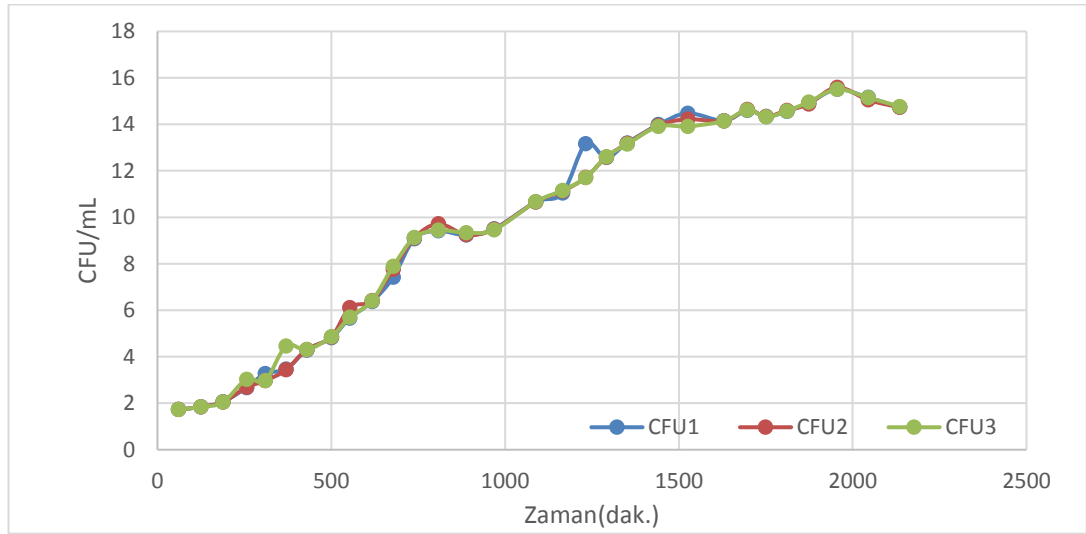


Şekil 4.17. *Candida krusei* büyüme eğrisi

5 ve 40 μg GO/mL derişimlerine sahip ortamlarda (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19), mikroorganizma gelişiminin lag fazı her iki derişimde de aynı ve 188 dakikadır. Sırasıyla 15,50 ve 15,05 CFU/mL olan maksimum CFU/mL değerlerine, her ikisi de 1955. dakikada ulaşmış ve her ikisinin de log fazları 1767 dakika sürmüştür.

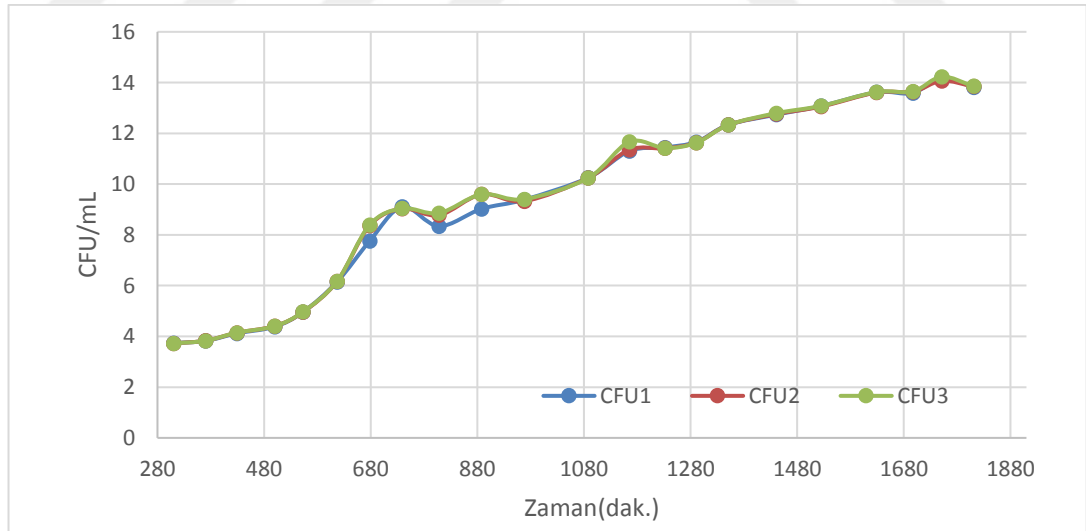


Şekil 4.18. 5 μg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi



Şekil 4.19. 40 µg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi

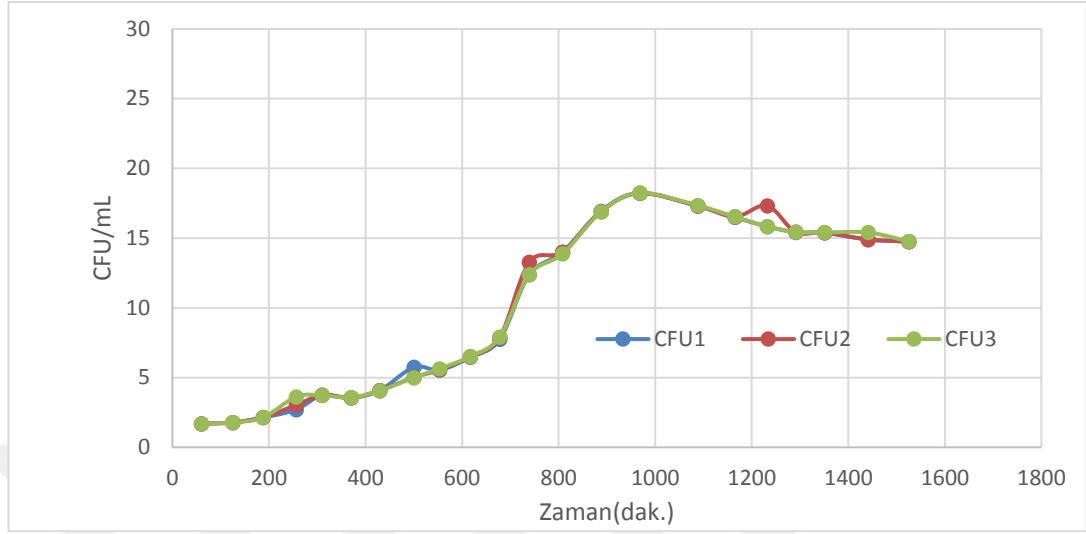
Candida krusei mantarı 50 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda (Şekil. 20) 1751. dakikada en yüksek 14,229 CFU/mL değerine ulaşmıştır. 429 dakika boyunca lag fazını devam ettiren mikroorganizmanın logaritmik büyüme evresi 1322 dakika sürmüştür.



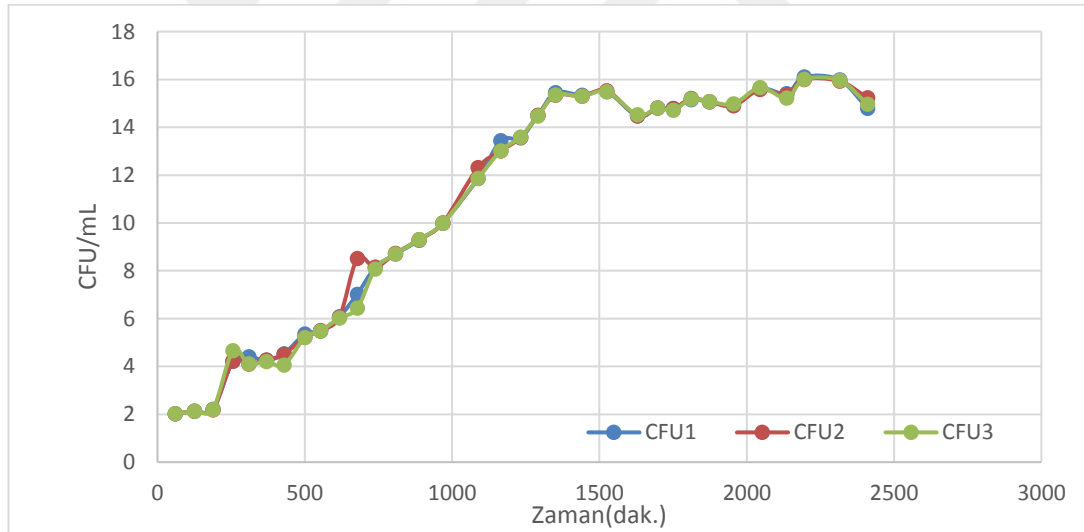
Şekil 4.20. 50 µg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi

100 (Şekil 4.21) ve 200 µg GO/mL (Şekil 4.22) derişime sahip ortamlarda mikroorganizmanın lag fazları 188 dakika sürmüştür. 100 µg GO/mL içerisinde en yüksek CFU/ mL değerine (18,24 CFU/mL) erişmesi için geçen süre 968

dakika olup, 200 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda 1351 dakika sonucunda 15,35 CFU/mL değerine ulaşmıştır.

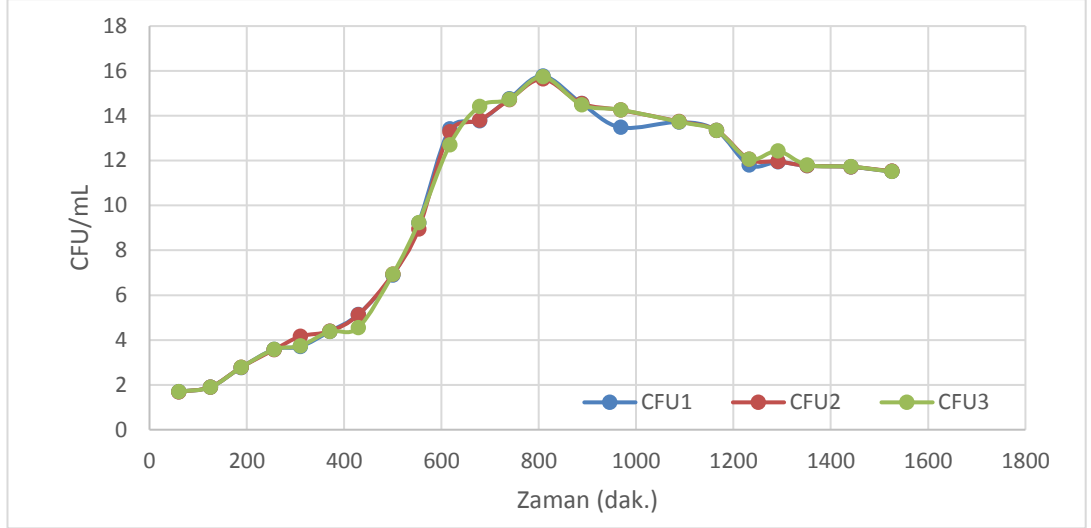


Şekil 4.21. 100 µg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi



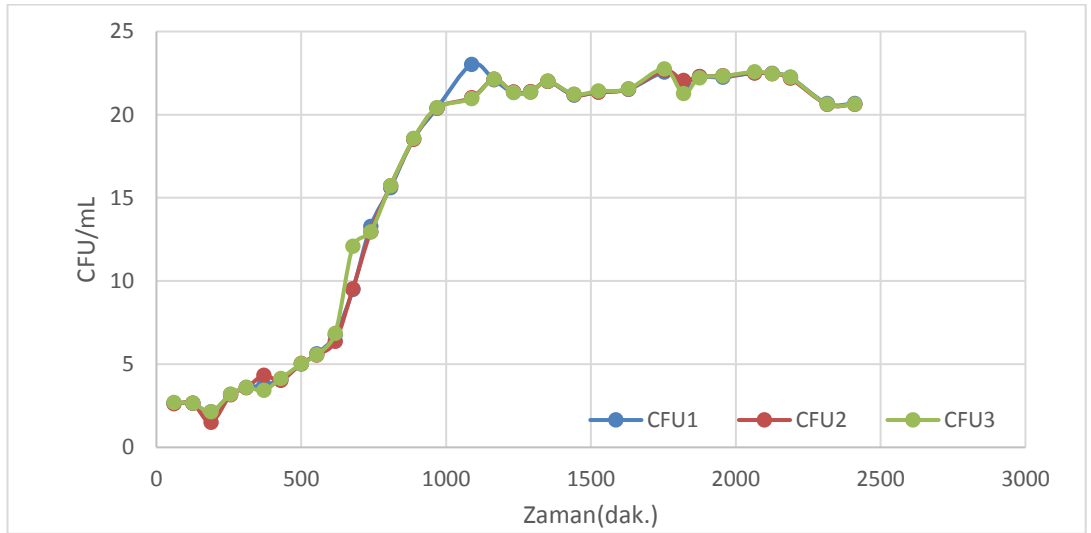
Şekil 4.22. 200 µg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi

400 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda, 808 dakika sonucunda 15,74 CFU/mL değerinin gözleendiği mikroorganizmanın ortama alışması süresinin 125 dakika ve logaritmik büyüme evresinin ise 683 dakika olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. 400 µg GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi

Şekil 4.24'te verilen indirgenmiş grafen oksit in bulunduğu ortamdaki mantarın ortama alışması 429 dakika sürmüştür. Log fazında 736 dakika zaman geçiren mikroorganizma en yüksek 22,12 CFU/mL ddeğerine 1165 dakikada erişmiştir. Deneyin geri kalan kısmında mikroorganizmanın ölüm fazına geçmediği ve durağan fazda kaldığı görülmüştür.

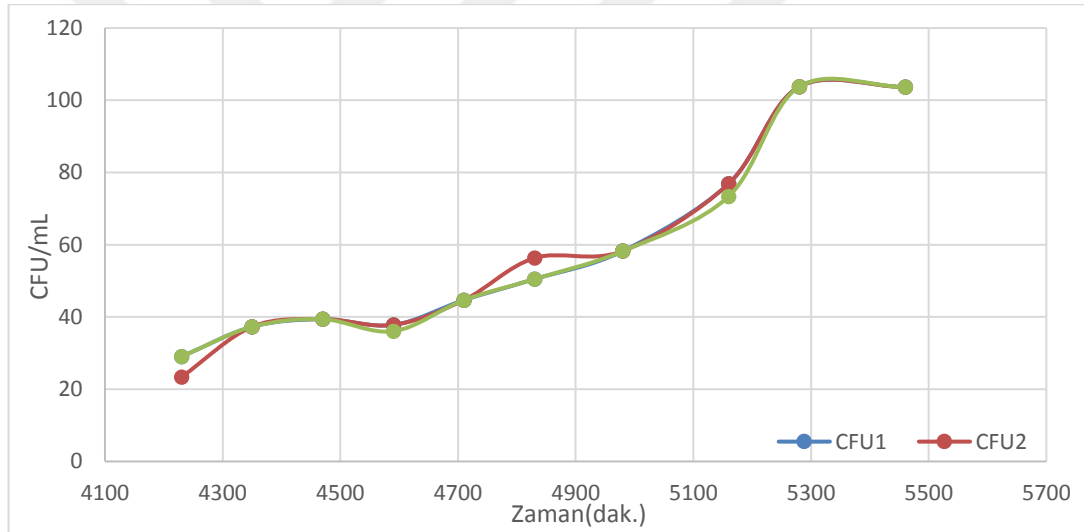


Şekil 4.24. r-GO/mL içeren ortamda *Candida krusei* büyümesi

4.1.4. *Clostridium difficile*

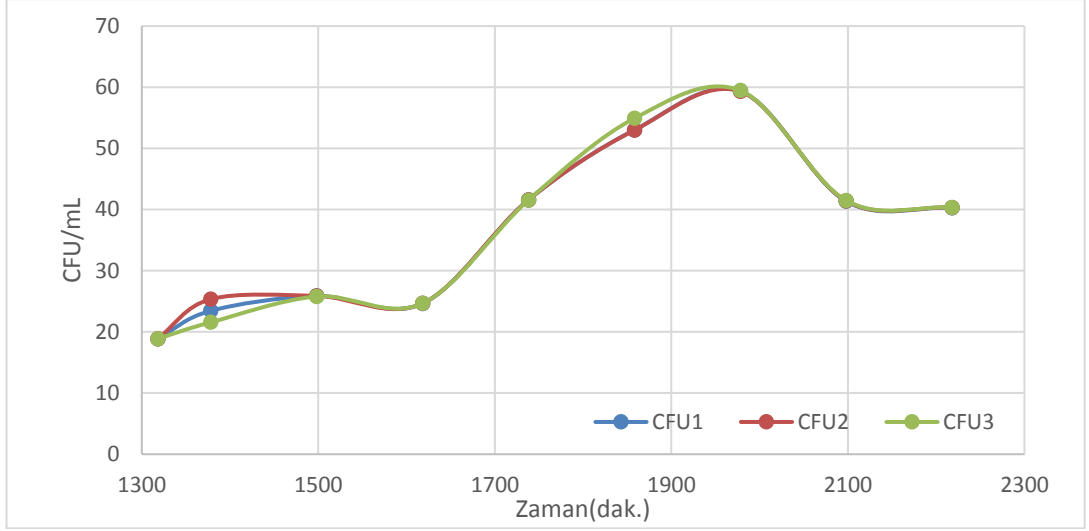
Tez kapsamında bulunan bir diğer deneme *Clostridium difficile* mikroorganizması kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı derişimlere sahip grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit içerikli ortamlardaki deneyler daha önce belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullarda ekim yapıldıktan sonra her saat başı 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiş, sonuçlar CFU/mL birimiyle grafiğe geçirilmiştir.

Mikroorganizmanın büyüme eğrisi (Şekil 4.25) incelendiğinde, ortama alışma süresi 4350 dakika boyunca devam etmiştir. Bu sürenin ardından 930 dakikalık bir büyüme evresi (Log fazı) geçirdiği bulunmuştur. 5280 dakikanın sonunda en yüksek CFU değeri olan 103,64 CFU/mL değerine ulaştığı tespit edilmiştir.



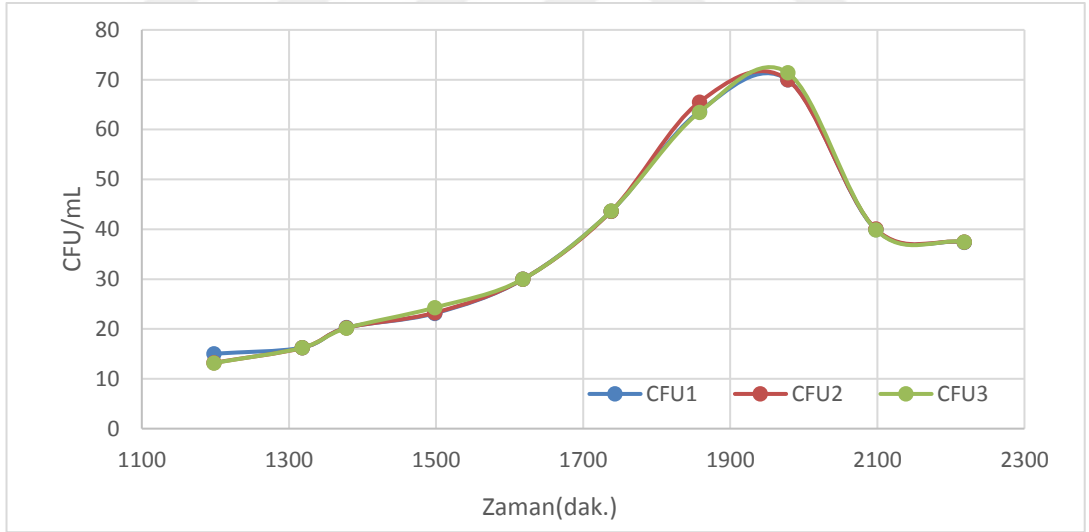
Şekil 4.25. *Clostridium difficile* büyüme eğrisi

5 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda (Şekil 4.26) mikroorganizma en yüksek 59,47 CFU/mL değerine 1978 dakikada sonucunda ulaşmıştır. 360 dakika boyunca büyüme evresinde bulunan mikroorganizma 1618 dakikada ortama alışmıştır.



Şekil 4.26. 5 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

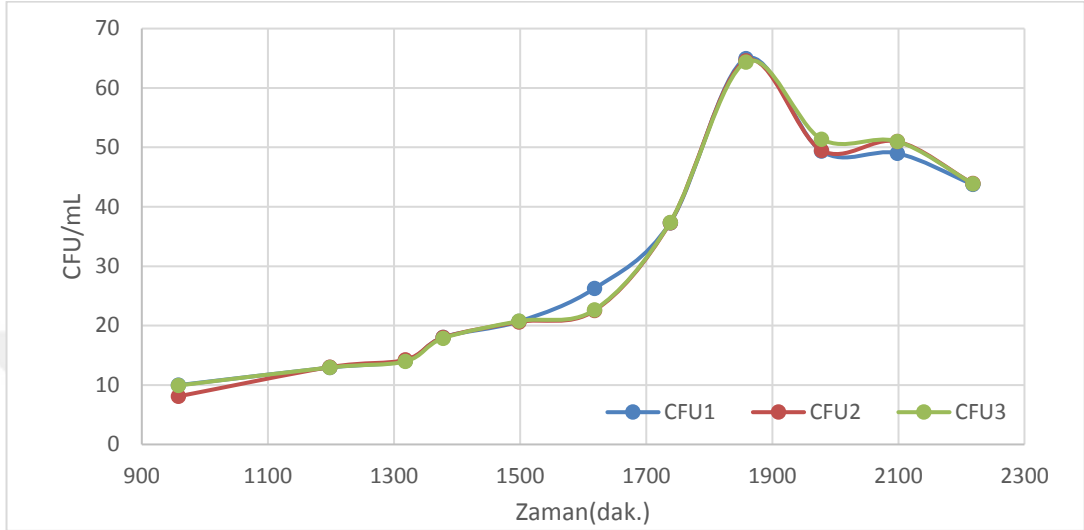
40 µg GO/mL varlığında mikroorganizma 1378 dakikada ortama alışmıştır (Şekil4.27). 600 dakikalık büyüme evresini atlatan mikroorganizma 71,41 CFU/mL ile en yüksek değerini 1978 dakikanın sonucunda göstermiştir.



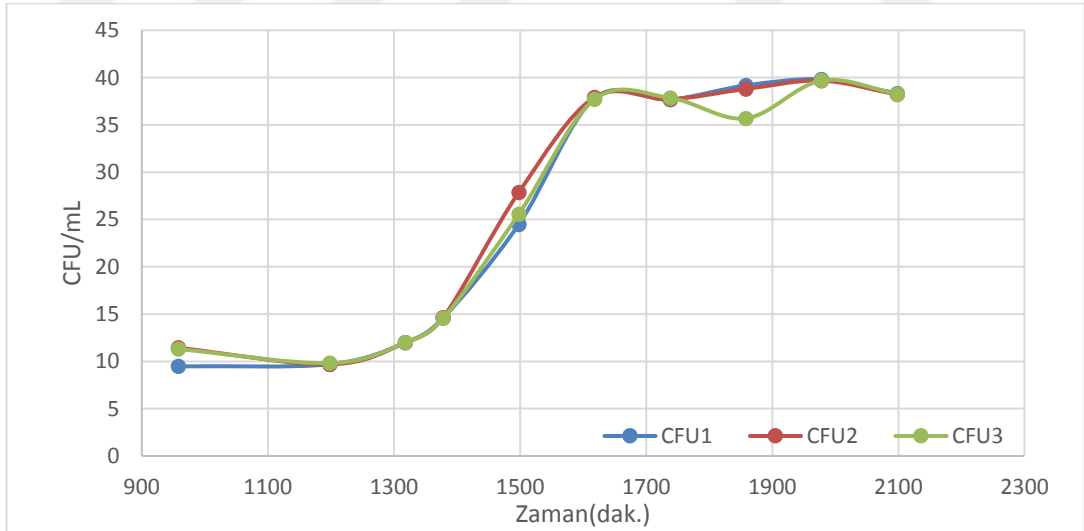
Şekil4.27. 40 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

Lag fazlarının aynı sürede bittiği (1318 dakika) 50 ve 100 µg GO/mL derişimlerine sahip ortamlarda mikroorganizmanın büyüme evresinde geçirdiği süreler sırasıyla 540 ve 300 dakikadır. 50 µg/mL GO derişiminin bulunduğu ortamda (Şekil 4.28) mikroorganizma 1858 dakikanın sonunda en yüksek 64,36 CFU/mL değerine ulaşırken, 100 µg/mL GO derişimin bulunduğu ortamda (Şekil

4,29) bu değer 1618 dakikanın sonunda 37,69 CFU/mL'de kalmıştır. Mikroorganizma 50 µg/mL GO derişiminde logaritmik fazı takiben direkt ölüm fazı gözlenirken, 100 µg/mL GO derişiminde 480 dakika boyunca durağan fazda kalmıştır.

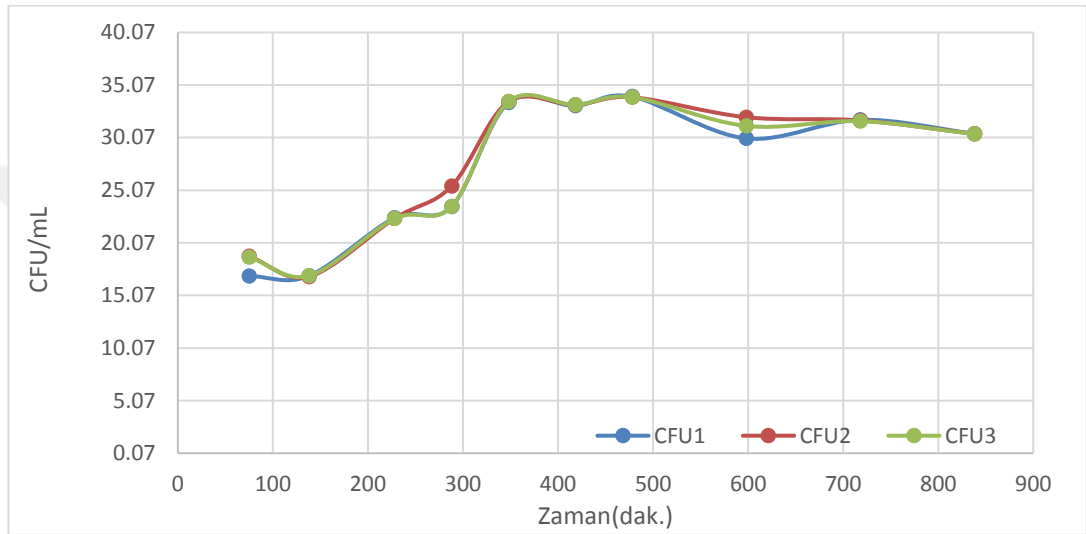


Şekil 4.28. 50 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

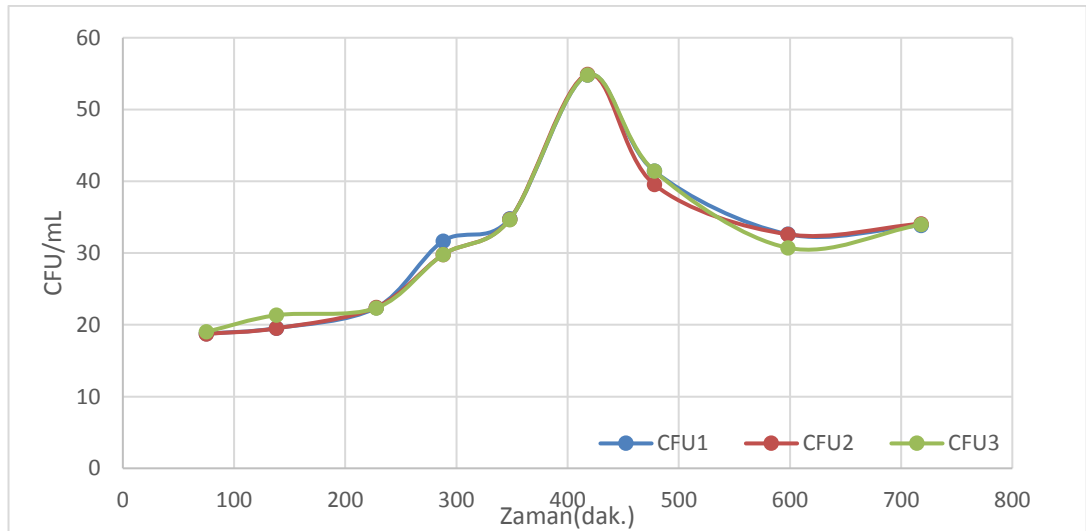


Şekil 4.29. 100 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

Şekil 4.30'da verilen 200 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamdaki mikroorganizma gelişimi incelendiğinde, ortama alışma süresinin 138 dakikayla Şekil 4.31'de verilen 400 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda gözlenen süreyle aynı olduğu bulunmuştur. Büyüme evreleri sırasıyla 340 ve 280 dakika süren mikroorganizma, 200 µg GO/mL derişiminde maksimum 33,91 CFU/mL değerine 478 dakikada, 400 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda maksimum 54,81 değerine 418 dakikada eriştiği tespit edilmiştir.

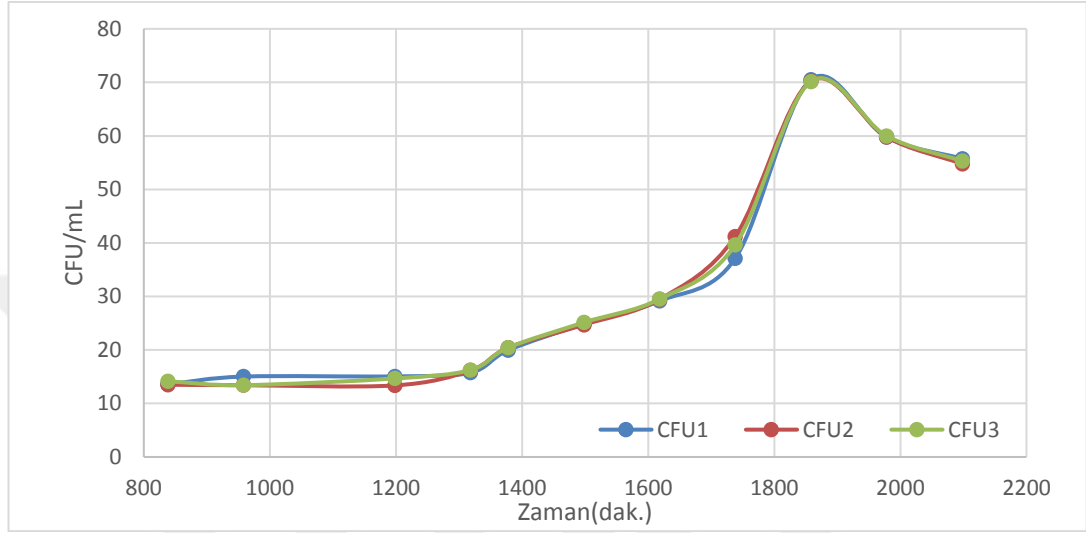


Şekil 4.30. 200 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi



Şekil 4.31. 400 µg GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

İndirgenmiş grafen oksitin bulunduğu ortamda (Şekil 4.32) yapılan sıvı ortam deneyleri sonucunda, mikroorganizma maksimum 70,163 CFU/mL değerine 1858 dakikada erişmiştir. Ortama 1318 dakikada alışan mikroorganizmanın büyüme evresi 540 dakika sürmüştür. Bu ortamda mikroorganizmada durağan faz görülmemiştir.

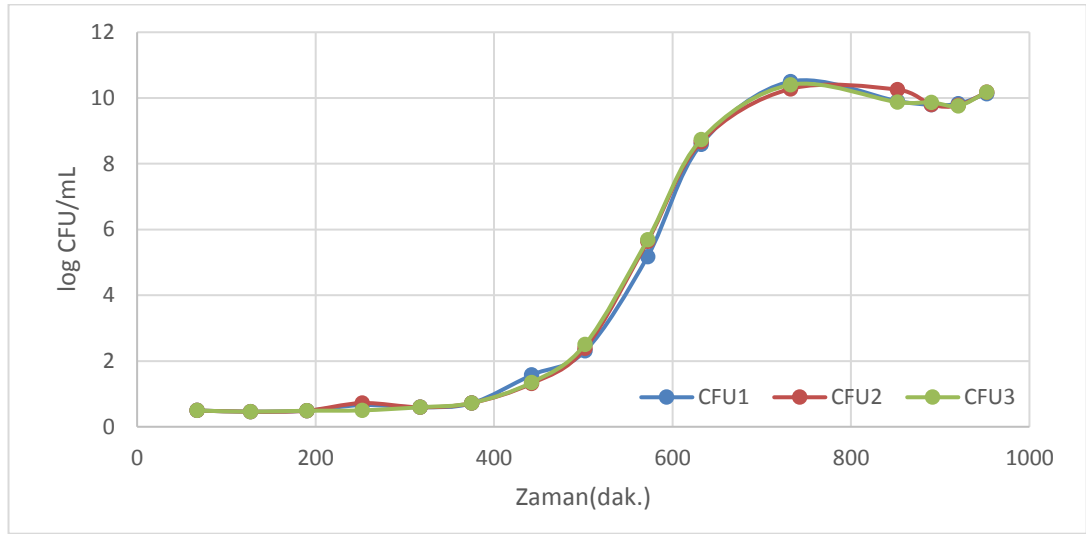


Şekil 4.32. r-GO/mL içeren ortamda *Clostridium difficile* büyümesi

4.1.5. *Lactobacillus acidophilus*

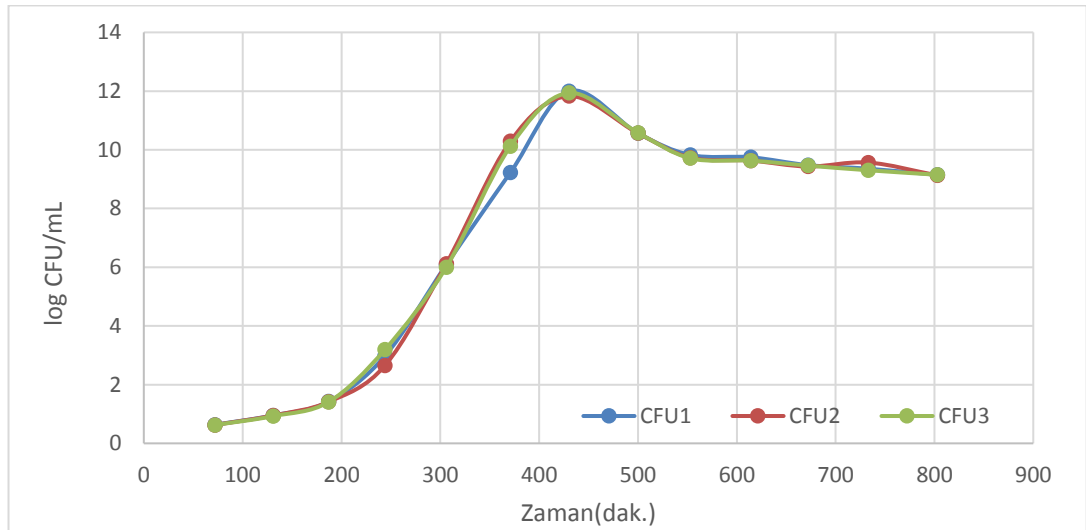
Lactobacillus acidophilus bakterisi için büyüme eğrisi kullanılarak optimum bekleme süresi hesaplandıktan sonra farklı grafen oksit derişimlerinin ve indirgenmiş grafen oksitin bulunduğu sıvı besiyerinde antimikrobiyal özelliğinin incelenmesi yapılmıştır. Deneylerde 5 µg GO/ mL, 40 µg GO/ mL, 50 µg GO/ mL, 100 µg GO/ mL, 200 µg GO/ mL, 400 µg GO/ mL derişimlerinde hazır temin edilen çözeltiler ve mikroorganizmayı aktifleştirmek için MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır.

Büyüme eğrisinde (Şekil 4.33) lag ve log fazlarının bitiş noktalarına göre optimum aktifleştirme süresi (179 dakika) hesaplanmıştır. Mikroorganizma ortama 375 dakikada alışmış ve 732.dakikanın sonunda maksimum log CFU/mL değeri olan 10,401 değerine ulaşmıştır. Logaritmik artış evresini 357 dakikada bitiren mikroorganizma durağan fazda 100 dakika geçirdikten sonra ölüm evresine geçmiştir.



Şekil 4.33. *Lactobacillus acidophilus* büyümesi

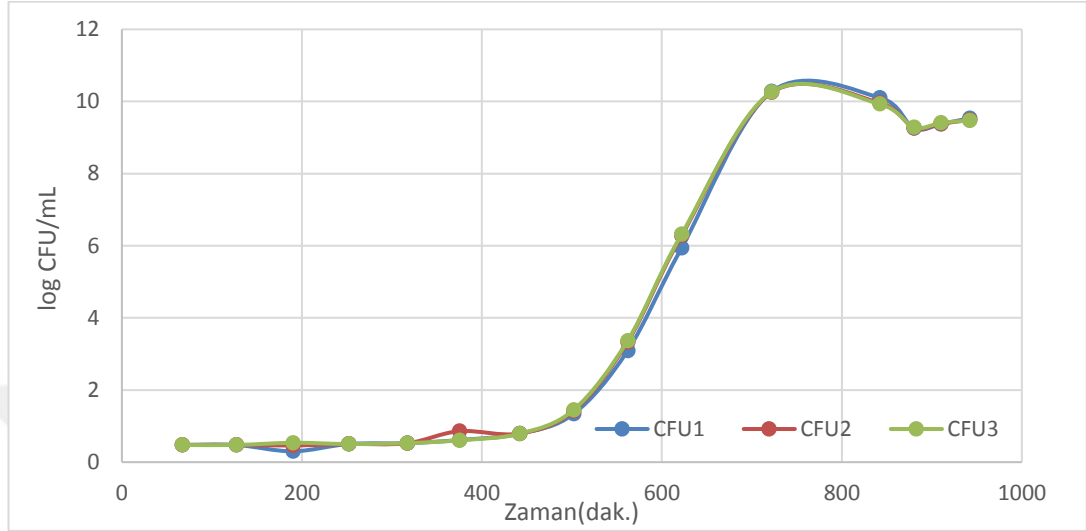
Şekil 4.34'de verilen 5 µg GO/mL grafen oksit materyalinin bulunduğu ortamda mikroorganizma lag fazını 131 dakikada tamamlamış ve 299 dakikada logaritmik artış evresini bitirmiştir. Maksimum 11,93 log CFU/mL değerine ise 430. dakikanın sonunda ulaştığı tespit edilmiştir. Mikroorganizma artış evresinden sonra 250 dakikalık bir durağan faza girmiş ve bu sürenin sonunda ölüm evresine geçmiştir.



Şekil 4.34. 5 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi

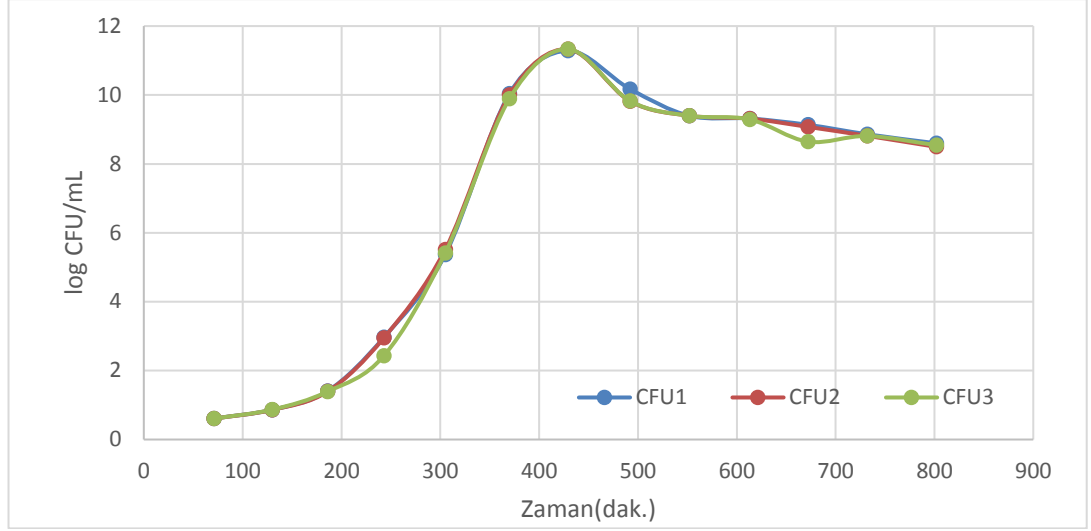
40 µg GO/mL grafen oksit derişimine sahip ortamda (Şekil 4.35) mikroorganizma 722 dakikanın sonunda maksimum log CFU/mL değerini (10,26) göstermiştir.

Lag fazını 442 dakikada tamamlayan *L. acidophilus* bakterisinin, logaritmik artış evresini 280 dakikada tamamladığı görülmüştür. Bu ortamda mikroorganizma durağan fazda 62 dakika geçirdikten sonra ölüm evresine girmiştir.

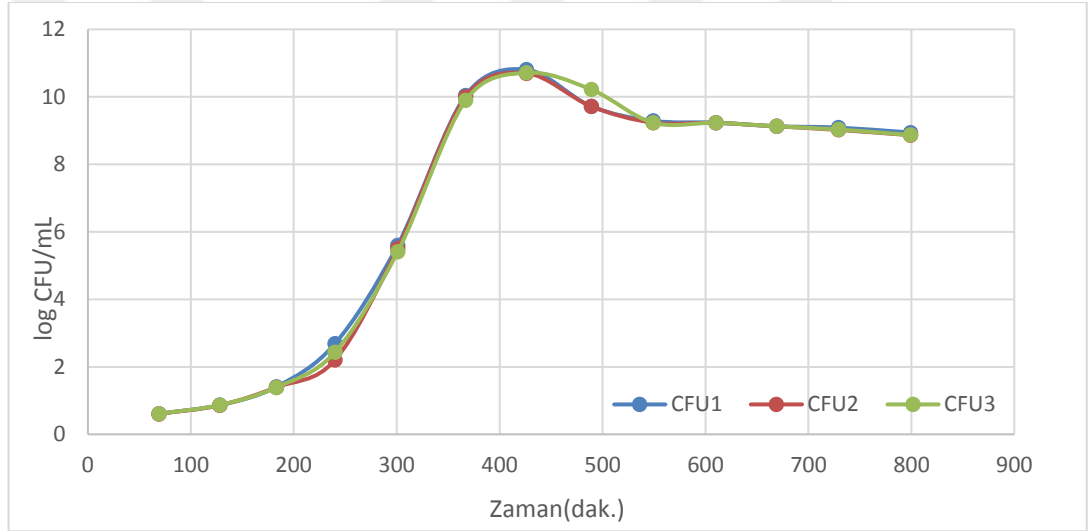


Şekil 4.35. 40 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi

50 (Şekil 4.36) ve 100 (Şekil 4.37) µg GO/mL grafen oksit derişimlerinin bulunduğu ortamlardaki deney sonuçları incelendiğinde, lag evrelerinin sırasıyla 442 ve 130 dakika sürdüğü görülmüştür. Yaklaşık 298-299 dakika büyüme evresinden sonra mikroorganizma her iki derişim ortamında da 250 dakikalık durağan faza girmiştir. Mikroorganizma 50 µg GO/mL grafen oksit ortamında maksimum CFU değerine (11,33) 429 dakikada erişirken, 100 µg GO/mL ortamında ise 426 dakikada 10,71 log CFU/mL değerini gösterdiği tespit edilmiştir.



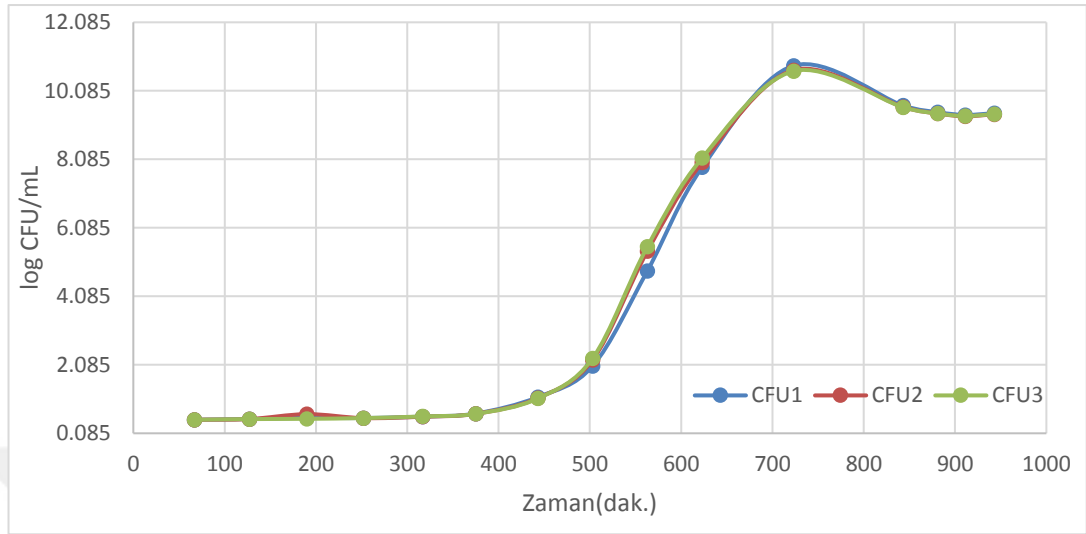
Şekil 4.36. 50 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi



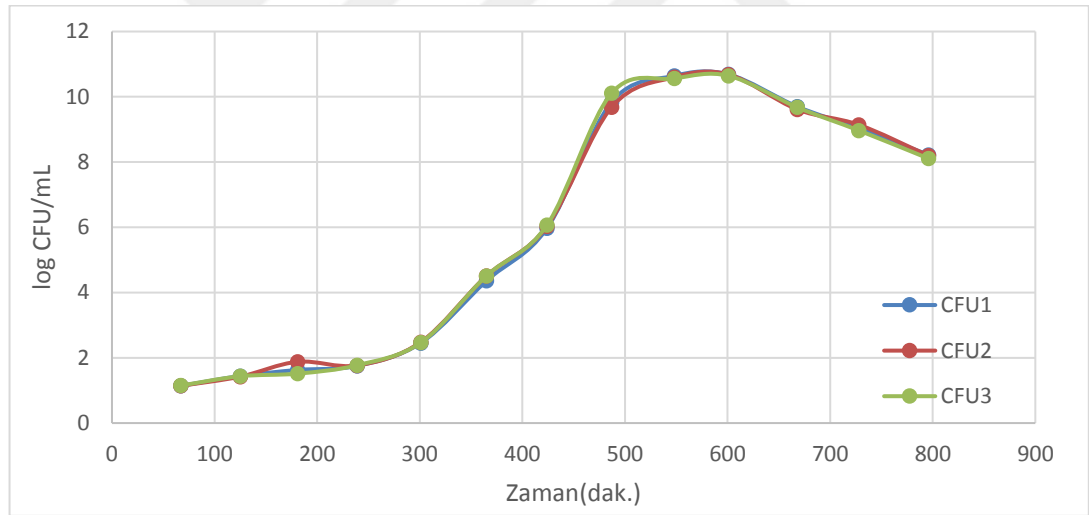
Şekil 4.37. 100 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi

200 ve 400 µg GO/mL derişimlerinde grafen oksit içeren ortamlardaki büyüme eğrileri incelendiğinde (Şekil 4.38 ve Şekil 4.39), mikroorganizmanın lag fazlarının sırasıyla 375 ve 239 dakika sürdüğü gözlemlenmiştir. 200 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda mikroorganizma gelişmesini gösteren log fazının (348 dakika), 400 µg GO/mL derişimin bulunduğu ortamdaki mikroorganizma gelişiminin yaklaşık 1,04 katı olduğu belirlenmiştir. 400 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda en yüksek log CFU/mL olan 10,64'e ulaşmak için mikroorganizma 601 dakika geçirmiştir, 200 µg GO/mL derişiminin

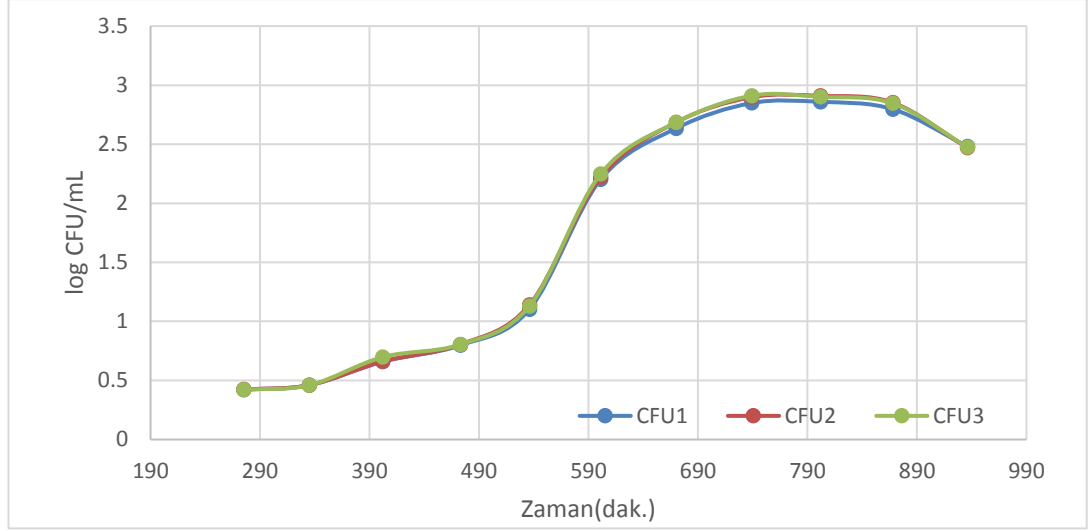
bulunduğu ortamda ise bu değerler sırasıyla 10,65 log CFU/mL ve 723 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.38. 200 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi



Şekil 4.39. 400 µg GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi İndirgenmiş grafen oksit in bulunduğu ortamdaki sonuçlar (Şekil 4.40) incelendiğinde, mikroorganizma 402 dakikada ortama alışmış ve 337 dakika boyunca log evresinde büyümüştür. Maksimum log CFU/mL değeri 2,91 olan mikroorganizma bu değeri 739. dakika sonunda göstermiştir.

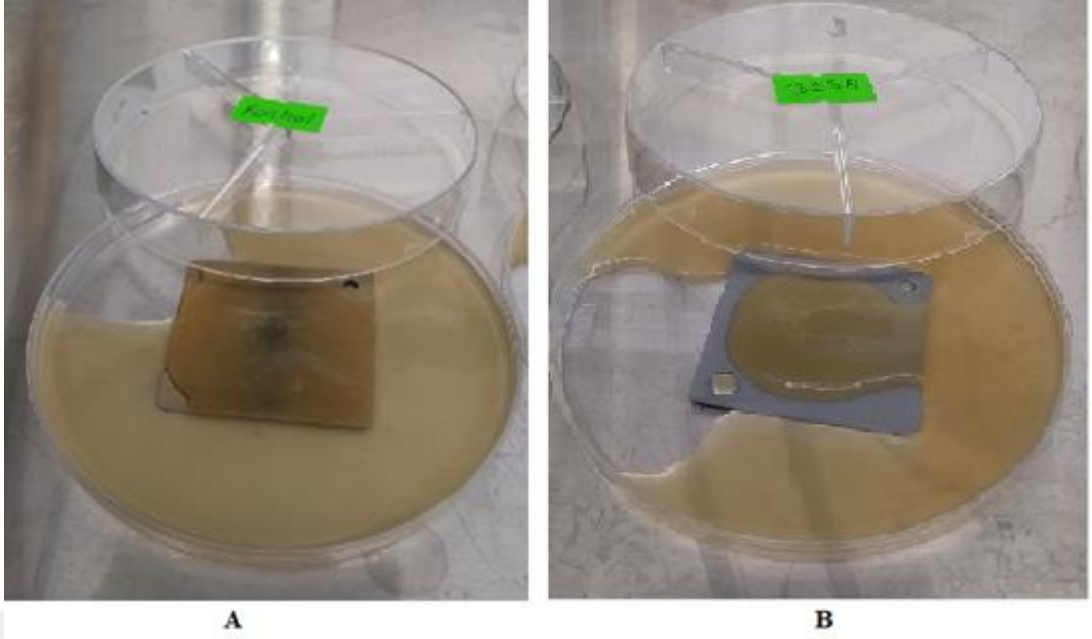


Şekil 4.40. r-GO/mL içeren ortamda *Lactobacillus acidophilus* büyümesi

4.2. Katı ortam deney sonuçları

Tezin bu kapsamında, farklı özellikteki iki çeşit katı grafen tabakalarının antimikrobiyal özelliği araştırılmıştır. İlk tabaka sülfürik asit ile aşındırılarak üretilen (kimyasal taraklamayla yüzeyi pürüzlendirilen) bir yüzeye sahiptir. İkinci tabaka ise kontrol grubu olarak kullanılan aşındırma işlemi olmayan katı grafen yüzeyden oluşmaktadır. Diğer mikroorganizmaların aksine *L.acidophilus* bakterisi genellenemeyen bir eğilim gösterdiği için katı tabakaların antimikrobiyal özelliği sadece bu bakteri kullanılarak araştırılmıştır.

Katı ortam deneyleri *L.acidophilus* bakterisi MRS broth besiyeri içerisinde aktifleştirildikten sonra, önceden üzerine MRS Agar dökülen grafen oksit yüzeyler üzerine ekilerek gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizma ekildiği andaki görüntüleri Şekil 4.41’de verilmiştir. Görseller incelendiğinde, yapılan kimyasal aşındırma işleminin yüzeye hidrofobik özellik kazandırdığı açıkça görülmektedir.



Şekil 4.41. Mikroorganizma ekildiği anda; a) aşındırılmamış yüzeye sahip grafen katı ortam görüntüsü, b) sülfirikasit ile aşındırılarak üretilen grafen katı ortam görüntüsü

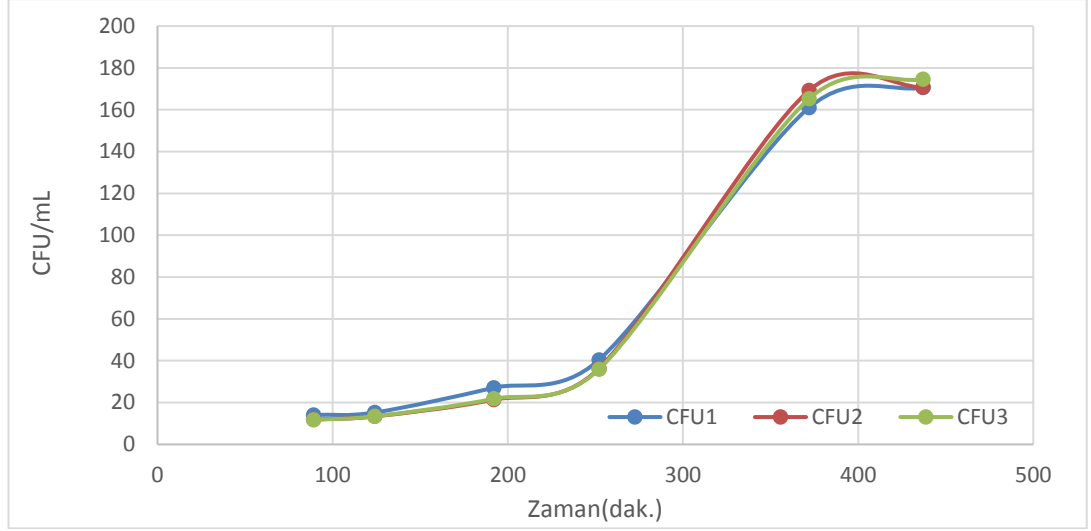
Tabakalar üzerine ekilen bakteri, 37°C'de optimum büyüme süresi kadar bekletildiğinde hem kontrol grubu hem de deney numunesi üzerindeki besiyerinin kuruduğu görülmektedir (Şekil 4.42). Zaman ilerledikçe besiyerinin, grafen tabakaların hidrofobik özelliği nedeniyle yüzey dışına doğru iyice iteklenmesine neden olduğu gözlemlenmiştir. Grafen tabakasının yüzeyi koloni sayma cihazıyla incelendiğinde hidrofobik yüzeyi yüzünden mikroorganizmanın yüzeyin çoğunluğuna tutunamadığı ve bu sebeple grafen tabakası yüzeyinde büyüyemediği tespit edilmiştir.



Şekil 4.42. Mikroorganizma gelişimi sonunda; a) aşındırılmamış yüzeye sahip grafen katı ortam görüntüsü, b) sülfürik asit ile aşındırılarak üretilen grafen katı ortam görüntüsü

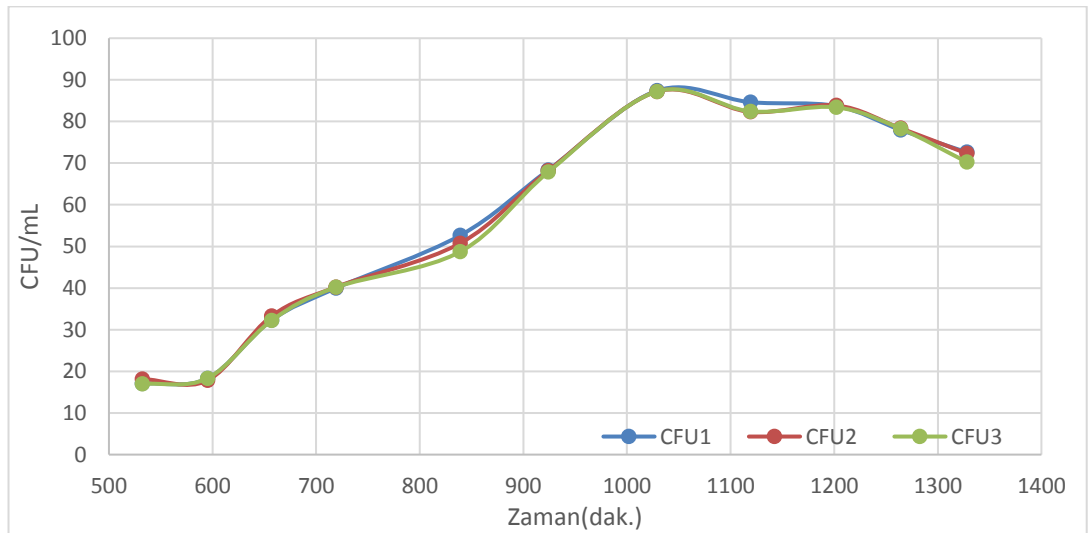
Katı ortam deneylerinin bir diğer kısmı, , pamuklu kumaş tamamen kaplayacak şekilde 100 mL besiyerine, 200 mL içerisinde aktifleştirilen mikroorganizmanın ekilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Deneyler her mikroorganizma için uygun sıcaklıkta ve besiyerinde gerçekleştirilmiştir. Alınan spektrofotometrik ölçüm sonuçları CFU/mL birimi ile verilmiştir.

Grafen oksit içerikli yüzde yüz pamuklu kumaş ortamı içerisinde *E.coli Nissle 1917* bakterisi ekildiğinde elde edilen büyüme eğrisi Şekil 4.43'te verilmiştir. Bu eğriye göre bakteri 192 dakikada lag fazını bitirip, 245 dakika boyunca log fazında büyümüş ve mikroorganizma 437. dakikada maksimum CFU/mL değerine (174,57) ulaşmıştır. Gözlem süresi boyunca bakterinin log fazını sonlandırmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle grafikte durağan ya da ölüm fazı yer almamaktadır.



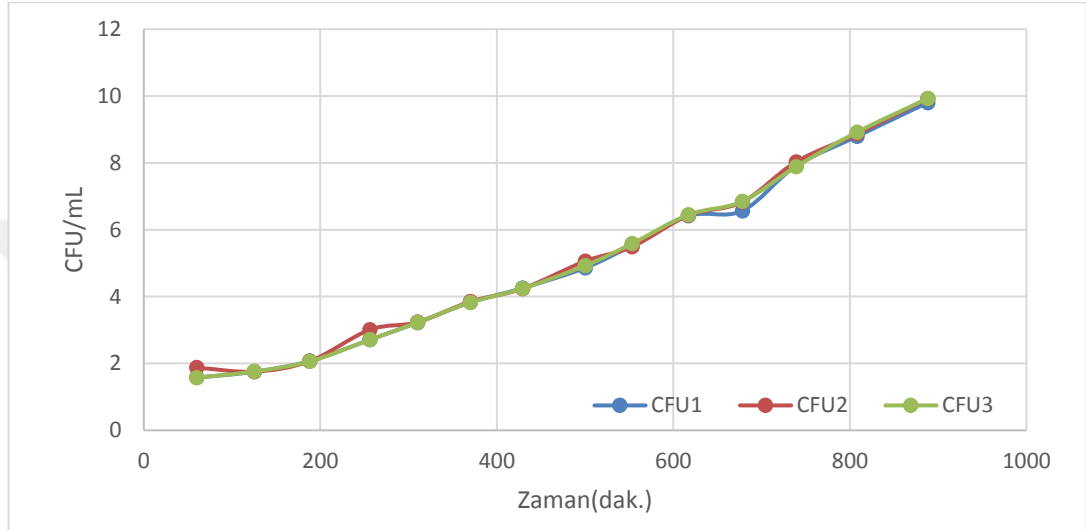
Şekil 4.43. *E.coli Nissle 1917* bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi

E.coli bakterisinin kumaşlı ortamdaki büyümesinde (Şekil 4,44), bakteri 595 dakika boyunca ortama alışma sürecini yaşamıştır. Lag fazından çıkan bakteri 434 dakika boyunca logaritmik büyüme gerçekleştirmiş, 1029. dakikada maksimum CFU/mL olan 87,21 değerine ulaşmıştır. Mikroorganizmanın durağan fazda 173 dakika geçirdiği ve bu sürenin ardından ölüm evresine girdiği görülmüştür.



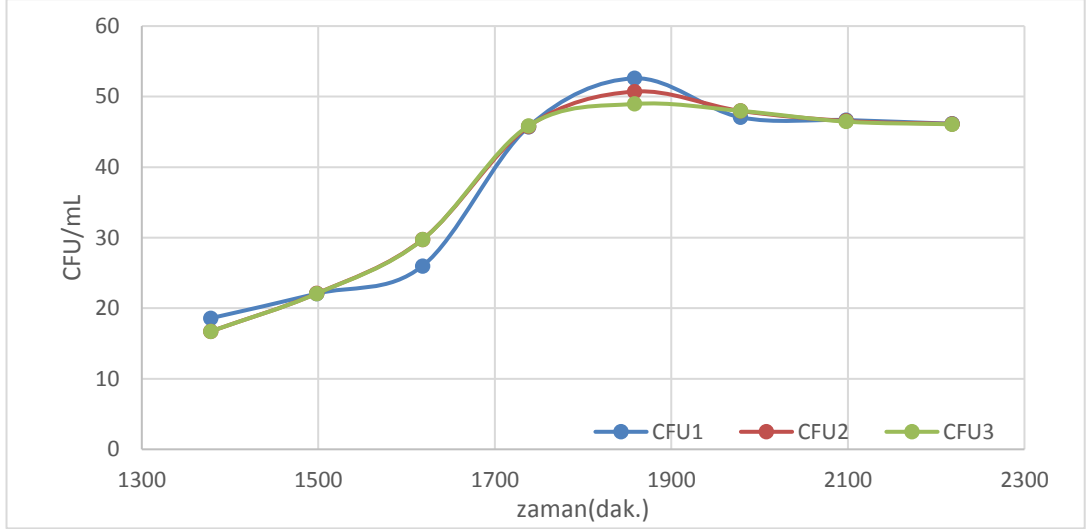
Şekil 4.44. *E.coli* bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi

Şekil 4.45’de ise *Candida krusei* mantarının kumaş içerikli ortamda büyüme eğrisi verilmiştir. Bu ortamda mikroorganizma 125 dakika boyunca lag fazında kalmış ve bu sürenin sonunda 763 dakika büyümeye devam etmiştir. Maksimum CFU/mL değerine 888. dakikada 9,925 ile ulaşmıştır. *E.coli Nissle 1917* bakteri büyümesinde olduğu gibi analiz süreci boyunca mantarın durağan faza geçmediği tespit edilmiştir.



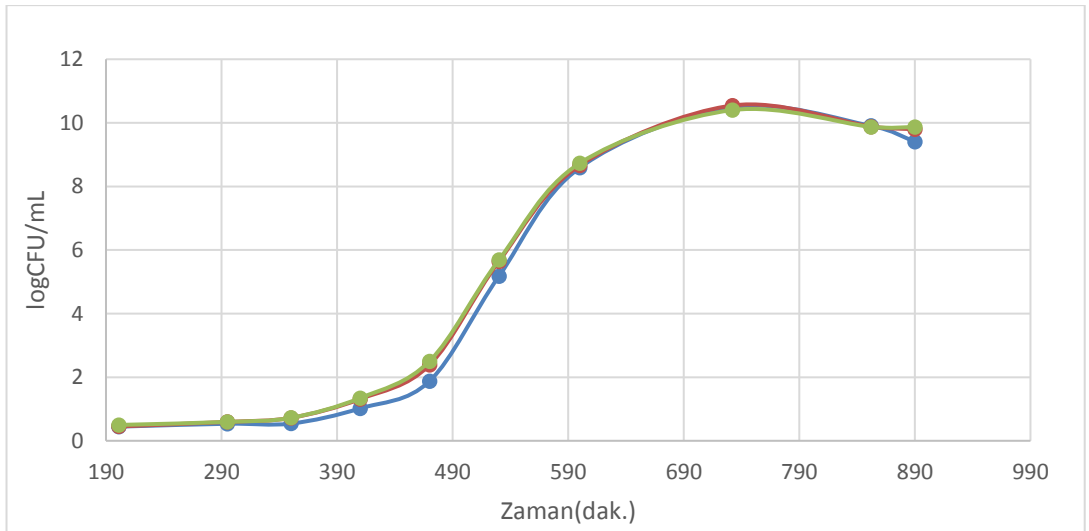
Şekil 4.45. *C.krusei* mantarının grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi

Şekil 4.46’da verilen *C.difficile* mikroorganizmasının kumaşlı ortamda büyümesinde ise 1378 dakika boyunca lag fazında ortama alışmaya çalıştığı, log fazında 480 dakika süre geçirdiği ve 1858. dakikanın sonucunda maksimum CFU/mL değeri olan 50,71’e ulaştığı gözlemlenmiştir. Mikroorganizmanın durağan fazı tamamladığı ancak analiz süresince ölüm fazına geçmediği görülmüştür.



Şekil 4.46. *C.difficile* bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi

Yüzde yüz pamuklu grafen oksitli kumaş üzerine *L.acidophilus* ile yapılan çalışmaların sonucu (Şekil 4.47) incelendiğinde, mikroorganizma 350 dakika boyunca lag fazında kalmış ve bu evrede maksimum log CFU/mL değeri 0,7232 olarak tespit edilmiştir. 382 dakika boyunca log fazına devam eden mikroorganizma 732. dakikada tüm büyüme sürecinin en yüksek log CFU/mL değeri olan 10,40 ulaşmıştır. Bu ortamda mikroorganizmanın standart S-büyüme eğrisini gösterdiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.47. *L.acidophilus* bakterisinin grafen oksitli kumaş ortamında büyümesi

4.3. Optimizasyon deneyleri sonuçları

Tez çalışmasının bu kısmında, grafen oksit emdirilmiş kumaş bulunan ortamlarda mikroorganizma büyümesinin seçilen parametrelerle ilişkisini değerlendirmek için üç-seviyeli üç-parametrelilik Box-Behnken deney dizaynı kullanılmıştır. Kumaş boyutu, mikroorganizma çeşidi ve grafen oksit derişimi parametreleri ile çalışılan, tasarımın belirlediği noktalardaki deney sonuçları spektrofotometrik olarak analizlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Box-Behnken deney dizaynı ve sonuçları

X ₁	X ₂	X ₃	Abs
-1	-1	0	0,8312
+1	-1	0	0,2812
-1	+1	0	0,8401
+1	+1	0	0,8190
-1	0	-1	0,3052
+1	0	-1	0,8718
-1	0	+1	0,3291
+1	0	+1	0,4661
0	+1	-1	0,4407
0	-1	+1	0,4063
0	+1	+1	0,3973
0	0	0	0,4162
0	0	0	0,4144
0	0	0	0,4117

Çizelge 4.1’de verilen deney sonuçları bilgisayar programına girildikten sonra programın önerdiği farklı modeller arasında istatistiksel analiz sonuçları karşılaştırılarak deney bulgularını en iyi ifade eden model belirlenmiştir. Kuadratik modeli olarak tespit edilen bu modelin istatistiksel analiz sonuçları ANOVA tablosunda özetlenmiştir (Çizelge 4.2). F değerinin 80,28 olması modelin “significant (önemli)” olduğu anlamına gelmektedir; çünkü bu kadar büyük bir F değerinin çıkma olasılığı sadece %0,01 olasılığında mümkündür. “Lack of fit” olarak adlandırılan uygunsuzluk değerinin “not significant (önemsiz)” olması modelin uygunluğunu destekleyen bir diğer değerdir.

Çizelge 4.2. Kuadratik Model ANOVA tablosu

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,6691	9	0,0743	80,28	< 0.0001	significant
A-Mikroorganizma	0,5853	1	0,5853	632,01	< 0.0001	
B-GO Derişimi	0,0001	1	0,0001	0,0777	0,7915	
C-Kumaş Boyutu	0,0001	1	0,0001	0,0948	0,7706	
AB	0,0000	1	0,0000	0,0148	0,9080	
AC	0,0002	1	0,0002	0,2255	0,6549	
BC	0,0001	1	0,0001	0,0726	0,7983	
A ²	0,0822	1	0,0822	88,74	0,0002	
B ²	0,0001	1	0,0001	0,0803	0,7883	
C ²	0,0012	1	0,0012	1,29	0,3075	
Residual	0,0046	5	0,0009			
Lack of Fit	0,0046	3	0,0015	300,21	0,0033	Not significant
Pure Error	0,0000	2	5,130E-06			
Cor Total	0,6737	14				

Standart sapmanın, R² ve öngörülen R² değerlerinin verildiği Çizelge 4.3 incelendiğinde, öngörülen R² değeri (Predicted R²) ve düzeltilmiş R² değerinin (Adjusted R²) arasındaki fark kabul edilebilir seviyededir. Adeq Precision (Yeterli uygunluk) terimi ölçülen (sinyal/gürültü) oranını temsil etmektedir. Tezin deneysel çalışmasında bulunan Adeq Precision değerinin 23.029 olması yeterli bir sinyal olduğunu gösterir ve modelin bu sınırlar içerisinde rahatça kullanılabilineceği anlamına gelmektedir.

Çizelge 4.3. Kuadratik modele ait standart sapma ve R² değerleri

Std. Dev.	0,0304	R²	0,9931
Mean	0,5009	Adjusted R²	0,9808
C.V. %	6,08	Predicted R²	0,8902
		Adeq Precision	23,0290

ANOVA tablosunda parametrelerin tek tek veya ortak etkilerinin önemi Yüksek-F ve düşük-P değerleri ile belirtilir (Çizelge 4.2). Dolayısıyla mikroorganizma büyümesine tek başına en çok etki eden parametrenin ortamdaki

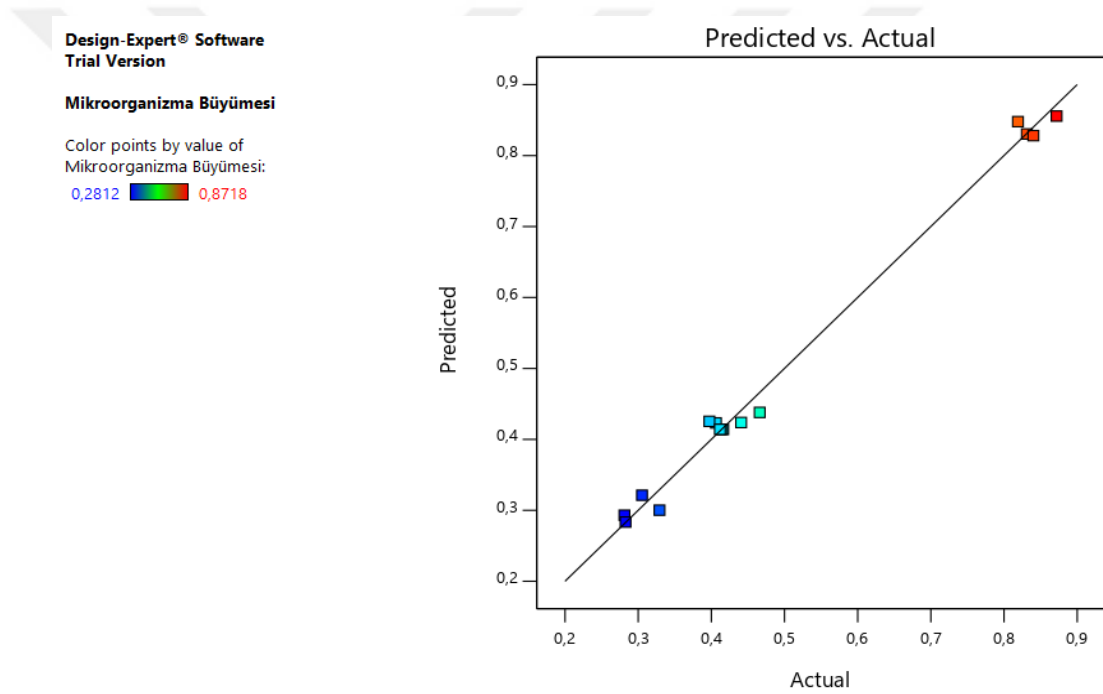
mikroorganizma çeşidi olduğu, mikroorganizma çeşidi-kumaş boyutunun ortak etkisinin ise en etkili ikili parametre kombinasyonu olduğu belirlenmiştir. Parametrelerin tek başına veya ikili etkilerinin (A ve A²) F değerlerinin boyutu göz önüne alındığında mikroorganizma çeşidinin sonuç üzerindeki etkisinin diğer tüm parametrelerden çok daha baskın olduğu çıkarımı söz konusudur.

Bilgisayar programları kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyonlarda parametrelerin sonuçta oluşturacağı birim değişim ve birbirleriyle korelasyonlarının değerlendirilmesi için katsayılar tablosu oluşturulur. Katsayı tahmini (coefficient estimate); kalan tüm faktörler sabit tutulduğunda, faktör değerindeki birim değişiklik başına yanıtta beklenen değişimi temsil eder. Ortogonal tasarımdaki kesişme, tüm koşulların genel ortalama tepkisidir. Katsayılar, faktör ayarlarına bağlı olarak bu ortalamanın etrafındaki ayarlamalardır. Faktörler dikey olduğunda VIF'ler 1'dir. 1'den büyük VIF'ler çoklu-eşitliğe işaret eder, VIF ne kadar yüksek olursa faktörlerin korelasyonu o kadar yüksek olur. Kaba bir kural olarak, 10'dan küçük VIF'ler tolere edilebilir. Çizelge 4.4'te verilen deneysel çalışma için program tarafından kuadratik modelle elde edilmiş, kodlanmış faktörler açısından katsayılar tablosu incelendiğinde parametrelerin dikey doğrultularda yer aldığı ve tolere edilebilir seviyede olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.4. Kuadratik modelle elde edilen katsayılar tablosu

Factor	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	0,4141	1	0,0176	0,3689	0,4593	
A-Mikroorganizma	-0,2705	1	0,0108	-0,2981	-0,2428	1,0000
B-GO Derişimi	-0,0030	1	0,0108	-0,0307	0,0247	1,0000
C-Kumaş Boyutu	-0,0033	1	0,0108	-0,0310	0,0243	1,0000
AB	-0,0018	1	0,0152	-0,0410	0,0373	1,0000
AC	-0,0072	1	0,0152	-0,0463	0,0319	1,0000
BC	0,0041	1	0,0152	-0,0350	0,0432	1,0000
A ²	0,1492	1	0,0158	0,1085	0,1899	1,01
B ²	-0,0045	1	0,0158	-0,0452	0,0362	1,01
C ²	0,0180	1	0,0158	-0,0227	0,0587	1,01

Deneysel elde edilen spektrofotometrik analiz sonuçları (Actual; gerçek) ve seçilen istatistiksel model ile (kuadratik model) hesaplanan sonuçların (Predicted; öngörülen) birbirine uygunluğu, istatistiksel olarak uygun olduğu belirlenen modelin incelenen deney sonuçlarını ne düzeyde ifade edebildiğinin, başka bir deyişle incelenen prosesin fiziksel uygunluğunun bir göstergesidir. Şekil 4.48'de gösterilen 45°'lik doğru; gerçek ve öngörülen değerlerin %100 uyumluluğunu ifade eder. Elde edilen sapmaların (renkli kareler) doğrunun üzerinde yer alması veya doğru etrafındaki yayılımlarının az ve simetrik olması modelin standart sapmasının az olduğunu ve uygulanabilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.48. Gerçek ve kuadratik modelle öngörülen sonuçların karşılaştırılması

Sonuç olarak, hem istatistiksel hem de fiziksel uygunluk incelemeleri seçilen kuadratik modelin incelenen proesi bu aralık içerisinde ifade etmede başarılı olduğu görülmüştür. Bu aşamada, mikroorganizma büyümesi üzerinde seçilen paramterlerin ikili etkilerini net bir şekilde ortaya koymak adına üç-boyutlu yüzey grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafiklerde maviden turuncuya doğru gidildikçe mikroorganizma büyümesinde artış gözlenmektedir. Grafen oksit derişimi ile mikroorganizma çeşidinin cevaba (sonuca) etkisinin gösterildiği üç boyutlu yüzey grafiği Şekil 4.49'da verilmektedir. Bu grafikte görüldüğü gibi,

grafen oksit derişimi hangi değerde olursa olsun ekilen mikroorganizma türü *E. Coli Nissle 1917* iken maximum büyüme elde edilirken ortama probiyotiklerin eklenmesiyle mikrobiyal büyümede azalma tespit edilmektedir. Dolayısıyla mikrobiyal büyüme grafen oksit miktarından etkilenmemekte, ortamdaki besini tek bir mikroorganizmanın kullanması yerine karışık kültürün aynı besini tüketmesinden dolayı mikrobiyal büyümede azalma görülmektedir.

Design-Expert® Software
Trial Version
Factor Coding: Actual

Mikroorganizma Büyümesi (Abs)

● Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

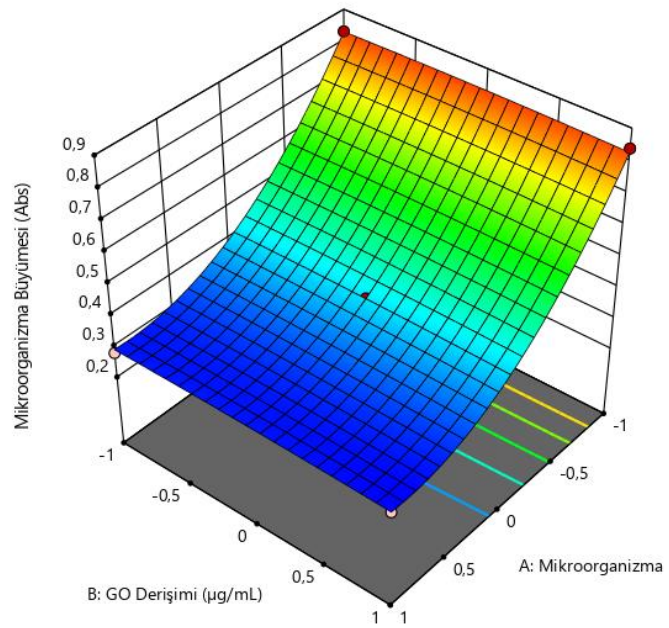
0,2812 0,8718

X1 = A: Mikroorganizma

X2 = B: GO Derişimi

Actual Factor

C: Kumaş Boyutu = 0



Şekil 4.49. GO derişimi-mikroorganizma çeşidi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiği

Şekil 4.50’de verilen, grafen oksit emdirilmiş pamuklu kumaş boyutu ve mikroorganizma çeşidinin mikrobiyal büyüme üzerinde etkisinin yüzey grafiğine göre de mikroorganizmaların büyümelerinde kumaş boyutunun herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiş, mikroorganizma türü karışık kültüre doğru yöneldikçe (-1 kodlu değerinden +1 kodlu değere doğru) mikrobiyal büyümede azalma tespit edilmiştir.

Design-Expert® Software
Trial Version
Factor Coding: Actual

Mikroorganizma Büyümesi (Abs)

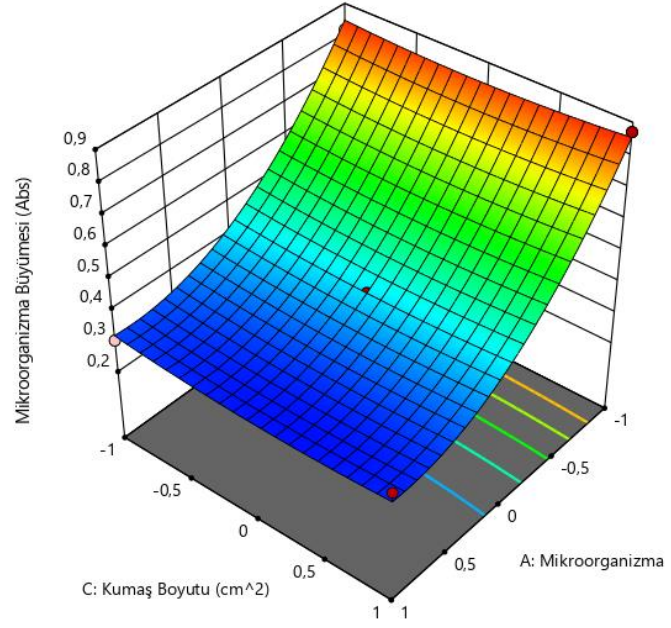
● Design points above predicted value

○ Design points below predicted value

0,2812  0,8718

X1 = A: Mikroorganizma
X2 = C: Kumaş Boyutu

Actual Factor
B: GO Derişimi = 0



Şekil 4.50. Kumaş boyutu-mikroorganizma çeşidi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiği

Şekil 4.51'de ise kumaş boyutu ve grafen oksit derişiminin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisi görülmektedir. Bu grafikte düz ve hep aynı cevabı ifade eden bir yüzey yer alması, bu iki parametrenin mikroorganizma büyümesi üzerine bir etkisi olmadığını belirtmektedir. Başka bir deyişle, ortamdaki grafen oksit derişimi ve grafen oksit emdirilmiş kumaş boyutu ne olursa olsun ortamda mikroorganizma büyümesi gerçekleşmektedir ve bu büyüme söz konusu iki parametreden bağımsız gerçekleşmektedir.

Design-Expert® Software
Trial Version
Factor Coding: Actual

Mikroorganizma Büyümesi (Abs)

● Design points above predicted value

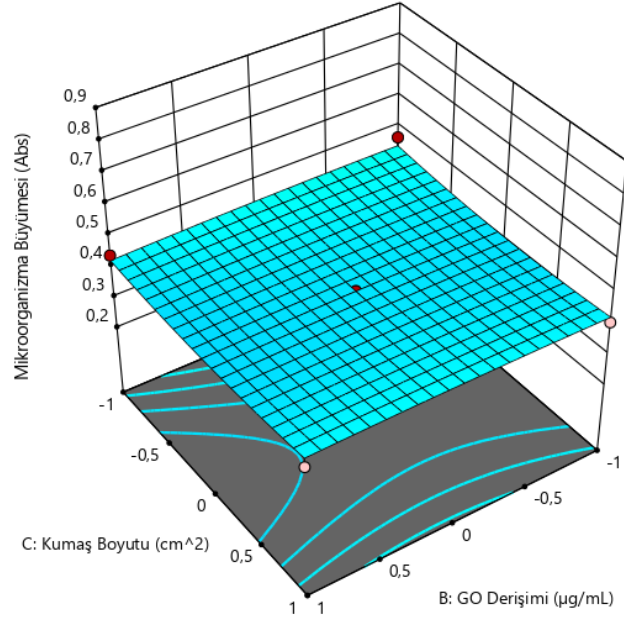
○ Design points below predicted value

0,2812  0,8718

X1 = B: GO Derişimi
X2 = C: Kumaş Boyutu

Actual Factor

A: Mikroorganizma = 0



Şekil 4.51. Kumaş boyutu-GO derişimi parametrelerinin mikrobiyal büyüme üzerindeki etkisinin üç boyutlu yüzey grafiğı

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında beş farklı grafen oksit derişimi veya indirgenmiş grafen oksit eklenmiş, her mikroorganizmaya özgü steril sıvı besiyeriyle gerçekleştirilen mikroorganizma gelişimleri incelenmiştir.

E.coli Nissle 1917 bakterisiyle gerçekleştirilen deney sonuçları Çizelge 5.1' de özetlenmiştir. Ortama grafen oksit eklenmesinin lag fazının daha kısa sürmesine, log fazının ise daha uzun sürmesine neden olduğu sonucuna varılmıştır. CFU_{max}/mL maksimum değerlerinin de kontrole göre daha az olduğu ve CFU_{max}/mL maksimum değerlerine ulaşmak için geçen sürenin, kontrol grubunun sonucuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca lag fazındaki azalış (50 dakika), log fazındaki minimum artış (104 dakika) ile karşılaştırıldığında, log fazındaki artışın maksimum CFU_{max}/mL süresinin üzerindeki etkisinin daha fazla olduğu görülmektedir. CFU_{max}/mL süresi, log ve lag fazlarının bitiş noktalarına göre hesaplandığı için *E.coli Nissle 1917*'nin grafen oksit bulunan ortamlarda (5-400 µg GO/mL), log fazında daha fazla zaman harcaması, maksimum CFU değerine ulaşmak için geçen sürenin artmasına sebep olmuştur.

E.coli Nissle 1917 bakterisi ile yapılan bütün grafen oksit ve indirgenmiş grafen oksit içerikli ortam sonuçlarında, mikroorganizma standart büyüme eğrisinin açıkça görüldüğü tespit edilmiştir. 100 µg GO/mL derişiminin bulunduğu ortamda CFU_{max}/mL değerinde %36,70 oranında maksimum düşüş elde edilmiştir.

Çizelge 5.1. Sıvı besiyeri içerisindeki *E.coli Nissle 1917* bulguları

	Lag fazı (dak.)	Log fazı (dak.)	CFU_{max}/mL	CFU_{max}/mL (dak.)
Kontrol	115	315	233,68	430
5 µg GO/ mL	65	685	204,70	484
40 µg GO/ mL	65	433	184,64	498
50 µg GO/ mL	65	419	206,29	484
100 µg GO/ mL	65	419	147,92	484
200 µg GO/ mL	65	501	163,21	566
400 µg GO/ mL	65	501	153,07	566
r-GO	192	245	170,28	437

Çizelge 5.2' de görüldüğü üzere *E.coli* bakterisiyle gerçekleştirilen deney sonuçları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, grafen oksitli ortamlarda lag ve log fazlarının daha uzun sürdüğü belirlenmiştir. Hem lag hemde log fazındaki artışın farklı oranlarda olması, CFU_{max}/mL ulaşmak için geçen sürelerin farklılaşmasına sebep olmuştu. CFU_{max}/mL sürelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

5 µg GO/mL grafen oksit derişiminin bulunduğu ortamda CFU_{max}/mL değerinde %68,58 oranında maksimum düşüş elde edilmesine rağmen, tüm deneylerde mikroorganizmanın çoğaldığının açıkça görüldüğü standart büyüme eğrisi tespit edilmiştir.

Çizelge 5.2. Sıvı besiyeri içerisindeki *E.coli* bulguları

	Lag fazı (dak.)	Log fazı (dak.)	CFU_{max}/mL	CFU_{max}/mL (dak.)
Kontrol	401	170	291,79	741
5 µg GO/ mL	595	329	91,67	924
40 µg GO/ mL	1029	299	198,13	1372
50 µg GO/ mL	719	786	297,85	1505
100 µg GO/ mL	719	400	255,42	1119
200 µg GO/ mL	1119	771	278,14	1890
400 µg GO/ mL	719	725	206,86	1444
r-GO	469	795	182,32	1264

Candida krusei mantarıyla yapılan sıvı ortam deney sonuçları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Çizelge 5.3), ortama eklenen grafen oksit materyallerinin

tamamının lag- ve log- evresi ve CFU_{max}/mL sürelerini kısalttığı görülmüştür. Mikroorganizmanın eriştiği maksimum CFU_{max}/mL değerlerinde %42,22'lik orandaki maksimum azalmanın 50 µg GO/mL grafen oksit derişime sahip ortamda gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 5.3. Sıvı besiyeri içerisindeki *Candida krusei* bulguları

	Lag fazı (dak.)	Log fazı (dak.)	CFU _{max} /mL	CFU _{max} /mL (dak.)
Kontrol	1213	2177	24,62	3390
5 µg GO/ mL	188	1767	15,50	1955
40 µg GO/ mL	188	1767	15,05	1955
50 µg GO/ mL	429	1322	14,22	1751
100 µg GO/ mL	188	780	18,24	698
200 µg GO/ mL	188	1163	15,35	1351
400 µg GO/ mL	125	683	15,74	808
r-GO	429	736	22,12	1165

Clostridium difficile bakterisinin deney sonuçları Çizelge 5.4' te özetlenmiştir. Sonuçlara göre ortama grafen bazlı materyallerin eklenmesi standart büyüme eğrisinin gözlemlenmesine neden olsa da mikroorganizma lag- ve log- evreleri, gözlenen maksimum mikroorganizma miktarları ve bu miktarlara ulaşmak için gereken sürelerin hepsinde kontrol grubuna göre düşüşe neden olmuştur. Kontrol grubunun maksimum CFU_{max}/mL değerine göre oluşan maksimum düşüş (%67,28) 200 µg GO/mL derişiminde gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.4. Sıvı besiyeri içerisindeki *Clostridium difficile* bulguları

	Lag fazı (dak.)	Log fazı (dak.)	CFU _{max} /mL	CFU _{max} /mL (dak.)
Kontrol	4350	930	103,64	5280
5 µg GO/ mL	1618	360	59,47	1978
40 µg GO/ mL	1378	480	71,41	1978
50 µg GO/ mL	1318	540	64,36	1858
100 µg GO/ mL	1318	300	37,69	1618
200 µg GO/ mL	138	340	33,91	478
400 µg GO/ mL	138	280	54,81	418
r-GO	1318	540	70,16	1858

Farklı derişimlerdeki grafen oksit veya indirgenmiş grafen oksit içerikli sıvı ortam denemelerin sonucusu olan *Lactobacillus acidophilus* bakterisi ile gerçekleştirilen deneylerin bulguları Çizelge 5.5' te verilmiştir. Sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında logaritmik büyüme evresinin süresinde artış görülmüştür. Kontrol grubuna göre CFU_{max}/mL değerinde maksimum %72,02'lik oranda azalma indirgenmiş grafen oksit ortamında gözlemlenmiştir. Lag fazında ve CFU_{max}/mL süresinde belirli bir eğilim olmadığı ve ortamdaki grafen oksit derişimine göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 5.5. Sıvı besiyeri içerisindeki *Lactobacillus acidophilus* bulguları

	Lag fazı (dak.)	Log fazı (dak.)	log CFU _{max} /mL	CFU _{max} /mL (dak.)
Kontrol	375	357	10,40	732
5 µg GO/ mL	131	299	11,93	430
40 µg GO/ mL	442	280	10,26	722
50 µg GO/ mL	130	299	11,33	429
100 µg GO/ mL	128	298	10,71	426
200 µg GO/ mL	375	348	10,65	723
400 µg GO/ mL	239	309	10,56	548
r-GO	402	337	2,91	739

Tüm grafen oksit veya indirgenmiş grafen oksit eklenmiş ortamlarda ekilen beş farklı mikroorganizmanın sıvı ortam büyüme bulguları Çizelge 5.6'da derlenmiştir. Her bir mikroorganizma türünde mikroorganizmaya özgü ortamlarda oluşturulan büyüme eğrileri incelendiğinde, ortamlarda grafen oksit bazlı materyaller bulunduğunda bile S-şeklindeki büyüme eğrileri açık bir şekilde gözlemlenmiştir. Dolayısıyla grafen oksitin antimikrobiyal özellik taşımadığı sonucuna varılmıştır.

Ortamda grafen oksit bazlı materyallerin varlığının *E.coli Nissle 1917* ve *E.coli* mikroorganizmalarında, kontrol gruplarına göre logaritmik artış evresi sürelerinin ve CFU_{max}/mL değerinin gözlenmesi için geçen sürenin artmasına neden olduğu, fakat lag fazı süresini *E.coli Nissle 1917* bakterisinde azaltırken *E.coli* bakterisinde ise arttırdığı gözlemlenmiştir. *L.acidophilus* hariç diğer tüm mikroorganizmalarda lag ve CFU_{max}/mL sürelerinde kontrol gruplarına göre belirli bir eğilim (artış ya da azalış) varken, *L.acidophilus* bakterisinde bu süreler

farklı grafen oksit derişimlerinde farklılık göstermiş olup belirli bir eğilim görülmektedir. *C.krusei* ve *C.difficile* mikroorganizmalarının grafen oksit varlığına gösterdikleri eğilim birbirleriyle paralellik taşımaya rağmen, diğer mikroorganizmalarda birbirine tamamen zıt ve/veya konsantrasyona göre değişen tepkiler elde edilmiştir.

Özellikle *E. coli Nissle 1917*, *E. coli*, *C. krusei*, *C. difficile* olmak üzere, beş farklı grafen oksit derişimine sahip ortamların çoğunda canlı mikroorganizma sayısında azalma gözlemlenmiştir. En yüksek azalma %68,58 oranla 5 µg GO/mL grafen oksitin bulunduğu ortamda *E.coli* bakterisinde tespit edilmiştir (Çizelge 5.6.). Bu azalmaların sebebinin, grafen oksitin mikroorganizmaların ikincil metabolik yolunda (yaşamsal olmayan hücre içi reaksiyonlar) bir takım değişimlere sebebiyet vermesi olduğu düşünülmektedir. Bu ortamlardaki grafen oksit moleküllerinin mikroorganizmanın hücre içerisine alınması söz konusu olmuş ve bu moleküller biyolojik reaksiyonlardan sorumlu, hayati olmayan bazı enzimleri inhibe etmiş veya enzimin aktif bölgesini değiştirerek, enzim aktivitesinde değişime neden olmuş olabilir. Sonuç olarak, mikroorganizma büyümesini sürdürebilmiş, ancak ikincil yollarla metabolizmasını gerçekleştirmiş olabilir.

Benzer değişimler *L.acidophilus* bakterisi için de söz konusudur. Ancak, indirgenmiş grafen oksitin bulunduğu ortamlarda mikroorganizma sayısında görülen azalmanın (%72,02) en fazla *L. acidophilus* bakterisinde gerçekleşmiş olması, r-GO'nun sağladığı büyük katı yüzeylerin mikroorganizmanın mikroçevresinde oluşturduğu anlık değişimlerden en baskın şekilde bu mikroorganizmanın etkilenmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu katı yüzeyler (belki) hidrofobik olmaları nedeniyle sıvı ve içerisinde çözünmüş olan besin maddelerinin erişilebilirliğini azaltmış veya katı yüzeylerdeki keskin kısımlara çarpan bu mikroorganizmanın hücre bütünlüğünü koruyamamış olabimesi, sadece bu mikroorganizmada gözlenen bu farklı tepkinin gözlenmesine neden olmuş olabilir.

Çizelge 5.6. Sıvı ortamda seçilen bütün mikroorganizmaların büyüme bulguları

	<i>E. coli</i> <i>Nissle</i> <i>1917</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. difficile</i>	<i>L. acidophilus</i>
Lag süresi	↓	↑	↓	↓	Konsantrasyona bağımlı
Log süresi	↑	↑	↓	↓	↓
CFU_{max}/mL süresi	↑	↑	↓	↓	Konsantrasyona bağımlı
MO sayısında max. azalma	(100 µg GO/mL), %36,70	(5 µg GO/mL) %68,58	(50 µg GO/mL) %42,22	(200 µg GO/mL) %67,28	(r-GO) %72,02

Lactobacillus aciophilus bakterisinin katı yüzeyle karşılaştığında davranışlarını incelemek için grafen tabakası üzerine aktif haldeki bakteri ekilerek yapılan deneyin sonucunda, hem yüzeyin sergilediği hidrofobisite nedeniyle mikroorganizmanın yüzeye tutunmakta hem de kimyasal aşındırma işlemi sonrası yüzeyde oluşan pürüzler nedeniyle yüzeydeki canlılığını korumakta sorun yaşadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5.7'de grafen oksit içerikli pamuklu kumaş üzerinde bütün mikroorganizmalarla yapılan deneylerin sonuçları verilmiştir. Buna göre kumaşın bulunduğu ortamlarda (özellikle besiyerinin bulunduğu, kumaşın yüzeyinden uzak yerlerde) mikroorganizma büyümesinin gözlemlenebilen standart bir S-eğrisi çizdiği tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların davranışları kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, *C. krusei*, *C. difficile* ve *L. acidophilus* mikroorganizmalarının lag sürelerinde azalma ve diğer iki mikroorganizmanın lag sürelerinde artış gözlemlenmiştir. Logaritmik artış evrelerinde *E. coli Nissle 1917* ve *C. krusei* mikroorganizmalarında azalma fakat diğer mikroorganizmalarda artış görülmektedir. *L. acidophilus* CFU/mL_{max} değeri ve CFU/mL_{max} süresi açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında herhangi bir farklılık göstermediği gözlemlenmiştir. CFU_{max} değerinde diğer bütün

mikroorganizmalarda azalma görülürken (Çizelge 5.7), CFU/mL_{max} süresi sadece *C. krusei* ve *C. difficile* mikroorganizmalarında azalma göstermiştir.

Çizelge 5.7. Grafen oksit içerikli kumaş ortamında bütün mikroorganizmaların büyüme bulguları

	<i>E.coli</i> <i>Nissle</i> <i>1917</i>	<i>E.coli</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.difficile</i>	<i>L.acidophilus</i>
Lag süresi	↑	↑	↓	↓	↓
Log süresi	↓	↑	↓	↑	↑
CFU_{max}/mL süresi	↑	↑	↓	↓	↔
CFU_{max}/mL	↓	↓	↓	↓	↔

Çalışmanın farklı derişimlerde grafen oksit eklenmiş sıvı ve grafen oksit emdirilmiş kumaş eklenmiş katı ortamlarda gerçekleştirilmiş deneylerin sonuçları bütünsel olarak dikkate alındığında, *E. coli* ve *C. krusei* mikroorganizmaların sıvı ortamda gösterdiği eğilimle kumaş ortamında gösterdiği eğilimin aynı olduğu tespit edilmiştir. Kumaşla yapılan deneylerde (Çizelge 5.7) *L. acidophilus* bakterisi haricindeki bütün mikroorganizmaların bulgularının, sıvı ortam deneylerinin bulgularıyla (Çizelge 5.6) paralel olduğu görülmektedir. Dolayısıyla, sıvı ortamda grafen oksitin hücre içinde ikincil metabolik faaliyetlerden sorumlu enzimlerin yapısında değişikliğe neden olabildiği öngörüsünün, kumaş içeren ortam deneylerinde de kumaşta bulunan grafen oksit materyalinin sıvı besiyeri içerisine difüzlenmesiyle gerçekleştiği düşünülmektedir. *L. acidophilus* bakterisinin sıvı ortam deney sonuçlarında olduğu gibi kumaş deney sonuçlarında da diğer mikroorganizmalardan farklı davrandığı görülmektedir. *L. acidophilus* bakterisinin hücre zarının, ortama eklenen katı materyallere çarpmasına ve/veya katı mikroçevresindeki değişimlere diğer mikroorganizmalara oranla daha çok etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tez kapsamında, kullanılan grafen materyalleri (grafen oksit, indirgenmiş grafen oksit ve katı grafen yüzeyleri) ve seçilen mikroorganizmalarla gerçekleştirilen deneylerin sonuçlarında, tüm sıvı ve katı ortamlarda mikroorganizmaların gelişimini gösteren standart S-egşrileri elde edilmiştir. Bu büyüme eğşrilerinde açıkça görölen logaritmik artış evresi nedeniyle, kullanılan grafen oksit materyallerinin mikroorganizmaların üzerinde antimikrobiyal etkisinin varlığına delil olacak şekilde ölmelerine sebep olmadığı sonucuna varılmıştır. Mikroorganizma sayısındaki farklılıkların hidrofobosite, yüzey pürüzlülüğü ve hücre içine alınan grafen oksitin ikincil metabolik yollarda yarattığı değişimlerden kaynaklandığı hem sıvı hem de katı ortamlarda doğrulanmıştır. Çalışmanın son kısmında mikroorganizma çeşidi, grafen oksit derişimi ve grafen oksit emdirilmiş kumaş boyutu parametrelerinin hem birbirleriyle ilişkisi hem de mikrobiyal büyüme üzerindeki etkileri çoklu optimizasyon tekniği kullanılarak incelenmiştir. Bütün istatistiksel analizlerin ve prosesin fiziksel anlamda uygun şekilde ifade edildiğinin doğrulandığı kuadratik model denklemi kullanılarak üretilen yüzey grafikleri ile kumaş boyutu ve grafen oksit derişimi ne olursa olsun mikroorganizma büyümesinin gerçekleştiği, mikrobiyal büyümenin sadece ortamda mevcut olan besinin kullanım hızından dolayı mikroorganizma çeşitliliğine bağlı olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, ortamda grafen oksitin sıvıya dağılmış veya katıya emdirilmiş halde eklenmesinin mikrobiyal büyüme üzerinde etkisiz olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Akhavan, O., Ghaderi, E., 2010. Toxicity of Graphene and Graphene Oxide Nanowalls Against Bacteria, *American Chemical Society Nano*(10), 5731-5736.
- Al-Thani, R., Patan, N., Al-Maadeed, M. A., 2014. Graphene oxide as antimicrobial against two gram-positive and two gram-negative bacteria in addition to one fungus, *Online Journal of Biological Sciences*(3), 230-239.
- Ambrosi, A., Chua, C. K., Bonanni, A., & Pumera, M., 2012. Lithium Aluminum Hydride as Reducing Agent for Chemically Reduced Graphene Oxides. *Chemistry of Materials*(12), 2292-2298.
- An, Butler T. W., Washington M., Nayak, S. K., Kar, S., 2011. Optical and Sensing Properties of 1-Pyrenecarboxylic Acid-Functionalized Graphene Films Laminated on Polydimethylsiloxane Membranes, *American Chemical Society Nano*.
- Ataca, C., Aktürk, E., Ciraci, S., Ustunel, H., 2008. High-capacity hydrogen storage by metallized graphene *Applied Physics Letters* (93).
- Avouris, P., Dimitrakopoulos, C., 2012. Graphene: synthesis and applications, *Materials Today* (15).
- Balandin, A. A., Ghosh S, Bao, W., Calizo, I., Teweldebrhan, D., Miao, F., Lau, C.N., 2008. Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene, *American Chemical Society Nano*.
- Balci, S., Yigitarslan, S., 2017. Optimization of Ultrasonic Extraction of Total Flavonoids from *Cinnamomum zeylanicum*, *International Journal of Secondary Metabolite*(4).
- Baş, D., Boyacı, İ.H., 2006. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology, *Journal of Food Engineering* (78).
- Brodie, B. C., 1859. On the Atomic Weight of Graphite. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 249-259.
- Buckminster Fuller, R. 1984. In the artifacts of R. Buckminster Fuller. A comprehensive collection of his designs and drawings, Garland Publishing, Newyork.
- Burchell, T., D., 1999. Carbon Material for Advanced Technologies. Pergamon, 537.

- Chen, W. F., Yan, L. F., & Bangal, P. R., 2010. Chemical Reduction of Graphene Oxide to Graphene by Sulfur-Containing Compounds. *Journal of Physical Chemistry C* (47), 19885- 19890.
- Chen, J., Yao, B. W., Li, C., Shi, G. Q., 2013. An improved Hummers method for eco-friendly synthesis of graphene oxide. *Carbon*(64), 225-229.
- Choi, H. J., Jung, S. M., Seo, J. M., Chang, D. W., Daic, L., L., Baek, B. 2012. Graphene for energy conversion and storage in fuel cells and supercapacitors, *Nano Energy*(1), 534-551.
- Chua, C. K., & Pumera, M., 2014. Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry viewpoint. *Chemical Society Reviews*, 43(1), 291- 312.
- Coraux, J., N'Diaye, A. T., Busse, C., & Michely, T., 2008. Structural coherency of graphene on Ir(111). *Nano Letters* (2), 565-570.
- Das, R. D., Sarma, R. K., Saikia, R., Kale, V. S., Shelke, M. V., Sengupta, P., 2011. Synthesis of silver nanoparticles in an aqueous suspension of graphene oxide sheets and its antimicrobial activity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*(1), 16-22.
- Çakmak, N., Temel, Ü., Yapıcı, K., 2017. Grafen Oksit-Su Nanoakışkanlarının Reolojik Davranışlarının İncelenmesi, *Cumhuriyet Science Journal* (38-4), 176-183.
- Değirmencioğlu, A., Yazgı, A., 2006. Tepki yüzeyleri metodolojisi “optimizasyon esaslı çalışmalara ilişkin teorik esaslar ve tarımsal mekanizasyon uygulamaları” , *Tarım makinaları bilimi dergisi*(2).
- Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W., & Ruoff, R. S., 2010. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews* (1).
- Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., Ferreira, H.S., Matos, G.D., David, J.M., Brandao, G.C., Silva, E.G.P., Portugal, L.A., Reis, P.S., Souza, A.S., Santos, W.N.L., 2007. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods, *Analytica Chimica Acta*.
- Gass, S.I. (2000), Making Decisions with Precision, Erişim Tarihi: 15.06.2019. http://www.businessweek.com/archives/2000/b3705139.arc.htm?campaign_id=search#B3705139
- Gurunathan, S., Han, J. W., Dayem, A. A., Eppakayala, V., Kim, J. H., 2012. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*, *International Journal of Nanomedicine*(7), 5901-5914.

- İskender, S., 2004. Güçlü ve büyük Türk ekonomisi için üretim ve istihdam politikaları, Tütev Teknik, 4 (8): 10-17.
- Jesus de La Fuente, CEO Graphenea. Erişim Tarihi: 28.05.2019. <https://www.graphenea.com/collections/graphene-oxide>
- Kolankaya, N., 2000, Biyoteknolojiye bir bakış, Küreselleşme Sürecinde Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Sempozyum Bildirileri (23-24 Ekim 2000), Ankara, 1-6
- Kroto, H. W., Heath J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., Smalley, R. E., 1985.Nature(London)318, 162-163
- Kroto H W. 1982. Scmislable molecules in the laboratory and space. Chem. Soc. Rev. 11:435-91.
- Küçükgül, E., Y., 2004. Ticari Aktif Karbon Üretimi ve Özelliklerinin Belirlenmesi, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi (3), 41-56.
- Kwak, Y. H., Choi, D. S., Kim, Y. N., Kim, H., Yoon, D. H., Ahn, S.-S., Yang, J.-W.; Yang, W. S., Seo, S. 2012. Biosens. Bioelectron (37, 82).
- Kwon, S. Y., Ciobanu, C. V., Petrova, V., Shenoy, V. B., Bareno, J., Gambin, V., Kodambaka, S., 2009. Growth of Semiconducting Graphene on Palladium. Nano Letters(12).
- Liu Y, Zhang Y, Ma G, Wang Z, Liu K, Liu H., 2013. Ethylene glycol reduced graphene oxide/polypyrrole composite for supercapacitor, Electrochimica Acta(88), 519-525.
- Liu, Z., Robinson, J. T., Sun, X., Dai, H., 2008. PEGylated Nanographene Oxide for Delivery of Water-Insoluble Cancer Drugs, Journal of American Chemical Society.
- Liu S., Zeng T.H., Hofmann M., Burcombe E., Wei J., Jiang R.,2011. Antibacterial activity of graphite, graphite oxide, graphene oxide, and reduced graphene oxide: membrane and oxidative stress. American Chemical Society Nano(5), 96971-96980.
- Mattevi, C., Kim, H., Chhowalla, M., 2011. A review of chemical vapour deposition of graphene on copper. Journal of Materials Chemistry(10).
- Mehta, M. D., Gair, J. J., 2001. Social, political, legal and ethical areas of inquiry in biotechnology and genetic engineering, Technology in Society, 23 (2): 241-264.

- Mindivan, F., 2019. Grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (RGO) dolgulu PVC kompozitlerin mekanik özelliklerinin karşılaştırılması, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilim Dergisi, 25(1), 43-48.
- Morgan I., Fink C. E., 1989. Activated Carbon Production, Chem. Ind. Eng. 2, 219.
- Musumeci, T., G. Puglisi, 2013. Antimicrobial Agent, Drug-Biomembrane Interaction Studies.
- Nayak, T. R., Andersen, H.; Makam, V. S.; Khaw, C., Bae, S., Xu, X., Ee, P. L., Ahn, J. H., Hong, B. H., Pastorin, G., Ozyilmaz, B., 2011. American Chemical Society Nano, 5, 4670.
- Nathan O. W., Hailong Z., Lei L., Yuan L., Shan J., Yu H., Xiangfeng D., 2012. Graphene: An Emerging Electronic Material, Advanced Materials(24).
- Norit, 1983. Activated Carbon Main Grades of Norit Activated Carbon and their Applications, Amersfoort, The Netherlands.
- Novoselov, K. S., Geim, A.,K., Morozov, S.V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S., 2004. Electric field effect in atomically thin carbon films. Science, 306, 666-669.
- O Kimya Kimyevi Maddeler San. Ve Tic. Ltd. Şti, Certificate Of Analysis, 2018. <https://okimya.com/wp-content/uploads/2018/10/AKT%C4%B0F-KARBON-ANAL%C4%B0Z-SERT%C4%B0F%C4%B0KASI.pdf>
- Obraztsov, A. N.,2009. CHEMICAL VAPOUR DEPOSITION Making graphene on a large scale. Nature Nanotechnology(4), 212-213.
- Özgen, Ö., Emiroğlu, H., Yıldız, M., Puruçcuoğlu, E., 2007. Tüketiciler ve Modern Biyoteknoloji: Model yaklaşımlar, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yayınları(1), 254s.
- Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N., Sancak, C., 2005. Tarım teknolojilerinde yeni yaklaşımlar ve uygulamalar: bitki biyoteknolojisi, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi, Ankara, 315-346.
- Park, S., Ruoff, R. S., 2009. Chemical methods for the production of graphenes. Nature Nanotechnology(4).
- Pamir, H., Biyoteknoloji eğitimi, Akdeniz üniversitesi ziraat fakültesi, gıda dergisi sayı 1, 1986 .
- Pei, S. F., & Cheng, H. M., 2012. The reduction of graphene oxide. Carbon(9).
- Perreault, F., Faria, A. F., Nejati, S., Elimelech, M., 2015. Antimicrobial Properties of Graphene Oxide Nanosheets: Why Size Matters, American Chemical Society Nano(7), 7226-7236.

- Reina, A., Jia, X. T., Ho, J., Nezich, D., Son, H. B., Bulovic, V., Kong, J., 2009. Large Area, FewLayer Graphene Films on Arbitrary Substrates by Chemical Vapor Deposition. Nano Letters(1).
- Rohlfing, E.A., Cox, D. M., Kaldor, A., 1984. J.chem. Physics (81), 3322.
- Ryoo, S.-R., Kim, Y.-K., Kim, M.-H., Min, D.-H., 2010. American Chemical Society, Nano(4) 6587.
- Sağlam, B., 2003, İlköğretim öğrencilerinde biyoteknoloji kavramının geliştirilmesi, Marmara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Schniepp, H. C., Li, J. L., McAllister, M. J., Sai, H., Herrera-Alonso, M., Adamson, D. H., Aksay, I. A. (2006). Functionalized single graphene sheets derived from splitting graphite oxide, Journal of Physical Chemistry (17).
- Si, Y., & Samulski, E. T., 2008. Synthesis of water soluble graphene. Nano Letters(6).
- Sun, Y., Wu, Q., Shi, G., 2011.Graphene Based New Energy Materials, Journal of Energy and Environmental Science(4).
- Şengül F., Küçükgül E. Y., 2001. Çevre Mühendisliğinde Fiziksel-Kimyasal Temel İşlemler ve Süreçler, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları(153).
- Thcoboglanous W.M., 1991. Wastewater Engineering Treatment-Disposal-Reuse 3rd. Ed. McGraw-Hill Int., USA.
- TÜSİAD, 2000. Uluslararası Rekabet Stratejileri: Biyoteknoloji, TÜSİAD Yayın (12/289), İstanbul.
- Tiyek, İ., Yazıcı, M., Ersoy, M. S., Alma, M. H., Dönmez, U., Yıldırım, B., Salan, T., Karataş, Ş., Yıldız, K., 2016. Modifiye Hummers Yöntemiyle Grafen Oksit (GO) Sentezi ve Karakterizasyonu, Gazi University Journal of Science 4(2):41-48.
- Türkay, M., 2011. Optimizasyon modelleri ve çözüm metodları, Koç üniversitesi Endüstri mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- Wang, Y., Li, Z., Wang, J., Li, J., Lin, Y., 2011.Graphene and Graphene Oxide: Biofunctionalization and Applications in Biotechnology, Trends in biotechnology(29).
- Wang H, Yuan X, Wu Y, Huang H, Peng X, Zeng G, Zhong H, Liang J, Ren M., 2013. Graphene-Based Materials: fabrication, characterization and application for the decontamination of wastewater and wastegas and hydrogen storage/generation, Advances in Colloid and Interface Science(19-40) 195-196.

Wikizero, Erişim Tarihi: 21.05.2019. <https://www.wikizero.com/tr/Grafen>

Xue, D., Tisdell, C., 2000. Safety and socio-economic issues raised by modern biotechnology, *International Journal of Social Economics*, 27 (7): 699-708.

Zang, Y., Zhang, L., Zhou, C., 2012. Review of Chemical Vapor Deposition of Graphene and Related Applications, Department of Chemical Engineering and Materials Science.

Zhu, S., Li, T., 2014. Hydrogenation-Assisted Graphene Origami and Its Application in Programmable Molecular Mass Uptake, Storage, and Release, *American Chemical Society*(8).

Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Won J., Jeffrey S., Rodney, R. P., Ruoff, S., 2010. Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications, *Advanced Materials*(35).

Zhu, Y. W., Murali, S., Stoller, M. D., Velamakanni, A., Piner, R. D., Ruoff, R. S., 2010. Microwave assisted exfoliation and reduction of graphite oxide for ultracapacitors. *Carbon*, 48(7), 2118 -2122.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve KAŞ
Doğum Yeri ve Yılı : Antalya, 1994
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : merveekas@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Konyaaltı Anadolu Lisesi, 2009
Lisans : SDÜ, Kimya Mühendisliği, 2016

Mesleki Deneyim

AGT Ağaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Üretim Stajı) 2015
Levent Kimya San. ve Tic. A.Ş. (Laboratuvar Stajı) 2014

Yayınlar- Kongre Bildirileri

- Kaş, M., Yiğitarıslan, S., 2019. Investigation of antimicrobial properties of graphene based materials in solid and liquid medium, Global Journal of Engineering Science and Researches, Cilt 6, Sayı 3, 219-231.
- Uslu, A., Kaş, M., Yiğitarıslan, S., 2019. Investigation Of The Effects Of Glucosinolates And Isothiocynates Produced Under Different Conditions On Growth Of Probiotic Bacteria, 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, Abstract Book-Full text.
- Bayraktar, M., Kaş, M., Yiğitarıslan, S., 2019. Investigation of The Effect of Protein-Polyphenol Complex on the Growth of Microorganisms, 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, Abstract Book- Full text.

Yakup, M., Kaş, M., Yiğitarıslan, S., 2019. Investigation of the effects of glucosinolates and isothiocynates produced from cauliflower and under different conditions on growth of probiotic bacteria, 3. International Conference on Agriculture, Food, Veterinary and Pharmacy Sciences, Abstract Book- Full text.

Kaş, M., Yiğitarıslan, S., 2016. Screening of quercetin content of *Rosmarinus officinalis* with ResponseSurface Methodology, Symposium on EuroAsian Biodiversity Abstract Book, Sayfa 169.

