

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**QUORUM QUENCHING MEMBRAN BİYOREAKTÖRLERDE KULLANILAN  
İMMOBİLİZASYON MEDYALARINDA MALZEME TERCİHİNİN  
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Semanur SOYLU**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Çevre Bilimleri, Mühendisliği ve Yönetimi Programı**

**KASIM 2023**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**QUORUM QUENCHING MEMBRAN BİYOREAKTÖRLERDE KULLANILAN  
İMMOBİLİZASYON MEDYALARINDA MALZEME TERCİHİNİN  
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Semanur SOYLU  
(501211726)**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Çevre Bilimleri, Mühendisliği ve Yönetimi Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Börte KÖSE MUTLU**

**KASIM 2023**



İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 501211726 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Semanur SOYLU, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “QUORUM QUENCHING MEMBRAN BİYOREAKTÖRLERDE KULLANILAN İMMOBİLİZASYON MEDYALARINDA MALZEME TERCİHİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Doç. Dr. Börte KÖSE MUTLU** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Dr. Öğr. Üyesi Recep KAYA** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Doç. Dr. Mehmet Safa BODUR** .....  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Teslim Tarihi** : **01 Kasım 2023**  
**Savunma Tarihi** : **14 Kasım 2023**





*Aileme ve eşime,*



## ÖNSÖZ

Tez çalışmamı yapmama olanak sağlayan, Prof. Dr. Dincer Topacık Ulusal Membran Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin tüm imkanlara ulaşmama yardımcı olan Sayın Prof. Dr. İsmail KOYUNCU'ya çok teşekkür ederim. Tez çalışmam kapsamında yardımları ve yol göstericiliği için tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Börte KÖSE MUTLU'ya, tez çalışmalarımı beraber yürüttüğüm değerli meslektaşım Rabia Ardıç'a ve tez süresince desteğini esirgemeyen Merve Yılmaz'a çok teşekkür ederim. Prof. Dr. Dincer Topacık Ulusal Membran Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde çalışan tüm çalışma arkadaşlarıma ve hocalarıma tez çalışmam boyunca sağladıkları katkı için teşekkür ederim.

Tez çalışmam TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) tarafından 121Y199 nolu proje kapsamında mali olarak desteklenmiştir. Maddi destekleri için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 44035 proje numarası ile mali olarak desteklenmiştir. Maddi destekleri için İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Son olarak her kararında beni destekleyen ve yanımda olan annem Sevgi Korkusuz, babam Mehmet Korkusuz, kız kardeşlerim Nisanur Korkusuz, Begüm Korkusuz ve eşim Ramazan Soylu'ya teşekkür ederim.

Kasım 2023

Semanur Soylu  
(Çevre Mühendisi)



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xix</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xxi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Tezin Amacı .....	1
1.2 Tezin Kapsamı.....	2
<b>2. LİTERATÜR ÇALIŞMASI</b> .....	<b>3</b>
2.1 Membran Biyoreaktör ve Biyotıkanma .....	3
2.1.1 Membran biyoreaktör .....	3
2.1.2 Membran tıkanması/biyotıkanma .....	4
2.2 Yetersayı Etkisi (Quorum Sensing) ve Yetersayı Etkisinin Azaltılması (Quorum Quenching) .....	7
2.2.1 Yetersayı etkisi (quorum sensing).....	7
2.2.2 Yetersayı etkisinin azaltılması (quorum quenching) .....	11
2.3 İmmobilizasyon Medyası ve QQ-Membran Biyoreaktör.....	16
2.3.1 İmmobilizasyon medyası tanımı .....	16
2.3.2 QQ-Membran biyoreaktör.....	19
<b>3. MATERYAL-METOT</b> .....	<b>21</b>
3.1 Ürünlerin Hazırlanması .....	21
3.1.1 Bakteriyel suşlar ve büyüme koşulları .....	21
3.1.1.1 Stok oluşturma .....	21
3.1.1.2 Sıvı besi yeri hazırlama .....	22
3.1.1.3 Katı besi yeri hazırlama .....	22
3.1.1.4 Katı ve sıvı besi yerine bakteri ekimi.....	23
3.1.1.5 Büyüyen bakterinin sıvı besi ortamında çoğaltılması .....	24
3.1.1.6 Büyüyen bakterinin katı besi ortamında çoğaltılması.....	24
3.1.2 Kontrol boncuk üretimi .....	25
3.1.2.1 Sodyum aljinat kontrol boncuk .....	25
3.1.2.2 Polivinil alkol (PVA) kontrol boncuk .....	27
3.1.2.3 Manyetik nanokompozit kontrol boncuk .....	29
3.1.2.4 Çitosan manyetik kontrol boncuk .....	31
3.1.2.5 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk.....	33
3.1.2.6 Sodyum aljinat kontrol düz plaka .....	34
3.1.3 QQ boncuk üretimi.....	35
3.2 Karakterizasyon Analizleri.....	36
3.2.1 QQ aktivite testi .....	36

3.2.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	38
3.2.3 Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi (FTIR) .....	38
3.2.4 Biyoreaktörde dayanıklılık .....	38
3.2.5 Porozite .....	39
<b>4. DENEYSEL SONUÇLAR .....</b>	<b>41</b>
4.1 QQ Aktivite Testi .....	41
4.1.1 <i>Rhodococcus</i> sp. BH <sub>4</sub> QQ aktivitesi .....	41
4.1.2 <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) QQ aktivitesi .....	42
4.1.3 Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi .....	43
4.1.4 PVA boncuk QQ aktivitesi .....	44
4.1.5 Manyetik nanokompozit boncuk QQ aktivitesi .....	45
4.1.6 Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi .....	46
4.1.7 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi .....	47
4.1.8 Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi .....	48
4.2 Karakterizasyon Analizleri .....	49
4.2.1 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	49
4.2.1.1 Sodyum aljinat kontrol boncuk .....	50
4.2.1.2 Sodyum aljinat QQ boncuk .....	51
4.2.1.3 PVA kontrol boncuk .....	52
4.2.1.4 PVA QQ boncuk .....	53
4.2.1.5 Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> partikülü .....	54
4.2.1.6 Manyetik nanokompozit kontrol boncuk .....	55
4.2.1.7 Manyetik nanokompozit QQ boncuk .....	56
4.2.1.8 Çitosan manyetik kontrol boncuk .....	57
4.2.1.9 Çitosan manyetik QQ boncuk .....	58
4.2.1.10 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk .....	58
4.2.1.11 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk .....	59
4.2.1.12 Sodyum aljinat kontrol düz plaka .....	60
4.2.1.13 Sodyum aljinat QQ düz plaka .....	61
4.2.2 Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi (FTIR) .....	63
4.2.2.1 Sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk .....	63
4.2.2.2 PVA kontrol ve QQ boncuk .....	64
4.2.2.3 Manyetik nanokompozit kontrol ve QQ boncuk .....	65
4.2.2.4 Çitosan manyetik kontrol ve QQ boncuk .....	66
4.2.2.5 PES kaplı sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk .....	67
4.2.2.6 Sodyum aljinat kontrol ve QQ düz plaka .....	68
4.2.3 Malzeme Dayanıklılığı .....	69
4.2.3.1 Reaktörde dayanım denemeleri .....	69
4.2.3.2 Porozite .....	72
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>75</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>79</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>85</b>

## KISALTMALAR

<b>AHL</b>	: N-Acil Homoserinlakton
<b>AIP</b>	: Oto-İndükleyici Peptitler
<b>AKM</b>	: Askıda Katı Madde
<b>C8-HSL</b>	: 8 Karbon Bağlı Uzantısı Olan Homoserin Lakton
<b><i>E. Coli</i></b>	: <i>Escherichia Coli</i>
<b>EDX</b>	: Enerji Dağıtıcı X-Işını Spektroskopisi
<b>EPS</b>	: Hücre Dışı Polimerik Madde
<b>FTIR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
<b>LB</b>	: Luria Broth
<b>MABR</b>	: Membran Aerobik Biyoreaktör
<b>MBR</b>	: Membran Biyoreaktör
<b>MF</b>	: Mikrofiltrasyon
<b>MLSS</b>	: Karışık Sıvıdaki Askıda Katı Madde
<b>NMP</b>	: N-Methyl-Pyrrolidone
<b>PES</b>	: Polietersülfon
<b>PVA</b>	: Polivinil Alkol
<b>QQ</b>	: Quorum Quenching
<b>QS</b>	: Quorum Sensing
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu
<b>SMP</b>	: Çözünür Mikrobiyal Ürünler
<b>SRT</b>	: Çamur Yaşı
<b>TMP</b>	: Transmembran Basıncı
<b>UAKM</b>	: Uçucu Askıda Katı Madde
<b>UF</b>	: Ultrafiltrasyon



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1</b> : AHL ve kontrol ettiği davranışlar (Williams, 2007).....	<b>8</b>
<b>Çizelge 2.2</b> : Aktif çamurdan izole edilen QQ mikroorganizmaları.....	<b>14</b>
<b>Çizelge 4.1</b> : Kontrol medyaları porozite ağırlık ölçüm sonuçları. ....	<b>72</b>
<b>Çizelge 4.2</b> : QQ medyaları porozite ağırlık ölçüm sonuçları. ....	<b>73</b>





## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1 : MBR’lerde membran tıkanma mekanizması: (a) por tıkanması ve (b) kek tabakası (Meng ve diğerleri, 2009). ....	4
Şekil 2.2 : MBR parametreleri ile tıkanma arasındaki ilişki (Ghasemzadeh Momen, 2015). ....	5
Şekil 2.3 : Biyolojik kirlilik kontrolü için QS sinyal yolları ve olası QQ stratejileri (Jiao ve diğerleri, 2020). ....	16
Şekil 2.4 : QQ MBR’ler için geliştirilmiş ve test edilmiş QQ ortamının türleri ve yapıları (Jiao ve diğerleri, 2020). ....	17
Şekil 3.1 : QQ bakterisinin ekimi/ büyütülmesi/ stok oluşturulması döngüsü. ....	21
Şekil 3.2 : Otoklav cihazı. ....	22
Şekil 3.3 : Laminer kabin. ....	22
Şekil 3.4 : Katı besi yeri (agar). ....	23
Şekil 3.5 : Bakterinin sıvı besi ortamında çoğaltılması. ....	23
Şekil 3.6 : İnkübatör. ....	24
Şekil 3.7 : Sıvı besi yerinde bakteri çoğaltılması. ....	24
Şekil 3.8 : Katı besi ortamında bakteri çoğaltılması. ....	25
Şekil 3.9 : Sodyum aljinat boncuk çözeltisi. ....	26
Şekil 3.10 : Sodyum aljinat boncuk üretimi. ....	26
Şekil 3.11 : Üretilen sodyum aljinat boncuklar. ....	26
Şekil 3.12 : Sodyum aljinat boncuk boyutu. ....	27
Şekil 3.13 : PVA boncuk üretimi. ....	28
Şekil 3.14 : Üretilen PVA boncuklar. ....	28
Şekil 3.15 : PVA boncukların boyutu. ....	29
Şekil 3.16 : Sentezlenen manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> partikülü. ....	30
Şekil 3.17 : Manyetik nanokompozit boncuk çözeltisi. ....	30
Şekil 3.18 : Üretilen manyetik nanokompozit boncuk. ....	31
Şekil 3.19 : Çitosan manyetik boncuk çözeltisi. ....	32
Şekil 3.20 : Çitosan manyetik boncuk üretimi. ....	32
Şekil 3.21 : Üretilen çitosan manyetik boncuklarda görülen mıknatıs etkisi. ....	33
Şekil 3.22 : Üretilen PES kaplı sodyum aljinat boncuk. ....	34
Şekil 3.23 : Sodyum aljinat düz plaka üretimi. ....	35
Şekil 3.24 : Üretilen sodyum aljinat düz plaka. ....	35
Şekil 3.25 : Santifüjlenmiş sıvı besi yeri. ....	36
Şekil 3.26 : QQ aktivite ölçüm cihazı. ....	37
Şekil 3.27 : QQ aktivite ölçümü için hücrelere Beta-Glo eklenmesi. ....	38
Şekil 4.1 : <i>Rhodococcus</i> sp. BH <sub>4</sub> bakterisi QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	41
Şekil 4.2 : <i>Rhodococcus</i> sp. BH <sub>4</sub> QQ aktivitesi grafiği. ....	41
Şekil 4.3 : <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) bakterisi QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	42
Şekil 4.4 : <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) bakterisi QQ aktivitesi grafiği. ....	42
Şekil 4.5 : Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	43

Şekil 4.6 : Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi grafiği. ....	43
Şekil 4.7 : PVA boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.....	44
Şekil 4.8 : PVA boncuk QQ aktivitesi grafiği. ....	44
Şekil 4.9 : Manyetik boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	45
Şekil 4.10 : Manyetik boncuk QQ aktivitesi grafiği. ....	45
Şekil 4.11 : Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	46
Şekil 4.12 : Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi grafiği. ....	46
Şekil 4.13 : PES kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği. ....	47
Şekil 4.14 : PES kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi grafiği. ....	47
Şekil 4.15 : Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi standardı grafiği.....	48
Şekil 4.16 : Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi grafiği. ....	48
Şekil 4.17 : Bakterili medya çeşitlerinin QQ aktivite grafiği. ....	49
Şekil 4.18 : Sodyum aljinat kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b: 5000x). ..	50
Şekil 4.19 : Sodyum aljinat kontrol boncuk kesit görüntüsü (100x). ....	50
Şekil 4.20 : Sodyum aljinat QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:5000x). ....	51
Şekil 4.21 : Sodyum aljinat QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:5000x).....	51
Şekil 4.22 : PVA kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:1000x).....	52
Şekil 4.23 : PVA kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x).....	52
Şekil 4.24 : PVA QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:1000x). ....	53
Şekil 4.25 : PVA QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x). ....	53
Şekil 4.26 : Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> partikülü SEM görüntüsü (100 000x).....	54
Şekil 4.27 : Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> partikülü EDX sonucu. ....	54
Şekil 4.28 : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:1000x). ....	55
Şekil 4.29 : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:5000x). ....	55
Şekil 4.30 : Manyetik nanokompozit QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:5000x). ....	56
Şekil 4.31 : Manyetik nanokompozit QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:5000x). .....	56
Şekil 4.32 : Çitosan-manyetik kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:10 000x). .....	57
Şekil 4.33 : Çitosan-manyetik kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x)..	57
Şekil 4.34 : Çitosan-manyetik QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:10 000x)..	58
Şekil 4.35 : Çitosan-manyetik QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:10 000x). ....	58
Şekil 4.36 : Polietersülfon (PES) Kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 60x, b:10 000x). ....	59
Şekil 4.37 : Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 49x, b:2000x). ....	59
Şekil 4.38 : Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 55x, b:5000x). ....	60
Şekil 4.39 : Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 51x, b:5000x). ....	60
Şekil 4.40 : Sodyum aljinat kontrol düz plaka yüzey görüntüsü (a: 150x, b:2000x).	61
Şekil 4.41 : Sodyum aljinat kontrol düz plaka kesit görüntüsü (a: 150x, b:2000x)..	61
Şekil 4.42 : Sodyum aljinat QQ düz plaka kesit görüntüsü (a: 100x, b:2000x). ....	62
Şekil 4.43 : Sodyum aljinat QQ düz plaka kesit görüntüsü (a: 250x, b:5000x). ....	62
Şekil 4.44 : Sodyum aljinat kontrol boncuk FTIR sonucu. ....	63
Şekil 4.45 : Sodyum aljinat QQ boncuk FTIR sonucu. ....	63
Şekil 4.46 : PVA kontrol boncuk FTIR sonucu. ....	64

<b>Şekil 4.47</b> : PVA QQ boncuk FTIR sonucu. ....	<b>64</b>
<b>Şekil 4.48</b> : Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanopartikül FTIR sonucu. ....	<b>65</b>
<b>Şekil 4.49</b> : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk FTIR sonucu. ....	<b>65</b>
<b>Şekil 4.50</b> : Manyetik nanokompozit QQ boncuk FTIR sonucu. ....	<b>66</b>
<b>Şekil 4.51</b> : Çitosan manyetik kontrol boncuk FTIR sonucu. ....	<b>66</b>
<b>Şekil 4.52</b> : Çitosan manyetik QQ boncuk FTIR sonucu. ....	<b>67</b>
<b>Şekil 4.53</b> : PES kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk FTIR sonucu. ....	<b>67</b>
<b>Şekil 4.54</b> : PES kaplı sodyum aljinat QQ boncuk FTIR sonucu. ....	<b>68</b>
<b>Şekil 4.55</b> : Sodyum aljinat kontrol düz plaka FTIR sonucu. ....	<b>68</b>
<b>Şekil 4.56</b> : Sodyum aljinat QQ düz plaka FTIR sonucu. ....	<b>69</b>
<b>Şekil 4.57</b> : Reaktörde dayanım deneyi görünümü. ....	<b>70</b>
<b>Şekil 4.58</b> : Sodyum aljinat, PVA, manyetik nanokompozit ve çitosan-manyetik kontrol boncukları reaktörde dayanım sonuçları. ....	<b>70</b>
<b>Şekil 4.59</b> : Sodyum aljinat, PVA, manyetik nanokompozit ve çitosan-manyetik QQ boncukları reaktörde dayanım sonuçları. ....	<b>71</b>
<b>Şekil 4.60</b> : PES kaplı sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk & sodyum aljinat kontrol ve QQ düz plaka reaktörde dayanım sonuçları. ....	<b>72</b>
<b>Şekil 4.61</b> : Kontrol medyalarda porozite sonucu. ....	<b>73</b>
<b>Şekil 4.62</b> : QQ medyalarda porozite sonucu. ....	<b>74</b>



# QUORUM QUENCHING MEMBRAN BİYOREAKTÖRLERDE KULLANILAN İMMOBİLİZASYON MEDYALARINDA MALZEME TERCİHİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

## ÖZET

Geleneksel aktif çamur sistemleri uzun yıllar kullanılarak günümüze kadar ulaşmıştır. Geleneksel aktif çamur sistemlerini kullanan arıtma tesisleri artan nüfus yoğunluğu, alan ihtiyacı gibi nedenlerden dolayı gelişmeye ve farklılaşmaya açık hale gelmiştir. Günümüzde en çok kullanılan yenilikçi atık su arıtma sistemleri arasında membran biyoreaktörler (MBR'ler) yer almaktadır. MBR sistemleri geleneksel aktif çamur sistemlerine kıyasla daha az alanda, yüksek çıkış su kalitesi sunmaktadır.

MBR'lerin kullanımının yaygınlaşması çeşitli konfigürasyonları da beraberinde getirmiştir. Bu konfigürasyonların meydana gelmesinde en önemli etkenlerden biri membranların tıkanma problemidir. Membranlarda biyotıkanma membran ömrünü azaltarak maliyeti artıran bir etkidir. Biyotıkanma problemi ele alınarak tasarlanan Quorum Quenching MBR, klasik MBR modeline kıyasla daha avantajlı işletme süreci sağlamaktadır.

Bakteri hücreleri, popülasyon arttıkça çevrelerinde biriken, genellikle yayılabilen, düşük moleküler ağırlıklı sinyal molekülleri üretir. Molekül konsantrasyonu bir eşik değerini aştığında, sinyal yolları aktive olur ve bakteriler, popülasyon boyunca uyumlu bir şekilde gen ekspresyonunu değiştirerek ve fizyolojik süreçleri modüle ederek yanıt verir. Bu tür hücreler arası iletişimin iyi karakterize edilme durumuna “Yetersayı Etkisi/Quorum Sensing (QS)” denir.

Yenilikçi bir yaklaşım olan “Yetersayı Etkisinin Azaltılması/Quorum Quenching (QQ)” yaklaşımı ile membran biyotıkanmasını geciktirmenin mümkün olduğu görülmüştür. Yetersayı etkisi adı verilen bakteriler arasındaki iletişimi sağlayan mekanizmayı bozmaya yönelik çalışan QQ mekanizması ile bakterilerin membran üzerinde birikmesi ve kek tabakasını oluşturması önlenir. QQ mekanizması 3 yol ile sağlanır. Bunlar; sinyal moleküllerinin sentezlenmesinin engellenmesi, sinyal moleküllerinin algılanmasının engellenmesi, ortamdaki sinyal moleküllerinin degradasyonudur. Tez kapsamında sinyal moleküllerinin degradasyonu sağlanarak QQ mekanizması gerçekleştirilmiştir. QQ mekanizmasını sağlayan bakterileri atık su bulunan ortamına ilave edebilmek için koruma sağlayan bir immobilizasyon medyasının kullanılmasının uygun olduğu literatürde yapılan çalışmalar neticesinde görülmüştür.

Tez çalışması kapsamında QQ aktivitesine sahip bir bakteri türü olan *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> kullanılmıştır. Bakteri çoğaltılarak farklı medyalara immobilize edilmiştir. Üretilen medya çeşitleri optimize edildikten sonra çeşitli analizlerden geçirilmiştir. Bu analizler ile medyanın dayanımı, fiziksel yapısı, kimyasal yapısı gibi konular ön plana çıkarılmıştır. Tez kapsamında yapılan çalışmalar neticesinde avantaj sağlayan immobilizasyon medyasının bulunması ilerleyen çalışmalar açısından önem taşımaktadır.



# **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MATERIAL PREFERENCE ON IMMOBILIZATION MEDIA USED IN QUORUM QUENCHING MEMBRANE BIOREACTORS**

## **SUMMARY**

Water released after water use and endangering the environment and living health due to its content is called wastewater. Wastewater is defined as wastewater generated in homes, workplaces, industry and other areas of life and commercial activity. The usage area of water is also very important in wastewater characterization. Depending on the source discharged, it is called domestic and industrial wastewater. Efficient treatment of wastewater can be considered as a direct preventive measure against the pollution of drinking water.

Wastewater treatment has been of great importance in every period. With the increase in population, the amount of wastewater generated has also increased. Discharging wastewater into aquatic ecosystems without treatment endangers the environment and indirectly many areas and living communities. For this reason, various wastewater treatment systems have been developed over the years. Traditional activated sludge systems, one of these wastewater treatment systems, have been used for many years and have survived to the present day. Although traditional activated sludge systems are known and easily operated, they have various disadvantages. In traditional activated sludge systems, the space requirement is quite high depending on the water flow rate to be treated. Considering the increase in population density, there is a need for a system that can purify water at a higher flow rate in less space.

Membrane bioreactors (MBRs) are among the most used innovative wastewater treatment systems today. MBR systems emerge as a combination of membrane and traditional activated sludge system. The membrane is defined as a selectively permeable barrier between two homogeneous phases. It is an important separation material due to its selectivity and barrier to various pollutants due to its properties. MBR systems offer high outlet water quality in less space compared to traditional activated sludge systems. Operating costs of MBR systems are higher than traditional activated sludge systems. One of the main reasons for the high costs in the business is the membrane.

The widespread use of MBRs has brought various configurations. One of the most important factors in the formation of these configurations is the fouling problem of the membranes. One of the factors affecting the clogging problem in MBRs is the operating conditions of the MBR. As the flux increases in MBRs, the clogging rate increases. For this reason, it is important to pay attention to some important points such as membrane area when choosing the operating flux. The operating limit at the sustainable membrane permeability level at constant flux and transmembrane pressure (TMP) is defined as the “critical flux”. Although MBRs are operated at fluxes lower than the critical flux, TMP increases significantly when operated at a flux value above the critical flux. Therefore, very frequent periodic washing or cleaning is required. In

addition, aeration is required for biological treatment, mixing of flocs and removal of impurities from the membrane surface. There are basic methods to prevent fouling. These are classified as pre-treatment of the feed stream, chemical and physical cleaning, reducing the flux, increasing aeration, and chemical or biochemical modification of the mixed liquid.

Fouling in membranes limits membrane permeability. In other words, it causes a decrease in the flux passing through the membrane in response to unit transmembrane pressure, and therefore, a decrease in the production of purified clean water per unit membrane area. Membrane fouling is roughly divided into two mechanically: reversible (removal of the gel and cake layer formed on the surface by aeration or physical backwashing) and irreversible (accumulation of dissolved or colloidal substances in the pore as a result of adsorption and removal of pore fouling by chemical cleaning).

Membrane fouling occurs in different ways. In this thesis, the problem of biofouling in membranes is discussed. Membrane biofouling occurs as a result of the adhesion of sludge flocs and the subsequent growth of microorganisms on the membrane surface. Microbial growth on the membrane surface is the main factor that increases filtration resistance and significantly reduces permeate flux. Bio fouling in membranes is a factor that reduces membrane life and increases costs.

Physical, chemical and biological methods are used to solve the fouling problem in membranes. When physical methods are examined, methods such as ventilation and physically scraping the cake layer attract attention. Backwashing with the addition of chemicals is also one of the steps to prevent fouling. However, chemical addition is not done frequently because it damages the sludge content. In addition, it may cause wear on the membrane surface. Physical methods, on the other hand, have low impact and become unsustainable in the long term. For this reason, biological methods attract attention in the literature. Among the various methods investigated considering bacterial activities, there are some remarkable and highly effective methods.

Bacteria attract attention when examined in terms of life form. Although they are small in size, such as micro and nano, many bacteria have complex life forms. There are hundreds of species that differ in their characteristics, lifestyle, contribution to the environment and many other aspects.

Many bacteria do not live as isolated entities but instead exist as communities. They can communicate by producing and responding to chemical signals. Bacterial cells produce low-molecular-weight signaling molecules, which are often diffusible and accumulate in their environment as the population increases. When the molecule concentration exceeds a threshold value, signaling pathways are activated and bacteria respond by altering gene expression and modulating physiological processes in a concerted manner across the population. This type of intercellular communication is well characterized and is called Quorum Sensing (QS).

Examples of group behavior include virulence, production of secondary metabolites (including antibiotics), sporulation, and biofilm formation. The most studied intercellular signals are Gram-negative and Gram-positive bacteria. Quorum Sensing (QS) is used by both Gram-negative and Gram-positive bacteria to regulate various physiological functions.

Signaling systems can be divided into two paradigmatic classes: LuxI/LuxR-type signal-sensing systems in Gram-negative bacteria and oligopeptide/two-component-

type signal-sensing circuits in Gram-positive bacteria. In Gram-negative bacteria, LuxI-like proteins are enzymes responsible for the production of specific acylhomoserine lactone (AHL) autoinducers. Each strain of Gram-negative bacteria produces a unique AHL or a unique combination of AHLs. As a result, only members of the same species recognize and respond to it.

Extracellular polymeric substances (EPS) and soluble microbial products (SMP) produced by QS interaction are considered the main factor causing biofouling. EPS, which are binding materials for the agglomeration of microbial flocs and biofilms, consist of different organic molecules such as polysaccharides, proteins and humic substances. AHLs-based nuclei detected by gram-negative bacteria are responsible for the production of EPS in activated sludge. Furthermore, oligopeptides produced by gram-positive bacteria and some universal autoinducers lead to the development of highly cooperative colonies in the form of biofilms on the membrane surface.

It has been shown that it is possible to delay membrane biofouling with the innovative approach of "Quorum Quenching (QQ)". The QQ mechanism, which works to disrupt the mechanism that enables communication between bacteria, called "Quorum Sensing (QS)", prevents bacteria from accumulating on the membrane and forming the cake layer. The QQ mechanism is provided in 3 ways. These mechanisms; Blocking AHL synthesis in the sender cell, deactivating AHL via enzymatic destruction, interfering with signal receptor in the receiving cell. Within the scope of the thesis, the QQ mechanism was realized by ensuring the degradation of signal molecules.

*Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub>, a bacterial species with QQ activity, was used in the thesis study. Although it is known from literature studies that the bacterium has QQ activity, studies were started by making sure of its activity with the QQ activity test. The test results were comparatively examined with a bacterial strain without QQ activity. The bacteria were propagated and immobilized on different media.

Immobilization media in the literature are important for the study. 6 different immobilization media were produced by developing previously tested materials. After the media types produced were optimized, they were subjected to various analyses. With these analyses, issues such as the strength, physical structure and chemical structure of the media were brought to the fore.

As a result of the studies carried out within the scope of the thesis, finding advantageous immobilization media is important for future studies. It is important to reveal advantageous immobilization media in terms of expanding the usage areas of QQ activity, which manages to prevent biological contamination and membrane clogging, and making it usable in large-scale facilities.



## 1. GİRİŞ

Membran biyoreaktör (MBR), atık su arıtımında önem taşıyan arıtma sistemleri arasında yer alır. Günümüzde artan alan ihtiyacı nedeni ile arıtma sistemlerini daha küçük alanlara sığdırmayı başaran MBR'ler arıtma sırasında bazı dezavantajları da beraberinden getirir. Bu dezavantajlar incelendiğinde membran biyotıkanması ön plana çıkar. Membran ömrünü azaltan ve önemli oranda maliyeti artıran membran biyotıkanma problemine çözüm bulmak amacı ile çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

### 1.1 Tezin Amacı

Bu tezin ana amacı membran biyoreaktörlerde kullanılan membranlarda meydana gelen biyotıkanma sorununa bir çözüm olan “quorum quenching” mekanizmasının kullanılacağı en uygun immobilizasyon medyasının bulunmasıdır. Bu tezde çeşitli immobilizasyon medyalarının üretimi ve karşılıklı olarak deneysel yöntemler ile kıyaslanması sonucunda dayanımı yüksek, biyolojik aktiviteye uygun malzeme tercihin bulunması amaçlanmaktadır.

Quorum sensing (yetersayı etkisi) ve quorum quenching (yetersayı etkisinin azaltılması) mekanizmalarının biyolojik aktivite açısından önemi yapılan yenilikçi çalışmalar ile ön plana çıkmıştır. *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi literatür araştırmaları sonucunda bilinen yüksek quorum quenching (QQ) aktivitesine sahip bakteri gruplarından biridir. *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin atık su ortamına ilavesi korunaklı bir medya içerisinde olmalıdır. *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin deformasyon süresi uzun, bakteriyel yaşam koşullarını sağlayan bir medya içerisinde olması ortamda quorum quenching (QQ) aktivitesinin uzun süre korunmasının temel koşullarından biridir. En uygun immobilizasyon medyası bulunarak ilerleyen çalışmalara fikir sunmak amacı ile tez çalışmaları yapılmıştır.

## 1.2 Tezin Kapsamı

Tez çalışması kapsamında quorum quenching membran biyoreaktörlerde biyotıkanmayı önlemek amacı ile çeşitli immobilizasyon medyalarının üretimi ve karşılaştırılması yapılmıştır. Toplamda 6 farklı immobilizasyon medyası çeşiti üretilmiştir. Üretimler optimize edildikten sonra bakteri ekimi ve çoğaltılması ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. İmmobilizasyon medyaları bakterisiz ve bakterili olarak üretilmiştir. Bakterisiz medyalara kontrol medya adı verilirken bakterili medyalara QQ-medya adlandırması yapılmıştır. QQ-medya ve kontrol medyalarda karşılaştırmalı olarak QQ aktivitesi incelenmiştir. Bunun yanı sıra *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi ve *Escherichia Coli* (*E. coli*) bakterisinin QQ aktiviteleri de incelenmiştir. Üretilen medyaların mekanik dayanımını incelemek için reaktör içerisinde dayanım testi yapılmıştır. Porozite deneyi ile sonuçlar anlamlı bir biçimde birleştirilerek yorumlanmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) sonuçları da alınarak teze eklenmiştir.

## 2. LİTERATÜR ÇALIŞMASI

### 2.1 Membran Biyoreaktör ve Biyotıkanma

#### 2.1.1 Membran biyoreaktör

Membran biyoreaktör (MBR), aktif çamur prosesini membran ayırma prosesi ile birleştirir. Reaktör, geleneksel bir aktif çamur prosesine benzer şekilde çalıştırılır, ancak ikincil arıtmaya ve kum filtrasyonu gibi üçüncül arıtma aşamalarına ihtiyacı ortadan kaldırır. Düşük basınçlı membran filtrasyonu, mikrofiltrasyon (MF) veya ultrafiltrasyon (UF), atık suyu aktif çamurdan ayırmak için kullanılır (Melin ve diğerleri, 2006).

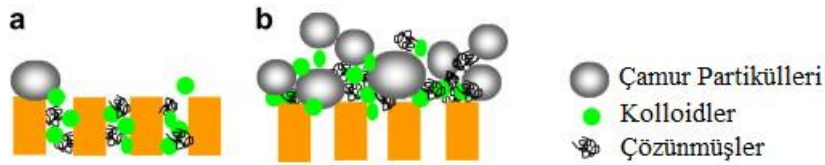
Geleneksel aktif çamur sistemlerine kıyasla MBR teknolojisinin başlıca avantajları vardır. Bunlardan ilki reaktör hacminin geleneksel aktif çamur sistemine göre daha düşük olmasıdır. Bu durum kısıtlı alan bulunan tesislerde kapasite artışını tolere etmek açısından önem taşır. Bir diğer avantaj ise oluşan çamur miktarının azalmasıdır. Çamurun bertaraf edilmesi gerektiği için miktarının azalması avantaj sağlar. Membran biyoreaktörlerde çıkış suyu kalitesi de oldukça yüksektir. Bu durum da membran biyoreaktör sistemlerinin önemli avantajlarından bir diğeridir. Membran biyoreaktörlerin dezavantajları incelendiğinde ön plana çıkan konu maliyettir. Membran biyoreaktör sistemlerinin kurulumu ve çalıştırılması geleneksel aktif çamur sistemlerine kıyasla daha pahalıdır. Membran hassas bir malzeme olduğu için sistemleri izleme sıklığı ve membran bakımı da dezavantaj olarak ön plana çıkar (Melin ve diğerleri, 2006).

Membran yüzeyinde kek oluştuğunda, kek tabakası filtrasyon için ek bir direnç sunar. Kek tabakasının geçirgenliği, akı, elektrostatik etkileşimler ve parçacık boyutundan etkilenebilir (Le-Clech ve diğerleri, 2006). Membran yüzeyinde oluşan kek tabakası filtrasyon sırasında akının azalmasına sebep olur. Bunun başlıca nedeni membran kirlenmesidir. Membran kirlenmesinin kontrol edilmesi, bir MBR'nin çalıştırılmasındaki kilit konudur. Membran kirlenmesi, hidrodinamik koşullardan, membran tipi ve modül konfigürasyonundan ve mikrobiyal metabolizma tarafından

üretilebilen daha yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerin varlığından önemli ölçüde etkilenir (Melin ve diğerleri, 2006).

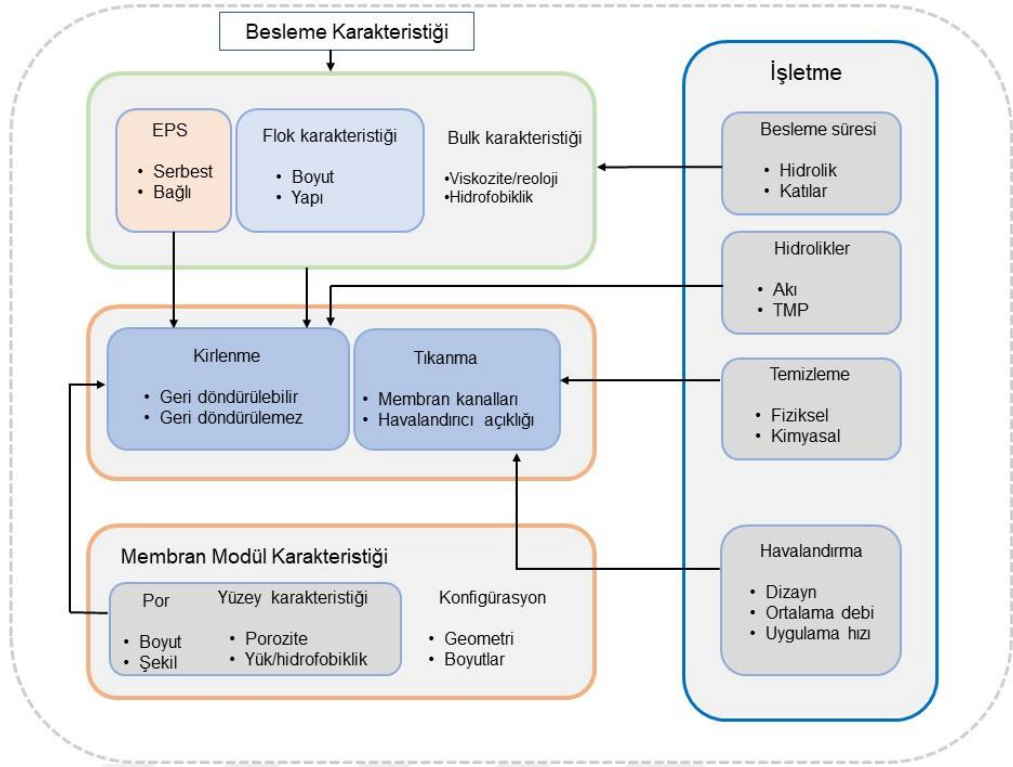
### 2.1.2 Membran tıkanması/biyotıkanma

MBR teknolojisinin gün geçtikçe çeşitli alanlarda kullanımı yaygınlaşmaktadır. Membran sistemlerinin hızlı bir şekilde yaygınlaşmasının nedenleri arasında; membran maliyetlerin düşmesi, membran konusunda yapılan çalışmaların artması, membran üretici firmaların çoğalması gösterilebilir. Ama her arıtım teknolojisinde olduğu gibi MBR teknolojisinin de kısıtlayıcı bazı etkenleri bulunmaktadır. MBR'lerde membranların işletim sırasında tıkanması MBR'lerin hem kentsel hem de endüstriyel atıksu arıtımında daha yaygın uygulanmalarındaki en önemli engellerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Membranlardaki tıkanma membran permeabilitesini sınırlandırır. Diğer bir deyimle, birim transmembran basıncına karşılık membrandan geçen akının, dolayısıyla da, birim membran alanı başına arıtılmış temiz su üretiminin azalmasına neden olur. Membran tıkanmaları mekanik anlamda kabaca ikiye ayrılır: geri dönüşümlü (yüzeyde oluşan jel ve kek tabakasının havalandırma veya fiziksel geri yıkama ile giderilmesi) ve geri dönüşümsüz (çözünmüş veya kolloidal maddelerin adsorbsiyon sonucu gözenek içinde birikimi ve gözeneği tıkanmasının kimyasal temizleme ile giderilmesi). Membran tıkanma mekanizması şekil 2.1'de yer almaktadır.



**Şekil 2.1** : MBR'lerde membran tıkanma mekanizması: (a) por tıkanması ve (b) kek tabakası (Meng ve diğerleri, 2009).

Kirlenme karmaşık bir mekanizmadır ve tam olarak anlaşılammıştır. Şekil 2.2'de görüldüğü üzere tüm işlemler ve ortam koşulları birbiriyle ilişkilidir ve bu parametreler tıkanmayı birçok yönden değiştirebilir. Temel olarak, besleme çözeltisinin özelliklerine (konsantrasyon, pH ve vs.), membran özelliklerine (hidrofobiklik, yük, pürüzlülük, gözenek boyutu, porozite) ve işletme koşullarına (sıcaklık, basınç, çapraz akış hızı) bağlıdır.



**Şekil 2.2** : MBR parametreleri ile tıkanma arasındaki ilişki (Ghasemzadeh Momen, 2015).

MBR’lerde tıkanma problemine etki eden faktörlerden biri MBR’nin işletme şartlarıdır. Bütün membran proseslerde olduğu gibi MBR’lerde de akı arttıkça tıkanma oranı artmaktadır. Bu sebeple işletme akısı seçerken membran alanı gibi bazı önemli noktalara dikkat edilmelidir. Sabit akı ve transmembran basıncında (TMP) sürdürülebilir membran geçirgenlik seviyesindeki işletim limiti “kritik akı” olarak tanımlanmaktadır. MBR’ler kritik akıdan düşük akılarda işletilmekle beraber, kritik akının üzerinde bir akı değerinde işletildiğinde TMP oldukça artar. Bu nedenle çok sık periyodik yıkama ya da temizleme yapılması gerekir. Ayrıca, biyolojik arıtım, flokların karışması ve membran yüzeyinden kirliliklerin sıyrılması için de havalandırma işlemi gerekmektedir (Ağtaş, 2014).

Membranın tıkanmasına doğrudan etki eden diğer bir parametre ise membranın fizikokimyasal karakteridir. Protein vb. gibi hidrofobik maddelerin yüzeyde birikmesini ve buna bağlı olarak tıkanma probleminin azalmasını sağlamak için, membranlar üretilirken membran yüzeyinin hidrofilik olması büyük önem taşır. Bununla birlikte, por çapının membran tıkanmaları üzerindeki etkisi besleme çözeltisinin karakteristiği ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır, özellikle partikül dağılımı

önemlidir. Çamur yaşı (SRT) da MBR'lerin tıkanmasını etkileyen operasyonel parametrelerden biridir. Uzun SRT değerlerinde, artan karışık sıvıdaki (çamur) askıda katı madde (MLSS) seviyeleri membran tıkanmasına, membran kirlenmesine ve havalandırma veriminin düşmesine neden olur. SRT'nin MLSS ve Hücre dışı polimerik maddenin (EPS), fraksiyonel konsantrasyonları kullanarak kirlenme eğilimini belirlemede temel parametreler olduğu bilimsel çalışmalar tarafından ortaya konmuştur. Buna göre; kirlilik içeriğini en aza indirerek, oksijen transfer verimliliğini derecede yeterince yüksek tutarak ve membran kirlenmesini yönetilebilir bir seviyede tutarak optimal SRT tahmin edilebilir.

Pratikte kirlenme ve tıkanma kontrolü genel olarak 5 ana strateji ile sınırlanmaktadır.

- Besleme akımının ön arıtımı,
- Kimyasal ve fiziksel temizlik,
- Akımın düşürülmesi,
- Havalandırmanın artırılması,
- Karışık sıvının kimyasal ya da biyokimyasal olarak modifiyesi.

Yukarıdaki tüm stratejiler tam ölçekli MBR işletimi için uygulanabilir (Judd & Judd, 2006).

Genel olarak geri dönüşü olmayan kirlenme, kimyasal temizleme dahil hiçbir yöntemle giderilemeyen kirlenme olarak tanımlanmıştır. Ancak, daha önceki bazı çalışmalar, geri dönüşü olmayan kirlenmeyi, kimyasal temizleme ile giderilebilen ancak fiziksel temizleme ile giderilemeyen kirlenme olarak tanımlamıştır. Burada üç tür kirlenme tanımlıyoruz: giderilebilir kirlenme, giderilemeyen kirlenme ve geri döndürülemez kirlenme. Giderilebilir kirlenme, fiziksel temizleme (örn; geri yıkama) uygulanarak kolayca ortadan kaldırılabilirken, giderilemeyen kirlenmenin ortadan kaldırılması için kimyasal temizleme gerekir. Giderilebilir kirlenme ve tersine çevrilebilir kirlenme aynıdır. Giderilebilir kirlenme, gevşek bir şekilde bağlanmış tıkanıklıklardan kaynaklanır; bununla birlikte, giderilemeyen kirlenmeye filtrasyon sırasında gözenek tıkanması ve güçlü bir şekilde yapışan tıkanıklıklar neden olur. Geri döndürülemez kirlenme, herhangi bir yaklaşımla giderilemeyen kalıcı bir kirlenmedir. Sonuç olarak; giderilebilir kirlenme kek tabakasının oluşumuna atfedilirken giderilemeyen kirlenme ise gözenek tıkanmasına bağlanır (Meng ve diğerleri, 2019).

## 2.2 Yetersayı Etkisi (Quorum Sesign) ve Yetersayı Etkisinin Azaltılması (Quorum Quenching)

### 2.2.1 Yetersayı etkisi (quorum sensing)

Birçok bakteri izole varlıklar olarak yaşamaz, bunun yerine topluluklar olarak var olur. Kimyasal sinyaller üreterek ve bunlara tepki vererek iletişim kurabilirler. Bu tür hücreler arası iletişimin iyi karakterize edilme durumuna çekirdek/yetersayı algılama (QS) denir. QS, bakterilerin popülasyon hücre yoğunluğunu tespit ettiği ve bu bilgiyi gen ekspresyonunu buna göre düzenlemek için kullandığı süreç olarak tanımlanır. Bakteri hücreleri, popülasyon arttıkça çevrelerinde biriken, genellikle yayılabilen, düşük moleküler ağırlıklı sinyal molekülleri üretir. Molekül konsantrasyonu bir eşik değerini aştığında, sinyal yolları aktive olur ve bakteriler, popülasyon boyunca uyumlu bir şekilde gen ekspresyonunu değiştirerek ve fizyolojik süreçleri modüle ederek yanıt verir. QS ile bu süreç düzenlenir. Grup davranışı örnekleri arasında virülans, ikincil metabolitlerin üretimi (antibiyotikler dahil), sporülasyon ve biyofilm oluşumu sayılabilir. En çok çalışılan hücreler arası sinyaller ise Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerdir (Coulthurst ve diğerleri, 2002). Quorum Sensing (QS), çeşitli fizyolojik fonksiyonları düzenlemek için hem Gram-negatif hem de Grampozitif bakteriler tarafından kullanılır. Sinyal sistemleri iki paradigmatik sınıfa ayrılabilir: Gram negatif bakterilerde LuxI/LuxR tipi sinyal algılama sistemleri ve Gram pozitif bakterilerde oligopeptit/iki bileşenli tip sinyal algılama devreleri Gram-negatif bakterilerde, LuxI benzeri proteinler, spesifik asilhomoserin lakton (AHL) otoindükleyicilerinin üretilmesinden sorumlu enzimlerdir. Her bir Gram-negatif bakteri türü, benzersiz bir AHL veya benzersiz bir AHL kombinasyonu üretir (eğer birden fazla LuxI tipi proteine sahipse). Sonuç olarak, yalnızca aynı türün üyeleri onu tanır ve yanıt verir. AHL saptaması ve sonraki gen ekspresyonunun değiştirilmesine, aynı kökenli bir LuxR proteini aracılık eder (Engebrecht ve diğerleri, 1983). LuxI-yönlendirilmiş AHL sentezini takiben, otoindükleyici hücre içine ve dışına serbestçe difüze olur (Kaplan and Greenberg, 1985). Böylece, harici AHL konsantrasyonu, dahili (sitoplazmik) AHL konsantrasyonuna eşdeğerdir ve artan hücre yoğunluğu ile orantılı olarak artar. Bir eşik AHL konsantrasyonu elde edildiğinde, otoindükleyici sitoplazmik karşılığı LuxR proteini ile bağlanabilir. Aynı kökenli bir AHL ile etkileşim üzerine, bir LuxR tipi protein, spesifik DNA promotör elemanlarını bağlar ve aşağı akış hedef gen transkripsiyonunu aktive eder (Fuqua ve diğerleri, 1994). AHL-LuxR etkileşimleri

oldukça spesifiktir ve bu nedenle AHL-LuxR aracılı hücre-hücre iletişimini kullanan karışık bakteri popülasyonlarında son derece sınırlı çapraz konuşma olduğu görülmektedir.

Gram-negatif bakterilerin tam tersine, Gram-pozitif bakterilerin AHL aracılı sinyal algılamayı kullandığı hiçbir zaman gösterilmemiştir. Bunun yerine, Gram-pozitif bakteriler, oligopeptid otoindükleyicileri yapar ve çevrelerine taşır. Oto-indükleyici peptitler (AIP'ler) olarak da bilinen bu oligopeptitler tipik olarak 5-17 amino asitten oluşur ve bazen olağandışı yan zincir modifikasyonları içerir (Lazazzera and Grossman, 1998). AIP'lerin algılanmasına iki bileşenli duyuşal iletim sistemleri aracılık eder. İki bileşenli sistemler, çok çeşitli Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerde bulunur. Bu devreler, çok çeşitli hücre dışı ipuçlarındaki dalgalanmaları tespit etmekten ve değişen bir ortama tepki olarak gen ekspresyonunu uygun şekilde modüle etmek için bu duyuşal bilgiyi hücreye iletmekten sorumludur (Hakenbeck and Stock, 1996). Yapılan son araştırmalar, quorum sensing mekanizmasının hem türler arası hem de türler içerisinde yer alan hücre-hücre iletişimi etkilediğini ve bakterilerin karmaşık topluluk yapılarını meydana getirmesinde etkili olduğunu gösterir (Bassler, 1999). Bakterilerin çok hücreli bir organizma gibi sosyal etkileşimler için bir grup olarak iletişim kurma ve davranma yeteneği, bakterilere konak kolonizasyonu, biyofilm oluşumu, rakiplere karşı savunma ve değişen ortamlara uyum konusunda önemli faydalar sağlar (Li ve Tian, 2012). AHL tarafından kontrol edilen davranışlar çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.1** : AHL ve kontrol ettiği davranışlar (Williams, 2007).

<b>Organizma</b>	<b>AHL ler</b>	<b>Fenotip</b>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	C4-HSL, C6-HSL	Biyofilmler, ekzoproteazlar, zehirlilik
<i>Aeromonas salmonicida</i>	C4-HSL, C6-HSL	Ekzoproteazlar
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	3-Oxo-C8-HSL	Plasmid eşlenmesi
<i>Agrobacterium vitiae</i>	C14 : 1-HSL, 3-oxo-C16 : 1-HSL	Zehirlilik

**Çizelge 2.2 (devam) : AHL ve kontrol ettiği davranışlar (Williams, 2007).**

<b>Organizma</b>	<b>AHL ler</b>	<b>Fenotip</b>
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	3-Hydroxy-C8-HSL, 3-hydroxy-C10-HSL, C12-HSL, 3-hydroxy-C12-HSL, C14-HSL, 3-oxo-C14-HSL, 3-hydroxy-C14-HSL, 3-hydroxy-C16-HSL	Bilinmiyor.
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	C6-HSL, C8-HSL	Ekzoenzimler, biyofilm oluşumu, toplu yer değiştirme, siderofor, zehirlilik.
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	C8-HSL, C10-HSL, 3-hydroxy-C8-HSL, 3-hydroxy-C10-HSL, 3-hydroxy-C14-HSL	Zehirlilik, ekzoproteazlar.
<i>Burkholderia mallei</i>	C8-HSL, C10-HSL	Zehirlilik.
<i>Chromobacterium violaceum</i>	C6-HSL	Ekzoenzimler, siyanür, pigment
<i>Erwinia carotovora</i>	3-Oxo-C6-HSL	Karbapenem, ekzoenzimler, zehirlilik.
<i>Pantoea (Erwinia) stewartii</i>	3-Oxo-C6-HSL	Ekzopolisakkarit.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C4-HSL; C6-HSL, 3-oxo-C12-HSL	Ekzoenzimler, ekzotoksinler, protein sekresyonu, biyofilmler, toplu yer değiştirme, sekondermetabolitler, 4-kinolonsinyalleşmesi, zehirlilik.

**Çizelge 2.3 (devam) : AHL ve kontrol ettiği davranışlar (Williams, 2007).**

<b>Organizma</b>	<b>AHL ler</b>	<b>Fenotip</b>
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	C6-HSL	Fenazinler, proteaz, koloni morfolojisi, bir araya gelme, kök kolonizasyonu.
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	C6-HSL	Fenazin-1-karboksamid.
<i>Pseudomonas putida</i>	3-Oxo-C10-HSL, 3-oxo-C12-HSL	Biyofilm gelişimi.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3-Oxo-C10-HSL	Mupirosin.
<i>Pseudomonas syringae</i>	3-Oxo-C6-HSL	Ekzopolisakkarit, yüzme hareketliliği, zehirlilik.
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>bv. viciae</i>	C14: 1-HSL, C6-HSL, C7-HSL, C8-HSL, 3-oxo-C8-HSL, 3-hydroxy-C8-HSL	Kök nodülasyonu/simbiyoz, plasmidtaşınımı, Büyüme inhibisyonu; durağan faz uyumu.
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	7-cis-C14-HSL	Bir araya gelme.
<i>Serratia sp. ATCC 39006</i>	C4-HSL, C6-HSL	Antibiyotik, pigment, ekzoenzim.
<i>Serratia liquefaciens MGI</i>	C4-HSL, C6-HSL	Toplu yer değiştirme, ekzoproteazlar, biyofilm gelişimi, biyo-yüzey aktif madde.
<i>Serratia marcescens</i>	SS-1 C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL, C7-HSL, C8-HSL	Kayma hareketi, biyo-yüzey aktif madde, pigment, nükleaz, taşınım sıklığı.

**Çizelge 2.4 (devam) : AHL ve kontrol ettiği davranışlar (Williams, 2007).**

<b>Organizma</b>	<b>AHL ler</b>	<b>Fenotip</b>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL, 3-oxo-C10-HSL, 3-oxo-C12-HSL, 3-oxo-C14-HSL	Yüzme hareketi ve toplu yer değiştirme.
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	C6-HSL, 3-oxo-C6-HSL, C8-HSL	Hareketlilik, bir araya toplanma.

Biyolojik bozunma ve membran sistemlerinin birleşimi olan membran biyoreaktörler, son yirmi yıldan beri hem evsel hem de endüstriyel atıksu arıtımında ilgi görmektedir. Bununla birlikte, membran biyokirlenmesi, MBR pazarının kapsamlı büyümesinde hala önemli bir engeldir. Havalandırma hızı ve konumu, gevşeme ve filtrasyon modu ve geri yıkama gibi hidrodinamik parametrelerdeki değişiklikler dahil olmak üzere membran biyokirliliğine neden olan faktörleri belirlemek ve ortadan kaldırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İleri moleküler biyoteknikler ile gerçekleştirilen son çalışmalarda membran üzerinde oluşan kek tabakasının porozite ve biyohacim gibi karakteristiklerin membranın geçirgenlik kaybı ile çok yakından ilgisi olduğu görülmüştür. Biyotıkanmayı kontrol amaçlı malzeme, mühendislik ve kimyasal yaklaşımları ile çalışmalar yapılmış fakat hepsinin biyofilm oluşumunu engellemekle ilgili sınırlamaları olmuştur. Son zamanlarda, enzimatik bozulma ve Quorum Quenching yoluyla biyolojik temelli stratejiler, gelecekte kapsamlı araştırmaları hak eden yeni uygun alternatifler olarak kabul edilmektedir (Maqbool ve diğerleri, 2015).

### **2.2.2 Yetersayı etkisinin azaltılması (quorum quenching)**

Çevresel sistemlerde aşırı biyofilm oluşumunu azaltmak için çeşitli sentetik veya doğal ajanlar araştırılmıştır (Rabin ve diğerleri, 2015; Yadav ve diğerleri, 2017). Ancak bu alternatifler, tam ölçekli bir membran prosesinde uygulanamayacak kadar pahalıdır. Bu nedenle araştırmacılar son zamanlarda yeni biyolojik yaklaşımları kullanarak mikrobiyal iletişim nedeniyle artan bakteriyel biyofilm oluşumunu engellemeye odaklanmışlardır (Grandclément ve diğerleri, 2016; Oh & Lee, 2018). Sinyal molekülleri kullanılarak Quorum Sensing tarafından indüklenen mikrobiyal grup davranışları, kontrolsüz biyofilm büyümesini önemli ölçüde artırır. Bu sorunun

üstesinden gelmek için, sinyal moleküllerinin inaktivasyonu için Quorum Quenching adı verilen yeni bir biyolojik kirlilik önleme stratejisi araştırılmıştır (Choo ve diğerleri, 2020). Bakteriler arasındaki iletişimi kesmeye dayanan QQ, son zamanlarda yenilikçi bir yaklaşım olarak biyofilm kalınlığını kontrol etmek için geniş bir uygulama bulmuştur (Ergön-Can ve diğerleri, 2017). Sporülasyon, biyofilm oluşumu ve toksin üretimi gibi birçok virülans mekanizması QQ yaklaşımı ile önlenir. QQ, Quorum Sensing olarak bilinen bakteriyel hücreler arası iletişimin inhibisyonu için kullanılan mekanizmadır. QS fenomeni, otoindükleyiciler olarak adlandırılan kimyasal sinyallerin konsantrasyonu, EPS üretimi, hareketlilik, biyofilm oluşumu ve benzeri gibi çeşitli bakteri davranışlarının düzenlenmesini başlatan bir eşik seviyesini aştığında meydana gelir. QS etkileşimi ile üretilen hücre dışı polimerik maddeler (EPS) ve çözünür mikrobiyal ürünler (SMP), biyolojik kirlenmeye neden olan ana faktör olarak kabul edilir. Mikrobiyal topakların ve biyofilmlerin aglomerasyonu için bağlayıcı malzemeler olan EPS, polisakkaritler, proteinler ve hümik maddeler gibi farklı organik moleküllerden oluşur. Aktif çamurda EPS üretiminden gram negatif bakteriler tarafından algılanan AHL'ler bazı çekirdek sorumludur. Ayrıca, gram pozitif bakteriler ve bazı evrensel otoindükleyiciler tarafından üretilen oligopeptitler, membran yüzeyi üzerinde biyofilm şeklinde yüksek derecede işbirlikçi kolonilerin gelişmesine yol açar.

QQ, üç temel yaklaşımla sağlanabilir:

- (i) Sinyal moleküllerinin sentezlenmesinin engellenmesi
- (ii) Sinyal moleküllerinin algılanmasının engellenmesi
- (iii) Ortamdaki sinyal moleküllerinin degradasyonu (Turan & Engin, 2018).

QS kontrolünün, QQ-enzim ve mikropların eklenmesine dayalı olarak MBR'de membran kirlenmesini azalttığı rapor edilmiştir (Kim ve diğerleri, 2018). AHL laktonazlar, AHL oksidoredüktazlar, AHL asilazlar, dekarboksilaz, paraoksonaz, deaminaz ve benzeri gibi çeşitli QQ enzimleri vardır (Iorhemen ve diğerleri, 2017). Kirlenmeyi azaltmak için ilk enzimatik tabanlı QQ çalışması, AHL'leri hidrolize edebilen ve EPS konsantrasyonunda azalmaya ve membran kirlenmesini önleyerek onları inaktive edebilen bir domuz böbrek asilazının eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir (Yeon ve diğerleri, 2009). Bu yöntem, enzimin kısa katalitik ömrü, sürekli kaybı ve onları geri kazanmanın zorluğu gibi handikaplara sahiptir. Tamamlayıcı bir çalışma, QQ asilazın bir manyetik taşıyıcı üzerinde immobilizasyonundan oluşur ve önceki

çalışmaya kıyasla membran tıkanmasında stabil bir azalma gösterir (Yeon, Lee, ve diğerleri, 2009). Ek olarak, aynı QQ enzimi, membran yüzeyine dahil edildiğinde biyofilm olgunlaşmasını engelleyebildiği gözlemlenmiştir. Sadece az miktarda EPS, mikrokoloni ve planktonik bakteri membran yüzeyinde kaldığı ifade edilmiştir (J.-H. Kim ve diğerleri, 2011). Benzer şekilde, asılazın sodyum aljinat kapsüllerine immobilizasyonu sadece membran kirlenmesini değil, aynı zamanda çamur özelliklerini de etkiler. Çamur çökebilirliğini artırır, partikül boyutunu azaltır, zeta potansiyelini artırır ve EPS ve SMP'lerin özelliklerini ve fonksiyonunu değiştirir (Jiang ve diğerleri, 2013). Enzim kullanımı farklı zorluklar doğurur; bunlar arasında en önemli iki tanesi yüksek maliyeti ve düşük stabilitesidir. Bu nedenle çalışmalar, membran kirlenmesinin inhibisyonu için QQ bakterilerinin kullanımına daha fazla odaklanmıştır. *E. coli* bakterileri ve *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> gibi QQ bakterilerinin mikrobiyal bir damar içinde kapsüllenmesi, membran yüzeyine mikrobiyal bağlanmada önemli bir azalma göstermektedir (Oh ve diğerleri, 2012). QQ bakterilerinin, özellikle *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub>'ün serbest hareket eden aljinat boncukları ile tutulması hem biyolojik QQ etkileri hem de hücre boncuklarının fiziksel sürtünmesi nedeniyle membran kirlenmesini azaltır. Bu yöntemin, gerçek atıksu arıtma tesislerinde pratik uygulamalarına ek olarak, kritik bir TMP'ye ulaşmadan önce MBR'nin çalışma süresini 10 kat arttırdığı kanıtlanmıştır (S.-R. Kim ve diğerleri, 2013). Çalışmada, 35 L etkin hacme sahip pilot ölçekli bir MBR'de test edilmiş olup, *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> daha uzun bir filtrasyon süresi (kontrol MBR'sinden yedi kat daha yüksek), membran kirliliğinde azalma, AHL üretimi ve EPS konsantrasyonu, gelişmiş çamur susuzlaştırma ve uzun süreli TMP artışı ile sonuçlanmıştır (Maqbool ve diğerleri, 2015). QQ ile ilgili benzer bir çalışmada, düşük havalandırma yoğunluğunda (0.03 m<sup>3</sup> /sa) enerji tüketiminin, daha yüksek havalandırma hızına (0.12 m<sup>3</sup> /sa) sahip başka bir koşula kıyasla yaklaşık %27 oranında azaldığı bildirilmiştir. Böylece mikrobiyal veseller, membran kirlenmesinin azaltılması ve enerji tasarrufu üzerinde başarılı sinerjik etki göstermiştir (Weerasekara ve diğerleri, 2014). Farklı bir çalışmada, mikrobiyal veselin QQ aktivitesi, mikrobiyal veseller içindeki QQ bakterilerinin sürekli yenilenmesi nedeniyle yaklaşık 100 gün boyunca uzun vadeli etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Ek olarak, mikrobiyal vesel konumundan bağımsız olarak QQ mikrobiyal vesellerin kirlenmesini hafifletme işlemi gerçekleştirilmiştir ve en yüksek QQ etkisinin membrana en yakın mesafe için kaydedildiğine dikkat çekilmiştir (Jahangir ve diğerleri, 2012). QQ aracılı biyolojik kirlilik kontrolünün uzun

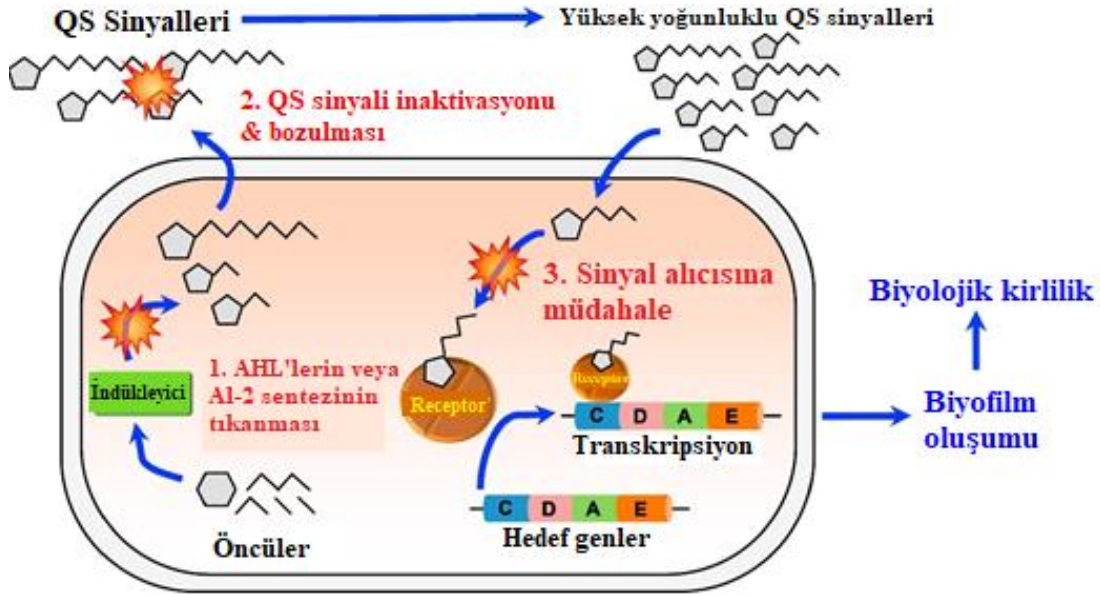
vadeli etkisi, tipik mikrobiyal damar boyutundan daha büyük olan bakteri hücrelerinin boyutuyla ilgilidir. Bu şekilde, QQ bakterileri mikrobiyal vesel tamamen tutulurken, besinler ve otoindükleyici moleküller, mikrobiyal vesel gözeneklerinden serbestçe geçebilir (Cheong ve diğerleri, 2014). Yakın tarihli bir çalışma, *Rhodococcus* sp. BH4 içeren QQ boncukları kullanan bir MABR'de biyofilm kalınlığının kontrolü hakkında yenilikçi bilgiler sağlamıştır (Taşkan ve diğerleri, 2020). Veriler, QQ stratejisinin bir Membran aerobik biyoreaktör (MABR)'de biyofilm kalınlığı kontrolü için etkili olduğunu ve gelecekteki araştırmalar için öngörü sağladığını göstermiştir. Biyofilm kalınlığının QQ yoluyla başarılı bir şekilde azaltılması veya kontrolü, pilot ölçekli veya büyük ölçekli MABR'de biyofilm kalınlığını yönetmek için yeni ve etkili bir strateji sağlayabilir. Bu nedenle biyofilm kalınlığını kontrol etmek için daha etkin QQ aktivitesine sahip bakteri arayışları başlamıştır. Aktif çamurdan izole edilen QQ mikroorganizmaları çizelge 2.2'de yer almaktadır.

**Çizelge 2.5 :** Aktif çamurdan izole edilen QQ mikroorganizmaları.

Enzim veya aktif madde	Kaynak	Substrat	Ref.
AHL laktonaz	<i>Rhodococcus</i> sp. BH4	C6, C7, C8, C10, 3OC6, 3OC8	(Oh ve diğerleri, 2012)
AHL laktonaz	<i>Bacillus methylotrophicus</i> sp. WY	C8, C10, C12, C14, 3OC6, 3OC12	(Khan ve diğerleri, 2016)
AHL laktonaz	<i>Bacillus</i> sp. T5	C8	(Gül ve diğerleri, 2018)
AHL laktonaz	<i>Enterococcus</i> sp. HEMM-1	C4, C6	(Ham ve diğerleri, 2018)
AHL asilaz	<i>Delftia</i> sp. T6	C8	(Gül ve diğerleri, 2018)
AHL asilaz	<i>Acinetobacter</i> sp. Ooi24	C10	(Ochiai ve diğerleri, 2013)
Kültür süpernatantı	<i>Pseudomonas</i> sp. IA1	C6, C8, C10, C12, 3OC12	(Cheong ve diğerleri, 2013)

**Çizelge 2.6 (devam) : Aktif çamurdan izole edilen QQ mikroorganizmaları.**

<b>Enzim veya aktif madde</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Substrat</b>	<b>Ref.</b>
Kültür süpernatantı	<i>Staphylococcus sp. ML-1</i>	3OC6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Kültür süpernatantı	<i>Micrococcus sp. SY-1</i>	C6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Kültür süpernatantı	<i>Pseudomonas sp. SS-1</i>	C6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Hücre lizati	<i>Afipia sp. MS-1</i>	3OC6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Hücre lizati	<i>Acinetobacter sp. HMS-1</i>	C6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Hücre lizati	<i>Streptococcus sp. SL-2</i>	3OC6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Bütün hücre	<i>Rhodococcus sp. B5</i>	C6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Bütün hücre	<i>Microbacterium sp. HSY-2</i>	C6	(A.-L. Kim ve diğerleri, 2014)
Kültür süpernatantı (hidrofilik, <400 Da)	<i>Acinetobacter sp. DKY-1</i>	AI-2 (DPD, 4,5-dihydroxy-2,3-pentandione)	(Lee ve diğerleri, 2018)
Farnesol	<i>Candida albicans Tup1/Tup1</i>	Blockage of LuxS synthesis	(Lee ve diğerleri, 2016)

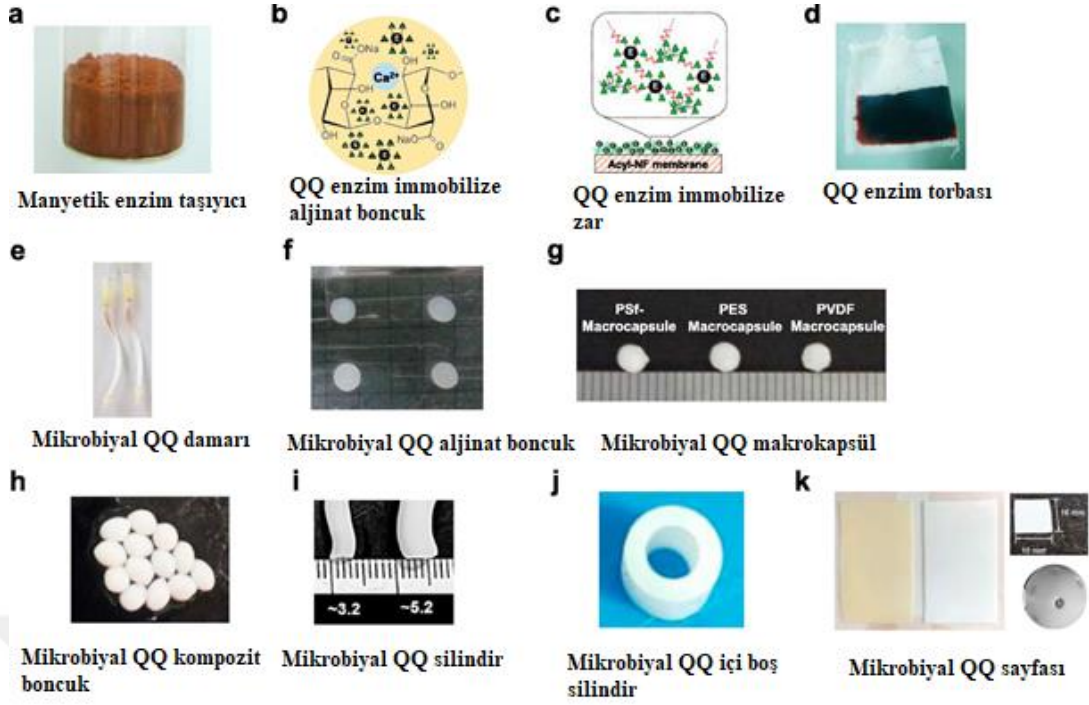


Şekil 2.3 : Biyolojik kirlilik kontrolü için QS sinyal yolları ve olası QQ stratejileri (Jiao ve diğerleri, 2020).

## 2.3 İmmobilizasyon Medyası ve QQ-Membran Biyoreaktör

### 2.3.1 İmmobilizasyon medyası tanımı

MBR'lere dozlanan serbest enzimlerin kaybını önlemek için QQ enzimlerinin (örn., asilaz veya laktonaz) ortam üzerine doğrudan fiksasyonu (kaplama veya gömme) şekil 2.4'de görüldüğü üzere gerçekleştirilmiştir. Domuz böbrek asilaz I, yüklü polimerlerin ve enzimlerin kademeli olarak katman katman biriktirilmesi yoluyla hazırlanan bir manyetik ortam üzerine immobilize edilmiştir (Yeon, Lee, ve diğerleri, 2009). Anyonik polistiren sülfonat, ardından katyonik kitosan, ticari olarak temin edilebilen Orica manyetik iyon değişim reçinesi üzerinde biriktirilmiştir, ardından glutaraldehit kullanılarak nihai çapraz bağlama ile tabaka üzerinde asilaz adsorbe edilmiştir. Böylelikle manyetik enzim taşıyıcı elde edilmiştir.



**Şekil 2.4 :** QQ MBR'ler için geliştirilmiş ve test edilmiş QQ ortamının türleri ve yapıları (Jiao ve diğerleri, 2020).

Asilaz, yüksek oranda biyoyumlu bir malzeme olarak bilinen aljinat polimerleri içinde kapsülendirilmiştir. Asilaz ve sodyum aljinat karışımı, iyon değişim reaksiyonları yoluyla katılaşmak ve küresel aljinat tanecikleri oluşturmak için kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) çözeltisine damlatılmıştır. (Jiang ve diğerleri, 2013). Asilaz-kapsülleyen aljinat taneciklerinin, bir MBR'de biyolojik kirlenmeyi azalttığı ve hem karışık likörde hem de biyolojik kekte çözünür mikrobiyal ürünleri ve EPS'yi azalttığı belirlenmiştir.

QQ enzimleri (domuz böbrek asilaz I) doğrudan membran yüzeyi üzerine immobilize edilmiştir (J.-H. Kim ve diğerleri, 2011). Çitosan ve asilazdan oluşan bir karışım, pH seviyesi  $\sim 10$ 'a ayarlandığında kümeler oluşturmuştur, bu daha sonra düz tabakalı bir poliamid nanofiltrasyon membranına yüklenmiştir ve agregaları basınç altında biriktirmek için membrandan süzümüştür. Bırakılan katman, zarın üstünde asilazla hareketsizleştirilmiş bir katman oluşturmak için glutaraldehit kullanılarak çapraz bağlanmıştır. Yüzeydeki biyolojik kirlenmeyi etkin bir şekilde kontrol edebilen biyokatalitik membranlar, bakteriyel QS'nin enzimatik inhibisyonu için geliştirilmiştir (T. H. Kim ve diğerleri, 2018).

Rekombinant *E. coli* XL1-Blue'dan ekstrakte edilen laktonaz, bir enzim taşıyıcısı olarak kabul edilen mezogözenekli silikaya immobilize edilmiş olup enzim taşıyıcısını sınırlamak için bir poliamid kumaş kullanılarak bir QQ enzim torbası yapılmıştır.

Daha pratik ve kararlı QQ stratejileri için QQ bakterisi taşıyan birkaç farklı mikrobiyal ortam türü geliştirilmiştir. QQ bakterilerini zarların lümen tarafında sınırlamak için polimerik veya seramik mikrofiltrasyon membranlarından oluşan bir kap tasarlanmıştır (Oh ve diğerleri, 2012; Weerasekara ve diğerleri, 2014).

Bir aljinat matrisinde QQ bakterilerini (*Rhodococcus* sp. BH4) tutan QQ boncukları geliştirilmiştir (S.-R. Kim ve diğerleri, 2013). Bu küresel boncuk, QQ bakterilerinin tutulabileceği geniş bir iç boşluk alanına sahip gözenekli bir mikro yapıya sahiptir. Aljinat boncuğu, ıslak boncuğun yoğunluğu suyunkine benzer olduğu için MBR'lerde sıvı hareket ederken serbestçe hareket edebilir. Bu nedenle, boncuklar zar yüzeyi ile temas edebilir ve böylece biyofilmi zar yüzeyinden temizleyebilir.

Aljinat QQ boncukları, sentetik atıksu ile beslenen bir MBR'de biyolojik kirlenmeyi başarıyla azaltır, ancak gerçek atıksu ile beslenen MBR'lerdeki uygulamalar için yeterli değildir. Bunun nedeni, aljinat taneciklerinin, tipik olarak tuzlar ve yüzey aktif maddeler de dahil olmak üzere çok çeşitli bileşenler içeren gerçek atıksu içinde kolayca parçalanmasıdır. Aljinat boncuklar, mikrokapsülasyon olarak bilinen sentetik polimerlerin bir kaplaması ile güçlendirilmiştir (S.-R. Kim ve diğerleri, 2015).

Ortam tasarımları, QQ bakterilerinin polimer pıhtılaşması ve çapraz bağlama ile tutulduğu biyoyumlu hidrojel polimerler (örn., polivinil alkol (PVA)) kullanılarak daha da geliştirilmiştir (S.-R. Kim ve diğerleri, 2013). Bir PVA ve sodyum aljinat karışımı kullanılarak QQ boncuklarını güçlendirme girişiminde bulunulmuştur (S. Lee ve diğerleri, 2016). PVA-aljinat kompozit QQ boncuklarının mekanik mukavemeti, yapıyı ve QQ etkinliğini en az 4 ay korumak için yeterli olmuştur ve bu, sahada pratik kullanım potansiyellerini göstermiştir.

QQ boncukları aktif olmayan bir bölgeye sahip olduğundan (örneğin, bir QQ boncuğunun iç çekirdek bölgesi), silindirler gibi daha verimli QQ ortam tasarımları (S. Lee ve diğerleri, 2016) ve içi boş silindirler (S. H. Lee ve diğerleri, 2016) geliştirilmiş ve test edilmiştir.

Daha yakın zamanlarda, ~0.5 mm kalınlığa sahip mobil QQ levhalarının (1×1 cm), içi boş fiber MBR'lerinde 3.5 mm çapında QQ boncuklarından daha etkili olduğu

bulunmuştur, çünkü QQ levhaları membran fiberleri arasında hareket edebilmiştir ve böylece membran yüzeylerini etkili bir şekilde temizlediği görülmüştür (Nahm ve diğerleri, 2017).

### **2.3.2 QQ-Membran biyoreaktör**

Hücreler arası sinyalleşmenin biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi, birçok mühendislik uygulaması (MBR'ler dahil) için sınırlayıcı bir özellik ortaya çıkarabilir. Özellikle EPS kaynaklı membran biyolojik kirlenmesinin önlenmesi, son yıllarda araştırmacıların üzerinde durduğu çok önemli bir konu olmuştur. QS mekanizmasının inhibisyonu nispeten yeni bir yöntem olmasına rağmen, şüphesiz MBR'lerde biyolojik kirlenmeyi kontrol etmenin en doğru yollarından biridir. Bu tür QQ MBR uygulamalarında birçok farklı immobilizasyon ortamı ve QQ tipi denenmektedir.

Mikrobiyal topluluğun biyolojik aktivitelerinden kaynaklanan farklı biyolojik kirlenmeler yerinde yönetilerek en aza indirilebilir. QQ, membran biyolojik kirlenmesini azaltmak için uygun maliyetli ve kimyasal içermeyen bir çözümdür. Aerobik membran biyoreaktörlerde QQ türlerinin asil-homoserin laktonların yani EPS salgılanmasından sorumlu olan sinyal moleküllerinin gelişmeyi baskılayabildiği belgelenmiştir. Böylece biyolojik kirlenme oranı da azalır. Birçok QQ türünün başarılı izolasyonu, MBR'lerin uzun süreli çalışması sırasında bu türlerin önemli biyolojik kirlenme olmaksızın yaşayabilirliğini ispatlamıştır. (Liu ve diğerleri, 2020).



### 3. MATERYAL-METOT

#### 3.1 Ürünlerin Hazırlanması

##### 3.1.1 Bakteriye suşlar ve büyüme koşulları



Şekil 3.1 : QQ bakterisinin ekimi/ büyütülmesi/ stok oluşturulması döngüsü.

##### 3.1.1.1 Stok oluşturma

Eppendorf tüpler önceden beher içerisinde otoklav cihazına bırakılarak steril hale getirilir. Steril eppendorf laminer kabine alınır. 350 uL gliserol eppendorfa eklenir. Falcon içerisinde 350 uL büyütülen bakteri çözeltisi alınır ve eppendorfa eklenir. Ardından eppendorf kapağı sıkıca kapatılarak parafilm sarılır. Hazırlanan stoklara mutlaka tarih ve isim eklenir. Stoklar buzlukta bekletilir.



Şekil 3.2 : Otoklav cihazı.



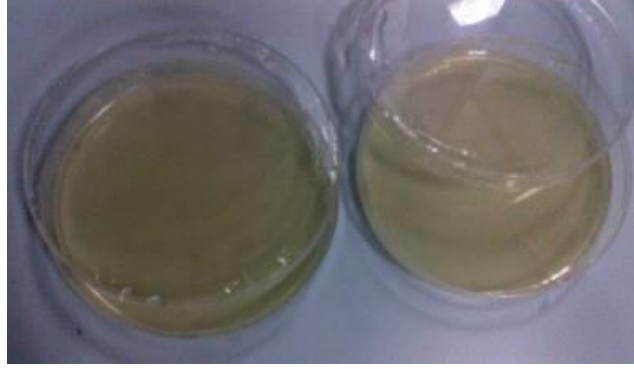
Şekil 3.3 : Laminer kabin.

### 3.1.1.2 Sıvı besi yeri hazırlama

Çözelti şişesinde karışan Luria Broth (LB) çözeltisi, kapağı biraz gevşetilerek otoklav cihazına bırakılır. Şişeyi otoklavlamadan önce otoklav bantı üzerine yapıştırılır. Bu bant steril ortamda siyah çizgili hale gelir. Cihaz ayarlanarak çalıştırılır. Yaklaşık bir saat süren sterilizasyon sonrası cihaz açılarak şişe alınır.

### 3.1.1.3 Katı besi yeri hazırlama

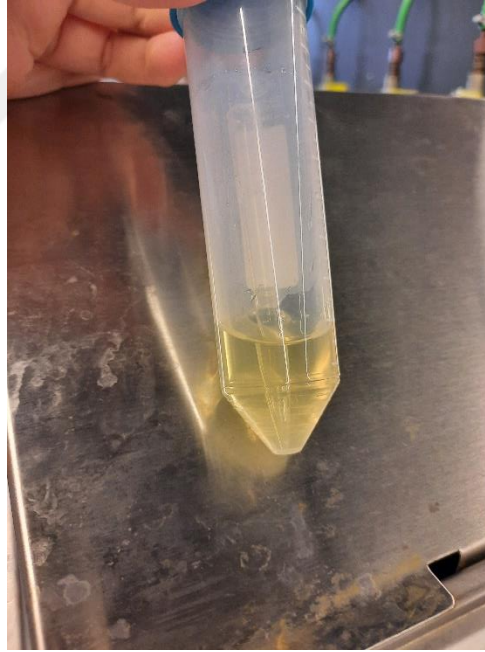
LB ve agar bir litrelik çözelti için gerekli miktarda alınarak karıştırıcıda bekletilir. Çözelti şişesinde karışan çözelti, kapağı biraz gevşetilerek otoklav cihazına bırakılır. Yaklaşık bir saat süren sterilizasyon sonrası cihaz açılarak şişe alınır.



**Şekil 3.4 :** Katı besi yeri (agar).

#### **3.1.1.4 Katı ve sıvı besi yerine bakteri ekimi**

Daha önceden hazırlanan agar plakaların üzerinde yer alan bakteriler pipet ucu ile alınır. Falkon içerisine alınan yaklaşık 10 ml'lik sıvı besi yeri içerisine pipet ucu ile beraber bırakılır. İnkübatörde uygun sıcaklık ve rpm ayarlanarak bakteriler büyümeye bırakılır. Büyüme gözlemlendiğinde sıvı ya da katıya ekim yapılabilir.



**Şekil 3.5 :** Bakterinin sıvı besi ortamında çoğaltılması.



Şekil 3.6 : İnkübatör.

### 3.1.1.5 Büyüyen bakterinin sıvı besi ortamında çoğaltılması

1 litrelik sıvı besi yeri dolaptan alınarak laminer kabine getirilir. Laminer kabin hazırlığı yapılır. İnkübatörde bekletilen falkonlar alınarak laminer kabine getirilir. Falkon içerisinde yer alan çözelti pipet yardımıyla karıştırılır. 5 ml çözelti falkondan alınarak 1 litrelik sıvı besi yerine aktarılır. Ardından sıvı besi yeri kapatılarak inkübasyon banyosunda 30 derecede 24-48 saat aralığında bekletilir.



Şekil 3.7 : Sıvı besi yerinde bakteri çoğaltılması.

### 3.1.1.6 Büyüyen bakterinin katı besi ortamında çoğaltılması

Falkonda yer alan bakteri çözeltisinden 175 mikrolitre alınır ve agar plakaya dökülür. Ardından yayma tekniği ile agar üzerinde bakteri ekimi yapılır. Plaka etrafı parafilm

ile sıkıca kapatılır. 30 derecede etüv içerisinde 1 gün bekletilir. Bu işlem stok oluştururken de yapılarak bakteri kontaminasyonu kontrolü yapmayı da sağlar.



**Şekil 3.8 :** Katı besi ortamında bakteri çoğaltılması.

### **3.1.2 Kontrol boncuk üretimi**

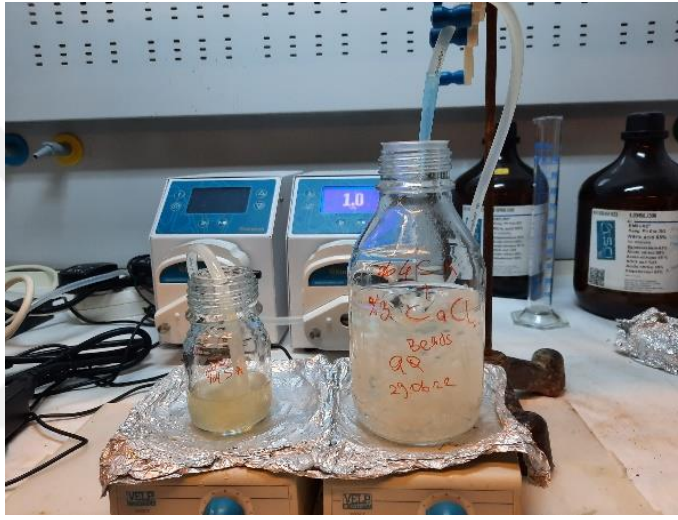
#### **3.1.2.1 Sodyum aljinat kontrol boncuk**

Sodyum aljinat boncukların üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. %4 a/h'lik 100 mL sodyum aljinat çözeltisi hazırlanır.
2. %3 a/h'lik 300 mL  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi hazırlanır.
3. Aljinat su içerisinde topaklanacağı için çözelti hazırlanırken güçlü bir karıştırıcı kullanılmalı ve mümkünse aljinat suya azar azar ilave edilmelidir.
4. Bir karıştırıcının üzerine de  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi konulur.
5. Ardından aljinat kurulan düzenek yardımı ile  $\text{CaCl}_2$  çözeltisine damlatılarak boncuklar oluşturulur.
6. Oluşan boncuklar, 24 saat dolapta bekletilerek sertleşmeleri sağlanır.
7. Ardından onun içinden alınıp fizyolojik su (serum fizyolojik) içerisinde ve oda sıcaklığında bekletilir.



**Şekil 3.9 :** Sodyum aljinat boncuk çözeltisi.



**Şekil 3.10 :** Sodyum aljinat boncuk üretimi.



**Şekil 3.11 :** Üretilen sodyum aljinat boncuklar.



**Şekil 3.12 :** Sodyum aljinat boncuk boyutu.

### **3.1.2.2 Polivinil alkol (PVA) kontrol boncuk**

PVA (Polivinil Alkol) boncukların üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. %10 a/h'lik PVA + %1 a/h'lik sodyum aljinat çözeltisi 100 mL distile su ile hazırlanır.
2. %5 a/h'lik 500 mL borik asit çözeltisi ısıtıcılı karıştırıcıda hazırlanır.
3. %2 a/h'lik  $\text{CaCl}_2$  tartılarak borik asit çözeltisine ilave edilir. Isıtıcı kapatılır, karıştırmaya devam edilir.
4. Hazırlanan çözelti soğuk su içerisinde bekletilerek soğutulur.
5. Hazırlanan düzenekte karıştırıcı üzerlerine PVA çözeltisi ve borik asit çözeltisi yerleştirilir.
6. Ardından PVA çözeltisi kurulan düzenek yardımı ile borik asit çözeltisine damlatılarak boncuklar oluşturulur.
7. Oluşan boncuklar, 24 saat dolapta bekletilerek sertleşmeleri sağlanır.
8. Ardından onun içinden alınıp fizyolojik su içerisinde ve oda sıcaklığında bekletilir.



**Şekil 3.13** : PVA boncuk üretimi.



**Şekil 3.14** : Üretilen PVA boncuklar.



**Şekil 3.15** : PVA boncukların boyutu.

### **3.1.2.3 Manyetik nanokompozit kontrol boncuk**

Manyetik boncukların üretimi için öncelikle manyetik  $Fe_3O_4$  partikülü sentezlenir.  $Fe_3O_4$  partikül sentezi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. 1,64 gr demir (III) klorür heksahidrat + 0,58 gr demir (II) klorür tetrahidrat, 50 mL distile su içerisine eklenir.
2. Karıştırıcıda 250-300 rpm aralığında 15 dakika karıştırılır.
3. Çözeltinin pH'ı amonyak solüsyonu ile 10'a ayarlanır.
4. Isıtıcılı karıştırıcıda 85 °C'de 1 saat karıştırılır.
5. Elde edilen çözelti distile su ile yıkanır, bekletildikten sonra üst faz ile alt faz ayrılır.
6. Partikül içeren alt faz etüvde 2 gün kurumaya bırakılır.



**Şekil 3.16 :** Sentezlenen manyetik  $Fe_3O_4$  partikülü.

Manyetik boncukların üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. %4 a/h'lik 100 mL sodyum aljinat çözeltisi hazırlanır.
2. 2,6 gr  $Fe_3O_4$  partikülü sodyum aljinat çözeltisi içerisine eklenir. Su banyosunda çözelti karıştırılır.
3. %3 a/h'lik 300 mL  $CaCl_2$  çözeltisi hazırlanır.
4. Hazırlanan boncuk düzeneğinde bir tarafa manyetik boncuk çözeltisi diğer tarafa ise  $CaCl_2$  çözeltisi yerleştirilir.
5. Boncuk çözeltisi  $CaCl_2$  çözeltisine damlatılarak boncuk oluşturulur.
6. Oluşan boncuklar, 24 saat dolapta bekletilerek sertleşmeleri sağlanır.
7. Ardından onun içinden alınıp fizyolojik su içerisinde ve oda sıcaklığında bekletilir.



**Şekil 3.17 :** Manyetik nanokompozit boncuk çözeltisi.

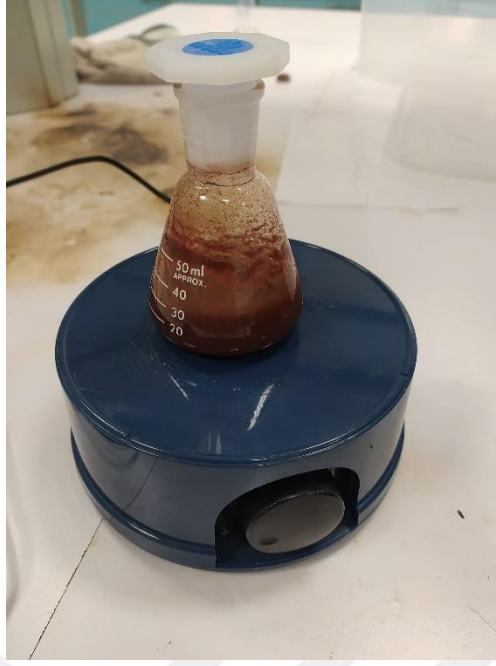


**Şekil 3.18 :** Üretilen manyetik nanokompozit boncuk.

#### **3.1.2.4 Çitosan manyetik kontrol boncuk**

Çitosan manyetik boncukların üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. 20 mL asetik asit hazırlanır. (%2)
2. 0,35 gram citosan asetik asit çözeltisine eklenir. Ardından 2 saat karıştırılır.
3.  $Fe_3O_4$  partikülünden 0,5 gr eklenir. Ardından 1 saat karıştırılır.
4. 1 M NaOH çözeltisi hazırlanır. Boncuk çözeltisi peristaltik pompa yardımı ile NaOH çözeltisine damlatılır. Boncuk oluşumu meydana gelir.



Şekil 3.19 : Çitosan manyetik boncuk çözeltisi.



Şekil 3.20 : Çitosan manyetik boncuk üretimi.



**Şekil 3.21** : Üretilen çitosan manyetik boncuklarda görülen mıknatıs etkisi.

### **3.1.2.5 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk**

Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat boncukların üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. %4 a/h'lik 100 mL sodyum aljinat çözeltisi hazırlanır.
2. %3 a/h'lik 300 mL  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi hazırlanır.
3. Sodyum aljinat su içerisinde topaklanacağı için çözelti hazırlanırken güçlü bir karıştırıcı kullanılmalı ve mümkünse sodyum aljinat suya azar azar ilave edilmelidir.
4. Bir karıştırıcının üzerine de  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi konulur.
5. Ardından aljinat kurulan düzenek yardımı ile  $\text{CaCl}_2$  çözeltisine damlatılarak boncuklar oluşturulur.
6. Oluşan boncuklar, 24 saat dolapta bekletilerek sertleşmeleri sağlanır.
7. Ardından onun içinden alınıp fizyolojik su (serum fizyolojik) içerisinde ve oda sıcaklığında bekletilir.
8. %10 a/h'lik PES, 60 °C'de 24 saat boyunca N-Methyl-Pyrrolidone (NMP) içinde çözündürülür.
9. Polimerik çözelti, tam karıştırma ve soğutma için gece boyunca karıştırılır.
10. Sodyum aljinat boncukları, her bir polimerik çözeltiye 30 saniye boyunca daldırılır.

11. Polimerik çözelti ile çevrili sodyum aljinat boncuk, 1 saat süreyle bir su pıhtılaşma banyosuna daldırılır.
12. Kaplanan boncuklar 4 °C'de deiyonize suda saklanır.



Şekil 3.22 : Üretilen PES kaplı sodyum aljinat boncuk.

### 3.1.2.6 Sodyum aljinat kontrol düz plaka

Sodyum aljinat düz plaka üretimi şu şekilde gerçekleştirilir:

1. %4 a/h'lik 100 mL sodyum aljinat çözeltisi hazırlanır.
2. %5 a/h'lik 1000 mL CaCl<sub>2</sub> çözeltisi hazırlanır.
3. Aljinat su içerisinde topaklanacağı için çözelti hazırlanırken güçlü bir karıştırıcı kullanılmalı ve mümkünse aljinat suya azar azar ilave edilmelidir.
4. Hazırlanan CaCl<sub>2</sub> çözeltisi geniş bir kaba boşaltılır.
5. Düz plaka membran üretiminde kullanılan cihaz açılır. Temiz bir cam plaka cihaz üstüne yerleştirilir. Bıçak kalınlığı ayarlanır.
6. Hazırlanan sodyum aljinat bıçak ile sürücü parça arasına yeterli miktarda dökülür. Ardından cihaz çalışır ve bıçak cam tabaka üzerinde kayarak son noktaya kadar sodyum aljinatı eşit biçimde yayar.
7. Cam plaka ile birlikte sodyum aljinat plakası CaCl<sub>2</sub> çözeltisinin yer aldığı kaba daldırılır. 30 dakika bekletilir.
8. 30 dakika sonunda katılaştıran plaka camdan ayrılır ve farklı bir kap içerisine alınır.
9. Oluşturulan düz plakalar, 24 saat boyunca CaCl<sub>2</sub> çözeltisi içerisinde dolapta bekletilir. 24 saatin sonunda ise CaCl<sub>2</sub> çözeltisi yerine fizyolojik su (Serum fizyolojik) ile bekletilir.



**Şekil 3.23** : Sodyum aljinat düz plaka üretimi.



**Şekil 3.24** : Üretilen sodyum aljinat düz plaka.

### **3.1.3 QQ boncuk üretimi**

Farklı immobilizasyon medya malzemeleri ile üretilen tüm boncuklar ve düz plaka, optimum reçetelerine uygun olarak aynı zamanda içerlerine bir QQ bakteri olan *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> immobilize edilerek de üretilmiştir. Bakteri içeren medyalar için aşağıdaki ara işlemler genel metodolojiye ek olarak gerçekleştirilir:

1. Bakteri ile doldurulacak boncuklar için içerisinde bakteri inkübe edilmiş ve çoğalmış olan sıvı besiyeri santrifujlenir.
2. Üst sıvısı dökülüp tekrardan 1 mL otoklavlanmış fizyolojik su ilave edilir.

3. Her bir boncuğa gelebilecek bakteri miktarı hakkında yaklaşık bir bilgi sahibi olabilmek için bakteri solüsyonunun konsantrasyonu ölçülür.
4. Bakteri solüsyonu ana medya malzeme çözeltisi ile karıştırılır.



Şekil 3.25 : Santifüjlenmiş sıvı besi yeri.

## 3.2 Karakterizasyon Analizleri

### 3.2.1 QQ aktivite testi

Biyoluminesans cihazı QQ aktivite testi için kullanılır. Cihazın kullanımı için gerekli adımlar aşağıda yer almaktadır.

1. Distile su, izotonik su, sıvı besi yeri ve gerekli tüm malzemeler otoklav yardımı ile steril hale getirilir.
2. Spektinomisin ve tetrasiklin çözeltisi hazırlanır.
3. 8 karbon bağlı uzantısı olan homoserin lakton (C8-HSL) stok solüsyonu hazırlanır. Ardından seyreltilerek kullanıma hazır hale getirilir.
4. *A. tumefaciens* A136 bakterisi gerekli antibiyotikler ilave edilerek ekilir ve bakteri büyümesini sağlamak için 31 °C'de 72 saat inkübasyona tabi tutulur.
5. *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi büyümeyi sağlamak için besi yerine eklenir ve 31 °C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulur.
6. 24 saatin ardından sıvı besi yeri içerisinde çoğalan *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi solüsyonundan 15 mL alınarak 10000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenir.
7. Santrifüj sonrasında üst fazda kalan besi yeri atılır. Yerine izotonik su ilave edilip santrifüj tekrarlanır.
8. En son elde edilen bakteri kalıntısının üzerine 10 mL 200 nmol C8-HSL ilave edilir.

9. Üzerine 200 nmol C8-HSL ilave edilen bakteri pelleti vortekslenerek, 31°C sıcaklığa sahip çalkalamalı inkübatöre konulur.
10. 0, 5, 10, 15, 30 ve 60. dakikalarda numuneler alınır. Bir ependorf tüpe konulur.
11. Alınan numuneler steril 0,45 µm'lik filtrelerden steril şırıngalar yardımı ile süzülür. Yeni bir ependorf tüpe konulur. Yeni ependorf tüplere 950 µL steril distile suyun üzerine 50 µL numune konularak, ependorf tüpler vortekslenir.
12. UV spektrofotometre kullanılarak A. tumefaciens A136 bakterisi bulanıklık ölçümü yapılır. Ölçüm sonucuna göre seyreltme oranları ve gerekli miktar belirlenir.
13. Standart C8-HSL çözeltileri hazırlanır.
14. Beyaz yatay kaset etanol sprey ile temizlenir.
15. Tüm doldurulacak hürelere önce 95 uL A. tumefaciens A136 solüsyonu eklenir. (Şekil 3.27)
16. Üzerine 5 uL numune ya da standart C8-HSL solüsyonu konulur.
17. Üzerine transparan yapışkan kağıt yapıştırılır.
18. Isıtıcılı çalkalayıcıda 1 dakika çalkalanır.
19. Beyaz yatay kaset 31 °C 1 saat inkübe edilir.
20. Hürelere 30 uL beta-glo eklenir. Tekrar sonra transparan yapışkan kağıt kapatılır. Üzerine folyo kaplanır.
21. 1 dakika ısıtıcılı karıştırıcıda tutulur.
22. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
23. Beyaz yatay kaset folyodan çıkarılıp ışığa maruz bırakılmadan biyoluminesans cihazına takılır. (Şekil 3.26)
24. Cihaz sonuçları alınıp excelde hesaplama yapılır.



Şekil 3.26 : QQ aktivite ölçüm cihazı.



Şekil 3.27 : QQ aktivite ölçümü için hücrelere Beta-Glo eklenmesi.

### 3.2.2 Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

Boncukların morfoloji ve yüzey görüntülerinin alınması için FEI Quanta FEG 250 SEM cihazı kullanılmıştır. Boncuklar görüntülenmeden önce üzerleri 3-4 nm kadar altın-paladyum (Pd-Au) ile kaplanmıştır. Kaplama için Quorum SC7620 model sputter kaplama cihazı kullanılmıştır. SEM cihazı ayrıca sentezlenen manyetik nanopartiküllerin boyut analizi için de kullanılmıştır.

### 3.2.3 Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Boncukların ve sentezlenen nanoparçacığın yüzeyindeki bağların ne olduğunu bulup bunları değerlendirmek amacı ile Perkin Elmer FTIR-ATR cihazı kullanılmıştır.

### 3.2.4 Biyoreaktörde dayanıklılık

Boncuk muhteva eden ve etmeyen boncukların ayrı zamanda test edildiği 4 adet seri bağlı 250 mL hacminde reaktörden oluşan bir test sistemi kurulmuştur. Her bir reaktöre ilgili boncuktan (sodyum aljinat, PVA, manyetik veya çitosanlı manyetik çeşitlerden biri) 40-50 adet konularak, reaktörler sentetik evsel atıksu ile işletilmeye başlanmıştır. Rutin olarak belli periyotlarda boncuklardan numune alınarak boyut ölçümü yapılmıştır. Reaktör işletilirken aktif çamur sürekli olarak havalandırılmakta ve rutin olarak askıda katı madde (AKM) ve uçucu askıda katı madde (UAKM) deneyleri yapılmaktadır. Analiz; Standard Methods 1989 S.2-75, GEMS S.22 'a göre yapılmış olup, sabit tartıma getirilmiş standart cam elyaf filtre kâğıdından süzülerek 103-105°C'de kurutulmuş süzüntü kalıntısının ağırlığı AKM'yi ifade eder. AKM (105°C) için elde edilen filtre kalıntısı 550 oC'deki kül fırınında sabit ağırlığa gelmesi için yakılır. Uçucu katıların yanmasıyla oluşan ağırlık kaybı sonunda geriye kalan katı; askıda katı maddelerin organik fraksiyonu olan UAKM'dir.

### 3.2.5 Porozite

Malzeme mekaniğinde malzeme davranışlarını belirleyebilmek için fiziksel özelliklerinin belirlenmesi gerekir. Bu amaçla, boncuk üretiminde kullanılan farklı malzemelerin davranışını ve özelliklerini anlamada önemli etkiye sahip olan porozite parametresi belirlenmiştir. Düzgün geometrik şekilli boncuklar seçilerek boyutları ölçülür. Boyut ölçümü yapılan boncukların hacimleri ( $V_T$ ) hesaplanır. Boncuklar tartılır ve doğal ağırlığı ( $W_{doğ}$ ) hesaplanır. Daha sonra boncuklar 24 saat  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de fırında kurutulur, desikatörde 30 dakika bekletilerek soğutulur. Ağırlığı tartılır. Bulunan değer, belirli hacimdeki boncuğun kuru ağırlığıdır ( $W_k$ ). Boncuklar 48 saat su içerisinde bekletilerek doymun hale getirilir. Kâğıt havlu ile fazla suyu alınır. Hassas terazi ile tartılır. Bu değerde belirli bir hacimdeki boncuğun doymun ağırlığıdır ( $W_d$ ). Ölçüler değerler göz önüne alınarak porozite aşağıdaki formüller yardımı ile hesaplanır.

$$V_b = \frac{w_d - w_k}{\gamma_{su}}$$

$$n = \frac{V_b}{V_t} * 100$$

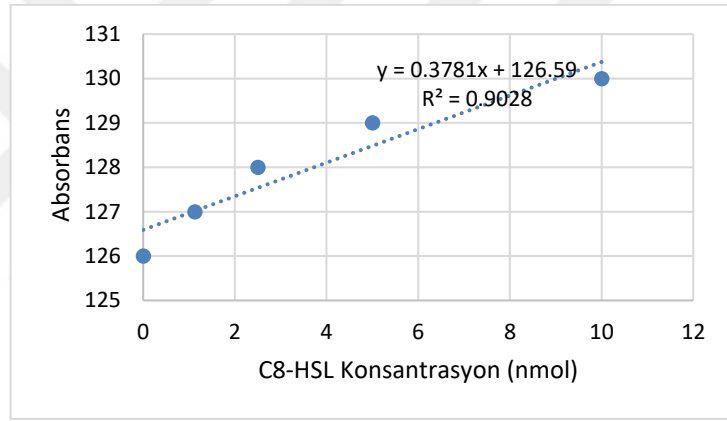


## 4. DENEYSEL SONUÇLAR

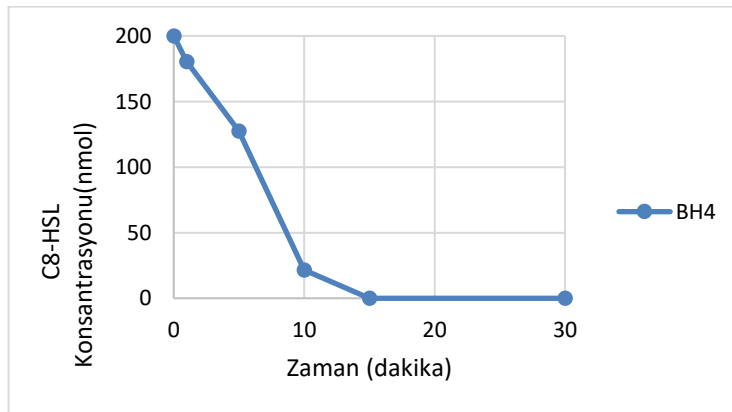
### 4.1 QQ Aktivite Testi

Üretilen boncuklarda Quorum Sensing sinyal molekülünün varlığının belirlenmesi için deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla daha önceki bölümlerde metodu detaylı olarak anlatılmış olan Biyoluminesans cihazı kullanımı tercih edilmiştir. Sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

#### 4.1.1 *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> QQ aktivitesi



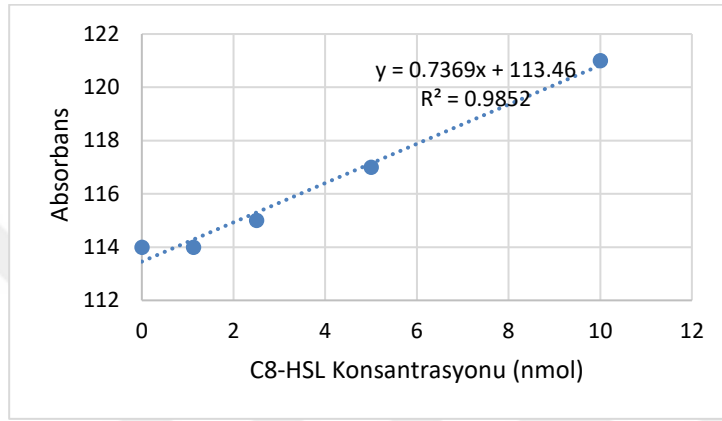
Şekil 4.1 : *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi QQ aktivitesi standardı grafiği.



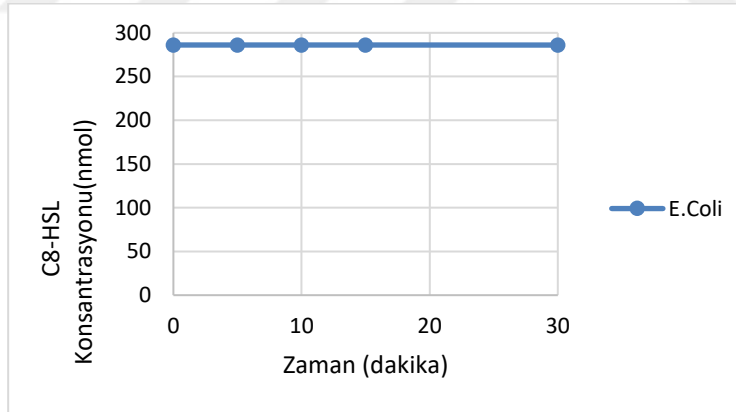
Şekil 4.2 : *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> QQ aktivitesi grafiği.

Grafik incelendiğinde *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin Quorum Quenching aktivitesinin yüksek olduğu görülmektedir. Bakteri bulunan hücrelerin üzerine C8-HSL solüsyonunun ilavesinin ardından geçen ilk 10 dakikanın sonunda bakteri C8-HSL'nin %90'ını degrade etmeyi başarmış ve C8-HSL konsantrasyonunu 20 nmol değerlerine indirmiştir. İlk 15 dakikanın sonunda ise, %100 verim ile etkili bir Quorum Quenching aktivitesi göstermiştir.

#### 4.1.2 *Escherichia coli* (*E. coli*) QQ aktivitesi



Şekil 4.3 : *Escherichia coli* (*E. coli*) bakterisi QQ aktivitesi standardı grafiği.

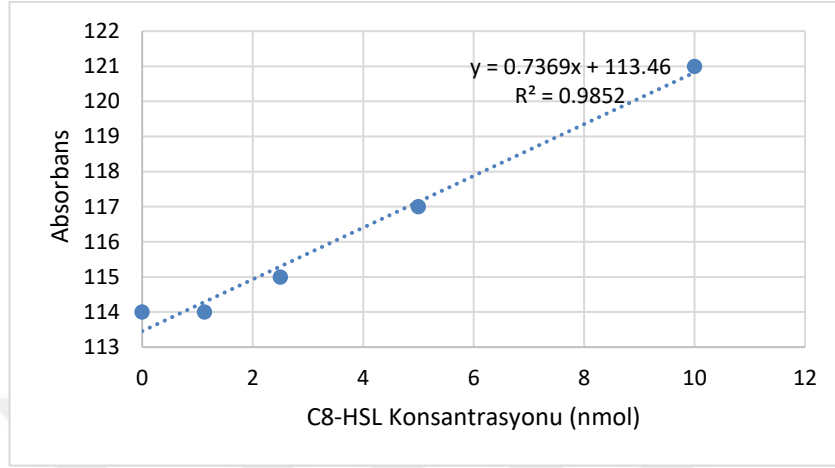


Şekil 4.4 : *Escherichia coli* (*E. coli*) bakterisi QQ aktivitesi grafiği.

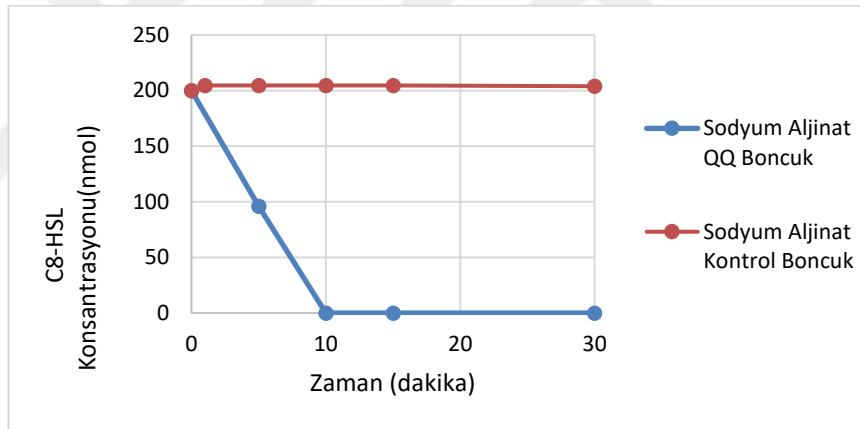
*Escherichia Coli* (*E. coli*) kontrol tür olarak kullanılmıştır. Literatür çalışmalarında elde edilen sonuçlar doğrultusunda *E. coli* bakterisi türünün QQ aktiviteye sahip olmadığı kanıtlanmıştır. Bundan dolayı cihazın çalıştığından emin olmak ve *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisi ile aradaki farkı görmek adına QQ aktivite testi yapılmıştır. Grafik incelendiğinde C8-HSL konsantrasyonunun zamana bağlı olarak

değişim göstermediği görülmüştür. Bu durum *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin QQ aktivite sonucunu doğrulamıştır.

#### 4.1.3 Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi



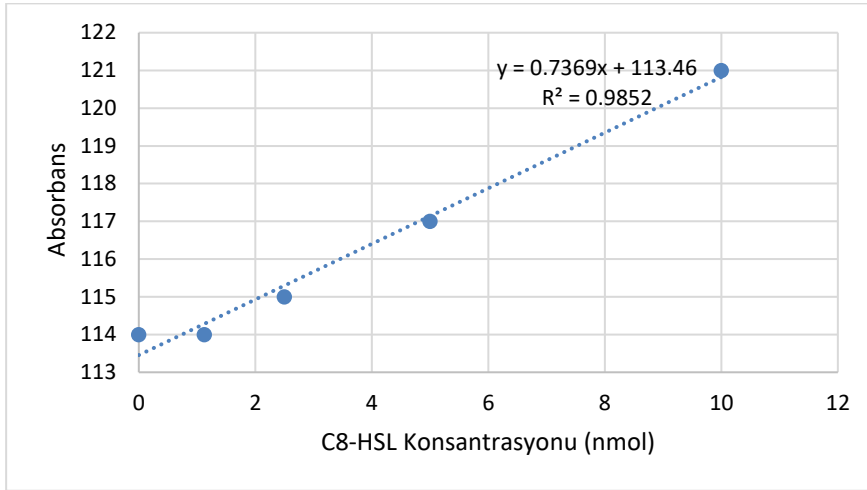
Şekil 4.5 : Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.



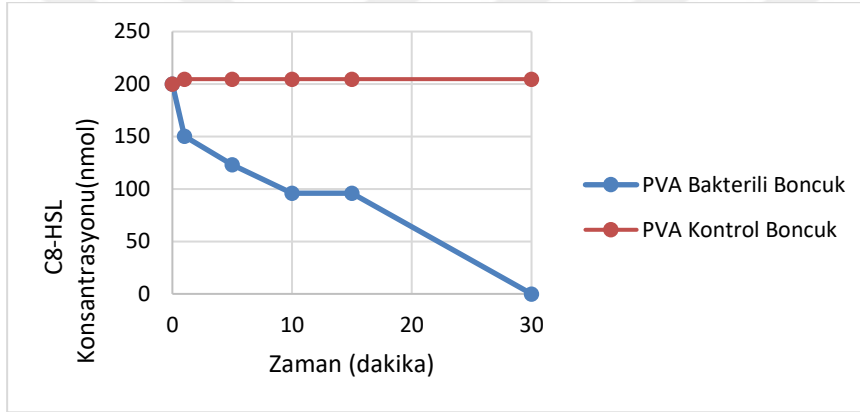
Şekil 4.6 : Sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi grafiği.

Sodyum aljinat boncuk kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda kontrol boncukta konsantrasyon değişimi gözlenmemiştir. Kontrol boncuk içerisinde QQ aktivite oluşturan bakterilerin yer almadığını grafiği inceleyerek görmek mümkündür. QQ boncuk ise yüksek QQ aktivitesine sahiptir. İlk 10 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonunu sıfıra indiren QQ boncuk, QQ mekanizmasının varlığını kanıtlamıştır.

#### 4.1.4 PVA boncuk QQ aktivitesi



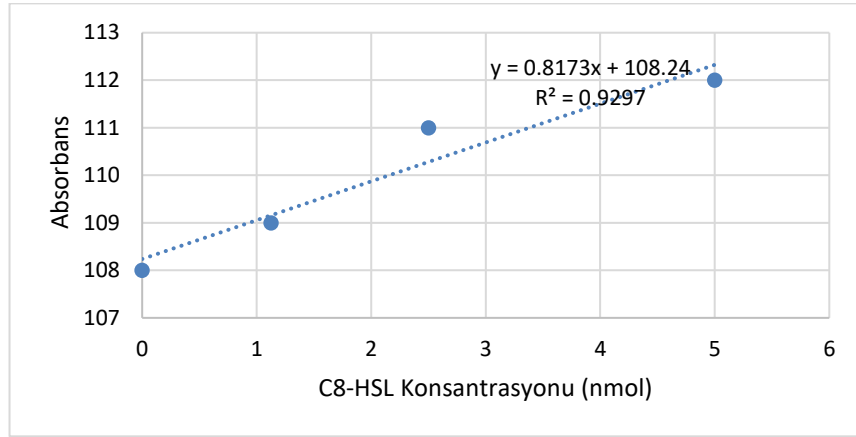
Şekil 4.7 : PVA boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.



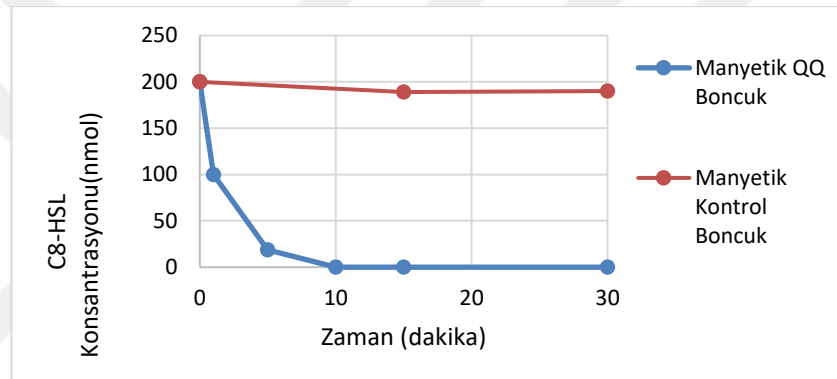
Şekil 4.8 : PVA boncuk QQ aktivitesi grafiği.

PVA boncuk kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda kontrol boncukta konsantrasyon değişimi gözlenmemiştir. Kontrol boncuk içerisinde QQ aktivite oluşturan bakterilerin yer almadığını grafiği inceleyerek görmek mümkündür. QQ boncuk ise QQ aktivitesine sahip olduğunu ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunun değişimi sayesinde göstermiştir. İlk 10 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonu %50 oranında azalmıştır. 30 dakika sonunda ise C8-HSL konsantrasyonu tamamen bitmiştir. Sodyum aljinata kıyasla daha düşük QQ aktiviteye sahip olsa da PVA boncuğun deneysel çalışmalarda kullanılmasını engelleyen bir sonuçla karşılaşılmamıştır.

#### 4.1.5 Manyetik nanokompozit boncuk QQ aktivitesi



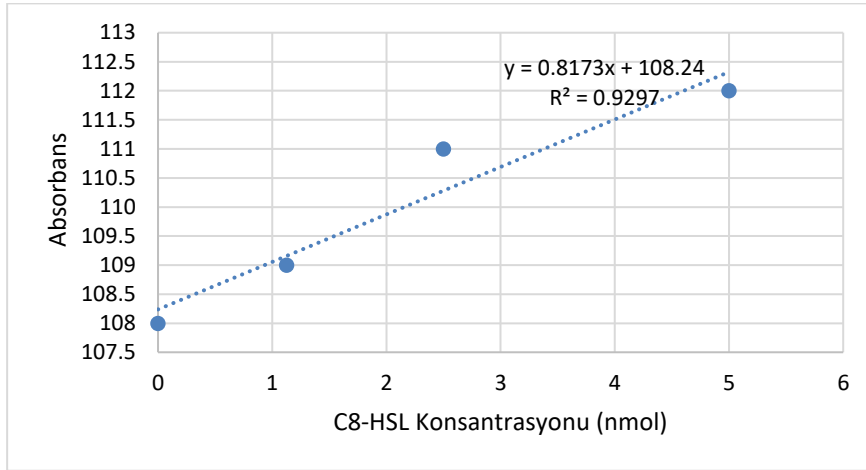
Şekil 4.9 : Manyetik boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.



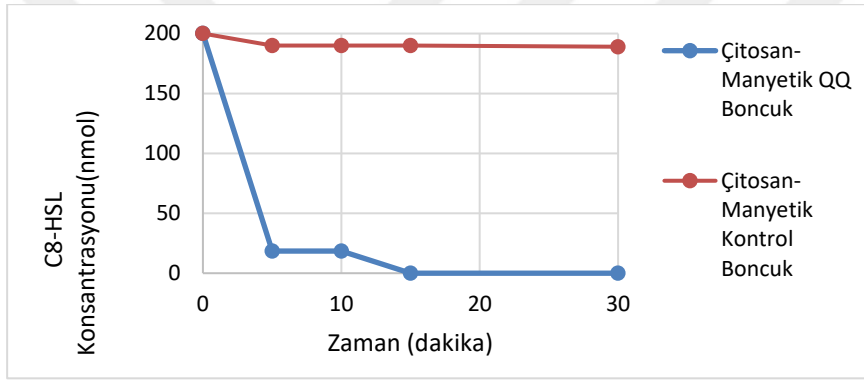
Şekil 4.10 : Manyetik boncuk QQ aktivitesi grafiği.

Manyetik boncuk kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda kontrol boncukta konsantrasyon değişimi gözlenmemiştir. Kontrol boncuk içerisinde QQ aktivite oluşturan bakterilerin yer almadığını grafiği inceleyerek görmek mümkündür. QQ boncuk ise QQ aktivitesine sahip olduğunu ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunun değişimi sayesinde göstermiştir. İlk 5 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonu %90 oranında azalmıştır. 10 dakika sonunda ise C8-HSL konsantrasyonu tamamen bitmiştir. Boncuk türleri arasında kıyaslama yapıldığında sodyum aljinat ile benzer QQ aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikül ilavesinin QQ aktivitesine olumsuz yönde bir etkisi olmadığı da gözlenmiştir.

#### 4.1.6 Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi



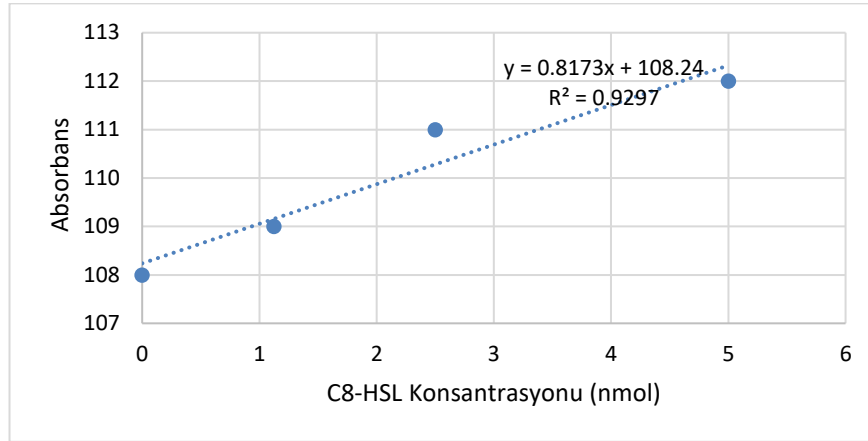
Şekil 4.11 : Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.



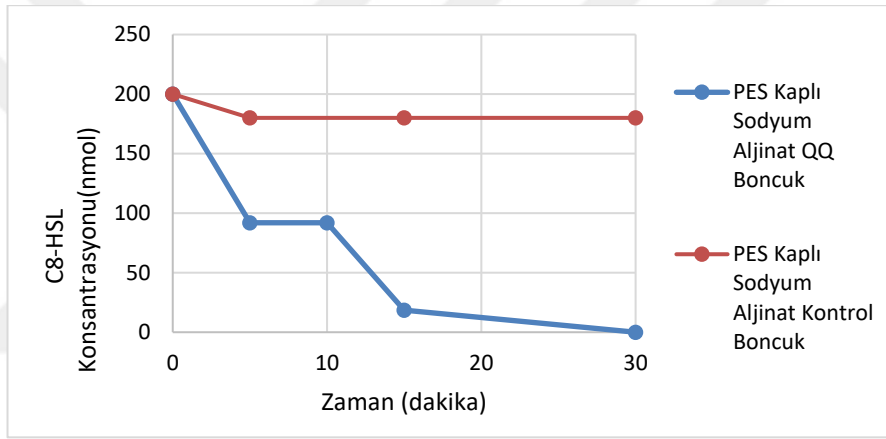
Şekil 4.12 : Çitosan manyetik boncuk QQ aktivitesi grafiği.

Çitosan manyetik boncuk kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Şekil 4.12’de yer alan aktivite testi sonucunda kontrol boncukta konsantrasyon %5 oranında azalmıştır. Konsantrasyonda az miktarda da olsa değişim olması ortamda kontaminasyon sonucunda bakterinin yer aldığı şeklinde yorumlanmıştır. QQ boncuk ise QQ aktivitesine sahip olduğunu ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunun değişimi sayesinde göstermiştir. İlk 5 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonu %90 oranında azalmıştır. 15 dakika sonunda ise C8-HSL konsantrasyonu tamamen bitmiştir. Manyetik boncuk ile kıyaslandığında çitosan ilavesinin QQ aktivitesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra  $Fe_3O_4$  manyetik nanopartikül ilavesinin QQ aktivitesine olumsuz yönde bir etkisi olmadığı da gözlenmiştir.

#### 4.1.7 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi



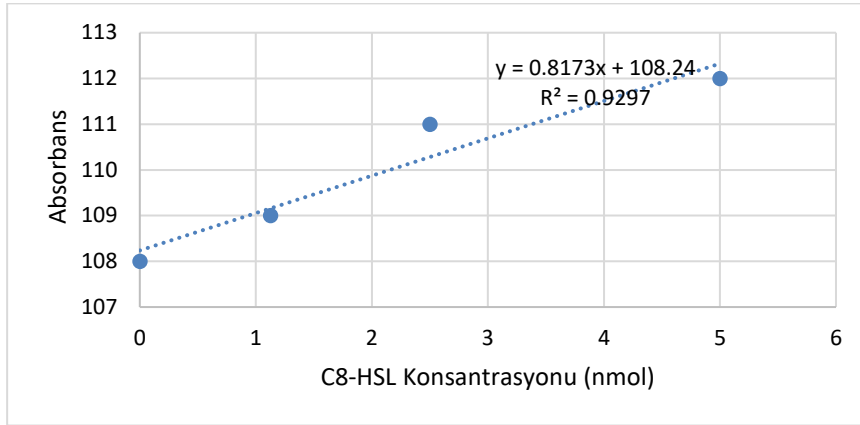
Şekil 4.13 : PES kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi standardı grafiği.



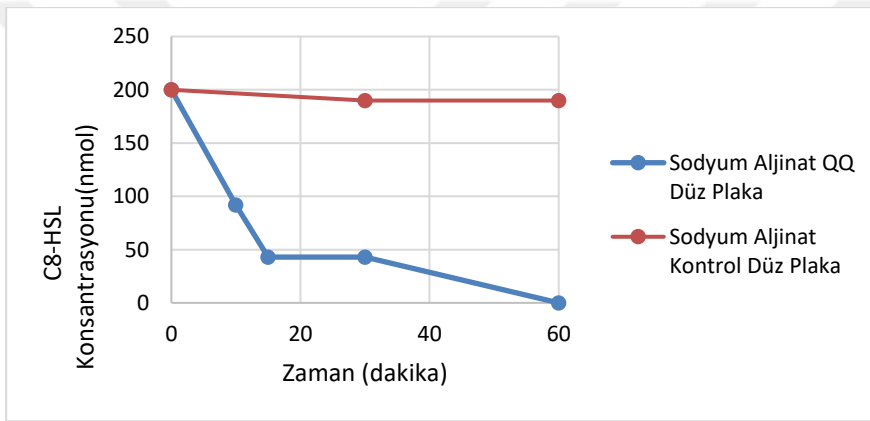
Şekil 4.14 : PES kaplı sodyum aljinat boncuk QQ aktivitesi grafiği.

PES kaplı sodyum aljinat boncuk kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda kontrol boncukta konsantrasyon ilk 5 dakikada yaklaşık %50 oranında azaldığı şekil 4.14'de görülmektedir. Konsantrasyonda meydana gelen değişimin ortamda kontaminasyonun meydana geldiği ve C8-HSL tüketen bakterilerin ortamda yer aldığı şeklinde yorumlanmıştır. QQ boncuk ise QQ aktivitesine sahip olduğunu ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunun değişimi sayesinde göstermiştir. İlk 5 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonu yaklaşık %50 oranında azalmıştır. 15 dakika sonunda ise C8-HSL konsantrasyonu %90 oranında azalmıştır. 30 dakika sonunda C8-HSL konsantrasyonun tamamen sonlandığı görülmüştür. Sodyum aljinat boncuk ile karşılaştırma yapıldığında PES kaplama yapmanın QQ aktiviteyi azaltan yönde etki yaptığı sonucuna ulaşılmıştır.

#### 4.1.8 Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi



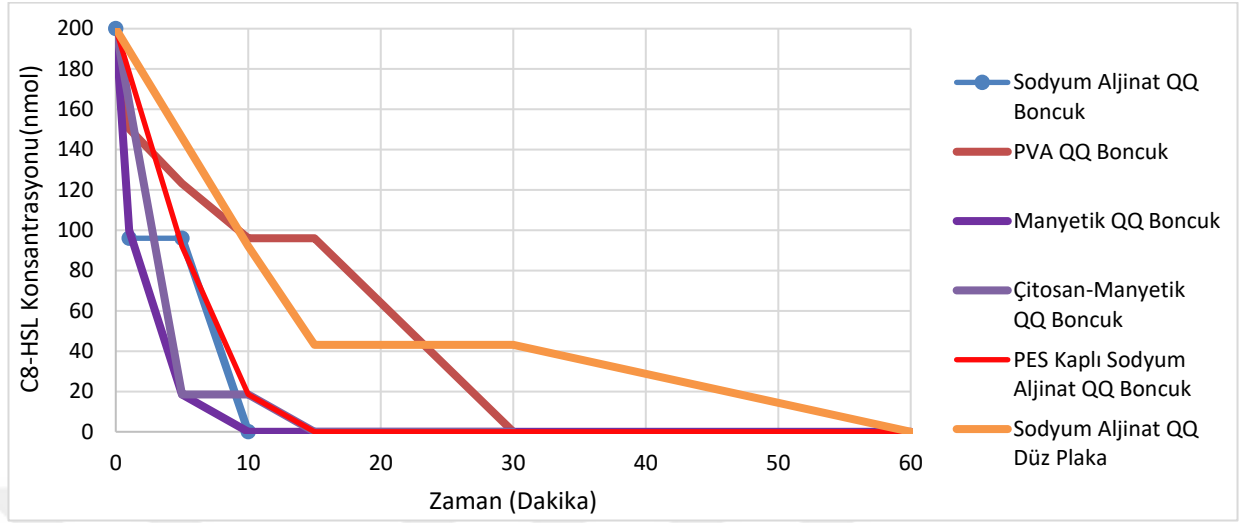
Şekil 4.15 : Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi standardı grafiği.



Şekil 4.16 : Sodyum aljinat düz plaka QQ aktivitesi grafiği.

Sodyum aljinat düz plaka kontrol ve QQ olarak üretilerek aktivite testi yapılmıştır. Yapılan aktivite testi sonucunda kontrol düz plakada konsantrasyon 60 dakika boyunca sabit kaldığı şekil 4.16'da görülmektedir. Konsantrasyonda değişim olmaması ise kontrol düz plakada QQ aktivitesi oluşturan bakterilerin bulunmadığını gösterir. QQ düz plaka ise QQ aktivitesine sahip olduğunu ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunun değişimi sayesinde göstermiştir. İlk 5 dakika içerisinde ortamda bulunan C8-HSL konsantrasyonu yaklaşık %50 oranında azalmıştır. 15 dakika sonunda ise C8-HSL konsantrasyonu yaklaşık %75 oranında azalmıştır. 60 dakika sonunda C8-HSL konsantrasyonun tamamen sonlandığı görülmüştür. Sodyum aljinat boncuk ile karşılaştırma yapıldığında düz plakada daha düşük QQ aktivitesi dikkat çekmiştir. Düz plaka üretimde kullanılan sodyum aljinat konsantrasyonunun daha yoğun olması ve bundan kaynaklı daha az boşluklu bir yapının meydana gelmesi olarak

yorumlanmıştır. Bu durum medyaya tutunan bakteri konstantrasyonunun daha az olması ve QQ aktivitesinin azalması olarak yorumlanmıştır.



Şekil 4.17 : Bakterili medya çeşitlerinin QQ aktiviteleri grafiği.

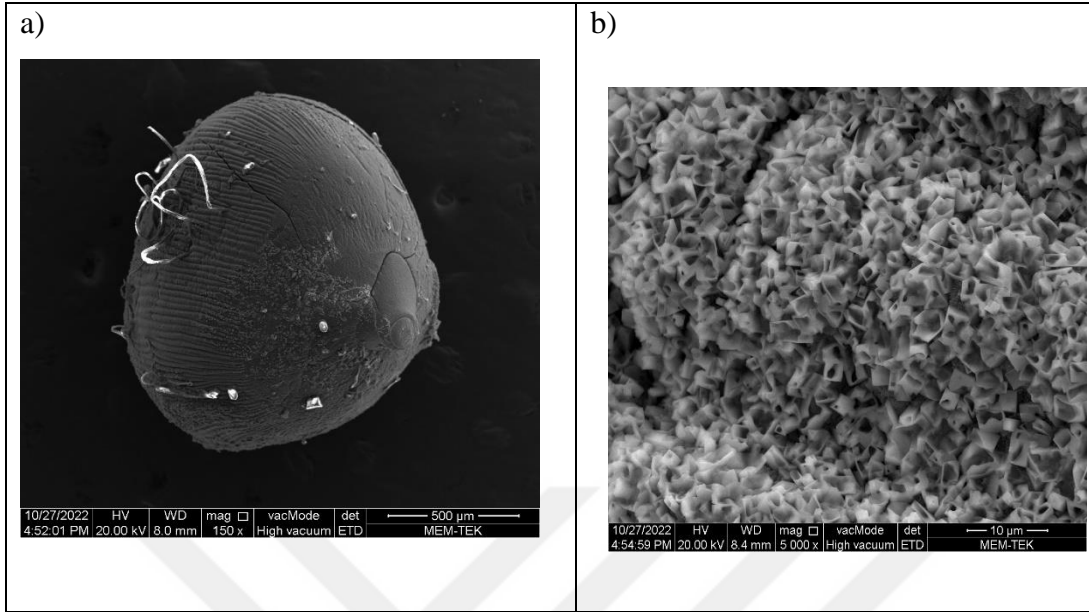
Bakterili olarak üretilen medya malzemelerinin QQ aktiviteleri incelendiğinde ortamdaki C8-HSL konsantrasyonunu en kısa sürede tüketen malzemeler sodyum aljinat boncuk ve manyetik nanokompozit boncuk olduğu şekil 4.17’de görülmektedir.

## 4.2 Karakterizasyon Analizleri

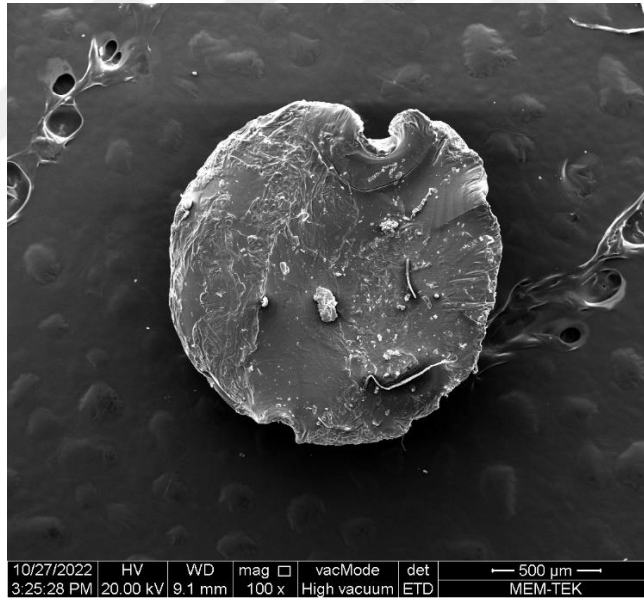
### 4.2.1 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM görüntüleri verilirken her bir malzeme için önce kontrol boncukların ardından bakteri immobilize edilmiş boncukların görüntülerinin verilmesi karşılaştırma yapılabilmesi açısından uygun bulunmuştur. Her bir malzeme ve boncuk (kontrol veya bakteri içeren) numunesi için de önce yüzey, ardından kesti görüntüleri alınmış ve bu bölümde sunulmuştur. SEM görüntüleri incelendiğinde, boncuk üretiminde çoğunlukla küresel formun yakalanabildiği anlaşılmaktadır. Küresel formların bazı SEM görüntülerinde hafif kaybolmuş olması numunenin SEM numune tutucusuna yapıştırılması ve sabitlenmesi gerekliliği sebebiyle uygulanan işlemlerden ve kesitlerin alınması sırasındaki kesme işlemlerinden kaynaklanmıştır. Kesit alımından önce sıvı azot ile dondurma işlemlerinin yapılması ile görüntülerdeki şekil bozuklukları en aza indirgenmiştir.

#### 4.2.1.1 Sodyum aljinat kontrol boncuk



Şekil 4.18 : Sodyum aljinat kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b: 5000x).



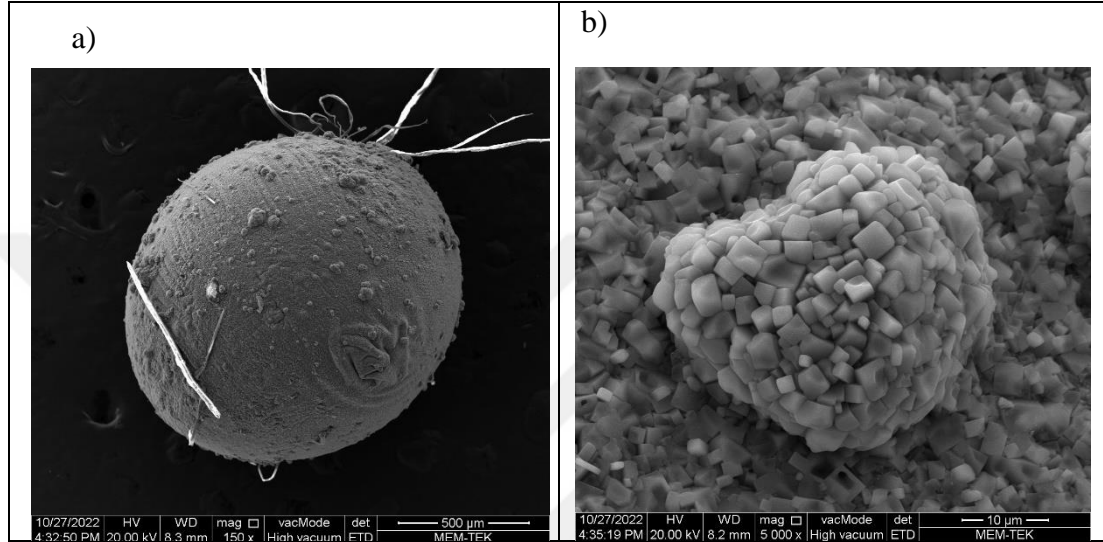
Şekil 4.19 : Sodyum aljinat kontrol boncuk kesit görüntüsü (100x).

Sodyum aljinat ile üretilen kontrol boncuğun şekil 4.18’de yer alan yakınlaştırılmış yüzey görüntüsü incelendiğinde homojen ve oldukça poroz olan yapı fark edilmektedir. Şekil 4.19’da yer alan kesit görüntüsünde de aynı homojen yapı görülmektedir.

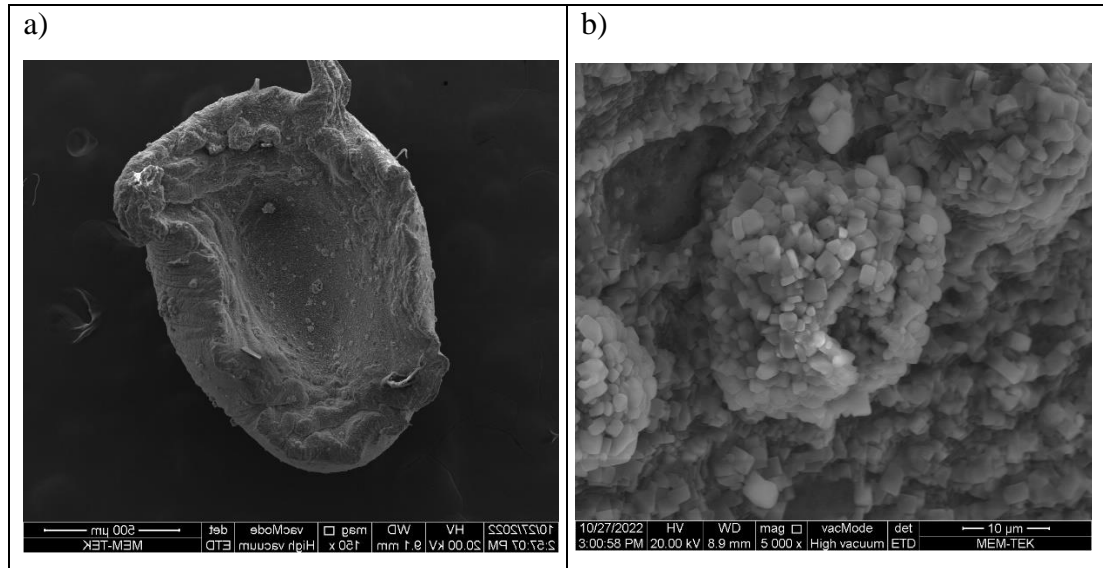
#### 4.2.1.2 Sodyum aljinat QQ boncuk

Bakteri immobilize edilmiş sodyum aljinat boncuk görüntüleri, kontrol sodyum aljinat boncuk görüntüleri ile karşılaştırıldığında hem yüzey kem kesitte *Rhodococcus* sp. BH4 bakterisinin dağılmış ve tutunmuş olduğu görülebilmektedir.

Boncuk yapısı incelendiğinde ise kontrol boncuklara kıyasla daha az boşluklu (poroz) yapı dikkat çekmektedir.



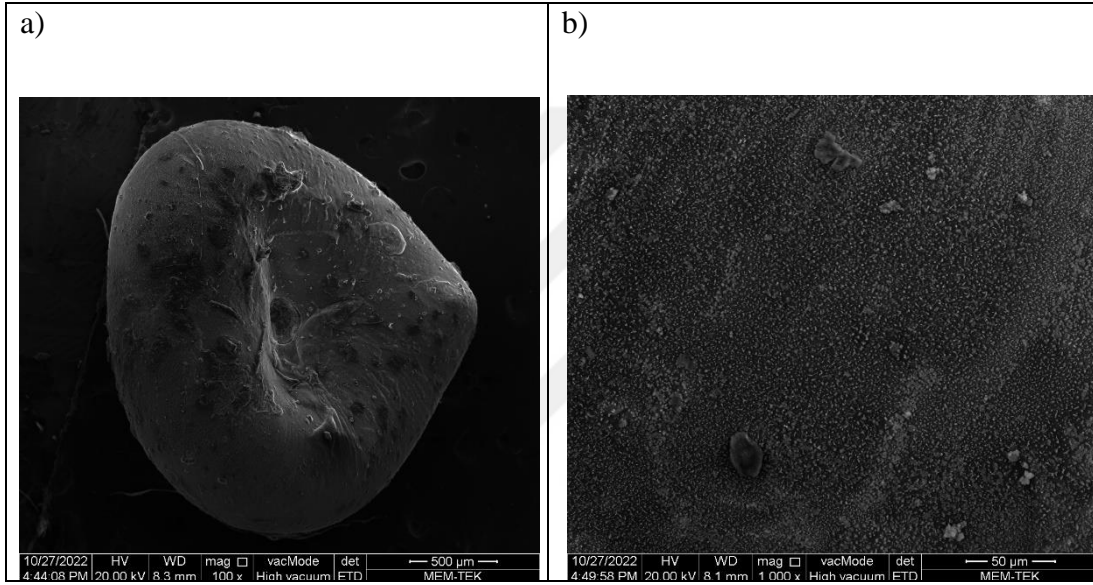
Şekil 4.20 : Sodyum aljinat QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:5000x).



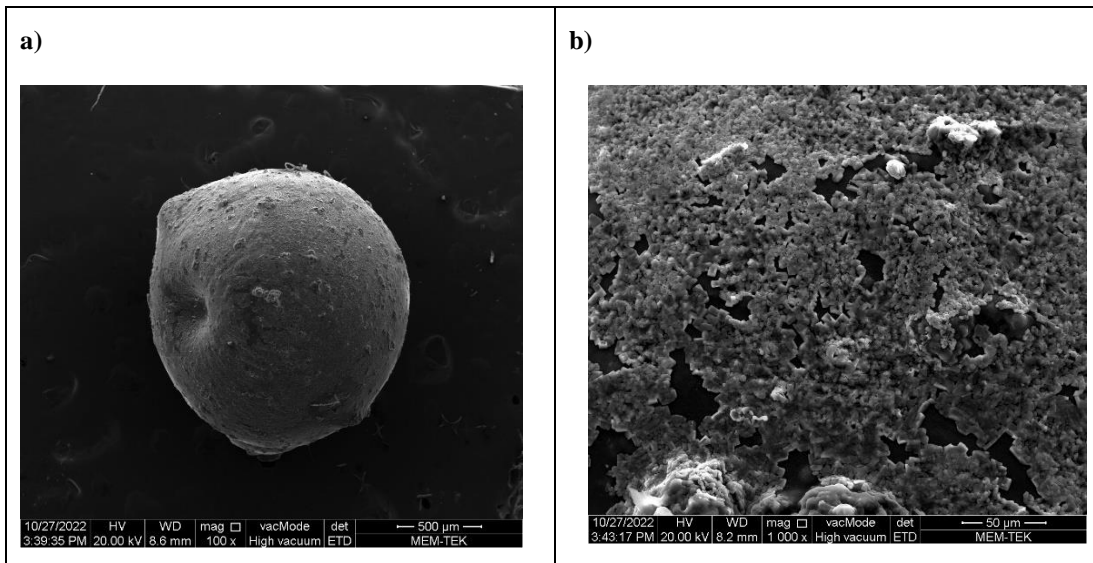
Şekil 4.21 : Sodyum aljinat QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:5000x).

#### 4.2.1.3 PVA kontrol boncuk

Şekil 4.22 ve şekil 4.23’de yer alan PVA boncukların SEM görüntüleri incelendiğinde, yüzeyde daha fazla açıklık olduğu ve sodyum aljinat boncuklara göre daha poroz bir yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, porozite sonuçlarını destekler bir sonuç olarak yansıtılmıştır. PVA kontrol boncukların yüzey ve kesit görüntülerinde deformasyona yatkın bir yapı olduğu gözlenmiştir. Kontrol boncuklarda bakteri gözlenmemiştir, kontaminasyon yoktur.



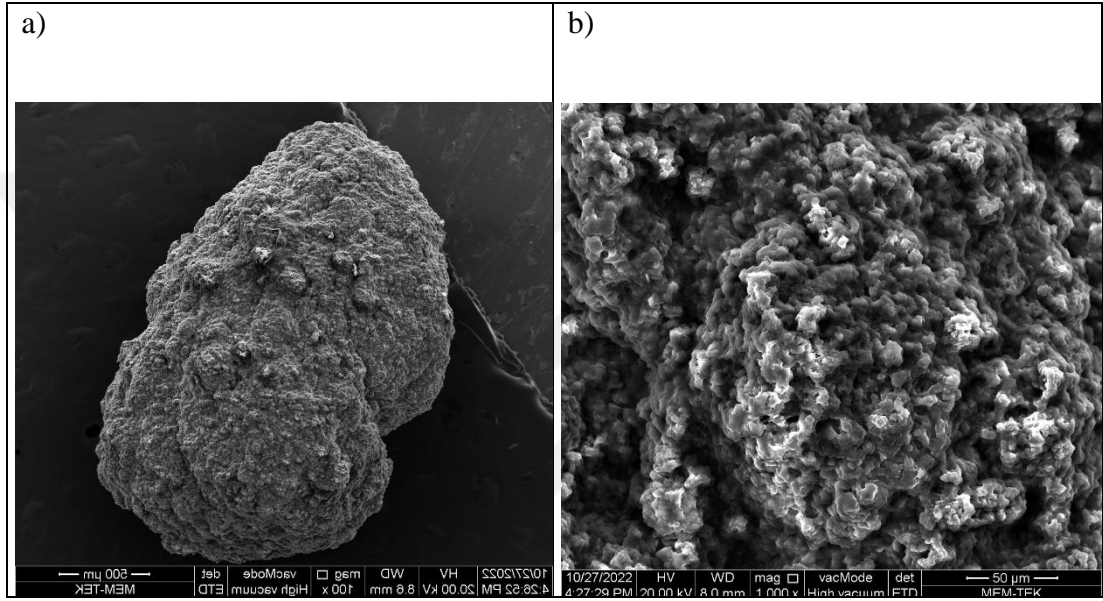
Şekil 4.22 : PVA kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:1000x).



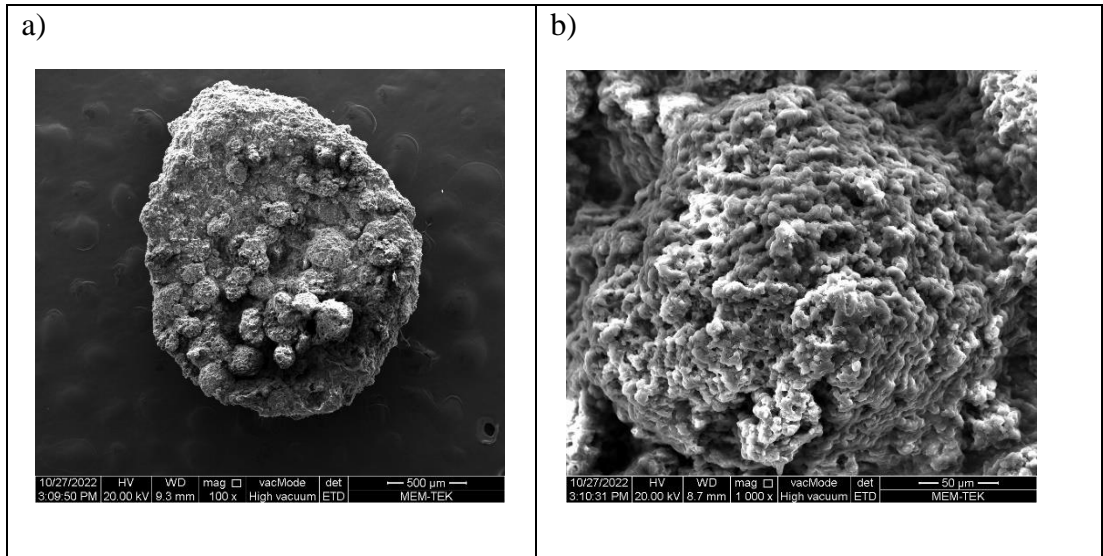
Şekil 4.23 : PVA kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x).

#### 4.2.1.4 PVA QQ boncuk

Bakteri immobilize edilmiş boncukların yüzey ve kesitlerinin görüntüleri incelendiğinde ise *Rhodococcus* sp. BH<sub>4</sub> bakterilerinin agglomerasyonu az da olsa tercih ettiği gözlenmiştir. Kontrol boncuk görüntülerine kıyasla bakteri tutunması net olarak görülmektedir. Bunun yanı sıra boşluklu yapıda olan kontrol boncuğa kıyasla daha az poroz görüntü olduğu dikkat çekmektedir.



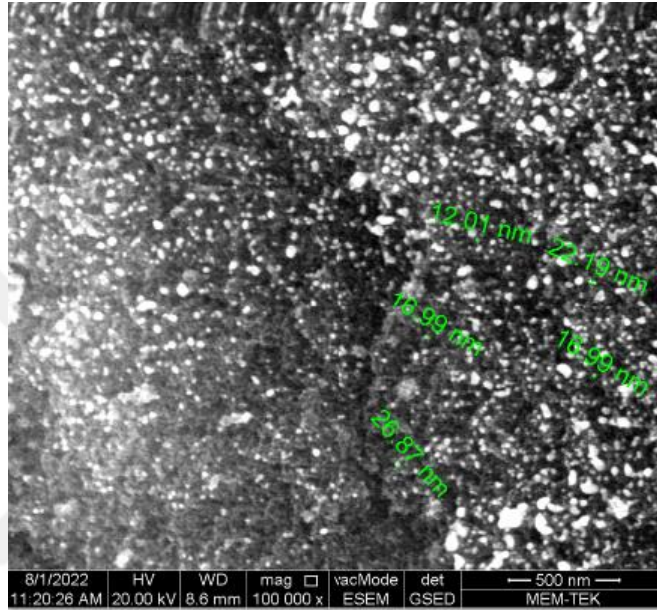
Şekil 4.24 : PVA QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:1000x).



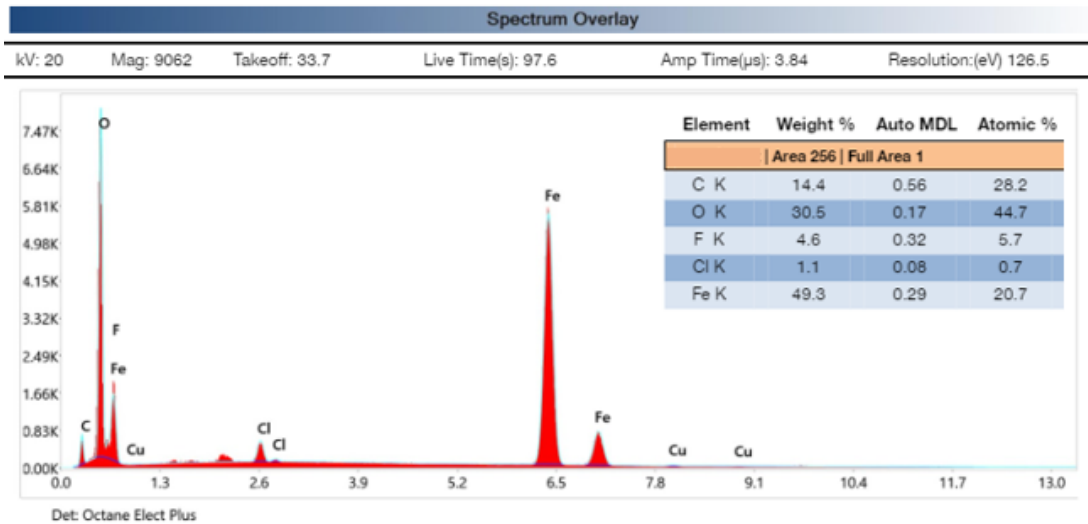
Şekil 4.25 : PVA QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x).

#### 4.2.1.5 Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> partikülü

Manyetik boncuk üretiminden önce sentezlenen demir nanopartiküllerinin de SEM ve EDX analizleri gerçekleştirilmiştir. Boyut analizi için kullanılan SEM görüntüsü şekil 4.26'da verilmektedir. Sentezlenen nanopartiküllerin boyutları 10 nm ila 30 nm arasında değişmektedir. Şekil 4.27'de yer alan EDX sonucuna göre, ağırlıkça %49'un üzerinde demir iyonu içermekte olan nanopartikülün ikinci major elementi oksijen olarak bulunmuştur. Herhangi bir kontaminasyon gözlenmemiştir.



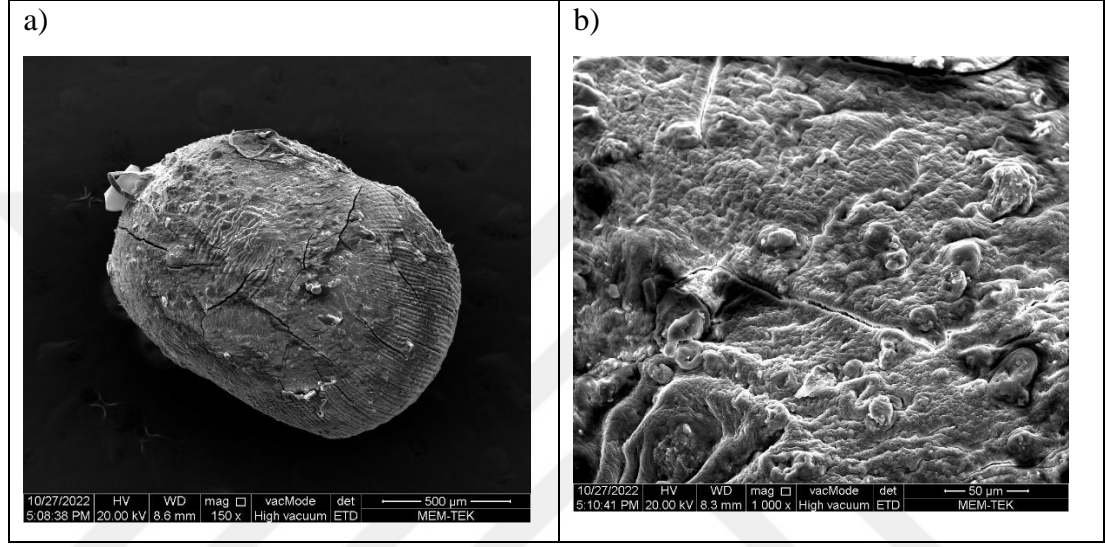
Şekil 4.26 : Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> partikülü SEM görüntüsü (100 000x).



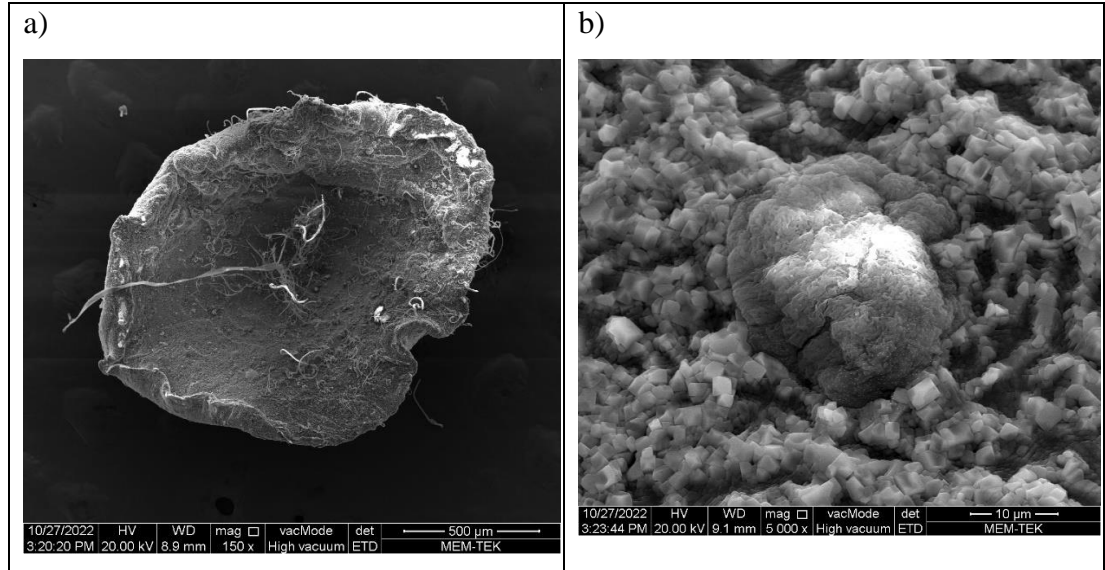
Şekil 4.27 : Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> partikülü EDX sonucu.

#### 4.2.1.6 Manyetik nanokompozit kontrol boncuk

Şekil 4.28 ve şekil 4.29’da yer alan manyetik boncukların SEM görüntüleri incelendiğinde ise, metal içeriğinin parlaklık olarak sonuçları görülebilmektedir. Özellikle kesit görsellerinde yüksek görüntü büyütme oranlarında demir nanopartiküller tekil parlak noktacıklar olarak görülebilmektedir. Boncukların en dış yüzeylerinde de demir parçacıkları mevcuttur. Demir nanopartikülünün bakteri immobilizasyonu üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır.



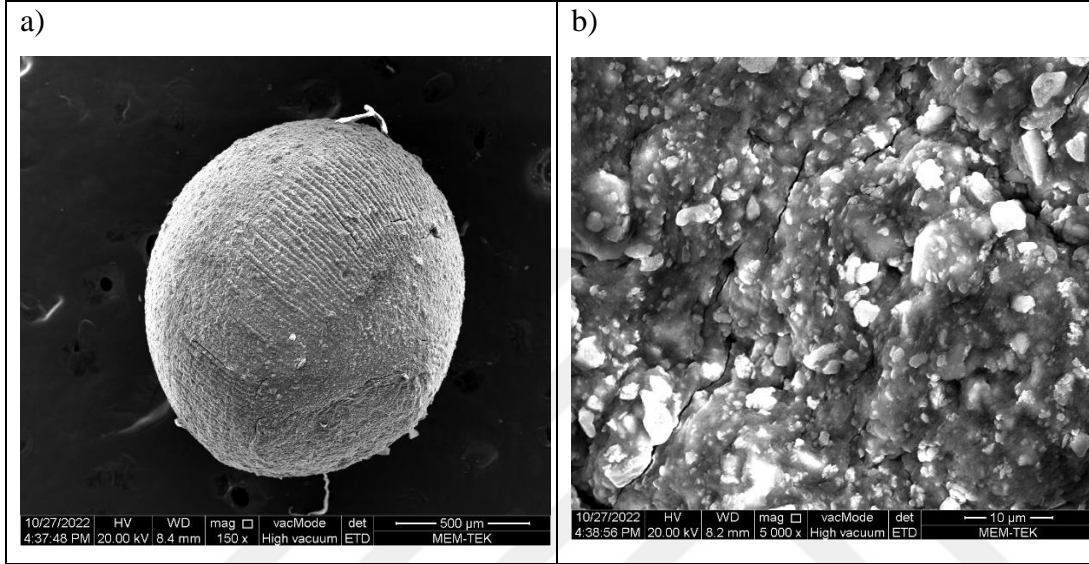
Şekil 4.28 : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:1000x).



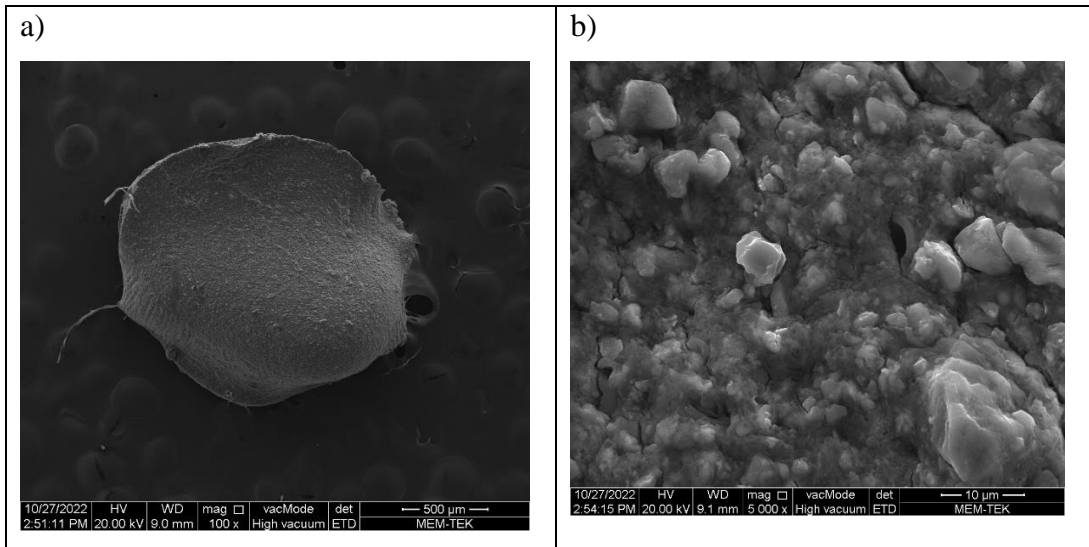
Şekil 4.29 : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:5000x).

#### 4.2.1.7 Manyetik nanokompozit QQ boncuk

Şekil 4.30 ve şekil 4.31’de yer alan manyetik nanokompozit QQ boncuk SEM görüntüleri incelendiğinde kontrol boncuğa kıyasla daha karmaşık bir yapı olduğu görülmüştür. Yüzey görüntüsünde boncuk yapısının şeklini koruduğu gözlenmiştir. Kesit görüntüsü için boncuk iki parçaya ayrılmıştır ve bundan kaynaklı şekil bozukluğu meydana gelmiştir.



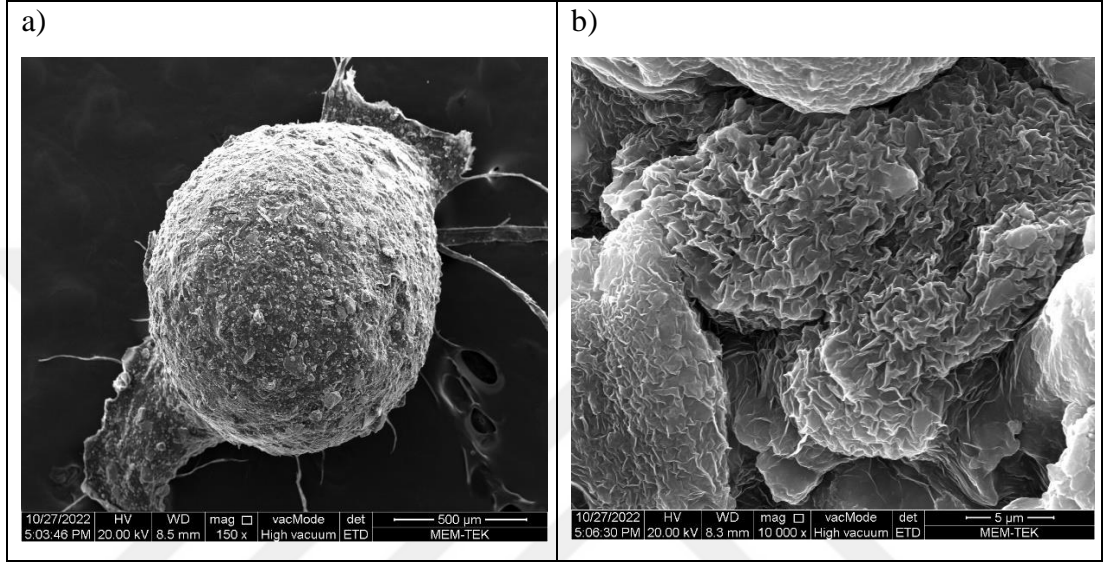
Şekil 4.30 : Manyetik nanokompozit QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:5000x).



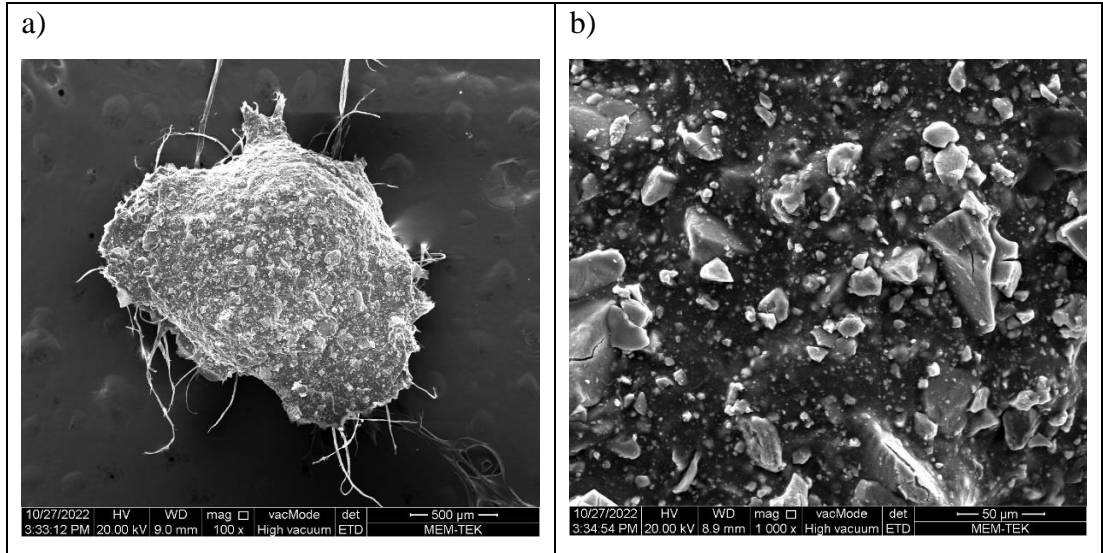
Şekil 4.31 : Manyetik nanokompozit QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:5000x).

#### 4.2.1.8 Çitosan manyetik kontrol boncuk

Çitosanlı manyetik boncukların görüntüleri incelendiğinde poroz yapılarını az da olsa korudukları fakat içerik fazlalığı nedeniyle daha karmaşık bir yapıya sahip olduğu söylenebilir. Demir nanopartikülleri hem yüzey hem de kesitte (şekil 4.32 ve şekil 4.33'de) görülebilmektedir. Daha öncesinde incelenen farklı boncuklara kıyasla daha hassas ve bozulmaya yatkın bir yapısı olduğu görülmüştür.



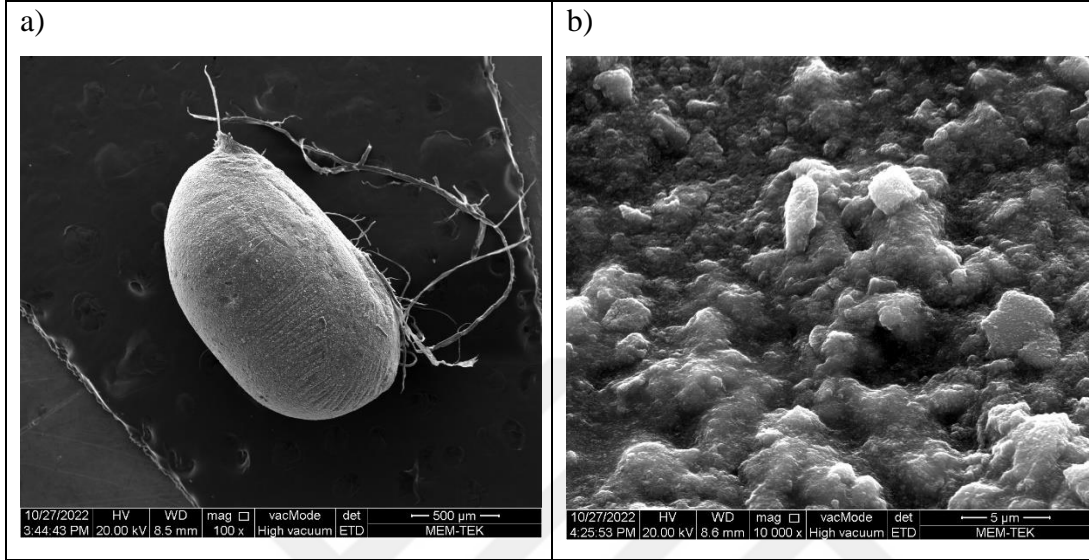
Şekil 4.32 : Çitosan-manyetik kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 150x, b:10 000x).



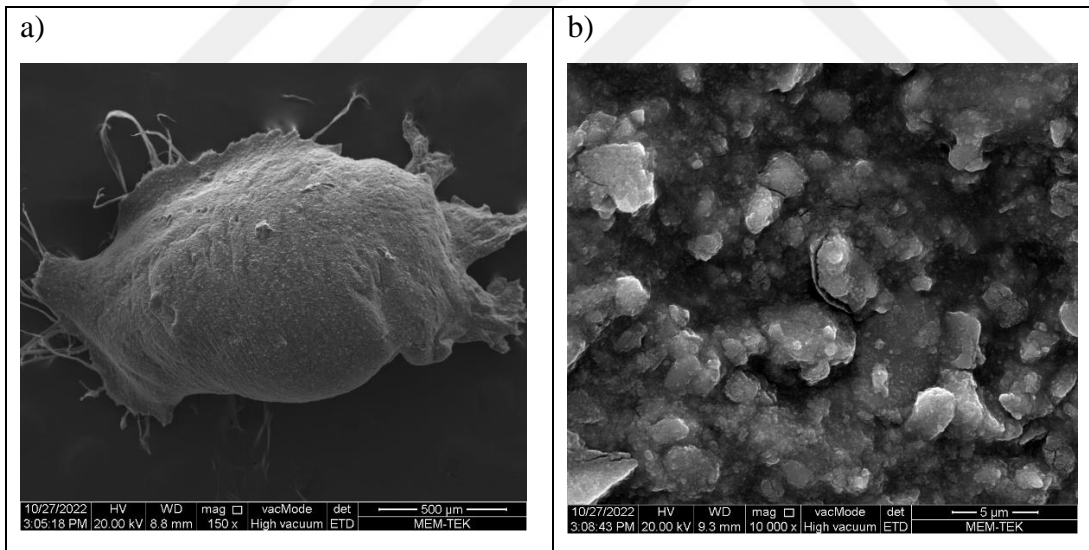
Şekil 4.33 : Çitosan-manyetik kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 100x, b:1000x).

#### 4.2.1.9 Çitosan manyetik QQ boncuk

Çitosan manyetik boncukta bakterinin de immobilize edilmesi ile poroz görünümde önemli derecede azalma olduğu şekil 4.34 ve şekil 4.35’de görülmektedir. Bu sayede boncuk dayanımı artarak şeklini korumayı başarmıştır.



Şekil 4.34 : Çitosan-manyetik QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 100x, b:10 000x).

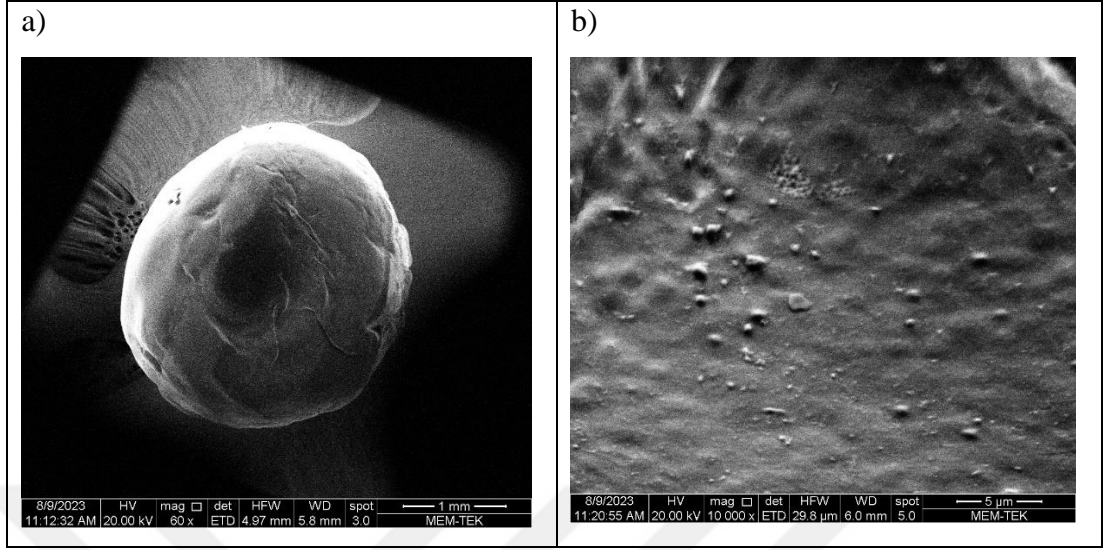


Şekil 4.35 : Çitosan-manyetik QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 150x, b:10 000x).

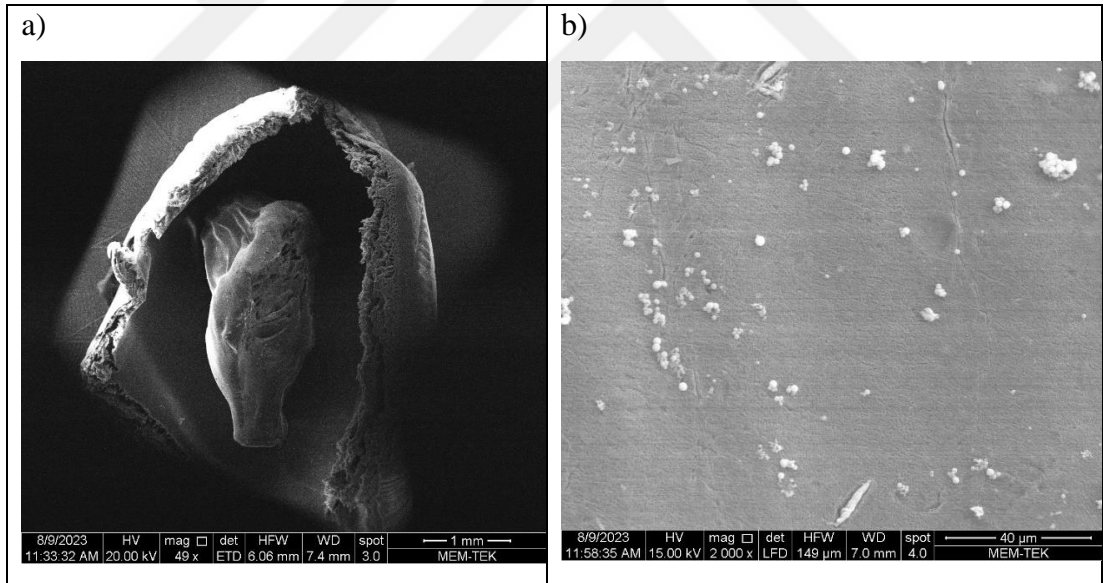
#### 4.2.1.10 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk

Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat boncuk, sodyum aljinat boncuğun daha dayanıklı bir konfigürasyonu olarak tasarlanmıştır. Boncuk yapısının içi sodyum aljinat boncuk, dış kısmı ile PES kaplamadır. Yüzey görüntüsünde PES tabakası gözlenmiştir. Şekil 4.37’de yer alan kesit görüntüsünde ise iç ve dış katmanların farkı

belirgin şekilde görülmektedir. PES tabaka aynı boyutta kalırken iç yapı nemini kaybederek küçülmüştür.



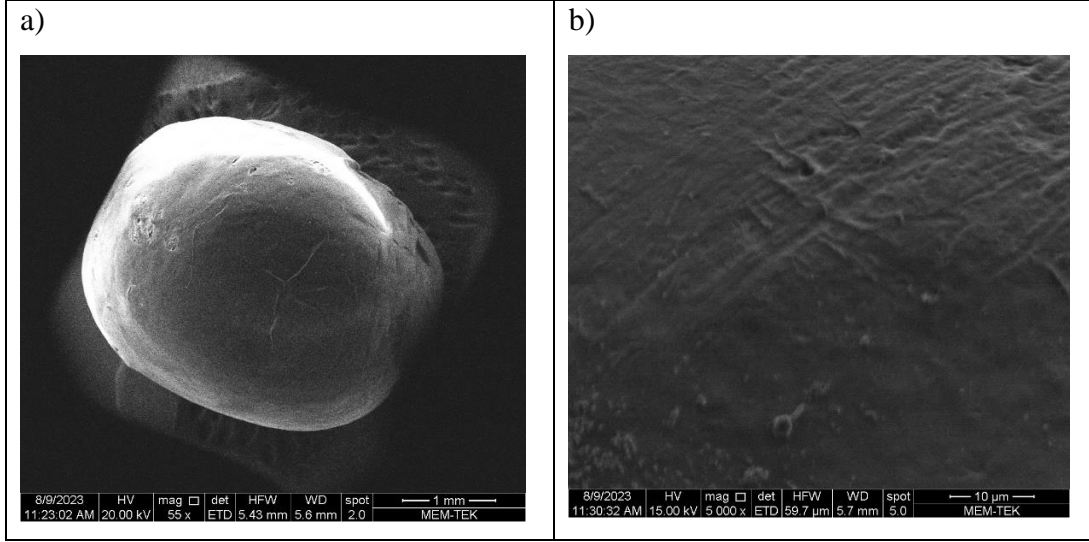
**Şekil 4.36 :** Polietersülfon (PES) Kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk yüzey görüntüsü (a: 60x, b:10 000x).



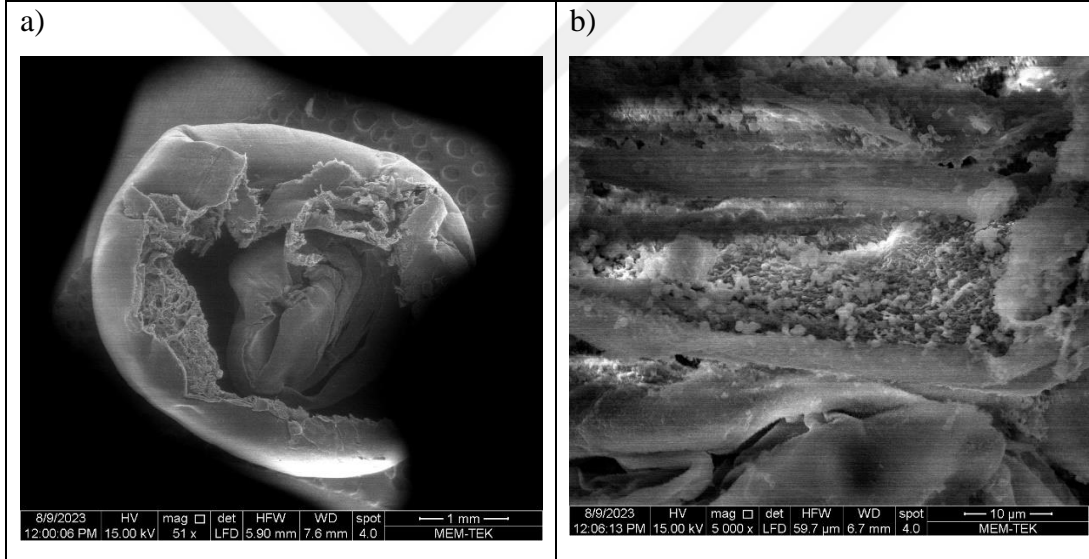
**Şekil 4.37 :** Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk kesit görüntüsü (a: 49x, b:2000x).

#### 4.2.1.11 Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk

Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat boncuk bakterili olarak üretildiğinde yüzey görüntüsünün kontrol boncuk ile aynı olduğu şekil 4.38’de gözlenmiştir. Bunun sebebi bakteri ilavesinin iç katmanda yer alan sodyum aljinat çözeltisine yapılmasıdır. Şekil 4.39’da yer alan kesit görüntüsü incelendiğinde ise bakteri tutulmaları görülmektedir.



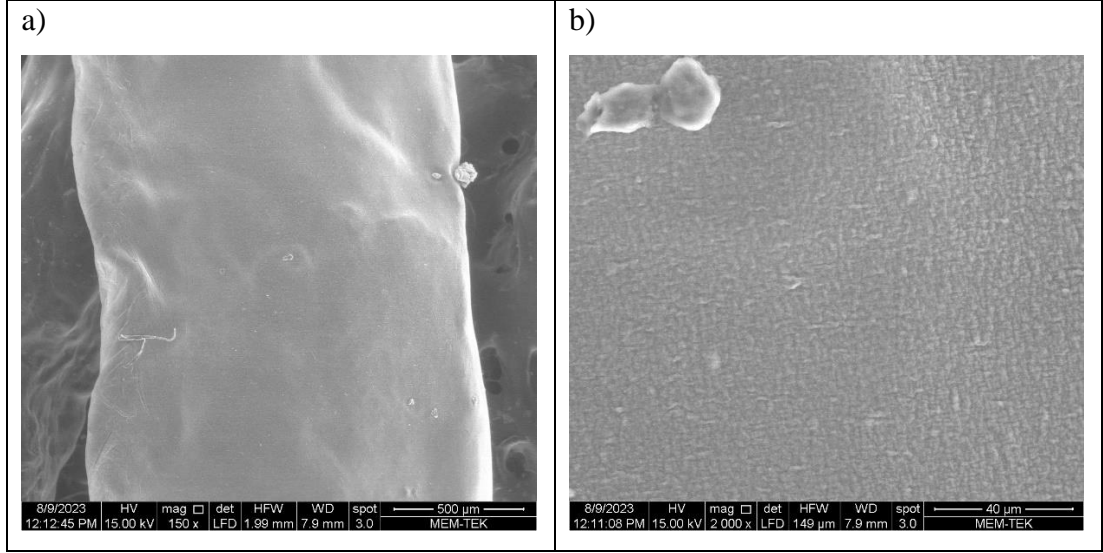
**Şekil 4.38 :** Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk yüzey görüntüsü (a: 55x, b:5000x).



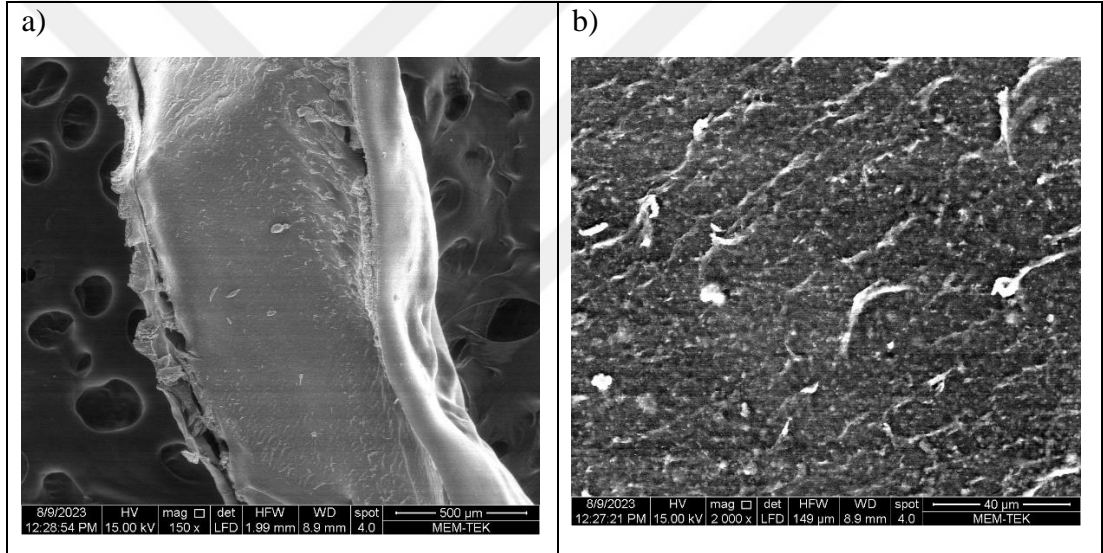
**Şekil 4.39 :** Polietersülfon (PES) kaplı sodyum aljinat QQ boncuk kesit görüntüsü (a: 51x, b:5000x).

#### 4.2.1.12 Sodyum aljinat kontrol düz plaka

Sodyum aljinat düz plaka içerik olarak %6 a/h oranında sodyum aljinat içerir. Boncuk yapılarında yer alan %4 a/h oranından daha fazla olan sodyum aljinat miktarı nedeni ile şekil 40 ve şekil 41’de görüldüğü üzere plaka yapısı yoğun ve az boşlukludur.



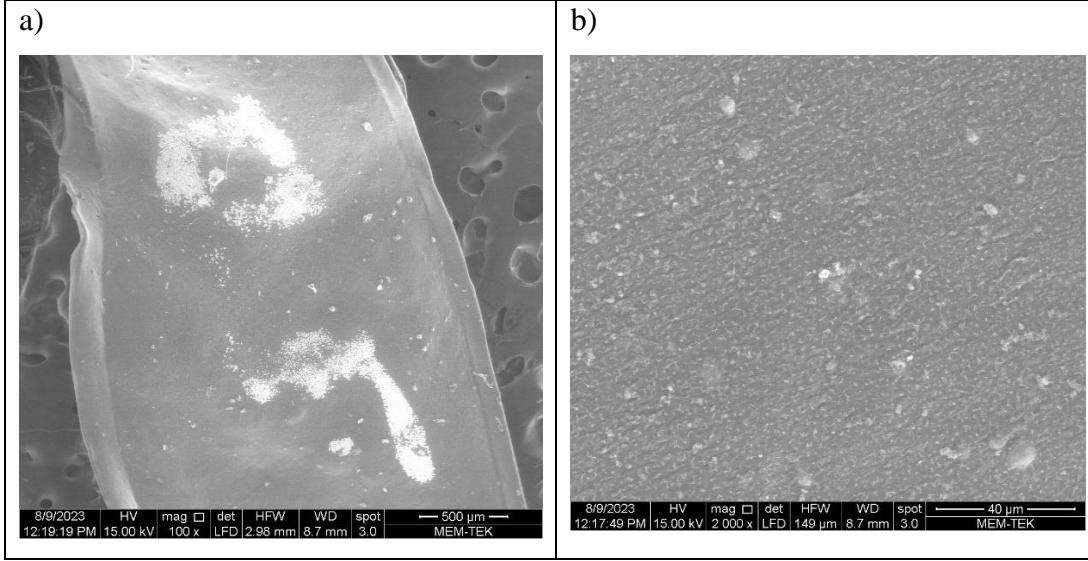
Şekil 4.40 : Sodyum aljinat kontrol düz plaka yüzey görüntüsü (a: 150x, b:2000x).



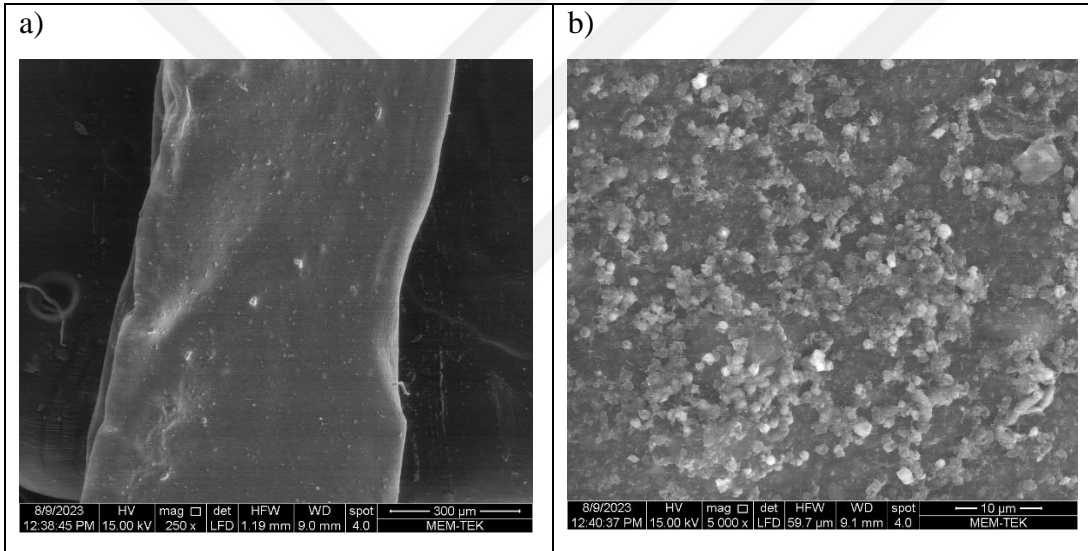
Şekil 4.41 : Sodyum aljinat kontrol düz plaka kesit görüntüsü (a: 150x, b:2000x).

#### 4.2.1.13 Sodyum aljinat QQ düz plaka

Sodyum aljinat qq düz plaka SEM görüntüleri incelendiğinde ise kontrol düz plakaya kıyasla az poroz yapı dikkat çekmiştir. Bu durum bakteri ilavesinden kaynaklı porozite azalması olarak yorumlanmıştır. Şekil 4.43’de bakteri tutunması görülmüştür.



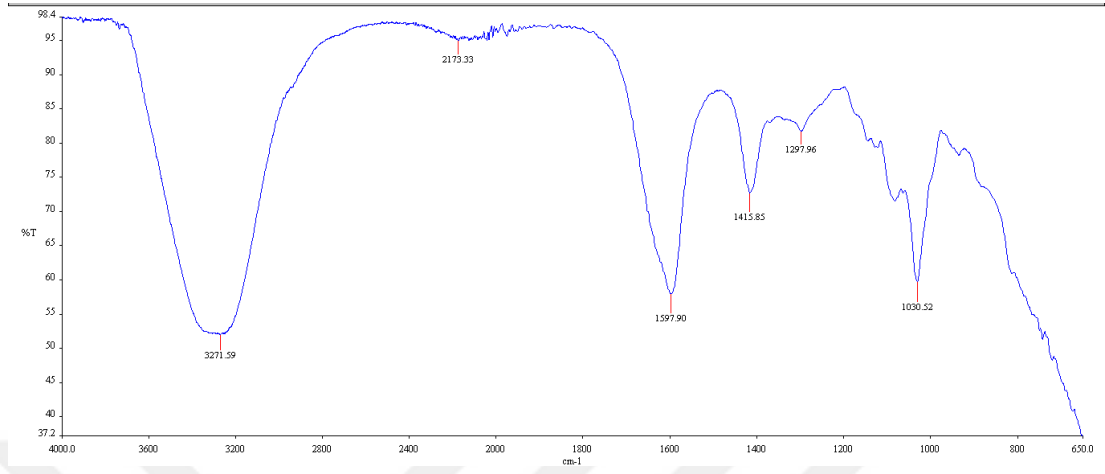
Şekil 4.42 : Sodyum aljinat QQ düz plaka kesit görüntüsü (a: 100x, b:2000x).



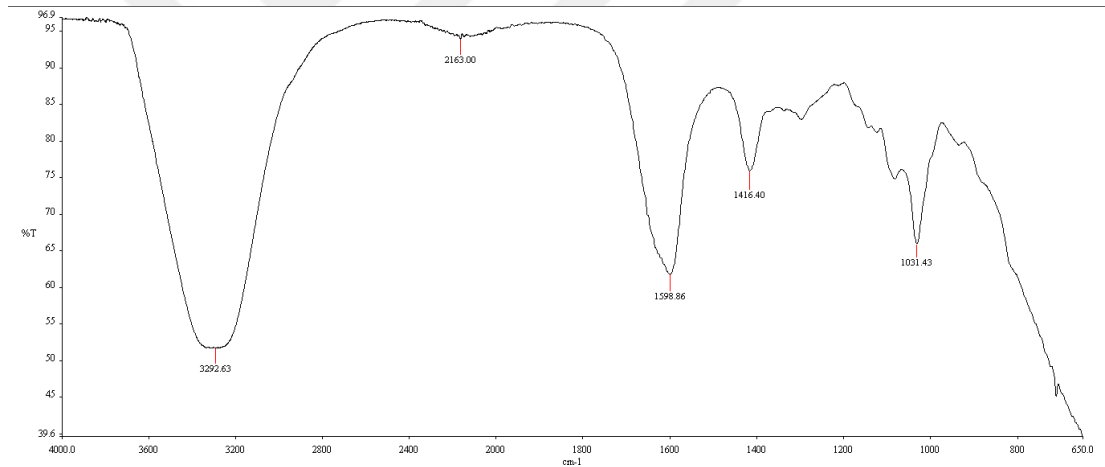
Şekil 4.43 : Sodyum aljinat QQ düz plaka kesit görüntüsü (a: 250x, b:5000x).

## 4.2.2 Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi (FTIR)

### 4.2.2.1 Sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk



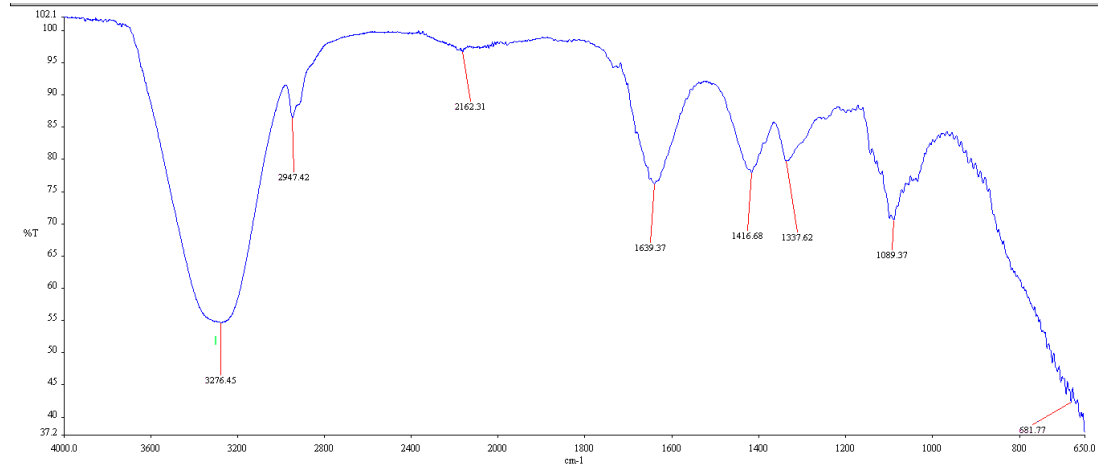
Şekil 4.44 : Sodyum aljinat kontrol boncuk FTIR sonucu.



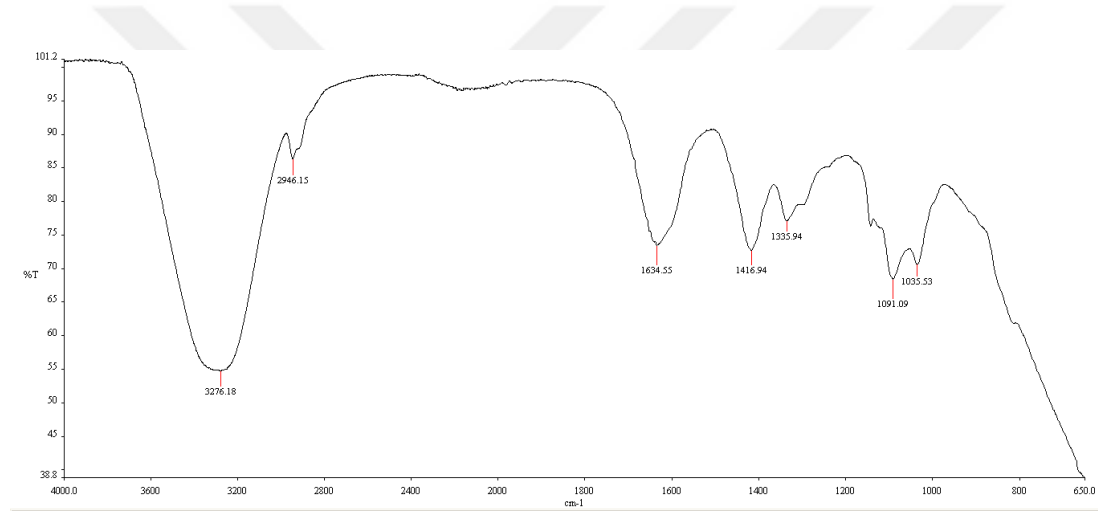
Şekil 4.45 : Sodyum aljinat QQ boncuk FTIR sonucu.

Şekil 4.44 ve şekil 4.45’de yer alan spektruma bakıldığında sodyum aljinatlı boncuk içeriğinde yalnızca sodyum aljinat ve su bulunduğu görülmektedir. Sodyum aljinat boncukların FTIR spektrumunda 1500 cm<sup>-1</sup>’den büyük dalga boylarındaki pikler su pikleri olarak yorumlanmıştır. Literatür ile uyuşacak şekilde sodyum aljinat pikleri de görülebilmiştir. 1415 cm<sup>-1</sup>, 1297 cm<sup>-1</sup> ve 1030 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen piklerin Rao ve diğerlerinin kanser tedavisi amacıyla ilaç taşıyıcı olarak sentezledikleri mikrojellerde gözlemledikleri pikler ile tamamen örtüşmektedir (Rao ve diğerleri, 2013).

#### 4.2.2.2 PVA kontrol ve QQ boncuk



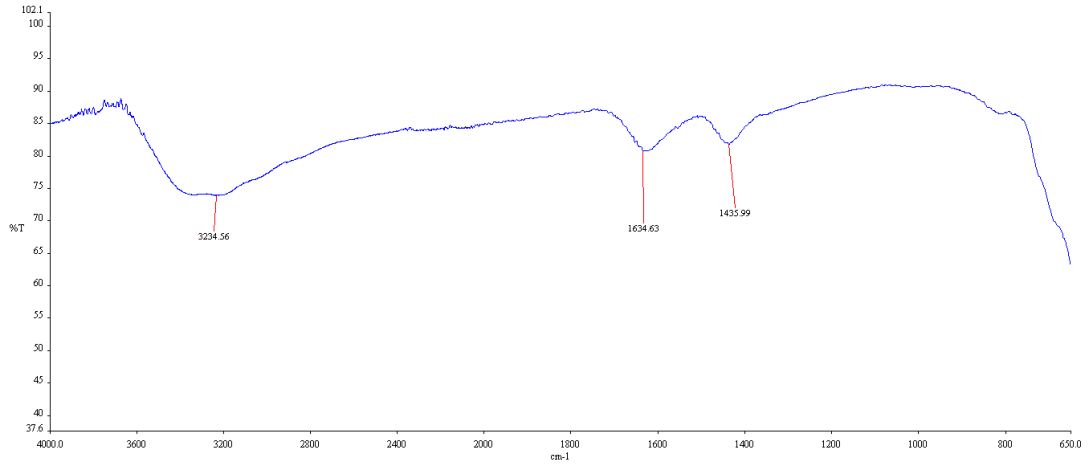
Şekil 4.46 : PVA kontrol boncuk FTIR sonucu.



Şekil 4.47 : PVA QQ boncuk FTIR sonucu.

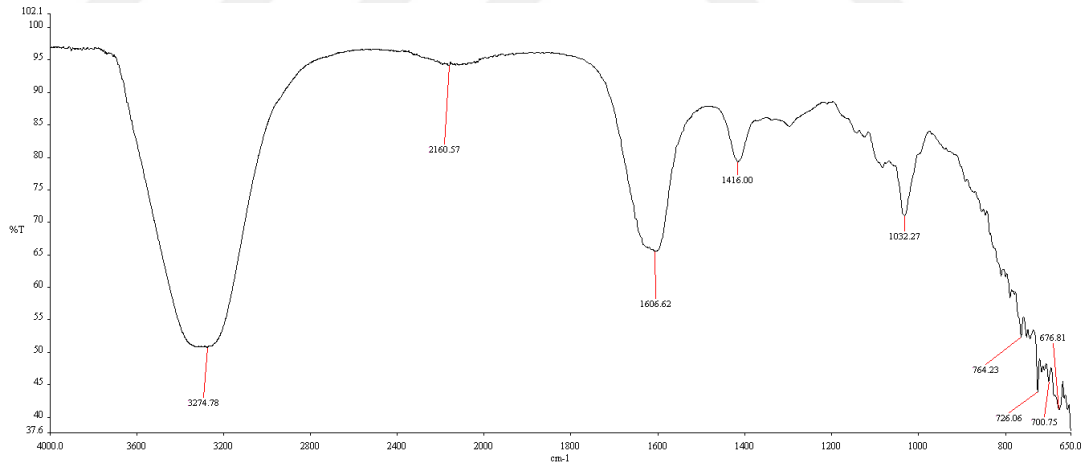
PVA boncuklarda sodyum aljinat içeriği de olduğundan sodyum aljinat boncuklarda gözlenen piklerin aynıları mevcut iken, PVA varlığını gösteren ek pikler de şekil 4.46 ve şekil 4.47’de görülmüştür. 1330 cm<sup>-1</sup> dalga boyunda C–H deformasyon titreşim piki görülmüştür. Aynı pik, Kharazmi ve diğerlerinin çinko içerikli PVA taşıyıcı sentezleme çalışmasında da görülmektedir (Kharazmi ve diğerleri,2015).

#### 4.2.2.3 Manyetik nanokompozit kontrol ve QQ boncuk

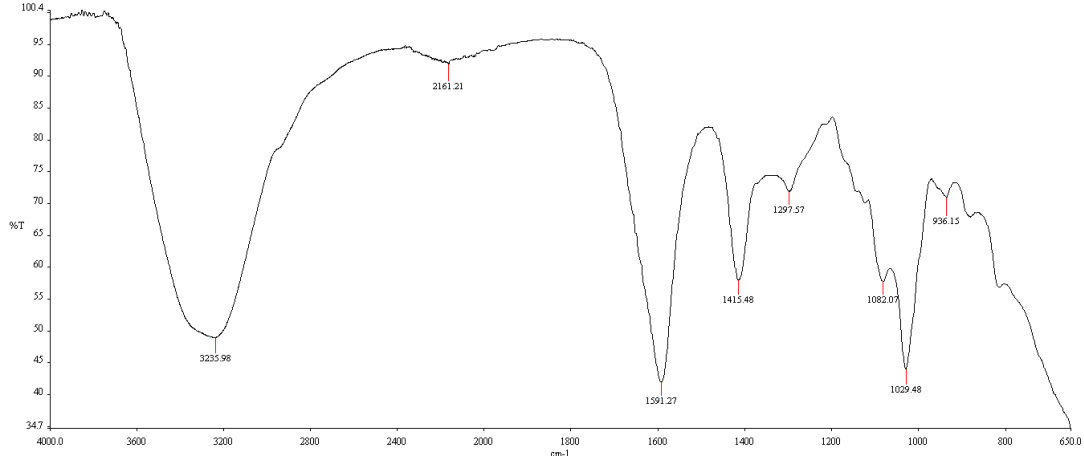


Şekil 4.48 : Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikül FTIR sonucu.

Şekil 4.48’de yer alan manyetik nanopartikülün FTIR spektrumu incelendiğinde tüm profilin, Jannah ve Onggo’nun 2019 yılında basılan demir nanopartikül sentezi makalesinde yer alan FTIR spektrumu ile birebir örtüştüğü görülmektedir. Demir-oksijen bağları 600 cm<sup>-1</sup> civarında görülebilmektedir (Jannah & Onggo, 2019).



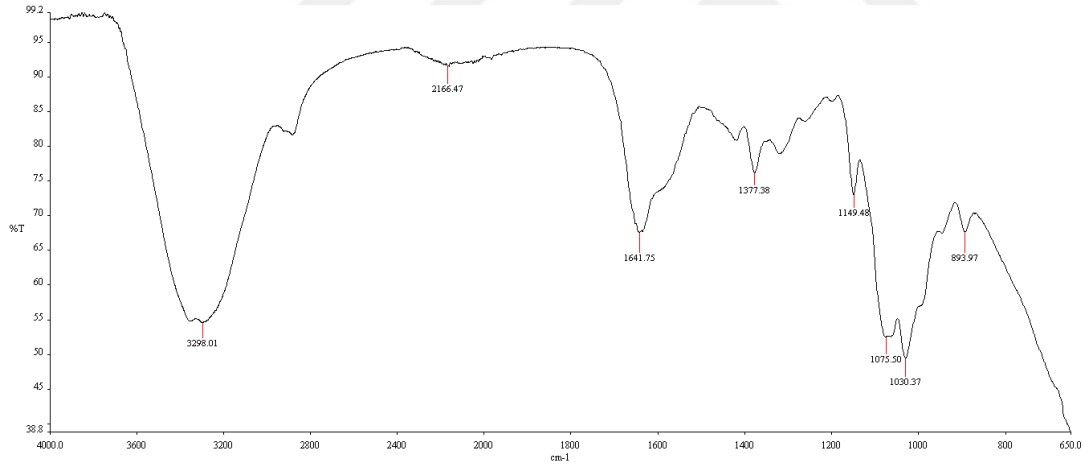
Şekil 4.49 : Manyetik nanokompozit kontrol boncuk FTIR sonucu.



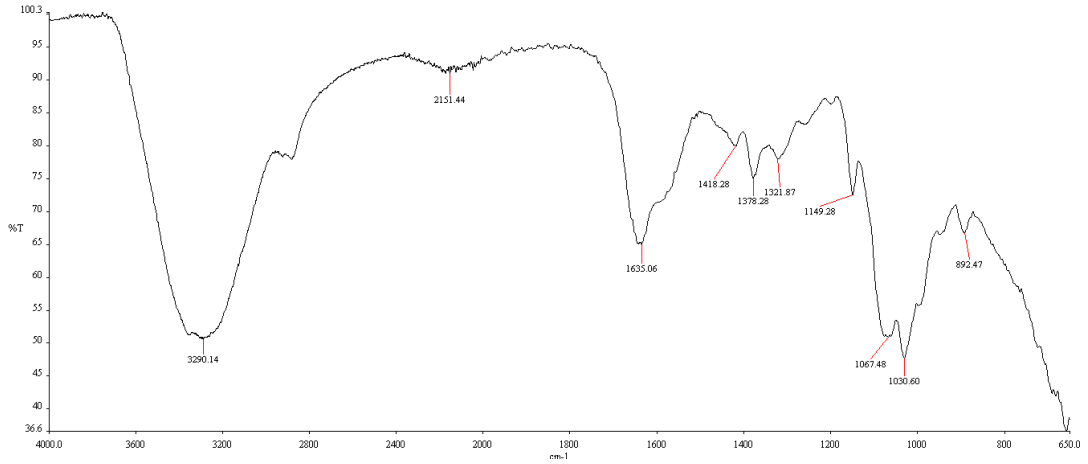
**Şekil 4.50 :** Manyetik nanokompozit QQ boncuk FTIR sonucu.

Şekil 4.49 ve şekil 4.50’de yer alan manyetik nanopartikül ile üretilen boncukların FTIR spektrumları ise sodyum aljinat malzemeyi ve demir-oksijen bileşiklerini temsil eden kombine bir spektrum olarak karşımıza çıkmaktadır.

#### 4.2.2.4 Çitosan manyetik kontrol ve QQ boncuk



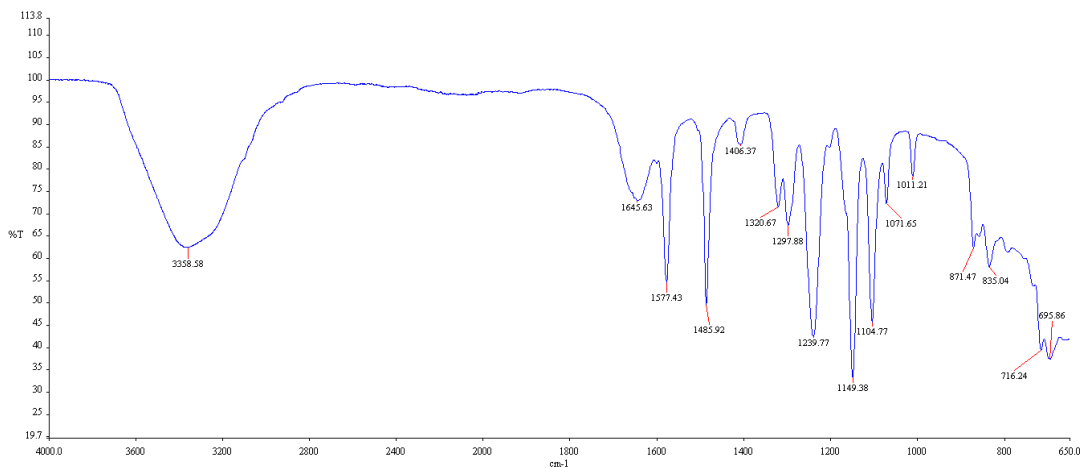
**Şekil 4.51 :** Çitosan manyetik kontrol boncuk FTIR sonucu.



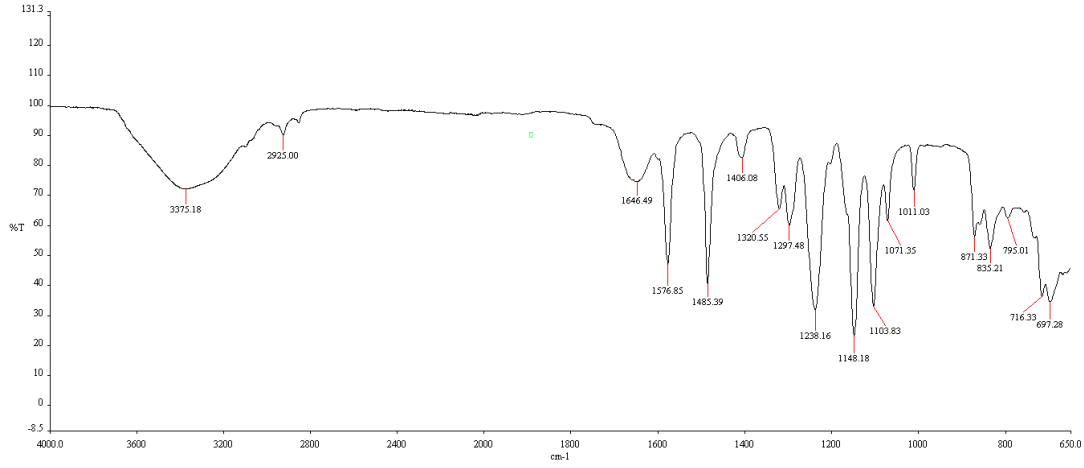
**Şekil 4.52 :** Çitosan manyetik QQ boncuk FTIR sonucu.

Şekil 4.51 ve şekil 4.52’de yer alan çitosanlı manyetik boncukların FTIR spektrum profili incelendiğinde ise major pikleri şu şekilde gözlenmiştir:  $2166\text{ cm}^{-1}$ ,  $1641\text{ cm}^{-1}$ ,  $1377\text{ cm}^{-1}$ ,  $1149\text{ cm}^{-1}$ ,  $1075\text{ cm}^{-1}$ ,  $1030\text{ cm}^{-1}$ ,  $893\text{ cm}^{-1}$  ve  $650\text{ cm}^{-1}$ .  $2166\text{ cm}^{-1}$  piki O-H bağlarını göstermekle beraber kısaca su piki olarak isimlendirilir.  $1641\text{ cm}^{-1}$  ve  $1377\text{ cm}^{-1}$  pikleri amid I’in C=O ve amid III’ün C-N bağını göstermektedir.  $1377\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_3$ ’ün simetrik deformasyonunu da ifade ediyor olabilir.  $1149\text{ cm}^{-1}$  ise C-O-C’nin asimetrik bağını göstermektedir.  $1075\text{ cm}^{-1}$  ve  $1030\text{ cm}^{-1}$  pikleri ise C-O ile ilişkilidir. Bulunan tüm pikler, Queiroz ve diğerlerinin çitosan ile gerçekleştirdiği çalışmada elde ettikleri FTIR spektrumunda da yer almaktadır (Queiroz ve diğerleri, 2014).

#### 4.2.2.5 PES kaplı sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk



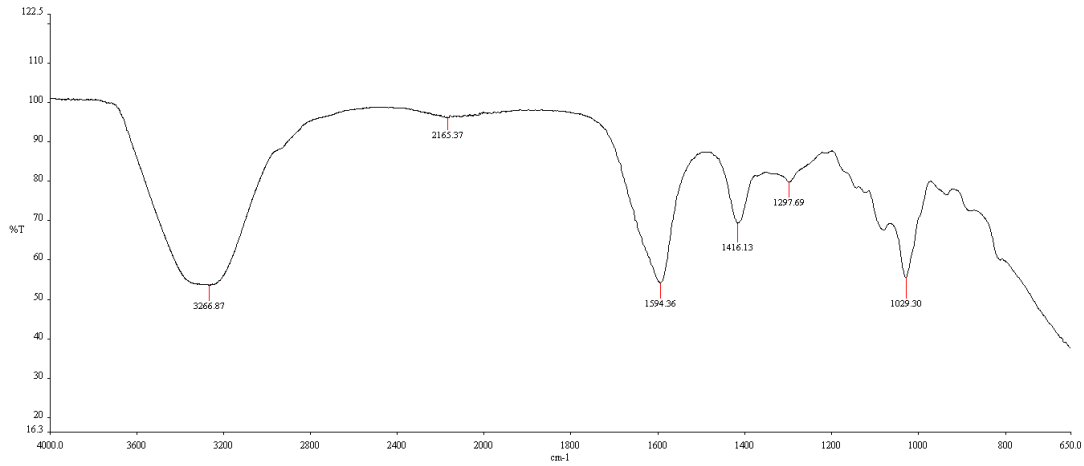
**Şekil 4.53 :** PES kaplı sodyum aljinat kontrol boncuk FTIR sonucu.



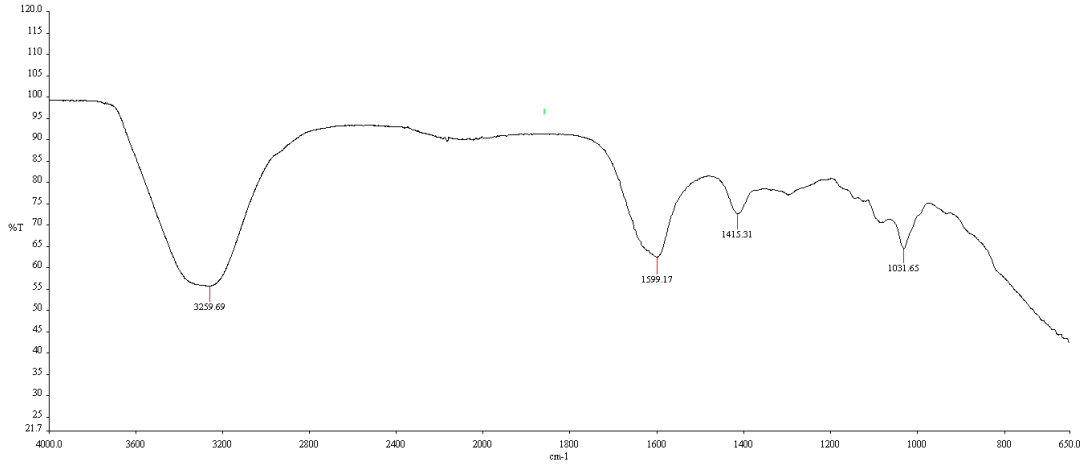
**Şekil 4.54 :** PES kaplı sodyum aljinat QQ boncuk FTIR sonucu.

Şekil 4.53 ve şekil 4.54'de yer alan PES kaplı sodyum aljinat boncuk FTIR spektrumları incelendiğinde sodyum aljinat boncuk spektrumunda bulunan pikler gözlenmiştir. Buna ek olarak dış tabakada yer alan PES dolayısı ile FTIR spektrumunda farklılıklar meydana gelmiştir.  $1025\text{ cm}^{-1}$ 'deki absorpsiyon pikinin aromatik  $\text{SO}_3\text{H}$  simetrik gerilme titreşimlerinin karakteristiği olduğu Noel Jacob ve diğerlerinin yaptığı çalışmada görülmektedir ve FTIR spektrumları uyusmaktadır (Noel Jacob ve diğerleri, 2014).

#### 4.2.2.6 Sodyum aljinat kontrol ve QQ düz plaka



**Şekil 4.55 :** Sodyum aljinat kontrol düz plaka FTIR sonucu.



**Şekil 4.56 :** Sodyum aljinat QQ düz plaka FTIR sonucu.

Şekil 4.55 ve şekil 4.56’da yer alan sodyum aljinat düz plaka FTIR spektrumuna bakıldığında sodyum aljinat boncuk ile aynı pikler gözlenmiştir. Sodyum aljinat düz plaka içerik çeşitliliği bakımından sodyum aljinat boncuk ile aynı şekilde üretilmiştir. İki medya malzemesi arasındaki fark üretim sonucunda elde edilen biçim ve sodyum aljinat yoğunluğudur. Bundan kaynaklı olarak FTIR spektrumunda sodyum aljinata bağlı olarak meydana gelen pikler ortaya çıkmıştır. (Rao ve diğerleri, 2013).

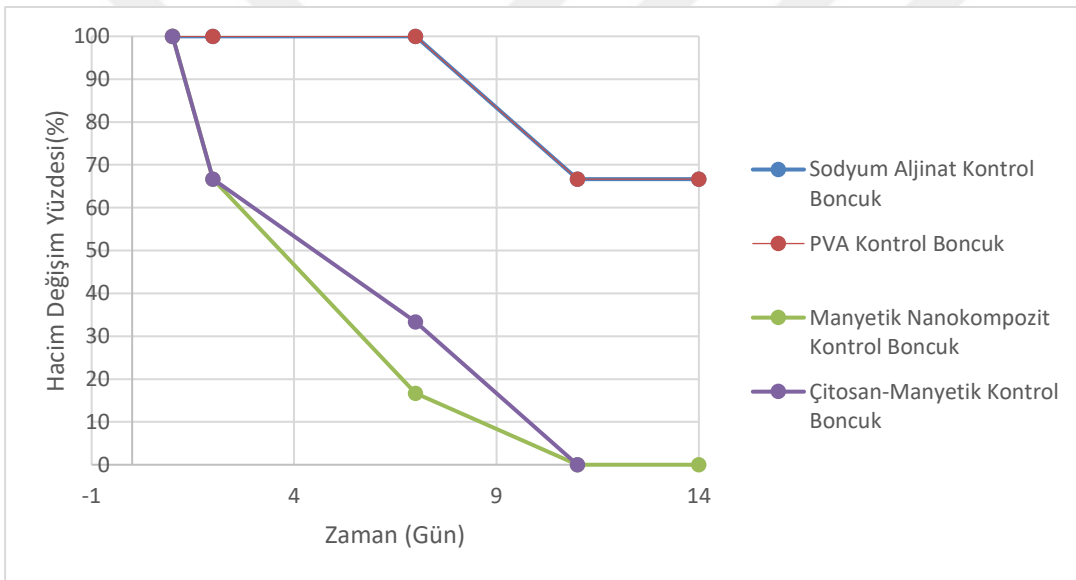
### **4.2.3 Malzeme Dayanıklılığı**

#### **4.2.3.1 Reaktörde dayanım denemeleri**

Aktif çamur medyası oldukça karmaşık olup bünyesindeki malzemelerin dayanımı üzerinde olumsuz etkisi olan bir ortam olarak tanımlanabilir. İçerdiği mineral tuzları, mikroorganizmalar, asidite ve alkalinite değerleri sebebiyle kullanılacak boncukların aktif çamur içerisinde ne derece dayanacağı tespit edilmelidir. Bu sebeple şekil 4.57’de görülen mini MBR düzeneklerinde çeşitli medya malzemeleri ile çalışılmış, hacimlerindeki kayıplar yüzdesel olarak hesaplanmıştır.

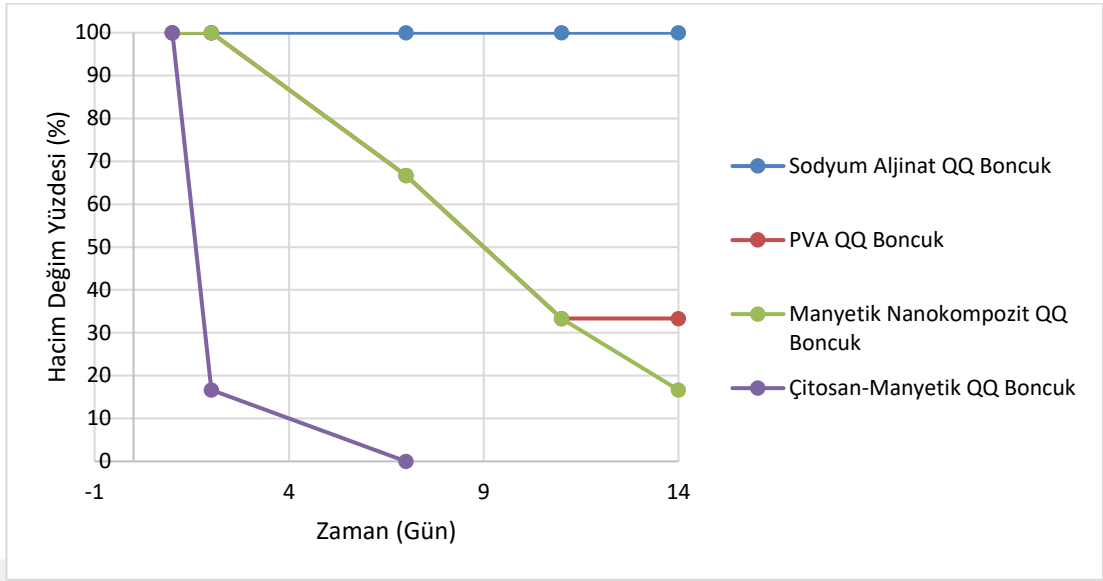


**Şekil 4.57 : Reaktörde dayanım deneyi görünümü.**



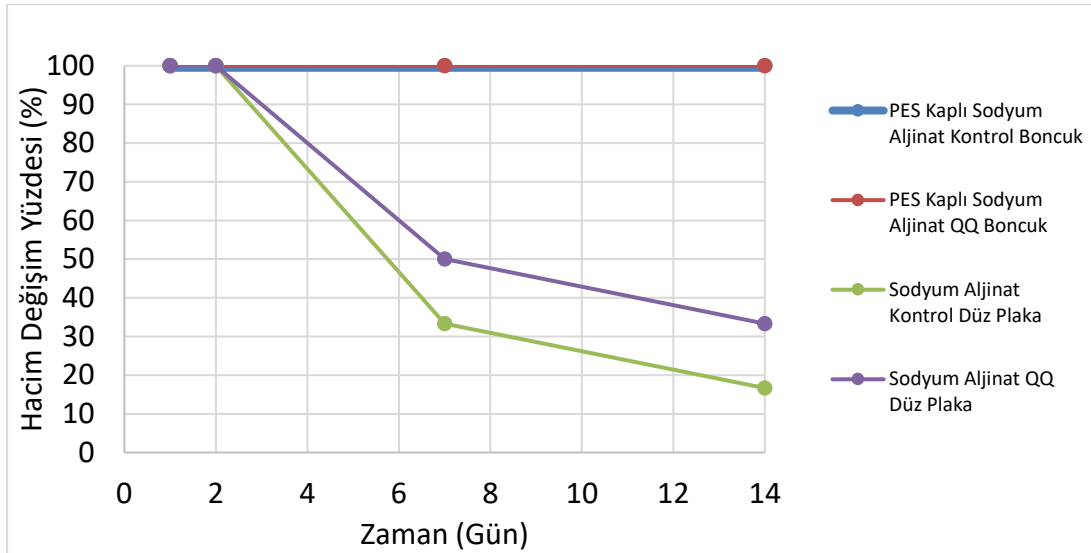
**Şekil 4.58 : Sodyum aljinat, PVA, manyetik nanokompozit ve çitosan-manyetik kontrol boncukları reaktörde dayanım sonuçları.**

Kontrol boncukların mini MBR içerisindeki dayanım profilleri şekil 4.58’de yer almaktadır. Sonuçlar incelendiğinde, en dayanıklı boncukların sodyum aljinat ve PVA boncuklar olduğu görülmektedir. Bir hafta boyunca kaba havalandırma altında çaplarını ilk günkü gibi koruyabilmişlerdir. İkinci hafta ise çaplarının azalmaya başladığı ve ikinci haftanın sonunda yarı yarıya küçüldükleri gözlenmiştir. Manyetik boncuk ile çitosan manyetik boncuk ilk dört gün içerisinde önemli bir çap kaybına uğramışlardır. Manyetik boncuk ve çitosan manyetik boncuk, ilk 12 günlük işletim sonrasında bütünlüklerini tamamen kaybetmişlerdir.



**Şekil 4.59** : Sodyum aljinat, PVA, manyetik nanokompozit ve çitosan-manyetik QQ boncukları reaktörde dayanım sonuçları.

Şekil 4.59’da bakteri immobilize edilmiş boncukların hacim kayıpları yer almaktadır ve sonuçlar incelendiğinde bakteri ilavesinin poroziteyi azaltmasının özellikle sodyum aljinat ve PVA boncukların üzerinde olumlu bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Tüm işletim boyunca çaplarını korumuşlardır. Kontrol ve bakteri immobilize edilmiş boncukların reaktör içerisindeki davranışlarının oldukça farklı olduğunun ortaya konulmuş olması önemli bir çıktıdır. En az dayanım çitosan manyetik boncuklarda gözlenmiştir. Manyetik bakteri immobilize edilmiş boncuklar, bu kez çitosan manyetik boncuklara göre çok daha sağlam kalabilmişlerdir.



**Şekil 4.60 :** PES kaplı sodyum aljinat kontrol ve QQ boncuk & sodyum aljinat kontrol ve QQ düz plaka reaktörde dayanım sonuçları.

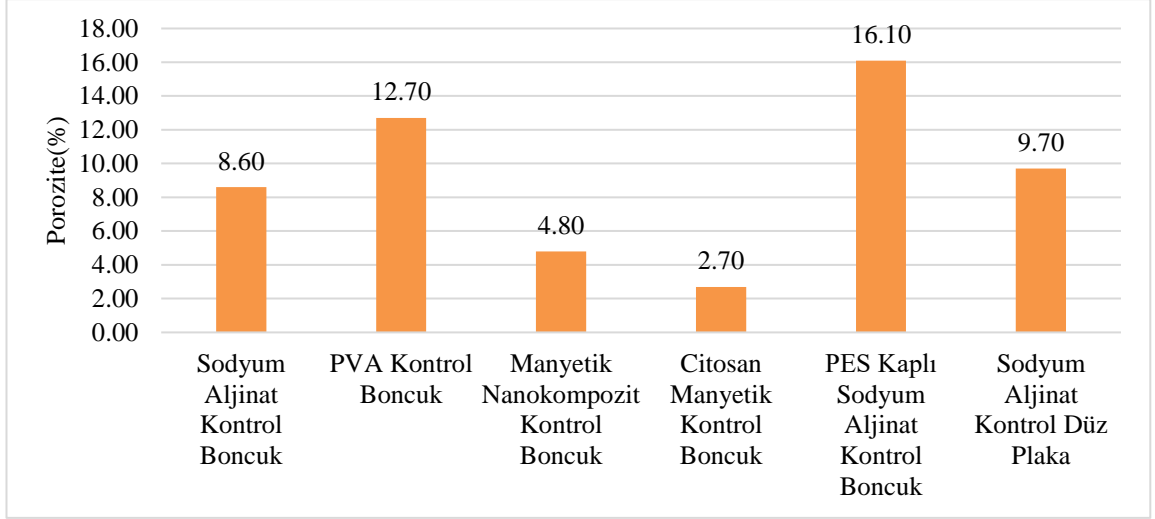
Sodyum aljinat boncuk yapılan deneyler sonucunda en dayanıklı medya malzemesi olarak belirlenmiştir. Sodyum aljinat kullanılarak yapılan yeni denemelerde PES kaplı boncuk modelinin hacmini kaybetmeden 14 günü tamamlaması önemli sonuçlar arasında yerini almıştır. Sodyum aljinatı boncuk değil de düz plaka formunda tercih edince dayanım beklenen seviyeye ulaşamadığı şekil 4.60'da görülmüştür.

#### 4.2.3.2 Porozite

Üretilen kontrol ve QQ medyaları porozite deney sonuçları aşağıda verilmiştir.

**Çizelge 4.1 :** Kontrol medyaları porozite ağırlık ölçüm sonuçları.

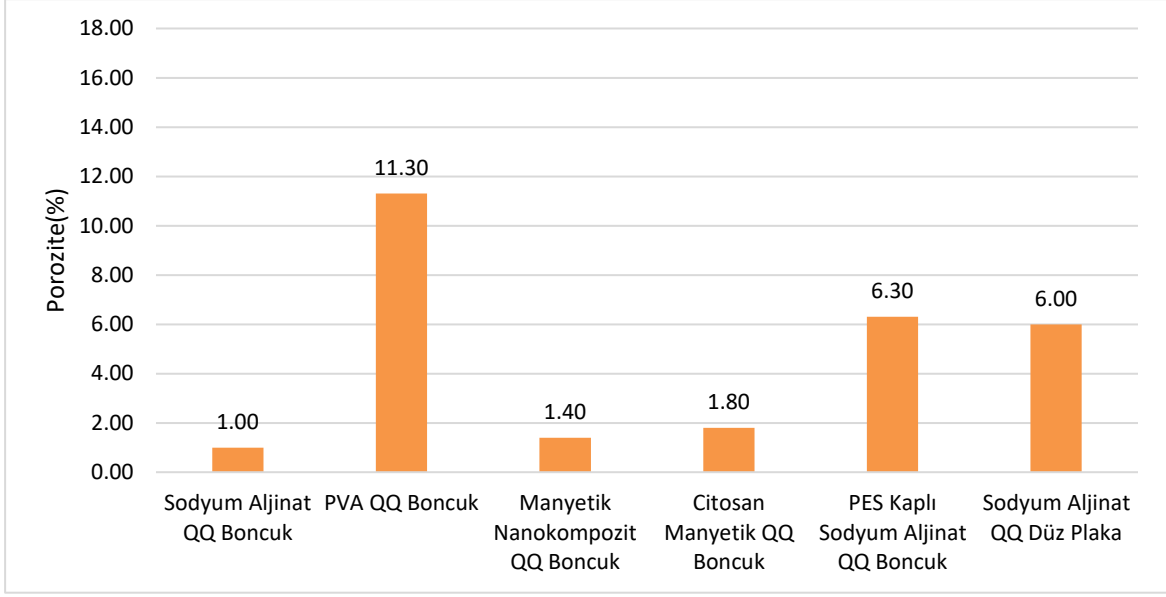
	$W_{doğal}$ (gr)	$W_{kuru}$ (gr)	$W_{doygun}$ (gr)
Sodyum Aljinat Kontrol Boncuk	0,0336	0,0018	0,0079
PVA Kontrol Boncuk	0,0603	0,0042	0,0132
Manyetik Nanokompozit Kontrol Boncuk	0,0338	0,002	0,0054
Citosan Manyetik Kontrol Boncuk	0,0338	0,0018	0,0037
PES Kaplı Sodyum Aljinat Kontrol Boncuk	0,075	0,008	0,0282
Sodyum Aljinat Kontrol Düz Plaka	0,5725	0,0601	0,1087



Şekil 4.61 : Kontrol medyalarda porozite sonucu.

Çizelge 4.2 : QQ medyaları porozite ağırlık ölçüm sonuçları.

	$W_{doğal}$ (gr)	$W_{kuru}$ (gr)	$W_{doygun}$ (gr)
Sodyum Aljinat QQ Boncuk	0,0314	0,002	0,0027
PVA QQ Boncuk	0,0311	0,0044	0,0124
Manyetik Nanokompozit QQ Boncuk	0,0339	0,0028	0,0038
Citosan Manyetik QQ Boncuk	0,0231	0,0019	0,0032
PES Kaplı Sodyum Aljinat QQ Boncuk	0,09	0,0095	0,0219
Sodyum Aljinat QQ Düz Plaka	0,2571	0,025	0,04



**Şekil 4.62 : QQ medyalarda porozite sonucu.**

Çizelge 4.1’de yer alan ölçümler sonucunda hesaplanan kontrol boncukların porozitesi şekil 4.61’de görülmektedir. En yüksek porozitenin PVA boncuklarda gözlendiği, porozite sıralamasında sodyum aljinat boncukların PVA boncukları takip ettiği söylenebilir. Manyetik nanopartikül ilavesi, malzemenin porozitesini azaltmıştır. En düşük porozite çitosanlı boncuklarda gözlenmiştir.

Çizelge 4.2’de yer alan ölçümler sonucunda hesaplanan QQ boncukların porozitesi şekil 4.62’de görülmektedir. Kontrol medya ile QQ medya kıyaslaması yapıldığında bakteri ilavesinin poroziteyi azalttığı görülmüştür. Porozitenin düşük olması dayanım açısından avantaj sağlamaktadır.

Her bir boncukta a/h olarak aynı miktarda aynı bakteri türünün immobilize edildiği düşünülürse, porozite azalma oranlarındaki farklılıkların tamamen malzemenin ana maddesi ile alakalı olduğu söylenebilir. En yüksek porozite azalma oranı sodyum aljinat boncuklarda olmuştur.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında farklı immobilizasyon medyaları üretilerek QQ aktivitesine sahip olduğu bilinen *Rhodoccus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin immobilizasyonu sağlanmıştır. Üretilen immobilizasyon medyaları sırası ile sodyum aljinat boncuk, PVA boncuk, manyetik nanokompozit boncuk, çitosan manyetik boncuk, PES kaplı sodyum aljinat boncuk ve sodyum aljinat düz plakadır. Çalışmada öncelikle sodyum aljinat boncuk, PVA boncuk, manyetik nanokompozit boncuk, çitosan manyetik boncuk üretilmiş ve optimize edilmiştir. Üretilen dört farklı medya malzemesi ile yapılan deneyler sonrasında sodyum aljinat boncuk üretiminin yapılacak çalışmalar açısından avantajlı olduğu görülmüştür. Farklılaştırmak ve daha uzun süre kullanılabilir hale getirmek amacı ile iki farklı medya çalışması daha yapılmıştır. Bunlar PES kaplı sodyum aljinat boncuk ve sodyum aljinat düz plakadır. Çalışma kapsamında QQ MBR çalışmalarında kullanıma en uygun immobilizasyon medyasının bulunması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda deneyler yapılarak sonuçları incelenmiştir.

QQ aktivite deneyi sonuçları incelendiğinde tez çalışması kapsamında seçilen *Rhodoccus* sp. BH<sub>4</sub> bakterisinin QQ aktivitesi incelendikten sonra çeşitli medya malzemelerine immobilize edilmiş şekilde tekrar QQ aktivitesine bakılmıştır. 6 farklı medya için yapılan deney sonuçlarına göre QQ aktiviteyi engelleyen malzemeye rastlanmazken, medya üretiminde kullanılan içerik dolayısı ile farklı QQ aktivite değerleri gözlenmiştir. Deney sonucuna göre QQ aktivitesi en yüksek medyanın sodyum aljinat boncuk olduğu görülmüştür.

Üretilen medyalara çeşitli karakterizasyon analizleri de yapılmıştır. Bunlar SEM, FTIR, reaktörde dayanım ve porozite deneyleridir. SEM görüntülerinde kontrol ve QQ medyalar arasındaki yapısal fark belirgin şekilde gözlenmiştir. Bakteri ilavesinin boşluklu medya yapısını daha az boşluklu hale getirdiği görülmüştür. SEM görüntülerinden elde edilen bu bilgi porozite sonuçları ile de karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuca ulaşılmıştır. SEM görüntülerinde kullanılan malzemelere bağlı olarak meydana gelen farklılıklar da dikkat çekmiştir. Bakteri ilaveli medyalarda

bakteriler görülmüş, nanopartikül ilavesi yapılan boncuklarda ise meydana gelen parlaklık parçalarının nanopartikül olduğu yorumu yapılmıştır.

FTIR spektrumuna bakılmasının nedeni ise üretilen medyaların kimyasal içeriklerinin literatürde yer alan FTIR spektrumlarında yer alan pikler ile uyumuna bakılmasıdır. Alınan spektrum sonuçlarına göre medyaların içeriğinde yer alan kimyasal bağlara uygun pikler ortaya çıkmıştır.

Üretilen medya malzemelerinin ilerleyen çalışmalarda QQ MBR’de kullanımı planlandığı için önem taşıyan deneylerden biri de reaktörde dayanımdır. Reaktörde dayanım deneyinde mini MBR düzenekleri yapılmıştır ve MBR işletmesi ile benzer şekilde havalandırma yapılmıştır. Bu deneydeki amaç QQ MBR çalışmalarında medyanın dayanımını görmektir. Üretilen QQ medyanın dayanıklı olması QQ MBR işletmesi sırasında avantaj sağlamaktadır. Deneysel sonuçlar incelendiğinde kontrol ve QQ medyaları arasında dayanım farkının oluşması dikkat çekmiştir. Bu durum QQ medyalarında meydana gelen porozite azalması ile de doğrudan etkili olmuştur. QQ medyaları incelendiğinde sodyum aljinat boncuk ve PVA boncuk’ların dayanımının yüksek olduğu görülmüştür. İkincil bir çalışma olarak yapılan PES kaplı sodyum aljinat boncuk ve sodyum aljinat düz plaka medya çalışmaları da reaktörde denenmiştir. Sodyum aljinatın belirgin dayanımı özellikle PES kaplı medya tasarımında gözler önüne serilmiştir. Boncuğun dış tabakasının dayanıklı PES yapısı ile kaplanması boncuk dayanımını önemli ölçüde artırmıştır.

Yapılan deneysel çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde sodyum aljinat boncuk ve PVA boncuğun öncelikli olarak dayanım açısından avantajlı olduğu görülmüştür. PES kaplı sodyum aljinat boncuk incelendiğinde deneysel sonuçları ön plana çıkmıştır ancak üretiminde yaşanan zorluklar pilot ölçekli tesis çalışmaları için uygun olmadığını göstermiştir. Sodyum aljinat düz plaka ise üretim açısından boncuk tasarımına kıyasla daha avantajlı olsa da dayanım ve porozite gibi karakterizasyon analizlerinde beklenen performansı gösterememiştir. Manyetik nanokompozit boncuk üretiminde hedeflenen, MBR tankı içerisinden boncukları mıknatıs yardımı ile kolaylıkla çıkarabilmek olmasına rağmen beklenen gerçekleşmemiştir. Bu nedenle çitosan manyetik boncuk denemesi yapılmıştır. Çitosan manyetik boncuklar mıknatıs tarafından tank içerisinden alınabilmektedir. Bu durum sodyum aljinatın manyetizma üzerinde olumsuz etki yaptığını göstermiştir.

Tüm sonuçlar bir araya getirilerek yorumlandığında tez çalışması kapsamında varılan sonuç sodyum aljinat boncuk ve PVA boncuk üretim ve etki bakımından en avantajlı medyalar olmuştur. Yapılan çalışmalar kapsamında ilerleyen zamanlarda immobilizasyon medyası üretimini ticari hale getirmek amacı ile 3 boyutlu (3D) yazıcı kullanılması da planlanmıştır.





## KAYNAKLAR

- Ağtaş, M.** (2014). Membran Biyoreaktörlerde (MBR) Tıkanmaların Önlenmesi İçin Yetersayı Etkisinin Azaltılması (Quorum Quenching) Mekanizmasının Kullanılması. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bassler, B. L.** (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Current opinion in microbiology*, 2(6), 582-587.
- Cheong, W.-S., Kim, S.-R., Oh, H.-S., Lee, S. H., Yeon, K.-M., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2014). Design of Quorum Quenching Microbial Vessel to Enhance Cell Viability for Biofouling Control in Membrane Bioreactor. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 97–105. <https://doi.org/10.4014/jmb.1311.11008>
- Cheong, W.-S., Lee, C.-H., Moon, Y.-H., Oh, H.-S., Kim, S.-R., Lee, S. H., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2013). Isolation and Identification of Indigenous Quorum Quenching Bacteria, *Pseudomonas* sp. 1A1, for Biofouling Control in MBR. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(31), 10554–10560. <https://doi.org/10.1021/ie303146f>
- Choo, K.-H., Park, P.-K., & Oh, H.-S.** (2020). Quorum sensing and quorum quenching in membrane bioreactors. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 245–274). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819809-4.00012-7>
- Coulthurst, S.J., Whitehead, N.A., Welch, M. And Salmond, G.P.C.** (2002). Can boron get bacteria talking? *Trends in Biochemical Sciences*. 27 (5), 217-219.
- Ergön-Can, T., Köse-Mutlu, B., Koyuncu, İ., & Lee, C.-H.** (2017). Biofouling control based on bacterial quorum quenching with a new application: Rotary microbial carrier frame. *Journal of Membrane Science*, 525, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.10.036>
- Fuqua, W.C., Winans, S.C., and Greenberg, E.P.** (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J. Bacteriol.* 176:269–275.

- Ghasemzadeh Momen, Hajar** (2015). İleri Osmoz Membran Biyoreaktörün Atıksu Arıtım Performansı (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Grandclément, C., Tannières, M., Moréra, S., Dessaux, Y., & Faure, D.** (2016). Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(1), 86–116. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038>
- Gül, B. Y., Imer, D. Y., Park, P.-K., & Koyuncu, I.** (2018). Selection of quorum quenching (QQ) bacteria for membrane biofouling control: effect of different Gram-staining QQ bacteria, *Bacillus* sp. T5 and *Delftia* sp. T6, on microbial population in membrane bioreactors. *Water Science and Technology*, 78(2), 358–366. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.305>
- Hakenbeck, R., and Stock, J.B.** (1996). Analysis of two-component signal transduction systems involved in transcriptional regulation. *Methods Enzymol.* 273:281–300.
- Ham, S.-Y., Kim, H.-S., Cha, E., Park, J.-H., & Park, H.-D.** (2018). Mitigation of membrane biofouling by a quorum quenching bacterium for membrane bioreactors. *Bioresource Technology*, 258, 220–226. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.007>
- Iorhemen, O. T., Hamza, R. A., & Tay, J. H.** (2016). Membrane bioreactor (MBR) technology for wastewater treatment and reclamation: membrane fouling. *Membranes*, 6(2), 33.
- Iorhemen, O. T., Hamza, R. A., & Tay, J. H.** (2017). Membrane fouling control in membrane bioreactors (MBRs) using granular materials. *Bioresource Technology*, 240, 9–24. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.005>
- Ivanova, V., Petrova, P., & Hristov, J.** 2011. “Application in the ethanol fermentation of immobilized yeast cells in matrix of alginate/magnetic nanoparticles, on chitosan-magnetite microparticles and cellulose-coated magnetic nanoparticles”.
- Jahangir, D., Oh, H.-S., Kim, S.-R., Park, P.-K., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2012). Specific location of encapsulated quorum quenching bacteria for biofouling control in an external submerged membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 411–412, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.04.022>
- Jannah, N. R., & Onggo, D.** (2019, August). Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for colour removal of printing ink solution. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1245, No. 1, p. 012040). IOP Publishing.

- Jiang, W., Xia, S., Liang, J., Zhang, Z., & Hermanowicz, S. W.** (2013b). Effect of quorum quenching on the reactor performance, biofouling and biomass characteristics in membrane bioreactors. *Water Research*, 47(1), 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.050>
- Jiao, X., Xie, K., & Qiu, L.** (2020). Membrane bioreactors for wastewater treatment: A review of microbial quorum sensing and quenching to control membrane biofouling based on engineering quorum quenching bacteria. *E3S Web of Conferences*, 194, 04026. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202019404026>
- Judd, S., Judd, C.**, (2006). *The MBR Book: Principles and Applications of Membrane Bioreactors in Water and Wastewater Treatment*. Elsevier, Oxford, UK.
- Khan, R., Shen, F., Khan, K., Liu, L. X., Wu, H. H., Luo, J. Q., & Wan, Y. H.** (2016). Biofouling control in a membrane filtration system by a newly isolated novel quorum quenching bacterium, *Bacillus methylotrophicus* sp. WY. *RSC Advances*, 6(34), 28895–28903. <https://doi.org/10.1039/C6RA01663D>
- Kharazmi, A., Faraji, N., Hussin, R. M., Saion, E., Yunus, W. M. M., & Behzad, K.** (2015). Structural, optical, opto-thermal and thermal properties of ZnS–PVA nanofluids synthesized through a radiolytic approach. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), 529-536.
- Kim, A.-L., Park, S.-Y., Lee, C.-H., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2014). Quorum Quenching Bacteria Isolated from the Sludge of a Wastewater Treatment Plant and Their Application for Controlling Biofilm Formation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(11), 1574–1582. <https://doi.org/10.4014/jmb.1407.07009>
- Kim, J.-H., Choi, D.-C., Yeon, K.-M., Kim, S.-R., & Lee, C.-H.** (2011). Enzyme-Immobilized Nanofiltration Membrane To Mitigate Biofouling Based on Quorum Quenching. *Environmental Science & Technology*, 45(4), 1601–1607. <https://doi.org/10.1021/es103483j>
- Kim, S.-R., Oh, H.-S., Jo, S.-J., Yeon, K.-M., Lee, C.-H., Lim, D.-J., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2013). Biofouling Control with Bead-Entrapped Quorum Quenching Bacteria in Membrane Bioreactors: Physical and Biological Effects. *Environmental Science & Technology*, 47(2), 836–842. <https://doi.org/10.1021/es303995s>
- Kouassi, G. K., Irudayaraj, J., & McCarty, G.** (2005). “Examination of cholesterol oxidase attachment to magnetic nanoparticles”. *Journal of Nanobiotechnology*, 3(1), 1-9.

- Köse-Mutlu, B., Ergön-Can, T., Koyuncu, I., & Lee, C. H.** (2016). “Quorum quenching MBR operations for biofouling control under different operation conditions and using different immobilization media”. *Desalination and Water Treatment*, 57(38), 17696-17706.
- Lazazzera, B. A., & Grossman, A. D.** (1998). The ins and outs of peptide signaling. *Trends in Microbiology*, 6(7), 288–294. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01313-4](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01313-4)
- Le-Clech, P., Chen, V., & Fane, T. A.** (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of membrane science*, 284(1-2), 17-53.
- Lee, K., Kim, Y.-W., Lee, S., Lee, S. H., Nahm, C. H., Kwon, H., Park, P.-K., Choo, K.-H., Koyuncu, I., Drews, A., Lee, C.-H., & Lee, J.-K.** (2018). Stopping Autoinducer-2 Chatter by Means of an Indigenous Bacterium (*Acinetobacter* sp. DKY-1): A New Antibiofouling Strategy in a Membrane Bioreactor for Wastewater Treatment. *Environmental Science & Technology*, 52(11), 6237–6245. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05824>
- Lee, K., Lee, S., Lee, S. H., Kim, S.-R., Oh, H.-S., Park, P.-K., Choo, K.-H., Kim, Y.-W., Lee, J.-K., & Lee, C.-H.** (2016). Fungal Quorum Quenching: A Paradigm Shift for Energy Savings in Membrane Bioreactor (MBR) for Wastewater Treatment. *Environmental Science & Technology*, 50(20), 10914–10922. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00313>
- Li, Y. H., & Tian, X.** (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*, 12(3), 2519-2538.
- Liu, J., Zhang, L., Zhang, P., & Zhou, Y.** (2020). Quorum quenching altered microbial diversity and activity of anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) and enhanced methane generation. *Bioresource Technology*, 315, 123862.
- Mansur, H. S., Sadahira, C. M., Souza, A. N., & Mansur, A. A.** (2008). FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. *Materials Science and Engineering: C*, 28(4), 539-548.
- Maqbool, T., Khan, S. J., Waheed, H., Lee, C.-H., Hashmi, I., & Iqbal, H.** (2015). Membrane biofouling retardation and improved sludge characteristics using quorum quenching bacteria in submerged membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 483, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.02.011>

- Melin, T., Jefferson, B., Bixio, D., Thoeye, C., De Wilde, W., De Koning, J., ... & Wintgens, T.** (2006). Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse. *Desalination*, 187(1-3), 271-282.
- Meng, F., Chae, S. R., Drews, A., Kraume, M., Shin, H. S., & Yang, F.** (2009). Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): membrane fouling and membrane material. *Water research*, 43(6), 1489- 1512
- Mustafa, I.** (2019). Methylene blue removal from water using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> crosslinked magnetic chitosan nanocomposite beads. *Microchemical Journal*, 144, 397-402.
- Nahm, C. H., Choi, D.-C., Kwon, H., Lee, S., Lee, S. H., Lee, K., Choo, K.-H., Lee, J.-K., Lee, C.-H., & Park, P.-K.** (2017). Application of quorum quenching bacteria entrapping sheets to enhance biofouling control in a membrane bioreactor with a hollow fiber module. *Journal of Membrane Science*, 526, 264– 271. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.12.046>
- Noel Jacob, K., Senthil Kumar, S., Thanigaivelan, A., Tarun, M., & Mohan, D.** (2014). Sulfonated polyethersulfone-based membranes for metal ion removal via a hybrid process. *Journal of Materials Science*, 49, 114-122.
- Oh, H.-S., & Lee, C.-H.** (2018). Origin and evolution of quorum quenching technology for biofouling control in MBRs for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 554, 331–345. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2018.03.019>
- Oh, H.-S., Yeon, K.-M., Yang, C.-S., Kim, S.-R., Lee, C.-H., Park, S. Y., Han, J. Y., & Lee, J.-K.** (2012). Control of Membrane Biofouling in MBR for Wastewater Treatment by Quorum Quenching Bacteria Encapsulated in Microporous Membrane. *Environmental Science & Technology*, 46(9), 4877–4884. <https://doi.org/10.1021/es204312u>
- Queiroz, M. F., Teodosio Melo, K. R., Sabry, D. A., Sasaki, G. L., & Rocha, H. A. O.** (2014). Does the use of chitosan contribute to oxalate kidney stone formation?. *Marine drugs*, 13(1), 141- 158.
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O.** (2015). Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Medicinal Chemistry*, 7(5), 647–671. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.7>
- Rao, K. M., Rao, K. K., Sudhakar, P., Rao, K. C., & Subha, M. C. S.** (2013). Synthesis and Characterization of biodegradable Poly (Vinyl caprolactam) grafted on to sodium alginate and its microgels for controlled release studies of

an anticancer drug. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(6), 061-069.

•

**Taşkan, B., Hasar, H., & Lee, C.** (2020). Effective biofilm control in a membrane biofilm reactor using a quenching bacterium (*Rhodococcus* sp. BH4). *Biotechnology and Bioengineering*, 117(4), 1012–1023. <https://doi.org/10.1002/bit.27259>

**Turan, N. B., & Engin, G. Ö.** (2018). Quorum Quenching (pp. 117–149). <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2018.02.003>

**Weerasekara, N. A., Choo, K.-H., & Lee, C.-H.** (2014). Hybridization of physical cleaning and quorum quenching to minimize membrane biofouling and energy consumption in a membrane bioreactor. *Water Research*, 67, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.049>

**Williams, P.** (2007) Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology* 153:3923–3938.

**Yadav, N., Dubey, A., Shukla, S., Saini, C. P., Gupta, G., Priyadarshini, R., & Lochab, B.** (2017). Graphene Oxide-Coated Surface: Inhibition of Bacterial Biofilm Formation due to Specific Surface– Interface Interactions. *ACS Omega*, 2(7), 3070–3082. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00371>

**Yeon, K.-M., Cheong, W.-S., Oh, H.-S., Lee, W.-N., Hwang, B.-K., Lee, C.-H., Beyenal, H., & Lewandowski, Z.** (2009). Quorum Sensing: A New Biofouling Control Paradigm in a Membrane Bioreactor for Advanced Wastewater Treatment. *Environmental Science & Technology*, 43(2), 380–385. <https://doi.org/10.1021/es8019275>

**Yeon, K.-M., Lee, C.-H., & Kim, J.** (2009). Magnetic Enzyme Carrier for Effective Biofouling Control in the Membrane Bioreactor Based on Enzymatic Quorum Quenching. *Environmental Science & Technology*, 43(19), 7403–7409. <https://doi.org/10.1021/es901323k>

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad:** Semanur SOYLU

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans:** 2021, İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü
- **Yüksek Lisans:** 2023, İstanbul Teknik Üniversitesi, Çevre Bilimleri, Yönetimi ve Mühendisliği

