



ANKARA
HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**CANLI BAKTERİ ENKAPSÜLE EDİLMİŞ POLİETİLEN
OKSİT NANOFİBER MATLARIN REAKTİF BOYAR
MADDE GİDERİMİNDE KULLANIMI**

İmre TÜZÜN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ BİLİM DALI**

ARALIK 2024



**CANLI BAKTERİ ENKAPSÜLE EDİLMİŞ POLİETİLEN
OKSİT NANOFİBER MATLARIN REAKTİF BOYAR
MADDE GİDERİMİNDE KULLANIMI**

İmre TÜZÜN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ BİLİM DALI**

**ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2024

ETİK BEYAN

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmre TÜZÜN

25.12.2024

TEZ ONAY SAYFASI

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitü Biyoloji Anabilim Dalı İmre Tüzün öğrencisi tarafından hazırlanan ‘Canlı Bakteri Enkapsüle Edilmiş Polietilen Oksit Nanofiber Matların Boyar Madde Gideriminde Kullanımı’ başlıklı tez çalışması 25/12/24 tarihinde ve 15:00 saatinde aşağıda jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak KABUL edilmiştir.

Kabul

Ret

Başkan:

Prof. Dr. Ayşe KALKANCI

Gazi Üniversitesi

☒☐

Üye :

Prof. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN

Hacı Bayram Veli Üniversitesi

☒☐

Üye (Unvan/Ad-Soyad/Kurum):

Prof. Dr. Murat DEMİRBİLEK

Hacı Bayram Veli Üniversitesi

☒☐

CANLI BAKTERİ ENKAPSÜLE EDİLMİŞ POLİETİLEN OKSİT NANOFİBER
MATLARIN REAKTİF BOYAR MADDE GİDERİMİNDE KULLANIMI
(Yüksek Lisans Tezi)

İmre TÜZÜN

ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Aralık 2024

ÖZET

Gıda sektöründen çevresel uygulamalara kadar, biyolojik maddelerin nanofiberler içine kapsüllenmesi yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Özellikle biyoremediasyon süreçlerinin geliştirilmesi ve sürdürülebilir hale getirilmesi için, tekstil atık sularının arıtımında kullanılabilecek, canlı mikroorganizmalar içeren maliyeti etkin nanomalzemelerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu tez çalışmasında, bakterilerle kapsüllenmiş polietilen oksit (PEO) nanofiberler (Nf) elektrospin yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri, PEO nanofiberlerin boncuksuz ve homojen bir dağılıma sahip olduğunu gösterirken, bakteri kapsüllemesi sonrası nanofiberlerde genişlemelerin meydana geldiği gösterilmiştir. Elektrospin öncesinde polimerde canlı bakteri sayısı 10^{10} kob/mL iken, işlem sonrasında nanofiberde kapsüllenmiş canlı bakteri sayısı 10^8 kob/mL olarak sayılmıştır. Bu durum, elektrospin işlemi sonrasında nanofiberlerin çok yüksek bir bakteri yükü taşıyabildiğini göstermekte olup, bu bulgu Floresan mikroskobu görüntüleriyle de desteklenmiştir. Ayrıca ATR-FTIR analizleri, PEO nanofiberleri ile bakteriler arasındaki moleküler etkileşimleri doğrulamıştır. PEO-bakteri nanofiberlerin boyar madde giderim etkinliği, 5 ppm boya konsantrasyonunda $\%26,6 \pm 0,3$; ve 20 ppm boyar madde konsantrasyonunda ise $\%9 \pm 0,1$ olarak ölçülmüştür. $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanan bakteri enkapsüle edilen nanofiberlerin, 60 günden daha uzun bir süre boyunca canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın ileri aşamalarında, bakterilerin elektrospin yoluyla üretilen nanofiberler içerisindeki ömrünü uzatmak amacıyla, toksik olmayan kalsiyum iyonları kullanılarak yapılan çapraz bağlama yaklaşımları araştırılmıştır. Bu kapsamda, üretilen kompozit nanofiber matlarının 4 döngüde tekrar kullanımı sağlanmıştır.

Bilim Kodu : 20309
Anahtar Kelimeler : Biyoremediasyon; Boyar madde, Elektrospin; Enkapsülasyon; Nanofiber
Sayfa Adedi : 55
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN

LONG-TERM STORAGE AND REUSABILITY OF LIVING BACTERIA-
ENCAPSULATED POLYETHYLENE OXIDE NANOFIBER MATS FOR REACTIVE
DYE REMOVAL

(M.Sc. Thesis)

İmre TÜZÜN

ANKARA HACI BAYRAM VELİ UNIVERSITY
THE INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

December 2024

ABSTRACT

From food to environmental applications, the encapsulation of bio-objects in nanofibers is widely used. In particular, for improved and sustainable performance of bioremediation, the system requires the development of cost-effective nanomaterials that containing living microorganisms for textile wastewater treatment is required. Here, bacteria-encapsulated polyethylene oxide (PEO) nanofibers (Nfs) were prepared by electrospinning. According to the Scanning Electron Microscope (SEM) images, PEO-Nfs show bead-free morphology and homogeneous distribution, while random expansions are observed in the nanofibers after bacterial encapsulation. While the number of live bacteria in the polymer before electrospinning was 10^{10} CFU/mL, the number of live bacteria encapsulated after spinning was 10^8 CFU/mL. This proves that nanofibers carry a very high number of bacteria after electrospinning which is supported by Fluorescence microscope images. Furthermore, an ATR-FTIR study confirmed the molecular interactions between PEO and bacteria in the nanofibers. The removal efficiency of PEO_bacteria-Nfs was $26.6 \pm 0.3\%$ at 5 ppm and $9 \pm 0.1\%$ at 20 ppm dye concentration. Under storage conditions of $+4^\circ\text{C}$, the bacteria-encapsulated in PEO-Nfs show cell viability for more than 60 days. In order to extend the research on bacteria-encapsulated polymer Nfs, we explored the possibility of extending the life of bacteria in electrospun Nfs by crosslinking approaches using non-toxic calcium ions. The composite Nf mats were therefore reused for up to 4 repeated cycles.

Science Code : 20309
Key Words : Bioremediation; Dye, Electrospinning; Encapsulation; Nanofiber
Page Number : 55
Supervisor :Prof. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında, ilgi ve önerileriyle beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen, sonsuz çabası ve yol göstericiliğiyle tez yazma sürecinde her zaman yanımda olan, sonsuz emeğiyle yalnızca tezimi tamamlamama yardımcı olmakla kalmayıp, aynı zamanda akademik yolculuğumda da sağlam bir temel oluşturmamı sağlayan sevgili danışmanım Prof. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca yanımda olan girdiğim her sınavın stresini benimle yaşayan, karşılıksız sevgileri ve anlayışları ile beni her zaman destekleyen başta sevgili annem Hülya Tüzün, sevgili babam Muammer Tüzün ve sevgili kardeşim Özlem Tüzün'e en içten dileklerim ile teşekkür ederim.

Yolumuzun kesiştiği günden bu yana bana her türlü desteğiyle güç veren, akademik hayatın zorluklarıyla baş ederken yanımda olan, yükümü hafifleten ve her anımı daha anlamlı kılan sevgili Samed Yiğit'e, tüm katkıları ve sabrı için en içten teşekkürlerimi sunarım.

İmre TÜZÜN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1. Enkapsülasyon	5
2.2. Nanofiber	13
2.3. Nanofiber Üretim Yöntemleri.....	14
2.4. Elektrospin Yöntemi ile Fiber Üretimi	14
2.4.1. Nanofiber üretimi için kullanılan elektrospin cihazı	15
2.5. Elektrospin Üretim Parametreleri	15
2.5.1. İşlem Parametreleri	15
2.5.2. Çözelti Parametreleri	16
2.5.3. Ortam Parametreleri.....	17
2.6. Nanofiberlerin Kullanım Alanları.....	18
2.7. Atık Su	19
2.8. Boyar Maddelerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.....	19
2.9. Literatür Özeti.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.2. Yöntem.....	23

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Bakteri ve İnkübasyon Koşulları	23
3.2.2. Bakterinin Gelişim Eğrisinin Belirlenmesi.....	23
3.2.3. Enkapsüle Edilecek Bakteri Kütlesinin Hazırlanması	23
3.2.4. Elektrospin Yöntemi ile Polietilen Oksit (PEO) Nanofiber Üretilmesi	24
3.2.5. PEO Nanofiberlerin Çapraz Bağlanması	24
3.2.6. Elektrospin ile Üretilmiş Nanofiber ve Bakteri Enkapsüle Edilmiş Nanofiber Matların Karakterizasyonu	24
3.2.6.1. Taramalı elektron mikroskopu (SEM).....	24
3.2.6.2. Zayıflatılmış toplam yansıma – fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR- FTIR) analizi	24
3.2.6.3. Floresan mikroskop	25
3.2.7. Biyoremediasyon İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi ve Reaktif Blue 21 Analizi.....	25
3.2.7.1. Reaktif blue 21 analizi.....	25
3.2.7.2. Optimum pH ve reaksiyon sürelerinin belirlenmesi.....	25
3.2.7.3. Optimum sıcaklığın belirlenmesi	25
3.2.7.4. Optimum çalkalama hızı (rpm) belirlenmesi.....	26
3.2.8. Bakteri Enkapsülasyonu ile PEO Nanofiberlerin Elektrospin Yöntemi ile Üretimi.....	26
3.2.8.1. Maksimum biyokütle enkapsülasyonu	26
3.2.8.2. Enkapsüle edilen bakteri sayımı.....	26
3.2.9. Bakteri Enkapsüle Edilen PEO Nanofiber ile Giderim Deneyleri	27
3.2.9.1. Artan Reaktif Blue (RB21) boya konsantrasyonun da giderim deneyleri	27
3.2.10. Depolama ve Sayım Deneyleri.....	27
3.2.11. Farklı pH Değerlerinde Hayatta Kalma Verimliliği.....	28
3.2.12. Polietilen Oksit Nanofiberlerin Çapraz Bağlanması	28
3.2.13. Tekrar Kullanılabilirlik Deneyleri.....	28
3.2.14. İstatistiksel Analiz	28

4. ARAŞTIRMA BULGULARI	29
4.1. Enkapsülasyonda Kullanılan Bakteri.....	29
4.2. Biyoremediasyon Çalışmalarında pH, sıcaklık ve Çalkalama Koşullarının RB21 Boyar Madde Giderimi Üzerindeki Etkisi.....	29
4.2.1. Optimum pH ve Reaksiyon Süresinin Belirlenmesi.....	29
4.2.2. Optimum Sıcaklığın Belirlenmesi	30
4.2.3. Optimum Çalkalama Hızının Belirlenmesi	31
4.3. Polietilen Oksit Nanofiber Üretimi.....	32
4.4. Nanofiber İçine Enkapsüle Edilen Biyokütle Miktarının Belirlenmesi.....	34
4.5. Enkapsülasyon Öncesi Polimer İçinde ve Elektrospin Sonrası Nanofiber İçine Enkapsüle Edilen Bakterilerin Sayılması	35
4.6. Nanofiber İçine Bakterinin Enkapsülasyonu	35
4.7. Bakteri Enkapsülasyonu ile Üretilen Nanofiberlerin Floresan Mikroskop ile İncelenmesi	36
4.8. Bakteri Enkapsülasyonu ile Üretilen Nanofiberlerin Karakterizasyonu	37
4.9. Polietilen Oksit ve Bakteri Enkapsüle Edilen PEO-Nf'lerin Çözünürlük Davranışı.....	37
4.10. Artan RB21 konsantrasyonda giderim veriminin incelenmesi	38
4.11. Üretilen PEO-bakteri-Nf matların uzun süreli depolanması sonrasında canlılık ve giderim verimlerinin incelenmesi	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Tez çalışması şematik özeti	3
Şekil 2.1. Enkapsülasyon teknikleri şematik gösterimi	6
Şekil 2.2. Sprey kurutma tekniğinin şematik gösterimi	7
Şekil 2.3. Ekstrüzyon tekniği ile mikroküre hazırlamanın şematik gösterimi	8
Şekil 2.4. Koaservasyon tekniği şematik gösterimi	9
Şekil 2.5. Lipozom tekniği şematik gösterimi	10
Şekil 2.6. Dondurarak kurutma tekniği şematik gösterim.....	10
Şekil 2.7. Emülsifikasyon tekniği şematik gösterimi.....	11
Şekil 4.1. <i>Lysinibacillus</i> sp. NOSK bakterisinin ışık mikroskop görüntüsü.....	29
Şekil 4.2. <i>Lysinibacillus</i> sp. NOSK bakterisinin farklı pH değerleri ve inkübasyon sürelerinde RB21 boyası giderim verimleri ($C_0=20$ ppm, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı= 100 rpm).....	30
Şekil 4.3. <i>Lysinibacillus</i> sp. NOSK bakterisinin farklı sıcaklıklarda RB21 boyası giderim verimi yüzdeleri ($C_0=20$ ppm, pH = 9, Çalkalama hızı = 100 rpm, Süre = 24 saat).	31
Şekil 4.4. <i>Lysinibacillus</i> sp., farklı çalkalama hızında RB21 boyası giderim verimi ($C_0=20$ ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Süre = 24 saat)	32
Şekil 4.5. Elektrospin yöntemi ile üretilen PEO-Nf'lerin a) 50 µm b) 20 µm c-d) 5 µm ölçeklerde SEM mikrografları.	33
Şekil 4.6. PEO- Nf'lerin çap dağılım grafiği.	34
Şekil 4.7. Farklı miktarlarda bakteri kültüründen elde edilen biyokütle miktarları... 34	
Şekil 4.8. Polimer içine eklenen ve elektrospin sonrası üretilen nanofibere enkapsüle edilen canlı bakteri sayım fotoğrafları ve sayıları.....	35
Şekil 4.9. Bakteri enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lerin a) 50 µm b) 20 µm c-d) 5 µm ölçeklerde SEM mikrografları.....	36
Şekil 4.10. (a-c) PEO-Bakteri-Nf'lerin Floresan mikroskop görüntüsü. Inset DAPI ile boyanmış enkapsülasyon öncesi bakterilerin görüntüsüdür.....	37
Şekil 4.11. PEO-Nf ve enkapsüle edilen PEO-Bakteri-Nf'lerin ATR-FTIR spektrumları.....	37

Şekil 4.12. PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf'lerin su ortamına temasları sonrası çekilmiş fotoğrafları.....	38
Şekil 4.13. Bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberlerin artan kirletici (RB21) konsantrasyonunda giderim verimleri. (pH = 9, Sıcaklık = 30 °C).	39
Şekil 4.14. Uzun süreli depolama sonrası PEO-bakteri-Nf'lerin canlı sayısı ve boyar madde giderim verimleri (C ₀ = 20 ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).	40
Şekil 4.15. Çapraz bağlanan a-b) PEO-Nf c-f) PEO-bakteri-Nf'lerin SEM mikrografları.	41
Şekil 4.16. Çapraz bağlanan PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf'lerin suda çözünürlük davranışlarının fotoğrafları.....	41
Şekil 4.17. Çapraz bağlanan PEO-bakteri-Nf'lerin farklı inkübasyon sürelerinde giderim verimi. (C ₀ = 20 ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).	42
Şekil 4.18. Çapraz bağlanan PEO-bakteri-Nf 'in tekrar kullanabilirlik deneyi sonucunda giderim verimi (C ₀ = 20 ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).	43

KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile aşağıda verilmiştir.

Kısaltmalar	Açıklamalar
PEO	Polietilen Oksit
PEO-Nf	Polietilen Oksit Nanofiber
Ly	<i>Lysinibacillus</i> sp. (NOSK)
Ly-Nf	<i>Lysinibacillus</i> sp. Nanofiber
PEO-Ly-Nf	Polietilen Oksit <i>Lysinibacillus</i> sp. Nanofiber
NB	Nutrient Broth
NA	Nutrient Agar
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
RB21	Reaktif turkuaz
rpm	Dakikada devir sayısı
UV-Vis	Ultraviyole görünür ışık
OD ₆₀₀	600 nm 'de ölçülen optik yoğunluk
kob	Koloni oluşturma birimi
PBS	Tampon salin solüsyon
DAPI	Floresan boya
ATR-FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
SA	Selüloz Asetat
PVA	Polivinil Alkol
PAN	Poliakrilonitril
BSA	Sığır serum albümini
Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde simgesi
°C	Celcius derece
µl	Mikrolitre
abs	Absorbans
g	gram

1. GİRİŞ

Dünya genelinde ve ülkemizde nüfus artışıyla birlikte endüstriyel faaliyetler de hızla artmaktadır. Bu artış, su kaynakları üzerinde önemli olumsuz etkiler yaratmaktadır. Özellikle tekstil endüstrisinden kaynaklanan atıksular, içerdikleri boyar maddeler nedeniyle büyük çevresel sorunlara yol açmaktadır. Boyar maddeler, su ortamlarında yüksek çözünürlükleri nedeniyle birikerek ışık penetrasyonunu engeller, çözünmüş oksijen seviyelerini düşürür ve su ekosistemlerinde canlıların yaşamını tehdit eder. Bu durum, su kaynaklarının kullanılabilirliğini kısıtlamakta ve su ekosistemlerinin tahrip olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, atıksuların arıtılması büyük bir önem taşımaktadır. Geleneksel yöntemler olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma işlemleri kullanılmakla birlikte, küresel su krizinin etkileri göz önüne alındığında, bu tekniklerin yanı sıra hibrit çevre dostu teknolojilerin arıtımda kullanılması önemlidir.

Geleneksel biyolojik arıtma yöntemlerinde, serbest hücreler doğrudan kullanılmakta ancak bu durum hücreleri, işlevselliği, hücre yoğunluğunda azalma ve çevresel faktörlerin yarattığı olası hasarlarla tehdit altına girebilir (Ge vd., 2024). Sonuç olarak biyolojik arıtma süreçlerinin verimliliğini düşürebilir. Bu bağlamda, biyolojik kökenli maddelerin kapsüllenmesi, yeni bir çözüm arayışını açığa çıkarmıştır. Canlı bakteriler, virüsler veya hücreler gibi biyolojik maddelerin kapsüllenmesi, biyolojik arıtma süreçlerinin etkinliğini artırmak ve korumak için önemli bir araştırma ve uygulama alanı haline gelmiştir (Wen, Wen, Zong, Linhardt, & Wu, 2017).

Biyolojik maddelerin kapsüllenmesi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlar arasında elektrospin, jelleştirme, film biriktirme, ekstrüzyon ve püskürtme kurutma gibi yöntemler yer almaktadır. Bu yöntemler, kapsüllenmiş biyolojik maddelerin kontrollü salımı ve etkinliğini sağlayan çeşitli avantajlar sunmaktadır (López-Rubio, Sanchez, Sanz, & Lagaron, 2009). Özellikle elektrospin, nanofiber üretiminde kolay ve çok yönlü bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Elektrospin teknolojisi, ortam koşullarında gerçekleşmesi ve biyoaktif bileşenlerin etkinliğini korumasından dolayı kararsız bileşenlerin kapsüllenmesi için oldukça uygundur (Klein vd., 2009). Ayrıca, elektrospin yöntemi, geleneksel kapsülleme tekniklerine kıyasla daha basit, verimli ve tekrarlanabilir bir süreçtir.

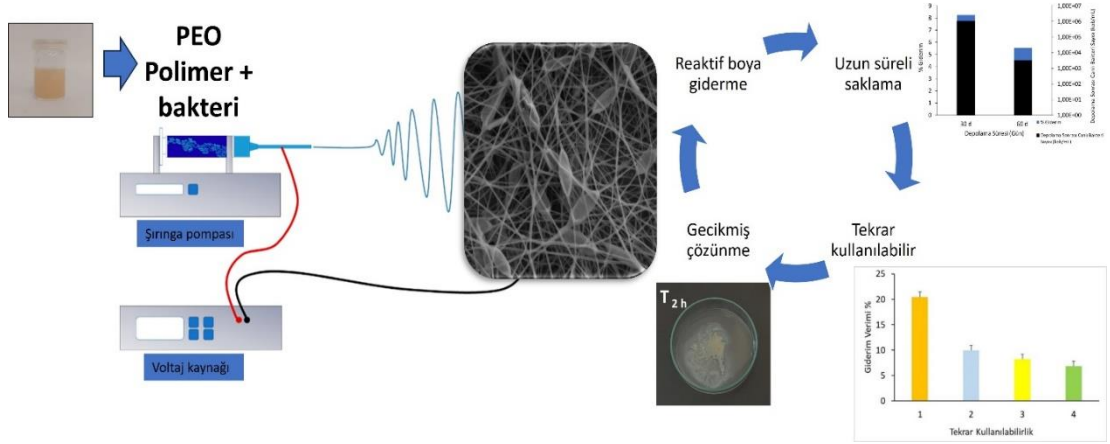
Nanofiberler, arıtım ve çevresel uygulamalar alanında özellikle dikkat çekici bir potansiyel taşımaktadır. Atıksu arıtımında, nanofiberler arası bölgeler, nanofiber

içinde yada nanofiberlerin üzerine mikroorganizmaların tutunması ile toksik atıksu ortamından korunarak biyolojik arıtım süreçlerinde verimliliğini artırmaktadır (Yuan vd., 2017). Özellikle tekstil, deri tabaklama, kozmetik ve ilaç endüstrileri gibi sektörlerde kullanılan sentetik boyaların çevreye deşarjı, önemli bir kirlilik kaynağı sebebidir. Dünya çapında her yıl yaklaşık 0,7 milyon ton boya üretilmekte ve bunların %5-15'i arıtılmadan doğrudan su kaynaklarına bırakılmaktadır. Bu boyalar, sentetik yapıları ve aromatik bileşik içerikleri nedeniyle degradasyonları oldukça zor ve toksik etki göstermektedirler (Boumya vd., 2024).

Boyar maddelerin zararlı etkilerinin önlenmesi ve endüstriyel atıksuların çevreye zarar vermeden arıtılması büyük önem arz etmektedir (Mehta, Sharma, Pathania, Jena, & Bhushan, 2021). Nanofiberler, bu tür atıksuların biyolojik olarak arıtılmasını sağlamak için son derece etkili bir malzeme özelliği sunmaktadır.

Bu tez çalışmasında amaç, tekstil endüstrisi atıksularında sıklıkla bulunan ve arıtılması zor Reaktif turkuaz (RT) boyasının, canlı bakteri enkapsüle edilmiş nanofiber matlar ile arıtılmasıdır. Şekil 1.1'de tez çalışmasının şematik özeti verilmiştir. Bu amaçla, tezin ilk aşamasında atıksulardan izole edilmiş boya ve ağır metale dirençli *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisi, polietilen oksit (PEO) polimeri içine elektrospin yöntemi ile eş zamanlı enkapsüle edilmiştir. Bakterinin elektrospin tekniği ile nanofiber içine başarılı bir şekilde kapsüle edildiği Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir.

İkinci basamağında üretilen malzemenin artan reaktif boyar madde içerisinde giderim verimi incelenmiştir. Bu malzemelerin uzun süre depolanması sonrası aktivitedeki değişimin belirlenmesi amacıyla, nanofiber mat, +4 °C'de 30 gün depolanmış ve sonrasında giderim verimi ve canlılığı kontrol edilmiştir. Tez çalışmasının son aşamasında ise sulu çözeltielerde hızlı bir şekilde çözünen PEO-Nf'lerin çözünmesini geciktirmek ve böylece tekrar kullanılabilir olmalarını sağlamak amacıyla Nf'ler GRAS çapraz bağlama yöntemi ile çapraz bağlanmıştır. Sonuç olarak; reaktif boyar maddeleri arıtabilen, canlı bakteri taşıyan, hafif, taşınabilir, kullanımı kolay, uzun süreler aktivite kaybı olmadan depolanabilen ve çevre dostu nanofiber temelli filtre üretilmiştir.



Şekil 1.1. Tez çalışması şematik özeti



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon; farklı membran duvar polimer matrisleri kullanılarak kararsız halde bulunan aktif bileşeni çekirdek içine hapsedip korumaya almak ve iletimi istenen bölgeye ulaştırmayı sağlamaktır (Castro Coelho, Nogueiro Estevinho, & Rocha, 2021). Bu teknik oluşturulan malzemenin raf ömrünün uzatılması ve kontrollü salım gibi avantajları beraberinde getirmektedir. Enkapsülasyon teknolojisi: nanoenkapsülasyon ve mikroenkapsülasyon teknolojileri olarak ikiye ayrılmaktadır. Her iki teknoloji de ürünün etkinliğini artırmak için kullanılmaktadır (Shishir, Xie, Sun, Zheng, & Chen, 2018).

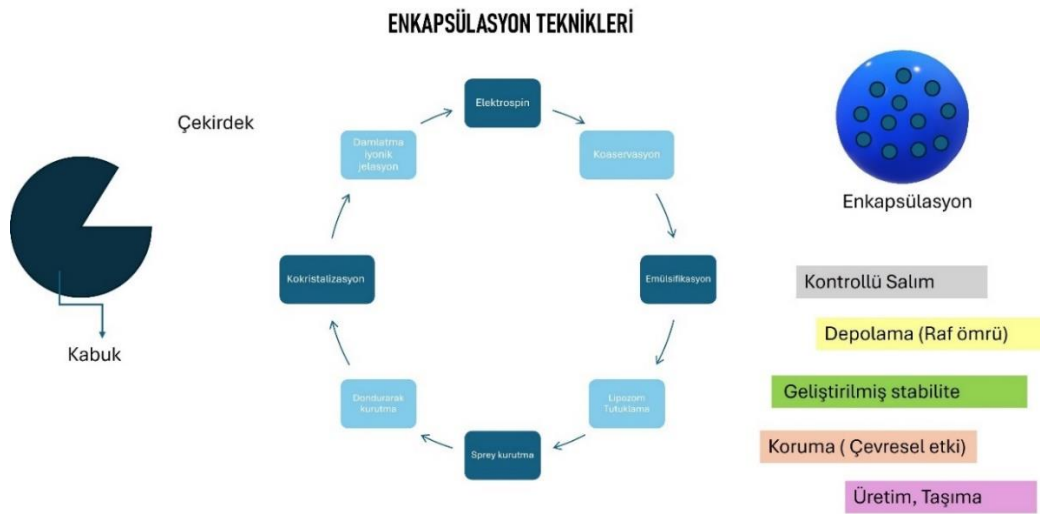
Mikroenkapsülasyon tekniği, küçük parçacıkların bir kaplama materyali ile kaplanarak, ortalama çapı 1 µm ile birkaç yüz mikrometre arasında değişen homojen veya heterojen bir matriste hapsedilmesi işlemi olarak tanımlanır. Mikroenkapsülleme tekniği ilaç endüstrisinde ilaçları kaplamak için sıklıkla kullanılan bir tekniktir (Alva, Lin, Liu, & Fang, 2017).

Nanoenkapsülasyon yöntemi ise aktif veya biyoaktif bileşiklerin 1-100 nm kapsüller veya taşıyıcılar içerisine yerleştirilmesidir. Son yıllarda, yüksek kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi, artırılmış biyoyararlanım, geliştirilmiş kararlılık, kontrollü salım profili ve istenmeyen tatların maskelenmesi gibi özel fonksiyonel özellikler nedeniyle biyoaktif bileşiklerin nano kapsülleme veya nano ölçekli dağıtım sistemleri ile formülasyonuna yönelik önemli bir ilgi artışı gözlemlenmektedir (Faridi Esfanjani & Jafari, 2016).

1950'lerde başlayan enkapsülasyon teknolojisi o zamandan günümüze kadar kimya, tıp ve eczacılık dahil olmak üzere farklı alanlardaki uygulamalarda kullanılmaktadır. Keşfedilmesiyle başlayan bu teknolojinin gıda ürünlerinde kullanılması ile giderek yaygınlaşmıştır. Teknolojinin keşfi ile gıda uygulamalarında özellikle katkı maddeleri, içerik maddeleri, probiyotikler ve sağlıklı gıdalar üzerinde çalışılmıştır (Zabot vd., 2022). Enkapsülasyon teknolojisinin gelişmesi ile kapsülleme yetenekleri büyük ölçüde çeşitlenmiştir. Geleneksel olarak, serbest hücreler doğrudan uygulanmaları için kullanılmaktadır. Ancak, hücrelerin işlevi ve ifadesi, belirli bir alandaki düşük hücre yoğunluğu ve çevre ve diğer faktörlerin neden olduğu olası hasar nedeniyle azalmaktadır. Bu nedenle, yeni, karmaşık ve oldukça işlevsel kompozit malzemeler

için yeni bir zorluk, canlı bakteriler, virüsler veya hücreler gibi biyolojik nesnelerin polimerlerde kapsüllenmesidir. Gıdalarda kapsüllenmiş biyoaktif bileşiklerin kullanımı, büyüyen bir endüstri trendi olarak öne çıkmakta ve bu durum, tanınmış fonksiyonel gıda çeşitlerinin artışına neden olmaktadır. Bu kapsamda probiyotik bakteri içeren gıdalar insan sağlığına olan yararından kaynaklı büyük ilgi görmüştür. Probiyotik bakteriler gastrointestinal sistemlerde mikrobiyal dengeyi sağlamaktadır. Probiyotik suşların konakçıya yarar sağlayabilmesi için gastrointestinal sisteme iletilirken probiyotik suşun sayısının 10^6 - 10^7 kob/mL olması gerekmektedir. Gastrointestinal sisteme iletilirken canlılığını koruması için enkapsülasyon teknolojisi önerilmektedir (Georgia, Frakolaki, Virginia, Giannou, Kekos, & Tzia, 2021).

Kapsülleme için elektrospin, jelleştirme, film biriktirme, ekstrüzyon, ortak oluşturma, ortak koruma, püskürtme ve dondurarak kurutma ve emülsiyon oluşumu dahil olmak üzere çeşitli kapsülleme yöntemleri bulunmaktadır. Bu yöntemler Şekil 2.1’de özetlenmiştir. Bu yaklaşımlar arasında elektrospin teknolojisi, kullanım kolaylığı ve kapsüllenmiş biyolojik nesnelerin kolay salınması avantajına sahiptir.



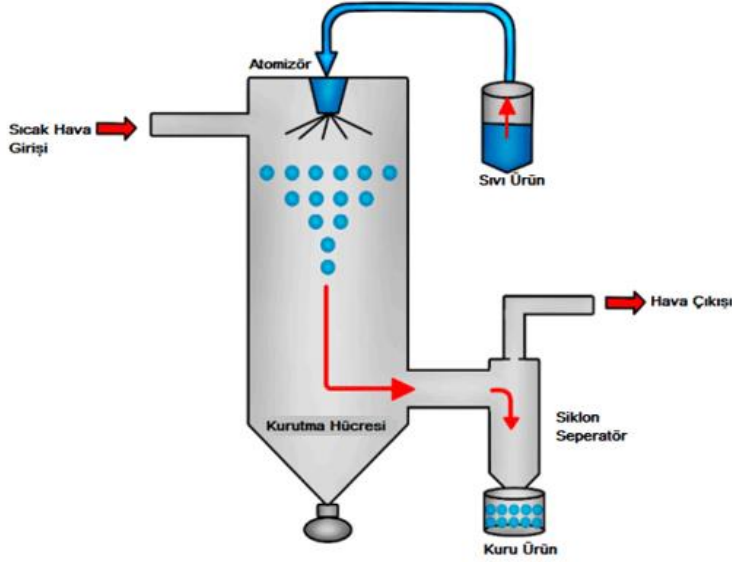
Şekil 2.1. Enkapsülasyon teknikleri şematik gösterimi

Enkapsülasyon Metodları

1. Sprey Kurutma Tekniği

Bu teknik ile aktif bileşen emülsiyon ya da çözelti süspansiyon oluşturarak kapsüllen malzeme karıştırılır (Şekil 2.2). Yöntemde emülsiyon oluşturmak için lipofilik çekirdek ve hidrofilik kabuk malzemesi kullanılmaktadır. Emülsiyon genellikle tek aşamalı veya iki aşamalı homojenizasyon ile gerçekleştirilir. Önceden

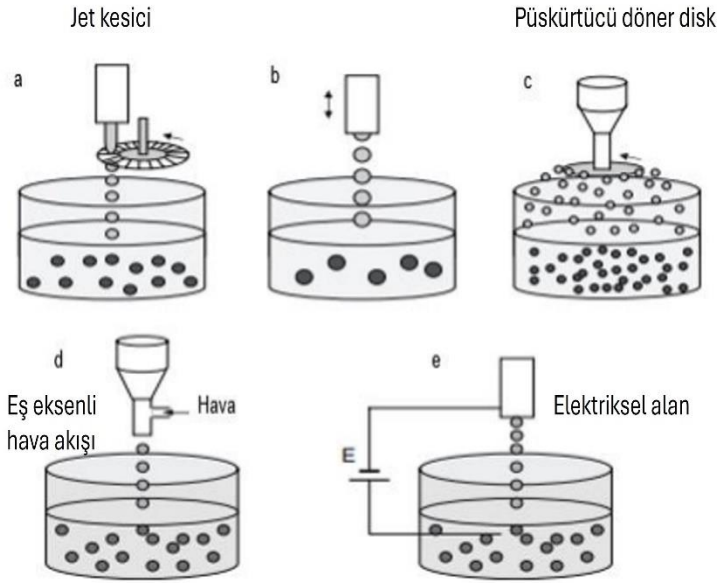
tanımlanmış bir akış hızında kurutma odasında atomize edilir. Emülsiyondaki suyun termal enerjiyle uzaklaştırılması, neme, oksijene, ışığa ve diğer çevresel stres faktörlerine karşı daha dayanıklı, kaplanmış bir kuru aktif bileşen oluşturur. Bu teknik gıda ve ilaç sektöründe oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Timilsena, Haque, & Adhikari, 2020).



Şekil 2.2. Sprey kurutma tekniğinin şematik gösterimi (Çetin vd., 2022)

2. Ekstrüzyon Kaplama Tekniği

Şekil 2.3’de şematik gösterimi verilen ekstrüzyon kaplama tekniğinde dönen bir silindirin dış çevresinde bulunmakta olan kaplama malzemesi ya da biyoaktif malzemenin farklı bölümlerden ayrı ayrı pompalanması ile oluşmaktadır. Çekirdek malzemesi farklı bir bölmeden akarken kabuk bölümünden eş zamanlı akması ile çekirdek etrafı tamamen kaplanana kadar dönen silindir çalışmaya devam etmektedir. Gıda sektöründe vitaminlerde aroma ve tatlandırıcılarda sıklıkla tercih edilen enkapsülasyon tekniğidir (Bamidele & Emmambux, 2021).

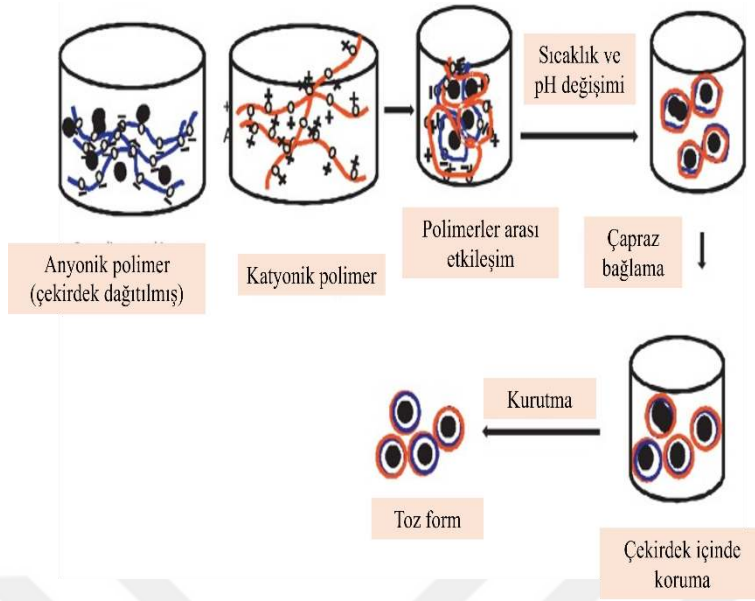


Şekil 2.3. Ekstrüzyon tekniği ile mikroküre hazırlamanın şematik gösterimi (İnan vd., 2019).

3. Koaservasyon Tekniği

Polimer çözeltilerinde, koaservat ve desolvasyon fazları arasındaki ayırım, çözeltinin faz geçiş süreçlerini yansıtır. Polimer açısından zengin faz, koaservat olarak adlandırılırken, çözünürlüğü daha düşük olan ve denge durumuna yakın faz ise desolvasyon fazı olarak tanımlanır. Şekil 2.4’de şematik gösterimi verilen bu teknik, endüstriyel üretim süreçlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Eghbal & Choudhary, 2018). Koaservasyon, kendi içerisinde basit ve karmaşık olmak üzere iki temel alt kategoriye ayrılmaktadır.

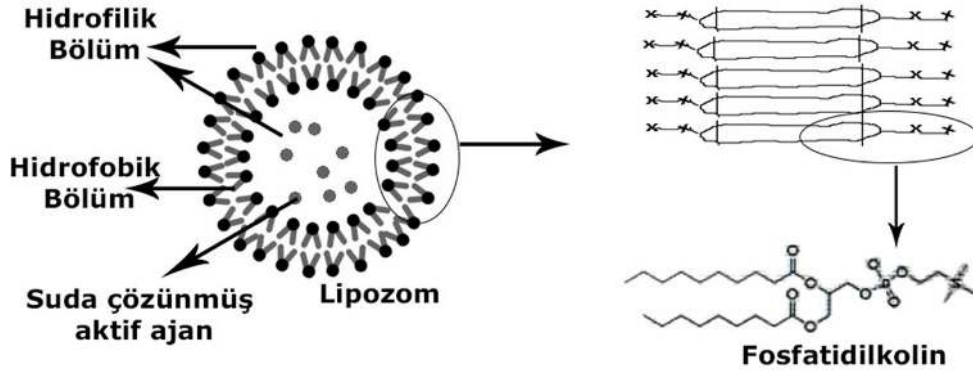
Basit koaservasyon tekniğinde, fazların ayrılması amacıyla desolvasyon maddesi eklenir. Buna karşın, karmaşık koaservasyon tekniğinde, zıt yük taşıyan iki biyopolimer kullanılarak sıvı-sıvı faz ayrımı elektrostatik etkileşimler yoluyla sağlanır. Bu süreç temel olarak şu adımlardan oluşmaktadır: İlk olarak, iki farklı biyopolimer hazırlanır ve ardından bu biyopolimerler, emülsiyon oluşturmak için bir çekirdek polimer ile karıştırılır. Karışım, uygun sıcaklık ve pH koşullarında iki farklı fazın ayrılması sağlanacak şekilde ayarlanır. Koaservat çekirdeği, çevresini sararak çapraz bağlama yoluyla sertleşir. Bu yöntem, genellikle 1 μm ile 100 μm arasında değişen parçacıkların elde edilmesine olanak tanır.



Şekil 2.4. Koaservasyon tekniği şematik gösterimi (Timilsena vd., 2019).

4. Lipozom Tekniği

Fosfolipitler, bir zar ile çevrili fazlardan oluşan yapılardır. Lipozomlar, su veya lipit içinde dağılmış bir çekirdeği çevreleyerek lipit katmanları oluşturur. Bu teknik, hidrofilik ve hidrofobik özelliklere sahip ürünlerin kapsülasyonu amacıyla kullanılmaktadır (Şekil 2.5.). Lipozomlar, çift tabakalı bir membran yapısına sahip olup, çapları genellikle 20 nm ile 20 μ m arasında değişiklik gösterebilir. Bu yapılar, özellikle aşılarda, enzimler ve vitaminler gibi biyolojik aktif bileşenlerin taşıyıcısı olarak kullanılmaktadır. Lipozom tekniği ile kapsülasyonu ürünlerin, özellikle suda çözünebilir bileşenlerin kararlılığını artırdığı ve yüksek su aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, lipozomlar, kapsülasyonu bileşenlerin belirli sıcaklık koşullarında hedeflenmiş iletimi için de kullanılabilir. Diğer enkapsülasyon yöntemlerinden farklı olarak, lipozomlar kuru haldeki gıda bileşenlerine yüksek stabilite kazandırır. Kapsülasyonu ürün, yüksek su aktiviteli bir ortama maruz kaldığında içeriğini kolaylıkla serbest bırakabilir. Bu özellik, kapsülasyonu bileşenlerin istenilen hedef noktalara ve belirli koşullara göre hedefli bir şekilde iletilir (Subramani & Ganapathyswamy, 2020).

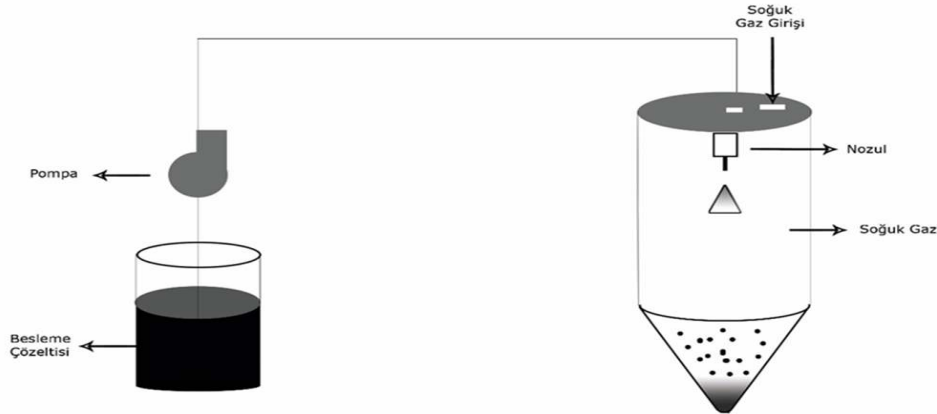


Şekil 2.5. Lipozom tekniği şematik gösterimi (Kırtıl & Öztop, 2014).

5. Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma tekniği, dondurulmuş ürünlerden nemin uzaklaştırılması için kullanılan bir enkapsülasyon yöntemidir. İlk olarak ürün dondurulur, ardından liyofilizatörde basınç altında su süblimasyon yoluyla buhara dönüştürülür. Bu işlem sırasında ürünün yapısı korunarak nem uzaklaştırılır. Son olarak, kalan su buharı da kurutularak ürün tamamen kurutulur (Şekil 2.6.) (Kandasamy & Naveen, 2022).

Son yıllarda, liyofilizasyon özellikle ilaç üretimi, biyoteknolojik ürünler ve gıda endüstrilerinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu teknik, ürünlerin besin değerini, biyolojik aktivitesini ve organoleptik özelliklerini koruyarak uzun süre stabil kalmalarını sağlar. Ayrıca, gıda ürünlerinin uzun raf ömrü ve taşınabilirliğini artırır.



Şekil 2.6. Dondurarak kurutma tekniği şematik gösterim (Özcan vd., 2013).

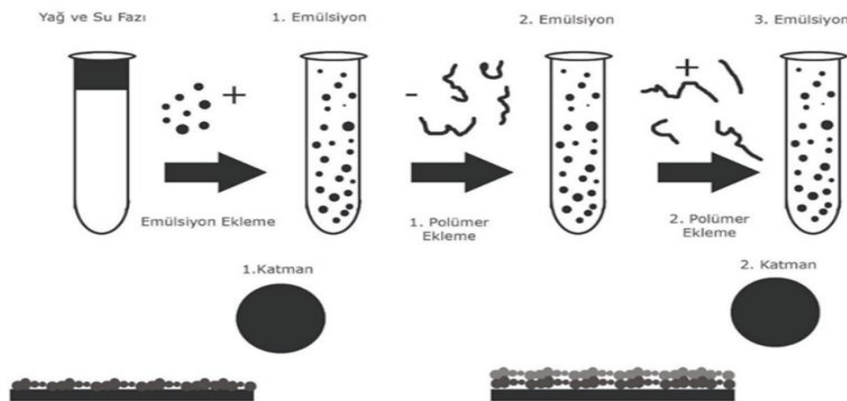
6. Ko-kristalizasyon

Bu yöntem, sükröz matrisi ve çekirdek malzemenin birleşiminden oluşan bir kaplama tekniğidir. Sükröz şurubu, kristalleşmeyi engellemek amacıyla sıcaklık kontrolü altında, belirli bir doyma konsantrasyonuna ulaşana kadar işlenir. Ardından, önceden belirlenmiş miktarda çekirdek malzeme, yoğun şekilde karıştırılan konsantre şurupla karıştırılır. Karıştırma sırasında, sakkaroz ve çekirdek malzeme arasında etkileşim sağlanarak kapsülasyon işlemi gerçekleşir. Bu süreç, sükröz ve çekirdek malzemenin homojen bir şekilde birleşmesiyle tamamlanır. Sonuç olarak malzemenin artan yüzey alanı ile birlikte mikro boyutlu kristallere dönüştürülür (Chezanoglou & Goula, 2021).

8. Emülsifikasyon

Şekil 2.7.'de şematik gösterimi verilen bu teknik ile emülsiyonu kinetik dengeye ulaştırılmış, karışmayan iki fazın küçük damlacıklar halinde bir arada bulunduğu bir sistemdir. Emülsiyon üretimi için yüksek hızlı karıştırıcılar ve homojenizatörler kullanılır. Suda çözünmeyen bileşenler, su/yağ emülsiyonları veya çift emülsiyonlar (örneğin, su/yağ/su) içinde kapsüllenebilir. Kapsüller genellikle 100 nm ile 100 µm arasında boyutlara sahiptir (Iqbal, Zafar, Fessi, & Elaissari, 2015).

Nanoemülsiyonlar, biyoyararlanım oranı yüksek ve geleneksel emülsiyonlara göre daha stabildir. Daha net bir görünüm, yüksek etken madde salımı, geniş yüzey alanı ve yüksek kimyasal reaksiyon hızı gibi avantajlar sunar.



Şekil 2.7. Emülsifikasyon tekniği şematik gösterimi (İnan vd., 2019)

9. Elektrospin Tekniği

Elektrospin tekniği ile enkapsüle edilecek biyolojik materyal veya aktif bileşenler polimer çözeltilisine eklenerek homojen bir şekilde karıştırılır. Elektrospin işlemi sırasında aktif bileşen polimer matrisin içine hapsedilerek aktif bileşenin stabilizasyonu sağlanmaktadır. Hassas içerikli olan aktif bileşenin yüksek sıcaklık ve kimyasallara maruz kalmadan korunması sağlanmaktadır (Wen, Zong, Linhardt, Feng, & Wu, 2017).

Elektrospin yöntemiyle üretilen nanofiberler, biyolojik ve aktif bileşenlerin kontrollü salınımını sağlamaktadır. Nanofiberlerin yüksek yüzey alanı ve porlu yapısı, aktif maddelerin serbest bırakılmasını düzenleyerek, zamanla salınımını kontrol etmektedir (Munteanu & Vasile, 2021). Ek olarak elektrospin yöntemi ile üretilen nanofiberler biyolojik uyumluluğıa sahip olup, farmasötik, gıda ve biyoteknoloji alanlarında geniş bir uygulama alanı sunmaktadır. Geleneksel enkapsülasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında yapının bozulmaması, daha uzun depolama süreleri, yüksek stabilite gibi avantajlı özelliklerinden dolayı yüksek kapsülleme verimliliğinin elde edildiği incelenmiştir.

Sonuç olarak, elektrospin yöntemi ile biyolojik ve farmasötik bileşenlerin zarar görmeden kapsüllenmesi ve kontrollü salınımının sağlanması açısından son derece etkili ve çevre dostu bir yöntemdir. Bu yöntem, özellikle aktif bileşenlerin stabilizasyonu, biyoyararlanımının artırılması ve hassas biyolojik maddelerin korunması için büyük bir önem taşımaktadır.

Elektrospin yöntemi ile canlı mikroorganizmaların kapsüllenmesinde literatür çalışmaları incelendiğinde sıklıkla enkapsüle edilen mikroorganizmaların probiyotikler olduğu belirlenmiştir. Probiyotiklerin yararlı etkilerini gösterebilmeleri için gastrointestinal sisteme 10^9 kob/mL canlı sayıda ulaşmaları gerekmektedir. Bu sebeple, probiyotiklerin mideden bağırsağa canlı ve yüksek sayıda ulaşmaları için enkapsüle edilmeleri gerekmektedir. Škrlec vd., (2019) yapmış olduğu çalışmada mikrobiyota sağlığı için probiyotiklerin gastrointestinal sisteme iletilmesi amacıyla PEO polimeri içersine *Lactobacillus plantarum* probiyotiği elektrospin tekniği ile enkapsüle edilmiştir. Elektrospin öncesi ve sonrasında canlılıkları kontrol edildiğinde uygulanan voltajın canlılık üzerinde önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir. Ma vd., (2021) yapmış olduğu çalışmada elektrospin yöntemi ile *Lactobacillus* sp. suşu

gam arabik pullulan polimerleri kullanılarak enkapsüle edilmiştir. *Lactobacillus* sp. suşu dondurarak kurutma tekniği ile enkapsüle edildiğinde 28 günlük depolama sonuçlarına göre %89,84 probiyotik canlılığı elde edilirken elektrospin yöntemi ile enkapsüle edilen probiyotik canlılığı %97,83 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında elektrospin yöntemi ile kapsüllendiğinde probiyotiklerin canlılık oranının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Başka bir literatür çalışması incelendiğinde PVA ve SA polimerleri kullanılarak çekirdek-kabuk yapılı nanofiber içeresine *Lactobacillus plantarum* probiyotiği enkapsüle edilmiştir. Çekirdek içeresine *Chlorella pyrenoidosa* proteinleri eklenerek depolama süresi ve antioksidan etki artırılmıştır (Wang vd., 2024). Zhang vd., (2024) yapmış olduğu çalışmada ise kitosan ve pullulan kullanılarak elektrospin yöntemi ile *Lactobacillus plantarum* enkapsüle edilmiştir. Elektrospin sonrasında üretilen nanofiber matlar simüle edilen gastrointestinal sistemlerde hayatta kalma oranı incelenmiş ve hayatta kalma oranının önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. İncelenen literatür çalışmalarında nanofiberlerin probiyotiklerin korunmasında ümit verici bir kapsülleme tekniği olduğu kanıtlanmıştır.

2.2. Nanofiber

Nanofiberler yüksek yüzey–hacim oranı, ince lifli yapısı, yüksek geçirgenlik ve ultra hafif olma özelliklerine sahiptir. Fiberler 100 nanometre ve daha küçük çaptaki fiberlerdir. Fakat bazı kaynaklarda mikrometre çapında fiberlerde nanofiber olarak tanımlanmıştır (Venmathi Maran, Jeyachandran, & Kimura, 2024).

Nanofiberler, uzun, fiber şeklinde yapılar olup, genellikle polimerler, karbon, yarı iletkenler ve kompozit malzemeler gibi farklı materyallerden üretilmektedir. Bu malzemeler, nano boyutlarında iyi tasarlanmış moleküllere sahip olduklarından, çevresel değişimlere hızlı ve net tepki verme yeteneğine sahiptirler. Özellikle nanometre ölçeğindeki fiberler, bu tür akıllı malzemelere çok yüksek tepki hızları sağlar, bu da onları diğer malzeme türlerinden ayıran önemli bir özelliktir. Bu özellik, nanofiberlerin çok çeşitli alanlarda sensörler, biyomedikal uygulamalar, filtre sistemleri, elektronik cihazlara kadar- son derece etkin bir şekilde kullanılmasını mümkün kılmaktadır (Chamanepour, Thouti, Rubahn, Dolatshahi-Pirouz, & Mishra, 2023).

2.3. Nanofiber Üretim Yöntemleri

- Fibrilasyon yöntemi ile fiber üretimi
- Eriyik üfleme (Meltblown) yöntemi ile fiber üretimi
- Bikomponent yöntemi ile fiber üretimi
- Faz ayırma yöntemi ile fiber üretimi
- Spunbond yöntemi ile fiber üretimi
- Kendiliğinden montaj yöntemi ile fiber üretimi
- Elektrospın yöntemi ile fiber üretimi

Bu üretim teknikleri içinde elektrospın yöntemiyle nanofiber üretimi, küçük fiber çapları, düşük maliyet, yüksek yüzey alanı ve gözenekli yapısı gibi birçok avantaj sunar (Jiang, Yao, Chen, Zhang, & Hong, 2024). Bu özellikler, nanofiberlerin filtreleme, biyomedikal uygulamalar, enerji depolama ve sensör teknolojileri gibi çeşitli alanlarda etkin bir şekilde kullanılmasına olanak tanır.

2.4. Elektrospın Yöntemi ile Fiber Üretimi

Elektrospın teknolojisi 1930'lu yıllarda Alman mucit Anton Formhals tarafından yapılan yapay ipek benzeri lifleri işlemesi ile başlamıştır. Alman mucit Anton Formhals bir katıdan elektriksel alanda çözülmüş iplik üretebilmek için bir arayışa girmiştir. 1960'larda elektrospın tekniği ile üretilen nanomalzemelerin olağanüstü özellikleri beraberinde hızla gelişmiştir (Fadil vd., 2021).

Elektrospın yöntemi ile nanofiber üretiminde sentetik ve doğal polimerler kullanılmaktadır. Elektrospın yöntemi ile sadece polimerik malzeme kullanılarak değil seramik ve karbonlu malzemeler kullanılarak da nanofiber üretilmektedir. Üretilen nanokompozit malzemeyi çekirdek-kabuk, içi boş, gözenekli nanofiberler ile elde etmek elektrospın yöntemi ile mümkündür (Senthil Muthu Kumar vd., 2019).

Elektrospın düzeneği 3 ana bileşenden oluşmaktadır. Bu düzenek ise yüksek voltaj güç kaynağı, şırınga pompası ve topraklı toplayıcısıdır. Şekil 2.4.1. de laboratuvarımızda kullanılan elektrospın cihazı verilmiştir. Polimer çözeltisi elektriksel alana maruz bırakılır. İğne ucundan çıkan elektrik alanı ile cihazın diğer ucunda bulunan zıt yük toplayıcısı polimer çözeltisini kendi yönüne çeker. Elektrik alan şiddeti çözeltinin yüzey gerilimini aştığında, iğne ucunda bir 'Taylor konisi' oluşur (Rui, Jia, Wen, Luo,

& Xu, 2024). Bu koni, toplayıcı tarafından toplanan ve sonunda nanofiberler oluşturan ince bir akım yayar. Elektrospin yöntemiyle üretilen nanofiberlerin özellikleri, çözeltinin viskozite, moleküler ağırlık, iletkenlik, çözücünün uçuculuğu ve katkı maddeleri gibi özelliklerinin yanı sıra, uygulanan voltaj, akış hızı, iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe, ortam koşulları ve iğne ucu ile toplayıcının tasarımı gibi parametrelerle de hassas bir şekilde kontrol edilebilir. Bu faktörlerin uygun şekilde düzenlenmesi, nanofiberlerin morfolojisini, çapını ve diğer önemli fiziksel özelliklerini optimize etmeye imkân tanır.



2.4.1. Nanofiber üretimi için kullanılan elektrospin cihazı

2.5. Elektrospin Üretim Parametreleri

İşlem parametreleri, ortam parametreleri nanofiber üretiminde morfolojiyi ve nanofiber çapını etkilemektedir (Islam, Ang, Andriyana, & Afifi, 2019).

2.5.1. İşlem Parametreleri

Uygulama Voltajı

Genellikle jet oluşumu için 6 kV'dan fazla voltaj uygulanması gerekmektedir. Yüklü çözeltideki elektrostatik etkileşimin daha fazla olması nedeniyle jet üzerinde daha fazla gerilme ve itici güç uygulaması beraberinde küçük çaplı fiberlerin oluşması sağlanmaktadır. Yüksek voltaj uygulandığında polimer moleküllerinde elektrostatik alanın zayıflaması ile nanofiberler daha düzenli ve fiberin kristalliğini düzenler (Islam vd., 2019).

İğne Ucu ve Toplayıcı Kollektör Arası Mesafe

İğne ucu ve kollektör arasındaki mesafe fiber morfolojisini etkilemektedir. İğne ucu ve kollektör arasında bulunan mesafe kısa ise yol alması gereken mesafenin az olması ve fiber oluşumu için kısa bir süreye sahip olmaları fiberde boncuk oluşumuna neden olmaktadır. Lif çapı bu mesafenin artması ile azalmaktadır.

Akış Hızı

Akış hızının nanofiber morfolojisinde etkisi incelendiğinde hazırlanan polimer çözeltisine göre değişiklik göstermektedir. Yüksek iletkenliğe sahip polimerlerde akış hızının yüksek olması gerekmektedir. Fakat polimer çözeltisi iletkenliği düşük ise atılan damlacığı yüklemek için yeterli zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden düşük iletkenliğe sahip polimerlerde akış hızı yavaş olmalıdır (Kalluri, Duan, & Janorkar, 2024).

İğne Çapı

İğne çapındaki artış iğne ucundaki polimer miktarı fazla olması nedeniyle ortalama fiber çapını artırmaktadır. İğne ucundan çıkan polimer miktarının fazla olmasından kaynaklı damlacığın yüzey gerilimini azaltarak jetin elektriksel alandaki hızını artırır bu yüzden fiber lif çapı artar.

2.5.2. Çözelti Parametreleri

Polimer Konsantrasyonu

Elektrospın işlemi sırasında, liflerin oluşumu, yüklü jetlerin eksenel yönde gerilmesiyle gerçekleşir. Düşük viskoziteye ve yüksek yüzey gerilimine sahip bir çözeltide, düşük konsantrasyonlarda yüklü jetler moleküller arası çekim gücünü kaybederek, Taylor konisinden damlacıklara ayrılır. Konsantrasyon arttıkça, boncuklu ve lifli yapılar karışımı meydana gelir. Diğer taraftan, çok yüksek olmayan ve uygun çözeltinin konsantrasyonunda, pürüzsüz lifler elde edilebilir. Ancak, bu konsantrasyonun ötesine geçildiğinde, helezonik mikro şeritlerin oluşumu gözlemlenebilir (Islam vd., 2019).

İletkenlik

İletkenliğin artması ile jetin daha yüksek bükülme kararsızlığına yol açmaktadır. Böylece lif biriktirme alanının artmasına neden olur. Artan jet yolu nedeniyle, ortaya çıkan lif çapı azalır (Hsu & Shivkumar, 2004).

Yüzey gerilimi

Çözeltinin yüzey geriliminin azalması, boncuksuz fiberlerin elde edilmesini sağlayabilirken, yüzey geriliminin artırılması ise jetlerin kararsız hale gelmesine yol açmaktadır. Düşük yüzey geriliminde, polimer ve çözücü molekülleri arasındaki etkileşimler artar. Bu durum, çözücü moleküllerinin, dolanmış polimer molekülleri üzerine yayılmasına neden olur ve böylece boncuksuz fiberlerin oluşumuna zemin hazırlar. Yüksek yüzey geriliminde, çözücü molekülleri genellikle küresel bir şekilde bir araya gelmeye eğilimlidir, bu da boncukların oluşmasına sebep olur. Ancak, bir çözeltinin düşük yüzey gerilimi her zaman elektrospin için uygun değildir. Genel olarak, tüm diğer koşullar sabit olduğunda, çözeltinin yüzey gerilimi elektrospinning işleminin başarılı bir şekilde gerçekleşebilmesi için üst ve alt sınırları belirler (Zeng, Haoqing, Schaper, Wendorff, & Greiner, 2003).

2.5.3. Ortam Parametreleri

Sıcaklık

Düşük sıcaklık koşullarında, polimer çözeltisindeki çözücünün buharlaşma hızı azalır, bu da yüklü jetin katılaşma sürecini uzatır. Aynı zamanda, ortam sıcaklığındaki düşüş viskozitenin azalmasına yol açar. Viskozite azaldıkça, elektrospin sürecinde üretilen nanofiberlerin çapı da küçülür. Bu durum, daha ince ve homojen yapıda liflerin oluşumuna neden olur (De Vrieze vd., 2009).

Nem

Elektrospin sırasında artan nemin, fiber yüzeyinde küçük dairesel porların oluşumuna neden olduğu söylenmiştir. Bu porlar, elektrospin jetlerinin iğne ucundan toplayıcıya doğru hareketi sırasında çözücünün buharlaşarak soğuması sonucunda meydana geldiği bildirilmiştir. Nemin daha da artması, liflerin yapısının bozulmasına ve düzgün olmayan, heterojen morfolojik özelliklere sahip liflerin oluşmasına yol açabilir (Li & Xia, 2004)

2.6. Nanofiberlerin Kullanım Alanları

Nanofiberler yüksek yüzey alanı hacim oranı ve fonksiyonel katkı maddeleri, biyoaktif bileşenlere entegre edilebilme potansiyeli, çok boyutlu yapısı, küçük gözeneklere sahip olması, esneklik vb., özelliklerinden dolayı avantajlar sunar.

Nanofiberlerin uygulama alanları, çok çeşitli endüstrilerde devrim niteliğinde çözümler sunmaktadır. Gıda sektöründe, bu malzemeler akıllı paketleme çözümleri olarak kullanılmakta, ürünlerin raf ömrünü uzatmaya ve taze kalmalarını sağlamaya yardımcı olmaktadır. Tıp alanında, nanofiberler kontrollü ilaç salınımı ve biyomedikal uygulamalar için önemli bir potansiyele sahiptir, bu da hastalık tedavisi ve biyolojik süreçlerin yönetimi açısından büyük bir yenilik sunmaktadır (Cui, Zhou, & Chang, 2010). Ayrıca, sağlık alanında maskelerin üretiminde, nanofiberler yüksek filtreleme verimliliği sağlamak ve böylece koruyucu ekipmanlarda etkinliklerini artırmaktadır. Filtrasyon teknolojilerinde, özellikle çevre kirliliği ile mücadelede, hava ve su arıtma işlemlerinde nanofiberler son derece etkili çözümler sunmaktadır. Bu geniş uygulama yelpazesi, nanofiberlerin çok yönlülüğünü ve potansiyelini ortaya koymakta, onları çeşitli sanayi ve bilimsel alanlarda vazgeçilmez bir teknoloji haline getirmektedir.

Nanofiber malzemeler, düşük konsantrasyon seviyelerindeki (ppm ve ppb düzeylerindeki) değişiklikleri algılama ve çevresel uyaranlara anında tepki verme yetenekleri sayesinde tıbbi, tarım, gıda, enerji, su ve atık su arıtma gibi birçok alanda devrim niteliğinde çözümler sunmaktadır. Yüksek yüzey alanı ve duyarlılıkları, bu malzemelerin çevresel değişimlere hızlı ve hassas bir şekilde tepki vermesini sağlar, bu da onları sensör teknolojileri ve çevresel izleme uygulamaları için son derece uygun hale getirir (Badgar, Abdalla, El-Ramady, & Prokisch, 2022). Özellikle atık su arıtımında, nanofiber membranlar ağır metaller ve organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Gözenekli, geçirgen olmayan ve ince katmanlı yapıları sayesinde yüksek hızlı ve seçici adsorpsiyon kapasiteleri ile bu membranlar, atık suyun verimli bir şekilde temizlenmesine olanak tanır. Organik ve inorganik kirleticilerin etkin bir şekilde giderilmesi, çevre dostu su arıtma teknolojilerinin gelişmesine katkı sağlar ve böylece su arıtma süreçlerini daha sürdürülebilir ve verimli hale getirir (Chamanepour, Thouti, Rubahn, Dolatshahi-Pirouz, & Mishra, 2024).

2.7. Atık Su

Atık su, evsel, endüstriyel veya tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan ve doğal su kaynaklarına karışan, kullanım sonrası kirlenmiş suyudur. Su kaynaklarının giderek tükenmesi, ekosistemlerin sürdürülebilirliğini tehdit etmekte ve suyun verimli kullanımı için acil önlemler alınmasını zorunlu kılmaktadır. Atık su içerisinde bulunan ağır metaller ilaç kalıntıları ve boyar maddeler insan sağlığı açısından tehlikelidir. Bu bağlamda, atık su arıtımı büyük bir önem taşımaktadır (Norouzi & Abdouss, 2024).

Çevreyi korumaya yönelik çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesine olan talep, son yıllarda önemli bir artış göstermiş ve son yirmi yılda hem yerel hem de küresel ölçekte zorlu bir araştırma ve geliştirme konusu haline gelmiştir. Bu artan talep, doğal kaynakların korunması ve ekosistemlerin sürdürülebilirliğini sağlamak adına yeni teknolojilerin geliştirilmesi gerekliliğini doğurmuştur. Bu bağlamda, atık su arıtımının verimliliğini artırmak için nanokompozit malzemelerin geliştirilmesi büyük bir öneme sahiptir. Nanokompozitler, atık suyun daha etkili bir şekilde arıtılmasını sağlarken, aynı zamanda çevreye daha az zarar veren ve sürdürülebilir çözümler sunmaktadır. Bu teknolojiler, su kaynaklarının korunması ve çevre kirliliğinin azaltılması açısından önemli bir adım olarak öne çıkmaktadır (Al-Hazmi vd., 2024).

2.8. Boyar Maddelerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Su kirliliğinin birçok kaynağı arasında, tekstil endüstrisi önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle, bu sektörün üretim süreçlerinde kullanılan boyalar ve kimyasal maddeler içeren atık suların sıklıkla doğal su kütlelerine deşarj edilmesi, çevre için büyük bir tehdit oluşturur. Dünyada 10.000'den fazla çeşitli boyalar bulunmaktadır. Boya imalatı, tekstil, ilaç, kozmetik gibi birçok alanda kullanılan bu boyalar ekosistem üzerinde insan sağlığı için ciddi tehlike oluşturmaktadır. Tekstil endüstrisinde sentetik boyalar ve pigmentli boyalar kullanılmaktadır. Kullanılan bu boyalar bozulmaya karşı dirençlidir. Su sistemlerine karıştığında ise suda çözünür ve kanserojen etki gösterebilir (Periyasamy, 2024).

Tekstil endüstrisinde sentetik boyalar reaktif, azo, dispers, asit boyaları olarak kendi içinde ayrılmaktadır. Boyalar içerisinde tekstil ürünlerinde %70 oranında azo boyalar kullanılmaktadır. Azo boyalar ışık, ısı ve oksidasyon gibi çevresel faktörlere dirençli ve parçalanması zor olan boya çeşididir. Su ekosistemi üzerinde bulunan diğer kirleticiler ile birlikte su faunası üzerinde sorunlara neden olmaktadır. Su kirliliği

beraberinde ise insan besin zincirine kadar ulaşmaktadır. İnsan sağlığı üzerinde etkisi incelendiğinde içerdikleri bileşikler kanser riski, üreme sorunları ve beyin işlev bozuklukları gibi sağlık problemlerine yol açabilir. Bu boyaların vücuda girmesi, özellikle uzun süreli maruz kalma durumlarında gıda alımında azalmaya, büyüme ve doğurganlıkta azalmaya ve böbrek, dalak, kalp ve karaciğerde hasara neden olmaktadır (Sahu & Poler, 2024).

2.9. Literatür Özeti

Hami vd., (2024) yapmış olduğu çalışmada PVA polimerinden elektrospin yöntemi ile nanofiber üretilerek boya giderme performansı incelenmiştir. Üretilen nanofiber membranın İndigo Karmin boya giderim verimini artırmak için PVA polimeri içerisine %0,75 zeolit eklenerek nanokompozit bir malzeme üretilmiştir. Üretilen nanokompozit malzemenin boya giderim verimi %8,89'dır. Bu çalışmada, özellikle tekstil endüstrilerinde atık su arıtımında filtrasyon ve adsorpsiyon özelliklerini iyileştirmek için kumaş alt tabakalarındaki zeolitin verimliliği gösterilmiştir.

Elaissaoui vd., (2024) yapmış olduğu çalışmada ise selüloz asetat (SA) polimeri kullanılarak organik boyaları atık sudan uzaklaştırma yeteneğine sahip nanofiber membran üretilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, optimize edilmiş SA membranlar için yaklaşık %83 İndigo Karmin boya giderim oranı verilmiştir. Huong vd., (2020) yaptıkları bir çalışmada Poliakrilonitril (PAN) polimeri içerisine sığır serum albümini (BSA) eklenerek elektrospin yöntemi ile nanofiber membran elde edilmiştir. Üretilen nanokompozit malzeme ile atık su içerisinde bulunan iyonik boyaların giderimi incelenmiştir. Üretilen nanokompozit malzemenin kullanılan iyonik boyanın %97 oranında giderdiği bildirilmiştir. Bu literatür örnekleri ile boyaların gideriminde nanofiber membranların umut vadeden bir absorban olduğu gösterilmiştir.

Literatürde son yıllarda yapılan çalışmalarda atıksu arıtımı yapan mikroorganizmalar ile nanofiber membranların entegrasyonu görülmektedir. Bu membranlar, nanofiberlerin taşıyıcı matris olarak kullanılmasıyla, biyoremediasyon yapan bakterilerin atık suyun toksik etkilerinden korunmasını mümkün kılar ve bu da atık su arıtımında daha verimli sonuçlar elde edilmesine yardımcı olur.

Bakteri, alg ve bazı mikroorganizmalar, kirleticilerin biyolojik olarak arıtılmasında kullanılır. Nanofiber membranlar hem organik hem de inorganik kirleticilerin arıtılmasında önemli bir potansiyele sahip olup, biyolojik arıtma süreçlerinin

verimliliğini önemli ölçüde artırmaktadır. Bu yönde yapılan literatür çalışmaları incelendiğinde San Keskin vd., (2015) reaktif boyar madde giderimi için elektrospon yöntemi ile PSU nanofiber membran üretmişlerdir. Üretilen nanofiber membran üzerine *Chlamydomonas reinhardtii* mikroalgi immobilize edilmiş ve reaktif boyar madde giderim verimleri incelendiğinde %72,97 giderim verimi elde edilmiştir. Zamel, vd., (2019) yapmış olduğu çalışmada PEO ve SA polimerleri kullanılarak elektrospon yöntemi ile nanofiber üretilmiştir. Endüstriyel atıksudan izole edilen *Bacillus paramycoides* mikroorganizması üretilen nanofiber membran üzerine immobilize edilerek metilen mavisi boyasının giderim verimleri incelenmiştir. Farklı metilen mavisi boya konsantrasyonlarında 48 saate %93 giderim verimi elde edilmiştir. Üretilen nanofiber membranın tekrar kullanılabilirliği incelendiğinde ise 4 tekrarın sonunda metilen mavisi için giderim veriminin %44 olduğu bildirilmiştir. Ozacar vd., (2023) yapmış olduğu çalışmada elektrospon yöntemi ile polisülfon (PSU) polimeri kullanılarak nanofiber membran üretilmiş ve biyoremediasyon özelliğine sahip *Clavibacter michiganensis* mikroorganizması üretilen nanofiber üzerine tutundurulmuştur. Atıksularda bulunan ağır metal ve boyar madde gideriminde %100 giderim verimi elde edilmiştir. Erkoç vd., (2024) tekstil atık sularında bulunan reaktif ve azo boyaların giderimi için SA polimeri kullanılarak elektrospon yöntemi ile nanofiber üretilmiştir. Nanofiber membran üzerine karışık kültür içeren mikroorganizmalar immobilize edilerek giderim verimleri incelenmiştir. İncelenen boyalar içerisinde maksimum giderim verimi %70,3 olduğu bildirilmiştir.

Tamamlanan tez çalışmasında yukarıda anlatılan mikroorganizmaların Nf'lere immobilizasyon-tutundurma çalışmasından farklı olarak nanofiber içine canlı bakteri enkapsüle edilerek Nf matlar atıksu arıtımında kullanılmıştır. Nf'e enkapsüle edilen yüksek bakteri biyokütlesi ve matların daha uzun degradasyon süresi ile, nanofiber matların su arıtımında sadece bakterilerin kullanımına göre avantajları mevcuttur. Nf matların atık su içerisinde degradasyon süresinin daha uzun olması canlının atıksu ortamına direkt maruz kalmasını engellemektedir. Bu tez çalışması ile Nf matların çevresel arıtma sistemlerinde su kaynaklarını korumasını ve daha etkin katkı sağlamasını mümkün kılabilir.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Elektrospın yöntemiyle nanofiber üretiminde Polietilen oksit (PEO, Sigma, Ma: ~900.000) polimer olarak, distile su ise polimerin çözücüsü olarak kullanılmıştır. Nanofiber içine enkapsüle edilmesi amacıyla seçilen bakteri Nanosan Laboratuvarı, kültür koleksiyonundan *Lysinibacillus* sp. NOSK (GenBank Erişim numarası; KM241862) bakterisi seçilmiştir. Bakterinin inkübasyonu için kullanılan besiyerleri Nutrient Broth (NB) ve Nutrient Agar (NA) (Sigma)'dır. Tekstil endüstrisinde sıklıkla kullanılan Reaktif Blue 21 (RB21) reaktif boyası Setaş Kimya'dan (Setazol, Türkiye) temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Bakteri ve İnkübasyon Koşulları

Tez çalışmasında nanofiber içine enkapsüle edilmesi için seçilen *Lysinibacillus* sp. NOSK (GenBank: M241862) topraktan izole edilmiştir. Çalışma öncesinde stoktan alınan bakteri, gram boyama seti ile (Gram Boyama Seti, Merck) boyanarak ışık mikroskopunda saflık kontrolü yapılmıştır. Bakterinin inkübasyonu NB içerisine inoküle edilerek 24 saat boyunca 30 °C ve 100 rpm çalkalamalı inkübatörde tamamlanmıştır.

3.2.2. Bakterinin Gelişim Eğrisinin Belirlenmesi

Logaritmik faz döneminde olan bakterinin enkapsüle edilmesi amacıyla bakterinin zamana karşı gelişim eğrisi belirlenmiştir. Bu amaçla, bakteri 3 paralel olacak şekilde 250 mL'lik erlenlerde 100 mL NB besiyerine inoküle edilmiş, 30 °C ve 100 rpm çalkalamalı inkübatörde inokülasyona bırakılmıştır. Belirli zaman aralıklarında alınan örnekler, UV-Vis spektrofotometrede (Shimadzu, UV mini-1240) 600 nm de optik yoğunluk (OD₆₀₀) değerine karşılık gelen absorbans değerleri takip edilmiştir.

3.2.3. Enkapsüle Edilecek Bakteri Kütlesinin Hazırlanması

Lysinibacillus sp. NOSK NB içerisinde 30°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, alınan örnekler 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş (Nüve NF 800) ardından fosfat tampon salin solüsyon çözeltisi (PBS) ile üç kez yıkanmış ve enkapsülasyon deneylerinde kullanılmıştır. Enkapsülasyon

çalışmalarında en yüksek miktarda bakterinin enkapsülasyonu amacıyla 1 mL-25 mL aralıklarında farklı miktarlarda sıvı kültürden toplanan biyokütle kullanılmıştır.

3.2.4. Elektrospin Yöntemi ile Polietilen Oksit (PEO) Nanofiber Üretilmesi

Nanofiber üretmek amacıyla, %4 (w/v) PEO polimeri tartılıp, su içinde çözülmesi için oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda homojen bir karışım oluncaya kadar karıştırılmıştır.

PEO polimer çözeltisi, 1 mL'lik 23 G metal iğne (iç çap, 1 mm)'li şırıngalara yüklenmiştir. Elektrospin parametreleri; 15 kV uygulama voltajı, 15 cm iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe, 1 mL/saat pompa akış hızıdır. Uygulanan bağıl nem %20 sıcaklık ise 23 ± 2 °C'dir.

3.2.5. PEO Nanofiberlerin Çapraz Bağlanması

Suda çözünürlüğü geciktirmek amacıyla, elektrospin nanofiberler pH'ı 7 olan %2 CaCl₂ çözeltisi içerisine 60 saniye boyunca yerleştirilmiş sonrasında 60 saniye boyunca steril distile su ile yıkanmıştır.

3.2.6. Elektrospin ile Üretilmiş Nanofiber ve Bakteri Enkapsüle Edilmiş Nanofiber Matların Karakterizasyonu

3.2.6.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Nanofiber morfolojisinin belirlenmesi amacıyla SEM analizi (Tescan, GAIA3+Oxford) yapılmıştır. Bu amaçla örnekler stablar üzerine yerleştirilmiş ve 5 nm kalınlığında Pd-Au ile kaplanmıştır. Nanofiber çaplarının belirlenmesi için, alınan SEM mikrografları üzerinden ImageJ ver. 1.8.0 programı ile hesap yapılmış ve Origin Lab. programı (2018) ile dağılım grafikleri çizilmiştir.

3.2.6.2. Zayıflatılmış toplam yansıma – fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR- FTIR) analizi

Bakteri enkapsüle edilen ve bakteri içermeyen nanofiberlerin moleküler bağ karakterizasyonunu belirlemek amacıyla ATR- FTIR analizi (Shimadzu, IRAffinity-1S) yapılmıştır. Örnekler DLATGS dedektörlü, elmas plaka kullanılarak 4000-400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında geçirgenlik modunda 64 tarama kaydetmiştir.

3.2.6.3. Floresan mikroskop

Nanofiber içerisine enkapsüle edilen bakteri hücrelerini değerlendirmek için *Lysinibacillus sp.* NOSK hücreleri floresan boya (DAPI) ile boyanmıştır. Polimer içerisine floresan boya (DAPI) ile boyanan *Lysinibacillus sp.* NOSK eklenmiştir. Ardından elektrospın yöntemi ile cam yüzey üzerinde nanofiber elde edilmiştir. Cam yüzey üzerine üretilen nanofiber floresan mikroskobu (LEICA DM3000) ile incelenmiştir.

3.2.7. Biyoremediasyon İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi ve Reaktif Blue 21 Analizi

3.2.7.1. Reaktif blue 21 analizi

Reaktif blue (RB21) boyar madde analizi için NB besiyeri içerisinde RB21 belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. 50, 100, 150, 200, 250 ve 300 ppm RB21 boyar madde konsantrasyonlarında hazırlanan besiyeri içerisinde örnek alınarak UV-Vis spektrofotometre de (Shimadzu, UV mini-1240) 629 nm değerine karşılık gelen absorbans değerleri alınarak RB21 eğim grafiği çizilmiştir.

Biyoremediasyon için kullanılan hesaplamalar

$$\text{Giderim verimi (\%)} = (C_i - C_0) / C_i \times 100$$

C_0 : Başlangıç RB21 konsantrasyonu (ppm)

C_i : Son RB21 konsantrasyonu (ppm)

3.2.7.2. Optimum pH ve reaksiyon sürelerinin belirlenmesi

Boyar madde giderim deneylerinde optimum pH ve süresinin belirlenmesi için farklı pH'larda NB besiyeri hazırlanmıştır. Besiyerinin pH'ını 6-10 arasında ayarlamak için 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılmıştır. Hazırlanan 6-10 arası pH değerine sahip NB besiyerlerine 20 ppm RB21 boyası eklenmiştir. *Lysinibacillus sp.* NOSK inoküle edilerek 30°C, 100 rpm çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi 48 saat devam etmiştir ve belirli zaman aralıklarında örnek alınarak UV-Vis spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır.

3.2.7.3. Optimum sıcaklığın belirlenmesi

Optimum pH ve reaksiyon süresi belirlendikten sonra seçilen pH ve reaksiyon süresi ile optimum sıcaklığı belirlenmiştir. Optimum pH ile hazırlanan besiyeri içerisine 20

ppm RB21 boyası eklenerek *Lysinibacillus sp.* NOSK inoküle edilmiştir. 23°C, 30°C ve 35°C sıcaklık değerleri 100 rpm çalkalama hızı ayarlanarak inkübasyona bırakılmıştır. Belirlenen inkübasyon süresi sonunda örnek alınarak UV- Vis spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır.

3.2.7.4. Optimum çalkalama hızı (rpm) belirlenmesi

Optimum pH, reaksiyon süresi ve sıcaklık belirlenmiştir. Son parametre olan çalkalama hızını optimize etmek için optimum pH'ı belirlenen NB besiyeri içerisine 20 ppm RB21 boyası eklenmiştir. 100 rpm ve 150 rpm çalkalama hızı ile optimum sıcaklık değerinde inkübasyona bırakılmıştır. Belirlenen inkübasyon süresi sonunda örnek alınarak UV- Vis spektrofotometre ile 629 nm ölçüm yapılmıştır.

3.2.8. Bakteri Enkapsülasyonu ile PEO Nanofiberlerin Elektrospin Yöntemi ile Üretimi

Bakteri içeren % 4 PEO polimerin hazırlanması amacıyla, ön hazırlık ile toplanan *Lysinibacillus sp.* NOSK bakteri kütlesi, polimer çözeltisine 1:1 (v/v) oranında ilave edilmiş, homojen karışım elde edilmesi için bir süre manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Elektrospin yöntemi ile üretilen nanofiberlerin spin parametreleri ise uygulama voltajı 15 kVA, besleme hızı 1 mL/h, kollektör iğne ucu arası mesafe 18 cm, bağıl nem %20 ve sıcaklık 23°C± 2 olarak ayarlanmıştır.

3.2.8.1. Maksimum biyokütle enkapsülasyonu

Biyokütle logaritmik fazında toplanmıştır. Logaritmik faz evresinde olan bakteri 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek biyokütle toplanır ve steril distile su ile yıkama yapılmıştır. Maksimum biyokütle enkapsülasyonu için inkübasyona bırakılan bakteri örneğinden 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL, 7,5 mL, 10 mL, 25 mL alınarak 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında biyokütle steril distile su ile yıkanmıştır. Alınan örneklerde mL'ye karşılık gelen biyokütle miktarları hesaplanmıştır. Maksimum biyokütle seçilerek diğer çalışmalara maksimum seçilen biyokütle ile devam edilmiştir.

3.2.8.2. Enkapsüle edilen bakteri sayımı

Lysinibacillus sp. NOSK bakterisinin maksimum biyokütle miktarı polimer içerisine eklendiğinde ve elektrospin sonrasında canlılıkları koloni sayma yöntemi ile belirlenmiştir. Polimer içerisine eklenen ve homojen bir şekilde karışan polimer

içerisinden 100 µL örnek alınarak seri dilüsyon yapılmıştır. Sonrasında 100 µL örnek Nutrient agar'a yayma ekim yöntemi ile yayılmıştır. Ekimi yapılan petriler 30° C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Elektrospin sonrası sayım için üretilen nanofiber steril distile su içerisinde çözünmesi sağlanarak seri dilüsyon yapılmıştır. Seri dilüsyondan alınan 100 µL örnek Nutrient agar'a yayma ekim yapılarak 30° C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin sayımı yapılmıştır.

3.2.9. Bakteri Enkapsüle Edilen PEO Nanofiber ile Giderim Deneyleri

3.2.9.1. Artan Reaktif Blue (RB21) boya konsantrasyonun da giderim deneyleri

Lysinibacillus sp. NOSK enkapsüle edilerek üretilen nanofiber ile artan RB21 boya konsantrasyonunda giderim sonuçları incelenmiştir. Belirlenen optimum pH da NB besiyeri hazırlanarak içerisine 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 35 ppm, 50 ppm ve 60 ppm artan konsantrasyonda RB21 boya içeren NB besiyerleri hazırlanmıştır. Hazırlanan RB21 boya konsantrasyonlarına bakteri enkapsüle edilen nanofiber eklenmiştir. Optimum koşulları belirlenen sıcaklık ve çalkalama hızında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda örnek alınarak 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant ile UV-Vis spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır.

3.2.10. Depolama ve Sayım Deneyleri

Bakteri enkapsüle edilen nanofiberler de uzun süreli depolama sonrasında canlılık ve giderim deneyleri yapılmıştır. +4 °C de 30 gün ve 60 gün sonunda depolanan nanofiberler steril distile su içerisinde çözünmüştür. Çözünen nanofiberlere seri dilüsyon yapılarak, 100 µL örnek, Nutrient agar üzerine yayma ekim tekniği ile yayılmıştır. Petriler 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin sayımı yapılmıştır.

30 ve 60 gün sonunda RB21 boya giderim verimi incelenmiştir. Optimum pH'ı seçilen besiyeri içerisine 20 ppm RB21 boyası eklenerek depolanan fiberler eklenir ve optimum koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda örnek alınarak 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant ile UV-Vis spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır.

3.2.11. Farklı pH Değerlerinde Hayatta Kalma Verimliliği

Enkapsüle bakterilerin pH 3, pH 7 ve pH 11 gibi farklı pH değerlerinde distile su içerisinde hayatta kalma verimliliği koloni sayma tekniği ile sayılmıştır. Kapsüllenmiş bakteri içeren nanofiber matları tartılmıştır ve PBS içerisinde çözümüştür. Çözünme sonrasında çözeltiden 100 µL alınarak seri dilüsyon yapılarak seyreltilmiştir. 100 µL örnek, Nutrient agar üzerine yayma ekim tekniği ile yayılmıştır. Ekimi yapılan petriler 30° C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan kolonilerin sayımı yapılmıştır.

3.2.12. Polietilen Oksit Nanofiberlerin Çapraz Bağlanması

PEO- bakteri- Nf 'ler sulu çözeltielerde hızlı bir şekilde çözündüğü için, gelişmiş biyolojik iyileştirme ve yeniden kullanılabilirlik amacıyla nanofiberleri stabilize etmek için GRAS çapraz bağlama yöntemleri gereklidir. Bu amaçla, nanofiberler 60 saniye boyunca nötr (pH 7.0) etanol içermeyen çapraz bağlama çözeltisine (ağırlıkça %2 CaCl₂ konsantrasyonu) daldırılmıştır ve ardından 60 saniye boyunca steril distile su (dH₂O) ile durulanmıştır. Çapraz bağlamanın tamamı oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.13. Tekrar Kullanılabilirlik Deneyleri

Reaktif boya RB21 giderimi için çapraz bağlı bakteri kapsüllü polietilen oksit nanofiber matların yeniden kullanılabilirliği test edilmiştir. Bakteri kapsüllü PEO nanofiberin yeniden kullanılabilirliği, renk giderme çalışmaları için dört kez gerçekleştirilmiştir (20 mg/L RB21). Yeniden kullanım döngülerinin ardından RB21 boya giderme analizleri yapılmıştır.

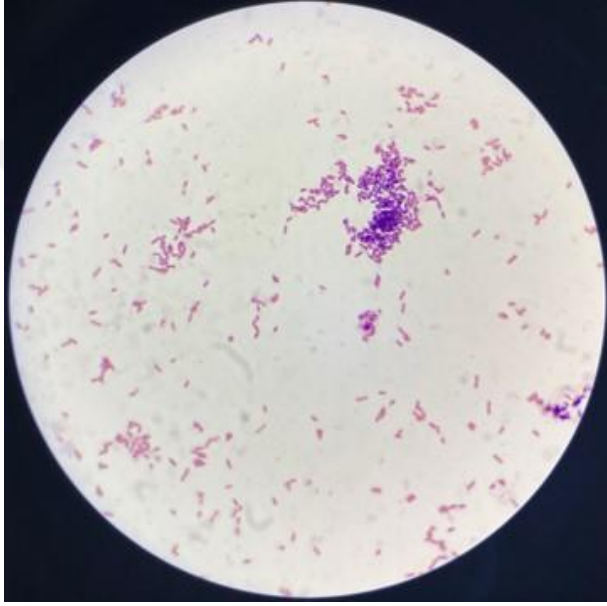
3.2.14. İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler 3 paralel olacak şekilde dizayn edilmiş ve sonuçlar ± standart sapma (SD) eklenerek verilmiştir.

4. ARASTIRMA BULGULARI

4.1. Enkapsülasyonda Kullanılan Bakteri

Lysinibacillus sp. Gram pozitif veya Gram değişken özellikler sergileyen, aerobik veya fakültatif anaerobik niteliklere sahip, endospor oluşturan ve aşırı çevresel koşullara tolerans gösteren basil şeklinde bir bakteridir (Malki vd., 2024). Tez çalışmasında kullanılan bakterinin Gram boyama sonrasında ışık mikroskobu ile alınan görüntüsü Şekil 1’de verilmiştir.



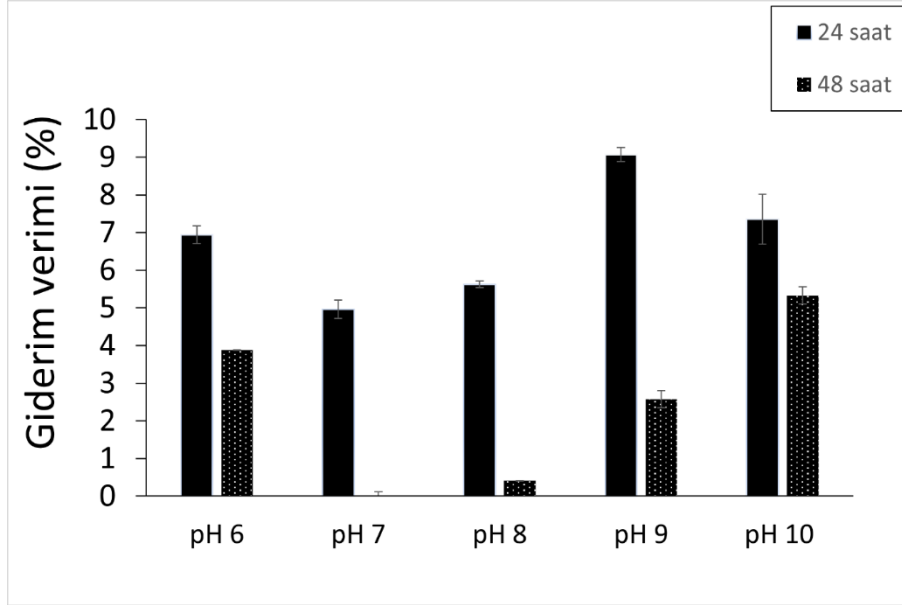
Şekil 4.1. *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisinin ışık mikroskop görüntüsü.

4.2. Biyoremediasyon Çalışmalarında pH, sıcaklık ve Çalkalama Koşullarının RB21 Boyar Madde Giderimi Üzerindeki Etkisi

4.2.1. Optimum pH ve Reaksiyon Süresinin Belirlenmesi

Farklı pH ve inkübasyon sürelerinde RB21 boyasının giderim verimi incelenmiş ve Şekil 2’de verilmiştir. Grafiğe bakıldığında, 24 saat inkübasyon süresinin sonunda pH 6’da $6,94 \pm 0,2$, pH 7’de $4,96 \pm 0,2$, pH 8’de $5,62 \pm 0,2$, pH 9’da $9 \pm 0,1$ ve pH 10’da ise $7,35 \pm 0,6$ giderim verimi elde edilmiştir. 48 saat inkübasyon süresinin sonunda ise tüm pH değerlerinde giderim verimleri azalmıştır. Sonuç olarak en yüksek giderim verimi 24 saat inkübasyon süresi sonucunda pH 9 olarak belirlenmiştir. *Lysinibacillus* sp. NOSK suşunun geniş pH aralığında gelişebilmesi sebebiyle, bu pH aralıklarında benzer bir tolerans göstermiştir (Sari & Simarani, 2019). Tekstil fabrikalarından deşarj edilen atık su pH değeri genellikle pH 8-9 arasında değişim

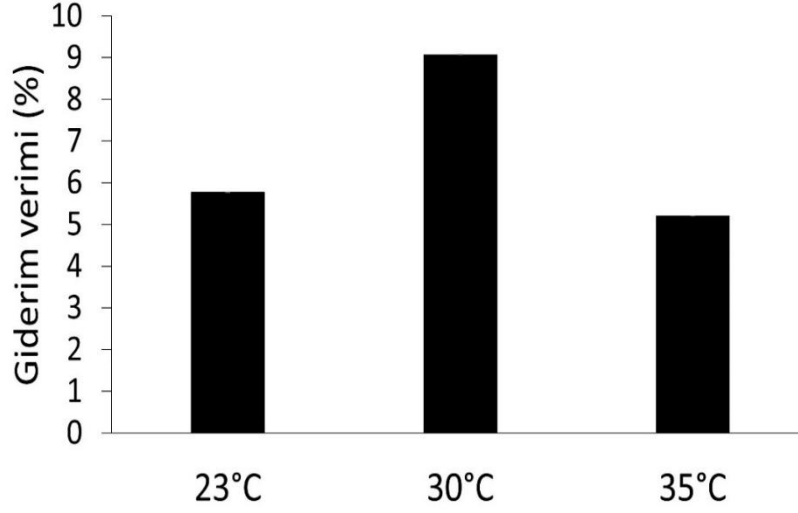
göstermektedir. Elde edilen giderim verimi bulgularına bakıldığında türün geniş bir pH aralığında (pH 6-9) gelişebilmesi sebebiyle atık su arıtımında kullanılabilirliği önemlidir (San Keskin vd., 2015).



Şekil 4.2. *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisinin farklı pH değerleri ve inkübasyon sürelerinde RB21 boyası giderim verimleri ($C_0 = 20$ ppm, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).

4.2.2. Optimum Sıcaklığın Belirlenmesi

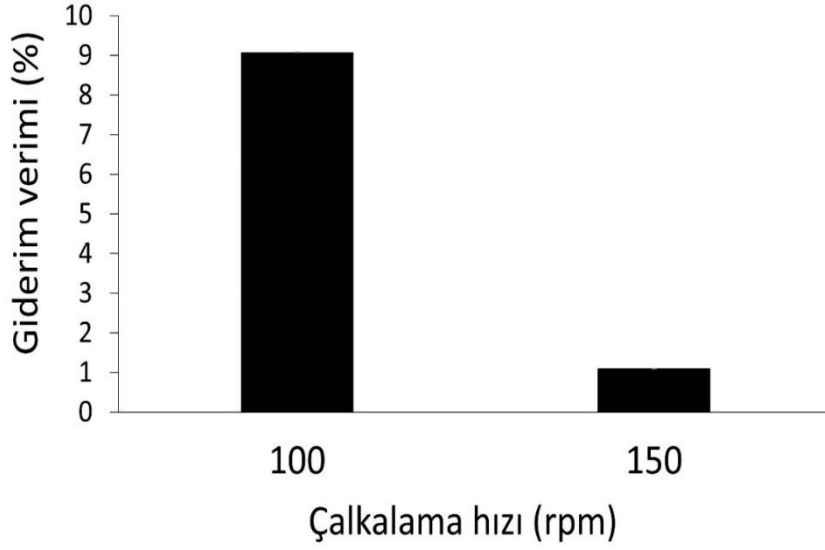
Giderim veriminde optimum sıcaklığın belirlenmesi için 23°C, 30°C ve 35°C sıcaklıklarda giderim verimi incelenmiş ve sonuçlar Şekil 3'te verilmiştir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda giderim verimi yüzdesi 23 °C için $5,7 \pm 0,1$; 30 °C'de $9 \pm 0,1$ ve 35 °C'de $5,2 \pm 0,2$ olarak ölçülmüştür. Sıcaklık, bakterilerin gelişmesi ve fonksiyonel aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek sıcaklık, hücre zarlarının bütünlüğünü bozarken, sıcaklık düşüşü hücresel donmaya bağlı olarak hücresel aktiviteleri azaltmaktadır. Sıklıkla optimal sıcaklık olan 30 °C'de ise hücrenin metabolik aktiviteleri en yüksek verimlilikle gerçekleşmektedir (Anantharaman & Sk Masud Hossain, 2006). Alınan sonuçlara göre 30 °C'de giderim verimi en yüksek değere ulaşmıştır.



Şekil 4.3. *Lysinibacillus* sp. NOKS bakterisinin farklı sıcaklıklarda RB21 boyası giderim verimi yüzdeleri ($C_0=20$ ppm, pH = 9, Çalkalama hızı = 100 rpm, Süre = 24 saat).

4.2.3. Optimum Çalkalama Hızının Belirlenmesi

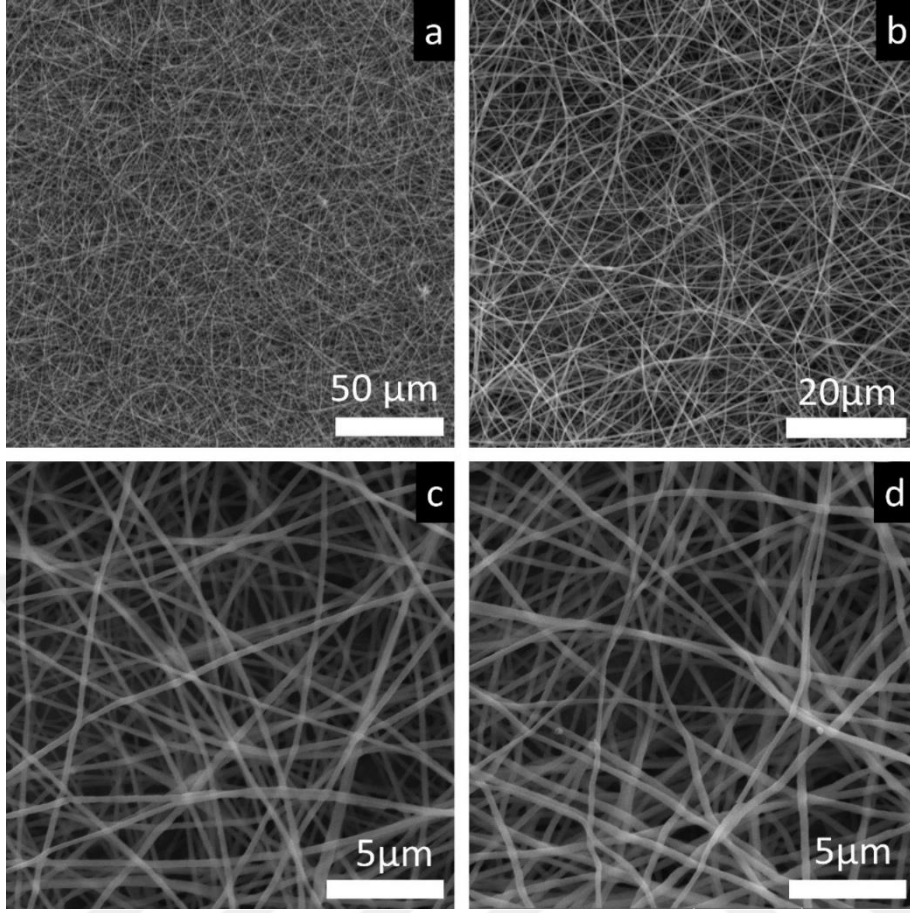
Hücreler ve ortam arasındaki biyokütle ve oksijen transferindeki artışa bağlı olarak, izolatın renk giderme yeteneği değişmektedir (San Keskin vd., 2015). Bu amaçla, optimum çalkalama hızının belirlenmesi için 100 rpm ve 150 rpm çalkalama hızında çalışmış ve sonuçlar Şekil 4'te verilmiştir. 100 rpm çalkalama hızında giderim verimi $9,7 \pm 0,1$ iken çalkalama hızı 150 rpm'e yükseltildiğinde giderim verimi düşerek $1,0 \pm 0,6$ olmuştur. Bu durumun yüksek çalkalama hızında muhtemelen bakteri hücrelerinin stres altında olmasından gelişmemesi ile açıklanabilir. Sonuç olarak en yüksek giderim verimi için belirlenen optimum koşullar pH 9, 30 °C, 100 rpm çalkalama hızında ve 24 saat inkübasyon süresi olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. *Lysinibacillus* sp., farklı çalkalama hızında RB21 boyası giderim verimi ($C_0=20$ ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Süre = 24 saat)

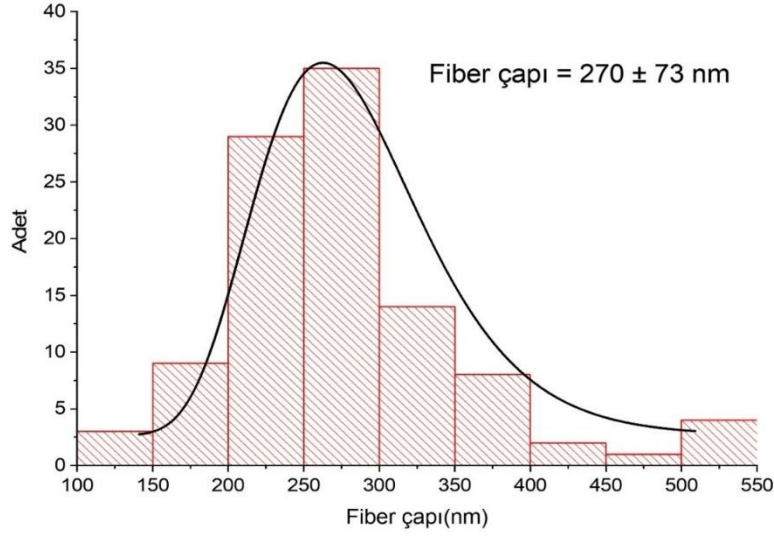
4.3. Polietilen Oksit Nanofiber Üretimi

Tez çalışmasında öncelikle PEO nanofiber üretilmiş ve üretilen fiberlerin morfolojisi SEM analizi ile tamamlanarak, Şekil 5’de mikrografları verilmiştir. Buna göre, PEO-Nf’ler homojen dağılımlı, rastgele sıralanmış ve boncuksuz bir morfoloji göstermektedir.



Şekil 4.5. Elektrospin yöntemi ile üretilen PEO-Nf'lerin a) 50 μm b) 20 μm c-d) 5 μm ölçeklerde SEM mikrografları.

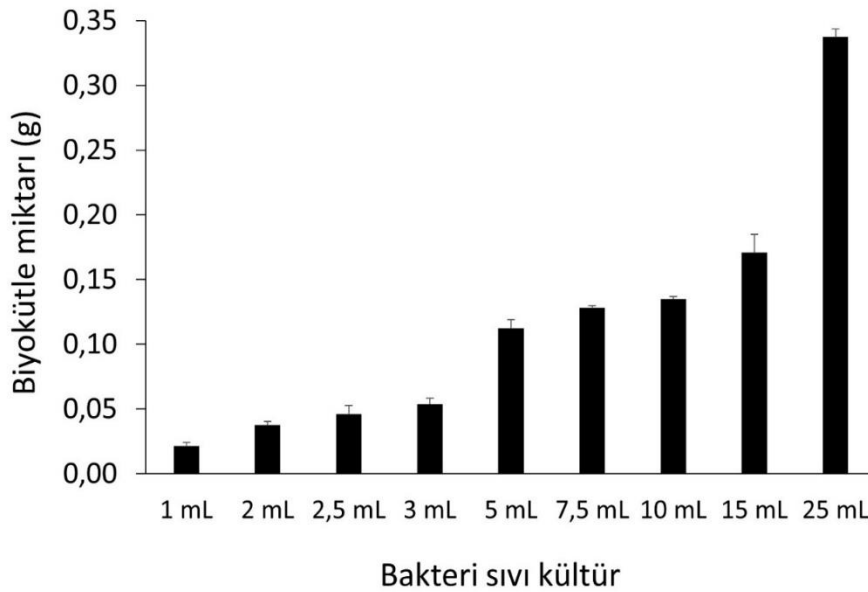
Üretilen PEO-Nf'lerin çap ölçümleri SEM mikrograflarından 100 farklı çaptan ölçüm yapılarak hesaplanmış ve Şekil 6'da çap dağılım grafiği verilmiştir. Buna göre, PEO-Nf'lerin ortalama çapı $270 \pm 73 \text{ nm}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.6. PEO- Nf'lerin çap dağılım grafiği.

4.4. Nanofiber İçine Enkapsüle Edilen Biyokütle Miktarının Belirlenmesi

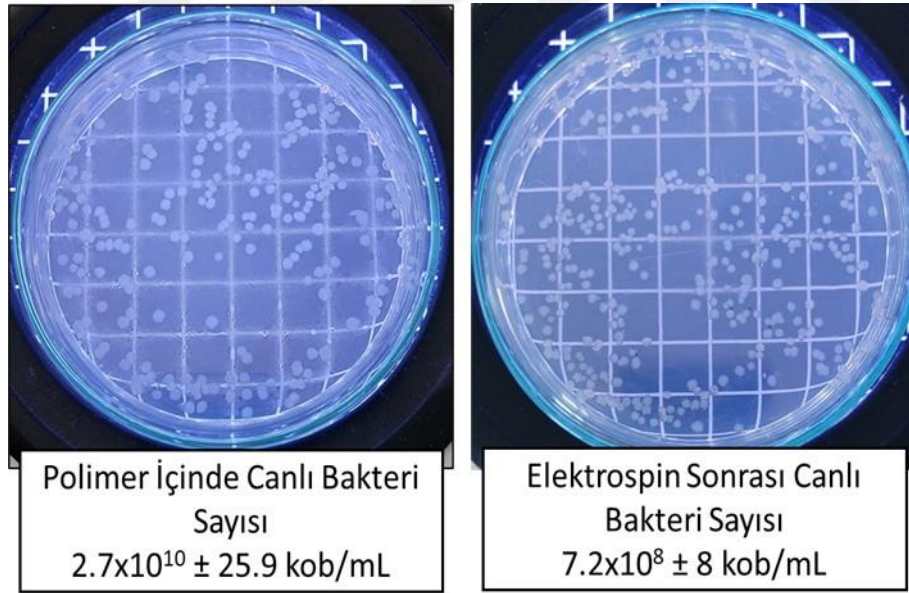
Çalışmada en yüksek sayıda bakterinin nanofiber içerisine enkapsüle edilmesi amacıyla, farklı miktarlarda bakteri kültürlerinden elde edilen biyokütleler polimer ile karıştırılarak nanofiber üretilmiştir. Şekil 7'de farklı miktarlarda bakteri kültüründen elde edilen biyokütle miktarları verilmektedir. En yüksek biyokütle, 25 mL santrifüj edilmiş bakteri kültüründen (0,33 g) elde edilmiştir.



Şekil 4.7. Farklı miktarlarda bakteri kültüründen elde edilen biyokütle miktarları.

4.5. Enkapsülasyon Öncesi Polimer İçinde ve Elektrospın Sonrası Nanofiber İçine Enkapsüle Edilen Bakterilerin Sayılması

Enkapsülasyon öncesi polimer içine eklenen ve sonrasında nanofiber içine enkapsüle edilen bakterilerin sayım agar fotoğrafları ve sonuçları Şekil 8’de verilmiştir. 25 mL bakteri kültüründen elde edilen 0,33 g bakteri kütlesi polimer içine eklendikten sonra karıştırılmış ve $2,7 \times 10^{10}$ kob/mL canlı bakteri sayılmıştır. Sonrasında polimerden elektrospın ile nanofiber elde edilmiş ve canlı sayısı $7,2 \times 10^8$ kob/mL olarak belirlenmiştir. Canlı sayısında 100 kat azalış olmuş ancak hala yüksek sayıda canlı nanofiber içine enkapsüle edildiği belirlenmiştir. Bu durum şu şekilde açıklanabilir: elektrospın yönteminde elektrik alan doğrudan bakterilere uygulanmaz; polimer çözeltisine odaklanır. Bakteriler, çözeltinin içinde gömülü olarak kalır, bu da onları elektrik alanının doğrudan etkisinden korur. Ayrıca, elektrospın işlemi hızlı bir süreçtir ve voltajın bakteriye ulaşacak kadar güçlü veya uzun süreli olmaması bakterilerin zarar görme riskini azaltır. Kısa süreli maruz kalma ve polimer çözeltisinin koruyucu etkisi sayesinde bakteriler hayatta kalabilir.

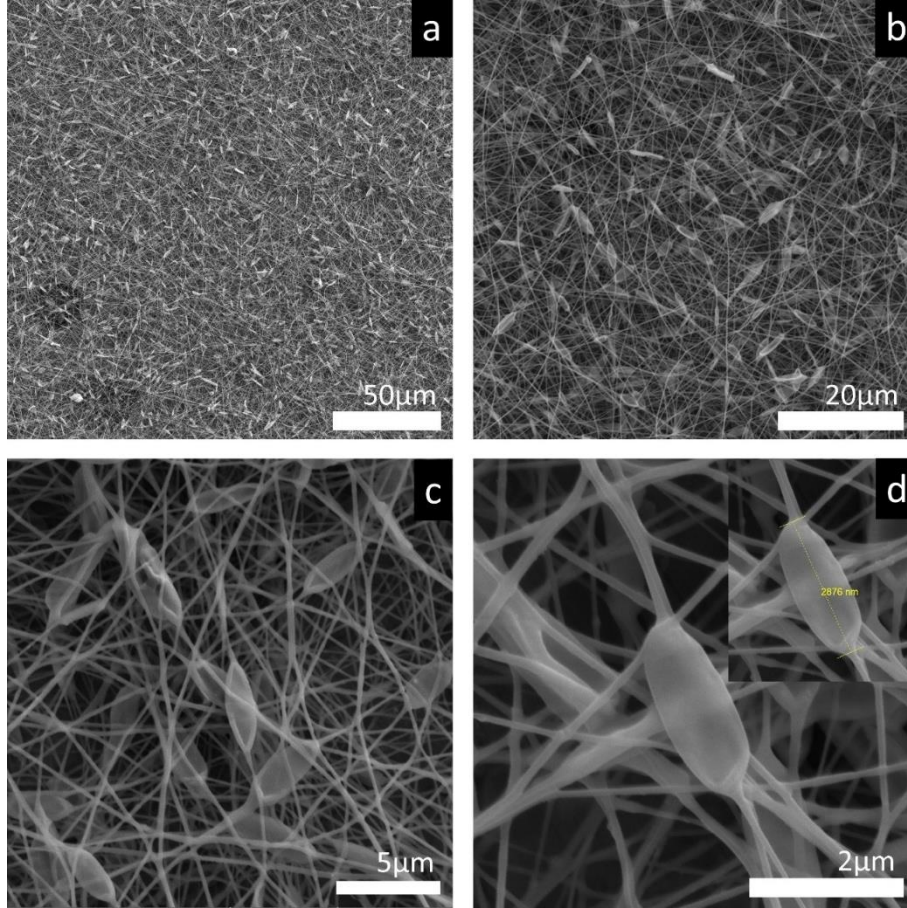


Şekil 4.8. Polimer içine eklenen ve elektrospın sonrası üretilen nanofibere enkapsüle edilen canlı bakteri sayım fotoğrafları ve sayıları.

4.6. Nanofiber İçine Bakterinin Enkapsülasyonu

Şekil 9’da *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisi enkapsüle edilmiş PEO-Nf’lerin SEM mikrografları verilmiştir. Literatürde mikroorganizma enkapsüle edilen nanofiber ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde bakteri enkapsüle edilen Nf’lerde kalınlaşma

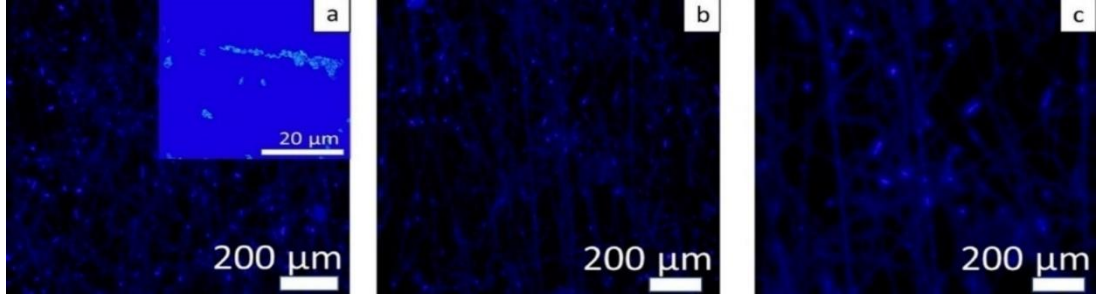
ve oval oluşumlar görülmektedir. Bu morfolojilerde bakterilerin nanofiber içine başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğini göstermektedir (Şkrlec vd., 2019). SEM mikrograflarına bakıldığında da literatürde belirlenen morfolojilere benzer, fiberlerde oval genişlemeler görülmektedir. Ayrıca, Şekil 9d'de inset içerisinde verilen genişlemiş nanofiberin uzunluğu ölçülmüş ve bu uzunluğun enkapsülasyonda kullanılan *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisinin uzunluğu kadar olduğu ölçülmüştür.



Şekil 4.9. Bakteri enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lerin a) 50 µm b) 20 µm c-d) 5 µm ölçeklerde SEM mikrografları.

4.7. Bakteri Enkapsülasyonu ile Üretilen Nanofiberlerin Floresan Mikroskop ile İncelenmesi

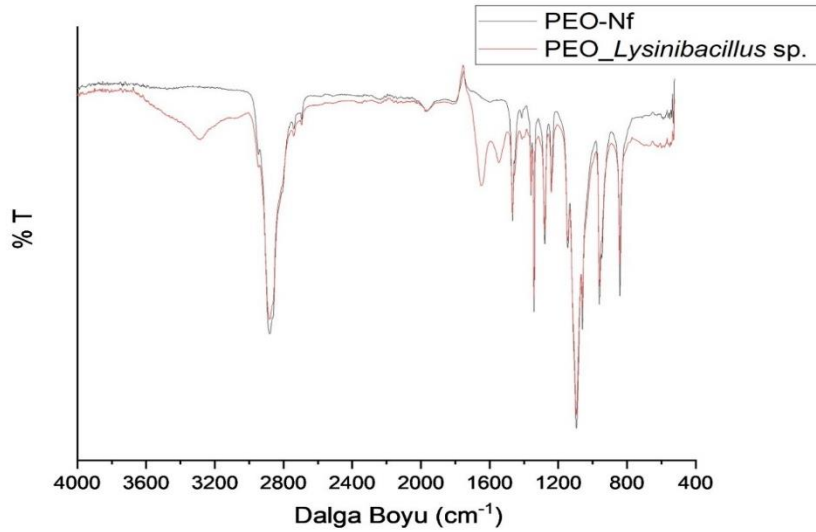
Nanofibere enkapsüle edilen *Lysinibacillus* sp. NOSK'un başarılı bir şekilde enkapsülasyonun belirlenmesi amacıyla SEM analizi sonrasında Floresans mikroskobu ile analiz edilmiş ve Nf'lerden alınan görüntüler Şekil 10'da verilmiştir. Şekil 10a inset fotoğrafı DAPI ile boyanmış enkapsülasyon öncesinde bakterilerin görüntüsüdür. Elektrospın sonrasında, bakterilerin Nf içine enkapsüle olduğu görüntülerden belirlenmiştir.



Şekil 4.10. (a-c) PEO-Bakteri-Nf'lerin Floresan mikroskop görüntüsü. Inset DAPI ile boyanmış enkapsülasyon öncesi bakterilerin görüntüsüdür.

4.8. Bakteri Enkapsülasyonu ile Üretilen Nanofiberlerin Karakterizasyonu

Nanofiberlere bakterilerin enkapsülasyonu sonucu ortaya çıkan moleküler etkileşimler ATR-FTIR analizi ile belirlenmiş ve spektrumlar Şekil 11'de verilmiştir. Sadece PEO-Nf spektrumunda 2878 cm^{-1} ve 1098 cm^{-1} 'de pikler terminal hidrojenleri ve ester gruplarını göstermektedir. $1460\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki pikler ise ikincil hidrojenleri göstermektedir. Nanofibere bakteri enkapsülasyonu sonrasında 3279 cm^{-1} ve 1058 cm^{-1} 'de elde edilen pikler sırasıyla O-H gerilmesi ve C-O gerilmesini temsil etmektedir.

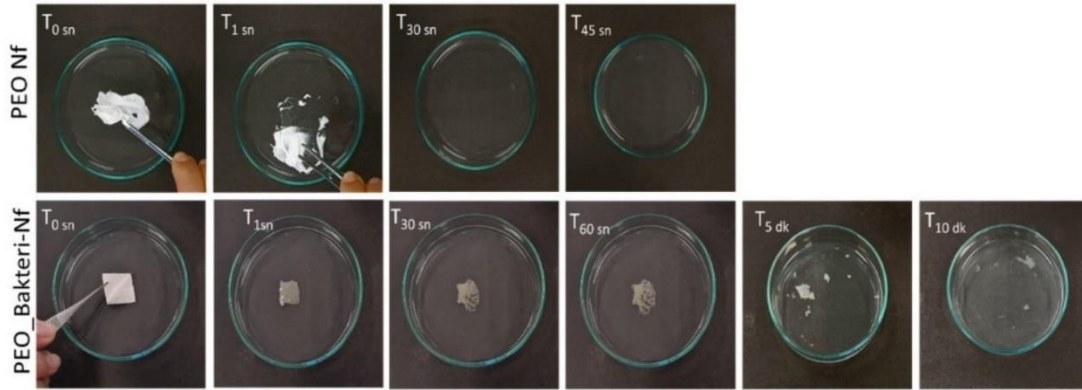


Şekil 4.11. PEO-Nf ve enkapsüle edilen PEO-Bakteri-Nf'lerin ATR-FTIR spektrumları.

4.9. Polietilen Oksit ve Bakteri Enkapsüle Edilen PEO-Nf'lerin Çözünürlük Davranışı

PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf'lerin suda çözünürlük davranışının fotoğrafları Şekil 11'de gösterilmektedir. Bu fotoğraflara bakıldığında, PEO-Nf mat 45 sn'de suda tamamen çözünmüştür. Bakteri enkapsüle edilen nanofiber mat ise taşıdığı

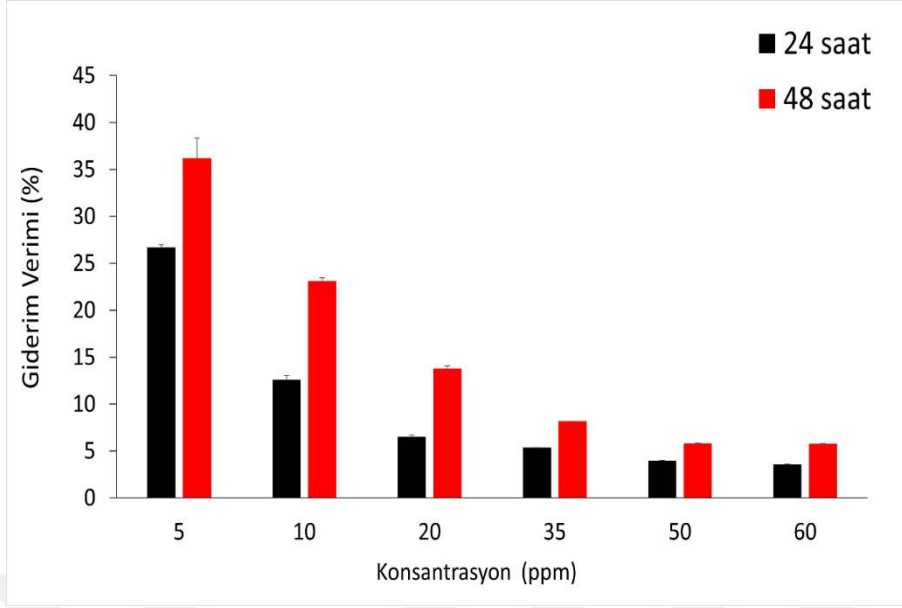
biyokütleden dolayı su ile temasından 10 dakika sonra dahi hala bir kısmı çözünmeden petri kaplarında kaldığı görülmektedir.



Şekil 4.12. PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf’lerin su ortamına temasları sonrası çekilmiş fotoğrafları.

4.10. Artan RB21 konsantrasyonda giderim veriminin incelenmesi

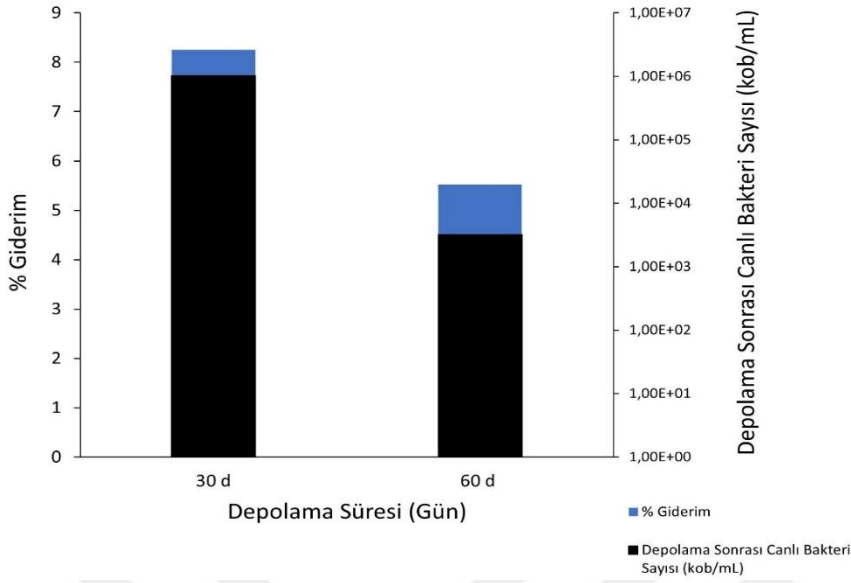
Bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberlerin artan boyar madde konsantrasyonlarında giderim verimleri 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 35 ppm, 50 ppm ve 60 ppm’de 24 sa. ve 48 sa. süresi ile çalışılmış ve veriler Şekil 12’de verilmiştir. 24 saat inkübasyon süresinin sonunda, bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberlerin giderim verimleri sırasıyla $26,6 \pm 0,3$; $12,6 \pm 0,4$; $6,5 \pm 0,1$; $5,3 \pm 0,1$; $3,9 \pm 0,1$; ve $3,5 \pm 0,1$ olarak bulunmuştur. 48 saat inkübasyon süresinin sonunda giderim verimleri incelendiğinde ise sırası ile $36,1 \pm 0,2$; $23 \pm 0,3$; $13,7 \pm 0,3$; $8,1 \pm 0,1$; $5,8 \pm 0,1$ ve $5,7 \pm 0,1$ ’dir. Alınan sonuçlara göre artan reaktif boya konsantrasyonunda boyanın toksik etkisinin artması nedeniyle giderim verimi azalmıştır.



Şekil 4.13. Bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberlerin artan kirletici (RB21) konsantrasyonunda giderim verimleri. (pH = 9, Sıcaklık = 30 °C).

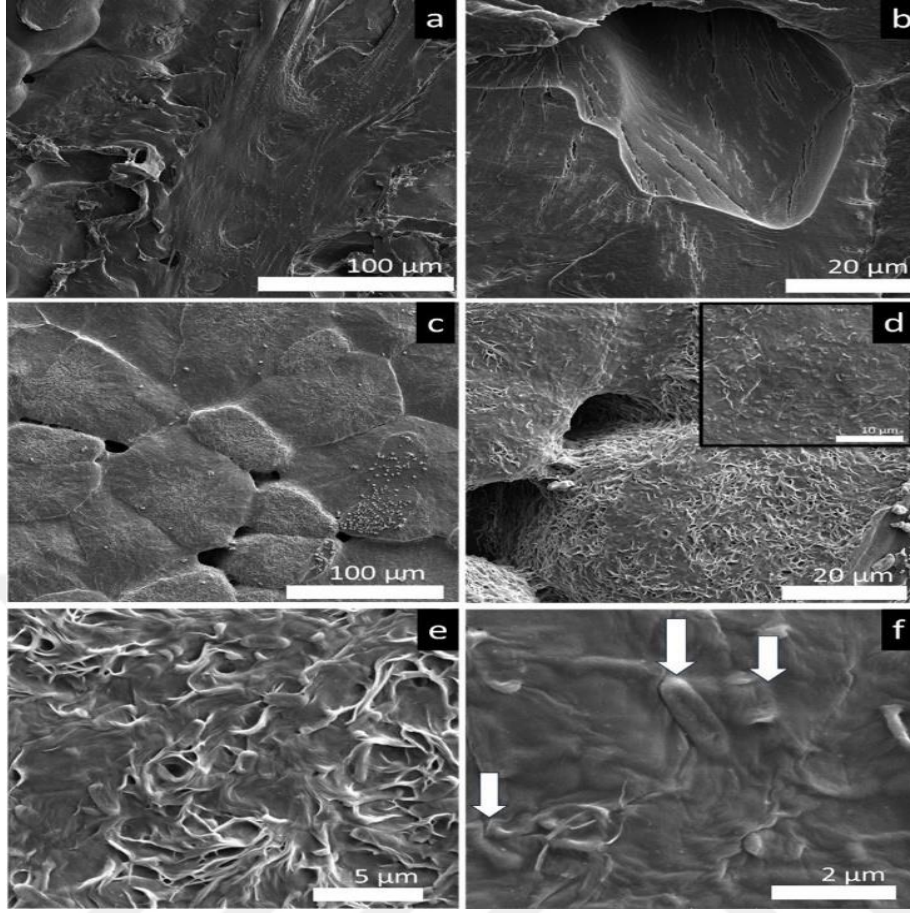
4.11. Üretilen PEO-bakteri-Nf matların uzun süreli depolanması sonrasında canlılık ve giderim verimlerinin incelenmesi

Bakteri kapsüle edilmiş PEO-Nf'lerin uzun süreli depolama sonrasında canlılıkları ve giderim verimleri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 13'de verilmiştir. Buna göre 30 gün depolama süresinin sonunda giderim verimliliği $8,2 \pm 0,01$ ve nanofiberin taşıdığı canlı bakteri sayısı 10^6 kob/mL olarak hesaplanmıştır. Depolama süresi 60 gün olduğunda ise giderim verimi $5,5 \pm 0,01$ ve nanofiberin taşıdığı canlı bakteri sayısı 10^3 kob/mL olduğu belirlenmiştir. Elektrospin sonrasında nanofiberlerde 10^8 canlı bakteri bulunurken, bakteri sayısı 30 gün depolama sonunda 10^2 log, 60 gün sonunda ise 10^5 log azalmıştır. Ancak, üretilen nanofiberlerin uzun depolama süreleri sonunda hala canlı bakteri içerdiğini ve boyar madde giderimi yapabildiklerini göstermektedir.



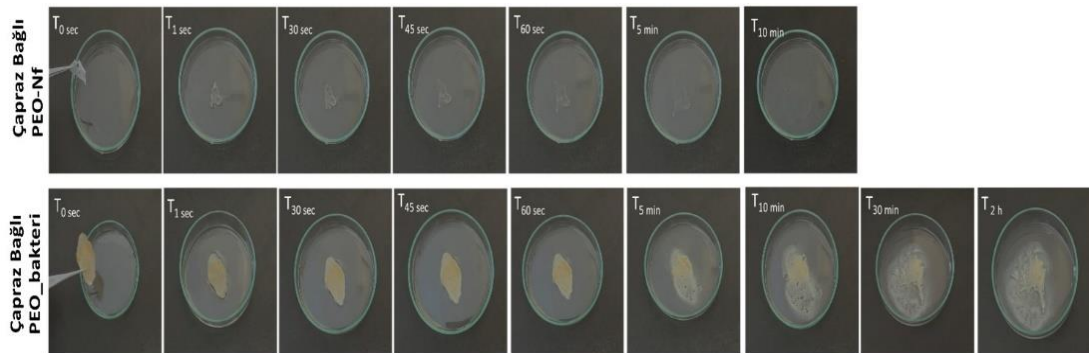
Şekil 4.14. Uzun süreli depolama sonrası PEO-bakteri-Nf'lerin canlı sayısı ve boyar madde giderim verimleri ($C_0 = 20$ ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).

Nanofiberlere canlı enkapsülasyonu ile ilgili çalışmalarda canlıya zararlı olmaması için suda çözünen polimerler sıklıkla tercih edilmektedir. Sonuç olarak canlı enkapsüle edilmiş ancak su ortamında hızla çözünen nanofiberler elde edilmektedir. Bu durumda, üretilen nanomalzemenin suda kullanımında bazı dezavantajlar getirmektedir. Bu problemin çözülmesi için nanofiberlerin çapraz bağlanması ve suda çözünmelerinin geciktirilmesi ya da tamamen engellenmesi mümkündür. Bu amaçla taşıdığı canlıya zarar vermeyecek kimyasallar ile çapraz bağlanma yapılmalıdır. Bu çalışmada bu amaçla kalsiyum klorür çözeltisi kullanılmıştır. Şekil 14'de çapraz bağlı PEO-Nf ve bakteri enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lerin SEM mikrografları verilmiştir. Çapraz bağlama sonucunda PEO-Nf'ler çözünmemiş ancak morfolojileri değişikliğe uğramıştır. Fiberler düzleşmiş ve kompakt hale gelmiştir. Şekil 5f'de hala enkapsüle edilmiş bakteriler görülmektedir.



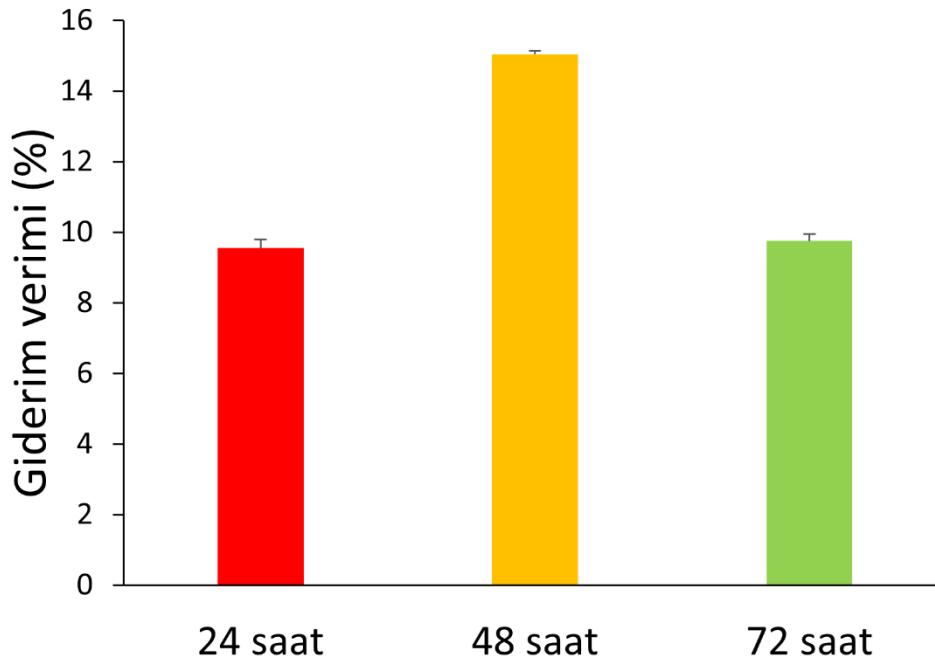
Şekil 4.15. Çapraz bağlanan a-b) PEO-Nf c-f) PEO-bakteri-Nf'lerin SEM mikrografları.

Şekil 14'de çapraz bağlanma sonrasında PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf'lerin suda çözünürlük davranışlarının fotoğrafları verilmiştir. Çapraz bağlanmamış PEO-Nf'ler suyla temas ettikten hemen sonra çözünürken, çapraz bağlama işleminden sonra su ile temas sonrası çözünmeden kaldıkları görülmektedir. Bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberler ise su ile temas ettikten sonra çözünmemiş ve 2 saat süre sonunda hala nanofiberlerin çözünmediği görülmektedir.



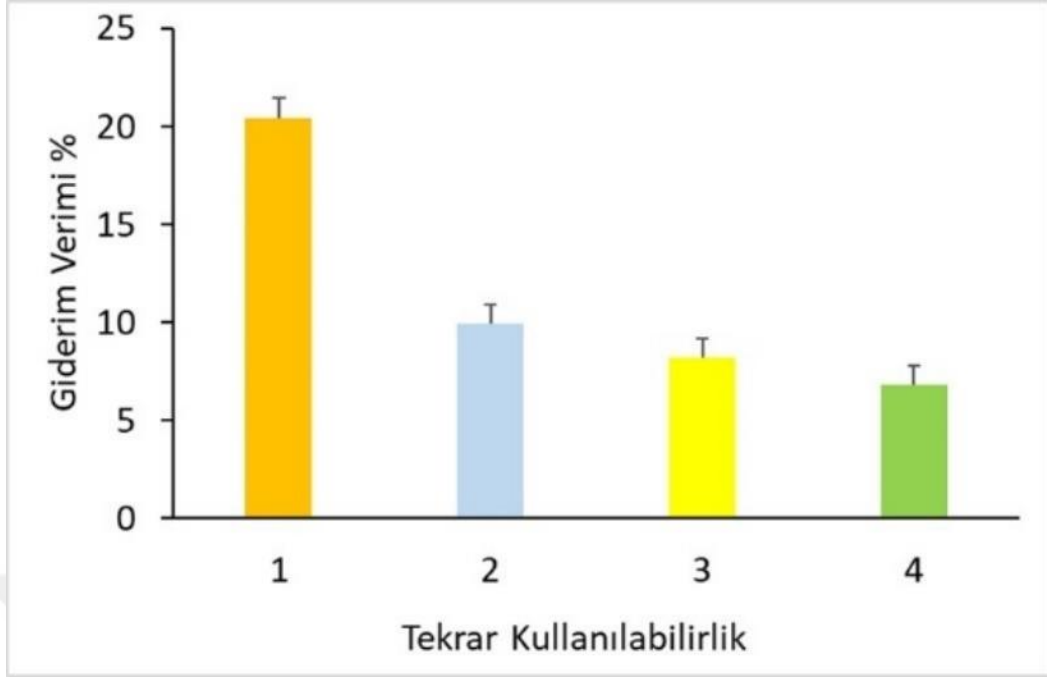
Şekil 4.16. Çapraz bağlanan PEO-Nf ve PEO-bakteri-Nf'lerin suda çözünürlük davranışlarının fotoğrafları.

Çapraz bağı bakteriyi enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lerin RB21 boyasının giderim verimleri incelenmiş ve Şekil 15'de verilmiştir. 20 ppm RB21 boya konsantrasyonunda 24 saat, 48 saat ve 72 saat giderim verimi incelenmiş ve sırasıyla giderim verimleri $9,55 \pm 0,2$; $15,04 \pm 0,09$; ve $9,75 \pm 0,1$ bulunmuştur. İnkübasyon sürelerine göre giderim verimi incelendiğinde enkapsüle edilen bakterinin boyar madde içeren ortamdan nanofiber içinde korunduğu ve çözünmediği için giderim veriminde bir kısım artış görülmüştür.



Şekil 4.17. Çapraz bağlanan PEO-bakteri-Nf'lerin farklı inkübasyon sürelerinde giderim verimi. ($C_0 = 20$ ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).

Çapraz bağı bakteriyi enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lere tekrar kullanılabilirlik özelliği kazandırılmış ve 4 döngüye kadar tekrar kullanılabilirlikleri test edilerek sonuçlar Şekil 16'da verilmiştir. 2. döngünün sonunda RB21 giderim verimi $9,9 \pm 0,2$ iken 4. siklus sonunda bu oran $6,8 \pm 0,1$ 'e düştüğü ancak üretilen bu nanofiberlerin tekrar kullanılabilirlikleri gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Çapraz bağlanan PEO-bakteri-Nf 'in tekrar kullanılabilirlik deneyi sonucunda giderim verimi ($C_0= 20$ ppm, pH = 9, Sıcaklık = 30 °C, Çalkalama hızı = 100 rpm).



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, kirleticilere dirençli *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisinin elektrospin yöntemi kullanılarak tek aşamada nanofiber (Nf) içine enkapsüle edilmesi ve bu kompozit malzemenin atıksulardaki reaktif boyanın gideriminde kullanılması amaçlanmıştır. Geliştirilen bu nanokompozit malzeme, su kaynaklarının korunmasına yönelik yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır.

Tez çalışmasının ilk basamağında, elektrospin yöntemi ile homojen ve rastgele morfolojiye sahip polietilen oksit nanofiber matlar üretilmiştir. Üretilen nanofiber matın boncuksuz morfolojiye sahip olduğu SEM mikrografları ile görüntülenmiştir. Literatürde daha önce çalışılmış olan PEO-Nf çalışmaları incelendiğinde, örneğin Maccaferri vd., (2024) yapmış oldukları çalışmada, üretilen rastgele morfolojiye sahip PEO nanofiberlerin çap ortalaması 503 ± 174 nm olarak verilmiştir. Tez çalışmasında üretilen PEO nanofiberlerin çap ortalaması ise 270 ± 73 nm olarak ölçülmüştür.

Mikroorganizmaların kullanılmasıyla atık suyun biyolojik olarak temizlenmesi çevre dostu bir yöntemdir. Bu yöntemde mikroorganizmaların kirleticileri kullanarak degradasyonu diğer arıtım yöntemlerine alternatif bir yöntem olarak görülmektedir (Huang vd., 2024). Bu süreç, kirleticilerin doğrudan degradasyonu, daha az toksik formlara dönüştürülmesi ve bazı durumlarda tamamen mineralize edilmesi gibi önemli avantajlar sunmaktadır. *Lysinibacillus* sp. NOSK suşunun atıksularda bulunan toksik metallerle karşı biyoremediasyon özelliği literatürde bulunan çalışma ile gösterilmiştir (Hernández-Santana & Dussán, 2018). Öncelikle bakterinin optimum koşullarda RB21 boyar madde giderim verimi belirlenmiş ve sonrasında nanofiber içine kapsüle edilmiştir. Bakterinin nanofiber içine enkapsüle edilmesi sonucunda nanofiberlerde belirli bölgelerindeki kalınlaşmaların bakterinin nanofiber içine girmesinden dolayı olduğu literatürdeki çalışmalarda da benzer morfolojilerin elde edilmesi ile belirlenmiştir. Škrlec vd., (2019) gerçekleştirdikleri araştırmada, probiyotik bakterilerin PEO nanofiberi içinde kapsüllendiği ve nanofiberin probiyotik bakterilerden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Enkapsüle edilen *Lysinibacillus* sp. NOSK'un varlığını SEM mikrografları ile gösterilmiş ve floresan mikroskop görüntüleri ile destelenmiştir.

Nanofiberlere mikroorganizma enkapsülasyonu ile ilgili literatüre bakıldığında, sıklıkla probiyotik bakteriler ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Tüm çalışmalarda

hedef, en yüksek miktarda bakterinin enkapsüle edilmesidir. Duman vd., (2021), polivinil alkol ve sodyum aljinat polimerin ağırlıkça %2'si olacak şekilde *Lactobacillus fermentum* probiyotik suşunu ekleyerek, elektrospin yöntemiyle enkapsüle etmişlerdir. Ajalloueian vd., (2022) tarafından yapılan bir çalışmada ise, poli(laktik-ko-glikolik asit) ile pullulan kullanılarak, 10^7 kob/mL probiyotik bakteri çok katmanlı nanofibere enkapsüle edilmiştir. Sarioğlu vd., (2017), polietilen oksit polimerine 0,004 g canlı bakteri biyokütlesi ekleyerek nanofiber üretmişlerdir. Başka bir araştırmada, 0,1 g *Lactobacillus acidophilus* suşu, polivinil alkol, sodyum aljinat ve kitosan içerisine enkapsüle edilerek nanofiber üretilmiştir. Bu çalışmada ise literatürde yer alan bakteri miktarlarından daha fazla miktarda (0,33 g) bakteri nanofiber içine başarılı bir şekilde enkapsüle edilmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında, üretilen nanokompozit malzemenin atıksulardaki reaktif boyar maddelerden biri olan RB21 boyasını giderme verimliliği, uzun süreli depolama sonrası canlılık durumu ve depolama sonrasında giderim verimlerinin belirlenmesi ile suda çözünürlük davranışları incelenmiştir. RB21 hem ekosistem hem de insan sağlığı için tehdit oluşturan toksik bir boyar madde olup, güneş ışığına ve ısıya karşı dirençlidir (Christie, Morgan, & Islam, 2008). Tez çalışmasında, bakteri enkapsüle edilmiş nanofiber matlar ile farklı konsantrasyonlardaki boyar madde giderim verimleri araştırılmış, en düşük boyar madde konsantrasyonunda (5 ppm) $26,6 \pm 0,3$, en yüksek boyar madde konsantrasyonunda (60 ppm) ise $5,7 \pm 0,03$ oranında bir giderim verimi elde edilmiştir.

Literatürde RB21 boyar maddesinin biyolojik giderimi üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, Erkoç vd., (2024) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, karışık kültür kullanılarak elektrospin ile üretilen selüloz asetat nanofiberlere immobilize edilen karışık kültür, RB21 boyasının gideriminde etkili olmuştur. Bu çalışmada en düşük konsantrasyonda (20 ppm) $9 \pm 1,1$ giderim verimi elde edilmiştir. Bu çalışmada ise çalışmada bakterilerin nanofiber içine eş zamanlı olarak enkapsüle edilmesi sayesinde 20 ppm RB21 boyasının $15,04 \pm 0,09$ oranında giderildiği görülmüştür. Bu durum, enkapsüle edilen bakterilerin atık su ortamında korunarak, doğrudan temas etmeden, toksik etkiden daha az etkilenmesi sonucunda daha yüksek arıtım verimlerine ulaşmasını sağladığı sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmada ayrıca PEO-bakteri-Nf sisteminin su ortamındaki çözünürlük davranışları incelenmiş ve PEO-

Nf'ler 45 saniye içinde tamamen çözünürken, bakteri enkapsüle edilmiş nanofiberin çözünme süresi 10 dakika olarak belirlenmiştir.

Üretilen özellikle canlı taşıyan nanokompozit materyallerin depolanması ve sonrasında hala canlı taşınması ve etkinliğinin devamlılığının belirlenmesi önemlidir. Bu amaçla, bakteri enkapsüle edilen PEO-Nf'lerin +4 °C'de uzun süreli depolama sonrası giderim verimleri ve canlı bakteri sayıları araştırılmıştır. 30 ve 60 günlük depolama süresi sonunda nanofiberlerin taşıdığı canlı bakteri sayısı sırasıyla 10^6 kob/mL ve 10^3 kob/mL olarak tespit edilmiştir. Literatürde benzer çalışmalar incelendiğinde, örneğin Dehghani vd., (2024) probiyotik mikroorganizmalar içeren jelatin-sodyum aljinat bazlı nanofiber matların depolama sonrası canlı sayısını incelemiş ve +4 °C'de 15 günlük depolama sonrası canlı bakteri sayısında 1,82 log kob/g azalma olduğunu belirlemiştir. Huang vd., (2023) çalışmasında ise, PEO ve PVA polimerleri kullanılarak enkapsüle edilen *Lactobacillus bulgaricus* probiyotik suşunun +4 °C'de 28 gün depolama sonunda 2,28 log azalma gösterdiği ortaya konmuştur. Bir başka çalışmada, PVA'den üretilen nanofiber içine enkapsüle edilen *L. fermentum* probiyotik suşunun +4 °C'de 35 gün depolama sonunda 3,42 log azaldığı gösterilmiştir (Duman & Karadag, 2021). Tez çalışmasında ise nanofiber içine enkapsüle edilen canlı bakteri sayısının 30 gün sonunda yaklaşık 2 log, 60 gün sonunda ise 5 log azalma göstermiştir. Özellikle 30 gün sonunda nanofiberde yer alan mevcut bakteri sayısı yüksektir.

Çalışmanın son aşamasında ise, suda çözünen nanofiberlerin çözünmesinin engellenmesi ya da sürenin uzatılması hedeflenmiştir. Canlı enkapsülasyonu çalışmalarında polimer çözücülerin canlıya toksik etki göstermemesi için suda çözünen polimerler sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak bu durumda üretilen nanofiberlerin suda çözünmesinden dolayı özellikle su içeren uygulamalarında kısıtlamalara sebep olmaktadır. Nanofiberlerin çözünmemesi için çapraz bağlanma yapılmakta ve çapraz bağlama için kullanılan kimyasallar sıklıkla yüksek toksisite göstermektedir. Özellikle glutaraldehit, protein ve polisakkarit bazlı nanofiberleri çapraz bağlamak için yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır. Benzer şekilde, formaldehit, polimerlerin çapraz bağlanmasında sıkça kullanılan bir diğer kimyasal olup, yüksek toksisitesi ve karsinojenik özellikleri nedeniyle kullanılması dezavantajlar içermektedir. Canlıya toksik etki göstermemesi sebebiyle son yıllarda

çapraz bağlama çalışmalarında kalsiyum klorür kullanılmaya başlanmıştır (Kazemi vd., 2021). Çalışma ile çapraz bağlanan bakteri enkapsüle edilmiş PEO-Nf'lere, tekrar kullanılabilir özellik kazandırılmıştır. Tez çalışmasında çapraz bağlı bakteri kapsüllü enkapsüle edilmiş PEO-Nf'ler dört döngü boyunca yeniden kullanılabilirlikleri test edilmiş ve dördüncü döngü sonunda giderim verimi $6,8 \pm 0,1$ olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, kirleticilere dayanıklı *Lysinibacillus* sp. NOSK bakterisi enkapsüle edilerek geliştirilen nanofiber matlar, su kaynaklarının korunması için umut vadeden bir arıtım yöntemi olarak değerlendirilmiştir. Elektrospin yöntemiyle bakterinin nanofiber yapıya başarılı bir şekilde enkapsüle edilmesi, reaktif boyar madde giderimi ve çözünme dayanıklılığı açısından olumlu sonuçlar sunmuştur. Çalışmada elde edilen nanofibere enkapsüle edilen yüksek bakteri biyokütlesi ve daha uzun çözünme süresi, bu nanofiber matların su arıtımında daha etkin olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, çapraz bağlama işlemiyle dört döngü boyunca yeniden kullanılabilirliği sağlanan nanofiber matlar, atık su arıtımında sürdürülebilir bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Bu sonuçlar, çevre dostu ve yüksek verimli arıtım yöntemleri geliştirme yolunda önemli bir katkı sağlamaktadır.

Gelecekteki çalışmalar, bu nanofiberlerin çevre dostu su arıtımı alanında daha verimli hale getirilmesine yönelik çeşitli iyileştirmeler içerebilir. Kalsiyum klorür gibi toksik olmayan çapraz bağlayıcıların yanı sıra yeni biyouyumlu seçeneklerin araştırılması, çevreye duyarlı ve yeniden kullanılabilir özellikleri güçlendirebilir. Ayrıca, farklı kirleticilere (ağır metaller, ilaç atıkları gibi) karşı etkinliği artırmak amacıyla diğer dayanıklı bakteri türlerinin enkapsüle edilmesi ve çeşitli kirletici türlerine karşı test edilmesiyle bu sistemlerin çoklu kirletici arıtım kapasitesi genişletilebilir. Uzun süreli depolama dayanıklılığını artırmak için kaplama ya da stabilizatör yöntemleriyle raf ömrü uzatılabilir; bununla birlikte, laboratuvar ölçekli verimlilik sonuçlarının gerçek ölçekli atık su arıtma sistemlerine uyarlanmasına yönelik pilot çalışmalar, pratik uygulamalar için önemli bir adım oluşturabilir. Bu öneriler, nanofiber matların çevresel arıtma sistemlerinde su kaynaklarını koruma amacına daha etkin katkı sağlamasını mümkün kılabilir.

KAYNAKLAR

- Al-Hazmi, H. E., Łuczak, J., Habibzadeh, S., Hasanin, M. S., Mohammadi, A., Esmaeili, A., ... Saeb, M. R. (2024). Polysaccharide nanocomposites in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, 347, 140578. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140578>
- Alva, G., Lin, Y., Liu, L., & Fang, G. (2017). Synthesis, characterization and applications of microencapsulated phase change materials in thermal energy storage: A review. *Energy and Buildings*, 144, 276-294. <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2017.03.063>
- Anantharaman, N., & Sk Masud Hossain. (2006). *Studies on bacterial growth and lead (IV) biosorption using Bacillus subtilis*. 13(November), 591-596.
- Badgar, K., Abdalla, N., El-Ramady, H., & Prokisch, J. (2022). Sustainable Applications of Nanofibers in Agriculture and Water Treatment: A Review. *Sustainability*, 14(1), 464. <https://doi.org/10.3390/su14010464>
- Bamidele, O. P., & Emmambux, M. N. (2021). Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(18), 3100-3118. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1793724>
- Boumya, W., Khnifira, M., Farid, Z., Sadiq, M., Elhalil, A., Achak, M., ... Abdennouri, M. (2024). Comparative study of cationic Nile blue and anionic methyl orange dyes adsorption in water on the (110) surface of metal chlorides by DFT and MD approaches. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 185, 111738. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2023.111738>
- Castro Coelho, S., Nogueiro Estevinho, B., & Rocha, F. (2021). Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying – A review. *Food Chemistry*, 339, 127850. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127850>
- Chamanehpour, E., Thouti, S., Rubahn, H., Dolatshahi-Pirouz, A., & Mishra, Y. K. (2023). Smart Nanofibers: Synthesis, Properties, and Scopes in Future Advanced Technologies. *Advanced Materials Technologies*, 2301392. <https://doi.org/10.1002/admt.202301392>
- Chamanehpour, E., Thouti, S., Rubahn, H., Dolatshahi-Pirouz, A., & Mishra, Y. K. (2024). Smart Nanofibers: Synthesis, Properties, and Scopes in Future Advanced Technologies. *Advanced Materials Technologies*, 9(3), 2301392. <https://doi.org/10.1002/admt.202301392>
- Chezanoglou, E., & Goula, A. M. (2021). Co-crystallization in sucrose: A promising method for encapsulation of food bioactive components. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 262-274. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.036>
- Cui, W., Zhou, Y., & Chang, J. (2010). Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Science and Technology of Advanced Materials*, 11(1), 014108. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/11/1/014108>
- De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P., & De Clerck, K. (2009). The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of Materials Science*, 44(5), 1357-1362. <https://doi.org/10.1007/s10853-008-3010-6>
- Eghbal, N., & Choudhary, R. (2018). Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. *LWT*, 90, 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.036>

- Elaissaoui, I., Sayeb, S., Ounif, I., Ferhi, M., Karima, H., & Ennigrou, D. J. (2024). Preparation and characterization of acetate cellulose electrospun nanofibers membrane: Potential application on wastewater treatment. *Heliyon*, 10(12), e32552. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32552>
- Erkoç, E., Tüzün, İ., Korkmaz, F., San Keskin, N. O., & Koçberber Kiliç, N. (2024). Nanoremediation of toxic dyes using a bacterial consortium immobilized on cellulose acetate nanofiber mats. *Polymer Engineering & Science*, 64(1), 339-349. <https://doi.org/10.1002/pen.26551>
- Fadil, F., Affandi, N. D. N., Misnon, M. I., Bonnia, N. N., Harun, A. M., & Alam, M. K. (2021). Review on Electrospun Nanofiber-Applied Products. *Polymers*, 13(13), 2087. <https://doi.org/10.3390/polym13132087>
- Faridi Esfanjani, A., & Jafari, S. M. (2016). Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 532-543. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.06.053>
- Ge, Q., Rong, S., Yin, C., McClements, D. J., Fu, Q., Li, Q., ... Chen, S. (2024). Calcium ions induced ι -carrageenan-based gel-coating deposited on zein nanoparticles for encapsulating the curcumin. *Food Chemistry*, 434, 137488. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137488>
- Georgia, Frakolaki, Virginia, Giannou, Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(9), 1515-1536. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773>
- Günaydin, S., Sağlam, C., & ÇetiN, N. (2022). Tarımsal Ürünlerin Kurutulmasında Kullanılan Kurutma Yöntemleri. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 5(1), 30-45. <https://doi.org/10.55257/ethabd.1096697>
- Hami, S. S. B. M., Affandi, N. D. N., Indrie, L., & Harun, A. M. (2024). Removal of Remazol Red Dyes Using Zeolites-Loaded Nanofibre Coated on Fabric Substrates. *Coatings*, 14(9), 1155. <https://doi.org/10.3390/coatings14091155>
- Hernández-Santana, A., & Dussán, J. (2018). *Lysinibacillus sphaericus* proved to have potential for the remediation of petroleum hydrocarbons. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 27(6), 538-549. <https://doi.org/10.1080/15320383.2018.1490888>
- Hsu, C., & Shivkumar, S. (2004). *N, N*-Dimethylformamide Additions to the Solution for the Electrospinning of Poly(ϵ -caprolactone) Nanofibers. *Macromolecular Materials and Engineering*, 289(4), 334-340. <https://doi.org/10.1002/mame.200300224>
- Huang, X., Du, L., Li, Z., Yang, Z., Xue, J., Shi, J., ... Zou, X. (2024). Lactobacillus bulgaricus-loaded and chia mucilage-rich gum arabic/pullulan nanofiber film: An effective antibacterial film for the preservation of fresh beef. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266, 131000. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131000>
- Huong, D. T. M., Chai, W. S., Show, P. L., Lin, Y.-L., Chiu, C.-Y., Tsai, S.-L., & Chang, Y.-K. (2020). Removal of cationic dye waste by nanofiber membrane immobilized with waste proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 3873-3884. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.020>

- Iqbal, M., Zafar, N., Fessi, H., & Elaissari, A. (2015). Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 496(2), 173-190. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.057>
- İnan Çinkır, N., Ağçam, E., & Akyıldız, A. (2019a). Karotenoid Bileşenlerin Mikroenkapsülasyonu ve Kullanılan Yöntemlerdeki Son Gelişmeler. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(12), 2170-2183. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i12.2170-2183.2944>
- İnan Çinkır, N., Ağçam, E., & Akyıldız, A. (2019b). Karotenoid Bileşenlerin Mikroenkapsülasyonu ve Kullanılan Yöntemlerdeki Son Gelişmeler. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(12), 2170-2183. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i12.2170-2183.2944>
- Islam, M. S., Ang, B. C., Andriyana, A., & Afifi, A. M. (2019). A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications. *SN Applied Sciences*, 1(10), 1248. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1288-4>
- Jiang, H., Yao, M., Chen, J., Zhang, M., & Hong, W. (2024). Advances in biomass-based nanofibers prepared by electrospinning for energy storage devices. *Fuel*, 355, 129534. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.129534>
- Kalluri, L., Duan, Y., & Janorkar, A. V. (2024). Electrospun polymeric nanofibers for dental applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 141(15), e55224. <https://doi.org/10.1002/app.55224>
- Kandasamy, S., & Naveen, R. (2022). A review on the encapsulation of bioactive components using spray-drying and freeze-drying techniques. *Journal of Food Process Engineering*, 45(8), e14059. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14059>
- Kazemi, M., Akbari, A., Sabouri, Z., Soleimanpour, S., Zarrinfar, H., Khatami, M., & Darroudi, M. (2021). Green synthesis of colloidal selenium nanoparticles in starch solutions and investigation of their photocatalytic, antimicrobial, and cytotoxicity effects. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(6), 1215-1225. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02515-9>
- Kırtıl, E., & Öztop, M. H. (2014). *Enkapsülasyon Maddesi Olarak Lipozom ve Gıdalarda Kullanımı: Yapısı, Karakterizasyonu, Üretimi ve Stabilitesi*.
- Klein, S., Kuhn, J., Avrahami, R., Tarre, S., Beliaevski, M., Green, M., & Zussman, E. (2009). Encapsulation of Bacterial Cells in Electrospun Microtubes. *Biomacromolecules*, 10(7), 1751-1756. <https://doi.org/10.1021/bm900168v>
- Li, D., & Xia, Y. (2004). Direct Fabrication of Composite and Ceramic Hollow Nanofibers by Electrospinning. *Nano Letters*, 4(5), 933-938. <https://doi.org/10.1021/nl049590f>
- López-Rubio, A., Sanchez, E., Sanz, Y., & Lagaron, J. M. (2009). Encapsulation of Living Bifidobacteria in Ultrathin PVOH Electrospun Fibers. *Biomacromolecules*, 10(10), 2823-2829. <https://doi.org/10.1021/bm900660b>
- Ma, J., Xu, C., Yu, H., Feng, Z., Yu, W., Gu, L., ... Hou, J. (2021). Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology. *Food Hydrocolloids*, 111, 106381. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106381>
- Maccaferri, E., Ortolani, J., Mazzocchi, L., Benelli, T., Brugo, T. M., Zucchelli, A., & Giorgini, L. (2024). *Toughened CFRPs via PEO Nanofibers: Effect of Water Ageing on Delamination*. 2300253, 10-12. <https://doi.org/10.1002/masy.202300253>

- Malki, E. H., Bahraouy, R. E. L., Belaouni, M., Lahmadi, K., Souly, K., & Zouhdi, M. (2024). A Rare Case of Corneal Abscess Caused by *Lysinibacillus Sphaericus*. 3362, 104-105. <https://doi.org/10.36348/sjpm.2024.v09i05.005>
- Mehta, M., Sharma, M., Pathania, K., Jena, P. K., & Bhushan, I. (2021). Degradation of synthetic dyes using nanoparticles: A mini-review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(36), 49434-49446. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15470-5>
- Munteanu, B. S., & Vasile, C. (2021). Encapsulation of Natural Bioactive Compounds by Electrospinning—Applications in Food Storage and Safety. *Polymers*, 13(21), 3771. <https://doi.org/10.3390/polym13213771>
- Norouzi, Z., & Abdouss, M. (2024). Preparation and characterization of β -cyclodextrin grafted chitosan nanofibers via electrospinning for dye removal. *Polymer Bulletin*, 81(4), 3641-3677. <https://doi.org/10.1007/s00289-023-04872-9>
- Ozacar, S., & Keskin, N. O. S. (2023). Development of reusable and long-term storable bacteria attached nanofiber mats for highly efficient removal of Cr(VI) and reactive dye from wastewater. *Environmental Engineering Research*, 29(1), 230036-0. <https://doi.org/10.4491/eer.2023.036>
- Özcan, T., & Altun, B. (t.y.). *Süt Ürünlerinde Probiyotik Bakterilerin Mikroenkapsülasyonu I: Enkapsülasyon Teknikleri*.
- Periyasamy, A. P. (2024). Recent Advances in the Remediation of Textile-Dye-Containing Wastewater: Prioritizing Human Health and Sustainable Wastewater Treatment. *Sustainability*, 16(2), 495. <https://doi.org/10.3390/su16020495>
- Rui, X.-Y., Jia, B.-Z., Wen, P., Luo, L., & Xu, Z.-L. (2024). Applications of electrospun nanofibers in food safety and quality analysis: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 152, 104686. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104686>
- Sahu, A., & Poler, J. C. (2024). Removal and degradation of dyes from textile industry wastewater: Benchmarking recent advancements, toxicity assessment and cost analysis of treatment processes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(5), 113754. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.113754>
- San Keskin, N. O., Celebioglu, A., Uyar, T., & Tekinay, T. (2015). Microalgae immobilized by nanofibrous web for removal of reactive dyes from wastewater. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 54(21), 5802-5809. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b01033>
- Sari, I. P., & Simarani, K. (2019). Decolorization of selected azo dye by *Lysinibacillus fusiformis* WIB6: Biodegradation optimization , isotherm , and kinetic study biosorption mechanism. <https://doi.org/10.1177/0263617419848897>
- Senthil Muthu Kumar, T., Senthil Kumar, K., Rajini, N., Siengchin, S., Ayrilmis, N., & Varada Rajulu, A. (2019). A comprehensive review of electrospun nanofibers: Food and packaging perspective. *Composites Part B: Engineering*, 175, 107074. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107074>
- Shishir, M. R. I., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 34-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018>
- Škrlec, K., Zupančič, Š., Prpar Mihevc, S., Kocbek, P., Kristl, J., & Berlec, A. (2019a). Development of electrospun nanofibers that enable high loading and long-term viability of probiotics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 136, 108-119. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.01.013>

- Škrlec, K., Zupančič, Š., Prpar Mihevc, S., Kocbek, P., Kristl, J., & Berlec, A. (2019b). Development of electrospun nanofibers that enable high loading and long-term viability of probiotics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 136(November 2018), 108-119. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.01.013>
- Subramani, T., & Ganapathyswamy, H. (2020). An overview of liposomal nano-encapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3545-3555. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04360-2>
- Timilsena, Y. P., Akanbi, T. O., Khalid, N., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2019). Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1276-1286. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144>
- Timilsena, Y. P., Haque, Md. A., & Adhikari, B. (2020). Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(06), 481-508. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>
- Venmathi Maran, B. A., Jeyachandran, S., & Kimura, M. (2024). A Review on the Electrospinning of Polymer Nanofibers and Its Biomedical Applications. *Journal of Composites Science*, 8(1), 32. <https://doi.org/10.3390/jcs8010032>
- Wang, K., Chen, E., Lin, X., Tian, X., Wang, L., Huang, K., ... Su, W. (2024). Core-shell nanofibers based on microalgae proteins/alginate complexes for enhancing survivability of probiotics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 271, 132461. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132461>
- Wen, P., Wen, Y., Zong, M.-H., Linhardt, R. J., & Wu, H. (2017). Encapsulation of Bioactive Compound in Electrospun Fibers and Its Potential Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(42), 9161-9179. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02956>
- Wen, P., Zong, M.-H., Linhardt, R. J., Feng, K., & Wu, H. (2017). Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 70, 56-68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.009>
- Yilmaz, M., & Ekren, N. (2023). DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN GELİŞTİRİLEN TAŞINABİLİR ELEKTROEĞİRME CİHAZLARI. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26(4), 1061-1077. <https://doi.org/10.17780/ksujes.1323114>
- Yuan, C.-G., Guo, S., Song, J., Huo, C., Li, Y., Gui, B., & Zhang, X. (2017). One-step fabrication and characterization of a poly(vinyl alcohol)/silver hybrid nanofiber mat by electrospinning for multifunctional applications. *RSC Advances*, 7(8), 4830-4839. <https://doi.org/10.1039/C6RA26770J>
- Zabot, G. L., Schaefer Rodrigues, F., Polano Ody, L., Vinícius Tres, M., Herrera, E., Palacin, H., ... Olivera-Montenegro, L. (2022). Encapsulation of Bioactive Compounds for Food and Agricultural Applications. *Polymers*, 14(19), 4194. <https://doi.org/10.3390/polym14194194>
- Zamel, D., Hassanin, A. H., Ellethy, R., Singer, G., & Abdelmoneim, A. (2019). Novel Bacteria-Immobilized Cellulose Acetate/Poly(ethylene oxide) Nanofibrous Membrane for Wastewater Treatment. *Scientific Reports*, 9(1), 18994. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55265-w>
- Zeng, J., Haoqing, H., Schaper, A., Wendorff, J. H., & Greiner, A. (2003). Poly-L-lactide nanofibers by electrospinning – Influence of solution viscosity and

electrical conductivity on fiber diameter and fiber morphology. *E-Polymers*, 3(1). <https://doi.org/10.1515/epoly.2003.3.1.102>

Zhang, Z., Huang, Y., Wang, R., Dong, R., Li, T., Gu, Q., & Li, P. (2024). Utilizing chitosan and pullulan for the encapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* ZJ316 to enhance its vitality in the gastrointestinal tract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 260, 129624. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129624>



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Tüzün İmre

Uyruğu : TC.

Eğitim

Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet tarihi

Yüksek lisans

Ankara Hacı
Bayram Veli
Üniversitesi.

2024

Lisans

Gazi Üniversitesi

2021

Lise

Dr. Şerafettin
Tombuloğlu
Anadolu Lisesi

2016

İş Deneyimi

Yıl

Yer

Görev

2019

Gazi Üniversitesi Hastanesi

Stajyer Biyolog

Yayınlar

1. Tuzun, I., & San Keskin, N. O. (2024). Long-Term Storage and Reusability of Living Bacteria-Encapsulated Polyethylene Oxide Nanofiber Mats for Reactive Dye Removal. *Journal of Nano Research*, 84, 83-94.
2. Ballikaya, E., Babadag, S., Tüzün, I., San Keskin, N. O., & Çelebi-Saltık, B. (2024). Proanthocyanidin/ β -Cyclodextrin Inclusion Complex in Electrospun Polylactic Acid Nanofibers: Preparation, Characterization, and Effects on Dental Pulp Stem Cells. *ACS Applied Polymer Materials*, 6(5), 2889-2901.



