



**JELATİN HİDROJELLERİN KONTROLLÜ GÜBRE
SERBESTLEŞMESİ VE MİKROBİYAL GÜBRE SİSTEMLERİNDE
ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Neşe YOLTAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞUBAT 2012
ANKARA**

Neşe YOLTAY tarafından hazırlanan “JELÂTİN HİDROJELLERİN KONTROLLÜ GÜBRE SERBESTLEŞMESİ VE MİKROBİYAL GÜBRE SİSTEMLERİNDE ETKİNLİKLERİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mehlika PULAT

.....

Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Belma ASLIM

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Mehlika PULAT

.....

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

.....

Tarih :20/02/2012

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Neşe YOLTAY

**JELÂTİN HİDROJELLERİN KONTROLLÜ GÜBRE SERBESTLEŞMESİ VE
MİKROBİYAL GÜBRE SİSTEMLERİNDE ETKİNLİKLERİNİN
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Neşe YOLTAY

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Şubat 2012**

ÖZET

Sunulan çalışmada bir seri jelâtin hidrojel sentezlenerek kontrollü gübre serbestleştiren ve azot üreten mikrobiyal sistemlerin üretilmesi ve etkinliğinin araştırılması hedeflendi. Bu amaç doğrultusunda farklı oranlarda glutaraldehit (GA) çapraz bağlayıcısı ve jelâtin kullanılarak hazırlanan hidrojellerin jelleşme yüzdeleri, şişme/bozunma davranışları incelendi. Çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla jelleşme yüzdelerinin arttığı belirlendi. Tüm hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla arttığı ve yaklaşık 48 saat sonra dengeye ulaştığı gözlemlendi. Çapraz bağlayıcı miktarının artması ile şişme değerlerinin azaldığı saptandı. 30°C’de ve pH=7,4’de en çok şişen hidrojelin J-3, en az şişenin ise J-2 hidrojeli olduğu bulundu. Sıcaklık artışıyla şişme değerlerinin arttığı ve 40°C’de en yüksek değerine ulaştığı belirlendi. Hidrojellerin düşük pH değerlerinde çok şiştiği, pH arttıkça şişme değerlerinin düştüğü ve pH=5,0’den sonra şişme değerlerinin yeniden yükseldiği saptandı. Hidrojellerin bozunma davranışları 37°C’de ve pH=7,4’de incelendi ve jelleşme yüzdesi en düşük olan J-3 hidrojelinin 34 günde, jelleşme yüzdesi en fazla olan J-2 hidrojelinin ise yaklaşık olarak 60 günde tamamen bozunduğu gözlemlendi.

Jelâtin hidrojellerin tarımsal uygulamaları üç farklı aşamada incelendi. İlk aşamada hidrojellere mono amonyum fosfat (MAP), ikinci aşamada amonyum nitrat (AN) yüklenerek salım çalışmaları yürütüldü. Farklı hidrojeller için MAP salımının 38 ile 55 saat, AN salımının ise 36 ile 50 saat arasında tamamlandığı saptandı. Tarımsal uygulama çalışmasının üçüncü aşamasında, seçilen bir jelatin hidrojele nitrat üretiminde etkin bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisi yerleştirildi. Hazırlanan bu hidrojel sistemin nitrat üretim verimleri ve raf ömürleri incelendi. Hidrojel içerisine yerleştirilen bakterilerin mikrobiyal gübre olarak işlev gördükleri ve etkinliklerini 14 gün süreyle koruyabildikleri belirlendi.

Bilim Kodu : 201.1.117
Anahtar Kelimeler : Hidrojel, jelatin, kontrollü gübre serbestleşmesi, MAP, AN, mikrobiyal gübreler, *Pseudomonas aeruginosa-78*
Sayfa Adedi : 124
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Mehlika Pulat

**THE GELATIN HYDROGELS CONTROLLED FERTILIZER RELEASING
AND EXAMINATION OF THEIR ACTIVITIES IN MICROBIAL FERTILIZER
SYSTEMS**

(M.Sc. Thesis)

Neşe YOLTAY

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

February 2012

ABSTRACT

In the presented study, it is aimed to research the effectiveness of releasing controlled fertilizer and nitrogen producing microbial systems by synthesizing a series of gelatin hydrogels. To fulfill this aim, the gelatin percentages, swelling/decomposition behaviors of hydrogels that were prepared by using different rates of glutaraldehyde (GA) cross linking and gelatin are examined. It was determined that the gelatin percentages increased when the amount of cross linking was increased. It was observed that the swelling values of all hydrogels were risen throughout the time but after 48 hours they reached their balance. It was found out that when the cross-linking amount increased, the swelling values decreased. It was seen that at 30°C and pH=7,4 the most swollen hydrogel was J-3, the least swollen one was J-2. With the increase in heat, the swelling values heightened and they reached their highest values at 40°C. The hydrogels bulged very much at low pH values, when pH increased the swelling values dropped and after pH=5,0 the swelling values decreased again. The decomposition behaviors of hydrogels were examined at 37°C and pH=7,4. The lowest gelation percentage of J-3 hydrogel decomposed in 34 days, the

highest gelation percentage of J-2 hydrogel decomposed in almost 60 days.

The gelatin hydrogels agricultural applications were examined in three stages. In the first stage mono-ammonium phosphate (MAP), in the second stage ammonium nitrate (AN) hydrogels were loaded to hydrogels. For different hydrogels, it was found out that the MAP release completed between 38 and 55 hours, and the AN release completed between 36 and 50 hours. At the third stage of the agricultural application study a *Pseudomonas aeruginosa*-78 bacterial which is an efficient bacterial in the hydrogel nitrate production was placed in a chosen gelatin hydrogel. This prepared hydrogel system nitrate production yields and their shelf-lives were examined. It was determined that the bacteria placed in hydrogel functioned as microbial fertilizer and kept their effectiveness for 14 days.

Science Code : 201.1.117

Key Words : Hydrogel, gelatin, controlled release fertilizer, MAP, AN, microbial fertilizers, *Pseudomonas aeruginosa*-78

Page Number : 124

Adviser : Prof. Dr. Mehlika Pulat

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, tezimin yönlendirilmesi ve yürütülmesi sırasında büyük emeği geçen ve yakın ilgisiyle beni sürekli destekleyen sayın hocam Prof. Dr. Mehlika PULAT'a, bakteri çalışmalarım esnasında deneyimlerinden ve yardımlarından faydalandığım sayın Prof. Dr. Belma ASLIM'a, Yrd. Doç. Dr. Şahlan Öztürk'e, biyoloji bölümü asistanı Betül AYDIN'a, yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini hep hissettiğim sevgili arkadaşlarım Nilgün UĞURLU, Dr. Mehmet SAĞLAM ve tüm lab-116'da bulunan çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca her türlü sıkıntılarımda ve sevinçlerimde hep yanımda olan, benden desteklerini ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevdiğim sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xivv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xv
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xixx
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bitki Besin Elementleri.....	3
2.2. Tarımsal Verimi Arttırıcı Sistemler (Gübreler).....	5
2.3. Gübrelerin Sınıflandırılması.....	6
2.4. Organik Gübreler.....	7
2.5. Kimyasal Gübreler.....	9
2.5.1. Azotlu gübreler.....	9
2.5.2. Fosforlu gübreler.....	14
2.5.3. Potasyumlu gübreler.....	18
2.6. Kompoze Gübreler.....	19
2.7. Mikrobiyal Gübreler.....	19
2.8. Gübrelerin Toprağa Uygulanma Şekli.....	22
2.9. Hidrojeller.....	24

Sayfa

2.9.1. Hidrojellerin sınıflandırılmaları.....	25
2.9.2. Hidrojellerde suyun konumu.....	29
2.9.3. Hidrojellerin şişmesi.....	29
2.9.4. Hidrojellerin şişmesini etkileyen faktörler.....	30
2.10. Kontrollü Serbestleşme Sistemlerinde Salım Mekanizmaları.....	32
2.11. Hidrojellerin Şişme Dinamiği.....	34
2.12. Kontrollü Serbestleşmenin Tarımsal Uygulamaları.....	35
2.13. Çalışmalarda Kullanılan Temel Kimyasal Maddeler.....	39
2.13.1. Jelâtin.....	39
2.13.2. Glutaraldehit (GA).....	41
2.13.3. Amonyum nitrat (AN).....	42
2.13.4. Mono-amonyum fosfat (MAP).....	42
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	43
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar.....	43
3.2. Jelâtin Hidrojellerin Hazırlanması.....	44
3.3. Jelâtin Hidrojellerin Jelleşme Yüzdelерinin Gravimetrik Olarak İncelenmesi.....	45
3.4. Jelâtin Hidrojellerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi.....	46
3.4.1. Jelâtin hidrojellerin zamana göre şişme davranışlarının incelenmesi.....	46
3.4.2. Jelâtin hidrojellerin sıcaklık değişimine göre şişme davranışlarının incelenmesi.....	47
3.4.3. Jelâtin hidrojellerin pH değişimine göre şişme davranışlarının incelenmesi.....	47
3.5. Jelâtin Hidrojellerin Bozunma Davranışlarının İncelenmesi.....	47

Sayfa

3.6. Jelâtin Hidrojellerden MAP Salım Çalışmaları.....	48
3.6.1. MAP'ın UV spektrofotometrik tayini.....	48
3.6.2. Jelâtin hidrojellere MAP yüklenmesi.....	50
3.6.3. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının incelenmesi.....	50
3.7. Jelâtin Hidrojellerden AN Salım Çalışmaları.....	51
3.7.1. AN'ın UV spektrofotometrik tayini.....	51
3.7.2. Jelâtin hidrojellere AN yüklenmesi.....	53
3.7.3. Jelâtin hidrojellerden AN salımının incelenmesi.....	53
3.8. Tarımsal Uygulamalarda Kullanılabilecek Jelâtin Temelli Mikrobiyal Gübre Çalışmaları.....	53
3.8.1. Nitrat miktarının UV spektrofotometrik tayini.....	54
3.8.2. Nitrat Üreten Bakteri Seçimi Çalışmaları.....	55
3.8.3. Farklı besiyerlerinde nitrat üretiminin takibi.....	56
3.8.4. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre hazırlanması ve nitrat üretiminin takibi.....	57
3.8.5. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin raf ömrünün belirlenmesi.....	58
4. DENEYSEL BULGULAR VE YORUM.....	59
4.1. Jelâtin Hidrojel Oluşum Mekanizması ve Jelleşme Yüzdeleri.....	59
4.2. Jelâtin Hidrojellerin Şişme Deneylerinin Sonuçları.....	61
4.2.1. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla değişimi.....	61
4.2.2. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin sıcaklıkla değişimi.....	63
4.2.3. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin pH ile değişimi.....	64
4.3. Jelâtin Hidrojellerinin Bozunma Davranışları.....	65

Sayfa

4.4. Jelâtin Hidrojellerden MAP Salımı.....	67
4.5. Jelâtin Hidrojellerden AN Salımı.....	71
4.6. Nitrat Üreten Bakteri Seçimi Çalışmaları.....	75
4.7. Farklı Besiyerlerinde Nitrat Üretiminin Takibi.....	77
4.8. Bakteri Yüklü Jelâtin Hidrojel Hazırlanması ve Bu Sistemin Nitrat Üretiminin Takibi.....	80
4.9. Jelâtin Temelli Mikrobiyal Gübre Sistemlerinin Raf Ömrünün Belirlenmesi.....	82
5. SONUÇLAR.....	87
KAYNAKLAR.....	90
EKLER.....	103
EK-1. Britton–Robinson tampon (BRT) çözeltilerinin hazırlanması.....	104
EK-2. Amonyum molibdat ve SnCl_2 çözeltisinin hazırlanması.....	105
EK-3. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin zamanla değişimi.....	106
EK-4. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin sıcaklıkla değişimi.....	107
EK-5. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin pH ile değişimi.....	108
EK-6. Hidrojellerin zamana karşı ortalama bozunma (% kütle kaybı) değerlerinin sonuçları.....	109
EK-7. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının (mg/mL) zamanla değişimi.....	110
EK-8. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının (%) zamanla değişimi.....	111
EK-9. MAP yüklü jelâtin hidrojelleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi.....	112
EK-10. Jelâtin hidrojeline yüklenmiş MAP'ın zamana karşı salım kinetik değerleri.....	113
EK-11. Jelâtin hidrojellerden AN salımının (mg/mL) zamanla değişimi.....	114
EK-12. Jelâtin hidrojellerden AN salımının (%) zamanla değişimi.....	115
EK-13. AN yüklü jelâtin hidrojelleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi.....	116
EK-14. Jelâtin hidrojeline yüklenmiş AN'ın zamana karşı salım kinetik değerleri.....	117
EK-15. Bakterilerin zamana karşı nitrat üretim (mg/mL) değerleri.....	118
EK-16. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin farklı besiyerindeki nitrat üretimi değerleri.....	119
EK-17. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin farklı ortamlardaki nitrat üretimi (mg/mL) değerleri.....	120

EK-18. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 3 gün sonundaki nitrat üretim değerleri.....	121
EK-19. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 7 gün sonundaki nitrat üretim değerleri.....	122
EK-20. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 14 gün sonundaki nitrat üretim değerleri.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	124



Çizelge
Sayfa

Çizelge 2.1. Bitki bünyesinde bulunması gereken bazı bitki besin elementlerinin azota göre sıralanışı ve ünite değerleri.....	4
Çizelge 2.2. Mineral topraklarda bazı besin maddelerinin bitkiler tarafında alımını mümkün kılan uygun pH aralıkları.....	6
Çizelge 2.3. Tarımda sıklıkla kullanılan azotlu gübreler ve azot içerikleri.....	11
Çizelge 2.4. Tarımda sıklıkla kullanılan fosforlu gübreler ve % P_2O_5 içeriği.....	16
Çizelge 2.5. Sıklıkla kullanılan potasyumlu gübreler ve K_2O içeriği.....	18
Çizelge 2.6. Organik tarımda kullanılan mikrobiyal gübrelerde yer alan bazı mikroorganizmaların özellikleri ve fonksiyonları.....	21
Çizelge 2.7. Hidrojellerin sınıflandırılması.....	26
Çizelge 2.8. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması.....	33
Çizelge 2.9. Difüzyon ile serbestleşme mekanizmasının analizi.....	35
Çizelge 3.1. Jelâtin hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan çözeltilerin miktarları.....	44
Çizelge 3.2. <i>Pseudomonas</i> bakteri türleri.....	55
Çizelge 3.3. PM sıvı besi yeri içeriği.....	56
Çizelge 3.4. Kullanılan farklı besi yerlerinin g/L olarak içerikleri.....	57
Çizelge 4.1. Hidrojellerin karakteristik özellikleri.....	61
Çizelge 4.2. MAP yüklü jelâtin hidrojellerine ait kinetik parametreler.....	70
Çizelge 4.3. AN yüklü jelâtin hidrojellerine ait kinetik parametreler.....	74

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil Sayfa

Şekil 2.1. Bitki gelişimi için mutlak gerekli besin elementlerinin sınıflandırılması.....	3
Şekil 2.2. Gübrelerin sınıflandırılması.....	7
Şekil 2.3. Azot döngüsünün şematik gösterimi.....	12
Şekil 2.4. Fosfor döngüsünün şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.5. Hidrojelin şematik olarak gösterilişi.....	25
Şekil 2.6. Kimyasal hidrojenlerin oluşum tepkimeleri.....	28
Şekil 2.7. Şişme kontrollü salım sisteminden madde salımı.....	34
Şekil 2.8. Gübrelerin polimerik sistemlerden salımı.....	37
Şekil 2.9. Jelâtinin kimyasal yapısı.....	40
Şekil 2.10. GA'in kimyasal yapısı ve kimyasal reaksiyonu.....	41
Şekil 3.1. MAP çözeltisinin tam spektrumu ($\lambda_{\max} = 710 \text{ nm}$).....	49
Şekil 3.2. MAP kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max} = 710 \text{ nm}$).....	50
Şekil 3.3. AN çözeltisinin tam spektrumu ($\lambda_{\max} = 305 \text{ nm}$).....	52
Şekil 3.4. AN kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max} = 305 \text{ nm}$).....	52
Şekil 3.5. Besiyerindeki AN tam spektrumu ($\lambda_{\max} = 305 \text{ nm}$).....	54
Şekil 3.6. Besiyerindeki AN'ın kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max} = 305 \text{ nm}$).....	55
Şekil 4.1. Çapraz bağlı jelâtin hidrojel oluşumunun tepkime mekanizması.....	60
Şekil 4.2. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin zamanla değişimi grafiği ($T=30^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=7,4$).....	62
Şekil 4.3. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin sıcaklıkla değişimi grafiği ($\text{pH}=7,4$; 48 saat).....	63

Şekil Sayfa

Şekil 4.4. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin pH ile değişimi grafiği (T=30°C; 48 saat).....	65
Şekil 4.5. Hidrojellerin ortalama bozunma (%) değerlerinin zamanla değişimi (37°C, pH=7,4).....	66
Şekil 4.6. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının zamanla değişimi grafiği.....	67
Şekil 4.7. Jelâtin hidrojellerinden toplam MAP salım grafiği.....	68
Şekil 4.8. MAP yüklü jelâtin hidrojelleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi grafiği.....	69
Şekil 4.9. Jelâtin hidrojellerden MAP'ın zamana karşı salım kinetiği.....	70
Şekil 4.10. Jelâtin hidrojellerden AN salımının zamanla değişimi grafiği.....	71
Şekil 4.11. Jelâtin hidrojellerinden toplam AN salım grafiği.....	72
Şekil 4.12. AN yüklü jelâtin hidrojellerin M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi grafiği.....	73
Şekil 4.13. Jelâtin hidrojellerinden AN'ın zamana karşı salım kinetiği.....	74
Şekil 4.14. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi.....	75
Şekil 4.15. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -99 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi.....	76
Şekil 4.16. <i>Pseudomonas putida</i> -G15 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi.....	76
Şekil 4.17. <i>Pseudomonas stutzeri</i> -T3 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi.....	77
Şekil 4.18. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin B-1 besiyerindeki nitrat üretimi.....	78
Şekil 4.19. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin B-2 besiyerindeki nitrat üretimi.....	78

Şekil 4.20. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin B-3 besiyerindeki nitrat üretimi.....	79
Şekil	
Sayfa	
Şekil 4.21. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin B-4 besiyerindeki nitrat üretimi.....	79
Şekil 4.22. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 biyomasının B-2 besiyeri ve çalkalamalı etüv içerisindeki nitrat üretimi.....	80
Şekil 4.23. Bakteri yüklü jelatin hidrojel sisteminin B-2 besiyeri ve çalkalamalı etüv içerisindeki nitrat üretimi.....	81
Şekil 4.24. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 biyomasının B-2 besiyeri ve çalkalamasız etüv içerisindeki nitrat üretimi.....	81
Şekil 4.25. Bakteri yüklü jelatin hidrojel sisteminin B-2 besiyeri ve çalkalamasız etüv içerisindeki nitrat üretimi.....	82
Şekil 4.26. Oda koşullarında 3 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	83
Şekil 4.27. Oda koşullarında 7 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	83
Şekil 4.28. Oda koşullarında 14 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	84
Şekil 4.29. Buzdolabı koşullarında 3 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	85
Şekil 4.30. Buzdolabı koşullarında 7 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	85
Şekil 4.31. Buzdolabı koşullarında 14 gün bekletilen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -78 bakterisinin nitrat üretimi.....	86

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim Sayfa

Resim 2.1. Bitkide görülen azot eksikliğinin belirtileri.....	10
Resim 2.2. Bitkide görülen fosfor eksikliğinin belirtileri.....	15
Resim 2.3. Bitkide görülen potasyum eksikliğinin belirtileri.....	19
Resim 2.4. Gübrenin toprağa uygulanma yolları a) serpmeye b) banda verme c) püskürtme d) yandan verme e) fertigasyon.....	23
Resim 2.5. Polimer içerisindeki gübrenin toprağa uygulanması ve bitki bünyesine alınması.....	38
Resim 3.1. Sentezlenen jelâtin hidrojellerin; a) tüp içerisindeki, b) diskler halinde kesilmiş olan yaş ve c) kuru halleri.....	45
Resim 3.2. MAP kalibrasyon çözeltileri.....	48
Resim 3.3. Bakteri yüklü hidrojel sistemlerinin görünümü.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
m_i	Ekstrakte edilmemiş jel kütlesi
m_s	Ekstrakte edilmiş jel kütlesi
w_o	Şişmemiş jel tabakanın kütlesi
w	Şişmiş jel tabakanın kütlesi
M_t	t zamanda salınan etken madde miktarı
M_∞	∞ zamanda salınan etken madde miktarı
k	Salım hız sabiti
t	Serbestleşme zamanı
n	Salım mekanizmasını belirleyen sabit

Kısaltmalar	Açıklama
MAP	Monoamonyum fasfat
AN	Amonyum nitrat
pl	İzoelektronik pH
GA	Glutaraldehit
BRT	Britton-Robinson Tamponu

1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılın sonlarında nüfus artışı sonucu beslenme problemlerinin yaşanması, tarımda üretimi arttırıcı tekniklerin uygulamasını gerektirmiş ve gerçekleştirilen teknolojik gelişmelerle birim alandan daha fazla verim elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla kullanılan çeşitli kimyasallar, tarım ilaçları ve suni gübreler insan sağlığını ve çevre koşullarını olumsuz yönde etkilemiştir. Bunun üzerine uzun dönemde insan sağlığı ve doğal kaynakların korunmasının yanı sıra, çevreye zarar vermeyen tarımsal teknolojilerin kullanıldığı, tarımda sürdürülebilirlik anlayışı benimsenmiştir [1,2,14]. Sürdürülebilir tarım, üretimden tüketime her aşaması kontrollü ve doğal kaynakları en iyi şekilde kullanarak uygun gübreleme sonucu sağlıklı tarımsal ürünler üretilmesini sağlayan bir tarım sistemidir.

Besin elementleri bitki gelişiminin önemli bir parçasıdır ve eksikliği tarımsal üretimde sıkça rastlanan sorunlardan biridir. Bu nedenle de optimum verim için dengeli gübreleme yapmak ve besin eksikliğini gidermek şarttır [3,4]. Bitki besleme programlarının başarısı, gelişme periyodu boyunca toprakta bulundurulan faydalı besin elementleri miktarının, bitkilerin gereksinim duydukları miktar ile örtüşmesine bağlıdır. Bu koşul, ancak gübre etkinliğinin artırılması yolu ile sağlanabilir [5]. Gübrelerin etkinliğini artırmak ve kapsadıkları besin elementlerinin bitkilerin yüksek oranda yararlanmalarını sağlamak kayıpları en aza indirip çevre üzerinde ortaya çıkabilecek olumsuzlukları azaltacaktır. Bunu sağlayacak yöntemlerden biri gübreleri yavaş çözünür formlarda üretmektedir. Böylelikle gübre serbestleşmesi kontrol altına alınır, gübre kayıpları ve çevre kirliliği en aza indirilebilir. Kontrollü serbestleşen gübre sistemleri teknoloji açısından yeni bir araştırma konusu yaratmıştır [6]. Bu yöntem sürdürülebilir tarıma öncülük eder. Kitosan, kitin, jelâtin, doğal kauçuk gibi bazı biyobozunur polimerik ürünler kontrollü tarım uygulamalarında kullanılmaktadır [6,7].

Jelâtin biyolojik olarak üretilen ve benzersiz işlevsel özelliklere sahip olan doğal ve biyobozunur bir polimerdir. Bu polimer hayvan derisinin, kemiğinin ve bağlayıcı dokuların temelini oluşturan, lifli bir protein olan kollajenin, termal bozunmasıyla elde edilir [8]. Biyobozunur olmasından ve toksik özelliğe sahip olmamasından dolayı eczacılıktan, gıda endüstrisine; endüstriyel uygulamalardan tıbbi alanlara kadar yaygın olarak kullanılır. Jelâtin sahip olduğu bu özelliklere rağmen düşük mekanik kararlılığa sahiptir; fakat fiziksel veya kimyasal olarak kolayca çapraz bağlanabildiği için mekanik kararlılığı artırılabilir [9,10].

Hidrojeller, suda çözünmeden şişebilen, üç boyutlu, çapraz bağlı polimerik yapılar olup, kimyasal veya fiziksel çapraz bağların varlığı nedeniyle suda çözünmezdirler. Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşimler, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir [11-13].

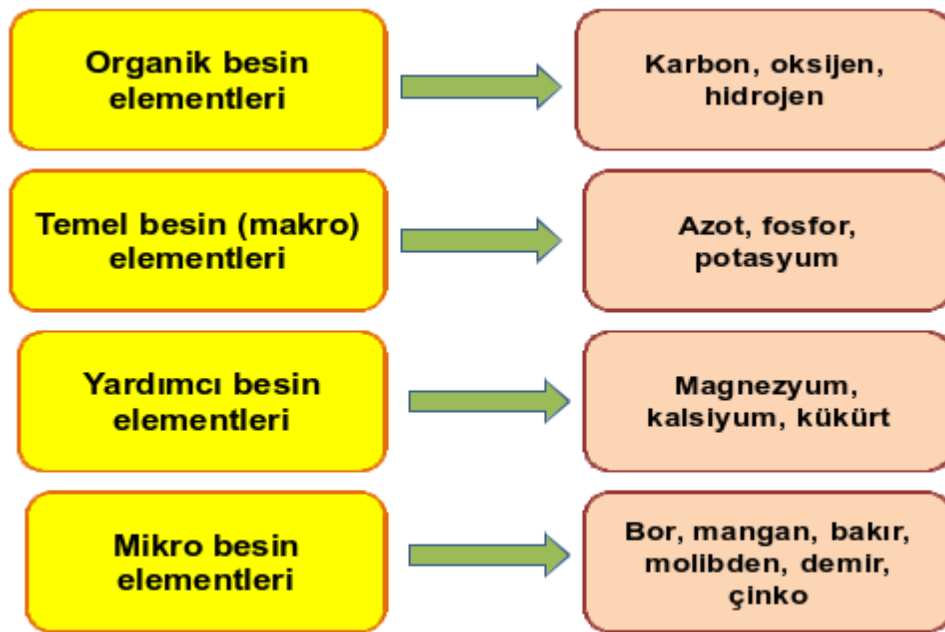
Sunulan bu çalışmanın iki amacı vardır: 1) Kontrollü gübre serbestleşmesi sağlayan jelâtin hidrojel sistemlerinin hazırlanması ve etkinliğinin araştırılması; 2) Azot üreten mikrobiyal jelâtin hidrojel sistemlerin üretilmesi ve etkinliğinin araştırılması. Bu bağlamda ilk olarak farklı oranlarda GA çapraz bağlayıcısı içeren bir seri jelâtin hidrojin hazırlanması ve bu hidrojellerin şişme/bozunma davranışlarının belirlenmesi hedeflendi. Gübre salımında ve mikrobiyal preparat hazırlamada kullanılacak hidrojeller, şişme/bozunma deneylerinin sonuçlarından yararlanarak seçildi. İnorganik gübre olarak MAP ve AN; mikrobiyal gübre uygulaması için ise iyi bir azot üreticisi olan *Pseudomonas aeruginosa-78* kullanılmasına karar verildi.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde çalışma konumuzla ilgili genel bilgiler alt başlıklar halinde sunulmuştur.

2.1. Bitki Besin Elementleri

Bitkilerin birkaç saat süre ile ısıtılıp içerdikleri suyun buharlaştırılması sonucu geriye kalan kısım bitkinin kuru maddesi olarak isimlendirilir. Bitkinin kuru maddesinin büyük kısmını karbonhidratlar, proteinler, aminoasitler ve lipitler oluşturur. Bunların yanında büyüme ve gelişmeleri için gerekli olan çeşitli mineral elementlerde bulunur [15-17]. Şekil 2.1'de temel bitki besin elementi olarak kabul edilen elementlerin neler olduğu gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Bitki gelişimi için mutlak gerekli besin elementlerinin sınıflandırılması

Organik besin elementleri su ve havadan fotosentez yoluyla veya topraktan organik atıklar aracılığıyla elde edilir. Bu elementler bitkinin kuru ağırlığının

%90'ını oluşturur [17,18]. Temel besin elementleri gübreleme programı ve tarımsal uygulamalarda yoğun şekilde kullanılan azot, fosfor ve potasyum elementleridir. Yardımcı besin elementleri ise temel besin elementlerinden sonra bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin elementleridir [19-21]. Mikro besin elementleri iz elementler olarak da adlandırılır ve bitki az miktarda da olsa bu elementlere ihtiyaç duyar. İz elementlerin eksikliği bitki için önemli sorun oluşturur [16,17]. Çizelge 2.1'de bitkisel üretim için gerekli elementler verilmiştir. Bu elementlerin bitki tarafından kullanılabilir formları ve gerekli miktarları da sunulmuştur. Ünite değeri, bitkinin ihtiyaç duyduğu besin miktarları arasında kıyaslama yapmamıza yardımcı olur. Bitki için ünite değeri düşük olan element ünite değeri yüksek olan element kadar önemli ve gereklidir [18,19,22].

Çizelge 2.1. Bitki bünyesinde bulunması gereken bazı bitki besin elementlerinin azota göre sıralanışı ve ünite değerleri

Bitki Besin Elementleri	Gerekli Ünite Değeri	Bitkinin Alabileceği Form
Azot	1000	NO_3^- , NH_4^+
Potasyum	500 - 600	K^+
Fosfor	250 - 300	H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}
Magnezyum	150 - 200	Mg^{+2}
Kalsiyum	250 - 300	Ca^{+2}
Kükürt	150 - 200	SO_4^{2-}
Çinko	5,0 - 7,0	Zn^{+2}
Mangan	2,5 - 3,0	Mn^{+2}
Demir	1,0 - 1,5	Fe^{+3} , Fe^{+2}
Bor	1,5 - 2,5	BO_3^{-3} , $\text{B}_4\text{O}_7^{-2}$
Bakır	0,5 - 0,6	Cu^+ , Cu^{+2}
Molibden	0,05 - 0,06	MoO_4

2.2. Tarımsal Verimi Arttırıcı Sistemler (Gübreler)

Gübre, tohumun çimlenmesinden olgunluk devresinin sonuna kadar bitki tarafından topraktan alınan ve bitkide gelişimi sağlayan maddelere denir. Kaliteli ürün elde etmek, verimliliği arttırmak ve sürdürülebilmek için toprakta

eksik olan elementlerin toprağa verilmesine gübreleme denir. Son 150 yılda sanayileşme sonucu büyüyen nüfus ile artan tarım topraklarında ürün artışı ve verimi arttırma amacıyla gübre kullanımı gerekli hale gelmiştir. Verimin arttırılmasındaki en etkili yollardan birisi gübrelemedir. 2020 yılında insanların besin ihtiyacı 1990 yılı sonlarındaki tarımsal üretimin 2-2,5 kat daha fazla yapılmasıyla karşılanabilecektir. 2050 yılında dünya tarım sistemi yaklaşık 9 milyar insanın besin ihtiyacını karşılamak için çalışacaktır [3,16,18].

Besin elementleri bitki gelişiminin önemli bir parçasıdır ve eksikliği tarımsal üretimde sıkça rastlanan sorunlardandır. Bu elementlerin eksikliği verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle de optimum verim için dengeli gübreleme yapmak ve besin eksikliğini gidermek şarttır [3,4]. Gübre kullanımı, özellikle bitkinin mevcut besin eksikliğini gidererek kök ve sürgün gelişimini hızlandırıp bitki büyümesini artırarak bitkinin düşük sıcaklık ve hastalıklara karşı daha dirençli olmasını sağlar [3,23]. Tüm bu ihtiyaçların karşılanması için su kaynaklarının ve toprak verimliliğinin iyi kullanılması gereklidir. Yeterli bitki besini elde edilebilmesi için sürdürülebilir tarım çalışmaları da geliştirilmelidir [14,16-18].

Dünyadaki bitkisel üretimin %99'u toprak ortamında yapılmaktadır. Toprak bitkiye yataklık yaparak bitkinin yapı taşı olan besin ve su ihtiyacını karşılar. Bitki ise topraktan aldığı su ve besin ile beslenerek gelişir, özümleme yolu ile organik madde üretir, depolar ve çeşitli ürünler sunar. Toprağın bitkinin besin ihtiyacını karşılaması için bazı şartlar vardır. Toprakta yeterli düzeyde besin maddesi olması bitkinin bu besinlerden yeterli düzeyde faydalanabileceği anlamına gelmez. Toprağın özellikle pH gibi çeşitli parametrelerinin uygun olması gerekir [24]. Ülkemizdeki toprakların pH değerleri genellikle bazik sınırlar içindedir. İdeal tarım topraklarının pH sınırı 6,5-6,8 arasında olması gerekirken ülkemizde bu sınır 7,2-8,5 arasındadır. Bu bazik ortam besin maddelerinin bitki tarafından alımını sınırlandırmaktadır. Bu durumda da eksik olan elementlerin bitkiye gübreleme yolu ile kazandırılması

gerekmektedir. Çizelge 2.2’de bu duruma ait en uygun pH aralıkları verilmiştir [15,16].

Çizelge 2.2. Mineral topraklarda bazı besin maddelerinin bitkiler tarafında alımını mümkün kılan uygun pH aralıkları.

Bitki Besin Elementi	Uygun pH Aralığı
Fosfor	6,5 - 7,2
Çinko	5,0 - 7,0
Demir	4,0 - 7-0
Bor	5,0 - 7,5
Mangan	5,0 - 6,5
Bakır	5,0 - 7,5

2.3. Gübrelerin Sınıflandırılması

Tarımsal uygulamaların vazgeçilmez elemanları olan gübreler, gerek içerikleri ve formları, gerekse kullanım alanları ve uygulama şekilleri açısından çok çeşitlilik göstermektedirler. Bu nedenle, üretilen veya doğal olarak temin edilen gübreleri belirli başlıklar altında sınıflandırma ihtiyacı vardır. Gübrelerin sınıflandırılmalarına ait bir şema Şekil 2.2’de sunulmuş ve bu sınıflar alt bölümlerde ayrıntılı olarak ele alınmıştır.



Şekil 2.2. Gübrelerin sınıflandırılması

2.4. Organik Gübreler

Bitkisel üretimde istenen standartlarda ürün yetiştirebilmek için toprağın canlılığı, biyolojik yapısı ve verimliliğinin korunması gerekmektedir. Bu nedenle de toprağın en uygun ve yeterli miktarda organik gübre ile gübrenmesi gerekir. Organik gübre kullanımı ile toprağa daha dengeli besin maddesi sağlanır ve böylece bitkinin sağlıklı şekilde büyümesi kolaylaşır. Toprağa verilecek organik maddenin bitki ihtiyacını karşılayacak düzeyde olması gerekir. Aksi durumda çeşitli çevre sorunlarına yol açabilir. Bu gübreler kimyasal gübrelere göre toprak verimliliğini daha fazla arttırarak, toprağı ve çevreyi daha az kirletici özelliktedirler. Organik gübrelemeye başta azot olmak üzere, fosfor, potasyum, kalsiyum, bakır, çinko, mangan, demir, bor ve molibden gibi besin elementleri toprağa kazandırılır [2,14,20,26].

Hayvan gübresi: Ahır ve kümes hayvanlarının katı ve sıvı dışkıları ile yataklık malzemenin karışımından elde edilen materyallere denilmektedir. Hayvansal

gübreler çok eski zamanlardan beri tarımsal üretimde kullanılmaktadır. Bu gübreler fazla miktarda bitki besini içerirler. Ahır gübrelerinin en önemli özelliği zengin mikroorganizma kaynağı olmalarıdır. Toprakla karıştırılan ahır gübresi, topraktaki mikroorganizma sayısını ve etkinliğini artırır. Ayrıca toprağa verilmesi sonucunda toprağın su tutma kapasitesini artırır [27].

Yeşil gübreler: Her hangi bir bitkiden önce ekilerek yetiştirilen ve erken hasat edilerek toprağa karıştırılan bitkidir. Yeşil gübre kullanımındaki amaç, toprağın organik madde içeriğini zenginleştirerek fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini iyileştirmektir. Toprağa karıştırılan bitki dokuları toprak içerisinde kolayca ayrışarak bünyesindeki besin maddelerini kolaylıkla toprak çözeltisine geçirir. Yeşil ve taze bitkilerin başka yerlerden toplanarak toprağa uygulanması da yeşil gübrelemede diğer bir yöntemdir [5,27].

Kompost: Bitki besin elementleri içeren su tutma kapasitesi ve organik madde miktarı yüksek materyallere kompost denir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı kısmen parçalanmış, tarımsal, endüstriyel ve şehir atıkları kompost olabilir. Kompostlanan materyal orijinal yapısını kaybederek farklılaşır. Kompost olarak; çöpler, evsel ve endüstriyel atıklar, park, bahçe ve pazaryeri atıkları, tarımsal faaliyet sonucu ortaya çıkan atıklar, arıtma çamurları gibi materyaller kullanılmaktadır. Kompostun elde edilme işlemine ise kompostlama denilmektedir [14,16].

Hümk asitler: Topraktaki canlı, cansız ya da çürümüş olan tüm organik maddelerin parçalanması sonucu oluşan son ürünlerdir. Oluşan bu ürünler toprağın su tutma kapasitesini ve havalanmasını artırarak daha iyi bir kök ve bitki gelişimi sağlarlar. Birçok araştırmacıya göre, toprakta bulunan hümk asitler çeşitli mikroorganizmaların gelişimini olumlu etkilemekte ve çoğalmaları üzerine uyarıcı etki yaparak bitkinin hastalık ve zararlılara karşı direncini arttırmaktadır [14,16].

Torf (turba): Fosilleşmesini tamamlamamış, bol organik atık içeren topraklara denilmektedir. Bataklık kıyıları, kurutulmuş göl ve bataklıklarda yıllarca biriken organik artıklar toprakla karışarak organik madde oranı yüksek bir karışım oluşturmaktadır. Torf toprakları organik maddece zengindir ve herhangi bir zehirli atık içermezler. Kokusuzdurlar ve zararlı mikroorganizma bulundurmazlar bu nedenlerden dolayı rahatlıkla tarımda kullanılabilirler.

2.5. Kimyasal Gübreler

Gübreler içerisinde en sıklıkla kullanılan tür, kimyasal gübrelerdir. Bunlara suni veya ticari gübreler de denilmektedir. Kimyasal gübreler, bileşimlerinde bir veya birden fazla bitki besin maddesini bir arada bulundururlar. Organik gübrelerinden farklı olarak yüksek miktarda bitki besin maddesi içerir ve suda kolayca çözünürler. Kimyasal gübreler bünyelerindeki bitki besin maddelerine göre aşağıda anlatıldığı şekilde sınıflandırılırlar [5,27].

2.5.1. Azotlu gübreler

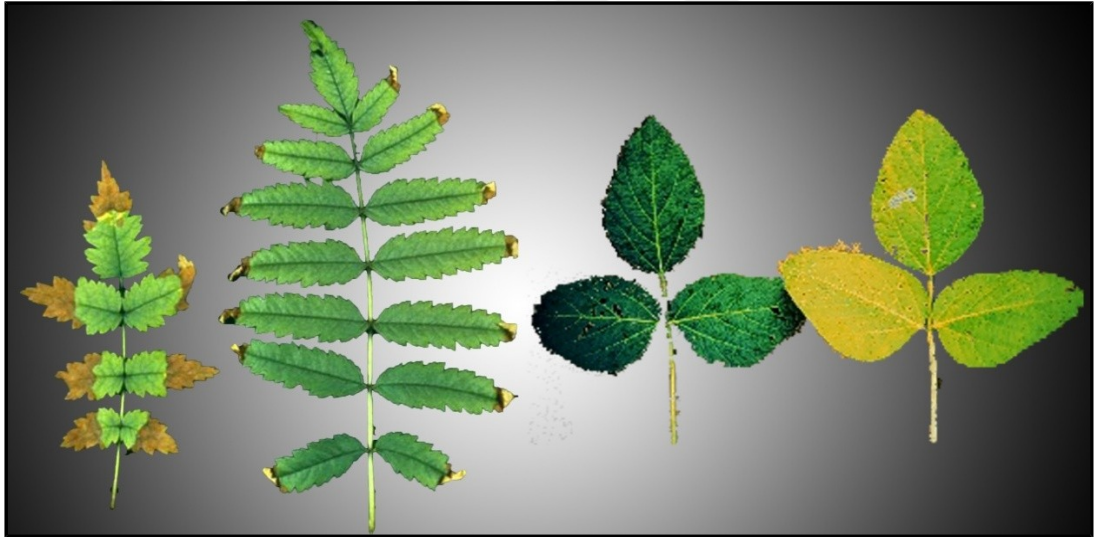
Gübreleme programları içerisinde azotun ayrı bir yeri vardır. Azot bazı organik maddelerin molekül yapısında yer alsa da bu içerik bitkinin ihtiyacını karşılayamaz. Bunun sonucu bitkideki eksikliğinin gübreleme yolu ile giderilmesi gerekir [16]. Azot eksikliğinde bitkilerde meydana gelen değişimler Resim 2.1'de gösterilmiştir. Azotun bitkideki önemli işlevleri şöyle sıralanabilir;

- Tüm hücreler azota ihtiyaç duyduğundan yaşam sistemi için gerekli besin elementidir,
- Yaprak ve gövde oluşumunu artırır,
- Güneş enerjisini bitki enerjisine dönüştüren klorofilin ana maddesidir,
- Klorofil içeren yeşil yaprak oluşumunu sağlar,

- Bitki yaprak, kök ve gövde gelişimi döneminde fazla miktarda azota ihtiyaç duyar.

Azot eksikliğinin belirtileri şöyle sıralanabilir:

- Açık yeşil veya sarı renkli yaprak oluşumu,
- Bitkinin büyüme ve gelişmesinde gecikme,
- Hastalık ve böceklerle karşı bitki direncinin azalması,
- Küçük meyve oluşumu ve daha az verim,
- Daha kısa raf ömrü.



Resim 2.1 Bitkilerde görülen azot eksikliğinin belirtileri

Azotun bitkiler tarafından alınabilirliği

Bitkilerin ana azot kaynağı atmosferdir. Bitkilerin bu kaynaktan faydalanabilmeleri için azot molekülleri arasındaki üçlü bağın ikili bağa indirgenmesi ve azotun hidrojen ve oksijenle birleşmesi gerekir. Yani bitkiler NH_4^+ ve NO_3^- formundaki azotu kullanabilirler [17,27]. Azotlu gübreler yapısındaki azotun kimyasal formuna göre sınıflandırılırlar. Hangi gübrenin

uygulanacağı ise toprağın özelliklerine bağlıdır. Bu gübrelerde NO_3^- ve NH_4^+ iyonları azot taşıyıcısıdır. NH_4^+ toprak tarafından NO_3^- iyonlarına göre daha fazla absorbe edildiğinden bitki tarafından alınma hızı daha düşüktür. Dünyada ve ülkemizde en fazla kullanılan azotlu gübrelerin bazıları Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Tarımda sıklıkla kullanılan azotlu gübreler ve azot içerikleri

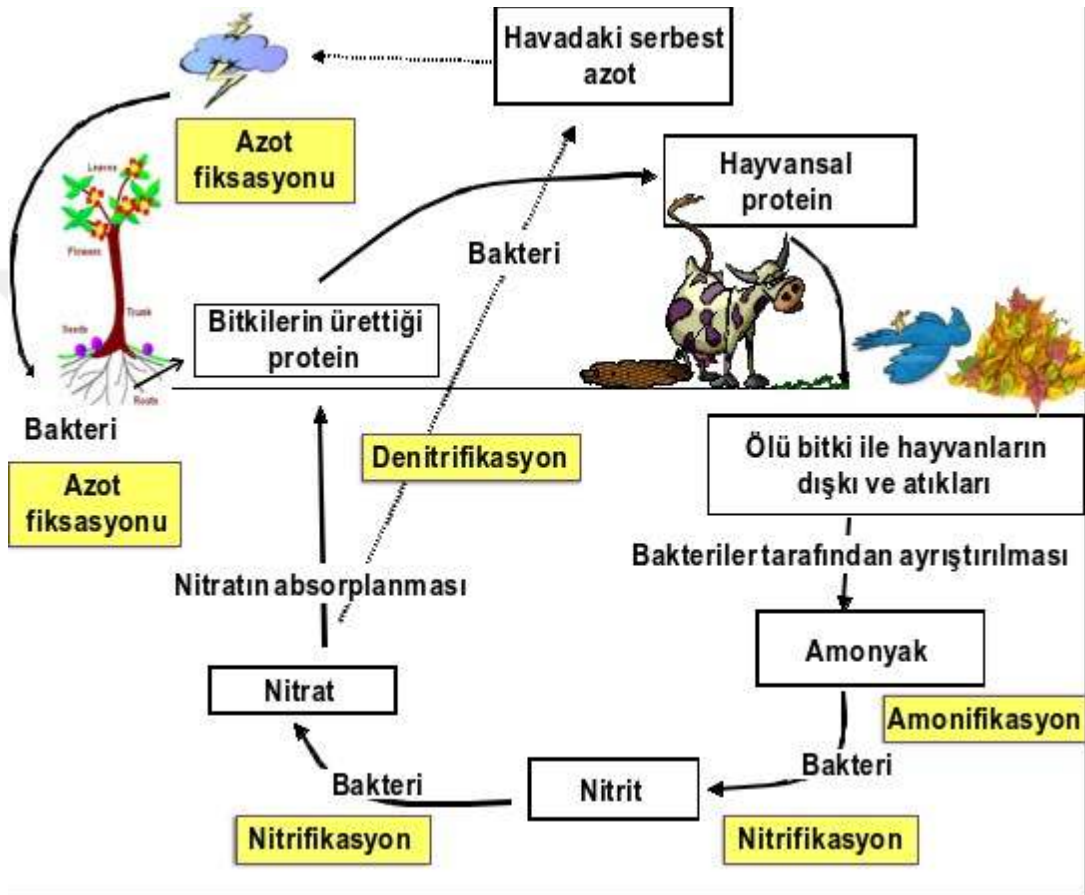
Gübrenin cinsi	Gübrenin adı	Azot içeriği (%)
Nitratlı gübreler	Sodyum nitrat	16,0
	Kalsiyum nitrat	15,5
	Potasyum nitrat	14,0
Amonyumlu gübreler	Amonyum sülfat	21,0
	Amonyum klorür	25,0
	Susuz amonyak	82,0
	Sulu amonyak	24,0
Amidli gübreler	Kalsiyum siyanamid	21,0
	Üre	46,0
Amonyum ve nitratlı gübreler	Amonyum nitrat	33,5
	Kalsiyum/amonyum nitrat	20,5 - 26,0
	Amonyum sülfat/Amonyum nitrat	26,0

Azot döngüsü

Atmosferde bulunan azot gazının canlı organizmalar tarafından kullanımı ile başlayan azot döngüsü, azotun özümleme ile yüksek yapılı proteinler haline getirilmesi, dokuların ölmesi, ayrıştırılması ve yeniden kullanılması sonucu sistem dışına çıkması aşamalarını izlemektedir [28]. Azot döngüsünün şematik gösterimi Şekil 2.3'de sunulmuştur. Azot dönüşümü sürecinde yer alan temel mekanizmalar;

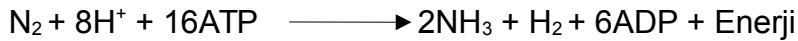
- Azotun bağlanması (fiksasyon),
- Ayrışma,
- Amonifikasyon,

- Nitrifikasyon,
- Denitrifikasyon ve
- Azotun canlılar tarafından tutulması basamaklarıdır.



Şekil 2.3. Azot döngüsünün şematik gösterimi

Fiksasyon: Azot döngüsünün ilk basamağıdır. Bu basamakta N_2 , NH_3 formuna dönüştürülür. Biyolojik azot fiksasyonu, toprak ve suda yaşayan fotosentetik *cyanobakterler* veya baklagil kökleri içinde yaşayan *Rhizobium bakterileri* gibi organizmaların nitrogenaz enzimleri aracılığıyla gerçekleştirilir. *Rhizobium bakterileri*, atmosferdeki azotunun amonyağa dönüştürülmesi işleminin yaklaşık % 90'ını üstlenmektedir. Azot fiksasyonunun yaklaşık %2'si nitrik asidi üreten azot monoksit ile ozon gazları arasındaki fotokimyasal reaksiyonlardan sağlanır [29,30,32].



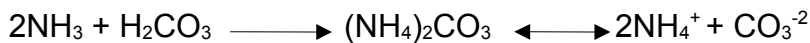
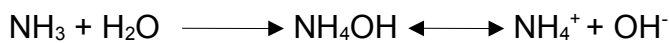
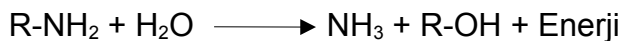
Nitrifikasyon: NH_4^+ iyonunun toprak bakterileri tarafından NO_3^- dönüştürülmesi basamağıdır ve iki aşamada yürür;



Amonyumu nitrite oksitleyen bakteriler *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* ve *Nitrosovibrio*; nitriti nitrata oksitleyen bakteriler ise *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus* ve *Nitrospina*'dır [28,29].

Asimilasyon: Fiksasyon ve nitrifikasyonla ortaya çıkan nitrat ve amonyağın bitki kökleri tarafından absorbe edilip, bitki proteinleri ve nükleik asitlere bağlanmasına asimilasyon denir [33].

Amonifikasyon: Canlılar azot içeren üre (idrar) ve ürik asit (kuşlar) gibi atıklar üretir. Bu maddeler ve ölü organizmalardaki azot ayrıştırılarak çevreye NH_3 olarak geri verilir. Biyolojik azot bileşiklerinin amonyağa çevrilmesine amonifikasyon denir. Amonifikasyon toprak ve sularda yaşayan bakteriler aracılığıyla gerçekleştirilir [29,31,32].



Denitrifikasyon: NO_3^- 'in N_2 gazına dönüştürülmesine denitrifikasyon denir. Denitrifikasyon bakterileri fiksasyon ve nitrifikasyon gerçekleştiren bakterilerin tersine azotu atmosfere geri döndürürler. Denitrifikasyon toprakta anaerobik ortamlarda yaşayan geniş bir canlı grubu tarafından gerçekleştirilmektedir. Topraklarda daha çok bu olayı yürüten bakteriler *Pseudomonas* cinsine ait *Alcaligenes*, *Flavobacterium* ve *Bacillus* türleridir [30-33].

2.5.2. Fosforlu gübreler

Gübreleme programları içerisinde fosfor önemli bir yer tutar. Toprakta bulunan fosfor, günümüz koşullarındaki yüksek verimli tarımsal üretim koşullarını sağlayacak miktarda değildir. Bu nedenle fosfor eksikliğinin gübrelemeyle giderilmesi gerekir. Fosfor yetersizliğinde bitkilerde meydana gelen değişimler Resim 2.2’de gösterilmiştir. Fosforun bitkideki önemli işlevleri şöyle sıralanabilir;

- ▢ Hücre bölünmesi ve yeni hücrelerin oluşması için gereklidir,
- ▢ Meristem dokuların büyümesini düzenler,
- ▢ Nükleik asitlerin oluşmasında görev alır,
- ▢ Şeker ve nişasta gibi maddelerin sentezi, taşınması ve enerjiye dönüşümünde rol oynar,
- ▢ Çimlenme ve tohum oluşumunda yer alır,
- ▢ Çiçek, meyve oluşumunda ve kök gelişiminde önemlidir.

Fosfor eksikliğinin belirtileri;

- ▢ Yaprak dökülmesi ve kök gelişiminin azalması,
- ▢ Kullanılmayan şekerin birikmesi sonucu yapraklarda koyu mavi renklenmeler,
- ▢ Sürgünlerde kısılma, incelme ve ipliksi bir gelişme,
- ▢ Zayıf tohum gelişimi
- ▢ Küçük şekilsiz meyveler ve daha kısa raf ömrü [15,16,19].



Resim 2.2. Bitkide görülen fosfor eksikliğinin belirtileri

Fosforun bitkiler tarafından alınabilirliği

Fosfor toprakta organik ve inorganik olmak üzere iki ana formda bulunur. Organik formdaki fosfor, topraktaki nükleik asitler, fosfolipit, koenzim, ATP ve inositol fosfatların yapısında ve bitkinin kullanamayacağı bir haldedir. Organik bileşikler parçalandıktan sonra fosfor inorganik formda açığa çıkar ve bitki tarafından kolayca kullanılabilir. Toprakta çözünmüş olarak bulunan fosfor, asidik koşullarda H_2PO_4^- , nötr koşullarda HPO_4^{2-} ve bazik koşullarda PO_4^{3-} halindedir. Bu iyonların bulunuş şekilleri toprağın pH'sına bağlıdır. Topraktaki H_2PO_4^- ve HPO_4^{2-} iyonları bitkiye köklerden alınır. Çok asidik durumlarda ortamda fazla miktarda çözünmüş alüminyum ve demir varsa fosfat bu iyonlar ile kompleks oluşturarak çöker. Bu durumda bitki fosfattan yararlanamaz [15,27,34].



Fosforlu gübreler fosfor elementini genellikle PO_4^{3-} şeklinde bulundururlar ve bu tür gübreler asidik topraklarda kolaylıkla çözünürler. Ancak bu bazik sınırlar içinde bulunan ülkemiz topraklarında çözünürlük sorunu

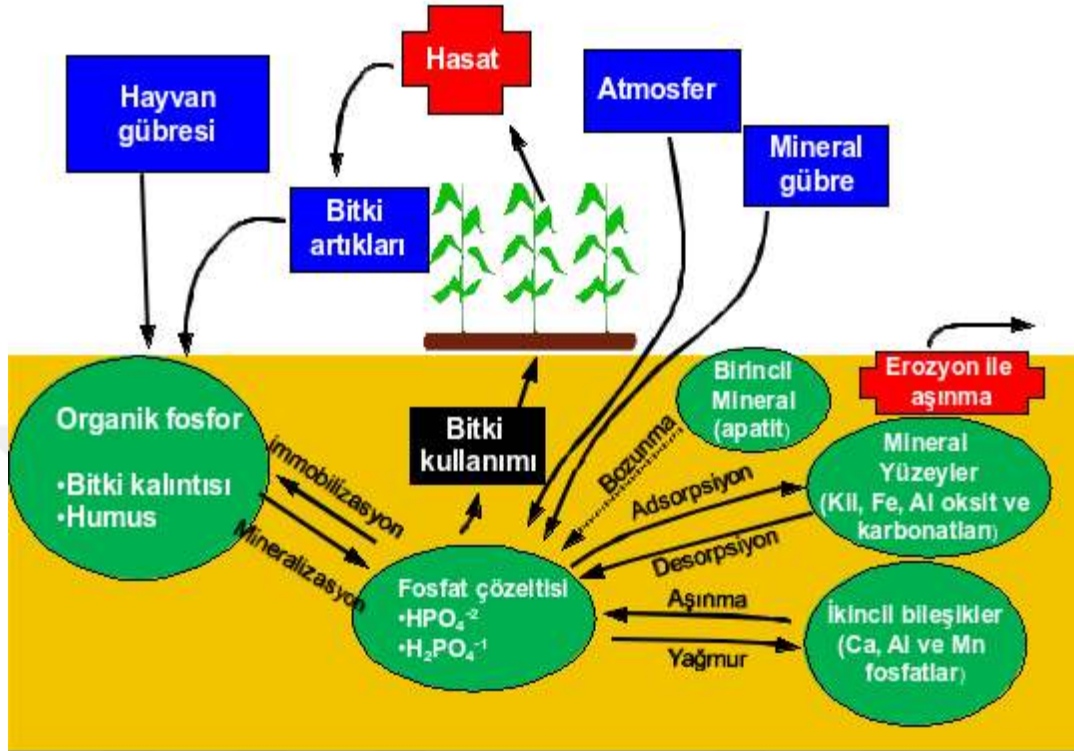
sergilemektedir. Dünyada ve ülkemizde en fazla kullanılan fosforlu gübrelerin bazıları çizelge 2.4’de verilmiştir.

Çizelge 2.4. Tarımda sıklıkla kullanılan fosforlu gübreler ve % P_2O_5 içeriği

Gübrenin cinsi	Gübrenin adı	P_2O_5 içeriği (%)
Suda çözünebilir fosfatlar	Süper fosfat	16,0 - 22,0
	Triple süper fosfat	43,0 - 46,0
	Mono-amonyum fosfat	48,0 - 50,0
	Di-amonyum fosfat	50,0 - 54,0
Sitrik asit veya amonyum sitratta çözünebilir fosfatlar	Tomas unu	14,0 - 18,0
	Renania fosfat	23,0 - 26,0
	Di-kalsiyum fosfat	39,0
Su, sitrik asit veya amonyum sitratta çözünemeyen fosfat	Kaya fosfatları	-

Fosfor döngüsü

Yaşam için gerekli önemli minerallerden biri fosfordur. Fosforun asıl kaynağı kayalarlardır. Fosfor, kayaların yapısında fosfat tuzları olarak bulunur. Kayaların aşınması ve erozyon gibi süreçlerle fosfat ırmaklara ve akarsulara karışır buradan okyanuslara taşınır. Okyanuslarda diğer minerallerle birlikte depolanır ve milyonlarca yıl burada bekler. Kabuk çarpışmaları sırasında deniz tabanının bir kısmı yüzeye çıkar ve karasal yapıyı oluşturur. Kayaların yeniden aşınmaya başlamasıyla da tekrar döngüye katılır. Oldukça yavaş ilerleyen bu döngüde, karadan okyanuslara daha hızlı bir geçiş yaşanır. Fosforun yeniden karaya dönüşü, yüz binlerce yıl alırken fosforun ekosistemlerdeki döngüsü daha hızlıdır [34]. Fosfor döngüsünün şematik açıklaması Şekil 2.4’de verilmiştir.



Şekil 2.4. Fosfor döngüsünün şematik gösterimi

Toprakta fosfor döngüsü toprak ve bitki arasında tamamlanır. Azot döngüsünün aksine fosfat döngüsü atmosfere bağlı değildir. Bitki gereksinim duyduğu fosforun büyük kısmını topraktaki çözünmüş olan inorganik fosfattan karşılar. Topraktaki bitkisel ve hayvansal kökenli organik bileşikler ise toprak organizmaları tarafından bitkilerin yararlanabileceği forma dönüştürülür ve döngü tamamlanır [35].

Toprakta bitki tarafından yararlanılabilir fosfor içeriği çok düşüktür. Bu nedenle toprakların bitki tarafından yararlanılabilir fosfor yönünden kimyasal fosforlu gübrelerle desteklenmesi gerekir. Bu tür gübrelerin ve fosfor içeren deterjanların aşırı kullanımı sonucu akarsu, göl ve denizlere taşınan fosfor buradaki bitki ve alglerin hızla çoğalmasına ve suyun oksijen bakımından fakirleştirilerek ötrofikasyona (kirlilik) yol açar [19,34-36].

2.5.3. Potasyumlu gübreler

Potasyumlu gübrelerin tamamı suda çözünür. Potasyum bitki bünyesinde katyon halinde bulunur. En önemli potasyumlu gübreler Çizelge 2.5’de, potasyum eksikliğinde bitkilerde görülen değişimler ise Resim 2.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Sıklıkla kullanılan potasyumlu gübreler ve K₂O içeriği

Gübrenin adı	K ₂ O içeriği (%)
Potasyum sülfat	48,0-52,0
Potasyum klorür	50,0
Potasyum karbonat	47,0
Potasyum nitrat	44,0

Potasyumun bitkideki görevi [15,16,19];

- Kök gelişimini teşvik eder,
- Kuraklığa ve soğuğa karşı bitkinin toleransını artırır,
- Bitkinin tuz-su oranını ayarlar,
- Bitkide enzim koenzim aktivasyonunda, fotosentezde, protein oluşumunda ve şeker taşınmasında görev yapar.
- Bitki tarafından azotun etkili bir biçimde kullanımını sağlar.

Potasyum eksikliğinin belirtileri;

- Yapraklarda açık yeşilden sarıya doğru dönen renk oluşumu,
- Yaprakların uç ve kenar bölümlerinde hücrelerde ölüm, kıvrılma ve dökülme,
- Bitki gelişiminin yavaşlaması, hastalıklara karşı direncin düşmesi,
- Saplarda zayıflama,

- Tohum ve meyve şekillerinin bozulması.



Resim 2.3. Bitkide görülen potasyum eksikliğinin belirtileri

2.6. Kompoze Gübreler

Kompoze gübreler birden fazla bitki besin maddesini içerirler. Türkiye topraklarında genellikle azot ve fosfor az, potasyum ise yeterli miktarda bulunduğu için kompoze gübreler genellikle potasyum içermeyecek şekilde hazırlanırlar. Bu gübreler birden fazla besin maddesini kapsadıkları için gübre uygulamalarında kolaylık ve ekonomik kazanç sağlarlar. Buna karşılık içinde bulunan bitki besin maddeleri oranının, ekilecek bitkinin isteğine her zaman uygun olmaması çözülmesi gereken bir sorundur. Ayrıca iklim ve toprak özelliklerine göre ihtiyaç duyulan besin elementlerini ayrı ayrı zamanlarda farklı metotlarla uygulanma olanağının bulunmaması gibi bir sakıncası da mevcuttur [5].

2.7. Mikrobiyal Gübreler

Yoğun tarım, aşırı gübre kullanımını zorunlu kılmaktadır. Yüksek verim için aşırı gübre kullanan tarım sistemleri çevresel problemlere ve doğal kaynakların tükenmesine yol açmaktadır. Tarımsal gübrelemede kullanılabilecek en önemli gübreler arasında mikrobiyal gübreler gelmektedir. Bu gübreler toprak ve bitki için gerekli olan mikroorganizmaları içermektedir.

Gübre uygulamasını minimum, bitki gelişme ve beslenmesini maksimum düzeye çıkarmak amacıyla rizosferden seçilmiş farklı mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar topraktaki minerallerin bitki besini haline gelmesini sağlamaktadır. Toprakta bakteri, mantar, aktinomiset, protozoa ve alg olmak üzere yaygın birçok mikroorganizma grubu bulunmaktadır. Serbest yaşayan, bitkisel gelişimi teşvik eden, biyolojik savaş ajanı veya biyogübre olarak kullanılan mikroorganizmalara bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) adı verilmektedir. Bu bakteriler daha çok *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir [5,37,38].

Biyogübreler sürdürülebilir tarım için büyük öneme sahiptir. Mikrobiyal türlerdeki geniş genetik çeşitlilik, farklı çevre koşullarına uyum sağlayabilen yüksek potansiyele sahip mikroorganizmaların belirlenebileceğini ortaya koymaktadır. Tarımsal ürünleri hastalıklara karşı korumak ve gelişimlerini arttırmak için, bu mikroorganizmaların uygun zamanda ve miktarlarda kullanımları sağlanmalıdır. Böylece kimyasal gübre uygulamaları sonucu oluşan problemler azaltılabilir. Kullanılacak olan bu mikroorganizmalar toprakta meydana gelen pek çok kimyasal değişimin içinde aktif rol almaktadır [37,39]. Yararlı mikroorganizmaların görevleri;

- Atmosfer azotunu fikse etmek,
- Organik atık ve kalıntıları parçalamak,
- Bitki besin maddelerinin yararlılığını arttırmak ve dönüşümlerini sağlamak,
- Toprak kökenli patojenleri baskılamak,
- Bitkilerin kullanacağı basit organik molekülleri üretmek,
- Çözünmeyen besin kaynaklarını çözünür hale getirmek.

Azot fikse eden bakteriler gaz halinde bulunan azotu bitkinin gelişmesi için bitki köklerinin kullanabileceği çözünebilir azotlu bileşikler haline dönüştürürler. *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* azot bağlama yeteneğinde olan bazı bakteri gruplarıdır. Bunlardan *Rhizobium* bakterileri baklagil köklerinde simbiyotik yaşayarak azot fikse ederler. Bu bakteriler bitki köklerini enfekte ederek oluşturdukları kök yumrular (nodül) içinde azot fiksasyonu yaparlar. Atmosfer azotu nodüllere geçerek nitrogenaz enzimi tarafından indirgenerek amonyağa çevrilir. Daha sonra amonyak aminoasit ve proteinleri oluşturmak üzere bitki içindeki madde dönüşümlerine katılır [36]. Mikrobiyal gübre olarak kullanılan bazı mikroorganizmaların özellikleri ve fonksiyonları Çizelge 2.6'da açıklanmıştır.

Çizelge 2.6. Organik tarımda kullanılan mikrobiyal gübrelerde yer alan bazı mikroorganizmaların özellikleri ve fonksiyonları

Mikroorganizma	Türü	Yaşadığı yer	İşlevi
<i>Rhizobium</i>	Bakteri	Toprakta baklagil bitkilerinin köklerinde yaşar ve köklerle ortak yaşam sürdürür.	Atmosferdeki azotu fikse ederek toprağa azot sağlar.
<i>Azotobacter</i>	Bakteri	Toprakta serbest yaşar.	Atmosferdeki azotu fikse ederek toprağa azot sağlar.
<i>Azospirillum</i>	Bakteri	Toprakta yalnız veya köklerle ortaklaşa yaşar.	Atmosfer azotunu fikse eder.
<i>Pseudomonas</i>	Bakteri	Bitki köklerinde yaşar.	Fosfatın çözünürlüğünü artırır ve azot fikse eder.
<i>Mycorrhiza</i>	Mantar	Bitki köklerinde yaşar.	Kendisini toprağa uzatır. Böylece bitkinin su ve besin almasını sağlar. Toprak yapısını geliştirerek bitkiye fosfor sağlar.

Pseudomonas cinsi bakteriler, *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde yer alırlar. Bu bakterilerin çoğu doğada toprak ve sularda yoğun olarak bulunur. Bazı türleri insan, hayvan ve bitki patojenidir [33]. Son derece önemli olan bu

cinsin türlerinin bazıları oksidaz pozitif, bazıları oksidaz negatiftir. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermantasyon yapmayan bakterilerdir. Türlerin tamamı katalaz pozitif, gram negatif, aerobik, polar flagellasıyla hareket edebilen çubuk şekilli bakterilerdir [39-40]. Bu durum mikrobiyal gübrelerin kullanımını kısıtlar. Ticari olarak sunulan mikrobiyolojik gübrelerin ambalajları içerisinde belirli bekleme süreleri vardır. Bu sürenin dolması durumunda mikroorganizmalar canlılığını kaybeder.

2.8. Gübrelerin Toprağa Uygulanma Şekli

Gübrelerden en iyi şekilde yararlanabilmek için sadece kullanılacak gübre çeşidi ve miktarını bilmek yeterli olmaz. Elde edilmek istenen faydanın artırılması için toprağa uygulanması gereken zamanın ve yöntemin de doğru şekilde yapılması gerekir. Gübreler toprağa genellikle aşağıda anlatılan şekilde uygulanır [19,27].

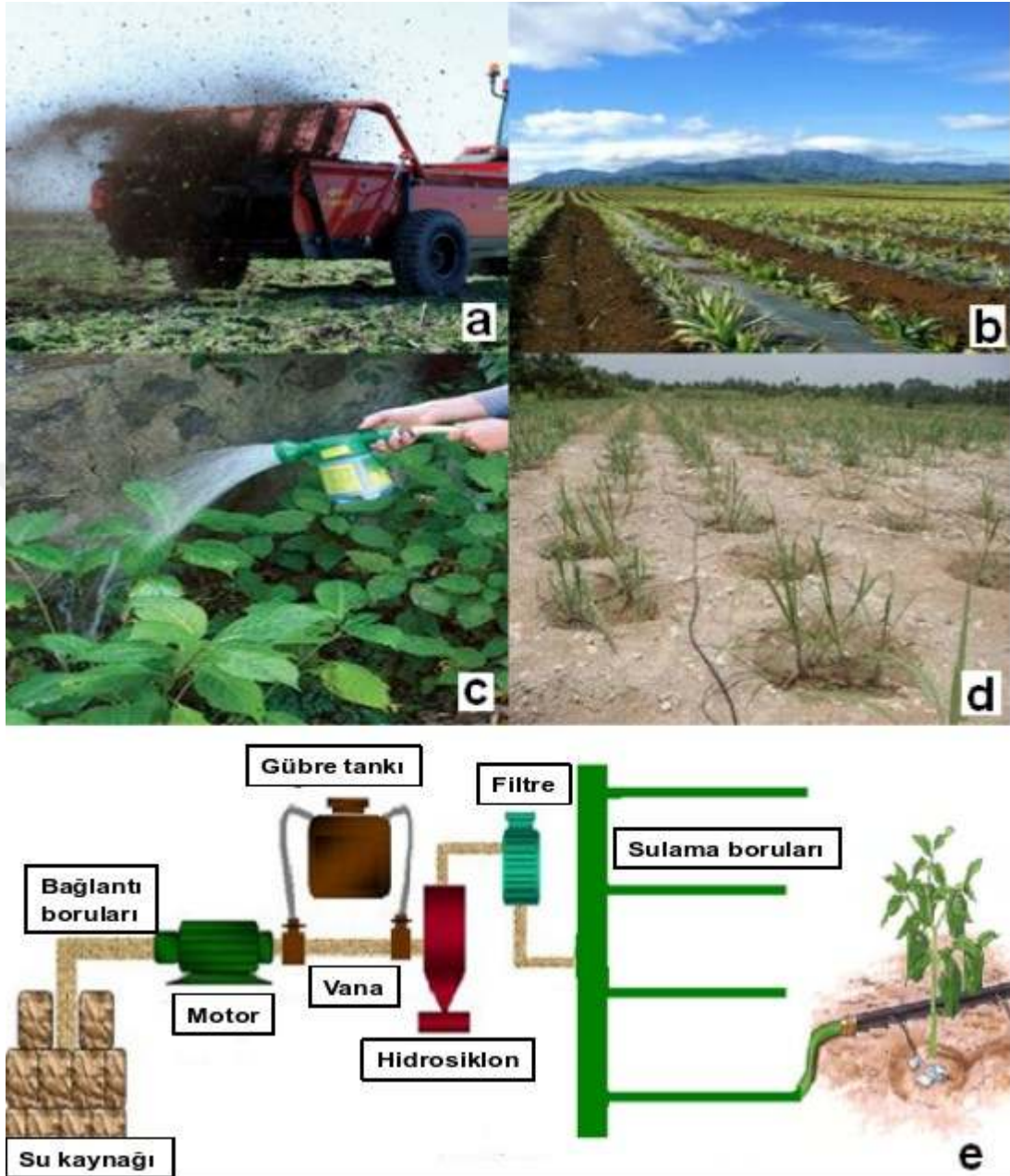
Serpme: Gübrenin elle veya gübre dağıtıcı aletlerle toprak yüzeyine serpilerek uygulanmasıdır.

Banda verme: Gübreler ekimden önce tohum veya fidenin 3-5 cm altına elle ya da makinelerle uygulanır.

Üstten veya yandan verme: Bitki çimlendikten sonra uygulanır.

Püskürtme: Bünyesinde bitkinin alabileceği formda bitki besin maddesi içeren sıvı haldeki gübre yapraklara püskürtülür. Genellikle iz elementler bu yolla uygulanır.

Fertigasyon: Bitkilerin gübre kullanım etkinliğinin artırılması amacı ile geliştirilen yöntemlerin başında gelmektedir. Bitki besinlerinin sulama suyuna katılarak toprağa uygulanması anlamına gelen fertigasyon, gübre etkinliğinin artırılmasında kullanılan önemli bir yöntemdir. Özellikle bitkinin isteği doğrultusunda, bitki besin elementlerinin istenilen konsantrasyonlarda ve zamanlarda uygulanması ile daha yüksek ve kaliteli ürün elde edilmesine olanak sağlaması fertigasyonun en olumlu yanı olarak değerlendirilmektedir. Gübrelerin toprağa uygulanması Resim 2.4'te sunulmuştur.



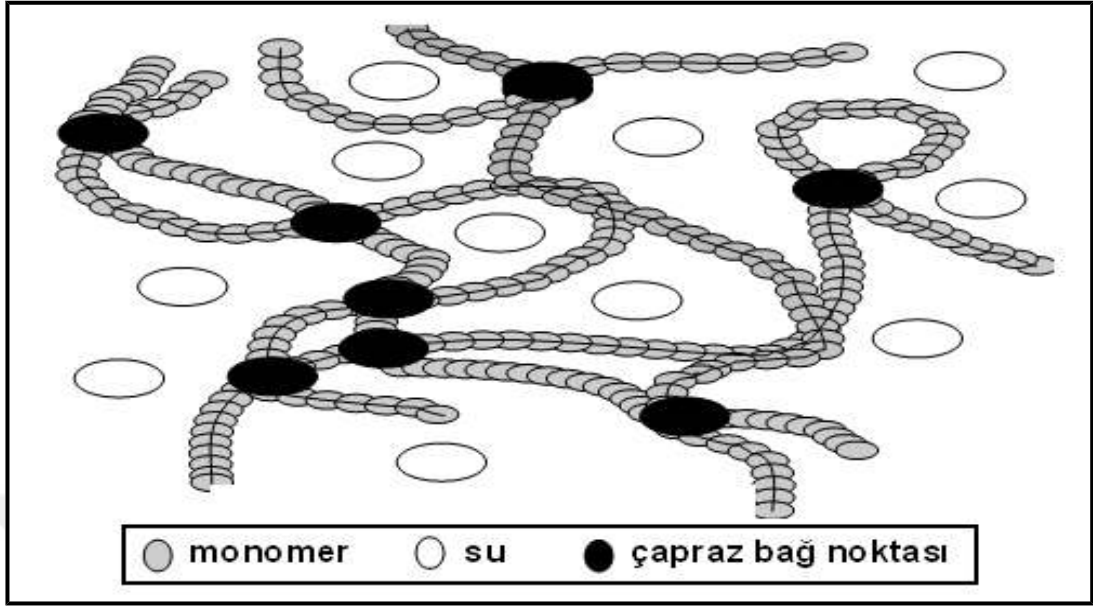
Resim 2.4. Gübrenin toprağa uygulanma yolları a) serpme b) banda verme c) püskürtme d) yandan verme e) fertigasyon

Gübre kullanımının ürün verimini arttırdığı bilinmektedir. Ancak gübrenin dengesiz ve aşırı kullanımı beraberinde birçok olumsuzluğu da getirmektedir [3,19]. Tarımda uygun şekilde kullanılmayan gübre, hormon ve tarım ilaçlarının çevreyi kirletmesi ve ürün kalitesini düşürmesi sıkça tartışılan bir konudur. Nitrat, fosfat, potasyum gibi iyonlar yer altı sularının ve içme sularının niteliğini doğrudan etkilemektedir. Bu iyonları içeren gübrelerin aşırı

kullanımı bitki için yarayışlı mikroorganizmaların aktivitesinin bozulmasına sebep olarak toprağın fiziksel ve kimyasal değişimi yanında biyolojik dengesinin bozulmasına doğrudan katkıda bulunur [19,26,36,41]. Aşırı gübre kullanımı bitki besinleri arasındaki düzenin bozulmasına toprağın yoksullaşmasına, tuzlanmasına ve çoraklaşmasına neden olacağından tarım yapılmasını engeller. Ayrıca hedef alan ve mahsulün de zarar görmesine yol açar [3]. Özellikle aşırı gübre tüketimi toprağın pH değerini değiştirerek toprak ekosisteminin bozulmasına, besin döngüsü ve enerji transfer işlemlerinin yürümemesine sebep olur [19,42]. Doğal kaynakların, çevrenin, toprak kalitesinin korunabilmesi ve sürdürülebilir tarımın devamı için uygulanan gübrenin sürekli takip altında tutularak toprağın belirli periyotlarda analiz edilmesi gerekir Bunun yanında uygun sulama programlarının geliştirilmesi de yer altı sularına geçebilecek gübre miktarını azaltabilir [41,43,44].

2.9. Hidrojeller

Hidrojeller, su içerisinde çözünmeden şişebilme özelliğine sahip, çapraz bağlı, üç boyutlu ağ yapılı polimerlerdir [13,45-48]. Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşim, hidrojen bağı, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir [12,13,49]. Hidrofobik etkileşimler, fiziksel çapraz bağ benzeri etkileşimler olduğundan jelin şişme davranışını doğrudan etkilemektedir. Fiziksel çapraz bağlı jellerin dış çevre değişimine fazlaca duyarlı oldukları bilinmektedir. Hidrojellerin en az bir bileşeninin hidrofilik özelliğe sahip olması gereklidir. Bu hidrofilik polimer moleküllerinin çapraz bağlanmaları, kimyasal bağlar ya da iyonik etkileşme, hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşme gibi diğer kohezyon kuvvetleri ile sağlanabilir [49-51]. Hidrojellere ait genel bir şematik gösterim Şekil 2.5’de sunulmuştur.



Şekil 2.5. Hidrojelin şematik olarak gösterilişi

Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su bulundurmaları, yumuşak ve esnek yapıları gibi birçok fiziksel özellikleri açısından canlı dokulara büyük benzerlik göstermektedirler [52,53]. Hidrojeller mühendislik ve klinik uygulamalarda biyolojik yapışkan, ağır metal iyonlarının çeşitli ortamlardan geri kazandırılması, ilaç salım sistemleri, immobilize enzim ve ayırma işlemleri gibi pek çok alanda kullanılırlar [13,54,55]. Yüksek su absorplama kapasitesine sahip oluşları nedeniyle peçete, çocuk bezi, toz bezi, gibi temizlik ürünlerinin üretiminde sıklıkla yer alırlar. Birçok avantajı olmasına rağmen, hidrojellerin düşük çekme dayanımı ve çabuk bozunma gibi kullanım alanlarını sınırlayan dezavantajları da bulunmaktadır [53,55,57].

2.9.1. Hidrojellerin sınıflandırılmaları

Hidrojeller çapraz bağlanma durumlarına, içerdikleri yan gruplara, hazırlama yöntemlerine ve fiziksel yapılarına göre geniş bir yelpazede sınıflandırılırlar [58,59]. Bu sınıflar Çizelge 2.7’de şematize edilmiştir.

Çizelge 2.7. Hidrojellerin sınıflandırılması

Hazırlama yöntemine göre	□ Homopolimer hidrojeller □ Kopolimer hidrojeller □ Çoklu polimer hidrojeller □ IPN hidrojeller
İçerdikleri yan gruplara göre	□ Nötral (iyonik olmayan) hidrojeller □ İyonik hidrojeller ✓ Anyonik (negatif yüklü) hidrojeller ✓ Katyonik (pozitif yüklü) hidrojeller ✓ Poliamfolitik hidrojeller
Fiziksel yapılarına göre	□ Amorf hidrojeller □ Yarı - kristalin hidrojeller □ Hidrojen bağlı hidrojeller
Çapraz bağlanma durumlarına göre	□ Fiziksel hidrojeller □ Kimyasal hidrojeller
Kaynaklarına göre	□ Doğal hidrojeller □ Sentetik hidrojeller
Su içeriklerine göre	□ Düşük şişme dereceli (%20-50) hidrojeller □ Orta şişme dereceli (%50-90) hidrojeller □ Yüksek şişme dereceli (90-99,5%) hidrojeller □ Süper-absorbant (>99,5 %) hidrojeller
Kimyasal kararlılıklarına göre	// Biobozunur hidrojeller // Biobozunmayan hidrojeller

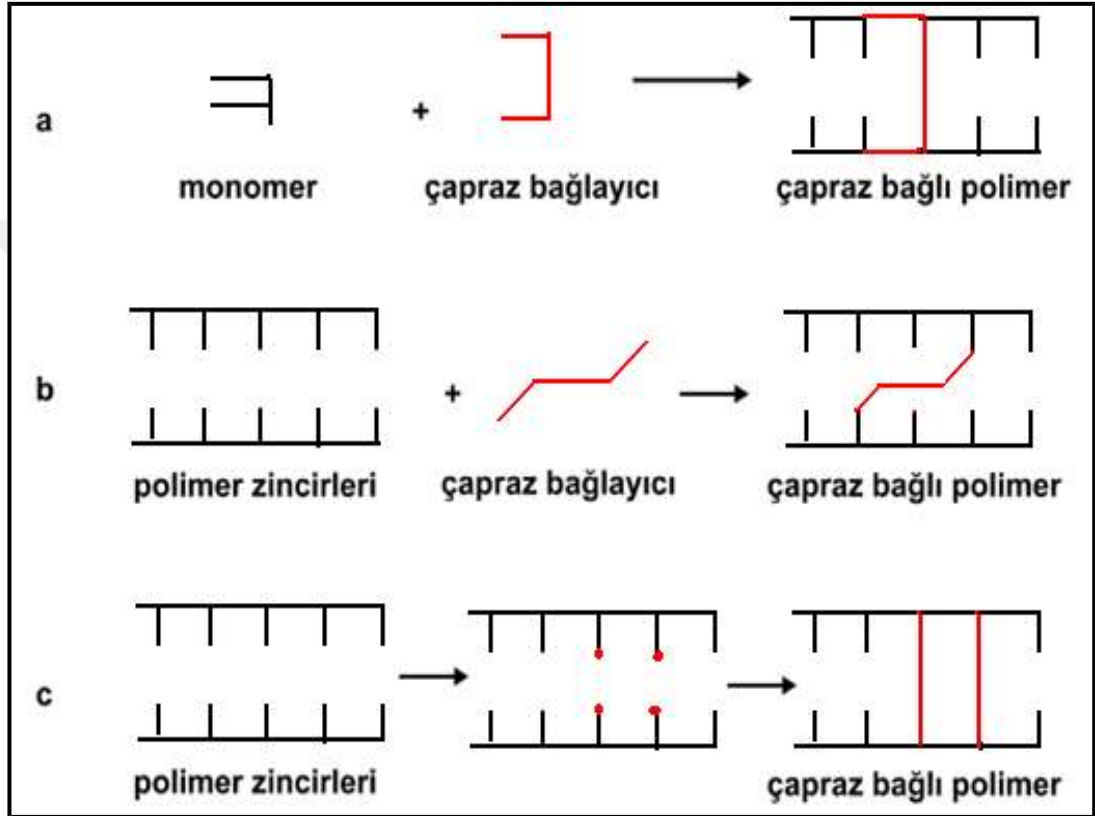
Homopolimerik hidrojel, tek tip hidrofilik monomer birimlerinden oluşan çapraz bağlı ağ yapılardır [60,61]. Kopolimerik hidrojel, içlerinden en az bir tanesi hidrofilik olacak şekilde iki farklı monomerin çapraz bağlanmasından oluşan yapılardır [62,63]. Çoklu polimerik hidrojel ise üç veya daha fazla monomerden oluşan yapılardır [54]. İç içe geçmiş polimerik ağ yapılı hidrojel (Interpenetrating network, IPN) her biri ağ yapısı biçiminde olan iki polimerin birleştirilmesi olarak tanımlanır [46,65].

İyonik olmayan hidrojel, yapılarında yüklü gruplar bulundurmeyen homopolimerik veya kopolimerik nötr hidrojelardır [59,66]. İyonik hidrojel ise anyonik, katyonik ve amfolitik hidrojel olarak üçe ayrılırlar. Anyonik hidrojel, karboksilik veya sülfonik asit gibi gruplar içeren negatif yüklü hidrojelardır. Katyonik hidrojel, amin gibi bazik gruplar içeren pozitif yüklü hidrojelardır. Poliamfolitik hidrojel, hem pozitif hem negatif monomer gruplarından oluşan çapraz bağlı polimerik ağ yapılardır [58,67-69].

Fiziksel hidrojel, fiziksel ağ yapılar veya birleşmiş ağ yapılar olarak da adlandırılırlar. Bu tür hidrojelde zincir-zincir etkileşimleri söz konusudur. Bu etkileşimler hidrojen bağı, iyonik çekimler, hidrofobik etkileşimler, çözücü kompleksleşmesi gibi ikincil kuvvetler olabilir [46]. Jelleşme; sıcaklık, polimer derişimi, hidrofobik bloğun uzunluğu ve polimerin kimyasal yapısına bağlıdır. İyonik etkileşimler sonucu hidrojel oluşumunda, zıt yüklü iki polimer arasında veya zıt yüklü bir çapraz bağlayıcı ile polimer arasında medyana gelen yük etkileşimleri sonucu hidrojel oluşur [70].

Kimyasal hidrojel, kovalent bağlarla çapraz bağlanmış jeldir. Kovalent bağları birbirinden ayrılmadıkça kimyasal hidrojel suda veya herhangi bir organik çözücünde çözünmezler. Kimyasal hidrojel oluşturmak için kullanılan üç farklı yöntem vardır. Birincisi iki veya çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcı madde varlığında suda çözünen monomerlerin polimerleştirilmesi yöntemidir. İkincisi suda çözünen polimerlerin fonksiyonel grupları üzerinden organik kimyasal tepkimeler aracılığıyla çapraz bağlanmaları yöntemidir. Bu gruplar

genellikle $-OH$, $-COOH$ ve $-NH_2$ dir. Üçüncüsü ise α , β ve γ gibi yüksek enerjili ışınlar ile çapraz bağlanma gerçekleştirilerek kimyasal hidrojel elde edilmesidir [46,59,71]. Kimyasal hidrojel oluşum tepkimeleri Şekil 2.7’de verilmiştir.



Şekil 2.6. Kimyasal hidrojellerin oluşum tepkimeleri

Çapraz bağlayıcı olarak kullanılabilecek maddeler, üzerinde hidroksil grupları ile birlikte iki veya daha çok fonksiyonlu gruplar içeren maddelerdir. Formaldehit, asetaldehit ve GA gibi aldehytler, maleik asit, okzalik asit, dimetilüre, poliakrolein, etilenglikoldimetakrilat, etilenbisakrilamid, diizosiyanatlar, divinilsülfat ve seryum içeren redoks sistemleri çapraz bağlayıcı olarak kullanılabilmektedir [71,72].

Hidrojellerde fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma bir arada bulunabilir. Yapıda aynı zamanda fiziksel bağlı iki veya üç zincirin birbirine bağlanması

sonucu melez çapraz bağı olarak adlandırılan fiziksel ağ oluşumu da meydana gelebilir [73].

2.9.2. Hidrojellerde suyun konumu

Çapraz bağlı homo veya kopolimerik yapıların hidrojel olarak tanımlanabilmesi için daha önce de belirtildiği gibi yapısında $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-COOR$ gibi hidrofilik fonksiyonel grupların bulunması gerekir. Bu gruplar su ile etkileşerek hidrojen bağlarını oluştururlar. Bağlı duruma geçen su ile çevrilen hidrofilik gruplardan dolayı jelin hacmi ve kütlesi artar, jel şişmeye başlar. Bir jeldeki hidrofilik grupların fazlalığı şişmeyi çok daha fazla artırır. Şişmiş bir hidrojelde üç tür su bulunmaktadır [72,74-76].

- Bağlı su; polimerin polar grupları ile hidrojen bağları yapan sudur.
- Ara yüzey suyu; polimerin hidrofobik grubu çevresinde toplanan sudur. Bağlı su gibi sıkıca bağlı değildir.
- Serbest ya da kütle suyu; çapraz bağlı polimerlerin gözeneklerini dolduran bu su, normal su gibi davranır. Yani bir bağ söz konusu olmadan su molekülleri fiziksel olarak gözenekler içinde yer alırlar.

2.9.3. Hidrojellerin şişmesi

Şişme, polimer yapısındaki belirli bir hacmin ani değişimidir. Şişme, gözenekli absorbanlar tarafından sıvı veya buharların tutulmasında olduğu gibi, yalnızca küçük çözücü moleküllerinin polimerin gözenek ve boşluklarına dolarak polimer fazına girmesi olayı değildir. Çözücü molekülleri yapısal boşluklara girerken polimerin yapılarının arasını zorla açar. Buna yapılar arası şişme denir. Eğer çözücü molekülleri yapıların içine girerse, makromoleküller zorla açılır. Buna da yapı içi şişme denir. Çözücü içeriği artarken, polimer yapısı yavaş yavaş birbirinden ayrılır ve çözeltide içinde çözücü bulunan oynak bir polimerik ağ yapı meydana gelir [77].

Şişme sınırlı veya sınırsız olabilir. Sınırsız şişme kendiliğinden çözeltiye dönüşen şişmedir. Böyle bir olaya çözünme denir. Bir polimerin çözünmesinde gözlenen temel özellik, polimer ve çözücü moleküllerinin büyüklük bakımından birbirlerinden binlerce kez farklı olmaları ve bu nedenle farklı hareketliliğe sahip olmalarıdır. Küçük molekülü bir sıvının hareketliliği çok yüksek, makromoleküllerin hareketliliği ise tersine çok düşüktür. Bu yüzden büyük moleküller bir çözücü fazına geçmekte zorlanırlar ve bir polimer çözünmeden önce içine çok miktarda sıvı alarak şişer. Sınırlı şişme küçük molekülü sıvılar ile polimerlerin etkileşmesidir. Sıvıların polimer tarafından tutulma aşaması sınırlandığı zaman, polimerin kendiliğinden çözünmesi mümkün olmaz yani polimer zincirleri tam olarak ayrılamazlar. Sonuçta birisi küçük molekülü sıvının polimerdeki çözeltisi ve diğeri saf haldeki küçük molekülü sıvı olmak üzere iki faz bir arada bulunur. Bu fazlar açıkça gözle görülebilir bir ara yüzey ile ayrılmıştır ve dengededir. Eğer polimer kimyasal bağlardan meydana gelen bir ağ yapıya sahipse, polimerin ısısal bozunma sıcaklığının altındaki herhangi bir sıcaklıkta zincirler birbirinden ayrılamazlar. Bu nedenle, çapraz bağlı polimerler doğal olarak çözünmez ama jel oluşturarak şişebilirler.

2.9.4. Hidrojellerin şişmesini etkileyen faktörler

Hidrojeller bir çözücü ile temas halinde olduğunda osmotik basınç dolayısıyla şişer ve jel hacminde önemli değişiklikler meydana gelir. Bu hacim değişimi tasarlanan hidrojellerin fiziksel ve kimyasal özellikleri dışında bulundukları ortamın sıcaklık, pH, çözücü bileşimi, elektrik alan, kullanılan polimerin izoelektronik noktası gibi pek çok parametreye de bağlıdır [10,13,57,78].

Hidrojellerin şişme özelliğini etkileyen önemli faktörlerden biri çapraz bağlanma oranıdır. Çapraz bağlanma oranı, çapraz bağlayıcının mol sayısının, polimerin tekrarlanan biriminin mol sayısına oranı olarak tanımlanır. Çapraz bağlanma oranının yüksek olması daha çok çapraz

bağlayıcının hidrojel yapının içine girmesi demektir. Yüksek çapraz bağlı hidrojellerin yapıları daha sıkidır ve bunlar düşük çapraz bağ oranlarına sahip olanlara nazaran daha az şişerler. Çapraz bağlanma derecesini değiştirmek hidrojele istenilen mekanik özellikleri kazandırmak için kullanılır. Yapıdaki çapraz bağlanma derecesini arttırarak sağlam bir jel elde edilebilir. Fakat yüksek derecede çapraz bağlanma daha kırılgan bir yapı meydana getirir. Bundan dolayı sağlam ve elastik özellikte bir hidrojel elde etmek için optimum çapraz bağlanma derecesinin belirlenmesi gerekir [10,13,79].

Polimerin kimyasal yapısı hidrojellerin şişme oranını etkileyen bir başka etkidir. Hidrofilik gruplara sahip olan hidrojeller, hidrofobik grup içerenlerle kıyaslandığında daha yüksek derecede şişerler. Hidrofobik gruplar, suyun bulunduğu ortamlarda kendi içlerine kapanarak su moleküllerinin yapıya nüfuz etmesine engel olurlar.

Çevreye duyarlı hidrojellerin şişme özellikleri belirli bazı uyarılardan etkilenebilir. Hidrojeller çevresel koşullarda meydana gelen küçük dış değişimler karşılığında oldukça büyük ve ani, fiziksel ve kimyasal değişimler gösterebilirler [80]. Bu tür hidrojeller “uyarı-cevap polimerleri”, “akıllı veya çevreye duyarlı polimerler” olarak adlandırılırlar. Bu amaçla hazırlanan hidrojeller dış ortamdan gelen herhangi bir uyarı sonucunda yapısal değişime uğrayarak tersinir fiziksel veya kimyasal özellikler gösterirler [81,82]. Hidrojel sistemlerinin değişik cevaplar vermesine neden olan uyarılar; fiziksel (sıcaklık, elektrik alan, ışık, basınç, ses, manyetik alan), kimyasal (pH, iyonlar) veya biyolojik/biyokimyasal (biyomolekül) olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Ortamin iyonik şiddet ve pH’sındaki değişiklikler bir grup hidrojinin şişme özelliklerini etkileyebilir [58]. Ana zincirde iyonlaşabilen gruplar içeren polimerler sulu sistemlerde polielektrolit oluştururlar. pH-duyarlı hidrojeller, polielektrolit yapısında olup, ortam pH’sına bağlı olarak tersinir iyonlaşma özelliği gösterirler. pH-duyarlı hidrojeller, pH değişimine karşı iyonlaşmayı ve

bu sebeple jelin özelliklerini değiştiren karboksilik asit ve primer aminler gibi asılı asidik veya bazik gruplar veya sülfonik asit ve kuarterner amonyum tuzları gibi güçlü asit ve bazları içerirler [83]. Uygun pH ve iyonik şiddetli sulu ortamda, asılı gruplar iyonlaşır ve polimer ağında sabit yükler ortaya çıkmaya başlar. Böylece elektrostatik itici güç oluşturarak, hidrojelin şişmesine veya büzülmesine neden olur [80,84,85].

Anyonik hidrojellerin asılı grupları, polimerik ağın pK_a 'sının altında iyonlaşmaz üstünde iyonlaşır. İyonların varlığıyla yüksek ozmotik şişme gücü yüzünden polimer pK_a 'sının üstündeki pH'da hidrojelin şişmesine yol açar. Katyonik hidrojeller için ise tam tersi olur, polimerik ağın pK_a 'sından daha düşük pH'da şişme söz konusudur. Poliamfolitik hidrojeller, yapılarında pozitif ve negatif yüklerin her ikisini de bulunduran çapraz bağlı polimerik ağ yapılarıdır. Polimer zinciri boyunca iyonik türlerin bulunması poliamfolitik hidrojellerin katı, sıvı ve çözelti halinin özellikleri üzerinde belirgin farklılıkların oluşmasına sebep olur. Zıt yüklü uçlar arasındaki çekim moleküller arası ve molekül içi iyonik etkileşimlere neden olur. Bu etkileşimler Van der Waals gücünden kuvvetli, kovalent bağdan zayıftır. Poliamfolitik hidrojellerin monomer bileşimi ile oynanıp hidrojel üzerindeki net yük değiştirilerek arzu edilen fonksiyonel özellikler elde edilebilir.

2.10. Kontrollü Serbestleşme Sistemlerinde Salım Mekanizmaları

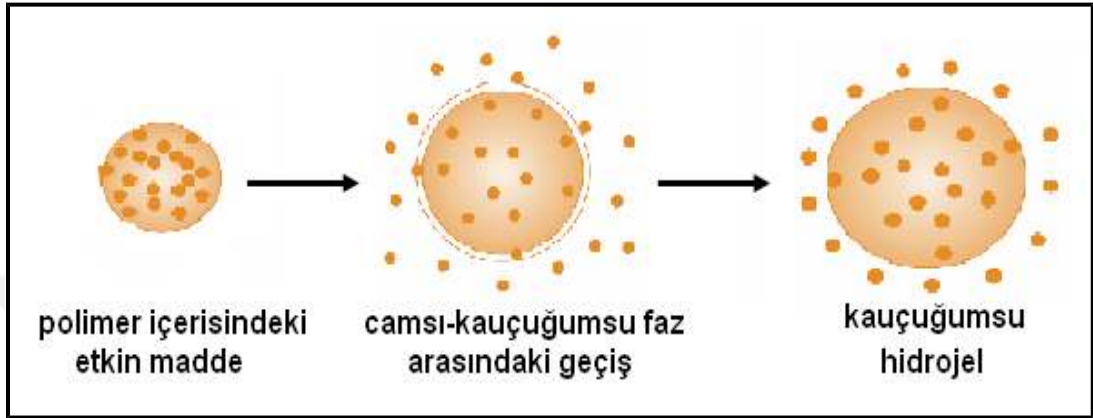
İlaç alanındaki çalışmalara konu olan kontrollü salım yapan sistemler zamanla çok çeşitli uygulama alanları bulmuştur. İlaç dozunu azaltma, ilaç salım aralığını uzatma, yan ve zararlı etkilerden arındırma hatta ilacı hedef bölgeye gönderme çalışmaları bu amaca yöneliktir ve bu beklentilere en iyi yanıt veren kontrollü salım sistemleridir. Bu sistemlerin tümünde etken maddenin salımı için uygulanan çeşitli mekanizmalar vardır [86]. Çizelge 2.8'de kontrollü salım yapan sistemlerin sınıflandırılması verilmiştir.

Çizelge 2.8. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması

<i>Salım (Serbestleşme) mekanizmasına göre</i>
<u>Difüzyon kontrollü sistemler</u>
□ Membran sistemler
□ Matriks sistemler
<u>Kimyasal kontrollü sistemler</u>
□ Vücutta aşınan sistemler
□ Zincire takılı sistemler
<u>Çözücünün harekete geçirdiği sistemler</u>
□ Şişme kontrollü sistemler
□ Ozmotik kontrollü sistemler
<u>Diğer sistemler</u>
□ Manyetik kontrollü sistemler
□ Midede şişen sistemler
// Uygulama yerine göre
□ Oküler, Nazal, Oral, Bukal, Transdermal,
□ İmplant, Vajinal, Servikal, İntrauterin, Rektal sistemler

Matriks sistemlerde etken madde polimer içinde çözünmüş ya da dağıtılmıştır. Matriks sistemlerin hazırlanması kolay ve ucuzdur. Bu sistemlerde difüzyon hızı sabit olduğundan, derinlerdeki moleküllerin matriksten çıkması çok daha uzun zaman alır, dolayısıyla salım hızı düşer. [87,88]. Şişme kontrollü sistemlerde etken madde bir hidrojel içinde çözülür veya dağıtılır. [89]. Son yıllarda toksik olmayışları nedeniyle doğal polimerler bu tür sistemlerin hazırlanmasında tercih edilmeye başlanmıştır. Hidrojellerin dinamik şişme davranışı polimerik ağın yapısı ve polimer-çözücü etkileşimleri ile kontrol edilebilir. Etken madde camsı polimerik ağın içine alındığı zaman Şekil 2.7’de görüldüğü gibi su geçişi etken madde salımı ile ilişkili olarak kontrol edilir. Etken madde başlangıç da şişen jel içinde dağılmış ya da

çözünmüş durumdadır. Çözücünün buharlaştırılması ile içinde dağılmış bir şekilde madde bulunduran camsı polimerik matriks elde edilir. Bu sistem tipik şişebilen kontrollü salım sistemidir [90,91].



Şekil 2.7. Şişme kontrollü salım sisteminden madde salımı

2.11. Hidrojellerin Şişme Dinamiği

Şişme kontrollü sistemlerin salım mekanizmaları Fick yasaları ile açıklanabilmektedir. Hidrojellerin şişme kinetikleri difüzyon kontrollü şişme (Fick tipi) ve relaksasyon kontrollü şişme (Fick olmayan tip) olmak üzere sınıflandırılabilir. Kontrollü serbestleşme ile ilgili temel eşitlik Eş. 2.1'de verilmektedir [70,92] :

$$M_t/M_\infty = k \cdot t^n \quad (2.1)$$

Bu eşitliklerde M_t , t anında serbestleşen etken madde miktarını; M_∞ , sonsuz zamanda serbestleşen madde miktarını; t, serbestleşme zamanını; k, ilaç/polimer sisteminin yapısal ve geometrik karakteristiklerini içeren kinetik sabiti ve n etken madde serbestleşme mekanizmasını karakterize eden üstel sayıyı gösterir. $\ln (M_t/M_\infty)$ değerleri $\ln (t)$ 'ye karşı grafiğe alındığında, difüzyon kinetiği ile ilgili k ve n büyüklükleri elde edilmiş olur [93].

Başlangıçta kuru halde bulunan polimer matriksten suda çözünen etken maddenin salımı, su absorpsiyonunu ve etken maddenin şişme kontrollü mekanizma ile desorpsiyonunu içerir. Böylece etken madde içeren camsı polimer matriks içerisine su nüfuz ederek polimeri şişirir. Birçok durumda polimer matrikse girmekte olan çözücü, camsı faz ile kauçuğumsu faz arasında bir sınır oluştururken şişme olayı da devam eder. Etken madde dağılımı açısından bu çözücü sınırı, çözünmemiş kısım ile hidrate olmuş kısmı ayırır. Matriks yapının içerisine giren çözücünün oluşturduğu bu sınırdaki, polimer yapının gevşeme hızı ile çözünen etken maddenin difüzyon hızına bağlı olarak, serbestleşme Fick kanununa uyan ve uymayan difüzyon olarak değişir. Fick difüzyonunda, suyun hareket kabiliyeti segmental relaksasyon hızından çok düşüktür.

Fick olmayan davranışta $0,5 < n < 1,0$ gözlenmiştir. Birçok uygulamada arzu edilen mekanizma $n=1$ olan sıfırıncı dereceden serbestleşmedir. Çizelge 2.9'da n sayısı ile difüzyon mekanizması arasındaki ilişki gösterilmiştir. Kauçuğumsu ya da camsı polimerlerdeki etkili geçiş, sistemin sıcaklığına ve termodinamik aktivitesine bağlı olarak Fick, Fick olmayan veya Durum II geçişi olarak sınıflandırılabilir. Molekül ağırlığı, çapraz bağlanma derecesi, polimerin dallanma derecesi, çözücünün termal genleşme katsayısı gibi parametreler geçiş mekanizmasını etkiler [93,94,95].

Çizelge 2.9. Difüzyon ile serbestleşme mekanizmasının analizi

n	Çözünen maddenin difüzyon mekanizması	Çözünen madde serbestleşme hızının zamana bağlılığı
0,5	Fick difüzyonu	$t^{-0,5}$
$0,5 < n < 1,0$	Fick kanununa uymayan difüzyon (Non-Fickian)	t^{-n}
1,0	Durum II	Sıfırıncı derece serbestleşme (zamandan bağımsız)

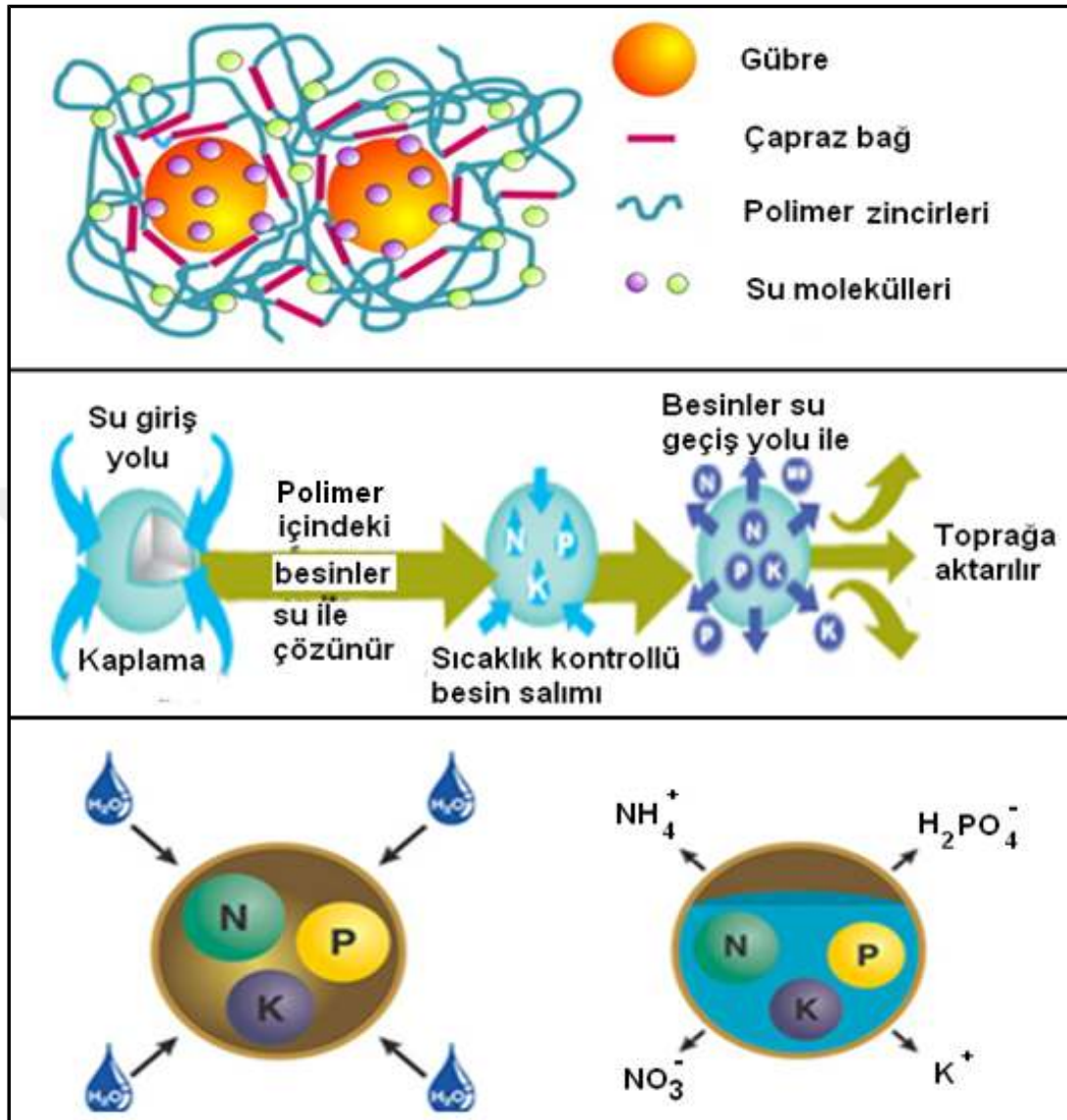
2.12. Kontrollü Serbestleşmenin Tarımsal Uygulamaları

Bitki besleme programlarının başarısı, gelişme periyodu boyunca toprakta bulundurulan faydalı besin elementleri miktarının, bitkilerin gereksinim duydukları miktar ile örtüşmesine bağlıdır. Buradaki en kritik nokta, bitki gelişme sürecinde besin elementinin topraktaki miktarının bitki için noksanlık sınırının üzerinde, ancak fazlalık sınırının altında tutulmasıdır. Böylece, optimal gelişme ve ürün sağlanırken çevre üzerindeki olumsuzluklar da ortaya çıkmayacak, ekonomik kayıplar söz konusu olmayacaktır. Bu durumun sağlanması ancak gübre etkinliğinin artırılması yolu ile sağlanabilir. Gübrelerin etkinliğini artırarak kapsadıkları besin elementlerinden bitkilerin yüksek oranda yararlanmalarını sağlamak, ve böylece besin kayıplarını en aza indirerek çevre üzerinde ortaya çıkabilecek olumsuzlukları azaltacak yöntemlerden biri gübreleri yavaş çözünür formlarda üretmektedir [6].

Kontrollü serbestleşen gübre sistemleri teknoloji açısından yeni bir araştırma konusu ortaya çıkarmıştır. Gübrelemedeki en önemli yaklaşım çevrenin korunması dışında ürün verimi ve üretim kârlılığının artışıdır. Geleneksel gübreleme topraktan alınan verimi arttırırken bir yandan da topraktaki bazı besin elementlerinin kaybına ve eko-çevrenin bozulmasına neden olur [3,96]. Kullanılan azot, fosfor ve potasyum gübreleri toprağa uygulandıktan sonra sulamanın ve rüzgarında etkisiyle %40-70 azot, %80-90 fosfor,%50-70 arası potasyum kaybına sebep olmaktadır. Bu durum ekonomik ve kaynak kayıplarına neden olmanın yanında büyük çevresel kirlilik oluşturmaktadır [97-99].

Azot ve fosforlu gübreler tarım sektöründe oldukça sık kullanılan kimyasal gübrelerdir. Aşırı kullanımları sonucu meydana getirdikleri olumsuzlukları azaltmak için bu besin maddelerinin tarımsal gübrelemede kontrol altında tutulması gerekir [100,101]. Bu amaçla kullanılan bu gübrelerin bitkinin ve

toprağın ihtiyaç duyduğu oranda daha yavaş toprağa salınması için suda şişebilen veya çözünebilen kapsüller içine hapsedilmektedir [97,98,]. Böylelikle kapsüllenen gübrenin serbestleşmesi kontrol altına alınır, gübre kayıpları ve çevre kirliliği en aza indirgenebilir [102,103]. Besin maddesinin salım hızını ayarlamak için kullanılacak olan kaplama malzemesinin özellikleri iyi bilinmelidir. Ortamın pH ve sıcaklık gibi parametrelerine bağlı olarak kaplama malzemesi içine hapsedilmiş besinin salım süresi değişebilir. Bu da kullanılan malzemenin farklı ortam koşullarına karşı gösterdiği tepkiden kaynaklanır [97,103]. Şekil 2.9'da gübrenin polimerik sistemlerden salımı gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Gübrelerin polimerik sistemlerden salımı

Kapsül içerisine hapsedilen besinin etkinliği artırılarak çevre kirliliği önlenir ve bu yöntem sürdürülebilir tarıma öncülük eder. Kontrollü salım gübrelerinde salınacak olan bitki besin maddesi için kaplama malzemesi bariyer görevi yapar. Böylelikle yüksek yağış ve sulama sonucu gübrenin yer altı sularına geçmesi engellenir [104]. Ancak kullanılan kaplama malzemeleri toprak, çevre kirliliğine ve yüksek üretim maliyetine sebep olmamalıdır. Kullanılacak kaplama malzemesi aynı zamanda doğada çabuk bozunur formda olmalıdır [97,99,105]. Bitki besin maddeleri genellikle ucuz olan plastik, nişasta, kil, poliester gibi kaplama malzemelerine hapsedilir. Kitosan, kitin, jelâtin, doğal

kauçuk gibi bazı biyobozunur polimerik ürünler kaplama malzemesi olarak seçilebilir. Bu polimerler biyomedikal, ilaç uygulamaları yanında tarım alanında da sıklıkla kullanılmaktadır [6]. Bu kaplama malzemeleri su tutma kapasiteleriyle de daha kurak topraklarda yetişen bitkinin su ihtiyacını da karşılar [97,106]. Kaplama malzemesi olarak polivinilklorür, poliakrilamit ve polilaktik asit de kullanılmaktadır [104]. Sürdürülebilir tarım amacıyla geliştirilen kontrollü salım gübreleri daha az emek ve gübre gereksinimi ile daha çevre dostu yöntemler sunmaktadır [96]. Resim 2.5’de hazırlanan gübrelerin toprağa uygulanması ve bitki tarafından alınması verilmiştir.



Resim 2.5. Polimer içerisindeki gübrenin toprağa uygulanması ve bitki bünyesine alınması

2.13. Çalışmalarda Kullanılan Temel Kimyasal Maddeler

2.13.1. Jelâtin

Jelâtin ilaç ve tıbbi uygulamalarda kullanılan polipeptit moleküllerinden oluşan, toksik olmayan ve biyouyumlu polimerik bir maddedir [10,107]. Büyükbaş hayvan ve balık derilerinde; tendon, kemik bağ dokularında bulunur. Renksiz veya sarı renkli granül veya toz halde elde edilir. Jelâtin üretimi kollajenlerin yüksek sıcaklıkta asidik veya bazik ortamda hidroliziyle gerçekleşir. Kollajenlerin termal denatürasyonu ile fiziksel ve kimyasal

Jelâtin moleküllerinin sulu çözeltilerinde farklı yüklerin arasında mevcut elektrostatik çekim kuvvetleri etkindir. Jelâtin hidrojeller fiziksel olarak hidrojen bağları, kimyasal olarak da protein zincirlerinin birbiriyle kovalent bağlanması sonucu oluşur. Jelâtin zincirleri bu şekilde birbirine bağlandığında sulu çözeltilerin de şişme özelliği gösterir. Fonksiyonel guruplarının kimyasal olarak bağlanması için GA, korbodimid, polivinilalkol gibi çapraz bağlayıcı kimyasallar kullanılabilir. Kullanılan bu çapraz bağlayıcılar ile jelatinin termal ve mekanik dayanıklılığını arttırılır [8,108,109].

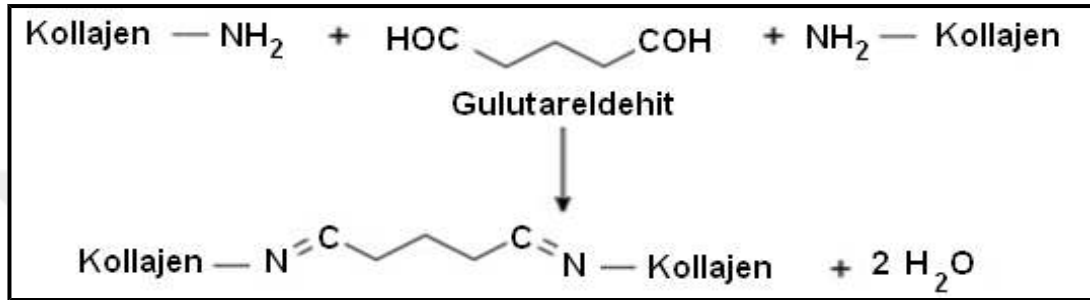
Jelâtin; eczacılıkta (tablet, pastil, sert-yumuşak kapsül), gıda endüstrisinde, kozmetikte, ilaç taşıyıcı sistemlerde, implantlarda, yara tedavisi gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Jelâtinin biyomalzeme olarak kullanılması pek çok avantaj sağlamaktadır. Ancak düşük mekanik özellik, kötü su direnci gibi dezavantajlara da sahiptir. Bu da uygulama alanlarını kısıtlar. Yan zincirlerinde çok fazla sayıda fonksiyonel gruplara sahip olmasından dolayı kolaylıkla modifiye edilebilir ve bu şekilde mekanik özellikleri geliştirilebilir. Çapraz bağlanmasıyla termal ve mekanik kararlılığı arttırılabilir [9,109,115]. Jelâtinin UV ve gama ışınlanması yoluyla fiziksel çapraz bağlanması veya kimyasal ajanlar ile kovalent çapraz bağlı yapılarının elde edilmesi mümkündür [114].

Jelâtin hidrojeller biyoyumlu ve biyobozunur olduğundan doğaya karşı zararsızdır [112]. Ancak jelâtin moleküllerini çapraz bağlamak amacıyla seçilen çapraz bağlayıcı kimyasallarında doğaya daha zararlı olmamaları gerekmektedir. Bu nedenle seçilen çapraz bağlatıcının ve elde edilen hidrojinin uygunluğu çeşitli parametrelerle karakterize edilmelidir [10,108].

2.13.2. Glutaraldehit (GA)

GA ısıya duyarlı çeşitli alanlarda dezenfeksiyon amaçlı kullanılan bir sterilanttır. Özellikle tıp, eczacılık gibi pek çok alanda dezenfektan olarak kullanılan GA'in toksik etkisi de mevcuttur. Bu nedenle kullanılacak olan

alanlarda GA miktarı en az zarar verici düzeyde olmalıdır. Kimyasal çapraz bağlayıcı olarak tercih edilen maddeler arasında GA yaygın kullanım alanına sahiptir. GA'nın yapısında bulunan aldehit grupları serbest amino grupları ile reaksiyon vererek polipeptit zincirlerini oluşturur [109,114]. Şekil 2.11'de GA'nın kimyasal yapısı polipeptit zincir oluşum tepkimesi gösterilmiştir.



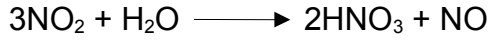
Şekil 2.10. GA'nın kimyasal yapısı ve kimyasal reaksiyonu

GA jelâtin, kitosan, kollajen gibi pek çok doğal polimeri çapraz bağlama amaçlı kullanılabilir. Hidrojel hazırlamada kullanılan GA miktarına bağlı olarak bir dakikadan daha az süren jelleşmeler gözlenir. Ayrıca GA kolay bulunması ve ucuz olması nedeniyle en fazla tercih edilen çapraz bağlama ajanıdır. GA mikroorganizmalar için kısmen toksik etki göstermesine rağmen biyoaktif sisteme kazandırdığı avantajlardan dolayı %1'in altındaki derişimlerde GA kullanılarak toksik etki en aza indirilerek, immobilizasyonlar da gerçekleştirilebilmektedir [114,116].

2.13.3. Amonyum nitrat (AN)

Azotlu gübreler içerisinde en çok tüketilen gübre AN'dır. Bitki amonyum ve nitrattan her iki şekilde de yararlanabildiği için bu gübrelerin etkisi çabuk ve devamlı olmaktadır [5]. AN nitrik asidin amonyak ile reaksiyonu sonucu üretilir. Nitrik asit ise amonyağın hava ile oksidasyonu sonucu üretilir.





AN yüksek su absorplama özelliğinden dolayı etrafı ince bir kil tabakasıyla kaplanır veya su geçirmez naylon torbalarda yırtılmamasına dikkat edilerek rutubeti az ortamlarda muhafaza edilir [5].

2.13.4. Mono-amonyum fosfat (MAP)

MAP, P ve N gibi iki önemli bitki besin maddesini bir arada bulunduran kompoze gübredir. Suda tamamen eriyen, fosfat kaynağı gübreler arasında en yüksek oranda fosfat içeren gübredir. İçeriğindeki düşük azot miktarı sayesinde, bitkilere istenen oranda fosfor sağlamanın en uygun yoludur. Bu gübreler H_3PO_4 ' ten NH_3 gazı geçirilerek elde edilir [5].



3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu bölümde sürdürülen deneysel çalışmalar ayrıntıları ile açıklanmıştır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

- Etüv (Ultralab U-120)
- Çalkalamalı inkübatör (İnfers)
- Vorteks (Fisher Scientific)
- Terazî (Scaltec)
- Su banyosu (Memmert)
- Biyogüvenlik kabini (Telstar-BİO II A)
- Manyetik karıştırıcı (Şimşek Labortechnik)
- pH metre (Cyberscan 500)

- UV spektrofotometresi (Labomed Double Beam UV-visible spektrofotometre)
- İnkübatör (Binder)
- Borik asit (BDH Laboratory Reagents)
- H_3PO_4 (Merck)
- $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (Merck)
- NaOH (Merck)
- Asetik asit (Merck)
- HCl (Birpa)
- GA (Fluka)
- Jelâtin (Sigma-Aldrich)
- $NH_4H_2PO_4$ (Merck)
- NH_4NO_3
- Gliserol (Sigma-Aldrich)
- $SnCl_2 \cdot 2H_2O$
- H_2SO_4 (Carlo Erba)
- $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$
- $(NH_4)_2SO_4$ (Merck)
- NaCl (Merck)
- KH_2PO_4 (Merck)
- $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ (Merck)
- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (Sigma)
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (Merck)
- Nutrient sıvı besiyeri (Merck)
- Bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*-78, *Pseudomonas aeruginosa*-99, *Pseudomonas putida*-G15 ve *Pseudomonas stutzeri*-T3)

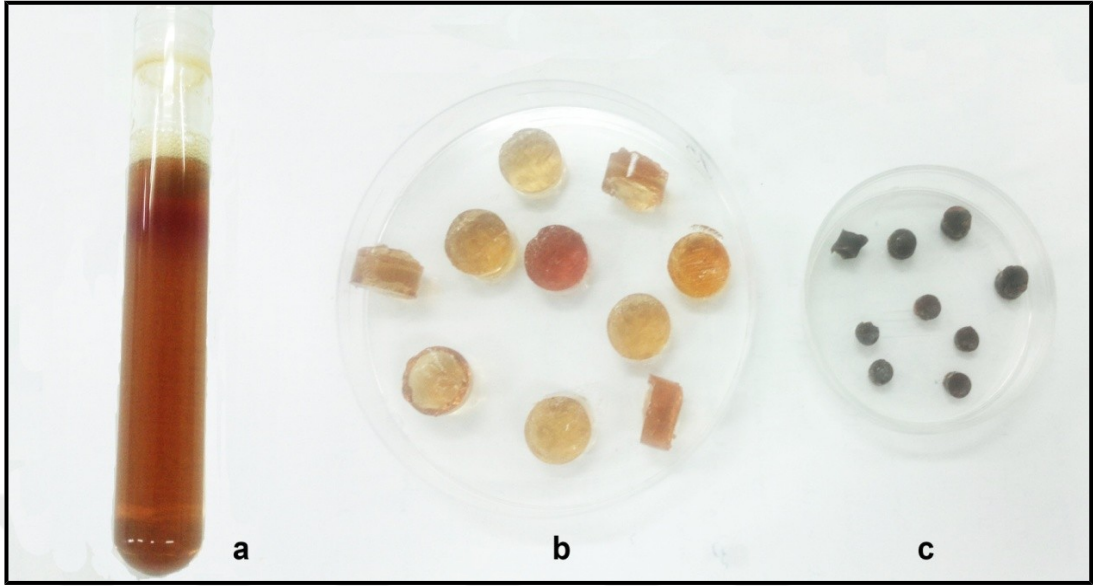
3.2. Jelâtin Hidrojellerin Hazırlanması

Jelâtin hidrojeller temel olarak kimyasal çapraz bağlama yöntemiyle üretildi. 1 cm çapındaki cam tüpler içerisine Çizelge 3.1’de verilen miktarlara denk gelecek şekilde GA çözeltileri konuldu. Daha sonra üzerlerine, aynı çizelgede verilen miktarlara denk gelecek şekilde suda hazırlanan jelâtin çözeltileri ilave edildi ve toplam hacim 10 mL olacak şekilde ayarlandı.

Çizelge 3.1. Jelâtin hidrojellerin kodları ve hazırlanmasında kullanılan çözeltilerin miktarları

Jelâtin Hidrojeller	Bileşenler	Jelâtin Miktarı (g)	GA Miktarı (g)	Yorum
J-1		1,0	0,1	Sağlam
J-2		1,0	0,5	Sağlam
J-3		1,5	0,1	Yumuşak
J-4		1,5	0,5	Sağlam
J-5		2,0	0,1	Yumuşak
J-6		2,0	0,5	Sağlam

Tüp içine eklenen maddelerin homojen karışımı sağlanarak, tepkimenin tamamlanması için 24 saat oda koşullarında bekletildi [109]. 24 saat sonunda cam tüpler kırılarak hidrojeller silindir bloklar halinde çıkarıldı ve 0,5 cm kalınlığında diskler halinde kesildi. Kesilen hidrojeller bir süre oda koşullarında bekletildi, daha sonra polimerleşmeye girmeyen maddelerin uzaklaştırılması için defalarca bol saf suyla yıkandı ve sabit tartıma gelene kadar 30°C etüvde bekletildi [117]. Hazırlanan hidrojellerin yaş ve kuru halleri Resim 3.1’de verilmiştir.



Resim 3.1. Sentezlenen jelâtin hidrojellerin; a) tüp içerisindeki, b) diskler halinde kesilmiş olan yaş ve c) kuru halleri

3.3. Jelâtin Hidrojellerin Jelleşme Yüzdelерinin Gravimetrik Olarak İncelenmesi

Bölüm 3.2’de belirtilen şekilde hazırlanan hidrojeller polimerleşmeye girmeyen maddelerin uzaklaştırılması için yapılan yıkama işleminden önce 30°C etüvde sabit tartıma gelmesi için bekletildi. Sabit tartıma gelen hidrojellerin kuru kütleleri ölçüldü (m_i) ve hidrojeller 48 saat boyunca sürekli tazelenen 250 mL saf suda oda sıcaklığında bekletilerek yıkandı. Yıkama işlemi sonunda hidrojeller saf su içerisinde alınarak 30°C etüvde sabit tartıma gelmesi için bekletildi ve kütleleri ölçüldü (m_s). Bu sayede yapılan yıkama işlemiyle polimerleşmeye katılmayan maddelerin suya ekstraksiyonu sağlandı. Aşağıda verilen Eş. 3.1 kullanılarak her bir hidrojin jelleşme yüzdesi hesaplandı [118-120].

$$\text{Jelleşme (\%)} = \frac{m_s}{m_i} \times 100 \quad (3.1)$$

3.4. Jelâtin Hidrojellerin Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Bu bölümde hidrojellerin zaman, sıcaklık ve pH değişimlerine karşı şişme davranışlarının incelenmesi anlatıldı. Tüm deneyler jelleşmeye girmeyen bileşenlerinden yıkanarak arındırılmış üç hidrojel örnek üzerinden yürütüldü.

3.4.1. Jelâtin hidrojellerin zamana göre şişme davranışlarının incelenmesi

Hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla değişimi Britton Robinson Tamponunda (BRT), (bkz. Ek-1), (pH=7,4) ve 30°C etüvde incelendi. Sabit tartıma gelen hidrojellerin kuru kütleleri (w_0) belirlendikten sonra, pH=7,4 olan 50 mL' lik kapaklı şişelerde bulunan BRT çözeltisi içerisine atıldı ve 30°C etüvde bekletildi. Belirli zaman aralıklarında BRT içerisindeki hidrojeller çıkarılarak kâğıt mendille hafifçe kurulandıktan sonra tartıldı (w) ve aynı şişme ortamına tekrar atıldı. Bu işleme hidrojellerin denge şişme değerine ulaşincaya kadar devam edildi ve hidrojel disklerin kütlelerindeki değişimler kaydedildi. Her bir hidrojinin yüzde şişme (%Ş) değeri Eş. 3.2 kullanılarak hesaplandı [120-123].

$$\text{Şişme (\%)} = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.2. Jelâtin hidrojellerin sıcaklık değişimine göre şişme davranışlarının incelenmesi

Hidrojellerin şişme değerlerinin sıcaklığa göre değişimi denge şişme değerinin elde edildiği 48 saat boyunca pH=7,4 olan 50 mL BRT çözeltisi içerisinde incelendi. Yıkanıp sabit tartıma gelen hidrojellerin kuru kütleleri (w_0) belirlendikten sonra ağzı kapaklı şişelerde bulunan BRT içine atıldı. 4; 10; 20; 30; 40; 50 ve 60°C sıcaklıktaki inkübatörde 48 saat bekletilen hidrojeller bu süre sonunda BRT çözeltisinden çıkarıldı ve kâğıt mendille hafifçe

kurulandıktan sonra her bir hidrojinin kütlesi (w) tartıldı. Hidrojellerin sıcaklık ile değişen yüzde şişme değerleri Eş. 3.2 kullanılarak hesaplandı [101,118,125].

3.4.3. Jelâtin hidrojellerin pH değişimine göre şişme davranışlarının incelenmesi

Jelâtin hidrojellerin pH değişimine göre şişme davranışları 30°C etüvde denge şişme değerinin elde edildiği 48 saat süreyle incelendi. Yıkanarak sabit tartıma gelen hidrojellerin kuru kütleleri (w_0) belirlendikten sonra pH=2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,4; 8,0; 10,0 ve 12,0 olan BRT çözeltileri içerisine bırakıldı. Çözeltilerin hazırlanma yöntemi Ek-1'de anlatılmıştır. 48 saatin sonunda çözelti ortamından alınan hidrojeller kâğıt mendille hafifçe kurulandı ve kütleleri belirlendi (w). Hidrojellerin yüzde şişme değerleri Eş. 3.2 kullanılarak hesaplandı [124,125].

3.5. Jelâtin Hidrojellerin Bozunma Davranışlarının İncelenmesi

Hidrojellerin bozunma davranışları 30°C etüvde ve pH=7,4 olan 50 mL fosfat tamponu içerisinde incelendi. 48 saat sonunda maksimum şişme değerine ulaşan hidrojellerin kütleleri belirlendi (m_i). 24 saatte bir yenilenen fosfat tamponu içerisinde ki hidrojeller ortamdaki alındı ve kâğıt mendille hafifçe kurulandıktan sonra kütleleri belirlendi (m_s). Bu işleme hidrojeller tamamen bozunana kadar devam edildi [126]. Böylece hidrojellerin kayıp kütle miktarları takip edilerek yüzde bozunma miktarları Eş. 3.3 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Bozunma (\%)} = \frac{m_i - m_s}{m_i} \times 100 \quad (3.3)$$

3.6. Jelâtin Hidrojellerden MAP Salım Çalışmaları

Üretilen hidrojellerden, tarımsal uygulamalarda sıklıkla kullanılan MAP gübrelerinin salımı çalışmalarına ait basamaklar aşağıdaki başlıklarda ayrıntılı olarak anlatıldı.

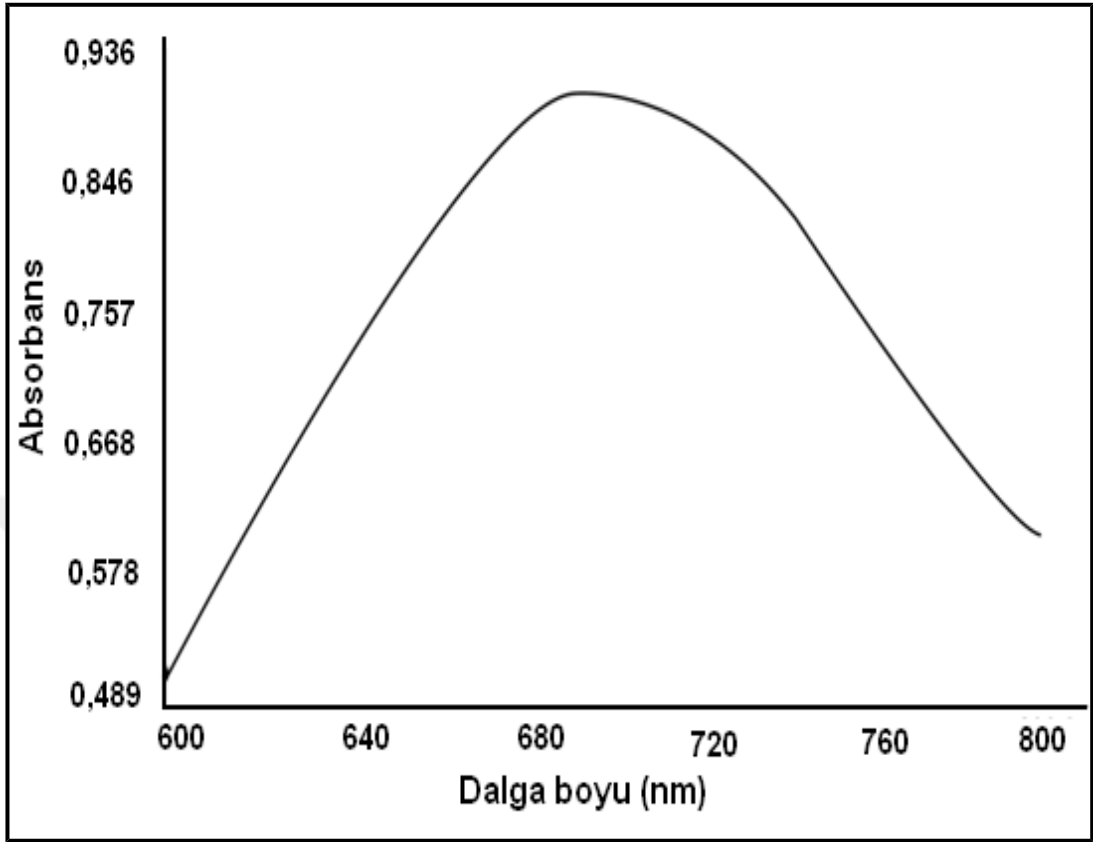
3.6.1. MAP'ın UV spektrofotometrik tayini

0,1 g MAP'ın 500 mL sulu çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltiden, 50 mL'lik balon jojelere 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8 ve 1,0 mL alınarak 25 mL'ye seyreltildikten sonra üzerine 4 mL amonyum molibdat (Bkz. Ek-2) ve 0,5 mL SnCl_2 (Bkz. Ek-2) eklendi. Oluşan mavi renkli çözeltilerin hacmi 50 mL'ye tamamlandı. Kör olarak 50 mL'lik MAP içermeyen renksiz çözelti hazırlandı. Hazırlanan kalibrasyon çözeltileri Resim 3.2'de gösterilmiştir.



Resim 3.2. MAP kalibrasyon çözeltileri

Hazırlanan kalibrasyon çözeltilerden en derişik olanının UV spektrofotometresinde 400-900 nm dalga boyları arasında spekturumu alındı ve maksimum absorbands verdiği dalga boyu $\lambda_{\text{max}}=710$ nm olarak belirlendi. MAP'ın 710 nm'deki tam spekturumu Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. MAP çözeltisinin tam spektrumu ($\lambda_{\max}$ = 710 nm)

Daha sonra hazırlanan bütün çözeltilerin UV Spektrofotometresinde 710 nm'deki absorbans değerleri okundu ve kalibrasyon doğrusu oluşturuldu [127,128]. Deney süresince salınan MAP derişimini belirlemekte kullanılacak olan MAP kalibrasyon doğrusu Şekil 3.2'de sunuldu.



Şekil 3.2. MAP kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max}=710$ nm)

3.6.2. Jelâtin hidrojelere MAP yüklenmesi

J-1, J-2, J-3, J-4, J-5 ve J-6 hidrojelere MAP yüklemesi, doğrudan jelleşme sırasında tüplere belirli miktarlarda MAP ilavesi ile gerçekleştirildi. 24 saat sonra kırılan tüplerden silindir bloklar şeklinde çıkarılan hidrojel, içerisinde 0,1 g MAP olacak şekilde kesildi ve kuruması için 72 saat 30°C etüvde bekletildi. Böylece hazırlanan MAP yüklü hidrojel salım deneyi için hazır hale getirildi [6,23,103,129].

3.6.3. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının incelenmesi

Hazırlanan MAP yüklü hidrojel 100 mL saf su içeren kapaklı cam kaplar içerisine atıldı ve oda sıcaklığındaki çalkalamalı su banyosunda bekletildi. Salım ortamından belirli zamanlarda 0,2 mL hacminde numuneler çekildi ve 50 mL'lik balon jojelere aktarıldı. Alınan renksiz numuneler saf suyla 25 mL'ye

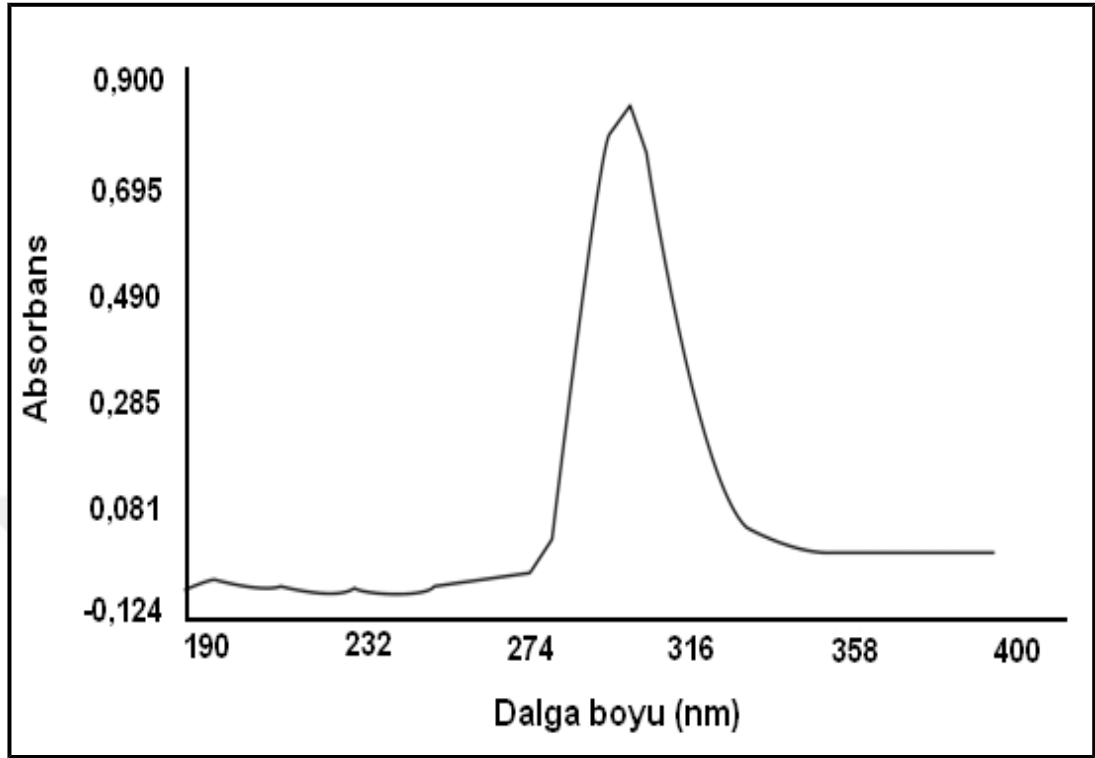
seyreltikten sonra üzerine 4 mL amonyum molibdat ve 0,5 mL SnCl_2 eklendi ve hacim yine saf suyla 50 mL'ye tamamlandı. 10 dakika sonra mavi renge dönüşmüş bu çözeltilerin UV Spektrofotometresinde 710 nm'deki absorbans değerleri okundu. Bu işleme numunelerin 710 nm'de verdiği absorbans değeri sabitlenene kadar devam edildi [127,128,130]. Tüm deneyler 3 paralel seri şeklinde yürütüldü.

3.7. Jelâtin Hidrojellerden AN Salım Çalışmaları

Üretilen hidrojellerden, tarımsal uygulamalarda sıklıkla kullanılan AN gübrelerinin salımı çalışmalarına ait basamaklar aşağıdaki başlıklarda ayrıntılı olarak anlatıldı.

3.7.1. AN'ın UV spektrofotometrik tayini

AN salımının takip edilebilmesi için öncelikli olarak 0,5 g AN'ın 50 mL suda çözünmesiyle hazırlanan çözeltinin UV spektrofotometresinde 190-400 nm dalga boyları arasında tam spektrumu Şekil 3.3'de verildi. Zirve absorbans verdiği dalga boyu $\lambda_{\text{max}}=305$ nm olarak belirlendi [131,132]. Tam spektrum alındıktan sonra farklı derişimlerde hazırlanan AN çözeltilerinin 305 nm'de absorbans değerleri ölçülerek kalibrasyon doğrusu hazırlandı. Çizilen bu doğru deney süresince salınan AN derişimini belirlemekte kullanıldı. AN'ın kalibrasyon doğrusu Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. AN çözeltisinin tam spektrumu ($\lambda_{\max}=305$ nm)



Şekil 3.4. AN kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max}=305$ nm)

3.7.2. Jelâtin hidrojellere AN yüklenmesi

Hidrojellere AN yüklemesi doğrudan jelleşme sırasında tüplere belirli miktarlarda AN ilavesi ile gerçekleştirildi. Ancak çapraz bağlayıcı miktarı jelâtime göre az olan formüllerden hidrojel elde edilemedi. Tüpte AN yüklü olarak elde edilen J-1, J-2, J-4 ve J-6 hidrojelleri, 24 saat sonra silindir bloklar şeklinde çıkarıldı. İçerisinde 0,25 g AN olacak şekilde diskler halinde kesildi ve kuruması için 72 saat 30°C etüvde bekletildi. Böylece hazırlanan AN yüklü hidrojeller salım deneyi için hazır hale getirildi [6,23,103,129].

3.7.3. Jelâtin hidrojellerden AN salımının incelenmesi

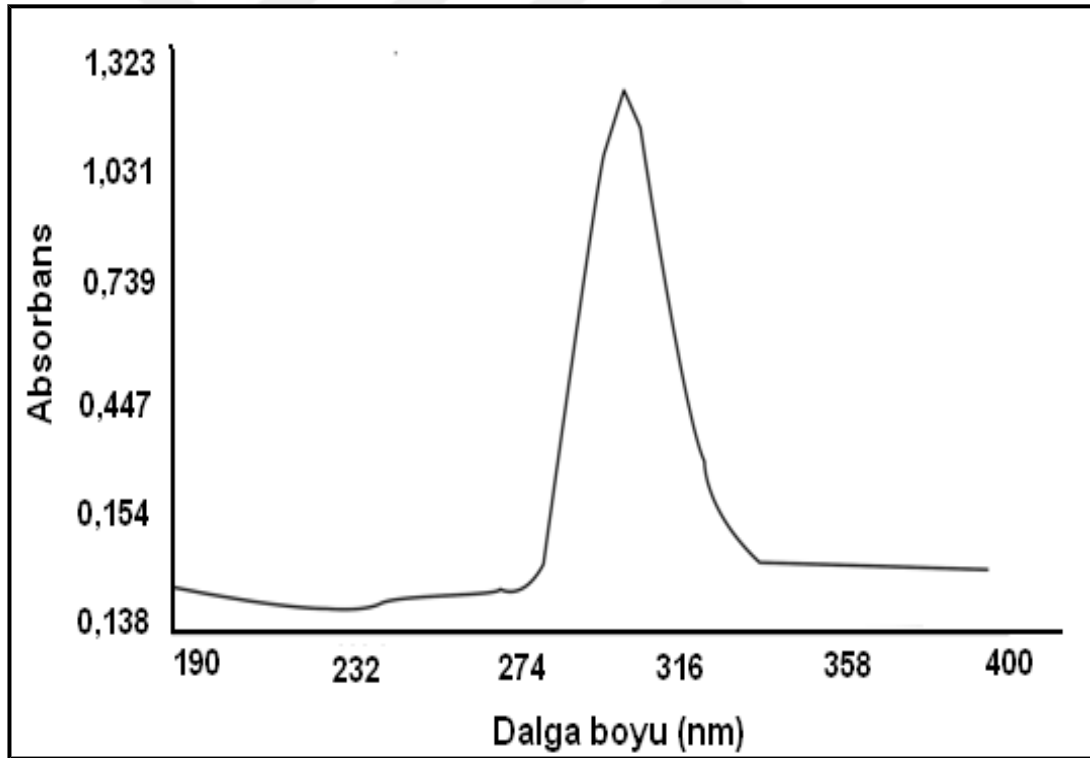
Hazırlanan AN yüklü hidrojeller 50 mL saf su içeren kapaklı cam kaplar içerisine atıldı ve oda sıcaklığındaki çalkalamalı su banyosunda deney yürütüldü. AN yüklü hidrojel bulunan salım ortamından belirli zaman aralıklarında numuneler çekildi ve UV Spektrofotometresinde 305 nm'deki absorbans değerleri okundu. Bu işleme numunelerin 305 nm'de verdiği absorbans değeri sabitlenene kadar devam edildi. Tüm deneyler 3 paralel seri şeklinde yürütüldü [130-132].

3.8. Tarımsal Uygulamalarda Kullanılabilecek Jelâtin Temelli Mikrobiyal Gübre Çalışmaları

Araştırmanın bu aşamasında nitrat üreten bakterilerin, jelâtin hidrojeller içersine hapsedildiğinde, verimli bir üretim gerçekleştirip gerçekleştiremeyeceklerinin takibi amaçlandı. Bu doğrultuda, bakteri seçimi, en uygun besiyeri tayini, jelâtin hidrojele bakteri hapsetme ve bu sistemin nitrat üretimini takip etme aşamaları adım adım gerçekleştirildi. Tüm bu basamaklar sırasıyla alt başlıklar halinde sunuldu.

3.8.1. Nitrat miktarının UV spektrofotometrik tayini

Nitrat tayini Bölüm 3.6.4'te anlatılmıştır. Ancak bu kısımda yürütülen çalışmalarda, kalibrasyon çözeltileri su yerine besi ortamı kullanılarak hazırlandı. 1,0 g NaNO_3 50 mL besiyerinde çözülerek UV spektrofotometresinde 190-400 nm dalga boyları arasında tam spektrumu alındı ve zirve absorbans verdiği dalga boyu $\lambda_{\text{max}}=305$ nm olarak belirlendi (Şekil 3.5). Bu stok çözeltilerden bir seri çözelti hazırlandı ve 305 nm'de absorbans değerleri ölçülerek çizilen kalibrasyon doğrusu Şekil 3.6'da verildi. Tüm çalışmalardaki nitrat tayinleri bu kalibrasyon doğrusuna dayalı olarak yürütüldü [131,132].



Şekil 3.5. Besiyerindeki AN tam spektrumu ($\lambda_{\text{max}}=305$ nm)



Şekil 3.6. Besiyerindeki AN'ın kalibrasyon doğrusu ($\lambda_{\max}=305$ nm)

3.8.2. Nitrat Üreten Bakteri Seçimi Çalışmaları

Bu bölümdeki çalışmalar Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvar donanımlarından destek alınarak yürütüldü. Çizelge 3.2'de adları ve özellikleri verilen 4 farklı *Pseudomonas* bakteri türü ile çalışıldı.

Çizelge 3.2. *Pseudomonas* bakteri türleri

Bakteri Adı	Kod	Özellikleri
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	78	Gram (-) basil
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99	Gram (-) basil
<i>Pseudomonas putida</i>	G15	Gram (-) basil
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	T3	Gram (-) basil

Bakteriler nutrient sıvı besiyeri içerisinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak ard arda iki kez aktifleştirildi. Aktif kültürler santrifüjlenerek hücre pelletleri elde edildi. Pelletler steril serum fizyolojik ile yıkandı. Yoğunluğu McFarland 10'a ayarlanmış tüplerdeki 5 mL bakteri örnekleri Çizelge 3.3'te verilen 300 mL'lik PM sıvı besi yerine eklendi. Bakteri içeren besiyerleri

37°C'de çalkalamalı inkübatörde bekletildi. Hazırlanan bakteri kültürlerinden belirli zaman aralıklarında numuneler çekildi ve 305 nm'de verdiği absorbans değerleri saptandı.

Çizelge 3.3. PM sıvı besiyeri içeriği

Maddeler	Miktar (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,50
NaCl	0,30
KH ₂ PO ₄	1,00
MnSO ₄ .7H ₂ O	0,50
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,03
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,50
Gliserol (karbon kaynağı)	1,00

3.8.3. Farklı besiyerlerinde nitrat üretiminin takibi

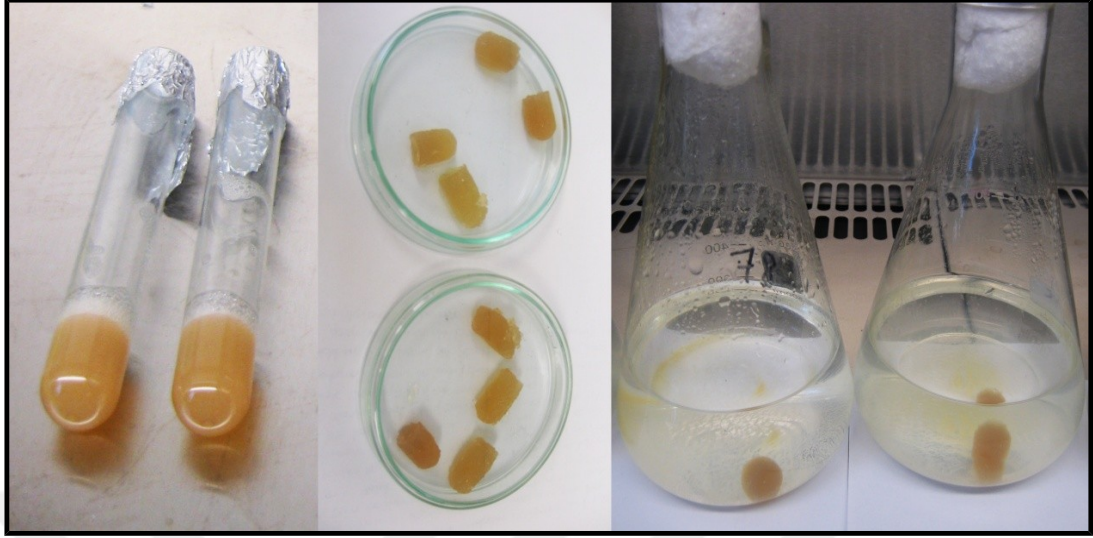
Bölümde 3.8.2'de elde edilen verilere dayanarak mikrobiyal gübre çalışmalarında *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisi ile çalışmaya karar verildi. Bu bakterinin en yüksek verimle nitrat üretebileceği besiyerinin bileşenlerinin tayin edilmesi için dört farklı formülde besi yerleri hazırlandı. Hazırlanan 4 farklı besiyerinin içerikleri Çizelge 3.4'de sunuldu. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisi nutrient sıvı besiyeri içerisinde 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak ard arda iki kez aktifleştirildi. Aktif kültürler santrifüjlenerek hücre pelletleri elde edildi. Pelletler steril serum fizyolojik ile yıkandı. Yoğunluğu McFarland 10'a ayarlanmış tüplerdeki 5 mL bakteri örnekleri Çizelge 3.4'te verilen 300 mL'lik sıvı besiyerlerine eklendi. Bakteri içeren besi yerleri 37°C'de çalkalamalı inkübatörde bekletildi. Hazırlanan bakteri kültürlerinden belirli zaman aralıklarında numuneler çekildi ve 305 nm'de verdiği absorbans değerleri saptandı. Nitrat miktarının belirlenmesi için 6 saat süreyle UV spektrofotometresinde 305 nm'de verdiği absorbans değerleri okundu. Çalışma ortalama 6 saat süreyle iki örnek üzerinden yürütüldü.

Çizelge 3.4. Kullanılan farklı besiyerlerinin g/L olarak içerikleri

Besiyeri	B-1	B-2	B-3	B-4
Maddeler				
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1,00	2,50	1,00	2,50
NaCl	0,30	0,30	0,30	0,30
KH_2PO_4	1,00	1,00	1,00	1,00
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,50	0,50	0,50	0,50
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,03	0,03	0,03	0,03
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,50	0,50	0,50	0,50
Gliserol (karbon kaynağı)	-	-	1,00	1,00
Oksijen	var	var	-	-

3.8.4. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre hazırlanması ve nitrat üretiminin takibi

Seçilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakteri kültürü 500 µL serum fizyolojik içinde çözüldü. Toplam hacim 2 mL olacak şekilde %10'luk jelâtin çözeltisi ve bakteri kültürü 1 cm çapındaki cam tüpler içerisinde homojen karışımlar hazırlandı. GA çapraz bağlayıcı miktarı toplam hacmin %1'i olacak şekilde cam tüpler içine eklenerek hazırlanan hidrojeller 12 saat 37°C etüvde bekletildi. 12 saat sonunda cam tüpler kırılarak bakteri yüklü hidrojeller Bölüm 3.8.3'de yapılan deney sonucuna göre seçilen B-2 besiyerine atıldı (Resim 3.3). Jel içerisine tutuklanan bakterinin nitrat üretiminin serbest bakterinin nitrat üretimi ile karşılaştırılmasının yapılabilmesi için, aynı deney B-2 besiyerinin kullanıldığı biomas ile tekrarlandı.



Resim 3.3. Bakteri yüklü hidrojel sistemlerinin görünümü

Hazırlanan sistemler oksijenin daha fazla olduğu durumdaki farkı incelemek üzere, 37°C çalkalamalı ve çalkalamasız etüv içerisinde bekletildi. Belirli zaman aralıklarında numuneler çekilerek UV spektrofotometresinde 305 nm’de nitrat üretim miktarları belirlendi. Çalışma 3 gün süreyle iki örnek üzerinden yürütüldü.

3.8.5. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin raf ömrünün belirlenmesi

Bu bölümde 3.8.4’de elde edilen veriler sonucunda *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisi kullanılarak hazırlanan mikrobiyal gübrelerin raf ömrünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda bölüm 3.8.3’de anlatılan şekilde hazırlanan bir seri jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemleri oda ve buzdolabı koşullarında 3, 7, 14 ve 30 gün süresince bekletildi. Örnekler daha sonra 300 mL B-2 besiyerine atıldı ve 37°C etüvde bekletildi. Belirli zaman aralıklarında numune çekilerek oluşan nitrat UV spektrofotometresinde 305 nm’de belirlendi. Çalışmalar iki örnek üzerinden yürütüldü.

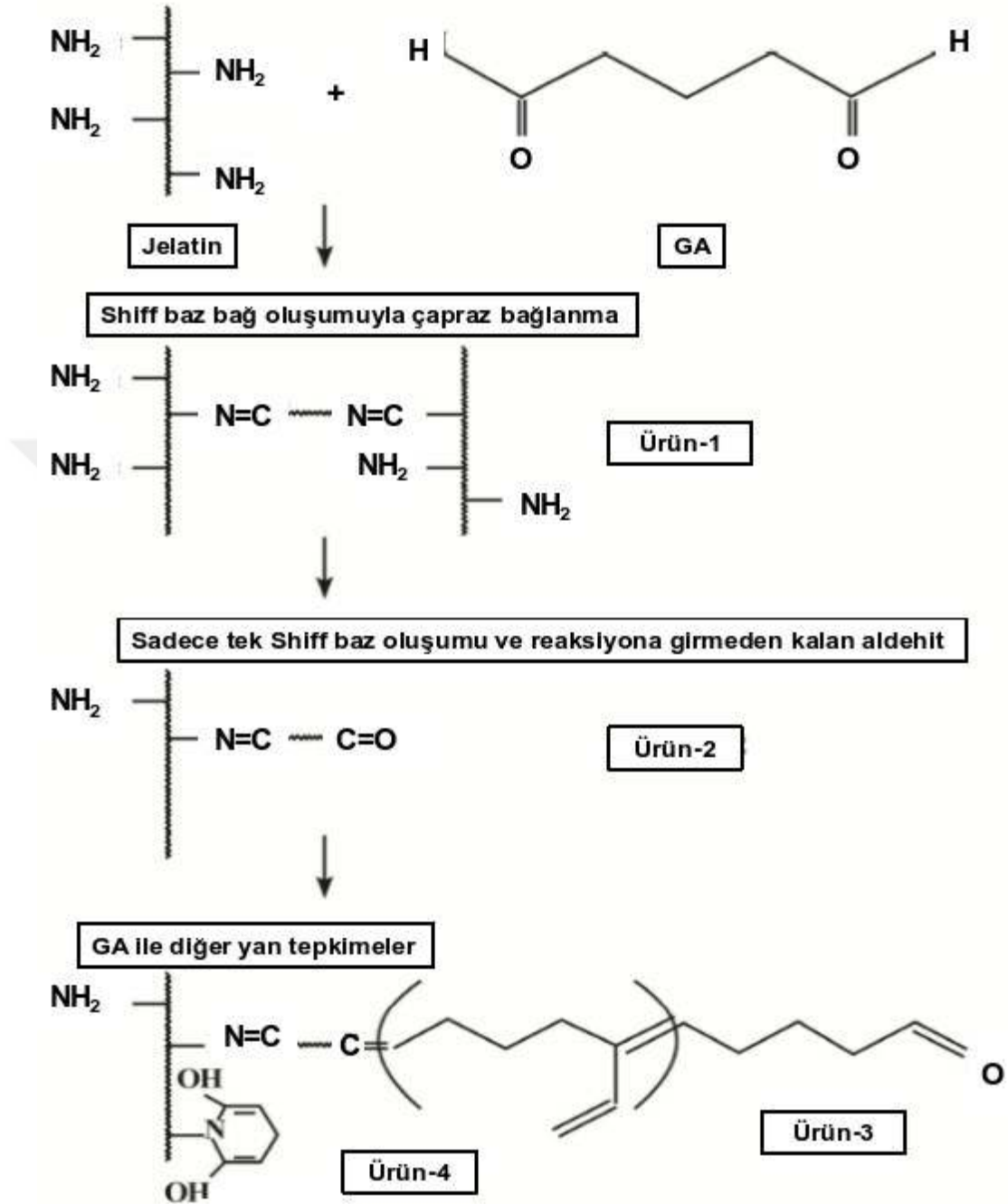
4. DENEYSEL BULGULAR VE YORUM

Bu bölümde deneysel kısımda açıklanan yöntemlerin uygulamalarından elde edilen sonuçlar ve yorumları ile beraber alt başlıklar halinde sunulmuştur.

4.1. Jelâtin Hidrojel Oluşum Mekanizması ve Jelleşme Yüzdeleri

Jelâtin hidrojel oluşumunda çapraz bağlayıcı ve jelâtin miktarının etkisini incelemek üzere Çizelge 3.1’de verilen miktarlarda bileşenler kullanılarak 6 tür hidrojel üretilmiştir. Elde edilen tüm hidrojellerin kullanıma uygun sağlamlıkta, ancak GA miktarları fazla olan J-1, J-2, J-4 ve J-6 hidrojellerinin, diğer hidrojellere göre biraz daha sert bir yapıda oldukları gözlenmiştir. Bu durum çapraz bağlayıcı oranının artmasına bağlıdır. Bilindiği gibi çapraz bağlanma oranının artması, yapıda daha sıkı bir yerleşim sağlayarak zincir esnekliğini azaltır ve daha az şişmeye yol açar. Literatür sonuçları değerlendirildiğinde jelâtin ile ilgili yürütülen çalışmalarda, çapraz bağ yoğunluğunun ayarlanması yoluyla sentezlenen hidrojellerin şişme özelliğinin değiştirildiği bilinmektedir [13].

GA ile çapraz bağlı hidrojel sentezlenmesinde, jelâtin zincirlerinde bulunan NH_2 gruplarıyla GA’nin yapısındaki aldehit grupları tepkimeye girerek ve Schiff baz bağı oluşturur. Jelâtin ile GA’nin etkileşmesi sonucu olası tepkime mekanizması Şekil 4.1’de sunulmuştur. Bu mekanizmada gösterildiği gibi Schiff baz bağı oluşumu ile meydana gelen çapraz bağlanmanın dışında farklı ürünler de ortaya çıkabilir. Bunlar sadece tek Schiff baz bağının oluşmasıyla ve GA ile gerçekleşen yan tepkimeler sonucunda meydana gelebilir [8,133].



Şekil 4.1. Çapraz bağlı jelatin hidrojel oluşumunun tepkime mekanizması

Hidrojellerin jelleşme ve şişme yüzdeleri Bölüm 3.3’de anlatıldığı şekilde incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. En yüksek jelleşme yüzdesinin J-2 hidrojelinde, en düşük jelleşme yüzdesinin ise J-3 hidrojelinde

olduğu saptanmıştır. Genel olarak, jelâtin miktarının sabit tutulup GA miktarının artırıldığı her hidrojelde, jelleşme oranı artmıştır. GA etkinliği bu yapılar karşılaştırıldığında rahatlıkla gözlenmektedir. Çapraz bağlayıcı miktarının artmasıyla polimer zincirlerinde daha fazla noktanın birbirine bağlanması ve böylece daha çok zincirin hidrojel yapısında yer alması beklenen bir sonuçtur.

Çizelge 4.1. Hidrojellerin karakteristik özellikleri

Hidrojel	Jelatin (g)	GA (g)	Jelleşme (%)	En yüksek ortalama şişme değeri (%)	Bozunma süresi (gün)
J-1	1,0	0,1	91,6	285	55
J-2	1,0	0,5	95,0	218	60
J-3	1,5	0,1	86,6	332	34
J-4	1,5	0,5	91,0	300	45
J-5	2,0	0,1	90,0	314	36
J-6	2,0	0,5	90,5	306	40

4.2. Jelâtin Hidrojellerin Şişme Deneylerinin Sonuçları

Üretilen hidrojellerin şişme deneyleri Bölüm 3.4’de anlatıldığı şekilde yürütülmüş ve sonuçlar alt başlıklar halinde sunulmuştur.

4.2.1. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla değişimi

Jelâtin hidrojellerin 30°C’de ve pH=7,4’de zamana karşı şişme davranışları Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde incelenmiştir. Ortalama şişme değerleri Ek-3’de verilmiş ve sonuçlar Şekil 4.2’deki grafikte sunulmuştur. Şekil 4.2’de görüldüğü gibi, tüm hidrojellerin şişme değerleri zamanla artmış ve yaklaşık 48 saat civarında dengeye ulaşmıştır. Sabit kaldığı bu şişme değeri daha sonra yapılan deneylerde denge şişme süresi olarak kullanılmıştır. Jelâtin hidrojel örneklerinin su içerisinde şişme değerlerinin zamanla artmasının nedeni, suyun jelâtin hidrojelleri için iyi bir çözücü olmasıyla açıklanabilir.

Hızla polimer zincirlerinin arasına giren çözücü molekülleri ile polimer zincirleri arasında bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşim sonucunda çözücü ve polimer molekülleri birbirini iterek polimer zincirleri birbirinden uzaklaşır ve böylece şişme değerleri artar.



Şekil 4.2. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin zamanla değişimi grafiği ($T=30^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=7,4$)

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi, GA miktarının artması ile şişme (%) değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. J-2, J-1’den; J-4, J-3’den ve J-6, J-5’den daha az şişmiştir. Bu sonuç doğrudan GA miktarına bağlıdır. Çapraz bağlanma miktarının artmasıyla polimerik yapının daha da sıkılaştığı söylenebilir. Yapıdaki bu sıkılık arttıkça su moleküllerinin hidrojel içine girmesi ve polimer zincirlerinin birbirinden uzaklaşması zorlaşır, bu sebepten dolayı şişme değerleri daha da azalır [8,123,130]. En yüksek şişme değerinin J-3

hidrojelinde, en düşük şişme değerinin ise J-2 hidrojelinde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç jelleşme oranları ile uyumludur. Çizelge 4.1’de en yüksek şişme değerleri jelleşme oranları ile bir arada sunulmuştur. Tüm değerlerin birbirini desteklediği bu çizelgeden de görülmektedir.

4.2.2. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin sıcaklıkla değişimi

Hidrojellerin ortalama şişme değerlerinin sıcaklıkla değişimi bölüm 3.4.2’de anlatıldığı şekilde incelenmiş, değerler Ek-4’de verilmiş, ayrıca sonuçlar grafiğe alınarak Şekil 4.3’de sunulmuştur.



Şekil 4.3. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin sıcaklıkla değişimi grafiği (pH=7,4; 48 saat)

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi tüm hidrojellerin şişme değerleri 4°C ile 60°C arasında fazla değişmemiştir. 40°C civarında yapıdaki gevşeme en yüksek

değere ulaşmış, daha sonra kütle kayıplarına bağlı bir şişme değeri azalması gözlenmiştir. Hidrojellerin şişme yüzdelerinin sıcaklıkla artması, jelâtin moleküllerinin kendi içinde hareketliliklerinin artması ile açıklanabilir. Bu hareketlilik jelleşme sırasında oluşan fiziksel çapraz bağlanmaları ve hidrojen bağlarını da etkilemekte ve azaltmaktadır. Böylece şişme değerleri düşmektedir. Tüm yapılar 60°C'den sonra tamamen bozunmuştur. 40°C sıcaklığın üstünde jelâtin moleküllerinin kendiliğinden sol hale geçerek depolimerize oldukları bilinmektedir. Bu nedenle yüksek sıcaklıklarda hidrojel yapı içerisindeki jelâtin moleküllerinde parçalanma olmakta ve yapı tamamen dağılmaktadır [73,125]. Şekil 4.3'de verilen hidrojellerin şişme eğrilerinin sıralanması Şekil 4.2'deki sıralamayla uyumludur.

4.2.3. Jelâtin hidrojellerin şişme değerlerinin pH ile değişimi

Tüm hidrojellerin ortalama şişme değerlerinin pH ile değişim değerleri Ek-5'te verilmiş, ayrıca sonuçlar grafiğe alınarak Şekil 4.4'te sunulmuştur. Sonuçlardan görüleceği gibi, hidrojeller düşük pH değerlerinde yüksek şişme göstermiş; pH'nın artması ile şişme değerleri önce azalmış, bir minimumdan geçerek pH=5'den sonra yeniden yükselmiştir. Hazırlanan hidrojeller pH=2 ve pH=12 deki şişme değerleri birbirlerine yakındır. Bu durum kullandığımız jelâtinin izoelektrik noktasına bağlı olarak açıklanabilir. Jelâtin, kollajenin asidik veya bazik hidrolizi ile elde edilen, polipeptitlerden oluşan doğal bir polimerdir. Doğal polipeptitlerin hem pozitif hem negatif yük içeren poliamfolitik makromoleküller oldukları ve bu yüzden izoelektrik pH'larının (pI) bulunduğu bilinmektedir. Bu pI'da yapıdaki pozitif ve negatif yüklerin birbirine eşit olduğu, yani net yükünün sıfır olduğu bilinmektedir. İzoelektrik pH'ya sahip poliamfolitik moleküller, pH değerlerine ve zincirdeki iyonik kuvvetlere bağlı olarak farklı yapılarda bulunabilirler. Hidrojeller bu pH'da büzüşerek küçülür. pI'nın altındaki pH değerlerinde yapıdaki amino grupları daha çok (+) yükle yüklenmeye, pI'nın üstündeki pH'larda ise karboksil gruplarının hidrojenlerini kaybetmesiyle yapı daha çok (-) yükle yüklenmeye başlar. Pozitif ya da negatif yüklerin çokluğunda benzer yükler birbirini daha çok

iteceğinden şişme kolaylaşır. Böylece hidrojelde oluşan iyonlaşmış haldeki gruplar birbirlerini iterek yapının gevşemesini artırır ve böylece şişme değerleri artar. Bilindiği gibi, jelâtinin pl değeri 5,0'dır ve bu bölümde elde edilen en düşük şişme değeri, jelâtinin pl değeri ile uyumludur [29]. Bütün hidrojellerin şişme değerleri Şekil 4.2 ve 4.3'de sunulan sıralamaya uymaktadır.



Şekil 4.4. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin pH ile değişimi grafiği (T=30°C; 48 saat)

4.3. Jelâtin Hidrojellerinin Bozunma Davranışları

Jelâtin doğal ve biyobozunur bir polimerdir. Diğer doğal polimerlere nazaran daha az toksik ve biyouyumlu olmasından dolayı daha çok ön plana çıkmaktadır. Ayrıca çok sayıda yan grupta sahip olması nedeniyle kolayca çapraz bağlanabilir ve modifiye edilebilir. Hidrojellerin bozunma süreçlerine

çapraz bağlayıcı ve jelâtin miktarlarının da etki etmesi beklenebilir. Bu etkiyi gözlemek üzere ürettiğimiz hidrojellerin bozunma davranışları incelenmiştir [134]. Böylece ileriki çalışmalarda kullanılacak yere bağlı hidrojinin seçilmesi mümkün olacaktır. Tüm hidrojellerin bozunma davranışları 37°C'de ve pH=7,4'de, Bölüm 3.5'de anlatıldığı şekilde incelenmiştir. Ortalama sonuçlar Ek-6'da verilmiş ve grafiğe alınarak Şekil 4.5'te sunulmuştur.



Şekil 4.5. Hidrojellerin ortalama bozunma (%) değerlerinin zamanla değişimi (37°C, pH=7,4)

Sonuçlardan da görüleceği gibi, çapraz bağlayıcı miktarının az olduğu hidrojellerin, diğer hidrojellere göre daha hızlı bozunduğu saptanmıştır. Çapraz bağlayıcı oranının göreceli olarak en fazla ve jelleşme yüzdesinin en yüksek olduğu J-2 hidrojinin bozunmasının en uzun sürdüğü (yaklaşık 60 gün) belirlenmiştir. En hızlı bozunma, jelatin miktarı başına en az çapraz bağlayıcının kullanıldığı J-3 ve J-5 hidrojelleri için elde edilmiştir. Bozunma

süreçleri Çizelge 4.1’de verilen jelleşme oranları ile uyumludur. En zayıf yapının bile tamamen bozulması yaklaşık 35-40 gün sürmüştür. Üretilen hidrojellerin bozunma süreleri 30 ile 60 gün gibi geniş bir aralıkta değişmektedir. Bu sonuçlar başka çalışmalarda uygun hidrojel seçimlerini kolaylaştırmaktadır.

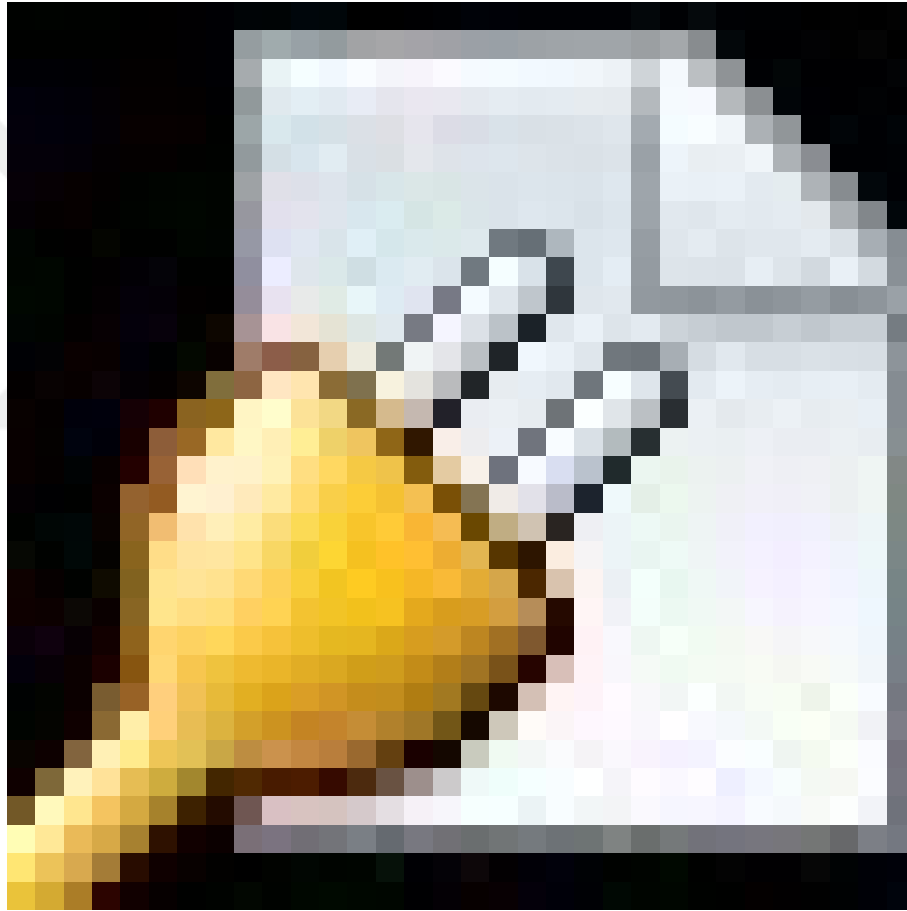
4.4. Jelâtin Hidrojellerden MAP Salımı

Jelâtin hidrojellerine MAP salımı Bölüm 3.6.3’te anlatıldığı şekilde takip edilmiş, sonuçlar Ek-7’de tablo halinde ve Şekil 4.6’da grafik olarak sunulmuştur.



Şekil 4.6. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının zamanla değişimi grafiği
Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, tüm hidrojellerden MAP salımı önce zamanla artmış ve ortalama 40 saat civarında sabitlenmiştir. Bu sürenin, J-3 hidroجلي

için en kısa, J-2 için ise en uzun olduğu gözlenmiştir. Hidrojellerin salım oranları yapılan şişme deneylerinin sonuçları ile de uyumlu çıkmıştır. MAP salımı, J-2 hidrojelinde yaklaşık 60 saatte, J-3 hidrojelinde ise yaklaşık 40 saatte tamamlamıştır. Bu sonuç, J-2 hidrojelindeki çapraz bağlama yoğunluğunun ve jelleşme yüzdesinin diğer hidrojellerden daha fazla olmasıyla açıklanabilir. Hazırlanan MAP yüklü hidrojellerin toplam salımının zamanla değişimi sonuçları Ek-8'de ve Şekil 4.7'de grafik olarak sunulmuştur.



Şekil 4.7. Jelâtin hidrojellerinden toplam MAP salım grafiği

Salım sürelerinin 40 ile 60 saat arasında olması hızlı bir salım olarak değerlendirilebilir. Ancak, üretilen MAP yüklü disklerin tarımsal uygulamalarda tamamen su dolu ortamda kullanılması söz konusu değildir. Sulama ancak belirli aralıklarda gerçekleşeceğinden gerçek kullanım yerlerinde bu salım süreleri çok daha yavaş olacaktır. Hidrojellerin bozunma

süreleri 30 ile 60 gün arasında değiştiği için, üretilen bu diskler uzun süre tarım ortamında kalabilecek ve su aldıkça salım yapacaktır. Bu nedenle üretilen bu hidrojellerin amaca uygun olduğu söylenebilir.

MAP salımını kinetik olarak inceleyebilmek için Eşitlik 2.1 ile anlatıldığı şekilde çizilen (M_t/M_∞) -t grafiği Şekil 4.8'de ve sonuçlar Ek-9'da sunulmuştur. Bu grafikten görüldüğü gibi MAP'ın tamamı hidrojeller içinden salınmıştır. Bu durumda verimli bir salım olduğu, madde kaybının olmadığı söylenebilir.



Şekil 4.8. MAP yüklü jelâtin hidrojelleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi grafiği

Kinetik verilere geçmek için aynı eşitlikten yararlanılarak çizilen $\ln(M_t/M_\infty)$ - $\ln t$ grafikleri Şekil 4.9'da ve bunlara ait veriler Ek-10'da sunulmuştur. Bu

grafikten yararlanılarak tüm hidrojeller için difüzyon parametreleri hesaplanmış ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.9. Jelâtin hidrojellerden MAP'ın zamana karşı salım kinetiği

Çizelge 4.2. MAP yüklü jelâtin hidrojellerine ait kinetik parametreler

Hidrojeller	n	$k \times 10^3$
J-1	1,013	0,27
J-2	1,037	0,20
J-3	0,882	1,34
J-4	0,923	0,66
J-5	0,900	1,07
J-6	0,913	0,86

Elde edilen n değerlerinin J-1 ve J-2 hidrojelleri için 1,0 değerine çok yakın olduğu ve bu hidrojellerin 0. dereceden salım kinetiğine uygun davranmış oldukları söylenebilir. Bu durumda salım hızının zamandan bağımsız gibi olduğu yorumu yapılabilir [97,118].

4.5. Jelatin Hidrojellerden AN Salımı

Jelâtin hidrojellerine AN salımı Bölüm 3.7.3'te anlatıldığı şekilde takip edilmiş, sonuçlar Ek-11'de tablo halinde ve Şekil 4.10'da grafik olarak sunulmuştur. AN yüklü J-3 ve J-5 hidrojelleri, çapraz bağlayıcı oranının düşük olması sebebiyle istenilen şekilde elde edilememiştir. Dayanıksız ve yumuşak dokudaki bu hidrojellerden salım çalışmasının yapılmamasına karar verilmiştir.



Şekil 4.10. Jelâtin hidrojellerden AN salımının zamanla değişimi grafiği
Şekil 4.10'da görüldüğü gibi, tüm hidrojellerden AN salımı önce zamanla artmış ve yaklaşık 30 ile 50 saat arasında sabitlenmiştir. Bu süre J-6 hidrojel için en kısa, J-2 için ise en uzun değerdedir. Sonucun böyle olması çapraz bağlama yoğunluğu ve jelleşme yüzdesinin J-2 hidrojelinde diğerlerine göre

daha yüksek olmasıyla açıklanabilir. Elde edilen sonuçlar şişme ve MAP salım değerleri ile uyumludur. Hazırlanan AN yüklü hidrojellerin toplam salımının zamanla değişimi sonuçları Ek-12’de ve Şekil 4.11’de grafik olarak sunulmuştur.



Şekil 4.11. Jelâtin hidrojellerinden toplam AN salım grafiği

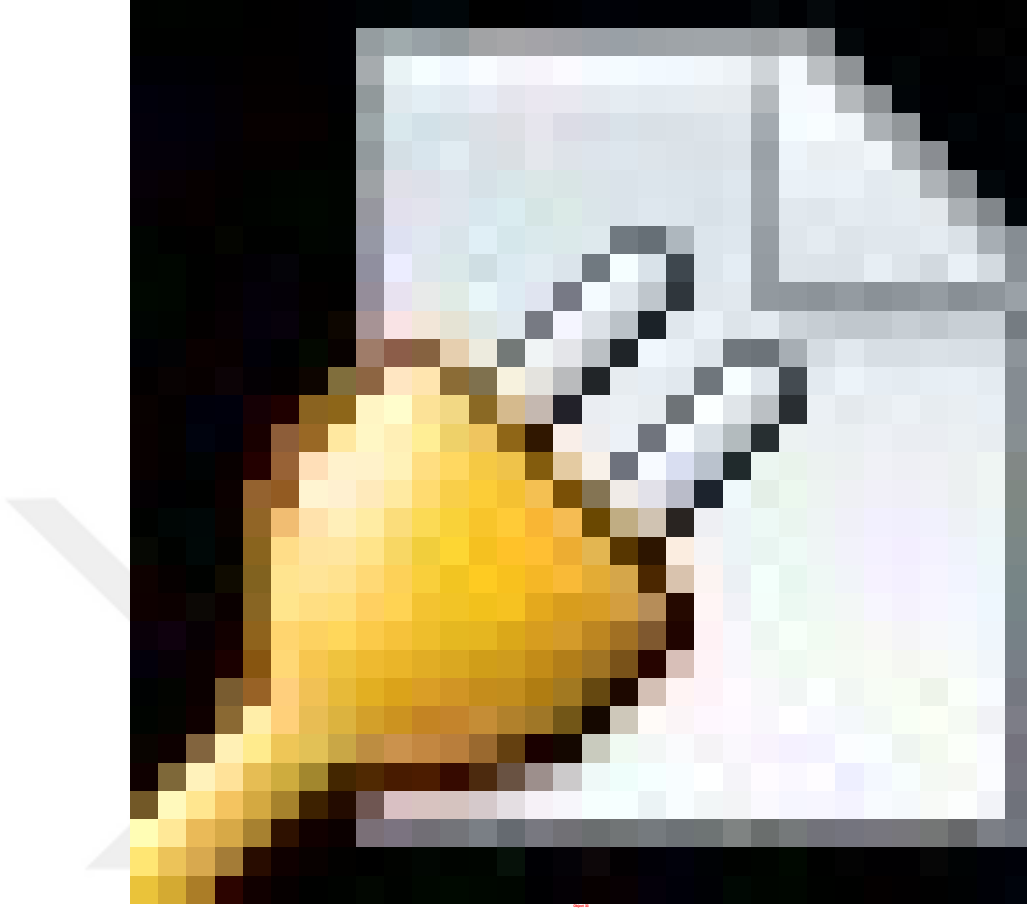
Salım sürelerinin 30 ile 50 saat arasında olması hızlı bir salım olarak değerlendirilebilir. Ancak, üretilen AN yüklü disklerin tarımsal uygulamalarda tamamen su dolu ortamda kullanılması söz konusu değildir. Sulama ancak belirli aralıklarda gerçekleşeceğinden gerçek kullanım yerlerinde bu salım süreleri çok daha yavaş olacaktır. Hidrojellerin bozunma süreleri 30 ile 60 gün arasında değiştiği için, üretilen bu diskler uzun süre tarım ortamında kalabilecek ve su aldıkça salım yapacaktır. Bu nedenle üretilen bu hidrojellerin amaca uygun olduğu söylenebilir.

AN salımını kinetik olarak inceleyebilmek için Eş. 2.1 ile anlatıldığı şekilde çizilen $(M_t/M_\infty) - t$ grafiği Şekil 4.12’de ve sonuçlar Ek-13’de sunulmuştur.



Şekil 4.12. AN yüklü jelâtin hidrojellerin M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi grafiği

Kinetik verilere geçmek için aynı eşitlikten yararlanılarak çizilen $\ln(M_t/M_\infty) - \text{Int}$ grafikleri Şekil 4.13.’de ve bunlara ait veriler Ek-14’de sunulmuştur. Bu grafikten yararlanılarak tüm hidrojeller için difüzyon parametreleri hesaplanmış ve Çizelge 4’3de verilmiştir.



Şekil 4.13. Jelâtin hidrojellerinden AN'ın zamana karşı salım kinetiği

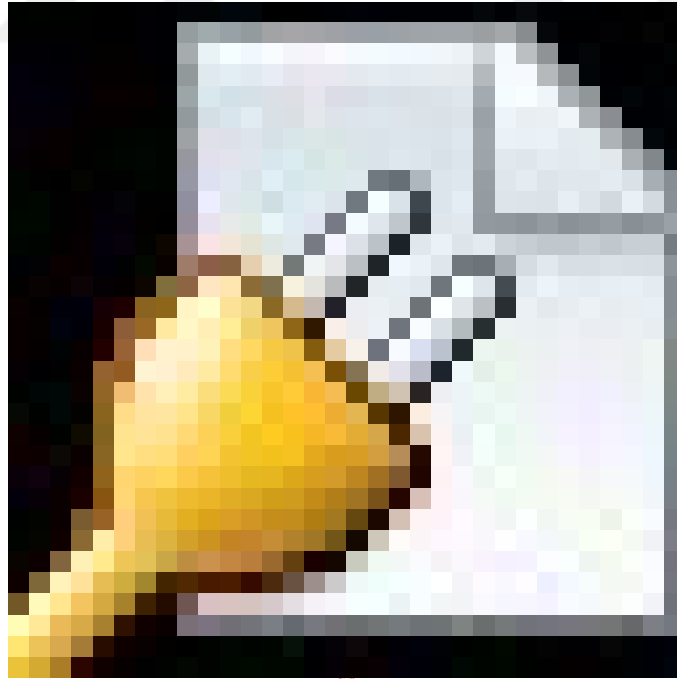
Özellikle J-1 ve J-2 hidrojelleri için elde edilen n değerlerinin 1,0'a çok yakın olduğu ve bu hidrojellerin 0. dereceden salım kinetiğine uygun davranmış oldukları söylenebilir. Bu durumda salım hızının zamandan bağımsız gibi olduğu yorumu yapılabilir [97,118].

Çizelge 4.3. AN yüklü jelatin hidrojellerine ait kinetik parametreler

Hidrojeller	n	$k \times 10^3$
J-1	0,990	13,94
J-2	1,099	8,18
J-4	0,854	24,23
J-6	0,869	25,37

4.6. Nitrat Üreten Bakteri Seçimi Çalışmaları

Pseudomonas bakteri kültürlerinin nitrat üretiminin incelenmesi Bölüm 3.8.2’de anlatıldığı şekilde yürütülmüştür. Besiyerine atılan bakteri kültürlerinin ürettikleri nitrat miktarlarının zamanla değişim değerleri Ek-15’de verilmiş ve sonuçlar Şekil 4.14, 4.15, 4.16 ve 4.17’deki grafiklerde sunulmuştur. Bu grafiklerden görüldüğü gibi *Pseudomonas putida-G15* bakterisinin nitrat üretimi diğerlerine göre belirgin biçimde düşük çıkmıştır. *Pseudomonas aeruginosa-99* ve *Pseudomonas stutzeri-T3* bakterilerinin nitrat üretim miktarları birbirlerine yakın olup takip edilebilir değerlerdedir. Öte yandan *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisi ile elde edilen sonuçlar daha yüksek miktarlarda nitrat üretildiğini göstermektedir. Özellikle 48 saat civarındaki artış, diğer bakteri türlerine göre daha verimli bir çalışmanın olabileceği görüşünü öne çıkarmıştır. Bu nedenle, çalışmanın diğer aşamalarında *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisinin kullanılmasına karar verilmiştir [40,135].



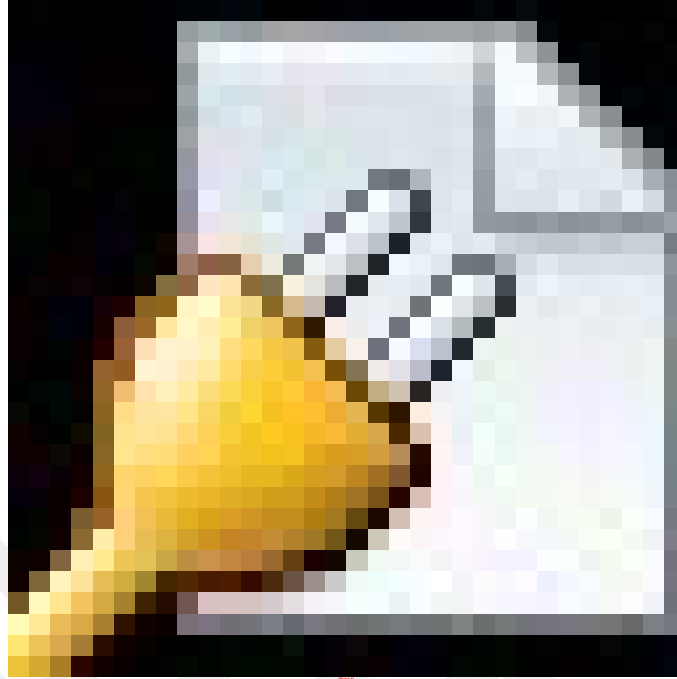
Şekil 4.14. *Pseudomonas aeruginosa-78* bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi



Şekil 4.15. *Pseudomonas aeruginosa*-99 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi



Şekil 4.16. *Pseudomonas putida*-G15 bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi



Şekil 4.17. *Pseudomonas stutzeri-T3* bakteri türünün nitrat üretiminin zamanla değişimi

4.7. Farklı Besiyerlerinde Nitrat Üretiminin Takibi

Pseudomonas aeruginosa-78 bakterisinin farklı besiyerlerinde ürettiği nitrat üretim takibi Bölüm 3.8.3'de anlatıldığı şekilde takip edilmiştir. Değerler Ek-16'da tablo halinde ve Şekil 4.18, 4.19, 4.20 ve 4.21'deki grafiklerde sunulmuştur. Grafiklerdende görülebileceği gibi B-1 ve B-3 besiyerlerindeki nitrat üretiminde dalgalanmalar çoktur. Bu besiyerlerinde nitrat oluşumunu sağlayacak amonyum sülfat miktarı, B-2 ve B-4'e göre daha azdır. Bu nedenle oluşan nitratın bakteri tarafından tekrar denitrifikasyon sürecine sokularak kullanıldığı düşünülebilir [40,135,136]. B-3 ve B-4 besiyerlerinde ilave olarak bakterinin kullanabileceği karbon kaynağı mevcuttur. Bu durumda bakterinin kendisine enerji kaynağı olarak gliserolü tercih edip amonyum sülfatı nitrata dönüştürme veriminin düşebileceği düşünülmüştür. Grafikler incelendiğinde temel olarak nitrat üretiminin amonyum sülfat miktarına bağlı olduğu görüşü öne çıkmıştır. Bu nedenle daha sonraki jel-bakteri çalışmaları için B-2 besiyerinin seçilmesine karar verilmiştir.



Şekil 4.18. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin B-1 besiyerindeki nitrat üretimi



Şekil 4.19. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin B-2 besiyerindeki nitrat üretimi



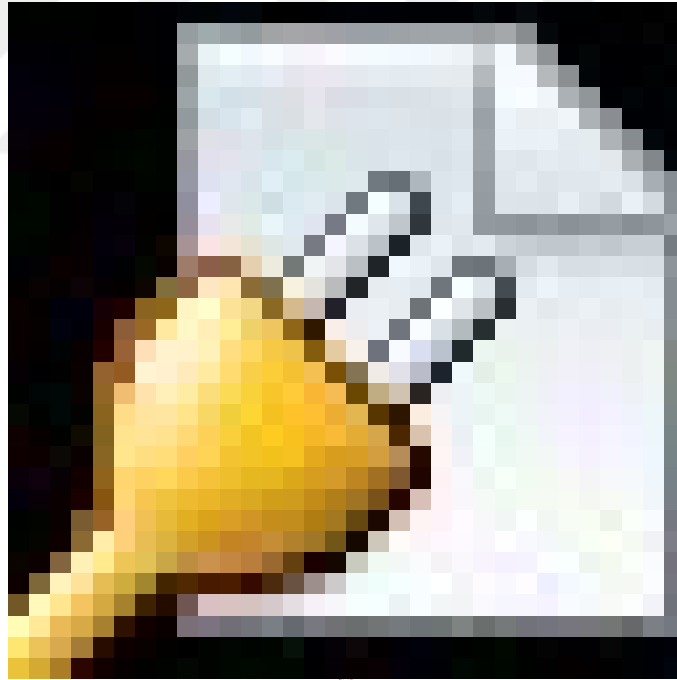
Şekil 4.20. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin B-3 besiyerindeki nitrat üretimi



Şekil 4.21. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin B-4 besiyerindeki nitrat üretimi

4.8. Bakteri Yüklü Jelâtin Hidrojel Hazırlanması ve Bu Sistemin Nitrat Üretiminin Takibi

Bakteri yüklü jelâtin hidrojellerden nitrat salımının Bölüm 3.8.4’de anlatıldığı şekilde takip edilmiştir. Sonuçlar Ek-17’de çizelge halinde ve Şekil 4.22, 4.23, 4.24 v 4.25’deki grafiklerde sunulmuştur. Grafikler incelendiğinde, nitrat üretiminin gerek biomas gerekse hidrojel içerisindeki durumlar için çalkalamalı ve çalkalamasız olmasının sonuçları fazla etkilemediği kanaati oluşmuştur. Elde edilen veriler ışığında, hidrojele tutuklu bakterilerin, serbest haldekilerine çok yakın miktarlarda nitrat ürettiği gözlenmektedir. Bu durumda, hazırlanan bakteri-jel sisteminin uygun bir mikrobiyal gübre formülü olduğu söylenebilir.



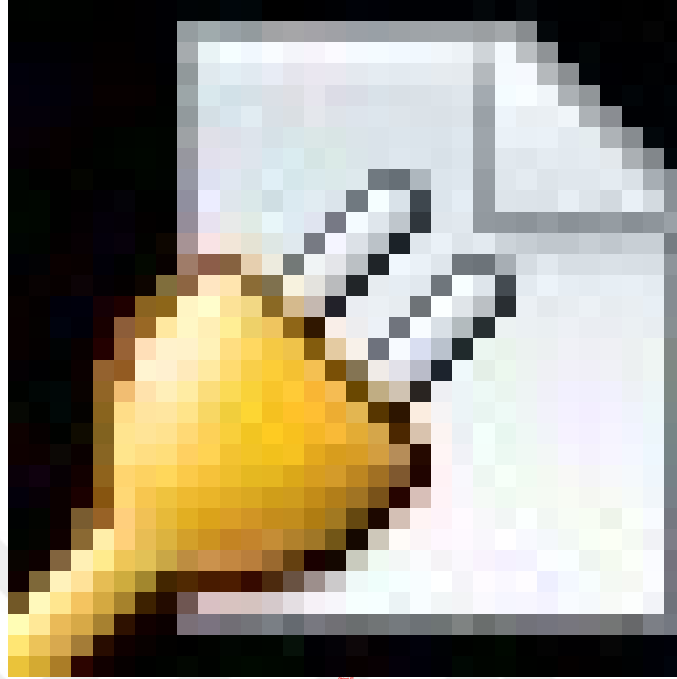
Şekil 4.22. *Pseudomonas aeruginosa*-78 biomasının B-2 besiyeri ve çalkalamalı etüv içerisindeki nitrat üretimi



Şekil 4.23. Bakteri yüklü jelatin hidrojel sisteminin B-2 besiyeri ve çalkalamalı etüv içerisindeki nitrat üretimi



Şekil 4.24. *Pseudomonas aeruginosa*-78 biyomasının B-2 besiyeri ve çalkalamasız etüv içerisindeki nitrat üretimi



Şekil 4.25. Bakteri yüklü jelatin hidrojel sisteminin B-2 besiyeri ve çalkalamasız etüv içerisindeki nitrat üretimi

4.9. Jelâtin Temelli Mikrobiyal Gübre Sistemlerinin Raf Ömrünün Belirlenmesi

Pseudomonas aeruginosa-78 bakterisi kullanılarak hazırlanan mikrobiyal gübrelerin raf ömrü Bölüm 3.8.5’de anlatılan şekilde yürütüldü. Jelâtin temelli bu bakteri sistemlerinin nitrat üretim değerleri Ek-18, Ek-19, Ek-20’de ve sonuçlar Şekil 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30 ve 4.31’de grafik olarak verilmiştir.

Şekil 4.26, 4.27 ve 4.28’da verilen 3, 7 ve 14 gün oda koşullarında bekletildikten sonra takip edilen örneklerden görüldüğü gibi bakterilerin nitrat üretim değerleri giderek düşmüştür. Son deneysel koşul olan 30 günlük bekletme süresi bitiminde de nitrat üretimi takip edilmiş ancak bir üretim gözlenmemiştir. Nitrat üretimi, 3 gün bekleyen örnekte 100 saat, 7 gün bekleyen örnekte 94 saat ve 14 gün bekleyen örnekte 88 saatte sona ermiştir.



Şekil 4.26. Oda koşullarında 3 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi



Şekil 4.27. Oda koşullarında 7 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi



Şekil 4.28. Oda koşullarında 14 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Şekil 4.29, 4.30 ve 4.31’da verilen 3, 7 ve 14 gün buzdolabı koşullarında bekletildikten sonra takip edilen örneklerden görüldüğü gibi bakterilerin nitrat üretimleri giderek düşmüştür. Son deneysel koşul olan 30 günlük bekletme süresi bitiminde de nitrat üretimi takip edilmiş ancak bir üretim gözlenmemiştir. Nitrat üretimi, 3 gün bekleyen örnekte 93 saat, 7 gün bekleyen örnekte 78 saat ve 14 gün bekleyen örnekte 58 saatte sona ermiştir.



Şekil 4.29. Buzdolabı koşullarında 3 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisinin nitrat üretimi



Şekil 4.30. Buzdolabı koşullarında 7 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisinin nitrat üretimi



Şekil 4.31. Buzdolabı koşullarında 14 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Buzdolabı koşullarında bekletilen sistemlerin nitrat üretim süreleri oda koşullarında bekletilen örneklere göre daha kısa sürmüştür. Genel olarak oda koşullarında bekletilen örneklerin nitrat üretimleri, buzdolabında bekletilenlerden bir miktar daha yüksek çıkmıştır. Tüm veriler incelendiğinde, hazırlanan mikrobiyal gübre sisteminin, oda şartlarında saklanması uygun olacağı söylenebilir.

5. SONUÇLAR

- Sunulan çalışmada gübre serbestleşmesinde kullanılmak üzere farklı miktarlarda GA çapraz bağlayıcısı ve jelâtin kullanılarak bir seri hidrojel sentezlendi. Hazırlanan hidrojellerin jelleşme yüzdeleri, gravimetrik yöntem kullanılarak hesaplandı. Genel olarak, jelâtin miktarının sabit tutulup GA miktarının artırıldığı her hidrojelde, jelleşme oranının arttığı belirlendi.
- Şişme-süre testlerinden, tüm hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla arttığı ve yaklaşık 48 saat civarında sabit değere ulaştığı saptandı. Jelleşme yüzdelerinin artmasıyla şişme değerlerinin azaldığı gözlemlendi. En yüksek şişme değeri J-3 hidrojeli için yaklaşık olarak %332, en düşük şişme değeri ise J-2 hidrojeli için yaklaşık olarak %218 olarak elde edildi.
- Şişme-sıcaklık testlerinden, sıcaklık arttıkça tüm hidrojellerin şişme değerlerinin arttığı ve 40°C civarında en yüksek şişme değerlerine ulaşıldığı saptandı. Jelleşme yüzdelerinin artmasıyla şişme değerlerinin azaldığı gözlemlendi. En yüksek şişme değeri J-3 hidrojeli için en düşük şişme değeri ise J-2 hidrojeli için elde edildi.
- Şişme-pH testlerinden, tüm hidrojellerin düşük pH değerlerinde yüksek şişme değerlerine ulaştığı, pH'nın artması ile şişme değerlerinin bir minimumdan geçip tekrar yükseldiği belirlendi. Bu davranışın izolektrik değere uygun olduğu gözlemlendi. En yüksek şişme değeri pH=2'de J-3 hidrojeli için yaklaşık olarak %954, en düşük şişme değeri ise pH=5'de J-2 hidrojeli için yaklaşık olarak %187 olarak bulundu.
- Hidrojellerin bozunma deneyleri sonuçlarından genel olarak çapraz bağlayıcı oranının ve jelleşme yüzdesinin artmasıyla, bozunma süresinin uzadığı saptandı. J-2 hidrojelinin bozunmasının en uzun sürdüğü, ve

yaklaşık 60 gün sonunda tamamen bozunduğu belirlendi. Jelleşme yüzdesinin en az olduğu J-3 hidrojelinin ise bozunma sürecinin 34 gün kadar sürdüğü görüldü.

- MAP yüklü hidrojellerin salım çalışma salımının önce zamanla arttığı ve farklı jeller için 38 ile 55 saat arasında sabit değere ulaştığı belirlendi. Salım değerlerinin jelleşme ve şişme yüzdelerine bağlı olarak değiştiği saptandı. Yüksek jelleşme oranlarının yavaş salıma yol açtığı ve salım süresinin jelleşme yüzdesi en fazla olan J-2 için 55 saat, jelleşme yüzdesi en düşük olan J-3 hidrojeli için ise 38 saat sürdüğü saptandı.
- AN yüklü hidrojellerin salım çalışma salımının önce zamanla arttığı ve farklı jeller için 36 ile 50 saat arasında sabit değere ulaştığı belirlendi. Salım değerlerinin jelleşme ve şişme yüzdelerine bağlı olarak değiştiği saptandı. Yüksek jelleşme oranlarının yavaş salıma yol açtığı ve salım süresinin jelleşme yüzdesi en fazla olan J-2 için 50 saat, jelleşme yüzdesi en düşük olan J-6 hidrojeli için ise 36 saat sürdüğü saptandı.
- Jelatin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin hazırlanması amacıyla seçilen *Pseudomonas aeruginosa-78*, *Pseudomonas aeruginosa-99*, *Pseudomonas putida-G15* ve *Pseudomonas stutzeri-T3* bakterilerinin nitrat üretim miktarları standart biomasta takip edildi. *Pseudomonas putida-G15* bakterisinin nitrat üretimi diğerlerine göre belirgin biçimde düşük çıktı, *Pseudomonas aeruginosa-99* ve *Pseudomonas stutzeri-T3* bakterilerinin nitrat üretim miktarlarının ise birbirlerine yakın olup takip edilebilir değerlerde olduğu saptandı. *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisinin daha yüksek miktarlarda nitrat üretildiği belirlendi ve jelatin hidrojeline bu bakterinin yüklenmesine karar verildi.

- *Pseudomonas aeruginosa-78* bakterisinin en yüksek verimle nitrat üretebileceği besi yeri bileşenlerinin tayin edilmesi için dört farklı formülde besi yerleri hazırlandı ve B-2 besiyeri ile çalışmanın uygun olacağına karar verildi.
- Jelleşme, şişme/bozunma deneylerinin sonuçları değerlendirilerek J-1 hidrojelinin mikrobiyal preparat hazırlamada kullanılmasına karar verildi. *Pseudomonas aeruginosa-78* bakteri yüklü jelatin hidrojel sentezlendi ve farklı koşullardaki nitrat üretimi incelendi. Hidrojel içerisine hapsedilmiş bakterilerin nitrat üretebildikleri saptandı.
- Mikrobiyal gübre sistemlerinin raf ömrünün belirlenmesi amacıyla *Pseudomonas aeruginosa-78* bakteri yüklü jelatin hidrojeller 3, 7, 14 ve 30 gün süreyle buz dolabı ve oda koşullarında bekletilen örneklerin nitrat üretimleri takip edildi. Bakterilerin bu sistem içerisinde 14 gün süreyle aktivitelerini sürdürebildikleri belirlendi.

KAYNAKLAR

1. Ersun, N., Arslan, K., “İyi tarım uygulamaları”, Türkiye’de Organik Tarım ve İyi Tarım Uygulamaları, **İTO Yayınları**, İstanbul, 59-74 (2011).
2. Kırımhan, S., “Bitki besleme, gübreleme”, Organik Tarım Sistemleri ve Çevre”, **Turhan Kitapevi**, Ankara, 105-135, (2005).
3. Han, X., Chen, S., Hu, X., “Controlled-release fertilizer encapsulated by starch/polyvinyl alcohol coating”, **Desalination**., 240: 21-26 (2009).
4. Mullins, G.L., Alley, S.E., Reeves, D.W., “Tropical maize response to nitrogen and starter fertilizer under strip and conventional tillage systems in southern Alabama”, **Soil & Tillage Research**., 45: 1–15 (1998).
5. Akdeniz, A., Brahi, A., “Gübreleme, ticaret gübreleri”, Gübreler ve Gübreleme, **Cumhuriyet Üniversitesi Tokat Ziraat Fakültesi Yayınları**, Tokat, 9-204, (1991).
6. Yan, D., Zheng-yin, W., “Release characteristics of different n forms in an uncoated slow/controlled release compound fertilizer,” **Agricultural Sciences in China**., 6 (3): 330-337 (2007).
7. Shavit, U., Reiss, M., Shaviv, A., “Wetting mechanisms of gel-based controlled-release fertilizers”, **Journal of Controlled Release**., 88: 71–83 (2003).
8. Bigia, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., Rubini, K., “Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin”, **Biomaterials**., 23: 4827-4832 (2002).
9. Singh, S., Rama Rao, K.V., Venugopal, K., Manikandan, R., “Alteration in dissolution characteristics of gelatin-containing formulations”, **Pharmaceutical Technology**, 36-58 (2002).
10. Cortesia, R., Esposito, E., Ostia, M., Squarzon, G., Menegatti, E., Davis, S., Nastruzzia, C., “Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system”, **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**., 47: 153–160 (1999).
11. Sarsılmaz, F., Sarsılmaz, C., “Ortopedide Kullanılan Polimer Esaslı Kompozit Malzemeler”, **Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları**., 113-118 (2003).

12. Sinko, P., Kohn, J., "Polymeric drug delivery systems:an overview, polymeric drug delivery systems:properties and application", **American Chemical Society**, Washington DC, 18-21(1993).
13. Hoare, T. R., Kohane, D. S., "Hydrogels in drug delivery: progress and challenges", **Polymer.**, 49: 1993-2007 (2008).
14. Er, C., Başalma, D., "Organik üretim", Organik Tarımdaki Gelişmeler, **Nobel Yayınları**, Ankara, 163-273, (2008).
15. Arslanargun, B., Yürekli, A., "Bitkilerde Mineral Beslenme Fizyolojisi", **Anadolu Üniversitesi**, Eskişehir, (2002).
16. Yılmaz, C., "Bitkisel Üretimde Besin Elementleri", **Hasad Yayıncılık**, (2004).
17. Kacar, B., Katkat, V., "Bitki Besleme", **Nobel Yayınları**, Ankara, (2006).
18. Dawson, C.J., Hilton, J., "Fertiliser availability in a resource-limited world: Production and recycling of nitrogen and phosphorus", **Food Policy.**, 36: 14–22 (2011).
19. Kılınç, M., Kutbay, G., "Toprak faktörleri", Bitki Ekolojisi, **Palme Yayıncılık**, Ankara, 13-130, (2008).
20. Ming-gang, X., Dong-chu, L., Ju-mei, L., Dao-zhu, Q., Yagi, K., Hosen, Y., "effects of organic manure application with chemical fertilizers on nutrient absorption and yield of rice in hunan of Southern China", **Agricultural Sciences in China.**, 7 (10): 1245-1252 (2008).
21. Entry, J., Sojka, A. R.E., "Matrix based fertilizers reduce nitrogen and phosphorus leaching in three soils", **Journal of Environmental Management.**, 87: 364–372(2008).
22. Sanchez , M., Gonzalez, J.L., "The fertilizer value of pig slurry. I. Values depending on the type of operation", **Bioresource Technology.**, 96: 1117–1123 (2005).
23. Oliet, J., Planelles, R., Segura, M.L., Artero, F., Jacobs, D.F., "Mineral nutrition and growth of containerized *Pinus halepensis* seedlings under controlled-release fertilizer", **Scientia Horticulturae.**, 103: 113–129 (2004).
24. Ryan, M., Ash,J., " Effects of phosphorus and nitrogen on growth of pasture plants and VAM fungi in SE Australian soils with contrasting fertiliser histories (conventional and biodynamic)", **Agriculture, Ecosystems and Environment.**, 73: 51-62(1999).

25. Taiz, L., Zeiger, E., "Bitki Fizyolojisi", Çeviri Editörü, İsmail Türkan, **Palme Yayıncılık**, Ankara, 109-283, (2008).
26. Sarathchandra, S.U., Ghani, A. Yeates, G.W., Burch, G., Cox, N.R., "Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils", **Soil Biology & Biochemistry.**, 33: 953-964 (2001).
27. Ülgen, N., Yurtsever, N., "Toprak ve bitki besin maddeleri, gübrelerin uygulanma şekli ve zamanı", Türkiye'de Gübre Ve Gübreleme Rehberi, **TC Tarım Orman Ve Köyişleri Bakanlığı**, Ankara, 16-60, (1984).
28. A, David., Fu, H., Xue, F., "Linking the oceanic biogeochemistry of iron and phosphorus with the marine nitrogen cycle", **Nitrogen in the Marine Environment.**, 1627-1654 (2008).
29. Tilman, D., "Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences", **Issues in Ecology.**, 1: 2-16 (1997).
30. Gruber, N., "The marine nitrogen cycle: overview and challenges", **Nitrogen in the Marine Environment.**, 1-43 (2008).
31. Hood, R. R., Christian, J. R., "Ocean nitrogen cycle modeling", **Nitrogen in the Marine Environment.**, 1445-1448 (2008).
32. Berman-Frank, I., Chen, Yi-B., Gao, Y., Fennel, K., Follows, Michael J. Milligan, A. J., Falkowski, P. G., "Feedbacks between the nitrogen, carbon and oxygen cycles", **Nitrogen in the Marine Environment.**, 1537-1557 (2008).
33. Karaminiaae-Hamedani, H. R., Kanda, K., Kato, F., "Denitrification activity of the bacterium pseudomonas sp. asm-2-3 isolated from the ariake sea tideland", **Journal of Bioscience and Bioengineering.**, 97 (1): 39-44 (2004).
34. Ruttenberg, K. C. "The Global Phosphorus Cycle", **Treatise on Geochemistry.**, 8; 585-643 (2003).
35. Jahnke, R. A., "The Phosphorus Cycle", **Global Biogeochemical Cycles.**, 302-315 (1992).
36. Zhou, Q., Takenaka, S., Murakami, S., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Aoki, K., "Screening and characterization of bacteria that can utilize ammonium and nitrate ions simultaneously under controlled cultural conditions", **Journal of Bioscience and Bioengineering.**, 103 (2): 185-191 (2007).

37. Çakmakçı, R., “Bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin tarımda kullanımı”, **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 36 (1) : 97-107 (2005).
38. Küçük, Ç., Güler, İ., “Bitki gelişimini teşvik eden bazı biyokontrol mikroorganizmalar”, **Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR.**, 7 (1): 30-42 (2009)
39. Zago, A., Chugani, S., “Pseudomonas”, **Northwestern University**, Chicago, USA , 245-260 (2009).
40. Nurizzo, D., Silvestrini, M., Mathieu,M., “ N-terminal arm exchange is observed in the 2.15 Å crystal structure of oxidized nitrite reductase from *Pseudomonas aeruginosa*”, **Research Article**, 5:1157–1171,1997.
41. Diez , J.A., Roman, R., Caballero, R., Caballero A., “Nitrate leaching from soils under a maize-wheat-maize sequence, two irrigation schedules and three types of fertilisers”, **Agriculture, Ecosystems and Environment.**, 65: 189-199 (1997).
42. Chandini, M., Thirukkumaran, D. P., “Microbial respiration, biomass, metabolic quotient and litterdecomposition in a lodgepole pine forest floor amended with nitrogen and phosphorous fertilizers”, **Soil Biology & Biochemistry.**, 32: 59-66 (2000).
43. Agbenin, J.O., Goladi J.T., “Carbon, nitrogen and phosphorus dynamics under continuous cultivation as influenced by farmyard manure and inorganic fertilizers in the savanna of northern Nigeria”, **Agriculture, Ecosystems and Environment.**, 63: 17-24(1997).
44. Vadas, P.A., Owens, L.B., Sharpley, A.N., “An empirical model for dissolved phosphorus in runoff from surface-applied fertilizers”, **Agriculture, Ecosystems and Environment.**, 127 59–65(2008).
45. Yalçın, E., Çavuşoğlu, K., Maraş, M., “Transdermal uygulamalar için glumikron yüklü agaroz hidrojellerinin hazırlanması ve kontrollü salım sistemlerinde kullanılması”, **Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilim Dergisi.**, 20 (2): 217-222 (2008).
46. Park, K., Shalably, S.W.W., Park, H., “Biodegradable hydrogels for drug delivery”, **Technomic Publishing Co. Inc.**, 2-3 (1993).
47. Byrne M.E., Park K., Peppas N.A., “Molecular imprinting within hydrogels”, **Advanced Drug Delivery Reviews.**, 54:149-161 (2002).

48. Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Dubovik, A.S., Grinberg, N.V., Burova, T.V., Grinberg, V.Y., "Temperature-sensitive chitosan-poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrated networks with enhanced loading capacity and controlled release properties", **Journal Controlled Release**, 102: 629-641 (2005).
49. Güven, O., Şen, M., "Preparation and characterization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels", **Polymer**, 7634-7652 (2001).
50. Huglin, M.B., Zakarai, M.B., "Swelling properties of copolymeric hydrogels prepared by gamma irradiation", **Journal Polymer Science** 31: 457-475 (1986).
51. Duran, S., Şolpan, D., Güven, O., "Synthesis and characterization of acrylamide-acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile dyes", A Thesis of Master of Science, **The Institute for Graduated Studies in Pure and Applied Sciences of Hacettepe University**, Ankara, 6-8 (2000).
52. Bulut, M., "Makrogözenekli poli(akril amit) hidrojellerinin hazırlanması ve farklı ortamlardaki şişme davranışlarının incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 5-14, 16-19 (2005).
53. Wu, S.X., Hoffman, S.A., Yager, P., "Synthesis and characterization of thermally reversible macroporous poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogels", **J. Polym. Sci. Part A, Pol. Chem.**, 30: 2121-2129 (1992).
54. Melekaslan, D., Okay, O., "Kuvvetli anyonik hidrojellerin polimer çözeltileri içindeki şişme davranışı", **İstanbul Teknik Üniversitesi Dergisi Fen Bilimleri.**, 2 (1): 61-71 (2004).
55. Fen Bilimleri Dergisi, **Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi**, 17:64 (1994).
56. Eid, M., Abdel-Ghaffar, M.A., Dessouki, A.M., "Effect of maleic acid content on the thermal stability, swelling behaviour and network structure of gelatin-based hydrogels prepared by gamma irradiation", **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B.**, 267: 91–98 (2009).
57. Chen, J., Liu, M., Liu, H., Ma, L., "Synthesis, swelling and drug release behavior of poly(N,N-diethylacrylamide-co-N-hydroxymethyl acrylamide) hydrogel", **Materials Science and Engineering C.**, 29: 2116–2123 (2009).

58. Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H., "Hydrogels in pharmaceutical formulations" , ***Eur. J. Pharm. Biopharm.***, 50: 27-46 (2000).
59. Swami, S.N., "Radiation synthesis of polymeric hydrogels for swelling-controlled drug release studies" , Doctor of Philosophy, ***University of Western Sydney New South Wales***, Australia (2004).
60. Netti, P.A., Shelton, J.C., Revell, P.A., Pirie, G., Smith, S., Ambrosio, L., Nicolais, L., Bonfield, W., "Hydrogels as an interface between bone and an implant", ***Biomaterials***., 14:1098-1104 (1993).
61. Ferreira, L., Vidal, M.M., Gil, M.H., "Evaluation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) gels as drug delivery systems at different pH values", ***International Journal of Pharmaceutics***., 194:169-180 (2000).
62. Çaykara, T., Doğmuş, M., Kantoğlu, Ö., "Network structure and swelling-shrinking behaviour of pH-sensitive poly(acrylamide-co-itaconic acid) hydrogels", ***Journal Polymer Science Part B: Polym Physics***., 42:2586-2594 (2004).
63. Rodriguez, E., Katime, I., "Behavior of acrylic acid-itaconic acid hydrogels in swelling, shrinking and uptakes of some metal ions from aqueous solution", ***Journal of Applied Polymer Science***., 90:530-536 (2003).
64. Bag, D.S., Alam, S., Mathur, G.N., "Terpolymer smart gels: synthesis and characterizations", ***Smart Materials and Structures***., 13:1258-1262 (2004).
65. Kayaman, N., Hamurcu, E.E.G., Uyanık, N., Baysal, B.M., "Interpenetrating hydrogel networks based on polyacrylamide and poly(itaconic acid): synthesis and characterization", ***Macromolekül Chemistry Physics***., 200: 231-238 (1999).
66. Ostroha, J., Pong, M., Lowman, A., Dan, N., "Controlling the collapse / swelling transition in charged hydrogels" , ***Biomaterials***, 25: 4345-4353 (2004).
67. Peppas, N.A., Khare, A.R., "Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release", ***Advanced Drug Delivery Reviews***, 11:1-35 (1993)
68. Podual, K., Doyle III, F.J., Peppas, N.A., "Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase", ***Polymer***, 41, 3975-3983 (2000)

69. English, A.E., Mafé, S., Manzanares, J.A., Yu, X., Grosberg, A.Y., Tanaka, T., "Equilibrium swelling properties of polyampholytic hydrogels", **The Journal of Chemical Physics**, 104:8713-8720 (1996)
70. Ritger, P.L., Peppas, N.A., "A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices", **Journal Controlled Release**, 5:37-42 (1987)
71. İnternet: Radikal Zincir (Katılma) Polimerizasyonu http://tanrisever.balikesir.edu.tr/dersler/polimer_kimyasi/polimerizasyon/radikal_zincir_polimerizasyon.html.
72. Peppas, N.A., Mikos, G.A., "Preparation methods and structure of hydrogels", **Hydrogels Med. and Pharm.**, 1:1-25 (1986).
73. Esposito, E., Cortesi, R., Nastruzzi, C., "Gelatin microspheres: Influence of preparation parameters and thermal treatment on chemico-physical and biopharmaceutical properties", **Biomaterials**, 17: 2009–2020, (1996).
74. Ratner, B.D., "Hydrogels in medicine and pharmacy", Ed., Peppas, N.A., "Hydrogels surfaces", **CRC Pres.**, Florida, 1:85-93.
75. Cardinal, J.R., Kim, S.W., Song, S.Z., Lee, E.S., Kim, S.H., "Controlled Release Systems", Ed., Chandrasekaran, S.K., "Controlled Release Drug Delivery Systems from Hydrogels", AIChE. Sym. Ser., Vol:77, 206, **AIChE Publ.**, New York, 52-61 (1981).
76. Ayman, M., Atta and K.F. Arndt., "New crosslinkers to synthesize pH and temperature-sensitive ionic hydrogels" , **Macromolecules**, 14: 671-674 (1994).
77. Basan, S., "Polimer kimyası", **Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları**, Sivas, 60-128 (2001).
78. Boral, S., Nath Gupta, A., Bohidar, H.B., "Swelling and de-swelling kinetics of gelatin hydrogels in ethanol–water marginal solvent", **International Journal of Biological Macromolecules**, 39: 240–249 (2006).
79. Arizaga, A., Ibarz, G, Piñol., "Stimuli-responsive poly (4-vinyl pyridine) hydrogel nanoparticles: Synthesis by nanoprecipitation and swelling behavior", **Journal of Colloid and Interface Science**, 348: 668–672 (2010).
80. Gupta, P., Vermani, K., Garg, S., "Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery", **Drug Delivery Today**, 7:569-578 (2002).

81. Kim, S.J., Park, S.J., Kim, S.I., "Properties of smart hydrogels composed of poly(acrylic acid)/poly(vinyl sulfonic acid) responsive to external stimuli" , **Smart Mater. and Struct.**,13: 317-322 (2004).
82. Bajpai, A.K., Giri, A., "Swelling dynamics of a macromolecular hydrophilic network and evaluation of its potential for controlled release of agrochemicals" , **React. Funct. Polym.**, 53: 125-141 (2002).
83. Qui, Y., Park, K., "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery" , **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 53: 321-339 (2001).
84. Kesgin D., "pH ya duyarlı poli(vinileter) bazlı amfifilik hidrojellerden protein salım kinetiğinin incelenmesi" , Yüksek Mühendislik Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 5-7 (2004).
85. Rubinsteinm, C.R.H., Dobrynin, A.V., Joanny, J.F., "Elastic modulus and equilibrium swelling of polyelectrolyte gels" , **Macromolecules**, 29: 398-426 (1996).
86. Gürsoy, A.Z., "Kontrollü salım sistemleri" , **Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları**, İstanbul, 40-110 (2002).
87. Kılıçarslan, M., "Verapamil HCl in kontrollü salım yapan çok birimli oral ilaç şeklinin hazırlanması", Doktora Tezi, **Ankara Üniversitesi Sağlık Birimleri Enstitüsü**, Ankara, 1-13 (1999).
88. Pişkin, E., Gürsoy, A., Dortunç, B., Peppas, N.A.,Kontrollü İlaç Serbestleştiren Sistemler, **Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları**, İstanbul (1989).
89. Morita, R., Honda, R., Takahashi, Y., "Development of oral controlled release preparations, a PVA swelling controlled released system (SCRS) I. design of SCRS and its release controlling factor" , **Journal Controlled Release**, 63: 297-304 (2000).
90. Edwards, D.A., "Non-fickian diffusion in thin poymer films", **Journal of Polymer Science : Part B: Polymer Physics**, 34: 981-997 (1996).
91. Korsmeyer, R.W., Peppas, N.A., "Macromolecular and modeling aspects of swellingcontrolled systems", Roseman, T.J., and Mansdorf, S.Z., (Eds.), **Controlled Release Delivery Systems**, New York, 77-90 (1983).
92. Bamba, M., Puisieux, F., Marty, J.P., Carstensen, J.T., "Physical model for release of drug from gel forming sustained release preparations", **Int. J. Pharm.**, 3:87-92 (1979)

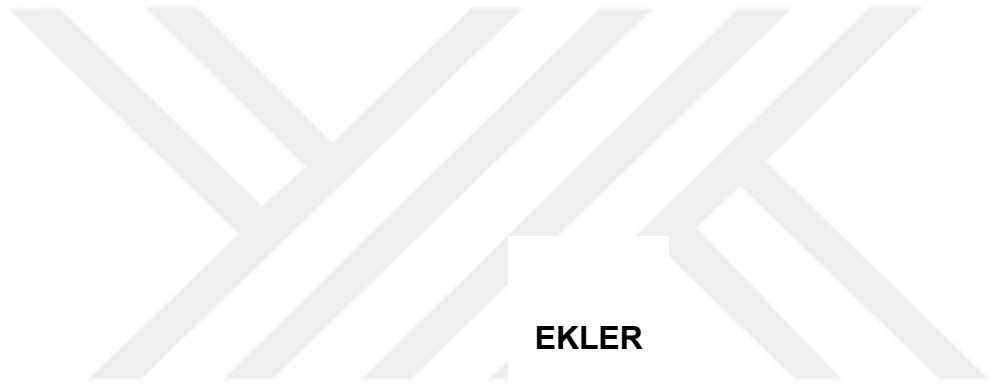
93. Peppas, N. A., Peppas, L. B., "Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods", ***Journal of Food Engineering***, 22: 189-210 (1994).
94. Tsuchida, E., Abe, K., "Interactions between macromolecules in solution and intermacromolecular complexes", ***Advances in Polymer Science***, 45: 1-119 (1982).
95. Brazel, C. S., Peppas, N. A., "Modeling of drug release from swellable polymers", ***European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics***, 49: 4-58 (2000).
96. Shuan-hu¹, T, Hail, S., Jian-shengl, C., Pei-zhil, X., Fa-baol, Z., Ying, S., Xu, H., "Studies on the Mechanism of Single Basal Application of Controlled-Release Fertilizers for Increasing Yield of Rice (*Oryza sativa* L.)", ***Agricultural Sciences in China***, 6 (5): 586-596 (2007).
97. Wu, L., Liu, M., "Preparation and properties of chitosan-coated NPK compound fertilizer with controlled-release and water-retention", ***Carbohydrate Polymers***, 72: 240–247 (2008).
98. Al-Zahrani, S.M., "Controlled-release of fertilizers: modelling and simulation", ***International Journal of Engineering Science***, 37: 1299-1307 (1999).
99. Liang, R., Liu, M., Wu, L., "Controlled release NPK compound fertilizer with the function of water retention", ***Reactive & Functional Polymers***, 67: 769–779 (2007).
100. Ma, Z., Li, Q., Yue, Q., Gao, B., Li, W., Xu, X., Zhong, Q., "Adsorption removal of ammonium and phosphate from water by fertilizer controlled release agent prepared from wheat straw", ***Chemical Engineering Journal***, 171: 1209–1217 (2011).
101. Ni, B., Liu, M., Lu, S., "Multifunctional slow-release urea fertilizer from ethylcellulose and superabsorbent coated formulations", ***Chemical Engineering Journal***, 155: 892–898 (2009).
102. Xie, L., Liu, M., Ni, B., Zhang, X., Wang, Y., "Slow-release nitrogen and boron fertilizer from a functional superabsorbent formulation based on wheat straw and attapulgite", ***Chemical Engineering Journal***, 167: 342–348 (2011).
103. Jian-jun, D., Xiao-lin, F., Jian-gang, Y., Fang, L., Qiao, Z., "Study on the Rapid Method to Predict Longevity of Controlled Release Fertilizer Coated by Water Soluble Resin", ***Agricultural Sciences in China***, 7 (9): 1127-1132 (2008).

104. Hana, M.M., Eltaib, S.M., Ahmad, M.B., "Physical and chemical characteristics of controlled release compound fertiliser", ***European Polymer Journal***, 36: 2081-2088 (2000).
105. Xu-shengl, H., Zong-wen, L., Pei-zhao, H., Ji-xian, D., Ren-shan, G., Hong-bo, L., Zeng-chao, G., "Characteristics and Performance of Novel Water-Absorbent Slow Release Nitrogen Fertilizers", ***Agricultural Sciences in China***, 6 (3): 338-346 (2007).
106. Hori, K., Sotozono, C., Hamuro, J., Yamasaki, K., Kimura, Y., Ozeki, M., Tabata, Y., Kinoshita, S., "Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing", ***Journal of Controlled Release***, 118: 169–176 (2007).
107. Huang, K., Lu, K., Yeh, C., Chung, S., Lin, C., Yang, C., Dong, Y., "Microfluidic controlling monodisperse microdroplet for 5-fluorouracil loaded genipin-gelatin microcapsules", ***Journal of Controlled Release***, 137: 15–19 (2009).
108. Deiber, J. A., Ottone, M. L., Piaggio, M. V., Peirrotti, M. B., "Characterization of cross-linked polyampholytic gelatin hydrogels through the rubber elasticity and thermodynamic swelling theories", ***Polymer***, 50: 6065–6075 (2009).
109. Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Rubini, K., Roveri, N., "Mechanical and thermal properties of gelatin "Ims at different degrees of glutaraldehyde crosslinking", ***Biomaterials***, 22: 763-768 (2001).
110. Karim, A.A., Bhata, R., "Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins", ***Food Hydrocolloids***, 23: 563–576 (2009).
111. Karasulu, H. Y., "Jelatin ve Diğer Değişik Polimerle Hazırlanan Matris Tabletler Üzerine Çalışmalar", Basılmamış Doktora Tezi., ***Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü***, İzmir: 1- 159 (1996).
112. Saxena, A., Kaloti, M., Bohidar, H.B., "Rheological properties of binary and ternary protein–polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices", ***International Journal of Biological Macromolecules***, 48: 263–270 (2011).
113. Usta, M., Piech, D.L., MacCrone, R.K., Hillig, W.B., "Behavior and properties of neat and filled gelatins", ***Biomaterials***, 24: 165–172 (2003).

114. Martucci, J.F., . Ruseckaite, R.A., V´azquez., A., “ Creep of glutaraldehyde-crosslinked gelatin films”, ***Materials Science and Engineering A.***, 435–436: 681–686 (2006).
115. Yan, M., Li, B., Zhao, X., Yi, J., “Physicochemical properties of gelatin gels from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin cross-linked by gallic acid and rutin”, ***Food Hydrocolloids.***, 25: 907-914 (2011).
116. Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M., Waldron, K., “Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins and application to enzyme crosslinking”, ***Biotechniques***, 37: 790-802 (2004).
117. Einerson,Nicole J., Stevens, K. R., Kao, W. J., “Synthesis and physicochemical analysis of gelatin-based hydrogels for drug carrier matrices”, ***Biomaterials.***, 24: 509–523 (2002).
118. Curcio, M. U., Spizzirri, G., Lemma, F., Puoci, F., Cirillo,G., Parisi, O. I., Picci, N., “Grafted thermo-responsive gelatin microspheres as delivery systems in triggered drug release”, ***European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.***, 76: 48–55 (2010).
119. Pulat, M., Eski, H., “ Determination of Swelling Behavior and Morphological Properties of Poly(acrylamide-co-itaconic acid) and Poly(acrylic acid-co-itaconic acid) Copolymeric Hydrogels”, ***Journal of Applied Polymer Science.***, 102: 5994–5999 (2006)
120. Pulat, M., Akdoğan, A., “The Diffusion and Bulk Properties of Polyurethane (PU)-Based Hydrophilic and Hydrophobic Membranes”, ***Journal of Applied Polymer Science.***, 85: 193-198 (2002).
121. Bhumkar, Devika R., Pokharkar, V. B. “Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A Technical Note”, ***AAPS Pharm Sci. Tech.***, 7 (2): 1-6 (2006).
122. Shu,X.Z., Zhu, K.J., “A novel approach to prepare tripolyphosphate:chitosan complex beads for controlled release drug delivery”, ***International Journal of Pharmaceutics.***, 201: 51–58 (2000).
123. Pulat, M., Asil, D., “Fluconazole Release Through Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels Based on Chitosan, Acrylic Acid, and Citraconic Acid”, ***Journal of Applied Polymer Science.***, 113: 2613–2619 (2009).

124. Rodriguez, D.E., Garcia, J.R., Vargos, E.R., "Synthesis and swelling characteristics of semi-interpenetrating polymer network hydrogels composed of poly(acrylamide) and poly(γ -glutamic acid)", **Materials Letters**, 60: 1390-1393 (2006).
125. Xiao, X.C., Chu, L.Y., Chen, W.M., Zhu, J.H., "Monodispersed thermoresponsive hydrogel microspheres with a volume phase transition driven by hydrogen bonding", **Polymer**, 46: 3199-3209 (2005).
126. Elvira, C., Mano, J.F., Roman, J.S., Reis, R.L., "Starch-based biodegradable hydrogels with potential biomedical applications as drug delivery systems", **Biomaterials**, 23: 1955-1966 (2002).
127. Jing, L., Gui, J., "Selective determination of orthophosphate and total inorganic phosphates in detergents by flow injection photometric method", **Talanta**, 52:211–216 (2000).
128. Aydın, I., Imamoglu, Ş., Aydın, F., "Determination of mineral phosphate species in sedimentary phosphate rock in Mardin, SE Anatolia, Turkey by sequential extraction", **Microchemical Journal**, 91: 63–69 (2009).
129. Shavit, U., Reiss, M., Shaviv, A., "Wetting mechanisms of gel-based controlled-release fertilizers", **Journal of Controlled Release**, 88: 71–83 (2003).
130. Pulat, M., Çetin, M., "Pantoprazole-Na Release from Poly(acrylamide-co-crotonic acid) and Poly(acrylic acid-co-crotonic acid) Hydrogels" **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, 23 (4): 305-318 (2008).
131. Warneck, P., Wurzinger, C., "Product Quantum Yields for the 305-nm Photodecomposition of NO_3^- in Aqueous Solution", **The Journal of Physical Chemistry**, 92 (22): 6278-6283 (1988).
132. Mack, J., Bolton, J. R., "Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review" **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 128 : 1–13 (1999).
133. Stancu, I.C., "Gelatin hydrogels with PAMAM nanostructured surface and high density surface-localized amino groups", **Polymers**, 70 (5):314-324, (2010).

134. Okino, H., Nakayama, Y., Tanaka M., Matsuda, T., "In situ hydrogelation of photocurable gelatin and drug release," ***Journal of Biomedical Materials***, 59: 233-245 (2002).
135. Seong, M., Jeong, Y., Yoon, S., "Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at Different C/N Ratios", ***Journal of Bioscience and Bioengineering***, 106:, 498–502. (2008).
136. Rinaldo, S., Brunori, M., Cutruzzola, F., "Nitrite controls the release of nitric oxide in *Pseudomonas aeruginosa* cd1 nitrite reductase", ***Biochemical and Biophysical Research Communications***, 363: 662–666 (2007)



EKLER

EK-1. pH=2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,4; 8,0; 10,0; 12,0; Britton–Robinson tampon (BRT) çözeltilerinin hazırlanması

2,3 mL asetik asit, 2,7 mL %85 lik fosforik asit ve 2.5 g borik asit karıştırılıp saf su ile 1L ye tamamlandı. Bu işlem ile pH yaklaşık 2,5 olan tampon çözelti hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltinin pH=2,0 oluncaya kadar ayarlama derişik HCl ile yapıldı.

pH=2,0 çözeltisinden yeterli miktarlarda alınarak ve ayarlama için 2,0 M NaOH çözeltisi kullanılarak pH=4,0, pH=6,0, pH=8,0, pH=10,0 ve pH=12,0 tampon çözeltileri hazırlandı.

Tüm ayarlamalar pH metre eşliğinde yürütüldü.

EK-2. Amonyum molibdat ve SnCl_2 çözeltisinin hazırlanması

Amonyum molibdat çözeltisinin hazırlanması

25 g $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 175mL destile suda çözüldü. Ayrı bir kaptaki dikkatli bir şekilde 266 mL derişik H_2SO_4 400ml distile suya eklenerek soğutuldu. Molibdat çözeltisine ilave edilerek ve 1 L'ye seyreltildi.

SnCl_2 çözeltisinin hazırlanması

2,5 g taze $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 mL gliserinde çözüldü. Su banyosunda ısıtılarak cam baget ile karıştırılıp çözünmesi sağlandı.

EK-3. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin zamanla değişimi

Hidrojel Zaman (saat)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	26,00	23,81	73,68	54,55	63,16	56,25
2	53,33	42,14	89,47	68,18	84,21	81,25
3	66,67	58,67	105,26	86,36	100,00	93,50
4	80,00	72,56	121,05	95,45	110,53	108,00
5	93,33	82,71	131,58	104,55	126,32	120,00
6	100,00	90,48	142,11	118,18	136,84	132,00
8	120,00	109,52	157,89	131,82	152,63	142,00
10	133,33	119,05	173,68	145,45	165,18	158,00
12	140,00	128,57	184,21	154,55	175,68	170,00
14	153,33	138,10	200,00	166,23	186,95	182,00
16	160,00	147,62	213,53	182,00	200,12	193,75
18	173,33	150,00	225,00	190,91	210,53	205,00
20	180,00	157,14	235,00	200,00	221,05	212,50
22	186,67	166,67	252,00	210,00	231,58	224,00
24	200,00	175,00	260,00	216,00	247,37	235,00
26	210,00	180,00	270,00	226,32	257,89	248,00
28	220,00	190,48	282,00	236,84	268,42	256,25
30	226,67	195,24	296,00	245,45	278,95	268,75
32	233,33	200,00	305,26	254,55	284,21	275,00
34	246,67	205,00	310,00	259,09	294,74	280,00
36	256,67	208,00	318,00	268,18	305,00	287,50
38	265,00	212,00	318,00	276,00	305,00	293,7

						5
40	272,00	215,00	325,00	281,82	310,00	300,00
42	280,00	215,00	325,00	290,91	312,00	304,00
44	285,00	218,00	332,00	295,00	314,00	304,00
46	285,00	218,00	332,00	300,00	314,00	306,25
48	285,00	218,00	332,00	300,00	314,00	306,25
50	285,00	218,00	332,00	300,00	314,00	306,25



EK-4. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin sıcaklıkla değişimi

Hidrojel Sıcaklık (°C)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
0	0	0	0	0	0	0
4	195	170	287	243	275	258
10	220	180	304	260	297	282
20	250	210	314	278	305	296
30	285	218	332	300	314	306
40	289	256	389	308	346	324
50	275	244	356	282	327	300
60	242	219	340	254	312	304

EK-5. Hidrojellerin ortalama şişme (%) değerlerinin pH ile değişimi

Hidroje I Ph	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
2	704	648	954	770	862	807
4	400	362	553	446	512	475
5	210	187	294	230	280	245
6	230	200	327	254	304	260
7	285	218	349	300	334	306
8	297	243	392	325	358	332
10	367	319	502	427	455	427
12	687	634	845	745	820	782

EK-6. Hidrojellerin zamana karşı ortalama bozunma (% kütle kaybı) değerlerinin sonuçları

Hidrojel Zaman (Gün)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	6	2	3	3
4	3	2	12	5	6	5
6	7	5	18	9	12	13
7	10	6	23	13	17	16
10	15	10	32	15	24	20
12	19	14	38	19	30	25
15	24	18	45	26	37	30
20	32	26	56	38	48	40
25	38	32	68	44	60	52
30	44	40	82	52	74	64
34	52	46	100	58	85	72
36	58	50		64	100	82
40	64	56		78		100
45	72	66		100		
50	84	74				
55	100	84				
60		100				

EK-7. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının (mg/mL) zamanla değişimi

Hidrojel Zaman (saat)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,02	0,02	0,05	0,03	0,04	0,04
2	0,04	0,04	0,08	0,03	0,05	0,05
3	0,05	0,05	0,10	0,04	0,07	0,06
5	0,07	0,06	0,17	0,10	0,14	0,12
7	0,11	0,09	0,27	0,16	0,22	0,19
9	0,15	0,11	0,38	0,20	0,32	0,28
10	0,20	0,14	0,46	0,27	0,40	0,32
12	0,26	0,20	0,50	0,33	0,45	0,38
14	0,29	0,23	0,56	0,36	0,49	0,43
16	0,34	0,27	0,61	0,41	0,53	0,48
20	0,42	0,34	0,71	0,48	0,62	0,56
22	0,47	0,40	0,76	0,53	0,68	0,61
24	0,49	0,41	0,84	0,57	0,72	0,67
26	0,56	0,49	0,88	0,63	0,75	0,71
28	0,58	0,50	0,92	0,67	0,82	0,74
30	0,63	0,55	0,95	0,73	0,86	0,79
32	0,67	0,59	0,96	0,78	0,90	0,85
34	0,69	0,63	0,98	0,82	0,93	0,89
36	0,74	0,67	0,99	0,85	0,94	0,91
38	0,82	0,73	1,00	0,88	0,95	0,95
40	0,90	0,80	1,00	0,94	0,98	0,95
42	0,94	0,87	1,00	0,95	0,98	0,98
44	0,95	0,92	1,00	0,97	0,99	0,99
46	0,97	0,95	1,00	0,98	1,00	1,00
48	0,98	0,95	1,00	0,99	1,00	1,00
50	0,99	0,98	1,00	1,00	1,00	1,00
55	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
60	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
65	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
70	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

EK-8. Jelâtin hidrojellerden MAP salımının (%) zamanla değişimi

Hidroje I Zaman (saat)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	1,58	2,32	4,75	3,16	3,80	3,80
2	3,69	3,59	7,91	3,38	5,06	5,49
3	5,49	4,64	9,91	4,01	6,54	5,80
5	6,54	6,01	16,67	10,38	14,24	11,87
7	11,29	8,92	26,96	15,51	22,15	18,76
9	15,30	11,40	37,87	20,04	32,03	27,85
10	19,51	13,92	45,57	26,59	39,77	32,03
12	25,89	20,15	50,32	32,70	44,83	38,46
14	29,11	22,68	55,53	36,34	48,73	43,35
16	34,24	26,90	60,86	40,87	52,95	48,14
20	41,67	34,12	71,00	47,56	62,00	55,64
22	46,62	39,56	76,00	52,54	68,00	60,54
24	49,47	41,24	84,16	56,96	72,00	67,09
26	55,59	48,52	88,00	62,66	74,79	71,25
28	57,59	50,32	92,30	66,67	82,00	74,35
30	63,29	54,85	94,73	72,89	86,00	78,59
32	66,67	58,54	95,78	78,16	90,19	85,34
34	69,09	62,76	97,89	82,34	93,35	88,65
36	74,16	67,09	98,63	85,34	93,67	91,35
38	81,96	73,31	99,68	88,32	95,23	94,83
40	89,87	80,45	100,00	94,41	97,57	95,46
42	93,88	86,81	100,00	95,46	97,57	97,58
44	95,46	92,41	100,00	96,52	98,63	98,63
46	96,52	95,46	100,00	97,57	100,00	99,68
48	97,57	95,46	100,00	98,63	100,00	99,68
50	98,63	97,57	100,00	99,68	100,00	99,68
55	98,63	99,68	100,00	99,68	100,00	99,68
60	98,63	99,68	100,00	99,68	100,00	99,68
65	98,63	99,68	100,00	99,68	100,00	99,68
70	98,63	99,68	100,00	99,68	100,00	99,68

EK-9. MAP yüklü jelâtin hidrojelâleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi

Hidroje I Zaman (saat)	J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,02	0,02	0,05	0,03	0,04	0,04
2	0,04	0,04	0,08	0,03	0,05	0,05
3	0,06	0,05	0,10	0,04	0,06	0,06
5	0,07	0,06	0,17	0,10	0,14	0,12
7	0,11	0,09	0,27	0,16	0,22	0,19
9	0,16	0,11	0,38	0,20	0,32	0,28
10	0,20	0,14	0,45	0,27	0,39	0,32
12	0,26	0,20	0,50	0,33	0,45	0,38
14	0,30	0,23	0,55	0,36	0,48	0,43
16	0,35	0,27	0,60	0,41	0,53	0,48
20	0,42	0,34	0,70	0,48	0,62	0,55
22	0,47	0,40	0,75	0,53	0,68	0,60
24	0,50	0,41	0,84	0,57	0,71	0,67
26	0,56	0,49	0,87	0,63	0,74	0,71
28	0,58	0,50	0,92	0,67	0,81	0,74
30	0,64	0,55	0,94	0,73	0,85	0,78
32	0,68	0,59	0,95	0,78	0,90	0,85
34	0,70	0,63	0,97	0,83	0,93	0,88
36	0,75	0,67	0,98	0,86	0,93	0,91
38	0,83	0,74	0,99	0,89	0,95	0,94
40	0,91	0,81	0,99	0,95	0,97	0,95
42	0,95	0,87	0,99	0,96	0,97	0,97
44	0,97	0,93	0,99	0,97	0,98	0,98
46	0,98	0,96	0,99	0,98	0,99	0,99
48	0,99	0,96	0,99	0,99	0,99	0,99
50	1,00	0,98	0,99	1,00	0,99	0,99
55	1,00	1,00	0,99	1,00	0,99	0,99
60	1,00	1,00	0,99	1,00	0,99	0,99
65	1,00	1,00	0,99	1,00	0,99	0,99
70	1,00	1,00	0,99	1,00	0,99	0,99

EK-10. Jelâtin hidrojeline yüklenmiş MAP'ın zamana karşı salım kinetik değerleri

Zaman (dakika)	Hidrojel		J-1	J-2	J-3	J-4	J-5	J-6
	In (t)							
60	4,09		-4,01	-4,23	-3,01	-3,45	-3,13	-3,28
180	5,19		-2,89	-3,07	-2,10	-2,56	-2,32	-2,34
420	6,04		-2,17	-2,17	-1,32	-1,86	-1,25	-1,68
630	6,29		-1,86	-2,41	-0,98	-1,60	-1,15	-1,29
960	6,58		-1,62	-1,60	-0,69	-1,28	-0,81	-0,96
1200	7,09		-1,06	-1,07	-0,35	-0,74	-0,49	-0,56
1920	7,56		-0,54	-0,74	-0,05	-0,24	-0,11	-0,17
2520	7,78		-0,19	-0,34				

EK-11. Jelâtin hidrojellerden AN salımının (mg/mL) zamanla değişimi

Hidrojel Zaman (saat)	J-1	J-2	J-4	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,71	0,19	0,75	1,08
2	0,81	0,29	1,27	1,64
4	1,45	0,87	1,86	2,21
6	1,89	1,32	2,23	2,57
8	2,31	1,67	2,50	2,79
10	2,55	2,00	2,77	3,12
12	2,84	2,35	2,99	3,35
14	2,96	2,61	3,27	3,54
16	3,33	2,98	3,47	3,76
18	3,47	3,12	3,66	3,97
20	3,61	3,41	3,81	4,24
22	3,74	3,52	3,97	4,35
24	3,92	3,64	4,19	4,56
26	4,02	3,78	4,33	4,69
28	4,20	3,92	4,52	4,79
30	4,36	4,06	4,71	4,84
32	4,52	4,31	4,84	4,93
34	4,65	4,44	4,93	4,93
36	4,72	4,52	4,93	5,00
38	4,84	4,69	4,93	5,00
40	4,86	4,76	4,93	5,00
42	4,93	4,93	4,93	5,00
45	4,96	4,95	4,93	5,00
50	4,96	4,98	4,93	5,00
55	4,96	4,98	4,93	5,00

EK-12. Jelâtin hidrojellerden AN salımının (%) zamanla değişimi

Hidroje I Zaman (saat)	J-1	J-2	J-4	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	14,12	3,76	15,06	21,65
2	16,24	5,88	25,41	32,80
4	28,94	17,40	37,20	44,24
6	37,88	26,40	44,60	51,41
8	46,12	33,40	50,00	55,88
10	51,06	40,00	55,40	62,40
12	56,71	47,00	59,76	67,00
14	59,29	52,20	65,41	70,80
16	66,59	59,60	69,40	75,20
18	69,41	62,40	73,20	79,40
20	72,24	68,24	76,20	84,80
22	74,82	70,40	79,40	87,00
24	78,35	72,80	83,76	91,20
26	80,40	75,60	86,59	93,76
28	84,00	78,40	90,35	95,88
30	87,20	81,18	94,12	96,71
32	90,40	86,12	96,71	98,59
34	92,94	88,71	98,59	98,59
36	94,35	90,35	98,59	100,00
38	96,71	93,88	98,59	100,00
40	97,18	95,29	98,59	100,00
42	98,59	98,59	98,59	100,00
45	99,20	99,06	98,59	100,00
50	99,20	99,53	98,59	100,00
55	99,20	99,53	98,59	100,00

EK-13. AN yüklü jelâtin hidrojelleri için M_t/M_∞ değerlerinin zamanla değişimi

Zaman (saat) \ Hidrojel	J-1	J-2	J-4	J-6
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,14	0,04	0,15	0,21
2	0,16	0,06	0,26	0,32
4	0,29	0,17	0,38	0,44
6	0,38	0,27	0,45	0,51
8	0,46	0,34	0,51	0,55
10	0,51	0,40	0,56	0,61
12	0,57	0,47	0,61	0,66
14	0,60	0,52	0,66	0,70
16	0,67	0,60	0,70	0,74
18	0,70	0,63	0,74	0,78
20	0,73	0,69	0,77	0,83
22	0,75	0,71	0,81	0,86
24	0,79	0,73	0,85	0,90
26	0,81	0,76	0,88	0,92
28	0,85	0,79	0,92	0,94
30	0,88	0,82	0,95	0,95
32	0,91	0,87	0,98	0,97
34	0,94	0,89	1,00	0,97
36	0,95	0,91	1,00	0,98
38	0,97	0,94	1,00	0,98
40	0,98	0,96	1,00	0,98
42	0,99	0,99	1,00	0,98
45	1,00	1,00	1,00	0,98
50	1,00	1,00	1,00	0,98
55	1,00	1,00	1,00	0,98

EK-14. Jelâtin hidrojeline yüklenmiş AN'ın zamana karşı salım kinetik değerleri

Zaman (dakika)	Hidroje I	J-1	J-2	J-4	J-6
	ln (t)				
60	2,28	-1,95	-2,28	-1,70	-1,65
120	2,86	-1,44	-1,64	-1,36	-1,24
360	3,33	-1,12	-1,26	-0,96	-0,84
960	3,58	-0,74	-0,80	-0,61	-0,47
1200	3,81	-0,50	-0,61	-0,42	-0,38
1800	4,00	-0,21	-0,40		

EK-15. Bakterilerin zamana karşı nitrat üretim (mg/mL) değerleri

Zaman (saat)	<i>Pseudomonas aeruginosa-78</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa-99</i>	<i>Pseudomonas putida-G15</i>	<i>Pseudomonas stutzeri-T3</i>
1				0,38
2	0,81	0,71		0,72
3	0,64	0,23		0,70
4	0,19	0,26		0,22
5	0,34	0,39		0,12
6	0,36	0,42		
7	0,30	0,36		0,29
8	0,49	0,55	0,07	0,46
23	0,59	0,81		0,84
24	0,54	0,61		0,23
26	0,76	0,72		0,30
28	1,23		0,32	1,13
46	1,70	0,77		0,48
51	1,39	1,16	0,48	
54	0,76	0,91	0,13	0,68
76	0,93	0,97	0,06	0,48
93	1,06	1,01	0,07	0,48

EK-16. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin farklı besiyerlerindeki nitrat üretimi değerleri

Zaman (dakika)	B-1	B-2	B-3	B-4
0	0,00	0,00	0,00	0,00
15	0,00	0,62	0,00	0,67
30	0,58	0,61	0,55	0,61
75	0,56	0,22	0,67	0,30
90	0,35	0,71	0,00	0,59
120	0,00	0,62	0,00	0,46
160	0,62	0,38	0,61	0,61
180	0,72	0,00	0,93	0,00
210	0,68	0,62	0,62	0,71
240	0,00	0,94	0,00	0,75
270	0,69	0,87	0,65	0,00
300	0,26	0,88	0,00	0,12

EK-17. *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin farklı ortamlardaki nitrat üretimi (mg/mL) değerleri

Zaman (saat)	Biyomas çalkalamalı	Biyomas çalkalamasız	Hidrojel çalkalamalı	Hidrojel çalkalamasız
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00
2,5	0,23	0,13	0,00	0,00
3	0,51	0,48	0,38	0,39
4	0,80	0,71	0,65	0,68
5	0,52	0,46	0,38	0,43
6	0,04	0,03	0,05	0,06
7	0,08	0,07	0,02	0,07
8	0,88	0,59	0,33	0,43
9	0,25	0,22	0,72	0,84
11	1,39	1,36	1,12	1,10
24	1,68	1,41	1,29	1,27
26	0,80	0,86	0,80	0,78
28	0,70	0,68	0,65	0,70
31	0,64	0,62	0,58	0,55
34	0,72	0,71	0,75	0,71
52	0,68	0,71	0,61	0,65

EK-18. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 3 gün sonundaki nitrat üretim değerleri

Çizelge 18.1. Oda koşullarında 3 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	1,33
1	1,30
2	0,74
3	0,41
5	0,29
7	0,29
10	0,29
24	0,36
27	0,42
29	0,36
49	1,30
52	1,01
71	0,23
93	0,30
97	0,16
100	0,00

Çizelge 18.2. Buzdolabı koşullarında 3 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	1,16
1	1,13
2	0,41
3	0,25
5	0,20
7	0,19
24	0,29
27	0,32
29	0,23
49	1,01
52	1,16
67	0,43
71	0,20
93	0,00

EK-19. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 7 gün sonundaki nitrat üretim değerleri

Çizelge 19.1. Oda koşullarında 7 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	0,48
1	0,16
2	1,45
3	1,01
4	0,49
5	0,35
6	0,36
20	0,27
28	0,29
34	0,23
46	0,16
58	0,22
78	0,49
94	0,00

Çizelge 19.2. Buzdolabı koşullarında 7 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	0,51
1	0,93
2	0,61
5	0,32
7	0,28
10	0,33
24	0,28
30	0,14
45	0,13
58	0,14
78	0,00

EK-20. Jelâtin temelli mikrobiyal gübre sistemlerinin 14 gün sonundaki nitrat üretim değerleri

Çizelge 20.1. Oda koşullarında 14 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	0,58
1	1,45
2	0,35
5	0,25
7	0,35
10	0,33
24	0,20
30	0,12
45	0,16
50	0,20
65	0,22
76	0,02
88	0,00

Çizelge 20.2. Buzdolabı koşullarında 14 gün bekletilen *Pseudomonas aeruginosa*-78 bakterisinin nitrat üretimi

Zaman(saat)	Nitrat (mg/mL)
0,5	0,43
2	1,01
3	0,55
4	0,14
5	0,14
6	0,17
20	0,10
28	0,13
34	0,07
46	0,04
58	0,00

