

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE MİKROBİYAL SELÜLOZ ÜRETİMİ,
KARAKTERİZASYONU VE OPTİMİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar TAZEGÜL

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ASMA

EYLÜL 2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE MİKROBİYAL SELÜLOZ ÜRETİMİ,
KARAKTERİZASYONU VE OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar TAZEGÜL

(36203611001)

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ASMA

EYLÜL 2025

TC.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kombucha Kültürü İle Mikrobiyal Selüloz Üretimi, Karakterizasyonu ve
Optimizasyonu

Tezi Hazırlayan: Pınar TAZEGÜL

Yüksek Lisans Tezi



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında yardım, öneri, bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemedi beni her konuda yönlendiren ve manevi desteği ile güç veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Dilek ASMA'ya,

Çalışmalarım sırasında bana her türlü bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olan hocalarım Sayın Doç. Dr. Seval Cing YILDIRIM'a, Prof. Dr. Ahmet GÜLTEK'e ve Sayın Araştırma Görevlisi Fadime Nülüfer KIVILCIM'a ,

Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu çalışmalarım süresince de benden her türlü desteklerini esirgemeyen aileme,

Tez süreci boyunca bana sabır ve anlayış gösteren eşim Ömer TAZEGÜL ve oğlum Emir Asaf TAZEGÜL'e,

Son olarak, bu süreçte bana olan inançlarını kaybetmeyen, sürekli moral ve motivasyonlarıyla zorlu anlarda bana güç veren arkadaşlarıma,

teşekkür ederim.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Kombucha kültürü ile mikrobiyal selüloz üretimi, karakterizasyonu ve optimizasyonu” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Pınar Tazegül



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Selüloz	1
1.1.1 Mikrobiyal selüloz.....	3
1.1.2 Mikrobiyal selüloz üreten bakteriler	4
1.1.3 Mikrobiyal selüloz sentezi.....	5
1.1.4 Mikrobiyal selüloz üretimi	9
1.1.5 Mikrobiyal selüloz üretimini etkileyen faktörler.....	11
1.1.6 Mikrobiyal selülozun kullanım alanları.....	12
1.1.6.1 Biyomedikal uygulamalar	12
1.1.6.2 Gıda endüstrisi.....	12
1.1.6.3 Kozmetik ve kişisel bakım ürünleri.....	13
1.1.6.4 Ambalaj ve çevre dostu malzeme geliştirme	13
1.1.6.5 Tekstil ve kağıt sanayisi	13
1.2. Kombucha.....	13
1.2.1 Kombucha kültürü	14
1.3 Siyah Çay.....	15
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	18
3.2 Mikrobiyal Selüloz Üretimi	18
3.3 Mikrobiyal Selüloz Üretimi için Alternatif Üretim Ortamlarının Araştırılması	19

3.3.1. Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun karbon kaynağının belirlenmesi...	19
3.3.2. Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun başlangıç pH değerinin belirlenmesi	20
3.4 Mikrobiyal Selülozun Saflaştırılması	20
3.5 Mikrobiyal Selülozun Karakterizasyonu	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Üretilmesi.....	22
4.2. Farklı Karbon Kaynaklarının Mikrobiyal Selüloz Üretimine Etkisi	22
4.3. Farklı pH Değerlerinin Mikrobiyal Selüloz Üretimine Etkisi	24
4.4 Mikrobiyal Selülozun Karakterizasyonu	26
4.4.1 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü	26
4.4.2 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	27
4.4.3 Farklı karbon kaynaklarında sentezlenen mikrobiyal selülozun Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	29
4.4.4 Farklı pH derecelerinde sentezlenen mikrobiyal selülozun Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	31
4.4.5 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun DTA sonuçları	34
4.4.6 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun DTA sonuçları	36
4.4.7 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun TGA sonuçları	37
4.4.8 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun TGA sonuçları	38
4.4.9 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları	39
4.4.10 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları...	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKÇA.....	54
ÖZGEÇMİŞ	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 : Selülozun β -1,4 glikozidik bağ ile oluşan düz zincir yapısı	1
Şekil 1.2 : Selüloz molekülünün kimyasal yapısı (Erçalışkan, 2017).....	2
Şekil 1.3 : Selülozun fibril yapısı (http://www.biyolojisesiti.net/uniteler/yasam-bilimi/seluloz.html)	3
Şekil 1.4 : Selülozun moleküler yapısı (Yılmaz, 2007)	4
Şekil 1.5 : Selüloz eldesinde temel yollar	6
Şekil 1.6 : (a) <i>Gluconacetobacter xylinus</i> 'un sentezlediği selüloz, (b)-(c) <i>Gluconacetobacter xylinus</i> 'un morfolojisi (https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/gluconacetobacter-xylinus)	6
Şekil 1.7 : <i>A. xylinum</i> 'un mikrobiyal selüloz sentezi biyokimyasal akışı.....	7
Şekil 1.8 : <i>A. xylinum</i> ' un karbon metabolizması (Yılmaz, 2007)	8
Şekil 1.9 : Mikrobiyal selüloz üretiminde statik yöntem (https://mimoza.marmara.edu.tr/)	9
Şekil 1.10 : Mikrobiyal selüloz üretiminde geniş alanda statik yöntem uygulaması (https://mimoza.marmara.edu.tr/)	10
Şekil 1.11 : Karıştırmalı yöntemde elde edilen mikrobiyal selüloz (Karaalp, 2007).....	11
Şekil 1.12 : Kombucha (SCOBY) kültürü	14
Şekil 3.1 : Simbiyont Kültür Karışımı (SCOBY)	18
Şekil 3.2 : Mikrobiyal selüloz üretimi için alternatif üretim ortamları	19
Şekil 3.3 : Elde edilen mikrobiyal selülozun saflaştırma işlemi (a) Çay besiyerinde (10 g siyah çay ve 10 g glukoz) 14 gün inkübasyon sonucu oluşan selüloz, (b) 0.1 N NaOH ile muamele görmüş selüloz, (c) 0.1 N CH_3COOH ile muamele görmüş selüloz, (d) 70 °C'de kurutulmuş selüloz.....	20
Şekil 3.4 : Elde edilen mikrobiyal selülozun karakterizasyonu (a) Saflaştırma işlemi sonrası elde edilen mikrobiyal selülozun nemli görüntüsü, (b) Farklı karbon kaynaklarında elde edilen mikrobiyal selülozun kurutulmuş hali, (c) Farklı pH değerlerinde üretilmiş mikrobiyal selülozun kurutulmuş hali, (d) b ve c görsellerinin birlikte çekilmiş görüntüsü	21
Şekil 4.1 : Elde edilen mikrobiyal selülozun üretim aşaması	22
Şekil 4.2 : Mikrobiyal selüloz üretiminde kullanılan farklı karbon kaynakları	23
Şekil 4.3 : Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun karbon kaynağının belirlenmesi	24
Şekil 4.4 : Mikrobiyal selüloz üretiminde farklı pH değerleri	25
Şekil 4.5 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	27
Şekil 4.6 : Farklı pH aralıklarında üretilen mikrobiyal selülozun nanofibril yapısı	28
Şekil 4.7 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun FTIR analiz sonucu	29
Şekil 4.8 : Farklı pH aralıklarında üretilen mikrobiyal selülozun FTIR analiz sonucu	32
Şekil 4.9 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selüloz numunelerine ait DTA eğrileri.....	35
Şekil 4. 10 : Farklı pH koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz numunelerine ait DTA eğrileri.....	36

Şekil 4.11 : Farklı karbon kaynaklarıyla üretilen mikrobiyal selüloz numunelerinin TGA eğrileri.....	37
Şekil 4.12 : Farklı pH seviyelerinde üretilen selülozun TGA verileri	38
Şekil 4.13 : Glukoz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği	40
Şekil 4.14 : Sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği.....	41
Şekil 4.15 : Mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği	43
Şekil 4.16 : pH 3.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği.....	45
Şekil 4.17 : pH 4.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği.....	46
Şekil 4.18 : pH 5.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği.....	47
Şekil 4.19 : pH 6.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği	48
Şekil 4.20 : pH 7.0'd üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği.....	50



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo1. 1. Selüloz sentezleyebilen bazı mikroorganizmalar ve oluşturdıkları selüloz yapıları.....	5
Tablo 4. 1 FTIR spektrumlarına göre mikrobiyal selüloz karakterizasyonu	31



SEMBOLLER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
MC	: Mikrobiyal Selüloz
MS	: Besiyeri ortamı (veya başka bağlam)
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
XRD	: X-ışını Difraksiyonu
TGA	: Termogravimetrik Analiz
UDPGlc	: Uridin difosfat glukoz
UGP	: UDP-glukoz pirofosforilaz
PGM	: Fosfoglukomutaz
FK	: Fruktokinaz
GK	: Glukokinaz
PGI	: Fosfoglukoz izomeraz
GBP	: Glikoz bağlayıcı protein
1FPk	: Fruktoz-1-fosfat kinaz
FBP	: Fruktoz bifosfataz
G6PDH	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
SCOBY	: Simbiyotik bakteri ve maya topluluğu
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NaOH	: Sodyum hidroksit
HCl	: Hidroklorik asit
M	: Mol
ATM	: Atmosfer basıncı
g/L	: Gram/Litre
%	: Yüzde
N	: Normalite
G	: Gram
Nm	: Nanometre

%T	:	Yüzde geçirgenlik
Cm	:	Santimetre
Min	:	Dakika
DTA	:	Diferansiyel Termal Analiz
uV	:	Ultraviyole
CrI	:	Kristalin indeksi
HS	:	Hestrin-Schramm
Cps	:	Viskozite
C	:	Karbon
H	:	Hidrojen
O	:	Oksijen
OH-	:	Hidroksit iyonu

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE MİKROBİYAL SELÜLOZ ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE OPTİMİZASYONU

PINAR TAZEGÜL

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

58+XI sayfa

2025

Danışman: Prof. Dr. Dilek ASMA

Bu çalışmada, simbiyotik bir mikroorganizma topluluğu olan kombucha kültürü kullanılarak mikrobiyal selüloz (MS) üretimi gerçekleştirilmiş, elde edilen ürünün karakterizasyonu yapılmış ve üretim koşulları optimize edilmiştir. Kombucha kültürü, çay ve şeker içeren steril bir ortamda statik fermentasyon koşullarında 14 gün süreyle inkübe edilmiştir. Fermentasyon sonunda yüzeyde oluşan mikrobiyal selüloz tabakası saflaştırılarak analizlere hazırlanmıştır.

Farklı karbon kaynakları (sükroz, glukoz, mannitol) ve pH değerleri (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0) üretim verimliliği üzerinde değerlendirilmiş ve optimum üretim koşulları belirlenmiştir. En yüksek verim glukoz içeren ve pH 5.0'de yürütülen fermentasyonlarda elde edilmiştir. Karakterizasyon çalışmaları kapsamında FTIR, SEM, XRD, DTA ve TGA analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları, üretilen mikrobiyal selülozun yapısal bütünlüğünü, kristallliğini ve termal dayanıklılığını doğrulamıştır.

Bu sonuçlar, kombucha kültürünün mikrobiyal selüloz üretiminde etkili bir biyolojik ajan olduğunu ve üretim veriminin çevresel koşulların optimizasyonu ile artırılabileceğini göstermektedir. Ayrıca, elde edilen mikrobiyal selülozun yapısal özellikleri, ileri düzey biyomalzeme uygulamaları için umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikrobiyal selüloz, kombucha, optimizasyon

ABSTRACT

Master Thesis

PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF MICROBIAL CELLULOSE USING KOMBUCHA CULTURE

PINAR TAZEGÜL

Inonu University
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Biology

58+XI page

2025

Supervisor: Prof. Dr. Dilek ASMA

In this study, microbial cellulose (MC) was produced using kombucha culture, a symbiotic consortium of microorganisms. The resulting biopolymer was characterized, and the production conditions were optimized. The kombucha culture was incubated in a sterilized tea and sucrose medium under static fermentation conditions for 14 days. At the end of the fermentation period, the cellulose pellicle formed on the surface was harvested, purified, and subjected to analytical evaluations.

Various carbon sources (sucrose, glucose, mannitol) and pH levels (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0) were tested to determine their effect on production efficiency. The highest yield was achieved at pH 5.0 and using sucrose as the carbon source. Characterization of the obtained microbial cellulose was performed using FTIR, SEM, XRD, DTA and TGA analyses. The results confirmed the structural integrity, crystallinity, and thermal stability of the cellulose samples.

Overall, the findings demonstrate that kombucha culture is an effective biological agent for microbial cellulose production. Moreover, optimizing environmental conditions can significantly improve production efficiency. The obtained microbial cellulose possesses promising structural features for advanced biomaterial applications.

Keywords: Microbial cellulose, kombucha, optimization

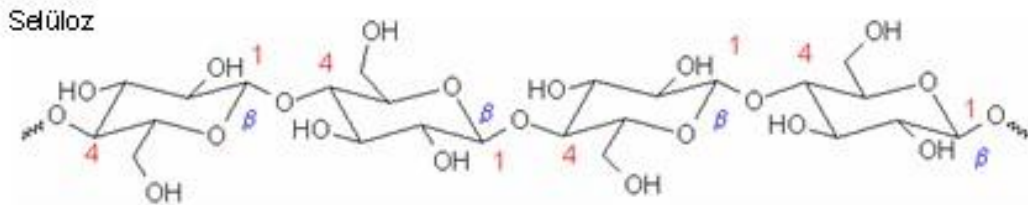
1. GİRİŞ

Günümüzde selüloz, genel olarak bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Elde etme yöntemleri kullanılırken selülozun yapısında bulunan “lignin ve hemiselülozun selülozdan ayrılması gerekmektedir. Bu ayırma işlemi, birçok kimyasal işlem uygulanacağı için zor ve masraflıdır. Bunun yanı sıra her yıl yangınlar ve diğer nedenlerle sahip olduğumuz orman alanları daralmaktadır. Dünya orman varlığının azalması ve son yıllarda biyoteknolojinin hızla ilerlemesi ile biyoteknologlar bitkiler olmadan da selüloz üretebilmenin çeşitli yollarını aramışlardır. İlk kez Brown tarafından yapılan bir deneyde, sıvı yüzeyde oluşan jelatinimsi yapıdan izole edilen *Acetobacter xylinum* ’un üretiminde, jelatinimsi bir yapı sentezlendiği ortaya koyulmuştur”. Bu yapının bitkisel selüloza benzediği görülmüş ve son yıllarda buna benzer çalışmalar artmıştır. Son yapılan çalışmaların, selüloz ürettiği bilinen mikroorganizmalar üzerinde yoğunlaşması ve bu mikroorganizmalar ile üretilen selüloza da “Mikrobiyal Selüloz” adı verilmiş olması bilinmektedir (Poyrazoğlu Çoban ve Bıyık, 2008). Böylece selüloz üretiminde ikinci yöntem olarak selülozun çeşitli mikroorganizmalardan biyosentez yolu ile elde edilmesi üzerinde durulmaktadır.

Bilindiği üzere kompleks azot kaynaklarının fiyatı mikrobiyal selüloz üretim maliyetini etkilemektedir. Maya özütü, pepton ve kazamino asit mikrobiyal selüloz üretiminde kullanılan kompleks azot kaynaklarıdır ancak pahalıdır (Akoğlu ve diğ, 2010). Mikrobiyal selüloz üretim maliyetini düşürmek bunu yaparken de ana ve yan ürünlerden faydalanarak hem fiyat-kalite ürünü elde etmek hem de atık maddeleri değerlendirmek bu çalışmanın temel amacıdır.

1.1 Selüloz

Selüloz, glukoz birimlerinin β -1,4 glikozidik bağla bağlanmasıyla oluşan düz zincir yapısındaki homopolisakkarittir (Erçalışkan, 2017). Bitkilerin hücre çeperlerine katıldığı için doğada en çok bulunan, yenilenebilir, maliyeti düşük, biyouyumluluk ve biyobozunur, yüksek saflık, hidrofilik özelliği sayesinde yüksek su tutma kapasitesi gibi özellikleri ve geniş kullanılabilirliği olan organik polimerdir (Top, 2018).

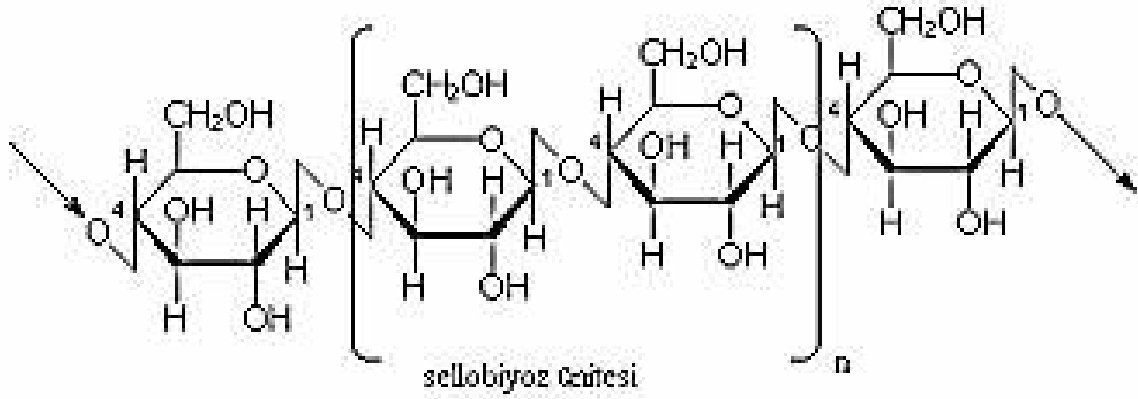


Şekil 1.1 : Selülozun β -1,4 glikozidik bağ ile oluşan düz zincir yapısı

(https://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_88.html)

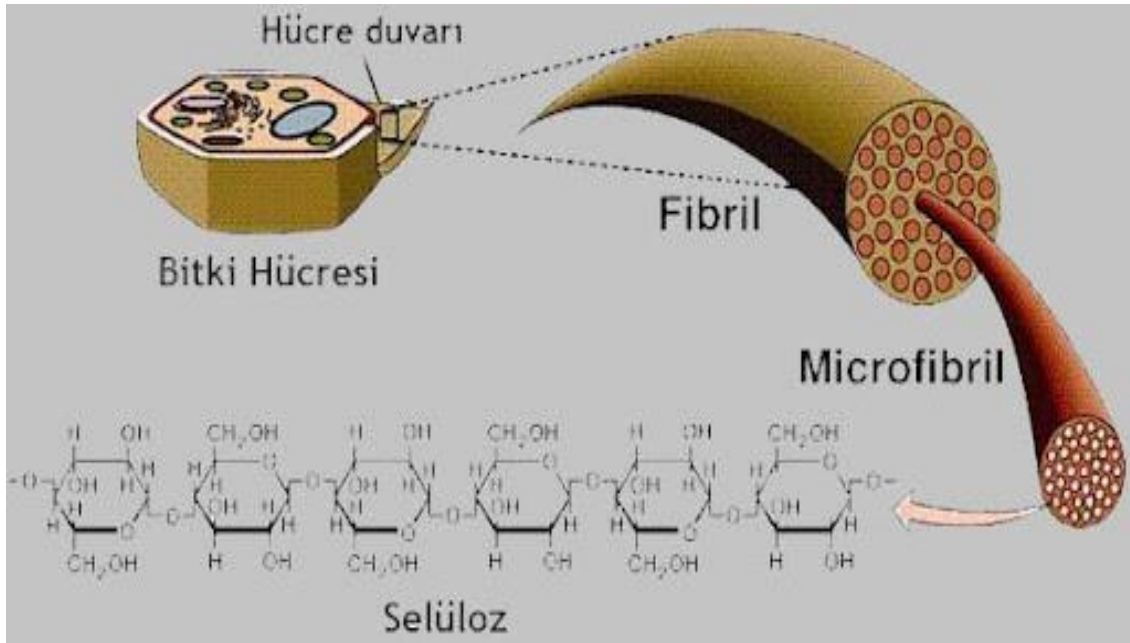
Bu nedenden dolayı selüloz ve türevleri büyük endüstriyel alanlarda sıklıkla tercih edilmiştir (Top, 2018). Selüloz bitkisel yapıda yer almasının yanında bazı mikroorganizmalar tarafından ekstraselüler olarak sentezlenmektedir. Mikrobiyal selüloz, bitkisel selülozla aynı kimyasal yapıya sahiptir fakat fiziksel özellikleri ve moleküler yapısı incelendiğinde farklılıklar olduğu bilinmektedir (Erçalışkan, 2017).

Selüloz, iki glukoz birimi içeren sellobiyozun izotaktik polimeridir. Bu nedenle selülozun zincirli yapısındaki temel birim sellobiyoz olarak adlandırılabilir.



Şekil 1.2 : Selüloz molekülünün kimyasal yapısı (Erçalışkan, 2017)

Selüloz moleküllerinin birleşmesi ile demet şeklinde yapılar meydana gelir. Bu yapılardan en küçüğü elementel fibril de denilen selüloz fibrildir ve aynı yöne doğru kırk selüloz molekülünün birleşimi şeklindedir. Selüloz fibriller bir araya gelerek bu demetten daha büyük olan küçük fibril yapısını oluşturur. Küçük fibriller ise birleşip kalın halde olan fibrilleri, kalın fibriller de hücre çeper yapısındaki selüloz lamellerini meydana getirir (Erçalışkan, 2017).



Şekil 1.3 : Selülozun fibril yapısı (<http://www.biyolojisisitesi.net/uniteler/yasam-bilimi/seluloz.html>)

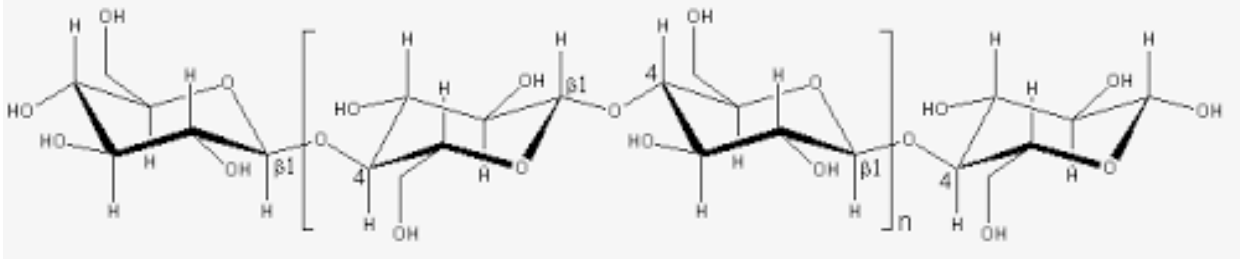
Yaşantımızın her alanında var olan mikroorganizmalardan bazı bakteri türleri bitkisel selüloza alternatif oluşturabilecek hücre dışı polimerik bir madde olan selülozu sentezlemektedir. Ayrıca, algler, bazı deniz canlıları ve mantarlar da selüloz üretebilmektedirler ancak bunların selüloz sentezleyebilmesi için glikoza veya organik substratlara gereksinim duyarlar (Yılmaz, 2007). Bu sebeple, günümüzde “Mikrobiyal Selüloz” üzerine çok sayıda çalışmalar gerçekleştirilmiştir ve yapılan çalışmalara ilgi giderek artmıştır (Top, 2018). Çalışmamızın amacı; kombucha kültürü kullanarak çevre dostu ve ekonomik bir biyopolimer olan mikrobiyal selülozun üretimini gerçekleştirmektir. Ayrıca mikrobiyal selülozun endüstriyel ve biyoteknoloji alanında da sürdürülebilir üretim yöntemlerine katkı sağlamayı hedeflemektir.

1.1.1 Mikrobiyal selüloz

Mikrobiyal selüloz terimi ilk olarak, 1886 yılında Brown tarafından ortaya çıkarılmıştır. Brown sirke fermantasyonu esnasında yüzeyde oluşan yarı şeffaf zar yapıda görünen jelatinimsi bir yapı keşfetmiştir. Bu yapının *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) tarafından sentezlendiğini ve bitkisel selüloza benzediğini ortaya koymuştur (Sevim, 2021).

Bitkisel selüloz ve Mikrobiyal selüloz aynı kimyasal formüle sahip olmasına rağmen, fiziksel ve kimyasal özellikler açısından oldukça farklılık gösterir (Top, 2018).

Mikrobiyal selüloz, $(C_6H_{10}O_5)_n$ kimyasal formülüne sahip, $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidik bağları ile birbirine bağlanarak düz bir zincir oluşturmuş 3000 veya daha fazla β -D-glukoz biriminden oluşan kompleks bir organik bileşik ve bir homopolimerdir (Şekil 1.3).



Şekil 1.4 : Selülozun moleküler yapısı (Yılmaz, 2007)

Mikrobiyal selüloz saftır, bu özelliği sayesinde yapısında lignin ve hemiselüloz bulundurmaz. Mikrobiyal selüloz zarları hidrofilik özelliğe sahiptir ve bu yüzden yüksek su tutma kapasitesi vardır. Hidrofilik olduğundan hiçbir işlem gerektirmez, bu da uzun lifli yapısını korumasını sağlar. Bu özelliği sayesinde yüksek mukavemet özelliği göstermektedir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda mikrobiyal selülozun işlenirken daha az işlem basamağı kullanılacağından farklı kimyasal işlemlere gerek duyulmaması maliyeti düşürmektedir. Az işlem basamağı uygulandığında selülozun fibril yapısı korunacağından dolayı dayanıklılığı artmaktadır (Yılmaz, 2007). Bunların yanında mikrobiyal selülozun yüksek gerilme gücü, bazı çözücülerle muamelesinde çözünmeme ve iyi şekil alabilme özelliklerine sahip olduğu da ifade edilmektedir (Birben, 2019).

1.1.2 Mikrobiyal selüloz üreten bakteriler

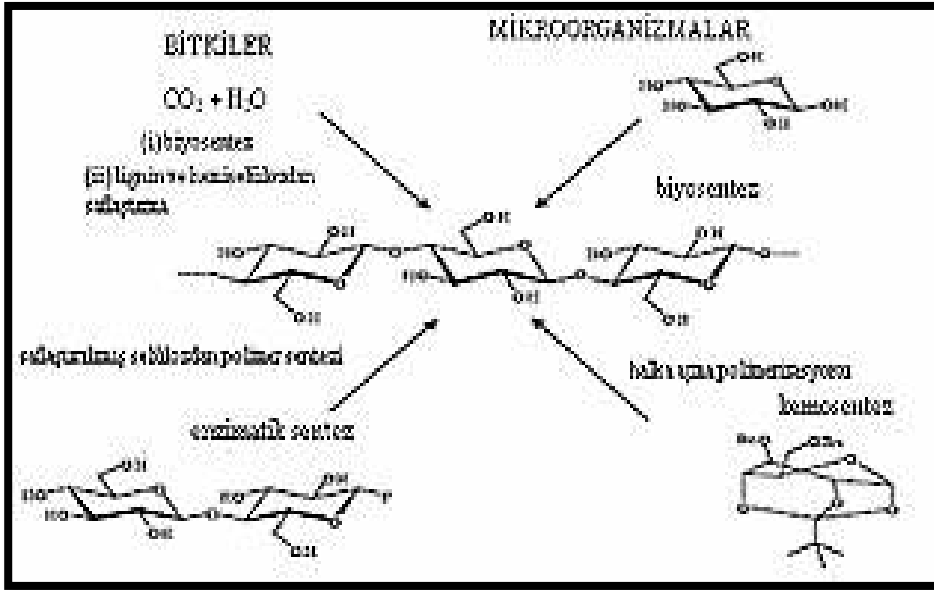
Esas olarak bakıldığında selüloz, fotosentez yolu ile glukoz üreten bitkilerden elde edilir. Bitkilerin fotosentez sırasında ihtiyaç duyduğu ve kullandığı karbondioksit fiksasyonunu kullanan fitoplanktonlar ve *Vallonia* gibi alglerin de selüloz sentezlediği bilinmektedir (Birben, 2019). Bu bilgilerin yanı sıra yapılan çalışmalarda, küfler ve bakterilerin selüloz üretebildiğini fakat bunlar arasında en avantajlı olanın bakteriler olduğu anlaşılmıştır. *Gluconacetobacter*, *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Aerobacter*, *Azotobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Escherichia* gibi birçok bakteri türünün ve birkaç siyanobakter türünün selüloz sentezleyebildiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. (Öz ve Kalender, 2017). Bu şekilde ortaya çıkan selüloza bakteriyel selüloz veya mikrobiyal selüloz adı verilmektedir (Birben, 2019). Tablo 1.1 de bazı bakterilerin sentezlediği selüloz ve selülozların yapıları gösterilmektedir.

TÜR	SELÜLOZ YAPISI
<i>Acetobacter</i>	Kurdele şeklinde ekstraselüler zar
<i>Achromobacter</i>	Lifli
<i>Aerobacter</i>	Lifli
<i>Agrobacterium</i>	Kısa lifli
<i>Alcaligenes</i>	Lifli
<i>Pseudomonas</i>	Ayrılmayan lifler
<i>Rhizobium</i>	Kısa lifli
<i>Sarcina</i>	Amorf selüloz

Tablo1.1 : Selüloz sentezleyebilen bazı mikroorganizmalar ve oluşturdıkları selüloz yapıları
(Yılmaz, 2007)

1.1.3 Mikrobiyal selüloz sentezi

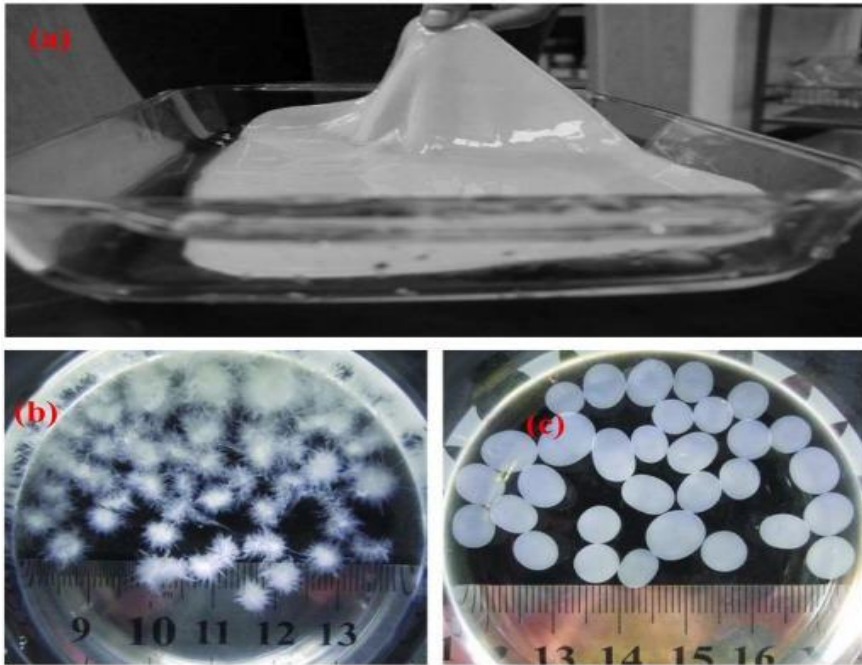
Genellikle selüloz sentezi bitkiler tarafından gerçekleştirilirken üretim aşamasının daha kolay ve masrafsız olmasına ilişkin, birçok bilim insanı mikroorganizmalar tarafından selüloz sentezlemeyi amaçlamıştır (Sevim, 2021).



Şekil 1.5 : Selüloz eldesinde temel yollar

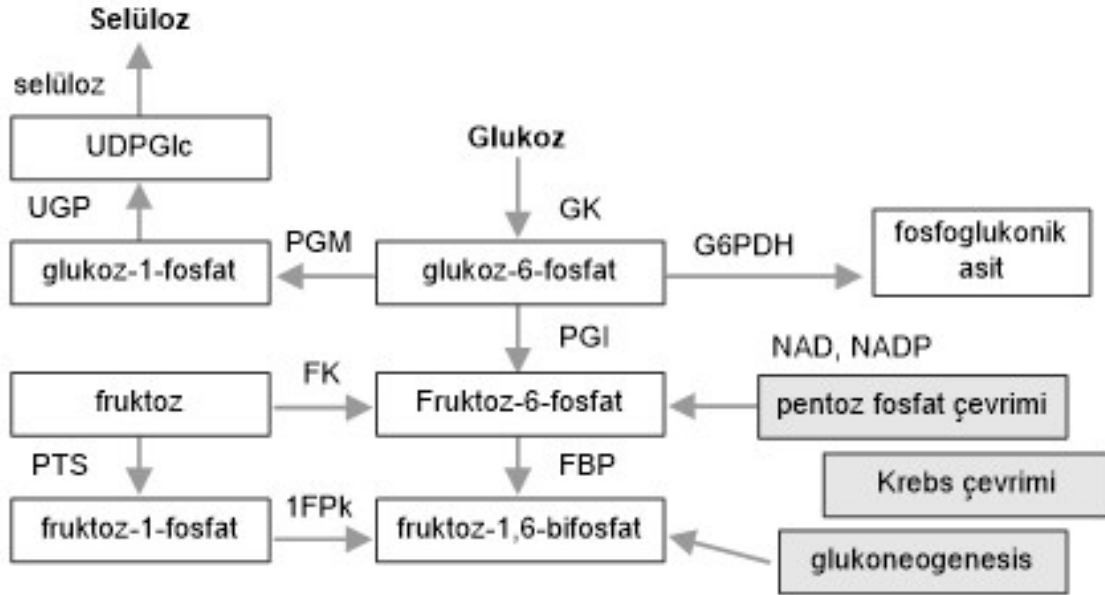
Selüloz sentez mekanizması için daha çok asetik asit bakterileri model olmuştur (Sevim, 2021).

Gluconacetobacter xylinus'un morfolojisi; gram negatif, çubuk ve hareketsizdir. Krem renkli yuvarlak, kenarları düz veya pürüzlü koloni şeklindedir. Zorunlu aerobdur ve oksijenli ortamda etanolü asetik asite, glukozu ise glukonik asite çevirirler (Top, 2018).



Şekil 1.6 : (a) *Gluconacetobacter xylinus*'un sentezlediği selüloz, (b)-(c) *Gluconacetobacter xylinus*'un morfolojisi (<https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/gluconacetobacter-xylinus>)

Mikrobiyal selülozun sentezi, özgül olarak katalitik ve düzenleyici protein kompleksleri ve enzimler ile regüle edilen aşamalı bir işlemdir. *A. xylinum* bakterisinde selüloz sentaz enzimi sitoplazmik zarıya yer alır ve selüloz ekstraselüler şekilde sentezlenir. *Acetobacter xylinum*'un sentezlediği selüloz, pentoz fosfat yolu veya Krebs döngüsünün, karbon metabolizmasının son ürünüdür. (Aşık, 2016)



Şekil 1.7 : *A. xylinum*'un mikrobiyal selüloz sentezi biyokimyasal akışı

(https://bilisenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_88.html)

Pirofosforilaz), sentez basamağının öncülü olan üridin difosfo-glukoz (UDP) bileşimini açığa çıkarır. Son basamakta sadece bu işlem için gerekli olan selüloz sentaz sayesinde selüloz polimerinin uzun zincirleri ilk defa moleküller şeklinde sentezlenmektedir. Selülozun uzun düz zincir formunu alabilmesi, zincirin indirgeyici ucuna aktif glukoz monomerlerinin bağlanmasıyla olabilmektedir. Uzayan zincirlerin selülozu meydana getirmek için yaklaşık 3,5 nm'lik demetler halinde bir araya geldiği ve bu şekilde mikrofibrilleri oluşturduğu bilinmektedir (Sevim, 2021).

1.1.4 Mikrobiyal selüloz üretimi

Mikrobiyal selüloz üretiminde çeşitli fermantasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler; statik yöntem, karıştırmalı yöntem, karıştırmalı tank fermentörler ve hava kaldırmalı biyoreaktörlerdir. Oluşması istenen ürünün özelliğine göre tercih edilen fermantasyon yöntemi farklı olabilmektedir. Yöntemlere baktığımızda, statik yöntem; en yaygın kullanılan ve en çok bilinen yöntemdir. *A.xylinum* aerobik bir bakteri olduğu için fermantasyon, hava-sıvı ara yüzeyinde gerçekleşmekte olup, geniş yüzey alanına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu da maliyeti artırdığından ekonomik açıdan kabul görmemektedir. Statik kültürde oluşan selüloz özellik bakımından; kalın, deriye benzeyen beyaz bir tabaka halindedir. Fermantasyon sırasında bakteri hücreleri bu tabakaya tutunmuş halde bulunurlar. Bu sayede selüloz tabaka, hücrelerin asılı kalmasına ve oksijence zengin ortamda bulunmasına yardımcı olur.



Şekil 1.9 : Mikrobiyal selüloz üretiminde statik yöntem (<https://mimoza.marmara.edu.tr/>)

Statik yöntemde fermantasyon süresi 5 ile 20 gün arasındadır. Selüloz tabakasındaki kalınlık gün geçtikçe artar. Elde edilen selüloz düzenli, bir bütün halinde, kalın ve kullanılan kaba göre geniş

yüzeye sahip olabilmektedir. Burada fermentasyon verimlidir fakat bazı dezavantajları vardır. Bu yöntemin dezavantajından birisi; tabaka kalınlığı arttıkça oksijen difüzyonu azalacağından bakteri hücreleri ölmeye başlar. Statik yöntemin bir başka dezavantajı ise, ekim yapıldıktan sonra kurulan düzeneğe hiçbir şekilde karışmamaktır. Ortam pH' ı ya da besi yeri kompozisyonu sürekli değişmektedir. Ortam koşullarını optimum seviyede uzun süre sağlamak bu yöntemde pek mümkün olmamaktadır (Karaalp, 2007).



Şekil 1.10 : Mikrobiyal selüloz üretiminde geniş alanda statik yöntem uygulaması
(<https://mimoza.marmara.edu.tr/>)

Karıştırmalı yöntemde fermentasyon verimli değildir. Çünkü; ortamda selüloz üretemeyen mutantların varoluşu verimi düşürmektedir. Bu hücrelerin oluşumu karıştırma ve havalandırmayla ilgilidir. Ancak statik yönteme göre daha çok tercih edilmektedir. Çünkü; maliyeti arttırmadan ölçek büyötmeye elverişlidir. Karıştırmalı yöntemde elde edilen selüloz, düzensiz ve lifli küçük yuvarlaklar halindedir.



Şekil 1.11 : Karıştırma yönteminde elde edilen mikrobiyal selüloz (Karaalp, 2007)

Karıştırma yönteminde oksijen taşınımı daha iyi gerçekleşebilmektedir. Karıştırıcı tipini ve hızını seçerken dikkat edilmesi çok önemlidir. Selüloz verimini arttırmak için başka bir yol ise, karıştırma ve havalandırma hızlarından etkilenmeyeceği bilinen mutant *A.xylinum* türlerinin kullanılmasıdır. Bu türlerin verimliliği oldukça yüksektir (Karaalp, 2007).

1.1.5 Mikrobiyal selüloz üretimini etkileyen faktörler

Mikrobiyal selülozun fermentasyonunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; karbon kaynakları, azot kaynakları, öncü moleküller, çözünmüş oksijen, ortam pH'ı (4.0-6.0), sıcaklık (28°C-30°C) şeklinde söylenebilir (Aşık, 2016).

Mikrobiyal selüloz üretiminde optimum pH 4.0-7.0 aralığında, optimum sıcaklık ise 25-30 °C arasında tutulmalıdır. Parametrelerin bu aralıklarda tutulması, hem biyokimyasal reaksiyon kinetiklerini hem de mikrobiyal büyümeyi ve enerji verimliliğini optimize ederek yüksek verimli, stabil bir proses sunar. Bu parametreler dışına çıkıldığında verim kayıpları, enzim inaktivasyonu ve artan maliyet riski söz konusudur (Yılmaz, 2007).

Karbon kaynağı olarak sorbitol, glikoz, galaktoz, laktoz, asetik asit, mannitol, maltoz, nişasta ve sükroz kullanılabilir. Yapılan deneysel çalışmalarda, karbon kaynakları arasında en yüksek verimin mannitollü besi yerinde elde edildiği; mannitolden sonra ise glikoz ve sükrozun en uygun karbon kaynakları olduğu gösterilmiştir. Diğer karbon kaynaklarının kullanıldığı durumlarda verimin oldukça düşük olduğu bildirilmiştir.

Mikrobiyal selüloz üretiminde azot kaynağı olarak pek çok çalışmada maya ekstraktı ve pepton içeren besi yeri kullanılmıştır. Bu besi yerinin standart formülasyonunun iyileştirilmesi üzerinde çalışılmış; mevcut azot kaynaklarına alternatif olarak farklı azot bileşenleri değerlendirilmiştir.

Çeşitli biyoteknolojik proseslerde azot kaynağı olarak mısır şurubu tercih edilmektedir. Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen bilgilere göre maya ekstraktı yüksek oranda azot bileşeni içerdiğinden, kullanıldığında en yüksek verim sağlanmıştır. Ancak maya ekstraktı pahalı bir substrat olduğu için, mısır şurubu kullanıldığında elde edilen verimin maya ekstraktı ile elde edilene oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle mısır şurubunun etkin bir azot kaynağı olduğu bildirilmiştir (Yılmaz, 2007).

Bunların yanı sıra; yardımcı substratlar, çözünmüş oksijen miktarı, kullanılan çeşitli besiyerleri de mikrobiyal selüloz üretimini etkileyen diğer faktörlerdir. Üretim maliyetini düşürmek, üretim hızı ve üretim miktarını artırmak gibi nedenlerle tüm bunlar göz önünde bulundurularak proses fizibilitesini artırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır.

1.1.6 Mikrobiyal selülozun kullanım alanları

Mikrobiyal selüloz (MS), selüloz üreten bakteriler tarafından sentezlenen, yüksek saflıkta, nano-yapılı ve üç boyutlu fibril ağına sahip bir biyopolimerdir. Sahip olduğu benzersiz fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler sayesinde birçok endüstride doğal bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Aşağıda, mikrobiyal selülozun potansiyel ve mevcut kullanım alanları alt başlıklar halinde sunulmuştur.

1.1.6.1 Biyomedikal uygulamalar

Mikrobiyal selülozun biyoyumluluğu, yüksek nem tutma kapasitesi ve toksik olmaması, onu yara örtüsü, yapay deri, doku mühendisliği iskeleleri ve implant malzemesi gibi biyomedikal uygulamalarda cazip hale getirmektedir. Özellikle kronik yaraların tedavisinde, enfeksiyon riskini azaltarak iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir (Portela ve diğ, 2019). Ayrıca, ilaç taşıma sistemlerinde mikrobiyal selülozun kontrollü salım sağlayan taşıyıcı bir matris olarak kullanımı üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Mohite ve Patil, 2014).

1.1.6.2 Gıda endüstrisi

Gıda sanayisinde mikrobiyal selüloz; kıvam artırıcı, stabilizatör ve diyet lif kaynağı olarak kullanılabilir. Ayrıca, bazı Asya ülkelerinde kombucha fermantasyonu sonucu oluşan mikrobiyal selüloz tabakası doğrudan gıda maddesi olarak tüketilmektedir (Shi ve diğ, 2014). Gıda kaplamalarında da antimikrobiyal maddelerle kombine edilerek ürün raf ömrünü artıran yenilebilir film olarak değerlendirilmektedir.

1.1.6.3 Kozmetik ve kişisel bakım ürünleri

Mikrobiyal selüloz, ciltle uyumlu yapısı ve nemlendirici özellikleri sayesinde kozmetik sektöründe özellikle yüz maskelerinde, serum bazlı taşıyıcı sistemlerde ve cilt bakım ürünlerinde aktif olarak kullanılmaktadır. Yüzey pürüzsüzlüğü ve nem tutma kapasitesi, onu diğer biyopolimerlere göre daha etkili kılmaktadır (Gullo ve diğ, 2018).

1.1.6.4 Ambalaj ve çevre dostu malzeme geliştirme

Plastik türevli ambalaj malzemelerine çevre dostu alternatifler geliştirme çabaları kapsamında mikrobiyal selüloz, biyobozunur film ve kaplama malzemesi olarak büyük potansiyel taşımaktadır. Özellikle nişasta, kitosan ve lignin gibi diğer doğal polimerlerle kombine edildiğinde, mekanik ve bariyer özellikleri geliştirilmiş kompozit filmler elde edilebilmektedir (Shah ve diğ, 2013).

1.1.6.5 Tekstil ve kağıt sanayisi

MS, selüloz bazlı lif yapısıyla, sürdürülebilir tekstil üretiminde çevreye duyarlı bir hammadde olarak ilgi görmektedir. Laboratuvar ölçeğinde yapılan çalışmalar, mikrobiyal selüloz liflerinden dokunabilir kumaşlar üretilebileceğini göstermiştir (Zeng ve diğ, 2011). Ayrıca, kağıt üretiminde katkı maddesi ya da yüzey kaplama materyali olarak da değerlendirilmektedir.

1.2.Kombucha

Kombucha; çay mantarı veya Manchurian çayı gibi farklı adlarla anılan ve dünya genelinde yaygın olarak tüketilen geleneksel fermente bir içecektir. Özellikle Asya ülkelerinde köklü bir geçmişe sahip olan bu içecek, hafif tatlımsı ve ekşi bir aromaya sahiptir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, kombuchanın antimikrobiyal, antioksidan ve detoksifikasyon gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiğini ve dolayısıyla potansiyel sağlık faydaları sunduğunu ortaya koymuştur (Tarhan, 2017).

Tarihi kaynaklara göre Kombucha, ilk kez M.Ö. 221 yılında Çin İmparatoru (Tsin Han) sağlık amaçlı tedavisinde kullanılmıştır. İmparatorun bu fermente içecekten olumlu sonuçlar elde ettiği bildirilmiş ve bu nedenle Kombucha, dönemin metinlerinde ‘ölümsüzlük iksiri’ olarak anılmıştır. Bu tanımlama, Kombucha’nın tarihsel bağlamda yalnızca bir içecek değil, aynı zamanda tıbbi amaçlarla değerlendirilen geleneksel bir ürün olduğunu göstermektedir. Bu amaç doğrultusunda Kombucha Çayı ismi ile tüketilmeye başlandığı bildirilmiştir (Tarhan, 2017).

Günümüzde Kombucha, artan tüketici talebi ve sağlık odaklı beslenme eğilimlerinin etkisiyle ticari açıdan önemli bir fermente gıda ürünü haline gelmiştir. Küresel ölçekte büyüyen pazar payı

ve üretim kapasitesi ile birlikte, Kombucha'nın tüketim alanı her geçen gün genişlemekte ve farklı demografik gruplar tarafından tercih edilmektedir (Tarhan, 2017).

1.2.1 Kombucha kültürü

Kombucha mantarı, esas olarak *Gluconacetobacter xylinum* (*Komagataeibacter xylinus*) tarafından fermantasyon süreci sırasında sentezlenen, jelatinöz yapıda ve düz disk formunda bir biyoselüloz zardan oluşmaktadır. Bu biyoselüloz yapı, mikroorganizmanın metabolik aktiviteleri sonucunda üretilmekte olup, yapısal olarak yüksek saflıkta selüloz içermesi nedeniyle dikkat çekmektedir.

Kombucha mantarı, bilimsel literatürde “Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast” (SCOBY) olarak adlandırılan, asetik asit bakterileri ve ozmofilik mayaların simbiyotik birlikteliğinden oluşan jelatinöz bir yapıdır (Tarhan Kuzu ve Turhan, 2020). Kombucha kültüründe, bol miktarda *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconoacetobacter* ve *Lactobacillus* cinslerine ait bakteriler ile *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida* cinslerine ait mayalar bulunmaktadır (<https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/kombucha>). Bu simbiyotik kültürde baskın olarak bulunan bakteri türü, *Komagataeibacter xylinus*, fermantasyon süreci sırasında yüksek saflıkta ve kristalin yapıda bakteri kaynaklı selüloz sentezlemektedir (Kutluer, 2009).



Şekil 1.12 : Kombucha (SCOBY) kültürü

1.3 Siyah ay

Siyah ay, *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından elde edilen ve polifenoller, kateşinler, tanenler ile çeşitli amino asitler açısından zengin bir içecektir. Kombucha ayı üretiminde temel olarak siyah çay ve şükroz (sofra şeker) kullanılmaktadır. Siyah ay bileşenleri, fermentasyon sürecinde mikroorganizmaların gelişimini desteklemenin yanı sıra son ürünün aroma, renk ve biyolojik aktivite özelliklerini şekillendirmektedir. Şeker (şükroz) ise SCOBY içerisindeki maya ve bakteriler için temel karbon kaynağı görevini üstlenir. Fermentasyon sürecinde mayalar, sak şükrozu invertaz enzimi yardımıyla glukoz ve fruktoza parçalar; ardından bu monosakkaritleri etanol ve karbondioksite dönüştürür. Asetik asit bakterileri ise mayalar tarafından üretilen etanolden asetik asit sentezler ve glukozu kullanarak yüksek saflıkta biyoselüloz üretir (Jayabalan ve diğ, 2014).

Siyah ay kullanılarak kombucha ayı hazırlanabilmektedir. Genellikle su içerisinde belirli oranlarda siyah çay yaprakları ve şükroz eklenir. ay yaprakları kaynar su ile demlendikten sonra çözelti süzülerek posa uzaklaştırılır. Ardından belirlenen miktarda şeker ilave edilir ve karışım oda sıcaklığına kadar soğutulur. Soğuyan ay, steril cam kavanozlara alınır ve üzerine daha önce hazırlanmış bir SCOBY tabakası ile bir miktar starter sıvı (önceden fermente edilmiş Kombucha ayı) eklenir. Kap, hava geçirgenliğini sağlayacak şekilde temiz bir bez veya filtre kâğıdı ile kapatılır ve fermentasyona bırakılır. Fermentasyon süresince pH kademeli olarak düşer, asidik aroma belirginleşir ve biyoselüloz tabakası kalınlaşır (Greenwalt ve diğ, 2000).

Fermentasyon süresinin sonunda Kombucha ayı, istenen aroma ve asidite düzeyine ulaştığında SCOBY tabakası ayrılır, içecek süzülür ve soğutularak tüketime hazır hale getirilir. Ürün, probiyotik mikroorganizmalar, organik asitler, vitaminler ve antioksidan bileşenler açısından zengin olması nedeniyle fonksiyonel bir içecek olarak değerlendirilmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Mikrobiyal selülozun üretimi, yapısal özellikleri ve potansiyel uygulama alanlarına yönelik araştırmalar 1980’li yıllarda başlamış olup, günümüzde de artan bir ilgiyle devam etmektedir (Iguchi ve Budhiono, 2000; Czaja ve diğ, 2006). Türkiye’de bu alandaki çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte, literatürde çeşitli araştırmaların gerçekleştirildiği görülmektedir (Keshk, 2014).

Poyrazoğlu (2007), mikrobiyal selüloz üretimi amacıyla *Acetobacter pasteurianus* ve *Acetobacter lovaniensis* suşlarını kullanarak karbon ve azot kaynakları, inkübasyon sıcaklığı ile pH gibi parametreleri değiştirip üretim verimini optimize etmeye yönelik çalışmalar gerçekleştirmiştir. Araştırma sonucunda, *Acetobacter pasteurianus* suşu ile en yüksek mikrobiyal selüloz verimi %18 olarak elde edilmiştir. Üretilen mikrobiyal selüloz örneklerinin yapısal karakterizasyonu ise NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) ve FT-IR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi) analizleri ile gerçekleştirilmiştir (Poyrazoğlu, 2007).

Kaya (2007), gerçekleştirdiği çalışmada, durağan kültür koşullarında günümüzde *Komagataeibacter xylinus* olarak adlandırılan *Acetobacter xylinum* türüyle bakteriyel selüloz üretimi yapmıştır. Bu çalışmada farklı glukoz derişimlerinin, elde edilen selüloz miktarı ve selülozun asidik bileşimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Kaya, 2007).

Yılmaz (2007) ise, çeşitli karbon kaynaklarını kullanarak statik kültür şartlarında *Acetobacter xylinum* ile bakteriyel selüloz üretimi gerçekleştirmiş ve bu süreç üzerindeki etkilerini incelemiştir (Yılmaz, 2007).

Buna ek olarak, Ermiş (2008) tarafından yürütülen bir diğer çalışma da, hem statik hem de çalkalamalı kültür koşulları altında *Gluconacetobacter hansenii* P2A suşu kullanılarak selüloz üretimi değerlendirilmiştir (Ermiş, 2008).

Yamane ve diğ. (2016), gliserolün bakteri temelli selüloz üretimi üzerindeki etkisini araştırmış ve çalışmalarını *Gluconacetobacter hansenii* (ATCC® 53582™) türü ile statik koşullarda gerçekleştirmiştir. Aynı zamanda farklı ortam koşullarının ve besin kaynaklarının üretim verimliliği üzerindeki etkileri de incelenmiştir (Yamane ve diğ, 2016).

Ul-Islam ve diğ. (2012) tarafından yapılan çalışmada, mikrobiyal selülozun mekanik ve morfolojik özellikleri detaylı şekilde incelenmiş; taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile lif yapıların yoğunluğu ve homojenliği değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen bulgular, mikrobiyal selülozun doku mühendisliği ve yara örtüleri gibi biyomedikal alanlardaki uygulamaları açısından umut verici sonuçlar ortaya koymuştur (Ul-Islam ve diğ, 2012).

Cakar ve diğ. (2014) tarafından yapılan bir diğ. çalışmada, çeşitli karbon kaynaklarının (glukoz, sükröz, fruktoz) mikrobiyal selüloz verimine etkisi incelenmiş; glukozun en yüksek üretim verimini sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen ürünlerin kristal yapısı X-ışını kırınım (XRD) analizi ile değerlendirilmiş ve yüksek kristallik değerlerine ulaşıldığı rapor edilmiştir (Cakar ve diğ, 2014).

Castro ve diğ. (2012), mikrobiyal selülozun gıda ve kozmetik sanayisindeki potansiyel kullanım alanlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, özellikle cilt bakım ürünlerinde taşıyıcı sistem olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Mikrobiyal selülozun biyoyumluluğu, esnekliği ve sıvı absorpsiyon kapasitesi bu alandaki uygulamalar için avantaj sağlamaktadır (Castro ve diğ, 2012).

Son yıllarda, sürdürülebilir üretim yaklaşımları doğrultusunda atık bazlı besiyerlerinin kullanımı da dikkat çekmektedir. Bu kapsamda, Ul-Islam ve diğ. (2013), tarımsal atıkların (örneğin, meyve suyu atıkları ve mısır şurubu) mikrobiyal selüloz üretiminde alternatif karbon kaynakları olarak değerlendirilmesini önermiştir. Bu tür atıkların kullanımı, hem üretim maliyetlerini düşürmekte hem de çevresel açıdan daha sürdürülebilir bir yaklaşım sunmaktadır. (Ul-Islam ve diğ, 2013).

Sonuç olarak, mikrobiyal selüloz üretimi ve uygulamaları üzerine yapılan çalışmalar giderek artmakta; özellikle kombucha kültürü gibi simbiyotik sistemlerin kullanımı ile yeni üretim stratejileri geliştirilmektedir. Ancak Türkiye’de bu alandaki araştırmalar hâlâ sınırlı sayıdadır ve mevcut çalışmaların çoğu laboratuvar ölçeğinde kalmaktadır. Önümüzdeki süreçte, daha fazla yerli araştırma ile üretim teknolojilerinin geliştirilmesi ve sanayiye entegrasyonunun sağlanması önem arz etmektedir.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Bu çalışmada mikrobiyal selüloz üretimi için kombucha kültürü (SCOBY) kullanılmıştır. Kombucha kültürü, yerel bir üreticiden temin edilmiştir ve steril koşullar altında laboratuvarında çoğaltılarak kullanılmıştır.

3.2 Mikrobiyal Selüloz Üretimi

Çalışmamızda mikrobiyal selüloz üretimini gerçekleştirmek amacıyla bakteri ve maya karışık kültüründen oluşan Kombucha kullanılmıştır. Bakteri ve maya karışık kültürünün ön kültürasyonu için 10 g klasik siyah çay (*Camellia sinensis*) ve sükröz (sükroz, $C_{12}H_{22}O_{11}$) kullanılmıştır. Siyah çayın 10 dakika demlenmesi ve süzülmesiyle elde edilen besi ortamına 10 g sükröz ilave edildi. Besi ortamının pH'sı 0,1M NaOH ve 0,1M HCl ile 5.0'a ayarlandı. Sterilizasyon 121°C'de 15 dakika otoklavda gerçekleştirildi. Otoklav sonrası besi ortamına Kombucha kültüründen alınan örnek eklendi. İnkübasyon 28°C'lik statik etüvde 14 günde gerçekleştirildi.



Şekil 3.1 : Simbiyont Kültür Karışımı (SCOBY)

3.3 Mikrobiyal Selüloz Üretimi için Alternatif Üretim Ortamlarının Araştırılması

Üretim verimliliğini etkileyen faktörleri belirlemek amacıyla; karbon kaynağı (glukoz, sükroz ve mannitol) ve pH (3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0) gibi parametreler tek tek değiştirilerek deneyler yürütülmüştür.



Şekil 3.2 : Mikrobiyal selüloz üretimi için alternatif üretim ortamları

3.3.1. Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun karbon kaynağının belirlenmesi

Mikrobiyal selüloz üretiminde kullanılan karbon kaynağının mikrobiyal selüloz üretimine etkisinin araştırılması amacıyla D-glukoz, sukroz, mannitol olmak üzere 3 farklı karbon kaynağı kullanılmıştır. Bu amaçla 10 g siyah çay ile hazırlanan besiyerine %10 oranında D-glukoz, sükroz ve mannitol; ayrı ayrı olacak şekilde ilave edildi. Hazırlanan besiyerleri 0,1 M NaOH ve 0,1 M HCl ile pH 5.0'a değerleri ayarlanarak 121 °C'de 1,5 atm basınçta 15 dakika boyunca steril edildi.

Besiyerlerine, steril koşullarda kombucha kültürü ilave edilerek 14 gün boyunca 28 °C’de statik koşullarda inkübasyonları yapıldı.

İnkübasyon sürecinin sonunda mikrobiyal selüloz üretim miktarları (g/L) belirlendi ve mikrobiyal selüloz üretiminin en yüksek olduğu karbon kaynağı saptanarak çalışmaya bu karbon kaynağı ile devam edildi.

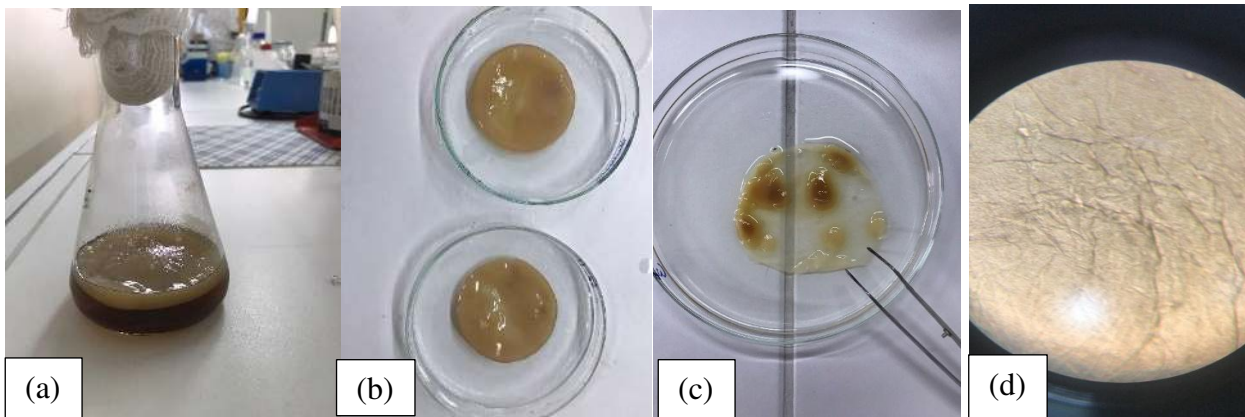
3.3.2. Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun başlangıç pH değerinin belirlenmesi

Üretim ortamına ait başlangıç pH değerinin mikrobiyal selüloz üretimi üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pH 3,0 ile 7,0 arasında değişen pH’ lar da hazırlanan siyah çay besiyerine (10 g siyah çay, %10 glukoz), kombucha kültürü inoküle edilerek 14 gün boyunca 28 °C’de statik koşullarda inkübasyonları yapıldı. İnkübasyon sonrasında, mikrobiyal selüloz üretim miktarı (g/L) belirlendi ve mikrobiyal selüloz üretiminin en iyi olduğu pH değeri belirlendi.

Üretim işlemi, steril erlenlerde ve büyük steril borcamlarda, 28°C’de statik koşullarda 10-14 gün boyunca yürütülmüştür. Fermentasyon sonunda yüzeyde oluşan mikrobiyal selüloz tabakası toplanarak saflaştırma aşamasına geçilmiştir.

3.4 Mikrobiyal Selülozun Saflaştırılması

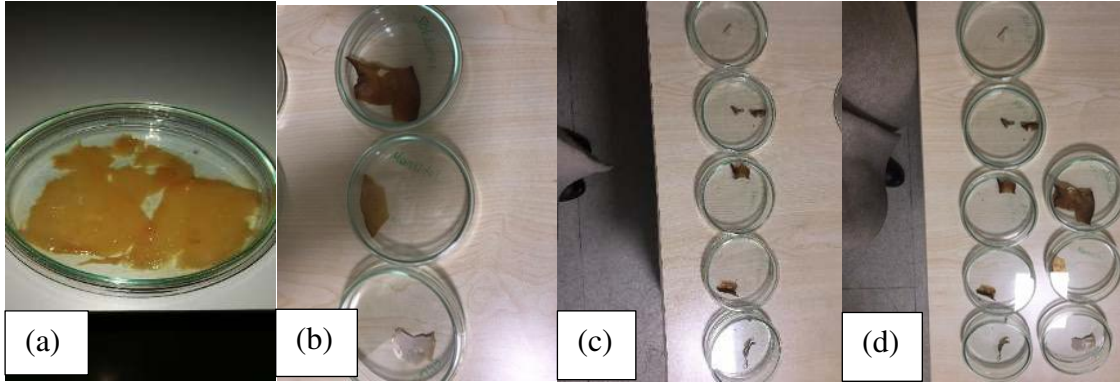
Elde edilen selüloz tabakası besiyerinden alınarak, üzerindeki besiyeri ve mikroorganizmalardan arındırmak amacıyla distile su ile yıkandı. 0.1 N NaOH çözeltisinde 80°C’de 1 saat süreyle bekletildi. Daha sonra 10 dakika 0.1 N’lik asetik asit ile muamele edilen mikrobiyal selüloz, rengi açılıp, nötr pH’a ulaşana kadar distile su ile bol miktarda yıkanarak durulanmış ve 70 °C’de kurutuldu.



Şekil 3.3 : Elde edilen mikrobiyal selülozun saflaştırma işlemi **(a)** Çay besiyerinde (10 g siyah çay ve 10 g glukoz) 14 gün inkübasyon sonucu oluşan selüloz, **(b)** 0.1 N NaOH ile muamele görmüş selüloz, **(c)** 0.1 N CH₃COOH ile muamele görmüş selüloz, **(d)** 70 °C’de kurutulmuş selüloz

3.5 Mikrobiyal Selülozun Karakterizasyonu

Farklı koşullarda üretilen ve saflaştırma işlemlerinden sonra elde edilen mikrobiyal selülozun karakterizasyonunun yapılması için alınan nemli ve kurutulmuş numuneler Şekil 3.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.4 : Elde edilen mikrobiyal selülozun karakterizasyonu **(a)** Saflaştırma işlemi sonrası elde edilen mikrobiyal selülozun nemli görüntüsü, **(b)** Farklı karbon kaynaklarında elde edilen mikrobiyal selülozun kurutulmuş hali, **(c)** Farklı pH değerlerinde üretilmiş mikrobiyal selülozun kurutulmuş hali, **(d)** b ve c görsellerinin birlikte çekilmiş görüntüsü

Elde edilen mikrobiyal selüloz örneklerinin karakterizasyonu aşağıdaki analiz yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir:

*FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi): Fonksiyonel grupların belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

*SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu): Selülozun mikroyapısal morfolojisi incelenmiştir.

*XRD (X-Ray Difraksiyon): Selülozun kristalin yapısı analiz edilmiştir.

*TGA (Termogravimetrik Analiz): Termal dayanıklılık ölçülmüştür.

*DTA (Diferansiyel Termal Analiz): Sıcaklık farkı izlenmiştir.

Söz konusu karakterizasyon işlemleri için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkez laboratuvarında hizmet alımı yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Üretilmesi

Çalışmamızda kullanılan kombucha çayı Doğu Avrupa ve Asya'da geleneksel olarak tüketilen fermente siyah çaydır. Antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojenik özelliklere sahip olan bu çayın kullanımı, son yıllarda ülkemizde ve tüm dünyada giderek artmıştır. Kombucha çayı karışık kültürü içerisinde etanol fermentasyonu yapan mayalar, organik asit fermentasyonu yapan bakteriler ve asetat oluşturmak için etanol kullanan bakteriler yer almaktadır. Asetik asit üretimi sırasında bakteriler, sekonder metabolit ürünü olarak selüloz yapılı biyofilm tabakası oluşturmaktadırlar. Fermentasyon süreci sonunda hem oldukça sağlıklı bir içecek ve hem de sentetik besiyerlerine kıyasla düşük maliyetli bir yöntemle mikrobiyal selüloz elde edilmektedir.

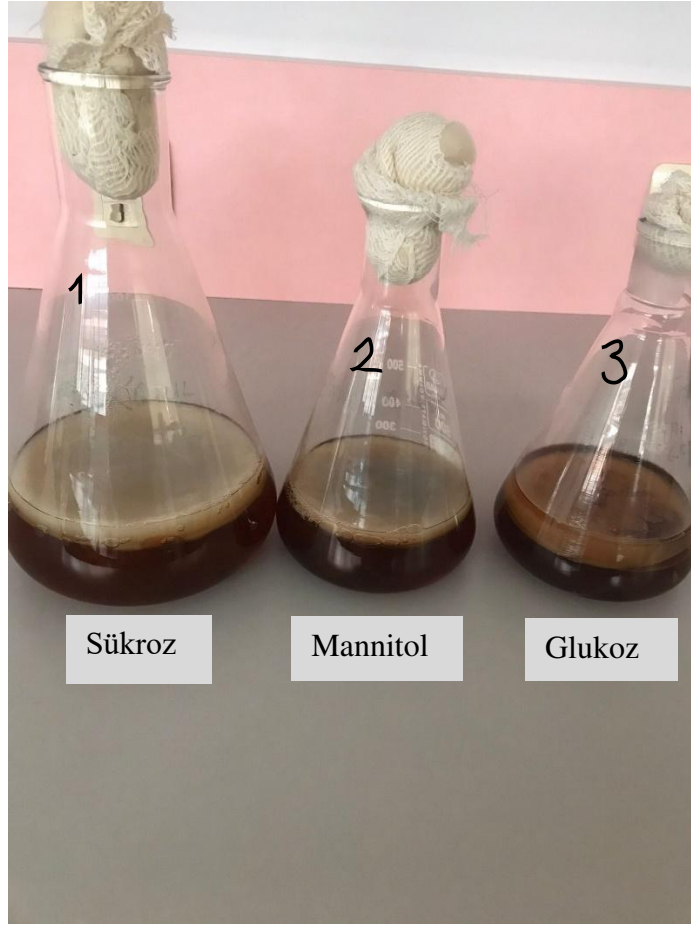


Şekil 4.1 : Elde edilen mikrobiyal selülozun üretim aşaması

Siyah çayın 10 dakika demlenmesi ve süzülmesiyle elde edilen besi ortamına 10 g sukroz ilavesiyle hazırlanan besiyeri, 121°C'de 15 dakika otoklavize edildi. Otoklav sonrası besi ortamına çok sayıda bakteri ve maya içeren ticari olarak temin edilen Kombucha kültürü inoküle edildi. Selüloz üretimi, 28°C'da ve statik koşullarda 14 gün boyunca sürdürülerek, kültür ortamı üzerinde beyaz bir film tabakasının belirlenmesiyle gerçekleştirildi.

4.2. Farklı Karbon Kaynaklarının Mikrobiyal Selüloz Üretimine Etkisi

Mikrobiyal selüloz üretimindeki verim üretimde kullanılan mikroorganizma kadar üretim ortamı ile de ilişkilidir ve üretimi etkileyen en önemli parametreler karbon ve azot kaynaklarıdır. Çalışmamızda, siyah çay besiyerinde karbon kaynağının mikrobiyal selüloz üretimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla farklı karbon kaynakları kullanıldı.



Şekil 4.2 : Mikrobiyal selüloz üretiminde kullanılan farklı karbon kaynakları

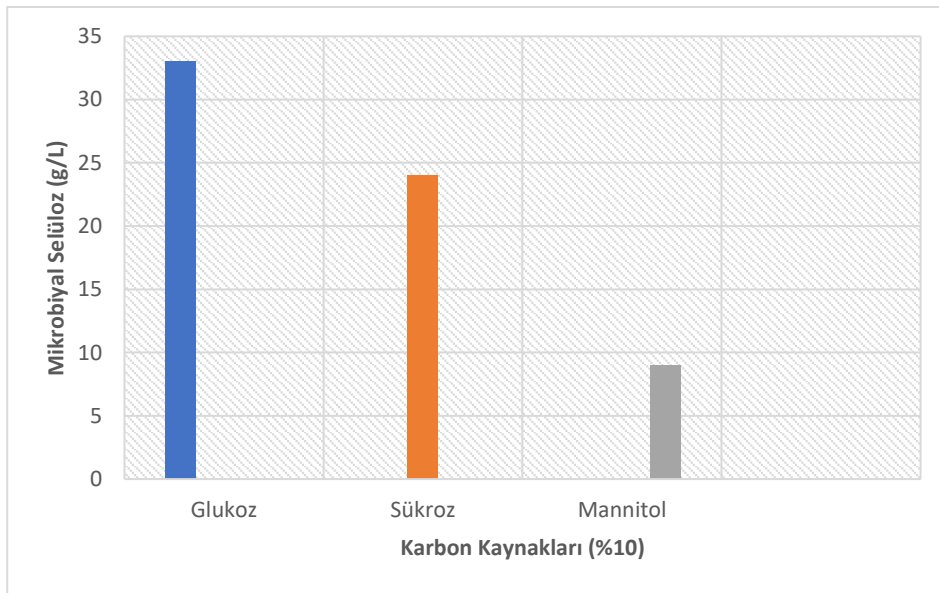
Mikrobiyal selüloz üretimi için, %10 siyah çaya ilave edilen %10 oranında, üç farklı karbon kaynağı (sükroz, glukoz ve mannitol) eklenerek hazırlanan besiyerlerinde, en yüksek mikrobiyal selüloz üretiminin glukoz içeren besiyeri ortamında 33 g/L olarak tesbit edilmiştir. Asetik asit bakterilerinin mikrobiyal selüloz üretiminde karbon kaynağı olarak monosakkaritleri tercih ettiği bilinmektedir. Mikrobiyal selüloz üretiminde en çok kullanılan karbon kaynağı glukozdur. Glukoz, diğer karbon kaynaklarından farklı olarak, hem bir enerji kaynağı olarak, hem de mikrobiyal selülozun sentezlenmesinde öncü olarak görev aldığı pek çok çalışma ile de gösterilmektedir.

Sükroz içeren besiyerinde de mikrobiyal selüloz üretimi gözlenmekle beraber sükroz, bir disakkarit olduğu için (glukoz + fruktoz) öncelikle glukoz ve fruktoz gibi monosakkaritlere hidroliz edilmesi biyosentez süresini uzatmaktadır. Bu nedenle disakkaritlerin kullanıldığı besiyerlerinde mikrobiyal selüloz üretimi monosakkaritlerin kullanıldığı besiyerlerine kıyasla daha düşüktür. Özellikle karbon kaynağı gibi substratlar, mikrobiyal selüloz miktarını ve biyosentezinin süresini etkilemektedir. Mikrobiyal selüloz üretimi için, %10 siyah çaya ilave

edilen %10 oranında sükröz eklenerek hazırlanan besiyerlerinde mikrobiyal selüloz üretimi, 24 g/L olduğu saptanmıştır.

Aynı şekilde mannitol içeren besiyerinde de mikrobiyal selüloz üretimi gözlenmekle beraber, üretimin 9.8 g/L olarak oldukça düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir. Mannitol suda çözünebilen bir şeker alkoldür.

Literatürde galaktozun, bir monosakkarit olmasına rağmen suda çözünürlüğünün az olması nedeniyle asetik asit bakterileri tarafından kullanılamadığı bildirilmiştir. Galaktozun karbon kaynağı olarak kullanıldığı besiyerinde, mikrobiyal selüloz üretiminin gerçekleştirilememesi suda çözünürlüğünün az olmasıyla açıklanmakta ve bu monosakkaritin mikrobiyal selüloz üretimi için uygun bir karbon kaynağı olmadığını ortaya çıkarmaktadır.



Şekil 4.3 : Mikrobiyal selüloz üretimi için uygun karbon kaynağının belirlenmesi

4.3. Farklı pH Değerlerinin Mikrobiyal Selüloz Üretimine Etkisi

Mikrobiyal selüloz üretimini etkileyen önemli faktörlerden biri üretim ortamının pH değeridir. Besiyerinin pH değeri mikroorganizmalar için hayati önem taşımaktadır. Çünkü, hücre zarının geçirgenliği, besin maddelerinin hücre içine alınımı, primer ve sekonder metabolitlerin sentezi, pH değerine oldukça duyarlıdır. Besiyerinin pH değeri besiyeri içerisindeki substratların (besin maddelerinin) çözünürlüğünü etkileyeceğinden mikroorganizmaların üremesini ve mikrobiyal

ürünlerin sentezini önemli oranda etkileyecektir. Bu nedenle optimum pH'nın saptanması mikrobiyal selüloz üretiminin artırılmasında oldukça önem arz etmektedir.



Şekil 4.4 : Mikrobiyal selüloz üretiminde farklı pH değerleri

Besiyerinin başlangıç pH değerinin mikrobiyal selüloz üretimine olan etkisinin araştırılması amacıyla, %10 siyah çay ve en iyi verim alınan karbon kaynağı olarak tesbit edilen %10 glukoz içeren besiyerinin pH değeri 3.0-7.0 arasında hazırlanarak, üretim gerçekleştirilmiştir. Farklı pH değerlerinde hazırlanan bu besiyerlerinde en yüksek mikrobiyal selüloz üretiminin pH 5.0'da 43,52 g/L olduğu belirlenmiştir. pH değerinin artmasına bağlı olarak selüloz üretim miktarının azaldığı saptanmıştır. Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların üremeleri için gerekli olan optimum pH değeri genellikle hafif asidik pH değerleri olmasına rağmen oldukça asidik olan pH değerlerinde de (pH 4.0) nispeten büyük miktarda mikrobiyal selüloz üretimi gerçekleştirildiği belirlendi. Nötr ve bazik pH derecelerinde (pH 7.0) ise mikrobiyal selüloz sentezinin çok düşük olduğu saptandı (Şekil 4.4)

Literatürde de bizim elde ettiğimiz sonuçlara paralel veriler bulunmaktadır. Zahan ve arkadaşlarının, *Komagataeibacter xylinus* ile döner disk reaktöründe mikrobiyal selüloz üretimini araştırdıkları çalışmada, en yüksek mikrobiyal selüloz üretiminin pH 5.0 değerinde elde edildiği bildirilmiştir. En düşük mikrobiyal selüloz üretiminin ise pH 3,5 ve 7,5 değerlerinde elde edildiğini tespit etmişlerdir (Zahan ve diğ, 2014; Sevim, C., 2021). Aynı bakteriyle mikrobiyal selüloz üretimi yapılan bir başka çalışmada da mikrobiyal selüloz üretimi için optimal pH değerinin 5,5 olduğu belirlenmiştir (Lahiri, 2021).

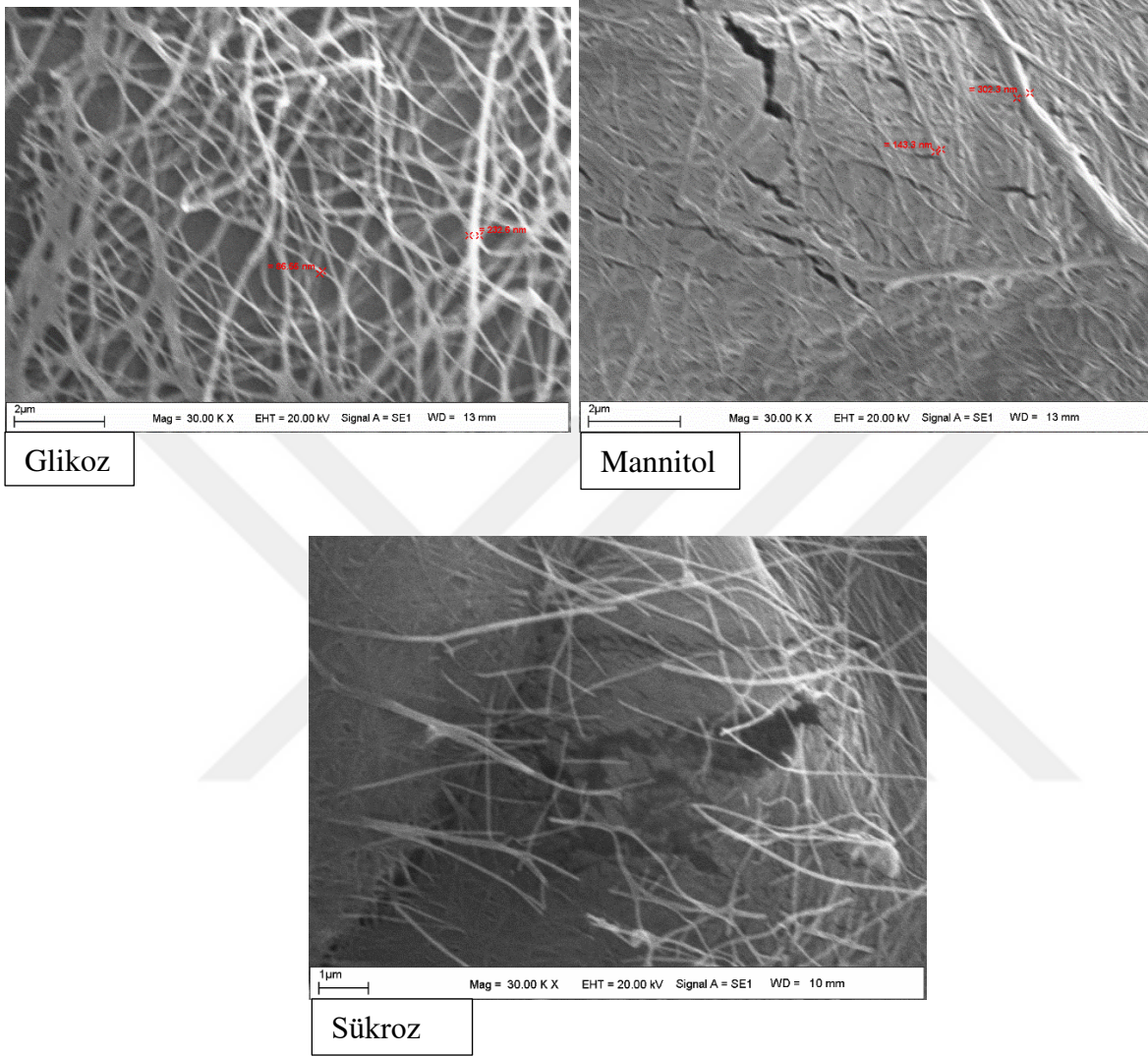
Mikrobiyal selüloz üretimi üzerine pH'nın etkisini tespit etmek amacıyla yapılan bir başka çalışmada ise *Acetobacter senegalensis* bakterisinin pH 4.0'ın altında ve pH 9.0'da mikrobiyal selüloz üretmediğini, en yüksek selüloz üretiminin ise pH 4,5 değerinde olduğunu bildirmişlerdir. Mikrobiyal selüloz üretimi, genellikle nötr ila hafif asidik pH aralığında olduğu pek çok çalışma ile gösterilmektedir. Çalışmamızdaki sonuçlara paralel olarak literatürdeki çalışmalarda da mikrobiyal selüloz üretimi için bazik pH koşullarının uygun olmadığı bildirilmiştir. Aynı zamanda düşük pH aralıklarında mikrobiyal selüloz üretiminin daha iyi olması, mikrobiyal kontaminasyonu sınırlama avantajı da sunmaktadır, çünkü çoğu mikroorganizma bu kadar düşük pH ortamında yaşayamamaktadır (Aswini ve diğ, 2020; Lahiri, 2021).

4.4 Mikrobiyal Selülozun Karakterizasyonu

4.4.1 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü

Farklı karbon kaynakları içeren besiyerlerinde üretilen selülozun taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilen yüzey görüntüsünü Şekil 4.5'de gösterilmektedir. Mikrobiyal selüloz,

nanofibrillerden oluşan üç boyutlu ağısı bir yapıya sahiptir. Bu nanofibrillerin, rastgele ve düzensiz bir şekilde bir araya geldiği belirlenmiştir. Karbon kaynağı olarak glukoz kullanılarak üretilen mikrobiyal selüloz nanofibrillerin boyutlarının 86.55 nm-232.6 nm arasında olduğu, mannitol içeren besiyerinde üretilen mikrobiyal selüloz nanofibrillerin ise glukozla kıyasla daha kalın (143.3 nm-302.3 nm) olduğu belirlenmiştir.

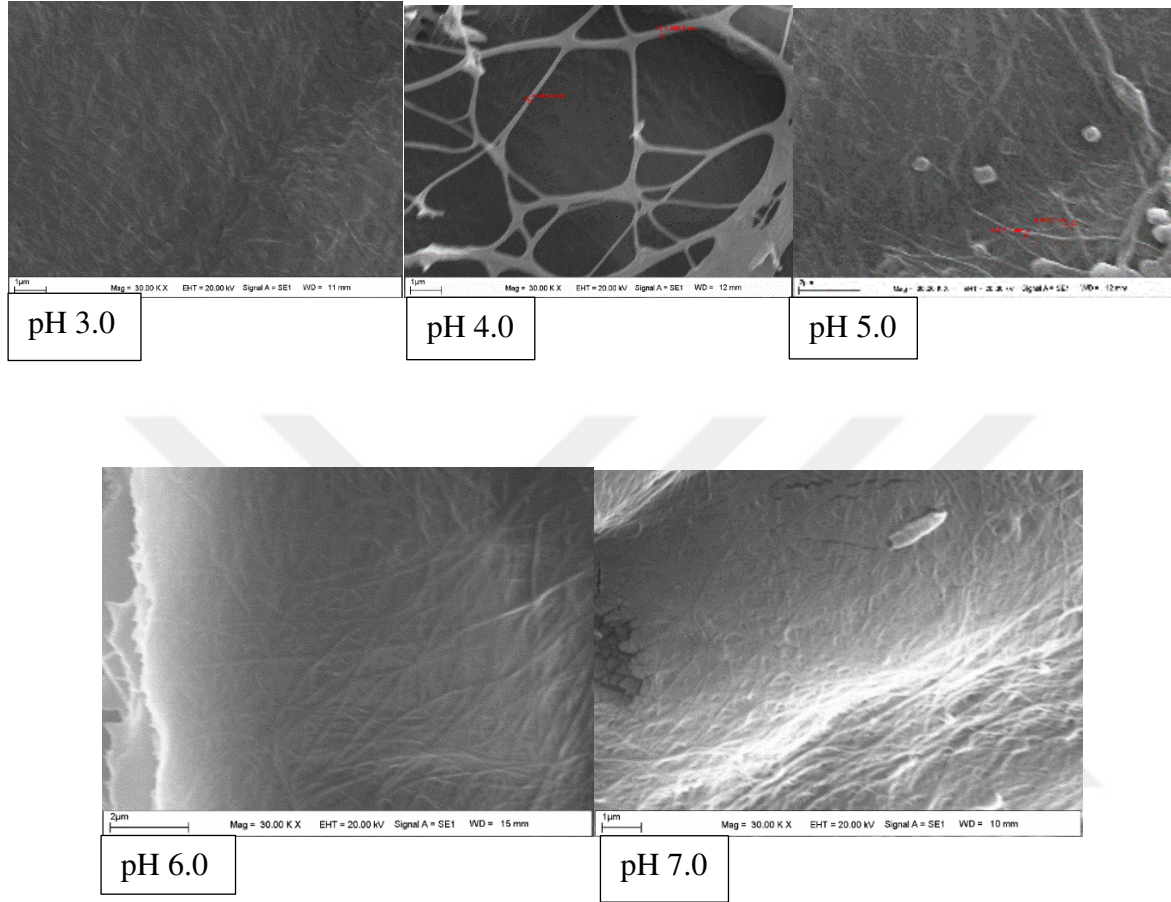


Şekil 4.5 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü

4.4.2 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu görüntüsü

Farklı pH değerlerine sahip besiyerlerinde üretilen mikrobiyal selülozun taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile elde edilen yüzey görüntüsünü Şekil 4.6'da gösterilmektedir. En ince

nanofibril yapısına sahip olan mikrobiyal selüloz 100.9 nm-252.3 nm ile pH 5.0’da olduğu saptanmıştır. pH 4.0’da ise mikrobiyal selülozun nanofibril yapısı 149.4 nm-286.5 nm aralığında olduğu belirlenmiştir. pH 3.0 ve pH 7.0’da ise çok net bir nanofibril yapısı gözlenmemiştir.



Şekil 4.6 : Farklı pH aralıklarında üretilen mikrobiyal selülozun nanofibril yapısı

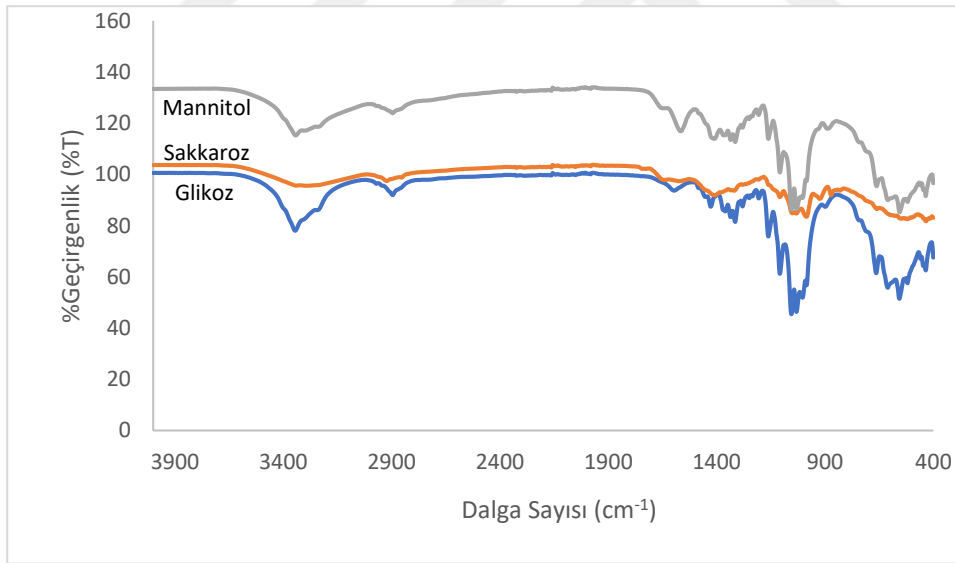
SEM verileri, pH'ın mikrobiyal selülozun mikro yapısını önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Bu etki, selüloz üreten bakterilerin (örneğin, *Gluconacetobacter xylinus*) aktivitesi ve β -1,4-glukan zincirlerinin nanofibrillere birleştirmesi üzerindeki pH etkileriyle açıklanabilir. pH 5.0'te sentezlenen selülozun oldukça yoğun ve düzenli bir fibril ağına sahip olduğu saptanmıştır. Bu durum optimal enzimatik aktivite ve hidrojen bağlanmasıyla ilişkilendirilir ve bu durum selülozun, daha yüksek kristal ve yapısal bütünlüğüne işaret eder. Buna karşılık, pH 3.0 ve pH 4.0'da ki asidik koşullar bakteri metabolizmasını bozarak daha az organize ve heterojen bir fibril ağına neden olmaktadır. pH 7.0'da göze çarpman gevşek ve amorf yapı, Nötr pH'ın kristal matris oluşumunu engellediğini göstermektedir.

Bu bulgular, pH 5.0'ın mekanik dayanıklılık ve biyouyumluluk gerektiren uygulamalar (örneğin, yara örtüleri, doku iskeleleri) için kritik olan yüksek yoğunluk ve düşük gözeneklilik gibi istenen mikro yapısal özelliklere sahip mikrobiyal selüloz üretimi için optimal koşul olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, SEM fotoğrafları, pH'ın mikrobiyal selülozun mikro yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Mikrobiyal selülozun sentezinde optimum pH'nın 5.0 olduğu, yoğun, homojen ve oldukça düzenli nanofibril ağıyla karakterize edilmiştir. Buna karşılık, pH 3.0 ve pH 7.0, gibi optimum olmayan pH'larda üretilen selülozun, daha az organize ve gözenekli yapıda olduğu göze çarpmaktadır. Bu gözlemler, endüstriyel ve biyomedikal uygulamalar için mikrobiyal selüloz üretiminde pH kontrolünün kritik bir parametre olduğunu ortaya koymuştur.

4.4.3 Farklı karbon kaynaklarında sentezlenen mikrobiyal selülozun Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Mikrobiyal selülozun yapısındaki elementler ve bağ yapısı Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) taraması ile incelendi (Şekil 4.7). FTIR spektroskopisi, maddelerin fonksiyonel gruplarını tanımlamakta kullanılmaktadır.



Şekil 4.7 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun FTIR analiz sonucu

Grafikte, besiyerine farklı karbon kaynaklarının (mannitol, sükroz ve glikoz) eklenmesiyle sentezlenen mikrobiyal selüloza ait FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) spektrumları gösterilmektedir.

Tüm spektrumlar mikrobiyal selülozun karakteristik bantlarını (özellikle 3300, 2900, 1650, ve 1000–1100 cm^{-1} bölgeleri) göstermekte olup, ancak yoğunluk ve zirve konumlarındaki küçük değişiklikler, karbon kaynağının üretim üzerindeki etkisini önemli ölçüde yansıtmaktadır.

FTIR analizlerinden elde edilen verilere göre, tüm örneklerde selüloza özgü belirgin karakteristik bantlar gözlemlenmiştir. Bu bantlar arasında yaklaşık 3300 cm^{-1} 'de geniş –OH gerilme titreşimleri, 2900 cm^{-1} civarında C–H gerilmeleri ve 1000–1200 cm^{-1} aralığında yer alan glikozidik C–O–C bağlarına ait titreşimler öne çıkmaktadır. Bu bulgular, analiz edilen her örnekte selüloz yapısının oluştuğunu doğrulamaktadır.

3200–3600 cm^{-1} bölgesindeki geniş ve yoğun bantlar, mikrobiyal selülozdaki hidroksil gruplarının varlığını göstermektedir. Glikoz kaynaklı üretilen mikrobiyal selülozda daha fazla hidrojen bağı içermesinden dolayı bu bant daha yoğundur. Aynı zamanda bu bölge nem içeriğini ve kristallik derecesini de etkilemektedir. Glikoz kullanılarak sentezlenen mikrobiyal selüloza ait örneklerdeki spektrumlar daha keskin ve yoğun pikler göstermiştir; bu da glikozun daha düzenli bir nanofibril yapı oluşumunu desteklediğini göstermektedir. Buna karşılık mannitol ile üretilen selüloz örneklerinde bantların daha silik olması, selülozun daha düzensiz veya amorf bir yapıda olduğunu doğrulamaktadır.

2800–2900 cm^{-1} bölgesindeki C–H gerilmesi, selülozda bulunan metilen gruplarının titreşimlerine aittir. Üç örnekte de benzer C–H titreşimlerin görülmesi, yapısal omurganın benzer olduğunu desteklemektedir.

1600–1650 cm^{-1} bölgesindeki (H–O–H bükülmesi) bantlar, genellikle adsorbe suyun varlığını göstermektedir. Glikoz kaynaklı selülozda bu bandın daha belirgin olması, daha yüksek su tutma kapasitesi olabileceğinin önemli bir göstergesidir.

1000–1200 cm^{-1} bölgesindeki C–O–C ve C–O gerilmeler selülozun β -1,4-glikozidik bağlarının karakteristiğini göstermektedir. Glikoz varlığında üretilen mikrobiyal selülozun (mavi eğri) bu bölgede çok belirgin absorpsiyonlarının varlığı yapısal düzenin daha belirgin olduğunu göstermektedir. Sükroz ve mannitol eklenilerek üretilen mikrobiyal selüloza ait örneklerde bu bölge daha zayıf olduğundan selülozun daha amorf yapıya sahip olduğunu ifade etmektedir.

FTIR grafikleri ile elde edilen sonuçlara göre, kullanılan karbon kaynağının mikrobiyal selülozun yapısal özellikleri üzerinde doğrudan etkili olduğu söylenilebilir. Özellikle glikozun, doğrudan metabolik yollara katılarak daha organize ve kristalin yapıdaki selüloz oluşumunda etkili olduğunu göstermektedir.

Sükroz ve mannitol gibi karbon kaynaklarının sentez sürecinde öncelikle glikoza çevrilmesi gerektiği için, bu sürecin mikrobiyal selüloz üretimini yavaşlattığı ve selüloz yapısında

düzensizliklere neden olduğunu düşündürmektedir. Bu değerlendirmeler doğrultusunda, karbon kaynağının sadece selülozun üretim miktarı ile değil, aynı zamanda ürünün yapısal özellikleri üzerinde de etkili olabileceği sonucuna varılabilir.

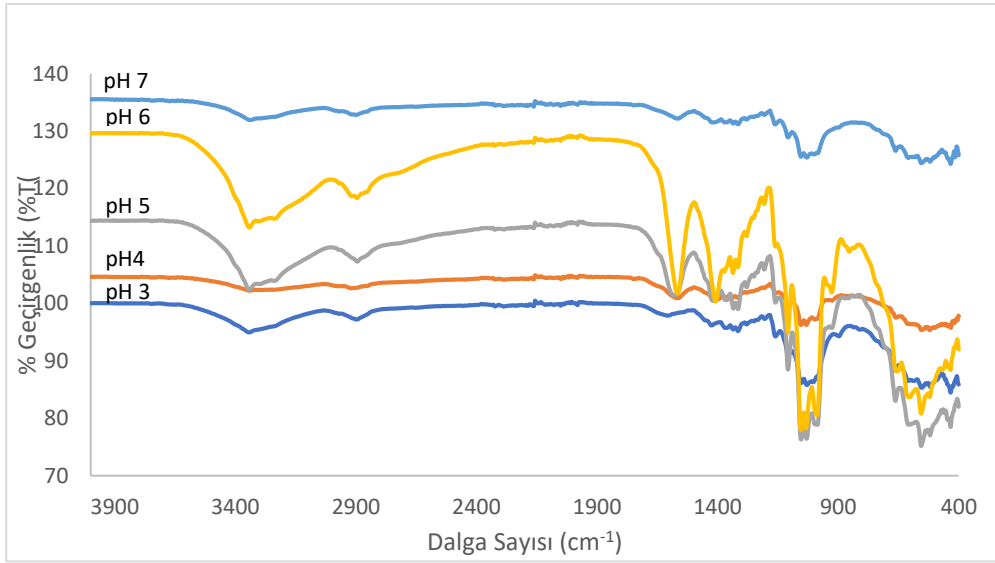
Çalışmamız sonucunda glikozun daha net ve güçlü absorpsiyonlar vermesi nedeniyle, mikrobiyal selüloz üretiminde en uygun karbon kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Karbon kaynağı, mikrobiyal selülozun kristallliğini, su tutma kapasitesini ve fonksiyonel gruplarını önemli ölçüde etkilemektedir.

Karbon Kaynağı	OH Gerilmesi ($\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$)	C-H Gerilmesi ($\sim 2900 \text{ cm}^{-1}$)	C-O-C/ Zirveler ($1000-1200 \text{ cm}^{-1}$)
Glikoz	Yüksek yoğunluklu, geniş bant	Şiddetli	Keskin ve belirgin
Sükroz	Orta seviyede	Şiddetli	Orta yoğunlukta
Mannitol	Düşük yoğunlukta	Zayıf	Zayıf bant

Tablo 4.1 : FTIR spektrumlarına göre mikrobiyal selüloz karakterizasyonu

4.4.4 Farklı pH derecelerinde sentezlenen mikrobiyal selülozun Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Bu çalışmada, farklı pH seviyelerinde (pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0) sentezlenen mikrobiyal selüloza ait FTIR grafiği incelenmiştir.



Şekil 4.8 : Farklı pH aralıklarında üretilen mikrobiyal selülozun FTIR analiz sonucu

FTIR analizleri, farklı pH koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz örneklerinin tümünde selüloza özgü karakteristik absorpsiyon bantlarının mevcut olduğunu göstermiştir. Yaklaşık 3300 cm^{-1} civarındaki OH gerilme titreşimleri, 2900 cm^{-1} civarındaki C-H gerilme titreşimleri ve $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki C-O-C glikozidik bağ titreşimlerinin varlığı, tüm örneklerde selüloz sentezinin gerçekleştiğini göstermektedir. $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ bölgesi, O-H gerilme titreşimlerini göstermektedir. Bizim çalışmamızda da varlığı saptanan yaklaşık $3300\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ civarında geniş bir pikler selülozun polisakkarit yapısındaki hidroksil gruplarına işaret etmektedir. Tüm pH seviyelerinde bu piklerin varlığı nispeten saptanmıştır, ancak şekil ve yoğunluktaki küçük farklılıklar, hidrojen bağlanmasının düzeniyle açıklanabilir.

$2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ bölgesi, C-H gerilme titreşimleri, metilen (-CH_2) ve metil (-CH_3) gruplarından kaynaklanmaktadır. Bizim FTIR grafiğimizde, özellikle pH 6 ve 7'de daha belirgin olan ve yaklaşık 2900 cm^{-1} civarında gözlenen pikler, alifatik grupların çeşitleri ve birleşmelerindeki farklılıklarla ilişkilidir.

$1600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde; yaklaşık $1640\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen küçük bir pik genellikle emilmiş su molekülleri arasındaki O-H titreşimleriyle ilişkilendirilmektedir. pH 5.0 ve 6.0'da daha belirgin olan 1640 cm^{-1} civarındaki pikler ise, bu yapının daha fazla su tutabilme özelliklerine sahip olabileceğini göstermektedir.

FTIR grafiğine göre, pH 3.0 ve 4.0 gibi düşük pH'larda, selülozun daha düzensiz bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, özellikle $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki belirgin olmayan

küçük piklerin varlığıyla anlaşılmaktadır. 1000–1200 cm^{-1} bölgesi selülozun karakteristik C-O-C ve C-O gerilme titreşimlerini gösterir. Bu bölgedeki pikler, yüksek pH’larda (pH 5.0, 6.0 ve 7.0), daha keskin ve yoğun hale gelir, bu da selülozun daha düzenli bir yapıya sahip olduğunu işaretidir.

Sonuç olarak FTIR spektrumlar karşılaştırıldığında, pH 5.0 ve pH 6.0 koşullarında elde edilen mikrobiyal selüloz örneklerinin daha belirgin ve keskin FTIR bantlarına sahip olduğunu söyleyebiliriz. Özellikle bu pH aralıklarında –OH ve C–H bantlarının daha yoğun ve net olması, selülozun daha düzenli bir yapıda olduğunu ispatıdır. Buna karşılık pH 3.0 ve pH 4.0 koşullarında elde edilen spektrumlarda, daha zayıf ve dağılmış –OH ve C–H bantlar mevcuttur. Bu durum, sentezlenen selülozun daha amorf karakterde olduğunu ortaya koymaktadır. pH 7.0 koşulunda ise bantlar belirginliğini korumakla birlikte pH 5.0–6.0’ya göre bir miktar daha düşüktür.

Bu çalışma verileri, üretim ortamının pH derecelerinin mikrobiyal selülozun yapısal özellikleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Optimum üretim pH aralığı olarak pH 5.0–6.0 belirlenmiştir ve bu pH aralığında üretilen selülozun daha düzenli ve yoğun bir yapıda olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni, bu pH koşullarında mikrobiyal metabolizmanın daha verimli çalışması ve dolayısıyla daha yoğun ve kaliteli selüloz oluşumuyla açıklanabilmektedir. pH 3.0 ve pH 4.0 gibi daha asidik ortamlarda, mikrobiyal aktivitenin baskılandığı ve bu nedenle selüloz sentezinin daha az miktarda ve düzensiz bir şekilde gerçekleştiğini işaret etmektedir. Benzer şekilde, pH 7.0 koşulunda çevresel pH nötr olmakla birlikte, selüloz üreten mikroorganizmalar açısından optimum pH’nın dışında kalmakta ve bu da ürünün kristallik yapısını olumsuz etkileyebilmektedir. Asidik koşullarda (pH 3.0 ve 4.0) ise, selülozun amorf yapısı, bakteriyel büyümenin inhibe olması ve enzimatik aktivitelerin bozulmasıyla ilişkilendirilebilir.

Bu bulgular, üretim ortamının pH değerinin yalnızca mikrobiyal selülozun miktarını değil, aynı zamanda endüstriyel üretimde istenilen kalite ve özelliklerde selüloz elde etmek için üretim pH’nın dikkatle kontrol edilmesi gerekliliğini de ortaya koymaktadır.

Literatürde de bizim elde ettiğimiz sonuçlara paralel bulgular mevcuttur. Yapılan çalışmalarda mikrobiyal selüloz üretimi için en uygun pH’nın, genellikle 5.0 ile 6.0 civarında olduğu bildirilmiştir. Chao ve diğ. (2000) *Gluconacetobacter xylinus* ile mikrobiyal selüloz üretimiyle ilgili çalışmasında, pH 5.0–6.0 aralığında en yüksek üretim ve düzenli bir yapı elde etmişlerdir. pH 3.0’da ise selüloz üretimi gözlememişlerdir. pH 5.0–6.0 aralığında mikrobiyal selüloz üretiminin hem verim hem de kalite açısından en uygun sonuçları verdiğini bildirmiştir. Bu sonuç, mevcut çalışmada pH 5.0 ve 6.0’da gözlemlenen yüksek yoğunluklu FTIR bantlarıyla da desteklenmiştir (Chao ve diğ, 2000). Hong ve diğ. (2012) yaptıkları çalışmada, düşük pH

seviyelerinde (pH 3.0 ve altı) elde edilen mikrobiyal selülozun daha düzensiz bir yapıya sahip olduğunu, FTIR analizinde zayıf OH ve C–O–C titreşimleri ile gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu durum, çalışmada pH 3.0’da elde edilen zayıf bantlarla tutarlıdır (Hong ve diğ, 2012).

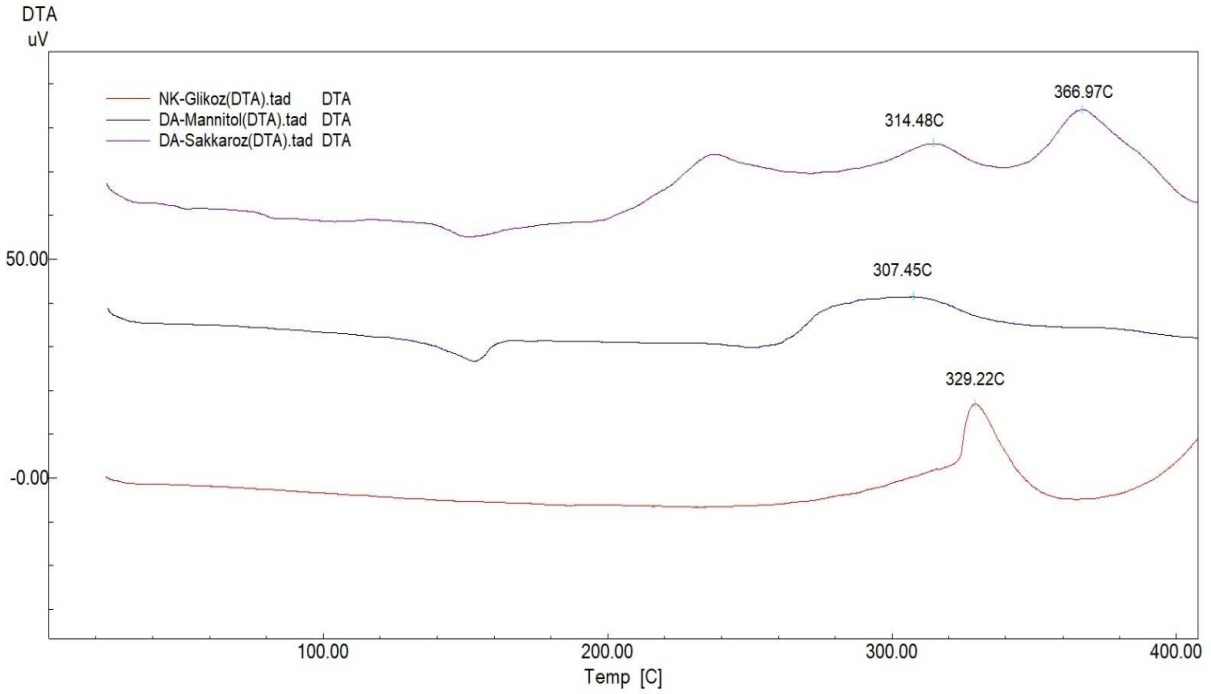
Zahan ve diğ. (2015), *Acetobacter xylinum* ile yaptıkları çalışmada da en yüksek selüloz üretiminin pH 5.0’da elde edildiğini; düşük pH seviyelerinde (pH 3,5) ise selüloz veriminin %60 azaldığını belirtmişlerdir (Zahan ve diğ, 2015). Li vd. (2020), *Komagataeibacter hansenii* ATCC 53582 ile yaptıkları çalışmada en yüksek verimin 5.0–6.0 pH aralığında olduğunu belirtmişlerdir. pH düşüşünün ise selüloz üretimini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir (Li ve diğ, 2020).

Genel olarak literatürden elde edilen sonuçlara göre önemli selüloz üreticisi olan bakteriler için optimal pH’nın genellikle 5.0 civarında olduğu ifade edilmiştir. Araştırmalarda, selüloz üretiminin pH 4.0’ın altında ve pH 6.0’ın üzerinde önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Bu aşırı pH değerlerinin hem bakteri üremesi ve metabolizması üzerinde ve hem de selüloz sentezi üzerinde olumsuz etkilere sahip olmasıyla açıklanabilir. Sonuç olarak bu verilere dayanarak, mikrobiyal selüloz üretimi için en uygun pH aralığının 5.0 ile 6.0 olduğu söylenebilir. Çoğu araştırma, pH 5.0 civarını en yüksek verim için ideal olarak gösterse de, bazı durumlarda pH 6.0 veya 5.5-6.0 aralığı da etkili bulunmuştur. Bu farklılıklar, kullanılan bakteri suşu ve üretim koşullarından kaynaklanabilir.

Hem literatürdeki FTIR verileri ve hem de bizim FTIR verilerimiz net bir şekilde pH’nın mikrobiyal selüloz sentezini etkilediğini desteklemektedir. Oldukça düşük pH seviyelerinde (3.0 ve 4.0), selüloz daha amorf bir yapıya sahiptir, bu da asidik koşulların selülozun oluşum sürecini veya zincir oluşumunu olumsuz etkilemesiyle açıklanmaktadır. Asidik ortamlar, selüloz zincirlerinin hidrolizine neden olarak selüloz zincirlerinin kısalmasına ve düzenli nanofibril yapının azalmasına neden olmaktadır.

4.4.5 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun DTA sonuçları

Şekil 4.9’da mannitol, sükroz ve glikoz karbon kaynakları kullanılarak üretilen mikrobiyal selüloz numunelerine ait Diferansiyel Termal Analiz (DTA) eğrileri verilmiştir.



Şekil 4.9 : Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selüloz numunelerine ait DTA eğrileri

DTA eğrilerinde görülen endotermik ve ekzotermik pikler, örneklerimizin ısıl olaylarını temsil etmektedir. Her üç numune de 300–370 °C aralığında belirgin termal olaylar göstermektedir, bu da mikrobiyal selülozun termal bozunma sıcaklığı hakkında bilgi verir.

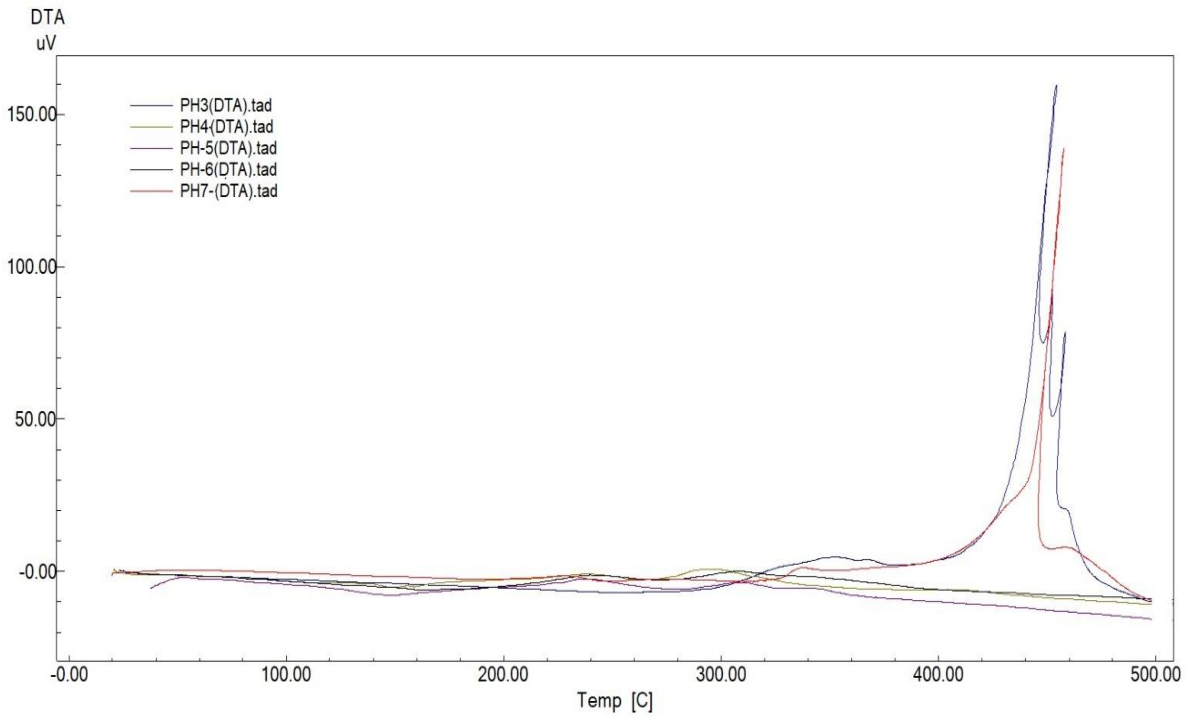
Glikoz ortamında üretilen mikrobiyal selüloza ait termal bozunma sıcaklığı 329.22 °C'de ekzotermik pik göstermiştir. Bu sonuç daha düzenli yapıya ve daha düşük safsızlık oranına sahip olabileceğini düşündürmektedir. Mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selüloza ait termal bozunma sıcaklığı 307.45 °C'de olup, daha erken bozunduğunu ve termal stabilitesinin daha düşük olabileceğini göstermektedir. Sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selüloza ait termal bozunma sıcaklığı 314.48 °C ve 366.97 °C olmak üzere iki belirgin pik olarak gözlenmiştir. Bu durum, sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun çift aşamalı bir bozunma gösterdiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak elde edilen DTA verilerine göre, mikrobiyal selülozun termal kararlılığı karbon kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Sükroz ile üretilen selüloz, en yüksek termal stabiliteye sahipken, mannitol ile üretilen selüloz daha düşük termal dayanıma sahiptir. Bu bulgular, mikrobiyal selülozun özelliklerinin üretim sürecinde kullanılan karbon kaynağına göre değişebileceğini göstermiştir. Uygulama açısından değerlendirildiğinde termal stabilite bakımından sükroz, mikrobiyal selüloz üretiminde daha avantajlı bir karbon kaynağıdır. Sükrozun

bu özelliğinden dolayı, tıbbi implantlar, elektronik parçalar veya kompozit malzemeler gibi yüksek sıcaklıkta işlem gerektiren uygulamalarda sükröz ile üretilmiş mikrobiyal selüloz tercih edilmelidir. Diğer taraftan, mannitol ile üretilen mikrobiyal selüloz daha düşük termal stabiliteye sahip olsa da, bu tür yapıların daha esnek ve biyobozunur olması gibi avantajlara sahiptir.

4.4.6 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun DTA sonuçları

Şekil 4.10’da, farklı pH koşullarında (pH 3.0–7.0) üretilen mikrobiyal selüloz numunelerinin DTA eğrileri karşılaştırılmıştır. pH değişiminin mikrobiyal selülozun termal stabilitesine olan etkisi açıkça gözlemlenmektedir.



Şekil 4. 10 : Farklı pH koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz numunelerine ait DTA eğrileri

Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selüloza ait numuneler yaklaşık 350–480 °C aralığında belirgin bir ekzotermik pik göstermiş olup, bu pikler mikrobiyal selülozun termal bozunmasına işaret etmektedir.

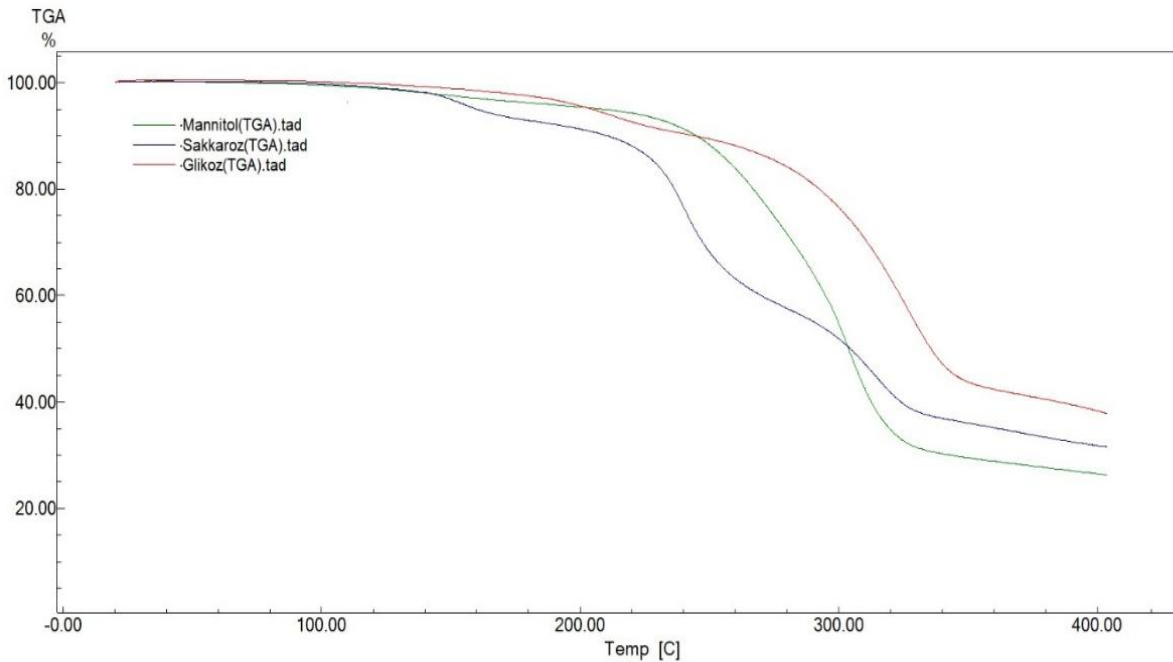
DTA analizine göre, mikrobiyal selülozun termal davranışı üretim ortamının pH’ına bağlı olarak önemli değişiklikler göstermektedir. pH 3.0 ve pH 7.0 numunelerinde gözlenen piklere göre, bu pH koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun daha yüksek safsızlığa sahip olduğunu ifade etmektedir. pH 4.0, pH 5.0 ve pH 6.0 numunelerinde gözlenen piklere göre ise, mikrobiyal

selülozun daha düşük safsızlık içeren bir yapıda olduğunu göstermektedir. Özellikle pH 5.0 ve pH 6.0, en düşük termal olaylar sergileyerek daha stabil veya homojen yapılar üretmiştir.

DTA sonuçlarına göre, mikrobiyal selülozun termal kararlılığı üretim ortamının pH seviyesine büyük ölçüde bağlı olduğunu işaret etmektedir. pH'ın biosentez mekanizmasını etkileyerek selüloz nanofibrillerinin organizasyonunu değiştirdiğini göstermektedir. Bu nedenle üretim koşullarının dikkatle optimize edilmesi gerekmektedir. Bu bulgular, pH'ın mikrobiyal selülozun uygulama potansiyeli üzerinde belirleyici rol oynadığını göstermektedir.

4.4.7 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun TGA sonuçları

Termogravimetrik Analiz (TGA), bir materyalin sıcaklıkla birlikte ağırlık değişimini izleyerek termal stabilitesini değerlendiren önemli bir tekniktir. Şekil 4.11' de Mannitol, Sükroz ve Glikoz karbon kaynaklarıyla üretilen mikrobiyal selüloz numunelerinin TGA eğrileri verilmiştir. Bu eğriler, kullanılan karbon kaynağının mikrobiyal selülozun termal bozunma davranışı üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.11 : Farklı karbon kaynaklarıyla üretilen mikrobiyal selüloz numunelerinin TGA eğrileri

Mannitol ile üretilen mikrobiyal selüloz en erken termal bozunmayı gösteren numunedir. Yaklaşık %50 kütle kaybı 290–330 °C aralığında gerçekleşmiştir. Bu durum, mannitol ile üretilen mikrobiyal selülozun daha düşük termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durumun nedeni yüksek oranda safsızlık ve kısa zincirli nanofibril yapılı olması ile ilişkilendirilmektedir.

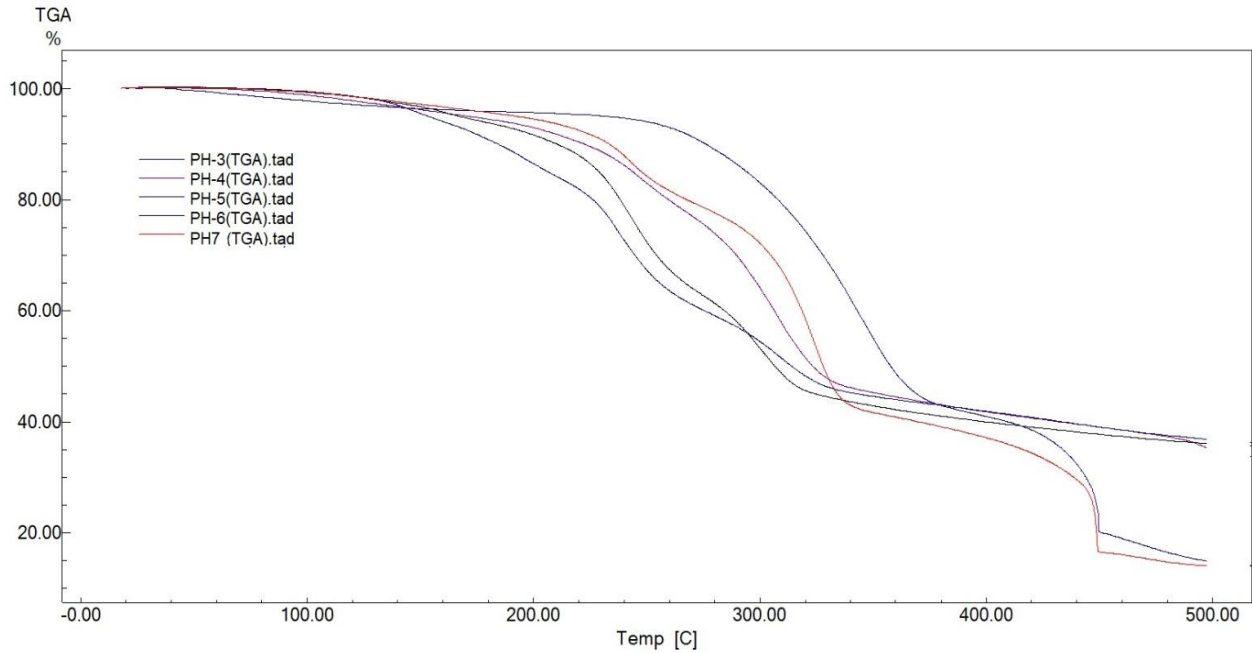
Sükroz ile üretilen mikrobiyal selüloz, orta derecede termal stabilite göstermektedir. Bozunma sıcaklığı mannitole göre biraz daha yüksek, ancak glikozdan düşüktür. Yaklaşık %50 kütle kaybı 300–340 °C aralığında meydana gelmektedir.

Glikoz ile üretilen mikrobiyal selüloz ise en yüksek termal stabiliteye sahip numunedir. Bozunma sıcaklığı diğer iki karbon kaynağına göre daha geç başlamaktadır. 310–360 °C aralığında yaklaşık %50 kütle kaybı gözlemlenmiştir. Bu durum, glikoz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun daha uzun polimer zincirlere sahip olduğunu ve daha saf yapı içerdiğini düşündürmektedir.

TGA sonuçları, kullanılan karbon kaynağının mikrobiyal selülozun bozunma sıcaklıklarını ve termal dayanımını önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir. TGA sonuçları, DTA bulgularıyla uyumlu olarak, glikoz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun en yüksek termal stabiliteye sahip olduğunu doğrulamaktadır.

4.4.8 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun TGA sonuçları

Termogravimetrik Analiz (TGA), bir malzemenin termal bozunma davranışını değerlendirmek için kullanılan bir tekniktir ve ağırlık kaybını sıcaklıkla ilişkilendirir. Grafik, farklı pH seviyelerinde üretilen selülozun termal bozunma profillerinde belirgin farklılıklar olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.12 : Farklı pH seviyelerinde üretilen selülozun TGA verileri

Mikrobiyal selülozun termal stabilitesi, üretim sırasında kullanılan pH değerine (pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0) bağlı olarak değişmektedir. Tüm numunelerde termal bozunma üç ana aşamada

gerçekleşmektedir: 0-200°C aralığında hafif kütle kaybı (%5-10), nem ve uçucu bileşiklerin desorpsiyonu ile ilişkilendirilmektedir, 200-400°C aralığında keskin kütle kaybı (%50-70), selüloz zincirlerinin depolimerizasyonu, piroliz ve karbonizasyon süreçlerini temsil etmektedir, son aşama ise 400-500°C aralığındaki yavaş kütle kaybı, kalıntı oluşumu (kül veya karbon) ile sonuçlanmaktadır.

pH 3.0 ve pH 4.0' da üretilen selüloz daha düşük sıcaklıklarda bozunma eğilimi göstermekte olup termal olarak daha az dayanıklıdır. pH 5.0 ve pH 6.0'da üretilen selüloz ise daha yüksek bozunma sıcaklığına sahip olduğu için daha iyi termal stabilite göstermektedir.

pH 5.0 hem bizim çalışmamızın sonuçlarına hem de literatür verilerine göre optimal üretim pH'sı olarak bilinmektedir. 400°C'de %60-65'lik bir kayıp ancak, %15-20 kalıntı oranı ile selülozun termal stabilitesi maksimum olduğu görülmektedir (Panesar ve diğ, 2012; Girard, 2024).

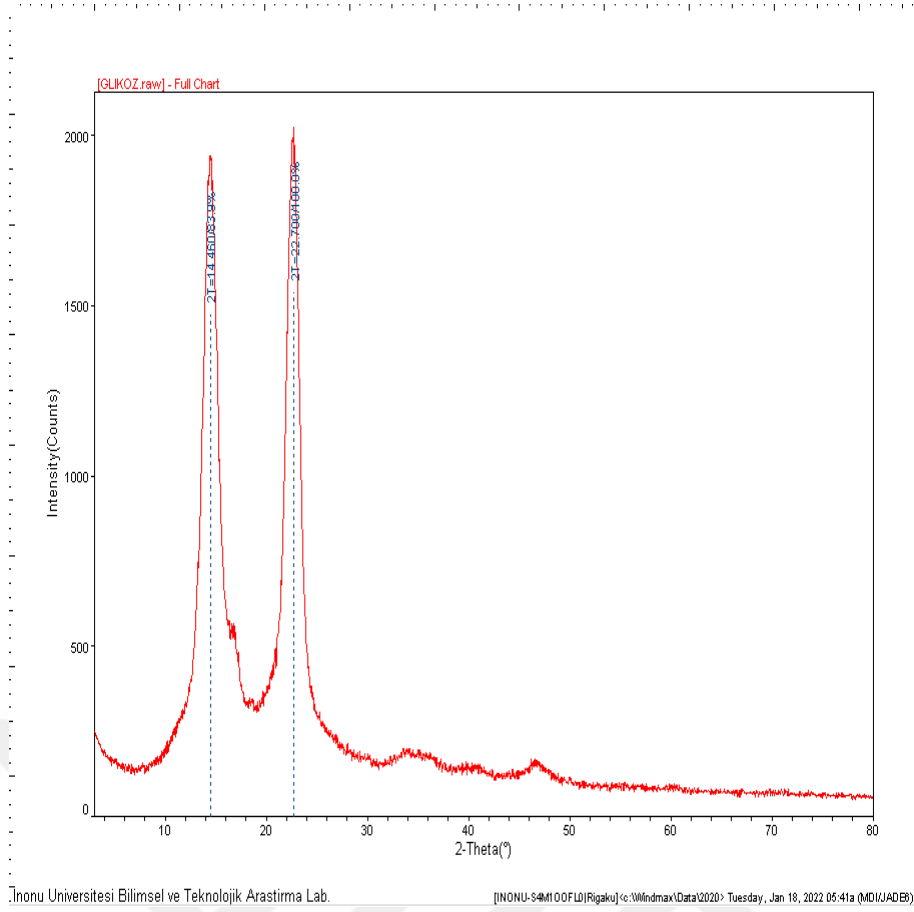
Farklı pH seviyelerinde gözlenen bu termal stabilite farklılıkları, selülozun kristal yapısı, polimerizasyon derecesi veya kimyasal modifikasyonlar gibi yapısal özelliklerden kaynaklanabilir.

Bu bulgular, mikrobiyal selülozun termal stabilitesini optimize etmek için üretim koşullarının dikkatle seçilmesi gerektiğini göstermektedir.

4.4.9 Farklı karbon kaynaklarında üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

4.4.9.1 Karbon kaynağı olarak glikozu kullanarak üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Şekil 4.13.'deki XRD grafiği, karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan ortamda üretilen mikrobiyal selülozun kristal yapısını göstermektedir. Grafikte görülen net ve keskin pikler, glikozun mikrobiyal selüloz üretiminde etkili bir karbon kaynağı olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.13 : Glukoz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

Grafikte, 2θ değerinde yaklaşık olarak 14.8° ve 22.7° civarında belirgin iki tepe noktası mevcuttur. Bu pikler mikrobiyal selülozun karakteristik kristal bölgelerini temsil etmektedir. Bu değerler, selüloz Ia kristal formuna karşılık gelmekte olup, yüksek kristallik oranını işaret etmektedir. Bu veriler numunemizin yüksek kristallik derecesine sahip olduğunu göstermektedir. Kristallik derecesi, selülozun mekanik özelliklerini, su tutma kapasitesini ve biyolojik bozunabilirliğini etkileyen önemli bir parametredir.

Ayrıca bu kristal bölgeleri ifade eden piklerin etrafında ise 2θ değerinde 20° ile 80° arasında geniş tabanlı, düşük yoğunlukta bir saçılma eğrisi yer almakta olup bu sinyaller, materyalin amorf yapılı bölgelerini temsil etmektedir. Bu geniş amorf bölge sinyali, mikrobiyal selülozun yarı kristalin doğasını doğrulamaktadır. Elde edilen bu sonuçlar, glikozun etkili bir karbon kaynağı olduğunu ve mikrobiyal selülozun saf, kristalin bir yapıda üretilbildiğini göstermektedir.

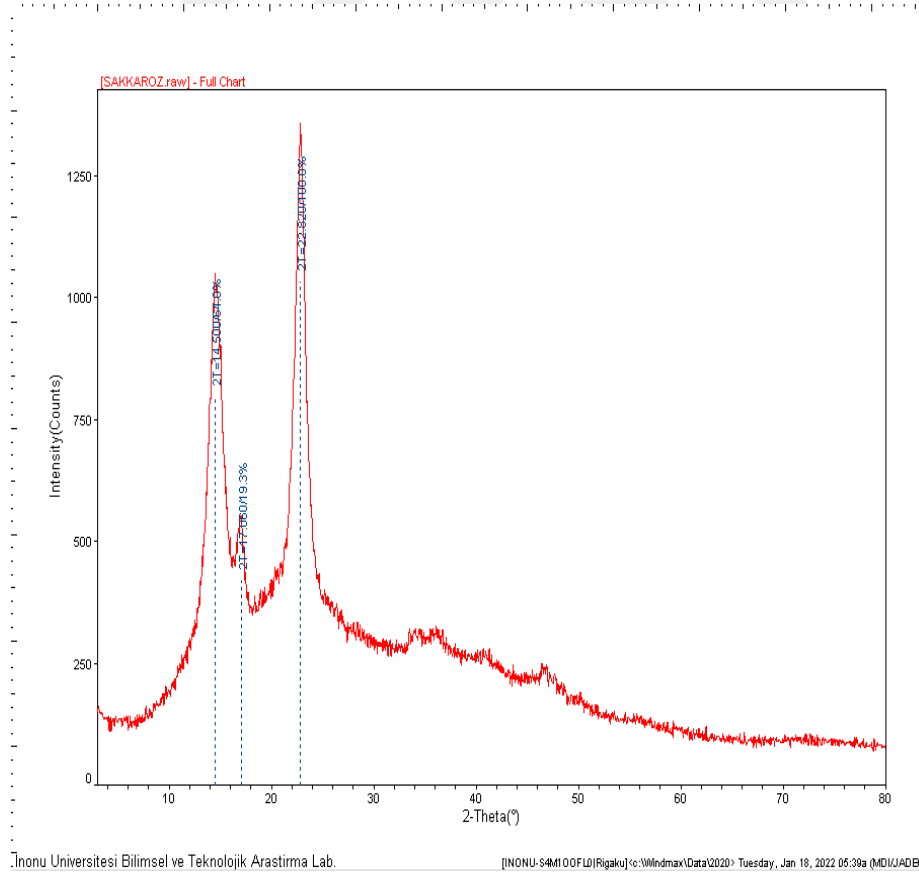
Bu kristal yapının oluşumunda, karbon kaynağı olarak kullanılan glikozun etkisi büyüktür. Çünkü glikoz, bakteriler tarafından kolaylıkla metabolize edilebilmekte, bu da daha kontrollü bir selüloz üretimi ve yüksek kristallik oranına sahip ürün elde edilmesini sağlamaktadır. Grafikte görülen net ve keskin pikler, mikrobiyal selülozun yüksek kristallik derecesine sahip olduğunu ve üretimin

başarılı gerçekleştiğini de doğrulamaktadır. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılarak üretilen mikrobiyal selülozun yaklaşık %78.7 kristallik oranına sahip olması da yüksek oranda düzenli bir kristal yapının göstergesidir.

Mikrobiyal selüloz, doğrudan bakteriler tarafından sentezlenen bir biyopolimerdir ve genellikle selüloz Ia formunda kristallenir. Bu form, doğal bitkisel selülozdan farklı olarak daha saf ve yüksek kristalin yapıyı ifade etmektedir. Glikoz, mikrobiyal selüloz üretiminde yaygın olarak kullanılan bir karbon kaynağıdır. Çünkü glikoz bir monosakkarit olduğu için kolayca fermente edilerek doğrudan hücre metabolizmasına katılmaktadır. Glukoz, aynı zamanda mikrobiyal selülozun sentezlenmesinde öncü olarak görev aldığı için, selülozun üretimin daha kontrollü gerçekleşmesini de sağlamaktadır. Bu nedenle yüksek kristallik oranına sahip selülozun elde edilmesini kolaylaştırmaktadır (Iguchi, M. Y (2000)).

4.4.9.2 Karbon kaynağı olarak sükrozu kullanarak üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Bu bölümde, karbon kaynağı olarak sükroz kullanılan ortamda üretilen mikrobiyal selüloz örneğine ait X-Işını Difraksiyon (XRD) grafiği görülmektedir. XRD analizi, mikrobiyal selülozun kristal yapısının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir.



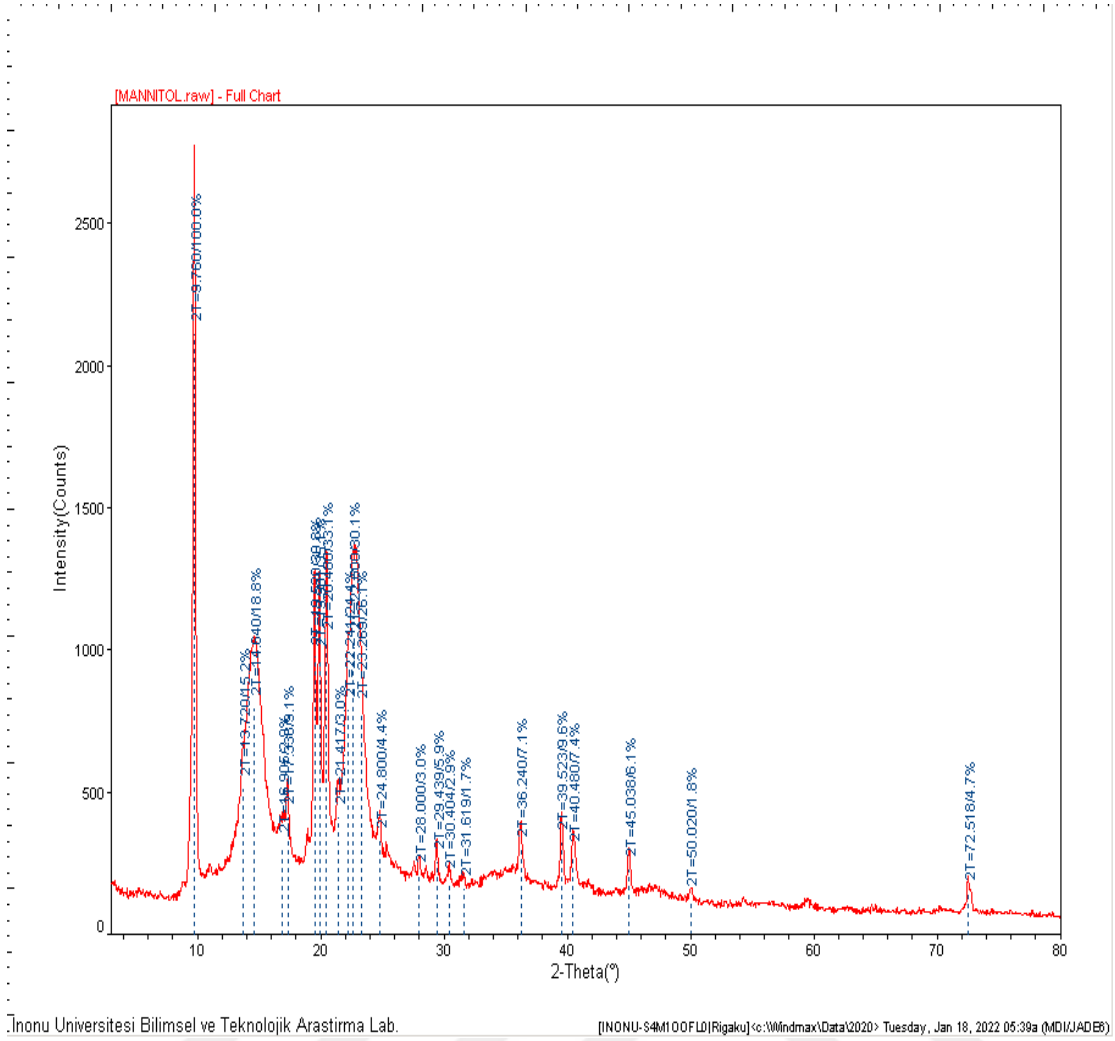
Şekil 4.14 : Sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

Grafikte yaklaşık olarak 2θ düzleminde 14.7° ve 22.9° değerlerinde belirgin iki kristal pik saptanmıştır. Bu pikler, mikrobiyal selülozun selüloz Ia kristal yapısında olduğunu göstermektedir. Bu kristal yapılar, selüloz zincirlerinin düzenli bir şekilde dizildiği bölgeleri ifade etmektedir. Bununla birlikte, özellikle 20° – 80° aralığında gözlemlenen düşük yoğunluklu ve geniş tabanlı sinyaller ise, mikrobiyal selülozun amorf bölgelerini işaret etmektedir. Bu durum, materyalin yarı kristalin bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Karbon kaynağı olarak sükroz kullanılarak üretilen mikrobiyal selülozun kristallik oranı da yaklaşık % 63.6'dır. Bu oran, sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun da belirli bir düzeyde kristallığe sahip olduğunu göstermektedir. Glikoz ortamına kıyasla daha düşük kristallik oranı, sükrozun mikrobiyal metabolizmadaki farklılığına ve üretim koşullarındaki etkisine bağlanabilir.

XRD verilerimiz, karbon kaynağı olarak glikoz kullanıldığında elde edilen mikrobiyal selülozun kristallik derecesinin sükroza kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durum, glikozun bakteriler tarafından daha hızlı ve etkili bir şekilde metabolize edilmesine bağlanabilir. Kristallik derecesindeki bu fark, selülozun mekanik ve fiziksel özelliklerini doğrudan etkileyebileceğinden, hedef uygulamaya uygun karbon kaynağı seçimini önemli kılmaktadır.

4.4.9.3 Karbon kaynağı olarak mannitolü kullanarak üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Bu çalışmada, karbon kaynağı olarak mannitol kullanılarak mikrobiyal selülozun X-ışını kırınımı (XRD) analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.15 : Mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

Mannitol karbon kaynağı kullanılarak üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği incelendiğinde, selüloza özgü karakteristik piklerin gözlendiği belirlenmiştir. En yoğun pik yaklaşık 20 düzleminde 22,7°, 16,9° ve 14,7° civarında yer almakta olup, bu pik selüloz I formunun yapısının kristalin bölgelerine karşılık gelmektedir. Bu sonuç, mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selülozun doğal kristalin yapı özelliklerini koruduğunu göstermektedir. Piklerin alt bölgelerinde mevcut olan amorf katkılar ise selüloz zincirlerinin düzensiz bölgelerini ifade etmektedir. Bu durum, mikrobiyal selülozun yüksek kristallik derecesine sahip olmakla birlikte belirli oranlarda amorf bölgeler de içerdiğini göstermektedir.

Üç farklı karbon (glikoz, sükroz, mannitol) ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD verileri karşılaştırıldığında; Glikoz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD difraktogramında 20 düzleminde 14,5° ve 22,7° bölgelerinde oldukça keskin ve yüksek şiddette pikler ortaya çıkmıştır. Bu durum, glikoz ortamında üretilen selülozun yüksek kristallik derecesine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca gözlenen pikler, selüloz I yapısının baskın olarak üretildiğini

doğrulamaktadır. Sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiğinde en belirgin pikler yaklaşık $2\theta \approx 14,7^\circ$ ve $22,7^\circ$ bölgelerinde gözlenmiştir. Piklerin varlığı kristalin yapı oluşumunu doğrulamakla birlikte, glikoz ortamına kıyasla daha düşük yoğunlukda olduğunu göstermiştir. Bu durum, sükroz ortamında üretilen mikrobiyal selülozun kristallik derecesinin daha düşük olduğunu göstermektedir. Mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiğinde ise, glikoz ve sükroz ortamlarına kıyasla daha fazla sayıda pik gözlenmiştir. Özellikle 2θ düzleminde $14,5^\circ$, $16,9^\circ$ ve $22,7^\circ$ bölgelerindeki karakteristik selüloz I pikleri net olarak ortaya çıkmıştır. Bunun yanında farklı bölgelerde görülen ek pikler, kristalin yapıya ek olarak amorf bölgelerin de bulunduğunu göstermektedir. Bu durum, mannitol ortamında üretilen mikrobiyal selülozun hem Karbon kaynağı, mikrobiyal selülozun üretim verimi, morfolojisi ve kristal yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. kristalin hem de amorf özellikler taşıdığını düşündürmektedir.

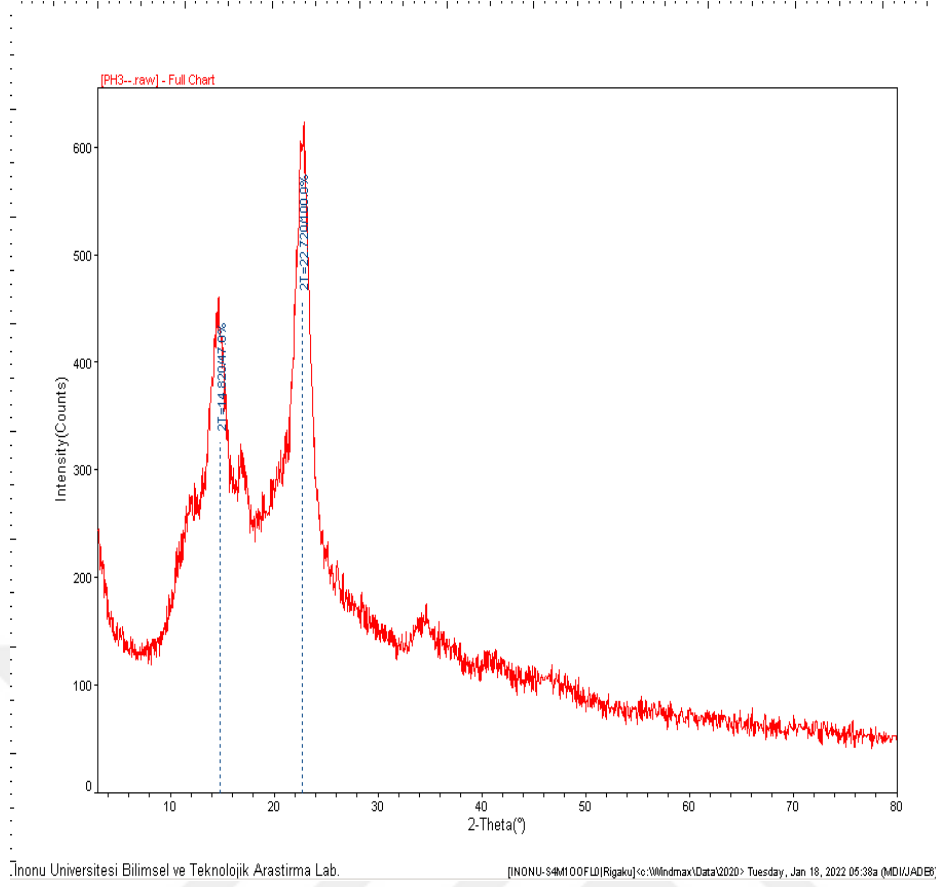
Sonuç olarak, mikrobiyal selüloz üretiminde besiyerine eklenen karbon kaynağı; mikrobiyal selülozun üretim verimini, morfolojisini ve kristal yapısını etkilediğini söyleyebiliriz. Ancak, mikrobiyal selüloz üretiminde hangi karbon kaynağının daha avantajlı olduğu hakkında bir genelleme yapmak doğru değildir. Çünkü üretimde kullanılan mikroorganizma türü, kültür ortamının bileşimi, pH, inkübasyon süresi gibi üretim koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir. Literatürde de üretim koşullarına ve kullanılan mikroorganizma çeşidine bağlı olarak farklı sonuçlar mevcuttur. Örneğin Mikkelsen ve diğ. (2009) *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53524 bakterisi ile yaptıkları bir çalışmada, karbon kaynağının selüloz üretim hızını ve verimini etkilediğini, ancak elde ettikleri selülozun moleküler yapısı ve kristallik derecesinin sentez sırasında kullanılan karbon kaynaklarından genellikle olduğunu ifade etmişlerdir (Mikkelsen ve diğ,2009).

4.4.10 Farklı pH derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Ortamın pH değeri, mikrobiyal hücrelerin metabolik faaliyetleri ve selüloz sentezi sırasında oluşan kristal yapı üzerinde doğrudan etkili bir parametredir. Bu analiz, farklı pH koşullarının mikrobiyal selülozun yapısal özelliklerine etkisini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

4.4.10.1 pH 3.0 derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Bu çalışmada, pH 3.0'da üretilen mikrobiyal selülozun X-ışını kırınımı (XRD) analizi gerçekleştirilmiştir.

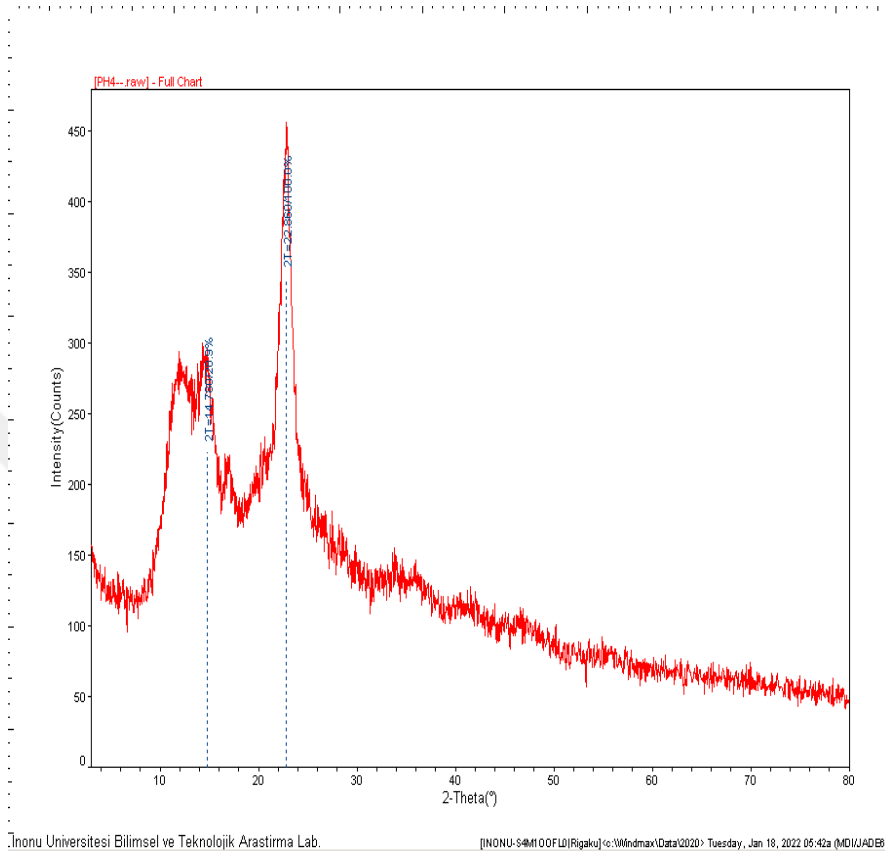


Şekil 4.16 : pH 3.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

Grafikte 14.8°, 16.9° ve 22.7° civarında önemli pikler gözlemlenmektedir. Bu belirgin pikler, mikrobiyal selülozun kristalin yapısının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Bu pikler, selülozun I α (alfa) formuna karşılık gelmektedir. pH 3.0'da üretilen mikrobiyal selülozun kristalin indeksi yaklaşık %60'dır. 22.7° civarındaki en keskin ve yüksek yoğunluklu pik, mikrobiyal selülozun kristalitesinin önemli olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, pH 3.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun XRD analizi, materyalin yüksek kristallik oranına sahip olduğunu ve selüloz I α formunun baskın olduğunu ortaya koymaktadır. Bu yapısal özellikler, selülozun ileri düzey biyomalzeme uygulamaları için uygun bir aday olduğunu desteklemektedir.

4.4.10.2 pH 4.0 derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Mikrobiyal selülozun kristal yapısını incelemek amacıyla yapılan X-Işını Difraksiyon (XRD) analizi, ürünün fiziksel ve yapısal özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Şekilde sunulan XRD grafiği, pH 4.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz numunesine aittir.



Şekil 4.17 : pH 4.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

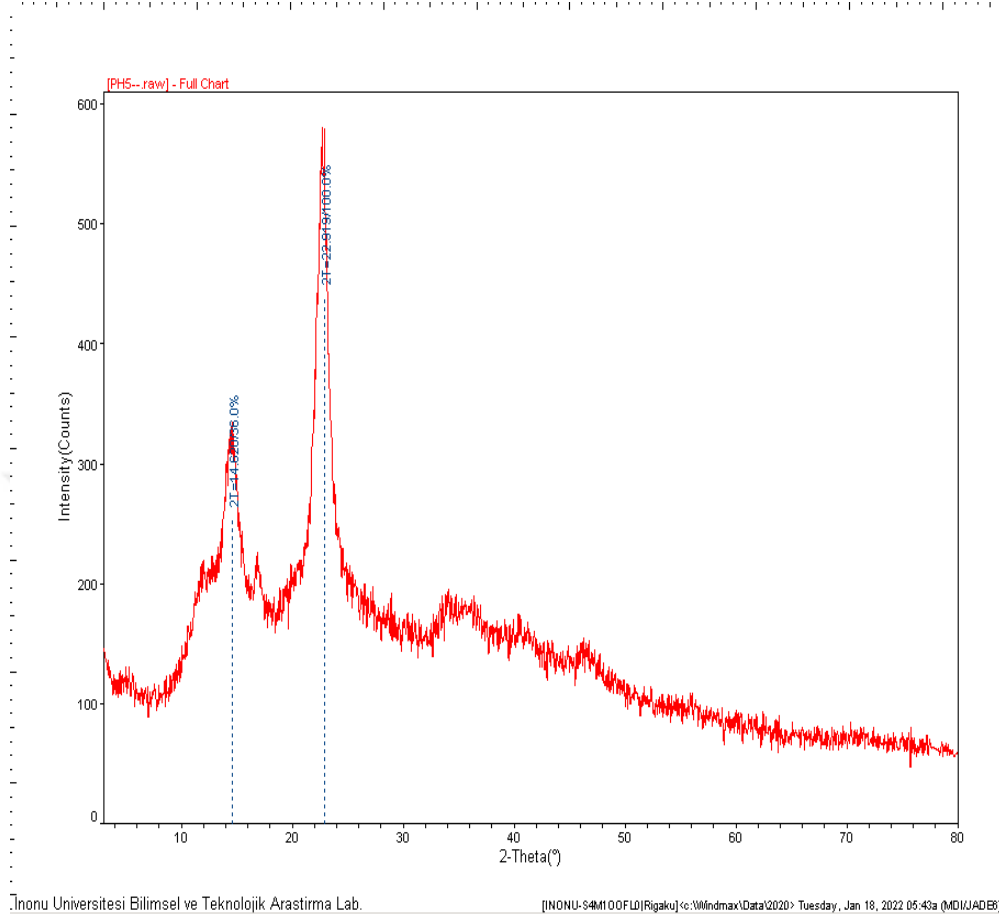
Şekil 4.17.'de pH 4.0 ortamında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği görülmektedir. Grafikte yaklaşık olarak 2θ düzleminde 14.9° ve 22.8° konumlarında kristal yapıya karşılık gelen iki ana pik saptanmıştır. Bu pikler, selüloz Ia formuna ait karakteristik piklerdir.

Ancak, bu piklerin yoğunluklarının ve keskinliklerinin oldukça düşük olması, kristal yapıdaki düzensizliklerin ve amorf yapının fazlalığıyla ilişkilidir. Özellikle geniş tabanlı sinyal dağılımı, mikrobiyal selülozun düşük kristallik derecesine (% 54.8) sahip olduğunu göstermektedir.

Düşük pH dereceleri, hücrelerin optimum enzimatik aktivitesini engelleyerek düzgün zincir oluşumunu ve kristalleşmeyi zorlaştırmaktadır.

4.4.10.3 pH 5.0 derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Bu bölümde, mikrobiyal selüloz üretim ortamının pH değeri 5.0 olarak ayarlanarak elde edilen selülozun X-ışını difraksiyon (XRD) analizi sonuçları değerlendirilmiştir.



Şekil 4.18 : pH 5.0'da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

Grafikte de görüldüğü gibi, pH 5.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun XRD deseninde yaklaşık 2θ düzleminde 15.0° civarında ve yaklaşık 22.6° civarında iki temel pik tespit edilmiştir.

Bu pikler, selüloz I formunun (özellikle Ia) karakteristik yapısal motiflerini göstermektedir. 22.6° civarındaki keskin ve yüksek pik, kristalin yapının baskınlığını ortaya koyarken; 15.0° civarındaki daha geniş pik, düzenli kristal bölgelerle birlikte amorf bölgelerin de varlığını işaret etmektedir.

pH 5.0'da üretilen mikrobiyal selülozun kristalin indeksi yaklaşık %67'dir. Bu değer, bakteriyel selüloz için literatürde bildirilen (%60–80) aralığıyla uyumludur ve yüksek kristalinlik derecesini işaret etmektedir.

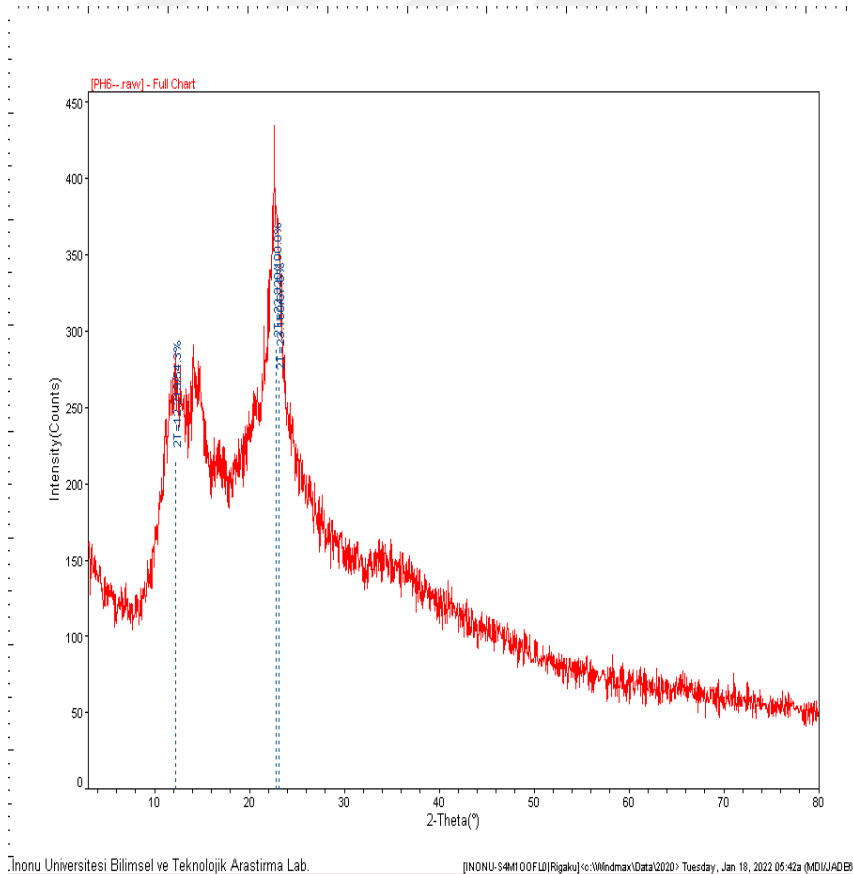
pH 5.0'da elde edilen bu analiz sonuçları, literatürdeki çalışmalarla da oldukça uyumludur. Yüksek kristallik indeksi hem sertlik hem de esneklik gerektiren uygulamalar için uygundur. Özellikle

yara örtüleri, doku mühendisliği iskeleleri ve kompozit üretimi gibi alanlarda tercih edilebilecek nitelikte bir mikrobiyal selüloz yapısı elde edilmiştir.

Literatürde yer alan birçok çalışmada da, mikrobiyal selülozun kristallik indeksinin kullanılan karbon kaynağına, üretim süresine ve ortam koşullarına göre değiştiği bildirilmiştir. Lin ve diğ. (2013), standart Hestrin-Schramm (HS) ortamında pH 5.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz için kristallik indeksini %55–60 aralığında olduğunu belirtmişlerdir (Lin ve diğ, 2013). Lahiri (2021), pH 4.5–5.5 aralığında mikrobiyal selüloz üretiminin en verimli kristal yapı oluşturduğunu, bu aralıkta selüloz I α formunun baskın olduğunu bildirmişlerdir (Lahiri, 2021). Ul-Islam ve diğ. (2012) ise, pH 5.0 civarında üretilen mikrobiyal selülozun, kristallik derecelerinin biyomedikal uygulamalarda ideal mekanik özellikler sağladığını vurgulamışlardır (Ul-Islam ve diğ, 2012).

4.4.10.4 pH 6.0 derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Şekilde pH 6.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği verilmiştir.



Şekil 4.19 : pH 6.0’da üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

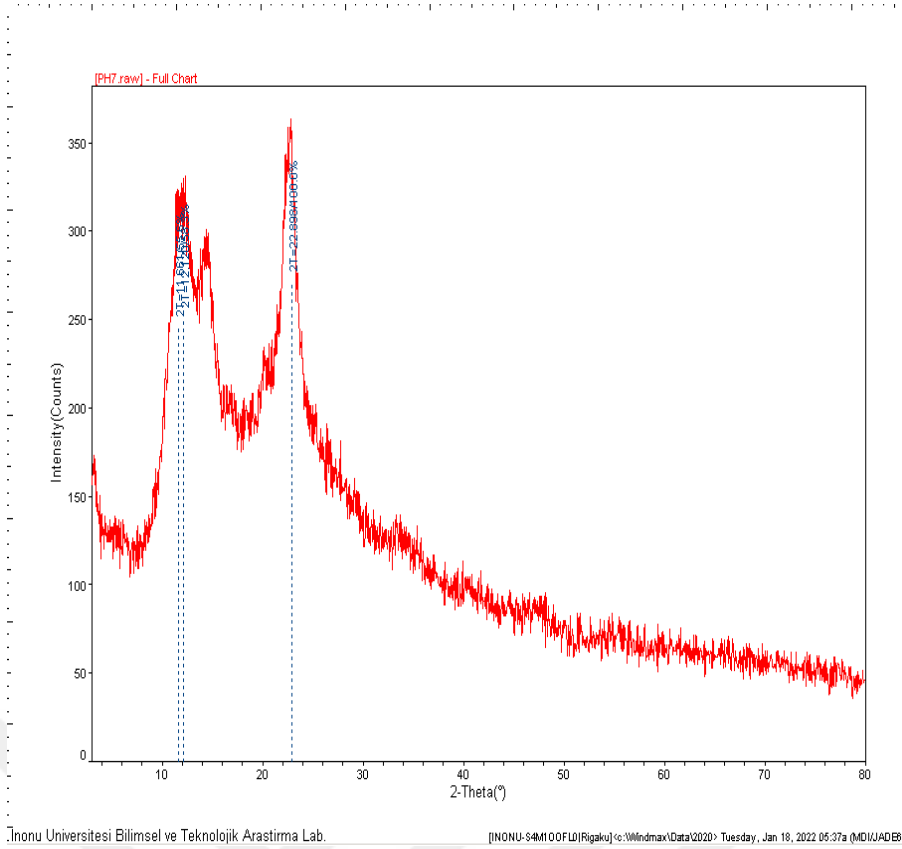
XRD grafiğinde 2θ düzleminde 14.7° ve 22.8° civarında selüloza ait karakteristik pikler görülmektedir. Bu pikler, selüloz-I yapısının varlığını doğrulamaktadır. Ayrıca grafikte görülen geniş tabanlı eğriler de, örnekte amorf bölgelerin bulunduğunu ifade etmektedir. pH 6.0'da üretilen mikrobiyal selülozun kristalin indeksi yaklaşık %51 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, pH 6.0 üretim koşulunun yapısal olarak düzenli bir malzeme oluşumunu desteklediğini, bu da mekanik güç ve stabilite gerektiren uygulamalar için avantajlı olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, literatür verileriyle uyumludur. Örneğin, Jonas ve Farah (1998), mikrobiyal selülozun tipik XRD deseninde 14–15° ve 22–23° bölgelerinde pikler gözlendiğini rapor etmişlerdir (Jonas ve Farah, 1998). Klemm ve diğ. (2005), üretim parametrelerinin kristalinite üzerinde belirgin etkisi olduğunu belirtmişlerdir (Klemm ve diğ, 2005).

4.4.10.5 pH 7.0 derecelerinde üretilen mikrobiyal selülozun XRD sonuçları

Şekil 4.20'de pH 7.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun X-ışını kırınımı (XRD) verileri incelenmiş ve selülozun kristalin yapısı belirlenmiştir.



Şekil 4.20 : pH 7.0'd üretilen mikrobiyal selülozun XRD grafiği

XRD deseninde 2θ düzleminde $14\text{--}17^\circ$ aralığında çift pikler ve 22.8° civarında selüloz-I yapısına özgü pikler ve ayrıca amorf bölgelerin varlığını ortaya koyan geniş tabanlı eğriler saptanmıştır. pH 7.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selülozun kristalinlik indeksi (Crl) yaklaşık %44 ile orta düzey kristalinliğe sahiptir. pH 7.0 koşullarında üretilen mikrobiyal selüloz, selüloz-I formuna ait karakteristik piklere sahiptir.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, literatür sonuçlarıyla da uyumludur. Örneğin, Klemm ve ark. (2005) ile Iguchi ve ark. (2000), mikrobiyal selülozun yüksek kristalin derecesinin pH 5'de olduğunu ve pH gibi üretim parametrelerinin sentezlenen mikrobiyal selülozun kristalinitesi üzerinde etkili olduğunu rapor etmişlerdir (Klemm ve diğ, 2005; Iguchi ve diğ, 2000). Benzer olarak Jonas ve Farah (1998) da mikrobiyal selülozun $14\text{--}17^\circ$ ve $22\text{--}23^\circ$ bölgelerinde tipik pikler sergilediğini bildirmişlerdir (Jonas ve Farah, 1998).

pH 3.0-7.0 arasında üretilen mikrobiyal selülozun XRD verileri ve kristalin indeksleri karşılaştırıldığında tablo 4.3.'de görüldüğü üzere kristalin indeks pH 5.0'da en yüksek (%67.0),

pH 7.0'da en düşük (%44.0) olarak belirlenmiştir. Literatürde de en yüksek kristalin indeksinin pH 5'de olduğu ifade edilmiştir (Yamanaka ve diğ, 1989; Iguchi ve diğ, 2000).

Mikrobiyal selülozun kristalin ve amorf faz oranı, hem fiziksel hem de mekanik özelliklerini etkileyen önemli bir parametredir. Ortamın pH seviyesi, mikrobiyal hücrelerin metabolik aktiviteleri ve selüloz biyosentezinde rol oynayan enzimlerin işlevselliği açısından büyük önem taşıdığını ve üretim ortamının pH değeri, bakteriyel enzimatik aktiviteler ve selüloz zincirlerinin yönelimi üzerinde belirleyici bir rol oynadığını ifade edebiliriz. Sonuç olarak; daha yüksek kristallik derecesine sahip mikrobiyal selülozun, yapısal bütünlük ve dayanıklılık gerektiren endüstriyel veya teknik uygulamalar (örneğin biyomedikal implantlar veya kompozit malzemeler) için tercih edilmekle beraber, amorf yapının biraz daha fazla olan mikrobiyal selülozun ise esnek film veya kaplama materyalleri olarak kullanımı tercih edilebilir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kombucha kültürü kullanılarak mikrobiyal selüloz üretimi gerçekleştirilmiş, elde edilen biyomalzeme çeşitli analiz yöntemleri ile karakterize edilmiş ve üretim verimliliği üzerinde etkili olan bazı çevresel parametreler optimize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda aşağıdaki temel bulgulara ulaşılmıştır:

Kombucha kültürü, simbiyotik yapısı sayesinde mikrobiyal selüloz üretimi için etkili bir biyolojik ajan olarak değerlendirilmiştir.

Kombucha kültürünü üretmek amacıyla alternatif bir besiyeri olarak oldukça ucuz, doğal ve kolaylıkla elde edilebilen siyah çay kullanılmıştır.

Sonuçlarımız düşük maliyetli mikrobiyal selüloz üretimi için farklı çalışmaların planlanmasına katkı sağlamıştır.

Glukoz içeren, pH 5.0 ve 28 °C’de inkübe edilen ortamlar, selüloz üretimi açısından en yüksek verimi sağlamıştır.

Üretilen mikrobiyal selüloz, FTIR, SEM ve XRD analizleri ile yapısal olarak karakterize edilmiş; saf selülozun tipik özelliklerini taşıdığı görülmüştür.

Termogravimetrik analiz sonuçları, mikrobiyal selülozun yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklılığını ortaya koymuştur.

Su tutma kapasitesi yüksek olan mikrobiyal selüloz örnekleri, biyomedikal uygulamalarda potansiyel kullanım alanlarına işaret etmektedir.

Bu sonuçlar, kombucha kültürünün mikrobiyal selüloz üretiminde sürdürülebilir, ekonomik ve çevre dostu bir kaynak olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Öneriler;

1. Üretim koşullarının optimizasyonu daha geniş deneysel tasarımlarla (örneğin, Response Surface Methodology) desteklenerek verim artırılabilir.
2. Alternatif tarımsal atıklar veya endüstriyel yan ürünler karbon kaynağı olarak test edilerek maliyet düşürülebilir.
3. Mikrobiyal selülozun biyomedikal uygulamaları (örneğin yara örtüsü, doku mühendisliği iskeleleri) için biyouyumluluk ve sitotoksikite testleri yapılmalıdır.

4. Selülozun kimyasal modifikasyonu ile iletkenlik, antibakteriyel özellik veya elastikiyet gibi fonksiyonel özellikler kazandırılabilir.
5. Üretim ölçeğinin laboratuvar ölçeğinden pilot ölçeğe taşınarak ticari potansiyel değerlendirilmelidir.



KAYNAKÇA

- Akoğlu, A. K.** (2010). Bakteriyel selülozun özellikleri ve gıda sanayisinde kullanımı. GIDA: The Journal of Food, 35(2).
- Aswini, K. G.** (2020). Optimized culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter senegalensis* MA1. BMC biotechnology, 20(1), 46.
- Aşık, N.** (2016). Farklı besi ortamı ve yüzey-hacim oranları kullanılarak bakteriyel selüloz üretimi ve karakterizasyonu (Yüksek lisans tezi, Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Avcıoğlu, N. H.** (2021). Optimization and physicochemical characterization of enhanced microbial cellulose production with a new Kombucha consortium. Process Biochemistry, 108, 60–68.
- Birben, M.** (2019). Mikrobiyal selülozun boya gideriminde kullanımının araştırılması (Yüksek lisans tezi).Hacettepe Üniversitesi.
- Cakar, F. O.** (2014). Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. Carbohydrate Polymers, 106, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.044>.
- Castro, C. Z.** (2012). Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 53582 grown in sugar cane molasses medium. Carbohydrate Polym.
- Chao, Y. I.** (2000). Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L internal-loop airlift reactor. Biotechnology and bioengineering, 68(3), 345-352.
- Çoban, E. P.** (2008). Asetik asit bakterilerinden elde edilen alternatif selüloz. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 6(2), 19–26.
- D., L.** (2021). Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Applications. International Journal of Molecular Sciences, 22(23), 12984.
- Erçalışkan, K.** (2017). Çeşitli kaynaklardan bakteriyel selüloz üreten bakterilerin izolasyonu ve karakterizasyonu (Yüksek lisans tezi). Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Girard, V. D.** (2024). Bacterial cellulose: A comprehensive review. Journal of applied polymer science, 141(15), e55163.

- Greenwalt, C. J.** (2000). Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha. *LWT - Food Science and Technology*, 33(1), 13–18. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0592>.
- Greenwalt, C. J.** (2000). Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha. *LWT - Food Science and Technology*, 33(1), 13–18. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0592>.
- Gullo, M. L.** (2018). Biotechnological production of cellulose by acetic acid bacteria: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(17), 6885–6898. <https://doi.org/10.1007/s00253-018>.
- Güzel, M. &.** (2018). Bakteriyel selülozların üretimi ve özellikleri ile gıda ve gıda dışı uygulamalarda kullanımı. *Akademik Gıda*, 16(2), 241–251.
- Hong, F. G.** (2012). Bacterial cellulose production from cotton-based waste textiles: enzymatic saccharification enhanced by ionic liquid pretreatment. *Bioresource Technology*, 104, 503-508.
- https://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_88.html.
- <https://mimoza.marmara.edu.tr/>.
- <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/kombucha>.
- Iguchi, M. Y.** (2000). Bacterial cellulose—a masterpiece of nature's arts. *Journal of materials science*, 35(2), 261-270.
- Jayabalan, R. M.** (2014). A review on Kombucha tea—Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1.
- Jonas, R. &.** (1998). Production and application of microbial cellulose. *Polymer degradation and stability*, 59(1-3), 101-106.
- Karaalp, T.** (2007). Bakteriyel selüloz üretiminde farklı karbon kaynaklarının değerlendirilmesi (Yüksek lisans tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi.
- Kılınç, M.** (2021). Bakteriyel selüloz eldesi ve bakteriyel selüloz kaplanmış kumaşların tekstil endüstrisinde kullanım alanlarının araştırılması (Doktora tezi). Bursa Uludağ Üniversitesi.
- Klemm, D. H.** (2005). Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte chemie international edition*, 44(22), 3358-3393.

- Kutluer, F.** (2009). Kombucha mantarının kültürel özellikleri ve şeker redüksiyonunun incelenmesi (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi (Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü)).
- Li, Z. C.** (2020). Effect of pH buffer and carbon metabolism on the yield and mechanical properties of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 53582. *Journal of microbiology and biotechno.*
- Lin, S.-P. L.-R.-C.** (2013). Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, 20(5), 2191–2219. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-9994-3>.
- Meng, X. Y.** (2016). Physicochemical structural changes of cellulose substrates during enzymatic hydrolysis. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 1(3).
- Mikkelsen, D. F.** (2009). Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Komagataeibacter xylinus* and its properties. *Journal of Applied Microbiology*, 107(2), 576–583.
- Mohite, B. V.** (2014). A novel biomaterial: Bacterial cellulose and its new era applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 61(2), 101–110.
- Öz, Y. E.** (2017). Şeker pancarı melası kullanılarak *Gluconacetobacter xylinum* NRRL B-759 ile bakteriyel selüloz üretimi üzerine etanolün etkisi. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29(2), 31–36.
- Panesar, P. S.** (2012). Production of microbial cellulose: Response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 930-934.
- Portela, R. L.** (2019). Bacterial cellulose: A versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microbial Biotechnology*, 12(4), 586–610. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13392>.
- Sağlam, H. K.** (2021). Kombü çayı üretiminde inkübasyon sıcaklığının etkisi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(1), 82–92.
- Sevim, C.** (2021). Mikrobiyal Selüloz Üretimi ve Üretim Koşullarının Araştırılması.
- Shah, N. U.-I.** (2013). Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1585–1598. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.018>.
- Shi, Z. Z.** (2014). Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocolloids*, 35, 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.012>.

- SM., K.** (2014). Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *J Bioprocess Biotech.* 4:1-10. DOI: 10.4172/2155-9821.100015.
- Tarhan Kuzu, K. &.** (2020). Farklı substrat ortamlarında üretilen Kombucha çaylarının antioksidan ve fenolik kapasitesi. In 13. Türkiye Gıda Kongresi (s. 379). Çanakkale, Türkiye.
- Tarhan, K.** (2017). Kombucha çayı üretiminde farklı substrat kaynaklarının kullanımı. .
- Top, B.** (2018). Sirkeden izole edilen asetik asit bakterisi ile selüloz üretimi ve bakteriyel selüloz karakterizasyonu (Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ul-Islam, M. K.** (2012). Nanoreinforced bacterial cellulose-montmorillonite composites for biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 89(4), 1189–1197. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.093>.
- Ul-Islam, M. K.** (2013). Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ modification. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 596–603. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.006>.
- Yamanaka, S. W.** (1989). The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of materials science*, 24(9), 3141-3145.
- Yılmaz, S.** (2007). Alternatif besin yan ürünlerinden bakteriyel selüloz üretimi. .
- Zahan, K. A.** (2014). Process Parameters for Fermentation in a Rotary Disc Reactor for Optimum Microbial Cellulose Production using Response Surface Methodology. *BioResources*, 9(2).
- Zahan, K. A.** (2015). Monitoring the effect of pH on bacterial cellulose production and *Acetobacter xylinum* 0416 growth in a rotary discs reactor. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(7), 1881-1885.
- Zeng, X. S.** (2011). Processing and properties of bacterial cellulose aerogels for tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering: C*, 31(7), 1405–1411. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2011.06.002>.

ÖZGEÇMİŞ

Ad – Soyad :Pınar TAZEGÜL

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, Malatya İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
- **Yüksek Lisans** : Malatya İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı (öğrenimine devam etmekte)

MESLEKİ DENEYİM :

2023-2024, 2024-2025 ve 2025-2026 eğitim-öğretim dönemlerinde Özel Eğitim alanında öğretmen (görevlendirme) olarak çalışmaktayım.

YAYINLAR:

- Funda Ersoy Atalay, Dilek Asma, Harun Kaya, Alper Bingol and Pinar Yaya: Synthesis of NiO Nanostructures Using Cladosporium cladosporioides Fungi for Energy Storage Applications. Nanomaterials and Nanotechnology. 1-6, 2016 (Uluslararası Yayın).

KONGRE VE BİLİMSEL FAALİYETLER:

- Dilek ASMA, Funda ATALAY, Harun KAYA, Alper BİNGÖL, Pınar YAYA, Şuayp KAMA: Cladosporium cladosporioides FUNGUSUNUN KULLANIMI İLE ENERJİ DEPOLAYAN AYGITLARDA Mn₂O₃ NANOYAPILARIN OLUŞTURULMASI. 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, 5-9 Eylül 2016, Gaziantep (Poster).
- 113M335 Numaralı, “Biyolojik Yapıların Kullanılması ile Elde Edilecek Metal Oksit Nanoyapılardan Süperkapasitör ve Batarya oluşturulması” adlı 1001 TÜBİTAK Projesi (Bursiyer).

SERTİFİKALAR:

- Malatya İnönü Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Pedagojik Formasyon Sertifikası (2015-2016)
- İstanbul Arel Üniversitesi (Sürekli Eğitim Merkezi), Özel Eğitim ve Zihinsel Engelliler Uzman Eğitici Sertifikası (2024)
- Manisa / Şehzadeler Halk Eğitim Merkezi, Özel Eğitim ve Zihinsel Engelliler Eğitimliği Sertifikası (2024)