



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## Silikon Yağının Bakteriyel Selüloz Üretiminde Verime Olan Etkisi

Gökhan GÜNDÜZ\*, Deniz AYDEMİR, Nejla AŞIK, Havva GÜMÜŞ

Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü, Orman Fakültesi, Bartın Üniversitesi, Bartın, TÜRKİYE

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: ggunduz@bartin.edu.tr

### ÖZET

Bu çalışmada, CAS kayıt numarası 63148-58-3 olan silikon yağı kullanılarak bakteriyel selüloz (BC) üretiminde verime olan etkisi incelenmiş ve bazı özelliklerine bakılarak literatür ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, hazırlanan Hestrin ve Schramm (HS) ortamına *Gluconacetobacter hansenii* (Kontrol-BC) ve *Gluconacetobacter hansenii* + Silikon (Silikon-BC) yağı ilave edilerek 14 gün bekletilmiştir. Oluşan BC tabakalarının morfolojik özellikleri SEM ile incelenmiştir. Su tutma kapasitesi Kontrol-BC ve Silikon-BC için sırasıyla; 68,31 ve 173,82 katı olarak bulunmuştur. Selüloz verimleri ise sırasıyla Kontrol-BC'de 1,054 g/l ve Silikon-BC de ise 1,234 g/l olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, FTIR ve TGA analizleri de yapılarak karşılaştırılmış ve benzer yapıda oldukları görülmüştür. XRD analizi sonuçlarına göre Silikon-BC ilaveli örneklerin kristalinitesinin kontrol örneğine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, silikon yağının selüloz verimi üzerinde olumlu etkisi olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Gluconacetobacter hansenii*, Silikon yağı, Karakterizasyon, Verim

## The Effect of Silicone Oil on the Yield of Bacterial Cellulose Production

### ABSTRACT

In this study, silicone oil (CAS registry number 63148-58-3) was used for bacterial cellulose (BC) production and the results were compared with the literature. For this purpose, Hestrin and Schramm medium (HS) with *Gluconacetobacter hansenii* (Control-BC) and *Gluconacetobacter hansenii* with Silicone Oil (Silicone-BC) was prepared and cultivated for 14 days. Morphological properties of the BC sheet was examined by SEM and the cellulose chain diameters were compared. Water holding capacity for Control-BC and Silicone-BC dry samples were; 68.31 and 173.82 (x100), cellulose yield 1,054 g/l and 1,234 g/l respectively. On the other hand, FTIR and TGA analyzes were also performed and compared and it was seen that both samples has a similar structure. According to the XRD analysis results the crystallinity of Silicon-BC was higher than the control sample. According to these results, it was found that the silicone oil had a positive effect on cellulose yield.

**Keywords:** *Gluconacetobacter hansenii*, Silicone oil, Characterization, Yield

## I. GİRİŞ

**S**ELÜLOZ tabiatta en fazla bulunan polimerlerden birisidir. Selüloz 1-4  $\beta$  Glikoz anhidrit ünitelerinden meydana gelmiştir ve yüksek mekanik özelliklere sahiptir. Elastikiyet modülü 140-150 GPa civarındadır ve çeliğe 200 GPa yakın değerler vermektedir. Selüloz üretiminde en yaygın yöntem odundan selüloz hamuru üretimidir. Bu üretim sonucunda ise doğal kaynakların korunması ve karbondiyoksit gazının emisyonunun azaltılması için alternatif yöntemler önem kazanmaktadır [1,2,3].

Bakteriyel selüloz is Asetik asit bakterilerinin uygun koşullar altında selüloz sentezi sonucunda elde edilen üründür. Bu selüloz türü aynı kimyasal yapıya sahip olmasına karşın saf halde bulunmaktadır. Oysa ki, lignoselülozik kaynaklardan elde edilen selüloz; üretimi öncesinde hemiselülozlar ve lignin ile beraber bulunmaktadır ve kimyasal işlemlerden geçirilerek saflaştırılabilmektedir [4].

Bunun yanı sıra organik ve hidrofilik olması nedeniyle de sağlık ve kozmetik alanında da kendisine yer bulmuştur. Yanıkların ve enfeksiyona uğramış bölgelerin tedavisinde bakteriyel selüloz kullanılmaktadır [3,4].

Bakteriyel selüloz üretiminde karşılaşılan zorluklar ise; karbon kaynaklarının maliyetli olması, sanayi üretimi için uygun yöntemlerin geliştirilme aşamasında olması bulunmaktadır. Diğer taraftan, verim artışına etki eden faktörler de araştırılmaktadır. Bunlardan birisi de bakterinin gelişimi sırasında sıvı ortamının yüzeyindeki yüzey geriliminin düşürülmesi olmaktadır [5].

Bu çalışmada ise silikon yağı ilavesinin farklı oranlarında nasıl bir etkiye yol açtığı araştırılmıştır.

## II. YÖNTEM

### *2.1. MATERYAL*

Deney materyali olarak ATCC'den temin edilen *Gluconacetobacter hansenii* (Gossele et al.) Yamada et al. (ATCC® 23769™) ve CAS kayıt numarası 63148-58-3, 0.968 gr/cm<sup>3</sup> yoğunlukta silikon yağı (C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>Si</sub>) kullanılmıştır.

### *2.2. METOT*

ATCC'den temin edilen *Gluconacetobacter hansenii*'nin (Gossele et al.) Yamada et al. (ATCC® 23769™) canlandırma işlemi ve stok kültürü hazırlanması için (SK) liyofilizasyon işlemine tabi tutulmuş olan numune, 50 ml Hestrin ve Schramm (HS) ortamı içinde 7 gün bekletilmiştir. HS için aşağıda verilen formül uygulanmıştır [6].

% 2	(w/v) D-Glucose
% 0.5	(w/v) Peptone
% 0.5	(w/v) Yeast Extract
% 0.27	(w/v) di-Sodium Hydrogen Phosphate (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )
% 0.115	(w/v) Citric Acid

1 hafta sonunda SK için hazırlanan bakteri kültürü, %80 gliserin ve %20 destile su karışımı ile beraber karıştırılarak 0.5 ml (Gliserin + Destile Su) ve 1.0 ml Bakteri kültürü şeklinde hazırlanıp 1.5 ml'lik eppendorf tüpler içine aktarıldı ve -80°C'de muhafaza edildi.

Çalışmada kullanılacak olan starter için, otaklavlanarak hazırlanan 100 ml HS ortamı içine daha önceden hazırlanan SK ilave edildi ve 5 gün bekletildi. Daha sonra 100 ml olmak üzere 2 tekrarlı HS hazırlandı. Hazırlanan HS 250 ml'lik erlenmayer'lere konuldu. Bunlardan bir tanesine, 30 ml silikon yağı, 90 ml HS, 10 ml starter ilave edildi (%10 v/v). Kontrol örneği ise; 90 ml HS ve 10 ml starter ilave edildi ve hazırlanan karışımlar 30°C, % 65 Bağıl Nem'de beklemeye alındı. Bu karışımlar 14 gün bekletildikten sonra yüzeyde oluşan BC tabakası alınarak 1 saat kaynatıldı ve %2'lik NaOH ile 80°C derecedeki su banyosunda 2 saat bekletildi. Daha sonra, akan suyun altında 1 gece durulandı ve destile su ile tekrar durulanarak pH 7'ye sabitlendi.

### 2.2.1. Veriminin İncelenmesi

Durulanan BC tabakası 20 dakika eğimli bir düzlemde bekletilerek fazla suyun uzaklaşması sağlandı. Daha sonra tartılan numuneler kilitli poşet içine konularak -15 de donduruldu. Dondurulan numuneler dondurularak kurutuldu ve daha sonra SEM, TGA, XRD ve FTIR analizlerine tabi tutuldu.

### 2.2.2. SEM Analizi

Dondurularak kurutulmuş deney parçaları vakum ortamında Quanta Feg 450 (Made in Holland) Quorum marka kaplama cihazı kaplanarak SEM analizine tabi tutulmuştur. SEM analizi için 2000 V - 4000 V arası güç ve (BSED dedektör Z Cont. yüksek vakum ile) 5-7 kV arası bir ayar düzeni uygulanarak görüntü alınmıştır.

### 2.2.3. TGA Analizi

TGA analizi için, SII Model TG/DTA 7200 EXSTRA (Made in Japan) kullanılmıştır. Dondurularak kurutulmuş bakteriyel selülozun termal özellikleri; 10°/dak ile 30 – 650°C arasında azot ortamında yapılarak belirlenmiştir. DTG eğrisi ise MS Excell Ofis programı kullanılarak hazırlanmıştır.

### 2.2.4. XRD Analizi

XRD Analizi, Rigaku Smartlab (Made in Japan) cihazı kullanılarak yapılmıştır. D/tex Dedektör, X – Işını tüpünün bakır hedefi vardır (2 kW,  $\lambda$ : 1,54 Å) ve tüp voltajı 40 kV, 30 mA'dır. Tarama hızı 10°/dak ve tarama aralığı 5° - 50° arasında belirlenmiştir. Kristalinite değerinin belirlenmesi için Segal tarafından kullanılan pik yüksekliği (Peak height) metodundan ve Curve Fitting metodundan yararlanılmıştır.

### 2.2.5. FTIR Analizi

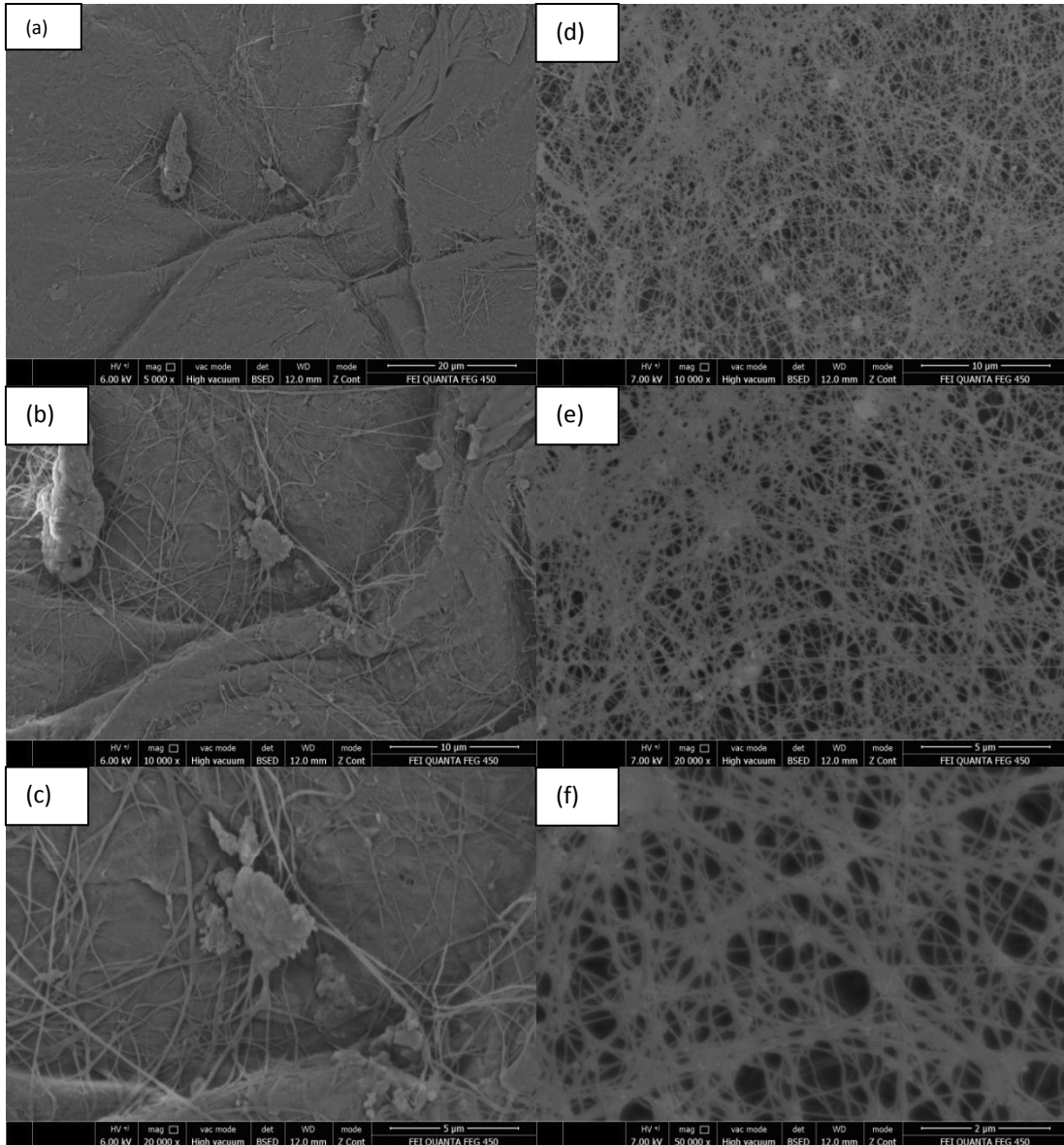
Dondurularak kurutulmuş hazırlanan Bakteriyel Selülozun FTIR analizi (4000–800 cm<sup>-1</sup>) Shimadzu IRAffinity-1 FTIR (Made in Japan) kullanılarak 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte ve numune başına 32 tarama ile yapılmıştır.

### III. BULGULAR ve TARTIŞMA

#### 3.1. RUTUBET DEĞERLERİ VE VERİME AİT SONUÇLAR

Deney sonunda elde edilen numunelerin yaş (20 dk 45° eğimli bir düzlemde bekletildikten sonra) ve tam kuru ağırlıkları Kontrol-BC ve Silikon-BC için sırasıyla 7.20 g ve 0.1054 g, yaş ve tam kuru ağırlıkları sırasıyla 21,45 g ve 0,1234 g olarak bulunmuştur. BC verimi ise sırasıyla 1,054 g/l ve 1,234 g/l olarak belirlenmiştir.

#### 3.2. SEM ANALİZİNE AİT BULGULAR

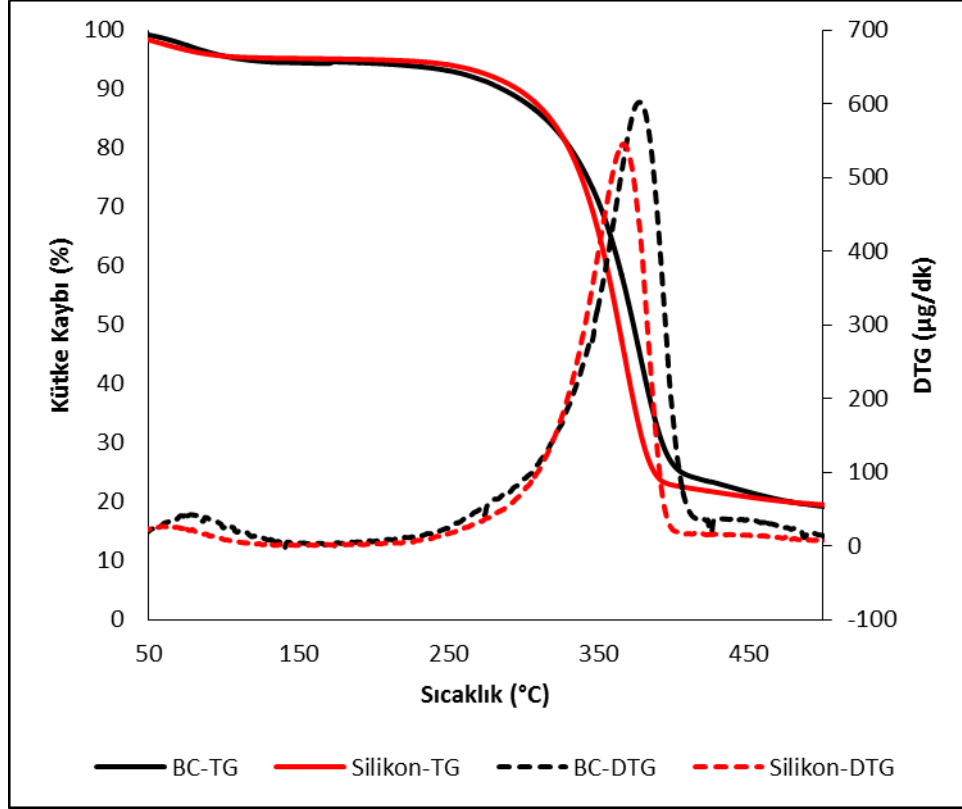


Şekil 1. Silikon-BC (a, b, c) ve Kontrol-BC (d, e, f) SEM görüntüleri.

SEM analizi sonuçlarına göre (Şekil 1), Kontrol-BC test örneklerinin gözenekli ve ağı yapıda oldukları belirlenmiştir. Buna karşın Silikon-BC ağı yapısının yanı sıra zar şeklinde bir oluşuma

sahiptir. Bunun nedeni, selüloz iplikçiklerinin birbirine yaklaşarak zar şeklini almasından kaynaklandığı söylenebilir. Bu durum aynı zamanda daha fazla selüloza sahip olduğunu göstermektedir.

### 3.3. TGA ANALİZİNE İLİŞKİN BULGULAR



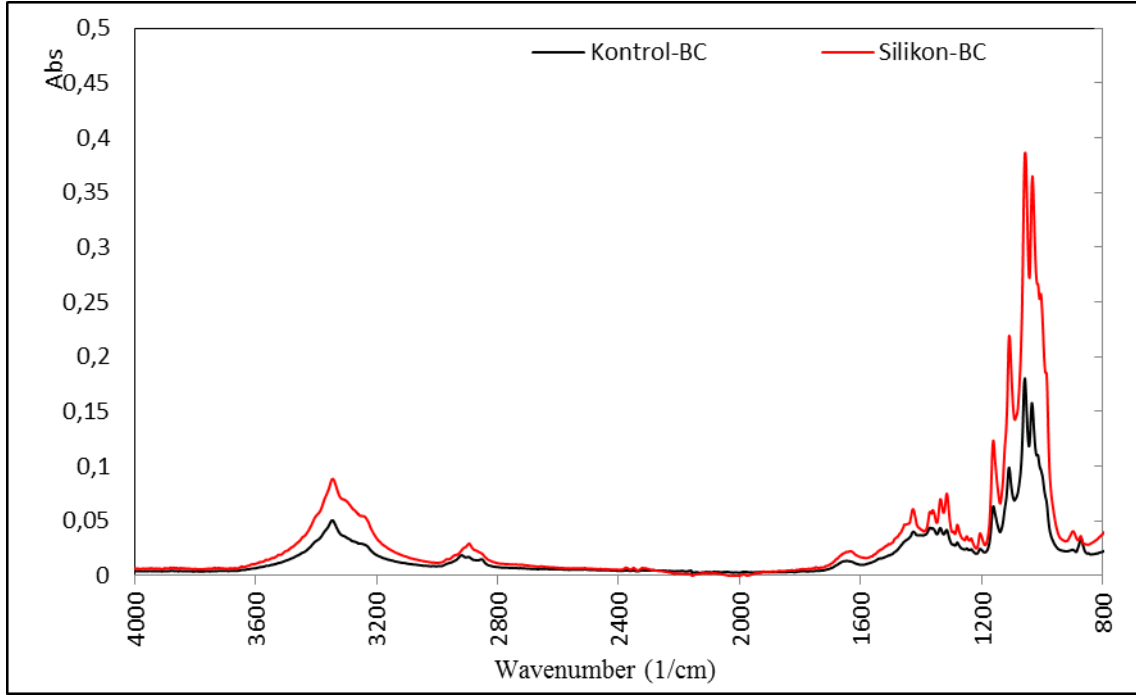
Şekil 2. Silikon-BC ve Kontrol-BC TGA analizi grafiği.

Tablo 1. TGA değerlerine ilişkin sıcaklık değerleri.

	T%10 (°C)	T%50 (°C)	DTG <sub>max</sub> (°C)	Kütle Kaybı (%)
Silikon-BC	285	373	357	82
Kontrol-BC	295	363	366	82

Selülozun degradasyon pik değeri 330°C – 370°C olarak bilinmektedir. Termal analiz sonuçlarına göre Silikon-BC ve Kontrol-BC için, DTG<sub>max</sub> pik değerleri sırasıyla 357°C ve 366°C olarak belirlenmiştir ve selülozun literatür değerleri ile uyum göstermektedir (Şekil 2) [7]. T%10 değeri ise sırasıyla 285°C ve 295°C olarak belirlenen deney materyalinin T%50 değerleri de 373°C ve 363°C olarak ölçülmüştür. Kütle kaybı ise sırasıyla, %82 ve %82 olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu sonuçlara göre, Silikon-BC'nin termal kararlılığının Kontrol-BC'ye göre daha iyi olduğu ve kütle kaybının ise aynı derecede olduğu belirlenmiştir.

### 3.4. FTIR ANALİZİNE İLİŞKİN BULGULAR



Şekil 3. Silikon-BC ve Kontrol - BC FTIR analizi grafiği.

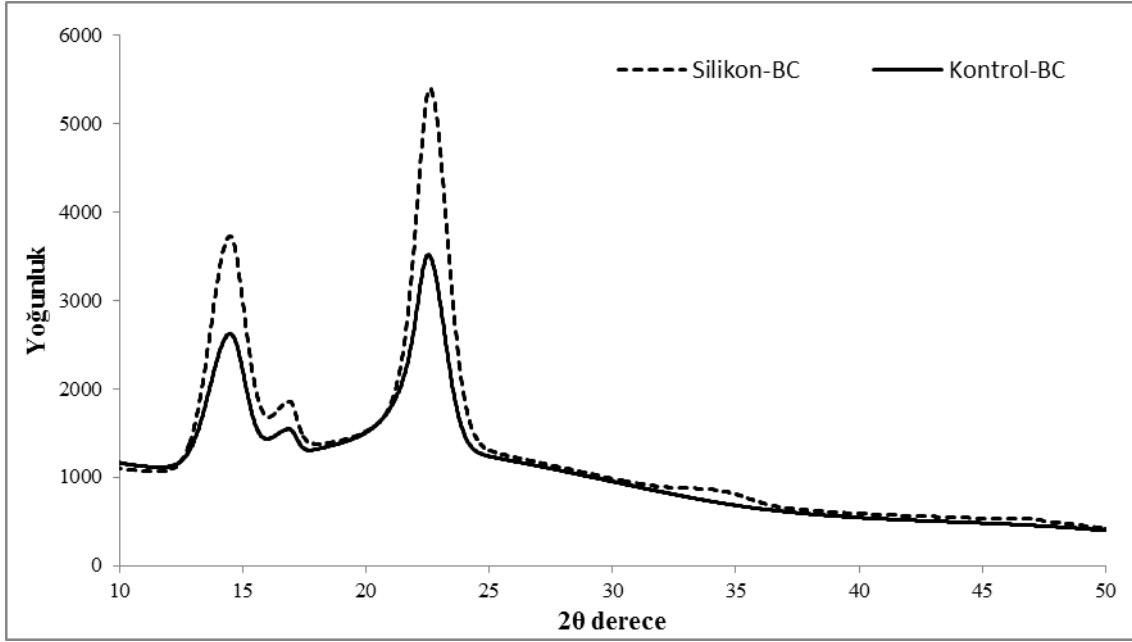
FTIR analizi hidrojen bağlarının kuvvetini ve bu bağ ile bağlanmış kısımların incelenmesi için önemlidir. FTIR analizine ilişkin grafik Şekil 3’de verilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen değerler, saf selülozun pik değerleri ile karşılaştırılmıştır. Bu değerler; 3000  $\text{cm}^{-1}$ , 3350  $\text{cm}^{-1}$  ve 3400  $\text{cm}^{-1}$  - 3500  $\text{cm}^{-1}$  arası O-H bağı, 2880  $\text{cm}^{-1}$ , 2800  $\text{cm}^{-1}$  - 2900  $\text{cm}^{-1}$  arası C-H bağı, 1100  $\text{cm}^{-1}$  - 1160  $\text{cm}^{-1}$  C-O-C bağı, 1035  $\text{cm}^{-1}$  - 1060  $\text{cm}^{-1}$  arası C-O bağı, 1300  $\text{cm}^{-1}$  C-H bağı ve 1400  $\text{cm}^{-1}$  CH<sub>2</sub> bağı göstermektedir [7,8].

Diğer bir çalışmada pik değerleri sırasıyla, 1375  $\text{cm}^{-1}$  (C-H bağı), 1335  $\text{cm}^{-1}$  (O-H bağı), 1315  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub> bağı), 1277  $\text{cm}^{-1}$  (C-H bağı) ve 1225  $\text{cm}^{-1}$  (O-H bağı) yapı içerisinde bulunan kristalin bölgelere işaret etmektedir [9].

Çalışmada bulunan selüloz pik değerleri Kontrol-BC için, 3352  $\text{cm}^{-1}$ , 3238  $\text{cm}^{-1}$ , 2899  $\text{cm}^{-1}$ , 1645  $\text{cm}^{-1}$  - 1649  $\text{cm}^{-1}$ , 1423  $\text{cm}^{-1}$ , 1340  $\text{cm}^{-1}$ , 1107  $\text{cm}^{-1}$ , 1033  $\text{cm}^{-1}$ , 985  $\text{cm}^{-1}$ , 904  $\text{cm}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Silikon-BC için ise, 3352  $\text{cm}^{-1}$ , 2935  $\text{cm}^{-1}$ , 3196  $\text{cm}^{-1}$ , 1463  $\text{cm}^{-1}$ , 1348  $\text{cm}^{-1}$ , 1676  $\text{cm}^{-1}$ , 1170  $\text{cm}^{-1}$ , 1074  $\text{cm}^{-1}$ , 1128  $\text{cm}^{-1}$ , 1031  $\text{cm}^{-1}$  olarak bulunmuştur.

Bu sonuçlara göre, elde edilen Silikon-BC ve Kontrol-BC deney örneklerinin birbiriyle ve aynı zamanda da literatür değerleri ile uyum içinde olduğu görülmektedir.

### 3.5. XRD ANALİZİNE İLİŞKİN BULGULAR



Şekil 4. Silikon-BC ve Kontrol - BC XRD analizi grafiği.

Analizler sonucunda (Şekil 4), her bir analiz (Kontrol-BC, Silikon-BC) için iki ana pik değeri belirlenmiştir. Bu pik değerleri Kontrol-BC ve Silikon-BC için sırasıyla; 14.36°, 22.56°, ve 14.48°, 22.62° olarak bulunmuştur. Kristalinitesi ise Kontrol-BC ve Silikon-BC için sırasıyla; Segal metodunda % 63 ve % 75 Curve fitting metodunda ise % 67 ve % 72 olmuştur [10,11,12].

## IV. SONUÇ

Silikon yağı ilavesinin BC verimini % 17 arttırdığı belirlenmiştir. Bu durum ileride uygulanabilecek endüstriyel ölçekteki üretimde dikkate alındığında ekonomik fayda getirmektedir. SEM analizi sonuçları Silikon ilaveli örneklerin daha sık yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Bunun nedeni, daha fazla selüloz ihtiva etmesinden kaynaklanmıştır. Diğer taraftan, silikon ilaveli örneklerin kristalinitesinin daha yüksek olması elasto-mekanik özelliklerinin iyileştiğini göstermektedir. TGA ve FTIR analizleri Kontrol-BC ve Silikon-BC örneklerinin benzer yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlara göre, silikon yağı ilavesinin BC üretiminde verime olumlu etkisi olduğu ve elde edilen BC'nin özelliklerini de iyileştirdiği kanısına varılmıştır.

## V. KAYNAKLAR

- [1] R.J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen, J. Youngblood *Chem. Soc. Rev.* **40** (2011) 3941–3994.
- [2] R.T. Olsson, A. Samir, G. Salazar-Alvarez, L. Belova, V. Ström, L.A. Berglund, O. Ikkala, J. Nogués, U.W. Gedde *Nature Nanotechnology* **5** (2010) 584-588.

- [3] Y.Z Wan, Y. Huang, C.D Yuan, S. Raman, Y. Zhu, H.J. Jiang, F. He, C. Gao *Materials Science and Engineering C* **27** (2007) 855–864.
- [4] M. Gama, P. Gatenholm, D. Klemm, *Bacterial NanoCellulose A Sophisticated Multifunctional Material*, CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742, International Standard Book Number-13: 978-1-4398-6992-5 (eBook - PDF) (2013).
- [5] A. Putra, A. Kakugo, H. Furukawa, J.P. Gong *Polymer Journal* **41(9)** (2009) 764–770.
- [6] S. Hestrin, M. Schramm *Biochem. Journal* **58** (1954) 345–352.
- [7] N. Halib, M.C.I.M. Amin, I. Ahmad *Sains Malaysiana* **41(2)** (2012) 205–211.
- [8] P. Fabio, P. Gomes, N.H.C.S. Silva, E. Trovatti, L.S. Serafim, M.F. Duarte, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, C.S.R. Freire *Biomass and Bioenergy* **55** (2013) 205-211.
- [9] C. Castro, R. Zuluaga, C. Álvarez, J.L. Putaux, G.G. Caro, O.J. Rojas, I. Mondragon, P. Ganán *Carbohydrate Polymers* **89(4)** (2012) 1033-1037.
- [10] K.C. Cheng, J.M. Catchmark, A. Demirci *Journal of Biological Engineering* **3(12)** (2009) doi:10.1186/1754-1611-3-12.
- [11] N. Terinte, R. Ibbett, K.C. Schuster *Lenzinger Berichte* **89** (2011) 118-131.
- [12] R. Ibbett, D. Domvoglou, D.A.S. Phillips *Cellulose* **15** (2008) 241-254.