

## ÖZET

### BİR BAKTERİYEL BİYOKALSİFİKASYON YÖNTEMİ VE BU YÖNTEMLE ELDE EDİLEN YAPI MALZEMELERİ

- 5 Buluş, bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemi ile kum ve doğal lif içeren yapısal/mimari malzeme elde etmeye ilişkin yöntem ve bu yöntemle elde edilen ürünler ile ilgilidir. Söz konusu yapı malzemesi, 3D modelleme ve yazdırma teknolojilerini de kullanarak, biyobozunur kompozitle oluşturulmuş strüktürler ile yönlendirilerek kompozit bir yapı haline gelmektedir.

## İSTEMLER

- 1.** Yapısal/mimari/endüstriyel malzeme üretimi için bir bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemi olup özelliği;
- 5**
- i) 3 boyutlu (3D) yazıcı ile lif içeren doğaya uyumlu biyobozunur biyopolimer kompozitten oluşan strüktürün elde edilmesi,
- ii) Bakteriler ve besinin ard arda söz konusu strüktürün üzerine veya içine immobilize edilmesi,
- iii) Bakterileri taşıyan strüktürün kum ve lif karışımına içine gömülmesi
- 10**
- iv) Bakterilerin strüktürün etrafına doğru yayılarak kum ve lif karışımına lifli kumtaşı bir kompozit yapıya çevirmesi için (çimentolaşma süreci) beklenmesi,
- v) Çimentolaşma sürecinden sonra ortamda geriye kalan dönüşmemiş kumların temizlenerek uzaklaştırılması işlem adımlarını içermesidir.
- 15**
- 2.** İstem 1'e göre yöntem olup özelliği; biyobozunur strüktür makro, mikro veya nano boyutta olmasıdır.
- 3.** İstem 1'e göre yöntem olup, bahsi geçen lifin doğal veya sentetik olmasıdır.
- 4.** İstem 1'e göre yöntem olup özelliği; bakteriler ve besinin biyobozunur strüktür üzerine püskürtülerek veya emdirilerek immobilize edilebilmesidir.
- 20**
- 5.** İstem 1'e göre yöntem olup özelliği; bakteriler ve besinin 3 boyutlu (3D) baskı ortamında direkt biyopolimer içerisinde basılmasıdır.
- 6.** İstem 1'e göre yöntem olup özelliği; bakterilerin Sporosarcina pasteurii, Bacillus arenosi, Sporosarcina urea, Brevibacterium ammoniagenes, Bacillus lentus, Proteus vulgaris, Myxococcus Xanthus ve Helicobacter pylori'yi içeren gruptan seçilmesidir.
- 25**
- 7.** İstem 1'e göre yöntem olup özelliği; (iv) adında en az 24 saat beklenmesidir.

30

## TARİFNAME

### BİR BAKTERİYEL BİYOKALSİFİKASYON YÖNTEMİ VE BU YÖNTEMLE ELDE EDİLEN YAPI MALZEMELERİ

#### 5 Buluşun İlgili Olduğu Teknik Alan

Buluş, bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemi ile kum ve lif içeren yapısal/mimari/endüstriyel malzeme elde etmeye ilişkin yöntem ve bu yöntemle elde edilen ürünler ile ilgilidir.

#### Buluşla İlgili Tekniğin Bilinen Durumu (Önceki Teknik)

10

Günümüzde mimari yapılar/elemanlar, mobilyalar, endüstriyel ürünler yoğun olarak seramik, ahşap, beton, çimento ve plastik gibi petrokimya türevli hammaddeler vb. kullanılarak, konvansiyonel yapı yöntemleri (karkas, yığma, karma vb. sistemler) ile üretilmektedir. Bir kısım ise ahşap, taş gibi doğal malzemelerin işlenmesiyle elde edilmektedir. Üretim ve işleme

15

süreçlerinde yapılan kimyasal müdahalelerle elde edilen sonuç ürünler toksik maddeler içerebilmektedir.

20

Son dönemde biyomühendislik ve biyoteknoloji alanlarındaki gelişmeler, mimarlık ve diğer mühendislik alanları ile işbirliği içinde geliştirilmiş tasarımı ürünlerini gündeme getirmiştir. Yeni yüzyılda biyomühendislik araştırmaları mimarlık ve tüm tasarımı alanları için farklı bir dönem açmıştır. Ancak hala biyoloji, mimarlık ve mühendislik disiplinlerinin birlikteliğinde yeni gelişen bir alan içinde, canlı organizmaların kullanıldığı tasarımı çalışmaların sayısı azalmaktadır.

25

Biyotasarımı; toksik madde içerebilecek kimyasal ürünlerin yerine geçebilecek doğal ve biyoteknolojik yöntemlerle üretilmiş malzemelerle çalışmaktadır (Antonelli, 2012). Biyotasarımı, mimarlık ve mühendislik alanlarından daha eski ve deneyimli süreçlere sahip doğayla örnek alarak, canlı organizmaların bir tasarımı girdisi olabildiği, sürdürülebilir, işlevsel, uzun ömürlü ve insan sağlığına zarar vermeyen ürünler oluşturmayı hedefleyen bir çalışma alanıdır.

Bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemi, endüstriyel olarak çatlak onarım ve zemin iyileştirme konularında farklı alanlarda uygulama olanağı bulmuş olmakla birlikte bir mimari/endüstriyel ürün tasarımı ile entegre olarak geliştirilmemiştir.

- 5 Söz konusu bakteriler toprak, su ve çamur tabakalarından elde edilirler ve patojen olmayan mikroorganizmalardır. En efektif ürolitik bakteri *Sporosarcina pasteurii*dir. Bu türün yaşam koşulları yüksek pH koşullarında yanısıra yüksek konsantrasyonlarda amonyum tuzu içeren ortamlara da dayanabildikleri için alışılagelmemiş dördüncü Çoğu çalışmalarda amonyum tuzu yerine üre kullanılmaktadır çünkü bu organizmalar üreyi parçalama yeteneğine sahiptir. Bu yeteneği sayesinde kendi metabolik faaliyetleri için gerekli olan amonyağı üretebilirler. Bu yönleri ilk defa
- 10 Gibson tarafından 1934 yılında keşfedilmiş ve 1956 yılında Bornside ve Kallio tarafından uygulanmıştır (Wiley ve Stokes 1962).

- Son yıllarda mikrobiyolojik olarak indüklenen kalsiyum karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) çöktürmesi ile seçici çimentolaşma aktivitesi, kalsiyum karbonatın biyomineralizasyonu (Dhami vd. 2013; Wong vd.2015), tamir, rehabilitasyon ve çimentolu sistemlerin güçlendirilmesi (Sung-Jin vd.,2010; Siddique ve Chahal, 2011), tarihi eserlerin yenileme ve onarımı (Bhaduri vd., 2014), çatlakların kalsit tabakalarla doldurulması (Chunxiang vd.,2013), kendiliğinden iyileşme mekanizmasında bakteriyel immobilizasyon teknikleri ile geliştirilmesi (Wiktor ve Jonkers, 2011; Wang vd. 2012), jeoteknik zemin güçlendirmeleri (DeJong vd.,2006; Li, 2013) ve üreolitik biyoteknoloji kullanılarak eko-biyo-çimento üretimi üzerine çalışmalar mevcuttur (Kunal vd 2014; Cuzman vd.
- 20 2015).

- Bu çalışmada strüktür yapıcı olarak kullanılacak olan biyobozunur polimerler, çevre dostu endüstriyel ürünlerin ve kişisel bakım ürünlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmakla beraber biyomalzeme ve doku mühendisliği alanında da ileri uygulamalar mevcuttur. Son yıllarda artan çevre duyarlılığı plastik sektöründe biyobozunur polimerlerin kullanımının yaygınlaşmasına sebep olmuştur (Nair ve Laurencin. 2007).
- 25

- Materyal kimyası, moleküler ağırlığı, çözünürlüğü, hidrofibilite ve hidrofobilitate oranları, yokolma mekanizmaları her biyopolimerin kendine has özellikleridir ve birbirlerinden ayrı edilmelerini sağlar. Biyobozunur polimerlerde olması gereken özellikler ise; çevreye toksik bir yayılım göstermeme, kısa zamanda bozunabilme, uygun mekanik özelliklere sahip olma, Uygun bir geçirgenliğe sahip olma şeklinde özetlenebilir (Lloyd, 2002).
- 30

Günümüze dek yapılan doku mühendisliği çalışmalarında en çok kullanılan doğal polimerler kitosan, agaroz ve fibronektindir. Bu doğal polimerler sitotoksik açıdan uyumlu olsalar da üç boyutlu yazıdaki yüksek sıcaklık koşullarına dayanımlarını yitirir. Yapılan bazı çalışmalarda biyobozunur polimerlerin 3 boyutlu yazıda basılabilir hale gelmesi için nişasta ile güçlendirildiği görülmüştür (Amoabediny vd. 2015).

5

Tekniğin bilinen durumunda bakteriyel biyokalsifikasyon yönteminin farklı kullanımı ve uygulamaları olmakla birlikte; bu buluşta, kalın olarak kullanılan biyopolimer kompozit bir yapıya üzerine bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemiyle immobilizasyon uygulanmakta ve üreaz mekanizması ile mimari/yapısal/endüstriyel malzeme/ürün oluşturulmaktadır.

10

### **Buluşun Kısa Açıklaması ve Amaçları**

Bu buluşta, mimari/kentsel/endüstriyel tasarımı ürünlerinin geliştirilmesinde biyomühendislik, inşaat mühendisliği ve mimarlık disiplinlerinin ortaklığıyla, 3 boyutlu (3D) yazıcı ile üretilen biyostrüktür üzerine bakteriyel biyokalsifikasyon, yani kalsiyum karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) çöktürülmesi ile kum, toprak gibi yapıları sertleşmesini sağlayan bazı bakteri türlerini kullanarak mimari/yapısal/endüstriyel ürün ya da eleman oluşturulmaktadır.

15

Buluş;

20

- içerdiği 3D yazıcı teknolojisi ile modüler olarak tasarlanma, üretilebilme ve uygulama olanağına sahiptir,
- özellikle küçük ölçekli mimari/yapısal/endüstriyel malzemeler/ürünler (çocuk oyun alanları, oturma elemanları, kiosklar, sergi standları vb.) üretiminde de kullanılan farklı ve yenilikçi bir yöntem önermektedir,

25

- gerek tasarimsal nitelikleriyle doğal ve sade, gerekse üretim süreci ve yöntemi ile toksik olmayan, ekolojik ürünler üretmeye olanak vermektedir,
- biyomühendislik, inşaat mühendisliği ve mimarlık arakesitinde kurulan bilimsel ve teknik işbirlikleri ile halk sağlığına uygun ekolojik biyotasarım ürünleri geliştirilmesini sağlamaktadır.

## Buluşu Açıklayan Şekillerin Tanımları

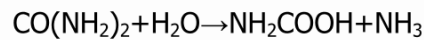
Şekil 1: Yapı malzemesinin üretim aşamaları

### 5 Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Buluşta, biyobozunur strüktür üzerinde bakteriyel biyokalsifikasyon yöntemi ile kum ve doğal lif içeren yapısal ve/veya mimari malzeme/ürün oluşturulmaktadır. Bu doğrultuda *Sporosarcina pasteurii*, *Bacillus arenosi*, *Sporosarcina urea*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Bacillus lentus*, *Proteus vulgaris*, *Myxococcus Xanthus* veya *Helicobacter pylori* bakteri türleri ile kumun taşlaşmasını temelinden yola çıkılarak tasarlanan özgün biyobozunur kompozit strüktürler ile halk sağlığına uygun ve ekolojik biyotasarımlı ürünleri elde edilmektedir.

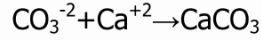
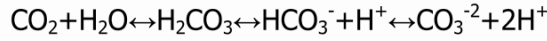
Buluşta, bu bakterilerin ve tercihen en efektif ürolitik bakteri olması sebebiyle *Sporosarcina pasteurii*'nin, 3D yazıcıdan çıkarılabilir lif, tercihen **doğal veya yapay** lif içeren biyobozunur bir polimer kompozitten oluşan özgün bir tasarımlı üzerine immobilize edilmesi ve kalsiyum karbonat (CaCO<sub>3</sub>) çöktürmesiyle sonuçlanan üreaz metabolizması kullanılarak, çeşitli kum türlerinin bu ekolojik biyotasarımları ortaya çıkarılması için taşlaşmasını sağlanmaktadır. Taşlaşma mekanizması şu şekildedir:

20 - *Sporosarcina pasteurii*'nin besin ortamına eklenen 1 mol üre, mikrobiyal katalizlenme mekanizması sonucu 2 mol amonyak ve 1 mol karbondioksit (CO<sub>2</sub>) dönüşür.



25 
$$\text{NH}_2\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

- Bu ortamın püskürtülmesiyle, yapımlı pH'si artar.  
- Enzimatik reaksiyon sonucu ortama ilave edilen kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>) bileşiğinden Ca<sup>+2</sup> (kalsiyum iyonu) salınır.  
30 - Kumun yapımlı bulunan karbonat (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) ile kalsiyum iyonunun (Ca<sup>+2</sup>) birleşimiyle kalsiyum karbonat (CaCO<sub>3</sub>) çöker ve bu sayede kum sertleşir.



5

Buluşta bir ilk olarak kumun ve biyobozunur strüktürün içerisine yerleştirilen liflerin de hapsolarak yapıya katılmasıyla biyokompozit üretimi gerçekleşmektedir.

10 Söz konusu buluşa ilişkin yapısal/mimari malzeme üretim yöntemi şu adımları içermektedir:

- i) 3D yazıcıyla lif içeren doğaya uyumlu biyobozunur biyopolimer kompozitten oluşan strüktürün elde edilmesi,
- ii) Bakteriler ve besinin ard arda söz konusu strüktürün üzerine veya içine immobilize edilmesi,
- 15 iii) Bakterileri taşıyan strüktürün kum ve lif karışımına içine gömülmesi
- iv) Bakterilerin strüktürün etrafına doğru yayılarak kum ve lif karışımına lifli kumtaşı bir kompozit yapıya çevirmesi için (çimentolaşma süreci) beklenmesi,
- v) Çimentolaşma sürecinden sonra ortamda geriye kalan dönüşmemiş kumların 20 temizlenerek uzaklaştırılması

Söz konusu yöntemde çimentolaşma sürecinin gerçekleşmesi için en az 24 saat beklenmektedir. Bu süreçte; bakteriler strüktürün etrafına doğru yayılarak kum ve lif karışımına kumtaşı bir kompozit yapıya çevirerek sertleştirirken, ortamdaki besin bir süre sonra biter ve bakteriler ölür. Çimentolaşma süreci tamamlandıktan sonra ise, ortamda kumtaşı kompozit yapıya dönüşmeyen 25 kumlar temizlenerek uzaklaştırılır. Böylece geriye doğal, zehirli madde içermeyen bir ürün kalır

Buluşta bahsi geçen lif sentetik veya doğal olabilir.

30 Buluşa ilişkin yöntem ile elde edilen bu yapı malzemeleri her türlü yapısal veya mimari alanda, mobilyalarda, oyun alanlarında, endüstriyel alanda vb. kullanılabilir.

## Referanslar

- Aldo Van Eyck: Designing For Children, Playgrounds (Edt. Liane Lefaivre and Ingeborg de Roode), Stedelijk Museum, Amsterdam, 2002
- 5**
- Amoabediny G., Heli B., Salehi-Nik N, The Role of Biodegradable Engineered Scaffold in Tissue Engineering, INTECH Open Access Publisher,122-131, 2011.
- Llyod A. W. Interfacial Bioengineering to Enhance Surface Biocompatibility, Med. Device Technol., 13:18-21,2002.
- 10**
- Nair L.S., Laurencin CT, Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery. In: Lee K, Kaplan D, editors. Tissue Engineering I. Springer. 47-90,2006.
- 15**
- Çukur D., Özgüner H., Kentsel Alanda Çocuklara Doğa Bilinci Kazandıranada Oyun Mekânı Tasarımın Rolü, Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi Seri: A, Sayı2, Yıl , ISSN: 1302-7085, 177-187,2008.
- Fjørtoft I, Landscape as Playscape: The Effects of Natural Environments on Children's Play and Motor Development, Children, Youth and Environments, Vol. 14, No. 2, Collected Papers, ,21-44, 2004
- 20**
- Fjørtoft I, Sageie J. The natural environment as a playground for children: Landscape description and analyses of a natural playscape, Landscape and Urban Planning, volume 48, Issues 1–2, 20, 83–97, 2000.
- 25**
- May G., Simonon L., Permaculture playgrounds. Playlines. 8(21), 2000.
- Senda M. Design of Children's Play Environments, McGraw-Hill: Inc.New York, 1992.
- 30**
- Sipes J L, Roberts J M, Playground surfaces: Safety and accesibilitiy, Landscape Architecture, 1994.

- DeJong, J.T., Fritzes, M.B., Nüsslein, K., Microbially Induced Cementation to Control Sand Response to Undrained Shear. *Journal of Geotechnical And Geoenvironmental Engineering*, 132 (11), 1381-1392, 2006.
- 5 Li, S., A laboratory study of the effects of bio-stabilization on geomaterials. MS Thesis, Civil Engineering (Geotechnical Engineering), Iowa State University, Ames, Iowa, 2013
- Bhaduri S., Mitra S K, Kumar A. Understanding Biofilm Growth Dynamics Within a Stagnant Culture of *Sporosarcina Pasteurii*, ASME 2014 International Mechanical Engineering Congress and Exposition, Volume 3: Biomedical and Biotechnology Engineering, Montreal, Quebec, Canada, November 14–20, 2014
- 10 Wiley W R & Stokes S L, Requirements of an alkaline pH and ammonia for substrate oxidation by *Bacillus Pasteurii*, *Journal of Bacteriology*, 84, 730-733, 1962
- 15 Dhami N K, Reddy M S, Mukherjee A, Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Front. Microbiol.* 4 (1–3), <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00314>, 2013
- Wong L S, Microbial cementation of ureolytic bacteria from the genus *Bacillus*: a review of the bacterial application on cement-based materials for cleaner production. *J. Cleaner Prod.* 93, 5–17, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.01.019>, 2015
- 20 Antonelli P, Editor: William Myers, *Biodesign; Nature, Science, Creatibility, The museum of modern arts*; Thomas and Hudson, London, 1-3, 2013.
- 25 Kunal S, Iddique R, Rajor A, Strength and microstructure analysis of bacterial treated cement kiln dust mortar. *Constr. Build. Mater.* 63, 49–55, <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.04.011>, 2014
- 30 Chunxiang Q, Jianyun W, Ruixing W, Liang C, Corrosion protection of cement-based building materials by surface deposition of CaCO<sub>3</sub> by *Bacillus pasteurii*. *Mater. Sci. Eng. C* 29, 1273–1280, <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2008.10.025>, 2013

Cuzman OA, Richter K, Wittig L, Tiano P, Alternative nutrient sources for biotechnological use of *Sporosarcina pasteurii*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 897–906, <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-015-1844-z>, 2015

5 Siddique, R., Chahal, N.K., Effect of ureolytic bacteria on concrete properties. *Constr. Build. Mater.* 25, 3791–3801, <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2011.04.010>., 2011

Sung-Jin, P., Park, Y.-M., Chun, W.-Y., Kim, W.-J., Ghim, S.-Y., Calcite-forming bacteria for compressive strength improvement in mortar. *J. Microbiol. Biotechnol.* 20, 782–788,   
10 <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.0911.11015>. , 2010.

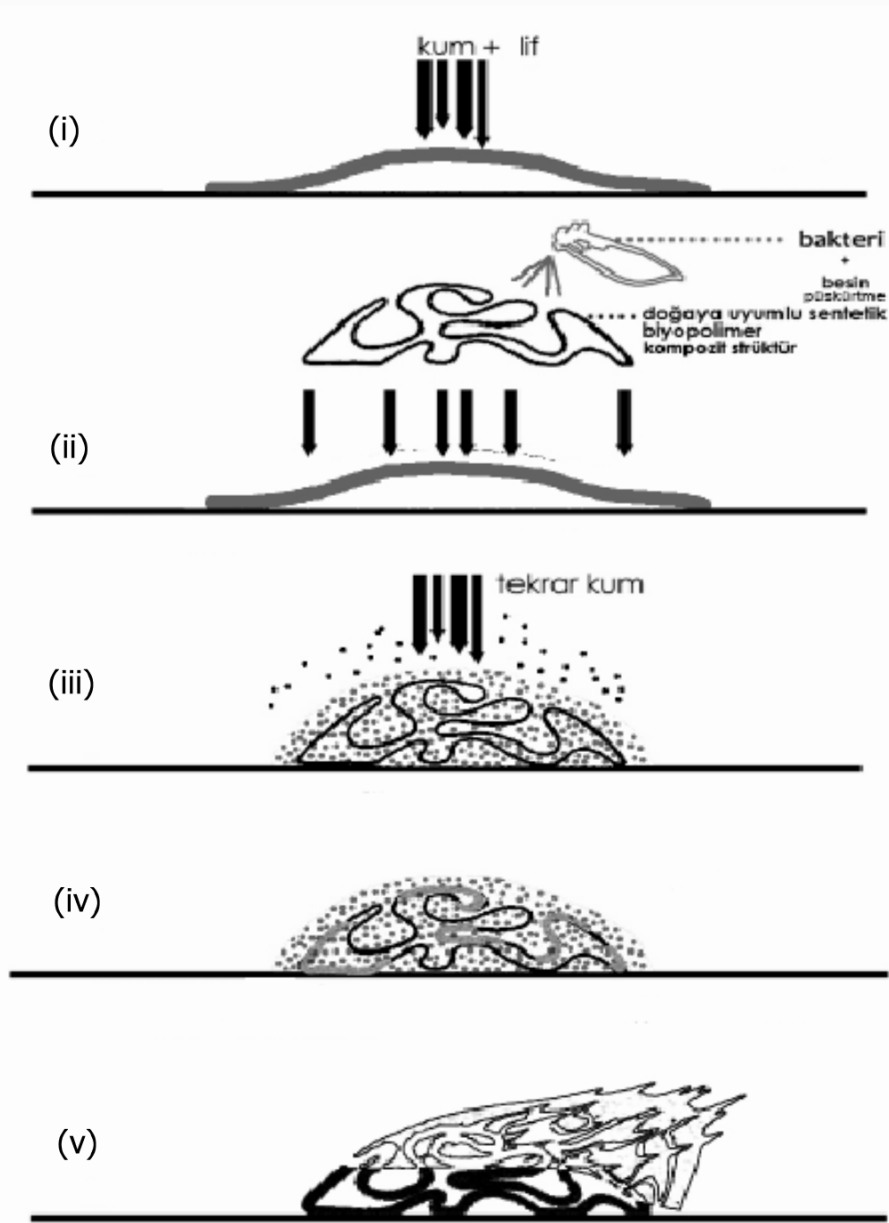
Wang, J., Tittelboom, K.V., De Belie, N., Vertraete, W., Use of silica gel polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete. *Constr. Build. Mater.* 26, 532–540, <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2011.06.054>., 2012

15

Wiktor, V., Jonkers, H.M., Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete. *Cem. Concr. Compos.* 33, 763–770, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2011.03.012>., 2011

20

25



Şekil 1