



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**Yüksek Lisans Tezi**

**MAĞARA İZOLATLARININ POLİETİLEN BİYODEGREDASYON  
POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sena GÜLER**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR**

**Ocak, 2025**

**İSTANBUL**

Bu çalışma, [29.01.2025] tarihinde aşağıdaki jüri tarafından [Biyoloji Anabilim Dalı], [Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programında] [Yüksek Lisans tezi] olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

[Prof. Dr.] [Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖRİ] (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

[Doç. Dr.] [Nazmiye Özlem ŞANLI]  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

[Doç. Dr.] [Ufuk Saim GÜNAY]  
İstanbul Teknik Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi

## **İntihal Programı Beyanı**

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

## **Proje Destekleri**

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin ..... numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, ..... numaralı ..... projesi ile desteklenmiştir. |

## **Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri**

--

## ÖNSÖZ

Yüksek lisansım boyunca bilgi birikimi, deneyimlerini ve desteğini hiç esirgemeyerek birçok şey öğrenmemi sağlayan, üzerimde birçok emeği bulunan değerli danışman hocam Prof. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR'e varlığı ve yakınlığı için teşekkürü borç bilirim.

İhtiyacım olduğu alanlarda bilgisi, pratik ve etkili çözümleriyle yol gösteren hocam Dr. Öğr. Üyesi Elif Özlem ARSLAN'a, desteğini her zaman hissettiren sevgili anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ayten KİMİRAN'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvarlarıyla verdikleri destekleri ile yardım sever hocalarım Prof. Dr. Ayşegül MÜLAYİM'e, Dr. Öğr. Üyesi Senem ÇAĞLAR'a, Doç. Dr. Nazmiye Özlem ŞANLI'ya, Araş. Gör. Dr. Merve Erçin'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca birçok şeyi bana öğreten, yol gösteren ekip arkadaşım Dr. Nahdhoit Ahamada RACHID'e, malzeme temini konusunda yardımcı olan Celal Doruk ARICI'ya ve TEMA'daki tüm ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Arkadaşlığı ve öğretici kimliğiyle her zaman yanımda olan, maddi manevi tüm desteğini veren sevgili arkadaşım Araş. Gör. Gülnihan SELİM'e, akademik ve kişisel hayatıma kattığı renkler için Gizem BATTAL ve Dilan Bahar BOYOĞLU'na, farklı bölümlerin insanları olsak da beni her koşulda dinleyen ve heyecanıma ortak olan çocukluk arkadaşım Edanur YILMAZ'a kucak dolusu teşekkür ederim.

Çocukluğumdan beri maddi manevi desteğinin esirgemeyen, düştüğümde kaldıran, eksikliklerimi hissettirmeyen, karmaşık yollarımı düzleştiren ve her koşulda benimle gurur duyan annem Ayşenur GÜLER'e ve gerek kişisel gerek akademik hayatımda yol gösterici olan sevgili ablam Nazgül GÜLER'e sonsuz teşekkür ederim. Tezimi ailemle kurduğumuz gelecek hayallerimize adıyorum. |

Ocak 2025

[Sena GÜLER]

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	x
ÖZET .....	xii
SUMMARY .....	xiv
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR .....</b>	<b>3</b>
2.1. PLASTİK NEDİR? .....	3
2.1.1. Polietilen Nedir?.....	4
2.2. PLASTİK KİRLİLİĞİ.....	5
2.2.1. Denizel Kirlilik .....	6
2.2.2. Karasal/ Tarımsal Kirlilik.....	7
2.2.3. Hava Kirliliği.....	8
2.3. PLASTİK DEGRADASYONU .....	9
2.3.1. Biyodegradasyon .....	9
2.3.1.1. Polietilenin Biyodegradasyonu.....	12
2.4. MAĞARA VE MAĞARA MİKROORGANİZMALARI.....	17
2.4.1. Mağara Mikroorganizmalarının Biyoteknolojik Potansiyelleri.....	19
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>	<b>21</b>
3.1. MAĞARA İZOLATLARININ TÜRLERİ VE KODLARI.....	21
3.2. BAKTERİLERİN CANLANDIRILMASI VE ÇOĞALTILMASI.....	22
3.3. BAKTERİLERİN SEÇİLMESİ .....	22
3.3.1. DNA izolasyonu .....	23
3.3.2. alkB gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması .....	24
3.3.3. Jel Elektroföresi ve Görüntüleme.....	25
3.4. BİYOKİMYASAL TESTLER.....	25
3.4.1 Lakkaz Testi .....	25
3.4.2 Manganez Peroksidaz Testi .....	26

3.4.3. Lignin Peroksidaz Enzim Testi .....	26
3.4.4. Lipolitik Enzim Testi.....	27
3.5. PLASTİK KUPONLARIN HAZIRLANMASI.....	27
3.6. PLASTİK DEGRADASYON DENEYİ.....	28
3.7. ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ VE BİYODEGRADASYON HIZININ BELİRLENMESİ .....	29
3.8. KUPONLARIN KARAKTERİZASYONU.....	30
3.9. BİYOİSTATİSTİK ANALİZ.....	30
3.10. BESİYERLERİ VE SOLÜSYONLAR.....	31
3.9.1. BH Besiyeri .....	31
3.10.2. TSA Besiyeri .....	31
3.10.3. Reasoner's 2 Agar (R2A) .....	32
3.10.4. Lakkaz besiyeri.....	32
3.10.5. Manganez Peroksidaz Besiyeri.....	32
3.10.6. Lignin Peroksidaz Besiyeri.....	33
3.10.7. Lipolitik Enzim Besiyeri .....	33
3.10.8. Lizozim ve lizozim tamponu .....	33
3.10.9. 10X TBE Hazırlanması .....	33
3.10.10. 1X TBE (Stok çözelti kullanılarak).....	34
3.10.11. %1'lik agaroz jel.....	34
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>35</b>
4.1. SUŞLARIN SEÇİMİ VE TANIMLANMASI.....	35
4.1.1. DNA İzolasyonu .....	35
4.1.2. alkB gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması .....	35
4.2. BİYOKİMYASAL TESTLER.....	37
4.3. PLASTİK DEGRADASYONU .....	39
4.4. FOURIER DÖNÜŞÜMÜ KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (FTIR).....	42
4.5. BİYOİSTATİSTİK ANALİZ.....	45
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>50</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>69</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>73</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 2.1: Biyodegradasyon aşamaları şeması. ....	11
Şekil 2.2: PE degradasyonunda enzim etkinlikleri ve elde edilen ürünlerin şeması (Lv ve diğ., 2024). ....	16
Şekil 2.3: Mağaranın bölgeleri. ....	18
Şekil 3.1: Lakkaz aktivitesi pozitif SG-13 ve negatif SG-11 suşu agar görselleri. ....	25
Şekil 3.2: Maganez peroksidaz aktivitesi pozitif SG-5 suşu ve aktivite öncesi besiyeri görüntüsü. ....	16
Şekil 3.3: Lignin peroksidaz aktivitesi, neutral red agarda pozitif sonuç veren SG-8 suşu (sol) ve negatif sonuç veren SG-3 suşu (sağ) . ....	186
Şekil 3.4: Lignin peroksidaz aktivitesi, kristal viyole agarda pozitif sonuç veren SG-10 suşu (sol) ve negatif sonuç veren SG-8 suşu (sağ). ....	27
Şekil 3.5: Lipolitik enzim aktivitesi pozitif olan SG-13 suşu (sol) ve negatif olan SG-2 suşu (sağ). ....	27
Şekil 3.6: Plastik kuponlara uygulanan ön işlemler. ....	28
Şekil 3.7: Degradasyon deney düzeneyi. ....	29
Şekil 4.1: UV+sıcaklık ön işlemi görmüş, SG-8 suşu ile 4 ay inkübasyon sonrası 54 numaralı LDPE kuponunun FTIR spektrumları. ....	43
Şekil 4.2: UV ön işlemi görmüş, sırasıyla SG-10 ve SG-13 suşları ile 4 ay inkübasyon sonrası 153 ve 172 numaralı LDPE kuponlarının FTIR spektrumları. ....	44
Şekil 4.3: Yalnızca UV ön işlemi görmüş ancak herhangi bir inkübasyon sağlanmamış 199 numaralı kontrol LDPE kuponunun FTIR spektrumları. ....	45
Şekil 4.4: HDPE kuponlarının FTIR spektrumları. ....	46
Şekil 4.5: UV ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği . ....	47
Şekil 4.6: UV+sıcaklık ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği. ....	47
Şekil 4.7: Sıcaklık ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği . ....	48

<b>Şekil 4.8:</b> Ön işlem uygulanmayan grup, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.....	48
<b>Şekil 4.9:</b> UV ön işlem grubunda, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği. ....	49
<b>Şekil 4.10:</b> UV+sıcaklık ön işlem grubunda, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.....	49
<b>Şekil 4.11:</b> Sıcaklık ön işlem grubunda, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği. ....	50
<b>Şekil 4.12:</b> Ön işlem uygulanmayan grup,, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.....	50



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo 3.1:</b> İzolatların izolasyon yerleri, mikroorganizma isimleri ve benzerlik yüzdeleri ve filumları. ....	21
<b>Tablo 3.2:</b> alk-b gen bölgesi primer dizileri. ....	24
<b>Tablo 3.3:</b> PZR reaksiyon içeriği. ....	24
<b>Tablo 3.4:</b> PZR döngüsü. ....	24
<b>Tablo 4.1:</b> Seçilen suşların kültür ve morfolojik özellikleri. ....	34
<b>Tablo 4.2:</b> Seçilen suşların alk-b gen bölgesi ve enzim aktiviteleri. ....	37
<b>Tablo 4.3:</b> HDPE degradasyon deneyi değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları; A) 2. Ay, B) 4. Ay. ....	39
<b>Tablo 4.4:</b> LDPE degradasyon deneyi değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları; A) 2. Ay, B) 4. Ay. ....	40

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler Açıklama

°C	: Santigrat
%	: Yüzde
$\beta$	: Beta
$\mu$	: Mikro
C	: Karbon
H	: Hidrojen
O	: Oksijen
Mn	: Mangan

### Kısaltmalar Açıklama

alk-b	: Alkan monooksijenaz
atm	: Atmosferik basınç
BH	: Bushnell-Haas
bp	: Baz çifti
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FTIR	: Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
Gram (+)	: Gram pozitif
Gram (-)	: Gram negatif
HDPE	: Yüksek Yoğunluklu Polietilen
kb	: Kilobaz çifti
L	: Litre
LDPE	: Düşük Yoğunluklu Polietilen
LiP	: Lignin Peroksidaz
M	: Molar
mg	: Miligram

<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MnP</b>	: Manganez Peroksidaz
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>PE</b>	: Polietilen
<b>pH</b>	: Potansiyel Hidrojen
<b>pmol</b>	: Pikomol
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>R2A</b>	: Reasoner's 2 Agar
<b>sn</b>	: Saniye
<b>TBE</b>	: Tris-Borate-EDTA
<b>TSA</b>	: Triptik Soy Agar
<b>UV</b>	: Ultraviyole

## ÖZET

### [YÜKSEK LİSANS TEZİ]

#### [MAĞARA İZOLATLARININ POLİETİLEN BİYODEGREDASYON POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Sena GÜLER]

**İstanbul Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

[Biyoloji Anabilim Dalı]

**Danışman: [Prof. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR]**

Plastik, 19. yüzyıldaki keşfiyle beraber hayatımızın her alanına yerleşmiş önemli materyallerin ana bileşenidir. Her endüstride kendine yer bulan plastiklerin kullanımı ve atık oranı her geçen gün artış göstermektedir. Kutup bölgelerinde, derin denizler, mağaralar ve uzay boşluğu da dahil olmak üzere her alana plastik atıklar yayılmış durumdadır. Bu durum canlı yaşamını ve sağlığını, toprak, hava ve su temizliğini ciddi derecede tehdit etmektedir.

Birçok çeşit plastik türü bulunsa da ambalaj sektörünün yaygınlığı ve bu sektörün ana bileşeni olması nedeniyle polietilen küresel ölçekte en büyük atık ve üretim hacmini oluşturmaktadır. Polietilen atıkların bertarafı için kimyasal ve fiziksel bozunma yolları olsa da bu yöntemler tam bir bozunma sağlayamamakta veya bozunma süreci ve sonucunda çevreye çok fazla ikincil toksik kirleticiler salınmasına neden olmaktadır. Bu nedenle geri dönüşüm uygulamaları ve biyodegradasyon yolları son dönemde önemli alternatif yollar olarak önem kazanmıştır.

Geri dönüşüm uygulamalarının veriminin düşük, kısa ömürlü ve küçük hacimde olması biyodegradasyonu daha avantajlı kılmaktadır. Polietilenin biyodegradasyonu mikroorganizmaların metabolik aktivitesi ile gerçekleşir. Plastik üzerine tutunan mikroorganizmaların biyofilm oluşturması, biyofilm içerisinde ekzoenzimler ve çeşitli sekonder metabolitler salgılaması ve bu bileşiklerin plastik yüzeyde elektrostatik kuvvetleri parçalayarak degradasyonu başlatması ve büyük molekülleri daha küçük moleküllere çevirerek

hücre içine alması ile gerçekleşen biyodegradasyon süreci, fiziksel ve kimyasal degradasyona göre toksik ikincil kirleticilere salınmasına olanak vermeyen çevreci bir yaklaşımdır. Bu degradasyon çeşidinde en önemli ajanlar hücre içi ve dışı metabolik aktiviteyi sağlayan enzimlerdir.

Ancak inorganik ve oldukça kararlı yapıda olan bu bileşiklerin degradasyonunda tüm mikroorganizmalar aktivite gösterememektedir. Karbon kaynağı olarak çeşitli bileşikleri kullanabilecek metabolik aktiviteye sahip mikroorganizmaların plastik degradasyonu için önemli potansiyel oluşturduğu düşünülmektedir. Bu da besince fakir ve ekstrem şartlara uyumlu metabolik aktivitelere sahip mikroorganizmaları öne çıkarmaktadır.

Bu çalışmamızda bu potansiyelin araştırılması için besin, ısı, ışık ve oksijen gibi çoğu etmenden fakir olan mağara ortamlarından izole edilen mikroorganizmaların polietilen biyodegradasyonundaki yeteneklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Türkiye’de bulunan Yarık Düdeni, Dupnisa ve Morca Mağaralarının çeşitli yüzey ve toprak örneklerinden izole edilen suşların degradasyon yeteneklerine bakılmıştır. Bunun için rastgele seçilmiş 30 suştan; PE degradasyonunda etkinlik gösterdiği bilinen alkan monooksijenaz gen bölgesine, lignolitik ve lipolitik enzim aktivitelere göre 14 tanesi seçilmiştir.

Seçilen bu suşların degradasyon yeteneklerinin analizi için iki tür PE (HDPE ve LDPE) ile 60 ve 120 günlük inkübasyon süreleriyle degradasyon deney düzeneği kurulmuştur. Ayrıca foto-oksidasyon ve termal oksidasyonun degradasyon üzerine etkisinin incelenmesi için plastik kuponlar UV ön işlem, sıcaklık ön işlem, UV+sıcaklık ön işlem ve ön işlem görmemiş grup olarak sınıflandırılmıştır.

Bu deneyin sonucunda kuponların ağırlık değişim yüzdeleri, degradasyon hızları, degradasyon sabitleri ve degradasyon ömürleri hesaplanmış ve biyoistatistik analiz ile degradasyonda anlamlı fark veren suşlar saptanmıştır. HDPE degradasyonunda yalnızca SG-9 (*Pseudomonas putida*) suşu anlamlı bir degradasyon sağlarken LDPE kuponlarında SG-8 (*Bacillus pumilus*), SG-10 (*Micrococcus yunnanensis*) ve SG-13 (*Bacillus mycoides*) anlamlı ( $p < 0,05$ ) bir degradasyon sağlamıştır.

Bu suşların degradasyon yetenekleri ağırlık değişim yüzdeleri ve FTIR analizi ile doğrulanmıştır.

Çalışmamızın sonucu; LDPE’nin biyodegradasyonunda foto-oksidasyon ve termal-oksidasyonun avantaj sağlarken HDPE’de bu oksidasyonların avantaj sağlamadığını ve mağara ortamlarından izole edilen suşların plastik biyodegradasyonunda potansiyel taşıdığını göstermektedir. |

Ocak 2025, |88| sayfa.

**Anahtar kelimeler:** | HDPE, LDPE, oksidasyon, biyodegradasyon, mağara |

## **SUMMARY**

**[M.Sc. THESIS]**

### **[INVESTIGATION OF POLYETHYLENE BIODEGRADATION POTENTIALS OF CAVE ISOLATES]**

**[Sena GÜLER]**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Sciences**

**[Department of Biology]**

**Supervisor : [Prof. Dr. [Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR]**

Plastic is the main component of important materials that have settled in every aspect of our lives with its discovery in the 19th century. Plastics find a place in every industry. For this reason, its use and waste rate is increasing day by day. Plastic waste is spread everywhere, including Antarctica, deep seas, caves and outer space. This situation seriously threatens living life and health, soil, air and water cleanliness.

There are many types of plastic. One of these types is polyethylene. PE is the main component of the packaging industry. Due to the prevalence of the packaging industry, polyethylene constitutes the largest waste and production volume on a global scale. There are chemical and physical degradation methods for the degradation of polyethylene waste. However, these methods do not provide complete degradation or cause the release of too many secondary toxic pollutants into the environment as a result of the degradation process. For this reason, recycling applications and biodegradation routes have gained importance as important alternative routes in recent years.

Recycling applications are realised with low efficiency, short life and small volume. This makes biodegradation more advantageous. Biodegradation of polyethylene takes place with the

metabolic activity of microorganisms. Microorganisms attached to the plastic form a biofilm; exoenzymes and various secondary metabolites are secreted in the biofilm and these compounds initiate degradation by breaking down the electrostatic forces on the plastic surface; large molecules are converted into smaller molecules and taken into the cell. This process is defined as Biodegradation. Biodegradation is an environmentalist approach that does not allow the release of toxic secondary pollutants compared to physical and chemical degradation. The most important agents in this type of degradation are enzymes that provide intracellular and extracellular metabolic activity.

However, not many microorganisms can show activity in the degradation of these inorganic and highly stable compounds. There are microorganisms with metabolic activity that can use various compounds as carbon sources. It is thought that these are important potentials for plastic degradation. This highlights microorganisms with metabolic activities compatible with nutrient-poor and extreme conditions.

In this study, it was aimed to investigate the ability of microorganisms isolated from cave environments, which are poor in most factors such as nutrients, heat, light and oxygen, in polyethylene biodegradation.

For this purpose, the degradation abilities of the strains isolated from various surface and soil samples of Yarik Sinkhole, Dupnisa and Morca Caves in Turkey were investigated. For this purpose, 14 of 30 randomly selected strains were selected according to the alkane monooxygenase gene region, lignolytic and lipolytic enzyme activities known to be active in PE degradation.

In order to analyse the degradation ability of these selected strains, two types of PE (HDPE and LDPE) were used in the degradation experimental setup with incubation periods of 60 and 120 days. In addition, the plastic coupons were classified as UV pre-treatment, temperature pre-treatment, UV+temperature pre-treatment, UV+temperature pre-treatment and no pre-treatment group to analyse the effect of photo-oxidation and thermal oxidation on degradation.

As a result of this experiment, weight change percentages, degradation rates, degradation constants and degradation lifetimes of the coupons were calculated and the strains giving significant difference in degradation were determined by biostatistical analysis. Only SG-9 (*Pseudomonas putida*) strain provided significant degradation in HDPE degradation, while SG-8 (*Bacillus pumilus*), SG-10 (*Micrococcus yunnanensis*) and SG-13 (*Bacillus mycoides*) provided significant ( $p < 0,05$ ) degradation in LDPE coupons.

The degradation ability of these strains was confirmed by weight change percentages and FTIR analysis.

The results of our study show that while photo-oxidation and thermal-oxidation are advantageous in the biodegradation of LDPE, these oxidations are not advantageous in HDPE and strains bed from cave environments have potential in plastic biodegradation. |

January 2025, 88 pages.

**Keywords:** | HDPE, LDPE, oxidation, biodegradation, cave. |

## 1. GİRİŞ

1950 yılında yaklaşık 1,5 milyon ton olarak üretilen plastikler her geçen yıl katlanarak üretilmesi ve atıklaşması sonucunda 2022 yılında dünyada 400,3 milyon ton plastik bulunmaktadır. Birçok çeşidi bulunan plastiklerin başlıcaları polietilen (PE), polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), polivinil klorür (PVC), poliüretan (PU) ve polistren (PS)'dir. Bu çeşitler tüm plastik endüstrisinin yaklaşık %90'ını oluştururken bunun içinde PE'ler yaklaşık %20'lik oranla en büyük yüzdeyi oluşturular (Wróbel ve diğ., 2023; Europe Plastics 2024).

Etilen polimerizasyonu sonucunda sentezlenen ve uzun zincirli etilen polimerlerinden oluşan bir termoplastik olan polietilen ambalaj sektörünü oluşturmaktadır. En yaygın bilinen ve kullanılan çeşitleri yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE/ High Density Polyethylene) ve düşük yoğunluklu polietilen (LDPE/ Low Density Polyethylene)'dir. Üretim işlemine bağlı olarak yan zincirleriyle çeşitlilik sağlanmaktadır. Yan zincirlerdeki çeşitlilik moleküler ağırlık ve yapısal dayanıklılık üzerinde etki göstermekte ve bozunmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle bozunması süreci 20-1200 yıl arasında değişiklik göstermektedir (Mukherjee ve diğ., 2017; Bardajı ve diğ., 2020; Chamas ve diğ., 2020).

Bozunması için gerekli olan bu sürenin uzunluğu çevrede birikmesine ve canlı ve cansız sağlığını tehdit eden önemli etmenlere dönüşmesine neden olmaktadır. Bunun önüne geçilmesi için çeşitli degradasyon yolları uygulanmaktadır. Plastik degradasyonu, polimerler bağlarının nem, oksijen, ısı, ışık ve çeşitli kimyasal etkileri sonucu parçalanmasıyla gerçekleşebilir (Lenz ve Marchessault, 2005; Nakei ve diğ., 2022).

Yaygın olarak bilinen yakma ile atık bertarafı en yüksek verimi sağlasa da degradasyon süreci ve sonrasında çevreye daha fazla toksik bileşiğin dağılmasına sebep olmaktadır. Bunun gibi diğer fiziksel ve kimyasal yöntemler aynı nedenden dolayı çevre için dezavantaj sağlamaktadır. Bu dezavantajlı yöntemlere alternatif olarak son dönemde biyodegradasyon popülerite kazanmıştır. Biyodegradasyon mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinden yararlanan, toksik bileşik oluşumuna izin vermeyen yeşil bir degradasyon yaklaşımıdır.

Biyodegradasyon mikroorganizmanın, plastiğe tutunması ve daha sonra hücre dışı ve içi metabolik aktiviteleriyle büyük moleküllerin küçük moleküllere dönüşmesi ve en sonunda

kendi için enerji kaynağı haline getirdiği bir süreçtir (Singh ve Sharma, 2008; Dang ve diğ., 2018).

Polietilen biyodegradasyonu için ilk defa *Streptomyces* cinsi bakterilerin ekzojen enzimlerinden yararlanılmıştır (Pometto ve diğ., 1992). Daha sonra yapılan diğer çalışmalar ile çeşitli ekosistemlerinden, doğal koşullarda izole edilen *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Alcanivorax*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Moraxella*, *Pencillium*, *Fusarium* ve *Aspergillus* cinslerinin polietilen biyodegradasyonda etkili olduğu gözlemlenmiştir (Restrepo-Flórez ve diğ., 2014; Abraham ve diğ., 2017; Montazer ve diğ., 2019; Ren ve diğ., 2019; Lv ve diğ., 2024).

Son zamanlarda canlıların hem çeşitlilikten hem uç şartlara uyumdan hem de degradasyonda etkili enzimlerden yararlanılmak için ekstrem ortamlardan izole edilen mikroorganizmaların potansiyelleri araştırılmaktadır.

Ekstrem ortamlar için önemli örneklerden birini mağaralar oluşturmaktadır. Mağaralar besin, sıcaklık, ışık, oksijen gibi koşullarca fakir alanlardır. Bu durum buradaki ekosistemin bu şartlara uyumlu olarak gelişmesini ve çeşitlenmesini sağlar. Normale kıyasla anormal kalan bu şartlara uyum sağlamak için daha farklı metabolik aktivitelere sahip mikroorganizmaların çok çeşitli biyoteknolojik potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Bunlar için; izole bir alanda yaşadıkları ve diğer mikroorganizmalara karşı kullandıkları savunma mekanizmaları ile tıp ve tarım sağlığındaki etkinliği; güneş ışığı olmadığında fotosentez yapamadıkları ve dışsal besin ve enerji eksikliğini telafi etmek için karbon, azot, kükürt ve demir, mangan gibi metallerin biyojeokimyasal döngülerinde metabolik aktivite gösterebilmeleri sonucu biyodegradasyon ve biyobeton üretme yeteneği olarak örneklendirilebilir (Zada ve diğ., 2021; Zhu ve diğ., 2022).

Çalışmamızda Türkiye’de bulunan Yarık Düdeni, Dupnisa ve Morca mağaralarından elde edilen suşların polietilen degradasyonundaki potansiyelinin incelenmesi hedeflenmiştir. Suşların; enzim aktiviteleri, polietilen çeşitleri, inkübasyon sürelerinin, inkübasyon öncesi ön işlem uygulama farklılıklarındaki biyodegradasyon aktivitesi ve degradasyon karakterizasyonu değerlendirilmiştir. |

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1.PLASTİK NEDİR?

1855 yılında İngiltere’de keşfedilen; ham petrol, doğal gaz ve kömür gibi fosil kaynaklardan elde edilen plastikler, petrol türevi organik polimerler ailesine ait bir grup bileşik olarak tanımlanır ve günümüzde yaygın kullanım alanlarına sahiptir (Benavides ve diğ., 2020). Bu bileşikler ucuz üretim maliyetleri, düşük yoğunluk, yüksek elastikiyet ve aşınmaya dirençli yapıları gibi çok yönlü özellikleri nedeniyle her endüstride kullanılabilir konumdadır. Başta ambalaj sanayi olmak üzere, inşaat ve yapı, otomotiv, elektrik-elektronik, tarım ve çiftçilik, ev eşyaları, eğlence ve spor sektörlerinde plastikler önemli bileşenlerdir ( Nakei ve diğ., 2022; Wróbel, ve diğ., 2023, Europe Plastics 2024).

1950 yılında yaklaşık 1,5 milyon ton olarak üretilen plastiklerin, 2022 yılında dünyada 400,3 milyon ton, Avrupa’da 64,5 milyon ton, Türkiye’de ise 7,3 milyon ton üretimi gerçekleşmiştir. Avrupa’daki üretimin yaklaşık %80’i fosil kaynaklı plastiklerdir. Yaklaşık %20’lik kesimi ise çeşitli yollarla geri dönüştürülen plastikler ve biyobazlı plastikler oluşturmaktadır. 2022 yılında %20 olan, doğrudan fosil kaynaktan üretilmeyen plastiklerin oranının, 2030 yılında %25, 2050 yılında ise %65’e yükseleceği öngörülmektedir (Europe Plastics, 2024; Benavides ve diğ., 2020; Wróbel ve diğ., 2023).

Plastikler genel olarak iki ana grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar termoplastikler ve termoset plastiklerdir. Termoplastikler, monomerlerin uç uca, uzun, tek karbon zincirine birleştiği lineer zincirli makromoleküllerdir. Bu tür polimerizasyon, ekleme polimerizasyonu olarak bilinmektedir. Polietilen ve polipropilen bu grubun örneklerindedir. Poliüretan gibi termoset plastikler ise, her reaksiyon adımında H<sub>2</sub>O, HCl gibi küçük yan ürünlerin serbest bırakılmasıyla çift işlevli moleküllerin, moleküller arası yoğunlaşmasıyla uygun koşullar altında aşamalı büyüme polimerizasyonu ile oluşturulur. Bu grupta, monomerler ısı işlem altında bazı kimyasal değişimlere uğrar ve geri döndürülemez bir şekilde erimez bir katıya dönüşür (Singh ve Sharma, 2008).

Bu iki ana grup içerisinde plastikler birçok moleküler farklılıklarına göre de çeşitlenmektedir. Bu çeşitlerin başlıcaları polietilen (PE), polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), polivinil

klorür (PVC), poliüretan (PU) ve polistren (PS)'dir. Bu çeşitler tüm plastik endüstrisinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır (Wróbel ve diğ., 2023, Europe Plastics 2024).

### 2.1.1.Polietilen Nedir?

1899 yılında Alman kimyager Hans von Pechmann tarafından kazara keşfedilen PE'nin günümüzde, tüm endüstri ürünleri için ambalaj olarak yaygın bir kullanımı vardır. 2022 verilerine göre plastik üretiminde polietilen, %26,3'lük bir yer kaplamaktadır (Wróbel ve diğ., 2023; Europe Plastics, 2024).

PE, etilen polimerizasyonu sonucunda sentezlenir ve uzun zincirli etilen polimerlerinden oluşan bir termoplastiktir. ( $C_nH_{2n}$ ) formülasyonuna göre farklı sayıda karbon atomuna sahip yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE/High Density Polyethylene), düşük yoğunluklu polietilen (LDPE/Low Density Polyethylene), lineer düşük yoğunluklu polietilen (LLDPE/Linear Low Density Polyethylene) ve çapraz bağlı polietilen (XLPE/ Cross-Linked Polyethylene) gibi birkaç PE çeşidi vardır (Bardají ve diğ., 2020; Rodriguez ve Durán 2020). Polietilenin katalitik ve serbest radikal polimerizasyonu gibi iki farklı yoldan sentezi sağlanır (Stürzel ve diğ., 2016). Üretim işlemine bağlı olarak yan zincirlerde çeşitlilik sağlanmaktadır. Bu nedenle oldukça değişken yapıdadır. Yan zincirlerdeki bu tür modifikasyonlar moleküler ağırlık ve yapısal dayanıklılık üzerinde etki göstermektedir (Bardají ve diğ., 2020).

Polietilen; basit ve ucuz yapılı, kimyasal direnci yüksek, nispeten iyi fiziksel özellikler gösteren, diğer polimerlerin büyük çoğunluğundan daha düşük yoğunluğu ve nispeten düşük çevresel etkisi nedeniyle endüstriyel alanda öne çıkan plastik çeşitlerindedir (Jeremic, 2014). Polietilen içerisinde çeşitlilik, polietilenin yoğunluğu, dallanma derecesi, yüzeydeki işlevsel grupların varlığı ve işlevsel grupların çeşitliliği ile sağlanmaktadır. Mekanik dayanıklılığı ise hidrokarbon zincir konformasyonlarına ait bitişik parçalar arasındaki kovalent olmayan van der Waals etkileşimlerinden kaynaklanır. Bu etkileşimlerle oluşan kristal yapı mekanik dayanıklılığı artırmaktadır (Jeremic, 2014; Schwab ve diğ., 2024).

Endüstride polietilen çeşitlerinden, HDPE ve LDPE materyallerinin üretim ve kullanımı daha yaygındır. HDPE yapısında, LDPE'den daha yüksek olan moleküller arası kuvvet ve gerilme dayanıklılığı sağlayan dal yapısı içerir (Bardají ve diğ., 2020). Kristal yapı oluştururken dallanması daha az olduğu için kristal yapısı daha düzenli ve dayanıklılığı daha fazladır (Jeremic, 2014; Schwab ve diğ., 2024). Ayrıca HDPE, LDPE'e göre daha yüksek sıcaklıklara

dayanabilen, daha sert ve opak olan fiziksel bir yapıya sahiptir (Balasubramanian ve diğ., 2010; Bardajıve diğ., 2020) LDPE daha düşük sıcaklıklara dayanabilir, opak çeşitleri olsa da genellikle yarı saydamdır. Dallı kimyasal yapıda olması LDPE'ye dayanıklılık ve esneklik katar ancak yine de kırılabilir bir formu vardır (Abraham ve diğ., 2017; Bardajı ve diğ., 2020). Polietilen materyallerin kullanım ömürleri kararlı yapılarına göre değişiklik gösterirken LDPE gibi kısa ömürlü veya HDPE materyaller gibi 50 yıldan fazla kullanılabilir (Schwab ve diğ., 2024). Yoğunluklarındaki farklılık dışında yapılarındaki dallanmaların çeşitliliğine göre gösterdiği farklılık ile LLDPE ve XLPE olarak bilinen türleri de mevcuttur (Restrepo-Flórez ve diğ., 2014; Jeremic, 2014).

Polietilen eldesinde hammadde olarak fosil kaynaklar veya biyokütle kullanılır. Fosil türevleri, etilen gibi daha hafif hidrokarbonlar üretmek için yüksek sıcaklık ve basınç kullanan bir teknikle hidrokarbonlardan üretilir. Ham petrol ve doğal gaz, etilen üretmek için kullanılan birincil hammaddelerdir (Benavides ve diğ., 2020). Biyokütle kaynaklı etilen (biyo-etilen) ise mısır, şeker kamışı sapı, buğday gibi bitkilerden elde edilen katalitik olarak susuzlaştırılmış etanolden üretilir. Biyoetilen daha sonra geleneksel polietilen polimerizasyon süreçlerinde kullanılabilir. Kullanılan hammaddenin türü ne olursa olsun, biyo-PE ve fosil PE, özdeş polimerler oldukları için uyumludur (Benavides ve diğ., 2020).

PE'nin bozunmasındaki zorluk, yüksek kimyasal bağ enerjisine ve yüksek moleküler ağırlığına sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca PE, sulu çözeltilerde çözünmesini engelleyen güçlü hidrofobik bir yapıya sahiptir (Ren ve diğ., 2019; Nakei ve diğ., 2022). LDPE'lerden çok daha kararlı yapıda olan HDPE'lerin petrokimyasal veya organik orijinli olması fark etmeksizin doğada bozunması için 100 yıldan fazla zaman geçmesi gerektiği kaydedilmiştir (Oliveira ve diğ., 2021).

## 2.2. PLASTİK KİRLİLİĞİ

Plastikler çevrede makro, mikro (çapı 1 mm'den küçük) ve nano (çapı 1  $\mu\text{m}$ 'den küçük) boyutta bulunabilmektedir. Plastik ve atıklarının tüm boyutlarının çevresel, ekonomik ve sağlık alanında ciddi etkileri mevcuttur.

Sağlık ve çevre konusundaki dezavantajlarına rağmen kolay şekil alabilme, yüksek esneklik, aşınmaya dirençli yapıları ve ucuz üretimi nedeniyle plastik üretim ve kullanımı hala popüleritesini korumaktadır (Nakei ve diğ., 2022). Üretim maliyetinin geri dönüşüm

maaliyetinden oldukça düşük olması da plastik atıklarının çevrede birikmesinin önemli nedenlerindedir (Yao ve diğ., 2022). Biriken bu plastikler denizel ve karasal kirliliklere sebep olmaktadır. Bu da bu ortamlarda yaşayan canlıların olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır. Bunun yanı sıra bu kirlilikler yaydıkları sera gazları, furan, poliaromatik hidrokarbonlar, aldehitler gibi toksik bileşenlerle havayı da kirletmektedir. Tüm bunlar genel anlamda iklim değişikliklerine sebep olmakta ve küresel ısınmayı etkilemektedir.

Makro-plastikler; kanalların tıkanmasına, hayvanların solunum ve sindirim yollarında hasarlara, manzara estetiğinde bozulma ve değer düşmesine sebep olarak çeşitli olumsuz etkiler göstermektedir. Mikro-plastikler; canlı sistemlerinde tıkanmalara, vücut için toksik etkiler oluşturmaya veya patojen canlıların üzerine yapışması ile oluşturduğu kolonilerle enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Nano-boyuttaki plastiklere ise mikro-plastiklerin sebep olduğu olumsuz etkilere ek olarak insan da dahil olmak üzere çeşitli canlıların üreme sistemlerinde bulunarak toksik etkiye sebep olabilmektedir (Nikiema ve diğ., 2020).

### **2.2.1. Denizel Kirlilik**

Su kütlelerinde, okyanus tortularında, Arktik ve Antarktika bölgelerinin derin deniz tortularında hatta dünyanın en derin noktası olarak bilinen, Büyük Okyanus'taki Mariana (Challenger) Çukuru'nda bile plastik ambalaj, lif, granül atıkları bulunmuştur (Wright ve Kelly, 2017; Sharma ve diğ., 2021; Wróbel ve diğ., 2023).

Her yıl yaklaşık 8 milyon ton plastiğin okyanusa salındığı tahmin edilmektedir. Bunun yanı sıra okyanustaki plastik kirliliğinin %80'inin karada başlayarak nehirler aracılığıyla okyanuslara ulaştığı ve şu anda okyanuslarda 5 trilyondan fazla plastik atığının olduğu tahmin edilmektedir (Rochman, 2018; Wang ve diğ., 2020; El-Sherif ve diğ., 2022). Nehirler ve yer altı sularıyla taşınan kirliliğin yanı sıra kıyı şeritleri de denizel plastik kirliliğinin önemli kesimlerini oluşturmaktadır.

Kıyı bölgelerindeki mikro-plastik kirliliğinin en önemli sorunları, artan nüfus yoğunluğu, turizm, deniz limanları ve kıyı faaliyetlerinin sonucunda tek kullanımlık plastik ürünlerinin bilinçsiz salınımıdır. Farklı kıyı faaliyetleri sonucunda yıllık, kişi başı, 8,8 kg makro-plastik ve 0,18 kg mikro-plastiğin sulara salındığı tahmin edilmektedir. Salınan plastiklerin de %50'den fazla kısmını polietilen atıklar oluşturmaktadır. Polietilen atıkları ise polipropilen ve polistiren atıklar takip etmektedir (van Wijnen ve diğ., 2019; Wang ve diğ., 2020; Sharma ve diğ., 2021).

Deniz ve kıyı şeritlerinde yüksek miktarda bulunan bu plastik atıklar, deniz canlılarının dikkatini çekerek atıklara yaklaşımları sonucu atıkların onlara dolanmalarına ve bu nedenle canlılarda organ, doku ve can kayıplarına sebep olmaktadır. Atıkları av sanan canlılar tarafından tüketilerek canlı vücudunda toksik etkiler göstermese de, immün ve nörolojik sistem bozulmalarına sebebiyet vermektedir (Zhang ve diğ., 2021; Yao ve diğ., 2022).

Zebra balıklarıyla yapılan birkaç çalışmada balıkların solungaç ve midelerinde polietilen parçacıkları bulunmuş ve bağırsaklarının %89'unun polietilenle kaplandığı tespit edilmiştir. Bu plastik maruziyetinin bir sonucu olarak balıklarda doğurganlıkta azalma, nörotoksisite ve enerji metabolizmalarında bozulmalar nedeniyle davranışlarda değişiklikler tespit edilmiştir (Mak ve diğ., 2019; Zhang ve diğ., 2021). Başka bir araştırmada balina ve deniz kuşlarının mikro-plastik yutma oranının çok arttığı görülmüştür. Doğrudan mikro-plastik yemelerinin yanı sıra mikro-plastik ile beslenen canlılarla beslenmeleri de bu oranı arttırmıştır. Mikro-plastik maruziyeti vücutta toksik etkiler bırakarak canlıların yaşam ömrünü kısaltabilmekte ve üreme davranışlarını azaltabilmektedir (Fossi ve diğ., 2018; Sharma ve diğ., 2021). Bir diğer çalışmada ise 200'den fazla türün mikro-plastik ile beslendiği ve bunların %50'den fazlasının ticari süreçlerle ve gıda sektörüyle insanla etkileşimde olduğu tespit edilmiştir (Lusher ve diğ., 2017).

### **2.2.2. Karasal/ Tarımsal Kirlilik**

Karasal anlamda plastiğin kirliliği en fazla çöplüklerde ve tarım alanlarında görülmektedir. Plastik atıkların yaklaşık %80'i çöplüklerde bulunmaktadır. Aynı zamanda tarım alanında depolama ve ürünün korunması için yaygın bir plastik kullanımı vardır. Çeşitli tipteki plastik atıklar, çamur, gübre, atık su kullanılarak yapılan sulama, depolama, biyolojik katı maddeler ve diğer kaynaklar gibi farklı yollardan toprak yüzeyine yerleşerek veya toprak katmanlarına nüfuz ederek toprağı ve yer altı su kaynaklarını kirletmektedir (Ali ve diğ., 2021; El-Sherif ve diğ., 2022).

2012 yılında tarımsal amaçlar için yaklaşık 4,4 milyon ton plastik film tüketimi gerçekleştiği ve bu filmin %40'ından fazlası toprak malçlama için kullanılmış olabileceği belirtilmiştir. Plastik film pazarının 2019-2027 yılları arasında yılda ortalama %6 oranında genişleyebileceği öngörülmektedir (J. G. Lee ve diğ., 2021). Plastik filmlerinin küresel pazar değerinin 2021'de yaklaşık 5 milyar ABD doları olduğu ve 2026 yılı sonuna kadar tahmini 6,7 milyar ABD

dolarına çıkacağı tahmin edilmektedir. Bunun yanında istatistiklere göre, Asya-Pasifik bölgesi, küresel tarımsal plastik filmde en büyük pazar payına sahiptir. Çin Kırsal İstatistik Yıllığı'na göre ise 2020 yılında 1,35 milyon tondan fazla tarımsal malçlama filmi tüketilmiş ve bu da 173,89 bin km<sup>2</sup>'lik bir alanı kaplamıştır (Tan ve diğ., 2023).

Tarımda ekinlerin nem oksijen dengesinin sağlanması, hava şartlarından, çeşitli böcek ve yabancı ot istilalarında korunması için veya ekin sonrası elde edilen ürünlerin depolanması için yaygın bir plastik kullanımı görülmektedir (El-Sherif ve diğ.s, 2022; Tan ve diğ., 2023).

Ancak karasal alanın, başta LDPE olmak üzere plastikler ile kontaminasyonu sonucunda toprağın kimyasal bileşimi, yapısı ve işlevi değişmiş; topraktaki mikro ve makro organizmalar değişim ve dönüşüm göstermiştir. Bu değişimler toprağın azot, fosfor, mikroorganizma metabolizması gibi çeşitli etmenleri etkilemiş azalma veya kaybetme durumlarına sebep olmuştur. Bu da toprağın ürün için verimini ve biyolojik bozunma etkisini düşürmektedir (de Souza Machado ve diğ., 2019). Aynı zamanda mikro-plastikler toprağın pH'ını ve normal mikroflorayı değiştirerek bitkilerin bodur büyümesine neden olabilmektedir. Tüm bunlar biyoçeşitlilik ve ekosistemi olumsuz yönde etkilemektedir (Somanathan ve diğ., 2022).

### **2.2.3. Hava Kirliliği**

Plastik atıkların bertarafında yakma yönteminin kullanılması atmosfere çeşitli kirleticiler salar ve hava kirliliğinin başlıca kaynaklarından birini oluşturur. Yakma yoluyla salınan başlıca kirleticiler partikül maddelerdir. Bunlar; metaller, aldehit, metan, azot oksitler, karbon monoksit, karbondioksit, furan, poliaromatik hidrokarbonlar, uçucu organik bileşikler, çevredeki ağır metaller, inorganik tuzlar ve organik bileşiklerin seviyelerini artıran katı madde (yani kül, kalıntı) gibi diğer maddeleri içerir. Partikül maddeler katı veya aerosol olarak salınabilir ve ağır metalleri, asitleri ve eser organik bileşikleri içerebilir. Yakma işleminde partikül maddeleri, kontrol seviyesi ve gaz sıcaklığı üretilen emisyonları etkiler. Ancak, çoğu yakma tesisi ek hava kirliliği kontrol cihazları olmadan çalışır ve bu da atmosfere zararlı gazların salınmasına sebep olur (Ali ve diğ., 2021). Havaya salınan bu toksik bileşenler tüm canlıların sağlığını etkilemekte ve çeşitli riskler oluşturmaktadır. Bununla beraber büyük ölçekte ozon tabakasına zarar verebilmekte, iklim değişiklikleri ve küresel ısınmayı tetiklemektedir.

## 2.3. PLASTİK DEGRADASYONU

Plastik degradasyonu, polimerler bağlarının nem, oksijen, ısı, ışık ve çeşitli kimyasal etkileri sonucu parçalanmasıyla gerçekleşebilir (Lenz ve Marchessault, 2005; Nakei ve diğ., 2022). Plastik atıklar günümüzde mekanik geri kazanım, yakma ve piroliz yöntemleriyle işlenmektedir. Yakma işlemi atık miktarının azaltılmasındaki en verimli yöntemdir. Ancak bu işlem esnasında çevreye makroalkil radikaller, peroksil radikalleri, formaldehit, asetaldehit, formik asit, asetik asit gibi birçok toksik maddenin yayılmasına sebep olmaktadır (Singh ve Sharma, 2008). Mekanik geri dönüşüm uygulamaları son dönemde oldukça popüler olsa da atık bertarafında verimi düşük bir yöntemdir. Atık plastiğin türü, temizliği ve saflığı bu yöntem için önemli parametrelerdir. Bir başka yöntem ise pirolizdir. Piroliz, oksijensiz ortamda yüksek sıcaklık ile gerçekleşen bir ayrışma işlemidir. Ancak pirolizden elde edilen ürünlerin daha fazla ayrıştırılması gerekmektedir bu nedenle daha çok aşamalı ve uzun bir prosedürdür (Song ve diğ., 2022).

Bunların yanı sıra 1900'lü yılların başlarında biyolojik aktivite ile plastiklerin bozunabileceği belirlenmiştir (Lenz ve Marchessault, 2005; Nakei ve diğ., 2022). Doğada ise plastik degradasyonu birkaç yolağın beraber ve peş peşe gerçekleşmesiyle sağlanmaktadır. Bu süreç fizikokimyasal degradasyon ve biyolojik degradasyon (biyodegradasyon) yoluyla gerçekleşir. Fotodegradasyon, termo-oksidatif degradasyon, hidrolitik degradasyon ve biyodegradasyon çevrede plastik degradasyonunun ana mekanizmalarını oluşturur (Ali ve diğ., 2021).

Plastik üretimindeki hammadde, plastik çeşidi, üretim teknikleri ve üretim esnasında eklenen katkı maddeleri doğada degradasyon yollarının işleyişinde oldukça önemlidir. Bu etmenler plastiklerin fizikokimyasal degradasyon sürecini ve biyofilm oluşumunu etkilemektedir. Bu durum da bunları takip eden biyolojik degradasyon sürecini etkilemektedir (Ali ve diğ., 2021). Parçalanma sürecinde fotokimyasal degradasyon toprak ve suyun kalitesini bozan yüksek toksik etkiye sahip bileşenlerin ortaya çıkmasını sağlarken biyodegradasyonda bu durum söz konusu değildir. Ancak biyodegradasyon fotokimyasal degradasyona kıyasla oldukça yavaş ilerleyen bir süreçtir (Ali ve diğ., 2021).

### 2.3.1. Biyodegradasyon

1961 yılında Alman araştırmacı Fuhs ilk defa, bazı mikroorganizmaların karbon kaynağı olarak parafini tüketme kapasitesine sahip olduğunu bildirmiştir (Fuhs, 1961). Bu keşfin ardından

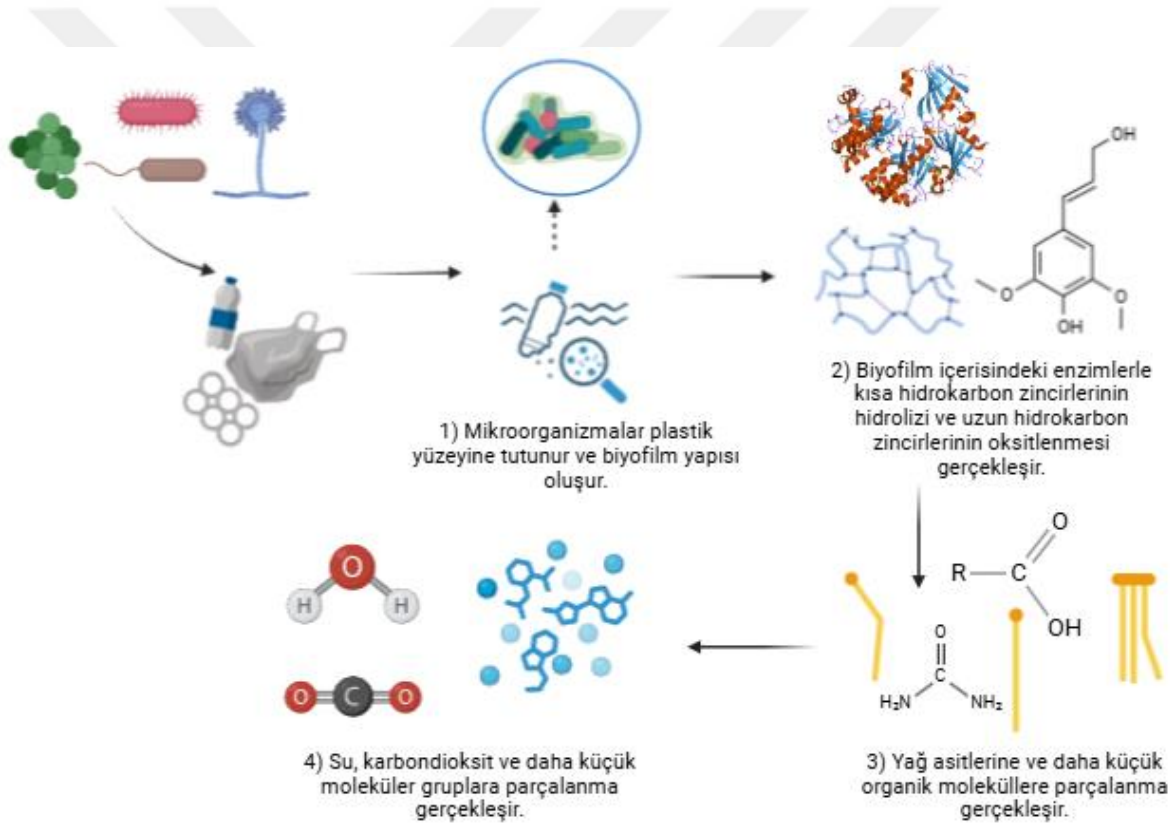
farklı plastik gruplarının biyolojik bozunma potansiyeli için çeşitli mikroorganizmaların araştırılmasına devam edilmiştir. Bu mikroorganizmalar arasında *Arthrobacter*, *Aspergillus*, *Micrococcus*, *Penicillium*, *Pseudomonas* ve *Rhodococcus* cinsleri başlıca biyolojik parçalayıcılardır (Abraham ve diğ., 2017; Bardajı ve diğ., 2020).

Bu mikroorganizmalar karbon kaynağı olarak plastik kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahiptir. Metabolizmaları plastik parçalayıcı yapıya sahip endojen ve eksojen enzimler sentezlemektedir ve bunlar ile yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin CO<sub>2</sub>'ye ayrışması veya farklı alt birimlere parçalanması sağlanabilmekte ve bu sayede plastiği kendisi için karbon kaynağına çevirebilmektedir. Bu yetenekteki mikroorganizmalar plastik degradasyonundaki biyolojik faktörler sınıfını oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalardan, bazıları doğada bağımsız ve tek başına bir yaşam sürdürebilirken; bitki, un kurdu, solucan, salyangoz ve bazı böcek çeşitleri gibi makro organizmalarla simbiyotik ilişkiler kurup bu şekilde yaşamını sürdüren grupları da vardır ( Dang ve diğ., 2018; Ren ve diğ., 2019; Bardajı ve diğ., 2020; El-Sherif ve diğ., 2022). Bu mikroorganizmalar tek başlarına degradasyon sağlayabildikleri gibi çeşitli türlerin bir araya gelerek oluşturdukları kompozisyonlarla da degradasyon sürecini tamamlayabilmektedir (Shah ve diğ., 2008; Nakei ve diğ., 2022).

Degradasyon esnasında saf suşların kullanıldığı deney düzeneklerinin kurulması ve/veya gözleminin sağlanması degradasyon sürecindeki metabolik yolların ve saf suşun verim ve yeteneğinin aydınlatılmasına olanak tanımaktadır. Ancak aynı zamanda karışık türlerle oluşturulan mikrobiyal topluluklar daha karmaşık ve parçalanması zor polimerlerin monomerlere parçalanmasına imkân vermekte ve çeşitli türlerin bir arada yaşayabilme, birbirlerine destek verme ve çalışabilme yeteneği hakkında bilgi vermektedir. Ek olarak, karışık türlerin beraber metabolik aktivite gösterdiği durumlarda polimerin kütlelerinin topluluktaki çeşitlilikle ters orantılı olarak azaldığı raporlanmıştır (Bardajı ve diğ., 2020).

Aerobik ve anaerobik ortam koşullarının ikisinde de biyodegradasyon yeteneğine sahip mikroorganizmalar vardır. Mantarlar aerobik koşullara bağlıyken bakteriyel bozunma her iki koşulda da devam edebilir. Aerobik degradasyon toprak ve su ekosistemlerinde H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> ve organik molekül üretimiyle gerçekleşirken anaerobik degradasyon genellikle çöplük ve çöktelerde H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, mikrobiyal biyokütle ve metan ürün eldesiyle gerçekleşir (Bhardwaj ve diğ., 2013; Abraham ve diğ., 2017; Bardajı ve diğ., 2020).

Plastik biyodegradasyonu 4 aşamalı metabolik bir süreçle gerçekleşir: 1) mikroorganizmalar plastik yüzeye tutunur ve ekstraselüler matriks vb. aracılığıyla biyofilm tabakası oluşur ve gelişir, aynı zamanda biyofilm yapısının çözünmesinin ve parçalanmasının engellemesi için hidrofilik grupların üretimini sağlar; 2) gelişen biyofilm tabakasıyla beraber buradaki popülasyon tarafından sentezlenen enzimler ile kısa zincirli hidrokarbonlar hidroliz edilirken uzun zincirli hidrokarbonlar oksitlenir, bununla beraber yeni bağlar oluşur; 3) daha fazla parçalanmanın gerçekleştiği aşamadır, kısa zincirli hidrokarbonlar yağ asitlerine ve daha küçük organik moleküllere ayrışır; 4) yağ asitlerinin oksitlendiği, su, CO<sub>2</sub> ve daha küçük organik moleküllere ayrıştığı son aşamadır (Singh ve Sharma, 2008; Bhardwaj ve diğ., 2013; Dang ve diğ., 2018; Ren ve diğ., 2019).



Şekil 2.1: Biyodegradasyon aşamalarının şeması.

Biyodegradasyon; diğer yöntemlere göre parçalama esnasında toksik ikincil kirletici üretmeyen, ucuz ve verimli bir atık bertaraf yöntemidir (Atanasova ve diğ., 2021). Biyodegradasyonda; polimerin yapısı ve çeşidi, mikroorganizma çeşidi ve türü, metabolik yolda kullanılan enzim, öncesinde uygulanan ön işlem, pro-oksidan kullanımını önemli etkenlerdir (Sen ve Raut, 2015; Bardajı ve diğ., 2020).

Bu etkenler bozunmanın kolaylaşması için; polimerlerin polilaktik asit (PLA), polikaprolaktum (PCL) gibi biyolojik olarak parçalanabilen sentetik polimerlerle harmanlanması, degradasyon verimi yüksek mikroorganizmaların kültürlenmesi, mikroorganizmalara uygulanan genetik modifikasyonlarla degradasyon yeteneklerinin iyileştirilmesi, yüzey aktif maddeler kullanılarak veya mikroorganizmanın sürfaktan üretiminin teşvik edilmesiyle mikroorganizmaların polimer yüzeyine tutunmasının sağlanması, ön işlem olarak sıcak hava fırını ile termal, UV, mikrodalga, yüksek enerjili radyasyon ve kimyasal işlem uygulanması gibi yollarla kullanılmaktadır (Bhardwaj ve diğ., 2013).

### **2.3.1.1. Polietilenin Biyodegradasyonu**

#### **Polietilenin Biyodegradasyon Mekanizması**

Polietilenin biyodegradasyonu ilk defa 1992'de Pometto ve diğ. tarafından araştırılmaya başlanmıştır. Polietilen biyodegradasyonu için *Streptomyces* cinsi bakterilerin ekzojen enzimlerinden yararlanmışır (Pometto ve diğ., 1992). Yapılan diğer çalışmalarla toprak ve su ekosistemlerinden, doğal koşullarda izole edilen *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Alcanivorax*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Moraxella*, *Pencillium*, *Fusarium* ve *Aspergillus* cinslerinin polietilen biyodegradasyonun efektif biyolojik ajanlar olduğu raporlanmıştır. Bunlar plastiğin kütleini azaltmanın yanında plastiklerin polihidroksialkanoatlara dönüşmesine de olanak tanıyabilmektedir ( Restrepo-Flórez ve diğ., 2014; Abraham ve diğ., 2017; Montazer ve diğ., 2019; Ren ve diğ., 2019; Wróbel ve diğ., 2023; Lv ve diğ., 2024).

Polietilen, 10C-50C atomu arasındaki n-alkanların  $\beta$ -oksidasyonuna benzer şekilde oksitlenebilir ve ardından bozunabilir. Ancak genelde bu bozunmayı sağlayan enzimler hücre içi enzimleridir ve bu nedenle daha ufak yapıları polietilenler hücre içine alınarak bu süreçler gerçekleşir. Bu aerobik biyodegradasyon bakteriler tarafından 4 ana aşama (biyodegradasyon, biyofragmentasyon, biyoasimilasyon ve minerilizasyon) ile gerçekleşir: bakteriler tarafından salınan oksidatif enzimler ile uzun karbon zinciri boyunca karbonil grupların oluşumu katalizlenir, bunu takip eden daha fazla oksidasyon sonucunda karbonil gruplar karboksilik asitlere katalizlenir; bu bozunmadan sonra karbon zincirlerinde parçalanmalar ve yan ürünlerin oluşumu gerçekleşir, malzeme yüzeyinden aşınmalar gerçekleşir; ortaya çıkan küçük hidrokarbon zincirleri hücre içine alınarak  $\beta$ -oksidasyon mekanizmaları ve sitrik asit döngüsü

ile metabolize edilir; son aşama ise mineralizasyon aşamasıdır ve katabolize edilmiş ürünler CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ve mikrobiyal biyokütleyle dönüştürülür (Krueger ve diğ., 2015; Montazer ve diğ., 2019).

PE'nin fiziksel özellikleri, ultraviyole (UV) ışınına maruz bırakılarak değiştirilebilir. Çünkü UV karbon ve hidrojen bağlarını kırarak serbest radikallerin serbest kalmasına neden olur. Bu durum da PE'nin daha küçük moleküllere parçalanmasını sağlar. UV ile yapılan ön uygulama bakterinin plastik yüzeye tutunmasını ve bunu takip eden süreçte polimerin hidrofilik özelliğini artırarak degradasyonunun kolaylaşmasını sağlar (Sen ve Raut, 2015; Bardají ve diğ., 2020).

Pro-oksidadanlar; oksidatif stresi indükleyebilir, reaktif oksijen türleri üretebilir ve antioksidan sistemleri inhibe edebilir özellikteki kimyasallardır. Pro-oksidadanlar plastiklerin degradasyonunda polimerin mikrobiyal faaliyet öncesinde daha dayanıksız hale getirilmesi için kullanılan önemli ajanlardır. Araştırmacılar, pro-oksidadanlar sayesinde degradasyon sürecinin çevrede uzun vadeli mikropartikül birikiminin azaltılabileceğini öngörmektedir. Örneğin nişasta ve mangan iyonlarının PE üretimine dahil edilmesinin, PE'nin biyodegradasyona daha duyarlı hale gelmesine olanak verdiği kaydedilmiştir. Bunlar PE'nin hidrofilik aktivitesini değiştirme yeteneğine sahiptir. Mikroorganizmaların amilaz aktivitesi bu bölgelerde biyodegradasyonun daha kolay gerçekleşmesine olanak tanır ( Muthukumar ve Veerappapillai, 2015; Bardají ve diğ., 2020).

### **Polietilen Biyodegradasyonunda Mikroorganizmalar**

Günümüzde 90'dan fazla mikroorganizmanın PE degradasyonunda etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir. Verimi yüksek olmasa da PE degradasyonunda etki gösteren diğer bakteri cinsleri *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Chelatococcus*, *Ideonella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Stenotrophomonas* sp. iken, mantarlarda *Chaetomium*, *Phanerocheate*, *Trichoderma* sp. olarak örnek verilebilir (Abraham ve diğ., 2017; Montazer ve diğ., 2019; Bardají ve diğ., 2020). Mantarların degradasyondaki verimi ve yeteneği bakterilere göre daha yüksektir ancak bakterilerin çeşitliliği mantarlara göre daha fazladır (Muhonja ve diğ., 2018).

Her plastik çeşidi üzerinde aktivite gösteren enzim değişebilmektedir. Genellikle oksidoredüktaz ve hidrolaz enzimlerinin depolimerizasyonu ile degradasyon gerçekleştirilir. PET üzerinde lipazlar ve proteazlar; PU'lar için üreaz ve esterazlar; PE için lakkaz, esteraz,

lipaz, manganez/lignin peroksidazlar ve kütinaz belirgin bir rol oynayabilmektedir (Dang ve diğ., 2018; Bardajı ve diğ., 2019). Bu enzimler temel prensipte polimerin kimyasal bağlarını kopararak daha küçük moleküllere parçalanmasını sağlarlar. Bu parçalanmanın ardından mikroorganizmalar küçük molekülleri hücre içine alarak karbon kaynağı olarak kullanabilirler (Bardajı ve diğ., 2020).

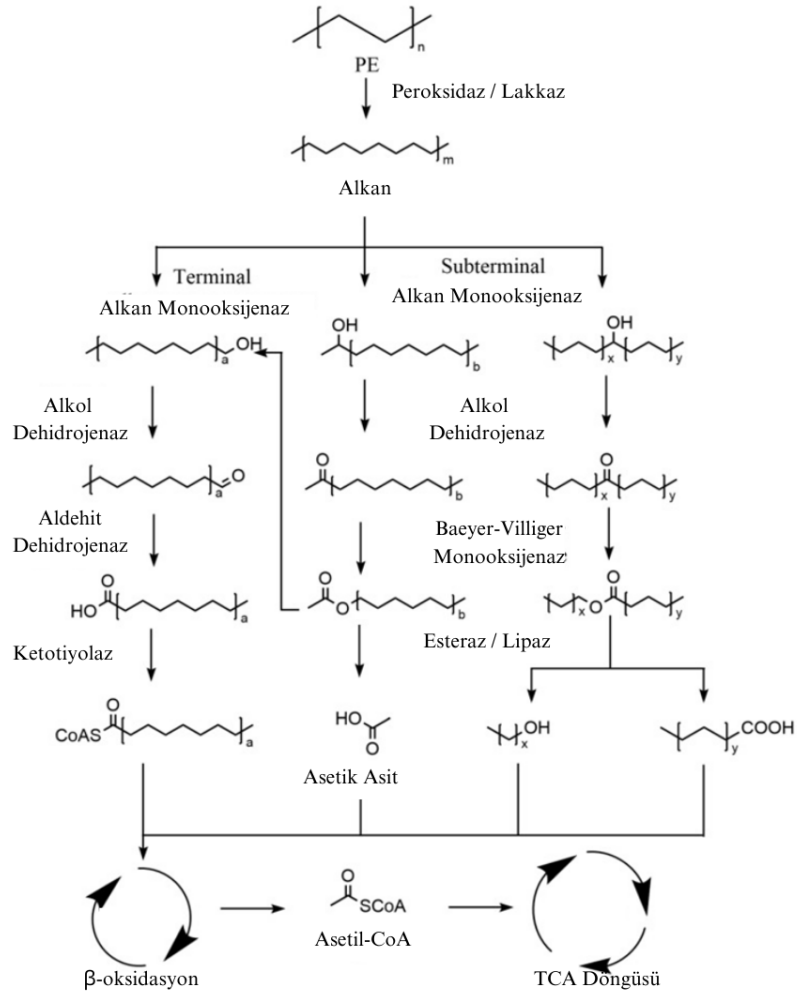
Lignin, fenolik olmayan aromatik halkalar, çeşitli eter ve C-C bağları gibi yapısal elementlere sahip olması ve hidroliz edilememesi nedeniyle plastıklere benzemektedir. Yapısındaki bu elementlerin oksitlenmesi ve parçalanması sonucu lignin bozunması gerçekleşir. Polietilenin C-C bağlarının parçalanması için ligninin bu yapılarını oksitleyen enzimlerden yararlanılabilmektedir. Bunlar lignolitik enzimler olan manganez peroksidaz (MnP) ve lignin peroksidazlar (LiP) ve lakkazlar olarak öne çıkmaktadır. LiP ekstraselüler bir protein peroksidazı/oksidoredüktazdır. MnP ise asidik bir glikoprotein yapıya sahip oksidoredüktazdır. Lignolitik enzimler, tek elektronlu radikal oksidasyonunu katalizleyerek katyonik radikal ve kininlerin ortaya çıkmasını sağlar ve ardından bu kininlerin de oksitlenmesini katalizlerler. LiP fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin  $H_2O_2$ 'ye bağımlı oksidasyonunu, MnP ise fenolik bileşikleri substrat olarak kullanırken  $H_2O_2$ 'ye bağımlı olarak Mn(II)'nin Mn(III)'e oksidasyonunu ve fenol halkalarının fenoksi radikallerine oksidasyonunu katalizlemektedir (Manji ve Ishihara, 2004; Krueger ve diğ., 2015; A. H. Lee ve diğ., 2020; Shi ve diğ., 2021).

Mavi bakır oksidazları olarak bilinen, çoklu bakır oksidazlar (MCO) grubunun bir parçası olan lakkazlar (fenoloksidazlar) yapılarında bakır içerirler. Aromatik ve fenolik bileşiklerin oksidasyonu ve moleküler oksijenin suya indirgenmesinde öne çıkmaktadır. Bu nedenle PE'nin hidrokarbon omurgasının oksidasyonunda etkili olabilmekte ve çoğunlukla aktinomiset türlerinin bu enzim aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmektedir. Her türün lakkazı PE degradasyonunda etkili değildir. PE üzerinde bilinen en etkili lakkaz *Rhodococcus ruber*'den elde edilmiştir. Burada degradasyon esnasındaki redoks yolağının önemli olduğu düşünülmektedir (Bhardwaj ve diğ., 2013; Krueger ve diğ., 2015; Bardajı ve diğ., 2020; Zhang ve diğ., 2022).

Alkan-1-monooksijenazı (alkb) alkan hidroksilazını sağlamaktadır. Monooksijenaz enzimleri hem alkan oksidasyonunun başlangıç aşamasında hem de yağ asitlerinin dikarboksilik asit oluşumunu sağlayan son oksidasyon aşamasında bu sürece katılmaktadır. *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Gordonia* ve *Geobacillus* sp. suşlarında bu enzime ait gen bölgeleri mevcuttur.

Etkinlik gösterdiği alkan zincirler PE'nin sahip olduğu alkan zincirlerinden çok daha kısa olsa da bir *Pseudomonas* suşunun alkb ile PE degradasyonunda etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir. Bu enzim ile C-C bağlarının kırılarak alkanların aldehit veya ketonlara oksitlenmesi sağlanır ve bunu takip eden süreçte hidrofilik karboksilik asitlere dönüşüm gerçekleşir. Monooksijenaz grubunun diğer enzimleri de bozunma sürecinde görev alırlar. Terminal oksidasyon monooksijenaz ve subterminal oksidasyon monooksijenaz tarafından alkanlar hidroksile edilebilir. Ardından oksitlenen terminal okside alkanlar, alkol dehidrojenaz ve aldehit dehidrojenaz tarafından yağ asitlerine parçalanırken subterminal hidroksile alkanlar Baeyer-Villiger monooksijenaz (BMVO) tarafından esterlere dönüştürülür ve yağ asitleri üretmek için esteraz veya lipaz tarafından daha fazla parçalanır ( Yoon ve diğ., 2012; Krueger ve diğ., 2015; Montazer ve diğ., 2019; Frantsuzova ve diğ., 2022; Lv ve diğ., 2024;).

Lipolitik enzimler hidrolaz enzimleridir. Bunlar kendi içlerinde esteraz ve lipaz olarak iki çeşide ayrılır. Yağ zincir bağlarının hidrolizini katalizleyerek serbest yağ asitlerine ve gliserole parçalanmasını sağlar. Esterazlar daha kısa zincirli yağ asitlerinin karboksilik ester bağlarını hidrolize ederken lipazlar daha uzun zincirler için aktivite göstermektedir (Kumar ve diğ., 2012; Lv ve diğ., 2024).



**Şekil 2.2:** PE degradasyonunda enzim etkinlikleri ve elde edilen ürünlerin şeması (Lv ve diğ., 2024).

Normal koşullarda canlılık sürdüren bakterilerin biyodegradasyon çalışmalarında tespit edilen etkileri düşüktür. Bakteriler biyodegradasyon için gerekli şartlara uyum sağlayamamakta, plastiklerin güçlü kimyasal yapısını parçalayabilecek gerekli enzimleri üretememektedir. Ancak bu durum mantarlarda farklıdır. Mantarların polimerlerin hidrofobik yüzeyine tutunması daha kolay ve çözünmesi güç yapıları hedef alabilen hücre dışı enzim üretme kapasitesi daha fazladır. Aynı zamanda stresli büyüme koşullarına bakterilere göre daha kolay uyum sağlayabilmektedir. Mantarların bu özellikleri mantarları plastik biyodegradasyonunda bakterilere göre daha avantajlı ve verimli kılabilir (Lv ve diğ., 2024; Nakei ve diğ., 2022; Wróbel ve diğ., 2023). Ancak mantar hiflerinin yüzey üzerinde büyümesi ve iç yapısına nüfuz edememesi, bunun sonucunda yalnızca üst katmanı hidroliz edebilmesi ve alt katmanları edememesine sebep olur. Aynı zamanda yüzeyi sarmalayan yapısı ile materyalin yüzeyine en yakın hücrelerin zamanla oksijen ve besinlerden mahrum kalmasına sebep olmaktadır. Bu

durumda bakteriler daha avantajlı olmaktadır. Çünkü bakteriler alt katmanlara nüfuz edebilen ve parçalanmasına sebep olan oksidatif enzimler salgılayabilmektedir. Bu sayede omurga yapısına ulaşarak orada da bozunma sağlayabilmektedir (El-Sherif ve diğ., 2022).

Son zamanlarda canlıların avantajlı olduğu tüm özelliklerin kullanılabilceği çalışmalar yapılmaktadır. Hem çeşitlilikten hem uç şartlara uyumdan hem de degradasyonda etkili enzimlerden yararlanılmak için genetik modifikasyonlar ve/veya ekstrem ortamlardan izole edilen mikroorganizmaların potansiyelleri araştırılmaktadır.

#### **2.4. MAĞARA VE MAĞARA MİKROORGANİZMALARI**

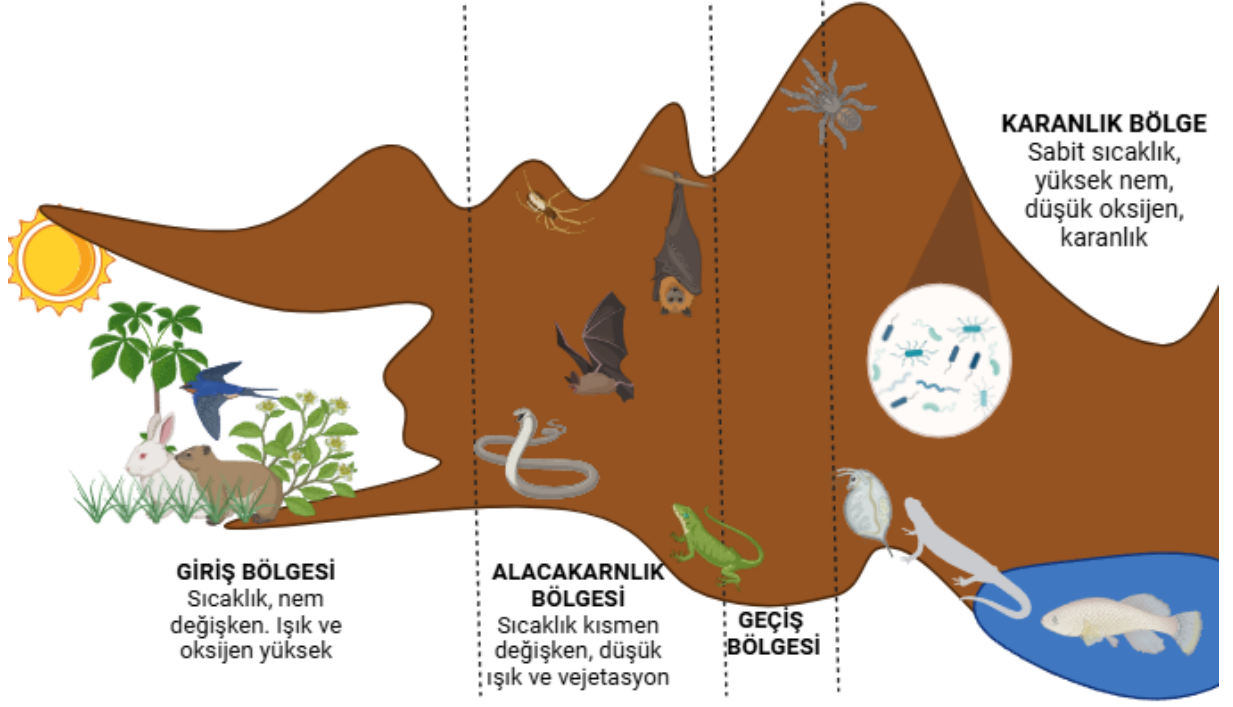
Dünya yüzeyinin %80'den fazla bir yüzdesi ekstrem ortamları içerir. Ekstrem ortamlar, uç şartların etkin olduğu alanlardır. Bu alanlarda sıcaklık, ışık, pH, basınç, oksijen ve diğer element ve bileşiklerce zenginlik veya fakirlik söz konusudur. Bu ortamlar mağaralar, derin denizler, volkanik tepeler gibi doğal veya ameliyathane, denizaltı gemileri gibi yapay ortamlar olabilir (Jorquera ve diğ., 2019).

Mağaralar; yeryüzünün altında, bir insanın girebileceği büyüklükte, yüzeyde açıklığı olan, besin ve oksijence fakir olan doğal oluşumlu boşluklardır. Dünyadaki mağaraların henüz %10'unun keşfedildiği tahmin edilmektedir (Lee ve diğ., 2012; Palmer, 1991; Park ve diğ., 2020; Kosznik-Kwaśnicka ve diğ., 2022).

Mağaralar; kimyasal reaksiyonlar, kaya çözünmesi ve aşınması, buzul erimesi, su ve tektonik hareket ve kuvvetler, atmosferik etkiler ve ayrıca mikroorganizma aktiviteleri sonucunda gerçekleşen speologenez süreçleri ile oluşur. Speologenez (doğal mağara oluşumu), çözünebilir kaya ve çatlakların arasından sıvıların geçmesiyle mağara oluşum süreci olarak tanımlanmaktadır (Barton ve diğ., 2014; Zada ve diğ., 2021).

Mağaralar aldıkları ışık, sıcaklık ve nem miktarlarındaki farklılığa göre üç ana bölgeye ayrılmaktadır: (1) giriş bölgesi yüksek ışığa, değişken sıcaklığa, yeşilliğin ve vejetasyonun olduğu, aerobik canlıların yaşam sürdürdüğü yeşil bölgedir; (2) alacakaranlık bölgesi, düşük ışık alan, kısmen değişken ve daha düşük sıcaklığa sahip, vejetasyonun nadir olduğu bölgedir; (3) karanlık bölge ışığın olmadığı, sıcaklık, nem ve CO<sub>2</sub> basıncının sabit olduğu, mağaranın dış kısmından bağımsız bir ekosisteme sahip olan bir bölgedir. Bu durum her mağaranın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin çeşitli ve biricik olmasına sebep olmaktadır. Bölgelerin

yatay veya dikey uzanması, mağaranın bulunduğu bölgenin iklim vb. şartlarının değişkenliği ekosistemlerin birbirinden farklı olmasının önemli sebeplerindendir ( Mejía-Ortiz ve diğ., 2020; Park ve diğ., 2020; Kosznik-Kwaśnicka ve diğ., 2022).



Şekil 2.3: Mağaranın bölgeleri.

Mağaralardaki canlılık ve canlıların özellikleri buldukları bölgeye göre değişim göstermektedir. Aynı zamanda bölgelerin ulaşılabilirliği de oradaki ekosistem için önemli etkenlerdendir. Mağaraların giriş bölgesi hem insanlar hem de yer yüzündeki diğer organizmaların etkileşim kurdukları alandır. Bu bölgeler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak hasar almaya açık alanlardır. Alacakaranlık bölgesi giriş bölgesine göre daha niş bir bölgedir. Ancak burada da yaras vb. organizmalar yaşam sürdürebildiği için dış kısım ile etkileşim devam etmektedir. Karanlık bölge tamamen yeryüzüyle kopuk bir ekosisteme ve özelliklere sahiptir. Buradaki canlılar buranın ekstrem koşullarına göre adapte olmuş canlılardır. Düşük oksijen karşısında kemosenetik özellikler, düşük besin karşısında çeşitli metabolizmalar ile farklı karbon kaynakları, düşük sıcaklığa dayanıklı hücresel yapı formları kazanmış canlılar varlık göstermektedir (Sarbu ve diğ., 2018; Zhu ve diğ., 2019).

Mağaralar henüz tam olarak aydınlanmamış geniş bir biyoçeşitlilik sunmaktadır. Makro organizmaların yanı sıra ekstrem özelliklere sahip mantar ve bakteri izolasyonları son dönemde oldukça popülerdir. Buradaki mikrobiyal topluluklar mağaradan beslendikleri gibi mağarayı da beslemektedir. Mağara yapılarının bir kısmı mikrobiyal toplulukların mağara minerallerinin çökmesi ve çözülmesi gibi metabolik aktiviteleri sonucunda ortaya çıkmaktadır (Zhu ve diğ., 2022).

Mikroorganizmalar beraber biyofilm oluşturup simbiyotik bir beraberlikle birbirlerini destekleyerek yaşam sürdürebildiği gibi bazı türler diğer mikroorganizmalarla beraber yaşam sürdürmez. Bunun sonucunda ise diğerlerini kendinden uzak tutmak için çeşitli mikrobiyal aktivite sergilerler (Wu ve diğ., 2015).

Mağarada toprağın/tortulun gramı başına ortalama  $10^6$  mikrobiyal hücre bulunmaktadır. Bu hücrelerin çeşitliliği mağaranın bölgelerine göre değişim gösterirken *Chloroflexi*, *Planctomyces*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Acidobacteria*, *Nitrospirae*, *Gamma proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria* ve *Actinobacteria* örneklerine toprak/tortul kayalar, su ve hava örneklerinde yaygın olarak rastlanmaktadır. Bunun yanında yeryüzü hayvanlarıyla etkileşimde bulunan bölgelerde *Mycobacterium* cinsi bakterilerine daha çok rastlanmaktadır. Bakterilerin yanı sıra başta *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mortierella* olmak üzere 500'den fazla mantar cinsi ve arke de izole edilmiştir (Wu ve diğ., 2015; Sarbu ve diğ., 2018; Zhu ve diğ., 2019; Hubelova ve diğ., 2021; Zhu ve diğ. 2022).

#### **2.4.1. Mağara Mikroorganizmalarının Biyoteknolojik Potansiyelleri**

Mağara mikroorganizmaları ekstrem ortam koşullarına karşı ekstrem özelliklere sahip olmaları nedeniyle büyük biyoteknolojik potansiyel sunmaktadırlar.

Nispeten izole bir alanda yaşadıkları ve diğer mikroorganizmalara karşı kullandıkları savunma mekanizmaları ile antimikrobiyal, antifungal, antiviral ve antikanser özellikte enzimlere ve sekonder metabolitlere sahip oldukları raporlanmıştır. Bu özelliklerin tıp ve tarım sağlığı için önemli potansiyelleri olduğu öngörülmektedir (Zada ve diğ., 2021).

Mağara ortamındaki mikroorganizmalar güneş ışığı olmadığında fotosentez yapamazlar ve dışsal besin ve enerji eksikliğini telafi etmek için karbon, azot, kükürt ve demir, mangan gibi metallerin biyojeokimyasal döngülerine yoğun olarak katılırlar ve nitrifikasyon ve kükürt

oksidasyonuyla yönlendirilen kemolitotrofik mikrobiyal toplulukları oluştururlar. Bu nedenle mağara ekosistemleri, küresel biyojeokimyasal döngü için büyük bir yeraltı kaynağı oluşturur (Zhu ve diğ., 2022). Bu biyojeokimyasal yetenekler sayesinde kendi besinlerini elde etmekle kalmaz aynı zamanda mineralleri kullanabildikleri metabolizmaları ile biyodegradasyon ve biyobeton eldesi gibi süreçlerde de rol oynayabilmektedir.

Mağara mikroorganizmaları izole bir ortamda yaşıyor olsa bile yer altı kaynaklarından beslenmektedir. Bunun sonucunda yeryüzündeki sular ile yer altı kaynakları karışabilir. Suların hidrokarbon veya başka bileşenlerle kirlenmesi, bu suyun yer altında sızma hareketi ile mağaralara ulaşması o bölgedeki ekosistemin yeni şartlara uyum sağlamasını zorlu kılar. Bu şartlar çerçevesinde mağara canlıları çeşitli adaptasyonlar geliştirir. Ortamdaki besin kaynaklarını parçalayabilecek metabolik aktiviteler kazanır. Genel çerçevede mağaralar hala insanların ve hayvanların ulaşmadığı ve ulaşmakta zorlandığı izole alanlardır. Bununla beraber mağaralar yer altı sızıntıları sonucunda yeni çevresel koşullara uyum sağlamış izole alanlara ve ekosistemlere dönüşebilmektedir. Böylece kirliliklere karşı degradasyon yeteneği kazanmış yeni mikroorganizmalar elde edilmektedir. (Marques ve diğ., 2019).

Yapılan çalışmalarda tortullarda naftalin, asenaftin (bir çeşit ham petrol bileşenidir) gibi bazı polisiklik hidrokarbonların degrade edildiğine dair sonuçlar gözlemlenmiştir. *Sphingopyxis*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas* ve *Sphingomonas* sp. gibi bazı mikroorganizmaların bu bileşikleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabildiği raporlanmıştır (Marques ve diğ., 2019).

Bunun yanı sıra mezofilik ortamlarda yaşayan mikroorganizmaların enzimleri ekstrem ortamlar için kararsız bir yapı göstermektedir. Ancak ekstrem ortamlardan izole edilmiş mikroorganizmaların enzimleri ekstrem ortamlara uyumlu olduğu için kararlı yapılarını ve aktivitelerini koruyabilir. Birçok mezofilik mikroorganizmanın lignolitik, lipolitik enzimlere ve çeşitli monooksijenazlara sahip olduğu raporlanmıştır. Ancak endüstriyel anlamda kullanımlarında ekstrem şartlar altında verimsiz sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, mağara mikroorganizmalarından elde edilen bu ve benzeri enzimler, endüstriyel uygulamalar ve biyodegradasyon alanında büyük bir potansiyel taşımaktadır (Gran-Scheuch ve diğ., 2018; Salwan ve Sharma, 2020). |

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. MAĞARA İZOLATLARININ TÜRLERİ VE KODLARI

Çalışmada Dupnisa, Morca ve Yarık Düdeni Mağarası'nın çeşitli toprak ve yüzeylerinden izole edilmiş 30 bakteri kullanılmıştır (Türkgenci ve Doğruöz Güngör, 2021; Çolak, 2023; Arslan Aydoğdu ve diğ., 2023).

**Tablo 3.1:** İzolatların izolasyon yerleri, mikroorganizma isimleri ve benzerlik yüzdeleri ve filumları.

Bakteri Kodu	İzolasyon Kodu	Mikroorganizmanın Adı	İzole Edildiği Mağara	Filum
SG-1	Y13	<i>Bacillus pumilus</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-2	Y61	<i>Arthrobacter sp.</i>	Yarık Düdeni	Actinobacteria
SG-3	Y66	<i>Bacillus pumilus</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-4	Y83	<i>Bacillus pumilus</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-5	Y86	<i>Bacillus mycoides</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-6	Y91	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-7	Y102	<i>Pseudomonas sp.</i>	Yarık Düdeni	Proteobacteria
SG-8	Y140	<i>Bacillus pumilus</i>	Yarık Düdeni	Firmicutes
SG-9	3YT215	<i>Pseudomonas putida</i> strain Atol3T	Dupnisa	Proteobacteria
SG-10	48MT2	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	Morca	Actinobacteria
SG-11	61MY3	<i>Microbacterium sp.</i>	Morca	Actinobacteria
SG-12	57MY3	<i>Microbacterium sp.</i>	Morca	Actinobacteria
SG-13	YT214	<i>Bacillus mycoides</i> strain TS27	Dupnisa	Firmicutes
SG-14	3YT413	<i>Bacillus cereus</i> strain MCM1Y2	Dupnisa	Firmicutes
SG-15	YT424	<i>Pseudomonas baetica</i> strain S42_BP2TU	Dupnisa	Proteobacteria
SG-16	YT413	<i>Bacillus cereus</i> strain LA322	Dupnisa	Firmicutes
SG-17	YT213	<i>Bacillus mycoides</i> strain TS27	Dupnisa	Firmicutes

**Tablo 3.2 (Devam):** İzolatların izolasyon yerleri, mikroorganizma isimleri ve filumları.

SG-18	2YT241	<i>Bacillus cereus</i> strain DFT-5 16S	Dupnisa	Firmicutes
SG-19	YT514	<i>Bacillus cereus</i> strain AHSM124	Dupnisa	Firmicutes
SG-20	YT411	<i>Bacillus cereus</i> strain ML272	Dupnisa	Firmicutes
SG-21	YT116	<i>Bacillus pumilus</i> strain R245	Dupnisa	Firmicutes
SG-22	3YT311	<i>Serratia sp.</i> DM109	Dupnisa	Proteobacteria
SG-23	YT619	<i>Serratia sp.</i> 1D1416	Dupnisa	Proteobacteria
SG-24	YS432	<i>Enterobacter sp.</i> UIWRF0456	Dupnisa	Proteobacteria
SG-25	YS433	<i>Enterobacter sp.</i> UIWRF0454	Dupnisa	Proteobacteria
SG-26	YS132	<i>Alcaligenes sp.</i> J12	Dupnisa	Proteobacteria
SG-27	YS133	<i>Lelliottia sp.</i> strain Gamma-59	Dupnisa	Proteobacteria
SG-28	2YT341	<i>Acinetobacter sp.</i> strain Ap6	Dupnisa	Proteobacteria
SG-29	3YT512	<i>Bacillus mycoides</i> strain TS27	Dupnisa	Firmicutes
SG-30	YT312	<i>Bacillus safensis</i> strain Rb7S3	Dupnisa	Firmicutes

### 3.2. BAKTERİLERİN CANLANDIRILMASI VE ÇOĞALTILMASI

-86 °C’de muhafaza edilen 30 mağara suyu izole edildikleri besiyerlerine (TSA, ½ TSA, R2A) ekilmiştir. 30 °C’de 24 saat inkübe edildikten sonra besiyeri üzerinde çoğalan kolonilerden azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır.

### 3.3. BAKTERİLERİN SEÇİLMESİ

Yarık Düdeni’nden izole edilmiş 8, Dupnisa’dan izole edilmiş 1 bakterinin propilen degradasyonu üzerinde anlamlı bir verimlilik gösterdiği farklı çalışmalarla raporlanmıştır (Arslan Aydoğdu ve diğ., 2023). Bunun üzerine bu çalışmada polietilen degradasyonu için kullanılan ilk 9 bakteri (SG1-SG-9) olarak bu bakteriler seçilmiştir. Bu seçilen 9 bakteri için DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve spesifik gen bölgesi araştırılmıştır.

Geri kalan 21 bakteri içinden seçim, spesifik gen bölgesinin bakılması ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncesinde DNA izolasyonu yapılmıştır.

### 3.3.1. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu, izolasyon kiti (GeneAll Exegene Cell SV mini) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kit prosedürüne uygun olarak gerçekleşen DNA izolasyonunun basamakları aşağıda açıklanmıştır.

1. Saf olarak üretilen bakteri suşları, hücre yoğunluğu standart 1 numaralı McFarland bulanıklık tüpüne göre ayarlanmış ve 1.5 ml santrifüj tüpüne eklenmiştir. Santrifüj tüpleri 12.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
2. Santrifüj sonrası tüp içerisindeki süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelletin üzerine 180 µl lizozim (30mg/ml) enzim karışımı eklenmiş ve pellet eklenen sıvıyla çözülmüştür. Örnekler 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
3. İnkübasyon sonrasında örneklerin üzerine 20 µl Proteinaz K (20mg/ml) ve 200 µl BL tamponu eklenmiştir.
4. Vorteks sonrasında 56°C'de 30 dakika, ardından 70°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. İnkübasyon sonrasında örnekler spin atılmış ve ardından üzerlerine 200 µl saf etanol eklenip vorteks ve spinden geçirilmiştir. Bu esnada bulutumsu/jelimsi yapı gözlemlenmiştir.
6. Karışımın tümü kit içerisindeki SV kolonu olarak isimlendirilen filtre içeren tüplere aktarılmış ve 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
7. SV kolon toplayıcı alt tüp içerisinden alınmış, yeni tüp içerisine konmuş ve kolon üzerine 600 µl BW tamponu eklenerek 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
8. Kolonun toplayıcı tüpü tekrar değiştirilmiş ve ardından üzerine 700 µl TW tamponu eklenip 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
9. Toplayıcı tüp değiştirildikten sonra herhangi bir ekleme yapılmadan kolon tekrar 10.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
10. Santrifüj sonrasında toplayıcı tüp atılmış ve kolon 1.5 ml ependorfa konmuş, kolon üzerine 100 µl AE tamponu eklenmiş ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj uygulanmıştır.
11. Ependorf içerisinden kolon ayrılmış ve örneklerin DNA konsantrasyonları mikrodrop cihazı (MicroDrop spektrofotometre-Thermo Scientific) kullanarak belirlenmiştir. Ardından PZR için -20°C'de stoklanmıştır.

### 3.3.2. alkB gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması

alkB gen bölgesinin varlığı bakterinin alkan dehidrojenez yeteneğine sahip olduğunu ve bu da polietilenin kimyasal bağlarını parçalayabilecek yeteneğe sahip olduğunu göstermektedir. Bunun için Tablo 3.2'deki alkB gen dizileri ile 2 farklı PZR reaksiyonu kurulmuştur. PZR reaksiyonları içerikleri Tablo 3.3'te ve reaksiyon döngüleri Tablo 3.4'te verilmiştir. PZR için DNA konsantrasyonları  $V1 \times C1 = V2 \times C2$  formülü kullanılarak 10 ng/μl olacak şekilde sulandırılmıştır.

**Tablo 3.2:** alkB gen bölgesi primer dizileri.

Primer (alk-b)	Sekans	%GC	Tm (°C)	Referans
Forward (1)	5'-TCGAGCACATCCGCGGCCACCA-3'	68	73.1	(Shahreza ve diğ., 2019)
Reverse (1)	5'-CCGTAGTGCTCGACGTAGTT-3'	55	60.5	
Forward (2)	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'	50	59.3	(Bardají, Furlan ve Stehling, 2019)
Reverse (2)	5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'	48	59.7	

**Tablo 3.3:** PZR reaksiyon içeriği.

Master Mix (EmeraldAmp® MAX HS PCR Master Mix, Takara)	12,5 μl
DNA	1 μl
Forward Primer	1 μl (20 pmol/ μl)
Reverse Primer	1 μl (20 pmol/ μl)
dH <sub>2</sub> O	9,5 μl
<b>Toplam hacim = 25 μl</b>	

**Tablo 3.4:** PZR döngüsü (BIORAD T100 Thermal Cycler)

alk-b/1		alk-b/2	
98°C	3dk	98°C	3dk
*98°C	10sn	*98°C	10sn
*58°C	30sn	*56°C	30sn
*72°C	1dk	*72°C	1dk
4°C	∞	4°C	∞

\* 98°C, 58°C ve 72°C arası 30 tekrar ile gerçekleşir.

### 3.3.3. Jel Elektroforezi ve Görüntüleme

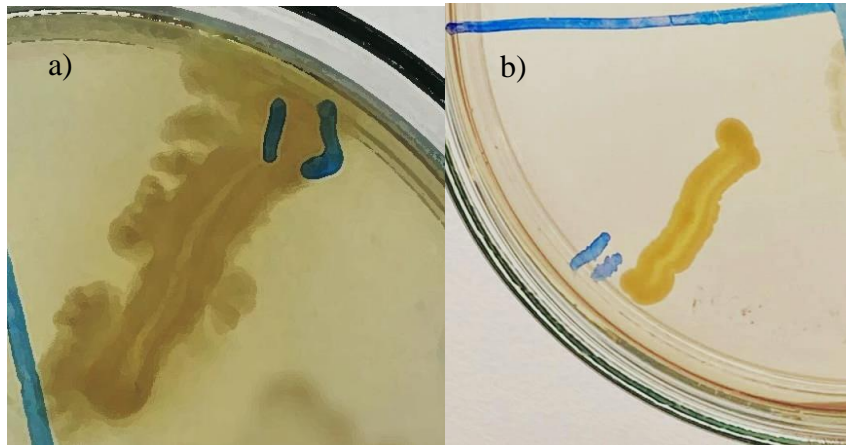
%1'lik agaroz jel 1x TBE solüsyonuyla mikrodalga ile çözülmüştür. Donmadan ancak biraz soğuduktan sonra agaroz jele %1 olacak şekilde Gel Red (Fisher Biotech) ilave edilmiştir. İçinde tarak bulunan agaroz jel tankına dökülerek 20 dakika donması beklenmiştir. Donduktan sonra taraklar çıkarılmıştır. Jel 1XTBE dolu tanka yerleştirilmiş ve üzerine kuyucukların içleri dolacak şekilde 1XTBE eklenmiştir. Agaroz jelin ilk kuyucuğuna 5 µl marker (1kb Thermofisher DNA Ladder) sonraki kuyucuklara izolatlara ait amplifiye edilmiş PZR ürünlerinden 5 µl alınıp eklenmiştir. Örnekler 70 voltta 50 dakika boyunca yürütülmüştür. Ardından UV Transilluminatör cihazında görüntülenmiştir.

### 3.4. BİYOKİMYASAL TESTLER

Seçilen suşların PE degradasyonunda rol alan enzim aktivitelerinin incelenmesi için biyokimyasal testler yapılmıştır. Lignolitik aktivitenin varlığının kontrolü için lakkaz, manganez peroksidaz ve lignin peroksidaz testleri gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında lipolitik aktivite için de lipolitik enzim testi yapılmıştır.

#### 3.4.1 Lakkaz Testi

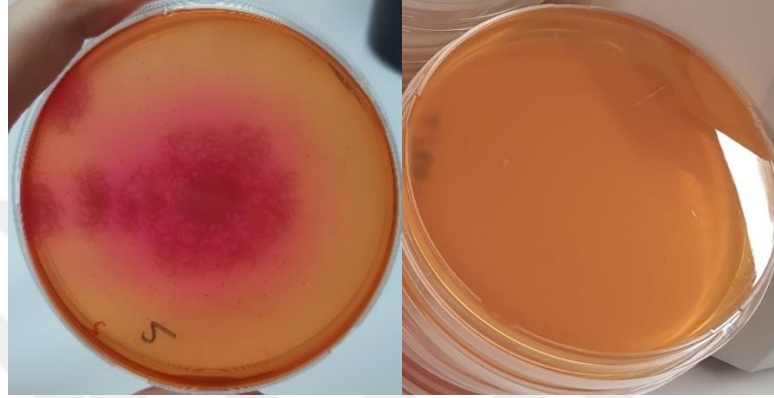
Tek çizgi ekim yöntemiyle lakkaz testi besiyerine ekilen izolatların 14 gün 30°C'de inkübe edilmiştir. Çevresinde kahverengi renk zonlar lakkaz aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kavitha ve Bhuvaneswari, 2021).



Şekil 3.1: Lakkaz aktivitesi pozitif SG-13 (a) ve negatif SG-11 (b) suşu agar görselleri.

### 3.4.2 Manganez Peroksidaz Testi

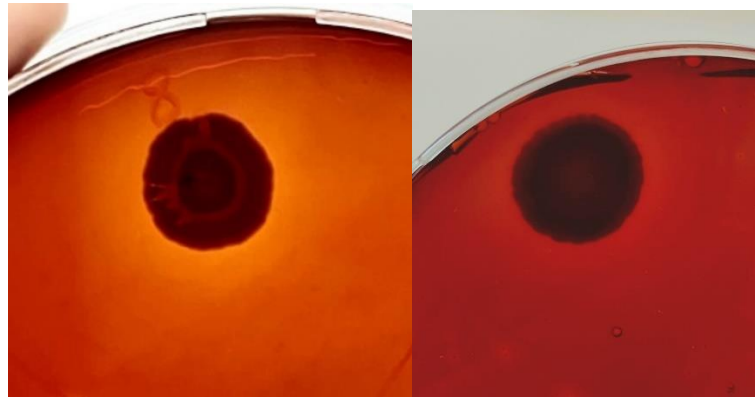
McFarland 0,5 standardına göre hazırlanan izolatlar hazırlanan besiyerine 10 µl damlatılmıştır. 14 gün 30°C’de inkübe edilmiştir. Damlatılan izolatların çevresinde sarı/turuncu renkten pembe renge dönüşüm manganez peroksidaz aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Pangallo ve diğ., 2007).



Şekil 3.2: Manganez peroksidaz aktivitesi pozitif SG-5 suşu ve aktivite öncesi besiyeri görüntüsü.

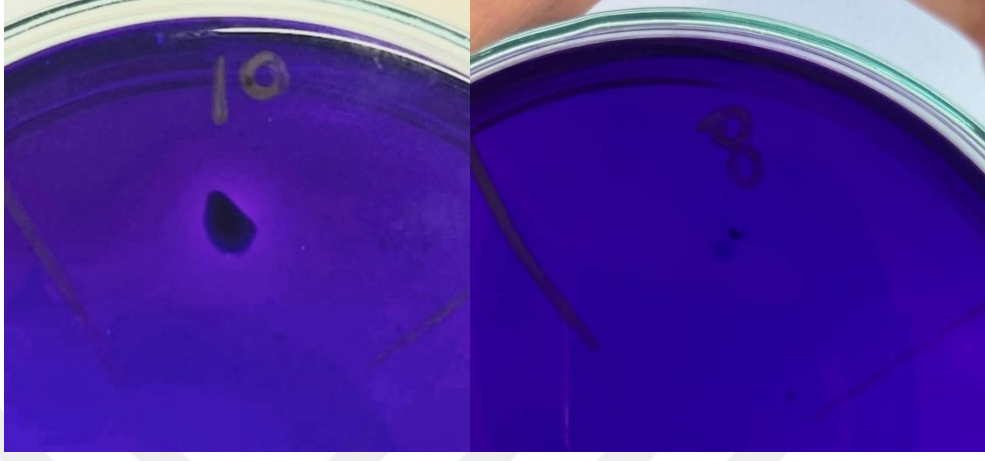
### 3.4.3. Lignin Peroksidaz Enzim Testi

McFarland 0,5 standardına göre hazırlanan izolatlar hazırlanan besiyerine 10 µl damlatılmış. 14 gün 30°C’de inkübe edilmiştir. Damlatılan izolatların çevresinde renk açılmaları lignin peroksidaz enzim aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Yang ve diğ., 2019).



Şekil 3.3: Lignin peroksidaz aktivitesi, neutral red agarda pozitif sonuç veren SG-8 suşu (sol) ve negatif sonuç veren SG-3 suşu (sağ).

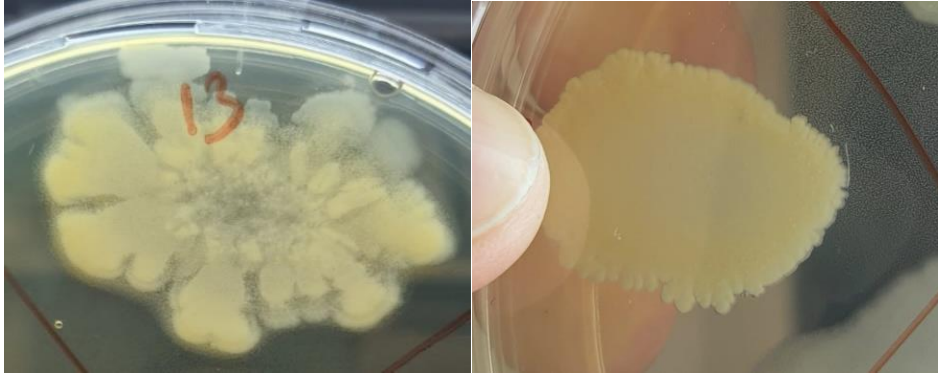
Batırma ekim yöntemiyle LiP testi besiyerine ekilen izolatlar 14 gün 30°C’de inkübe edilmiştir ve çevresinde şeffaflaşma incelenerek LiP aktivitesi değerlendirilmiştir.



**Şekil 3.4:** Lignin peroksidaz aktivitesi, kristal viyole agarda pozitif sonuç veren SG-10 suşu (sol), negatif sonuç veren SG-8 suşu (sağ).

#### 3.4.4. Lipolitik Enzim Testi

McFarland 0,5 standardına göre hazırlanan izolatlar hazırlanan besiyerine 10 µl damlatılmıştır. 14 gün 30°C’de inkübe edilmiştir. Damlatılan izolatların çevresinde bulanıklık oluşması lipolitik enzim aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kumar ve diğ., 2012).

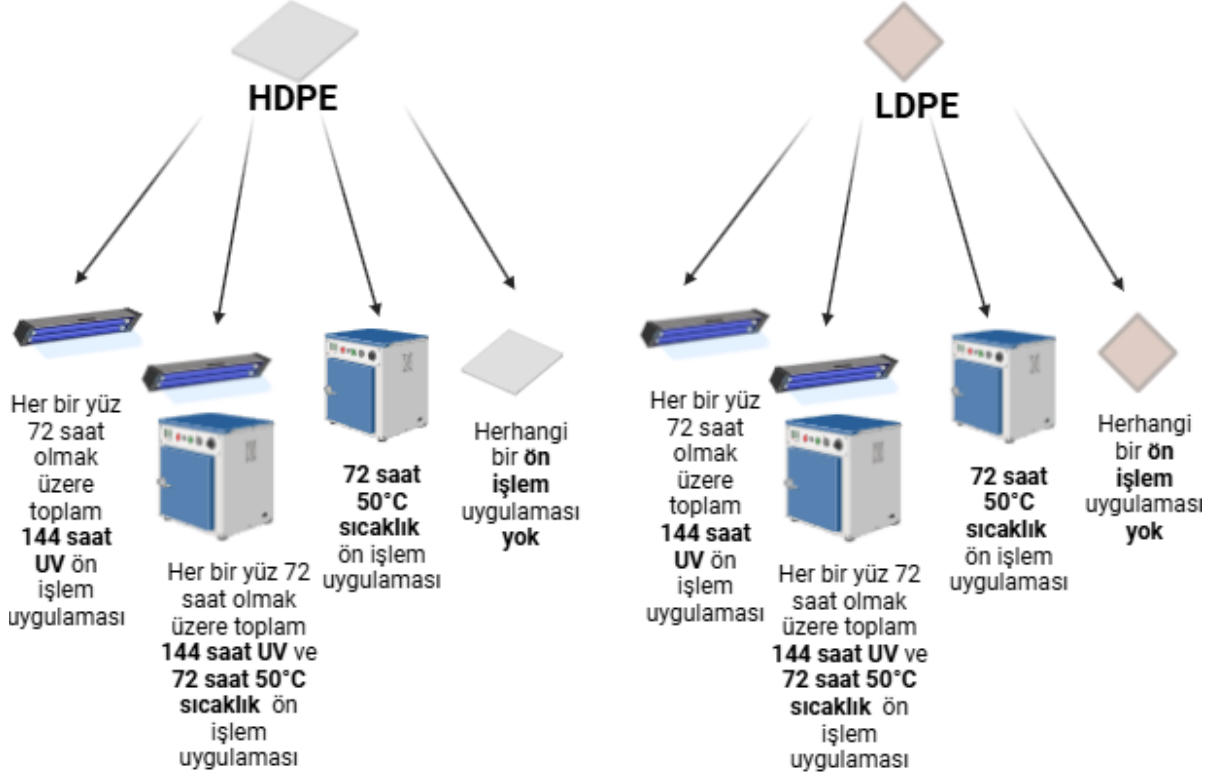


**Şekil 3.5:** Lipolitik enzim aktivitesi pozitif olan SG-13 suşu (sol) ve negatif olan SG-2 suşu (sağ).

### 3.5. PLASTİK KUPONLARIN HAZIRLANMASI

Saf HDPE ve LDPE olmak üzere iki çeşit polietilen grubuyla çalışılmıştır. HDPE kuponları 15x20x1 mm boyutunda, LDPE kuponları 4x11x1mm boyutunda kesilmiştir. Kesilen kuponlar %70’lik etanol ve eküvyon yardımıyla temizlenmiş ve Pastör fırınında 10 saat, 50°C’de

kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonrası her kupon numaralandırılmış ve 3 tekrarlı olarak tartılmış ve ortalamaları ön işlem öncesi plastiğin kütlesi olarak kaydedilmiştir. Tartım işleminden sonra kuponlar gruplandırılarak 3 farklı ön işleme tabii tutulmuş, bir grubuna ise ön işlem uygulanmamıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Plastik kuponlara uygulanan ön işlemler.

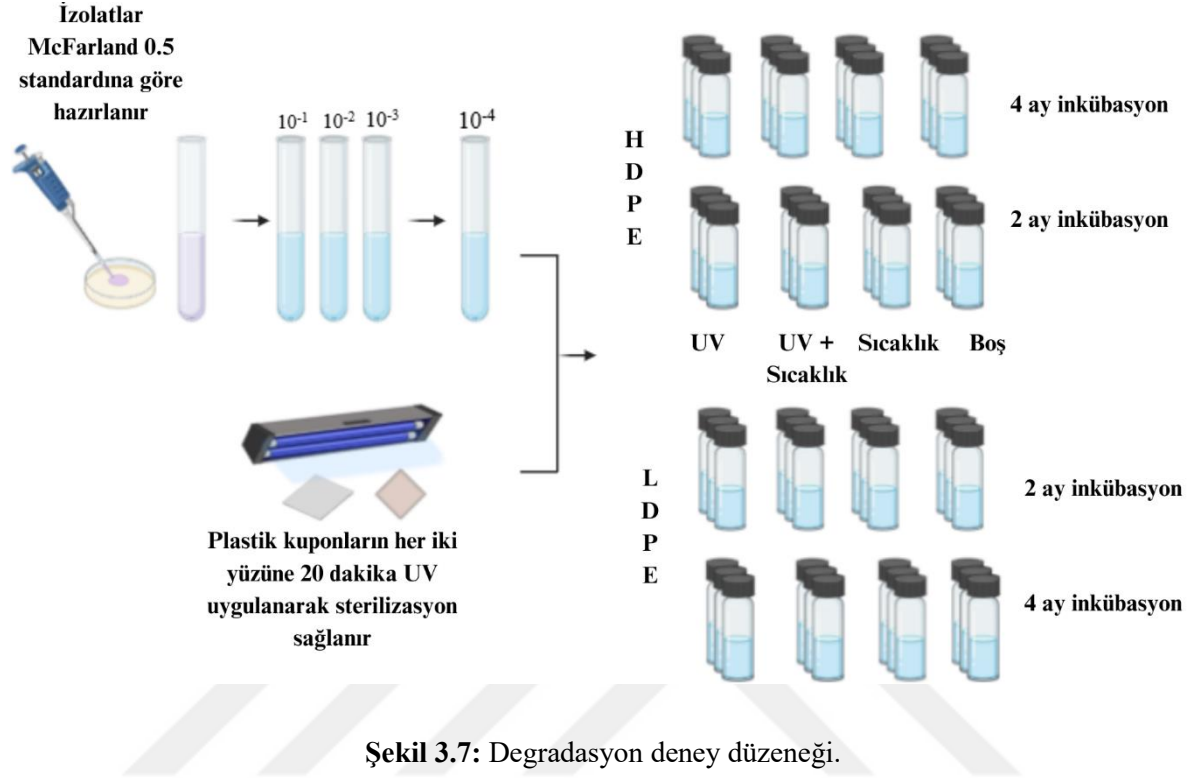
Ön işlem uygulamalarından sonra her kupon üç tekrarlı olmak üzere tekrar tartılmış ve tekrarların ortalaması ön işlem sonrası kütlesi olarak kaydedilmiştir.

### 3.6. PLASTİK DEGRADASYON DENEYİ

Plastik kuponlar deney kurulmadan önce her iki yüzü için 20'şer dakika UV altında steril edilmiş ve içlerinde 18ml BH besiyeri bulunan tüplere eklenmiştir.

PZR sonucunda her iki alkb gen bölgesi için de pozitiflik gösteren bakteriler izole edildikleri besiyerlerinde çoğaltılmış ve hücre yoğunluğu standart 0,5 numaralı McFarland bulanıklık tüpüne göre ayarlanmıştır. Ardından  $10^{-4}$  oranında sulandırılmış ve içerisinde 18ml BH besiyeri ve plastik kuponu olan tüpler üzerine 2'şer ml eklenmiştir. Her bakterinin, her bir ön işlemi 2

ve 4 ay inkübasyon süresi ve 3'er tekrardan oluşacak şekilde deney kurulmuştur (Şekil 3.7) (Harshvardhan ve Jha, 2013; Auta ve diğ., 2018).



İnkübasyon süresini tamamlayan kuponlar tüplerin içerisinden alınarak %70'lik etanol ve eküvyon yardımıyla temizlenmiş ve Pastör fırınında 32 saat, 50°C'de kurutulmuştur. Kurutma sonrası 3 tekrarlı olarak tartılmış ve ortalamaları inkübasyon sonrası plastiğin ağırlığı olarak kaydedilmiştir.

### 3.7. ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ VE BİYODEGRADASYON HIZININ BELİRLENMESİ

PE degridasyonu, aşağıdaki formüller kullanılarak yüzde ağırlık kaybı (Dt), degridasyon hızı(r), degridasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) olarak değerlendirilmiştir (Mohan ve diğ., 2016; Schwab ve diğ., 2024).

$$\text{Yüzde Ağırlık Kaybı (Dt)} = \frac{(\text{Başlangıç Ağırlık}(W_o) - \text{Final Ağırlık}(W))}{\text{Başlangıç Ağırlık}(W_o)} \times 100$$

PE biyodegradasyon hızı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Degradasyon hızı (r)} = \frac{\Delta(W_0 - W)}{\Delta t_{\text{gün}}} \text{ veya } r = K \times SA$$

PE biyodegradasyon kinetik sabiti aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Degradasyon kinetik sabiti (K)} = \frac{r}{SA}$$

Plastiğin ömrü (t) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Plastiğin ömrü (t)} = \frac{W_0}{r} / 365$$

tgün, gün cinsinden zaman

W, biyodegradasyona uğramış PE plaka ağırlığı (g)

W<sub>0</sub>, PE plakaların (g) başlangıç ağırlığıdır.

r, degradasyon hızı (g/gün)

K, sabit (g/(mm<sup>2</sup> x gün)

SA, yüzey alanı (mm<sup>2</sup>)

t, plastiğin ömrü (plastiğin tamamen degrade olması için gereken süre) (yıl)

### 3.8. KUPONLARIN KARAKTERİZASYONU

Bakteriyel inkübasyona sahip olan polimerlerin yapısındaki değişiklikler, 4000-450 cm<sup>-1</sup> frekans aralığında Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz, bakteri suşları ile inkübe edilmiş HDPE ve LDPE kuponları ve bakteri ekimi yapılmayan kontrol HDPE ve LDPE kuponları üzerinde yapılacaktır.

### 3.9. BİYOİSTATİSTİK ANALİZ

SPSS Statistic V27 programında ANOVA analizi yapılmıştır.

### 3.10. BESİYERLERİ VE SOLÜSYONLAR

#### 3.10.1. BH Besiyeri

Magnezyum sülfat: 0,2 g/L

Kalsiyum klorid: 0,02 g/L

Monopotasyum fosfat: 1g/L

Dipotasyum fosfat: 1 g/L

Amonyum nitrat: 1g/L

Demir (III) klorür: 0,05g/L

pH:  $7.0 \pm 0.2$

Litre başına yukarıdaki miktarlarda kimyasallar eklenmiş ve çözünene kadar karıştırılmıştır. Çözeltinin pH'ı 1M HCl kullanılarak pH:7'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

#### 3.10.2. TSA Besiyeri

Kazein: 15 g/L

Soya pepton: 5 g/L

Sodyum klorid: 5 g/L

Agar: 15 g/L

pH:  $7.3 \pm 0.2$

Litre başına 30 g olacak şekilde distile su içerisinde çözülen hazır toz TSB besiyeri ve 15g/L agar, 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

**3.10.3. Reasoner's 2 Agar (R2A)**

Glikoz: 0.5 g/L

Proteoz pepton: 0.5 g/L

Maya ekstraktı: 0.5 g/L

Kazein hidrolizat: 0.5 g/L

Maya ekstraktı: 0.5 g/L

Nişasta: 0.5 g/L

Sodyum pirüvat: 0.3 g/L

Di-potasyum fosfat: 0.3 g/L

Magnezyum sülfat: 0.024 g/L

Agar: 15.0 g/L

pH:  $7.2 \pm 0.2$

Litre başına 18.12 g olacak şekilde distile su içerisinde çözülen hazır toz R2A besiyeri, 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

**3.10.4. Lakkaz besiyeri**

$\frac{1}{2}$  TSA besiyerine 0.5 gr/L gayakol eklenerek besiyeri hazırlanıp ve otoklavda 15 dk steril edilmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

**3.10.5. Manganez Peroksidaz Besiyeri**

$\frac{1}{2}$  TSA besiyeri hazırlanmış, besiyerine ek olarak 0,5gr/L MnSO<sub>4</sub> eklenmiş ve 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Distile suda çözüldürülmüş 0,2 gr/L fenol kırmızısı 0.22 µm çapındaki filtreden geçirilmiş ve steril edilen besiyerine eklenmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

### 3.10.6. Lignin Peroksidaz Besiyeri

**1. besiyeri:** Litrede 20 gr glikoz, 30 gr malt özütü, 1 gr pepton, 15 gr agar olacak şekilde besiyeri hazırlanmış ve 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Distile suda çözüldürülmüş 0,2 gr/L neutral kırmızısı 0.22 µm çapındaki filtreden geçirilmiş ve steril edilen besiyerine eklenmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

**2. besiyeri:** Litrede 20 gr glikoz, 30 gr malt özütü, 1 gr pepton, 15 gr agar olacak şekilde besiyeri hazırlanmış ve 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Distile suda çözüldürülmüş 0,2 gr/L kristal viyole 0.22 µm çapındaki filtreden geçirilmiş ve steril edilen besiyerine eklenmiştir. 90 mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

### 3.10.7. Lipolitik Enzim Besiyeri

Litrede 1 gr pepton, 5 gr NaCl, 0,1 gr CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, 15 gr agar olacak şekilde besiyeri hazırlanmış ve 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. 10 ml/L Tween80 0.22 µm çapındaki filtreden geçirilerek besiyerine eklenmiştir. 90mm çapındaki Petri kutularına yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

### 3.10.8. Lizozim ve lizozim tamponu

Molekül ağırlığı 121.14 olan Trisma Base 0.30 g tartılarak 80 ml distile su ile çözülmüştür. Çözeltinin pH'ı 1M HCl kullanılarak ile 8.0'e ayarlanmıştır. Moleküler hacmi 372.24 olan EDTA 0.09 g tartılmış ve çözünme tamamlanana dek karıştırılmış ve çözelti üzerine 1 ml Triton X-100 eklenmiştir. Son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan her bir tampon 15ml'lik falkon tüplerine paylaştırılmış ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Steril koşullarda 30 mg/ml olacak şekilde lizozim tartılmış ve hazırlanan tampon çözeltiye eklenmiş ve çözünmesi sağlanmıştır.

### 3.10.9. 10X TBE Hazırlanması

10.8 g Tris Base, 5.5 g Borik Asit, 0.75 g EDTA, disodium tuz, 100 ml distile su içerisinde çözülmüş ve son pH 1M HCl kullanılarak 8.0'e ayarlanmıştır.

**3.10.10. 1X TBE (Stok çözelti kullanılarak)**

100 ml 10X TBE stok çözeltisi 900 ml distile su ile seyreltilerek 1 L 1X TBE tamponu hazırlanmıştır.

**3.10.11. %1'lik agaroz jel**

1 g agaroz, 100 ml 1X TBE içinde mikrodalga fırın yardımıyla çözülerek %1'lik agaroz jel elde edilmiştir. Elde edilen bu çözelti içine %1 oranında GelRed eklenmiştir. |



## 4. BULGULAR

### 4.1. SUŞLARIN SEÇİMİ VE TANIMLANMASI

#### 4.1.1. DNA İzolasyonu

30 bakteri izole edildikleri besiyerlerinde canlandırılmıştır. Canlandırılan suşların DNA'ları GeneAll Exegene Cell SV mini kiti aracılığıyla izole edilmiş ve MicroDrop spektrofotometre-Thermo Scientific cihazıyla 260/280 nm absorbans ve miktar analizi yapılmıştır.





#### 4.1.2. *alkB* gen bölgesinin PZR ile çoğaltılması

İki farklı *alk-b* primer dizisi kullanılarak 30 bakterinin *alk-b* gen bölgesinin varlığı incelenmiştir. Her iki *alk-b* primeriyle de 300-400 bp boyutunda bant veren suşlar degradasyon deneyi ve biyokimyasal testler için seçilmiştir. Bu suşlar; SG-1, SG-5, SG-6, SG-9, SG-10, SG-11, SG-12, SG-13, SG-14, SG-15 ve SG-16 suşlarıdır. PZR esnasında primer ve reaksiyon doğruluğu için *E. coli* pozitif kontrol, *S. aureus* ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.


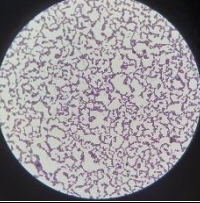

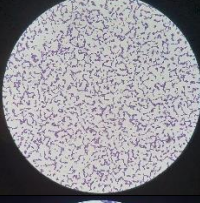
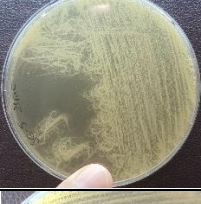
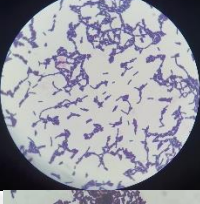





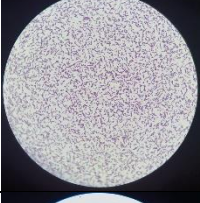
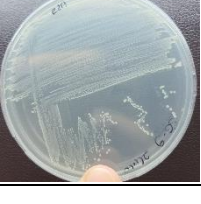
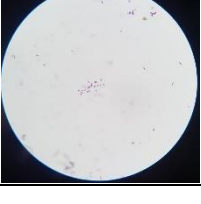
#### 4.1.3. Suşların Koloni ve Gram Morfolojisi

Suşlar izole edildikleri besiyeri hangisi ise o besiyeri kullanılarak azaltılmıştır, koloni ve gram morfolojisi incelenmiştir.








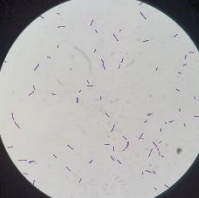

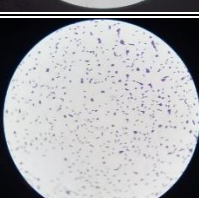
**Tablo 4.1:** Seçilen suşların kültür ve morfolojik özellikleri.

Suş Kodu	Koloni Morfolojisi		Gram Morfolojisi	
SG-1	Beyaz, ince şeffaf şekilsiz kenar		Gram (+), sporlu çomak	
SG-2	Sarımsı, oval, düzgün kenar		Gram (+), tombul çomak	

**Tablo 4.1 (Devam):** Seçilen suşların kültür ve morfolojik özellikleri.

<b>SG-3</b>	Krem, ortası çukur, bombeli, kenarları şeffafimsı		Gram (+), çomak	
<b>SG-4</b>	Krem, ortası bombeli, kenarları şeffafimsı		Gram (+), sporlu çomak	
<b>SG-5</b>	Krem, saç gibi dallı, dağınık		Gram (+), tombul çomak	
<b>SG-6</b>	Krem, saç gibi dallı, dağınık		Gram (+), çomak	
<b>SG-7</b>	Ortası çukur, ikinci katman krem, üçüncü katman şeffafimsı		Gram (+), çomak	
<b>SG-8</b>	Krem, ortası bombeli, kenarlar şeffafimsı		Gram (+), çomak	
<b>SG-9</b>	Beyaz, yuvarlak, düzgün kenar		Gram (-), çomak	

**Tablo 4.1 (Devam):** Seçilen suşların kültür ve morfolojik özellikleri.

<b>SG-10</b>	Açık sarı, küçük yuvarlak		Gram (+), kokobasil	
<b>SG-11</b>	Açık sarı, yuvarlak, düzgün kenar		Gram (+), kokobasil	
<b>SG-12</b>	Sarı, yuvarlak, düzgün kenar		Gram (+), çomak	
<b>SG-13</b>	Krem, bombeli, şekilsiz, şeffafimsı kenar		Gram (+), çomak	
<b>SG-14</b>	Krem, düzgün kenar		Gram (+), çomak	

## 4.2. BİYOKİMYASAL TESTLER

Seçilmiş tüm izolatlar çift tekrar olmak üzere biyokimyasal testler için hazırlanmış besiyerlerine ekilmiş, 14 gün 30°C’de inkübe edilmiştir. Lakkaz testinde sadece SG-13 izolatin çevresinde 4. gün itibarıyla kahverengi zon oluşumu gözlemlenmiştir. Diğer suşlarda pozitif sonuç alınmamıştır. Manganez peroksidaz testinde SG-13 dışında diğer tüm suşlarda 1. gün itibarıyla, SG-13 suşunda ise 2. gün itibarıyla pembe zon oluşumu gözlemlenmiştir. 7. Gün itibarıyla tüm suşlar buldukları besiyerinin rengini tamamen pembeye çevirmiştir. Lignin peroksidaz için iki farklı besiyeri hazırlanmıştır. Biri neutral red diğeri kristal viyole

kullanılarak hazırlanmıştır. Neutral red besiyerinde 10. gün SG-3, SG-4, SG-7, SG-8 suşlarının çevresinde renkte açılma gözlemlenirken; kristal viyole besiyerinde 4. gün itibarıyla SG-10 ve SG-12 izolatlarında bakteri etrafında şeffaflaşan zon oluşumu gözlemlenmiştir. Lipolitik aktivite için tween-80 besiyerine ekilen izolatlardan 7 gün itibarıyla SG7, SG-13, SG-14 izolatlarının etrafında bulanıklık oluşumu gözlenmeye başlanmış; 9. gün itibarıyla SG-1, SG-3 ve SG-8 izolatlarının etrafında bulanıklık oluşumu gözlemlenmiştir. Biyokimyasal test sonuçları ve alk-b gen bölgesine ait sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir.

**Tablo 4.2:** Seçilen suşların alk-b gen bölgesi ve enzim aktiviteleri.

SUŞ KODU	alk-b /1	alk-b /2	Lakkaz	MnP (zon çapı/cm)	LiP (neutral red)	LiP (kristal viyole)	Lipolitik enzimler
SG-1	+	+	-	+ (1. Gün) 2.35 cm	-	-	+ (9. Gün)
SG-2	-	-	-	+ (1. Gün) 2.20 cm	-	-	-
SG-3	-	-	-	+ (1. Gün) 2.20 cm	+ (13. Gün)	-	+ (9. Gün)
SG-4	-	-	-	+ (1. Gün) 2.25 cm	+ (13. Gün)	-	-
SG-5	+	+	-	+ (1. Gün) 5.00 cm	-	-	-
SG-6	+	+	-	+ (1. Gün) 4.50 cm	-	-	-
SG-7	-	-	-	+ (1. Gün) 1.90 cm	+ (13. Gün)	-	+ (7. Gün)
SG-8	-	-	-	+ (1. Gün) 1.95 cm	+ (13. Gün)	-	+ (9. Gün)
SG-9	+	+	-	+ (1. Gün) 2.00 cm	-	-	-
SG-10	+	+	-	+ (1. Gün) 2.10 cm	-	+ (4. Gün)	+ (7. gün)
SG-11	+	+	-	+ (1. Gün) 2.25 cm	-	-	-
SG-12	+	+	-	+ (1. Gün) 1.90 cm	-	+ (4. Gün)	-
SG-13	+	+	+ (4. Gün)	+ (3. Gün) 2.00 cm	-	-	+ (7. Gün)
SG-14	+	+	-	+ (1. Gün) 2.10 cm	-	-	+ (7. Gün)

### 4.3. PLASTİK DEGRADASYONU

Degradasyon deneyi her iki plastik için, 2 ay ve 4 ay olmak üzere, dört farklı ön işlem grubunda ve hepsi 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur. Ön işlem öncesi, sonrası ve inkübasyon sonrası ağırlık ölçümleri yapılan kuponların ağırlık değişim yüzdesi, degradasyon hızı, degradasyon kinetik sabiti ve plastiğin ömrü hesaplanmıştır. Biyoistatistik analizde ağırlık değişim yüzdesi  $p < 0.05$ 'ten düşük sonuç veren suşların kuponlarına ait ağırlık değişim yüzdesi, degradasyon hızı, degradasyon kinetik sabiti ve plastiğin ömrü Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Tüm kuponlara ait tablolar 'Ekler' bölümüne eklenmiştir.



**Tablo 4.3:** HDPE degradasyon deneyi değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları; A) 2. Ay, B) 4. Ay.

A)	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t
SG-9	0,09	4,72E-06	7,87E-09	202	0,08	4,31E-06	7,18E-09	196	0,08	3,89E-06	6,48E-09	214	0,13	6,30E-06	1,05E-08	89
B)	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t
SG-9	0,06	2,08E-06	3,47E-09	593	0,08	2,96E-06	4,94E-09	389	0,02	2,22E-06	3,70E-09	1222	0,15	3,75E-06	6,25E-09	243

**Tablo 4.4:** LDPE degradasyon deneyi değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları; A) 2. Ay, B) 4. Ay.

A)	UV ÖN İŞLEM			UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM			SICAKLIK ÖN İŞLEM			ÖN İŞLEM YOK						
	Dt	r	t	Dt	r	t	Dt	r	t	Dt	r	t				
SG-8	0,34	1,94E-06	8,92E-09	50	0,58	2,31E-06	1,06E-08	30	0,22	1,71E-06	7,86E-09	91	0,28	1,39E-06	6,37E-09	94
SG-10	0,79	1,16E-06	5,31E-09	44	-0,07	-6,94E-07	-3,19E-09	-	0,51	1,53E-06	7,01E-09	38	0,37	1,25E-06	5,73E-09	57
SG-13	0,47	1,67E-06	7,65E-09	36	0,78	2,78E-06	1,27E-08	23	0,35	9,72E-07	4,46E-09	47	-0,28	-1,20E-06	-5,52E-09	-

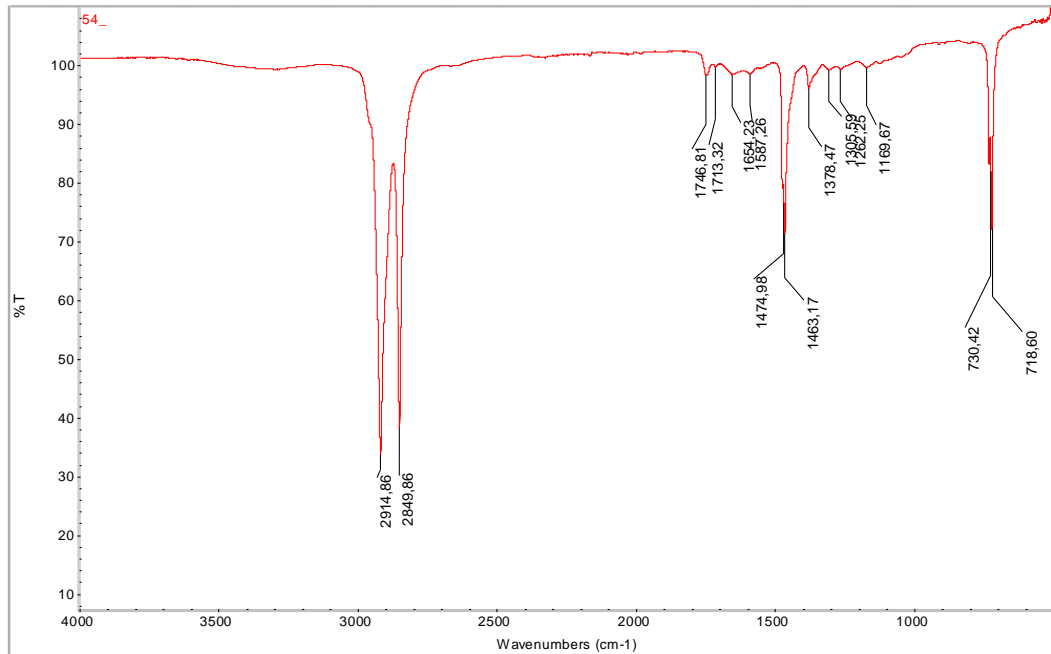
  

B)	UV ÖN İŞLEM			UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM			SICAKLIK ÖN İŞLEM			ÖN İŞLEM YOK						
	Dt	r	t	Dt	r	t	Dt	r	t	Dt	r	t				
SG-8	0,32	1,06E-06	4,88E-09	106	0,82	1,34E-06	6,16E-09	46	0,30	5,09E-07	2,34E-09	124	0,19	6,25E-07	2,87E-09	134
SG-10	0,20	3,47E-07	1,59E-09	193	0,45	1,25E-06	5,73E-09	74	0,12	-4,17E-07	-1,91E-09	-	0,20	5,56E-07	2,55E-09	162
SG-13	0,90	2,36E-06	1,08E-08	39	0,24	8,33E-07	3,82E-09	104	0,27	6,25E-07	2,87E-09	105	-0,25	-8,33E-07	-3,82E-09	-

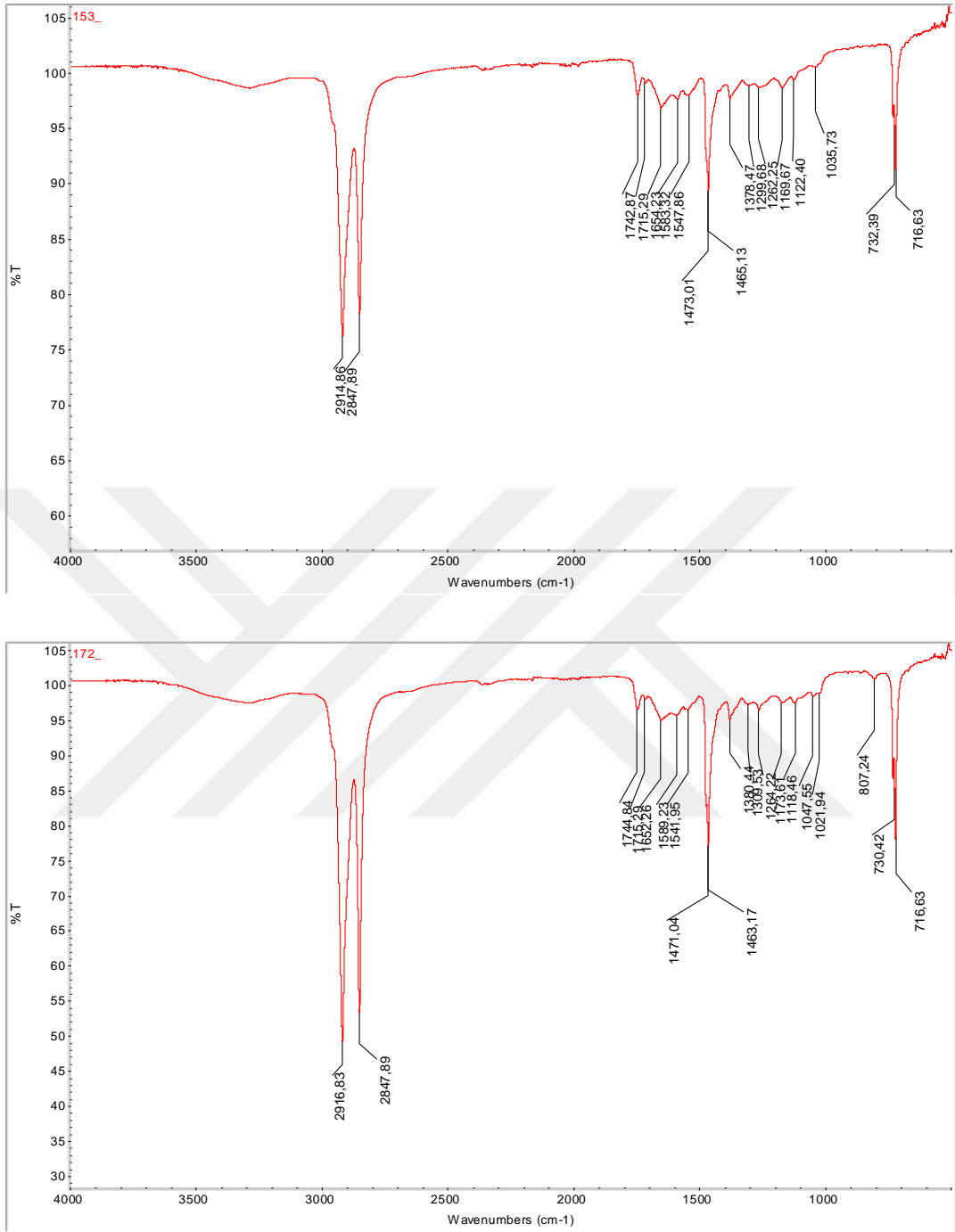
#### 4.4. FOURIER DÖNÜŞÜMÜ KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (FTIR)

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi ile anlamlı ağırlık kaybı oranı veren kuponlar ve kontrolleri ile inkübasyon sonrası kimyasal bağların absorbans ve yoğunluk miktarı ölçümü yapılmıştır.

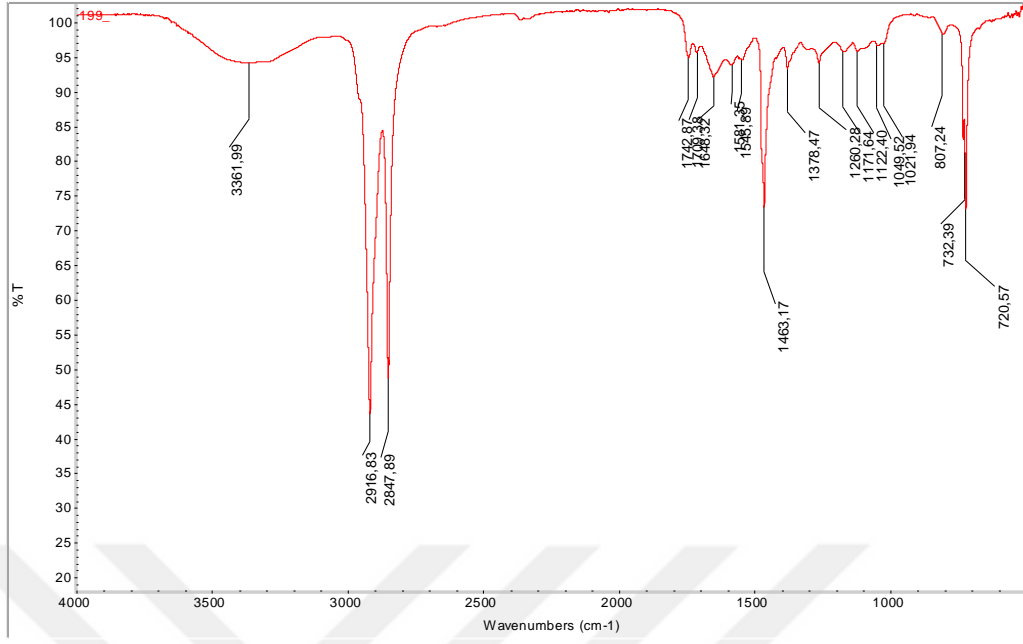
3360-3380  $\text{cm}^{-1}$  piki oksidasyon sonucu oluşmuş hidrojen bağlarına titreşimini göstermektedir. Bu bağlar hidrofilikliğin artışına işaret etmektedir. Bu pikin derinliğinin artışı PE'nin hidrofilikliğin artışına işaret eder. 2900-2920  $\text{cm}^{-1}$  ve 2840-2850  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarındaki pikler C-H (alkil grubu/ -CH<sub>2</sub> ve -CH<sub>3</sub>) bağlarının absorbanslarıdır. Bu bağlar PE'nin ana yapısındaki bağları göstermektedir. 1700-1750  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler C=O bağları (karboksil grupları) gerilimini gösterir. Polietilenin oksidasyonu sonucu oluşan ester, keton gibi karboksil gruplarına ait olabilir. 1600-1650  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pikler C=C bağ gerilme titreşimleridir. Bu genellikle polietilenin oksitlenmesi sonucu ortaya çıkabilir. 1500-1300  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pikler C-H (-CH<sub>2</sub> grupları) kayma titreşimini gösterir. PE'nin düzenli yapısındaki simetrik kayma titreşimlerine karşılık gelir. 500-800  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler ise C-H bağları arasındaki gerilmeye işaretler. Bu durum polietilenin kristal yapısını koruduğunu göstermektedir.



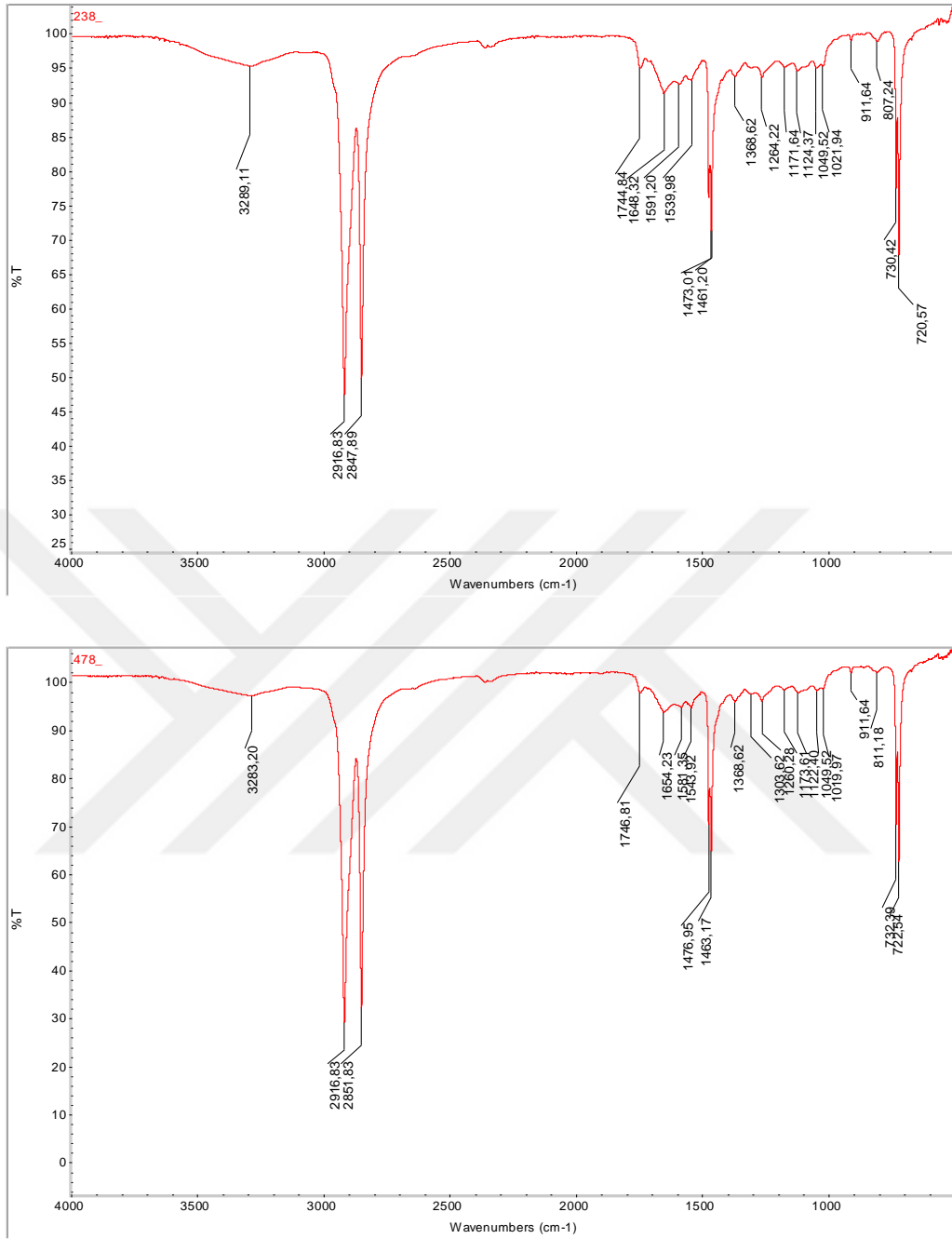
**Şekil 4.1:** UV+sıcaklık ön işlemi görmüş, SG-8 suşu ile 4 ay inkübasyon sonrası 54 numaralı LDPE kuponunun FTIR spektrumları.



**Şekil 4.2:** UV ön işleme görmüş, sırasıyla SG-10 ve SG-13 suşu ile 4 ay inkübasyon sonrası 153 ve 172 numaralı LDPE kuponlarının FTIR spektrumları.



**Şekil 1.3:** Yalnızca UV ön işlemi görmüş ancak herhangi bir inkübasyon sağlanmamış 199 numaralı kontrol LDPE kuponunun FTIR spektrumları.

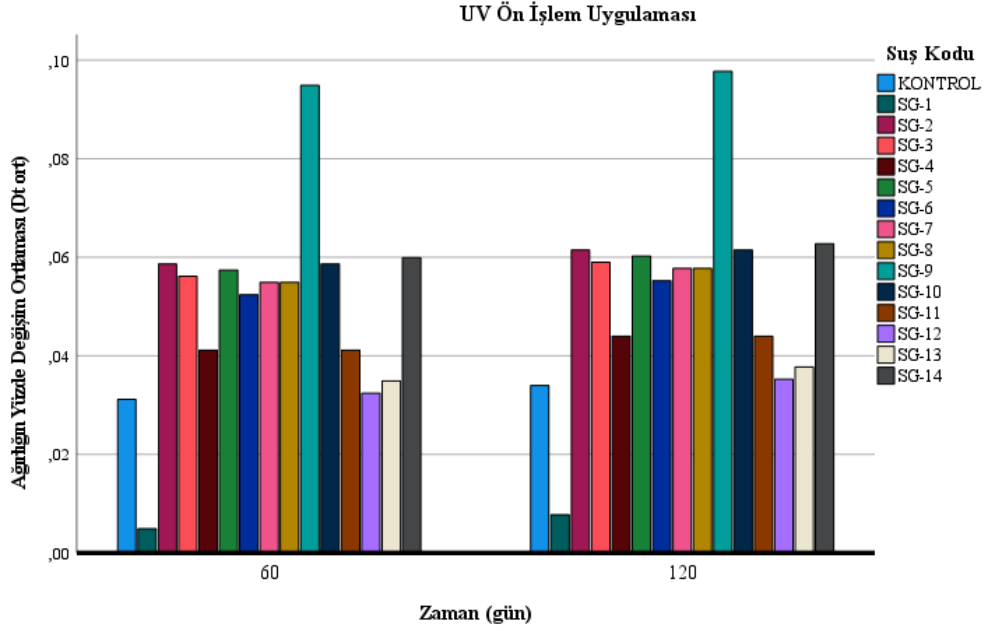


**Şekil 4.4:** HDPE kuponlarının FTIR spektrumları. 238) SG-9 ile inkübe edilmiş ön işlem görmemiş kupon; 478) inkübasyon sağlanmamış ve ön işlem uygulanmamış kupon spektrumudur.

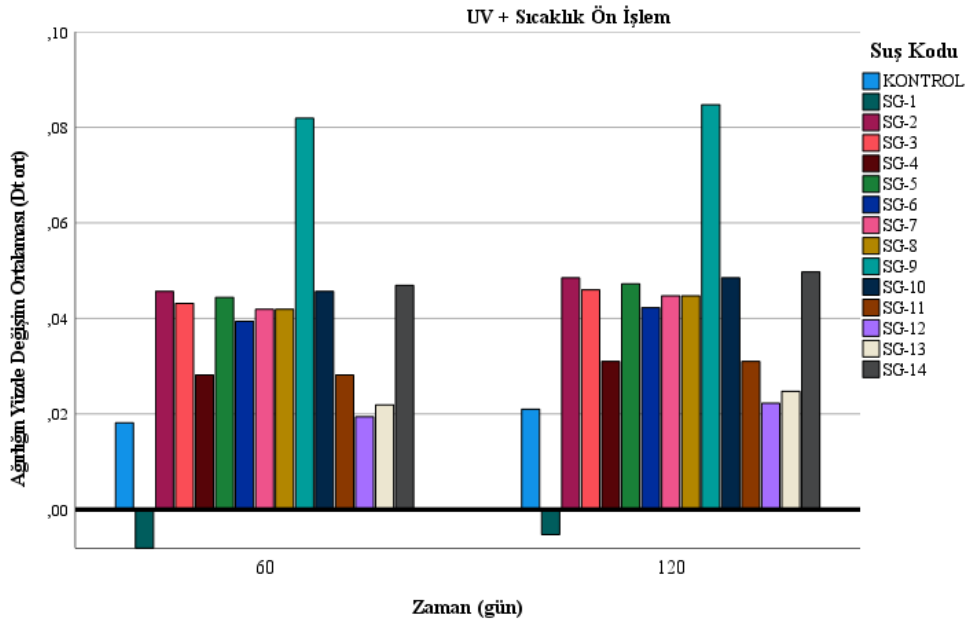
#### 4.5. BİYOİSTATİSTİK ANALİZ

SPSS Statistic V27 programında ANOVA analizi, Tukey Testi yapılmıştır ve  $p < 0,05$  veya  $p < 0,01$ 'de anlamlı kabul edilmiştir

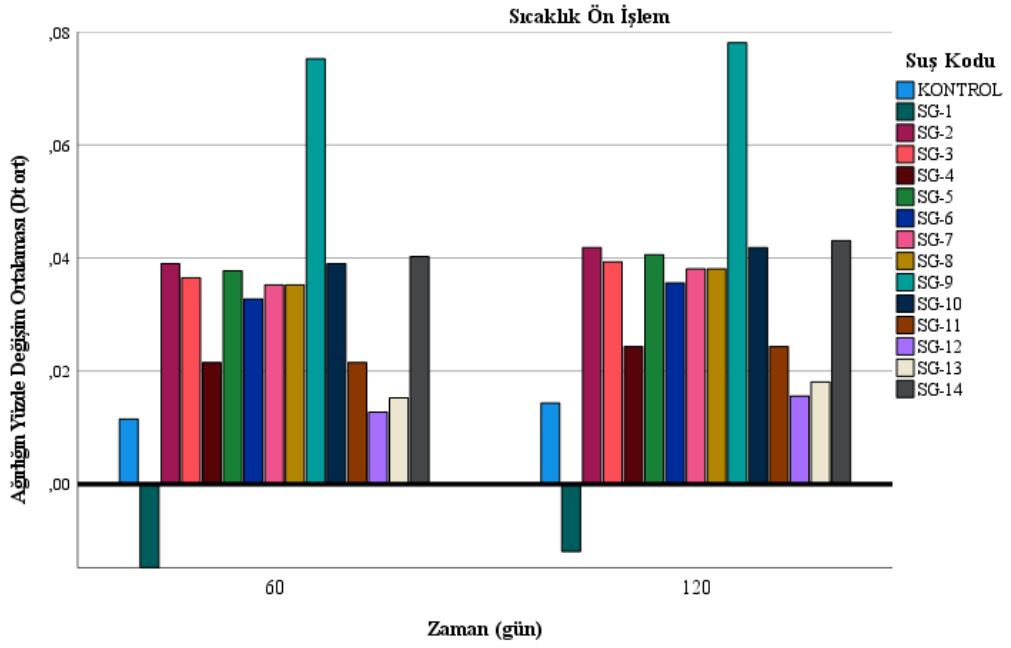
HDPE sonuçlarında ön işlem ve zaman için anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 14 suş arasında ağırlık yüzde değişimi için SG-9 için  $p=0,02$  olarak gözlemlenmiştir.



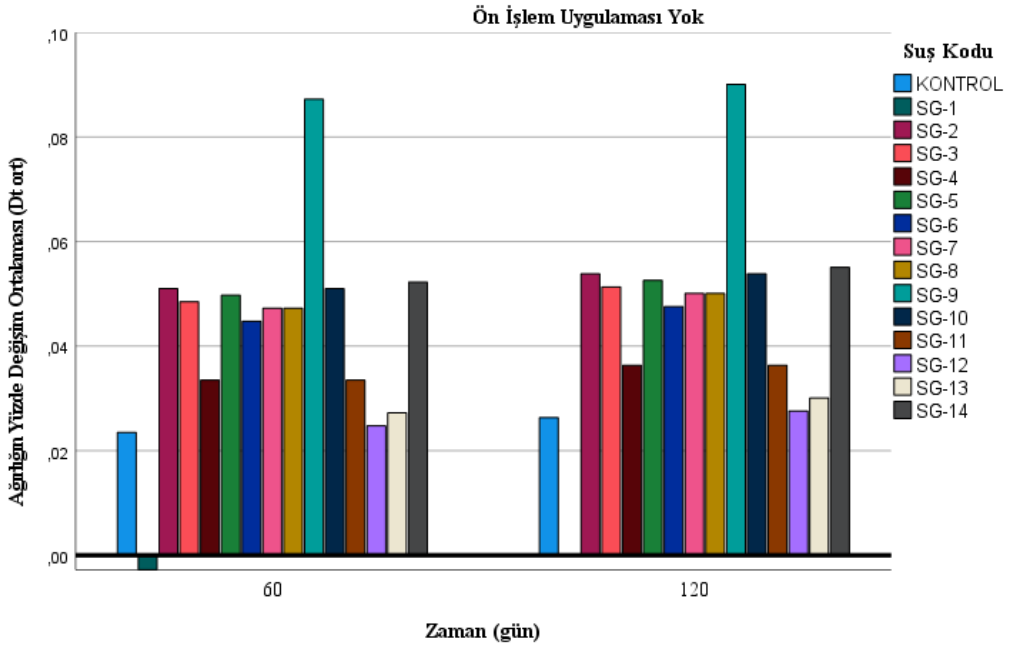
Şekil 4.5: UV ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.



Şekil 4.6: UV+sıcaklık ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.

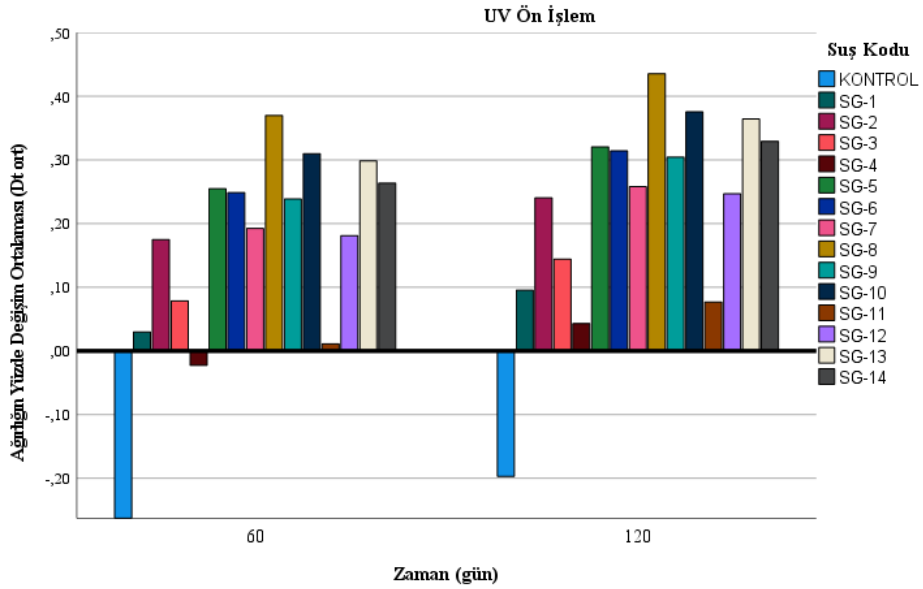


**Şekil 4.7:** Sıcaklık ön işlem grubunda, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.

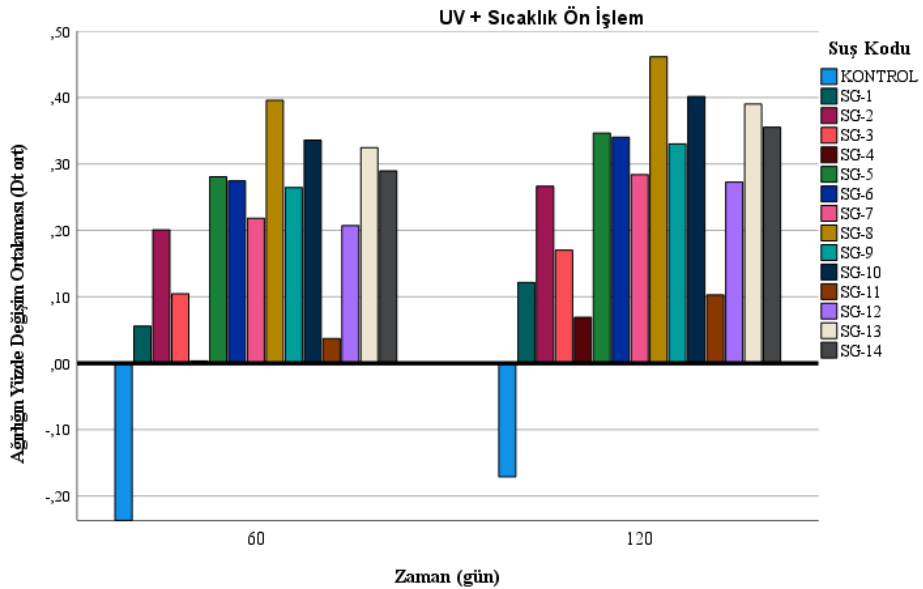


**Şekil 4.8:** Ön işlem uygulanmayan grup, HDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.

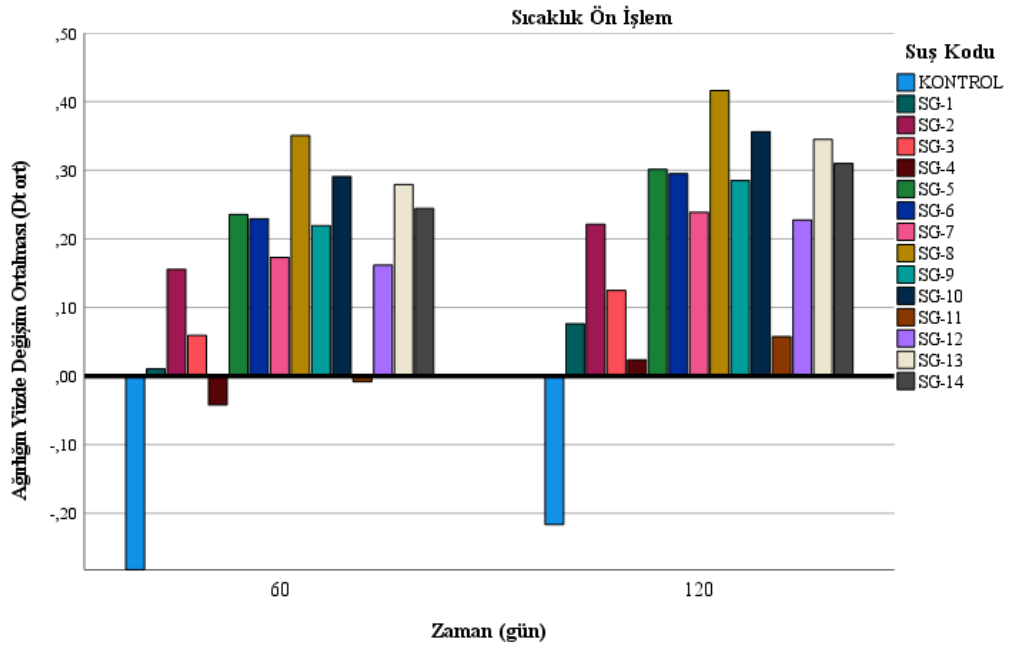
LDPE sonuçlarında ön işlem ve zaman için anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 14 bakteri arasında ağırlık yüzde değişiminin istatistik analizinde SG-8’de  $p=0,01$ , SG-10’da  $p=0,032$  ve SG-13’te  $p=0,04$  olarak gözlemlenmiştir.



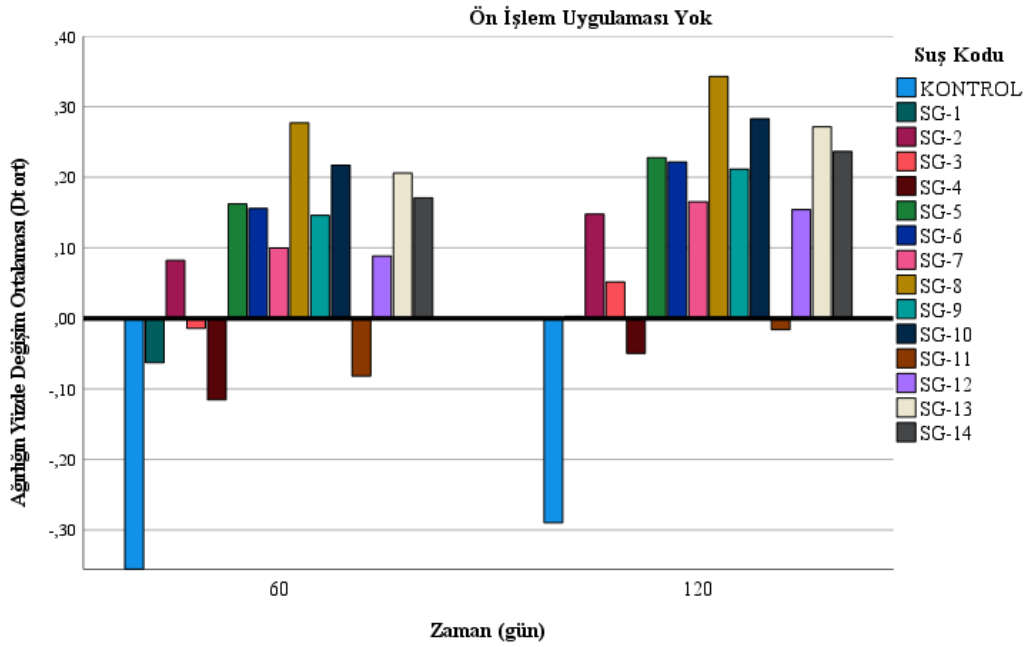
Şekil 4.9: UV ön işlem grubunda, LDPE’nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.



Şekil 4.10: UV+sıcaklık ön işlem grubunda, LDPE’nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.



**Şekil 4.11:** Sıcaklık ön işlem grubunda, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.



**Şekil 4.12:** Ön işlem uygulanmayan grup, LDPE'nin yüzde ağırlık değişiminin zaman ve izolatlara göre grafiği.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mağara ortamındaki mikroorganizmalar güneş ışığı olmadığında fotosentez yapamazlar ve dışsal besin ve enerji eksikliğini telafi etmek için karbon, azot, kükürt ve demir, mangan gibi metallerin biyojeokimyasal döngülerine yoğun olarak katılırlar ve karbon ve enerji kaynağı olarak toksik veya toksik olmayan, ortamdaki organik ve inorganik bileşikleri kullanma yeteneğine sahip mikrobiyal toplulukları oluştururlar. Bu yetenekler sayesinde kendi besinlerini elde etmekle kalmaz aynı zamanda mineralleri kullanabildikleri metabolizmaları ile biyodegradasyon süreçlerinde de rol oynayabilmektedir (Bhapkar ve diğ., 2022; Zhu ve diğ., 2022).

Çalışmamızda çeşitli mağaralardan izole edilen bakterilerin, PE biyodegradasyonu üzerinde metabolik aktivite gösterme potansiyelini belirlemek amaçlanmıştır.

PE, poliolefinlerin en inert olanı olmasına rağmen, doğal ortamda yavaş bir şekilde parçalanır. Polietilenin çevreye atılması durumunda 100 yılda %0,5'ten daha az karbonun mineralleşebileceği ve polietilenin güneş ışığı altında 2 yıl doğal olarak aşınmasından sonra aynı zaman diliminde sadece %1 karbonun mineralleşebileceği raporlanmıştır. HDPE, LDPE ve LLDPE temelde aynı kimyasal bileşikleri taşıyalar da çok farklı kristallik derecelerine sahiptir. Bozunma hızı, polimerin amorf yapısına büyük ölçüde bağlıdır. Bu nedenle daha düşük zincir hareketliliği ve radikal yayılma reaksiyonlarına rağmen HDPE'nin radikal rekombinasyonunu destekleyen kristalin yapısında olması HDPE'de bozunma sürecini uzatmaktadır. HDPE plastikler 58 yıl ile 1200 yıl arasında değişen bir bozunma sürecine sahipken bu süre LDPE plastikler için 20 yıl ile 450 yıl arasında değişmektedir (Mukherjee ve diğ., 2017; Chamas *vd.*, 2020).

PE'nin omurga zincirleri, kolayca hidrolize uğramayan ve UV-görünür kromoforların eksikliği nedeniyle foto-oksidatif bozunmaya direnen yalnızca C–C tek bağlarından oluşur. PE ayrıca ana zincirde ve zincir uçlarında az sayıda doymamış (C=C) bağ içerebilir. Bu bölgeler O<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub> veya diğer troposferik radikaller tarafından kolayca oksitlenir, genellikle oldukça kararsız hidroperoksitlere dönüşür ve bunlar daha sonra daha kararlı UV emici karbonil gruplarına dönüştürülür. Düşük yoğunluklu polimerde reaktif dallanma noktalarının daha yüksek frekansta olması, daha kısa zincir yapılarına sahip olması nedeniyle, LDPE için HDPE'ye kıyasla foto-oksidasyon ve bunu takip eden süreçte biyolojik bozunma oranının arttığı

bildirilmiştir. Aynı zamanda foto-oksidasyon dışında da çeşitli abiyotik ön işlemler keton, aldehit, alkol ve karbonil grupları gibi çeşitli fonksiyonel grupları inert karbon omurgasına ekleyerek polimer hidrofobitesini azaltabilir ve biyolojik bozunma oranını artırabilir (Chamas ve diğ., 2020; Rad ve diğ., 2022).

Plastiğe ön işlem uygulanması/aşındırılması biyolojik bozunma verimliliğini artırmanın önemli yollarından biridir. Ön işlemler; kimyasal, termal veya foto-oksidatif yöntemlerle sağlanabilir. Kimyasal ön işlem uygulamaları biyolojik bozunma öncesinde yüksek verim sağlar ve biyolojik bozunma sürecini kolaylaştırır. Ancak uygulanan kimyasalın sonrasında ortamdaki geri alınması gerekir ve çevreye ikincil kirleticilerin, toksik bileşenlerin yayılmasına neden olur. Bunun yanında termal ve UV ön işlemleri çok daha çevreci bir yaklaşım imkânı sunar. Aynı zamanda çok daha ucuz ve uygulanabilirliği kolay yöntemlerdir (Taghavi ve diğ., 2021; Muangchinda ve Pinyakong, 2024).

LDPE yüzey hidrofobitesi nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilirliği düşük bir plastiktir. Yüzey hidrofobitesinin çeşitli ön işlem uygulamalarıyla azaltılabildiği yönünde çalışmalar mevcuttur. Aynı zamanda ön işlem uygulamaları yüzeydeki pürüzlülüğü artırarak mikroorganizmaların tutunmasını kolaylaştırmaktadır. Hidrofobikliği azaltılan ve pürüzü artırılan yüzeyler sayesinde LDPE'nin biyodegradasyon verimi de arttırılmaktadır (Muangchinda ve Pinyakong, 2024).

UV veya ısıya maruziyetin polimerik yapıdaki oksijenin serbest radikallerini üretebileceği, yeniden düzenlemeler, zincir kopmaları ve çapraz bağlanmalara neden olabileceği tahmin edilmektedir. Bu radikaller daha sonraki bozunma sürecinde keton ve olefin gibi daha kısa zincirli bileşikler oluşturmak için polimerik yollara (başlatma, yayılma ve sonlandırma) katılabildiği düşünülmektedir. Kısa zincirli bu moleküller mikrobiyal ekzoenzimlerin daha kolay bir şekilde saldırısına uğrayarak bozunmanın ve tüketimin artmasına olanak tanır (Taghavi ve diğ., 2021; Ciuffi ve diğ., 2024).

Aynı zamanda UV uygulaması ile oluşan polar fonksiyonel grupların yüzey yoğunluğundaki değişimleri, sıvılarla temas açısından yansıyan yüzey enerjisinde değişimlere neden olur. Hidrofilikliği fazla olan yüzeyler daha yüksek yüzey enerjilerine ve suyla daha düşük temas açalarına sahiptir. Oksidatif bir ön işlem olan UV ile fotodegradasyon uygulamaları yüzey hidrofobitesini azaltarak, yüzeyde çatlak ve yarıklar oluşturur. Bu da mikrobiyal

kolonizasyon/biyofilm oluşumunu kolaylaştırmakta ve mikrobiyal tutunmayı artırmaktadır (Chamas ve diğ., 2020; Taghavi ve diğ., 2021; Ciuffi ve diğ., 2024).

Zincirde bulunan bağ türüne bağlı olarak, her polimer farklı dalga boylarında fotodegradasyona uğrar. PE durumunda, hidroperoksit grubu (CHOOH) fotodegradasyonun birincil oksidasyon ürünüdür ve hem fotolitik hem de termal olarak karasız bir yapıdır. Her biri, zincirleme reaksiyon sürecine katılabilen karbon ve oksijen radikalleri üretmek için ayrışır. Oksitlenmiş örnek, fotolabil (fotonların etkisiyle kimyasal değişime uğrayabilir özellikte olan yapı) olduğu için örneği daha fazla biyolojik bozunmaya götürebilen gruplara sahiptir. Bu gruplardan karbonil grubunun varlığı oksidasyon sonrası daha fazla gözlemlenmektedir. Bu nedenle, poliolefinlerde UV ön işlemi, polimerlerin hidrofobitesini azaltır, yüzeye C, O ve OH grupları yerleştirir, bu da açığa çıkan polimerik zinciri biyolojik bozunmaya daha elverişli hale getirir. UV, yeni karboksil, karbonil, ester gibi hidrofilik fonksiyonel yan grupların oluşmasına izin vermektedir (Arkatkar ve diğ., 2009; Ciuffi ve diğ., 2024).

Fotooksidatif ön işlem için tipik olarak kullanılan çalışma koşulları, minimum 3 ile maksimum 14 günlük süreler boyunca yakın UV'de (245-300 nm) ışınlamadır. UV'ye maruz kalma süresinin artmasıyla polietilenin biyolojik bozunmasında bir artış gözlemlendiği kaydedilmiştir. Aynı zamanda UV çeşidi de bozunmada oldukça etkilidir. Doğrudan güneşten alınan UV; UV-A, UV-B, UV-C olmak üzere üç farklı çeşidin karışımı olarak gelir. Ve çevre şartlarına göre şiddetleri değişim gösterir. Çalışmamızda laboratuvar şartlarında UV ön işlemi uygulandığından, yalnızca UV-C uygulaması gerçekleştirilmiştir. UV-C diğer çeşit ve karışımlarına göre en çok oksidasyon verimi veren uygulama çeşididir (Arkatkar ve diğ., 2009; Montazer ve diğ., 2018; Ciuffi ve diğ., 2024; Muangchinda ve Pinyakong, 2024).

Plastiğin biyolojik bozunumunda termal ön işlemin etkileri ise, UV ışınımının etkilerine oldukça benzerdir. Termal-oksidasyonunda polimerin matrisine oksijenin dahil edilmesini sağlar ve bu sayede polimerin geçirgenliğini artırır. Ancak UV ile ön işlem görmüş LDPE, termal olarak ön işlem görmüş LDPE ile karşılaştırıldığında daha fazla sayıda karbonil ve hidroksil grubu içerdiği raporlanmıştır. Bu nedenle biyolojik bozunmada UV uygulamasının termal uygulamadan daha verimli olduğu söylenebilir. Aynı zamanda termal ön işlem tavlama etkisi oluşturarak omurga yapısının dayanıklılığını artıracak etkide bulunabilmektedir (Rad ve diğ., 2022; Crystal Thew ve diğ., 2024).

Çalışmamızda uygulanan ön işlemler, doğa şartlarının laboratuvar boyutunda taklidi olarak düşünülmüştür. LDPE’de anlamlı bozunma değeri veren suşların degradasyon yetenekleri kıyaslandığında en yüksek verimin; iki suş (SG-10 ve SG-13) için yalnızca UV, bir suş için (SG-8) UV + sıcaklık ön işlem uygulamasında vermesi bu bilgiyi desteklemektedir. Aynı zamanda doğadaki LDPE atıkları için güneşten gelen sıcaklıktan daha çok UV’nin veya sıcaklık ve UV’nin beraber etkisinin biyodegradasyona katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Bir çalışmada denizden izole edilen suşların, çalışmamızda da kullandığımız BH besiyerinde ön işlem uygulaması görmemiş LDPE degradasyonu incelenmiştir. Bu deneyde 90 ve 120 günlük inkübasyon süreleri sonunda sırasıyla %0.22-1 ve %0.97-1.72 oranında ağırlık değişimi gözlemlenmiştir (Khandare ve diğ., 2021). Bir başka çalışmada toprakta, karışık mikrobiyal topluluklarla yapılan 120 günlük bir çalışmada ön işlem uygulanmamış LDPE filmleri %1,3-2,8 oranında ağırlık kaybı gösterirken, UV-C ile ön işlem uygulaması görmüş filmler %2,2-5,27 oranında, termal ön işlem görmüş filmler %1,4-3,2 oranında ağırlık kaybı göstermiştir. Bunun yanı sıra ön işlem görmüş ve görmemiş kontrol grubu LDPE’lerde bir ağırlık azalması görülmemiştir (Muangchinda ve Pinyakong, 2024). Çalışmamızda ise LDPE kuponları üzerinde anlamlı fark veren SG-8, SG-10 ve SG-13 suşları, en yüksek verimi UV ve UV+sıcaklık ön işlem uygulamalarında sırasıyla %0,40 (UV+sıcaklık), %0,35 (UV), %0,35 (UV) oranında vermiştir.

Aynı zamanda ön işlem görmüş ve görmemiş olan tüm kontrol LDPE kuponlarında kütle artışı gözlemlenmiştir. Kütle artışının nedeninin LDPE’nin su çekme yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. LDPE sıcak sıvılarda daha fazla olmak üzere su çekme davranışı göstermektedir (Kojnoková ve diğ., 2020). Kontrol gruplarının ön işlem uygulaması görmüş kuponları yaklaşık olarak aynı oranda ağırlık artışı gösterirken, ön işlem uygulaması görmemiş kontrol kuponları daha fazla ağırlık artışı göstermiştir. Bu durumda ön işlem uygulamalarının su çekme kapasitesini düşürdüğü tahmin edilmektedir. Ön işlem uygulamasının neden olduğu oksidasyon sonucu hidrofiliğin artması ile su çekim kapasitesinin azaldığı ön görülmektedir.

PE plastiklerinin doğada biyolojik bozunma oranları %15 civarındadır (Taghavi ve diğ., 2021). Çoğu biyolojik bozunma çalışmasında mikroorganizmaların kolay tutunması ve tüketebilmesi için kullanılan materyal kalınlıkları genellikle 0,5 mm ile 0,001 mm arasında değişiklik gösteren film, pellet veya toz formunda yani küçük parçalar olarak hazırlanmıştır. Burada materyalin daha küçük parçalarının kullanılmasındaki amaç mikroorganizmanın tutunacak

yüzey alanını arttırmak istenmesidir (Crystal Thew ve diğ., 2024). Ancak kupon kalınlığı plastiğin degradasyon ömrünü etkilememektedir. Degradasyon ömrü ağırlık değişiminin degradasyon hızına oranı ile hesaplanmaktadır. Degradasyon hızı ise ağırlık değişiminin, ağırlık değişiminin gerçekleştiği süreye oranıdır (Schwab ve diğ., 2024). Kalınlığın degradasyon hızında etkisinin olmaması ve bu çalışmada çevrede bulunan PE atıklarının degradasyonun incelenmesi amaçlandığı için kupon kalınlığı 1 mm olarak tercih edilmiştir.

Çalışmamızda LDPE ve HDPE olmak üzere iki farklı PE çeşidiyle çalışılmıştır. Her iki grupta da aktivite gösteren suşlar farklılık göstermiştir. LDPE’de *Firmicutes* ve *Actinobacteria* filumlarına; *Micrococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait SG-8, SG-10 ve SG-13 suşları aktivite gösterirken; HDPE kuponlarında *Proteobacteria* filumuna ait *Pseudomonas putida* (SG-9) degradasyon aktivitesi göstermiştir.

*Actinobacteria* filumuna ait türler, LDPE de dahil olmak üzere karmaşık hidrokarbonları parçalamadaki rolleriyle iyi bilinmektedir. Bu bakteriler, uzun zincirli polimerleri parçalayan hücre dışı enzimler üretir ve bu da onları LDPE parçalanmasında doğrudan yer alan birincil parçalayıcılar haline getirir (Muangchinda ve Pinyakong, 2024). Bu filuma ait *Micrococcus yunnaensis* türü çalışmamızda LDPE bozunmasının istatistik analizinde  $p < 0,05$ ’ten ( $p = 0,032$ ) küçük değer vermiştir. *Micrococcus luteus* başta olmak üzere bu cinsin LDPE degradasyonunda etkili olduğu diğer çalışmalarda raporlansa da (Banerjee ve diğ., 2024) *Micrococcus yunnaensis*’e ait bir bilgi bulunamamıştır. SG-10 (*Micrococcus yunnaensis*) suşu iki alk-b gen bölgesinde de pozitif sonuç vermiş ayrıca manganez peroksidaz ve lignin peroksidazın kristal viyole testinde enzim aktivitesi göstermiştir. %0,40 ağırlık değişim oranıyla en yüksek verimi 4. ay UV+Sıcaklık grubu vermiştir. Bu grubun 2. ay değişim oranı %0,34’ken iki ayın ortalama ağırlık değişim yüzdesi %0,37’dir. Bu grubu takip eden en yakın değişim oranı UV uygulanan gruba aittir; 2. ayda %0,31, 4. Ayda ise %0,38 oranında değişim göstermiştir.

*Bacillus safensis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* türlerinin LDPE biyodegradasyon aktivitesi çeşitli çalışmalar ile raporlanmıştır (Kavitha ve Bhuvanewari, 2021; Yaove diğ., 2022a; Ji ve diğ., 2024). Bu çalışmalarda genellikle film ve pellet formunda PE’ler ile plastik kirliliği bilinen alanlardan izole edilmiş suşlar ile çalışılmıştır. Ağırlık yüzde değişim oranları %1 ile %30 arasında değişiklik göstermektedir. Bu durum *Bacillus* cinsi bakterilerin PE’nin degradasyonundaki potansiyelini göstermektedir. Aynı zamanda *Bacillus* türlerinin degradasyon için lignolitik ve lipolitik

enzimler kullandığı raporlanmıştır (Kavitha ve Bhuvaneshwari, 2021; Yaove diğ., 2022a; Ji ve diğ., 2024).

SG-8 suşu bir *Bacillus* türü olan *Bacillus pumilus* olarak isimlendirilmiş, LDPE bozunmasının istatistik analizinde  $p < 0,05$ 'ten ( $p = 0,01$ ) küçük değer vermiştir. alk-b gen bölgelerinin ikisi de negatif sonuç vermiştir. Ancak manganez peroksidaz, lignin peroksidaz (neutral red) ve lipolitik enzim testlerinde aktivite göstermiştir. Bu durum *Bacillus* 'un diğer suşlarının degradasyondaki enzim yetenekleriyle paralellik sağlamakta ve degradasyon yeteneğini desteklemektedir. 2. ay (%0,36) ve 4. ayda (%0,46) en yüksek ağırlık yüzde değişim oranlarını UV + sıcaklık ön işlemi uygulanmış LDPE kuponlarında verirken en düşük ağırlık yüzde değişim oranlarını ön işlem uygulanmamış kuponlarda (2. ayda %0,28; 4. ayda 0,34) vermiştir. Bu iki grup dışında 2. ve 4. ayda, UV ve sıcaklık ön işlem gruplarındaki ağırlık yüzde değişim oranları sırasıyla %0,38 (UV/ 2. ay), %0,36 (Sıcaklık/ 2. ay), %0,44 (UV/ 4. ay), %0,42 (Sıcaklık/ 4. ay) olarak bulunmuştur. 2. ayda tüm grupların ortalama ağırlık değişim yüzdesi %0,36 değerindeyken bu oran 4. ayda %0,42'ye yükselmiştir. Bu durum literatürdeki UV ve UV+sıcaklık uygulamalarının biyobozunma verimini arttırdığı yönündeki bilgiyi doğrulamaktadır.

SG-13 suşu *Bacillus mycoides* olarak isimlendirilmiş ve LDPE bozunmasının istatistik analizinde  $p < 0,05$ 'ten ( $p = 0,04$ ) küçük değer vermiştir. alk-b gen bölgelerinin ikisi de pozitif sonuç vermiştir. Bununla beraber SG-13 izolatu lakkaz, manganez peroksidaz ve lipolitik enzim aktivitesi de göstermiştir. Bu durum literatür ile karşılaştırıldığında degradasyon potansiyelini doğrulamaktadır. En yüksek ağırlık değişim yüzdesini UV+sıcaklık (%0,33/2. ay; %0,39/4. ay) grubunda göstermiştir. En düşük ağırlık yüzde değişim oranlarını ön işlem uygulanmamış kuponlarda (2. ayda %0,21; 4. ayda 0,37) vermiştir. Yalnızca UV uygulanan grupta %0,30 (2. ay), %0,36 (4. ay); yalnızca sıcaklık uygulanan grupta ise %0,28 (2. Ay), %0,35 (4. Ay) ağırlık yüzde değişim oranlarını vermiştir. SG-13 suşu bu çalışmada lakkaz aktivitesi gösteren tek izolatır. Bu durumun, literatürdeki lakkaz aktivitesinin polietilen degradasyonu üzerine etkisini destekleyen bir veri sağladığı düşünülmektedir.

LDPE kuponları üzerinde anlamlı degradasyon gösteren üç suşun en yüksek verimini SG-8 suşu ( $D_{tot}$ : %0,39) sağlarken, SG-10 %0,33 ve SG-13 %0,31'lik bir değişim oranı sağlamıştır.

LDPE'de anlamlı ağırlık kaybı veren suşların en fazla ağırlık değişimi veren kuponları için FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz SG-8 / 54 (UV+Sıcaklık), SG-10 / 153 (UV), SG-

13 / 172 (UV) ve kontrol olarak inkübasyonu sağlanmamış, yalnızca UV ön işlem uygulanmış 199 numaralı kuponlarla gerçekleştirilmiştir. Kontrol kuponunda bulunan  $3361.99 \text{ cm}^{-1}$  dalga boyundaki pik oksidasyon nedeniyle oluşan hidrojen bağlarına ve plastiğin hidrofilikliğine işaret etmektedir. Bu pik kontrol kuponu dışındaki diğer kuponlarda varlık göstermemiştir. Bu durumun, inkübasyon esnasında besiyerinin su temelli olması ile hidrofilik bağların çözünmesi veya hidrofilikliği artmış bölgelere suşların etki ederek bu bağları parçalaması ile gerçekleştiği ön görülmektedir.  $3360-3380 \text{ cm}^{-1}$  piki oksidasyon sonucu oluşmuş hidrojen bağlarına titreşimini göstermektedir. Bu bağlar oksidasyon sonucunda hidrofilikliğin artışı veya nem tutma davranışı sonucunda oluşmaktadır.  $2910-2840 \text{ cm}^{-1}$  aralığındaki dalga boyları  $\text{CH}_2$  asimetrik gerilme,  $\text{CH}_2$  simetrik gerilme ve bükülme bağlarını belirtmekte ve PE'nin temel yapısı hakkında bilgi vermektedir. Kontrol kuponu ile kıyasladığımızda 153 ve 172 kuponlarında absorbands değeri azalma saptanmış ve bu azalmada bu kuponlarda degradasyon gerçekleştiğini göstermektedir. SG-8 suşu ile inkübe olan 54 numaralı kuponda ise dalga boyundaki absorbands artış göstermektedir. Bunun nedeninin UV ön işlemine ek olarak sıcaklık uygulamasının tavlama etkisi göstererek omurga yapısını sağlamlaştırdığı şeklinde yorumlanabilir. Bununla beraber  $1700-1750 \text{ cm}^{-1}$  aralığındaki dalga boylarının absorbandsı kontrol grubuna göre üç kuponda da azalmıştır. Bu dalga boyu karboksil gruplarına işaret eder. Oksidasyon sonucunda karboksil gruplarının oluşumunun gözlenmesi beklenmektedir. Ancak aynı zamanda ön işlem uygulaması sonrasında mikroorganizmalar ile inkübasyonda mikroorganizmaların karboksil gruplarını parçalamasıyla biyolojik bozunmanın başladığı bilinmektedir. Bu durumda karboksil grupların azalması degradasyonun gerçekleştiği yönünde kanıt sunmaktadır.  $1600-1650 \text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aromatik bileşiklerin  $\text{C}=\text{C}$  bağlarını göstermektedir. Oksidasyon sonucu oluşan bu bağlar mikroorganizmaların bu bağları parçalamasıyla biyolojik bozunma esnasında azalma göstermektedir. Kontrol kuponuna kıyasla 3 kupondaki bu dalga boyunun absorbandsı azalma göstermiştir. Bununla beraber  $1450-1480 \text{ cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler ise alifatik  $\text{C}-\text{H}$  bağları hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu dalga boyundaki absorbandsın yüksekliği polimer yapısının düzenliliğine işaret etmektedir. Kontrol kuponuna kıyasla diğer üç kuponun bu dalga boyundaki absorbandsı daha düşüktür. Aynı zamanda  $500-800 \text{ cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler ise  $\text{C}-\text{H}$  bağları arasındaki gerilmeye işaretir. Bu durum polietilenin kristal yapısını ve dayanıklılığını koruduğunu göstermektedir. Bu dalga boyundaki absorbands kontrol kuponuna kıyasla diğer üç kuponda azalma göstermiştir. Tüm bu

sonuçlar ise SG-8, SG-10 ve SG-13 ile biyodegradasyonun sağlandığına dair kanıtlar sunmaktadır(Chaudhary ve diğ., 2021; Sandt ve diğ., 2021).

*Pseudomonas* sp.'ye ait bazı türler PE biyodegradasyonunda bilinen, alk-b pozitif bakterilerdir. Bu cinsin türü olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas knackmussii*'nin PE üzerinde etkili bir biyodegradasyon potansiyeli olduğu çeşitli çalışmalar ile kanıtlanmıştır. PE degradasyonunda aktivite gösteren *Pseudomonas* suşlarının genellikle alkan monooksijenaz (alk-b), lakkaz, peroksidaz ve lipaz enzimlerinin gen bölgelerine sahip oldukları raporlanmıştır. PE üzerinde %3-35 aralığında ağırlık değişimi gösterebilmektedir (Jeon & Kim, 2015; Hou ve diğ., 2022).

Bu alışmadaki SG-9 suşumuz *Pseudomonas putida*'dır. *Pseudomonas putida*, *Proteobacteria* filumuna ait bir bakteridir. Biyoistatistik analizde  $p < 0.05$ 'ten ( $p=0,02$ ) kk değer vermiştir. Çalışmamızda en yüksek ağırlık değişim yüzdesini UV uygulanmış grupta (UV  $D_{t_{ort}}$ : %0,097) verirken, en düşük değişimi termal ön işlem görmüş grupta vermiştir (Sıcaklık  $D_{t_{ort}}$ : %0,077). Zaman ve ön işlem gruplarının ağırlık yüzde değişimine baktığımızda da oranlar UV/2. ay %0,095, UV/4. ay %0,098; UV+sıcaklık/2. ay %0,083, UV+sıcaklık/4. ay %0,085; sıcaklık/2. ay %0,075, sıcaklık/4. ay %0,078; n işlem uygulaması yok/2. ay %0,089, n işlem uygulaması yok /4. ay %0,091 olarak belirlenmiştir.

Bu suşun degradasyon sağladığı kuponlar için ağırlık değişim yüzdesinin hesaplanmasının yanı sıra FTIR ile spektrum ölçümü sağlamıştır. FTIR'da %T değeri azaldıkça absorbands seviyesi artmaktadır. Aynı zamanda absorbands seviyesinin yüksekliği ise o dalga boyundaki bağın yoğunluğunun ve konsantrasyonunun fazla olduğu anlamına gelmektedir. lm, en yüksek ağırlık kaybı sağlayan 4. ay; n işlem uygulanmamış 238 numaralı kupon ve hiçbir işlem uygulanmamış 478 numaralı kontrol kuponunda gerçekleşmiştir.  $2916.83\text{ cm}^{-1}$  ve  $2847.89\text{ cm}^{-1}$  dalga boylarında kontrole kıyasla 238 numaralı kuponun absorbandsı düşmüştür. Bu dalga boyları sırasıyla  $\text{CH}_2$  asimetric gerilme,  $\text{CH}_2$  simetric gerilme ve bükülme piklerine karşılık gelmektedir. Bu pikler polietilen yapısının sağlam ve düzenli yapısı hakkında bilgi verir. Deney grubundaki kuponun bu piklerdeki absorbandsının düşmesi degradasyonun gerçekleştiğine kanıt sağlamaktadır. Degradasyona işaret bir diğer pik aralığı da  $1700-1750\text{ cm}^{-1}$  dalga boyudur. Bu aralıktaki pikler ester, keton gibi karboksil gruplarını ifade eder. Buradaki absorbandsın artışı degradasyonun gerçekleştiğine işaret etmektedir. Polietilenin bozunma sürecinde ilk aşamalar karboksil gruplara dönüşümdür. 238 numaralı kuponun bu aralıktaki absorbandsı kontrol

kuponuna göre daha fazladır. Ayrıca  $1460\text{ cm}^{-1}$  civarındaki pikler C-H bağlarına sahip alkil grupları ve yapının kristal bölgelerini temsil eder. Buradaki belirgin pik yani yüksek absorbans PE'nin dayanıklılığını gösterir. Kontrol grubunun bu dalga boyundaki absorbansı, 238 numaralı kupona göre daha fazladır. Ek olarak  $500-800\text{ cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler ise C-H bağları arasındaki gerilmeye işaretler. Bu durum polietilenin kristal yapısını koruduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda buradaki piklerin absorbansı daha fazlayken 238 numaralı kuponun bu aralıktaki absorbansı kontrole göre daha düşüktür. Bu durumlar da degradasyonun gerçekleştiğine dair veri sağlamaktadır (Chaudhary ve diğ., 2021).

Sonuçlar değerlendirildiğinde HDPE üzerinde UV ön işlem grubundan sonra en yüksek verimi veren grubun ön işlem uygulaması olmayan grup olması; aynı zamanda uygulanan UV'nin yalnızca UV-C olması ve güneşten doğrudan gelen UV'ye göre daha kuvvetli etkide bulunması doğada atık olarak bulunan HDPE'nin bozunmasını doğa şartlarının etkilemeyeceği veya olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir.

Alkanın terminal  $\text{CH}_3$  kalıntısı, bir alkan hidroksilaz (AH) sistemi tarafından katalize edilir. Alkan hidroksilaz (AH) sisteminin başlıca enzimi ise Alkan-1-monooksijenaz (alk-b) enzimidir. alk-b alkan hidroksilazını sağlamaktadır. Monooksijenaz enzimleri hem alkan oksidasyonunun başlangıç aşamasında hem de yağ asitlerinin dikarboksilik asit oluşumunu sağlayan son oksidasyon aşamasında bu sürece katılmaktadır. Alk-b ile başlayan bu parçalama sürecinin bileşiklerini ise lignolitik, lipolitik enzimlerin beraber ve/veya sırayla aktivitesi sonucunda oksitlenir ve yağ asidine dönüştürülür; bu da  $\beta$ -oksidasyonun  $\text{CO}_2$ 'ye dönüşümü sayesinde mikrobiyal büyüme için enerji sağlar (Yoon, ve diğ., 2012; Jeon ve Kim, 2015; Krueger ve diğ., 2015; Montazer ve diğ., 2019; Shi ve diğ., 2021; Frantsuzova ve diğ., 2022; Lv ve diğ., 2024).

Bu nedenle çalışmamızda izolatlarımızın seçimi alk-b gen varlığına göre yapılmıştır. Bununla beraber ilk 9 suş için de alk-b gen bölgesi bakılsa da polipropilen aktivitesi üzerine yapılan çalışmada degradasyon yeteneği sağladığı için alk-b gen bölgesine sahip olmayan suşlar da çalışmaya dahil edilmiştir. SG-8 alk-b gen bölgesine sahip olmasa da degradasyon gösterirken, degradasyon aktivitesi gösteren diğer üç suş alk-b gen bölgesine sahiptir.

Anlamlı aktivite gösteren tüm suşlar lignolitik enzim aktivitesi göstermiştir. Lignolitik enzimlerden mangan peroksidazda tüm suşlar aktivite gösterirken lignin peroksidaz

aktivitesini SG-8 ve SG-10 suşları, lakkaz aktivitesini ise yalnızca SG-13 suşu göstermiştir. Bu durum lignolitik enzim aktivitesinin degradasyon etkili olduğu bilgisini desteklemektedir.

SG-9 dışında diğer üç suş lipolitik aktivite göstermiştir. SG-9'un HDPE, diğer üç suşun LDPE üzerinde aktivite göstermesi lipolitik aktivitenin LDPE degradasyonunda daha etkili olduğu tahminini oluşturmaktadır.

Enzim aktiviteleri dışında mikroorganizmanın biyodegradasyon verimini etkileyen birçok faktör vardır. Ön işlem uygulamaları, plastik ve mikroorganizmanın inkübasyonun sağlandığı ortam şartları plastiğin yüzey alanı oldukça önemlidir. Ön işlem uygulamaları plastiğin bağlarının önceden parçalanmasını sağlayarak avantaj sağlar. İnkübasyon ortamındaki besin miktarı, pH, sıcaklık ise doğrudan mikroorganizmanın biyodegradasyon yeteneğini etkilemektedir. Aynı zamanda degrade edilen plastiğin formu ve yüzey alanı mikroorganizmanın tutunma verim ve oranını etkilediği için degradasyon verimini etkilemektedir (Skariyachan ve diğ., 2018; Taghavi ve diğ., 2021; Rad ve diğ., 2022; Crystal Thew ve diğ., 2024).

Genellikle minimum besin maddeleri içeren biyobozunma ortamının optimum formülasyonu, plastik biyobozunma sürecine pozitif yönlü etkide bulunarak iyileştirir çünkü ortamın bileşimi mikroorganizmaların büyümesini ve hayatta kalmasını etkiler ve bunu takip eden süreçte mikroorganizmaların plastik üzerindeki kolonizasyonunu etkiler. Bazı çalışmalarda tamamen karbon açlığı oluşturarak ortama yalnızca plastik üzerinden bir karbon kaynağı verilir. Bu durumda, ortamda alternatif karbon kaynaklarının bulunmaması, mikroorganizmaları ön işlem sırasında polimer zincirinde oluşan organik asit ve alkol gruplarını tek karbon kaynağı olarak kullanmaya zorlar. Ancak bazı çalışmalarda karbon açlığında degradasyon yeteneği sergilemeyen mikroorganizmaların ortama az miktarda farklı kaynaklardan karbon sağlanması ile degradasyon yetenekleri gösterdiği ve plastikleri parçaladığı raporlanmıştır (Crystal Thew ve diğ., 2024).

Sıcaklık ve pH optimizasyonu da oldukça etkilidir. Mikroorganizma yeteneklerini optimum olarak gösterebildiği sıcaklık ve pH'tan daha geniş bir aralıkta üreme gösterebilir. Ancak üreme gösterdiği her sıcaklıkta ve pH'ta, sahip olduğu birçok metabolik aktivite gibi degradasyon verimini de yüksek olarak gösteremeyebilir. Aynı zamanda bazı durumlarda bu yeteneklerini

gösterebilmesi için sıcaklık ve pH ile stres ortamı da oluşturulabilir (Mukherjee ve diğ., 2017; Skariyachan ve diğ., 2018).

Çalışmamızda, mineral tuz ortamı ve karbon kaynağı olarak yalnızca plastik kuponlar kullanılmıştır. Ayrıca pH ve sıcaklık değerleri mikroorganizmaların izolasyonunun sağlandığı değerler olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın ileri aşamalarında sıcaklık, pH ve besin ortamı değerlerinin optimizasyonları sağlanarak verimin iyileştirilebileceği ön görülmektedir.

Çalışmamız sonucunda temelde etilen polimerlerinden oluşan ama farklı tür olan PE çeşitleri üzerindeki aktivitenin abiyotik ve biyotik şartların değişimiyle farklılıklar gösterdiği kanıtlanmaktadır. Bununla beraber doğaya atılmış olan PE atıkların LDPE çeşitlerinin degradasyonu doğanın sağladığı abiyotik şartlardan olumlu etkilenirken, HDPE aynı derecede etkilenmemekte hatta abiyotik bir etki olmadığında daha yüksek degradasyon verimi sağlayabileceği görülmektedir. |

## 6. KAYNAKLAR

- Abraham, J., Ghosh, E., Mukherjee, P., & Gajendiran, A., 2017, Microbial degradation of low density polyethylene, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 36(1), 147-154.
- Ali, S. S., Elsamahy, T., Koutra, E., Kornaros, M., El-Sheekh, M., Abdelkarim, E. A., ... & Sun, J., 2021, Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on current status of knowledge and future perspectives of disposal, *Science of the Total Environment*, 771, 144719.
- Arkatkar, A., Arutchelvi, J., Bhaduri, S., Uppara, P. V., & Doble, M., 2009, Degradation of unpretreated and thermally pretreated polypropylene by soil consortia, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(1), 106-111.
- Arslan Aydođdu, E. *Vd.*, 2023, "Screening Of Bacteria in Yarık Sinkhole, Antalya, Turkey for Carbonate Dissolution, Biomineralization and Biotechnological Potentials Pregled Bakterij V Vrtači Yarık, Antalja, Turčija, V Zvezı Z Raztapljanjem Karbonata, Biomineralizacıjo In Biotehnološkım", *Acta Carsologica*, 52(1).
- Atanasova, N., Paunova-Krasteva, T., Stoitsova, S., Kambourova, M., Shapagin, A., Matveev, V. & Bonch-Osmolovskaya, E., 2021, Plastic Degradation by Extremophilic Microbial Communities Isolated from Bulgaria and Russia, *Ecologia Balkanica*, 13(2).
- Auta, H. S., Emenike, C. U., Jayanthi, B., & Fauziah, S. H., 2018, Growth kinetics and biodeterioration of polypropylene microplastics by *Bacillus* sp. and *Rhodococcus* sp. isolated from mangrove sediment, *Marine pollution bulletin*, 127, 15-21.
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Hemambika, B., Ramesh, N., Sumathi, C. S., Kottaimuthu, R., & Rajesh Kannan, V., 2010, High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India, *Letters in applied microbiology*, 51(2), 205-211.
- Banerjee, D., Patel, C., & Patel, K., 2024, Degradation of Plastic Beads Containing Low Density Polyethylene (LDPE) by Sequential Photolysis, Hydrolysis and Bacterial Isolates, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 112(3), 41.
- Bardajı, D. K. R., Moretto, J. A. S., Furlan, J. P. R., & Stehling, E. G., 2020, A mini-review: current advances in polyethylene biodegradation, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36, 1-10.
- Bardajı, D. K. R., Furlan, J. P. R., & Stehling, E. G., 2019, Isolation of a polyethylene degrading *Paenibacillus* sp. from a landfill in Brazil, *Archives of microbiology*, 201, 699-704.
- Barton, H. A., Giarrizzo, J. G., Suarez, P., Robertson, C. E., Broering, M. J., Banks, E. D., ... & Venkateswaran, K., 2014, Microbial diversity in a Venezuelan orthoquartzite cave is dominated by the *Chloroflexi* (Class *Ktedonobacterales*) and *Thaumarchaeota* Group I. 1c, *Frontiers in microbiology*, 5, 615.
- Benavides, P. T., Lee, U., & Zarè-Mehrjerdi, O., 2020, Life cycle greenhouse gas emissions

and energy use of polylactic acid, bio-derived polyethylene, and fossil-derived polyethylene, *Journal of Cleaner Production*, 277, 124010.

- Bhapkar, S., Pol, R., Patil, D., Pable, A., & Jadhav, U. U., 2022, Whole Cell Application Potential of Extremophilic Fungi in Bioremediation. *Extremophilic Fungi: Ecology, Physiology and Applications*, 557-579.
- Bhardwaj, H., Gupta, R., & Tiwari, A., 2013, Communities of microbial enzymes associated with biodegradation of plastics, *Journal of Polymers and the Environment*, 21, 575-579.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H. & Suh, S., 2020, Degradation rates of plastics in the environment, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- Chaudhary, A. K., Chaitanya, K., Dalmia, R., & Vijayakumar, R. P., 2021, Synergistic effect of UV, thermal, and chemical treatment on biological degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Thermomyces lanuginosus*, *Environmental Monitoring and Assessment*, 193, 1-11.
- Ciuffi, B., Fratini, E., & Rosi, L., 2024, Plastic pretreatment: The key for efficient enzymatic and biodegradation processes, *Polymer Degradation and Stability*, 110698.
- Crystal Thew, X. E., Lo, S. C., Ramanan, R. N., Tey, B. T., Huy, N. D., & Chien Wei, O., 2024, Enhancing plastic biodegradation process: strategies and opportunities, *Critical Reviews in Biotechnology*, 44(3), 477-494.
- Çolak, B., 2023, *Morca Mağarası'ndan İzole Edilen Bakterilerin Ürettikleri Karotenoid Pigmentlerinin Karakterizasyonu*, yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dang, T. C. H., Nguyen, D. T., Thai, H., Nguyen, T. C., Hien Tran, T. T., Le, V. H., ... & Nguyen, Q. T., 2018, Plastic degradation by thermophilic *Bacillus* sp. BCBT21 isolated from composting agricultural residual in Vietnam, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(1), 015014.
- El-Sherif, D. M., Eloffy, M. G., Elmesery, A., Abouzid, M., Gad, M., El-Seedi, H. R., ... & Al Naggat, Y., 2022, Environmental risk, toxicity, and biodegradation of polyethylene: a review, *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81166-81182.
- Europe Plastic, 2024, <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2024/>, [Ziyaret tarihi: 2024 Aralık].
- Fossi, M. C., Panti, C., Bainsi, M., & Lavers, J. L., 2018, A review of plastic-associated pressures: cetaceans of the Mediterranean Sea and eastern Australian shearwaters as case studies, *Frontiers in marine science*, 5, 173.
- Frantsuzova, E., Delean, Y., Bogun, A., Sokolova, D., & Nazina, T., 2022, Comparative Genomic Analysis of the Hydrocarbon-Oxidizing Dibenzothiophene-Desulfurizing *Gordonia* Strains, *Microorganisms*, 11(1), 4.

- Fuhs, G. W., 1961, Der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen., *Archiv für Mikrobiologie*, 39, 374-422.
- Gran-Scheuch, A., Trajkovic, M., Parra, L., & Fraaije, M. W., 2018, Mining the Genome of *Streptomyces leeuwenhoekii*: Two New Type I Baeyer–Villiger Monooxygenases From Atacama Desert, *Frontiers in microbiology*, 9, 1609.
- Harshvardhan, K., & Jha, B., 2013, Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India, *Marine pollution bulletin*, 77(1-2), 100-106.
- Hubelova, D., Ulmann, V., Mikuska, P., Licbinsky, R., Alexa, L., Modra, H., ... & Pavlik, I., 2021, Nontuberculous mycobacteria prevalence in aerosol and spiders' webs in karst caves: Low risk for speleotherapy, *Microorganisms*, 9(12), 2573.
- Jeon, H. J., & Kim, M. N., 2015, Functional analysis of alkane hydroxylase system derived from *Pseudomonas aeruginosa* E7 for low molecular weight polyethylene biodegradation, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 103, 141-146.
- Jeremic, D., 2014, "Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry", Wiley-VCH Weinheim.
- Ji, S. H., Yoo, S., Park, S., & Lee, M. J., 2024, Biodegradation of low-density polyethylene by plasma-activated *Bacillus* strain, *Chemosphere*, 349, 140763.
- Jorquera, M. A., Graether, S. P., & Maruyama, F., 2019, Bioprospecting and biotechnology of extremophiles, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 204.
- Kavitha, R., & Bhuvaneshwari, V., 2021, Assessment of polyethylene degradation by biosurfactant producing ligninolytic bacterium, *Biodegradation*, 32(5), 531-549.
- Khandare, S. D., Chaudhary, D. R., & Jha, B., 2021, Marine bacterial biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) plastic, *Biodegradation*, 32(2), 127-143.
- Kojnoková, T., Markovičová, L., & Nový, F., 2020, The changes of LD-PE films after exposure in different media, *Production engineering archives*, 26(4), 185-189.
- Kosznik-Kwaśnicka, K., Golec, P., Jaroszewicz, W., Lubomska, D., & Piechowicz, L., 2022, Into the unknown: microbial communities in caves, their role, and potential use, *Microorganisms*, 10(2), 222.
- Krueger, M. C., Harms, H., & Schlosser, D., 2015, Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics, *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 8857-8874.
- Kumar, D., Kumar, L., Nagar, S., Raina, C., Parshad, R., & Gupta, V. K., 2012, Screening, isolation and production of lipase/esterase producing *Bacillus* sp. strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions, *Archives of Applied Science Research*, 4(4), 1763-1770.
- Lee, A. H., Lee, H., Heo, Y. M., Lim, Y. W., Kim, C. M., Kim, G. H., ... & Kim, J. J., 2020, A

proposed stepwise screening framework for the selection of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading white rot fungi, *Bioprocess and biosystems engineering*, 43, 767-783.

- Lee, J. G., Chae, H. G., Cho, S. R., Song, H. J., Kim, P. J., & Jeong, S. T., 2021, Impact of plastic film mulching on global warming in entire chemical and organic cropping systems: Life cycle assessment, *Journal of Cleaner Production*, 308, 127256.
- Lee, N. M., Meisinger, D. B., Aubrecht, R., Kovacik, L., Saiz-Jimenez, C., Baskar, S., ... & Engel, A. S., 2012, Caves and karst environments, In *Life at extremes: environments, organisms and strategies for survival* (pp. 320-344). Wallingford UK: CABI.
- Lenz, R. W., & Marchessault, R. H., 2005, Bacterial polyesters: biosynthesis, biodegradable plastics and biotechnology, *Biomacromolecules*, 6(1), 1-8.
- Lusher, A., Hollman, P., & Mendoza-Hill, J., 2017, *Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety*, 1<sup>st</sup> ed., FAO, Rome, ISBN 978-92-5-109882-0.
- Lv, S., Li, Y., Zhao, S., & Shao, Z., 2024, Biodegradation of typical plastics: from microbial diversity to metabolic mechanisms, *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 593.
- Mak, C. W., Yeung, K. C. F., & Chan, K. M., 2019, Acute toxic effects of polyethylene microplastic on adult zebrafish, *Ecotoxicology and environmental safety*, 182, 109442.
- Manji, S., & Ishihara, A., 2004, Screening of tetrachlorodibenzo-p-dioxin-degrading fungi capable of producing extracellular peroxidases under various conditions, *Applied microbiology and biotechnology*, 63, 438-444.
- Marques, E. L., Silva, G. S., Dias, J. C., Gross, E., Costa, M. S., & Rezende, R. P., 2019, Cave drip water-related samples as a natural environment for aromatic hydrocarbon-degrading bacteria, *Microorganisms*, 7(2), 33.
- Mejía-Ortíz, L., Christman, M. C., Pipan, T., & Culver, D. C., 2020, What's the temperature in tropical caves?, *PLoS One*, 15(12), e0237051.
- Montazer, Z., Habibi-Najafi, M. B., Mohebbi, M., & Oromiehei, A., 2018, Microbial degradation of UV-pretreated low-density polyethylene films by novel polyethylene-degrading bacteria isolated from plastic-dump soil, *Journal of Polymers and the Environment*, 26, 3613-3625.
- Montazer, Z., Habibi Najafi, M. B., & Levin, D. B., 2019, Microbial degradation of low-density polyethylene and synthesis of polyhydroxyalkanoate polymers, *Canadian journal of microbiology*, 65(3), 224-234.
- Muangchinda, C., & Pinyakong, O., 2024, Enrichment of LDPE-degrading bacterial consortia: Community succession and enhanced degradation efficiency through various pretreatment methods, *Scientific Reports*, 14(1), 28795.

- Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M., 2018, Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya, *PloS one*, 13(7), e0198446.
- Mukherjee, S., RoyChaudhuri, U., & Kundu, P. P., 2017, Anionic surfactant induced oxidation of low density polyethylene followed by its microbial bio-degradation, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 255-268.
- Muthukumar, A., & Veerappapillai, S., 2015, Biodegradation of plastics—a brief review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 31(2), 204-209.
- Nakei, M. D., Misinzo, G., Tindwa, H., & Semu, E., 2022, Degradation of polyethylene plastic bags and bottles using microorganisms isolated from soils of Morogoro, Tanzania, *Frontiers in Microbiology*, 13, 1077588.
- Ndahebwa Muhonja, C., Magoma, G., Imbuga, M., & Makonde, H. M., 2018, Molecular characterization of low-density polyethene (LDPE) degrading bacteria and fungi from Dandora dumpsite, Nairobi, Kenya, *International journal of microbiology*, 2018(1), 4167845.
- Nikiema, J., Mateo-Sagasta, J., Asiedu, Z., Saad, D., & Lamizana, B., 2020, Water pollution by plastics and microplastics: a review of technical solutions from source to sea.
- Palmer, A. N., 1991, Origin and morphology of limestone caves. *Geological Society of America Bulletin*, 103(1), 1-21.
- Pangallo, D., Šimonovičová, A., Chovanová, K., & Ferianc, P., 2007, Wooden art objects and the museum environment: identification and biodegradative characteristics of isolated microflora, *Letters in applied microbiology*, 45(1), 87-94.
- Park, S., Cho, Y. J., Jung, D. Y., Jo, K. N., Lee, E. J., & Lee, J. S., 2020, Microbial diversity in moonmilk of Baeg-nyong Cave, Korean CZO, *Frontiers in Microbiology*, 11, 613.
- Pometto 3rd, A. L., Lee, B. T., & Johnson, K. E., 1992, Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme (s) by *Streptomyces species*, *Applied and environmental microbiology*, 58(2), 731-733.
- Rad, M. M., Moghimi, H., & Azin, E., 2022, Biodegradation of thermo-oxidative pretreated low-density polyethylene (LDPE) and polyvinyl chloride (PVC) microplastics by *Achromobacter denitrificans* Eb113, *Marine Pollution Bulletin*, 181, 113830.
- Ren, L., Men, L., Zhang, Z., Guan, F., Tian, J., Wang, B., ... & Zhang, W., 2019, Biodegradation of polyethylene by *Enterobacter* sp. D1 from the guts of wax moth *Galleria mellonella*, *International journal of environmental research and public health*, 16(11), 1941.
- Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A., & Thompson, M. R., 2014, Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 83-90.

- Rodriguez, R., & Durán, P., 2020, Natural holobiome engineering by using native extreme microbiome to counteract the climate change effects, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 568.
- Salwan, R., & Sharma, V., 2020, Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria, *Microbiological research*, 231, 126374.
- Sandt, C., Waeytens, J., Deniset-Besseau, A., Nielsen-Leroux, C., & Réjasse, A., 2021, Use and misuse of FTIR spectroscopy for studying the bio-oxidation of plastics, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 258, 119841.
- Sarbu, S. M., Aerts, J. W., Flot, J. F., Van Spanning, R. J., Baciú, C., Ionescu, A., ... & Popa, R. (2018). Sulfur Cave (Romania), an extreme environment with microbial mats in a CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>S/O<sub>2</sub> gas chemocline dominated by *mycobacteria*, *International Journal of Speleology*, 47(2), 7.
- Schwab, S. T., Baur, M., Nelson, T. F., & Mecking, S., 2024, Synthesis and Deconstruction of Polyethylene-type Materials, *Chemical Reviews*, 124(5), 2327-2351.
- Sen, S. K., & Raut, S., 2015, Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1), 462-473.
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S., 2008, Biological degradation of plastics: a comprehensive review, *Biotechnology advances*, 26(3), 246-265.
- Shahreza, H., Sepahy, A. A., Hosseini, F., & Nejad, R. K., 2019, Molecular identification of *Pseudomonas* strains with polyethylene degradation ability from soil and cloning of *alkB* gene, *Archives of Pharmacy Practice*, 10(4-2019), 43-48.
- Sharma, S., Sharma, V., & Chatterjee, S., 2021, Microplastics in the Mediterranean Sea: sources, pollution intensity, sea health, and regulatory policies, *Frontiers in Marine Science*, 8, 634934.
- Shi, K., Liu, Y., Chen, P., & Li, Y., 2021, Contribution of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase in lignite degradation by mixed white-rot fungi, *Waste and Biomass Valorization*, 12, 3753-3763.
- Singh, B. ve Sharma, N., 2008, Mechanistic implications of plastic degradation, *Polymer degradation and stability*, 93(3), 561–584.
- Skariyachan, S., Patil, A. A., Shankar, A., Manjunath, M., Bachappanavar, N., & Kiran, S., 2018, Enhanced polymer degradation of polyethylene and polypropylene by novel thermophilic consortia of *Brevibacillus* sps. and *Aneurinibacillus* sp. screened from waste management landfills and sewage treatment plants, *Polymer Degradation and Stability*, 149, 52-68.
- Song, Z., Xiu, F. R., & Qi, Y., 2022, Degradation and partial oxidation of waste plastic express packaging bags in supercritical water: Resources transformation and pollutants removal, *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127018.

- Stürzel, M., Mihan, S., & Mülhaupt, R., 2016, From multisite polymerization catalysis to sustainable materials and all-polyolefin composites, *Chemical reviews*, 116(3), 1398-1433.
- Taghavi, N., Zhuang, W. Q., & Baroutian, S., 2021, Enhanced biodegradation of non-biodegradable plastics by UV radiation: Part 1, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106464.
- Tan, Q., Yang, L., Wei, F., Chen, Y., & Li, J., 2023, Comparative life cycle assessment of polyethylene agricultural mulching film and alternative options including different end-of-life routes, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 178, 113239.
- Türkgenci, M.D. ve Doğruöz Güngör, N., 2021, Profiling of bacteria capable of precipitating CaCO<sub>3</sub> on the speleothem surfaces in Dupnisa Cave, Kırklareli, Turkey, *Geomicrobiology Journal*, 38(9), 816–827.
- Wright, S.L. ve Kelly, F.J., 2017, Plastic and human health: a micro issue?, *Environmental science & technology*, 51(12), 6634–6647.
- Wróbel, M., Szymańska, S., Kowalkowski, T., & Hryniewicz, K., 2023, Selection of microorganisms capable of polyethylene (PE) and polypropylene (PP) degradation, *Microbiological Research*, 267, 127251.
- Wu, Y., Tan, L., Liu, W., Wang, B., Wang, J., Cai, Y., & Lin, X., 2015, Profiling bacterial diversity in a limestone cave of the western Loess Plateau of China, *Frontiers in Microbiology*, 6, 244.
- Yang, J., Gao, T., Zhang, Y., Wang, S., Li, H., Li, S., & Wang, S., 2019, Degradation of the phenolic  $\beta$ -ether lignin model dimer and dyes by dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus amyloliquefaciens*, *Biotechnology letters*, 41, 1015-1021.
- Yao, Z., Seong, H.J. ve Jang, Y.-S., 2022a, Degradation of low density polyethylene by *Bacillus* species, *Applied Biological Chemistry*, 65(1), 84.
- Yao, Z., Seong, H.J. ve Jang, Y.-S., 2022b, Environmental toxicity and decomposition of polyethylene, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242, 113933.
- Yoon, M.G., Jeon, H.J. ve Kim, M.N., 2012, Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and AlkB cloned recombinant cell, *J Bioremed Biodegrad*, 3(4), 1–8.
- Zada, S., Sajjad, W., Rafiq, M., Ali, S., Hu, Z., Wang, H., & Cai, R., 2021, Cave microbes as a potential source of drugs development in the modern era, *Microbial ecology*, 1-14.
- Zhang, A., Hou, Y., Wang, Q., & Wang, Y., 2022, Characteristics and polyethylene biodegradation function of a novel cold-adapted bacterial laccase from Antarctic sea ice psychrophile *Psychrobacter* sp. NJ228, *Journal of Hazardous Materials*, 439, 129656.
- Zhang, J., Meng, H., Kong, X., Cheng, X., Ma, T., He, H., ... & Zhang, L., 2021, Combined effects of polyethylene and organic contaminant on zebrafish (*Danio rerio*): Accumulation of 9-Nitroanthracene, biomarkers and intestinal

microbiota, *Environmental Pollution*, 277, 116767.

Zhu, H. Z., Zhang, Z. F., Zhou, N., Jiang, C. Y., Wang, B. J., Cai, L., & Liu, S. J., 2019, Diversity, distribution and co-occurrence patterns of bacterial communities in a karst cave system, *Frontiers in microbiology*, 10, 1726.

Zhu, H. Z., Jiang, C. Y., & Liu, S. J., 2022, Microbial roles in cave biogeochemical cycling, *Frontiers in Microbiology*, 13, 950005.



## EKLER

**Ek 1. HDPE degradasyon deneyi tüm suşlar 2. ay ağırlık değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları.**

SUŞ KODU	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	D <sub>r</sub>	r	K	t	D <sub>r</sub>	r	K	t	D <sub>r</sub>	r	K	t	D <sub>r</sub>	r	K	t
KONTROL	0,06	3,06E-06	5,09E-09	274	-0,05	-2,59E-06	-4,32E-09	-	0,04	1,67E-06	2,78E-09	604	0,05	2,41E-06	4,01E-09	337
SG-1	-0,08	-3,70E-06	-6,17E-09	-	0,02	9,26E-07	1,54E-09	933	-0,02	-9,26E-07	-1,54E-09	-	-0,05	-3,89E-06	-6,48E-09	-
SG-2	0,07	3,52E-06	5,86E-09	257	0,06	2,87E-06	4,78E-09	297	0,05	2,50E-06	4,17E-09	485	0,09	4,44E-06	7,41E-09	195
SG-3	0,10	5,28E-06	8,80E-09	166	0,04	2,22E-06	3,70E-09	474	0,03	1,39E-06	2,31E-09	660	0,06	3,06E-06	5,09E-09	281
SG-4	0,03	1,67E-06	2,78E-09	500	0,03	1,48E-06	2,47E-09	764	0,01	1,67E-06	2,78E-09	588	0,02	1,30E-06	2,16E-09	1151
SG-5	0,06	3,06E-06	5,09E-09	361	0,04	1,94E-06	3,24E-09	481	0,04	1,94E-06	3,24E-09	439	0,03	1,39E-06	2,31E-09	977
SG-6	0,05	2,87E-06	4,78E-09	495	0,04	1,85E-06	3,09E-09	748	0,01	7,41E-07	1,23E-09	1749	0,02	1,02E-06	1,70E-09	955
SG-7	0,09	4,63E-06	7,72E-09	196	0,04	1,94E-06	3,24E-09	506	0,04	2,13E-06	3,55E-09	419	0,04	2,41E-06	4,01E-09	476
SG-8	0,05	2,41E-06	4,01E-09	381	0,04	2,13E-06	3,55E-09	393	0,04	1,85E-06	3,09E-09	550	0,02	8,33E-07	1,39E-09	1127
SG-9	0,09	4,72E-06	7,87E-09	202	0,08	4,31E-06	7,18E-09	196	0,08	3,89E-06	6,48E-09	214	0,13	6,30E-06	1,05E-08	89
SG-10	0,08	3,75E-06	6,25E-09	213	0,06	2,87E-06	4,78E-09	471	0,02	7,41E-07	1,23E-09	1560	0,05	1,67E-06	2,78E-09	548
SG-11	0,02	8,33E-07	1,39E-09	977	0,05	2,50E-06	4,17E-09	414	0,02	8,33E-07	1,39E-09	1135	0,06	2,69E-06	4,48E-09	269
SG-12	0,01	7,41E-07	1,23E-09	1276	0,02	8,33E-07	1,39E-09	967	0,00	0,00E+00	0,00E+00	-	0,03	1,76E-06	2,93E-09	593
SG-13	0,03	1,57E-06	2,62E-09	607	0,02	1,11E-06	1,85E-09	822	0,03	1,48E-06	2,47E-09	820	0,02	9,26E-07	1,54E-09	960
SG-14	0,11	5,56E-06	9,26E-09	153	0,02	8,33E-07	1,39E-09	1117	0,06	3,15E-06	5,25E-09	266	0,03	1,48E-06	2,47E-09	724

**Ek 2.** HDPE degradasyon deneyi tüm suşlar 4. ay ağırlık değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları.

SUŞ KODU	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t
KONTROL	0,05	1,25E-06	2,08E-09	718	-0,01	-1,85E-07	-3,09E-10	-	0,00	-1,39E-07	-2,31E-10	-	0,04	8,80E-07	1,47E-09	2683
SG-1	0,02	5,09E-07	8,49E-10	1894	0,06	1,39E-06	2,31E-09	1046	0,01	2,78E-07	4,63E-10	3096	0,01	6,94E-07	1,16E-09	1295
SG-2	0,04	1,02E-06	1,70E-09	1021	0,02	4,17E-07	6,94E-10	3409	0,02	4,17E-07	6,94E-10	2254	0,05	1,30E-06	2,16E-09	667
SG-3	0,05	1,39E-06	2,31E-09	982	0,02	6,02E-07	1,00E-09	3154	0,06	1,53E-06	2,55E-09	585	0,02	5,56E-07	9,26E-10	1871
SG-4	0,07	1,88E-06	3,13E-09	458	0,03	6,94E-07	1,16E-09	1387	0,03	7,64E-07	1,27E-09	1442	0,04	1,06E-06	1,77E-09	1060
SG-5	0,08	2,15E-06	3,59E-09	403	0,08	2,08E-06	3,47E-09	411	0,04	7,87E-07	1,31E-09	1271	0,02	5,56E-07	9,26E-10	2040
SG-6	0,04	1,16E-06	1,93E-09	768	0,04	9,72E-07	1,62E-09	1101	0,09	2,22E-06	3,70E-09	381	0,06	1,67E-06	2,78E-09	657
SG-7	0,03	7,64E-07	1,27E-09	1821	0,02	6,25E-07	1,04E-09	1524	0,04	1,11E-06	1,85E-09	1452	0,07	1,81E-06	3,01E-09	493
SG-8	0,07	1,90E-06	3,16E-09	616	0,06	1,44E-06	2,39E-09	625	0,05	1,30E-06	2,16E-09	728	0,04	1,02E-06	1,70E-09	1031
SG-9	0,06	2,08E-06	3,47E-09	593	0,08	2,96E-06	4,94E-09	389	0,02	2,22E-06	3,70E-09	1222	0,15	3,75E-06	6,25E-09	243
SG-10	0,05	1,11E-06	1,85E-09	763	0,07	1,81E-06	3,01E-09	502	0,02	5,09E-07	8,49E-10	1961	0,05	1,16E-06	1,93E-09	730
SG-11	0,07	1,57E-06	2,62E-09	513	0,03	6,48E-07	1,08E-09	1580	0,00	0,00E+00	0,00E+00	-	0,01	2,31E-07	3,86E-10	3794
SG-12	0,03	7,64E-07	6,94E-10	1324	0,04	9,26E-07	1,54E-09	881	0,02	7,41E-07	1,23E-09	1202	0,04	8,33E-07	1,39E-09	1002
SG-13	0,03	7,87E-07	1,31E-09	1683	0,03	7,64E-07	1,27E-09	1366	0,03	6,48E-07	1,08E-09	1490	0,02	3,70E-07	6,17E-10	2418
SG-14	0,05	1,11E-06	1,85E-09	731	0,04	9,72E-07	1,62E-09	858	0,04	9,26E-07	1,54E-09	862	0,06	1,20E-06	2,01E-09	758

**Ek 3. LDPE degradasyon deneyi tüm suşlar 2. ay ağırlık değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları.**

SUŞ KODU	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t
KONTROL	-0,58	-2,96E-06	-1,36E-08	-	-0,58	-2,50E-06	-1,34E-08	-	0,16	6,94E-07	3,19E-09	105	-0,38	-1,48E-06	-6,80E-09	-
SG-1	-0,17	-5,56E-07	-2,55E-09	-	0,07	2,78E-07	1,27E-09	27	0,19	1,11E-06	5,10E-09	89	0,35	1,54E-06	7,05E-09	74
SG-2	0,33	1,67E-06	7,65E-09	64	0,14	5,56E-07	2,55E-09	145	0,16	7,87E-07	3,61E-09	113	-0,03	-1,85E-07	-8,49E-10	-
SG-3	0,00	0,00E+00	0,00E+00	-	0,00	0,00E+00	0,00E+00	-	0,00	0,00E+00	0,00E+00	0	-0,38	-2,04E-06	-9,34E-09	-
SG-4	-0,60	-2,31E-06	-1,06E-08	-	-0,26	-1,39E-06	-6,37E-09	-	0,39	1,94E-06	8,92E-09	47	-0,32	-1,67E-06	-7,65E-09	-
SG-5	0,09	5,56E-07	2,55E-09	174	0,18	9,26E-07	4,25E-09	102	-0,17	-8,33E-07	-3,82E-09	-	0,13	8,33E-07	3,82E-09	108
SG-6	0,15	8,33E-07	3,82E-09	134	0,35	1,85E-06	8,49E-09	67	0,25	1,48E-06	6,80E-09	78	0,41	2,22E-06	1,02E-08	49
SG-7	0,22	1,25E-06	5,73E-09	79	0,46	2,13E-06	9,77E-09	59	0,27	1,39E-06	6,37E-09	92	-0,49	-2,41E-06	-1,10E-08	-
SG-8	0,34	1,94E-06	8,92E-09	50	0,58	2,31E-06	1,06E-08	30	0,22	1,71E-06	7,86E-09	91	0,28	1,39E-06	6,37E-09	94
SG-9	0,45	2,22E-06	1,02E-08	39	0,32	1,48E-06	6,80E-09	59	0,54	2,59E-06	1,19E-08	31	0,19	9,26E-07	4,25E-09	60
SG-10	0,79	1,16E-06	5,31E-09	44	-0,07	-6,94E-07	-3,19E-09	-	0,51	1,53E-06	7,01E-09	38	0,37	1,25E-06	5,73E-09	57
SG-11	0,09	3,70E-07	1,70E-09	51	0,00	9,26E-08	4,25E-10	305	0,11	6,48E-07	2,97E-09	196	-0,63	-2,22E-06	-1,02E-08	-
SG-12	0,25	1,20E-06	5,52E-09	89	0,57	2,50E-06	1,15E-08	29	0,29	1,20E-06	5,52E-09	62	0,31	8,33E-07	3,82E-09	66
SG-13	0,47	1,67E-06	7,65E-09	36	0,78	2,78E-06	1,27E-08	23	0,35	9,72E-07	4,46E-09	47	-0,28	-1,20E-06	-5,52E-09	-
SG-14	0,35	1,39E-06	6,37E-09	47	0,22	1,02E-06	4,67E-09	89	-0,42	-1,67E-06	-7,65E-09	-	0,69	2,41E-06	1,10E-08	26

**Ek 4. LDPE degradasyon deneyi tüm suşlar 4. ay ağırlık değişim yüzdesi (Dt), degradasyon hızı (r), degradasyon kinetik sabiti (K) ve plastik ömrü (t) sonuçları.**

SUŞ KODU	UV ÖN İŞLEM				UV+SICAKLIK ÖN İŞLEM				SICAKLIK ÖN İŞLEM				ÖN İŞLEM YOK			
	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t	Dt	r	K	t
KONTROL	-0,33	-9,26E-07	-4,25E-09	-	-0,19	-5,56E-07	-2,55E-09	-	-0,22	-6,02E-07	-2,76E-09	-	0,11	4,86E-07	2,23E-09	206
SG-1	-0,39	-9,26E-07	-4,25E-09	-	-0,35	-6,94E-07	-3,19E-09	-	0,22	6,48E-07	2,97E-09	200	0,41	1,02E-06	4,67E-09	94
SG-2	0,21	4,63E-07	2,12E-09	218	0,30	6,94E-07	3,19E-09	115	0,46	1,25E-06	5,73E-09	74	-0,08	-2,08E-07	-9,56E-10	-
SG-3	0,40	7,41E-07	3,40E-09	157	0,36	8,33E-07	3,82E-09	101	-0,19	-4,17E-07	-1,91E-09	-	0,36	1,02E-06	4,67E-09	111
SG-4	-0,33	-5,56E-07	-2,55E-09	-	-0,15	-3,47E-07	-1,59E-09	-	0,66	1,39E-06	6,37E-09	50	0,52	1,20E-06	5,52E-09	66
SG-5	0,85	1,57E-06	7,22E-09	45	0,40	1,20E-06	5,52E-09	85	0,57	1,57E-06	7,22E-09	54	0,08	2,78E-07	1,27E-09	406
SG-6	0,27	5,56E-07	2,55E-09	141	0,23	5,56E-07	2,55E-09	152	0,22	5,56E-07	2,55E-09	222	0,20	5,56E-07	2,55E-09	228
SG-7	0,27	6,48E-07	2,97E-09	157	0,29	6,94E-07	3,19E-09	144	0,43	8,33E-07	3,82E-09	137	0,18	4,63E-07	2,12E-09	215
SG-8	0,32	1,06E-06	4,88E-09	106	0,82	1,34E-06	6,16E-09	46	0,30	5,09E-07	2,34E-09	124	0,19	6,25E-07	2,87E-09	134
SG-9	0,26	5,56E-07	2,55E-09	156	0,24	6,94E-07	3,19E-09	134	0,22	5,56E-07	2,55E-09	177	-0,22	-5,09E-07	-2,34E-09	-
SG-10	0,20	3,47E-07	1,59E-09	193	0,45	1,25E-06	5,73E-09	74	0,12	-4,17E-07	-1,91E-09	-	0,20	5,56E-07	2,55E-09	162
SG-11	0,36	8,33E-07	3,82E-09	92	0,26	5,09E-07	2,34E-09	158	0,12	3,47E-07	1,59E-09	268	-0,13	-2,78E-07	-1,27E-09	-
SG-12	0,41	8,33E-07	3,82E-09	83	0,18	4,17E-07	1,91E-09	189	-0,89	-1,11E-06	-5,10E-09	-	0,42	6,94E-07	3,19E-09	89
SG-13	0,90	2,36E-06	1,08E-08	39	0,24	8,33E-07	3,82E-09	104	0,27	6,25E-07	2,87E-09	105	-0,25	-8,33E-07	-3,82E-09	-
SG-14	0,14	2,78E-07	1,27E-09	243	0,49	8,33E-07	3,82E-09	68	0,00	0,00E+00	0,00E+00	-	0,73	1,11E-06	5,10E-09	47

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sena Güler
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Yıldız Teknik Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Mezuniyet Yılı	02.09.2021

Yüksek Lisans	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	

Makale ve Bildiriler	
<p>Sena Güler ve Nihal Doğruöz Güngör, Nanomalzemeler, Sentez ve Tarım Uygulamaları. 12. Uluslararası Ege Bilimsel Çalışmalar Kongresi Aralık 26-30, 2024 (www.egekongresi.org), syf. 2269-2287.</p>	
<p>Sena Güler and Nihal Doğruöz Güngör, Plastic Pollution and The Effect of Polyethylene on Global Warming. Karadeniz 16th International Conference August 16-18, 2024 (www.karadenizkongresi.org), pg. 373-382.</p>	
<p>Sena Güler ve Nihal Doğruöz Güngör, Mikroorganizmaların Biyoteknolojik Uygulamaları: Çevre, Biyoelektrik, Biyotıp. 6. Uluslararası Palandöken Bilimsel Çalışmalar Kongresi Haziran 24-25, 2023 (www.isarconference.org), syf. 667-679.</p>	
<p>Sena Güler ve Nihal Doğruöz Güngör, Polietilenin Biyolojik Bozunması: Ekstremofillerin Potansiyel Rollerini. 6. Uluslararası Palandöken Bilimsel Çalışmalar Kongresi Haziran 24-25, 2023 (www.isarconference.org), syf. 680-691.</p>	