

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN Bilimleri Enstitüsü

**POLİETİLENİN MUM GÜVESİ *Galleria mellonella*
LARVALARI TARAFINDAN BİYOBOZUNUMU**

Mehmet Salih YIKILMAZ

Danışman: Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Çevre Bilimleri

İzmir

2024

Mehmet Salih YIKILMAZ tarafından **yüksek lisans** tezi olarak sunulan “**Polietilenin mum güvesi *Galleria mellonella* larvaları tarafından biyobozunumu**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **08.05.2024** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Doç.Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU
Raportör Üye	: Doç.Dr. Esra AKAT ÇÖMDEN
Üye	: Prof. Dr. Erdal BALCAN

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Polietilenin mum güvesi *Galleria mellonella* larvaları tarafından biyobozunumu**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

08 / 05 / 2024

Mehmet Salih YIKILMAZ

ÖZET**POLİETİLENİN MUM GÜVESİ *Galleria mellonella* LARVALARI
TARAFINDAN BİYOBOZUNUMU**

YIKILMAZ, Mehmet Salih

Yüksek Lisans Tezi, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Mayıs 2024, 53 sayfa

Plastikler, özellikle de polietilen, doğada kolay ayrışmayan sentetik maddelerdir. Polietileni bertaraf etmenin çeşitli yolları vardır ancak bu yöntemler ya çok fazla zararlı yan ürün oluşturur ya da enerji gereksinimi gibi nedenlerden dolayı çok pahalıdır. Bu nedenle araştırmacılar daha ucuz ve zararlı yan ürün salmayan alternatif yöntemlere yöneldiler. Bu yöntemlerden biri de biyolojik bozunma olarak bilinen canlı organizmaların bünyesinde gerçekleşen süreçtir. Son zamanlarda bazı böcek türlerinin plastik yediği dikkat çekiyor. Bu durum bilim adamlarını böceklerin polietileni sindirip sindiremeyeceğini araştırmaya yöneltti. Bu böceklerden biri de balmumu güvesi *Galleria mellonella*'dır. Bu çalışmada *Galleria mellonella*'nın polietileni sindirip sindiremediği test edildi. Polietilenle beslenen *Galleria mellonella* larvalarının dışkıсында polietilen sindiriminin yan ürünlerinden biri olan etilen glikolün varlığı araştırıldı. Ayrıca bağırsak ve tükürük bezi ekstraktlarından elde edilen enzimlerin in vivo koşullarda bu sindirimi gerçekleştirip gerçekleştirmediği test edildi. Bu çalışmanın ilk aşamasında sadece PBS tamponunda homojenize edilen ve tükürük bezi, bağırsak ve tükürük bezi+bağırsak homojenatlarında ayrı ayrı sindirilen örneklerde etilen glikolün varlığına işaret eden bir absorbans bulunamadı. Ancak tükürük bezi ve bağırsak homojenizasyonunda proteaz inhibitörleri kullanıldığında farklı bir durum ortaya çıktı. Proteaz inhibitörleri içeren homojenatlarda sindirilen numunelerde, zayıf da olsa absorbanslar elde edildi, bu da etilen glikolün varlığına işaret ediyordu. Buradan çıkan sonuç, ekstraksiyon sırasında ortaya çıkan proteazların aynı zamanda polietilen sindiriminde yer alan enzimleri de bir şekilde sindirebilmesidir.

Sonuçlar tatminkar olmadığı için tükürük bezi homojenatı ve bağırsak homojenatından oluşan bir karışım kullanmanın iyi bir fikir olmadığı ortaya çıktı. Bu nedenle tezin ikinci aşamasında larvadaki sürekli sindirimi taklit edecek şekilde bir plan yapıldı. Burada diğer deneme grubundan farklı olarak tek parça polietilen önce tükürük bezi homojenatına, ardından bağırsak homojenatına maruz bırakıldı. İnhibitör kullanılmadan gerçekleştirilen işlemde, ilk deneyden farklı olarak küçük de olsa etilen glikolün varlığını gösteren absorbanlar gözlemlendi. Homojenizasyonda inhibitörler kullanıldığında birden fazla etilen glikol absorbanı elde edildi. Bu sonuçlar, *Galleria mellonella* larvalarında polietilenin gerçekten sindirildiğine dair güçlü olasılığa işaret etmektedir.

Anahtar sözcükler: *Galleria mellonella*, Polietilen, Biyobozunma, Plastik,

ABSTRACT**POLYETHYLEN BIO-DEGRADATION BY LARVAE OF THE
WAXMOTH *Galleria mellonella***

YIKILMAZ, Mehmet Salih

MSc in Environmental Science

Supervisor: Associate professor Gamze TURGAY İZZETOĞLU

May 2024, 53 pages

Plastics, especially polyethylene, are synthetic substances that do not easily decompose in nature. There are various ways to dispose of polyethylene, but these methods either create too many harmful byproducts or are too expensive for reasons such as energy requirements. For this reason, researchers have turned to alternative methods that are cheaper and do not release harmful byproducts. One of these methods is the process that takes place within living organisms, known as biodegradation. Recently, it has been noted that some insect species eat plastic. This led scientists to investigate whether insects could digest polyethylene. One of these insects is the wax moth *Galleria mellonella*. In this study, it was tested whether *Galleria mellonella* could digest polyethylene. The presence of ethylene glycol, one of the by-products of polyethylene digestion, was investigated in the feces of *Galleria mellonella* larvae fed with polyethylene. Additionally, it was tested whether the enzymes obtained from intestinal and salivary gland extracts carried out this digestion under in vivo conditions. In the first stage of this study, no absorbance indicating the presence of ethylene glycol was found in the samples homogenized only in PBS buffer and digested separately in salivary gland, intestine and salivary gland+intestinal homogenates. However, a different situation emerged when protease inhibitors were used in salivary gland and intestinal homogenization. In samples digested in homogenates containing protease inhibitors, absorbances, albeit weak, were obtained, indicating the presence of ethylene glycol. The implication here is that the proteases released during extraction can also somehow digest the enzymes involved in polyethylene digestion. It turned out that using a mixture of salivary gland homogenate and

intestinal homogenate was not a good idea because the results were not satisfactory. Therefore, in the second stage of the thesis, a plan was made to imitate continuous digestion in the larva. Here, unlike the other trial group, a single piece of polyethylene was first exposed to salivary gland homogenate and then to intestinal homogenate. In the process performed without the use of inhibitors, absorbances indicating the presence of ethylene glycol, although small, were observed, unlike the first experiment. When inhibitors were used in homogenization, more than one ethylene glycol absorbance was obtained. These results point to the strong possibility that polyethylene is indeed digested in *Galleria mellonella* larvae.

Keywords: *Galleria mellonella*, Polyethylene, Biodegradation, Plastic

ÖNSÖZ

1940'lı yıllarda ilk naylon dokumasının üretilmesinden bu yana 84 yıl geçmiş. Halk diliyle naylon, poşet; biraz daha teknik bir dille plastik, bilimsel dilde ise polimer olarak bilinen bu madde zaman içinde o kadar yaygın ve çeşitli kullanılmıştır ki bunlardan oluşan atık dağları karalara sığmamış, denizlere taşmıştır. Ve artık bugünlerde okyanuslarımızda yüzen dev bir kıta büyüklüğünde plastik adalarımız var maalesef. Bu tehlikenin farkına o kadar uzun süre varamadık ki korkarım artık çok geç olmuş olabilir. Plastik atık yönetmeliklerine harfiyen uysak ta bu konuda yaptırımlar uygulasak ta artık bütün dünyaya yayılmış milyonlarca ton plastik atığı nasıl yöneteceğimizi düşünmek zorundayız. Öyle ki mikropartikül boyutunda olanlar sindirim sistemlerimize, nanopartikül boyutunda olanlar ise hücrelerimizin içine kadar girmiş durumda.

Doktora sürecimde hem tezimde hem de çeşitli projelerde deney hayvanı olarak kullandığımız mum güvesi de denen *Galleri mellonella*'nın bazen yetiştirdiğimiz plastik kaplarda delik açtıklarına şahit olmuştum. Ancak larvalarının çok güçlü ağız aletlerine sahip olduklarını bildiğim için sadece esaretten kaçmak için yaptıkları bir eylem olarak düşündüm. Daha sonra plastiği sindiriyor olabileceklerine dair makaleler okuyunca açıkçası biraz hayıflandım. Keşke “biyolojisini bu kadar iyi bildiğim bir canlı üzerinde bu tür çalışmaları ilk yapanlardan biri ben olsaydım” dedim. Ancak zararın neresinden dönülürse kardır. Bu düşünce ile hareket ederek Çevre Bilimleri'nde yeniden yüksek lisans yapmaya karar verdim. Bu maceraya atılışımın sebebi de kısaca budur.

Çalışma sürecinde polietilen türü plastiğin gerçekten de bir şekilde *Galleria mellonella* larvaları tarafından sindirildiğine şahit oldum. Farklı test yöntemlerini öğrenmek durumunda kaldım. Kimya gerçekten çok önemliymiş, tekrar emin oldum. Bu konu üzerine yapılan çalışmaların bir şekilde ucundan tutmuş olmakla da içten içe gururlandım

İZMİR

08/05/2024

Mehmet Salih YIKILMAZ



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	(ii)
KABUL ONAY SAYFASI	(iii)
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	(v)
ÖZET	(vii)
ABSTRACT	(ix)
ÖNSÖZ	(xi)
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	(xiii)
ŞEKİLLER DİZİNİ	(xvii)
TABLolar DİZİNİ.....	(xix)
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Polietilenin özellikleri.....	3
2.2 Polietilenin kullanım alanları.....	3
2.3 Polietilenin çevre ve canlılık üzerindeki toksik etkileri	4
2.3.1 PE'nin Deniz ve kıyı üzerindeki kirlilik etkileri.....	5
2.3.2 PE'nin Topraktaki etkileri	6

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4 Polietilenin geleneksel bozunma süreçleri	7
2.4.1 PE'nin ışık etkisiyle bozunması (fotodegradasyon).....	7
2.4.2 Polietilenin termal degradasyonu (piroliz, yakma ve gazlaştırma	8
2.4.3 Polietilenlerin kimyasal hidroliz yolu ile bozunması.....	10
2.5 Polietilenin biyobozunumu	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1 <i>Galleria mellonella</i> 'nin yetiştirilmesi	13
3.2 LDPE içeren besi ortamının hazırlanması	13
3.3 Dışkıdaki etilen glikol varlığının kimyasal yöntemle saptanması	14
3.4 In vitro uygulamalarla etilen glikol varlığının saptanması	15
3.5 In vitro uygulamalar sırasında LDPE parçalarına biyolojik makromolekül yapışması kaynaklı kontaminasyon olasılığının test edilmesi	19
3.6 In vitro uygulamalar sırasında LDPE parçalarına DTT + PMSF + EDTA karışımının yapışması kaynaklı kontaminasyon olasılığının test edilmesi	19
3.7 Kontrol örneklerinin hazırlanması	20
3.8 LDPE parçalarındaki etilen glikol varlığının Fourier Transform Infrared spektrofotometre (FTIR) yöntemi ile belirlenmesi	20
4. BULGULAR.....	21

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1 Polietilen ile beslenme süreci	21
4.2 HPLC ile dışkıda etilen glikol varlığının tespiti	21
4.3 FTIR spektrofotometre sonuçları.....	23
4.3.1 Saf etilen glikolün ve kontrol LDPE parçacığının spektrumu.....	23
4.3.2 Sadece PBS tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriklerinde sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar	24
4.3.3 PBS tampon ve DTT+PMSF+EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriklerinde sindirilmiş LDPE parçacıklarının ait spektrumlar	25
4.3.4 PBS tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi (TB) ve bağırsak (B) içeriklerinden önce TB’de sonra B’de sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar	26
4.3.5 PBS tampon ve DTT + PMSF + EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi (TB) ve bağırsak (B) içeriklerinden önce TB’de sonra B’de sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar	27
4.3.6 Denatüre edilmiş tükürük bezi ve bağırsak homojenatı ile yapılan uygulama.....	28
4.3.7 DTT, PMSF ve EDTA içeren fosfat tampon karışımının oluşturabileceği kirliliğin test edilmesi	29
4.4 <i>In vitro</i> uygulamalarda etilen glikol varlığının belirlenmesi	16
4.5 Polietilen sindiriminde mikrobiotanın rolü.....	18
5. TARTIŞMA.....	31

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
KAYNAKLAR DİZİNİ	36
TEŞEKKÜR.....	46
ÖZGEÇMİŞ	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1	En çok kullanılan plastik tipleri ve yapıları.....4
2.2	Polietilen sınıflandırılması ve geleneksel bozunum tipleri8
3.1	Galleria mellonella son evre larvası 13
3.2	Plastik şeritlerle beslenen son evre larvalar..... 14
3.3	Disekte edilmiş tükürük bezi ve bağırsak..... 15
4.1	Polietilenle beslenmiş son evre larvadaki vücut anomalisi21
4.2	Polietilen şeritlerdeki ısırık izleri21
4.3	Kontrol, uygulama ve saf etilen glikolün HPLC pikleri.....22
4.4	Kontrol, kontrol+saf etilen glikol, uygulama ve sadece saf etilen glikolün HPLC pikleri22
4.5	Saf etilen glikolün spektrumu.....23
4.6	Kontrol grubu LDPE parçasının spektrumu23
4.7	Tükürük bezi homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu.....24
4.8	Bağırsak homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu24
4.9	Tükürük bezi + bağırsak homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu25
4.10	DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu25

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.11 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş bağırsak ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu	26
4.12 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak karışımı içinde inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu.....	26
4.13 Sadece fosfat tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu.....	27
4.14 Sadece fosfat tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu.....	27
4.15 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu.....	28
4.16 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu.....	28
4.17 Denatüre edilmiş tükürük bezi homojenatında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu	29
4.18 Denatüre edilmiş bağırsak homojenatında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu	29
4.19 DTT, PMSF ve EDTA içeren fosfat tampon karışımında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu	30

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 PBS tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriği kullanılarak yapılan farklı deneme prosedürleri.....	16
3.2 PBS tampon ve DTT+PMSF+EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriği kullanılarak yapılan farklı deneme prosedürleri.....	17
3.3 LDPE parçalarının önce tükürük bezi sonra bağırsak homojenatları ile yüzleştirildiği deneme prosedürleri	18
3.4 Denatüre edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeri ile yapılan deneme prosedürleri.....	19

1.GİRİŞ

Plastikler ilk olarak 1850'li yıllarda İngiltere'de geliştirilmiştir ve o zamandan bu yana insan hayatında giderek artan bir kullanım alanına sahip olmuştur. Plastikler aslında sentetik polimerlerdir ve ilk yaygın üretim ve kullanımı 1940 yılında Amerikan DuPont firmasının ilk naylon dokuma üretimini yapması ile başlamıştır (Sanluis-Verdes et al., 2022). Bilim ve teknolojik ilerlemelerin de katkısıyla plastiğin kullanım alanları artmış ve giderek ağaç, metal ve cam malzemelerin yerine kullanılmaya başlanmıştır. Bu nedenle dünya plastik üretimi her geçen yıl düzenli olarak artmıştır. Sadece 2022 yılında dünya genelinde plastik üretimi 400.3 milyon ton olarak kayda geçmiştir (Plasticseurope, 2023). Bugüne kadar üretilen milyarlarca ton plastik ürünün büyük bir kısmı, sonunda çevreye atılan tek kullanımlık hazır ürünlerden oluşmaktadır. Plastiğin üretim maliyeti geri dönüşüm maliyetinden çok daha düşüktür. Bu durum plastik üretimi ile geri dönüşümü arasında bir dengesizlik oluşturmuştur. Böylece kullanım artışına paralel olarak büyük miktarlarda plastik atık ortaya çıkmış ve bu atıkların doğada birikmesi neticesinde kara ve deniz yaşamı olumsuz yönde etkilenmiştir (Yao et al., 2022). Plastik çöpler doğal bozunmaya karşı dirençlidir ve kolay bertaraf edilemedikleri için katı atık şeklinde birikmektedir. Ayrıca plastik çöplerin bir şekilde toprağa karışması mikroorganizmaların topraktaki popülasyonlarını ve aktivitelerini olumsuz yönde etkilemektedir (Lahive et al., 2019). Bir dizi çevresel etki nedeniyle okyanuslarda biriken plastik atıklar deniz yaşamı üzerinde toksik etki yaratarak deniz ekolojisini de etkilemektedir (Jung et al., 2020). Büyük Pasifik Çöp Alanı olarak adlandırılan yapı üzerindeki çalışmalar, Hawaii dahil pasifik enlemlerinde 80.000 ton atık plastik bulunduğu ve atıkların %54'ünün Kuzey Amerika ve Asya'dan geldiğini belirlemiştir (Lebreton et al., 2018). Ayrıca plastik atıkların yakılması hava kirliliğine neden olmaktadır. Özellikle mikroplastik şeklinde çevrede ve diğer canlılarda birikmekte, dolayısıyla besin zinciri yoluyla insan vücuduna geçmekte ve halk sağlığı açısından da tehdit oluşturmaktadır (Lwanga et al., 2017). Plastikler doğal gaz, petrol ve kömür gibi farklı kaynaklardan elde edilen çeşitli uzun zincirli polimerlerden oluşmaktadır (Ray and Cooney, 2018). Günümüzde en yaygın kullanılan plastik türleri polietilen tereftalat (PET), polipropilen (PP) (Makhlouf

et al., 2016), polietilen (PE) (Li et al., 2019), polivinil klorür (PVC), polistiren (PS) ve poliüretan (PU)'dır (Plasticseurope, 2023). Farklı polimerizasyon durumlarına göre iki gruba ayrılırlar. İlk gruptaki polimerler monomerlerindeki karbon çift bağlarının yoğunlaşma reaksiyonlarıyla yeni C-C bağları oluşturduğu ve sigma bağlarıyla bağlanan C-C omurgalarından oluşan polimerlerdir. Bu grup PE, PVC ve PP'yi içermektedir ve toplam pazar payının %77'sini oluşturmaktadır (Şekil 1). İkinci gruptaki polimerler ise heteroatomlardan oluşan polimerlerdir. Bunlar hidroksil ve karboksil/amin gruplarının yoğunlaşma reaksiyonlarıyla ester veya amid bağı yaparak poliamidler veya poliesterler meydana getirmesiyle oluşurlar (Şekil 2.1). Diğer plastik türleriyle karşılaştırıldığında polietilen üretimi en yüksek seviyededir (Danso et al., 2019). Polietilen ilk defa 1898 yılında Alman kimyager Hans von Pechmann tarafından bir deney sürecinde kaza ile sentezlenmiştir. 1935 yılında ICI Chemical'den Michael Perrin kontrol edilebilir yüksek basınç metodu ile polietilen sentezlenebileceğini göstermiş ve 1939 yılında yüksek basınçlı endüstriyel üretim yoluyla düşük yoğunluklu polietilen üretilmeye başlanmıştır. 1951'de Philips Petroleum kimyagerlerinden Robert Banks ve John Hogan katalizör olarak krom trioksit kullanılan bir sentez yöntemi geliştirdiler. Polietilen yoğunluğuna ve molekül zincirinin dallanmasına göre sınıflandırılmaktadır. Düz zincirli yüksek yoğunluklu polietilen (High Density Polietilen-HDPE), uzun dallanmış zincirli ve düşük yoğunluklu polietilen (Low Density Polietilen-LDPE), kısa dallanmış zincirli ve düşük yoğunluklu polietilen (Linear Low Density Polietilen-LDPE) (Şekil 2.2.A). Polietilenlerin mekanik özellikleri ise dallanma derecesi ve türü, molekül ağırlığı ve kristal yapısı gibi değişkenler tarafından belirlenir (Yao et al., 2022).

2. GENEL BİLGİLER

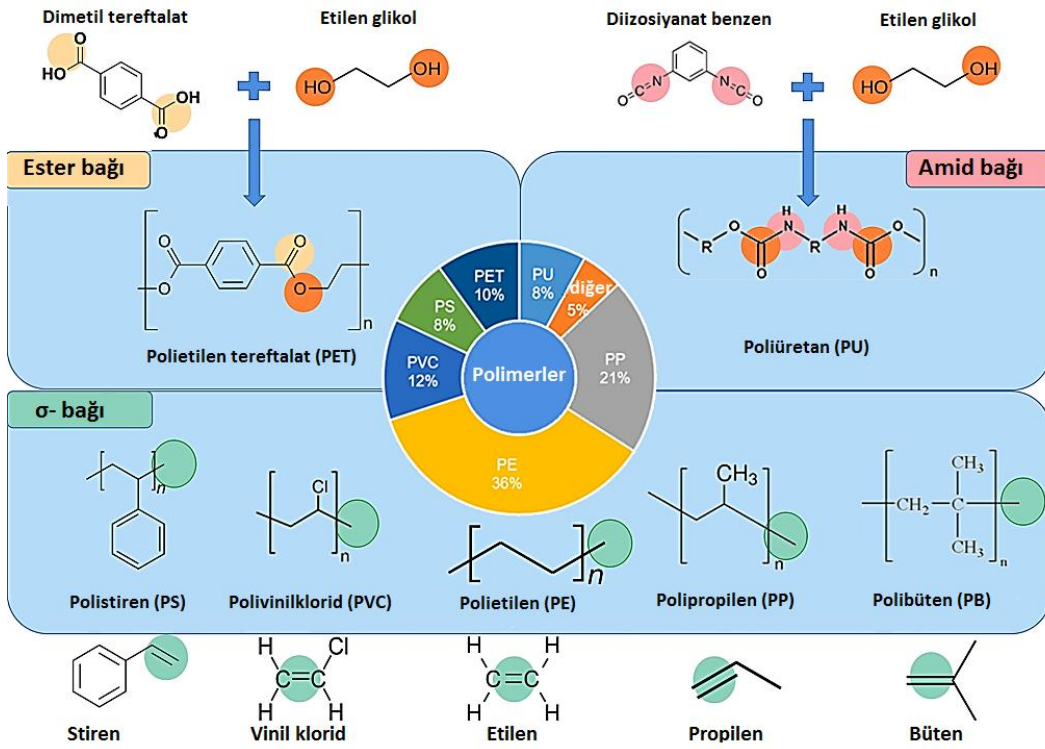
2.1 Polietilenin özellikleri

$(CH_2-CH_2)_n$ olarak ifade edilen polietilen uzun zincirli etilen polimerinden meydana gelir ve HDPE, LDPE ve LLDPE olarak üretilir (Şekil 2.2.A). Polietilen, etan polimerizasyonu yoluyla kimyasal olarak sentezlenir ve üretim sürecinde eklenen yan zincirlere göre büyük ölçüde değişiklik gösterir. Polietilen ana zinciri tamamıyla hidrolize olmayan C-C tekli bağlarından meydana gelmektedir. Bu nedenle polietilen, poliolefinler arasında en inert olanıdır. Polietilenlerin mekanik özellikleri güçlü değildir, sünme dirençleri zayıftır, çekme dayanımı düşüktür ve darbe dayanımları oldukça iyidir (Yao et al., 2022). Darbelere karşı dayanım sıralaması şu şekildedir: LDPE>LLDPE>HDPE. Kristallenme derecesi ve bağıl moleküler ağırlık arttıkça mekanik özellikler de artmaktadır (Abdul Kader et al., 2021; Koriem et al., 2021). İner bir alkan polimeri olan polietilen iyi bir kimyasal stabiliteye sahiptir. Polietilen oda sıcaklığında yaygın asit, alkali veya tuz çözeltilerine karşı direnç gösterebilir ancak oleum, konsantre nitrik asit ve kromik asit gibi güçlü oksidantların oluşturduğu korozyona karşı koyamaz (Yao et al., 2022). Sıcaklık 60 °C'nin altına düştüğünde polietilen yaygın solventlerle çözülmez, ancak halojenli hidrokarbonlar, aromatik hidrokarbonlar veya alifatik hidrokarbonlarla uzun süre temas ettiklerinde performansları bozulmaya başlar. Polietilen 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda trikloroetilen, toluen, parafin veya mineral yağ gibi organik çözücüler içinde az miktarda çözünebilir (Al-Salem et al., 2021).

2.2 Polietilenin kullanım alanları

Polietilen ambalaj sektöründe en çok kullanılan malzemelerin başında gelmektedir. Günlük hayatta kullanılan alışveriş poşetleri, plastik şişeler, süt kapları, filmler, tuvalet malzemelerinin çoğu polietilenden yapılmaktadır (Yao et al., 2022). Günlük kullanım alanlarının fazlalığı nedeniyle aşırı üretilmekte ve dolayısıyla çoğu uygun şekilde bertaraf edilemeyen büyük miktarda atığa neden olmaktadır (Jambeck et al., 2015). Oldukça stabil bir molekül olan polietilen bu özelliği nedeniyle yüzeydeki ilk birikme noktasından itibaren toprak altına, oradan

yeraltı su sistemlerine veya yağmur suyu tahliye sistemleri vasıtasıyla akarsulara ve oradan da denizlere ve okyanuslara kadar ulaşabilir (Li et al., 2016). Zaman içinde biriktiği bu yerlerde yavaş yavaş ayrışan polietilen bu süreçte buldukları fiziki çevre ve bu çevredeki canlılarla etkileşime girmektedir (Gangadoo et al., 2020).



Şekil 1.1: En çok kullanılan plastik tipleri ve yapıları (Yao et al, 2022- değiştirilerek)

2.3 Polietilenin çevre ve canlılık üzerindeki toksik etkileri

Polietilen atıklar nereden kaynaklanırsa kaynaklansın çevrede birikmesinin ciddi sorunlara yol açması kaçınılmazdır. Polietilen atıkların dörtte üçünden fazlası çöplüklerde depolanmaktadır (Canopoli et al., 2018; Ritchie and Roser, 2018). Zaman içinde bu atıklar doğal ışık nedeni ile oksidasyona maruz kalır. Güneş kaynaklı ısı ve ultraviyole, polimer yapısındaki C-H bağlarının parçalanarak polimerdeki bazı katkı maddelerinin ve plastikleştirici maddelerin çevreye salınmasıyla sera gazı oluşmasına neden olur (Iskander et al., 2016).

2.3.1 PE'nin Deniz ve kıyı üzerindeki kirlilik etkileri

Polietilen, deniz ve kıyı ortamlarının kirliliğinden sorumlu olan en önemli atık çeşididir. Ayrıca deniz suyunda çeşitli boyutlarda plastik parçaları bulunmaktadır (Andray, 2011). Suda yüzen bu polietilen parçacıkları rengi ve kokusu dolayısıyla suda yaşayan hayvanları çeker ve bazı durumlarda onlar tarafından yenir. Buna bağlı olarak organ hasarları, apoptozis ve genotoksisiteye neden olabilir (Laskar and Kumar, 2019). Her yıl yüz milyonlarca deniz canlısı plastik kirliliğine maruz kalmaktadır. Yutulan bu polietilen mikropartikülleri antarktika krili, planktonik balıklar ve tatlı su amfipodları tarafından nano boyutlara kadar parçalanabilir (Tanaka and Takada, 2016). Örneğin, kumlu çökeltilerde biriken yüksek miktarda mikroplastik *Arenicola marina*'nın solunum hızını artırmaktadır (Green et al., 2016). İstiridyeye ve midyeler okyanuslarda yaygın olarak bulunan ikonik omurgasızlardır ve beslenmek için yüksek miktarda suyu fitrelemek zorundadırlar ve buna bağlı olarak vücutlarında mikroplastik parçaları birikmektedir. Her ne kadar plastik kirliliği avrupa yassı istiridyesi *Ostrea edulis*'te sınırlı bir hasara neden olsa da mikroplastiğe maruz kalma sonucu tür çeşitliliğinde gerileme olmuştur ve toplam biyokütle miktarını 1.2 ve 1.5 kat azalmıştır (Green, 2016). Plastik kirliliğine maruz kalan midye ve embriyolarında önemli histopatolojik hasarlar ve yüksek seviyede antioksidan belirteçlerinin gözlenmesi, mikroplastiklerin midyeler üzerindeki doğrudan toksik etkilerini göstermektedir (Paul-Pont et al., 2016).

Polietilen mikropartiküllerinin balıklar üzerindeki toksik etkisi de oldukça önemlidir. Besin zincirinde önemli bir avcı olan akya balığı *Decapterus muroadsi* mavi polietilen parçalarını av zannederek yemektir (Ory et al., 2017). Buna bağlı olarak polietilen parçaları besin zinciri vasıtasıyla artan miktarlarda daha büyük ve gelişmiş yırtıcıların bünyelerinde birikmektedir (Araujo et al., 2020). Yetişkin zebra balıkları üzerinde yapılan çalışmalarda solungaçlarda, midede ve bağırsakların %89'unda polietilen partiküllerine rastlanmıştır. Bu durumda balığın sindirim alanı iyice azalmıştır ve aynı zamanda anormal davranışlar ve üremeye ilgili genlerin olağandışı ifade edildiği belirlenmiştir (Mak et al., 2019). Bir başka çalışmada ise polietilen mikropartiküllerinin zebra balığı embriyolarında ölümcül olmayan subletal teratogenik toksisiteye neden olduğu belirlenmiştir. Aynı

zamanda polietilen partikülleri 9-nitroanthracene gibi organik zehirler tarafından taşıyıcı olarak kullanılmakta ve balıklar üzerinde çok daha belirgin toksik etkilere neden olmaktadır (Mak et al., 2019).

Deniz kuşları, kaplumbağalar, foklar, yunuslar, balinalar ve kutup ayıları gibi büyük deniz hayvanları polietilen plastik atıkları doğrudan yutarak veya polietilenle kontamine olmuş balıkları yiyerek ölebilirler. Okyanustaki en büyük hayvanlardan olan ispermeçet balinası ve balenli balinaların bu sebeple yetersiz beslenmeye ve sindirim bozukluğuna maruz kaldığı ve fazla miktarda deniz çöprü yutma nedeniyle bağırsaklarının tıkanabildiği belirlenmiştir (Barboza et al., 2019).

2.3.2 PE'nin Topraktaki etkileri

Polietilen ürünler kompozit malzemelerin bileşenlerinde, ambalajlamada ve tarımsal malçlamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Buna karşın polietilen genel olarak uygun şekilde geri dönüştürülememektedir ve toprakta birikimi nedeniyle ciddi bir kirlilik unsuru haline gelmiştir (Yao et al., 2022). Toprakta biriken polietilen mikroplastik kalıntıları toprağın adsorpsiyon kapasitesini, agregatların boyutunu ve mikroorganizma çeşitliliğini azaltmaktadır (Hou et al., 2021). Aynı zamanda topraktaki polietilen partikülleri hidrofobik organik kirleticilerin hareketliliğinin artmasına, dolayısıyla kirliliğin katlanmasına neden olmaktadır (Hüffer et al, 2019). Polietilen mikropartiküllerinin karasal hayvanlara verdiği zararlar da azımsanmayacak boyutlara ulaşmıştır.

Toprak solucanı *Lumbriculus variegatus* polietilen mikropartiküllerini yutar ve bunları sindirim sisteminde daha da küçük parçalara ayırabilir. Bu şekilde alınan polietilen miktarı yetersiz beslenmeye bağlı olarak organizmalardaki enerji rezervlerini azaltmaktadır (Silva et al., 2021). Ayrıca iki farklı çalışma, polietilenin solucanlarda metal birikimini artırdığı ve bunun da anormal enzim aktivitesi ve normal olmayan gen ifadelerine neden olduğu gözlenmiştir (Li et al 2021). Salyangozlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise polietilen partiküllerinin ölçülebilir hücresel veya genotoksik etkilere neden olmadığı ancak oksidatif strese yol açtığı belirlenmiştir (Colpaert et al., 2022).

Polietilen mikroplastikler yay kuyruklu böcek *Folsomia candida*'nın üremesini önemli ölçüde engellemiş ve bağırsağındaki mikrobiota çeşitliliğini azaltmıştır (Ju et al., 2019). Daha yeni bir çalışmada ise *Folsomia candida*'nın polietilen partiküllerini yutmasının onun hareketliliğini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Kim and An, 2020). Öte yandan yüksek oranda polietilen mikropartiküllerine maruz kalan bal arılarında ölüm oranları da önemli artışlar görülmüştür (Balzani et al., 2022).

Çok sayıda çalışma mikroplastığe maruz kalan sucul canlılarda üreme, davranış, bilişsellik, gen ifadesi gibi durumlarda olumsuz etkilerin arttığını göstermiştir. Buna karşılık karasal biyota üzerindeki etkilerine dair çok fazla şey bilinmemektedir. Karasal canlılarda polietilenin zararlı etkileri üzerinde yapılan çalışmalar omurgasız olan toprak solucanı üzerinde yoğunlaşmıştır.

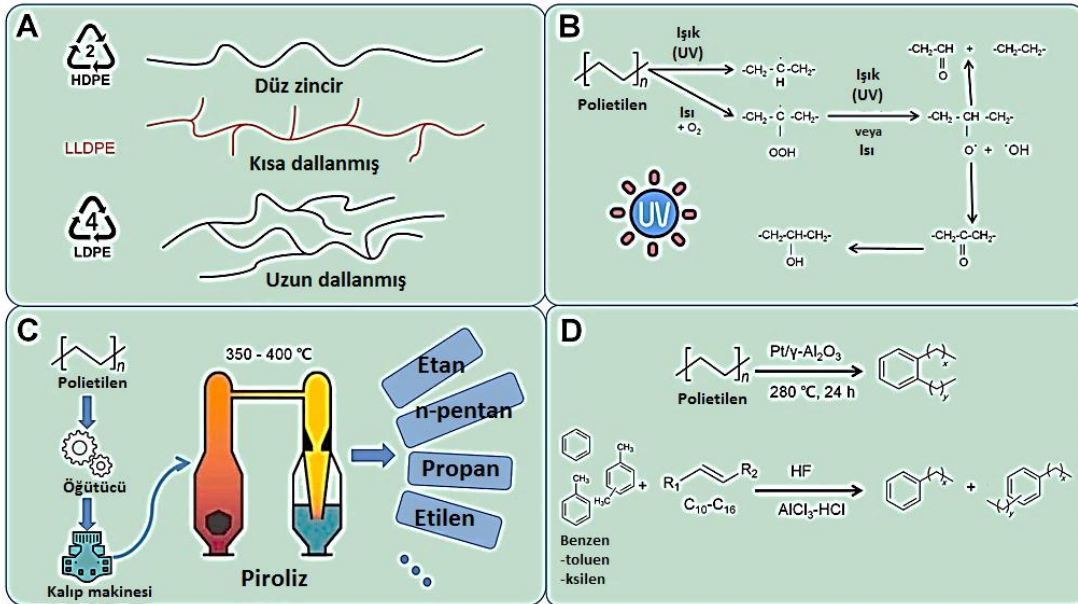
2.4 PE'nin geleneksel bozunma süreçleri

Biyolojik olmayan yöntemler arasında foto-oksidasyon (ultraviyole yoluyla), termal oksidasyon (yakma, piroliz veya gazlaştırma), hidrotermal sıvılaştırma ve kimyasal hidroliz (asitler, alkaliler ve solventler) gibi yöntemler sayılabilir. Bunların dışında uygulanan mekanik işlemlerin amacı fiziksel veya kimyasal yöntemlerle polietilen mikropartikülleri elde etmektir. Genellikle yukarıda sayılan yöntemlerin erken aşamalarında uygulanır ve buradaki amaç nihai olarak polietilen degradasyon verimini artırmaktır (Yao et al., 2022).

2.4.1 PE'nin ışık etkisiyle bozunması (fotodegradasyon)

Polimerlerin doğada bozunmasının en önemli sebeplerinden birisi fotodegradasyondur. Fotodegradasyon genellikle polimerden bağımsız radikallerin aracılığı ile meydana gelir ve güneş ışığındaki ultraviyole radyasyonla tetiklenir (Liu et al., 2019). Polietilen kromoforlardan yoksun olduğu için fotodegradasyona direnç gösterme eğilimindedir ancak üretim sürecinde meydana gelen safsızlıklar veya hava koşullarına maruz kalma sırasında meydana gelen yapısal kusurlar bu bakımdan kromoforların yerini alabilir (Fairbrother et al., 2019). Bozunma sürecinde polietilen Norrish reaksiyonuna girer ve bunun

sonucunda serbest radikaller, vinil grupları ve keton grupları oluşturarak ana zincirde kesilmelere neden olur (Sekil 2.2.B) (Koriem et al., 2021). Serbest radikaller oksijenle reaksiyona girerek peroksi radikallerini üretir ve bunlar daha sonra peroksitlere dönüştürülür. Peroksitlerin ayrışma sürecinde alkoller, karboksilik asitler, ketonlar, aldehitler veya esterler gibi bileşikler üretilebilir ve böylece polimer zincirin kesilmesine neden olabilir (Haider et al., 2019). Açık depolama alanlarındaki polietilenin büyük bir kısmı fotodegradasyon yoluyla bozunur. Ancak bu yöntem zaman alır ve yüzeyin altında kalan polietilen atıklar ışığa maruz kalmadıkları için verim düşer (Alassali et al., 2018). Ancak verimliliği sınırlı olmasına rağmen Norrish reaksiyonu izopolimerlerin fotooksidasyonunda oldukça önemlidir.



Şekil 2.2: Polietilen sınıflandırılması ve geleneksel bozunum tipleri. (A) polietilen sınıflaması ve yapısal karakteristikler, (B) Işık ile bozunma, (C) Piroliz ile bozunma (D) Kimyasal katiliz yoluyla bozunma

2.4.2 Polietilenin termal degradasyonu (piroliz, yakma ve gazlaştırma)

Termal bozunma veya termoliz polietilenin yüksek sıcaklıklardan kaynaklanan enerji girdisi ile parçalanmasını ifade eder (Grigore, 2017). Polimerler yüksek sıcaklıklara maruz kaldıkları zaman termal oksidasyon reaksiyonları meydana gelir (Şekil 2 C). Polimer dışarıdan yeterli ısıyı aldığından

ve enerji bariyerini kırdığında, uzun polimer zinciri koparak serbest radikalleri oluşturmaktadır (Pirsahab et al., 2020). Piroliz genellikle polietilen atıkların ayrıştırılmasında görece verimli bir yöntemdir (Sharuddin et al., 2016; Sogancioglu et al., 2017). Çalışmalar, poliolefinlerin ve polistirenin (PE ve PP) yüksek kalorifik değerleri ve sıvı yağ verimi nedeniyle piroliz işlemi için iyi adaylar olduğunu göstermiştir (Lamni et al., 2021). Ancak doğal ortamda polietilenin yüksek sıcaklık gereksinimleri ve düşük termal iletkenliği nedeniyle ekzotermik oksidasyonun kendiliğinden oluşması pek mümkün değildir. Buna bağlı olarak piroliz işleminin işletme maliyeti ve enerji tüketimi yüksektir. Bu da yeşil ve çevre dostu bir bozunma yöntemi olan pirolizin kullanımını sınırlar; (Niaounakis, 2017).

Yakma şu anda plastik atıklar için en yaygın ısıl işlem yöntemidir. Atık yakma genellikle enerji üretmek için kullanılır. Dünya çapında her gün yaklaşık 750.000 ton katı atık yakılır ve bu yolla enerji elde edilir (Makarichi et al., 2018). Bu yöntemin enerji geri kazanım verimliliği, katı atık türüne göre değişen atığın kalorifik değerine bağlıdır. Kalorifik değer ne kadar yüksekse, yanma olayından geri kazanılan enerji de o kadar yüksek olur. Bununla birlikte, polietilen ve diğer evsel katı atıkların tamamen yanmaması nedeniyle dioksinler ($C_4H_8O_2$), karbon monoksit (CO), hidrojen sülfid (H_2S), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) furanlar (C_4H_4O) içeren zehirli gazlar açığa çıkar (Verma et al., 2016).

Gazlaştırma ise polimer katı atıkların kullanılan oksidant, polimer tipi, ve operasyon koşullarına bağlı olarak değişen bir dizi faydalı ürüne dönüştürmek için kullanılacak bir diğer ısıl işlem yöntemidir (Heidenreich and Foscolo, 2015). Gazlaştırma, piroliz veya yakmaya göre daha az oksidan gerektirir ve çevreye daha az toksik gaz yayar (Lopez et al., 2018). Yapılan çalışmalar piroliz yönteminin polietilen ve diğer polimer atıklarını neredeyse tamamen uçucu bileşiklere dönüştürebildiğini göstermektedir (Sharuddin et al., 2016). Ancak bu işlem sonunda katran ve kok açığa çıkmaktadır ve bu da çözülmesi gereken yeni problemler demektir.

2.4.3 Polietilenlerin kimyasal hidroliz yolu ile bozunması

Polietilen atıkların kataliz yoluyla değerli sıvı yakıtlara veya kimyasal hammaddelere dönüştürülmesi, hem polimer atık kirliliğine hem de azalan küresel petrol rezervlerine potansiyel bir çözüm olabilir. Örneğin mesoporlarla kaplı Pt/SiO₂ katalizörü HDPE'den %79 verimle C₉ ve C₁₈ elde edilmesini sağlamıştır (Tennakoon et al., 2020). Pt/SrTiO₃ katalizörü ise polietilen veya tek kullanımlık plastik poşetleri 300 °C'de tamamen yağlara ve muhlara dönüştürmüştür (Celik et al., 2019). Polietilen,γ-alüminyum oksitle desteklenmiş platin kullanımı sonunda yüksek verimlilikle (%80'e kadar) düşük molekül ağırlıklı sıvı/muma dönüştürülmüştür ve bu sırada neredeyse hiç gaz çıkışı olmamıştır (Şekil 2 D) (Zang et al., 2020). Ancak bu tekniğin kullanımına ilişkin raporlar sınırlıdır. Ayrıca gazlaştırmanın pratik kullanımı, nispeten düşük çıktısı ve yüksek enerji talebi ve ayrıca mevcut yöntemlerin fiili uygulamalara pek olanak vermemesi nedeniyle şu an pek te revaçta değildir.

2.5 Polietilenin biyobozunumu

Artan küresel polietilen atık sorunuyla karşısında geleneksel biyolojik olmayan yöntemlerin sınırlamaları göz önüne alındığında, bu atıkları depolimerize etmek veya değerli ürünlere dönüştürmek için biyolojik yöntemler giderek daha fazla değerlendirilmektedir. Polietilen üzerinde yaşayan ve onu kolonize edebilen mikroorganizmalar ilk defa 1970'li yıllarda keşfedilmiştir. O zamandan beri mikroorganizmalar polietileni parçalamak için bir araç olarak kullanılmak üzere sürekli olarak araştırılmaktadır.

Polietilenin biyobozunması, organizmaların (temel olarak omurgasızlar, algler, bakteriler, mantarlar vs.) polietileni parçaladığı ve onu bir gıda kaynağı olarak kullandığı bir süreç olarak tanımlanır. Geleneksel bozunma yöntemleriyle karşılaştırıldığında, biyolojik bozunmanın avantajları düşük maliyetli ve kolay çalışılabilir olmasıdır. Ayrıca zehirli gazlar ve zararlı bileşikler açığa çıkarmaması nedeniyle biyobozunma çevre dostu bir süreç olarak dikkat çeker (Yao et al., 2022)

Son zamanlarda yayınlanan çalışmalar bazı omurgasız hayvanların polietilenin parçalanmasında önemli rol oynayabileceğini göstermiştir. Bazı araştırma grupları, farklı böcek türlerinin polietileni gerçekten sindirip sindiremediğini tartışmış ve bağırsaklardaki mikrobiyotanın bununla ilişkisini araştırmıştır (Przemieniecki et al., 2020). Örneğin un kurtları, büyük mum güvesi ve un bitlerinde polietilenin biyobozunumu üzerine araştırmalar yapılmıştır (Bombelli et al., 2017; Brandon et al., 2018; Ibrahim et al., 2021; Kundungal et al., 2019, Peng et al., 2020; Yang et al., 2014). Bu çalışmalarda polietilenin biyobozunuma uğradığı iddia edilmiştir ancak bunun bu canlıların bağırsaklarındaki mikrobiota kaynaklı olup olmadığı tartışma konusudur.

Un kurdu olarak bilinen *Tenebrio molitor* larvalarının polietileni sindirebildiği ve bağırsaklarındaki mikrobiotanın bunda rol oynadığı belirlenmiştir (Brandon et al., 2018; Luo et al., 2021a; Yang et al., 2014). Son yıllarda yapılan bir çalışmada *T. molitor* ve *T. obscurus* larvalarının polietileni sindirdikleri rapor edilmiştir. Ancak bağırsak mikrobiotası antibiyotikle baskılandığında dahi polietilen sindirimi devam etmiştir (Yang et al., 2021). Benzer bir çalışmada da *T. molitor* larvalarının bağırsaklarında antibiyotik baskısına rağmen hala LDPE sindiriminin sürdüğünü ve bunun bağırsaklardaki mikrobiota ile çok ta bağlantılı olmadığı öne sürülmüştür (Li et al., 2020). Buna karşın *Zophobas atratus* larvalarında yapılan bir çalışmada antibiyotik kullanılması sonucu bağırsaklardaki LDPE sindiriminin neredeyse tamamen durduğu belirlenmiştir (Peng et al., 2020). 2017 yılında yapılan bir çalışmada *Galleria mellonella* larvalarının polietilen poşette delikler açtığı, yani onu çiğneyebildikleri ve bağırsaklarında da daha ileri bir sindirime uğratabildikleri belirlenmiştir (Bombelli et al., 2017). Bir başka çalışmada *Galleria mellonella* larvalarının türkürük bezinin polietilen biyobozunumunda iş gördüğü belirlenmiştir fakat bunun sınırlı düzeyde kaldığı da vurgulanmıştır (Kundungal et al., 2019; Peng et al., 2020). Polietilen sindirimi ile bağırsak mikrobiotası arasındaki ilişki üzerinde duran bir başka çalışmada *G. mellonella* larvalarındaki bağırsak mikrobiotasının baskılanmasının baskılanmasının sindirime önemli ölçüde ket vurduğu gösterilmiştir (Cassone et al., 2020). Bunun tam aksi sonuçlar, yani bağırsak mikrobiotasının *G. mellonella*'da polietilen sindirimiyle ilişkisi olmadığı (Kong et al., 2019; Peydaei et al., 2020) tarafından vurgulanmıştır.

Birbiri ile çelişen sonuçların bu kadar yaygın olması göz önüne alındığında *Galleria mellonella*'da daha ileri ve karmaşık denemeler yapılarak polietilen biyobozunması sürecinin biraz daha aydınlatılabileceği düşünülerek bu çalışmanın yapılmasına karar verilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 *Galleria mellonella*'nın yetiştirilmesi

Çalışmada, *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae)'nın son evre larvaları kullanılmıştır (Şekil 3.1). Larvalar $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40-60 orantılı nem koşullarında, büyük boy petrielerde, inkübatör içinde yetiştirilmiştir. Yem olarak siyez unu, mısır unu, süt tozu, bal mumu, kuru maya, bal ve gliserinden meydana gelen karışım kullanılmıştır. (Marston et al., 1975; Fröbius et al., 2000)



Şekil 3.1 *Galleria mellonella* son evre larvası

3.2 LDPE içeren besi ortamının hazırlanması

Son evre olana kadar yukarıda tarif edilen besi ortamında yetiştirilen larvalar, bu aşamada besi ortamından alınmış ve 24 saat boyunca aç bırakılmıştır. Bu larvalardan 20 şer tanesi içinde ince kesilmiş PE şeritleri olan petri kaplarına konmuş ve bir hafta boyunca standart besi ortamı yerine PE ile beslenmesi sağlanmıştır (Şekil 3.2). Bir hafta boyunca besi ortamında biriken dışkılar toplanmış ve de daha sonra dışkıda etilen glikol varlığı araştırılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır. Bu süreçte her bir petri kabından yaklaşık 100'er mg dışkı toplanmıştır. Ayrıca normal besin ile beslenen larvalardan da her bir petri için toplam 100'er mg dışkı toplanmış ve kontrol grubu olarak kullanılmak üzere -20°C 'de saklanmıştır.



Şekil 3.2 Plastik şeritlerle beslenen son evre larvalar

3.3 Dışkıdaki etilen glikol varlığının kimyasal yöntemle saptanması

Larvanın son bağırsağındaki dışkı içeriğinde etilen glikol varlığı aşağıdaki kimyasal yöntem uygulanarak test edilmiştir.

LDPE şeritleriyle beslenmiş larvalardan toplanan dışkılar 1.5 ml'lik ependorflara alınmış, üzerine yavaş yavaş saf su eklenerek sonik banyo içerisinde bekletilmiş ve olası etilen glikolün suda çözünerek dışkıdan ayrılması sağlanmıştır. Dışkının gevşemesi için önce 1 mg dışkı için 1 µl saf su eklenmiş ve sonik banyoda 15 dakika boyunca bekletilmiştir. Üzerine tekrar 1 mg dışkı için 1 µl saf su eklenmiş ve ikinci kez 15 dakika boyunca sonik banyoda tutulmuştur. Dışkı ve su karışımı çıvık bir çamur haline gelince 15 dakika boyunca 20000 RPM'de sanrifüj edilmiş ve barraklaşan üst faz HPLC'de incelenmek üzere alınmıştır.

Normal besi ortamında beslenen larvalardan toplanan dışkılar da yukarıda tarif edildiği gibi işlemlerden geçirilmiş ve kontrol grubu olarak HPLC'de incelenmek üzere alınmıştır.

Etilen glikol (EG) analizi için refraktif indeks (RID) dedektörü (Agilent Technologies, 1200 serisi, Santa Clara, CA, ABD) ile bağlantılı HPLC

kullanılacaktır. Ayırma, ligand değişimi prensibiyle negatif yükler ile reğine yüzeyine sabitlenmiş metal iyonunun katkıda bulunduğu pozitif yük arasındaki etkileşime bağlı çalışan hidrojen temelli Hi-Plex H kolonu ile (7.7×300 mm, 8 µm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) izokratik koşul altında mobil faz olarak 0.0005 M H₂SO₄ ile gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 0,600 mL, kolon ve dedektör sıcaklığı analiz süreci boyunca 45 °C olarak belirlenmiştir. Enjeksiyon hacmi 100 µL olacak şekilde ayarlanmıştır (Aksu et al., 2021).

3.4 *In vitro* uygulamalarla etilen glikol varlığının saptanması:

In vitro uygulamalar, PE'nin canlı ortam dışında hazırlanan düzenekte sindirilip sindirilemeyeceğini test etmek üzere hazırlanmıştır. Burada iki farklı şekilde homojenizasyon yapılmıştır.

İlk grup denemeler için sadece fosfat tampon (PBS) pH:7.2 kullanılmıştır. Bu amaca uygun olarak larvaların tükürük bezleri ve orta bağırsakları 10 mM pH:7.2 olan +4 °C deki fosfat tampon (PBS) içinde disekte edilerek çıkarılmıştır (şekil 3.3) ve her 100 mg doku için 1 ml PBS eklenerek +4°C deki tampon içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 15 dakika boyunca 15000 RPM'de santrifüj edilmiş ve süpernatantlar alınarak *in vitro* sindirim reaksiyonları için kullanılmıştır.



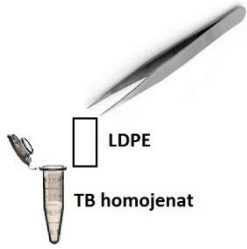
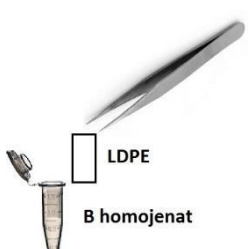
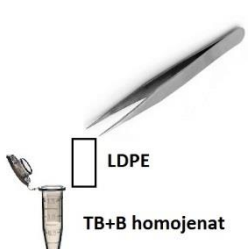
şekil 3.3 Disekte edilmiş tükürük bezi ve bağırsak

İkinci grup denemeleri için PBS'e proteaz inhibitörleri ve bazı enzim düzenleyicileri (DTT: Dithiothreitol, PMSF: phenylmethylsülfonil flüorid, EDTA: Ethylenediaminetetraacetic asit) eklenmiş ve PE'nin sindiriminde etkili olabilecek diğer enzimlerin sindirilmesi olasılığı ortadan kaldırılmıştır. DTT, PMSF ve EDTA 100mM olacak şekilde hazırlanmış ancak homojenizasyon sırasında toplam hacimdeki final konsantrasyonları 1-2 mM olacak şekilde ayarlanmıştır.

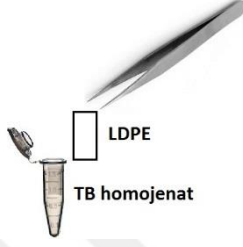
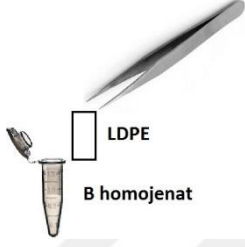
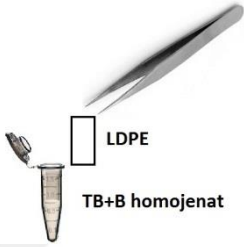
LDPE olduğu bilinen plastik poşetten 1 cm x 0.5 cm boyutlarında (her biri yaklaşık 1,5-2 mg ağırlıkta) plastik parçaları kesilmiş ve aşağıdaki çizelgelerde belirtildiği şekilde homojenatla yüzleştirilerek inkübe edilmiştir.

Tükürük bezi ve bağırsak homojenatları elde edildikten sonra iki farklı yöntem izlenmiştir ve yöntemler (Çizelge 3.1 ve 3.2) gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 PBS tamponunda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriği kullanılarak yapılan farklı deneme prosedürleri

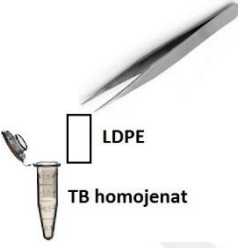
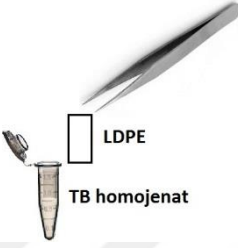
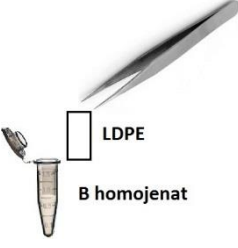
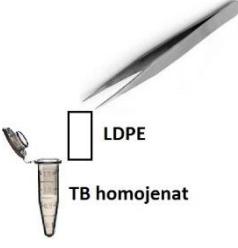
Sadece PBS (pH:7.2) tamponunda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak		
<p>Tükürük bezi (TB) LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>	<p>Bağırsak (B) LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>	<p>TB + B LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>

Çizelge 3.2 PBS tampon ve DTT+PMSF+EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriği kullanılarak yapılan farklı deneme prosedürleri

PBS (pH:7.2) tampon ve DTT+PMSF+EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak		
<p>Tükürük bezi (TB) LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi 15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>	<p>Bağırsak (B) LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi 15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>	<p>TB + B LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml homojenat kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi 15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>

Yukarıdaki yöntemle yapılan denemelerde sadece tükürük bezi, bağırsak ve tükürük bezi + bağırsak homojenat karışımlarında inkübasyon yapılmıştır. Ancak bir başka ek deneme ile larvalardaki sindirim sırası dikkate alınarak sırasıyla önce tükürük bezi sonra da bağırsak homojenatları ile yüzleştirilen LDPE parçasındaki durum da incelenmiştir. Bu işlemler yapılırken yine sadece fosfat tampon ve fosfat tampon + DTT, PMSF ve EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak homojenatları kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

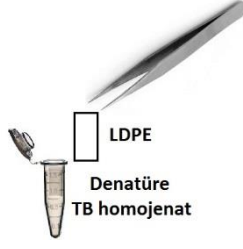
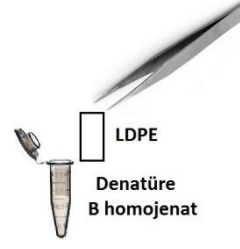
Çizelge 3.3 LDPE parçalarının önce tükürük bezi sonra bağırsak homojenatları ile yüzleştirildiği deneme prosedürleri

Sadece PBS (pH:7.2) tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak	PBS (pH:7.2) tampon ve DTT + PMSF + EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak
<p>LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml tükürük bezi homojenatı kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml bağırsak homojenatı kondu</p>	<p>LDPE (1cm x 0.5 cm) 0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml tükürük bezi homojenatı kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>0,5 ml lik ependorfa alındı Üzerine 0.4 ml bağırsak homojenatı kondu</p>
 <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Bu şekilde sırası ile önce tükürük bezi, sonra da bağırsak homojenatı ile yüzleşen LDPE parçası için doğal sindirim simüle edilmiş oldu</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>	 <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Bu şekilde sırası ile önce tükürük bezi, sonra da bağırsak homojenatı ile yüzleşen LDPE parçası için doğal sindirim simüle edilmiş oldu</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına bakılmak üzere ayrıldı</p>

3.5 In vitro uygulamalar sırasında LDPE parçalarına biyolojik makromolekül yapışması kaynaklı kontaminasyon olasılığının test edilmesi

Bu tür uygulamalarda ne kadar yıkama yapılırsa yapılsın bazı durumlarda homejenat içeriğindeki makromoleküllerden proteinler ve yağlar LDPE parçalarına yapışarak kontaminasyona sebep olabilir ve takip eden kimyasal analizlerde etilen glikol ile girişim yaparak veya onu maskeleyerek ya da etilen glikol benzeri pikler vererek yanlışlığa sebep olabilir. Bunu test etmek için ayrıca homejenat içeriğinin denatüre edildiği uygulamalar yapılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 Denatüre edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeri ile yapılan deneme prosedürleri

Denatüre edilmiş tükürük bezi (TB) homojenatı ile yapılan uygulama	Denatüre edilmiş bağırsak (B) homojenatı ile yapılan uygulama
<p>0,5 ml lik ependorftaki TB homojenatı 10 dakika boyunca 100 °C su içinde bekletilerek denatüre edildi.</p> <p>LDPE (1cm x 0.5 cm) denatüre edilmiş homojenata kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına veya kontaminasyona bakılmak üzere ayrıldı</p>	<p>0,5 ml lik ependorftaki B homojenatı 10 dakika boyunca 100 °C su içinde bekletilerek denatüre edildi.</p> <p>LDPE (1cm x 0.5 cm) denatüre edilmiş homojenata kondu</p>  <p>30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edildi</p> <p>15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkandı</p> <p>Kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına veya kontaminasyona bakılmak üzere ayrıldı</p>

3.6 In vitro uygulamalar sırasında LDPE parçalarına DTT + PMSF + EDTA karışımının yapışması kaynaklı kontaminasyon olasılığının test edilmesi

Başlıkta adı geçen enzim düzenleyici veya inhibitörlerin de LDPE parçalarına yapışm riski olabileceği göz önüne alınarak PBS'in toplam haciminde

2 mM olacak şekilde DTT + PMSF + EDTA karışımı hazırlanmış ve LDPE parçaları 30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından 15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkanan örnekler kimyasal analiz ile etilen glikol varlığına veya kontaminasyona bakılmak üzere ayrılmıştır.

3.7 Kontrol örneklerinin hazırlanması

Kontrol örnekleri hazırlanırken LDPE parçaları sadece PBS'e maruz bırakılmıştır. LDPE parçaları 30 °C de 4 er saat olmak üzere 4 döngü üzerinden toplam 16 saat boyunca sadece PBS de inkübe edilmiştir. Ardından 15 dakika boyunca sonik banyoda saf su ile yıkanan örnekler kimyasal analizi yapılmak üzere ayrılmıştır.

3.8 LDPE parçalarındaki etilen glikol varlığının Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR) yöntemi ile belirlenmesi

Yukarıda belirtildiği şekilde ayrılan örnekler 600-4000 cm^{-1} aralığında spektrum alacak şekilde ayarlanmış cihaz ile incelenmiştir. Öncelikle LDPE'nin sindirim ürünü olduğu düşünülen etilen-glikole ait pikler araştırılmıştır. Burada karşılaştırma yapmak üzere saf etilen glikolün de spektrumuna bakılmış ve kontrol grubu ve uygulamalar arasında karşılaştırmalar yapılarak yoruma gidilmiştir.

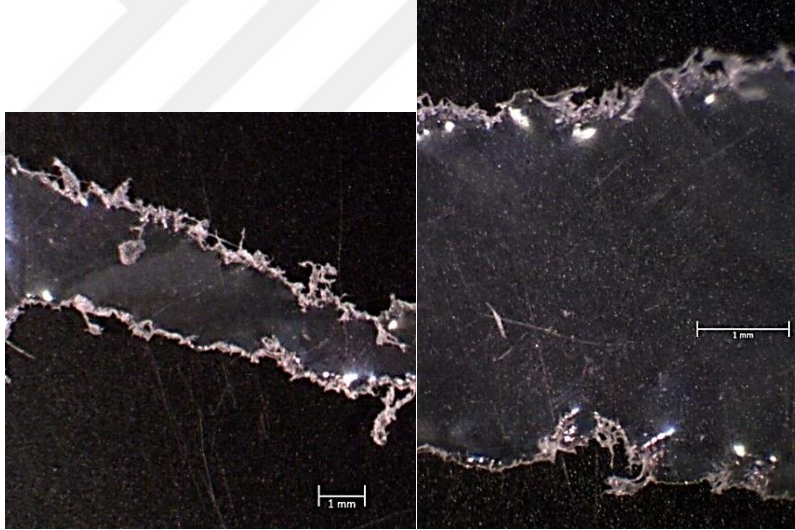
4. BULGULAR

4.1 Polietilen ile beslenme süreci

Bir hafta boyunca ince kesilmiş LDPE şeritleriyle beslenen son evre larvalarda ilk birkaç gün boyunca herhangi bir anomali gözlenmemiştir. Yalnız 5. günden sonra bazı larvaların kısalıp küçüldüğü görülmüştür (Şekil 4.1). Larvaların polietilen şeritlerini gerçekten yedikleri LDPE şeritlerindeki ısırık izlerinden görülmektedir (Şekil 4.2).



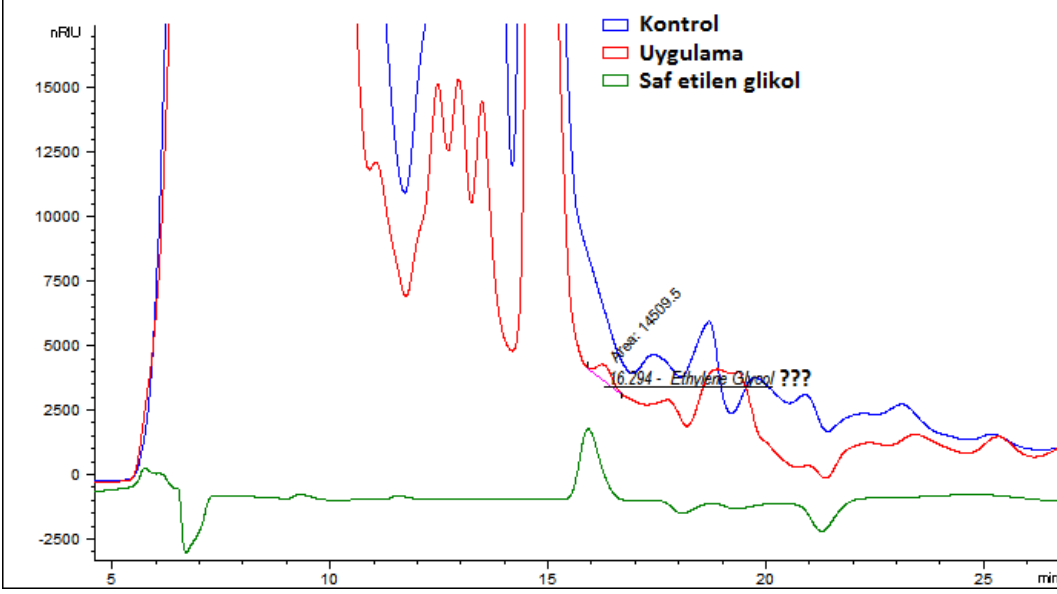
Şekil 4.1 Polietilenle beslenmiş son evre larvadaki vücut anomalisi



Şekil 4.2 Polietilen şeritlerdeki ısırık izleri

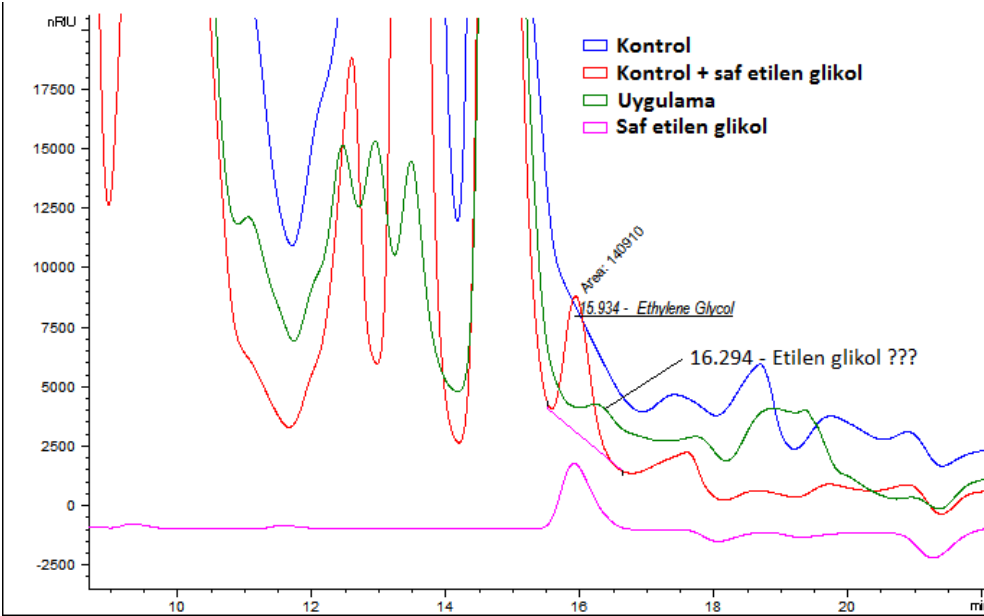
4.2 HPLC ile dışkıda etilen glikol varlığının tespiti

HPLC analizlerinde saf etilen glikol 15.935 dakikada pik vermiştir. Kontrol grubunda bu dakikada bir pik gözlenmemiştir. Uygulama grubunda ise buna çok yakın bir noktada 16.294 dakikada pik gözlenmiştir. Bunlar üst üste getirildiklerinde uygulamadaki pik saf etilen glikol piki ile neredeyse çakışmaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Kontrol, uygulama ve saf etilen glikolün HPLC pikleri

16.294 dakikadaki pikin etilen glikol ile ilişkili olup olmadığını anlamak için kontrol grubuna da saf etilen glikol eklenerek HPLC de analiz edilmiş ve buradan elde edilen pik saf etilen glikolün pikiyle karşılaştırılınca ikisinin de 15.935 dakikada sinyal verdiği tespit edilmiştir.

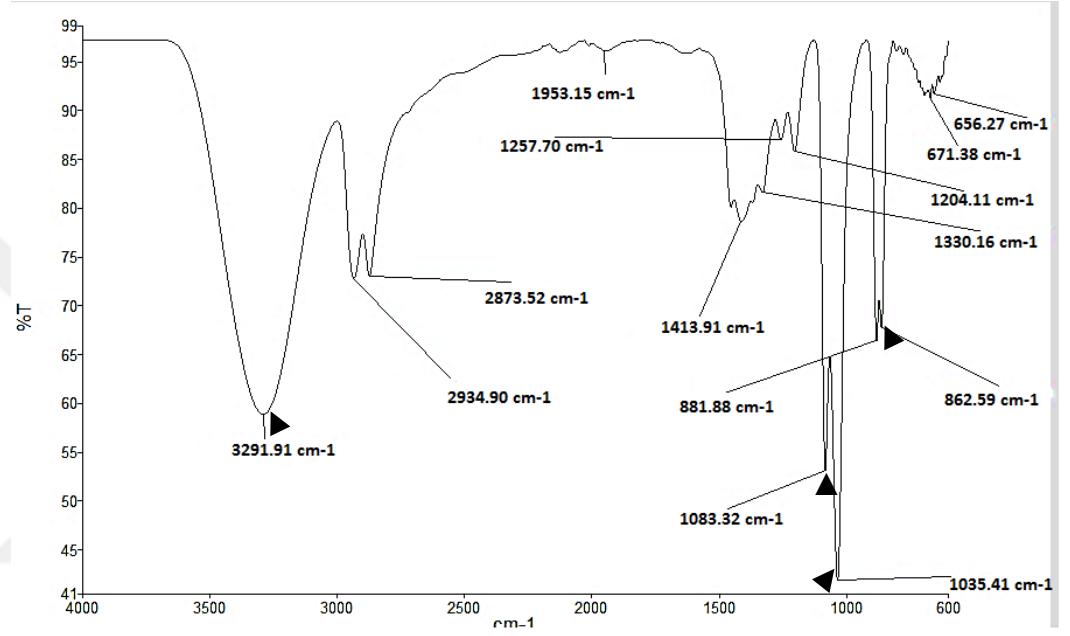


Şekil 4.4 Kontrol, kontrol+saf etilen glikol, uygulama ve sadece saf etilen glikolün HPLC pikleri

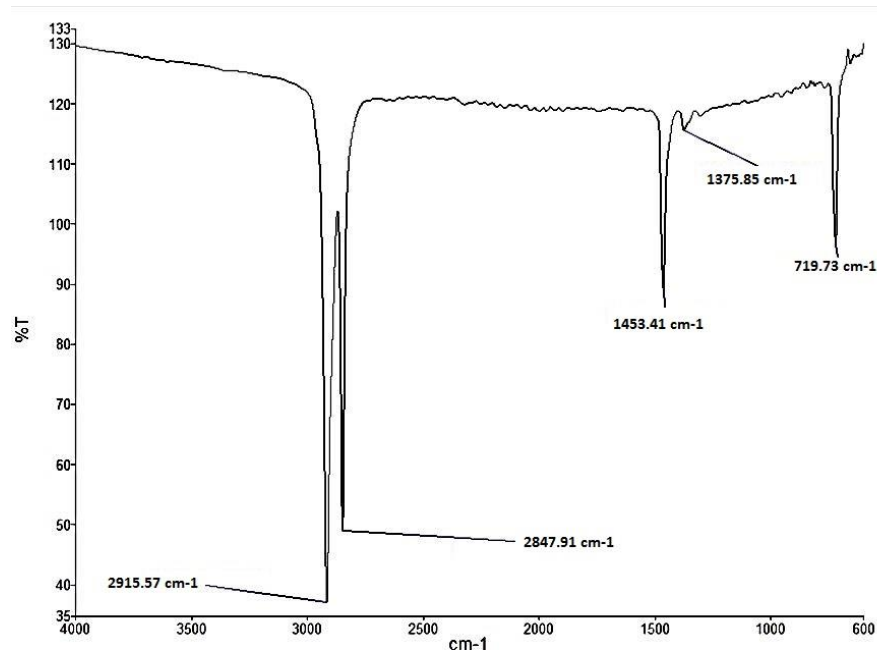
4.3 FTIR spektrofotometre sonuçları

4.3.1 Saf etilen glikolün ve kontrol LDPE parçasının spektrumu

Saf etilen glikol spektrumunda büyükten küçüğe doğru sıralanabilecek anlamlı pikler işaretlenmiştir (Şekil 4.5) Sadece PBS de inkübe edilip yıkanan kontrol örneğinin spektrumu ve anlamlı pikler işaretlenmiştir (Şekil 4.6).



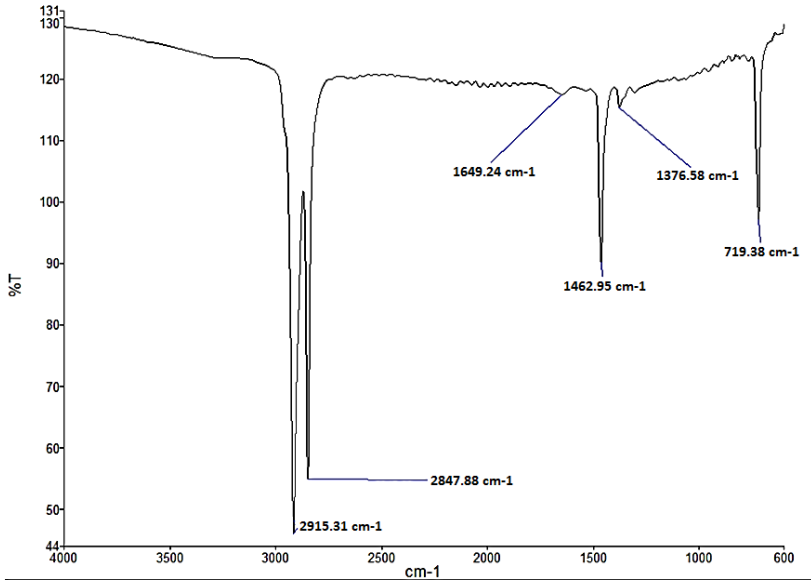
Şekil 4.5 Saf etilen glikolün spektrumu ▲ : karşılaştırma yapılacak pikleri işaret etmektedir.



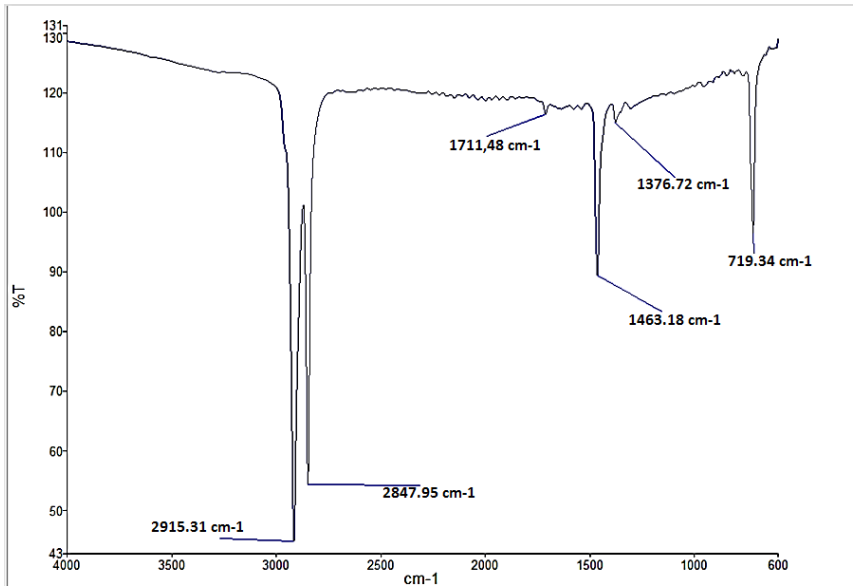
Şekil 4.6 Kontrol grubu LDPE parçasının spektrumu

4.3.2 Sadece PBS tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriklerinde sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar

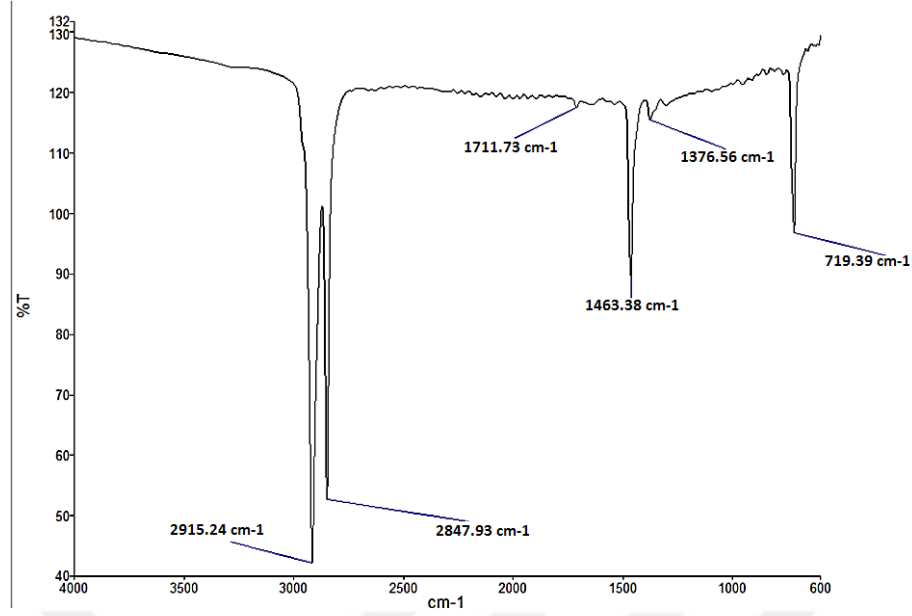
Sadece tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi, bağırsak ve tükürük bezi+bağırsak içeren homojenatlarda inkübe edilmiş LDPE parçalarının hiçbirinde etilen glikol varlığına işaret eden 3300 cm^{-1} ile 1085 ve 1033 cm^{-1} civarlarında pik gözlenmemiştir (Şekil 4.7, 4.8, 4.9).



Şekil 4.7 Tükürük bezi homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu



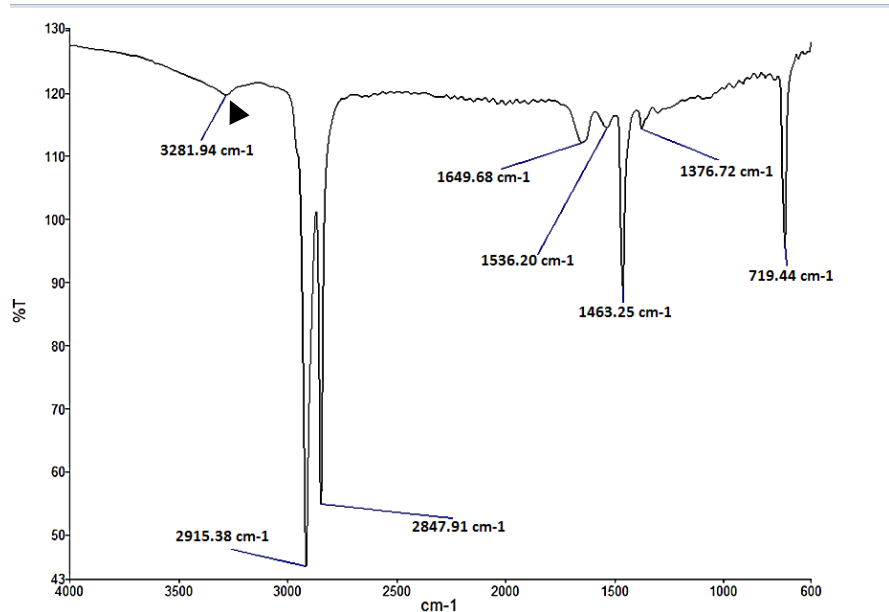
Şekil 4.8 Bağırsak homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu



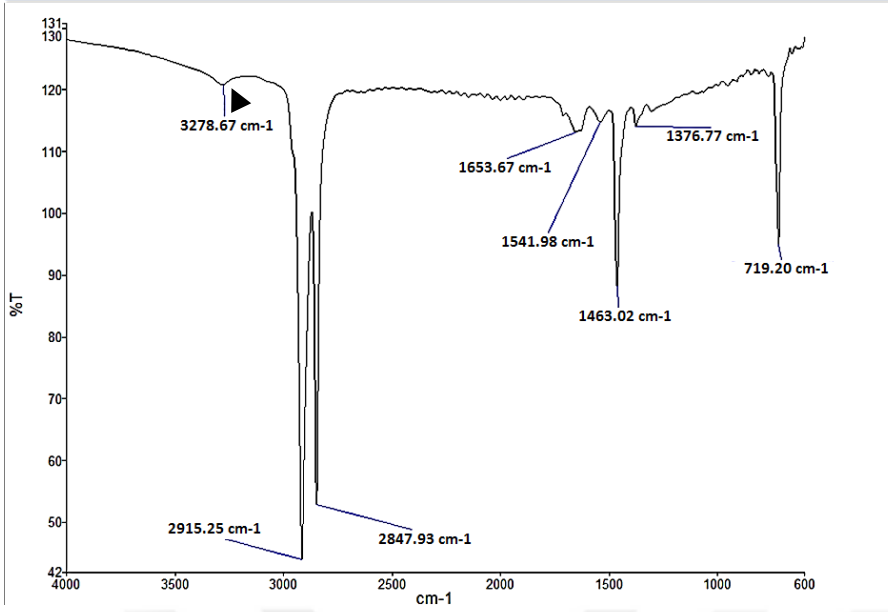
Şekil 4.9 Tükürük bezi + bağırsak homojenatı ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu

4.3.3 PBS tampon ve DTT+PMSF+EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak içeriklerinde sindirilmiş LDPE parçacıklarının ait spektrumlar

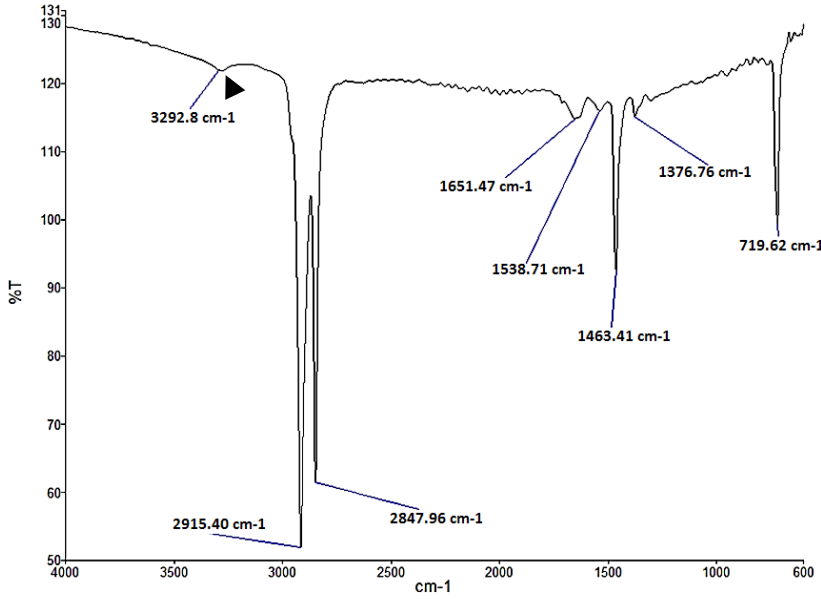
PBS tampon ve DTT + PMSF + EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi, bağırsak ve tükürük bezi+bağırsak içeren homojenatlarda inkübe edilmiş LDPE parçalarının üçünde de yaklaşık 3300 cm⁻¹ de absorbans alınmıştır (Şekil 4.10, 4.11, 4.12).



Şekil 4.10 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu. ▲ : 3300 cm⁻¹ deki absorbansı göstermektedir.



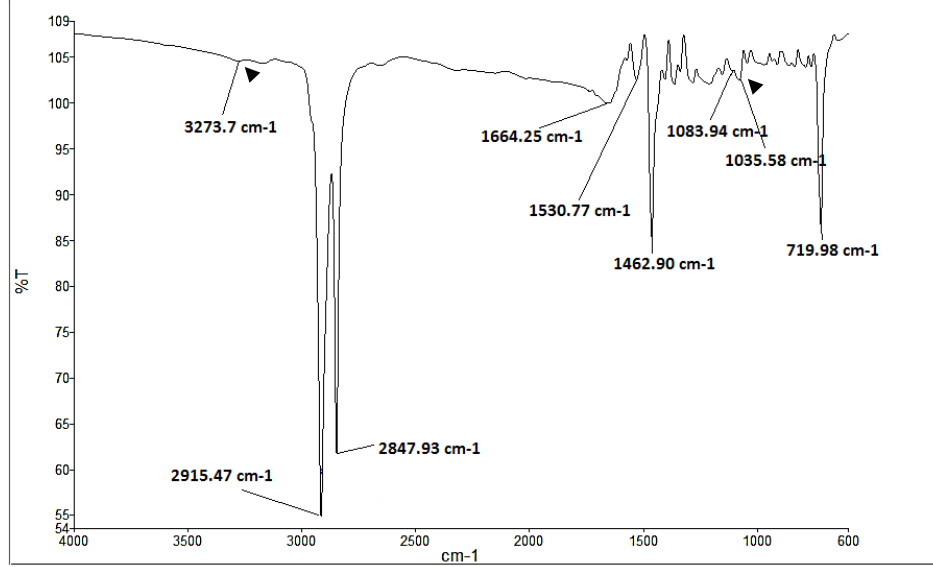
Şekil 4.11 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş bağırsak ile inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu. ▲ : 3300 cm-1 deki absorbanısı göstermektedir.



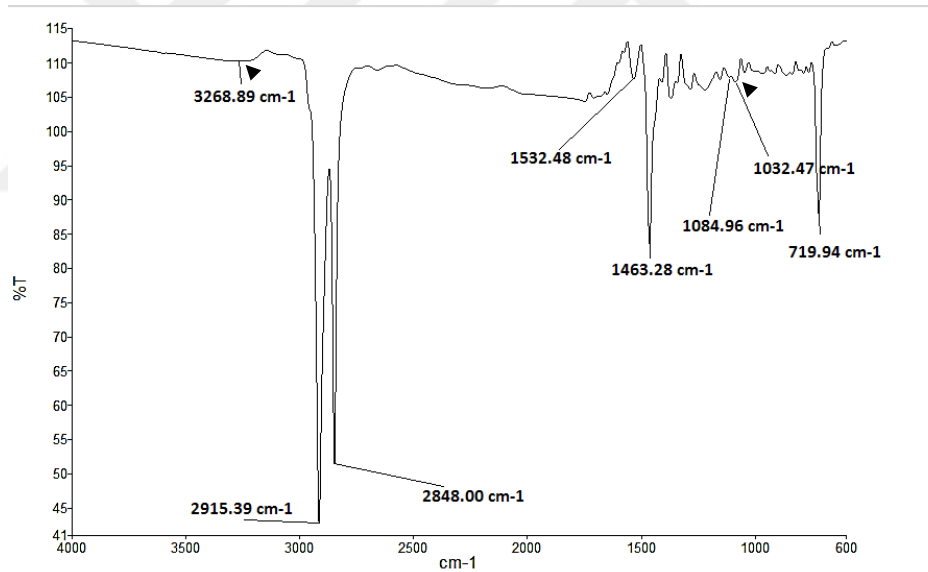
Şekil 4.12 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi ve bağırsak karışımı içinde inkübe edilmiş LDPE'nin spektrumu. ▲ : 3300 cm-1 deki absorbanısı göstermektedir.

4.3.4 PBS tamponda homojenize edilmiş tükürük bezi (TB) ve bağırsak (B) içeriklerinden önce TB'de sonra B'de sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar

Örneklerin her ikisinde de 3300 cm⁻¹ de ve 1085 ile 1033 cm⁻¹ de zayıf da olsa absorban alınmıştır (Şekil 4.13, 4.14).



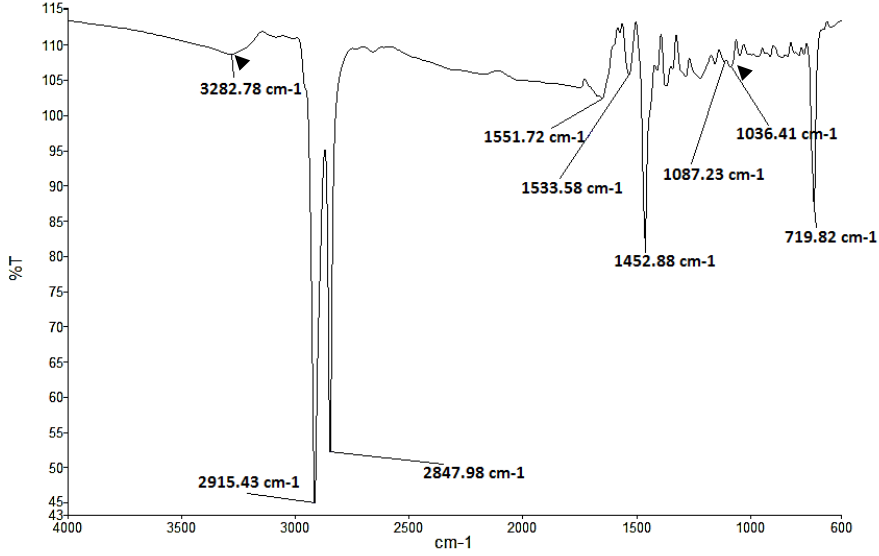
Şekil 4.13 Sadece fosfat tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu. ▲ : 3300, 1085 ve 1033 cm^{-1} deki absorpsanları göstermektedir.



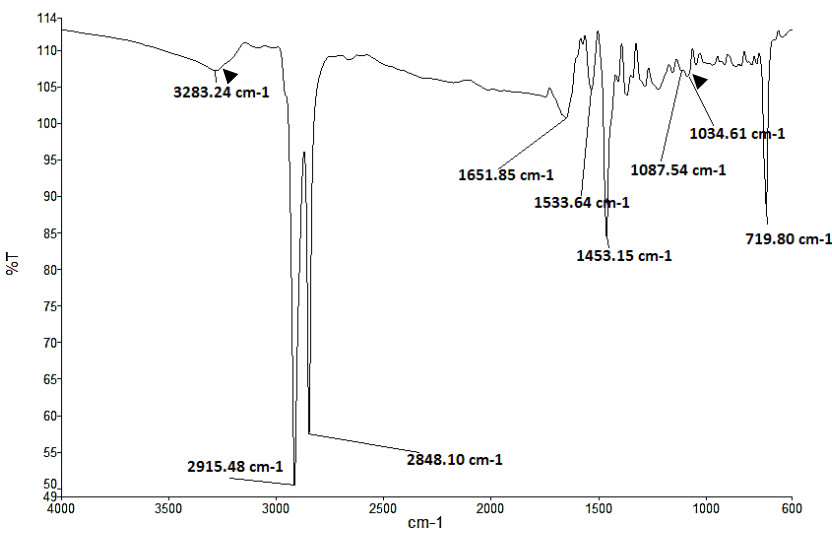
Şekil 4.14 Sadece fosfat tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu. ▲ : 3300, 1085 ve 1033 cm^{-1} deki absorpsanları göstermektedir.

4.3.5 PBS tampon ve DTT + PMSF + EDTA karışımında homojenize edilmiş tükürük bezi (TB) ve bağırsak (B) içeriklerinden önce TB'de sonra B'de sindirilmiş LDPE parçacıklarına ait spektrumlar

Örneklerin her ikisinde de 3300 cm^{-1} de daha güçlü, 1085 ile 1033 cm^{-1} de ise biraz daha zayıf absorpsan alınmıştır (Şekil 4.15, 4.16).



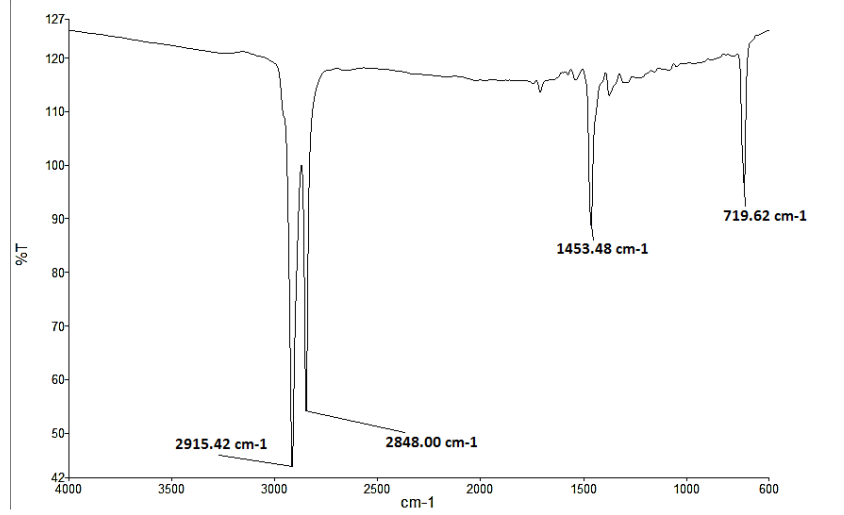
Şekil 4.15 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu. ▲: 3300, 1085 ve 1033 cm^{-1} deki absorpsanları göstermektedir.



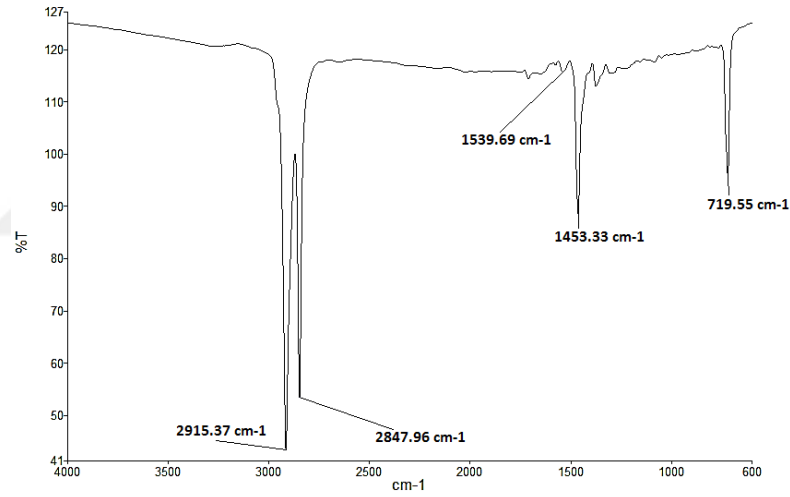
Şekil 4.16 DTT + PMSF + EDTA içeren tamponda homojenize edilmiş ve sırası ile önce tükürük bezi sonra bağırsakta inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu. ▲: 3300, 1085 ve 1033 cm^{-1} deki absorpsanları göstermektedir.

4.3.6 Denatüre edilmiş tükürük bezi ve bağırsak homojenatı ile yapılan uygulama

Örneklerin her ikisinde de etilen glikol veya herhangi bir başka kirleticiye ait absorpsansa rastlanmamıştır (Şekil 4.17, 4.18).



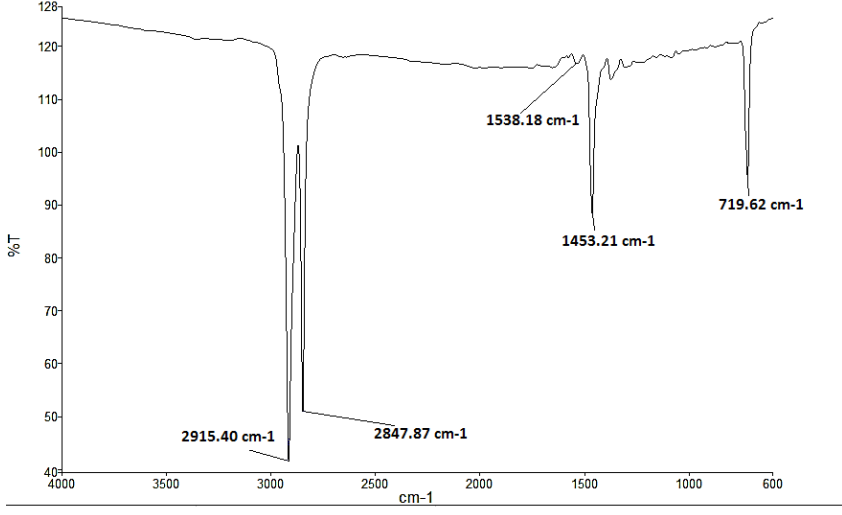
Şekil 4.17 Denatüre edilmiş tükürük bezi homojenatında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu



Şekil 4.18 Denatüre edilmiş bağırsak homojenatında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu

4.3.7 DTT, PMSF ve EDTA içeren fosfat tampon karışımının oluşturabileceği kirliliğin test edilmesi

DTT, PMSF ve EDTA'dan kaynaklanan bir kirliliğe işaret edecek herhangi bir absorbansa rastlanmamıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 DTT, PMSF ve EDTA içeren fosfat tampon karışımında inkübe edilmiş LDPE parçasının spektrumu

TARTIŞMA

En yaygın kullanılan sentetik maddelerden biri olan plastikler doğada kolay kolay bozunmazlar ve bu nedenle çevre kirliliğinin önemli bileşenlerinden biri olarak kabul edilirler. Kirliliğe bağlı olarak canlı sağlığını etkilemeleri nedeniyle büyük bir sorun olmaya başlamıştır. Plastik kullanımının yıllar içinde artması ve gelecek yıllarda da katlanarak artacağı öngörülür (Yao et al., 2022) onların bir şekilde doğaya en az zarar verecek biçimde bertarafını zorunlu kılmaktadır.

Geleneksel biyolojik olmayan yöntemlerle polietilen bertarafı ışık, ısı, kimyasal ve de kimyasal+ısı olmak üzere çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilmektedir (Yao et al., 2022). Bunlardan en doğal olanı güneş ışığı ve radyasyon kaynaklı bozunmadır ancak bu zaman alan bir süreçtir ve bu şekilde bir bozunma için 12-32 yıl gibi sürelerde beklemek gerekebilir. Her yıl tek kullanımlık plastik ürünlerin bir şekilde doğaya atıldığı göz önüne alınırsa bu yöntemle plastik atıklardan kurtulmayı beklemek hayalciliğin ötesine gitmeyen bir anlayış olarak karşımıza çıkacaktır. Ayrıca açık alanda depolanan plastik atıkların zamanla toprağa karıştığı ve bir şekilde güneşin radyasyon etkisinden kendini kurtardığı da hesaba katılmalıdır (Allassali et al., 2018). Dolayısıyla güneş radyasyonuna maruz kalmayan plastik atıklar bir şekilde toprakta birikmeye devam edecek ve zamanla yeraltı sularına karışacak, toprağın yarattığı basınç etkisiyle küçük parçalara ayrılacak ve mikro-nano boyutta plastik atıklarıyla baş etmek gibi daha ciddi bir sorunla karşı karşıya kalınmasına neden olacaktır.

Polietilenin ısı yoluyla veya yakarak bertarafı da çeşitli sorunları beraberinde getirmektedir. Özellikle termoliz yolu ile bertaraf sürecinde sisteme dışarıdan hatırı sayılır miktarda enerji verilmesi gerekmektedir (Grigore, 2017). Yakma yolu ile bertaraf yöntemi günümüzde plastiklerden kurtulmak için en çok kullanılan yöntemdir ve tek artısı bu atıklar yakılırken elde edilen enerjidir. Ancak bu yakma işlemi sonucu açığa çıkan dioksinler ($C_4H_8O_2$), karbon monoksit (CO), hidrojen sülfid (H_2S), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve furan (C_4H_4O) gibi gazlar oldukça toksiktir ve bertaraf tesislerinde özensiz yapılan işlemler sonucunda halk sağlığını tehdit edecek boyutta ciddi sağlık problemleri meydana gelebilir (Verma et al., 2016). Gazlaştırma yöntemi sonunda daha az toksik gazlar

oluşur ancak bunun yan ürünleri de katran ve koktur ve bu sefer de bunların bertarafı ile ilgili prosedürleri kullanmak zorunluluğu ortaya çıkmaktadır (Lopez et al., 2018).

Kimyasal yolla polietilen bertarafı ise oldukça pahalı ve zahmetli prosedürler gerektirmektedir. Bu yöntem kullanıldıktan sonra genellikle mum, gres yağı vb. ürünler elde edilmektedir ve neredeyse hiç toksik gaz açığa çıkmamaktadır. Ancak bu işlemlerin oldukça zahmetli ve pahalı olması yaygın kullanım potansiyelini engellemektedir (Lopez et al., 2018).

Polietilenin biyobozunumu ise oldukça karmaşık bir konudur. Polietilenin doğada kendiliğinden kolay kolay bozunmadığı ilk fark edildiğinde bunun nedenleri üzerinde durulmuş ve sentetik bir madde olmasının ve bu maddeyi biyolojik olarak bozunmaya uğratabilecek evrimsel adaptasyonların hiçbir canlıda olmadığı/olamayacağı hükmüne varılmıştır (Yuo et al., 2022). Bu anlamda bir süre sonra ekstramofillerin bu işte rol oynayabileceği fikri ortaya atılmış ve bazı bakterilerin ya da bakteri kokteyllerinin bu işin üstesinden geleceği varsayımı üzerinde durulmuştur. Ancak yapılan çalışmalarda çok az sayıda bakteri çeşidinin plastik yüzeye tutunma, orada çoğalma ve onu biyobozunuma uğratacak süreçlere sahip olduğu görülmüştür (Glaster, 2019). Ancak bazı omurgasız hayvanlar, özellikle böcekler üzerinde yapılan çalışmalar bunların bazı türlerinin plastik biyobozunumunda rol oynayabileceğini göstermiştir (Bombelli et al., 2017; Brandon et al., 2018; Kundungal et al., 2019, Peng et al., 2020). Özellikle *G. mellonella*, *T. molitor*, gibi böcekler larva evrelerinde tam bir beslenme çılgınlığı yaşamaktadırlar. Özellikle *G. mellonella* erginlerinde sindirim sistemi körelmiştir ve beslenme gözlenmez. Larva evresinde elde ettikleri besini böcek yağ dokusunda depolayıp ergin hale geçtikten sonra buradan elde ettikleri enerjiyi üreme süreçlerinde kullanırlar. Bu tür bir beslenme çılgınlığında bazen ne yediklerinin de pek önemi kalmaz. Birçok çalışmada *G. mellonella* larvalarının plastik parçalarını ağız aletleri yardımıyla çiğnedikleri ve özellikle ince plastik yüzeylerde küçük delikler açtıkları gözlenmiştir. Bunun üzerine araştırmalar derinleştirilmiş ve *G. mellonella* larvalarının plastikleri ve özellikle polietileni gerçekten sindirip sindirmedikleri sorusuna cevap aranmıştır (Bombelli et al., 2017). *G. mellonella* larvalarının polietileni gerçekten sindirip sindirmedikleri

sorusunun en kolay yanıtı polietilen monomer birimlerinin özellikle etilen-glikol molekülünün dışkılarında veya sindirim sitemlerinde olup olmadığını test etmektir. İlk soruya verilen cevap eğer olumlu ise bu kez başka bir soru ortaya çıkmaktadır. Buradaki gerçek sindirim hayvanın kendi enzimleri üzerinden mi gerçekleşmektedir yoksa bağırsak mikrobiotasındaki bir veya birden çok bakterinin karıştığı bir süreç sonunda mı sindirim olmaktadır. Bu süreçte daha önce yapılmış çalışmalardan elde edilmiş farklı sonuçlar göze çarpmaktadır. Örneğin *T. molitor* larvalarında polietilenin bağırsakta sindirildiği ve bu sindirimde bakterilerin hatırı sayılır rol oynadığını vurgulayan çalışmalar (Luo et al., 2021a) yanında antibiyotik kullanılarak mikrobiotanın baskılandığı durumlarda bile polietilen sindiriminin devam ettiğini (Yang et al., 2021; Li et al., 2020a) rapor eden çalışmalar da vardır. Örneğin *Zophobas atratus* larvalarında polietilen sindiriminin tamamıyla sindirim sitemindeki mikrobiotaya bağımlı olduğu konusunda neredeyse bu konu üzerine çalışan bütün araştırmacılar aynı fikirdedir (Peng et al., 2020; Luo et al., 2021a). Belki de bundan polietilen sindirimi tamamen ilgili böceğin bağırsağında bazen bağırsak mikrobiotasına bağımlı bazen den ondan tamamen bağımsız gerçekleşen, henüz aydınlatılamayan başka süreçlerin de dâhil olduğu, türe özgü karmaşık durumlar olduğu sonucunu çıkarmak mümkündür.

Çelişkili bir durum bu tezin de çalışma materyali olan *G. mellonella* larvaları üzerinde de görülmüştür. bazı çalışmalar polietilen sindiriminde bakterilerin de önemli rol oynadığını gösterirken, bazı araştırmacılar da sindirim olayının bakterilerle ilişkilendirecek sonuçlara ulaşmamışlardır (Kong et al., 2019; Peydaei et al., 2020). Bazı araştırmacılar ise *G. mellonella* larvalarında polietilen sindiriminin tükürük bezindeki bazı enzimlerin etkisi ile gerçekleştiğini vurgulamışlardır (Sanluis-Verdes et al., 2022).

Bütün bu verilerin ışığında yapılan bu tez çalışmasında ilginç sonuçlara ulaşılmıştır. *G. mellonella* larvalarında polietilen sindirimine ilişkin ilk çalışmalardan biri de Bombelli et al., tarafından 2017 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada *G. mellonella* larvalarının polietileni yedikleri görülmüş ancak sindirimine ilişkin tartışmalı sonuçlar ortaya atılmıştır. Tartışmalı durumlardan biri de bütün bir hayvanı homojenize ederek polietilen yüzey üzerine

uygulamalarıdır. Bütün hayvanın homojenize edilmesi hayvandaki yoğun fat body dokusunun ve ayrıca okside olduğu zaman oldukça yapışkan bir hal alan hemolenfin de polietilenle yüzleşmesine neden olur ve bunları temizleyerek net bir spektrum olmak zorlaşır. Ayrıca homojenat elde edilirken ortama proteaz inhibitörü eklenmemesi LDPE sindiriminde iş görebilecek olası diğer enzimlerin de zarar görmesine neden olmuş olabilir. Böylesi olumsuzlukları önlemek için bu tez çalışmasında hem inhibitörlerin kullanıldığı hem de kullanılmadığı deneme planları yapılmış ve sonuçlar ona göre değerlendirilmiştir. Sanluis-Verdes et al., 2022’de yaptığı bir çalışmada benzer bir denemeyi sadece hayvandan elde ettiği tükürük sıvısıyla yapmış ve burada oksidasyona neden olduğu düşünülen birkaç enzimi izole etmeyi başarmıştır. Ancak bu çalışmada da sindirimin bir bütün olduğu ve ağızda başlayıp bağırsakta son bulduğu göz ardı edilmiştir.

Bu tez çalışmasında ilk aşamada sadece tamponda homojenize edilen ve tükürük bezinde, bağırsakta ve tükürük bezi +bağırsak homojenatlarında tutulan örneklerde hiçbir şekilde etilen glikol varlığına işaret eden absorbanlara rastlanmamıştır. Aynı prosedür tampon ve proteaz inhibitörü karışımlarında homojenize edildikten sonra elde edilen homojenatların kullanıldığı örneklerde az da olsa etilen glikol varlığına işaret edecek absorbanlar alınmıştır. Buradan çıkarılan sonuç proteazların bir şekilde polietilen sindiriminde görev alan enzimleri de sindiriyor olabileceğidir. Ayrıca tükürük bezi homojenatı ile bağırsak homojenatının karışım halinde kullanılmasının da iyi bir fikir olmadığı elde edilen sonuçlarla görülmüştür.

Tezin ikinci aşamasında larvadaki sürekli sindirimi taklit edecek bir planlama yapılmış ve örneklerin önce tükürük bezi, sonra da bağırsak homojenatıyla muamele edilmesinin daha yerinde olacağına karar verilmiştir. İnhibitör kullanılmayan süreçte ilk denemenin aksine küçük de olsa etilen glikol varlığına işaret eden absorbanlar gözlenmiştir. Burada diğer deneme grubundan farklı olarak tek bir polietilen parçası önce tükürük bezi, sonra da bağırsak homojenatı ile yüzleştirilmiştir. Bu prosedür homojenzasyonda inhibitör kullanıldığında çok daha etkili olmuş ve birden fazla etilen glikol absorbanı elde edilerek polietilenin gerçekten sindirime uğradığına dair kuvvetli bir olasılık ortaya koymuştur.

Weber et al., 2017 yılında yaptıkları çalışmada Bombelli ve arkadaşlarının yine aynı yıl yaptıkları çalışmayı eleştirmiş ve total larva homojenatından kaynaklanabilecek kirliliklerin etilen glikol ile karıştırılabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu eleştiri ışığında bu tez çalışmasında olası kontaminasyonların test edilmesine karar verilmiş ve denatüre edilmiş homojenatlarla da aynı prosedürler bire bir tekrarlanmıştır. Buradan elde edilen absorbanslar neredeyse kontrol grubu ile aynı çıkmış ve uygulama süresinde herhangi bir bulaşmanın meydana gelmediği de ispatlanmıştır.

Sonuç olarak özellikle protez inhibitörlerinin kullanıldığı ve sindirimin devamlılığının da taklit edildiği süreçlerde daha başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu da bazı proteazların polietilenin sindiriminde iş görebilecek diğer enzimleri veya makromolekülleri etkisiz hale getirdiğini işaret etmektedir. Ancak bütün bu sonuçlar polietilen sindirmine dair kesin delil olarak değerlendirilebilir mi orası tartışılır. Yine de polietilenin biyobozunumunda model hayvan olarak *G. mellonella* larvalarının kullanımının çok önemli olduğu ve eğer bu problem çözülecekse buradan elde edilecek verilerin ileride çok büyük katkı sağlayacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdul Kader, A., Salem, A., Al-Omari, A., El-Gendy, Y., Al-Rashdi, A.,** 2021, Improve the structure and optical surface properties of LDPE by ion bombardment technique. *Opt. Mater.* 114, 110940
- Aksu, D., Diallo, M.M., Şahar, U., Uyaniker, T.A., Ozdemir, G.,** 2021, High expression of ring-hydroxylating dioxygenase genes ensure efficient degradation of p-toluate, phthalate, and terephthalate by *Comamonas testosteroni* strain 3a2, *Archives of Microbiology* 203, 4101–4112
- Alassali, A., Moon, H., Picuno, C., Meyer, R.S.A., Kuchta, K.,** 2018, Assessment of polyethylene degradation after aging through anaerobic digestion and composting. *Polym. Degrad. Stab.* 158, 14–25.
- Al-Salem, S., Chandrasekaran, S.R., Dutta, A., Sharma, B.K.,** 2021. Study of the fuel properties of extracted oils obtained from low and linear low density polyethylene pyrolysis. *Fuel* 304, 121396.
- Andrady, A.L.,** 2011. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62 (8), 1596–1605.
- Araújo, A.P.C., Vieira, J.E.A., Malafaia, G.,** 2020. Toxicity and trophic transfer of polyethylene microplastics from *Poecilia reticulata* to *Danio rerio*. *Sci. Total Environ.* 742, 140217
- Balzani, P., Galeotti, G., Scheggi, S., Masoni, A., Santini, G., Baracchi, D.,** 2022. Acute and chronic ingestion of polyethylene (PE) microplastics has mild effects on honey bee health and cognition. *Environ. Pollut.* 305, 119318
- Barboza, L.G.A., Cozar, A., Gimene, B.C.G., Barros, T.L., Kershaw, P.J., Guilhermino, L.,** 2019. Macroplastics pollution in the marine environment. *World seas: An environmental evaluation.* Elsevier,, pp. 305–328.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bombelli, P., Howe, C.J., Bertocchini, F.,** 2017. Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Curr. Biol.* 27 (8), R292–R293.
- Brandon, A.M., Gao, S.H., Tian, R., Ning, D., Yang, S.S., Zhou, J., Wu, W.M., Criddle, C. S.,** 2018. Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in *Mealworms* (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Environ. Sci. Technol.* 52 (11), 6526–6533.
- Canopoli, L., Fidalgo, B., Coulon, F., Wagland, S.T.,** 2018. Physico-chemical properties of excavated plastic from landfill mining and current recycling routes. *Waste Manag.* 76, 55–67.
- Cassone, B.J., Grove, H.C., Elebute, O., Villanueva, S.M., LeMoine, C.M.,** 2020, Role of the intestinal microbiome in low-density polyethylene degradation by caterpillar larvae of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Proceedings of the Royal Society B* 287(1922), 20200112.
- Celik, G., Kennedy, R.M., Hackler, R.A., Ferrandon, M., Tennakoon, A., Patnaik, S., LaPointe, A.M., Ammal, S.C., Heyden, A., Perras, F. r A., Pruski, M., Scott, S.L., Poepelmeier, K.R., Sadow, A.D., Delferro, M.,** 2019. Upcycling single-use polyethylene into high-quality liquid products (XXXX). *ACS Cent. Sci.* 5 (11), 1795–1803.
- Colpaert, R., Gr´ ez´eriat, L.P. d, Louzon, M., Vaufleury, A. d, Gimbert, F.,** 2022. Polyethylene microplastic toxicity to the terrestrial snail *Cantareus aspersus*: size matters. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (20), 29258–29267.
- Danso, D., Chow, J., Streit, W.R.,** 2019. Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 85 (19), e01095–19

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fairbrother, A., Hsueh, H.C., Kim, J.H., Jacobs, D., Perry, L., Goodwin, D., White, C., Watson, S., Sung, L.P.,** 2019. Temperature and light intensity effects on photodegradation of high-density polyethylene. *Polym. Degrad. Stab.* 165, 153–160.
- Fröblius, A.C., Kanost, M.R., Götz, P., and Vilcinskas, A.,** 2000, Isolation and Characterization of Novel Inducible Serine Protease Inhibitors from Larval Hemolymph of the Greater Wax Moth *Galleria melonella*., *European Journal of Biochemistry*, 267 (7): 2046-2053
- Gangadoo, S., Owen, S., Rajapaksha, P., Plaisted, K., Cheeseman, S., Haddara, H., Truong, V.K., Ngo, S.T., Vu, V.V., Cozzolino, D.,** 2020. Nano-plastics and their analytical characterisation and fate in the marine environment: From source to sea. *Sci. Total Environ.* 732, 138792
- Glaster, J.A.,** 2019. Biological Degradation of Polymers in the Environment. *IntechOpen*, London, UK.
- Green, D.S.,** 2016. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environ. Pollut.* 216, 95–103.
- Green, D.S., Boots, B., Sigwart, J., Jiang, S., Rocha, C.,** 2016. Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling. *Environ. Pollut.* 208, 426–434.
- Grigore, M.E.,** 2017. Methods of recycling, properties and applications of recycled thermoplastic polymers (4). *Recycling 2* (4), 24.
- Haider, T.P., Volker, C., Kramm, J., Landfester, K., Wurm, F.R.,** 2019. Plastics of the future? The impact of biodegradable polymers on the environment and on society. *Angew. Chem. Int. Ed.* 58 (1), 50–62.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Heidenreich, S., Foscolo, P.U.,** 2015. New concepts in biomass gasification. *Prog. Energy Combust. Sci.* 46, 72–95
- Hou, J., Xu, X., Yu, H., Xi, B., Tan, W.,** 2021. Comparing the long-term responses of soil microbial structures and diversities to polyethylene microplastics in different aggregate fractions. *Environ. Int.* 149, 106398
- Hüffer, T., Metzelder F., Sigmund G., Slavek S., Schmidt T.S., Hofmann T.,** 2019. Polyethylene microplastics influence the transport of organic contaminants in soil. *Science of The Total Environment.* 657, 242-247
- Ibrahim, S., Gupta, R.K., War, A.R., Hussain, B., Kumar, A.,** 2021. Degradation of chlorpyrifos and polyethylene by endosymbiotic bacteria from citrus mealybug. *Saudi J. Biol. Sci.* 28 (6), 3214–3224.
- Iskander, S.M., Brazil, B., Novak, J.T., He, Z.,** 2016. Resource recovery from landfill leachate using bioelectrochemical systems: opportunities, challenges, and perspectives. *Bioresour. Technol.* 201, 347–354.
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L.,** 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347 (6223), 768–771.
- Ju, H., Zhu, D., Qiao, M.,** 2019. Effects of polyethylene microplastics on the gut microbial community, reproduction and avoidance behaviors of the soil springtail, *Folsomia candida*. *Environ. Pollut.* 247, 890–897.
- Jung, J.W., Kang, J.S., Choi, J., Park, J.W.,** 2020. Chronic toxicity of endocrine disrupting chemicals used in plastic products in Korean resident species: Implications for aquatic ecological risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 192, 110309

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim, S.W., An, Y.-J.,** 2020. Edible size of polyethylene microplastics and their effects on springtail behavior. *Environ. Pollut.* 266, 115255
- Kong, H.G., Kim, H.H., Chung, J.-h, Jun, J., Lee, S., Kim, H.-M., Jeon, S., Park, S.G., Bhak, J., Ryu, C.-M.,** 2019. The *Galleria mellonella* hologenome supports microbiota-independent metabolism of long-chain hydrocarbon beeswax. *e5 Cell Rep.* 26 (9), 2451–2464.
- Koriem, A., Ollick, A.M., Elhadary, M.,** 2021. The effect of artificial weathering and hardening on mechanical properties of HDPE with and without UV stabilizers. *AEJ - Alex. Eng. J.* 60 (4), 4167–4175.
- Kundungal, H., Gangarapu, M., Sarangapani, S., Patchaiyappan, A., Devipriya, S.P.,** 2019. Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26 (18), 18509–18519.
- Lahive, E., Walton, A., Horton, A.A., Spurgeon, D.J., Svendsen, C.,** 2019. Microplastic particles reduce reproduction in the terrestrial worm *Enchytraeus crypticus* in a soil exposure. *Environ. Pollut.* 255, 113174
- Lammii, H., Abdelaziz, M.N., Ayoub, G., Colin, X., Maschke, U.,** 2021. Experimental investigation and modeling attempt on the effects of ultraviolet aging on the fatigue behavior of an LDPE semi-crystalline polymer. *Int. J. Fatigue* 142, 105952.
- Laskar, N., Kumar, U.,** 2019. Plastics and microplastics: A threat to environment. *Environ. Technol. Innov.* 14, 100352

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, F., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., Hajbane, S., Cunsolo, S., Schwarz, A., Levivier, A., Noble, K., Debeljak, P., Maral, H., Schoeneich-Argent, R., Brambini, R., & Reisser, J.** (2018). Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific reports*, 8(1), 4666.
- Li, W.C., Tse, H., Fok, L.**, 2016. Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Sci. Total Environ.* 566, 333–349.
- Li, D., Zhou, L., Wang, X., He, L., Yang, X.**, 2019. Effect of crystallinity of polyethylene with different densities on breakdown strength and conductance property. *Materials* 12 (11), 1746.
- Li, Y., Jie, G., Liu, Y., Zhuang, G., Peng, X., Wu, W.M., Zhuang, X.L.**, 2020. Biodegradation of expanded polystyrene and low-density polyethylene foams in larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae): Broad versus limited extent depolymerization and microbe-dependence versus independence. *Chemosphere* 262, 127818.
- Li, M., Liu, Y., Xu, G., Wang, Y., Yu, Y.**, 2021. Impacts of polyethylene microplastics on bioavailability and toxicity of metals in soil. *Sci. Total Environ.* 760, 144037
- Liu, K., Wang, X., Wei, N., Song, Z., Li, D.**, 2019. Accurate quantification and transport estimation of suspended atmospheric microplastics in megacities: Implications for human health. *Environ. Int.* 132
- Lopez, G., Artetxe, M., Amutio, M., Alvarez, J., Bilbao, J., Olazar, M.**, 2018. Recent advances in the gasification of waste plastics. A critical overview. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 82 1 (pt.), 576–596.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Luo, L., Wang, Y., Guo, H., Yang, Y., Qi, N., Zhao, X., Gao, S., Zhou, A.,** 2021a. Biodegradation of foam plastics by *Zophobas atratus* larvae (Coleoptera: *Tenebrionidae*) associated with changes of gut digestive enzymes activities and microbiome. *Chemosphere* 282, 131006.
- Lwanga, E.H., Vega, J.M., Quej, V.K., de los Angeles Chi, J., Del Cid, L.S., Chi, C., Segura, G.E., Gertsen, H., Sal' anki, T., van der Ploeg, M.,** 2017. Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain. *Sci. Rep.* 7 (1), 1–7.
- Mak, C.W., Yeung, K.C.-F., Chan, K.M.,** 2019. Acute toxic effects of polyethylene microplastic on adult zebrafish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 182, 109442
- Makarichi, L., Jutidamrongphan, W., Techato, K.A.,** 2018. The evolution of waste-to-energy incineration: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 91 (aug.), 812–821.
- Makhlouf, A., Satha, H., Frihi, D., Gherib, S., Seguela, R.,** 2016. Optimization of the crystallinity of polypropylene/submicronic-talc composites: The role of filler ratio and cooling rate. *Express Polym. Lett.* 10 (3), 237–247.
- Marston, N., Campbell, B., and Boldt, P.E.,** 1975, Mass Producing Eggs of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L., *U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin* 1510.
- Niaounakis, M.,** 2017. Management of Marine Plastic Debris. William Andrew.
- Ory, N.C., Sobral, P., Ferreira, J.L., Thiel, M.,** 2017. Amberstripe scad *Decapterus muroadsi* (Carangidae) fish ingest blue microplastics resembling their copepod prey along the coast of Rapa Nui (Easter Island) in the South Pacific subtropical gyre. *Sci. Total Environ.* 586, 430–437.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Paul-Pont, I., Lacroix, C., Fernandez, C.G., Hégaret, H., Lambert, C., Goïc, N., Frère, L., Cassone, A.-L., Sussarellu, R., Fabioux, C., Guyomarch, J., Albentosa, M., Huvet, A., Soudant, P., 2016.** Exposure of marine mussels *Mytilus spp.* to polystyrene microplastics: toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation. *Environ. Pollut.* 216, 724–737.
- Peng, B.Y., Li, Y., Fan, R., Chen, Z., Wu, W.M., 2020.** Biodegradation of low-density polyethylene and polystyrene in superworms, larvae of *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae): Broad and limited extent depolymerization. *Environ. Pollut.* 266 (Pt 1), 115206
- Peydaei, A., Bagheri, H., Gurevich, L., Jonge, N.D., Nielsen, J.L., 2020.** Impact of polyethylene on salivary glands proteome in *Galleria melonella*. *Comp. Biochem. Physiol. Part D. Genom. Proteom.* 34, 100678
- Pirsaheb, M., Hossini, H., Makhdoumi, P., 2020.** Review of microplastic occurrence and toxicological effects in marine environment: Experimental evidence of inflammation. *Process Saf. Environ. Prot.* 142, 1–14.
- Plasticseurope, “Plastics – the fast Facts 2023”,**
<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/>,
 (Erişim tarihi 26.02.2024)
- Przemieniecki, S.W., Kosewska, A., Ciesielski, S. a, Kosewska, O., 2020.** Changes in the gut microbiome and enzymatic profile of *Tenebrio molitor* larvae biodegrading cellulose, polyethylene and polystyrene waste. *Environ. Pollut.* 256, 113265
- Ray, S., Cooney, R.P., 2018.** Thermal degradation of polymer and polymer composites. *Handbook of environmental degradation of materials.* Elsevier,, pp. 185–206.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ritchie, H., Roser, M.,** 2018, Plastic pollution. Our World in Data. <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>
- Sanluis-Verdes, A., Colomer-Vidal, P., Rodriguez-Ventura, F., Bello-Villarino, M., Spinola-Amilibia, M., Ruiz-Lopez, E., Illanes-Vicioso, R., Castroviejo, P., Aiese Cigliano, R., Montoya, M., Falabella, P., Pesquera, C., Gonzalez-Legarreta, L., Arias-Palomo, E., Solà, M., Torroba, T., Arias, C. F., & Bertocchini, F.** 2022. Wax worm saliva and the enzymes therein are the key to polyethylene degradation by *Galleria mellonella*. *Nature communications*, 13(1), 5568.
- Sharuddin, S., Abnisa, F., Daud, W., Aroua, M.K.,** 2016. A review on pyrolysis of plastic wastes. *Energy Convers. Manag.* 115 (May), 308–326.
- Silva, C.J., Silva, A.L.P., DianaCampos, Soares, A.M., Pestana, J.L., Gravato, C.,** 2021. *Lumbriculus variegatus* (oligochaeta) exposed to polyethylene microplastics: biochemical, physiological and reproductive responses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 207, 111375
- Sogancioglu, M., Yel, E., Ahmetli, G.,** 2017. Pyrolysis of waste high density polyethylene (HDPE) and low density polyethylene (LDPE) plastics and production of epoxy composites with their pyrolysis chars. *J. Clean. Prod.* 165, 369–381
- Tanaka, K., Takada, H.,** 2016. Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters. *Sci. Rep.* 6 (1), 1–8.
- Tennakoon, A., Wu, X., Paterson, A.L., Patnaik, S., Pei, Y., LaPointe, A.M., Ammal, S.C., Hackler, R.A., Heyden, A., Slowing, I.I., Coates, G.W., Delferro, M., Peters, B., Huang, W., Sadow, A.D., Perras, F.A.,** 2020. Catalytic upcycling of high-density polyethylene via a processive mechanism. *Nat. Catal.* 3 (11), 1–9.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Verma, R., Vinoda, K.S., Papireddy, M., Gowda, A.,** 2016. Toxic pollutants from plastic waste- a review. *Procedia Environ. Sci.* 35, 701–708.
- Weber, C., Pusch, S., Opatz, T.,** 2017. Polyethylene bio-degradation by caterpillars? 27 (15) R744-R745
- Yang, J., Yang, Y., Wu, W.M., Zhao, J., Jiang, L.,** 2014. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. *Environ. Sci. Technol.* 48 (23), 13776–13784.
- Yang, S.-S., Ding, M.-Q., Zhang, Z.-R., Ding, J., Bai, S.-W., Cao, G.-L., Zhao, L., Pang, J.- W., Xing, D.-F., Ren, N.-Q.,** 2021. Confirmation of biodegradation of low-density polyethylene in dark-versus yellow-mealworms (larvae of *Tenebrio obscurus* versus *Tenebrio molitor*) via. gut microbe-independent depolymerization. *Sci. Total Environ.* 789, 147915
- Yao, Z., Seong, H. J., & Jang, Y. S.,** 2022. Environmental toxicity and decomposition of polyethylene. *Ecotoxicology and environmental safety*, 242, 113933.
- Zhang, F., Zeng, M., Yappert, R.D., Sun, J., Lee, Y.-H., Lapointe, A.M., Peters, B., AbuOmar, M.M., scott, S.L.,** 2020. Polyethylene upcycling to long-chain alkylaromatics by tandem hydrogenolysis/aromatization. **Science** 370, 437–441.

TEŞEKKÜR

İnsan belli bir yaştan sonra kariyerinde bazen yeni maceralar arar. Çok gençken yaptığı şeyleri olgun yaşında yeniden yapmak isteği uyanır ansızın. Burada da tam böyle oldu aslında. Yapar mısın? Yaparım dedim. Ancak bu konuda beni yüreklendiren, dahası teşvik eden arkadaşlarım ve dostlarıma da teşekkür etmeden geçemem elbette. Bu konuda beni teşvik eden **Doç. Dr. Savaş İZZETOĞLU**'na, teşvik etmekle kalmayıp danışmanlığımı da yaparak huysuzluklarıma katlanan **Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU**'na, tez süresince rutin işlerde yükün bir kısmını omuzlayarak bana zaman ve alan yaratan çalışma ve kader arkadaşım **Dr. Hüseyin ÖZAYDIN**'a, tez süresince pek anlamadığım konularda bana yol gösteren HPLC analizlerinde yardımcı olan **Öğr. Gör. Dr. Umut ŞAHAR**'a, FTIR analizlerinin yapan **Doç. Dr. Serpil DENİZALTI**'na içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

EĞİTİM

Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı (**Doktora**)

Eylül 2000-Ağustos 2007

Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı (**Yüksek Lisans**)

Eylül 1996-Eylül 2000

Ege Üniversitesi İzmir, Türkiye

Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı (**Lisans**)

Eylül 1989-Haziran 1996

Doktora Tezi :“*Galleria mellonella* (Lepidoptera)’da Bileşik Göz Ommatidyumlarında İnce Yapının, Hücre Farklılaşmasının ve Sialik Asitlerin Belirlenmesi”

(Danışman: Prof.Dr. Sabire KARAÇALI)

Yüksek Lisans Tezi : “*Culex pipiens* (Diptera:Culicidae)’in Son Evre Larvalarında Orta Barsak ve Peritrofik Matriksin Yapısı ve Glikozaminoglikanları ile *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*’in Orta Barsak ve Larval Ölüm Üzerine Etkileri ”

(Danışman: Doç.Dr. Önder DEVECİ)

YAYINLAR:**A- MAKALELER**

1. Zülfikaroğlu T., İzzetoğlu G. T., Yıkılmaz M. S., İzzetoğlu S., 2023, "Histochemical and ultrastructural analysis of macromolecules in trophocytes of the Oriental cockroach, *Blatta orientalis* (L., 1758) (Blattodea: Blattidae)" Turkish Journal of Entomology 47(1):87-100
2. Pak A., İzzetoğlu G. T., Yıkılmaz M. S., İzzetoğlu S., 2022, "Histochemical and Ultramorphological Visualization for Storage Molecules in Trophocytes at Postembryonic Developmental Stages of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)" Tissue and Cell 77(1): 101823
3. İzzetoğlu S., Yıkılmaz M. S., İzzetoğlu G. T., 2022, "Ultrastructural characterization of hemocytes in the oriental cockroach *Blatta orientalis* (Blattodea: Blattidae)" Zoomorphology 141:95–100
4. Zülfikaroğlu T., İzzetoğlu G. T., Yıkılmaz M. S., İzzetoğlu S., 2021, "Demonstrating the general structure and cell types of the fat body in *Blatta orientalis* (Oriental Cockroach)" Anat. Histol. Embryol. 51:23-35
5. Türkoğlu G. C., Saruışık A. M., Erkan G., Yıkılmaz M. S., Kontart O. (2020) "Micro-and nano-encapsulation of limonene and permethrin for mosquito repellent finishing of cotton textiles." Iranian Polymer Journal 29:321–329
6. Guntay O., Yikilmaz M.S., Ozaydin H, Izzetoglu S., and Suner A. (2018) "Evaluation of Pyrethroid Susceptibility in *Culex pipiens* of Northern Izmir Province, Turkey." J. Arthropod-Borne Dis, December 2018, 12(4): 370–377
7. Can H., Soya S, and Yıkılmaz M.S. (2017) "Primary Culture of Lepidopteran Adherent and Suspension Cells from Larval Testes of *Bombyx mori*." Hacettepe J. Biol. & Chem., 2017, 45 (2), 213-218
8. Soya S, Şahar U, Yıkılmaz M.S., Karaçalı S. (2017) "Determination of sialic acids in the nervous system of silkworm (*Bombyx mori* L.): Effects of aging and development." Arch Biol Sci.;69(2):369-78.
9. Soya S., Can H., and Yıkılmaz M. S., (2015), "Primary Insect Cell Culture From Total Embryo And Embryonic Brain Tissue Of *Periplaneta americana*: A Preliminary Study." Arch. Biol Sci., Belgrade., 67 (4): 1203-1208

10. Afrashi F., Karatepe H. A. S., Shahbazov C., A. M., Yikilmaz M. S., Deveci R., Karacali S., and Sahar U., (2015), "Reliability of Intravitreal Nepafenac in Rabbits." *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics.* 31(1): 43-50.
11. Yikilmaz, M.S., Deveci Ö., (2004), "Structure of Midgut and Peritrophic Matrix in the Last Instar Larvae of *Culex Pipiens* (Diptera: Culicidae)." *G.U.J. Science*, 17 (2): 9-19

B- BİLDİRİLER:

Uluslararası Bildiriler:

1. Guntay O., Yikilmaz M.S., Izzetoglu S., "Intense Pyrethroid Use in Adult Mosquito Control: Possible Effects on Resistance Development and Environment" *Ecology and Evolutionary Biology Symposium*, 18-20 July 2018, İzmir-TURKEY
2. Gülmez M., İzzetoğlu G. T., Yikilmaz M. S. "Demonstration of Fat Body Cells in *Culex pipiens* Using Different Histochemical Techniques" 4th INTERNATIONAL CONGRESS ON APPLIED BIOLOGICAL SCIENCES (ICABS) 03-05 May, 2018 Anadolu Üniversitesi-Eskişehir
3. Özdemir G., Yikilmaz M. S., Menfaatli E., Diallo M. M., Özyaydın H. "Konya ve Şanlıurfa İllerinde Ev Sineği ve Sivrisineklerin Piretroitler ve Neonikotinoitlere Karşı Geliştirdikleri Moleküler ve Biyokimyasal Direncin Belirlenmesi" IV. Uluslararası Biyosidal Kongresi, 25-29 Mart 2018 Antalya-Türkiye, Kongre Kitapçığı Sf. 53-54
4. Türkoğlu G.C., Sarıışık A.M., Erkan G., Deveci Ö., Yikilmaz M., Kontart O., Öztuna S. "Durable Insect Repellent Behaviour of Cotton Fabric by Permethrin Capsules" 1ST International Conference on Natural Fibers-Sustainable Materials for Advanced Applications, 9-11 June 2013, Guimaraes-Portugal, Abstract book p. 89.
5. S. Karaçalı, R. Deveci, S. İzzetoğlu, M.S. Yikilmaz, U. Şahar, Ö. Deveci, Microscopic And Analytic Determination Of Sialic Acid Modifications During Aeging Process In Prothoracic Glands Of *Galleria Mellonella* (L.).

Kırgızistan 1. Uluslararası Biyoloji Kongresi, Bişkek-Kırgızistan, 24-27 Eylül 2012 (Sözlü Bildiri)

6. S Karaçalı, R Deveci, S İzzetoğlu, M.S. Yıkılmaz, U Şahar, Ö Deveci, S Soya, “Determination of Sialic Acid in Prothoracic Glands and Hemolymph of *Galleria mellonella* During Aging Process” SialoGlyco, Potsdam, Germany, August 21-26, 2010
7. S. Karaçalı, R. Deveci, S. İzzetoğlu, M.S. Yıkılmaz, U. Şahar, Ö. Deveci “Linkages, Modifications And Concentrations Of Sialic Acid In Ageing Process” International Cell Death Society Symposium, Kemer, Antalya, Turkey, May 28th-31st, 2010,
8. Peker G.O., Yikilmaz M.S., Dağcı R., Deveci R. ve Karaçalı S., “Glial Surface Glycoconjugate Anionic Regions Disappaer Significantly by Tunicamysin in Culture.”, 4. Forum of European Neuroscience, Abstract A223-4, published in FENS Forum Abstracts , vol.2, Portugal 2004.

Ulusal Bildiriler

1. Yıkılmaz M. S., Güntay O., Suner A., Atahan T. “Sivrisineklerde (*Culex pipiens*) Fat Body Miktarının Beslenmeye Bağlı Olarak Değişmesi ve Bunun Yumurta Verimi Üzerine Etkisi” 24. Ulusal Biyoloji kongresi. Bildiri Özetleri kitabı SB 26. Sf. 27, 10-14 Eylül 2018.Manisa-Türkiye
2. Can, H. ve Yıkılmaz, M.S., “Amerikan Hamamböceği (*Periplaneta americana*) Embriyonik Sinir Hücrelerinin Primer Kültürü” Poster bildiri, 22.Ulusal Biyoloji Kongresi 23- 27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye. Özet kitabı Sf. 1247. 2014
3. Atabak Naghavi, Umut Sahar, Remziye Deveci, Sabire Karaçalı, M. Salih Yıkılmaz, “Yaşlanan Model Organizma *Galleria mellonella* (Lepidoptera)'da Gangliosit GD3 Belirlenmesi”, 2. Ulusal Glikobiyoloji Kongresi, SB10: sayfa 26, 11-14 Haziran 2013, İzmir, Türkiye
4. Seçkin Soya, Umut Şahar, M.Salih Yıkılmaz, Sabire Karaçalı, “İpekböceği (*Bombyx mori* L.)'nin Gelişen Sinir Sistemindeki Monosakkarit Değişimlerinin CapLC-ESI-MS/MS İle Belirlenmesi”, 2. Ulusal Glikobiyoloji Kongresi, SB11: sayfa 27, 11-14 Haziran 2013, İzmir, Türkiye

5. Seçkin SOYA, M.Salih YIKILMAZ, Remziye DEVECİ, Sabire KARAÇALI, İpek Böceği (*Bombyx mori* L.) Beyninde Sialik Asit, GalNAc ve GlcNAc Değişikliklerinin Yaşlanma Sürecinde Floresan Mikroskopla Belirlenmesi, II. Ulusal Glikobiyoloji Kongresi, 11-14 Haziran 2013, Çeşme, İzmir (Poster Bildiri)
6. Türkoğlu G.C., Sarıışık A.M., Erkan G., Deveci Ö., Yıkılmaz M.S., Kontart O., Öztuna S. “Limonen Kapsül İçeren Tekstiller ve Böcek Kovucu Davranışları” Ulusal ve 1. Uluslararası Tekstil Teknolojisi ve Kimyasındaki Son Gelişmeler Sempozyumu-Yenilikler ve Uygulanabilir Teknikler., 8-10 Mayıs 2013, Bursa-Türkiye
7. Karaçalı, S., R. Deveci, İzzetoğlu, S., Yıkılmaz, M.S., Şahar, U., Deveci, Ö. “Yaşlanma Sürecinde Sialik Asitlerin ve 9-O-Asetil GD3’ün Belirlenmesi”, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012.
8. S. Karaçalı, R. Deveci, S. İzzetoglu, M. S. Yıkılmaz, U. Şahar, Ö. Deveci, “Yaşlanma Sürecinde Sialik Asitlerin ve 9-O-Asetil Gd3’ün TEM ve LC-MS/MS ile Belirlenmesi” 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Uluslararası Katılımlı) Antalya-Kemer, 25-28 Ekim 2011
9. S. Karaçalı, R. Deveci, S. İzzetoğlu, M.S. Yıkılmaz, U. Şahar, Ö. Deveci, “Yaşlanma Sürecinde Sialik Asitlerin ve 9-O-Acetyl GD3’ün Belirlenmesi” 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, S: 1030-1031, 21-25 Haziran 2010, Denizli, Türkiye
10. Balcan E., R. Deveci, N. Keskin, M.S. Yıkılmaz, B. Sarıbek. “Tunicamisin Uygulanmış Fare Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Değişiklikler”, 18. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, s 157, 2007.
11. Deveci R., Karaçalı, S., Deveci Ö, Yıkılmaz M.S. “Nukleus ve Sitoplazmadaki Sialik Asidin Lektinlerle İşaretlenmesi.” 17.Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, Kocaeli, 22-24 Haziran 2005.
12. Yıkılmaz M.S., Dagcı R., Deveci R., Peker G.O., ve Karaçalı S., “Glial surface glycoconjugate anionic regions disappear significantly by tunicamycin in culture.” 3. Ulusal Sinir Bilimler Kongresi, Neuroanatomy, vol 3, Supp.1, page 27, Denizli 2004.
13. Yıkılmaz M.S., T. Dağci, R. Deveci, G. Peker ve S. Karaçalı. “P58 Gliya Kültüründe Tunicamycin Uygulamasının, Astrosit Membran Yüzeyindeki

- Glikokonjüгат Anyonik Bölgelere Etkisi”. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, 29. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Sayfa 131., (2003)
14. Yıkılmaz M.S., T. Dağci, R. Deveci, G. Peker ve S. Karaçali. “N-Bağlı Glikozilasyonu Tunikamisine Engellenmiş Glia Hücrelerinde Yüzey Anyonik Yerlerin Değişimi”. Birinci Ulusal Glikobiyoloji Kongresi (Temel ve Uygulamalı Alanlarda Uluslararası Katılımlı), Sayfa 72., (2003)
 15. Yıkılmaz M.S., Deveci Ö., “Culex pipiens (Diptera:Culicidae)’in Son evre Larvalarında Orta Barsak Hücreleri ve Peritrofik Matriksdeki Glikozaminoglikan İçeriğinin Histokimyasal Olarak Gösterilmesi.” Birinci Ulusal Glikobiyoloji Kongresi Sayfa 76, Ege Üniversitesi, İzmir, 2003.
 16. Ergüder S., Bıçakcı N., Yıkılmaz M.S., “Siklosporin-A Kullanımına Bağlı Hiperplazilerde Dişeti Glikoaminoglikanlarının Belirlenmesi.” Birinci Ulusal Glikobiyoloji Kongresi Sayfa 76, Ege Üniversitesi, İzmir, 2003.

PROJELER:

1. Sağlık Bakanlığı Direnç Projesi, 2017-2018, “Konya ve şanlıurfa illerinde karasinek (Ev Sineği) ve sivrisineklerin insektisitlere karşı geliştirdiği direnç haritasının oluşturulması” projesi kapsamında Konya ve şanlıurfa illerinden toplanarak biyolojik etkinlik testleri yapılan örneklerin biyokimyasal ve moleküler genetik çalışmaları” laboratuvarımız tarafından yerine getirilmiştir.
2. Tübitak Projesi: “Embriyoda Cinsiyetin Belirlendiği Süreçte Antimüller Hormonda Sialik Asit Değişiklikleri ile Müller Kanalında Apoptozis İlişkisinin Araştırılması” (Araştırmacı) 2007-2010
3. DPT Projesi: “Doğal Genç-Yaşlı ve Deneysel yaşlandırılmış-Gençleştirilmiş Böcek Model Sisteminde Hücre ve Organizma Düzeyinde Yaşlanmanın Moleküler Mekanizması”. (06-DPT-003, Yardımcı Araştırmacı) 2006-2010
4. E.Ü. Araştırma Fon Projesi. “Böcek Sinir Sisteminde Hücre Farklılaşmasında Sialik Asit Tiplerinin Belirlenmesi”. (2006 Fen 023-Yürütücü) 2006-2009
5. EBİLTEM Projesi, Lektinlerle İşaretleme Yöntemiyle Sialik Asidin Elektron Mikroskopunda Gösterilmesi, (2002 BİL 022-Yardımcı Araştırıcı) 2002-2004.

6. E.Ü. Araştırma Fon Projesi. “Culex pipiens (Diptera:Culicidae)’in Son Evre Larvalarında Orta Barsak ve Peritrofik Matriksin Yapısı ve Glikozaminoglikanları ile Bacillus thuringiensis var. israelensis’in Orta Barsak ve Larval Ölüm Üzerine Etkileri ” (98 Fen 039-Yürütücü) 1998-2000

KATILDIĞI KURSLAR:

1. Aminoasit Analizi Teori ve Uygulamaları Eğitim Kursu. 23-24 Aralık 1999, İzmir.
2. UV-VIS Spektroskopisi Teori ve Uygulamaları Eğitim Kursu. 27 Ocak 2000, İzmir.
3. Kromatografide son gelişmeler Eğitim Semineri. 04 Mayıs 2006, İzmir.

DİĞER FAALİYETLER:

Sağlık Bakanlığı’nın verdiği yetki uyarınca E.Ü. Fen Fak. Biyoloji Bölümü’nde yapılan “İnsektisitlerin Biyolojik Etkinlik ve Doz Tespit Denemeleri” nin açık ve kapalı alan uygulamalarında 2000 yılından beri çalışmaktadır.