

**NİŞASTA-BAZLI BİYOPLASTİK ATIKLARININ
KAHVERENGİ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUS *Gloephyllum
trabeum* İLE BİYOLOJİK PARÇALANABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

EZGİ BEZİRHAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
ARALIK – 2012**

**NİŞASTA-BAZLI BİYOPLASTİK ATIKLARININ
KAHVERENGİ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUS *Gloephyllum
trabeum* İLE BİYOLOJİK PARÇALANABİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

EZGİ BEZİRHAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. H. Duygu ÖZSOY**

**MERSİN
ARALIK - 2012**

Ezgi BEZİRHAN tarafından Yrd. Doç. Dr. H. Duygu ÖZSOY danışmanlığında ve Doç. Dr. M. Ali MAZMANCI eş danışmanlığında hazırlanan “Nişasta-Bazlı Biyoplastik Atıklarının Kahverengi Çürükçül Fungus *Gloephyllum trabeum* ile Biyolojik Parçalanabilirliğinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil KUMBUR

Prof. Dr. Mesut BAŞIBÜYÜK

Yrd. Doç. Dr. H. Duygu ÖZSOY

İmza



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08/01/2013 tarih ve 2013.1/8 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

NİŞASTA-BAZLI BİYOPLASTİK ATIKLARININ KAHVERENGİ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUS *Gloephyllum trabeum* İLE BİYOLOJİK PARÇALANABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Ezgi BEZİRHAN

ÖZ

Bu çalışmada, nişasta bazlı biyoplastik atıkların kahverengi çürükçül fungus *Gloephyllum trabeum* ile biyolojik olarak parçalanabilirliği araştırılmıştır. İnkübasyon süresince numunelerin indirgen şeker düzeyleri dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemiyle belirlenmiştir. Nişasta bazlı biyoplastiklerin biyolojik olarak parçalanması sonucunda elde edilen şeker türleri HPLC analizleri ile saptanmıştır. Biyolojik parçalanma sonucunda ortaya çıkan son ürünlerin belirlenmesi amacı ile GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir. DNS metodu ile gerçekleştirilen şeker analizleri, fermantasyon ortamlarına ait indirgen şeker düzeylerinin; fungusların nişasta bazlı biyoplastikleri parçalamaları sonucu artma, parçalanma sonucu ortaya çıkan şekerlerin funguslar tarafından kullanılması sonucunda ise azalma eğilimine sahip olduğunu göstermektedir. HPLC analizlerine ait sonuçlar, nişasta bazlı biyoplastiklerin yapısında bulunan polisakkaritlerin; mannoz, arabinoz, glikoz, galaktoz ve fruktoz gibi monomerlerine indirgendiğini göstermiştir. GC-MS analizleri ile tanımlanan bazı kimyasal maddelerin miktarlarında zamana bağlı meydana gelen azalmalar, bu parçalanma ürünlerinin *G. trabeum* tarafından kullanıldığına işaret etmektedir.

Deneysel çalışmalar kahverengi çürükçül fungus *G. trabeum*'un nişasta bazlı biyoplastik atıkları parçalayabildiğini ve parçalama sonucunda şeker gibi monomerlerin oluştuğunu göstermiştir. Oluşan bu parçalanma ürünlerinin uygun koşullar altında biyoetanol eldesi, tek hücre proteini üretimi gibi farklı amaçlarla kullanılması mümkün görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik Parçalanabilirlik, *Gloephyllum trabeum*, Nişasta Bazlı Biyoplastikler, Kahverengi Çürükçül Fungus.

Danışman: Yrd. Doç. H. Duygu ÖZSOY, Mersin Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Eş Danışman: Doç. Dr. M. Ali MAZMANCI, Mersin Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı

INVESTIGATION ON BIODEGRADATION OF STARCH-BASED BIOPLASTIC WASTES BY THE BROWN ROT FUNGUS *Gloephyllum trabeum*

Ezgi BEZİRHAN

ABSTRACT

In this study, biodegradation of starch-based bioplastic wastes by brown rot fungus *Gloephyllum trabeum* was investigated. The total reducing sugar levels of samples was determined by the dinitrosalicylic acid (DNS) method. Type of sugars, obtained from biodegradation of starch-based bioplastics, was determined by HPLC. End products of the biodegradation process were identified by GC-MS analyses. Results of DNS method sugar analyses showed that reducing sugar level of the solid phase fermentation media had a trend of increasing with fungal attack to starch-based bioplastics and decreasing with utilization of these sugars by fungi. HPLC analysis results showed that polysaccharides in the structure of starch-based bioplastics were separated monomers such as mannose, arabinose, glucose, galactose and fructose during the biodegradation period. Time dependent changes of some chemical substances obtained from GC-MS analysis as a end-product of biodegradation of bioplastics indicated that these products has been used by *G. trabeum* during the incubation period.

Experimental results showed that the brown rot fungus *Gloephyllum trabeum* had an ability to biodegrade starch based bioplastics wastes and produced some monomers such as sugars. It might be possible to use these monomers for different purposes like bioethanol production, single cell protein production etc. at the suitable conditions.

Key Words: Biodegradation, *Gloephyllum trabeum*, Starch-Based Bioplastics, Brown Rot Fungi.

Advisor: Assist. Prof. Dr. H. Duygu ÖZSOY, Department of Environmental Engineering, University of Mersin

Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. M. Ali MAZMANCI, Department of Environmental Engineering, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca maddi ve manevi her konuda hiçbir desteğini esirgemeyen, fikirleri, çabaları ve sunduğu tüm imkanları ile hem yetişmemde hem de bu tezin planlanmasında ve gerçekleştirilmesinde büyük emeği olan tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. H. Duygu ÖZSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim sırasında Iowa State University 'de çalışma imkanı sunan değerli tez danışmanıma ve Amerika'daki çalışmalarım boyunca maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan Prof. Dr. Hans van Leeuwen ve eşi Marina van Leeuwen'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım boyunca yardım ve önerilerini hiçbir zaman esirgemeyen tez eş danışmanım Doç. Dr. M. Ali MAZMANCI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Doç. Dr. Ali ÜNYAYAR'a, Prof. Dr. Mustafa ÖZYURT'a ve Prof. Dr. Halil KUMBUR'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında laboratuvarı benimle paylaşan sevgili dostlarım Dilan TOPRAK ve Sema Nur GİRAY'a ve manevi desteklerinden dolayı araştırma görevlisi arkadaşlarım Gamze KOYUNCU, Görkem DOĞAROĞLU, Hasan ATEŞ, Olcay ÖZER ve Aydeniz DEMİR'e teşekkür ederim.

Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirdiğim aletsel analiz çalışmalarını sırasında yardımlarını esirgemeyen Bilim Uzm. Fadile YALDIZ ve Bilim Uzm. Esmâ YORULMAZ'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve bana her türlü desteğini veren sevgili anneme, babama ve değerli arkadaşım Onur ARIKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. GELENEKSEL PLASTİKLER.....	4
2.1.1. Plastiklerin Tarihçesi.....	4
2.1.2. Plastikler ve Kullanım Alanları.....	5
2.1.3. Plastik Atıkların Yönetimi.....	7
2.1.3.1. Plastik atık oluşumu.....	7
2.1.3.2. Plastik atıkların yönetimi.....	9
2.1.3.3. Plastik atıkların ekonomik ve çevresel etkileri.....	13
2.2. BİYOPLASTİKLER.....	15
2.2.1. Biyoplastiklerin Tarihçesi.....	16
2.2.2. Biyoplastik Nedir?.....	17
2.2.3. Biyoplastik Çeşitleri.....	18
2.2.4. Biyoplastiklerin Kullanım Alanları.....	21
2.2.5. Biyoplastik Atıkların Yönetimi.....	26
2.3. KAHVERENGİ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLAR.....	30
2.4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	32
3. MATERYAL ve METOD	34
3.1. MATERYAL.....	34
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Madde ve Malzemeler.....	34
3.1.1.1. Nişasta bazlı biyoplastik.....	34
3.1.1.2. Funguslar.....	34
3.1.1.3. Kimyasal maddeler.....	34
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	35
3.1.2.1. Santrifüj.....	35
3.1.2.2. Spektrofotometre.....	35
3.1.2.3. pH-metre.....	35
3.1.2.4. İnkübatör.....	36
3.1.2.5. Otoklav.....	36

3.1.2.6. Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi (GC-MS)	36
3.1.2.7. Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC)	36
3.2. METOD	37
3.2.1. Hazırlık Çalışmaları	37
3.2.1.1. Çürükçül fungusların kültüre alınması.....	37
3.2.1.2. Çalışmada kullanılacak çürükçül fungusun seçiminin yapılması	37
3.2.2. Biyolojik Parçalanabilirlik Çalışmaları.....	38
3.2.2.1. Biyoplastik numunelerinin hazırlanması.....	48
3.2.2.2. <i>Gloephyllum trabeum</i> 'un kültüre alınması.....	39
3.2.2.3. Katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmaları.....	39
3.2.2.4. Şahit numunelerinin hazırlanması.....	41
3.2.2.5. DNS metodu ile indirgen şeker analizi	42
3.2.2.6. Şeker türleri analiz çalışmaları (HPLC).....	44
3.2.2.7. Son ürün analiz çalışmaları (GC-MS)	48
3.2.2.8. Kuru fungal biyokütlenin belirlenmesi	49
3.2.2.9. Biyolojik olarak parçalanan biyoplastik atık kütlelerinin saptanması.....	49
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	50
4.1. HAZIRLIK ÇALIŞMALARINI BULGULARI	50
4.1.1. Fungus Seçimi Çalışmaları	50
4.2. BİYOLOJİK PARÇALANMA ÇALIŞMALARINI.....	52
4.2.1. Kuru Fungal Biyokütlenin Belirlenmesi	52
4.2.2. Deney Setlerine Aşılana <i>G. trabeum</i> Fungusunun Gelişimi	52
4.2.3. DNS Metodu ile Toplam İndirgen Şeker Analizi Sonuçları	53
4.2.3.1. Katı faz fermantasyon çalışmalarının zamana bağlı toplam indirgen şeker analizi sonuçları	53
4.2.3.2. Askıda Katı faz fermantasyon çalışmalarının zamana bağlı toplam indirgen şeker analizi sonuçları	55
4.2.4. Şeker Türleri Analiz (HPLC) Sonuçları.....	57
4.2.4.1. Şahit Numunelere ait HPLC analiz sonuçları	58
4.2.4.2. Katı faz fermantasyon çalışmaları HPLC analiz sonuçları	59
4.2.4.3. Askıda katı faz fermantasyon çalışmaları HPLC analiz sonuçları.....	62
4.2.5. Parçalanma ürünlerinin araştırılması-GC-MS analiz sonuçları	65
4.2.5.1. Şahit numunelere ait GC-MS analiz sonuçları	65
4.2.5.2. Katı faz fermantasyon çalışmaları GC-MS analiz sonuçları	65
4.2.5.3. Askıda katı faz fermantasyon çalışmaları GC-MS analiz sonuçları	66
4.2.6. Biyolojik Olarak Parçalanan Biyoplastik Atık Kütlelerinin Belirlenmesi	67
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	69
5.1. SONUÇLAR	69
5.2. ÖNERİLER.....	71

KAYNAKLAR 73

ÖZGEÇMİŞ..... 79

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Plastik türleri ve kullanım alanları	7
Çizelge 2.2. Plastik atık oluşum miktarları	9
Çizelge 2.3. 1970-1990 yılları arasında gıda ambalaj miktarlarının azaltılması	11
Çizelge 2.4. Biyoplastik çeşitleri ve kullanım alanları	24
Çizelge 2.5. Biyoplastik üretimi yapan firmalar ve üretim kapasiteleri	25
Çizelge 3.1. Pre-kültür besiyeri.....	39
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan stok mineral besiyeri	40
Çizelge 3.3. Askıda katı faz, katı faz fermantasyon ve şahit numune deney setleri ..	42
Çizelge 3.4. GC-MS çalışma koşulları.....	48
Çizelge 4.1. Kuru fungal biyokütle tartımları	51
Çizelge 4.2. Askıda katı faz ve katı faz fermantasyon çalışmalarında DNS metodu ile belirlenen en yüksek toplam indirgen şeker miktarları	57
Çizelge 4.3. İki numaralı setin HPLC analizlerinde zamana bağlı olarak belirlenen şeker türleri ve miktarları.....	61
Çizelge 4.4. On iki numaralı setin HPLC analizlerinde zamana bağlı olarak belirlenen şeker türleri ve miktarları.....	64
Çizelge 4.5. İki numaralı setten zamana bağlı alınan numunelerin GC-MS analiz sonuçları.....	66
Çizelge 4.6. On iki numaralı setten zamana bağlı alınan numunelerin GC-MS analiz sonuçları.....	66
Çizelge 4.7. Biyolojik olarak parçalanan biyoplastik kütle miktarları.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Plastik kullanımının sektörel dağılımı	6
Şekil 2.2. Yıllara göre Dünya çapındaki plastik üretim miktarları	8
Şekil 2.3. Yıllara göre Türkiye'deki plastik üretim miktarları	8
Şekil 2.4. Atık yönetimi hiyerarşisi	10
Şekil 2.5. Plastik malzeme kodları	12
Şekil 2.6. Plastik atık yönetimi seçenekleri ve uygulanma oranları	12
Şekil 2.7. Plastiğin deniz ortamındaki hareket yolları	14
Şekil 2.8. Denizde bulunan fenantren kirleticisinin taşınmasında plastiğin etkisi ...	15
Şekil 2.9. Dünya çapında plastiklerin üretim miktarları, sosyal kaygılar ve biyoplastiklerin üretimi arasındaki ilişki	16
Şekil 2.10. Biyoplastiklerin üretim kaynaklarına göre sınıflandırılması	19
Şekil 2.11. Plastik piramidi	22
Şekil 2.12. Plastik spektrumu	22
Şekil 2.13. Biyoplastiklerin kullanım alanları	23
Şekil 2.14. Biyoplastik türlerinin biyoplastik endüstrisindeki paylaşımı	25
Şekil 2.15. Zamana bağlı biyoplastik üretim miktarı tahminleri	26
Şekil 2.16. Biyoplastik malzemeler ile sürdürülebilirlikleri arasındaki ilişki	27
Şekil 2.17. Biyoplastiklerin yaşam çevrimi	27
Şekil 2.18. Biyoplastik malzeme kodları	28
Şekil 2.19. Biyoplastiklerle geleneksel plastiklerin atık yönetimlerinin karşılaştırılması	29
Şekil 3.1. DNS metod glikoz standart eğrisi	44
Şekil 3.2. Arabinoz standart eğrisi	45
Şekil 3.3. Glikoz standart eğrisi	45
Şekil 3.4. Fruktoz standart eğrisi.....	46
Şekil 3.5. Galaktoz standart eğrisi	46
Şekil 3.6. Mannoz standart eğrisi.....	47
Şekil 3.7. Sükroz standart eğrisi.....	47
Şekil 3.8. Ksiloz standart eğrisi.....	48
Şekil 4.1. Petri kaplarında (%1 çözünmüş nişasta) gelişen farklı türlerin kültürlerine iyot çözeltisi ilavesinden sonra gözlenen bölgeler	50
Şekil 4.2. Aşılardan 1 hafta sonra askıda katı faz (a) ve katı faz (b) fermantasyon çalışmaları deney setlerinde <i>G.trabeum</i> 'un biyoplastik granülleri üzerindeki gelişimi	52
Şekil 4.3. Çalışma boyunca askıda katı faz (a) ve katı faz (b) fermantasyon çalışmaları deney setlerinde <i>G.trabeum</i> 'un biyoplastik granülleri üzerindeki gelişimi	52
Şekil 4.4. On dört numaralı şahit numune deney setlerinde <i>G.trabeum</i> 'un gelişimi	53
Şekil 4.5. Katı faz fermantasyon çalışmalarının 2 mL <i>G. trabeum</i> içeren 1, 2, 3 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi	54
Şekil 4.6. Katı faz fermantasyon çalışmalarının 4 mL <i>G. trabeum</i> içeren 4, 5, 6 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi	54

Şekil 4.7. Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının 2 mL <i>G. trabeum</i> içeren 7, 8, 9 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi	55
Şekil 4.8. Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının 4 mL <i>G. trabeum</i> içeren 10, 11, 12 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi	56
Şekil 4.9. On üç numaralı setin HPLC analiz sonucu	58
Şekil 4.10. On dört numaralı setin HPLC analiz sonucu	58
Şekil 4.11. On beş numaralı setin HPLC analiz sonucu	58
Şekil 4.12.(a). İki numaralı setin zamana bağlı(2.-6. Hafta) HPLC analiz sonuçları	59
Şekil 4.12.(b). İki numaralı setin zamana bağlı (7.-12. Hafta) HPLC analiz sonuçları	60
Şekil 4.12.(c). İki numaralı setin zamana bağlı (15.-16. Hafta) HPLC analiz sonuçları	61
Şekil 4.13.(a). On iki numaralı setin zamana bağlı (1.-6. Hafta) HPLC analiz sonuçları	62
Şekil 4.13.(b). On iki numaralı setin zamana bağlı (7.-13. Hafta) HPLC analiz sonuçları	63
Şekil 4.13.(c). On iki numaralı setin zamana bağlı (15.-16. Hafta) HPLC analiz sonuçları	64
Şekil 4.14. Biyoplastik atıkların biyolojik parçalanma yüzdeleri	68

SİMGELER ve KISALTMALAR

3R	Azaltma, Yeniden kullanma, Geri dönüştürme
4R	Azaltma, Yeniden kullanma, Geri dönüştürme, Doğaya dönüştürme
PET	Polietilen Teraftalat
HDPE	Yüksek Yoğunluklu Polietilen
PVC	Polivinil Klorür
LDPE	Düşük Yoğunluklu Polietilen
PP	Polipropilen
PS-PC	Polistiren
PU	Poliüretan
ABS	Akrilonitril Bütadien stiren
EVA	Etilen Vinil Asetat
PEX	Polietilen X
TPO	Termoplastik Polyolefin
PHA	Polihidroksi Alkanat
PLA	Polilaktik Asit
DNS	Dinitrosalisik Asit
PDA	Patates Dektroz Agar

1. GİRİŞ

Geçmişten günümüze kadar kullanılan taş, tunç, bakır ve çelik gibi malzemeler insanlık tarihinde çağlara isimlerinin verilmesine neden olabilecek kadar büyük öneme sahip olmuşlardır. Günümüzde ise plastikler çağın malzemesi olarak anılmaktadır. Kolay şekil alması ve hafif olması nedeni ile depolama ve taşımada sağladığı avantajlar, plastiklerin otomotiv endüstrisinden tıba kadar hemen her sektörde kullanılmasını sağlamış ve modern yaşamın bir parçası haline getirmiştir [1].

Plastiklerin uygulama alanlarının genişliği endüstriyel açıdan bir avantaj olmakla birlikte, dünyanın her yerinde her yıl büyük miktarlarda plastik atıkların oluşmasına neden olmaktadır [2]. Dolayısı ile bu atıkların yönetimi büyük öneme sahip olmakta ve özellikle geri dönüşüm ve geri kullanımın yeterli oranda yapılamaması nedeni ile kentsel deponi alanlarına gönderilen plastikler büyük çevresel problemlere neden olmaktadır [3]. Ayrıca günümüzde deponi arazisi bulması giderek zorlaşmış ve atıkların bertarafının iyi bir atık yönetim yöntemi olmadığı ortaya çıkmıştır [3]

Petrol kökenli plastikler doğada mikrobiyal olarak kolaylıkla parçalanamadığından çevresel bir endişe haline gelmişlerdir [1]. Bu nedenle son yıllarda biyolojik kökenli olan ve doğada daha hızlı parçalanabilen plastikler geliştirilmiş ve bunlar “biyoplastik” olarak adlandırılmıştır. Günümüzde petrol kökenli plastik atıkların azaltılması ve biyoplastiklerin kullanımının özendirilmesi amacı ile birçok ülkede çeşitli yasal ve çevresel düzenlemeler yapılmaktadır. Ayrıca petrol fiyatlarındaki hızlı artış da yenilenebilir kaynaklardan biyolojik kökenli malzemeler geliştirilmesine imkân tanımıştır [4].

Biyoplastikler; mısır, şeker, patates vb. yenilenebilir kaynaklardan elde edilen polimerlerdir. Bu polimerler, kompostlaşma gibi kontrollü biyolojik parçalanma koşullarında parçalanabilmektedirler [5].

Biyoplastik üretiminde temel ham maddeler; nişasta ve selüloz polisakaritleri gibi doğrudan biyokütleden elde edilen polimerler; glüten, soya ve zein gibi proteinler ve çeşitli lipitlerdir [6]. Nişasta, kolay bulunması, yenilenebilirliği ve düşük fiyatı nedeniyle biyolojik parçalanabilir plastikler üretmek amacı ile kullanılan malzemelerin temelini oluşturmaktadır [7]. Ticari öneme sahip biyoplastiklerin birçoğunun ana ham maddesi olarak nişasta tercih edilmektedir.

Günümüzde biyoplastiklerin tüketim miktarının 750,000 ton/yıl olduğu tahmin edilmektedir [6]. Bu miktar, yakın gelecekte petrol kökenli plastiklerin yerini alacağı düşünülen biyoplastiklerin doğru bir atık yönetimi yapılmadığı takdirde oluşturacağı atık potansiyelinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Biyoplastikler ile ilgili günümüzde yapılan araştırma ve geliştirme faaliyetleri genellikle esnekliğin, sağlamlığın ve dayanıklılığın artırılması üzerine odaklanmıştır. Endüstriyel AR-GE çalışmalarındaki temel amaç geleneksel plastiklerle rekabet edebilecek malzemenin oluşturulmasıdır. Ancak biyolojik kökenli olan ve doğada petrol kökenli plastiklere oranla daha kısa sürede parçalanabileceği düşünülen biyoplastikler ile ilgili biyolojik parçalanma araştırmalarının sayısı oldukça düşük olup hemen hepsi bakterilerle parçalanma çalışmalarını içermektedir. Bu plastiklerin fungal parçalanmaları ile ilgili yeterli bilimsel literatür bulunmamaktadır.

Çürükçül fungusların ürettikleri enzimler yardımı ile birçok aromatik bileşiği parçalayabilme yeteneğine sahip olduğu çeşitli bilimsel çalışmalar ile ispatlanmıştır. Ayrıca bazı fungusların, aromatik bileşenlerin geniş bir kısmının parçalanmasını sağlayan ligninolitik enzimlerle birlikte amilazları da üretebildiği bilinmektedir [8].

Bu çalışmanın amacı kahverengi çürükçül fungus *Gloephyllum trabeum*'un nişastayı parçalama yeteneği sayesinde, nişasta bazlı biyoplastik atıkların parçalanabilirliğini araştırmak ve oluşan bu atıkların yönetimine yardımcı olmaktır. Çalışma Avrupa Birliği uyum kapsamında ülkemizde yapılacak olan çevresel

düzenlemelere paralel olarak henüz ortaya çıkmamış bir problemin çözümüne ışık tutmayı ve literatüre katkıda bulunmayı amaçlamaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. GELENEKSEL PLASTİKLER

2.1.1. Plastiklerin Tarihçesi

Plastik Latince “plasticus” kökenli olup [10], el ile yoğrulabilen, biçim verilebilen anlamındadır. Teknolojik olarak makro moleküllerin kullanılmasına dayanan, ısı ve basınç etkisiyle kalıba dökülerek, biçimlendirilebilen yapay organik maddelerdir [9] ve günümüzde modern yaşamın ayrılmaz bir parçası olarak nitelendirilmektedir [10].

Geleneksel plastikler her ne kadar modern malzemeler olarak nitelendirilse de varlığı 20. yüzyıldan öncelere dayanmaktadır. İngiliz mucit John Osborne 17. yüzyılda doğal bir plastik olan boynuzu ısıtıp kalıplamıştır [11]. On dokuzuncu yüzyılda orta gelirli insanların boynuz endüstrisini keşfetmesi ile bu sektör hızla gelişmiştir. Tropikal ağaçlardan elde edilen sakızlar 1847’li yıllarda büyük ilgi görmüş ve o yıllarda telgraf tellerinin kaplanarak korunması amacıyla kullanılmıştır [12].

Ticari olarak kullanılan ilk plastikler, genellikle pamuk artıklarından elde edilen selülozdan üretilen yarı sentetik plastiklerdir. İnsan yapımı ilk plastik Alexander Parkes tarafından 1862 yılında pamuk artıklarının nitrik asitle muamelesi sonucu (selüloz nitrat) keşfedilmiştir [12]. Parkes olarak adlandırılan yarı sentetik plastiğin küçük miktarlar gerektiren üretimleri (takı, bıçak sapları, kutular) kolay olmuş ancak endüstriyel üretimi mümkün olmamıştır. Amerikalı matbaacı John Wesley Hyatt 1870 yılında ilk başarılı plastik olan selüloidi üretmiş, ancak yanıcı olmaları endüstriyel gelişimlerini engellemiştir [11, 12].

Plastik dünyasının ilk önemli gelişimi, Belçikalı kimyager Leo Baekeland tarafından 1907 yılında sentezi yapılan fenol-formaldehit reçinesi (Bakelit) ile [9, 11].

Yakıt ve kimyasalların kaynağı olarak, 1900'lü yılların başında petrolün ortaya çıkmasıyla plastiğin tarihi önemli ölçüde değişmiştir [1]. Alman kimyager Hermann Staundinger'ın 1922 yılında plastiklerin binlerce molekülün birleşmesi ile elde edilen zincirlerden oluştuğunu keşfetmesiyle de yeni plastiklerin keşfinin önü açılmış, 1930'larda petrol ve türevlerinden plastik elde edilmiştir. İkinci Dünya Savaşı ise doğal polimerlere erişimin zorluğu nedeniyle sentetik plastik endüstrisinin gelişiminde büyük bir rol oynamıştır [12]. Günümüzde ise plastikler, hızla büyüyen dünya nüfusu ihtiyaçları ile uyum halindedir [11].

2.1.2. Plastikler ve Kullanım Alanları

Plastikler, ucuz, hafif ve dayanıklı olmaları, kolay şekil almaları sebebiyle üreticiler ve tüketiciler tarafından demir, çelik, ahşap ve cam gibi diğer malzemelere oranla daha çok tercih edilmektedirler [11]. Bu sebeple plastik malzemeler inşaat, tekstil, gıda, otomotiv ve tarım sektörü gibi birçok alanda geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [12].

İnşaat sektöründe plastik malzemeler sağlam, uzun ömürlü olmaları ve çevre şartlarına dayanıklı olmaları sebebiyle yoğun olarak kullanılmaktadırlar. Boru, duvar kaplamaları, panjur-çerçeve, çit-parmaklık, zemin kaplaması, bina içi sıhhi tesisatı ve bina yalıtımı gibi oldukça geniş bir kullanım alanı mevcuttur [12].

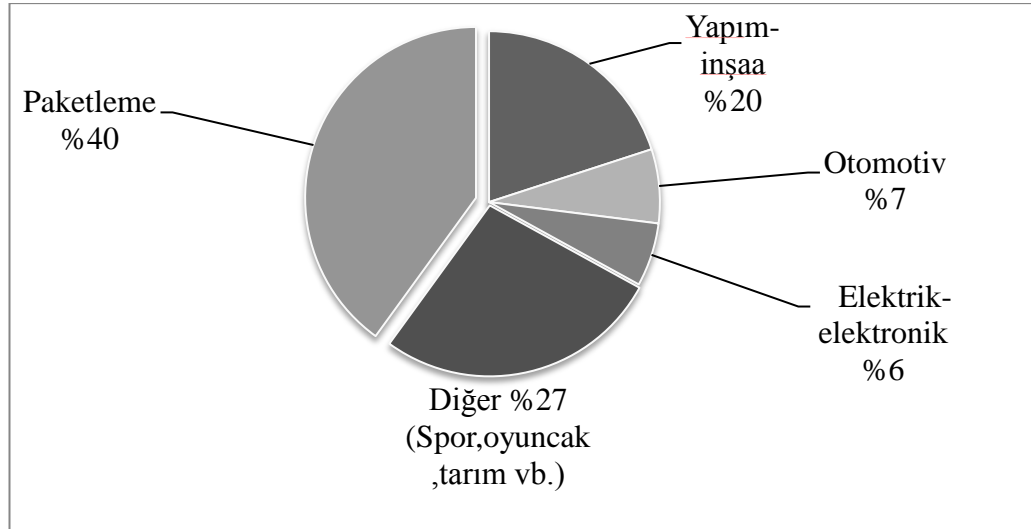
Tekstil sektöründe ise plastikler en çok lif formunda kullanılmaktadır. Polimerden sentetik lif üretilmekte; bunlar da dokuma, örme gibi tekniklerle kullanıma hazır hale getirilmektedirler [12].

Elektrik ve elektronik sanayinde plastikler ana şalterden kablolar, televizyon, radyo, bilgisayar ve telefona kadar birçok elektronik üründe kullanılmaktadırlar [11].

Günümüzde dünyada üretilen plastik miktarının %40 oranında paketleme endüstrisinde kullanıldığı bilinmektedir (Şekil 1.1.) [13]. Paketleme sanayisi plastik

endüstrisinin en geniş endüstri kolunu oluşturmaktadır [6, 12]. Önceliği ürünü zarar görmeden ve değerini kaybetmeden saklamak olan ambalaj sanayi, plastik tüketen sektörler arasında en ön sırada yer almaktadır [12]. Plastik ambalajlar; tarım ilaçlarının, elektronik cihazların, gıda maddelerinin, madeni yağların, deterjanların, tıbbi ilaçların, kimyevi maddelerin, kozmetik ürünlerin ve birçok ürünün ambalajlanmasında kullanılmaktadır [1].

Otomotiv sektöründe plastikler, ön konsol, kontrol panelleri, yer döşemeleri, yakıt deposu, tampon, çamurluklar, emniyet kemeri, vites kolu ve motor dahil otomobil üretiminin bir çok alanında kullanılmaktadır [1, 12]. Günümüzde üretilen plastiklerin %7'sinin otomotiv sektörü için kullanıldığı bilinmekte ve bu oranın önümüzdeki yıllarda artacağı tahmin edilmektedir (Şekil 2.1.) [13]. Tıbbi ürünler, oyuncak ve spor malzemeleri üretiminin yapıldığı diğer pek çok endüstride de plastikler kullanılmaktadır [11].



Şekil 2.1. Plastik kullanımının sektörel dağılımı [13]

Plastikler düşük molekül ağırlıklı, bir veya birkaç organik polimer içeren maddelerdir ve üretimlerinde polimer özelliklerinin geliştirilmesi için kullanılan 4000 farklı katkı maddesi bulunmaktadır [11]. Çizelge 2.1.'de yoğun olarak kullanılan plastik türleri ve kullanım alanları verilmiştir [15].

Çizelge 2.1. Plastik türleri ve kullanım alanları [15].

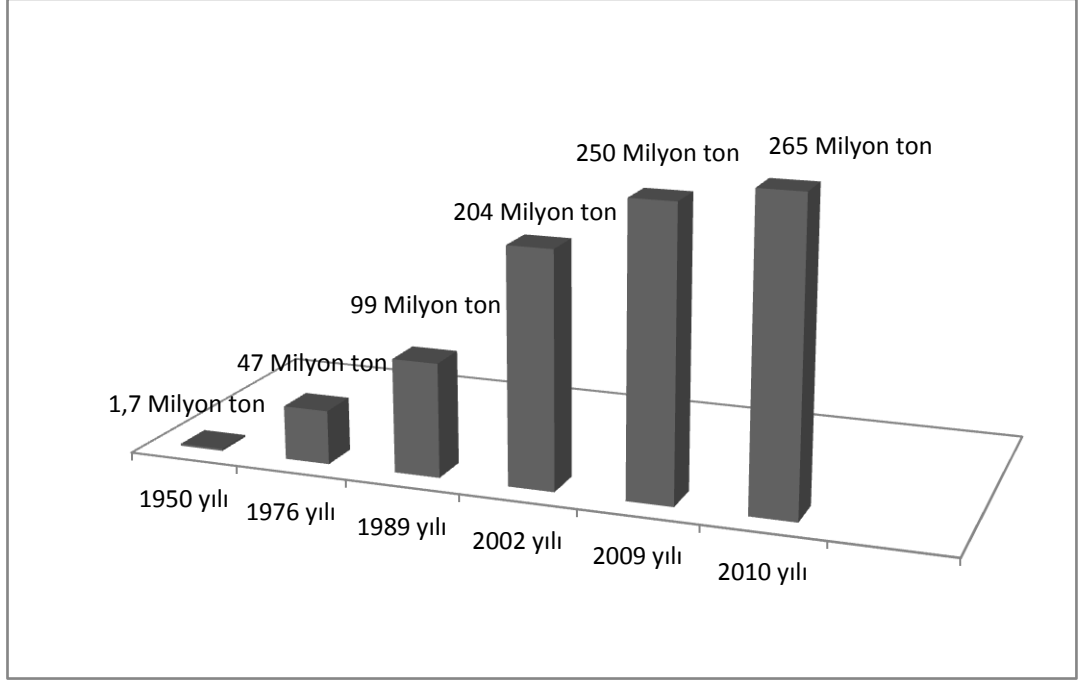
Plastik türü	Kullanım Alanı
Polietilentereftalat	Gıda ve Tekstil Endüstrisinde
Yüksek Yoğunluklu Polietilen	Paketleme Endüstrisinde
Polivinil Klorür	İnşaat Sanayiinde (Boru ve tesisat)
Düşük Yoğunluklu Polietilen	Paketleme Endüstrisinde
Polipropilen	Gıda paketlenmesinde
Polistiren	İnşaat Sanayiinde (Köpük yapımında)
Polimetil metaakrilat	Yapım-İnşaa Alanında (pencere çerçevesi yapımında)
Naylon 6	Tekstil Endüstrisinde(Halı ve lif üretiminde)
Akrilonitril butadien stiren	Otomotiv Endüstrisinde

Plastik malzemeler tüm dünyada gerek araştırma ve geliştirme, gerekse kullanım alanı bakımından hızlı bir gelişme göstermektedir. Günümüzde plastikler diğer malzemelerin yerini almış ve motor gövdeleri, türbin kanatları, uçak gövdeleri gibi ağır makine sistemlerinde bile kullanılır hale gelmişlerdir [14].

2.1.3. Plastik Atıkların Yönetimi

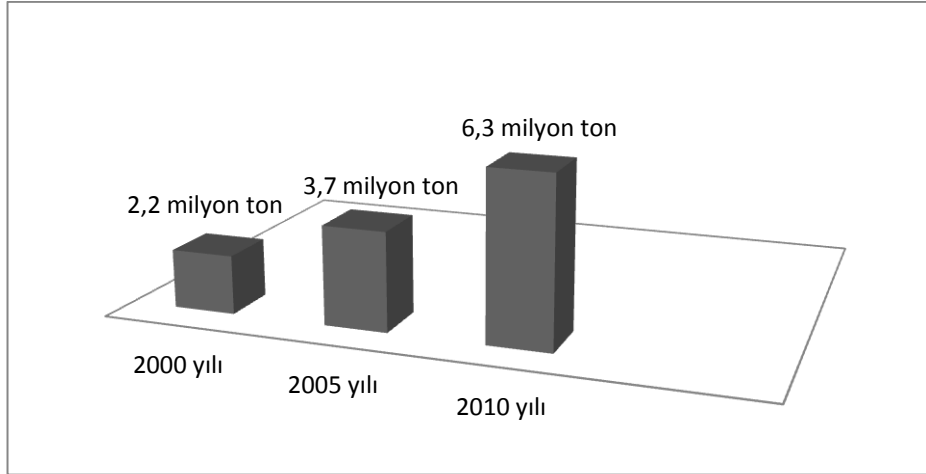
2.1.3.1. Plastik atık oluşumu

Plastiklerin keşfinden bugüne plastik üretimi ve dolayısıyla tüketimi hızla artmaktadır. Dünyada 2010 yılında üretilen toplam plastik miktarı 265 milyon ton olarak belirlenmiştir (Şekil 2.2.) [16].



Şekil 2.2. Yıllara göre Dünya çapındaki plastik üretim miktarları [16].

Türkiye’de ise plastik üretiminde, ilk kullanıldığı günden günümüze kadar hızlı bir artış gözlenmiş ve 2010 yılında 6,3 milyon ton plastik üretimi yapıldığı belirlenmiştir (Şekil 2.3.) [17].



Şekil 2.3. Yıllara göre Türkiye’deki plastik üretim miktarları [17]

Plastiklerin geniş uygulama alanlarında kullanılması ve tüketiminin bu kadar fazla olması nedeniyle, dünyanın her yerinde büyük miktarlarda plastik atık oluşmaktadır [18, 19]. Batı Avrupa’da 1996 yılında $2,6 \times 10^9$ ton katı atığın $1,7 \times 10^7$

tonunun sadece plastik atıktan oluştuğu açıklanmıştır. Plastik atıkların ise %63'ünü evsel atıkların, özellikle gıda paketlenme atıklarının oluşturduğu belirlenmiştir. (Çizelge 2.2.). Plastik atıklar, evsel atıklar içerisinde organik atıklar, cam, metal ve ahşap gibi diğer atıklarla birlikte bulunmaktadır [18].

Çizelge 2.2. Plastik atık oluşum miktarları [18].

Plastik Atık Kaynakları	Plastik Atık Miktarları (Mt/yıl)
Evsel atıklar	10,673
Dağıtım ve ulaştırma endüstrisi	3,291
Yapım-inşaat endüstrisi	0,832
Elektrik-elektronik endüstrisi	0,828
Otomotiv endüstrisi	0,920
Tarım endüstrisi	3,27
Toplam	16,871

2.1.3.2. Plastik atıkların yönetimi

Doğal kaynakların ve çevrenin korunması ile ilgili olan genel endişeler, farklı çeşitlilikte olan atıkların çevresel etkilerinin ve doğal kaynak tüketiminin azaltılması için atık yönetimi tekniklerinin gelişmesine yol açmıştır [18, 20]. Günümüzde atık yönetimi hiyerarşisi 3R kuralı yaklaşımına dayanmaktadır;

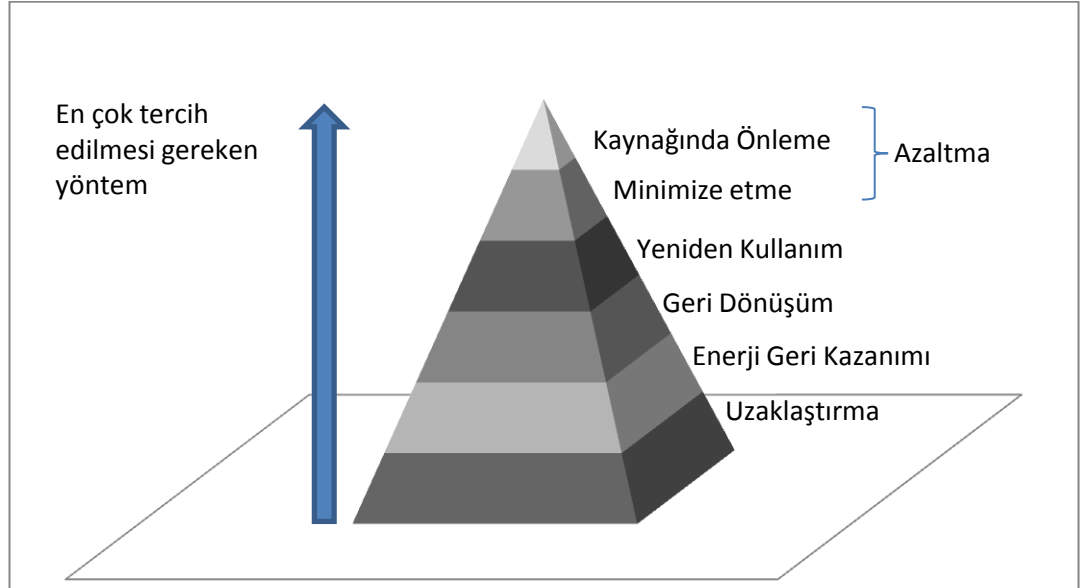
- **Azaltma (Reduction):** Kullanılan kaynağın atık olmasına izin vermeden ürünün üretilmesi sırasında daha az kaynak kullanarak (kaynağında önleme) ya da ürünün kullanımını, tüketimini azaltarak (minimize etme) atık miktarının azaltılması prensibine dayanmaktadır [18, 20].

- **Yeniden kullanım (Reuse):** Kullanılan ürünün, tüketiciler ve endüstriler tarafından yeniden aynı amaçlarla kullanılarak atık oluşum miktarlarının azaltılması esasına dayanmaktadır. Özellikle ambalaj ürünlerinin endüstriler ve tüketiciler tarafından yeniden kullanımı yasalarla teşvik edilmektedir [18, 20].

- Geri dönüştürme (Recycling): Atıkların yeniden tüketim zincirine katılmasını içermektedir. Genellikle geri dönüştürülen ürünler, ürünün ilk kullanıldığındaki orijinal haline göre daha az kaliteli olmakla birlikte geri dönüşümü desteklenmektedir [17]. Bununla birlikte geri dönüşüm yapılabilmesi için geri dönüştürme sırasında harcanan enerjinin, yeni ürün üretme sırasındaki harcanan enerjiden daha az olması gerekmektedir [18, 20].

- Enerji geri kazanımı: Ürünün üretim aşaması sırasında harcanan enerjinin geri kazanılmasını içermektedir. Yakma işlemi ile ısı değeri yüksek olan atıkların yakma ısısının kullanılarak sıcak su, buhar ve elektrik eldesi esasına dayanmaktadır [18, 20].

- Uzaklaştırma (Bertaraf): Atığın, deponi alanlarına uzaklaştırılarak düzenli veya vahşi olarak depolanması olarak tanımlanmaktadır. Çöp deponi alanlarının azalması gibi problemler nedeniyle atığın 3R kuralına göre yönetilmesinden sonra en son seçenek olarak değerlendirilmektedir (Şekil 2.4.) [15, 18].



Şekil 2.4. Atık yönetimi hiyerarşisi

Günümüzde plastik atıklar, atık yönetimi hiyerarşisine göre yönetilmektedir. Ancak bu hiyerarşi, bazı açılardan plastik atıkların yönetilmesinde yetersiz kalmaktadır [18, 20].

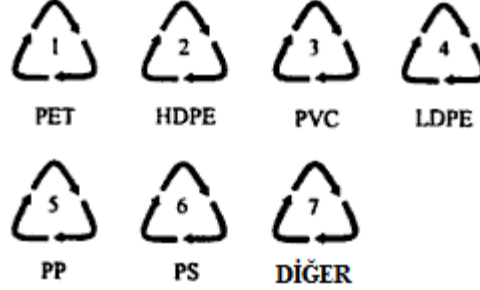
Plastik atıkların çevresel bir endişe haline gelmesinden sonra plastik kullanımının kaynağında azaltması yoluna gidilmiştir. Çizelge 2.3.'de en fazla plastik tüketimine neden olan ambalaj endüstrisinin, 1970-1990 yılları arasında bazı plastik ürünlerin üretimindeki plastik kullanım miktarını kaynağında azalttığı gösterilmektedir [18]. Ancak kaynağında azaltmanın uygulanabilirlik alanının kısıtlı olması sebebiyle atık yönetiminin ilk kuralı olan azaltma yoluyla atıkların yönetimi yetersiz kalmaktadır.

Çizelge 2.3. 1970-1990 yılları arasında gıda ambalaj miktarlarının azaltılması [18].

Ambalaj Çeşidi (1 adet)	1970 yılındaki Ağırlığı (g)	1990 yılındaki Ağırlığı (g)	Miktardaki Azalma Oranı (%)
Alışveriş çantası(PE)	23	6,5	70
Yoğurt kabı (PS)	6,5	3,5	45
Kola şişesi (PET)	66	42	35

Plastik atıkların geri dönüşümünde mekaniksel geri dönüşüm ya da hammadde geri dönüşümü olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Mekaniksel geri dönüşümde plastikler polimerlerine, hammadde geri dönüşümünde ise plastikler kimyasal maddelere ya da petrole dönüştürülmektedir [18]. Daha az enerji ve daha az kaynak kullanması nedeniyle geri dönüşüm günümüzde daha çok tercih edilen bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır [17]. Ancak plastiklerin farklı tipleri arasındaki, özelliklerinin ve kimyasal bileşimlerinin çeşitliliği nedeniyle üzerlerinde bulunan geri dönüştürülebilir kodlarına rağmen (Şekil 2.5.), mekaniksel geri dönüşümleri bazı problemlere neden olmaktadır [1, 17, 18]. Plastik atığın, gazlaştırma, hidrojenasyon ve kimyasal depolimerizasyon işlemleri için büyük kapasiteli tesislerin çalıştırılması ve bu tesislerin çok fazla alana ihtiyaç duyması hammadde geri dönüşümünü kısıtlamaktadır [18]. Plastiğin hammadde geri

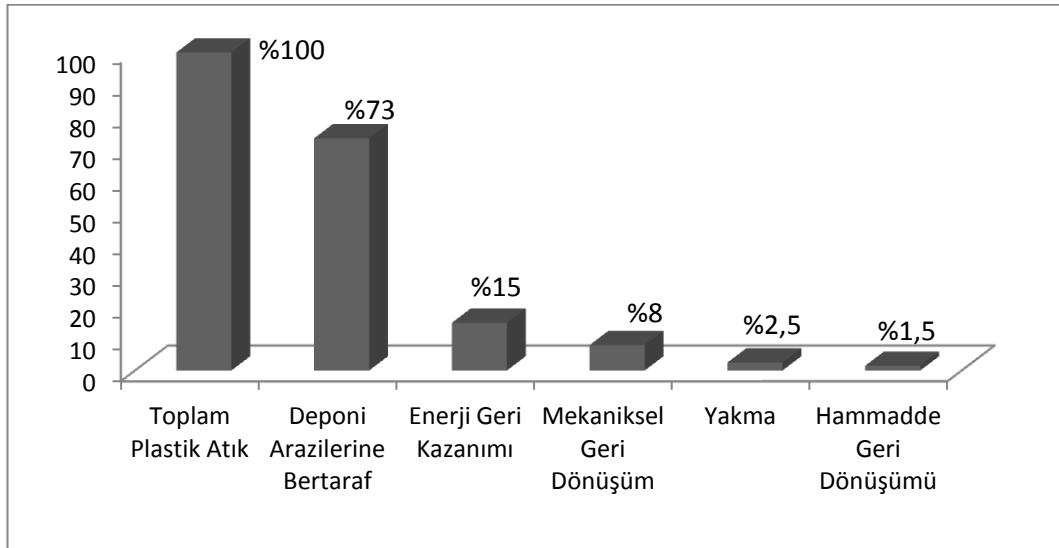
dönüşümü sırasında atmosfere yayılan sera gazları da diğer bir çevresel problem olarak ortaya çıkmaktadır [17].



Şekil 2.5. Plastik malzeme kodları [12, 18].

Plastik atıkların yüksek ısı değerlerine sahip olmaları nedeniyle enerji geri kazanımı diğer bir çekici çözüm olarak sunulmasına rağmen, yakma, gazlaştırma gibi geri kazanım yöntemleri de atmosfere dioksin sera gazlarının salınımına neden olabilmektedir [1, 17].

Plastik atıkların, 3R hiyerarşisine göre yönetimi yetersiz kalmakta, geri dönüşüm atıkların hacimsel olarak çok küçük bir yüzdesine uygulanabilmekte ve çoğu kentsel deponi alanlarına gönderilmektedir (Şekil 2.6.) [3].



Şekil 2.6. Plastik atık yönetimi seçenekleri ve uygulanma oranları [18].

Diğer problemlerinin dışında plastik atıklar sıkıştırılmaları durumunda bile, çok büyük miktarlarda kullanılması nedeniyle deponi alanlarına uzaklaştırılmasında da problem oluşturmaktadırlar. Üretilen plastiklerin artan miktarları deponi alanı sıkıntısını da beraberinde getirmektedir. Günümüzde yeni arazi temini, onayı, arazinin depolama kullanımı ve bertaraf ücretlerinin düzenlenmesi gibi problemler yerel yönetimlerin en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir [11]. Diğer taraftan, çoğu plastiğin parçalanabilir olmaması nedeniyle, plastiklerin çöp deponi sahalarındaki bertarafının ayrıca önemli bir çevresel etkisi bulunmaktadır [17].

Son zamanlarda, atık yönetiminin 3R modelinin çevrenin korunmasında yetersiz kalması nedeniyle “kompostlama” ya da “doğaya kazandırma” yöntemi çevre koruma sloganına 4’üncü R’si olarak (reduce-reuse-recycle-return to nature) eklenmiştir. Ancak plastiklerin ekolojik zararları düşünüldüğünde son yöntemin de geliştirilmediği takdirde etkisiz olacağı düşünülmektedir [11].

2.1.3.3. Plastik atıkların ekonomik ve çevresel etkileri

Ekonomik açıdan plastik üretiminde, özellikle hidrokarbonlar gibi önemli kimyasal maddelerin ve enerji kaynaklarının kullanıldığı göz ardı edilmemelidir [18]. Plastik üretiminde kullanılan, yenilenemeyen ve sınırlı bir kaynak olan, doğal gaz, kömür ve petrol fosil yakıt rezervlerinin giderek azaldığı bilinmektedir. Fosil kaynakların sürekli azalması nedeniyle petrol fiyatlarının artışı plastik malzemelerin fiyatının artışına sebep olmakta, plastik üretimini kaynak ve ekonomik açıdan olumsuz etkilemektedir [11].

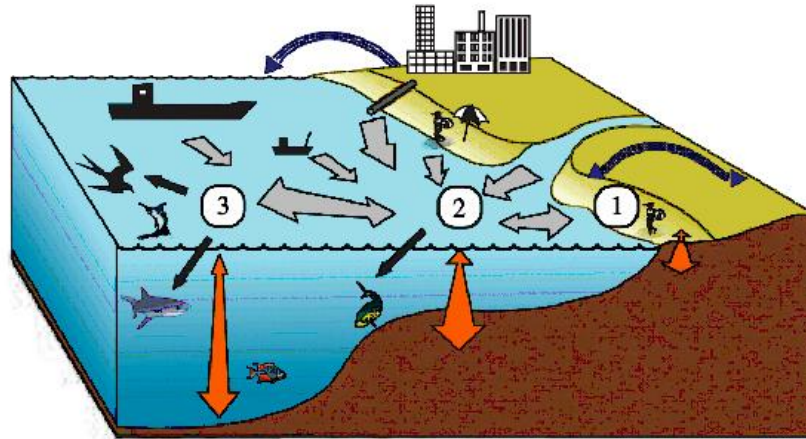
Plastiklerin çevreye ve canlı yaşamına olan bazı etkileri ise şu şekilde sıralanmaktadır;

1. Plastikler, renklendirici, dayanıklılık artırıcı, plastikleştirici, sabitleştirici ve dolgunlaştırıcı özellikteki katkı maddelerini içermektedirler [18]. Plastiğin polimer özelliklerinin geliştirilmesi için eklenen bu katkı maddeleri kadmiyum ve kurşun gibi ağır metaller, bisfenol A, ftalat ve yanmayı geciktiren bazı

kimyasal maddelerdir [19]. Bazı plastiklerin yapımında kullanılan kimyasal maddeler son derece toksik olabilmekte çevre ve insanlar üzerinde olumsuz etkiler neden olabilmektedir. Plastikte polistirenler, stiren bütadin kopolimerler, akrilonitriller, bifeniller, asetil bibüril sitratlar ve stiren oksitler gibi bazı zararlı sentetik organik bileşikler de bulunmaktadır [1].

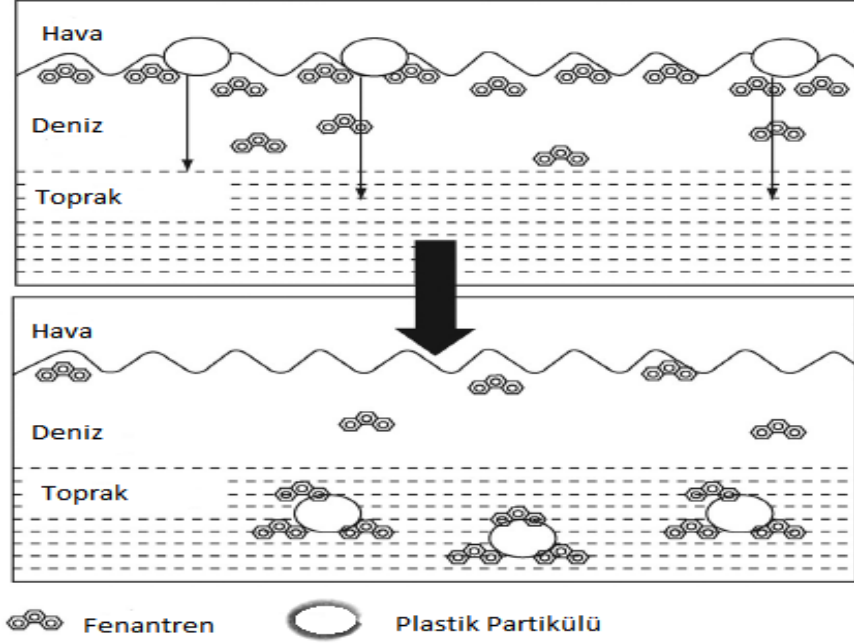
2. Petrolden sentetik olarak üretilen plastikler biyolojik olarak kolayca parçalanamamaktadırlar [1, 11]. Plastiklerin parçalanmaya karşı dayanıklı olmaları çöp deponi alanlarına bertarafı yönünden sakınca oluşturmaktadır [19]. Yapısında toksik maddeleri barındıran plastiklerden polistiren (PS) ve polietilen (PE) gibi plastiklerin tamamen doğada parçalanması için yüzlerce hatta binlerce yıl gerekmektedir [3].

3. Toprakta olduğu kadar son yıllarda okyanuslarda da biriken plastik atık miktarı giderek artmaktadır [1]. Okyanuslarda biriken plastik atıklar içindeki zararlı kimyasal ve toksik maddeler, deniz yaşamındaki canlılar tarafından absorbe edilerek besin zincirini olumsuz yönde etkilemektedirler [11, 19]. Şekil 2.7.'de plastik atıkların denizlere veya okyanuslara atılması sonucunda oluşabilecek tehlikeler gösterilmektedir [19].



Şekil 2.7. Plastik atığın deniz ortamındaki hareket yolları [19].

Ayrıca deniz içinde bulunan kirletici maddelerin de plastik atık tarafından absorbe edilerek toprağa taşınması ve toprakta birikmesi canlı yaşamını daha tehlikeli hale getirmektedir (Şekil 2.8.) [19].



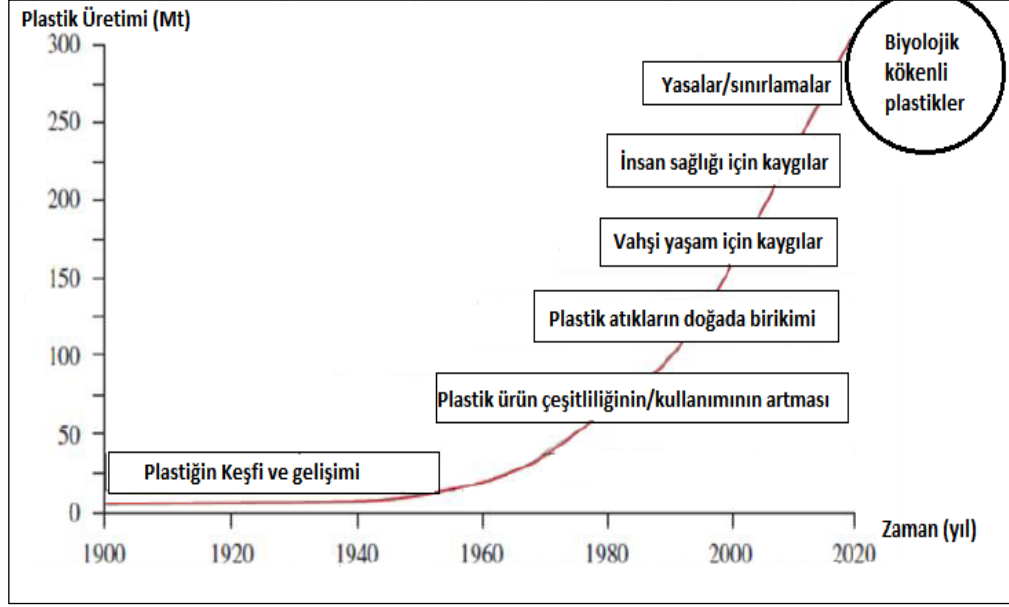
Şekil 2.8. Denizde bulunan fenantren kirleticisinin taşınmasında plastiğin etkisi [19].

4. Plastik atıkların yakılması sonucu oluşan dioksinler önemli çevre kirleticilerinden biridir. Dioksinler, yapısal olarak sentetik organik kimyasal bir grup olup, deney hayvanlarında ölüm dahil bir dizi olumsuz sağlık etkilerine neden olan maddeler olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca plastiklerin yakılması karbon dioksit ve metan gibi diğer toksik emisyonları da oluşturmaktadır. Bu sera gazlarının ise iklim değişikliğine sebep olduğu bilinmektedir [1].

2.2. BİYOPLASTİKLER

Plastik yapımında kullanılan katkı maddelerinin doğa tarafından kabul edilebilir özelliklere sahip olup olmadığı, plastik atıkların çevrede yok olma süresi, üretim ve işleme sırasında oluşan atıklar gibi konular geleneksel plastiklerin neden olduğu temel kaygılar olarak ortaya çıkmaktadır [1]. Artan bu çevresel kaygılarla birlikte petrol fiyatlarının artması ve rezervlerin azalması, çevre ile ilgili çeşitli ulusal ve uluslararası yasal düzenlemeleri de beraberinde getirmektedir [21]. Petrokimyasal

hammaddelere olan bağımlılığın azaltılması ve sürdürülebilirlik kavramı biyolojik kökenli plastik malzemelerin üretimini ve gelişimini teşvik etmiştir (Şekil 2.9.) [1, 21, 22, 23].



Şekil 2.9. Dünya çapında plastiklerin üretim miktarları, sosyal kaygılar ve biyoplastiklerin üretimi arasındaki ilişki [19].

Gerek bireysel, gerekse endüstriyel bazda artan çevresel bilinç ve çevre yönetim sistemlerinin etkileri plastik malzemelerden kaynaklanan kirliliğin önlenmesi amacı ile çevre dostu, biyolojik kökenli plastikler üzerinde yapılan araştırma ve geliştirme çalışmalarının artmasına neden olmuştur. Bununla birlikte birçok işletme “biyoplastik” olarak adlandırılan malzemelerin üretimi üzerine odaklanmıştır [3].

2.2.1. Biyoplastiklerin Tarihçesi

Yeşil plastikler veya biyolojik kökenli plastikler olarak da nitelendirilen biyoplastikler günümüzde eskiye oranla oldukça fazla kullanım alanına sahip olmasına rağmen, asıl keşifleri 19. yüzyıla dayanmaktadır [1]. Plastik keşfi sırasında kullanılan keçi boynuzu, pamuk artığı gibi bitki esaslı kaynaklar biyoplastiğin keşfinde ilham kaynağı olmuşlardır [1, 11].

Bilardo toplarının üretiminde kullanılan fildişi yerine bir alternatif aranmasıyla birlikte 1869 yılında, Amerikalı araştırmacı John Wesley Hyatt Jr tarafından fildişi olmayan bilardo topları için selüloz türevi kaplamanın patenti alınmıştır. Ancak, yanan puronun yanlışlıkla toplara temas etmesiyle ateşlenen toplar bu girişimin kısa süreli olmasına neden olmuştur. Hyatt projesi üzerinde çalışmaya devam etmiş ve günümüzde fotoğraf ve film bandı olarak bilinen, yaygın olarak kullanılan ilk plastik olan selüloidi geliştirmiştir [1].

Petrolün 1900'lü yılların başında keşfedilmesiyle biyoplastikler geri planda kalarak sentetik plastikler birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır [24].

Henry Ford, 1920'lerde otomobil üretiminde soya fasulyesini kullanmayı denemiş ve o dönemde tarımsal üretim artığı olan soya fasulyesinden üretilen soya plastiklerini direksiyon, iç donanım ve gösterge paneli gibi otomobil parçalarında kullanılmıştır. Bu araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin sonunda Ford tam bir "plastik otomobil" prototipi üretmek için girişimde bulunmuş ve prototip 1941 yılında sergilenmiştir. Ancak İkinci Dünya Savaşı'nın da etkisiyle sürekli üretime geçilememiştir [1].

Petrol krizinin 1970'li yıllarda neden olduğu etki ile biyolojik kökenli plastikler tekrar gündeme gelmiştir. Biyolojik olarak parçalanabilen kâğıtlar ve ambalajlar 1980'li yıllarda kullanılmaya başlanmıştır [25].

Günümüzün en yenilikçi biyoteknolojik ürünleri olan biyolojik kökenli plastik üretiminin şimdilerde ise 4,5 ile 12 milyon ton/yıl arasında olduğu bilinmektedir [1, 24].

2.2.2. Biyoplastik Nedir?

Son yirmi yılda üretim ve geliştirme açısından önemli gelişim gösteren biyoplastikler farklı tanımlar ile karşımıza çıkmaktadır. ABD Tarım Bakanlığı

biyoplastikleri, “tamamen veya önemli bir kısmında biyolojik ürün, ormancılık malzemeleri ya da bitki, hayvan ve deniz ürünleri de dahil yenilenebilir yerli tarım malzemelerinden oluşan ticari veya endüstriyel ürünler” olarak tanımlamaktadır. Amerikan Malzeme Test Kurumu (ASTM, American Society Test for Materials) biyoplastikleri, “karbonunun, biyolojik süreçler yoluyla yenilenebilir bir kaynaktan elde edildiği organik bir malzeme” olarak tanımlamaktadır. İş adamları ve araştırmacılardan oluşan bir organizasyon olan Business- NGO Working Group ise “karbonunun %100, mısır nişastası, soya proteini ve selüloz gibi yenilenebilir tarım ve orman kaynaklarından elde edildiği malzemeler” olarak tanımlamaktadır [26].

Genel olarak biyoplastikler, nişasta, şeker, bitkisel yağ veya odun gibi yenilenebilir kaynaklardan elde edilen ve biyolojik olarak parçalanabilen plastikleri ifade etmektedir [19, 24, 27].

2.2.3. Biyoplastik Çeşitleri

Biyoplastikler parçalanabilirliklerine göre üç sınıfa ayrılmaktadırlar;

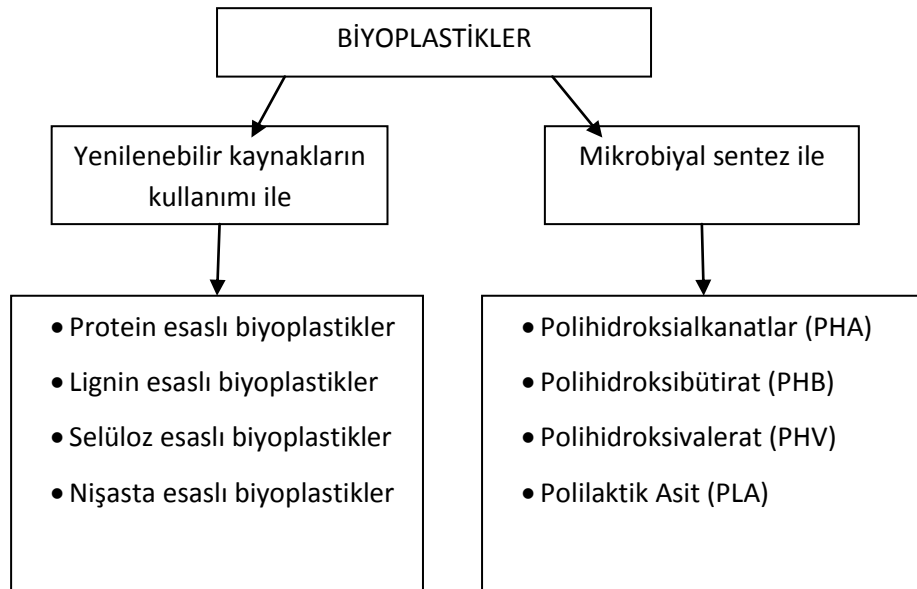
1. Foto-parçalanabilir plastikler: Polimerleri içinde, katkı maddeleri olarak doğrudan ışığa duyarlı gruplar bulunan plastiklerdir. Ultraviyole ışınlar bu plastiklerin polimerik yapılarını bozarak (birkaç haftadan aya kadar), bakteriyel parçalanmaya dirençsiz hale getirmektedir. Ancak bu tür plastikler depolama alanlarının güneş ışığından yoksun olmaları nedeniyle biyolojik olarak parçalanmadan kalabilmektedirler [1].

2. Kısmi biyolojik olarak parçalanabilen plastikler: Polietilen gibi geleneksel plastik üretiminde kullanılan kimyasal maddelerin nişasta ile karıştırılarak üretildiği plastik türleridir. Deponi alanlarına bertaraf edildiklerinde, yapılarında bulunan nişasta mikroorganizmalar tarafından parçalanmakta ancak polietilen gibi sentetik kimyasal maddeler parçalanmadan kalabilmektedirler [11].

3. Biyolojik olarak parçalanabilen plastikler (biyoplastikler): Bakteriler tarafından biyopolimer oluşturmak amacı ile aktif olarak kullanılan yeni, gelecek vaat eden plastiklerdir. Bunlar Polihidroksialkanatları (PHA), Polilaktik asitleri (PLA), alifatik polyesterleri, polisakkaritleri ve bunların karışımlarından oluşan biyolojik kökenli polimerleri içermektedir [1].

Günümüzde “biyolojik olarak parçalanabilen” kavramının yanı sıra, yenilenebilirlik, geri dönüştürülebilirlik ve sürdürülebilirlik kavramları da biyoplastiklerin geliştirilmesinde etken olmaktadır [29]. “Biyolojik olarak parçalanabilen” terimi malzemelerin, uygun şartlar altında mikrobiyal olarak, doğal yollarla biyogaza ve biyokütleyle (çoğunlukla karbondioksit ve suya) parçalanması veya bozunmasını ifade etmektedir [6].

Biyoplastikler, nişasta ve selüloz gibi birçok polisakkaritlerden; gluten, soya ve zein gibi çeşitli proteinlerden ve lipitler gibi yenilenebilir kaynaklardan üretilebildiği gibi, bakteriler tarafından sentez yoluyla da üretilebilmektedir [6, 27, 28, 29]. Bu nedenle üretim kaynaklarına göre biyoplastikler iki temel sınıfa ayrılmaktadırlar (Şekil 2.10.) [1, 11, 27].



Şekil 2.10. Biyoplastiklerin üretim kaynaklarına göre sınıflandırılması

Mikrobiyal sentez amacı ile *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* gibi bakterilerin biyoplastiklerin üretiminde kullanıldığı bilinmektedir [31, 38]. Polihidroksi Alkanat (PHA), Polihidroksi Bütirat (PHB), Polihidroksi Valerat (PHV) gibi polimerler bakteri içinde sentezlendikten sonra immobilize edilerek biyoplastik üretiminde kullanılmaktadır. PHA, endüstriyel ölçekte *Alcaligenes latus*, *Azoto-bacter vinelandii*, rekombinat *Alcaligenes eutrophus*, *Pseudomonas oleovorans*, *Ralstonia eutropha*, *methylotrophs* ve *Escherichia coli* gibi yüksek PHA üretim verimliliğine sahip saf kültürlerle üretilmektedir [40, 41, 42]. Mikrobiyal sentez ile elde edilen biyoplastikler, tamamen biyolojik olarak parçalanabilen plastiklerdir [24].

Yenilenebilir kaynaklardan üretilen biyoplastik çeşitleri dört grup altında toplanmaktadır [37];

1. Protein Bazlı Biyoplastikler: Mısır, buğday, pirinç gibi bitki proteinlerinin işlenmesi ile elde edilen biyoplastiklerdir [25, 37]. Biyoplastik üretiminde, gluten, soya ve zein gibi protein kaynaklı polimerler kullanılmaktadır. Soyalar, %40-50 oranında protein içermektedir. Bununla birlikte suya karşı dayanıklılığı düşük olduğundan diğer polimerlerle karıştırılarak biyoplastik üretiminde kullanıldığı bilinmektedir [11, 25]. Mısırdaki proteinin yaklaşık % 45-50'si zeindir ve sert, parlak, hidrofobik, esnek ve sıkıştırılabilir olması nedeni ile ambalaj üretiminde kullanılabilir [39].

2. Selüloz Bazlı Biyoplastikler: Selüloz bazlı biyoplastikler genellikle selüloz asetat gibi kimyasal olarak modifiye edilmiş selüloz malzemelerden elde edilmektedir. Selüloz kaynağı olarak, kağıt hamuru, pamuk ve kenevir kullanılmaktadır [37].

3. Lignin Bazlı Biyoplastikler: Lignin bazlı biyoplastikler kağıt endüstrisinin yan ürünü olan odundan ya da lignoselülozik materyalden elde edilerek üretilen biyoplastiklerdir [11,37].

4. *Nişasta Bazlı Biyoplastikler:* Nişasta bazlı biyoplastikler ham veya işlenmiş nişastadan üretilen biyoplastiklerdir. Bu amaçla genellikle mısır, patates ve buğday nişastaları kullanılmaktadır [11, 25, 37].

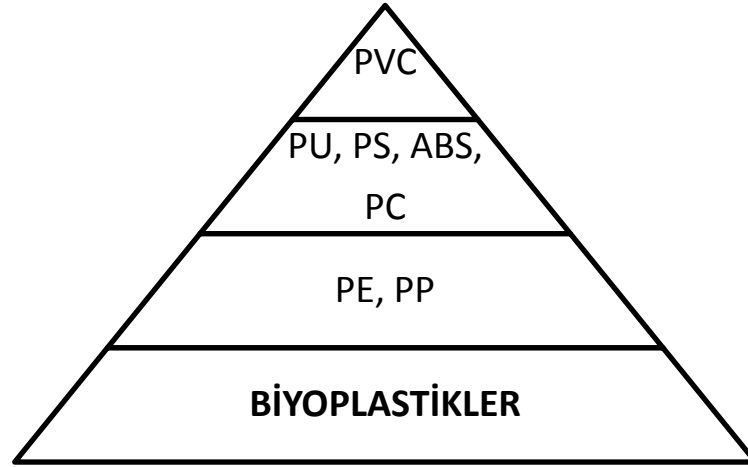
Biyolojik olarak parçalanabilen biyoplastiklerin üretiminde kullanılan yenilenebilir kaynaklar arasında, doğal olarak elde edilmesinin kolay olması, düşük fiyatı, fiyat rekabeti ve uygulanabilirliği nedeniyle en kullanışlı malzeme nişastadır. [4, 22, 32, 33, 34]. Nişasta, bitkilerde granül şeklinde bulunan bir karbonhidrat olup, patates, mısır, pirinç gibi bitkilerden elde edilmektedir. Mısır nişastasası %20-30 amiloz ve %70-80 amilopektin gruplarını içermektedir [32, 33]. Nişastanın, tüm tohumlarda (buğday, mısır vs.), yumrulara (patatesler), köklerde ve daha az bir oranda bitki yapraklarında bulunduğu bilinmektedir. Nişasta, kolaylıkla asimile olan, gıda endüstrisinde büyük önemi bulunan bir polisakkarittir [35]. Ayrıca çoğu endüstride, inceltici, sabitleyici, hacim artırıcı, jelleştirici ve akışkanlaştırıcı olarak kullanım alanına sahiptir. Nişasta, kimyasal ve/veya enzimatik olarak hidrolize edilerek; glikoz, maltoz, maltodekstrin ve siklodekstrin gibi ürünler elde edilebilmektedir [39]. Mısır, patates ve şeker gibi nişasta formlarından elde edilen PLA biyoplastiklerinin, toprakta bakteriyel ataklar sonucunda ve enzimatik ortamlarda sadece birkaç haftada ayrışabildiği bilinmektedir [3].

Günümüzde sadece yenilenebilir kaynaklardan üretilmeye başlanan biyoplastiğin, talep artışı ile farklı ham madde arayışına gireceği düşünülmektedir. Yapılan bazı çalışmalar, özellikle gıda yan ürünlerinin ve gıda endüstrisi atıklarının gelecekte ana ham madde olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir. Bununla birlikte mikrobiyal kaynaklı plastik üretimi de yüksek maliyeti nedeni ile minimize edilecek gibi görülmektedir [6].

2.2.4. Biyoplastiklerin Kullanım Alanları

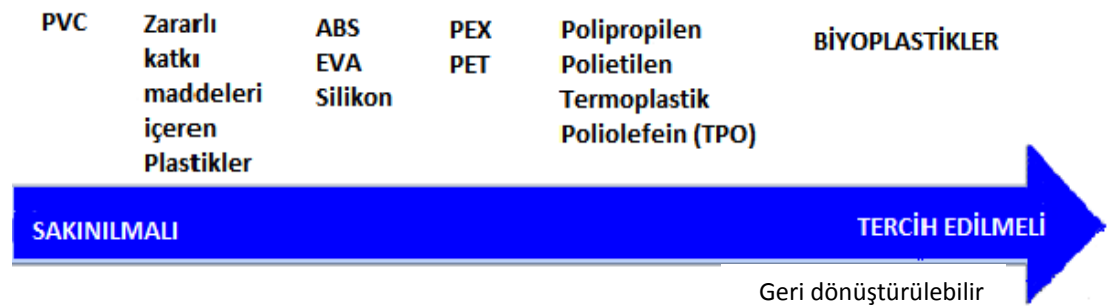
Son on yılda, plastik seçimi konusunda karar verme sürecine yardımcı olması için çeşitli araçlar geliştirilmiştir. “Plastik piramidi”, Thorpe ve Van der Naalde tarafından, malzeme seçiminde farklı plastik yaşam döngülerinin tehlikelerini

görsel olarak göstermek için geliştirilmiştir (Şekil 2.11.). Bu sıralama üretim tehlikeleri, zararlı katkı maddelerin kullanımı, kullanım ve bertaraf sırasındaki tehlikeleri de göz önüne alınarak malzemenin toksisitesi üzerine odaklanmıştır. Piramit, en altta bulunan biyoplastiklerin, yenilenebilir kaynaklardan elde edilmesi ve teorik olarak biyolojik parçalanabilir olması nedeniyle en çok tercih edilen malzemeler olduğunu göstermektedir [26].



Şekil 2.11. Plastik piramidi [26].

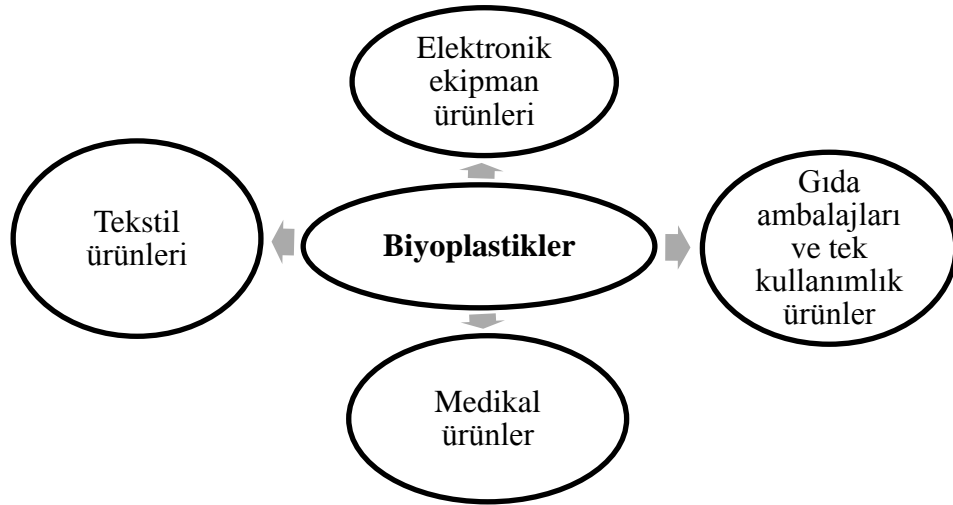
Rossi ve arkadaşları tarafından geliştirilen, “plastik spektrumu” plastik piramidine ilaveten plastiklerin geri dönüşüm özelliklerini de göz önüne almaktadır (Şekil 2.12.). Bu spektrum, kolaylıkla geri dönüştürülebilir ve sürdürülebilir olması nedeniyle biyoplastikleri tercih etmektedir [26].



Şekil 2.12. Plastik spektrumu [26].

Plastik piramitlerin ve spektrumlarının geliştirilmesinden bu yana, biyoplastik malzemelerin ticari gelişimleri artmıştır [26]. Farklı kaynaklardan üretilen biyoplastikler, ambalaj uygulamaları için film ve kaplamalar da dahil olmak üzere bir dizi amaçlar için araştırılmış ve son 20 yıl içerisinde geliştirilmiştir [36].

Günümüzde gıda endüstrisinde paketlenme uygulamalarında kullanılan biyoplastiklerin yüzde olarak en büyük kısmını nişasta bazlı biyoplastikler oluşturmaktadır [23]. Aynı zamanda biyoplastikler, doku mühendisliği yapıları (protez, vida vb.) ve doğum ilaçlarının yapımı gibi biyomedikal alan dahil bir çok alanda uygulama alanı bulmuştur [22]. Günümüzde özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa'da oldukça geniş pazar payına sahip olan biyoplastikler diş fırçası, tarak, tükenmez kalem ve kredi kartları gibi kişisel eşyalar, ekmek torbaları, süt şişeleri gibi ambalajlar dahil, tekstil ürünlerinden, tutkal ve sıvalara kadar birçok alanda kullanılmaktadır (Şekil 2. 13.) [1, 11].



Şekil 2. 13. Biyoplastiklerin kullanım alanları [11].

Çizelge 2.4.'de biyoplastiklerin türleri ve bazı kullanım alanları özetlenmiştir [30].

Çizelge 2.4. Biyoplastik çeşitleri ve kullanım alanları [30]

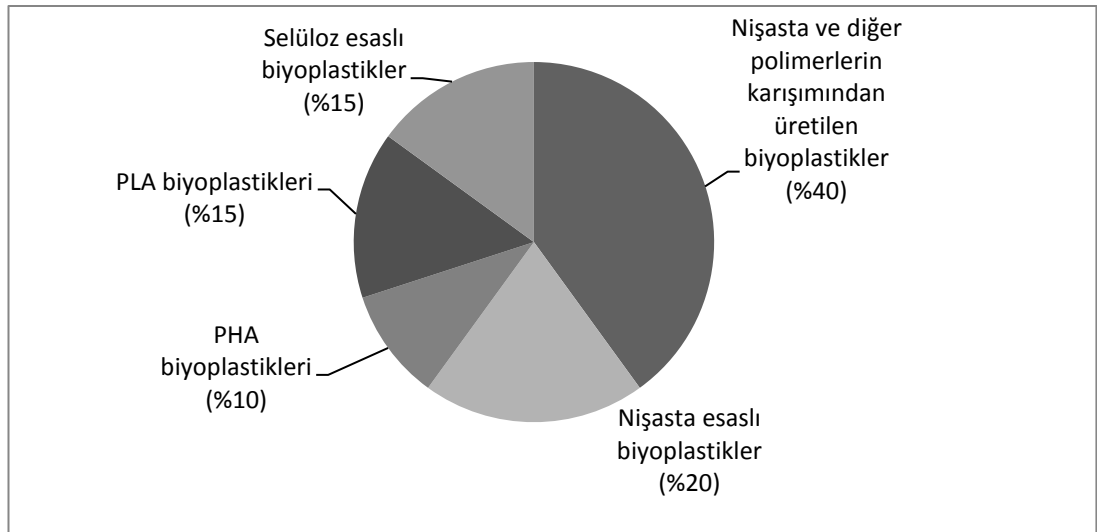
Biyoplastik Türleri	Kullanım alanları
Nişasta bazlı biyoplastikler	Tek kullanımlık çatal, kaşık, bıçaklar, ilaç kapsülleri, soğuk içecek şişeleri ve kutuları, elektrik yalıtım ürünleri
Lignin bazlı biyoplastikler	Prizler, elektronik donanım ürünleri
Soya proteini bazlı biyoplastikler	Yapı izolasyon ürünleri
Oduun, pamuk veya kenevir selülozundan üretilen biyoplastikler	Gıda ambalajları, tekstil ürünleri
Nişastanın sentetik polimerle karıştırıldığı kısmi parçalanabilir biyoplastikler	Plastik torbalar

Biyoplastiklerin artan AR-GE çalışmaları ve ürünlerdeki başarısı bu malzemelerin birçok ülkenin pazarına girmesini sağlamıştır. Örneğin, Avustralya hükümeti nişasta bazlı plastiklerin araştırılması ve geliştirilmesi amacı ile 1 milyon dolarlık bir bütçe ayırmıştır. Japonya bitkisel yağdan yapılmış ve geleneksel plastiklerle aynı güce sahip olan biyolojik olarak parçalanabilen bir plastik üretmiş ve piyasaya sunmuştur. İtalya biyolojik olarak parçalanabilen poşetlerin kullanımını teşvik edecek girişimlerde bulunmuştur. Amerika'da gıda alanında büyük pazar payına sahip olan McDonalds şirketi kendi gıdaları için biyolojik olarak parçalanabilir kaplar geliştirmek amacı ile araştırmalar yaptırmaktadır. Bayer, DuPont ve Dow Cargill gibi diğer şirketler de biyolojik olarak parçalanabilir ambalajlara ilgi göstermektedirler [1]. Günümüzde dünyada biyoplastik üretimi yapan bazı üretici firmalar ve üretim kapasiteleri Çizelge 2.5.'de gösterilmektedir [30].

Çizelge 2.5. Biyoplastik üretimi yapan firmalar ve üretim kapasiteleri [29].

Üretici firmanın adı	Ülke	Üretimini gerçekleştirdiği biyoplastik çeşidi	Üretim Kapasitesi (Milyon ton/yıl)
NatureWorks	ABD	PLA	0,14
PURAC	Hollanda	PLA	0,08
Metabolix	ABD	PHB	0,05
GALACTIC	Belçika	PLA	0,0025
Innovia Films	İngiltere	Selüloz asetat	0,0025
Hycail	Hollanda	PLA	Pilot üretim aşamasında

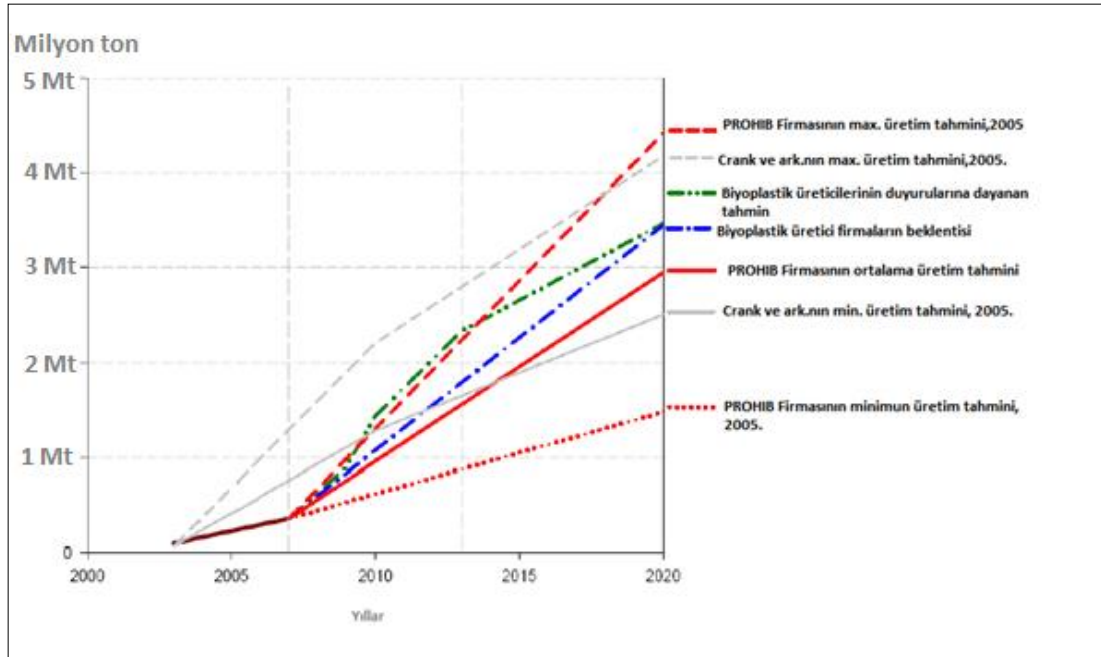
Biyoplastik türlerinin, biyoplastik endüstrisindeki paylaşım oranları Şekil 2.14. 'de gösterilmektedir [37]. PHA ve PHB gibi mikrobiyal sentezle elde edilen biyoplastikler üretim maliyetlerinin diğer biyoplastik türlerine göre daha yüksek olması sebebiyle üreticiler tarafından daha az bir oranda tercih edilmektedirler [40] .



Şekil 2.14. Biyoplastik türlerinin biyoplastik endüstrisindeki paylaşımı [37].

2.2.5. Biyoplastik Atıkların Yönetimi

Avrupa'daki biyoplastik tüketimi 2003 yılında 40.000 ton olmuştur. Bu miktar biyoplastik tüketiminin 2001 yılına göre 2 katına çıktığını göstermektedir [1]. 2011 yılındaki biyoplastik tüketim miktarının ise 750.000 ton/yıl olduğu bilinmektedir [6]. Biyolojik olarak parçalanabilen biyoplastik ambalaj talebinin, yaklaşık olarak yılda %16 oranında bir büyüme göstermesi ve artan talebin biyolojik olarak parçalanabilir plastiklerin üretimi için gereken teknolojinin daha uygun hale gelerek üreticilerde bir artışa yol açmasına neden olması beklenmektedir [1]. Şekil 2.15.'de bazı araştırmacılar ve biyoplastik üretimi yapan firmalara tarafından yapılan tahmini biyoplastik üretim kapasiteleri gösterilmektedir [30].



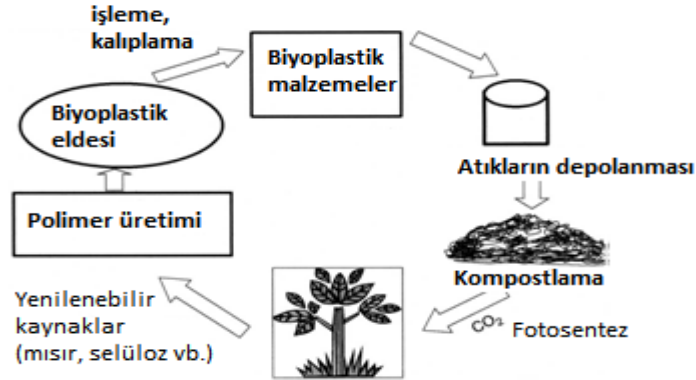
Şekil 2.15. Zamana bağlı biyoplastik üretim miktarı tahminleri [30]

Yapılan araştırmalara göre 2015 yılında 150-350 milyon ton biyoplastik üretilmesi beklenmektedir [30]. Yakın gelecekte biyoplastiklerin bol bir çeşitlilikle günümüzde kullanılan geleneksel plastiklerin yerini alacağı belirtilmektedir [1]. Biyolojik olarak parçalanabilir olarak atfedilen ve ileride çok büyük bir atık oluşumuna neden olacak bu malzemelerin sürdürülebilirlik için atık yönetimlerinin dikkatli bir şekilde yapılması gerekmektedir (Şekil 2.16.) [26].



Şekil 2.16. Biyoplastik malzemeler ile sürdürülebilirlikleri arasındaki ilişki [26].

Biyoplastiklerin sürdürülebilirliklerinin değerlendirilmesinde, üretiminden nihai bertaraf veya geri dönüşümüne kadarki yaşam çevrimi ve tasarımı dahil olmak üzere çeşitli parametreler göz önüne alınmalıdır (Şekil 2.17.) [29].



Şekil 2.17. Biyoplastiklerin yaşam çevrimi [29].

Biyoplastiklerin yaşam çevrimindeki ilk adım hammaddelerin elde edilmesidir. Üretici firmalar elde ettikleri hammaddeleri taşınma sırasında oluşabilecek kontaminasyonlardan arındırmak için hammaddeyi temizlemekte ve bir takım işlemler yardımıyla polimerleştirerek biyoplastik granüllerini elde etmektedirler. Biyoplastik granülleri işlenerek veya kalıplanarak biyoplastik malzeme elde edilmekte ve piyasaya sürülerek kullanıcı tarafından satın

alınmaktadır. Kullanılan biyoplastik yeniden kullanabilmekte ya da uzaklaştırılmaktadır. Uzaklaştırılan biyoplastik ise atık yönetimdeki bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Ancak biyoplastik malzemeler daha çok tek kullanımlık ürünler ya da ambalaj olarak tüketildiği için çoğu deponi alanında sonlanmaktadır [43].

Biyoplastik atıklar, günümüzde kullanılan atık yönetimi hiyerarşilerine benzer biçimde 4R (Reduction, Reuse, Recycle, Return to nature) yaklaşımıyla yönetilebilmektedir [43].

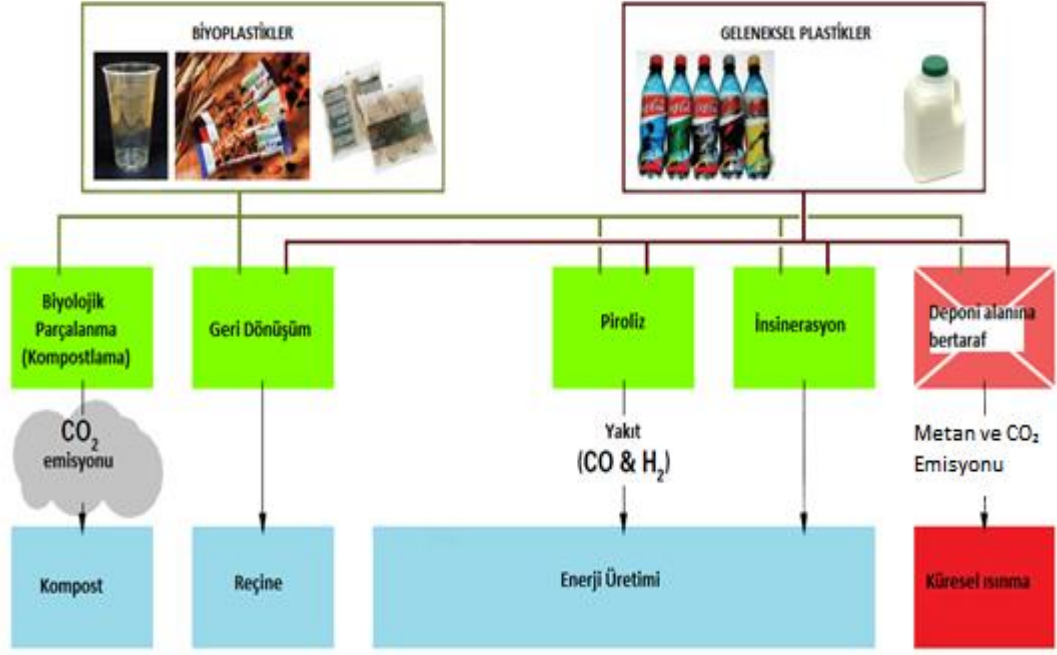
Biyoplastik malzemeler, plastikler gibi çok büyük miktarlarda tüketilmediği ve üretimi yakın gelecekte gerçekleşen bir ürün olması nedeniyle henüz minimize edilmesi veya kaynağında azaltılması günümüzde söz konusu olmamaktadır. Fakat parçalanabilirliği hala araştırılan bu ürünlerin, yakın gelecekte çok büyük miktarlarda kullanılmasının mümkün olması sebebiyle kaynağında azaltılması, minimize edilmesi yoluna gidilmeli ve üreticiler ve tüketiciler tarafından yeniden kullanımı teşvik edilmelidir.

Kullanım ömrü tamamlanan biyoplastik malzemeler geri dönüştürülebilir özelliktedir. Günümüzde üretilen biyoplastik malzemelerin de geleneksel plastikler gibi malzeme kodları bulunmaktadır (Şekil 2.18.) [1, 11, 37]. Bu kodlar yardımıyla, biyoplastik malzemelerin geri dönüşüm işlemleri sırasında, geleneksel plastiklerle kontamine olmaması için ayrı toplanması gerekmektedir [37].



Şekil 2.18. Biyoplastik malzeme kodları [1, 11, 37].

Biyoplastik atıkların, enerji geri kazanımı ile atık yönetimleri hala araştırma aşamasındadır. Ancak yakın gelecekte biyoplastik atıklardan yakma gibi termal yöntemlerle enerji elde edilmesi mümkündür. Geleneksel plastikler ile biyoplastiklerin atık yönetim alternatiflerinin karşılaştırılması Şekil 2.19.'da gösterilmektedir. [37].



Şekil 2.19. Biyoplastiklerle geleneksel plastiklerin atık yönetimlerinin karşılaştırılması [37].

Nişasta bazlı biyoplastiklerin çöp deponi alanlarına bertarafı, sentetik polimerlerden, lignin veya selüloz bazlı biyoplastiklerin bertarafından daha kolay olabilmektedir [44].

Biyoplastiklerin, yenilenebilir kaynak kökenli olması nedeniyle parçalanabilir olması beklenmektedir. Ancak dayanıklılık doğasına ve yapısına bağlı olarak yenilenebilir kaynak esaslı biyoplastiklerin biyolojik olarak parçalanamayan özellikte olması da beklenmektedir [29].

Körner ve ark. [16] biyolojik parçalanmayı kompostlama gibi biyolojik parçalanmanın kontrol şartları altında parçalanma olarak tanımlamışlardır. Bir

plastik “biyolojik kompostlaşabilir” olarak adlandırıldığında, kompostlama esnasında diğer kompostlaşabilen malzemelerle benzer bir oranda ve görünür toksik bakiye bırakmaksızın biyolojik olarak ayrıştırılındır [16].

2.3. KAHVERENGİ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLAR

Funguslar fotosentetik olmayan bitkiler olarak tanımlanmaktadır. Fotosentetik pigmentlerinin olmayışı, fungusları karbon ve enerji kaynağı olarak organik maddeyi kullanmaya zorunlu kılmıştır [45]. Doğada yaklaşık 400.000 adet çeşidi bulunmakla birlikte oldukça gelişmiş hücresel yapıya sahip ökaryotik canlılardır [46].

Fungusların hücre duvarlarında kitin ve selüloz karakterinde maddelerin bulunmasından dolayı, devamlı değişen çevre koşullarına uyum sağlamada oldukça dirençlidirler. Funguslar genellikle düşük pH değerlerinde bile kolayca üreyebilmekte ve zor koşullara adapte olabilmektedirler. Bu sebeple minimum ve maksimum pH limitleri 2-11 arasında değişebilmektedir. Fungusların üreme ısı limitleri oldukça geniştir ve türler arasında farklar göstermektedir. Bu sınırlar 0-60 °C arasında değişmektedir. Hifalar maksimum ısı limitinin dışında kolayca ölmelerine karşın, sporları yüksek ısıya ve değişik çevre koşullarına çok fazla dayanıklılık göstermektedirler [46].

Funguslar taksonomik olarak, Ascomycota (*sac fungi*), Zygomycota (*Conjugation Fungi*), Chytridiomycota (chytrids), Deuteromycota (The Fungi Imperfecti) ve Basidiomycota (club fungi) olmak üzere beş ana gruba ayrılmaktadırlar [45, 46].

Odunun yapısında bulunan maddeleri parçalama özelliğine göre ise funguslar beyaz, kahverengi ve yumuşak çürükçül funguslar olarak üç sınıfa ayrılmaktadırlar. Yumuşak çürükçül funguslar, Ascomycete ve fungi imperfecti (deutromycete) gruplarını içermekte ve selülozu ayrıştırırken lignini kısmi olarak parçalayabilmektedirler. Kahverengi çürükçül funguslar, basidiomycetelerin bir

kısmını içermekle birlikte selüloz ve hemiselülozu parçalarken lignini çok küçük bir oranda parçalamakta, böylelikle odunun daha koyu bir renk almasına neden olmaktadır [46]. Beyaz çürükçül funguslar ise selüloz ve hemiselüloz gibi polisakkaritlerin yanında lignini de parçalamakta lignin de uzaklaştırıldığı için odununun daha açık bir renk almasına sebep olmaktadır [45, 47, 48].

Kahverengi çürükçül fungusların polimerleri parçalama yetenekleri nedeniyle doğadaki karbon döngüsünde önemli bir yerleri bulunmaktadır. Kahverengi çürükçül fungus *Gloephyllum trabeum* hemiselüloz ve selülozu parçalayan birçok hücre dışı enzim üretmektedir [47,49]. Çürükçül funguslar ürettikleri enzimler yardımı ile birçok aromatik bileşenlerin geniş bir kısmını parçalayabilme yeteneğine sahip olan funguslardır. Ayrıca bazı funguslar, aromatik bileşenlerin geniş bir kısmının parçalanmasını sağlayan ligninolitik enzimlerle birlikte amilazları da üretebilmektedirler [44]. Kahverengi çürükçül funguslar tarafından üretilen α -amilaz, β -amilaz ve glikoamilaz gibi enzimler yardımıyla, çok sayıda glikoz molekülünün farklı şekillerde bağlanmasıyla oluşmuş polisakkarit özellikte bir bileşik olan nişasta da parçalanabilmektedir [16, 48, 49].

Katı faz fermantasyon sistemleri, serbest suyun yokluğunda nemli katı materyallerin üzerinde mikroorganizmaların büyümesi olarak tanımlanmaktadır. Askıda katı faz fermantasyon sistemleri ise, sıvı süspansiyon içinde bulunan katı materyaller üzerinde mikroorganizmaların üretildiği bir sistemdir [50, 51]. Funguslar fizyolojik, enzimolojik ve biyokimyasal özelliklerinden dolayı fermantasyon sistemlerine en iyi adapte olan mikroorganizmalardan biridir [51, 52].

2.4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Gaspar ve arkadaşları [53] biyoplastiklerin dayanıklılıklarını artırmak için biyoplastiklere selüloz, hemiselüloz ve protein gibi doğal polimerleri eklemişler ve en iyi dayanıklılığın hemiselüloz ile karıştırılan nişasta bazlı biyoplastiklerde olduğunu saptamışlardır.

Dintcheva ve La Mantia [54] nişasta bazlı biyoplastiklerin, mekaniksel dayanıklılıkların bir göstergesi olan, foto-oksidasyon özelliklerini araştırmışlar ve bu biyoplastiklerin güneş ışığı varlığındaki dayanıklılıklarının çok düşük olduğunu saptamışlardır. UV stabilleştirici gibi bazı katkı maddelerinin eklenmesi halinde bu malzemelerin dayanıklılıklarının artırılabilirliğini rapor etmişlerdir.

Lörcks [55] nişasta bazlı biyoplastiklerin geçirgenliği gibi işleme sırasındaki mekaniksel özelliklerini araştırmış, polietilen gibi geleneksel plastiklere benzer biçimde bu biyoplastiklerin işleme sırasında şeffaf, opak ve renklendirilebilir olduğunu saptamıştır.

Iles ve Martin [56] tarafından biyoplastik malzemelerin piyasadaki gelişimleri ve tüketimlerinin artırılması için, sürdürülebilirliklerinin ve avantajlarının kanıtlanması gerektiği ileri sürülmüştür.

Yagi ve arkadaşları [57] biyoplastiklerin anaerobik biyolojik parçalanabilirliğini araştırmışlardır. Biyoplastik atıklar, sebze atıkları ve atıksu arıtma tesisi çamuru ile karıştırılarak dört farklı aşamadaki (7 gün, 12 gün, 18 gün ve 40 gün) biyolojik parçalanabilirlik aktiviteleri belirlenmiş ve en yüksek biyogaz eldesinin 18. günde olduğu tespit edilmiştir.

Accinelli ve arkadaşları ise [58] nişasta bazlı biyoplastik bir ambalajı toprağa inkübe ederek topraktaki parçalanabilirliklerini araştırmışlar ve çalışmanın 3. ayında biyoplastik ambalajın kütle azalışını %37 olarak saptamışlardır. Biyoplastik

ambalajın parçalanmasında bakterilerin ve özellikle fungusların biyoplastikleri karbon kaynağı olarak kullandığı rapor edilmiştir.

Yu ve ark. [59] selüloz bazlı biyoplastiğin yaşam döngüsünde değerlendirilmesi gereken bir aşama olan biyoplastiğin üretimi sırasında oluşan sera gazı miktarını araştırmışlardır. 1 kg biyoplastik üretimi sırasında 0,49 kg CO₂ emisyonu oluşturulduğunu saptamışlardır. 1 kg geleneksel plastiğin üretimi sırasında oluşturulan 2-3 kg CO₂ 'e kıyasla selüloz bazlı biyoplastiğin sera gazı üretimini %80 oranında azalttığı belirlenmiştir.

Carrillo ve arkadaşları [44] nişasta bazlı biyoplastik polimerlerinin beyaz çürükçül fungus *Phanerochaete chrysosporium* tarafından parçalanabilirliklerini araştırmışlardır. Bu amaçla şeker kamışı posası ile doldurulmuş bir reaktöre nişasta polimerinin eklenmesiyle ligninaz, amilaz ve selülaz gibi metabolitlerin üretimlerini gözlemlemişlerdir. Çalışmaların 32. gününde şeker kamışı üzerinde büyüyen *Phanerochaete chrysosporium* beyaz çürükçül fungusunun nişastanın %74'ünü parçaladığı saptanmıştır.

Yapılan literatür araştırmalarında biyoplastiğin dayanıklılık, stabilite gibi mekaniksel özelliklerinin geliştirilmesine odaklanıldığı ve kahverengi çürükçül funguslarla biyolojik parçalanabilirlik üzerine yeterli araştırmanın yapılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada günümüzde kullanım alanı genişlemekte olan nişasta bazlı biyoplastiğin katı faz ve askıda katı faz fermantasyon olmak üzere iki farklı koşul altında kahverengi çürükçül fungus *Gloephyllum trabeum* ile biyolojik parçalanabilirliği araştırılmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Madde ve Malzemeler

3.1.1.1. Nişasta bazlı biyoplastik

Araştırmada www.amazon.com adresinden temin edilen conserve marka 40 adet mısır nişastasından üretilmiş biyoplastik kaşık kullanılmıştır.

3.1.1.2. Funguslar

Çalışmanın hazırlık aşamasında kullanılan çürükçül funguslar *Gloeophyllum trabeum*, *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei* ve *Funalia trogii* Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarından +4 °C’de muhafaza edilen ve 15 günde bir yenilenen kültürlerden elde edilmiştir.

3.1.1.3. Kimyasal maddeler

Çalışmada çürükçül fungusların katı besiyerinde geliştirilmesi amacıyla Merck marka 500g’lık patates dekstroz agar ve hazırlık aşamasında çürükçül fungusların nişasta polimerinin parçalama yeteneği testlerinde Merck marka 500g’lık çözünebilir nişasta, Aldrich marka potasyum iyodür (KI) ve Sigma-Aldrich marka iyodür (I₂) kullanılmıştır.

Stok mineral besiyerinde kullanılan fosfat tamponu (pH=5) Sigma-Aldrich marka potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve dipotasyum hidrojen (K₂HPO₄) fosfat ile hazırlanmıştır.

Çalışmada stok mineral besiyeri bileşiminin hazırlanmasında Merck marka magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), kalsiyum klorür dihidrat ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$), demir sülfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), mangan sülfat dihidrat ($MnSO_4 \cdot 2H_2O$) ve amonyum fosfat ($NH_4 \cdot H_2PO_4$) kullanılmıştır. Ayrıca biyolojik parçalanabilirlik çalışmalarında *G. trabeum* kahverengi çürükçül fungusunun pre-kültür ortamının bileşiminde Merck marka maya özütü ve Sigma-Aldrich marka glikoz kullanılmıştır. *G. trabeum* kahverengi çürükçül fungusunun pre-kültür ortamından ayrılıp stok mineral besiyerine ekilmeden önce karbon kaynağından arındırılması amacıyla Sigma-Aldrich marka sodyum klorür (NaCl) kullanılmıştır.

İndirgen şeker türlerinin analizinde Sigma-Aldrich marka 3,5- dinitro salisik asit, Merck marka fenol sodyum sülfat (Na_2SO_3), sodyum hidroksit (NaOH) ve sodyum potasyum tartarat (Rochelle tuzu) ($KNaC_4H_4O_6$) kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

3.1.2.1. Santrifüj

Çalışmanın hazırlık ve biyolojik parçalanabilirlik çalışmaları aşamasında numunelerin katı ve sıvı fazlarının ayrılması amacıyla Hettich marka Eba 20 model santrifüj kullanılmıştır.

3.1.2.2. Spektrofotometre

Dinitrosalisik asit (DNS) metodu ile redükte şeker tayininde Hach/DR 2010 marka spektrofotometre cihazı kullanılmış, analizler 575 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.3. pH metre

Gerçekleştirilen çalışmalarda stok mineral besiyerinin pH ayarı için Orion 3-Star marka pH metre kullanılmıştır.

3.1.2.4. İnkübatör

Hazırlık çalışmaları aşamasında geliştirilen çürükçül fungusların inkübasyonunda Velp marka FTC 90E model inkübatör kullanılmıştır.

Biyolojik parçalanabilirlik çalışmalarında *G. trabeum* kahverengi çürükçül fungusunun inkübasyonunda Sanyo marka inkübatör kullanılmıştır.

3.1.2.5. Otoklav

Çalışmada sterilizasyon için JP Selecta marka otoklav kullanılmıştır.

3.1.2.6. Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi (GC-MS)

Biyolojik parçalanabilirlik çalışmalarında numunelerin sıvı fazlarında son ürünlerin analizi için Agilent marka 5975 C89 model GC-MS cihazı kullanılmıştır.

Ayrıca GC-MS analizlerinde sıvı fazın uçucu hale getirilmesinde O.I. Analytical Eclipse marka 4660 model purge and trap cihazı kullanılmıştır.

3.1.2.7. Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC)

Biyolojik parçalanabilirlik çalışmalarında numunelerin sıvı fazlarındaki şeker türlerinin belirlenmesi amacıyla Agilent marka 1200 model HPLC cihazı kullanılmıştır. Cihazda, 4,6x250 mm 5 μ , Agilent marka Zorbax-Carbonhydrate model kolon kullanılmıştır.

3.2. METOD

3.2.1. Hazırlık Çalışmaları

Araştırmanın hazırlık çalışmaları Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği su ve atıksu laboratuvarı ile biyoteknoloji laboratuvarında ve İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. Çürükçül fungusların kültüre alınması

+4 °C'de gliserin içinde muhafaza edilen çürükçül funguslar *Gloeophyllum trabeum* ve *Trichoderma reesei* Patates Dekstroz Agar (PDA) içeriğine sahip sterilize edilmiş petri kaplarına ekilmiş ve 24 °C'de 15 gün süre inkübe edilmiştir. PDA besiyerinde, +4 °C'de muhafaza edilen *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Funalia trogii* fungusları ise yeniden PDA besi yerine aşlanarak 24 °C'de 15 gün süre ile inkübe edilmiştir.

3.2.1.2. Çalışmada kullanılacak çürükçül fungusun seçiminin yapılması

Çalışmada kullanılacak olan fungusun belirlenmesi için beş farklı çürükçül fungus türünün (*Gloeophyllum trabeum*, *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei* ve *Funalia trogii*) nişasta polimerini parçalama yeteneği test edilmiştir.

Ön çalışmada %1 nişasta içeren çözeltinin her bir litresine 15 g agar-agar eklenerek besiyeri hazırlanmış ve besiyeri 121 °C'de 1 atm'de 20 dk otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besiyeri, aseptik koşullar altında steril petri kaplarına eşit hacimlerle (12 mL) dökülmüş ve her fungus türü bu içeriğe sahip petri kaplarına aşlanmıştır. Funguslar statik koşullarda 24°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Yedi günlük inkübasyon süresinin sonunda fungus misellerinin petri kabının yüzeyini örtecek şekilde geliştiği gözlenmiştir.

Fungusların salgıladıkları amilaz enzimi ile nişasta polimerini parçalamaları sonucu petri yüzeyinde oluşması beklenen nişasta içeren ve içermeyen bölgelerin belirlenmesi amacı ile nişastanın indikatörü olan iyot çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözelti 100 mL de-iyonize suda 0,5 g potasyum iyodürün (KI) ve 1 g iyodürün (I₂) çözünmesiyle hazırlanmıştır.

İnkübasyon süresinin sonunda, fungusların nişasta polimerinin parçalama yeteneklerinin ve beş farklı fungus türü arasından (*Gloeophyllum trabeum*, *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei* ve *Funalia trogii*) yüksek aktivite ile amilaz üreten fungusun belirlenmesi amacıyla farklı türleri içeren petri kaplarına 15'er mL iyot çözeltisi ilave edilmiştir. Petri kaplarında farklı renklerde oluşan bölgeler gözlenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.2.2. Biyolojik Parçalanabilirlik Çalışmaları

Araştırmanın biyolojik parçalanabilirlik çalışmaları Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği su ve atıksu laboratuvarı ile biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çalışmaların HPLC ve GC-MS aletsel analizleri İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Biyoplastik numunelerinin hazırlanması

Biyolojik parçalanabilirlik çalışmaları için nişasta bazlı biyoplastik kaşık numuneleri gerçek atıklarla eşdeğer olması açısından bir süreliğine kullanıldıktan sonra yıkanarak temizlenmiş, yaklaşık eşit boyutlarla granül hale getirilmiş ve hassas terazide tartımları için hazır hale getirilmiştir.

3.2.2.2. *Gloeophyllum trabeum* 'un kültüre alınması

G. trabeum (ATCC 11539), PDA içeriğine sahip besiyerinde miselleri petri kabının yüzeyini kaplayacak şekilde yetiştirilerek 7 gün süre ile 24⁰C'de statik koşullar altında inkübe edilmiştir. Fungusun katı kültüründen yaklaşık 1 cm² olacak şekilde kesilerek alınan agar parçaları, sterilize edilmiş pre-kültür besiyeri içeren erlenlere aşılanmıştır (Çizelge 3.1.). Erlenler, 24 ⁰C ve 150 rpm'de orbital çalkalamalı inkübatörde 7 gün süre ile inkübe edilmiştir.

Çizelge 3.1. Pre-kültür besiyeri [60].

Kullanılan Kimyasallar	Miktar (g/L)
Glikoz	10
Yeast malt broth	5

Yedi günlük inkübasyon süresinin sonunda erlenler içerisinde *G. trabeum* biyokütlesi steril şartlarda filtrasyon ile sıvı fazdan ayrılmış ve steril izotonik serum (%0.09'luk NaCl çözeltisi) ile iki kez yıkanmıştır. Böylece pre-kültür ortamından gelmesi muhtemel karbon kaynağından arındırılmıştır. Ardından sterilize edilmiş deiyonize su ile yıkanarak NaCl çözeltisinden gelmesi muhtemel tuzdan da arındırılmıştır. Yıkanan fungus biyokütlesi 100 mL steril deiyonize su içeren 250 mL'lik erlene koyularak biyolojik parçalanabilirlik çalışmalarında kullanılmak üzere steril şartlarda, el tipi doku homojenizatöründe 13500 rpm'de 30 sn boyunca homojenize edilmiştir [1]. Oluşan misel süspansiyonunun kuru kütle içeriği $14,70 \pm 1,50$ mg kuru kütle/mL olarak belirlenmiştir (Bölüm 4.2.5.).

3.2.2.3. Katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmaları

Nişasta bazlı biyoplastik atıklarının *G. trabeum* kahverengi çürükçül fungusu tarafından parçalanabilirlik çalışmaları "katı faz fermantasyonu" ve "askıda katı faz fermantasyonu" olmak üzere iki farklı koşul altında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarda kullanılan stok mineral besiyerinin içeriği Çizelge 3.2.'de görülmektedir. Çalışmada ortam pH'ının ayarlanması için 0,1 M pH=5 fosfat tamponu kullanılmış, besiyerine karbon kaynağı eklenmemiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan stok mineral besiyeri

Kullanılan Kimyasallar	Miktar (g/L)
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.005
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.005
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.001
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.001
NH ₄ .H ₂ PO ₄	0.005

Katı faz fermantasyon çalışmaları 20 mL'lik cam şişeler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 2,5 - 5 ve 10 g biyoplastik granülleri içeren şişeler hazırlanmıştır. Her bir şişeye karbon kaynağı içermeyen stok mineral besiyerinden 12 mL eklenmiş ve şişeler 121 °C'de 20 dakika süre ile otoklavda steril edilmiştir. Farklı biyoplastik miktarları içeren şişelere homojenize edilmiş *G. trabeum* misel süspansiyonundan farklı miktarlarda (2 mL ve 4 mL olmak üzere) aşılama yapılmış ve her biri 3 tekrar olan deney setleri oluşturulmuştur (Çizelge 3.3.). Aşı, 14,70 ± 1,50 mg kuru kütle/mL *G. trabeum* misel süspansiyonu içermektedir.

Askıda katı faz fermantasyon çalışmaları 250 mL'lik erlenler içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 2,5 - 5 ve 10 g biyoplastik granülleri içeren erlenler hazırlanmıştır. Her bir erlene karbon kaynağı içermeyen stok mineral besiyerinden 25 mL eklenmiş ve erlenler 121 °C'de 20 dk süre ile otoklavda steril edilmiştir. Sterilize edilmiş sıvı besiyeri ve farklı miktarlarda biyoplastik granülleri içeriğine sahip erlenlere, homojenize edilmiş *G. trabeum* misel süspansiyonundan farklı miktarlarda (2 mL ve 4 mL) aşılama yapılmış ve her biri 3 tekrar olan deney setleri oluşturulmuştur (Çizelge 3.3.). Aşı, 14,70 ± 1,50 mg kuru kütle/mL *G. trabeum* misel süspansiyonu içermektedir.

Hazırlanan katı faz ve askıda katı faz fermantasyon numuneleri çalışma boyunca 24 °C'de inkübe edilmiştir. Numunelerin üst sıvı fazlarından gerekli analizler için 1 hafta ara ile aseptik koşullar altında 10 mL alınmış ve hemen ardından aynı koşullar altında numunelere 10 mL sterilize edilmiş 0,1 M pH=5 fosfat tamponu ilave edilmiştir. Numunelerin üst sıvı fazlarından alınan sıvılar biyolojik parçalanabilirlik çalışmaları için toplam indirgen şeker tayini Dinitrosalisik asit (DNS) metoduna, HPLC ve GC-MS analizlerine tabi tutulmuştur.

3.2.2.4. Şahit numunelerinin hazırlanması

Katı faz fermantasyon ve askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında her biri üç tekrar olan üç farklı şahit numune seti kullanılmıştır. Birinci set sadece 10 g biyoplastik granülleri ve 25 mL stok mineral besiyeri içeren, ikinci set 2mL fungus aşılansmış 25 mL stok mineral besiyeri içeren ve üçüncü set ise sadece 25 mL stok mineral besiyeri içeren 250 mL'lik erlenlerden oluşturulmuştur (Çizelge 3.3.). Şahit numune setlerine ait erlenler 121 °C'de 20 dk süre ile otoklavda steril edilmiştir. İkinci sete fungus aşılması sterilizasyonun ardından aseptik şartlarda gerçekleştirilmiştir. Şahit numunelerin inkübasyonu diğer deney setleri ile aynı şartlarda (24°C) gerçekleştirilmiş ve bu numunelerden belirlenen sürelerde alınan sıvı kısımlar, HPLC ile şeker türlerinin analizi ve GC-MS ile son ürün analizleri için kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Askıda katı faz, katı faz fermantasyon ve şahit numune deney setleri

	Set	Biyoplastik Granül Miktarı (g)	Aşılana n Fungus Miktarı (14,70 ± 1,50 mg kuru kütle/mL)	Stok Mineral Besiyeri hacmi (mL)	Biyoplastik miktarı/Besiyeri hacmi (g/L)
Katı faz	1	2,5	2 mL	12 mL	208
	2	5	2 mL	12 mL	416
	3	10	2 mL	12 mL	832
	4	2,5	4 mL	12 mL	208
	5	5	4 mL	12 mL	416
	6	10	4 mL	12 mL	832
Askıda katı faz	7	2,5	2 mL	25 mL	100
	8	5	2 mL	25 mL	200
	9	10	2 mL	25 mL	400
	10	2,5	4 mL	25 mL	100
	11	5	4 mL	25 mL	200
	12	10	4 mL	25 mL	400
Kontrol (Şahit)	13	10	-	25 mL	-
	14	-	2 mL	25 mL	-
	15	-	-	25 mL	-

3.2.2.5. DNS metodu ile indirgen şeker analizi

Sabit sıcaklıkta (24 °C) inkübe edilen askıda katı faz ve katı faz fermantasyon deney setlerinin sıvı fazlarından haftalık alınan numuneler Dinitrosalisik asit (DNS) metodu ile glikoz cinsinden indirgen şeker tayini için kullanılmıştır [44].

DNS metodunda 10 g dinitrosalisik asit, 2 g fenol, 0,5 g sodyum sülfid ve 10 g sodyum hidroksit kimyasal maddelerinin 1 L deiyonize suya tamamlanması ile oluşturulan dinitrosalisik asitin %1'lik çözeltisi ve potasyum tartaratın %40'lık çözeltisi (Rochelle çözeltisi) kullanılmış ve yöntem aşağıdaki adımlarla gerçekleştirilmiştir.

1. Setlerin üst sıvı fazlarından aseptik koşullar altında 10'ar mL'lik numuneler alınmış ve santrifüj tüplerine aktarılmıştır.

2. Santrifüj tüplerindeki numuneler ortamdaki gelmesi muhtemel fungus misellerinin çöktürülmesi amacıyla ile 4 °C'de 6000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edilmiştir.

3. Santrifüj edilen tüplerdeki numunelerin üst fazlarından 3 tekrar olmak üzere 3'er mL'lik numuneler alınmış ve cam deney tüplerine aktarılmıştır. Her bir tüpe 3 mL dinitrosalisik asit çözeltisi ilave edilmiştir.

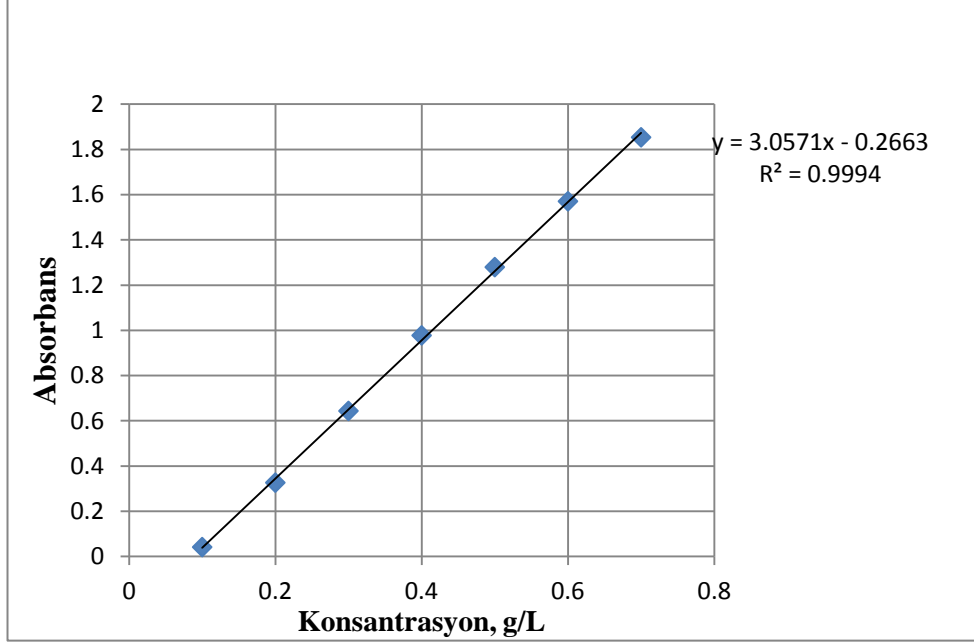
4. Ortamlarda renkli kompleksin oluşması için cam tüplerdeki numuneler 90 °C'lik su banyosunda 15 dk süreliğine beklemeye bırakılmıştır.

5. On beş dakikalık sürenin sonunda cam tüplerdeki numunelerin her birine rengi sabitlemesi amacıyla 1 mL Rochelle tuzu ilave edilerek oda sıcaklığında 15 dk soğumaya bırakılmıştır.

6. Oda sıcaklığına gelen numunelerin spektrofotometrede, 575 nm'de absorbansı okunmuştur. Okunan absorbans değerleri oluşturulan glikoz standart eğrisi yardımıyla glikoz cinsinden konsantrasyonu saptanmıştır.

Glikoz standart eğrisi 0,7 g/L'lik glikoz çözeltisinin 0,1 g/L, 0,2 g/L, 0,3 g/L, 0,4 g/L, 0,5 g/L, 0,6 g/L ve 0,7 g/L konsantrasyonlarındaki seyreltilmiş çözeltilerinin 3 mL'lik 3 tekrar numunelerine DNS metodunun uygulanması ve 575

nm’de spektrofotometrede absorbans değerlerinin okunması ile belirlenmiştir (Şekil 3.1.).

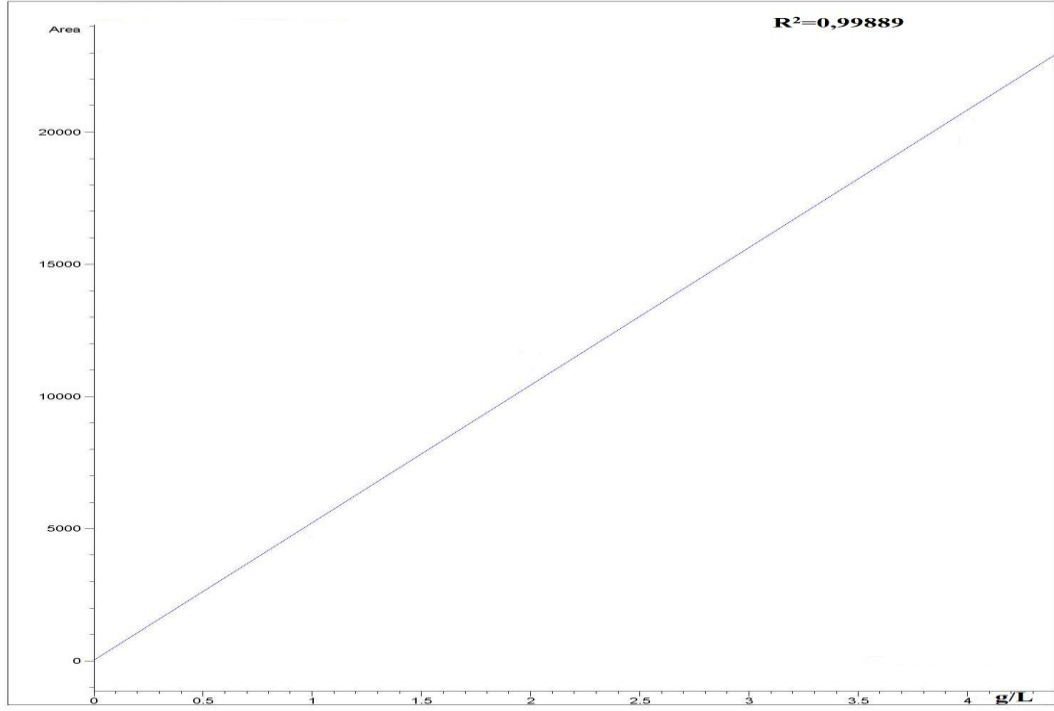


Şekil 3.1. DNS metod glikoz standart eğrisi

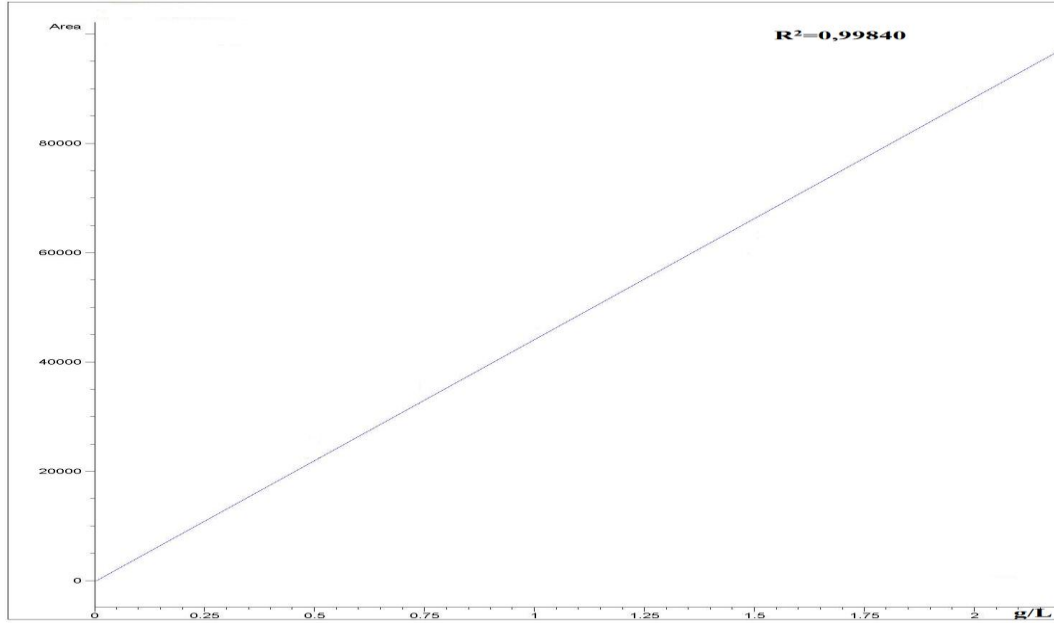
3.2.2.6. Şeker türleri analiz çalışmaları (HPLC)

HPLC analizlerinden önce katı faz fermantasyon ve askıda katı faz fermantasyon deney setlerinden alınan sıvı faz numuneleri 0,45 µm’luk enjektör tipi filtrelerden (Millipor) geçirilmiştir. HPLC’de şeker türlerinin (glikoz, fruktoz, galaktoz, arabinoz, mannoz, sükroz, ksiloz) analizi; taşıyıcı fazın 75/25 Asetonitril/deiyonize su olarak kullanıldığı 1,4 mL/dk akış hızıyla, 30 °C’de, 10 µL örnekleme yapılarak, 15 dakika kromatografi uygulanmıştır.

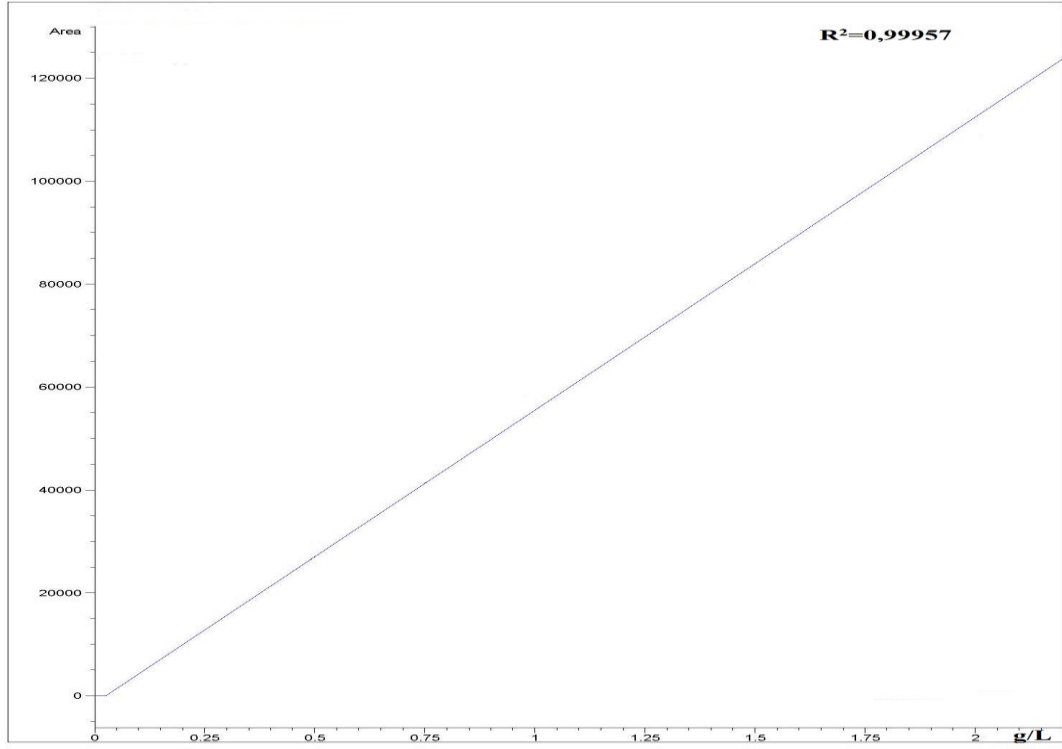
Numunelerin analizlerinden önce heksozlar için ayrı ayrı standart eğriler oluşturulmuştur. Analizler için standart derişimleri 0,25; 0,5; 1,0; 2,5 ve 4,0 g/L olarak hazırlanan 7 farklı şeker türünün (arabinoz, glikoz, fruktoz, galaktoz, mannoz, sükroz, ksiloz) HPLC cihazında standart eğrileri oluşturulmuştur. (Şekil 3.2.-Şekil 3.8.).



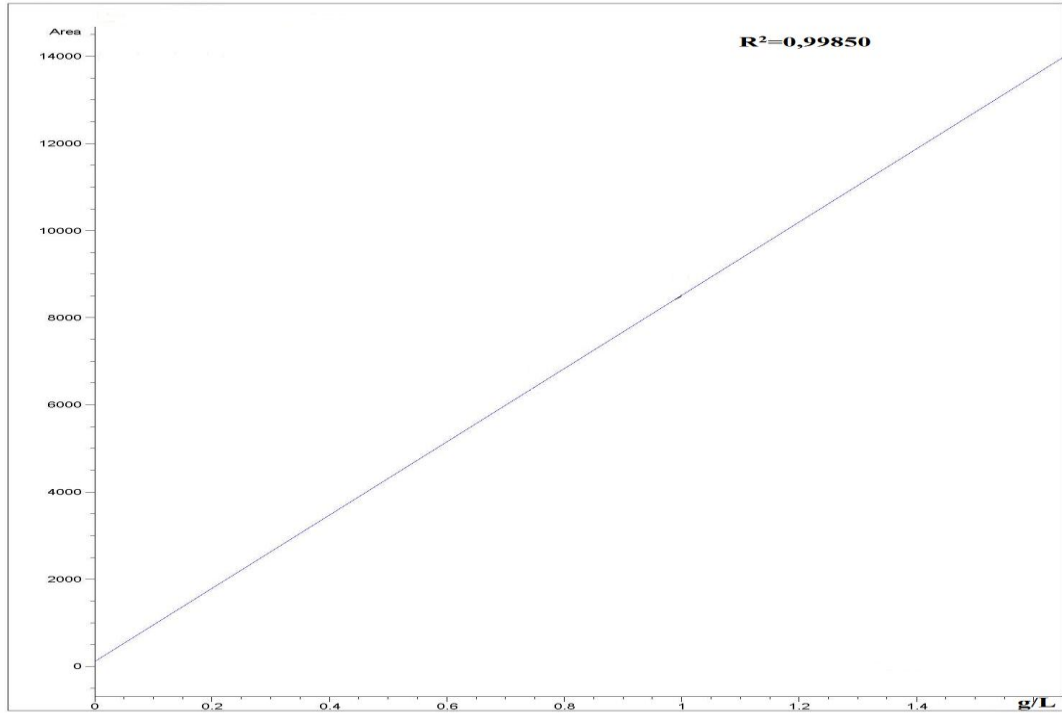
Şekil 3.2. Arabinoz standart eğrisi



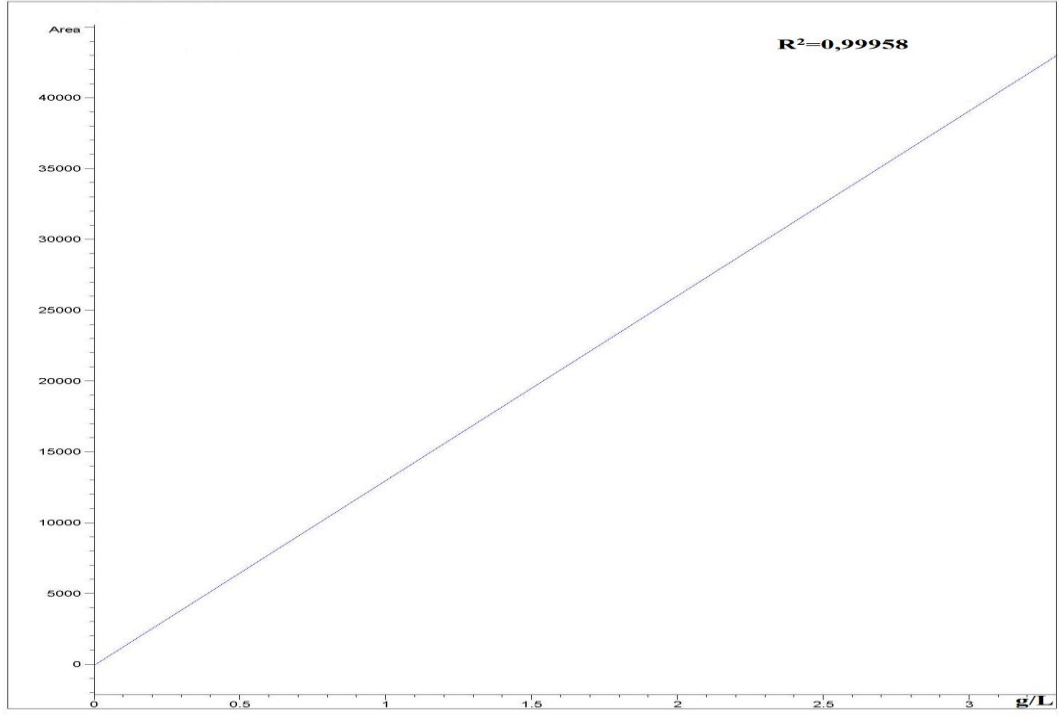
Şekil 3.3. Glikoz standart eğrisi



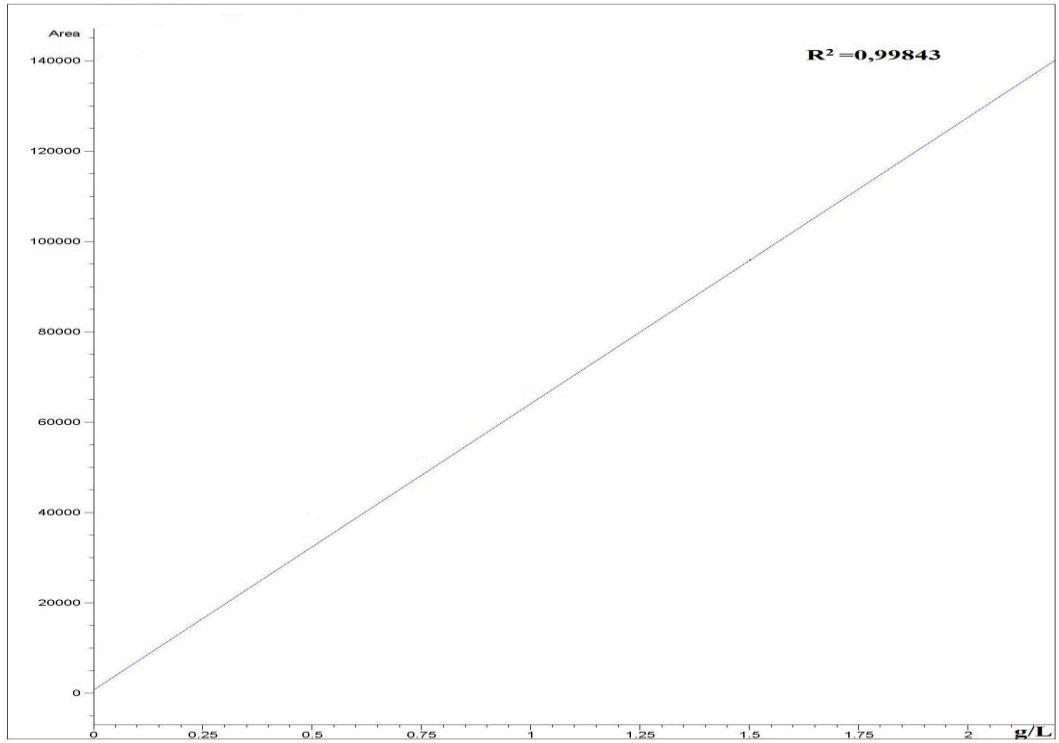
Şekil 3.4. Fruktöz standart eğrisi



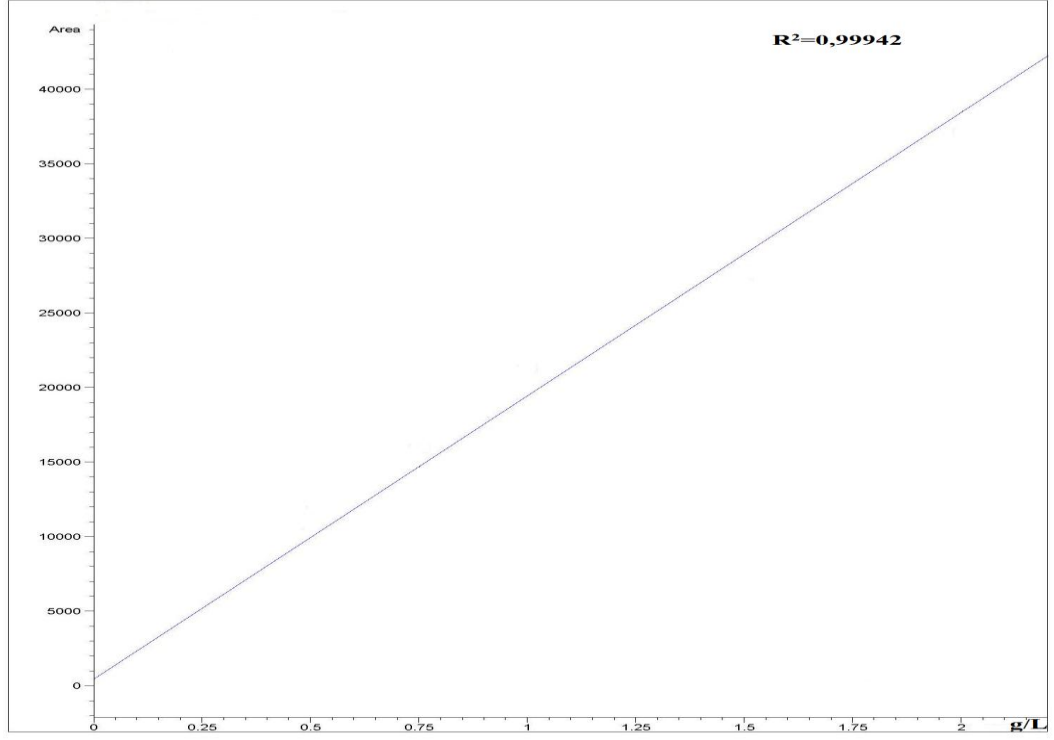
Şekil 3.5. Galaktoz standart eğrisi



Şekil 3.6. Mannoz standart eğrisi



Şekil 3.7. Sükroz standart eğrisi



Şekil 3.8. Ksiloz standart eğrisi

3.2.2.7. Son ürün analiz çalışmaları (GC-MS)

Katı faz ve askıda katı faz deney setlerinden haftalık olarak alınan sıvı numunelerdeki parçalanma ürünlerinin belirlenmesi için Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi cihazı kullanılmıştır. Analizlerde, taşıyıcı gaz olarak helyum (55 ml/dk.) kullanılmış olup çalışma koşulları Çizelge 3.4.'de verilmektedir.

Çizelge 3.4. GC-MS çalışma koşulları

Max fırın sıcaklığı	325 °C
Operasyon süresi	28 dk
İnjesiyon hacmi	3 µL, split
Split sıcaklığı	110 °C
Split toplam akış	194,61 mL/dk
Split oranı	100:1

3.2.2.8. Kuru fungal biyokütlenin belirlenmesi

Çalışmalarda kullanılan homojenize edilmiş fungusun misel süspansiyonunun 1 mL'sinde bulunan biyokütlesinin belirlenmesi amacıyla darası alınmış kaplara 3 tekrar olmak üzere 10 mL misel süspansiyonu eklenmiştir. Tartım kapları 80 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiş, bu sürenin sonunda 30 dakika süre ile desikatörde bekletilmiş ve hassas terazide tartımları yapılmıştır. Tartım sonucunda 1 mL misel süspansiyonun içerdiği fungusun kuru biyokütlesi belirlenmiştir (Bölüm 4.2.1.).

3.2.2.9. Biyolojik olarak parçalanan biyoplastik atık kütesinin saptanması

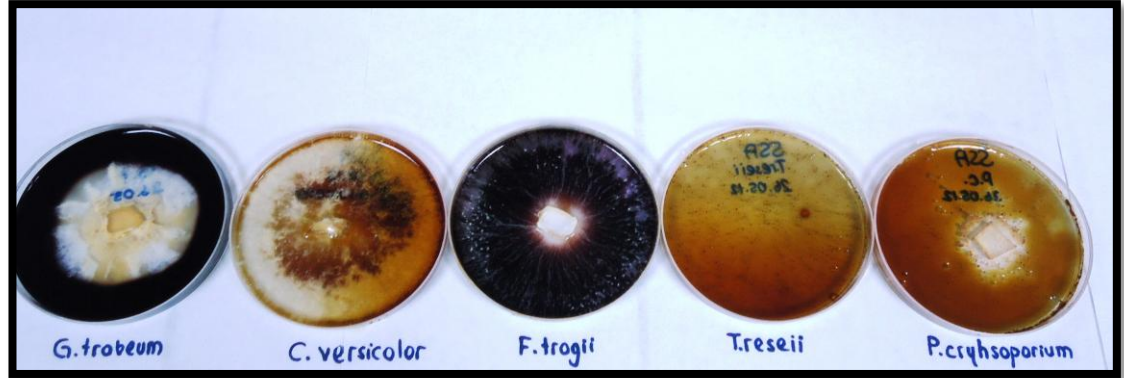
Deneysel çalışmaların tamamlanmasından sonra askıda katı faz ve katı faz fermantasyon deney setlerine ait ortamlar süzgeç yardımıyla süzülerek katı ve sıvı kısımları birbirinden ayrılmıştır. Katı kısım iki kez distile su ile yıkanarak biyoplastik kütesi ile fungusun ayrılması sağlanmıştır. Katı kısımda kalan biyoplastik kütesi 80°C'de 24 saat boyunca kurutulduktan ve desikatörde 30 dk boyunca bekletildikten sonra hassas terazide tartımı yapılmıştır. Tartım değerleri, başlangıç kütleleri bilinen biyoplastik numunelerinin biyolojik parçalanma süresince kaybettiği kütenin belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. HAZIRLIK ÇALIŞMALARI BULGULARI

4.1.1. Fungus Seçimi Çalışmaları

Bölüm 3.2.1.2.'de belirtildiği gibi beş farklı fungus türünün (*Gloeophyllum trabeum*, *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma reesei* ve *Funalia trogii*) bulunduğu %1 çözünebilir nişasta içeriğine sahip petri kaplarındaki kültürlerle 7 günlük inkübasyonun ardından iyot çözeltisi ilave edilmiş petri yüzeyinde nişasta içeren mor renkli bölgeler ve nişasta içermeyen renksiz bölgeler gözlemlenmiştir (Şekil 4.1.). İyot çözeltisi, nişasta varlığında mor –siyah renk alan bir indikatördür [62,63].



Şekil 4.1. Petri kaplarında (%1 çözülmüş nişasta) gelişen farklı türlerin kültürlerine iyot çözeltisi ilavesinden sonra gözlenen bölgeler

İyot çözeltisinin kültürlerle ilave edilmesinden sonra beş farklı kültürde de renksiz ve mor bölgeler gözlenmiştir. Gözlenen renksiz bölgeler, çalışmada kullanılan türler tarafından nişasta polimerinin karbon kaynağı olarak kullanılması için gerekli enzim veya enzim gruplarının üretildiğini ve nişastayı parçalama yeteneklerinin bulunduğunu göstermektedir. Kültürlerde, en geniş koloni çapına ve renksiz bölgeye sahip olması nedeniyle hücre dışına salgılanan amilaz enzimini [50], yüksek aktivite ile üreten fungusun *G. trabeum* çürükçül fungusu olduğu

belirlenmiştir. Bu nedenle nişasta bazlı biyoplastik polimerinin biyolojik olarak parçalanabilirlik çalışmaları *G. trabeum* ile gerçekleştirilmiştir.

4.2. BİYOLOJİK PARÇALANMA ÇALIŞMALARI

4.2.1. Kuru Fungal Biyokütlenin Belirlenmesi

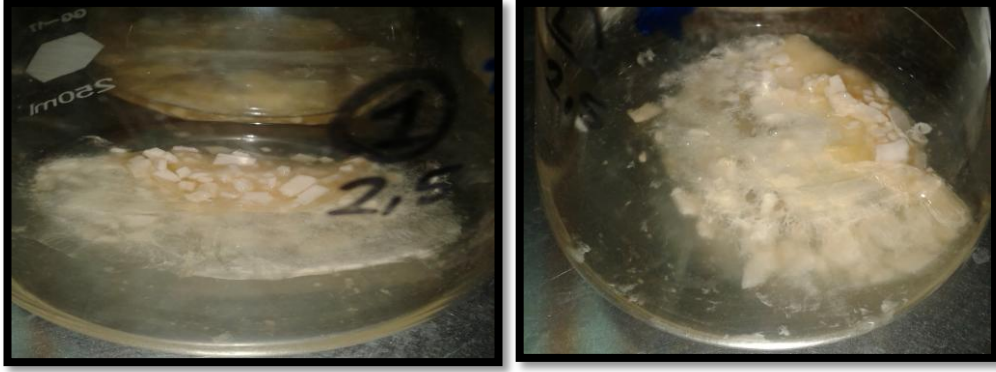
Bölüm 3.2.2.8.'de belirtildiği gibi, fermantasyon çalışmaları deney setlerine aşılama için homojenize edilmiş *G. trabeum* misel süspansiyonunun 1 mL'sindeki kuru kütle miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda belirlenen tartımlar Çizelge 4.1.'de gösterilmektedir. Tartım sonuçlarına göre 1 mL *G. trabeum* misel süspansiyonunun içerdiği kuru kütle $14,70 \pm 1,50$ mg olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Kuru fungal biyokütle tartımları

Tartım No	mg kuru kütle/mL <i>G. trabeum</i> misel süspansiyonu
1	13,10
2	16,10
3	14,60
Ortalama değer	$14,70 \pm 1,50$

4.2.2. Deney Setlerine Aşılama *G. trabeum* Fungusunun Gelişimi

Belirli miktarlarda nişasta bazlı biyoplastik granülleri ve stok mineral besiyeri içeren katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmaları deney setlerine (Bölüm 3.2.2.3.) $14,70 \pm 1,50$ mg kuru kütle/mL *G. trabeum* misel süspansiyonu içeren aşılama yapılmıştır. Aşılama sonrasında 1 hafta sonra tüm deney setlerinde, *G. trabeum*'un biyoplastik granüllerine tutunarak miselyum oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2.). *G. trabeum* fungusunun biyoplastik granülleri üzerinde miselyum oluşturarak gelişmesi nişasta bazlı biyoplastik granüllerini karbon kaynağı olarak kullandığının bir göstergesidir.

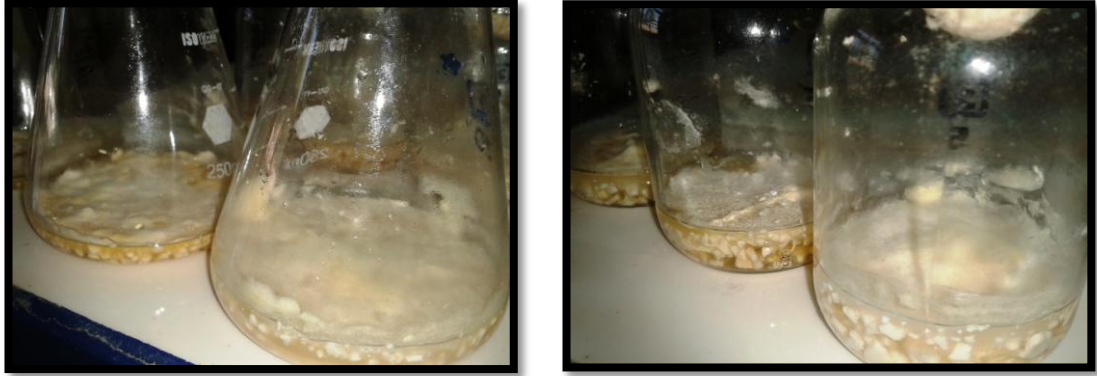


(a)

(b)

Şekil 4.2. Aşılardan 1 hafta sonra askıda katı faz (a) ve katı faz (b) fermantasyon çalışmaları deney setlerinde *G. trabeum*'un biyoplastik granülleri üzerindeki gelişimi

Çalışmalarda deney setlerinde bulunan *G. trabeum* fungusunun sıvı ortamın yüzeyini örtecek şekilde miselyum geliştirdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.3.). Bunun nedeni yeterli oksijen alabilmek için miselyal yapının yüzeyde gelişmesi olarak düşünülmektedir.

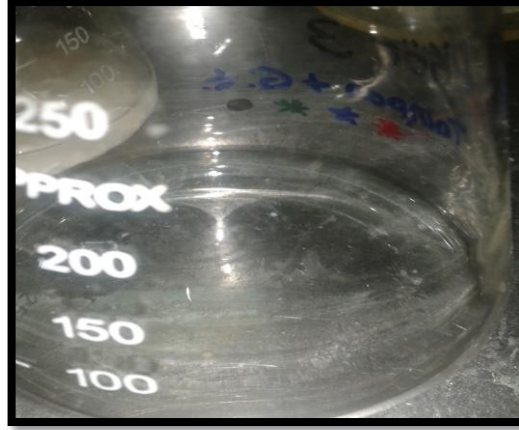


(a)

(b)

Şekil 4.3. Çalışma boyunca askıda katı faz (a) ve katı faz (b) fermantasyon çalışmaları deney setlerinde *G. trabeum*'un biyoplastik granülleri üzerindeki gelişimi

Bölüm 3.2.2.4.'de belirtildiği gibi hazırlanan *G. trabeum* ve stok mineral besiyeri içeriğindeki 14 numaralı şahit numunede (Çizelge 3.3.) çalışma süresi boyunca fungus gelişimi gözlemlenmemiştir (Şekil 4.4.). On dört numaralı şahit numunede *G. trabeum* fungusunun gelişmemesinin sebebi stok mineral besiyerinin herhangi bir karbon kaynağı içermemesidir.

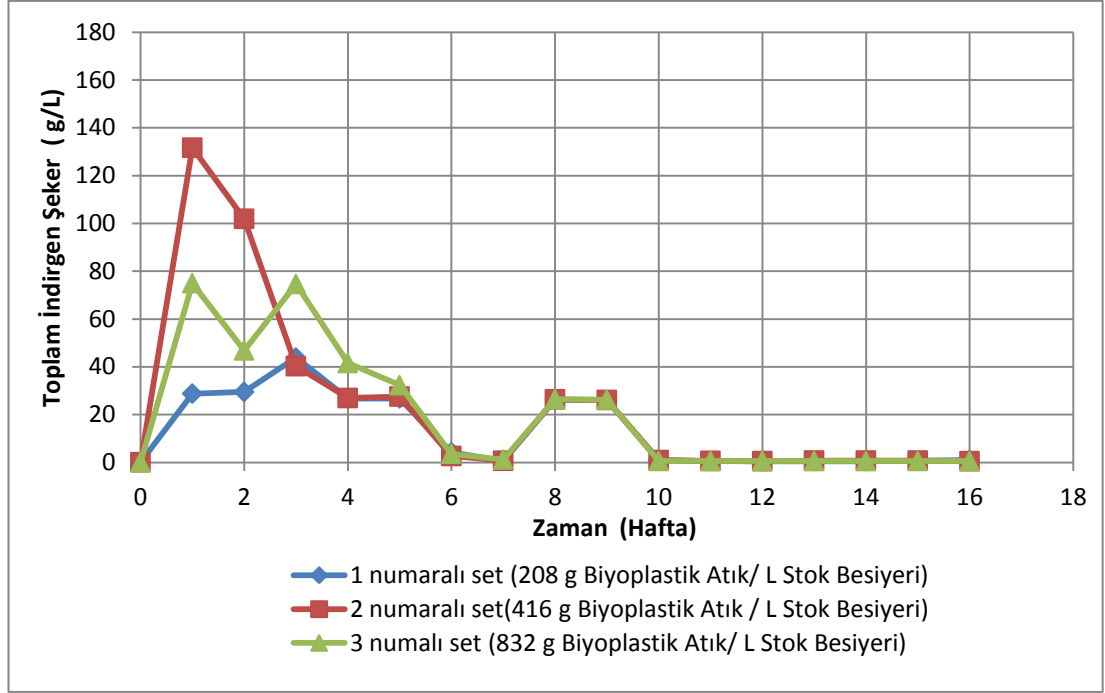


Şekil 4.4. On dört numaralı şahit numune deney setlerinde *G. trabeum*'un gelişimi

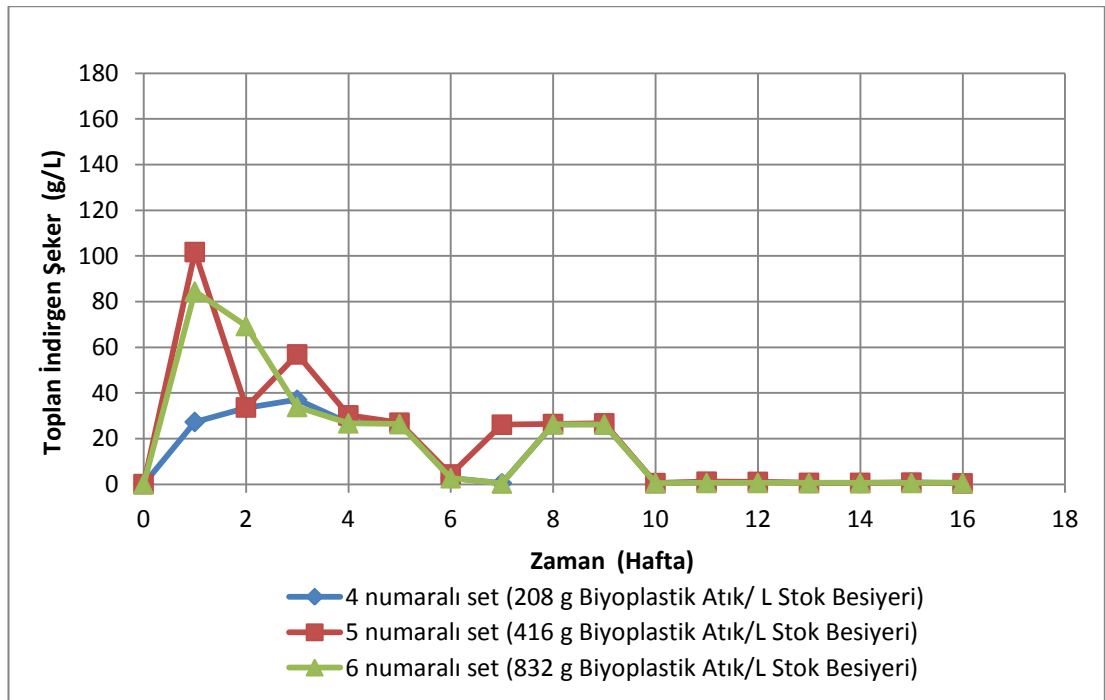
4.2.3. DNS Metodu ile Toplam İndirgen Şeker Analizi Sonuçları

4.2.3.1. Katı faz fermantasyon çalışmalarının zamana bağlı toplam indirgen şeker analizi sonuçları

Katı faz fermantasyon çalışmalarının, 2 mL *G. trabeum* içeren 1, 2, 3 numaralı setlerinde ve 4 mL *G. trabeum* fungusu içeren 4, 5, 6 numaralı setlerinde DNS metodu ile saptanan toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimleri Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da gösterilmektedir.



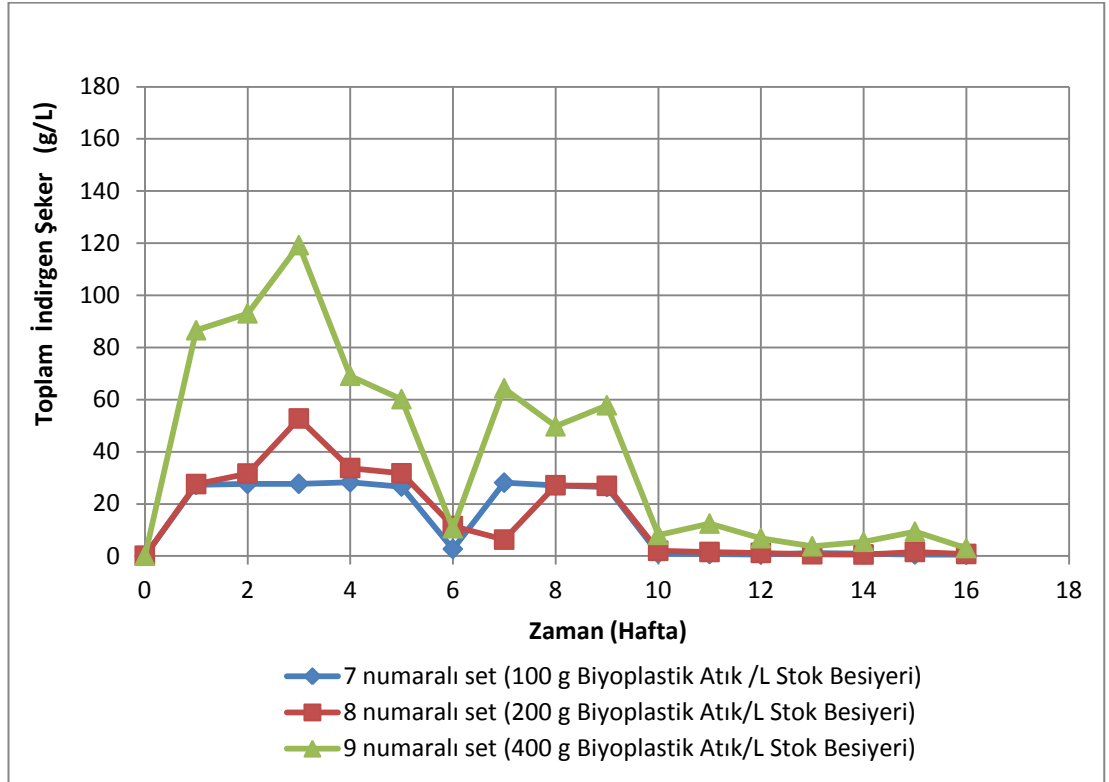
Şekil 4.5. Katı faz fermantasyon çalışmalarının 2 mL *G. trabeum* içeren 1, 2, 3 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi.



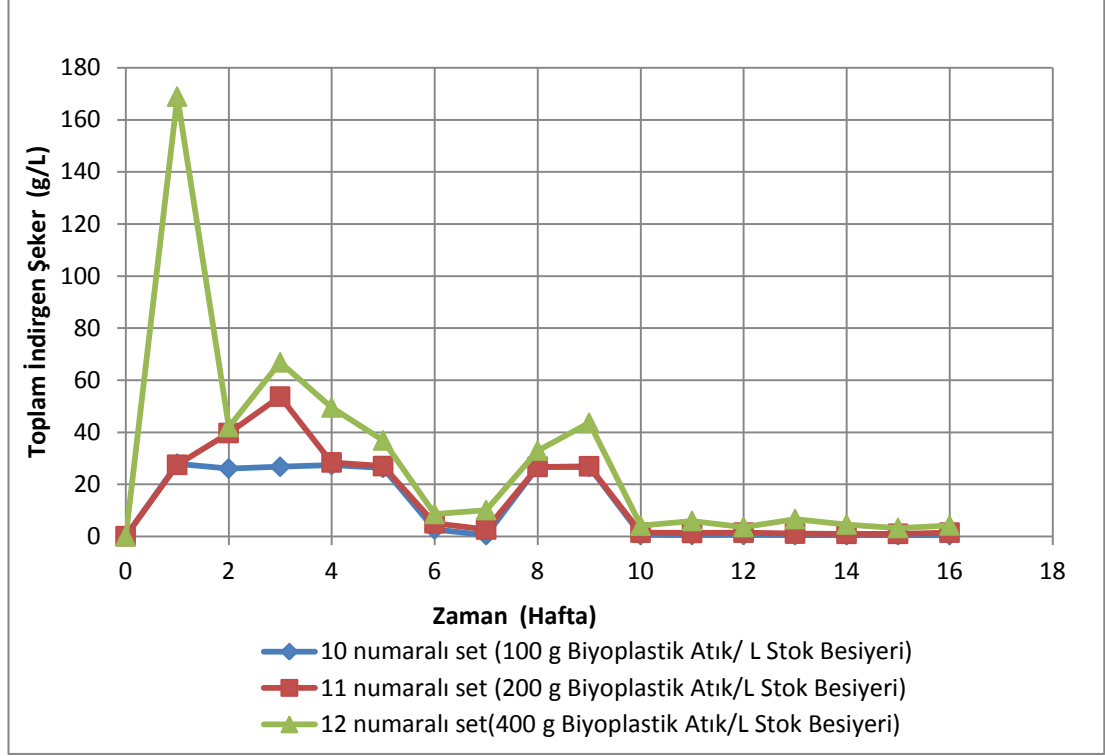
Şekil 4.6. Katı faz fermantasyon çalışmalarının 4 mL *G. trabeum* içeren 4, 5, 6 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi.

4.2.3.2. Askıda Katı faz fermantasyon çalışmalarının zamana bağlı toplam indirgen şeker analizi sonuçları

Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının, 2 mL *G. trabeum* fungusu içeren 7, 8, 9 numaralı setlerine ve 4 mL *G. trabeum* fungusu içeren 10, 11, 12 numaralı setlerinin DNS metodu ile elde edilen toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimleri Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının 2 mL *G. trabeum* içeren 7, 8, 9 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi



Şekil 4.8. Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının 4 mL *G. trabeum* içeren 10, 11, 12 numaralı setlerin toplam indirgen şeker konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi

DNS yöntemi ile yapılan analiz sonuçları, katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında glikoz cinsinden ölçülen toplam indirgen şeker miktarlarının en yüksek değerlerine çalışmanın 1. veya 3. haftasında ulaşıldığını göstermiştir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Askıda katı faz ve katı faz fermantasyon çalışmalarında DNS metodu ile belirlenen en yüksek toplam indirgen şeker miktarları

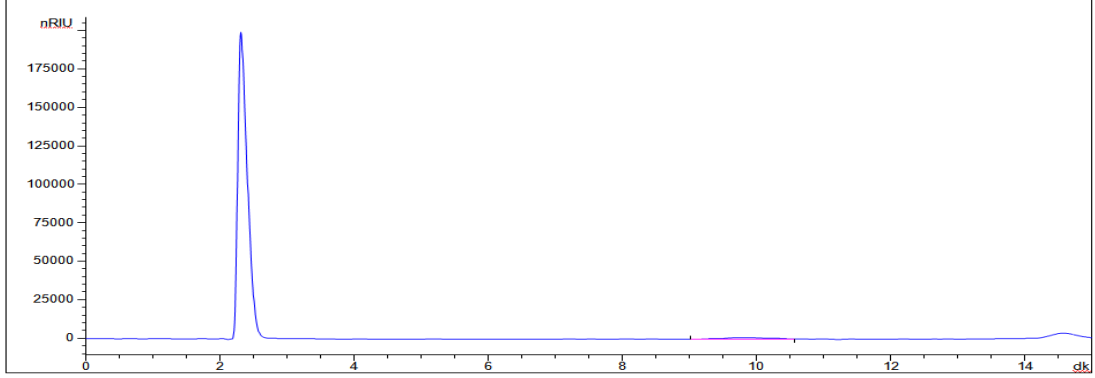
	Set	Fungus Miktarı	Biyoplastik granül miktarı (g/L)	DNS metodu ile saptanan en yüksek toplam indirgen şeker konsantrasyonu (g/L)	DNS metodu ile en yüksek şeker konsantrasyonunun saptandığı hafta
Katı faz	1	2 mL	208	43,834	3
	2	<u>2 mL</u>	<u>416</u>	<u>131,698</u>	<u>1</u>
	3	2 mL	832	74,975	1
	4	4 mL	208	37,03	3
	5	4 mL	416	101,717	1
	6	4 mL	832	84,462	1
Askıda katı faz	7	2 mL	100	28,249	4
	8	2 mL	200	52,131	3
	9	2 mL	400	119,235	3
	10	4 mL	100	27,453	4
	11	4 mL	200	53,713	3
	12	<u>4 mL</u>	<u>400</u>	<u>168,831</u>	<u>1</u>

4.2.4. Şeker Türleri Analiz (HPLC) Sonuçları

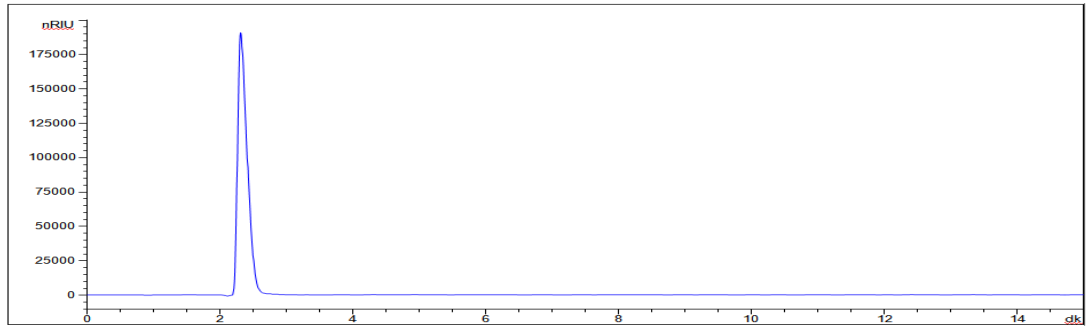
Askıda katı faz ve katı faz fermantasyon çalışmalarındaki şeker türlerinin ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla Bölüm 3.2.2.6.'da belirtildiği gibi HPLC analizleri, DNS metodu ile belirlenen en yüksek indirgen şeker miktarları içeriğine sahip 2 ve 12 numaralı deney setlerinden alınan sıvı numunelere uygulanmıştır. Ayrıca şahit numunelere de HPLC analizleri uygulanarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

4.2.4.1. Şahit numunelere ait HPLC analiz sonuçları

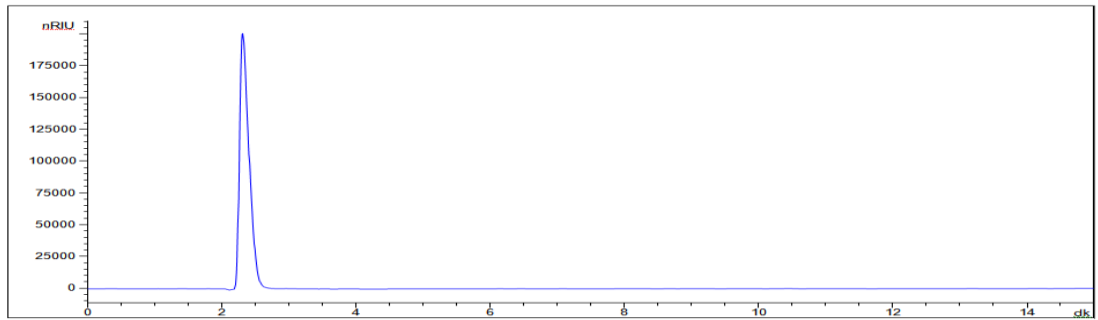
Şahit numunelerde şeker türlerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan HPLC analizi sonuçları Şekil 4.9.-4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.9. Biyoplastik granülleri ve besiyeri içeren ancak fungus içermeyen şahit numunenin HPLC analiz sonucu



Şekil 4.10. Fungus ve besiyeri içeren ancak biyoplastik granülleri içermeyen şahit numunenin HPLC analiz sonucu

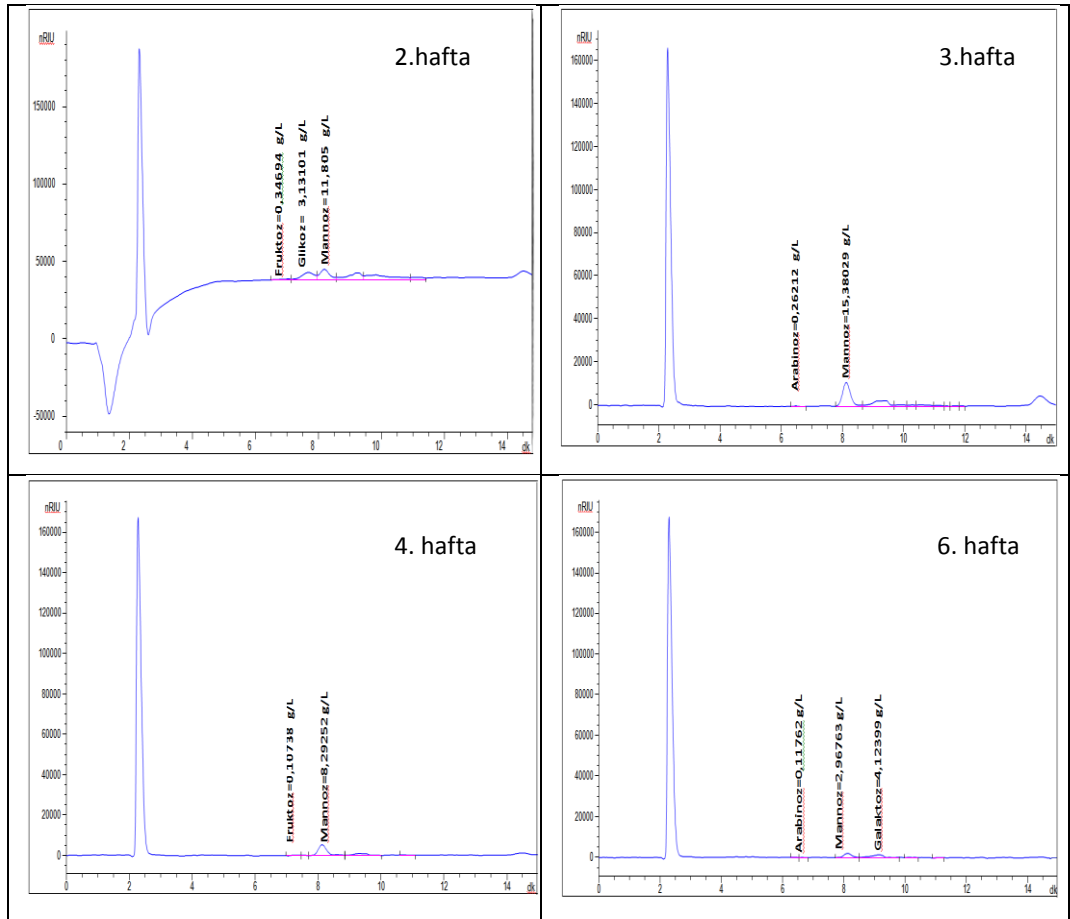


Şekil 4.11. Yalnızca besiyeri içeren şahit numunenin setin HPLC analiz sonucu

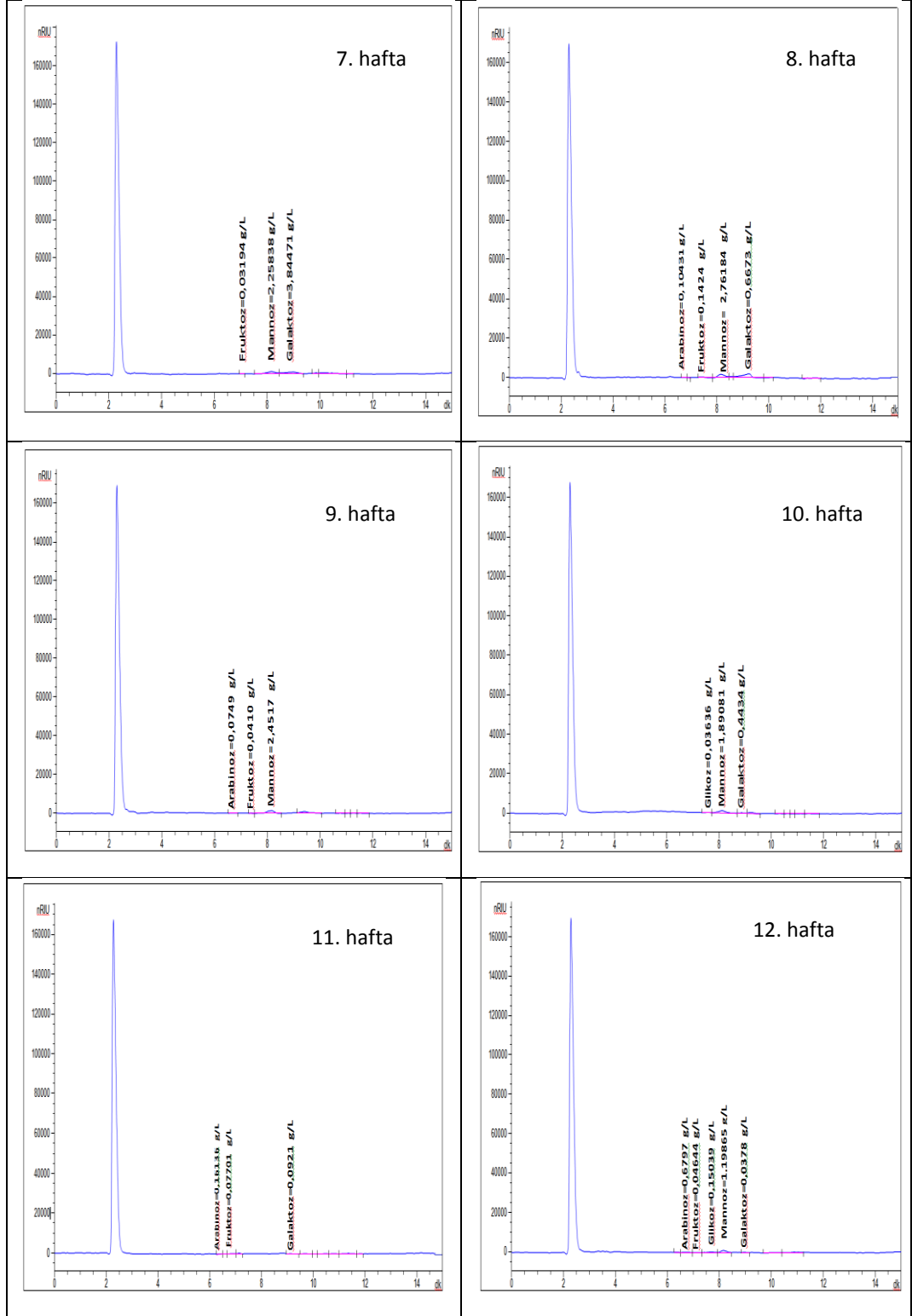
Şahit numunelere (Çizelge 3.3.) uygulanan HPLC analizlerinde herhangi bir şeker türü tespit edilememiştir (Şekil 4.9.-4.11.). Şahitler diğer numuneler ile aynı şartlarda hazırlanmış, otoklavlanmış ve inkübe edilmiştir. Bu numunelerde şeker türünün tespit edilememesi, herhangi bir fiziksel/kimyasal etken nedeni ile (sıcaklık, pH, basınç vs.) biyoplastik granüllerinden besiyeri ortamına şeker salınımı olmadığını göstermektedir.

4.2.4.2. Katı faz fermantasyon çalışmaları HPLC analiz sonuçları

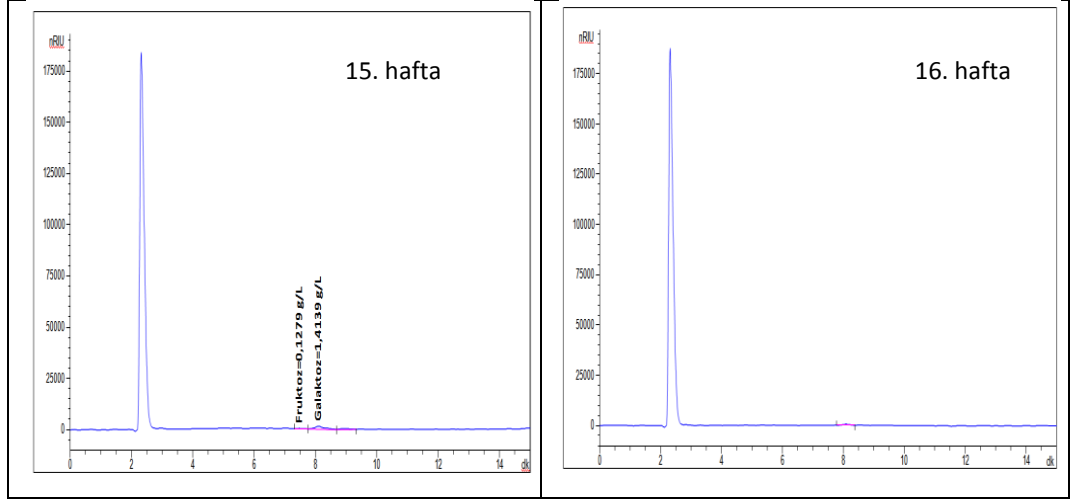
Katı faz fermantasyon deney setlerinin 2 numaralı setinden alınan sıvı fazların HPLC analiz sonuçları Şekil 4.12.'de verilmektedir.



Şekil 4.12.(a). İki numaralı setin (5 g biyoplastik, 2 mL fungus, 12 mL besiyeri) zamana bağlı (2.-6. hafta) HPLC analiz sonuçları



Şekil 4.12.(b). İki numaralı setin (5 g biyoplastik, 2 mL fungus, 12 mL besiyeri) zamana bağlı (7.-12. hafta) HPLC analiz sonuçları



Şekil 4.12.(c). İki numaralı setin (5 g biyoplastik, 2 mL fungus, 12 mL besiyeri) zamana bağlı (15-16. hafta) HPLC analiz sonuçları

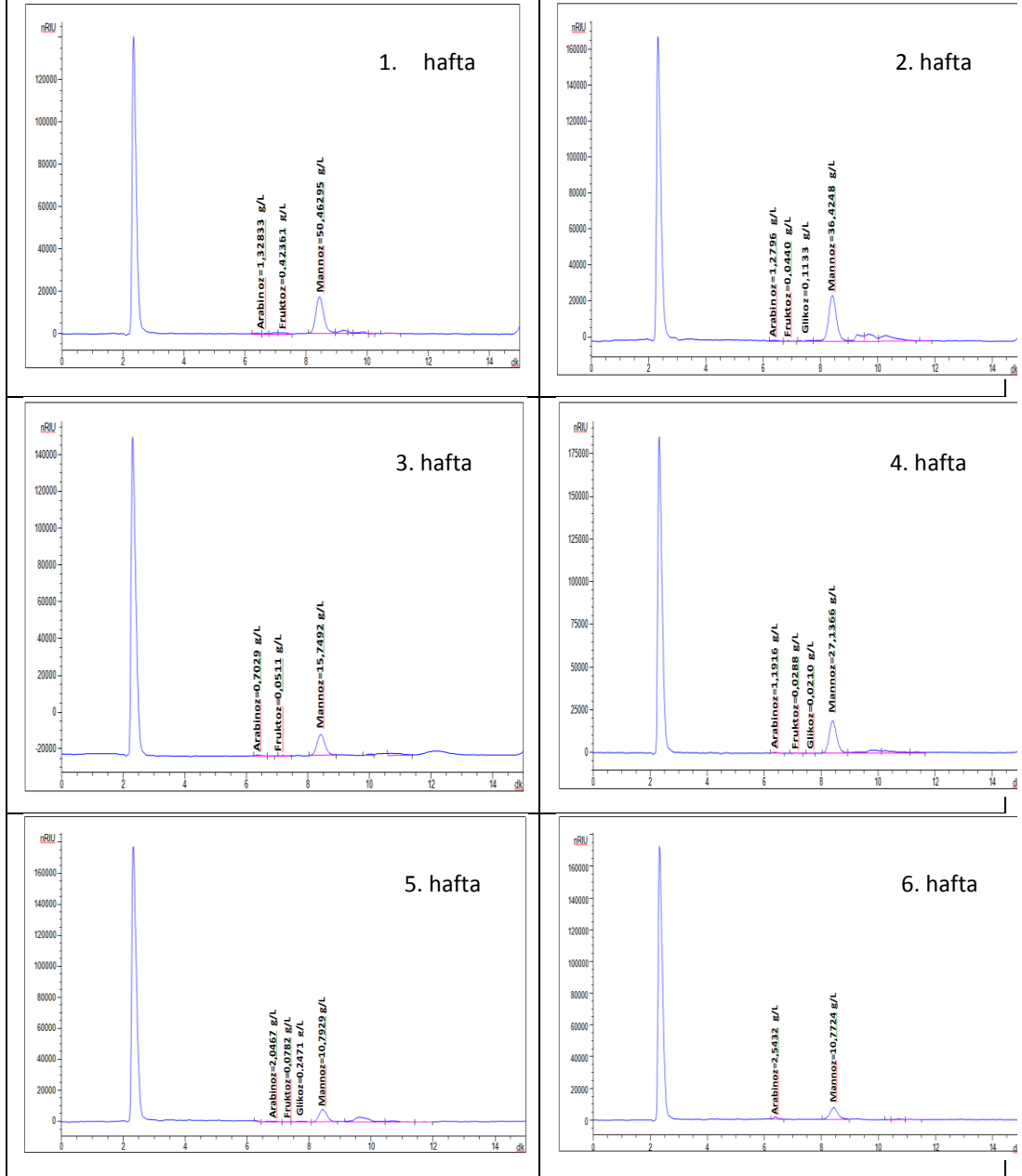
Katı faz fermantasyon deney setlerinden 2 numaralı sete uygulanan HPLC analizleri sonucunda belirlenen şeker türleri ve miktarları Çizelge 4.3.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. İki numaralı setin HPLC analizlerinde zamana bağlı olarak belirlenen şeker türleri ve miktarları

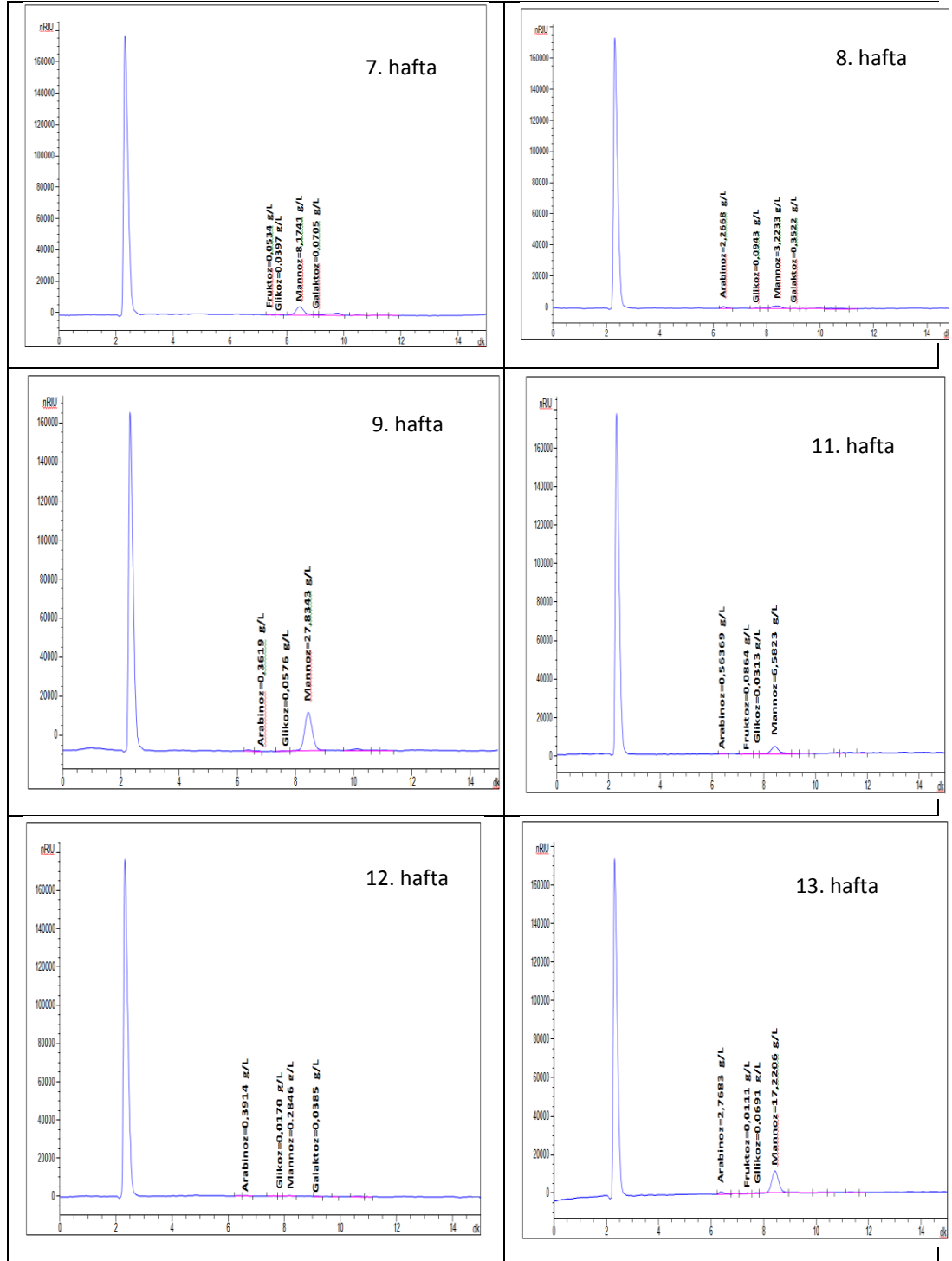
Zaman	Mannoz (g/L)	Glikoz (g/L)	Fruktoz (g/L)	Galaktöz (g/L)	Arabinoz (g/L)
2.hafta	11,805	<u>3,131</u>	<u>0,347</u>	-	-
<u>3.hafta</u>	<u>15,380</u>	-	-	-	0,262
4.hafta	8,292	-	0,107	-	-
6.hafta	2,968	-	-	<u>4,124</u>	0,117
7.hafta	2,258	-	0,032	3,845	-
8.hafta	2,762	-	0,142	0,667	0,104
9.hafta	2,452	-	0,041	-	0,075
10.hafta	1,891	0,0364	-	0,4434	-
11.hafta	-	-	0,077	0,0921	0,161
12.hafta	1,199	0,150	0,046	0,038	<u>0,679</u>
15.hafta	-	-	0,128	1,414	-
16.hafta	-	-	-	-	-

4.2.4.3. Askıda katı faz fermantasyon çalışmaları HPLC analiz sonuçları

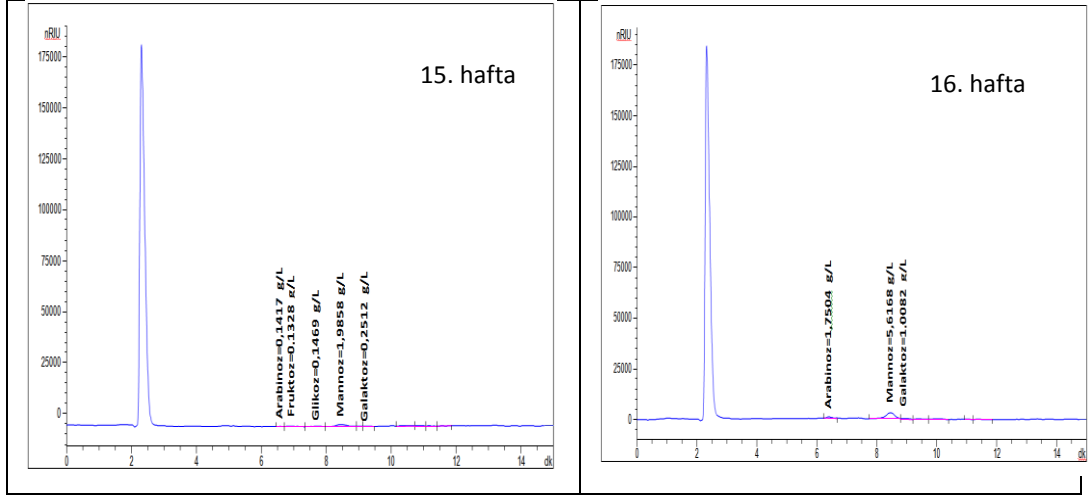
Askıda katı faz fermantasyon deney setlerinin 12 numaralı setinden alınan sıvı fazların HPLC analiz sonuçları Şekil 4.13.'de verilmektedir



Şekil 4.13.(a). On iki numaralı setin (10 g biyoplastik, 4 mL fungus, 25 mL besiyeri) zamana bağlı (1.-6. hafta) HPLC analiz sonuçları



Şekil 4.13.(b). On iki numaralı setin (10 g biyoplastik, 4 mL fungus, 25 mL besiyeri) zamana bağlı (7.-13. hafta) HPLC analiz sonuçları



Şekil 4.13.(c). On iki numaralı setin (10 g biyoplastik, 4 mL fungus, 25 mL besiyeri) zamana bağlı (15.-16. hafta) HPLC analiz sonuçları

Askıda katı faz fermantasyon deney setlerinden 12 numaralı setin sıvı fazına uygulanan HPLC analizleri sonucunda belirlenen şeker türleri ve miktarları Çizelge 4.4.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. On iki numaralı setin HPLC analizlerinde zamana bağlı olarak belirlenen şeker türleri ve miktarları

Zaman	Mannoz (g/L)	Glikoz (g/L)	Fruktoz (g/L)	Galaktoz (g/L)	Arabinoz (g/L)
1.hafta	<u>50,463</u>	-	0,424	-	1,328
2.hafta	36,425	0,113	<u>0,441</u>	-	1,280
3.hafta	15,749	-	0,051	-	0,703
4.hafta	27,137	0,021	0,029	-	1,192
5.hafta	10,793	0,247	0,078	-	2,047
6.hafta	10,772	-	-	-	2,543
7.hafta	8,174	0,0397	0,053	0,070	-
8.hafta	3,223	0,094	-	0,352	2,267
9.hafta	27,834	0,058	-	-	0,362
10.hafta	0,511	-	0,157	-	2,941
11.hafta	6,582	0,031	0,086	-	0,536

Çizelge 4.4. (devamı)

12.hafta	0,285	0,017	-	0,038	0,391
13.hafta	17,221	0,069	0,011	-	<u>2,768</u>
15.hafta	1,986	<u>0,147</u>	0,133	0,251	0,142
16.hafta	5,617	-	-	<u>1,008</u>	1,750

Her iki ortam için de fungal parçalanma sonucunda beş temel şeker türünün açığa çıktığı belirlenmiştir. Hemen her örnekte altı karbonlu bir monosakkarit olan mannoz [64, 65, 66] saptanmıştır. Bu durum bir polisakkarit olan nişastanın öncelikle altı karbonlu monosakkarit mannoza indirgendiğini göstermektedir. Örneklerin büyük bir çoğunluğunda fruktoz saptanmıştır. Fruktoz genellikle meyve şekeri olarak bilinmesine rağmen en temel kaynaklarından birisi mısır olup [67], bu durum biyoplastik yapımında kullanılan nişastanın mısır nişastası olduğunu da göstermektedir. Örneklerde ayrıca altı karbonlu galaktoz [64, 65] ve beş karbonlu arabinoz [68] saptanmıştır. Bazı örneklerde ise nişastanın tamamen parçalanması sonucu oluşan temel monomer olan glikoz belirlenmiştir.

4.2.5. Parçalanma ürünlerinin araştırılması-GC-MS analiz sonuçları

Askıda katı faz ve katı faz fermantasyonu sonucunda biyoplastiklerin fungal parçalanmaları sonucu oluşan ürünlerin tespit edilmesi amacı ile Bölüm 3.2.2.7.'de belirtildiği gibi bir dizi GC-MS analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analizler için çalışma süresince elde edilen en yüksek şeker değerlerine sahip numuneler (2 ve 12 numaralı deney setleri) seçilmiştir.

4.2.5.1. Şahit numunelere ait GC-MS analiz sonuçları

Askıda katı faz ve katı faz fermantasyon çalışmaları deney setleri ile karşılaştırılması amacı ile 13, 14 ve 15 numaralı şahit numunelerden çalışma boyunca haftalık olarak alınan sıvı numunelere de GC-MS analizleri uygulanmıştır. Analiz sonuçları, beklenildiği üzere bu numunelerde herhangi bir parçalanma ürününün olmadığını göstermiştir.

4.2.5.2. Katı faz fermantasyon çalışmaları GC-MS analiz sonuçları

Katı faz fermantasyon çalışmalarından 2 numaralı deney setlerinden alınan (5 g biyoplastik, 2 mL fungus, 12 mL besiyeri) sıvı kısımlara uygulanan GC-MS analizlerinde saptanan kimyasal maddeler Çizelge 4.5.'de verilmektedir
Çizelge 4.5. İki numaralı setten zamana bağlı alınan numunelerin GC-MS analiz sonuçları

Kimyasal maddenin adı	Hafta	Amirik formülü
Ethanol	1	C ₂ H ₆ O
İzopropanol	2	C ₃ H ₈ O
Dimetilamin	2	C ₂ H ₇ N
Etilamin	2	C ₂ H ₇ N
Etilen glikol monometileter	6	C ₃ H ₈ O ₂

4.2.5.3. Askıda katı faz fermantasyon çalışmaları GC-MS analiz sonuçları

Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarından 12 numaralı deney setlerinden alınan (10 g biyoplastik, 4 mL fungus, 25 mL besiyeri) sıvı kısımlara uygulanan GC-MS analizlerinde saptanan kimyasal maddeler Çizelge 4.6.'da verilmektedir.

Çizelge 4.6. On iki numaralı setten zamana bağlı alınan numunelerin GC-MS analiz sonuçları

Kimyasal madde adı	Gözlenen Haftalar	Amirik formülü
Metaraminol	1	C ₉ H ₁₃ NO ₂
Etanol	1-2	C ₂ H ₆ O
Dimetil amin	1-2	C ₂ H ₇ N
Etilamin	1	C ₂ H ₇ N
İzopropanol	1	C ₃ H ₈ O
Piridin	1	C ₅ H ₅ N
Etilen glikol	1-2	C ₃ H ₈ O ₂
Etanol	2	C ₂ H ₆ O
Linoleik asit	2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂

Çizelge 4.6. (devamı)

Kaprik asit	2	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
Arabinoz	3	C ₅ H ₁₀ O ₅
Asetaldehit	4-5-6-8-10-11	C ₂ H ₄ O.
Etilen oksit	4-5-6-8-10-11	C ₂ H ₄ O.

GC-MS analiz çalışmalarında, nişasta bazlı biyoplastiklerin *G. trabeum* ile biyolojik olarak parçalanmaları sonucu açığa çıkan son ürünler tespit edilmiştir. Parçalanma sonucu oluşan ürünlerin tespiti, biyoplastiklerin hangi aşamaya kadar fungal parçalanmaya uğradıklarının belirlenmesinde önem taşımaktadır.

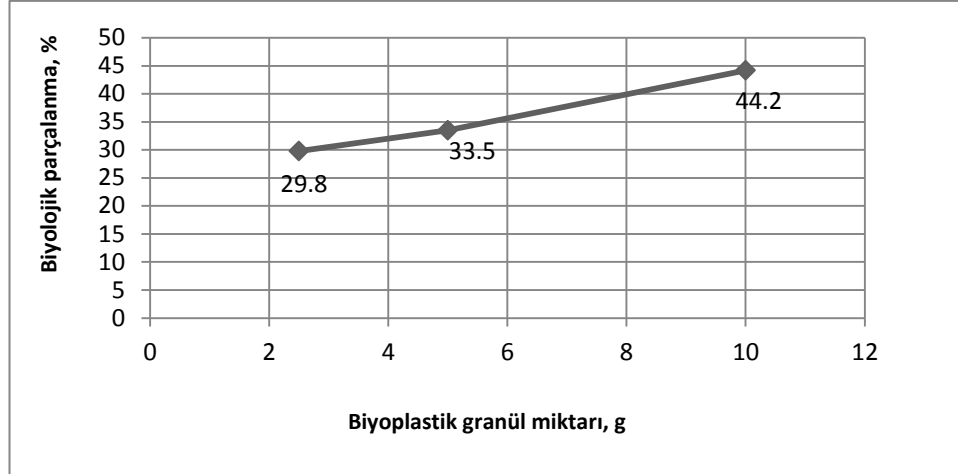
4.2.6. Biyolojik Olarak Parçalanmış Biyoplastik Atık Kütlesinin Belirlenmesi

Fermantasyon çalışmalarının 2, 7 ve 12 numaralı deney setlerinden alınan ortamlar Bölüm 3.2.2.9.'da belirtildiği gibi fungus kısmından ayrılmış ve biyoplastik granüllerinin tartımı yapılarak *G. trabeum* fungusu tarafından biyolojik olarak parçalanmış biyoplastik granül miktarı saptanmıştır (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Biyolojik olarak parçalanmış biyoplastik kütle miktarları

Set	Çalışma başlangıcında Biyoplastik granül miktarı içeriği (g)	Çalışma sonunda biyoplastik granül miktarı içeriği (g)	Toplam biyoplastik granülü kütle kaybı (g)	Biyolojik olarak parçalanma verimi %
7	2,5	1,7553	0,7447	29,79
2	5	3,3254	1,6746	33,49
12	10	5,5816	4,4184	44,18

İnkübasyonun sonunda, başlangıç biyoplastik miktar içerikleri 2,5-5-10 g olan fermantasyon çalışmalarında sırasıyla %29,8-%33,5-%44,2 oranında biyolojik parçalanmanın gerçekleştiği tespit edilmiştir (Şekil 4.14.). Biyolojik parçalanma verimlerinin, setlerin içerdikleri biyoplastik kütlesi ile doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.14. Biyoplastik atıkların biyolojik parçalanma yüzdeleri

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. SONUÇLAR

DNS metodu ile gerçekleştirilen analizlerde en yüksek indirgen şeker miktarları çalışmanın ilk haftasında, katı faz fermantasyon çalışmalarının 2 mL *G. trabeum* fungusu ve 416 g/L biyoplastik granülü içeren 2 numaralı deney setinde 131,698 g/L olarak; askıda katı faz fermantasyon çalışmalarının 4 mL *G. trabeum* fungusu ve 400 g/L biyoplastik granülü içeren 12 numaralı deney setinde 168,331 g/L olarak belirlenmiştir. İndirgen şeker miktarları 1. ile 10. haftalar arasında zamana bağlı olarak artış ve azalışlar göstermiştir. İndirgen şeker miktarlarındaki zamana bağlı değişimler *G. trabeum*'un ortamda oluşturduğu şekerleri karbon kaynağı olarak kullandığını göstermektedir. Bu araştırmanın bir sonraki adımında kurulması muhtemel pilot sistemde günlük olarak ortam sıvısının yenilenmesi ve sistemden elde edilen indirgen şekerlerin farklı amaçlarla kullanılması mümkün olabilir.

Askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında, başlangıç biyoplastik granül miktarı arttıkça DNS metodu ile elde edilen toplam indirgen şeker miktarı da artmaktadır. Ancak katı faz fermantasyon çalışmalarında bu oran gözlenmemiştir. En yüksek toplam indirgen şeker miktarının 832 g/L biyoplastik granülü içeren 3 numaralı deney setinde elde edilmesi beklenirken, 416 g/L içeren biyoplastik granülü içeren 2 numaralı deney setinde elde edilmiştir. Bu duruma katı faz fermantasyonda biyokütle miktarı arttırıldığında biyoplastik granüllerinin birbirine yapışması sonucu fungusun misellerinin tüm yüzey alanına etkin olarak ulaşamamasının neden olduğu düşünülmektedir.

Katı faz (1 ve 4; 2 ve 5; 3 ve 6) ve askıda katı faz fermantasyon (7 ve 10; 8 ve 11; 9 ve 12) çalışmalarında, aynı biyoplastik granül miktarları içeriğine sahip deney setlerinde fungus miktarı arttıkça elde edilen toplam indirgen şeker miktarında belirgin bir artış saptanmamıştır.

HPLC analizleri sonucunda, katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında mannoz, glikoz, arabinoz, fruktoz ve galaktoz şeker türlerinin saptanması fakat şahit numunelerde herhangi bir şeker türünün saptanamamış olması, nişasta bazlı biyoplastığın kahverengi çürükçül fungus *G. trabeum* tarafından parçalandığını göstermektedir. Yapılan analizlerde, en yüksek miktarda elde edilen şeker türünün askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında 50,563 g/L ve katı faz fermantasyon çalışmalarında 15,380 g/L konsantrasyonlarında mannoz olduğu belirlenmiştir. Mannoz altı karbonlu bir şeker olup nişastanın parçalanması sonucu açığa çıkmıştır. Özellikle bir monomer olan glikozun ortamlarda daha az bulunması bunların fungus tarafından enerji kaynağı olarak öncelikle tercih edildiği görüşünü ortaya çıkarmaktadır.

Mikroorganizmaların bulunduğu doğal ortamlarda serbest halde su bulunmamasından dolayı genelde mikroorganizmalar katı faz sistemlerinde askıda katı faz sistemlerine göre daha fazla adapte olmaktadır [69]. Ancak DNS yöntemi ile elde edilen indirgen şeker miktarları ve HPLC analizleri sonucunda elde edilen şeker miktarlarının askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında, katı faz fermantasyon çalışmalarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Katı faz ve askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında fungusun gelişimi sıcaklık, pH, oksijen transferi gibi bazı parametrelere bağlıdır [50, 51]. Ortamdaki oksijenin azalması durumunda fungusların yeterli düzeyde büyüemediği rapor edilmiştir [51, 52]. Bu çalışmada katı faz fermantasyon çalışmalarında askıda katı faz fermantasyon çalışmalarından daha küçük hacimlerde şişe kullanılmış olması, katı faz fermantasyon çalışmalarındaki oksijenin ortamda daha az olmasına dolayısıyla oksijenin fungusun üremesi ve enzim üretiminde sınırlayıcı bir faktör haline gelmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Ortamdaki polisakkarit makromolekülünün hücre içine alınabilmesi için funguslar ekstraselüler enzimler üretmektedirler [61, 70]. Ekstraselüler enzimin hücre içinden hücre dışına fungus tarafından aktarılmasında ortamdaki sıvı miktarı oldukça önemlidir [62, 63]. Bu nedenle yüksek oranda biyoplastığın parçalanması (%44,2) askıda katı faz fermantasyon çalışmalarında daha fazla stok mineral sıvı

besiyeri kullanımının bir sonucu olduğu fikrini vermektedir. Ayrıca sıvı ortama aktarılan enzimlerin suyun yarattığı sürücü güç ile biyoplastik yapının tüm yüzey alanına ulaşabilmesi yani enzim-substrat temas olasılığının artması, ancak bu durumun katı fazda gerçekleşmemiş olması durumu deneysel sonuçlarla desteklenmektedir.

GC-MS analizleri sonucunda, ksiloz, arabinoz ve linoleik asit kimyasal maddeleri saptanmış, şahit numunelerde ise herhangi bir kimyasal madde tespit edilememiştir. Şahit numunelerde herhangi bir maddenin tespit edilememesi ve fermantasyon çalışmalarında ksiloz ve arabinoz gibi nişasta monomerlerinin tespiti, nişasta bazlı biyoplastiğin yapısındaki nişastanın parçalandığını göstermektedir.

Mısırdaki bulunabilen linoleik asitin tespit edilmesi ise, nişasta bazlı biyoplastiğin mısır nişastasından üretildiğine işaret etmektedir [71]. Ayrıca zamana bağlı olarak uygulanan analizlerde bir maddenin diğer haftadaki varlığının tespit edilememesi, biyolojik parçalanma ürünlerinin *G. trabeum* tarafından kullanıldığının bir göstergesidir.

Şahit numunelere uygulanan GC-MS ve HPLC analiz sonuçlarında herhangi bir maddenin tespit edilememiş olması, şahit numune deney setlerinin otoklavda sterilize edilmesi sırasında, biyoplastik granüllerinin yapısında herhangi bir değişimin gerçekleşmediğini göstermiştir.

5.2. ÖNERİLER

Çalışma sonuçları, nişasta bazlı biyoplastik atıklarının kahverengi çürükçül fungus *Gloephyllum trabeum* tarafından parçalandığını göstermektedir. Fermantasyon çalışmalarında, oksijen transferini sağlayacak yeterli hacimde malzemelerin kullanılmasının nişastanın parçalanması sırasında elde edilen şeker miktarı verimini artırabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca çalışma sonucunda nişastanın parçalanması ile ortaya çıkan indirgen şekerin farklı proseslerde substrat olarak kullanılarak mevcut atığın ekonomik değeri yüksek olan ürünlere (biyoetanol, tek hücre proteini v.b.) dönüştürülmesi mümkün olabileceği ve bu amaçla daha ayrıntılı bir çalışmanın yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmanın bir sonraki aşamasında bu çalışmada elde edilen tüm parçalanma ürünleri incelenerek bunların sistem performansına etkileri araştırılmalıdır. Ayrıca biyoplastik türleri değiştiğinde oluşan son ürünlerin de değişeceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmanın bir sonraki aşaması ayrıca pilot sistemin kurulmasını ve sistemden elde edilen ekonomik değeri olan ürünlerin farklı amaçlar ile kullanım olasılığının araştırılmasını içermelidir. Pilot sistemin amortisman süresinin ve ekonomik getirisinin saptanması amacı ile üretilen ürünün ekonomik değeri belirlenmeli ve sistemin toplam maliyet analizi çıkartılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] El- Kadi, S. "Bioplastic Production Form Inexpensive Sources Bacterial Biosynthesis, Cultivation System, Production and Biodegradability", VDM Publishing House, ABD, 145 s., (2010).
- [2] Sarasa, J., Gracia, J. M., Javierre, C. "Study of the biodisintegration of a bioplastic material waste", *Bioresource Technology*, 100: 3764-3768, (2008).
- [3] Wu, C. S. "Renewable resource-based composites of recycled natural fibers and maleated polylactide bioplastic: Characterization and biodegradability", *Polymer Degradation and Stability* 94: 1076–1084, (2009).
- [4] Ma, X., Chang, P. R., Yu, J., Stumborg, M. "Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites", *Carbohydrate Polymers* 75: 1–8, (2009).
- [5] Mohee, R., Unmar, G., "Determining biodegradability of plastic material under controlled and natural composting environments", *Waste Management*, 27: 1489-1493, (2007).
- [6] Lagaron, J. M., Lopez-Rubio, A. "Nanotechnology For Bioplastics: Opportunities, Challenges and Strategies", *Trends in Food Science & Technology* , 22(11): 611-617, (2011).
- [7] Ma, X., Chang, P.R., Yu, J., "Properties of biodegradable thermoplastic pea starch/carboxymethyl cellulose and pea starch/microcrystalline cellulose composites", *Carbohydrate Polymers* 72: 369-375, (2008).
- [8] Godfrey, T., West, S. "Industrial Enzymology", Macmillan Press, İngiltere, 609 s., (1996).
- [9] Yaşar, H. "Plastikler Dünyası", Özkan Matbaacılık, Ankara, 261 s., (2001).
- [10] Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S. "Biological degradation of plastics: A comprehensive review" *Biotechnology Advances* 26: 246–265, (2008).
- [11] Stevens, E.S. "Green Plastics: An Introduction to the New Science of Biodegradable Plastics", Princeton University Press, ABD, 238 s., (2002).
- [12] Kıralp, S., Çamurlu, P., Özkoç, G., Erdoğan, S., Doğan, M., Baydemir, T. "Modern Çağın Malzemesi Plastikler", ODTU yayıncılık, Ankara, 125 s., (2006).

- [13] Plastics Europe, Association of Plastic Manufacturers. Plastics – the Facts 2010, An analysis of European plastics production, demand and recovery for 2009. 32 s., Belçika, (2010).
- [14] Akkurt, S. "Plastik Malzeme Bilgisi", Sena Matbaası, İstanbul, 220 s., (1991).
- [15] La Mantia, F. "Handbook of Plastic Recycling", Rapra Technology Limited, İngiltere, 421 s., (2002).
- [16] Plastics Europe, Association of Plastic Manufacturers. Plastics – the Facts 2011, An analysis of European plastics production, demand and recovery for 2010. 32 s., Belçika, (2011).
- [17] İstanbul Ticaret Odası. Plastik Sektör Raporu, s:8, İstanbul, (2011).
- [18] Aguado, J., Serrano, D. "Feedstock Recycling Of Plastic Wastes", The Royal Society Of Chemistry, İngiltere, 206 s., (1999).
- [19] Sarasa, J., Gracia, J. M., Javierre, C. "Study of the biodisintegration of a bioplastic material waste", Bioresource Technology, 100:3764-3768, (2008).
- [20] Rhyner, C. R., Schwartz, L. J., Wenger, R. B., Kohrell, M. G. "Waste Management and Resource Recovery", CRC Press, ABD, 524 s., (1995).
- [21] Ma, X., Chang P. R., Yu, J., Stumborg, M. "Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites, Carbohydrate Polymers 75: 1–8, (2009).
- [22] Kaith, B. S., Jindal, R., Jana, A. K., Maiti, M. "Development of corn starch based green composites reinforced with *Saccharum spontaneum* L fiber and graft copolymers – Evaluation of thermal, physico-chemical and mechanical properties", Bioresource Technology, 101: 6843–6851, (2010).
- [23] Gonzalez, J., Partal, P., Garcia-Morales, M., Gallegos, C. "Development of highly-transparent protein/starch-based bioplastics", Bioresource Technology, 101: 207-201, (2010).
- [24] Elnashar, M. "Biotechnology of Biopolymers", Intech Published, Mısır, 376 s., (2011).
- [25] Berkesch, S. (Mart, 2005). Biodegradable Polymers: A Rebirth of Plastics, Erişim:<http://www.iopp.org/files/public/BerkeschShellieMSUBiodegradablePlastic.pdf> [14 Eylül 2012].
- [26] Álvarez-Chávez, C. R., Edwards, S., Moure-Eraso, R., Geiser, K. "Sustainability of Bio-based Plastics: General Comparative Analysis and

- Recommendations for Improvement”, *Journal of Cleaner Production*, 23 (1): 46-47, (2011).
- [27] Chiellini, E., Roberto, S. “Biodegradable Polymers and Plastics”, Plenum Publishers, ABD, 395 s., (2003).
- [28] Gonzalez-Gutierrez, J., Partal, P., Garcia-Morales, M., Gallegos, C. “Development of highly-transparent protein/starch-based bioplastics”, *Bioresource Technology*, 101: 2007-2013, (2010).
- [29] Mohanty, A. K., Misra, M., Drzal, L. T. “Sustainable Bio-Composites from Renewable Resources: Opportunities and Challenges in the Green Materials World”, *Journal of Polymers and the Environment*, 10(1-2): 19-26, (2002).
- [30] European Commission. *Plastic Wastes In The Environment: Revised Final Report*, s:51-70, İngiltere, (2011).
- [31] Singh, P., Parmar N. “ Isolation and characterization of two novel polyhydroxybutyrate (PHB)-producing bacteria”, *African Journal of Biotechnology*, 10(24): 4907-4919, (2011).
- [32] Gaspar, M., Benko, Z., Dogossy, G., Reczey, K., Czigany, T. “ Polymer Degradation and Stability, 90: 563-569, (2005).
- [33] Liu, D., Zhong, T., Chang, P. R., Li, K., Wu, Q. “Starch composites reinforced by bamboo cellulosic crystals”, *Bioresource Technology*, 101: 2529–2536, (2010).
- [34] Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., Ma, X. “Fabrication and characterisation of chitosan nanoparticles/plasticised-starch composites”, *Food Chemistry* 120: 736–740, (2010)
- [35] Guimarães, J.L., Wypych, F., Saul, C.K., Ramos, L.P., Satyanarayana, K.G. “Studies of the processing and characterization of corn starch and its composites with banana and sugarcane fibers from Brazil”, *Carbohydrate Polymers*, 80: 130–138, (2010).
- [36] Balaguer, P.M., Gomez-Estaca, J., Gavara, R., Hernandez-Munoz, P. “Functional Properties of Bioplastics Made from Wheat Gliadins Modified with Cinnamaldehyde”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (59): 6689–6695 , (2011).
- [37] Barker, M., Safford, R., Burgner, S., Edwards, C. (2009). *Agriculture and Horticulture Development Board, Industrial uses for crops: Bioplastics*, Erişim:http://www.hgca.com/publications/documents/Bioplastics_web28409.pdf [22 Ekim 2011].

- [38] Page, W. J. "Production of polyhydroxyalkanoates by *Azotobacter vinelandii* UWD in beet Molasses Culture", FEMS Microbiology Reviews, 103:149-158, (2008).
- [39] Edwin, A., Habeych, N. "Development of Starch Based Materials", Doktora Tezi, Wageningen University, Hollanda, Aula, 152 s., (2009).
- [40] Lee, S.Y. "Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoates production in bacteria", TIBTECH, 14: 431-438, (1996).
- [41] Lee, S.Y., Choi, J. "Effect of fermentation performance on the economics of poly-(3-hydroxybutyrate) production by *Alcaligenes latus*", Polymer Degradation, 59: 387-393, (1998).
- [42] Grothe, E. and Chisti, Y. "Poly(β -hydroxybutyric acid) thermoplastic production by *Alcaligenes latus*: behavior of fed-batch cultures". Bioprocess Engineering, 22: 441-449, (2000).
- [43] Sürdürülebilir Biyoplastik Birliği (SBC). Sustainable Bioplastic Guidelines: Version 7, s:3-10, ABD, (2007).
- [44] Roldán-Carrillo, T., Rodríguez-Vazqáuez, R., Díaz-Cervantes, D., Vázquez-Torres, H., Manzur-Guzmán, A., Torres-Domínguez, A. "Starch-based plastic polymer degradation by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* grown on sugarcane bagasse pith: enzyme production", Bioresource Technology, 86: 1-5, (2003).
- [45] Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M. "Introductory Mycology", John Wiley and Sons Inc Publication, ABD, 869 s., (1996).
- [46] Esser, K., Bennett, J. W. "The Mycota: A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research", Springer, Almanya, 417 s. (2002).
- [47] Klyosov, A. E. "Wood-Plastic Composites", John Wiley and Sons Inc Publication, ABD, 698 s., (2007).
- [48] Tucker, G. A., Woods, L. F. J. "Enzymes in food processing", Blackie Academic and Professional, ABD, 319 s, (1995).
- [49] Cowling, E. B. "Comparative Biochemistry of the Decay of Sweetgum Sapwood by White-Rot and Brown-Rot Fungi", U.S. Government Printing , ABD, 75 s., (1961).
- [50] Kurtzman, C. P., Fell J. W. "The Yeasts: A Taxonomic Study", Elsevier Press Hollanda, 1055 s., (1998).

- [51] Pandey, A., Soccol, C. R., Larroche C. “Current Developments in Solid-state Fermentation”, Springer, ABD, 517 s., (2008).
- [52] Arora, D. K. Bhatnagar, D. “Handbook of Fungal Biotechnology”, Marcel Dekker Inc., ABD, 1031 s., (2004).
- [53] Gaspar, M., Benko, Z. Dogossy, G., Reczey, K., Czigany, T. “Reducing water absorption in compostable starch-based plastics”, *Polymer Degradation and Stability*, 90: 563-569, (2005).
- [54] Dintcheva, N. T., La Mantia, F.P. “Durability of a starch-based biodegradable polymer”, *Polymer Degradation and Stability* 92 : 630-634, (2007).
- [55] Lörcks, J. “Properties and applications of compostable starch-based plastic material”, *Polymer Degradation and Stability* 59: 245-249, (1998).
- [56] Iles, A., Martin, A. N. “Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry”, *Journal of Cleaner production*, 100:1-12, (2012).
- [57] Yagi, H., Ninomiya, F., Funabashi, M., Kunioka, M. “Bioplastic biodegradation activity of anaerobic sludge prepared by preincubation at 55 °C for new anaerobic biodegradation test ”, *Polymer Degradation and Stability*, 95: 1349-1355, (2010).
- [58] Accinelli, C., Saccà, M. L., Mencarelli, M., Vicari, A. “Deterioration of bioplastic carrier bags in the environment and assessment of a new recycling alternative”, *Chemosphere*, 89: 136-143, (2012).
- [59] Yu, J., Chen L. X. L. “The Greenhouse Gas Emissions and Fossil Energy Requirement of Bioplastics from Cradle to Gate of a Biomass Refinery”, *Environ. Sci. Technol.*, 42: 6961–6966, (2008).
- [60] Shrestha, P, Khanal, S. K., Pometto, A. L., Van Leuween, J. H. “Enzyme Production by Wood-Rot and Soft-Rot Fungi Cultivated on Corn Fiber Followed by Simultaneous Saccharification and Fermentation” , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 4156–4161, (2009).
- [61] Harborne, J. B. “Phytochemical Methods: A Guide to modern Techniques of Plant Analysis”, Chapman and Hill, İngiltere, 302 s., (1998).
- [62] Hedger, N. J., Evans, J. S. “Degradation of Plant Cell Wall Polymers”, Cambridge University Press, İngiltere, 481 s., (2001).
- [63] Robty, J. F. “Essentials of Carbohydrate Chemistry”, Springer-Verlag, ABD, 399 s., (1998).

- [64] Vieira, E.R., Ronsivalli L. J. “Elementary Food Science”, Aspen Publishers, ABD, 423 s., (1999).
- [65] International Food Information Service (IFIS). “Dictionary of Food Science and Technology”, Wiley-Blackwell, ABD, 473 s., (2009).
- [66] Ronzio, A. R. “The Encyclopedia of Nutrition and Good Health”, Facts On File , ABD, 726 s., (2003).
- [67] Parker, K., Salas, M., Nwosu V. C. “High fructose corn syrup: Production, uses and public health concerns”, *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 5(5): 71 -78, (2010).
- [68] Lorenz, A. J. “Characterization, Inheritance, and Covariation of Maize (*Zea mays* L.) Traits Televant to Cellulosic Biofuels Production”, Doktora Tezi, University of Wisconsin-Madison, ABD, (2008).
- [69] Mitchell, D. A., Krieger, N., Berovic M. “Solid-state Fermentation Bioreactors: Fundamentals of Design and Operation”, Springer, ABD, 447 s., (2006).
- [70] Kavanagh, K. “Fungi: Biology and Applications”, John Wiley & Sons, İngiltere, 366 s., (2011).
- [71] Hamberg, M. “Steric analysis of hydroperoxides formed by lipoxygenase oxygenation of linoleic acid”, *Analytical Biochemistry*, 43(2): 515–526, (1971).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ezgi BEZİRHAN

Doğum Tarihi: 22/10/1986

Öğrenim Durumu: Yüksek Lisans

Derece	Bölüm/Program	Okul Adı	Yıl
Lise	Matematik-Fen	Niğde Anadolu Lisesi	2000-2004
Lisans	Çevre Mühendisliği	Çukurova Üniversitesi	2005-2009
Yüksek Lisans	Çevre Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2009- 2012

Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş. Gör.	Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü	2011-