

**ASPERGILLUS TUBINGENSIS'İN DOĞAL ORTAMDA
GELİŞİMİ VE PLASTİK ÜRÜNLERİ BİYOLOJİK OLARAK
PARÇALAMA YETENEĞİNİN ANALİZİ**



**ANTALYA
İL MİLLÎ EĞİTİM MÜDÜRLÜĞÜ**

**DEVELOPMENT OF *ASPERGILLUS TUBINGENSIS* IN
NATURAL ENVIRONMENT AND ANALYSIS OF ITS
ABILITY TO BIODEGRADE PLASTIC PRODUCTS**

Turabi YAVUZ¹ Duru KAHRAMAN² Ceylin Su ÖZOLAN³ Deniz İnci ER⁴ Kaan ESKİOĞLU⁵

^{1,2,3,4}Antalya Kepez Bilim ve Sanat Merkezi, Antalya/Türkiye

^{1,2,3,4}Antalya Kepez Science and Art Center, Antalya/Turkey

⁵Metin Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi, Antalya/Türkiye

⁵Metin Nuran Çakallıklı Anatolian High School, Antalya/Turkey

ttyavuz@hotmail.com

durukahraman@gmail.com

cylnozln@hotmail.com

ORCID: 0009-0005-8073-5334

ORCID: 0009-0003-9461-5275

ORCID: 0009-0009-4353-0945

denizincier@gmail.com

0732kaankaan@gmail.com

ORCID: 0009-0004-0688-8984

ORCID: 0009-0001-1447-3998

MAKALE BİLGİSİ/ARTICLE INFORMATION

Geliş Tarihi / Date Received

24.03.2025

Kabul Tarihi/Date Accepted

03.04.2026

Yayın Tarihi/Date Published

Temmuz/July 2026

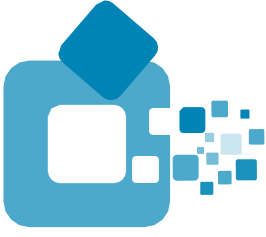
Yayın Sezonu/Pub Date Season

Aralık-Haziran/December-June

ATIF / CITE as

Yavuz, T., Kahraman, D., Özolan, C.S., Er, D.İ., Eskioğlu, K. (2026). “*Aspergillus Tubingensis*’in Doğal Ortamda Gelişimi ve Plastik Ürünleri Biyolojik Olarak Parçalama Yeteneğinin Analizi” / “Development of *Aspergillus Tubingensis* in Natural Environment and Analysis of Its Ability to Biodegrade Plastic Products” Bilar: Bilim Armonisi Dergisi 9 (1): 69-86 doi: 10.37215/bilar.1662506

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/bilar>



**ASPERGILLUS TUBINGENSIS'İN DOĞAL ORTAMDA
GELİŞİMİ VE PLASTİK ÜRÜNLERİ BİYOLOJİK
OLARAK PARÇALAMA YETENEĞİNİN ANALİZİ**
**DEVELOPMENT OF ASPERGILLUS TUBINGENSIS IN
NATURAL ENVIRONMENT AND ANALYSIS OF ITS
ABILITY TO BIODEGRADE PLASTIC PRODUCTS**



**ANTALYA
İL MİLLİ EĞİTİM MÜDÜRLÜĞÜ**

ÖZET

Günlük malzemelerde bulunan sentetik plastikler, Dünya üzerinde yok edilmesi çok zor olan başlıca atıkları oluşturmaktadır. Gıda, enerji ve su gibi önemli ve değerli kaynaklar bu sebeple risk altında olduğundan, plastik kirliliği gibi etkenlerden kaynaklanan ekosistemdeki değişiklikler, küresel ölçekte dramatik bir etkiye sahiptir. Plastik atık sorunu hala çözülememiş olsa da çevre üzerindeki etkilerini azaltmak için farklı yollar gündemdedir. Bu konulardan birisi, plastiği parçalayabilen mikroorganizmaların kullanılmasıdır. *Aspergillus tubingensis*'in doğada plastik birikimini kısmen engelleyebileceği bilinmektedir. Bu amaçla çalışmamızda temin ettiğimiz *A. tubingensis*'in doğal ortamda yaşayabilmesi için optimum koşullar ve besin kaynakları oluşturulmuştur. Gelişimleri gözlenen mantarların ekildiği besiyerlerine eşit miktarda plastik poşet ve plastik şişe parçaları eklenmiştir. 150 gün boyunca izlenmiş, yapılan ölçüm ve tespitlerden sonra bu ortamdan kültüre alınan izolatlar MALDI-Biotyper kullanılarak tanımlanmıştır. Tür tayini yapıldıktan sonra *A. tubingensis*'in *in vitro* olarak bazı özellikleri test edilmiştir. Bu deneyler sonucunda 30 °C ve 37 °C'de gelişebildiği, düşük pH'a dayanıklı olduğu, antioksidan ve katalaz aktivitesi gösterdiği, esteraz ve lipaz üretebildiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, oluşturulan farklı özellikteki ortamlarda *A. tubingensis*'in plastiği ne kadar sürede yok ettiği incelenmiş ve raporlanmıştır. Mikroorganizmanın bu biyolojik parçalanma sürecinde hangi özellikleri ve mekanizmaları kullandığı açıklığa kavuşmuş olup, *A. tubingensis*'in plastik atıkların yol açtığı çevre kirliliğini önlemede etkili bir çözüm olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus tubingensis*, Plastik, Antioksidan Aktivite, Katalaz, Lipaz, Esteraz enzimi

ABSTRACT

Synthetic plastics found in everyday materials constitute the main waste on Earth that is very difficult to destroy. Since essential and valuable resources such as food, energy, and water are at risk, changes in the ecosystem caused by factors such as plastic pollution have a dramatic effect on a global scale. Although the problem of plastic waste has not yet been solved, ways of reducing its environmental impact are being discussed. One such issue is the use of microorganisms that can break down plastic. It is known that *Aspergillus tubingensis* can partially prevent plastic accumulation in nature. For this purpose, optimum conditions and food sources were created for *A. tubingensis*, which we obtained in our study, to survive in the natural environment. Equal amounts of plastic bag and pieces of plastic bottles were added to the medium in which the fungi were cultivated and their development observed. After monitoring for 150 days, the isolates cultured from this medium were identified using MALDI-Biotyper after the measurements and determinations were made. After the species determination, some characteristics of *A. tubingensis* were tested *in vitro*. As a result of these experiments, it was determined that it could grow at 30 °C and 37 °C, was resistant to low pH, showed antioxidant and catalase activity, and could produce esterase and lipase. The time taken by *A. tubingensis* to destroy plastic in different environments was examined and reported. It was clarified which features and methods the microorganism uses during this process, and it was shown that *A. tubingensis* can be effective in preventing environmental pollution caused by plastic waste.

Keywords: *Aspergillus tubingensis*, Plastic, Antioxidant Activity, Catalase, Lipase, Esterase Enzyme.

1.GİRİŞ

Plastik kirliliği tüm dünyanın ekolojisini etkilediği gibi ülkemizde de artmakta olan çevresel bir sorun haline gelmiştir. Plastik atıkların uzaklaştırılması için kullanılan yöntemler yetersiz kalmakta ve farklı çevresel sorunları da beraberinde getirmektedir. Çeşitli yapay polimerlerin üretimi ve kullanımındaki muazzam artış, bunların kontrolsüz bir şekilde bertaraf edilmesi nedeniyle çevre için büyük bir tehdit haline gelmiştir. Yaygın olarak kullanılan çeşitli sentetik plastikler polietilen, polipropilen, polistiren, polyester poliüretan (PU), polivinilklorür (PVC), polietilen tereftalat (PET), politetrafloroetilen (PTFE), naylon ve polikarbonattır. PU; lastik, conta, tampon, elyaf, plastik köpük, sentetik deri, yapıştırıcı, boya, sünger, kauçuk ürünler, otomobil ve buzdolabı yalıtımı vb. gibi çeşitli uygulamalarda kullanılan bir polimerdir ve parçalanmaları oldukça güçtür (Khan vd. 2017).

2024 yılında, dünya çapında kişi başına ortalama 28 kg olmak üzere 220 milyon ton plastik atık üretileceği, bu atığın üçte biri veya 69,5 milyon tonunun yanlış yönetilip doğal çevreye karışacağı öngörülmüştür. Günümüzde dünya nüfusunun %66'sı, plastik atıkların yerel atık yönetim kapasitesini aştığı bölgelerde yaşamaktadır. Çin, Rusya, Hindistan, Brezilya ve Meksika'nın da aralarında bulunduğu 12 ülkenin, dünyadaki yanlış yönetilen plastik atıkların %60'ından sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu yılın raporunda sadece ambalaj değil, tekstil ve ev eşyalarından kaynaklanan plastik atıklar da yer almaktadır. Uzmanlar, krize çözüm için yenilikçi, kirliletmeyen alternatiflere ihtiyaç duyulduğunu ve değişimin aciliyetini vurgulamaktadırlar (Earth Action 2024). Bu çevre sorununa çözüm olabilecek etkili yöntem arayışları kapsamında mikroorganizmaların plastik yüzeylerinde üreyebilmelerinin ve enzim aktiviteleriyle plastik biyodegradasyonu gerçekleştirebilmelerinin mümkün olabileceği potansiyel bir çözüm olarak görülmüştür.

Literatürde, özellikle bir küf mantarı olan *A. tubingensis*'in plastik (poliüretan) parçalama yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Khan vd. 2017). *A. tubingensis* ilk olarak 1934 yılında Raoul Mosseray tarafından keşfedilmiştir (Mosseray 1934). Bu tür, 30–37 °C arasındaki yüksek sıcaklıklarda büyüebilir, optimum büyüme 21–36 °C (70–97 °F) arasındadır (Botana ve Sainz 2015). Türün düşük pH ortamlarına dayanıklı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Irawan vd. 2017; de Leon vd. 2019). Tayland ve Çin gibi farklı bölgelerden bildirilerek (Samson vd. 2007) *A. tubingensis*, dünyanın dört bir yanında sıcak iklim bölgelerinde bulunur. Genellikle Hırvatistan ve Türkiye'nin iç mekân ortamlarında görülür. Hollanda, Macaristan, Tayland ve Cezayir'de de olduğu tespit edilmiştir (Varga vd. 2014).

A.tubingensis suşunun önemli özelliklerinden biri de antioksidan aktivite gösteren bir mantar türü olmasıdır. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidanlar” adı verilir (Karabulut ve Gülay 2016). Yapılan bir çalışmada *A. tubingensis* AUMC 15759 suşunun tarımsal atıklar, özellikle pirinç samanı üzerinde yetiştirildiğinde antifungal ve antioksidan aktiviteler gösterdiği sonucuna varılmıştır (Ramadan vd. 2023). Benzer şekilde *A. tubingensis* G131 suşunun da antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Choque vd. 2018).

Aspergillus türlerinde katalaz aktivitesi ile ilgili sınırlı veri bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde *A. tubingensis*'in de bulunduğu klinik ve çevresel bazı *Aspergillus* izolatlarının katalaz aktivitelerini karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Sonuçta tüm izolatların katalaz aktivitesi gösterdiğini, çevresel izolatların katalaz aktivitesinin daha yüksek olduğunu, klinik ve çevresel *Aspergillus* izolatları arasında toplamda anlamlı bir fark bulunduğunu bildirmişlerdir (Gharaghani vd. 2022). Bir başka çalışmada gıda enzimi olarak katalaz (hidrojen-peroksit: hidrojen-peroksit oksidoredüktaz; EC 1.11.1.6), genetiği değiştirilmemiş *A. tubingensis* suşu AE-CN ile üretilmiş ve gıda enziminin beş gıda üretim sürecinde kullanılması amaçlanmıştır. Bu üretimler; fırınlanmış ürünlerin üretimi, yumurta ve yumurta ürünlerinin işlenmesi, meyve suları dışındaki meyve ve sebze ürünlerinin üretimi, peynir üretimi ve balık yumurtası üretimi olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda toksisite düzeyinin olumsuz olması sebebiyle panel gıda enziminin güvenliği belirlenememiştir (Lambré vd. 2023).

Esteraz ve lipaz, PU'nun biyolojik olarak parçalanmasından sorumlu iyi bilinen iki enzimdir. Puspitasari vd. (2021), esterazın plastik polimerlerin biyolojik olarak parçalanmasında rol oynadığını göstermişlerdir. Esteraz, polimer zincirlerini düşük molekül ağırlıklı parçalara ayırmakta ve bunların daha sonra mikrobiyal hücre zarından adsorbe edilmesi sağlanmaktadır (Matsumura vd. 2006). Khan vd. (2017) çalışmalarında *A. tubingensis*'i izole ettikten sonra sıcaklığın, pH'ın, ek karbon kaynaklarının ve yüzey aktif maddelerin PU'nun biyolojik olarak parçalanması ile büyümesi üzerindeki etkisini, besiyeri kültüründeki esteraz ve lipaz aktiviteleri ölçülerek incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda yüzey aktif maddeler arasında Tween 80 varlığında esteraz ve lipaz enzim üretiminin arttığını gözlemlemişlerdir. *Aspergillus* suşlarının %90 oranında lipaz ürettiği çalışmalar sonucu gösterilmiştir (Bavadharani vd. 2022). Bir başka çalışmada ise lipaz enzimi üretim süreçlerini optimize etmek amacıyla *Aspergillus* suşları kullanılmış ve özellikle *A. niger* suşu ile pilot ölçekte yüksek verimli lipaz üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir (Rai vd. 2014). *Aspergillus oryzae* CCUG 33812 tarafından PET hidrolize

eden lipaz üretimi gerçekleştirdiği ve PET'in modifikasyonu için spesifik bir lipaz üretiminin indükleyicisi olarak Bis (2-hydroxyethyl) terephthalate kullandıkları rapor edilmiştir (Wang vd. 2008).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. *A. tubingensis* Suşunun Temini

Çalışmada kullanılan *A. tubingensis* türü Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Daha sonra, PDA (Potato Dextrose Agar) (Merck) üzerinde plaka yöntemi ile aktifleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. PDA plakaları 30 °C'de ve %5-CO₂ atmosferine sahip bir karbondioksit inkübatöründe (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) 48 saat inkübe edildikten sonra çoğalma gözlenmiştir. Elde edilen *A. tubingensis* TSB'de (Tryptic Soy Broth) yetiştirildikten sonra ve %20 gliserolde -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2. Yaşam Alanının Oluşturulması ve Uygun Besinin Tespiti

A. tubingensis'e uygun nemli ve sıcaklıkta bir ortam oluşturulmaya çalışılmıştır. Plastik kapların altına ıslak talaş ile nem kaynağı sağlanmış ve ardından ortam 21-36 °C olacak şekilde ayarlanmıştır.

A. tubingensis'in hangi besin ortamında optimum olarak yetiştiğini gözlemek için bir dizi çalışma yapılmıştır. Şeftali, muz, limon, elma, armut, kayısı, marul ve buğday gibi birçok besin üzerine aşılınmış ve gelişimleri gözlenmiştir. Uygun besin tespit edildikten sonra yeni besiyerlerine tekrar ekimi yapılmış, *A. tubingensis*'in ekildiği besiyerlerine eşit miktarda plastik poşet ve pet şişe parçaları eklenmiştir. 150 gün boyunca gözlem yoluyla tespitler yapılmıştır.

2.3.MALDI Biotyper ile tanımlama

Gözlem sonrasında izolatlar MALDI-Biotyper (Bruker Daltonics, Leipzig, Almanya) kullanılarak tanımlanmıştır. Bu amaçla, besin ve plastik ortamından alınan izolatlar PDA'ya çizgi plaka yöntemi kullanılarak aşılınmıştır. Petri plakaları, 30 °C'de %5 CO₂ atmosferde (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda, her bir örnek için aseptik koşullar altında tek bir koloniden örnekler toplanmış, cihazın plakasına çizgi halinde eklenmiş ve örneklerle 1 µL matris çözeltisi (%50 asetonitril %2,5 trifloroasetik asitte α-siyano-4-hidroksisinnamik, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) eklenmiştir. Sistemle çalışırken, mikroorganizma tanımlaması için optimize edilmiş uygun

yöntem kullanılarak doğrusal pozitif iyon modunda ve 1.700–1.999 Da kütle aralığında çift ölçümler gerçekleştirilmiştir. İyon kaynağı olarak 340 nm'de 60 Hz azot lazeri kullanıldı. Her numunenin ölçümlerinde, spektrumları oluşturmak için toplam 240 ateşlemeye denk gelen 40 paket lazer ateşlemesi yapılmıştır. Spektrumlar MALDI-Biotyper yazılımı (analiz 7.0) kullanılarak analiz edilmiştir.

2.4. 30 °C ve 37 °C' de Gelişim, Düşük Ph'a Dayanıklılık Testi

İzolatlar 30 °C ve 37 °C'de TSB ortamında 48 saat inkübe edilmiştir. Büyüme gösteren tüpler pozitif olarak kaydedilmiştir (Kahraman vd. 2022).

Asit toleransını belirlemek için, steril TSB'nin pH değerleri aseptik koşullar altında HCl (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) kullanılarak 3,5'e ayarlanmıştır. 18 saatlik kültürün %1'i bu besi yerine aşılanmıştır. İnkübasyonun başlangıcında ve üçüncü saatinde, mikrobiyal büyümeyi izlemek için 650 nm dalga boyunda bir spektrofotometre (Thermo Labsystems Multiskan Spectrum, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılarak optik yoğunluktaki değişiklikler ölçülmüştür (Kahraman vd. 2022).

2.5. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

İzolatların antioksidan aktivitesini belirlemek için α,α -difenil- β -pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi kullanılmıştır. Kültür üst sıvısı ve hücre içerikleri Amaretti vd. (2013) tarafından önerilen yöntemle göre elde edilmiş ve örnekler DPPH yöntemi için hazırlanmıştır. Etanoldeki DPPH (500 μ M, 2 mL), 2 mL test bileşiğine eklenmiştir. Daha sonra her karışım kuvvetlice çalkalanmış ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika tutulmuştur. Ölçümler 517 nm'de bir spektrofotometre (Thermo Labsystems Multi Skan Spectrum) kullanılarak etanole karşı gerçekleştirilmiştir. İzolatların antioksidan aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Lewis 2002).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{DPPH} - \text{Örnek}}{\text{DPPH}} \times 100$$

2.6. Katalaz Testi

Katalaz aktivitesini belirleyebilmek için 1 ml'lik kültür üst sıvısı, 10 mM H₂O₂ solüsyonundan 2.9 ml ve enzim solüsyonundan 0.1 ml (pH 7.0) konularak hazırlanmıştır. Reaksiyon sıcaklığı 25 °C'ye ayarlandıktan sonra hidrojen peroksidin kaybolma hızı 240 nm'de ölçülerek hesaplanmıştır. 1 Ünite aktivite, 1 μ mol H₂O₂'i 1 dakikada parçalayabilen enzime karşılık

gelmektedir (Baykal Sarı ve Yüzügüllü Karakuş 2020). Enzim aktivite analizlerinde “kontrol” olarak reaksiyon ortamına enzim yerine tampon çözelti eklenerek aktivite ölçümleri yapılmıştır.

2.7. Esteraz Testi

Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için Tween 80 katkılı agar yöntemi kullanılmıştır (Yücesoy ve Karaman 2003). 10 g pepton (Orlab), 5 g NaCl (Kimyalab), 0.1 g CaCl₂ (Merck), 15 g agar (Millipore), 1000 ml distile su ile hazırlanan besiyeri 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon sonunda pH 6,8’e ayarlanmış ve 50 °C’ye kadar soğutulan besiyeri içerisine 5 ml steril Tween 80 eklenmiştir. Sabouraud dekstroza agarda (SDA) üreyen 24 saatlik *A. tubingensis* suşlarından öze ile alınarak besiyerine 1 cm çaplı daireler çizilmiştir. Besiyerleri 30 °C’de 13 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi içinde ekim sahası etrafında Tween 80’in hidrolizi ile açığa çıkan yağ asidinin kalsiyum ile birleşerek opak kristaller halinde çökmesi; pozitif esteraz aktivitesi olarak değerlendirilmektedir.

2.8. Lipaz Testi

Lipaz aktivitesini belirlemek için, fenol kırmızısı indikatöre sahip Tween 80 agar plakaları kullanılmıştır (Rai vd. 2014). Lipaz aktivitesi, pembeden limon sarısına bir renk değişimi varsa pozitif olarak kabul edilmiştir. Ortam renginin kırmızımsı pembeden limon sarısına dönüşümü, Tween 80’in bozunması nedeniyle yağ asidinin salınmasıyla oluşan pH’ın bazik durumdan asidik duruma (pH 7,2’den 6,5’in altına) değişmesi nedeniyle tespit edilmiştir.

2.9. İstatistiksel Analiz

Projede uygulanan tür belirleme yöntemi MALDI-Biotyper yazılımı (analiz 7.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Düşük pH’a dayanıklılık, antioksidan aktivitenin belirlenmesi ve katalaz testispektro fotometre verileri GraphPad Prism8 istatistik programına yüklenerek tanımlayıcı testlerin sonuçlarına göre ortalamalar arasındaki farklılıklar için ANOVA testi uygulanmıştır. P<0.01’in altında olanlar anlamlı kabul edilmiştir. Veriler ortalama+-SEM olarak sunulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. Oluşturulan Doğal Yaşam Alanı İçerisinde Besin Seçimi Sonuçları

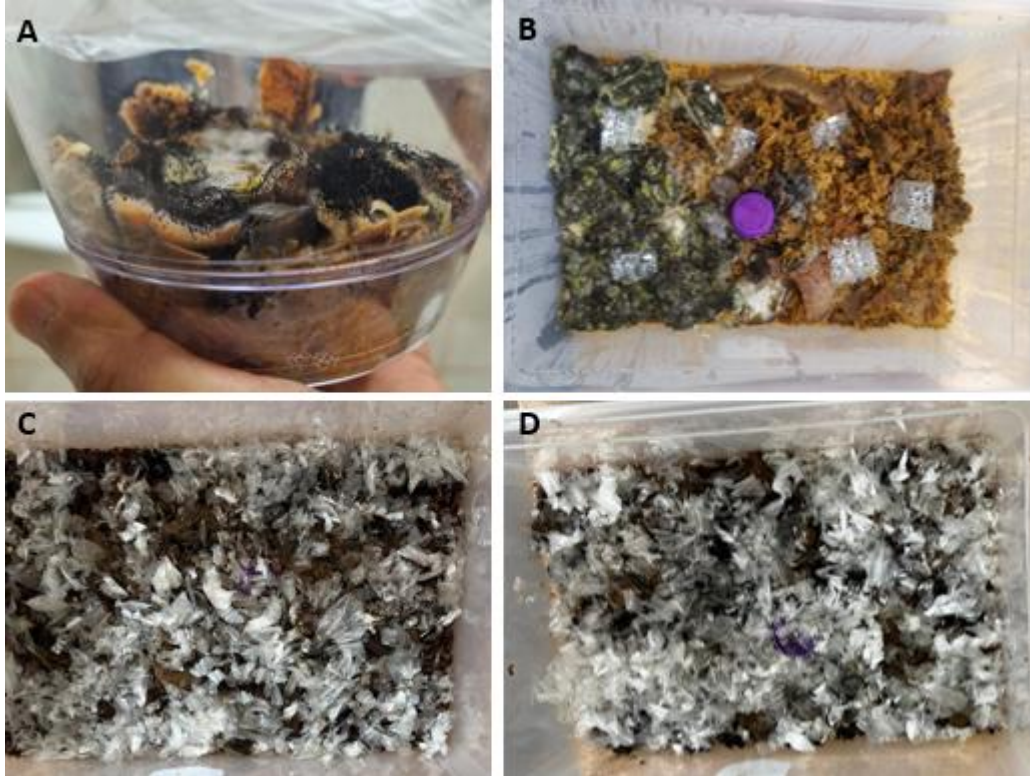
A. tubingensis için literatürde verilen bilgiler ışığında uygun nem ve sıcaklıkta ortam oluşturulmuştur. Şekil 1’de görüldüğü gibi şeftali, muz, limon, elma, armut, kayısı, marul, ekmek ve buğday gibi birçok besin üzerine aşılması sonucu elde edilen gözlem verilerine göre limon, elma, şeftali, muz ve buğday çürüğü üzerinde daha iyi yetiştiği görülmüştür (Şekil

2A). Uygun besin tespiti sonrası yapılan ekimlerin üzerine eşit miktarda plastik poşet ve pet şişe parçaları eklenmiştir. 150 günün sonunda hem plastiğin yıprandığını hem de mantarların konduğu plastik kapların aşındığı gözlenmiştir. Limon, elma, şeftali, muz ve buğday çürüğü içeren ortamlarda gelişen mantarlarda gözle görülür bir artış olduğu ve plastiğin ise azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 2B). Şekil 2C ve D’de ise 90 gün geçtikten sonra, kullanılan plastik poşet parçaları üzerinde gelişen *A. tubingensis* izolatları görülmektedir.

Plastik kap içindeki ortamlara ekilen mantarların birkaç haftalık süreçte içinde bulundukları plastik kapları da aşındırdığı görülmüştür.



Şekil 1: *A. tubingensis* için hazırlanan ortam ve uygun besin seçimi. Şeftali, muz, limon, elma, armut, kayısı, marul, ekmek ve buğday gibi besin maddeleri ayrı ayrı değerlendirme yapabilmeye uygun olacak şekilde hazırlanmıştır.

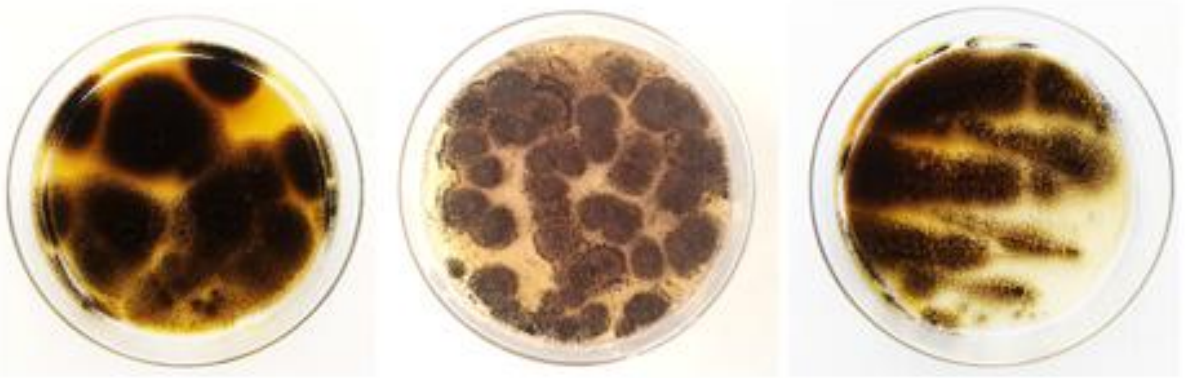


Şekil 2: Çeşitli besinler üzerine aşılınmış *A. tubingensis*'in gelişimi ve plastik ürünlerin eklenmesi. (A) Elma ve şeftali çürüğü üzerinde gelişen *A. tubingensis*. (B) Seçilen besinlerin üzerine eklenen plastik parçalar ve (C-D) 90 gün sonrasında oluşan değişiklikler.

3.2. Örneklerin MALDI Biotyper ile Tanımlanması ve Kültüre Alınması

Oluşturulan doğal yaşam alanı içerisinde ve uygulanan plastik ürünlerin yıpranmalarını sağlayan bölgelerden alınan izolatlar MALDI Biotyper ile analiz edilmiştir. Farklı besin içeren farklı plastik ürün aşınması bulunan alanlardan izolatlar alınmasına özen gösterilmiştir. Morfolojisi *A. tubingensis* türüne benzemeyen suşlar örnek olarak alınmamıştır. Alınan 10 izolatın tamamının *A. tubingensis* olduğu belirlenmiştir. Belirlenen izolatlar ayrı ayrı saflaştırılmıştır. Saflaştırılan örneklerin bazılarının fotoğrafları Şekil 3’de verilmiştir.

Oluşturulan ortam gözlenirken fark edilen bir durum da bazı bölgelerde morfolojileri farklı koyu yeşil ve mavi küf gelişmesidir. Bunun sebebinin meyvelerin kendi doğasından oluşan farklı tür mantarlar olduğu düşünülmüştür. Ayrıca bu bölgelerdeki plastik ürünlerde yıpranma olmaması dikkati çekmiştir. Bu sonuç aslında çalışmamızın içerisinde bir kontrol grubu etkisi sağlamıştır.

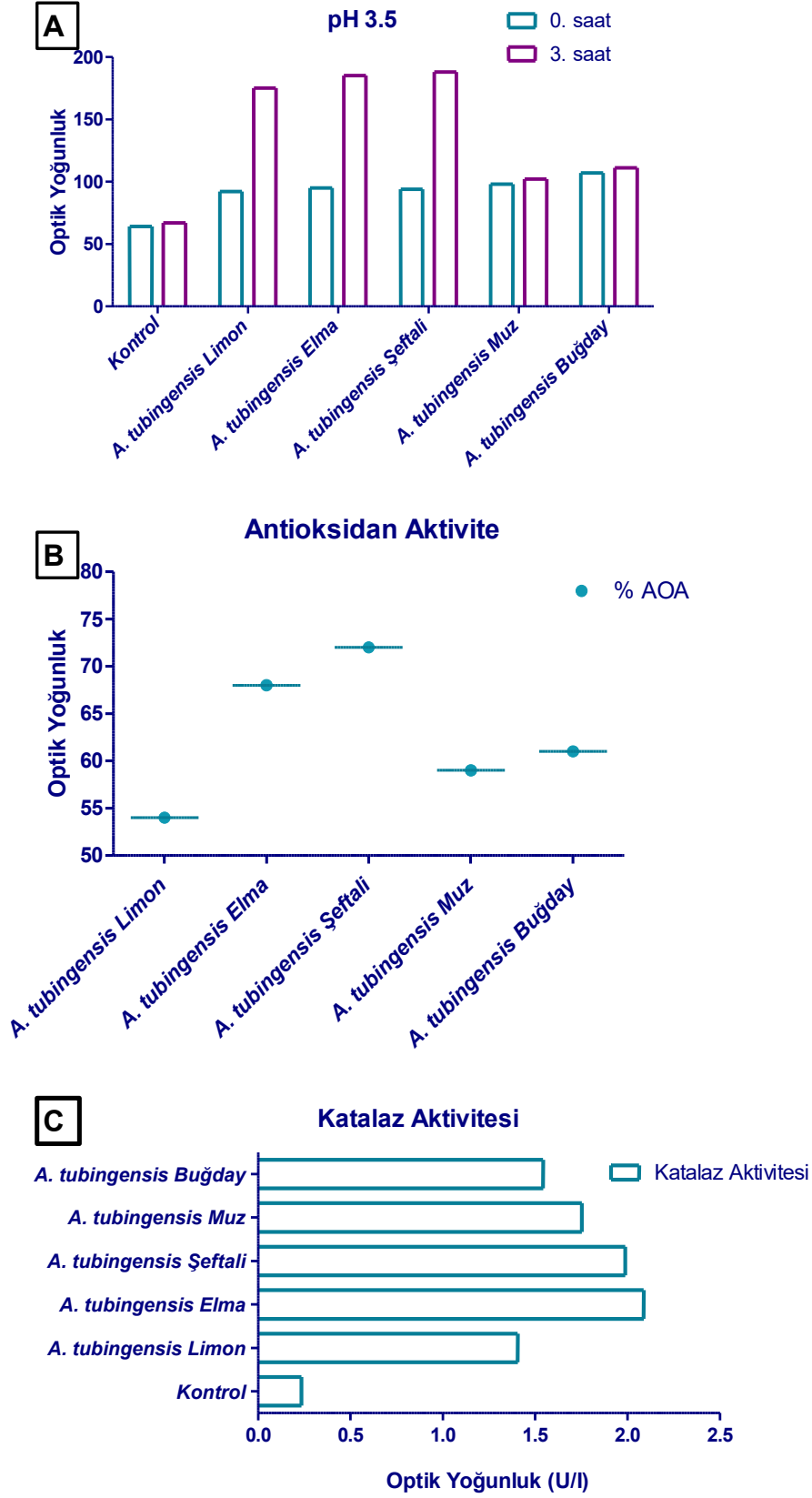


Şekil 3: Farklı besin içeren farklı plastik ürün aşınması bulunan alanlardan alınan izolatların saflaştırma sonrası seçilmiş bazı görüntüleri.

3.3. *A. tubingensis* Suşunun Sıcaklık ve Düşük pH’a Dayanıklılığı

Tüm izolatlar (limon, elma, şeftali, muz ve buğday çürüğü) her iki sıcaklıkta da (37 °C ve 30 °C) gelişme göstermişlerdir (Tablo 1).

Spektrofotometrik ölçümler, pH 3.5’te *A. tubingensis* Limon, *A. tubingensis* Şeftali ve *A. tubingensis* Elma’nın absorbans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar olduğunu ortaya koymuştur ($P \leq 0,01$). Geriye kalan muz ve buğday üzerinden alınan suşların ise asidik koşullar altında hayatta kalabildiklerini göstermiştir. Başlangıç ve 3. Saat sonrası ölçümlerinden elde edilen sonuçlar Şekil 4A’de verilmiştir.



Şekil 4: Besin ve plastik ortamından izole edilip tanımlanan ve saflaştırılan *A. tubingensis* izolatlarının Düşük pH (A), Antioksidan Aktivite (B) ve Katalaz Aktivitesi (C) ölçüm Sonuçları.

3.4. Antioksidan Aktivite

Çalışmada kullanılan farklı besinlerde gelişen ve plastik parçalarını asimile edebildiği belirlenen farklı izolatların antioksidan potansiyeli incelenmiştir. İzolatların tamamının antioksidan aktiviteleri %50'nin üzerinde bulunmuştur ($P \leq 0,01$). En yüksek antioksidan aktiviteyi *A. tubingensis* Şeftali (%72) ve *A. tubingensis* Elma (%68) olarak belirlenmiştir. Şekil 4B'de her bir izolatın antioksidan aktivitesi (IC_{50}) görülmektedir.

3.5. Katalaz Testi

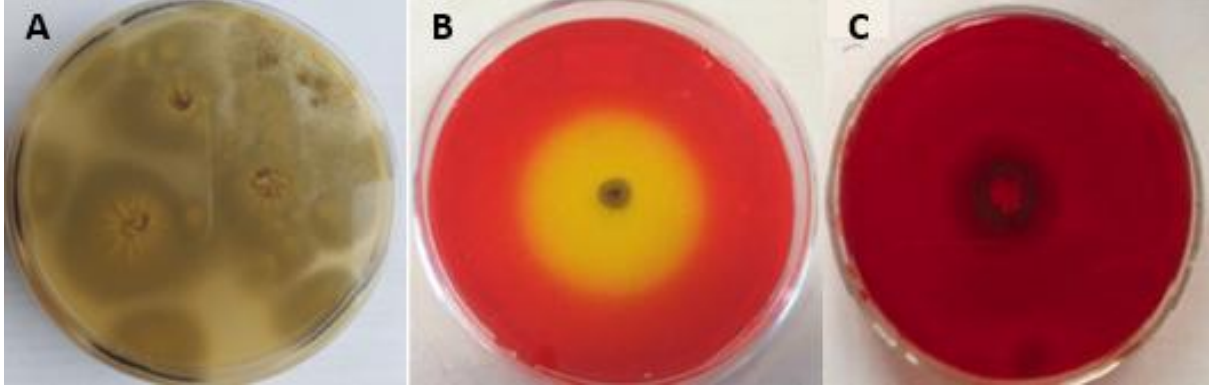
Her bir besin ve plastik ortamından alınarak %1 (w/v) glukoz içeren besi ortamında saflaştırılan *A. tubingensis* izolatlarından ölçülen hücre dışı katalaz üretimi ve biyokütle tayin sonuçları Şekil 4C'de gösterilmektedir. Buna göre, elde ettiğimiz tüm izolatların katalaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur ($P \leq 0,01$). Katalaz aktivitesi besin ortamının çeşidine göre de farklılıklar göstermiş, fakat bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

3.6. Esteraz Testi

Esteraz aktivitesinin belirlenmesi için Tween 80 katkılı agar yöntemi kullanılmıştır. Esterazın hidrolitik aktivitesi, *A. tubingensis* büyümesinin etrafında görülebilen kalsiyum kompleksinin oluşumuyla gösterilmiştir. İnkübasyon süresi içinde ekim sahası etrafında Tween 80'in hidrolizi ile açığa çıkan yağ asidinin kalsiyum ile birleşerek opak kristaller halinde çökmesi; pozitif esteraz aktivitesi olarak değerlendirilmektedir (Şekil 5A). İzolatların tamamı esteraz aktivitesi göstermiştir. Belirgin olarak en fazla *A. tubingensis* Buğday esteraz üretirken *A. tubingensis* Limon en az esteraz üretimi göstermiştir.

3.7. Lipaz Testi

Fenol kırmızısı indikatöre sahip Tween 80 agar plakalarında lipaz aktivitesi, pembeden limon sarısına bir renk değişimi varsa pozitif olarak kabul edilmiştir. Ortam renginin kırmızımsı pembeden limon sarısına dönüşümü, Tween 80'in bozunması nedeniyle yağ asidinin salınmasıyla oluşan pH'nın bazik durumdan asidik duruma (pH 7,2'den 6,5'in altına) değişmesi nedeniyle tespit edilmiştir (Şekil 5B). Sarı renge dönen bölgelerin çaplarının ölçülmesi sonucunda *A. tubingensis* Buğday en yüksek lipaz üretimi gösterirken *A. tubingensis* Limon en az lipaz üretimi gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol amaçlı aynı besiyerine *Escherichia coli* DSM suşu ekilerek lipaz üretimi gözlenmiştir (Şekil 5C). Kontrol grubunda şekil 5C'de görüldüğü gibi lipaz aktivitesi görülmemiştir.



Şekil 5: Besin ve plastik ortamından izole edilip tanımlanan ve saflaştırılan *A. tubingensis* izolatlarının Esteraz (A) ve Lipaz aktiviteleri (B), Kontrol (*E. coli* DSM) (C) deney görüntüleri.

Çalışmada *A. tubingensis*'in yaşayabildiği ve çoğalabildiği bir ortam ve besin seçimi yapıldıktan sonra izolatlar alınmıştır. Alınan bu izolatların yeniden seçilen (limon, elma, şeftali, muz ve buğday çürüğü) besin ortamlarına ekimi ve üzerine plastik parçaları bırakılması sonucu gözlem yapılmaya devam edilmiştir. Besin ve plastik bölgelerinden alınan izolatların tür tayini tekrar yapılmış ve çeşitli özellikleri belirlenmek üzere deneyler düzenlenmiştir. Her bir izolatın 30-37 °C'de yaşayabilme, pH 3,5'e dayanım, antioksidan aktivite, katalaz üretimi, esteraz ve lipaz enzim üretimi verileri Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1: İzolatlara göre yapılan deney verilerinin tablo halinde gösterimi.

Mikroorganizma	Sıcaklık (30-37C°)	pH 3,5	AOA IC ₅₀	Katalaz	Esteraz	Lipaz
<i>A. tubingensis</i> (Limon izolatı)	(+)	92-175	0,3	1,205	(+)	(+)
<i>A. tubingensis</i> (Elma izolatı)	(+)	95-185	0,24	2,087	(+)	(+)
<i>A. tubingensis</i> (Şeftali izolatı)	(+)	94-188	0,22	1,987	(+)	(+)
<i>A. tubingensis</i> (Muz izolatı)	(+)	98-102	0,28	1,753	(+)	(+)
<i>A. tubingensis</i> (Buğday izolatı)	(+)	107-111	0,27	1,542	(+)	(+)

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Daha önce, *Geomyces pannorum* ve *Phoma* sp. topraktaki PU'yu biyolojik olarak parçalayabilen baskın mantarlar olarak tanımlanmıştır (Cosgrove vd. 2007). Literatürde *A. tubingensis*'in poliüretan (PU) parçalama potansiyeli ise ilk kez Khan vd. (2017) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar, bir atık bertaraf sahasından izole ettikleri bu türün, PU filmi

yüzeyinde renk bozulması, lekelenmeler ve çatlaklar oluşturarak biyolojik parçalanma sağladığını rapor etmişlerdir. Onların bulgularıyla uyumlu olarak, mevcut çalışmamızda da *A. tubingensis*'in laboratuvar koşullarından ziyade doğal olarak yaşamını sürdürebileceği besin ortamlarında plastik parçalayabilme özelliği incelenmiştir. Gözlemlerimiz sonucunda, uygulanan plastik ürünler üzerinde benzer şekilde renk değişimi ve belirgin yıpranmalar tespit edilmiştir.

Mevcut çalışmanın amacı oluşturulan doğal yaşam ve besin ortamında *A. tubingensis*'in plastik parçalayabilme özelliğini gözleyebilmektir. Çoğaltılan ortamdan alınan izolatların hangi özellikleri sayesinde plastik üzerinde parçalanma veya yıpranma etkisi gösterdiğini anlamak hedeflenmiştir. Bos vd. (1999), gömülü PU yüzeyine mikroorganizmaların yapışmasından sorumlu olan hidrofobik bir etkileşimin olduğunu ve bunun çevresel koşullardan etkilenebileceğini göstermiştir. Bu çevresel koşullardan sıcaklık, nem, karbon kaynağı bulunmasının PU'nun biyolojik olarak parçalanmasında önemli olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Abou-Zeid vd. (2001), polimerin doğasının, parçalayan mikroorganizmanın ve çevresel koşulların (örn. Besin tedariki, sıcaklık ve pH) biyolojik bozunma oranını etkilediğini göstermiştir. Mevcut çalışmada, biyolojik olarak parçalanmanın etkinliği için *A. tubingensis*'in 30-37 °C'de yaşayabilme özelliği gösterilmiştir. Ayrıca kullanılan besin maddeleri karbon kaynağı olarak tasarlanmıştır. Khan vd. (2017) çalışmalarında sıvı mineral tuzlu besiyesinde (MSM) PU filminin yüzeyindeki mantarın büyümesinin 37 °C'de daha yüksek ve 37 °C'nin altındaki veya üzerindeki sıcaklıklarda bozunmanın daha yavaş olduğu bildirilmiştir.

Bir araştırmada asitli pirinç ortamının spor üretimi ve *A. tubingensis*'in canlılığı da dahil olmak üzere inokulum üretimi üzerindeki etkisini anlamak amaçlanmıştır. pH 3.0, 3.4, 4.0, 4.4, 5.0, 5.4 ve 6.0'dan oluşan ortamın asitliğinde ölçülen değişkenler spor sayısı ve Koloni Oluşturan Birim (CFU) olarak belirlenmiştir. Sonuçta ise *A. tubingensis* sporlarının üretiminin ve canlılığının sırasıyla 4.63×10^4 spor / ml ve 3.0×10^8 CFU / ml ile pH 6.0'da optimum olduğunu göstermiştir (Irawan vd. 2017). *Aspergillus* suşlarının özellikle *A. tubingensis*'in metabolit veya enzim üretimi için gerekli olan pH miktarı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. de Leon vd. (2019), Naphtho-Gamma-Pyrones (NGP) gibi yüksek değerli bir metabolit üretimi için pH'ın 5 olması gerektiğini çalışmalarında belirtmişlerdir. Başka bir araştırmada Katalaz üretimi için optimum pH değerinin 7,4 olması gerektiği bildirilmiştir (Yao vd. 2023). PU'nun bozunması için üretilen enzimlerin miktarı da ortamın pH'ı ile ilgilidir. *A. tubingensis*'te esteraz ve lipaz enzimlerinin aktiviteleri için farklı pH denemeleri yapılmış ve optimum değer 5-9 olduğu belirlenmiştir (Khan vd. 2017). Mevcut çalışmada ise *A. tubingensis* için optimumun altında

olan asitlik ortamda (pH 3,5) yaşayabildiği hatta çoğalabildiği gösterilmiştir. Özellikle pH 3.5'te *A. tubingensis* Limon, *A. tubingensis* Şeftali ve *A. tubingensis* Elma'nın absorbans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar olduğu görülmüştür ($P \leq 0,01$). Muz ve buğday izolatlarına kıyasla bu grupta görülen bu istatistiksel farklılık, elma, şeftali ve limon gibi asidik yapılı meyvelerden izole edilen suşların, genetik veya metabolik olarak düşük pH stresine daha güçlü bir adaptasyon yeteneği kazandığını göstermektedir.

Birçok mikroorganizmanın çeşitli sebeplerle antioksidan aktivite göstermesi istenmektedir. Genellikle sağlık açısından ve özellikle biyoteknolojik alanlarda antioksidanlar gibi ikincil metabolitler önem taşımaktadır. Bir çalışmada içlerinde *A. tubingensis*'inde bulunduğu birçok *Aspergillus* cinsinin ikincil metabolit potansiyeli araştırılmıştır. Çalışma sonucu ise *A. tubingensis* G131 suşunun özellikle antioksidan, antikanser veya antibiyotik özellikler gösteren TAN-1612, asperazin ve NGP'ler için metabolit üretimi potansiyelinin yüksek olduğunu vurgulamaktadır (Choque vd. 2018). Literatür incelendiğinde *A. tubingensis*'in antioksidan potansiyelinin farklı substratlar ve fermentasyon yöntemleriyle desteklendiği görülmektedir. Örneğin, Ramadan vd. (2023), *A. tubingensis* AUMC 15759 suşunun pirinç samanı gibi tarımsal atıklar üzerinde katı hal fermentasyonu ile yetiştirildiğinde askorbik aside yakın (%95) ve oldukça güçlü bir DPPH radikal süpürme aktivitesi (IC_{50} : 1,2 mg/ml) sergilediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Wang vd. (2018) *A. tubingensis* kullanılarak daldırmalı fermentasyon yöntemiyle üretilen çay ekstraktlarının in vitro koşullarda yüksek theabrownin içeriğine bağlı olarak belirgin serbest radikal süpürme yeteneğine ve antioksidan etkilere sahip olduğunu göstermişlerdir. Biyoteknolojik uygulamalardaki bu güçlü antioksidan üretim potansiyeli plastik sektörüne de uyarlanabilir. Plastik bileşikleri işleme özelliklerini, performansını ve dayanıklılığını iyileştirmek için farklı formüllere sahip çok sayıda katkı maddesi kullanılmaktadır ve bu katkı madde listesinin içinde antioksidanlar da yer almaktadır. Antioksidanların plastik sektöründe kullanılması açısından avantajlarının yanı sıra sınırlamalar da söz konusudur. Aşırı miktarda kullanıldıklarında çekme mukavemetinde ve esneklikte azalma oluşturduğu için optimum düzeyde kullanılmalıdır. Khan vd. (2017) PU biyolojik bozunumunu test ederken *A. tubingensis*'in PU filminin yüzeyinde büyüdüğünü, yüzey çatlaması, aşınma, gözenek oluşumu veya çekme mukavemetinde kayıp gibi biyolojik bozunma yeteneklerine sahip olduğunu göstermişlerdir. Mevcut çalışmada *A. tubingensis* izolatlarının yüksek antioksidan aktivite ($0.22-0.3 IC_{50}$) ($P \leq 0,01$) göstermeleri sebebiyle Khan vd. (2017) çalışmasına benzer şekilde çekme mukavemetinin azalması yoluyla plastik bozunması olabileceği düşünülmektedir.

Aspergillus suşları üzerinde çalışılan bir diğer önemli konu ise katalaz aktivitesidir. Baykal Sarı ve Yüzügüllü Karakuş (2020) tarafından yapılan çalışmada, bir diğer *Aspergillus* türü olan *A. niger*'den üçlü-faz ayırma sistemi ile saflaştırılan katalaz enziminin geniş bir pH aralığında (4.0-9.0) kararlılığını koruyabildiği ve ikincil oksidaz aktiviteye sahip olduğu detaylıca rapor edilmiştir. Enzimin bu tür zorlu koşullara ve geniş pH aralıklarına olan dayanıklılığı, uzun süren çevresel ve endüstriyel biyobozunum süreçlerinde mikroorganizmalara ciddi bir adaptasyon avantajı sağlamaktadır. Nitekim bu enzimin nano plastikler ile olan etkileşimlerini konu alan güncel çalışmalar da bulunmaktadır. Buradan yola çıkarak, mevcut çalışmamızda da düşük pH stresine maruz bırakılabilen *A. tubingensis* izolatlarında katalaz aktivitesinin yüksek olduğu ($P \leq 0,01$) belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu yüksek aktivite, ilgili literatürle uyumlu olarak mantarın plastik parçalanması gibi zorlu çevresel süreçlerde katalaz enziminin sunduğu direnç mekanizmalarından aktif olarak faydalandığını düşündürmektedir. Bu enzimin nano plastikler ile olan etkileşimlerini konu alan çalışmalar bulunmaktadır (Hu vd. 2023; Yao vd. 2023). Polikaprolakton (PCL) termoplastik kristalin bir polyesterdir ve topraktan izole edilen *Aspergillus* sp. suşu ST-01 tarafından üretilen katalazın etkisiyle tamamen parçalandığı gösterilmiştir (Feng vd. 2020). Buradan yola çıkarak mevcut çalışmada elde edilen izolatlarda katalaz aktivitesi yüksek olduğu ($P \leq 0,01$) belirlenmiş ve bu açıdan değerlendirildiğinde plastik parçalanması açısından etkili olabildiği düşünülmüştür. Ayrıca izolatlar arasındaki katalaz aktivitesi farkının istatistiksel olarak anlamsız bulunması, *A. tubingensis*'in katalaz enzim üretiminin bulunduğu çevresel besin kaynağından ziyade türün genetik stabilitesine bağlı olduğunu göstermektedir.

Enzimlerin PET ve polimamidlerin yüzey modifikasyonu için yüksek potansiyeli birçok kez rapor edilmiştir. Literatürde PET'i hidrolize eden sadece birkaç enzim tanımlanmış, bu enzimler öncelikle lipazlar ve esterazlar olarak bildirilmiştir (Alisch vd. 2004; Heumann vd. 2006). Yine Nakajima-Kambe vd. (1995) ve Howard vd. (1999) daha önce benzer çalışmalar yapmışlar ve PU'nın biyolojik bozunmasının ester bağlarının hidrolizinden kaynaklandığını göstermişlerdir. Khan vd. (2017) çalışmalarında MSM aşılansız *A. tubingensis*'te esteraz ve lipaz enzimlerinin aktiviteleri için farklı sıcaklık, pH, karbon kaynağı ve yüzey aktif maddeleri test etmişlerdir. Optimum koşullarda lipaz aktiviteleri, maksimumda olduğunu ve ardından kademeli olarak azaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde mevcut çalışmada hem esteraz hem de lipaz aktiviteleri bütün izolatlarda tespit edilmiştir. Plastik ürün parçalanması açısından esteraz ve lipaz varlığı çalışmamıza değer kazandırmıştır. Zon çapı ölçümlerine göre yapılan istatistiksel analizlerde, izolatlar arasındaki enzim aktivite farkları anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0.01$). Özellikle

A. tubingensis Buğday izolatinın istatistiksel olarak en yüksek lipaz üretimini göstermesi, buğdayın yapısındaki karbon kaynaklarının enzim indüksiyonunu diğer besin ortamlarına göre çok daha güçlü tetiklediğini kanıtlamaktadır.

Araştırmamızda, sıcaklık, pH ve besin ortamı çalışmaları, *A. tubingensis* için en uygun çevresel koşulların belirlenmesine ve antioksidan aktivite ile esteraz, lipaz, katalaz gibi enzim çalışmaları plastik parçalama yeteneğinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmuştur.

Sonuç olarak mevcut çalışmada, *A. tubingensis*'in laboratuvar koşullarından alınıp, doğal bir ortam oluşturularak tekrar çoğalması sağlanmıştır. Bu yeni ortamda plastik parçalayabilme özelliği gözlenmiş ve bu özelliği hangi yollar ile yapabildiği belirlenmeye çalışılmıştır. Yüksek sıcaklık ve düşük pH koşullarına dirençli olduğu hatta çoğalabildiği belirlenmiştir. *A. tubingensis*'in plastik yüzeyinde renk değişikliği ve lekelenmeler oluşturduğu gözlenmiş, bu aşınmanın ise antioksidan aktivite etkisi ile çekme mukavemetinde kayıp veya esneklik kaybı oluşturması yoluyla olduğu düşünülmektedir. Katalaz, lipaz ve esteraz gibi enzimlerin salgılanması plastik ürünlerin parçalanmasında etkilidir ve elde edilen veriler ile bozunumun bu yolla desteklendiği netleşmektedir. Bu özellikler ile doğal olarak oluşabilen *A. tubingensis*'in plastik ürünleri biyolojik olarak parçalayabilmesi mümkündür. Ancak yüksek enzim aktivitelerini ve biyolojik bozunma yollarında yer alan mekanizmayı daha iyi anlayabilmek için moleküler anlamda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abou-Zeid, D.M., Müller, R.J., Deckwer, W.D. (2001). "Degradation of natural and synthetic polyesters under anaerobic conditions". *Journal of Biotechnology*, 86(2): 113–126. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00406-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00406-5)
- Alisch, M., Feuerhack, A., Müller, H., Mensak, B., Andreaus, J., Zimmermann, W. (2004). "Biocatalytic modification of polyethylene terephthalate fibres by esterases from actinomyces isolates". *Biocatalysis and Biotransformation*, 22(5–6): 347–351. doi: <https://doi.org/10.1080/10242420400025877>
- Alfonso, A., Barea, J.M., Binder, E., Cumagun, C.J.R., Li, X., Liu, Y.J., Yang, X.B. (2015). "Climate change and mycotoxins". Botana, L. M., Sainz, M. J. (Ed.). Walter de Gruyter GmbH & Co KG. doi: <https://doi.org/10.1515/9783110333053>
- Amaretti, A., Di Nunzio, M., Pompei, A., Raimondi, S., Rossi, M., Bordoni, A. (2013). "Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: In vitro and in vivo activities". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2): 809–817. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4241-7>

- Bavadharani, S., Premamalini, T., Karthika, K., Kindo, A.J. (2022). "In vitro production of virulence factors and antifungal susceptibility pattern of *Aspergillus* isolates from clinical samples in a tertiary care center". Journal of Laboratory Physicians, 14(4): 479–484. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0042-1747680>
- Baykal Sarı, E., Yüzügüllü Karakuş, Y. (2020). "*Aspergillus niger* katalazının üretimi, üçlü-faz ayırma ile saflaştırılması ve biyokimyasal karakterizasyonu". Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24(1): 12–24. doi: <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.559988>
- Bos, R., van der Mei, H.C., Busscher, H.J. (1999). "Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions: Its mechanisms and methods for study". FEMS Microbiology Reviews, 23(2): 179–230. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1999.tb00396.x>
- Choque, E., Klopp, C., Valiere, S., Raynal, J., Mathieu, F. (2018). "Whole-genome sequencing of *Aspergillus tubingensis* G131 and overview of its secondary metabolism potential". BMC Genomics, 19: 1–16. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4574-4>
- Cosgrove, L., McGeechan, P.L., Robson, G.D., Handley, P.S. (2007). "Fungal communities associated with degradation of polyester polyurethane in soil". Applied and Environmental Microbiology, 73(18): 5817–5824. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.01083-07>
- de Leon, L., Isaura, C., Julie, B., Elodie, C., Jose, R., Patricia, T., Florence, M. (2019). "Influence of culture conditions on production of NGPs by *Aspergillus tubingensis*". Journal of Microbiology and Biotechnology, 29(9): 1412–1423. doi: <https://doi.org/10.4014/jmb.1905.05015>
- Earth Action. (2024). "Plastic Overshoot Day 2024: Global waste crisis surpasses management capacity". Erişim Adresi: <https://plasticovershoot.earth/> Son Erişim Tarihi: 04.03.2026
- Feng, S., Yue, Y., Chen, J., Zhou, J., Li, Y., Zhang, Q. (2020). "Biodegradation mechanism of polycaprolactone by a novel esterase MGS0156: a QM/MM approach". Environmental Science: Processes & Impacts, 22(12): 2410–2417. doi: <https://doi.org/10.1039/D0EM00356A>
- Gharaghani, M., Jafarian, H., Hatami, M., Shabanzadeh, M., Mahmoudabadi, A.Z. (2022). "Evaluation of catalase activity of clinical and environmental isolates of *Aspergillus* species". Iranian Journal of Microbiology, 14(1): 133–137. doi: <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i1.8815>
- Heumann, S., Eberl, A., Pobeheim, H., Liebming, S., Fischer-Colbrie, G., Almansa, E., Cavaco-Paulo, A., Gübitz, G.M. (2006). "New model substrates for enzymes hydrolysing polyethyleneterephthalate and polyamide fibres". Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 69(1–2): 89–99. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.02.005>
- Howard, G.T., Ruiz, C., Hilliard, N.P. (1999). "Growth of *Pseudomonas chlororaphis* on a polyester polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase

- esterase enzyme". International Biodeterioration & Biodegradation, 43: 7–12. doi: [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00058-2](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00058-2)
- Hu, S., Xu, M., Cui, Z., Xiao, Y., Liu, C., Liu, R., Zhang, G. (2023). "Probing the molecular mechanism of interaction between polystyrene nanoplastics and catalase by multispectroscopic techniques". Chemico-Biological Interactions, 382: 110648. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110648>
- Irawan, B., Andeska, D.P., Ekowati, C.N., Hadi, S. (2017). "Effects of pH on inoculum production of *Aspergillus tubingensis* on the acid rice media". International Journal of Scientific Engineering and Applied Science (IJSEAS), 3(7).
- Kahraman, M., Karahan, A.G., Terzioğlu, M.E. (2022). "Characterization of some microorganisms from human stool samples and determination of their effects on CT26 colorectal carcinoma cell line". Current Microbiology, 79(8). doi: <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02915-4>
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). "Antioksidanlar". Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1): 46-56.
- Khan, S., Nadir, S., Shah, Z.U., Shah, A.A., Karunarathna, S.C., Xu, J., Khan, A., Munir, S., Hasan, F. (2017). "Biodegradation of polyester polyurethane by *Aspergillus tubingensis*". Environmental Pollution, 225: 469–480. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.012>
- Lambré, C., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D.M., Grob, K., Lampi, E., Mengelers, M., Mortensen, A., Rivière, G., Steffensen, I.L., Tlustos, C., Van Loveren, H., Vernis, L., Zorn, H., Herman, L., Roos, Y., Andryszkiewicz, M., ... Chesson, A. (2023). "Safety evaluation of the food enzyme catalase from the non-genetically modified *Aspergillus tubingensis* strain AE-CN". EFSA Journal, 21(11): 1–15. doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8398>
- Lewis, S.S.A. (2002). "Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: Structure–activity relationship". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(3): 468–472.
- Matsumura, S., Soeda, Y., Toshima, K. (2006). "Perspectives for synthesis and production of polyurethanes and related polymers by enzymes directed toward green and sustainable chemistry". Applied Microbiology and Biotechnology, 70(1): 12–20. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0269-2>
- Mosseray, R. (1934). "Les *Aspergillus* de la section "Niger" Thom et Church". La Cellule, 43: 203-285.
- Nakajima-Kambe, T., Onuma, F., Kimpara, N., Nakahara, T. (1995). "Isolation and characterization of a bacterium which utilizes polyester polyurethane as a sole carbon and nitrogen source". FEMS Microbiology Letters, 129(1): 39–42. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07554.x>

- Puspitasari, N., Tsai, S.L., Lee, C.K. (2021). "Fungal hydrophobin RolA enhanced PETase hydrolysis of polyethylene terephthalate". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(5): 1284–1295. doi: <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03358-y>
- Rai, B., Shrestha, A., Sharma, S., Joshi, J. (2014). "Screening, optimization and process scale up for pilot scale production of lipase by *Aspergillus niger*". *Biomedicine and Biotechnology*, 2(3): 54–59. doi: <https://doi.org/10.12691/bb-2-3-3>
- Ramadan, A., Shehata, R., El-Sheikh, H., Zidan, S., Al-Bedak, O. (2023). "GC-MS analysis, antifungal, and antioxidant activity of rice straw-based extract produced by *Aspergillus tubingensis* AUMC 15759 in solid state fermentation". *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, G. Microbiology*, 15(2): 43–60. doi: <https://doi.org/10.21608/eajbsg.2023.317808>
- Samson, R.A., Noonim, P., Meijer, M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Varga, J. (2007). "Diagnostic tools to identify black aspergilli". *Studies in Mycology*, 59: 129–145. doi: <https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.13>
- Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Baranyi, N., Vágvolgyi, C., Despot, D.J., Magyar, D., Meijer, M., Samson, R.A., Klarić, M.Š. (2014). "Occurrence of black Aspergilli in indoor environments of six countries". *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 65(2): 219–223. doi: <https://doi.org/10.2478/10004-1254-65-2014-2450>
- Wang, Q., Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Chisti, Y., Gong, J., Sirisansaneeyakul, S., Komes, D. (2018). "Physicochemical properties and biological activities of a high-theabrownins instant Pu-erh tea produced using *Aspergillus tubingensis*". *LWT - Food Science and Technology*, 90: 598-605. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.021>
- Wang, X., Lu, D., Jönsson, L.J., Hong, F. (2008). "Preparation of a PET-hydrolyzing lipase from *Aspergillus oryzae* by the addition of bis(2-hydroxyethyl) terephthalate to the culture medium and enzymatic modification of PET fabrics". *Engineering in Life Sciences*, 8(3): 268–276. doi: <https://doi.org/10.1002/elsc.200700058>
- Yao, J., Li, H., Lan, J., Bao, Y., Du, X., Zhao, Z., Hu, G. (2023). "Spectroscopic investigations on the interaction between nano plastic and catalase on molecular level". *Science of the Total Environment*, 863: 160903. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160903>
- Yücesoy, M., Karaman, M. (2003). "Oral kandidozlu ve sağlıklı bireylerden soyutlanan *Candida albicans* suşlarında fosfolipaz ve esteraz aktivitesinin değerlendirilmesi". *İnfeksiyon Dergisi*, 17(4): 483-486.