T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**DOKTORA TEZİ**

# AKTİF ÇAMUR ENZİMLERİYLE ORGANİK MİKROKİRLETİCİLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ

**Gülşah GÜNEL**

**DANIŞMAN**
**Prof. Dr. Gülsüm YILMAZ**

**II. DANIŞMAN**
**Dr. Öğr. Üyesi Cihan AYDIN**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Çevre Mühendisliği, Doktora Programı**

**Şubat, 2026**

# TEZ KABUL VE ONAYI

**Gülşah GÜNEL** tarafından, **Prof. Dr. Gülsüm YILMAZ** danışmanlığında hazırlanan **"AKTİF ÇAMUR ENZİMLERİYLE ORGANİK MİKROKİRLETİCİLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **12/02/2026** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**

| | | İmza | Sonuç |
|---|---|---|---|
| **DANIŞMAN** | Prof. Dr. Gülsüm YILMAZ<br>İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi<br>Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı | | ☒ Kabul<br>☐ Ret |
| **ÜYE** | Prof. Dr. Bahar İNCE<br>Boğaziçi Üniversitesi<br>Çevre Bilimleri ve Teknolojileri Enstitüsü | | ☒ Kabul<br>☐ Ret |
| **ÜYE** | Prof. Dr. İlda VERGİLİ<br>İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi<br>Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı | | ☒ Kabul<br>☐ Ret |
| **ÜYE** | Prof. Dr. Güleda ENGİN<br>Yıldız Teknik Üniversitesi<br>Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı | | ☒ Kabul<br>☐ Ret |
| **ÜYE** | Prof. Dr. Zeren Beril ÖZÇELEP<br>İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi<br>Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı | | ☒ Kabul<br>☐ Ret |

Cumhuriyetimizin kurucusu Mustafa Kemal Atatürk ve Aileme ithaf ediyorum…

# BÜTÇE DESTEKLERİ

## AKTİF ÇAMUR ENZİMLERİYLE ORGANİK MİKROKİRLETİCİLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FDK-2023-36797

**Metin girmek için buraya tıklayın veya dokunun.**

# İÇİNDEKİLER

**TEZ KABUL VE ONAYI** ..... **ii**
**BEYAN** ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
**BÜTÇE DESTEKLERİ** ..... **v**
**TEŞEKKÜR** ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
**İÇİNDEKİLER** ..... **vi**
**ŞEKİL LİSTESİ** ..... **viii**
**TABLO LİSTESİ** ..... **xi**
**SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ** ..... **xii**
**ÖZET** ..... **xiii**
**ABSTRACT** ..... **xv**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
1.1. ÇALIŞMANIN AMACI VE KAPSAMI ..... 2
**2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE** ..... **4**
2.1. MİKROKİRLETİCİLER VE ÇEVRESEL RİSKLER ..... 4
2.2. ANTİBİYOTİKLERİN YAYILIMI VE EKOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİ ..... 9
2.2.1. Atıksu ve Çamur Ortamlarında Antibiyotik Dirençli Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Genleri ..... 10
2.3. ATIK SU ARITMA YÖNTEMLERİ ..... 14
2.4. BİYOLOJİK ARITIMDA ENZİM KULLANIMI ..... 17
2.5. AKTİF ÇAMUR SÜRECİ VE ENZİMATİK AKTİVİTE ..... 19
2.6. SEFAZOLİN, SEFUROKSİM, SİPROFLOKSASİN VE SÜLFAMETOKSAZOL ANTİBİYOTİKLERİNİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ ..... 25
2.6.1. Enzimatik Bozunma Çalışmaları ..... 26
2.6.2. Etkili Enzimler: Lakkaz, Peroksidaz ve Diğerleri ..... 32

2.7. MOLEKÜLER İZLEME: NGS TEKNOLOJİSİ ..... 35
**3. YÖNTEM ..... 37**
3.1. KİMYASAL MADDELERİN HAZIRLANIŞI ..... 38
3.2. NUMUNE TOPLAMA VE ÖN İŞLEMLER ..... 38
3.3. HÜCRE LİZATININ SAFLAŞTIRILMASI ..... 39
3.4. ENZİM AKTİVİTE DENEYLERİ ..... 39
3.5. ANTİBİYOTİKLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ DENEYLERİ ..... 39
3.6. HPLC Analiz Koşulları ve Metodu ..... 41
3.7. MİKROBİYAL TOPLULUK ANALİZİ ..... 43
3.7.1. DNA İzolasyonu ..... 43
**Örneklerin Hazırlanması** ..... 43
**Organik Ekstraksiyon** ..... 45
3.7.2. NGS Analizi ..... 46
**4. BULGULAR ..... 48**
4.1. ENZİM AKTİVİTESİ DENEY SONUÇLARI ..... 48
4.2. ANTİBİYOTİK BİYOBOZUNMA DENEYİ ANALİZ SONUÇLARI ..... 50
4.2.1. HPLC'DE ANTİBİYOTİK ÖLÇÜMÜ KALİBRASYONU ..... 50
4.2.2. CIP'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI ..... 53
4.3. CFZ'NİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI ..... 61
4.3.3. CXM'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI ..... 68
4.3.4. SMX'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI ..... 75
4.4. SEÇİLİ ANTİBİYOTİKLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜNÜN MEVSİMSEL DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ..... 82
4.5. NGS ANALİZ SONUÇLARI ..... 88
**5. TARTIŞMA ..... 93**
5.1. Seçili Antibiyotiklerin Enzimatik Gideriminde Mevsimsel ve Bileşik Bazlı Farklılıkların Değerlendirilmesi ..... 93
5.2. NGS Analiz sonuçları ..... 104
**6. SONUÇ VE ÖNERİLER ..... 108**
**KAYNAKLAR ..... 112**
**İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI ..... 125**
**ETİK KURUL İZİN YAZISI ..... 126**
**KURUM İZNİ YAZILARI ..... 127**
**ÖZGEÇMİŞ ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

# ŞEKİL LİSTESİ

**Sayfa No**

Şekil 1. Mikrokirleticilerin oluşumu ve çevrede dağılımı. ..... 6

Şekil 2. Mikrokirleticilerin kaynağı, yayılımı ve etkileri. ..... 9

Şekil 3. Antibiyotiklerin yapıları. ..... 25

Şekil 4. Aktif çamurdan enzim ekstraksiyonu için gerekli olan basamaklar. ..... 37

Şekil 5. Aktif çamurdan elde edilen enzim ekstraktının doz-bağımlı enzim aktivite profilleri. ..... 50

Şekil 6. Standart Karışım Kromatogramı. ..... 51

Şekil 7. CIP Kalibrasyon Eğrisi. ..... 52

Şekil 8. CFU Kalibrasyon Eğrisi. ..... 52

Şekil 9. CFX Kalibrasyon Eğrisi. ..... 52

Şekil 10. SMX Kalibrasyon Eğrisi. ..... 53

Şekil 11. İlkbahar numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 54

Şekil 12. İlkbahar numunesinde CIP'in normalize giderim yüzdesi. ..... 55

Şekil 13. Yaz numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 56

Şekil 14. Yaz numunesi CIP normalize giderim yüzdesi. ..... 56

Şekil 15. Sonbahar numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 57

Şekil 16. Sonbahar numunesinde CIP normalize giderim yüzdesi. ..... 58

Şekil 17. Kış numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 58

Şekil 18. Kış numunesi CIP normalize giderim yüzdesi. ..... 59

Şekil 19. İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CIP normalize giderim yüzdesi. ..... 60

Şekil 20. İlkbahar numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 61

Şekil 21. İlkbahar numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi. ..... 62

Şekil 22. Yaz numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 63

Şekil 23. Yaz numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi. ..... 63
Şekil 24. Sonbahar numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ... 64
Şekil 25. Sonbahar numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi..... 65
Şekil 26. Kış numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 66
Şekil 27. Kış numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi. ..... 66
Şekil 28. İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CFZ normalize giderim yüzdesi. ..... 67
Şekil 29. İlkbahar numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ... 68
Şekil 30. İlkbahar numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi..... 69
Şekil 31. Yaz numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi..... 70
Şekil 32. Yaz numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi. ..... 70
Şekil 33. Sonbahar numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. . 71
Şekil 34. Sonbahar numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi. ..... 72
Şekil 35. Kış numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi..... 73
Şekil 36. Kış numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi. ..... 73
Şekil 37. İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CXM normalize giderim yüzdesi. ... 74
Şekil 38. İlkbahar numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ... 75
Şekil 39. İlkbahar numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi. ..... 76
Şekil 40. Yaz numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 77
Şekil 41. Yaz numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi. ..... 77
Şekil 42. Sonbahar numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. . 78
Şekil 43. Sonbahar numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi. ..... 79
Şekil 44. Kış numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi. ..... 80
Şekil 45. Kış numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi. ..... 80
Şekil 46. İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde SMX normalize giderim yüzdesi. .... 81
Şekil 47. İlkbahar numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi..... 82
Şekil 48. Yaz numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi. ..... 83
Şekil 49. Sonbahar numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi..... 84

Şekil 50. Kış numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi. .....85

Şekil 51. CIP antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği. .....86

Şekil 52. CFZ antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği. .....86

Şekil 53. CXM antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği. .....87

Şekil 54. SMX antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği. .....87

# TABLO LİSTESİ

**Sayfa No**

Tablo 1. Mikrokirleticilerin kaynakları ve çevresel etkileri. ..... 7

Tablo 2. Atıksu ve çamur ortamlarında rapor edilen antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç genleri. ..... 12

Tablo 3. Seçilen Antibiyotiklerin Kimyasal ve Fizikokimyasal Özellikleri. ..... 26

Tablo 4. Antibiyotik çözeltilerinin hazırlanışı. ..... 40

Tablo 5. Antibiyotiklerin HPLC analizine ait kromatografik koşullar. ..... 42

Tablo 6. DNA izolasyonunda kullanılan tamponlar. ..... 44

Tablo 7. Aktif çamurdan elde edilen enzim ekstraktının farklı dozlarında ölçülen enzim aktiviteleri. ..... 49

# SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

| Simgeler | Açıklama |
|---|---|
| **$CO_2$** | : Karbon Dioksit |
| **$CH_4$** | : Metan |
| **$N_2O$** | : Diazot Monoksit |
| **$SO_2$** | : Kükürt Dioksit |
| **ng/L** | : nanogram/litre |
| **µg/L** | : mikrogram/litre |
| **$UV/H_2O_2$** | : Ultraviyole / Hidrojen Peroksit |
| **$C_{17}H_{18}FN_3O_3$** | : Siprofloksasin |
| **$C_{10}H_{11}N_3O_3S$** | : Sülfametoksazol |
| **$C_{16}H_{16}N_4O_8S$** | : Sefuroksim |
| **$C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$** | : Sefazolin |
| **Kısaltmalar** | **Açıklamalar** |
| **NGS** | : Yeni Nesil Dizileme- Next Generation Sequencing |
| **HPLC** | : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- High Performance Liquid Chromatography |
| **MK** | : Mikrokirletici |
| **EMPs** | : Yeni Ortaya Çıkan Mikrokirleticiler- Emerging Micropollutants |
| **EDC** | : Endokrin Bozucu Kimyasallar |
| **BFR** | : Bromlu Alev Geciktiriciler |
| **ADB** | : Antibiyotik Dirençli Bakteriler |
| **ADG** | : Antibiyortik Direnç Genleri |
| **DNA** | : Deoksiriboz Nükleik Asit |
| **AOPs** | : Gelişmiş Oksidasyon Prosesleri |
| **CIP** | : Siprofloksasin |
| **CXM** | : Sülfametoksazol |
| **CFX** | : Sefuroksim |
| **CFZ** | : Sefazolin |
| **PCR** | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Polymerase Chain Reaction |

# ÖZET

## DOKTORA TEZİ

## AKTİF ÇAMUR ENZİMLERİYLE ORGANİK MİKROKİRLETİCİLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ

**Gülşah GÜNEL**

**İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Çevre Mühendisliği, Doktora Programı**

**Danışman : Prof. Dr. Gülsüm YILMAZ**

**II. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Cihan AYDIN**

Endüstriyel gelişmeler, kentleşme ve tarımsal faaliyetlerin hız kazanmasıyla birlikte atık sularda giderek daha fazla tespit edilen organik mikrokirleticiler, çevresel ve halk sağlığı açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır. İlaç aktif maddeleri, özellikle antibiyotikler, düşük konsantrasyonlarda dahi sucul organizmalarda toksik etkilere neden olmakta ve antibiyotik direnç genlerinin yayılımını teşvik etmektedir. Geleneksel atık su arıtma yöntemleri, bu tür dirençli ve kalıcı bileşiklerin tamamen uzaklaştırılmasında yetersiz kalmakta; bu durum biyoteknolojik temelli alternatif yaklaşımlara olan ihtiyacı gündeme getirmektedir. Bu tez çalışmasında, aktif çamurdan ekstrakte edilen hücresiz lizatlar kullanılarak seçilmiş antibiyotiklerin bozunma potansiyelleri değerlendirilmiş; eş zamanlı olarak çeşitli enzim aktiviteleri kolorimetrik analizler aracılığıyla kantitatif olarak belirlenmiştir. Deneysel çalışmalar kapsamında sefazolin (CFZ), sefuroksim (CXM), siprofloksasin (CIP) ve sülfametoksazol (SMX) antibiyotikleri model mikrokirletici olarak seçilmiş; bu bileşiklerin enzimatik yollarla parçalanabilirliği spektrofotometrik analizler ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ölçümleriyle izlenmiştir. Antibiyotiklerin enzim aracılı bozunma süreçlerinde rol oynayabilecek lakkaz, peroksidaz, fosfataz ve glukuronidaz enzimlerine ait aktivite düzeyleri mikroplaka deneyleri kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, aktif çamurdan elde edilen mikrobiyal toplulukların yapısı Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS) yöntemiyle analiz edilerek, enzimatik aktiviteyle ilişkili potansiyel mikrobiyal türler ortaya konmuştur. Enzim + antibiyotik uygulaması kapsamında elde edilen giderim sonuçları mevsimsel bazda değerlendirildiğinde; ilkbahar mevsiminde %54–85, yaz mevsiminde %55–100, sonbahar mevsiminde %53–86 ve kış mevsiminde %42–80 aralığında değişen giderim yüzdeleri belirlenmiştir. Mevsim ayrımı yapılmaksızın tüm deney koşulları birlikte ele alındığında giderim yüzdelerinin genel olarak %42 ile %100 arasında değiştiği görülmektedir. Antibiyotik türlerine göre değerlendirildiğinde ise enzim + antibiyotik uygulaması altında CIP için %80–100, CXM için %68–100, CFZ için %55–78 ve SMX için %42–100 aralığında giderim yüzdeleri kaydedilmiştir. Bu çalışmanın temel amacı,

aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimlerin çevresel mikrokirleticilere karşı kullanım potansiyelini ortaya koyarak, arıtım süreçlerinde etkinliğin artırılmasına ve çevresel sürdürülebilirliği destekleyen yenilikçi, ekonomik ve çevre dostu biyoteknolojik yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlamaktır.

Şubat 2026 , 146 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Aktif Çamur, mikrokirleticiler, enzimatik bozunma, antibiyotik giderimi

# ABSTRACT

## Ph.D. THESIS

### BIOLOGICAL CONVERSION of ORGANIC MICROPOLLUTANTS by ACTIVATED SLUDGE ENZYMES

**Gülşah GÜNEL**

**İstanbul University-Cerrahpaşa**

**Institute of Graduate Studies**

**Department of Environmental Engineering**

**Environmental Engineering**

**Supervisor : Prof. Dr. Gülsüm YILMAZ**

**Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Cihan AYDIN**

With the rapid growth of industrial development, urbanization, and agricultural activities, organic micropollutants are being increasingly detected in wastewater, posing serious threats to environmental and public health. Pharmaceutical active compounds, particularly antibiotics, can induce toxic effects in aquatic organisms even at low concentrations and promote the dissemination of antibiotic resistance genes. Conventional wastewater treatment processes are often insufficient for the complete removal of such persistent and recalcitrant compounds, highlighting the need for alternative biotechnological approaches. In this study, the degradation potential of selected antibiotics was evaluated using cell-free lysates extracted from activated sludge, while various enzyme activities were simultaneously quantified through colorimetric analyses. Cefazolin (CFZ), Cefuroxime (CXM), Ciprofloxacin (CIP), and Sulfamethoxazole (SMX) were selected as model micropollutants, and their enzymatic degradability was monitored using spectrophotometric analyses and high-performance liquid chromatography (HPLC). The activity levels of enzymes potentially involved in enzyme-mediated antibiotic degradation, including laccase, peroxidase, phosphatase, and glucuronidase, were quantitatively determined using microplate-based assays. In addition, the structure of microbial communities derived from activated sludge was analyzed by Next Generation Sequencing (NGS), enabling the identification of potential microbial taxa associated with enzymatic activity. When the removal efficiencies obtained under the enzyme + antibiotic application were evaluated on a seasonal basis, removal percentages ranging from 54–85% in spring, 55–100% in summer, 53–86% in autumn, and 42–80% in winter were determined. When all experimental

conditions were considered collectively, regardless of seasonal variation, the overall removal efficiencies ranged between 42% and 100%. Based on antibiotic-specific evaluation, removal efficiencies of 80–100% for CIP, 68–100% for CXM, 55–78% for CFZ, and 42–100% for SMX were recorded under the enzyme + antibiotic application. The main objective of this study is to demonstrate the potential use of enzymes extracted from activated sludge against environmental micropollutants, thereby contributing to enhanced treatment efficiency and the development of innovative, cost-effective, and environmentally friendly biotechnological approaches in the field of environmental engineering.

February 2026, 146 pages.

**Keywords:** Activated Sludge, micropollutants, enzymatic degradation, antibiotic removal

# 1. GİRİŞ

Sanayi devrimi ile birlikte hız kazanan endüstrileşme ve kentleşme süreci, doğal çevre üzerinde geri dönülemez etkiler yaratmaya başlamıştır. Artan enerji ihtiyacı, fosil yakıt tüketimi ve nüfus yoğunluğu ile birlikte atmosfer, toprak ve su gibi temel doğal kaynaklarda ciddi düzeyde kirlenme meydana gelmiştir. Sera gazlarının ($CO_2$, $CH_4$, $N_2O$, $SO_2$) atmosfere salınımındaki artış, endüstriyel tesislerden ve kentsel alanlardan kaynaklanan atıklar ile birleştiğinde, küresel ölçekte çevresel tehditler doğurmuştur (Filonchyk ve diğ., 2024). Özellikle yerüstü ve yeraltı su kaynakları, bu tehditlerden en fazla etkilenen alanlar arasında yer almaktadır (Saxena, 2025).

Dünya yüzeyinin yaklaşık %75'ini kaplayan su, tüm canlılar için vazgeçilmez bir yaşam öğesidir. Ancak artan kentleşme, kontrolsüz endüstriyel faaliyetler ve tarımsal girdiler, su kaynaklarının hem miktar hem de kalite açısından ciddi şekilde bozulmasına yol açmaktadır. Atıksularla taşınan kimyasallar, ağır metaller, pestisitler, kişisel bakım ürünleri ve farmasötik kalıntılar gibi kirleticiler, özellikle içme suyu kaynaklarında toksisite riskini artırmakta, ekosistemde geri dönüşü olmayan tahribatlara neden olmaktadır (Albarano ve diğ., 2025; Gini ve diğ., 2025).

Bu kirleticiler arasında yer alan mikrokirleticiler, çevrede çok düşük konsantrasyonlarda bulunan ancak uzun vadeli etkileri bakımından oldukça tehlikeli olan organik ya da inorganik bileşiklerdir. Pestisitler, endokrin bozucular, ilaç aktif maddeleri ve plastik türevli bileşikler, mikrokirletici sınıfında değerlendirilmekte olup; bu maddelerin büyük bir bölümü geleneksel arıtma yöntemleri ile etkili şekilde giderilememektedir (Maghimaa M. ve diğ., 2025). Mikrokirleticiler, çoğunlukla atık su arıtma tesislerinden deşarj edilen sular yoluyla doğrudan yüzey ve yeraltı sularına karışmakta ve halk sağlığı açısından ciddi tehdit oluşturmaktadır (Shabbirahmed ve diğ., 2025).

Su kirliliğine yol açan bu tür bileşiklerin uzaklaştırılmasında uygulanan fiziksel (adsorpsiyon, filtrasyon), kimyasal (ozonlama, ileri oksidasyon, çöktürme) ve biyolojik yöntemler çoğu zaman tek başına yeterli olmamakta; yüksek maliyet, enerji tüketimi ve toksik yan ürün oluşumu gibi nedenlerle uygulama alanı sınırlı kalmaktadır (Morin-Crini ve diğ.,

2022; Wei ve diğ., 2025). Bu nedenle, daha sürdürülebilir ve çevre dostu çözümlere olan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır.

Son yıllarda öne çıkan alternatif arıtma stratejilerinden biri de biyolojik temelli süreçlerde enzim kullanımına dayanan yöntemlerdir. Enzimler, düşük enerji gereksinimiyle çalışabilmeleri, substratlara özgü yüksek seçicilik göstermeleri ve toksik ortamlarda dahi aktivite gösterebilmeleri nedeniyle çevresel arıtım süreçlerinde önemli avantajlar sunmaktadır. Enzimlerin bu avantajları, onları özellikle suda çözünmüş halde bulunan eser miktardaki mikrokirleticilerin dönüşümünde etkili biyokatalizörler haline getirmiştir (Barros do Nascimento ve diğ., 2025).

Sonuç olarak, aktif çamur sistemleri, atıksu arıtma süreçlerinde yaygın olarak kullanılan biyolojik yöntemler arasında yer almakta olup, arıtım performansı büyük ölçüde bu sistemlerdeki mikrobiyal faaliyetlere bağlıdır. Bu mikroorganizmalar, arıtım süreci boyunca çeşitli biyokimyasal tepkimelerde rol almakta ve ortam koşullarına bağlı olarak farklı enzimatik aktiviteler sergileyebilmektedir. Dolayısıyla, aktif çamur yapısının ve bu yapıdan elde edilebilecek biyolojik bileşenlerin incelenmesi, arıtım mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına yönelik genel bir çerçeve sunmaktadır.

## 1.1. ÇALIŞMANIN AMACI VE KAPSAMI

Bu çalışmada, aktif çamurdan enzimler ekstrakte edilmiş ve bu enzimlerin, araştırma kapsamında seçilen antibiyotiklerin biyolojik bozunması üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, belediyeye ait bir Kentsel Atıksu Arıtma Tesisi'nden (KAAT), sıcaklık ve atıksu karakterizasyonundaki mevsimsel değişimlerin mikrobiyal topluluk yapısını yansıtacak şekilde dört farklı mevsimde aktif çamur numuneleri alınmıştır. Alınan numuneler fiziksel yöntemlerle işlenerek enzim ekstraktları elde edilmiş; p-nitrofenol türevi substratlar kullanılarak çeşitli enzim aktiviteleri, kolorimetrik esaslı spektrofotometrik analizler ile kantitatif olarak belirlenmiştir. Takip eden aşamada, aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimlerin antibiyotiklerle etkileşimi ve bu etkileşimin biyolojik bozunma üzerindeki etkileri mikroplaka temelli deneyler ile ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bu kapsamda, belediyeye ait aynı KAAT'lerinden dört mevsim boyunca temin edilen aktif çamur numunelerinden elde edilen enzim ekstraktları kullanılarak, florokinolon, sülfonamid ve beta-laktam (β-laktam) antibiyotik gruplarının içerisinde yer alan, **sefazolin (CFZ), sefuroksim (CXM), siprofloksasin (CIP)** ve **sülfametoksazol (SMX)** antibiyotiklerinin biyolojik bozunma ve giderim potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bu antibiyotiklerin seçiminde, yaygın olarak kullanılan ve farklı kimyasal yapılara sahip ilaç aktif maddelerinin, aktif çamurdan elde edilen enzimler aracılığıyla giderim potansiyelinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böylece enzimatik giderimin antibiyotik türüne ve yapısal özelliklere bağlı değişimi ortaya konulabilmektedir. Literatür bulguları, CIP ve SMX'in küresel ölçekte farklı çevresel matrislerde en yaygın tespit edilen antibiyotikler arasında yer aldığını göstermektedir. Buna ek olarak, sefalosporin grubu antibiyotiklerin, özellikle sağlık kuruluşlarından kaynaklanan atıksularda baskın β-laktam bileşenleri olarak yüksek sıklık ve konsantrasyonlarda bulunduğu rapor edilmektedir (Campbell ve diğ., 2025). Enzimatik faaliyetlerin değerlendirilmesinde **yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC)** analizlerinden yararlanılmış; böylece her bir bileşiğin ayrıntılı degradasyon profili kantitatif olarak ortaya konmuştur. Bununla birlikte, aynı aktif çamur örneklerinden elde edilen mikrobiyal topluluk çeşitliliği, **Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS)** yöntemi aracılığıyla analiz edilerek, enzimatik aktiviteyle ilişkilendirilebilecek potansiyel mikroorganizma grupları belirlenmiştir. Bu çalışmada, atık sularda sıklıkla tespit edilen ilaç aktif madde kökenli antibiyotiklerin biyolojik olarak giderilebilmesine yönelik enzim temelli bir yaklaşım değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nden farklı mevsimlerde alınan aktif çamur numunelerinden elde edilen hücresiz enzim fraksiyonlarının seçilen antibiyotiklerin bozunma potansiyeli üzerindeki etkisi deneysel olarak incelenmiştir. Bununla birlikte, arıtım süreçlerinde rol oynayabilecek mikrobiyal topluluk yapısının mevsimsel değişimi de moleküler analizler aracılığıyla araştırılarak, enzimatik dönüşüm mekanizmalarının mikrobiyal ekoloji ile ilişkisi bütüncül biçimde ele alınmıştır. Çalışmanın temel amacı, aktif çamur kaynaklı enzimlerin antibiyotik parçalanmasındaki etkinliğini ortaya koymak ve çevresel biyoteknoloji uygulamalarında kullanılabilecek yenilikçi, düşük maliyetli ve sürdürülebilir arıtım seçeneklerinin geliştirilmesine bilimsel altyapı sağlamaktır.

# 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

## 2.1. MİKROKİRLETİCİLER VE ÇEVRESEL RİSKLER

Mikrokirleticiler, genellikle nanogram/litre (ng/L) ile mikrogram/litre (µg/L) düzeylerinde çevrede bulunan, düşük konsantrasyonlarına rağmen uzun vadeli maruziyet potansiyelleri nedeniyle sucul organizmalar ve insan sağlığı için önemli riskler oluşturan organik kimyasallardır (Rodrigues ve diğ., 2025). Bu maddeler, doğal olarak çevrede bulunmayan ve insan faaliyetleri sonucu su sistemlerine karışan bileşiklerdir. Mikrokirleticiler; ilaç aktif maddeleri, kişisel bakım ürünleri, pestisitler, endüstriyel kimyasallar, steroid hormonlar, mikroplastikler ve ağır metaller gibi çeşitli kategorilere ayrılabilir (Tarigan ve diğ., 2025).

Yeni ortaya çıkan mikrokirleticiler (emerging micropollutants – EMPs), çevresel ortamlarda yaygın olarak bulunan, geniş bir sentetik veya doğal, kimyasal ve biyolojik madde grubunu kapsar. EMP'lerin çevresel önemi, düşük dozlarda bile kronik toksisite, biyobirikim ve organizma düzeyinde hormonal bozukluklar gibi etkiler oluşturabilmelerinden kaynaklanmaktadır (Chen ve diğ., 2025).

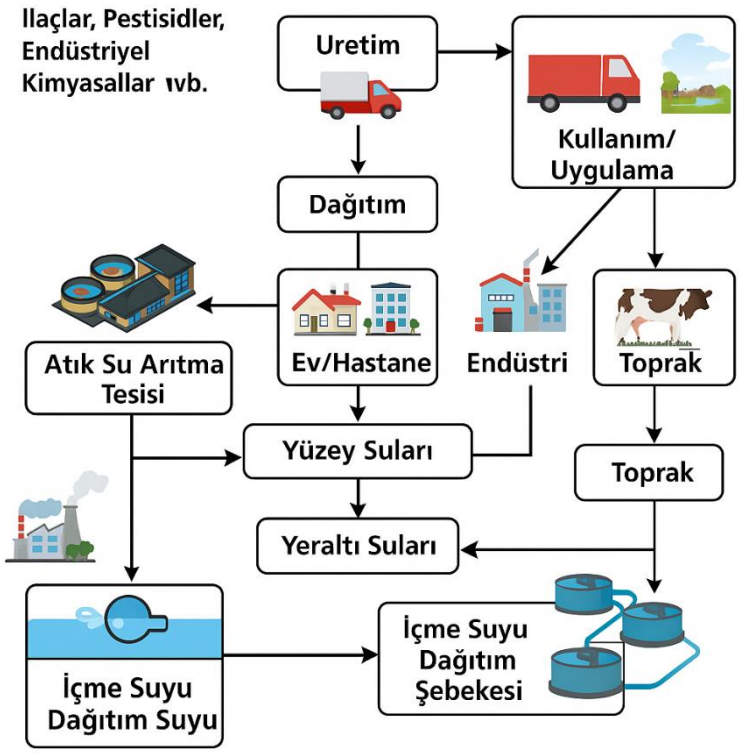
Mikrokirleticilerin çevreye yayılımı genellikle şu temel antropojenik kaynaklara dayanmaktadır (Şekil 1), (Odabasi ve diğ., 2020):

- **Endüstriyel Deşarjlar**: Farmasötikler, endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler) ve bromlu alev geciktiriciler (BFR'ler) gibi kirleticiler, üretim proseslerinden çıkan atık sular aracılığıyla doğrudan yüzey sularına ulaşabilmektedir (Pan ve diğ., 2025). Sanayi deşarjlarının atıksu kalitesi üzerinde önemli etkiler oluşturduğu görülmektedir. Özellikle farmasötik bileşikler ve civa gibi maddeler açısından endüstriyel kaynaklı deşarjların, atıksu sistemlerinde zaman zaman ani konsantrasyon artışlarına neden olabildiği belirlenmektedir. Metabolit analizlerine dayalı değerlendirmeler sayesinde, tüketime bağlı kaynaklar ile sanayi kaynaklı girdiler arasındaki ayrım yapılabilmekte; bu sayede sanayi faaliyetlerinin mikrokirletici seviyeleri ve çevresel etkiler üzerindeki katkısı ortaya konulabilmektedir.

Ayrıca, mikrokirleticilerin konsantrasyonlarının zamansal değişimi incelendiğinde, yoğunluk ve dağılımlarında belirgin farklılıklar gözlemlenmekte; bu farklılıkların özellikle belirli zaman dilimlerinde gerçekleşen sanayi atık salınımlarıyla ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Bu doğrultuda, sanayi kaynaklarının atıksular üzerindeki etkisi, kirletici seviyelerinin artmasına ve arıtma süreçlerinin olumsuz yönde etkilenmesine neden olan önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Bu durum, düzenleyici politikaların oluşturulması ve arıtma teknolojilerinin geliştirilmesi sürecinde dikkate alınması gereken kritik bir parametre niteliği taşımaktadır (Kilpinen ve diğ., 2024).

- **Belediye Atıksuları ve Kentsel Yüzey Akışları**: Özellikle konvansiyonel atık su arıtma tesisleri, mikrokirleticilerin büyük bölümünü yeterince gideremediğinden, bu bileşikler doğrudan su sistemlerine salınmaktadır (Saxena, 2025). Belediye atık suları ve kentsel yüzey akışları yoluyla taşınan mikrokirleticiler, çevresel açıdan önemli bir yük oluşturmaktadır. Atıksu arıtma tesisleri çıkışında oluşan çamur içerisinde bulunan mikrokirleticilerin çevresel davranışları ve oluşturabilecekleri riskler, özellikle bu maddelerin sucul ekosistemlere ve toprak ortamına geri kazandırılması sürecinde dikkat çekmektedir. Bu kapsamda, mikrokirleticilerin su ve toprak ortamlarında yayılım potansiyeli değerlendirilmekte; söz konusu maddelerin tarımsal ve ormancılık alanlarında uygulamalar sonucunda ortaya çıkarabileceği çevresel riskler göz önünde bulundurulmaktadır (Fernández-Fernández ve diğ., 2023).

- **Tarımsal Yüzey Akışı**: Pestisitler, gübreler ve hayvansal atıkların yağmurla yıkanarak su yollarına taşınması, özellikle kırsal alanlarda yaygın bir mikrokirletici kaynağıdır (Abalasei ve diğ., 2025). Tarımsal yüzey akışının, ilaçların sucul ortamlara yayılımında önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır. Özellikle sülfonamidler, sefalosporinler ve makrolidler gibi antibiyotiklerin yağışlar sırasında topraktan yüzey sularına kolayca taşındığı belirtilmiştir. Bu durum, bu tür bileşiklerin su ortamlarına girişini hızlandırmakta ve olası çevresel etkileri artırmaktadır (Hernández-Tenorio, 2023).




**Şekil 1.** Mikrokirleticilerin oluşumu ve çevrede dağılımı.

Bu maddelerin varlığı, akarsu, göl, yeraltı suyu ve hatta içme suyu kaynaklarında izlenmekte olup, ekotoksik etkiler, dirençli mikroorganizma gelişimi ve gıda zinciri kontaminasyonu gibi risklere yol açmaktadır. Bu durum, sadece çevresel sürdürülebilirlik açısından değil, aynı zamanda toplum sağlığı ve uzun vadeli yaşam kalitesi açısından da ciddi tehditler doğurmaktadır **(**Shabbirahmed ve diğ., 2025). Mikrokirleticilerin kaynakları ve çevresel etkileri Tablo 1'de verilmiştir.

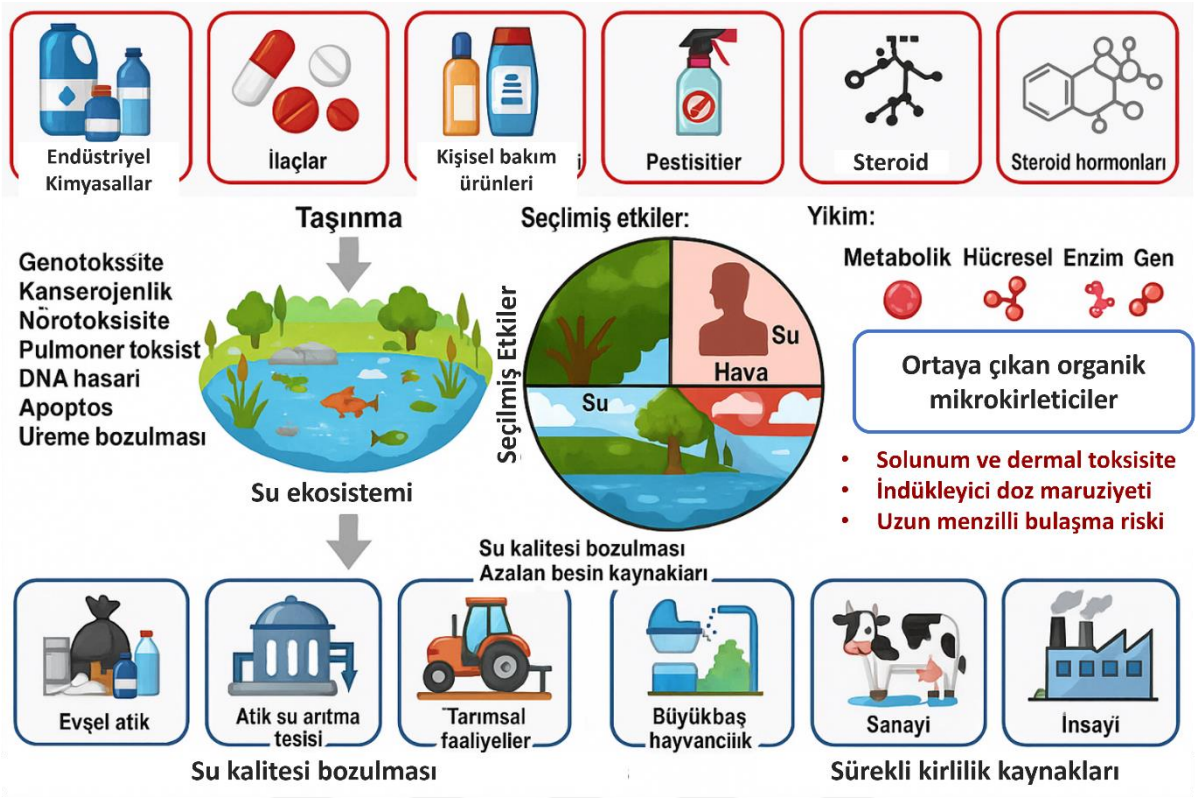
Sucul organizmalar bu kirleticilere sürekli olarak maruz kalmakta ve bu temas organizmalarda davranışsal değişiklikler, üreme bozuklukları, hormonal dengesizlikler ve genetik hasarlar gibi ciddi biyolojik sonuçlar doğurmaktadır. Özellikle endokrin bozucu bileşikler, balıklar gibi hassas türlerde dişileşme, sperm üretiminde azalma ve doğurganlık kaybı gibi etkilerle popülasyon seviyesinde dahi tehdit oluşturabilmektedir (Kümmerer ve diğ., 2018). Mikrokirleticiler aynı zamanda besin zincirinin farklı basamaklarında birikim düzeyde birikim gösterebilmekte ve gıda zinciri aracılığıyla insanlara ulaşabilmektedir. Bu durum, özellikle içme suyu kaynaklarının kirlenmesiyle birlikte düşünüldüğünde, insan sağlığı açısından kanser gelişimi riski, antibiyotik direnci ve endokrin sistemde bozulma gibi ciddi sonuçlara yol açma potansiyeli taşımaktadır (Patel ve diğ., 2019).

Ayrıca, sucul ekosistemlerdeki mikrobiyal çeşitliliğin ve fonksiyonel yapıların bozulması, biyolojik arıtma sistemlerinin verimini de olumsuz etkileyerek çevresel geri dönüşümü zorlaştırmaktadır (Meng ve diğ., 2021). Ekosistemdeki bu zincirleme etkiler yalnızca bireysel organizmalarla sınırlı kalmamakta, aynı zamanda sucul gıda ağı, su kalitesi ve habitat bütünlüğü gibi sistemik çevresel yapıların da bozulmasına yol açabilmektedir. Özellikle mikrokirleticilerin biyolojik birikimi ve besin zinciri yoluyla daha üst düzey organizmalara taşınması, besin zinciri yoluyla insan sağlığına kadar ulaşan etkiler doğurmakta ve bu durum hem çevresel hem de halk sağlığı risklerini artırmaktadır (Yang ve diğ., 2020). Habitat bozulması, su ekosistemlerinin kendi kendini yenileme kapasitesini zayıflatmakta; bu da uzun vadede ekosistem servislerinin azalmasına ve sürdürülebilirliğin tehlikeye girmesine neden olmaktadır (Ojija, 2024).

**Tablo 1.** Mikrokirleticilerin kaynakları ve çevresel etkileri.

| **Mikrokirletici Türü** | **Kaynaklar** | **Çevresel Riskler** | **Kaynak** |
|---|---|---|---|
| İlaç aktif maddeleri | Evsel kullanım, hastaneler, atık su arıtma çıkışları | Endokrin bozulma, antibiyotik direnci, sucul organizmalarda davranışsal ve üreme bozuklukları | (Priya ve diğ., 2022) |
| Pestisitler | Tarımsal faaliyetler, yüzey akışı | Toprak ve su kirliliği, akut toksisite, gıda zinciri bulaşı | (Singh ve diğ., 2023) |
| Kişisel bakım ürünleri (kozmetik vb.) | Evsel atık sular, kozmetik endüstrisi | Hormon taklidi etkiler, sucul canlılarda genetik değişiklikler | (Wang ve diğ., 2021) |
| Endüstriyel kimyasallar | Üretim tesisleri, proses atıkları | Kronik toksisite, bioakümülasyon, su kalitesinin bozulması | (Morin-Crini ve diğ., 2022) |
| Mikroplastikler | Ambalaj, tekstil, lastik aşınması, arıtılmamış atık su | Trofik transfer, mekanik tıkanma, kirletici taşıyıcılığı | (Ahmed ve diğ., 2021) |
| Steroid hormonlar | Hayvancılık, insan atıkları | Balık popülasyonlarında dişileşme, ekosistem bozulması | (Baho ve diğ., 2021) |
| Ağır metaller | Madencilik, endüstri, eski boru sistemleri | Kalıcı toksisite, nörotoksik etki, DNA hasarı, insan sağlığında birikim | (Zaynab ve diğ., 2022) |

Mikrokirleticiler, çevresel ortamlarda uzun süre kalabilen, konvansiyonel arıtma teknolojileriyle tam olarak giderilemeyen ve bu nedenle içme suyu kaynaklarına kadar ulaşabilen kimyasal bileşiklerdir. İnsan sağlığına yönelik en büyük tehditlerden biri, bu maddelerin kronik maruziyet yoluyla biyolojik sistemler üzerinde oluşturduğu toksik etkiler olarak öne çıkmaktadır. Bu etkiler arasında kanserojenite, nörotoksisite, üreme sisteminde bozulmalar, hormonal dengesizlikler ve bağışıklık sisteminin baskılanması gibi ciddi sonuçlar yer almaktadır (Molnarova ve diğ., 2023). Özellikle endokrin bozucu bileşikler (EDC'ler) olarak sınıflandırılan bazı mikrokirleticiler, insan vücudundaki hormonal dengeyi etkileyerek gelişimsel, metabolik ve üreme fonksiyonlarında çeşitli bozulmalara neden olabilmektedir (Chen ve diğ., 2022b). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, içme suyu veya kontamine gıdalar aracılığıyla alınan pestisit, farmasötik kalıntı veya plastik türevli kimyasalların; doğurganlık oranlarında azalma, doğumsal anomalilerde artış, nörogelişimsel bozukluklar ve bazı endokrin temelli kanser türleri ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Rodprasert ve diğ., 2021). Ayrıca, antibiyotik kalıntılarının su ortamlarında yaygın şekilde bulunması, insanlarda antibiyotik direncinin gelişimine katkı sağlayarak halk sağlığı açısından küresel bir tehdit oluşturmaktadır (Tong ve diğ., 2022). Mikrokirleticilerin insan sağlığı üzerindeki etkileri Şekil 2'de (Hommel ve diğ., 2025) gösterilmiş olup, bu etkiler yalnızca fiziksel sağlıkla sınırlı kalmamakta; bazı bileşiklerin nörolojik sistem üzerinde etkili olduğu, davranışsal ve bilişsel bozulmalara neden olabileceği de bilimsel olarak rapor edilmiştir (Hommel ve diğ., 2025). Gelişmekte olan ülkelerde özellikle su arıtım altyapısının yetersiz olması, düşük sosyoekonomik grupların bu kirleticilere daha fazla maruz kalmasına neden olmakta ve çevresel adaletsizliğin derinleşmesine yol açmaktadır (Akhtar ve diğ., 2021). Dolayısıyla mikrokirleticiler, günümüzde sadece çevresel sürdürülebilirlik değil, aynı zamanda toplum sağlığı ve eşitsizlik bağlamında da bütüncül bir halk sağlığı sorunu hâline gelmiştir.




**Şekil 2.** Mikrokirleticilerin kaynağı, yayılımı ve etkileri.

## 2.2. ANTİBİYOTİKLERİN YAYILIMI VE EKOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİ

Antibiyotikler hem insan sağlığında hem de veteriner hekimliğinde yaygın olarak kullanılan ilaç aktif maddeler olup, kullanım sonrası büyük oranda metabolize edilmeden vücuttan atılmakta ve konvansiyonel atık su arıtma sistemlerinde tam olarak uzaklaştırılamamaktadır. Bu durum, antibiyotiklerin evsel atık sular, hastane deşarjları, hayvancılık atıkları ve ilaç üretim tesislerinden kaynaklanan deşarjlarla çevreye taşınmasına neden olmaktadır. Tarımsal faaliyetlerde büyüme destekleyici veya hastalık önleyici olarak kullanılan antibiyotikler de yağışlarla birlikte yüzey akışı yoluyla doğrudan yüzey ve yeraltı sularına karışabilmekte, böylece geniş ölçekte çevresel kontaminasyona yol açmaktadır (Mukhopadhyay ve diğ., 2022). Antibiyotiklerin sucul sistemlere taşınması, insanların ve hayvanların yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak kaçınılmaz bir süreçtir. Reçete edilen antibiyotiklerin önemli bir kısmının vücutta metabolize edilmeden atıldığı ve bu maddelerin kanalizasyon sistemi aracılığıyla doğrudan kentsel atık suya karıştığı bildirilmektedir. Bu durum, özellikle sürekli nüfus artışı ve hastane kapasitesinin büyümesi nedeniyle, yıllık antibiyotik yükünün her yıl artmasına yol açmaktadır (Liu ve diğ., 2023a).

Kullanım sonrası antibiyotiklerin vücutta yeterince metabolize edilmeden atılması, çevreye ulaşmasının temel nedenlerinden biridir. Araştırmalar, reçete edilen antibiyotiklerin yaklaşık %30 ile %90'ının değişmeden idrar veya dışkı yoluyla doğrudan çevreye karıştığını ortaya koymaktadır. Bu durum, özellikle β-laktamlar, florokinolonlar ve sülfonamidler gibi farmasötik ürünlerin kentsel atık sularına sürekli biçimde giriş yapmasına yol açmaktadır. Ayrıca, hastanelerden gelen deşarjlar, ilaç üretim tesisleri, veterinerlik ve tarımsal faaliyetlerle bağlantılı yüzey sularındaki akışlar, antibiyotiklerin su ekosistemlerindeki birikimini hızlandırmaktadır (Li ve diğ., 2022a).

Mikrokirleticiler, modern toplumların farmasötik, endüstriyel ve tarımsal faaliyetleri sonucunda çevreye yayılan, çoğunlukla düşük konsantrasyonlarda tespit edilen ancak ekosistem işleyişini, biyokimyasal süreçleri ve mikrobiyal dengeleri önemli ölçüde etkileyen bileşiklerdir. Güncel çalışmalar, farmasötiklerin özellikle antibiyotiklerin çevrede uzun süre kararlı kaldığını ve sucul sistemlerde kronik maruziyet yarattığını göstermektedir (Leichtweis ve diğ., 2022). Antibiyotikler, çevrede kalıcı olabilmeleri, suda çözünebilirlik özellikleri ve biyolojik olarak aktif yapıları nedeniyle sucul ortamlarda uzun süre etkili olabilmektedir. Bu bileşiklerin özellikle algler, zooplanktonlar, omurgasızlar ve balıklar üzerinde toksik etkiler oluşturduğu; üreme döngülerinde bozulmalara, gelişimsel anomalilere, davranışsal değişikliklere ve genetik düzeyde hasarlara yol açabildiği deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (Guo ve diğ., 2023). Bu bileşiklerin çevresel kaderi, yalnızca fizikokimyasal özellikleriyle değil, aynı zamanda mikrobiyal topluluklarla olan etkileşimleri ve genetik adaptasyon süreçleriyle de belirlenmektedir. Böylece antibiyotikler, klasik anlamda bir kimyasal kirletici olmanın ötesine geçerek, sucul ekosistemlerde genetik seçilim baskısı oluşturan bileşikler hâline gelmiştir (Zhao ve diğ., 2024).

### 2.2.1. Atıksu ve Çamur Ortamlarında Antibiyotik Dirençli Bakteriler ve Antibiyotik Direnç Genleri

Antibiyotiklerin çevresel ortamlarda yarattığı en ciddi risklerden biri, mikrobiyal topluluklar üzerinde selektif baskı oluşturarak antibiyotik dirençli bakterilerin (ARM, antibiotic resistant microorganism) ve direnç genlerinin (ARG, antibiotic resistance genes) yayılımını teşvik etmesidir (Tablo 2). Bu direnç genleri, sucul ortamlarda mobil genetik elementler aracılığıyla bakteriler arasında yatay gen transferi ile yayılabilmekte ve ekosistemde dirençli patojenlerin baskın hale gelmesine neden olabilmektedir.

Böylece yalnızca çevre sağlığı değil, aynı zamanda halk sağlığı açısından da ciddi sonuçlar doğmakta olup; bu dirençli su kaynakları tarımsal sulamada veya içme suyu temininde kullanıldığında, dirençli bakteriler insanlara doğrudan veya dolaylı yolla bulaşabilmektedir (Kunhikannan ve diğ., 2021). Antibiyotikleri hem kimyasal hem genetik kirletici olarak tanımlayarak, çevrede kalıcı antibiyotik varlığının insan sağlığına yönelik en büyük risklerinden birinin direnç genlerinin mobil hale gelmiştir. Bu nedenle, antibiyotiklerin çevresel kaderi, yalnızca kimyasal bozunma süreçlerine değil, aynı zamanda mikrobiyal topluluk yapısına, genetik etkileşimlere ve arıtma proseslerindeki selektif baskılara bağlı olarak şekillenmektedir (Murray ve diğ., 2024).

Özellikle hastanelerden gelen atık suların antibiyotik konsantrasyonlarının, evsel atık suya kıyasla 10 ila 100 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde ilaç üretim tesisleri yakınlarında yapılan ölçümlerde, CIP konsantrasyonlarının 31 mg/L'ye kadar ulaşabildiği rapor edilmiştir. Böyle yüksek konsantrasyon seviyeleri, direnç genlerinin hızla yayılması için eşsiz bir ortam oluşturmaktadır (Kotwani ve diğ., 2023). Hastanelerde kullanılan antibiyotiklerin konsantrasyonları, evsel atıklara kıyasla 10–100 kat daha yüksek olabilmekte ve bu tesislerin çıkış sularında florokinolonlar, sefalosporinler ve makrolidler yaygın olarak tespit edilmektedir. Bu tür yüksek konsantrasyonlar, çevresel direnç genlerinin hızla yayılmasına zemin hazırlayan sıcak noktalar olarak değerlendirilmektedir (Hanna ve diğ., 2023).

Antibiyotiklerin çevresel kaderi, moleküler yapıları, fonksiyonel grupları ve fizikokimyasal özellikleri tarafından belirlenir; özellikle florokinolonlar, yapısal dirençleri ve bozunma sonrası olası toksik ürünleri nedeniyle çevresel kalıcılık ve toksisite riski taşırlar (Zhong ve diğ., 2024). CIP, güçlü aromatik halka yapısı, flor atomu içeren çift halkalı sistemi ve yüksek sorpsiyon eğilimi nedeniyle bozunmaya dirençlidir. CIP'in ışığa duyarlı olması nedeniyle belirli koşullarda parçalanabildiği, ancak bozunma ürünlerinin çoğunun ana bileşikten daha yüksek toksisite gösterebildiği ortaya konmuştur. Bu durum, antibiyotiklerin çevrede yalnızca kalıcılık değil, aynı zamanda toksik dönüşüm riski taşıdığını göstermektedir (Sowik ve diğ., 2024). Sülfonamidler, özellikle SMX, nispeten düşük hidrofobisiteye sahip olmalarına rağmen çevresel olarak oldukça kararlıdır. SMX'in Avrupa nehirlerinde 28 günlük izleme sonunda başlangıç yoğunluğunun %70'inden fazlasının korunduğunu bildirmiştir.

Bu bulgular, SMX'in düşük fotodegradasyon kapasitesi ve mikrobiyal enzimlere karşı dirençli kimyasal yapısı nedeniyle yaygın olarak gözlemlendiğini göstermektedir (Haenelt ve diğ., 2023). SMX'in biyolojik arıtma süreçlerinde yalnızca sınırlı bir dönüşüme uğradığını ve atık su arıtma tesisi çıkışında sıkça tespit edildiğini belirtmiştir (Zhang ve diğ., 2023). β-laktam antibiyotikleri sınıfına dâhil olan sefalosporinler, teorik olarak hidrolize duyarlı bileşikler olarak kabul edilmekle birlikte, çevresel matrislerde bu beklentinin aksine görece yüksek stabilite gösterebilmektedir. Bu kapsamda, CXM ve CFZ'nin nötral pH koşullarında iki haftadan daha uzun süre yapısal bütünlüklerini koruduğu; özellikle fotodegradasyonun sınırlı olduğu düşük ışık koşullarında hidroliz hızlarının belirgin biçimde azaldığı bilinmektedir (Bollen ve diğ., 2023). CXM'in fotodegradasyona karşı direnç gösterdiğini ve parçalanma ürünlerinin çoğunun da çevresel olarak kararlı olduğunu rapor etmiştir. Bu bulgular, sefalosporinlerin biyolojik olarak parçalanabilir olduğunu varsayan klasik görüşü zayıflatmış ve bu antibiyotiklerin de çevresel açıdan önemli mikrokirleticiler arasında yer aldığını göstermiştir (Żandarek ve diğ., 2023).

**Tablo 2.** Atıksu ve çamur ortamlarında rapor edilen antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç genleri.

| İncelenen ortam | Baskın ARM grupları | Yaygın ARG'ler | İlişkili antibiyotik sınıfları | Kaynak |
|---|---|---|---|---|
| Kentsel ve hastane atıksuları, WWTP giriş–çıkış | *Escherichia coli, Enterococcus spp., Pseudomonas spp.* | bla, sul, qnr, intI1 | β-laktamlar, sülfonamidler, florokinolonlar | (Tang ve diğ., 2025) |
| Atıksu arıtma tesisleri ve çamur | *Acinetobacter spp.,* | bla, intI1, erm | β-laktamlar, makrolidler | (Sun ve diğ., 2025) |
| Aktif çamur sistemleri | Gram-negatif ARM, fırsatçı patojenler | sul, qnr, tet | Sülfonamidler, florokinolonlar, tetrasiklinler | (Wang ve diğ., 2025b) |
| Çevresel ortamlar, atıksu ve çamur | Çeşitli ARM, Gram-negatif bakteriler | bla, sul, qnr, intI1 | β-laktamlar, sülfonamidler, florokinolonlar | (Wang ve diğ., 2025a) |
| Kentsel atıksu arıtma tesisleri | ARM toplulukları | bla, sul, qnr | β-laktamlar, | (Qiao ve diğ., 2025) |
| Aktif çamur sistemleri | *Escherichia coli, Pseudomonas spp.* | ARG çeşitliliği yüksek | Çoklu antibiyotik sınıfları | (Khan ve diğ., 2025) |

Tablo 2'de, atıksu ve çamur ortamlarında rapor edilen antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç genlerine ilişkin genel bulgular özetlenmektedir. Tabloda yer alan çalışmalar, kentsel ve hastane kaynaklı atıksular ile atıksu arıtma tesislerinin giriş–çıkış suları, aktif çamur sistemleri ve çamur matrislerinin antibiyotik dirençli bakteriler açısından önemli ortamlar olduğunu göstermektedir. Bu ortamlarda *Escherichia coli, Enterococcus* türleri, *Pseudomonas* türleri ve *Acinetobacter* türleri gibi bakterilerin sıklıkla rapor edildiği görülmektedir. Ayrıca, β-laktam grubu antibiyotikleri etkisiz hale getiren β-laktamaz genleri, sülfonamid antibiyotiklere karşı direnç sağlayan sülfonamid direnç genleri ve florokinolon antibiyotiklere karşı dirençle ilişkili florokinolon direnç genlerinin yaygın olduğu belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, antibiyotik direnç genlerinin yatay gen transferi ile yayılımında rol oynayan sınıf 1 integron integraz geninin varlığı, atıksu ve çamur ortamlarının antibiyotik direncinin çevresel yayılımında önemli bir rezervuar niteliği taşıdığını ortaya koymaktadır.

Çevresel antibiyotiklerin ekotoksik etkileri de giderek daha fazla belgelenmektedir. Antibiyotiklerin alg, zooplankton ve balıklar üzerinde hücresel stres, fotosentetik aktivite kaybı, DNA hasarı ve davranış değişimi gibi kronik etkiler oluşturduğunu göstermiştir göstermiştir (Löffler ve diğ., 2023; Sharma ve diğ., 2021). Özellikle CIP'in oksidatif stres indüklediği ((Jijie ve diğ., 2023); SMX'in, sucul organizmalar üzerinde büyüme inhibisyonuna neden olan bir toksik madde olarak ortaya çıktığı belirtilirken, yapılan çalışmalar, SMX'in alg hücrelerinin gelişimini engellediğini ve hücre yapısında hasar oluşturduğunu göstermektedir. Özellikle, alglerin büyüme oranlarının azaldığı, hücre membran permeabilitesinin arttığı ve klorofil içeriğinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu etkiler, hücre bölünmesinin ve hücrelerin normal fonksiyonlarının baskılanmasına yol açabilir. Ayrıca, SMX'in hücre ultrayapısını bozması ve organellerde hasar oluşturması, hücrelerin bölünme ve çoğalma süreçlerini önemli ölçüde engelleyebileceği sonucunu desteklemektedir (Xu ve diğ., 2022). Bu kronik etkilerin çoğu, çevresel konsantrasyonlar düşük olsa dahi uzun süreli maruziyette birikerek ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle antibiyotikler, akut toksisite yerine daha çok kümülatif ve kronik ekotoksisite profili sergilemektedir (Fu ve diğ., 2024).

Sucul ortamda bulunan antibiyotiklerin bazıları fotodegradasyona veya biyolojik parçalanmaya karşı dirençli olduğundan, bu maddelerin konsantrasyonu zamanla azalmamakta ve kronik maruziyet koşulları oluşmaktadır. Bu da uzun vadeli ve geri döndürülemez etkiler doğurma riskini artırmaktadır (Patel ve diğ., 2019).

Özellikle kentsel atık su arıtma tesislerinin büyük çoğunluğu antibiyotikler gibi mikrokirleticilerin giderimi için özel olarak tasarlanmadığından, bu sistemlerden çıkan sular antibiyotik kalıntıları içermekte ve arıtılmış olarak doğaya verilmesine rağmen çevresel yük devam etmektedir. Bu suların döküldüğü nehir, göl ve kıyı suları, ekosistemin temel taşı olan mikroorganizma toplulukları başta olmak üzere birçok sucul türü olumsuz etkilemekte; besin ağı, birincil üretim ve besin ağı, birincil üretim ve besin zinciri yapısı gibi ekosistem fonksiyonlarında bozulmalara yol açmaktadır (Morin-Crini ve diğ., 2022). Tüm bu etkiler değerlendirildiğinde, antibiyotiklerin çevresel yayılımı ve ekotoksikolojik etkileri, yalnızca bir farmasötik atık meselesi olarak değil, ekosistem sağlığı, biyolojik çeşitlilik ve halk sağlığı üçgeninde değerlendirilmesi gereken çok yönlü ve küresel bir çevresel sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

## 2.3. ATIK SU ARITMA YÖNTEMLERİ

Sanayileşme, kentleşme ve nüfus artışı gibi faktörler, su kaynakları üzerindeki baskıyı giderek artırmış; bunun sonucunda evsel, endüstriyel ve tarımsal kaynaklı atık suların etkili şekilde arıtılması, çevresel sürdürülebilirlik açısından kritik bir öncelik haline gelmiştir. Atık su arıtım teknolojileri, kirletici yükünü azaltarak suyun yeniden kullanımına olanak tanımakta; ancak özellikle mikrokirleticiler gibi iz konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen etkileri belirgin olan bileşenlerin gideriminde, farklı arıtım tekniklerinin entegre şekilde uygulanmasını gerektirmektedir (Kesari ve diğ., 2021).

Bu noktada, konvansiyonel atıksu arıtma tesislerinin (AAT) tarihsel olarak askıda katı madde, BOİ/KOİ ve besin elementleri gibi konvansiyonel kirletici parametreleri azaltmak üzere tasarlanmış olduğu görülmektedir. Mikrokirleticiler (ilaç aktif maddeleri, kişisel bakım ürünleri, pestisitler, endokrin bozucular vb.) ise çoğunlukla ng/L–µg/L seviyelerinde bulunmakta; bu nedenle proses tasarımında hedeflenen parametreler ile mikrokirleticilerin kaderini belirleyen moleküler yapı, iyonlaşma durumu, hidrofobiklik, kompleksleşme ve biyolojik dönüşebilirlik gibi özellikler çoğu zaman örtüşmemektedir. Konvansiyonel proseslerde giderim mekanizmalarının biyolojik dönüşüm, çamura sorpsiyon, sınırlı ölçüde uçuculuk ve hidroliz ile sınırlı kaldığı; bu nedenle mikrokirleticilerin önemli bir bölümünün arıtma sistemlerinden çıkış suyuna taşındığı bildirilmektedir (Radwan ve diğ., 2023).

Geleneksel atık su arıtma sistemleri genellikle üç temel aşamadan oluşur: **fiziksel, kimyasal ve biyolojik** işlemler. Fiziksel arıtma aşamasında ızgara, elek, kum tutucu ve çöktürme tankları kullanılarak askıda katı maddeler, yağlar ve büyük partiküller uzaklaştırılır. Kimyasal arıtım ise koagülasyon-flokülasyon, çöktürme ve dezenfeksiyon gibi proseslerle, çözünmüş inorganik maddelerin giderilmesine odaklanır. Ancak bu yöntemler, mikrokirleticilerin çoğunu etkili şekilde gidereememektedir (Belete ve diğ., 2023).

Biyolojik arıtım sistemleri, organik maddelerin mikroorganizmalar aracılığıyla parçalanmasını esas alır. Bu kapsamda en yaygın uygulamalardan biri olan **aktif çamur prosesi** hem karbonlu hem de azotlu bileşenlerin gideriminde yüksek verimlilik gösterir. Bununla birlikte, bu sistemler düşük konsantrasyonlardaki ilaç aktif maddeleri, pestisitler, hormonlar ve sentetik organik maddeler gibi mikrokirleticilere karşı sınırlı etkiye sahiptir. Bu nedenle, gelişmiş arıtım teknolojilerinin devreye alınması kaçınılmaz hale gelmiştir (Kennes-Veiga ve diğ., 2021).

Biyolojik dönüşüm açısından değerlendirildiğinde, mikrokirleticilerin bir kısmının aktif çamur mikroorganizmaları tarafından kometabolizma yoluyla dönüştürülebildiği; ancak bu sürecin çoğu zaman enzim indüksiyonu, uygun kofaktör veya elektron alıcısı varlığı ve yeterli temas süresi gerektirdiği belirtilmektedir. Konvansiyonel aktif çamur proseslerinde uygulanan tipik hidrolik bekletme süresi (HRT, Hydraulic Retention Time) ve çamur yaşı (SRT, Sludge Retention Time) değerleri, mikrokirleticilerin yavaş kinetikli biyotransformasyonunu her zaman desteklememektedir. Ayrıca, mikrokirleticilerin iz konsantrasyonlarda bulunması, mikroorganizmalar açısından primer karbon veya enerji kaynağı oluşturmamalarına neden olmakta ve biyolojik dönüşüm hızını sınırlandırmaktadır. Bunun yanı sıra, bazı antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerinde seçici baskı oluşturarak mikrobiyal aktiviteyi azalttığı ve sistemin mikrobiyal kompozisyonunu değiştirebildiği bildirilmektedir (Meiczinger ve diğ., 2022).

**Gelişmiş oksidasyon prosesleri (AOPs, Advanced Oxidation Processes)**, ozonlama, Fenton reaksiyonu, UV/$H_2O_2$ ve fotokatalitik oksidasyon gibi yöntemleri içermekte olup; mikrokirleticilerin kimyasal yapılarını bozarak biyolojik olarak daha kolay parçalanabilir hâle getirmektedir. Bu süreçlerin en büyük avantajı, kalıcı organik bileşiklerin yüksek verimle uzaklaştırılmasını sağlamalarıdır. Ancak maliyet ve enerji tüketimi gibi faktörler nedeniyle uygulamaları genellikle ileri düzey arıtma tesisleriyle sınırlıdır (Pandis ve diğ., 2022).

**Membran teknolojileri** de (özellikle nanofiltrasyon ve ters ozmoz), mikrokirleticilerin fiziksel olarak tutulmasında son derece etkili olup; kompakt yapıları ve yüksek ayırma kapasitesi sayesinde ileri düzey arıtımda tercih edilmektedir. Buna rağmen, membran tıkanması, konsantre atık üretimi ve yüksek işletme maliyetleri gibi sorunlar hâlâ çözülmeyi beklemektedir (Khan ve diğ., 2023).

Son yıllarda, **biyofilm reaktörleri, adsorpsiyon sistemleri (örneğin aktif karbon), enzim bazlı arıtım yöntemleri ve ileri elektro-kimyasal sistemler** gibi yeni nesil teknolojiler de literatürde öne çıkmakta; mikrokirleticilerin gideriminde umut vaat etmektedir. Özellikle aktif çamur içinde doğal olarak bulunan bazı enzimlerin, mikrokirleticilerin biyotransformasyonunda rol oynadığına ilişkin araştırmalar, geleneksel biyolojik arıtım süreçlerinin optimize edilmesine yönelik yeni kapılar aralamaktadır (Tran ve diğ., 2018).

Bu bağlamda, mikrokirleticilerin çamur fazına aktarımının her zaman gerçek bir giderim anlamına gelmediği; özellikle florokinolonlar gibi katyonik veya zwitteriyonik özellik gösterebilen antibiyotiklerin çamur üzerinde güçlü şekilde tutulmasına rağmen, bu durumun çevresel riskin farklı bir ortama taşınmasına neden olabileceği vurgulanmaktadır. Çamur bertarafı ve tarımsal uygulamalar açısından bu birikim, ikincil bir risk unsuru olarak değerlendirilmektedir (Di Marcantonio ve diğ., 2024).

Bu doğrultuda, sürdürülebilir ve entegre bir atık su arıtma stratejisinin oluşturulması, sadece çevresel koruma açısından değil; aynı zamanda su kaynaklarının yeniden kullanımını mümkün kılmak adına da büyük önem taşımaktadır. Arıtım teknolojilerinin seçiminde; arıtılacak suyun karakteristikleri, hedeflenen kirleticiler, yatırım ve işletme maliyetleri gibi çok sayıda parametrenin dikkate alınması gerekmektedir (Moussa ve diğ., 2023). Bununla birlikte, geleneksel atık su arıtma yöntemlerinin mikrokirleticilerin etkin şekilde uzaklaştırılmasında ciddi kısıtları olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur. Konvansiyonel fiziksel ve kimyasal yöntemler; genellikle kalıntılar, kişisel bakım ürünleri, hormonlar, pestisitler ve sentetik organik bileşikler gibi mikro düzeyde bulunan fakat çevresel açıdan oldukça reaktif olan bileşikleri hedeflememektedir. Biyolojik arıtım sistemleri, özellikle aktif çamur prosesi, organik kirleticiler için yüksek verimlilik sunsa da; mikrokirleticiler genellikle biyolojik olarak dirençli olduklarından dolayı bu süreçlerden ya hiç etkilenmemekte ya da yalnızca sınırlı ölçüde biyotransformasyona uğramaktadırlar (Ethiraj ve diğ., 2024).

Ayrıca, bu maddeler genellikle düşük konsantrasyonlarda bulunduklarından dolayı arıtma tesislerinin standart izleme ve tasarım kriterlerine göre tespit edilememekte, bu da çıkış suyunda çevreye geri salınmalarına yol açmaktadır. Dolayısıyla, geleneksel arıtma teknolojilerinin bu bileşikler için optimize edilmediği ve çevresel risklerin azaltılması açısından yetersiz kaldığı açıktır (Li ve diğ., 2024a).

Atıksu arıtma tesislerinde yaygın olarak uygulanan konvansiyonel prosesler, tasarım ve işletme açısından çoğunlukla organik madde ve besin giderimi gibi temel arıtım hedeflerine odaklanmakta olup, mikrokirleticilerin uzaklaştırılmasına yönelik hedefli ve ileri arıtım kademelerini içermemektedir. Bu nedenle söz konusu sistemlerde, mikrokirleticilerin etkili biçimde dönüştürülmesi veya tutulması için gerekli olan yüksek oksidasyon kapasitesi ya da seçici adsorpsiyon mekanizmaları yeterli düzeyde sağlanamamaktadır. Bu durum, mikrokirleticilerin arıtma tesislerinden alıcı ortamlara taşınmasına neden olmakta ve çevresel risklerin devamlılığını beraberinde getirmektedir. Güncel uygulamalar ve uluslararası yaklaşımlar doğrultusunda, mikrokirletici kontrolünün etkin bir şekilde sağlanabilmesi için arıtma sistemlerine üçüncül veya ileri arıtım kademelerinin entegre edilmesi gerekliliği giderek daha fazla kabul görmektedir (Janusz ve diğ., 2023).

Atıksu arıtma sistemlerinde biyolojik süreçler, organik kirleticilerin gideriminde uzun yıllardır etkin biçimde kullanılmaktadır. Ancak konvansiyonel biyolojik arıtım prosesleri esas olarak yüksek konsantrasyonlarda bulunan, mikroorganizmalar tarafından doğrudan metabolize edilebilen organik maddeler için tasarlanmıştır. Buna karşın farmasötikler, kişisel bakım ürünleri ve endokrin bozucular gibi mikrokirleticiler çoğunlukla düşük konsantrasyonlarda bulunmakta ve mikroorganizmalar için primer karbon veya enerji kaynağı oluşturmamaktadır. Bu durum, söz konusu bileşiklerin klasik biyolojik arıtım sistemlerinde yetersiz veya değişken oranlarda giderilmesine neden olmaktadır. Bu bağlamda son yıllarda biyolojik arıtımın etkinliğini artırmaya yönelik olarak enzim temelli yaklaşımlar, mikrokirleticilerin giderimi açısından önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir (Aza ve Camarero, 2023).

## 2.4. BİYOLOJİK ARITIMDA ENZİM KULLANIMI

Atık su arıtımında karşılaşılan en büyük zorluklardan biri, mikrokirleticilerin düşük konsantrasyonlarda bulunmaları ve biyolojik olarak dirençli yapıları nedeniyle geleneksel arıtma sistemlerinde yeterince giderilememeleridir. Bu nedenle, son yıllarda enzim temelli biyolojik arıtım yöntemleri ön plana çıkmakta; enzimlerin seçici, hızlı ve çevre dostu yapıları

sayesinde mikrokirleticilerin etkili şekilde dönüştürülmesi mümkün hale gelmektedir (Coccia ve Bontempi, 2023). Enzimler, biyokatalizör olarak kimyasal reaksiyonları hızlandıran protein yapısında moleküllerdir ve genellikle spesifik substratlara karşı yüksek seçicilik gösterirler. Atık su arıtımında kullanılan başlıca enzim sınıfları arasında oksidoredüktazlar - özellikle peroksidazlar, lakkazlar, monooksijenazlar - bunun yanı sıra hidrolazlar ve transferazlar yer almaktadır (Zdarta ve diğ., 2021).

Enzimlerin arıtım süreçlerindeki işlevi, özellikle organik mikrokirleticilerin yapısal olarak parçalanması ve toksisitelerinin azaltılması yönündedir. Oksidoredüktaz sınıfındaki enzimler, fenolik bileşikler, ilaç kalıntıları ve pestisitler gibi birçok organik kirletici üzerinde etkili olabilmektedir. Örneğin lakkazlar, fenolik bileşikleri ve radikal ara ürünler yoluyla daha az toksik bileşiklere dönüştürebilmekte, bu da enzimatik arıtımın çevresel faydasını artırmaktadır (Al-Sakkaf ve diğ., 2023). Enzimlerin aktif çamur sistemleriyle entegre edilmesi hem mikrobiyal topluluklar hem de enzimlerin katalitik kapasitesi aracılığıyla mikrokirleticilerin dönüşümünü artırabilir. Ayrıca, serbest halde kullanılan enzimler reaktörde kısa süre içinde inaktive olabileceğinden, enzimlerin destek yüzeylere immobilize edilmesi ya da kapsülleme teknikleriyle stabilitelerinin artırılması, pratik uygulamalar açısından önem taşımaktadır (Fan ve diğ., 2024).

Enzimlerin mikrokirleticileri dönüştürme mekanizmaları, genellikle oksidasyon, hidroliz ve konjugasyon gibi temel biyokimyasal yollarla gerçekleşir. Bu dönüşümler sırasında, mikrokirleticilerin yapısında çeşitli yapısal değişiklikler oluşmakta, bu da toksisitelerini düşürerek biyolojik olarak daha kolay parçalanabilir ara ürünlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Örneğin, lakkazlar tarafından katalizlenen oksidasyon tepkimeleri sırasında elektron taşıma yoluyla substratın yapısında aromatik halkaların açılması veya fonksiyonel grupların modifikasyonu mümkün olmaktadır (Zheng ve diğ., 2024a). Son yıllarda, özellikle antibiyotik kalıntılarının gideriminde enzimlerin potansiyel kullanımına yönelik yapılan çalışmalar artmıştır. Örneğin, lignin türevi bileşikleri oksitleyebilen lakkaz enzimi, sülfonamidler, tetrasiklinler, makrolidler ve β-laktam grubu antibiyotikler üzerinde yüksek giderim oranları göstermiştir. Bu çalışmalar, lakkazların geniş substrat yelpazesi ve çevresel toleransı nedeniyle atık sularda yer alan çeşitli antibiyotiklerin giderimi açısından umut verici bir biyokatalizör olduğunu ortaya koymaktadır (Singh ve diğ., 2024).

Aynı şekilde, horseradish peroxidase (HRP) gibi bitkisel kaynaklı peroksidazlar da antibiyotiklerin oksidatif parçalanmasında etkin rol oynamakta, özellikle düşük konsantrasyonlardaki antibakteriyel ajanların biyolojik olarak daha az etkili formlara dönüşümünü mümkün kılmaktadır (Sellami ve diğ., 2022).

Tüm bu gelişmeler, enzimlerin geleneksel biyolojik arıtım sistemlerine entegre edilerek mikrokirleticilere karşı daha etkili ve çevre dostu çözümler sunabileceğini göstermektedir. Ancak, proses parametrelerinin pH, sıcaklık, substrat konsantrasyonu vb. dikkatli şekilde optimize edilmesi ve enzimlerin uzun süreli stabilitesinin sağlanması, bu teknolojilerin geniş çapta uygulanabilirliği açısından hâlâ üzerinde durulması gereken temel sorunlardır (Cavalcante ve diğ., 2021).

## 2.5. AKTİF ÇAMUR SÜRECİ VE ENZİMATİK AKTİVİTE

Aktif çamur süreci, evsel ve endüstriyel atık suların biyolojik olarak arıtılmasında en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu sistemde, mikrobiyal toplulukların oluşturduğu flok yapıları içerisinde organik kirleticiler biyokimyasal reaksiyonlarla parçalanarak su kalitesi iyileştirilir. Aktif çamurun yapısı, askıda büyüyen mikroorganizmaların bir araya gelerek oluşturduğu kompleks bir biyokütle sistemidir. Bu yapı içerisinde bakteriler başta olmak üzere mantarlar, protozoalar ve rotifer gibi mikrofauna üyeleri bulunmakta; bu canlılar kirleticilerin ayrışmasında ve biyolojik stabilitenin korunmasında birlikte işlev görmektedir (Vasudeva ve diğ., 2022). Mikrobiyal kompozisyon, atık suyun karakteristiğine, sıcaklığa, besin oranlarına ve çözünmüş oksijen düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Zheng ve diğ., 2024b). Bu mikrobiyal topluluklar, organik bileşenlerin ayrıştırılmasında çeşitli enzimler salgılayarak kirleticileri biyolojik olarak dönüştürür. Aktif çamurda yer alan bakteriler, başta oksidoredüktazlar, hidrolazlar ve transferazlar olmak üzere çok sayıda enzim üretmektedir. Bu enzimler, karbonlu, azotlu ve fosforlu bileşiklerin mineralizasyonunda görev almakta; ayrıca bazı mikrokirleticilerin de biyotransformasyon süreçlerinde rol üstlenmektedir (Lyu ve diğ., 2025). Özellikle lakkaz, peroksidaz ve mono-oksijenaz gibi enzimlerin, farmasötik kalıntılar, fenoller ve pestisitler gibi bileşiklerin yapısal dönüşümünü sağladığı çalışmalarla ortaya konmuştur (Kumari ve Das, 2023). Bunun yanında, mikrokirleticilere yönelik enzimatik tepkimelerin etkinliği; substrat türü, enzim üretim kapasitesi, ortam koşulları ve temas süresi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir (Ahmad ve diğ., 2022).

Temel olarak heterojen mikrobiyal toplulukların organik maddeleri metabolik faaliyetleri aracılığıyla dönüştürmesine dayanan aktif çamur süreçlerinde, arıtım performansını belirleyen ana unsur yalnızca mikroorganizmaların varlığı değil, aynı zamanda bu mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve hücre içi ya da hücre dışı ortamda faaliyet gösteren enzimlerin niceliği ve fonksiyonel çeşitliliğidir. Enzimatik aktivite, organik kirleticilerin biyolojik olarak parçalanmasının hızını, verimini ve sürdürülebilirliğini doğrudan etkileyen temel bir biyokimyasal parametre olarak değerlendirilmektedir (Zheng ve diğ., 2024b)

Aktif çamur sistemlerinde biyolojik arıtım süreçleri, karbon, azot ve fosfor döngülerini içeren çok katmanlı metabolik ağlar üzerinden yürütülmektedir. Bu metabolik ağların işleyişinde hidrolaz, oksidoredüktaz, transferaz ve liyaz sınıfı enzimler temel katalitik bileşenler olarak görev almakta ve organik maddelerin biyokimyasal dönüşümünü yönlendirmektedir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, konvansiyonel aktif çamur proseslerinin çevresel açıdan önem taşıyan organik mikrokirleticilerin biyolojik gideriminde sınırlı bir etkinlik sergileyebildiğini ortaya koymuştur. Bu durum, aktif çamur sistemlerinde gerçekleşen biyolojik dönüşümlerin yalnızca mikrobiyal kompozisyon üzerinden değil, aynı zamanda enzimatik aktivitenin düzeyi, çeşitliliği ve fonksiyonel özellikleri üzerinden daha ayrıntılı şekilde değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır (Wan ve diğ., 2023).

Aktif çamur, esas olarak bakteriler, arkeler, protozoalar, mantarlar ve metazoaları içeren kompleks bir biyolojik matrisi temsil eder. Bu mikrobiyal konsorsiyum, flok adı verilen agregatlar halinde organize olur ve flok yapısı hem substrat transferi hem de enzimatik reaksiyonların gerçekleştiği mikro-çevresel koşullar açısından kritik öneme sahiptir. Çamur floklarının içyapısında oksijen, besin maddeleri ve substrat derişimlerinde oluşan derişim farkları, farklı metabolik yaşam alanlarının oluşmasına neden olmakta; bu durum ise enzim üretim profillerini doğrudan etkilemektedir. Örneğin, flokların dış katmanlarında aerobik oksidasyon enzimleri baskınken, iç bölgelerde anoksik veya anaerobik metabolizmaya özgü enzimlerin aktivitesi daha yüksek olabilmektedir (Le ve diğ., 2023). Aktif çamur sistemlerinde enzim üretimi genellikle mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri sonucu gerçekleşir. Bu üretim hem hücre içi (intrasellüler) hem de hücre dışı (ekstrasellüler) enzimleri kapsar. Ekstrasellüler enzimler genellikle ortama salgılanarak substratla doğrudan temas ederken, intrasellüler enzimler yalnızca hücre bütünlüğü bozulduğunda açığa çıkmakta ve çoğunlukla biyofilm içinde kalmaktadır.

Enzim üretiminin artırılabilmesi için karbon/azot oranı, pH, sıcaklık ve oksijen konsantrasyonu gibi çevresel parametrelerin optimize edilmesi gerekmektedir (Liu ve Smith, 2021). Ayrıca, bazı mikroorganizmalar belirli indükleyici maddelere maruz kaldığında enzim üretimlerini artırabilmekte; bu da kontrollü koşullarda üretimi artırmak adına potansiyel bir strateji sunmaktadır (Victorino da Silva Amatto ve diğ., 2022).

Enzimatik aktivite, aktif çamur sistemlerinde yalnızca hücre içi metabolik süreçlerle sınırlı olmayıp, hücre dışı ortamda gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonları da kapsamaktadır. Aktif çamur floklarının yapısında bulunan hücre dışı polimerik maddeler içerisinde lokalize olmuş ya da arıtma ortamında serbest halde bulunan ekstrasellüler enzimler, özellikle yüksek molekül ağırlıklı organik maddelerin yanı sıra biyolojik olarak parçalanmaya dirençli bileşiklerin dönüşümünün ilk basamağında belirleyici bir rol üstlenmektedir. Proteinler, polisakkaritler, lipitler ve kompleks aromatik yapılar, hücre membranından doğrudan geçiş gösteremedikleri için öncelikle bu ekstrasellüler enzimler aracılığıyla daha düşük molekül ağırlıklı ve mikroorganizmalar tarafından biyoyararlanabilir ara ürünlere dönüştürülmektedir. Bu kapsamda proteaz, lipaz ve amilaz gibi hidrolitik enzimlerin aktif çamur sistemlerinde yürütülen biyolojik arıtım süreçlerindeki rolü kritik bir öneme sahiptir (Martins ve diğ., 2024). Son yıllarda yapılan çalışmalar, aktif çamur sistemlerinde mikrokirleticilerin biyotransformasyonunda, oksidatif enzimlerin belirleyici rol oynadığı bildirilmektedir. Düşük substrat seçiciliğine sahip enzimlerin geniş etki spektrumu, farklı kimyasal özellikteki mikrokirleticilerin biyolojik dönüşümünü mümkün kılan önemli bir avantaj olarak değerlendirilmektedir. (Xu ve diğ., 2025).

Aktif çamurda enzim üretimi, işletme koşullarına son derece duyarlıdır. HRT, SRT, çözünmüş oksijen konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve besin elementi oranları (C:N:P) gibi parametreler, mikrobiyal topluluğun yapısını ve dolayısıyla enzimatik aktivite profillerini belirlemektedir. Özellikle 10 ila 20 gün arası uzun çamur yaşı uygulamalarının, yavaş büyüyen ancak yüksek enzim üretme kapasitesine sahip mikroorganizmaların sistemde tutulmasını sağladığı ve bu durumun mikrokirletici giderimini olumlu yönde etkilediği literatürde sıklıkla vurgulanmaktadır (Wu ve diğ., 2024a).

Antibiyotikler gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin aktif çamur ortamında bulunması, enzimatik aktivite üzerinde çift yönlü bir etki yaratabilmektedir. Düşük konsantrasyonlarda bu bileşikler, stres yanıtı mekanizmalarını tetikleyerek belirli enzimlerin aşırı üretimine yol açabilirken, yüksek konsantrasyonlarda mikrobiyal inhibisyona ve dolayısıyla enzimatik aktivitenin baskılanmasına neden olabilmektedir. Bu durum, aktif çamur sistemlerinde mikrokirleticilerin gideriminin neden tutarsız sonuçlar verdiğini açıklayan önemli faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir (Yao ve diğ., 2025).

Aktif çamurdan enzim izolasyonu hem bu biyolojik sürecin anlaşılması hem de enzim temelli yeni arıtım teknolojilerinin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Literatürde farklı ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemleri kullanılarak aktif çamurdan birçok enzimin izole edilebildiği gösterilmiştir. Yaygın kullanılan yöntemler arasında santrifüj, dondurarak kurutma, ultrasonik parçalama, membran filtrasyonu ve kromatografik teknikler yer almaktadır (Liu ve Smith, 2021). Bu yöntemlerin seçimi, hedeflenen enzimin yapısına, stabilitesine ve aktivite düzeyine göre değişiklik göstermektedir. Enzim izolasyonu ile elde edilen biyokatalizörler, daha sonra immobilizasyon teknikleriyle yeniden kullanılabilir hâle getirilebilmekte, bu da hem ekonomik hem de operasyonel sürdürülebilirlik açısından avantaj sağlamaktadır (Liu ve diğ., 2023b).

Güncel literatürde, aktif çamur sistemlerinin yalnızca pasif biyolojik reaktörler olarak değil, aynı zamanda dinamik birer "enzim üretim platformu" olarak ele alınması gerektiği yönünde güçlü bir eğilim bulunmaktadır. Bu bakış açısı, biyolojik arıtım süreçlerinin optimize edilmesinde yalnızca mikrobiyal kompozisyona değil, enzimatik aktivitenin kantitatif ve kalitatif özelliklerine de odaklanılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Enzimatik aktivitenin izlenmesi, özellikle ileri biyolojik arıtım ve mikrokirletici giderimi hedeflenen tesislerde, proses kontrolü açısından önemli bir araç olarak değerlendirilmektedir (Hasanan ve diğ., 2024). Aktif çamur süreci ve enzimatik aktivite arasındaki ilişki, biyolojik atıksu arıtımının temelini oluşturan karmaşık ve çok boyutlu bir etkileşim ağını temsil etmektedir. Mikrobiyal çeşitlilik, işletme koşulları ve çevresel stres faktörleri tarafından şekillenen enzimatik aktivite hem konvansiyonel organik madde giderimini hem de günümüzün önemli çevresel sorunlarından biri olan organik mikrokirleticilerin biyolojik dönüşümünü doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle, aktif çamur sistemlerinde enzimatik süreçlerin daha derinlemesine anlaşılması, sürdürülebilir ve etkili biyolojik arıtım stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Maleki ve diğ., 2025).

Sonuç olarak, aktif çamur sistemi yalnızca biyolojik arıtımın temel taşı değil; aynı zamanda mikrobiyal enzimlerin üretildiği ve çevresel kirleticilerin dönüştürüldüğü kompleks bir biyoreaktör ortamı olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, aktif çamurdan elde edilen enzimlerin çevre mühendisliği uygulamalarında daha geniş kapsamda değerlendirilmesi, mikrokirleticilere karşı daha etkili ve yenilikçi arıtım stratejilerinin geliştirilmesine katkı sunacaktır.

Atık sularda giderek artan şekilde tespit edilen mikrokirleticiler, geleneksel arıtma sistemlerinde yeterli oranda uzaklaştırılamamaktadır. Bu kirleticiler arasında özellikle antibiyotikler, hem direnç genlerinin yayılımını tetiklemeleri hem de ekotoksikolojik etkileri nedeniyle öncelikli incelenmektedir. Bu kapsamda, enzim tabanlı biyoteknolojik uygulamalar, çevresel açıdan sürdürülebilir ve etkili bir arıtım alternatifi olarak öne çıkmaktadır (Bilal ve diğ., 2022). Çevresel ortamlarda tespit edilen organik mikrokirleticiler, atıksu arıtma tesislerinin etkinliğini zorlayan önemli kirletici gruplar arasında yer almaktadır. İlaç aktif maddeleri, antibiyotikler, hormonlar, kişisel bakım ürünleri ve endüstriyel katkı maddeleri gibi bileşikler, düşük konsantrasyonlarda dahi biyolojik sistemler üzerinde toksik ve ekotoksik etkilere yol açabilmektedir. Bu bileşiklerin önemli bir bölümü, konvansiyonel biyolojik arıtma süreçlerinde tam olarak giderilememekte ve arıtılmış atıksu ile birlikte alıcı ortamlara taşınmaktadır. Bu durum, mikrokirleticilerin giderimine yönelik alternatif ve tamamlayıcı biyolojik yaklaşımların geliştirilmesini gerekli kılmıştır (Moghaddam ve diğ., 2023).

Mikrokirleticilerin biyolojik gideriminde enzimler, kimyasal dönüşüm süreçlerinin temel katalizörleri olarak öne çıkmaktadır. Enzimatik reaksiyonlar, yüksek özgüllük, düşük enerji gereksinimi ve çevre dostu koşullarda çalışabilme gibi avantajları nedeniyle sürdürülebilir arıtım teknolojileri açısından büyük önem taşımaktadır. Enzimler, mikrokirleticilerin moleküler yapısında yer alan fonksiyonel grupları hedef alarak oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve halka açılma gibi reaksiyonlar yoluyla bu bileşiklerin daha az toksik veya biyolojik olarak daha kolay parçalanabilir ara ürünlere dönüşmesini sağlamaktadır (Martin ve diğ., 2024).

Mikrokirleticilerin enzimlerle giderimi, enzimlerin sistemde bulunma biçimine bağlı olarak farklı stratejiler altında incelenmektedir. Serbest enzim uygulamaları, laboratuvar ölçeğinde yüksek dönüşüm hızları sağlamakla birlikte, enzim stabilitesi ve tekrar kullanılabilirlik açısından sınırlılıklar içermektedir.

Buna karşılık immobilize enzim sistemleri, enzimlerin yapısal stabilitesini artırarak daha uzun süreli ve kontrollü kullanımına olanak tanımaktadır. Ayrıca immobilizasyon, enzimlerin aktif çamur matrisi içerisinde korunmasını sağlayarak biyolojik arıtım süreçleriyle entegrasyonunu kolaylaştırmaktadır (Rich ve Helbling, 2023).

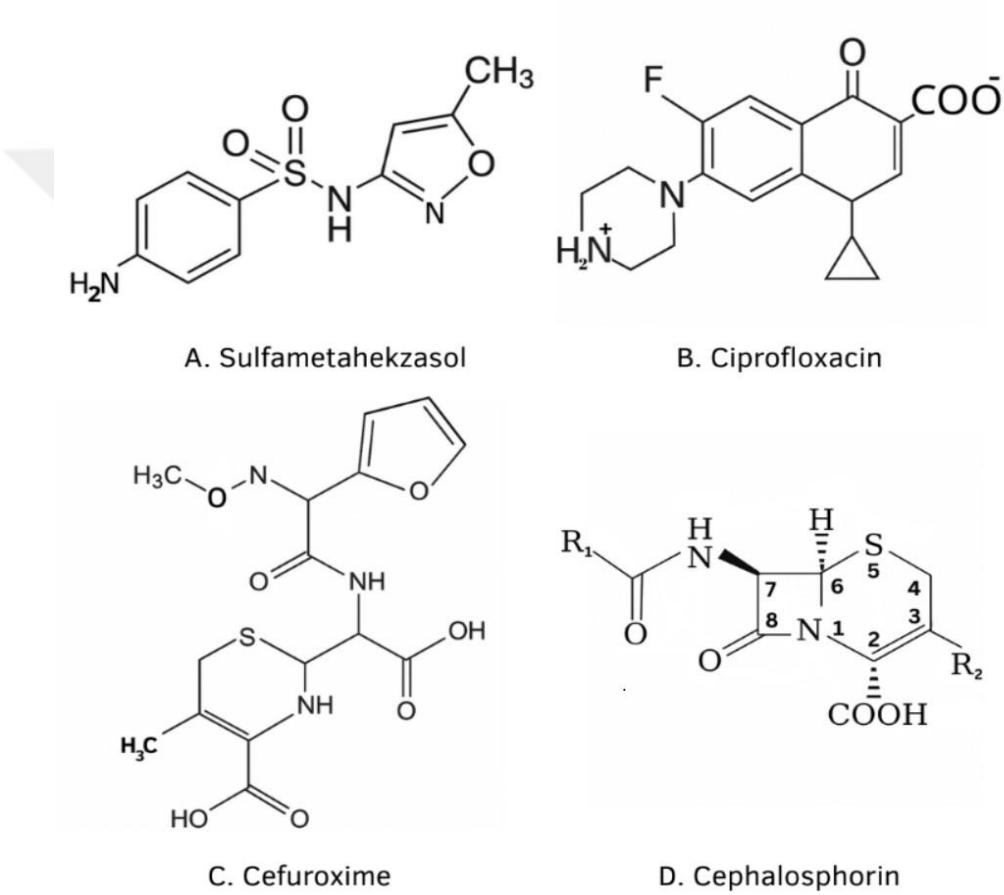
Aktif çamur sistemlerinde doğal olarak üretilen enzimler, mikrokirleticilerin gideriminde önemli bir potansiyel sunmaktadır. Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen bu enzimler, çevresel stres koşullarına yanıt olarak artan bir aktivite sergileyebilmekte ve belirli mikrokirleticilere karşı adaptif dönüşüm mekanizmaları geliştirebilmektedir. Ancak bu doğal enzimatik süreçlerin etkinliği, işletme koşulları, çamur yaşı ve mikrokirletici konsantrasyonu gibi faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir (Liu ve diğ., 2024).

Enzimatik giderim süreçlerinde karşılaşılan temel zorluklardan biri, mikrokirleticilerin dönüşümü sonucunda ortaya çıkan ara ürünlerin toksisitesidir. Bazı durumlarda, enzimatik oksidasyon reaksiyonları sonucunda ana bileşikten daha toksik veya biyolojik olarak daha dirençli ara ürünler oluşabilmektedir. Bu nedenle, enzimatik giderim çalışmalarında yalnızca giderim verimi değil, aynı zamanda dönüşüm ürünlerinin çevresel etkileri de kapsamlı şekilde değerlendirilmelidir. Bu yaklaşım, enzim temelli arıtım teknolojilerinin güvenli ve sürdürülebilir biçimde uygulanabilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Ahern ve diğ., 2026).

Mikrokirleticilerin enzimlerle gideriminde etkili olan temel mekanizmalar, bileşiğin kimyasal yapısı, moleküler ağırlığı, fonksiyonel grupları ve elektron yoğunluğu gibi özellikler tarafından belirlenmektedir. Aromatik halkalar, heterosiklik yapılar ve halojen içeren fonksiyonel gruplar, birçok mikrokirleticinin biyolojik olarak dirençli olmasına neden olmaktadır. Bu tür bileşiklerin dönüşümünde özellikle oksidoredüktaz sınıfı enzimler ön plana çıkmaktadır. Oksidatif enzimler, yüksek redoks potansiyelleri sayesinde geniş bir substrat yelpazesi üzerinde etkili olabilmekte ve kompleks yapılı organik kirleticilerin parçalanmasını mümkün kılmaktadır (Lyu ve diğ., 2025).

## 2.6. SEFAZOLİN, SEFUROKSİM, SİPROFLOKSASİN VE SÜLFAMETOKSAZOL ANTİBİYOTİKLERİNİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Bu bölümde, yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerden **s**efazolin (CFZ), sefuroksim (CXM), siprofloksasin (CIP) ve sülfametoksazol (SMX) üzerinde yoğunlaşılmış, bu bileşiklerin yapısal ve fizikokimyasal özellikleri ile enzimatik bozunmalarına dair güncel literatür örnekleri detaylandırılmıştır. Şekil 3'te (Anacona ve Toledo, 2001; Di Santo ve diğ., 2015; Ge ve diğ., 2012) bu antibiyotiklerin kimyasal yapısı gösterilmiştir.




**Şekil 3.** Antibiyotiklerin yapıları.

Seçilen antibiyotiklerin çevresel kalıcılığı, moleküler yapıları ve suda çözünürlük gibi fizikokimyasal özellikleriyle doğrudan ilişkilidir. **CIP**, florokinolon grubu bir antibiyotik olup geniş antimikrobiyal spektrumu nedeniyle yaygın olarak reçete edilmektedir. Moleküler formülü $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ olan bu bileşik, piperazin halkası ve flor atomu içermesi nedeniyle çevrede oldukça stabil olup biyolojik bozunmaya dirençlidir (Li ve diğ., 2024b).

**SMX** ise sülfonamid grubundandır; moleküler formülü $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ olup suda çözünürlüğü sınırlıdır ve genellikle trimetoprim ile kombine şekilde kullanılmaktadır (Iftikhar ve diğ., 2023). **CXM** ve **CFZ** ise sırasıyla ikinci ve birinci kuşak sefalosporin antibiyotiklerdir. CXM'in formülü $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, CFZ'nin ise $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$ olup her ikisi de β-laktam halkası içermektedir; bu yapı bakteriler üzerinde etkilidir ancak çevresel koşullarda hızla parçalanamayabilir (Abbas ve diğ., 2022).

Bu antibiyotiklerin çevresel kaderi, moleküler yapılarındaki fonksiyonel gruplar, logKow değerleri (lipofilite), pKa seviyeleri ve çözünürlükleriyle doğrudan ilişkilidir (Tablo 3). Örneğin, CIP'in logKow değeri yaklaşık 0.28 olup hem hidrofilik hem lipofilik özellik gösterdiğinden hem biyosorpsiyona hem de enzimatik etkileşime açıktır (Huang ve diğ., 2022a). SMX'in logKow (su–oktanol partisyon katsayısı) değeri 0.89 ve pKa'sı 5.6 olup orta düzeyde çevresel kalıcılık göstermektedir. Sefalosporinlerin ise genellikle düşük lipofiliklik ve nötr pH'da stabilite gösterdiği bildirilmektedir (Żandarek ve diğ., 2024).

**Tablo 3.** Seçilen Antibiyotiklerin Kimyasal ve Fizikokimyasal Özellikleri.

| Antibiyotik | Moleküler Formülü | LogKow | pKa | Çözünürlük (mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| Sefazolin (CFZ) | $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$ | 0.28 | 6,1 | 30 |
| Sefuroksim (CXM) | $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ | 0,89 | 5,6 | 610 |
| Siproflaksasin (CIP) | $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ | -0,65 | 3,3 | 50 |
| Sülfametoksazol (SMX) | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ | -0,42 | 2,5 | 125 |

### 2.6.1. Enzimatik Bozunma Çalışmaları

Antibiyotikler, atıksu arıtma tesislerine evsel, hastane ve endüstriyel kaynaklardan sürekli olarak giren, biyolojik olarak aktif ve çevresel açıdan risk oluşturan mikrokirleticiler arasında yer almaktadır. Bu bileşiklerin önemli bir kısmı, konvansiyonel biyolojik arıtma süreçlerinde tam olarak giderilememekte ve alıcı ortamlara taşınarak antibiyotik direnç genlerinin yayılımı ve ekotoksik etkiler gibi ciddi çevresel sorunlara yol açmaktadır. Antibiyotiklerin çevresel ortamlardaki kalıcılığı, büyük ölçüde kompleks moleküler yapıları ve biyolojik olarak parçalanmaya dirençli fonksiyonel gruplar içermeleri ile ilişkilidir. Bu nedenle, antibiyotiklerin etkin şekilde giderilmesine yönelik biyolojik yaklaşımlarda enzimatik bozunma mekanizmaları giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Mora-Gamboa ve diğ., 2022a).

Enzimatik bozunma, antibiyotik moleküllerinin özgül enzimler tarafından katalitik olarak dönüştürülmesi esasına dayanmaktadır. Bu süreçte enzimler, antibiyotiklerin moleküler yapısında yer alan aromatik halkalar, heterosiklik sistemler, amid bağları ve halojenli fonksiyonel gruplar üzerinde etkili olarak oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz reaksiyonlarını gerçekleştirmektedir. Enzimatik reaksiyonlar sonucunda antibiyotikler, biyolojik dönüşüme uğrayarak daha kolay parçalanabilen ve çoğu durumda daha düşük toksisiteye sahip ara ürünlere dönüşebilmektedir. Bununla birlikte, bazı enzimatik süreçlerde detoksifikasyon amacıyla moleküle konjugasyon gibi farklı fonksiyonel grupların eklenmesi mümkün olduğundan, oluşan ürünlerin molekül ağırlığı artabilmekte ve dönüşüm ürünlerinin özellikleri değişebilmektedir. Antibiyotiklere karşı etkili olduğu belirlenen enzim grupları arasında oksidazlar, peroksidazlar, lakkazlar, hidrolazlar ve mono-oksijenazlar ön plana çıkmaktadır (Chmelová ve diğ., 2024).

Enzimler, substrat spesifikliği ve yüksek katalitik etkinlikleri nedeniyle antibiyotiklerin parçalanmasında önemli biyokatalizörlerdir. Antibiyotiklere karşı etkili enzimatik bozunmalar özellikle **oksidazlar**, **peroksidazlar**, **lakkazlar**, **hidrolazlar** ve **mono-oksijenazlar** ile gerçekleşmektedir. Literatürde, CIP ve SMX gibi dirençli antibiyotiklerin lakkaz ve peroksidaz enzimleri ile başarılı şekilde giderilebildiği pek çok çalışmayla doğrulanmıştır (Cárdenas-Moreno ve diğ., 2023).

Örneğin, *Trametes versicolor* kaynaklı lakkaz enziminin CIP'in bozunmasında etkili olabildiği; bazı çalışmalarda 24 saatlik reaksiyon süresi sonunda yaklaşık %70 giderim bildirildiği ve oluşan dönüşüm ürünlerinin çoğunlukla aromatik halkada gerçekleşen oksidatif dönüşümler ile ilişkili olduğu raporlanmıştır (Torres-Farradá ve diğ., 2024). Benzer şekilde, horseradish peroksidaz (HRP) enzimi kullanılarak yapılan deneylerde, SMX'in farklı pH ve $H_2O_2$ konsantrasyonlarına bağlı olarak %90'in üzerinde giderildiği gösterilmiştir (Wang ve diğ., 2022). Sefalosporinler üzerinde yapılan çalışmalarda ise özellikle immobilize peroksidaz sistemlerinin, β-laktam halkasını parçalayarak antibakteriyel aktivitenin ortadan kaldırılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Mora-Gamboa ve diğ., 2022b).

#### *2.6.1.1. Siprofloksasin: Sorpsiyon baskınlığı ve kometabolik biyotransformasyon*

Atıksu arıtma tesislerinde antibiyotiklerin kaderi çoğunlukla (i) sorpsiyon/partikül fazına geçiş, (ii) biyotransformasyon (kometabolizma dâhil) ve daha sınırlı ölçüde (iii) abiyotik dönüşüm süreçlerinin eşzamanlı işlemesiyle belirlenmektedir.

Antibiyotik sınıfı, molekülün iyonlaşma davranışı (pKa), hidrofobisite/iyonik etkileşimler, flok–ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) özellikleri ve reaktörün redoks koşulları, aktif çamurda gözlenen giderim yüzdelerinin "aynı tesiste bile" değişken olmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, yalnız "giderim verimi" üzerinden değil, biyotransformasyon hız sabitleri, dönüşüm ürünleri ve enzimatik yanıtlar üzerinden değerlendirme yapılması, özellikle mikrokirleticiler için daha açıklayıcı bir çerçeve sunmaktadır. Güncel derlemeler, antibiyotiklerde giderimin çoğu zaman adsorpsiyon + sınırlı biyotransformasyon kombinasyonu ile yürüdüğünü; bazı bileşiklerde ise biyotransformasyonun ancak aklimasyon, yüksek SRT veya kometabolik koşullar altında belirginleştiğini vurgulamaktadır (Ghosh ve diğ., 2024).

CIP bir florokinolon olup, çevresel sistemlerde katyonik/zwitteriyonik türleri üzerinden aktif çamur floklarına ve özellikle EPS/çamur katı fazına kuvvetli bağlanma eğilimi gösterebilir. Bu nedenle CIP'nin "görünür giderimi" çoğu çalışmada önemli ölçüde sorpsiyonla açıklanmakta; gerçek biyotransformasyon payı ise sistemin mikrobiyal fonksiyonu ve işletme parametrelerine bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte, CIP'nin biyolojik dönüşümü tamamen ihmal edilemez; özellikle aklimasyonla zenginleştirilmiş aktif çamur konsorsiyumlarında ve seçilmiş suşların varlığında biyotransformasyon hızlandığı ve belirli dönüşüm yollarının netleştiği bildirilmektedir. Örneğin, CIP/NOR ile kısa süreli aklimasyon uygulanarak geliştirilen aktif çamur konsorsiyumlarında CIP için yüksek biyogiderim kapasitesi ve olası biyotransformasyon yolları rapor edilmiş; ayrıca Enterobacter sp. benzeri bir suşun CIP dönüştürücü potansiyeli gösterilmiştir (Shang ve diğ., 2021).

CIP biyotransformasyonu için literatürde öne çıkan mekanizmalar; hidroksilasyon, piperazin halkasında modifikasyonlar, bazı koşullarda deflorinasyon veya siklopropil grubunda dönüşümler gibi reaksiyonları içermektedir. Bu dönüşümler çoğunlukla mono/ dioksijenazlar gibi oksidatif enzim sistemleriyle ilişkilendirilmekte ve çoğu zaman "tam mineralizasyon" değil, daha polar/ara ürünlerin oluştuğu kısmi biyotransformasyon şeklinde ilerlemektedir. Nitekim nitrifikasyonun baskın olduğu çamurlarda antibakteriyel etkinliğin kısmen hafiflediği ve amonyak oksitleyen bakteriler (AOB) kaynaklı kometabolik bozunmanın CIP dönüşümünü desteklediği; giderim yollarının sorpsiyon + kometabolizma bileşimini içerebildiği bildirilmektedir.

Ayrıca yan akım azot giderimi gibi süreçlerde proses koşullarının düzenlenmesiyle CIP biyotransformasyonunun uyarılabildiği ve yeni/az antimikrobiyal dönüşüm ürünlerinin raporlandığı çalışmalar mevcuttur. Bu bulgular, CIP'in aktif çamurda tek bir "sabit kaderi" olmadığını; aksine enzimatik kapasite, nitrifikasyon düzeyi ve işletme stratejileri ile yönlendirilebilen dinamik bir dönüşüm profili sergilediğini göstermektedir (Xu ve diğ., 2024b).

#### *2.6.1.2. Sülfametoksazol: Düşük-orta biyotransformasyon, enzim ekspresyonu ve redoks geçişlerinin etkisi*

SMX bir sülfonamid olup, pek çok konvansiyonel biyolojik arıtım hattında tam giderim göstermeyen antibiyotikler arasında sık rapor edilmektedir. SMX'in aktif çamurda dönüşümü, çoğunlukla kometabolik karakter taşımakta; belirgin biyotransformasyon için uygun redoks dizilimi, yeterli SRT ve uyum sağlayan mikrobiyal fonksiyonlar gerekmektedir. Özellikle SMX varlığının aktif çamur mikrobiyal topluluğunda enzimatik ifade düzeylerini ve metabolik yanıtı değiştirebildiği; metaproteomik yaklaşımlarla belirli enzim sınıflarında farklılaşmaların izlenebildiği gösterilmiştir. Bu durum, SMX'in yalnız "pasif bir kirletici" değil; aynı zamanda mikrobiyal topluluğun protein/enzim profilini etkileyebilen bir stresör olduğunu düşündürmektedir (Kaur Sodhi ve Singh, 2022).

SMX için biyotransformasyon yolları; hidroksilasyon, N4-asetilasyon, sülfonamid bağında kırılma, izoksazol halkasında dönüşümler ve daha ileri aşamalarda halka açılması gibi reaksiyonları içerebilir. Ancak bu reaksiyonların gerçekleşme derecesi, arıtım hattının redoks düzenine duyarlıdır. Örneğin, ardışık anaerobik–aerobik işletimin SMX dönüşümünü artırabildiği ve dönüşüm ürünleri profillerini değiştirebildiği rapor edilmiştir. Bu sonuç, SMX biyotransformasyonunun tek başına aerobik heterotrofiyle sınırlı olmadığı; bazı ara basamakların anoksik/anaerobik evrelerde başlayıp aerobik evrede devam edebildiği fikrini desteklemektedir. Ek olarak, aktif çamur ortamında bulunan diğer matriks bileşenleri SMX'in biyobozunabilirliğini dolaylı biçimde etkileyerek mikrobiyal yapı ve enzimatik süreçler üzerinden dönüşüm kinetiğini değiştirebilir. Dolayısıyla SMX için "zayıf giderim" gözlemleri, sadece molekül dayanıklılığıyla değil, sistemin fonksiyonel enzim repertuvarı ve redoks/ko-metabolik koşulları ile birlikte ele alınmalıdır (Wu ve diğ., 2024b).

### *2.6.1.3. Sefuroksim: β-laktam yapıda hidroliz eğilimi ve biyolojik dönüşümün koşula bağlılığı*

CXM ikinci kuşak bir sefalosporin olup, β-laktam antibiyotiklerin çevresel kaderinde en kritik noktalardan biri β-laktam halkasının hidrolizi ve buna aracılık edebilen β-laktamaz gibi enzim sistemleridir. β-laktamların bazı alt gruplarında abiyotik hidroliz daha baskın olabilse de, biyolojik sistemlerde özellikle bakteriyel enzimler yoluyla β-laktam halkasının açılması, biyolojik etkinliği azaltan temel dönüşüm basamağı olarak kabul edilmektedir. Güncel enzim odaklı çalışmalar, β-laktamların farklı sınıflarında β-laktamaz temelli "tek aşamalı" parçalanma yaklaşımlarının etkin olabildiğini göstermekte; bu da aktif çamurdaki doğal enzim repertuvarının sefalosporin dönüşümünde belirleyici olabileceğine işaret etmektedir (Lin ve diğ., 2025).

CXM için doğrudan "konvansiyonel aktif çamurda yüksek biyobozunma" genellemesi yapmak güçtür; çünkü çalışmaların önemli bir kısmı CXM'i ileri oksidasyon veya hibrit proseslerle ele almakta, biyolojik basamağı ise "biyobozunabilirlik artışı" perspektifinde tartışmaktadır.

Örneğin, elektro-Fenton ön arıtım sonrası biyolojik aktif çamur basamağı ile CXM'in daha etkili parçalanabildiği ve biyobozunabilirliğin iyileştirilebildiği hibrit bir yaklaşım rapor edilmiştir. Bu tür bulgular, CXM gibi bazı sefalosporinlerde biyolojik dönüşümün sınırlı kalabildiğini, ancak molekülün oksidatif/ön dönüşümlerle daha biyoyararlanabilir ara ürünlere çevrilmesi halinde aktif çamurda daha ileri giderim sağlanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca probiyotik/karışık konsorsiyum temelli biyolojik yaklaşımlarda CXM benzeri sefalosporinlerin deasetilasyon, dekarboksilasyon ve hidroliz gibi basamaklarla parçalanabildiği; olası biyobozunma yollarının bu reaksiyonlar etrafında şekillendiği bildirilmektedir. Bu çerçevede, aktif çamurda CXM kaderi için "tek bir yol" yerine; hidroliz + enzimatik halka açılması + kometabolik dönüşümler içeren bir mekanizma seti daha gerçekçi görünmektedir (Haji ve diğ., 2023).

#### *2.6.1.4. Sefazolin: Hastane atıksularında gözlenen sınırlı giderim ve biyolojik/en-zimatik potansiyel*

CFZ birinci kuşak sefalosporin olup, hastane kaynaklı atıksularda sık izlenen β-laktam antibiyotikler arasında yer alabilir. Konvansiyonel aktif çamur proseslerinde CFZ gideriminin değişken olduğu; bazı çalışmalarda biyolojik arıtım basamaklarının belirli bir giderim sağladığı, ancak kalıcı fraksiyonun çıkış suyunda kalabildiği rapor edilmiştir. Örneğin hastane atıksuyunda aktif çamur prosesinin CFZ üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, aktif çamurun polar antibiyotik CFZ üzerinde belirli bir giderim sağlayabildiği ve dezenfeksiyon sonrası giderimin artabildiği bildirilmiştir. Bu tür sonuçlar, CFZ'nin kaderinde biyolojik basamağa ek olarak son işlem basamakları (klorlama vb.) ve matriks etkilerinin de rol oynayabileceğini göstermektedir (Spaolonzi ve diğ., 2022).

Bununla birlikte, CFZ'nin biyolojik olarak dönüştürülebileceğine ilişkin bulgular yalnızca tam ölçekli arıtma tesisleriyle sınırlı değildir. İzole mikroorganizma suşları ve enzim temelli deneysel çalışmalarda, CFZ'nin kısa temas sürelerinde yüksek giderim verimleriyle parçalanabildiği ve biyokatalitik etkinliğin enzim immobilizasyonu gibi stratejiler aracılığıyla önemli ölçüde artırılabildiği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, her ne kadar CFZ'nin konvansiyonel aktif çamur sistemlerinde tüm koşullar altında tam bozunma göstereceği anlamına gelmese de, aktif çamurun fonksiyonel açıdan zengin bir enzim rezervuarı olarak değerlendirilmesi durumunda, uygun işletme ve çevresel koşullar sağlandığında biyolojik dönüşüm potansiyelinin artırılabileceğini ortaya koymaktadır.

Bu kapsamda mikrobiyal aklimasyonun sağlanması, fonksiyonel gen ve enzim ekspresyonunun zenginleştirilmesi ile pH, sıcaklık ve uygun ko-substrat varlığının optimize edilmesi, CFZ'nin biyolojik dönüşümünü destekleyen temel faktörler arasında yer almaktadır. Ayrıca β-laktam antibiyotiklerin dönüşüm mekanizmalarında β-laktamaz benzeri enzimlerin oynadığı merkezi rol, sefalosporinlerin β-laktam halkasının enzimatik olarak açılması yoluyla antibakteriyel etkinliğin azalması ve bunu takiben daha düşük molekül ağırlıklı ara ürünlerin oluşması açısından güçlü bir mekanistik çerçeve sunmaktadır (Berillo ve diğ., 2024).

### 2.6.2. Etkili Enzimler: Lakkaz, Peroksidaz ve Diğerleri

Enzimatik giderimde en yaygın kullanılan enzimlerin başında **lakkaz** gelmektedir. Bu çok bakır içeren oksidaz, fenolik yapıları ve aromatik halkaları hedef alarak yüksek verimle bozunma sağlar. Lakkaz, genellikle lignolitik mantarlardan (*Trametes versicolor, Pleurotus ostreatus*) izole edilir ve antibiyotiklerin oksidatif parçalanmasında çevresel açıdan güvenli ürünler oluşturarak avantaj sağlar (Gałązka ve diğ., 2023). Lakkazlar, moleküler oksijeni elektron alıcısı olarak kullanarak fenolik ve aromatik bileşiklerin oksidasyonunu katalizlemektedir. Lakkazlar, substrat özgüllüğünün düşük olması nedeniyle farklı kimyasal sınıflara ait mikrokirleticilerin dönüşümünde etkin rol oynayabilmektedir. Özellikle antibiyotikler ve hormon benzeri bileşiklerin aromatik halkalarının oksidasyonu, lakkaz aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte, bazı mikrokirleticilerin doğrudan lakkaz tarafından oksitlenememesi durumunda redoks aracı bileşiklerin kullanılması, reaksiyon verimini önemli ölçüde artırabilmektedir (Klanovicz ve diğ., 2023). Lakkazlar, antibiyotiklerin enzimatik bozunmasında en yaygın araştırılan oksidatif enzimlerden biri olarak kabul edilmektedir. Lakkazlar, bakır içeren çok merkezli oksidazlar olup, moleküler oksijeni suya indirgerken substratların oksidasyonunu gerçekleştirmektedir. Bu enzimler, özellikle aromatik ve fenolik yapı içeren antibiyotiklerin dönüşümünde yüksek etkinlik göstermektedir. Bununla birlikte, bazı antibiyotiklerin doğrudan lakkaz tarafından oksitlenememesi durumunda, redoks aracı bileşiklerin kullanılması reaksiyon kinetiğini ve bozunma verimini önemli ölçüde artırabilmektedir. Bu özellik, lakkazların antibiyotik gideriminde esnek ve etkili biyokatalizörler olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (Sun ve diğ., 2024).

**Peroksidazlar**, özellikle HRP ve mangan peroksidaz (MnP) gibi enzimler, hidrojen peroksit varlığında geniş spektrumlu kirleticilere karşı yüksek oksidatif kapasite gösterir. Bu enzimler, aromatik antibiyotik moleküllerinin benzen halkalarını parçalayarak detoksifikasyon sağlar (Bilal ve diğ., 2023).

Peroksidazlar, antibiyotiklerin biyolojik olarak dirençli yapılarının parçalanmasında yüksek oksidasyon potansiyeline sahip enzimler olarak öne çıkmaktadır. Bu enzimler, hidrojen peroksit varlığında serbest radikal oluşumunu tetikleyerek antibiyotik moleküllerinde oksidatif kırılmalara neden olmaktadır. Lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz gibi peroksidaz türleri, özellikle aromatik halkalar ve heterosiklik yapılar içeren antibiyotiklerin dönüşümünde etkili olmaktadır.

Peroksidaz aracılı reaksiyonlar, antibiyotiklerin moleküler bütünlüğünü bozarak daha küçük ve reaktif ara ürünlerin oluşmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte, peroksidaz sistemlerinde hidrojen peroksit konsantrasyonunun dikkatli şekilde kontrol edilmesi, enzim inaktivasyonu ve istenmeyen yan ürün oluşumunun önlenmesi açısından kritik bir parametre olarak değerlendirilmektedir (Chen ve diğ., 2023).

**Oksidazlar**, antibiyotiklerin enzimatik bozunmasında görev alan önemli oksidoredüktaz enzimleri arasında yer almaktadır. Bu enzimler, moleküler oksijeni elektron alıcısı olarak kullanarak substratların oksidasyonunu katalizlemektedir. Oksidazlar, özellikle fenolik ve aromatik yapıya sahip antibiyotiklerin dönüşümünde etkin rol oynamaktadır. Oksidatif reaksiyonlar sonucunda antibiyotik moleküllerinin aromatik halkalarında elektron yoğunluğu azalmakta ve bu durum molekülün kimyasal stabilitesini zayıflatarak ileri bozunma reaksiyonlarına zemin hazırlamaktadır. Oksidazların substrat özgüllüğünün görece düşük olması, farklı antibiyotik sınıflarının dönüşümünde kullanılabilmelerine olanak tanımaktadır (Mosaka ve diğ., 2022).

**Mono-oksijenazlar**, antibiyotiklerin enzimatik dönüşümünde moleküler oksijenin bir atomunu substrata dahil eden enzimler olarak tanımlanmaktadır. Bu enzimler, antibiyotik moleküllerinde hidroksilasyon ve epoksidasyon gibi reaksiyonları katalizleyerek molekülün kimyasal yapısını önemli ölçüde değiştirmektedir. Mono-oksijenazlar tarafından gerçekleştirilen bu reaksiyonlar, antibiyotiklerin biyolojik olarak daha kolay parçalanabilir ara ürünlere dönüşmesini sağlamaktadır. Ayrıca mono-oksijenazlar, antibiyotik moleküllerinin elektron yoğunluğunu değiştirerek diğer enzimatik ve mikrobiyal dönüşüm süreçlerine duyarlılığını artırmaktadır (Hidayatullah ve diğ., 2025). Bunun yanı sıra mono-oksijenazlar, özellikle CYP450 benzeri mikroorganizmal enzim sistemlerinde, antibiyotiklerin hidroksillenmesini sağlayarak biyolojik parçalanmalarını mümkün kılmaktadır (Xu ve diğ., 2024a). Bu enzimler, hidrojen peroksit varlığında yüksek reaktiviteye sahip radikal türleri oluşturarak kompleks organik bileşiklerin parçalanmasını sağlamaktadır. Lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz gibi enzimler, özellikle aromatik ve heterosiklik yapıya sahip mikrokirleticilerin biyotransformasyonunda etkili olmaktadır.

Peroksidazların yüksek oksidasyon gücü, biyolojik olarak dirençli bileşiklerin dönüşümünü mümkün kılmakla birlikte, hidrojen peroksit konsantrasyonunun kontrol edilmesi gerekliliği uygulamada dikkat edilmesi gereken bir husus olarak öne çıkmaktadır (Xue ve diğ., 2024).

**Hidrolazlar**, antibiyotiklerin enzimatik bozunmasında özellikle bağ kırılma reaksiyonları yoluyla etkili olan bir diğer önemli enzim grubunu oluşturmaktadır. Esterazlar, amidazlar ve peptidazlar gibi hidrolitik enzimler, antibiyotik moleküllerinde bulunan ester ve amid bağlarını hedef alarak bu bağların hidrolitik olarak parçalanmasını sağlamaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda antibiyotiklerin biyolojik aktivitesi azalmakta ve ortaya çıkan daha küçük moleküller, mikroorganizmalar tarafından daha kolay metabolize edilebilmektedir. Hidrolazlar, özellikle beta-laktam antibiyotiklerin bozunmasında kritik bir rol oynamakta ve antibiyotik molekülünün temel yapısal bütünlüğünü ortadan kaldırmaktadır (Huang ve diğ., 2022a). Hidrolitik enzimler, mikrokirleticilerin enzimatik gideriminde dolaylı ancak kritik bir rol üstlenmektedir. Esterazlar, amidazlar ve peptidazlar gibi enzimler, özellikle antibiyotiklerin ve farmasötik bileşiklerin yapısında bulunan ester ve amid bağlarının kırılmasında etkilidir. Bu reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan daha küçük moleküller, aktif çamur sistemlerinde bulunan mikroorganizmalar tarafından daha kolay metabolize edilebilmektedir. Bu nedenle hidrolitik enzimler, mikrokirleticilerin tamamen mineralize edilmesine giden süreçte önemli bir ön arıtım basamağı olarak değerlendirilmektedir (Al-Maqdi ve diğ., 2021).

Antibiyotiklerin enzimatik bozunma süreçlerinde karşılaşılan temel zorluklardan biri, dönüşüm sonucunda ortaya çıkan ara ürünlerin çevresel etkileridir. Bazı durumlarda, enzimatik reaksiyonlar sonucunda ana bileşikten daha toksik veya biyolojik olarak daha dirençli ara ürünler oluşabilmektedir. Bu nedenle antibiyotiklerin enzimatik giderimine yönelik çalışmalarda yalnızca giderim verimi değil, aynı zamanda dönüşüm ürünlerinin toksisitesi ve çevresel kaderi de kapsamlı şekilde değerlendirilmelidir. Bu yaklaşım, enzim temelli arıtım teknolojilerinin çevresel açıdan güvenli ve sürdürülebilir biçimde uygulanabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Rathore ve diğ., 2022).

## 2.7. MOLEKÜLER İZLEME: NGS TEKNOLOJİSİ

Atık su arıtımında kullanılan mikrobiyal toplulukların yapısı ve işlevi, biyolojik arıtımın etkinliğini doğrudan etkileyen temel unsurlardan biridir. Bu nedenle, mikrobiyal çeşitliliğin doğru, hızlı ve detaylı biçimde analiz edilebilmesi, çevresel biyoteknolojide büyük önem taşımaktadır. Geleneksel kültür bağımlı yöntemlerin sınırlayıcı doğası, bu ihtiyaca tam anlamıyla yanıt veremezken, **NGS** teknolojileri, mikroorganizma topluluklarının yüksek çözünürlükte karakterizasyonuna imkân tanımakta ve biyolojik arıtım sistemlerinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamaktadır (Lu ve diğ., 2025).

NGS teknolojisi, DNA dizilerinin yüksek verimlilikle ve paralel olarak okunmasına olanak sağlayan bir dizileme platformudur. Bu teknoloji, kısa sürede çok sayıda dizinin elde edilmesini mümkün kılarak mikrobiyal toplulukların moleküler düzeyde incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. NGS tabanlı uygulamalar arasında, hedef gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılmasına dayanan 16S rRNA amplicon dizileme yaklaşımı öne çıkmakta ve bu sayede bakteriyel toplulukların taksonomik kompozisyonu ve çeşitliliği belirlenebilmektedir. Sanger dizileme ile karşılaştırıldığında NGS, daha yüksek veri çıktısı sağlaması, zaman ve maliyet açısından avantaj sunması ve düşük bolluktaki türlerin tespit edilebilmesine katkı sağlaması nedeniyle çevresel örneklerin mikrobiyal profillenmesinde önemli bir yöntem haline gelmiştir (Satam ve diğ., 2023). Günümüzde Illumina MiSeq, NovaSeq ve Oxford Nanopore gibi platformlar, çevresel örneklerde yaygın olarak kullanılmakta ve metagenomik analizlerin yapılabilmesini mümkün kılmaktadır (Doorenspleet ve diğ., 2025).

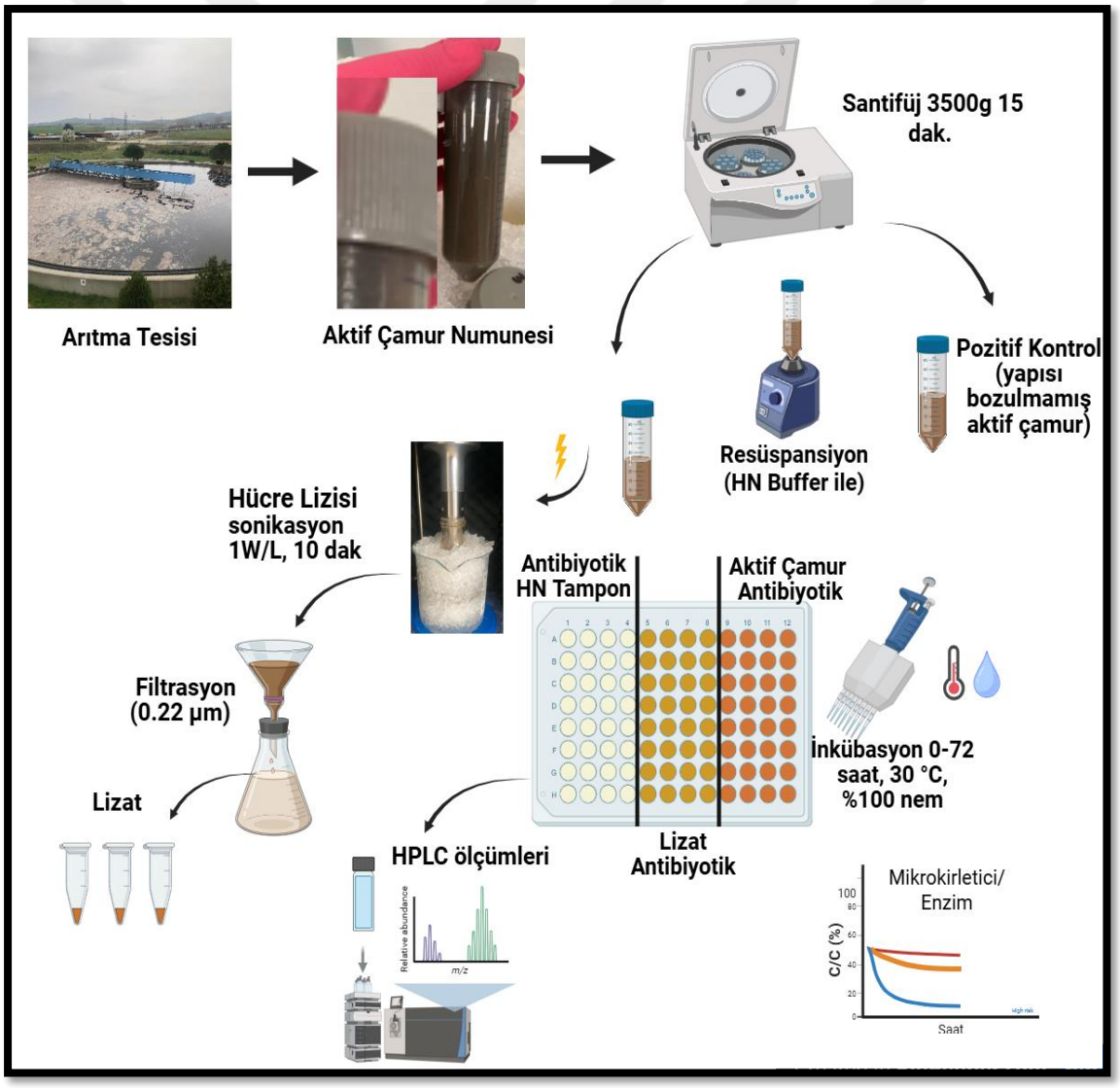
NGS ile aktif çamur mikrobiyotasının incelenmesi, biyolojik arıtma sistemlerinin mikrobiyal dinamiklerini çözümlemek için önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır. Bu teknoloji sayesinde, dominant ve nadir türler arasındaki dağılım, işlevsel gen repertuarı, patojen varlığı ve çevresel stres etmenlerine verilen yanıtlar detaylı bir şekilde belirlenebilmektedir. Örneğin, Proteobacteria, Bacteroidota ve Firmicutes gibi filumların aktif çamurda baskın olduğu; nitrifikasyon, denitrifikasyon ve fosfor giderimi gibi işlevlerin bu gruplar tarafından yürütüldüğü birçok çalışmayla doğrulanmıştır (Han ve diğ., 2021). Ayrıca, mikrobiyal çeşitlilikteki değişimlerin, arıtım performansı ve enzimatik aktivite üzerindeki etkileri, NGS analizleriyle korelasyonlu biçimde incelenebilmektedir (Fan ve diğ., 2023).

NGS teknolojisinin biyolojik arıtım sistemlerinde kullanıldığı pek çok güncel çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Li ve arkadaşları (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada, aktif çamur örneklerinden elde edilen DNA'nın Illumina platformu ile dizilenmesi sonucu antibiyotik direnç genlerinin yaygınlığı ve mikrobiyal kompozisyonlar ortaya konmuştur (Li ve diğ., 2022b). Benzer şekilde, Huang ve arkadaşları (2022) tarafından yapılan bir başka çalışmada, evsel atık su arıtım tesisinden alınan çamur örneklerinde metagenomik NGS analizleriyle β-laktam antibiyotik direnç genlerinin bakteriyel taşıyıcıları tanımlanmıştır (Huang ve diğ., 2022b). Ayrıca, mikrobiyal işlevselliğin pH, sıcaklık ve karbon kaynağına bağlı olarak nasıl değiştiği, genetik potansiyelin metagenomik yollarla modellenmesiyle gösterilmiştir (Chen ve diğ., 2022a). Bu bulgular, arıtım verimliliğini artırmaya yönelik mikrobiyal optimizasyon stratejileri geliştirilmesine bilimsel zemin hazırlamaktadır.

Sonuç olarak, NGS tabanlı moleküler izleme yöntemleri, aktif çamur mikrobiyal topluluğu ve arıtım süreçlerinin daha detaylı ve doğru analiz edilmesini sağlayarak, çevresel biyoteknoloji uygulamalarında güçlü bir araç haline gelmiştir. Bu teknoloji sayesinde hem çevresel sürdürülebilirlik hem de direnç genlerinin kontrolü gibi kritik başlıklarda bilimsel ilerleme sağlanabilmektedir.

# 3. YÖNTEM

Bu çalışmada, aktif çamurdan elde edilen hücresiz lizatlar kullanılarak çevresel mikrokirleticilerin biyolojik dönüşüm potansiyeli değerlendirilmiş ve çeşitli enzim aktiviteleri mikroplaka esaslı kolorimetrik analizlerle ölçülmüştür. Deneysel çalışmalar Krah ve arkadaşları (2016) tarafından önerilen analiz prosedürü esas alınarak yapılandırılmıştır (Krah ve diğ., 2016). Şekil 4'te (BioRender programında çizilmiştir) çalışmada kullanılan aktif çamurdan enzim ekstraksiyonun aşamaları ve elde edilen ürünler verilmiştir.




**Şekil 4.** Aktif çamurdan enzim ekstraksiyonu için gerekli olan basamaklar.

## 3.1. KİMYASAL MADDELERİN HAZIRLANIŞI

Tampon çözeltiler ve analizlerde kullanılan reaktifler deney öncesi hazırlanmıştır. 1 M HEPES ((4-(2-hidroksietil)-1-piperazineetansulfonik asit), 238.31 g/mol, Multicell/Kanada) çözeltisi 11.916 g HEPES'in 40 mL distile suda çözülmesi ve pH'nın 10 M NaOH ile 7.4'e ayarlanmasıyla elde edilmiştir. Son hacim 50 mL'ye tamamlanmış ve 0.22 µm PES membranla filtrelenmiştir. 5 M NaCl (58.44 g/mol, KimyaLab/Türkiye), 73.05 g NaCl'nin 200 mL suda çözülerek 250 mL'ye tamamlanması ve 121°C'de 15 dakika steril edilmesiyle hazırlanmıştır. HN tamponu (50 mM HEPES + 50 mM NaCl) bu iki çözeltinin uygun hacimlerde karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

Bis-Tris tamponu 1 M ve 20 mM (BioShop, Kanada) şekilde hazırlanmış, pH'sı 6.0'a HCl (6 M) ile ayarlanmış ve 0.22 µm filtreyle sterilize edilmiştir. Di-sodyum hidrojen fosfat ($Na_2HPO_4$, 177.99 g/mol, Multicell/Kanada) çözeltisi 1 M olarak hazırlanıp %75'lik $H_3PO_4$ ile pH'sı 6.0'a ayarlanmıştır. Bu çözeltiden 50 mM konsantrasyon elde edilerek deneylerde kullanılmıştır.

## 3.2. NUMUNE TOPLAMA VE ÖN İŞLEMLER

Çamur numuneleri, İstanbul İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nin havalandırma havuzundan alınmıştır. Numune alma işlemi ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde olmak üzere dört farklı dönemde gerçekleştirilmiş olup, her bir mevsimde 2 litre hacminde çamur numunesi toplanmıştır. İşletme koşulları mevsimler arasında genel olarak benzer aralıklarda seyretmiş, HRT ve SRT açısından anlamlı bir mevsimsel farklılık gözlenmemiştir. Çalışma süresince HRT değerleri yaklaşık 17–18 saat aralığında, SRT ise tüm mevsimlerde 15 gün olarak uygulanmıştır. Alınan numuneler, mikrobiyal ve enzimatik aktivitelerin korunması amacıyla en geç 45 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Önceden soğutulmuş 50 mL'lik falkonlara alınan çamur, 3500 g'de 6 dakika santrifüj edilerek pellete ve süpernatanta ayrılmıştır. Santrifüj sonrası süpernatantın büyük kısmı uzaklaştırılmış; enzim varlığının test edilmesi amacıyla yalnızca bir Falcon tüpten alınan 50 mL süpernatant, 0,2 µm PES membran filtre ile süzülerek buz üzerinde muhafaza edilmiştir. Kalan pelletlerden 2 mL'si pozitif kontrol için ayrılmış, kalanlar tartılarak üzerine HN tamponu (500 mL) eklenmiş, ardından vorteks ile homojenize edilmiştir. Hücre parçalanması, 25 mL konsantre çamur ile doldurulmuş 50 mL tüplerde, 1 W/mL güç yoğunluğunda çalışan sonikatörle 10 dakika boyunca, 15 saniyelik buz ve sonikasyon döngülerinde gerçekleştirilmiştir.

## 3.3. HÜCRE LİZATININ SAFLAŞTIRILMASI

Sonikasyon sonrası numuneler 16.000 rpm'de, 4 °C'de 15 dakika santrifüj edilerek hücre kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Elde edilen süpernatant, 0.2 µm PES filtrelerle süzülerek hücresiz enzim lizatı hazırlanmış ve HN tamponu içinde buz üzerinde saklanmıştır.

## 3.4. ENZİM AKTİVİTE DENEYLERİ

Fosfotaz aktivitesi için 23 mM p-nitrofenil fosfat (371.14 g/mol, BLDpharm, ABD), 10 mL 50 mM $Na_2HPO_4$ tamponunda hazırlanmıştır. β-Galaktosidaz, β-Glukuronidaz ve β-Glukozidaz aktiviteleri sırasıyla 3 mM p-nitrofenil-β-D-galaktopiranosid, 4-nitrofenil-β-D-glukuronid ve p-nitrofenil-β-D-glukozidaz substratları ile gerçekleştirilmiş; tümü 20 mM Bis-Tris tamponlarında çözülmüştür. 250 mM p-nitrofenol (139.11 g/mol, Roth, Almanya) da standart eğriler için substrat olarak kullanılmıştır.

Her analizde, enzimatik aktivitenin inhibisyonu amacıyla 100 °C'de 15 dakika ısıtılmış (inaktive edilmiş) enzim çözeltisi içeren negatif kontrol ile aktif enzim ve substratın birlikte bulunduğu pozitif kontrol dahil edilmiş; tüm ölçümler üçlü tekrar halinde gerçekleştirilmiştir (n = 3). 50 µL çamur veya süpernatant örneklerine 200 µL substrat çözeltisi eklenmiş, örnekler 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiş ve ardından 100 µL 0.5 M NaOH ile reaksiyonlar durdurulmuştur. Mikroplaka ölçümleri (Thermo Scientific, Multiskan Go, ABD), çok modlu mikroplaka okuyucu kullanılarak yapılmıştır.

## 3.5. ANTİBİYOTİKLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ DENEYLERİ

Ticari olarak temin edilen antibiyotiklerin her biri kendi çözücüsü ile, 10 mg/mL stok çözelti olarak hazırlanmıştır. Antibiyotikler 1 ml son hacimde; siprofloksasin 0,1 M hidroklorik asit (HCl, Sigma Aldrich, 7647-01-0, ABD), sefuroksim ve sülfametoksazol dimetil sülfoksit (DMSO, 67-68-5, Sigma Aldrich, ABD), sefazolin ise apirojen (DNAaz, RNAaz içermeyen steril su) ile hazırlanmıştır. Ana stok antibiyotik çözeltileri kendi çözücülerinde çözüldükten sonra 1 ng/mL kullanılacak konsantrasyona getirilmiştir (Tablo 4). Antibiyotik dilisyonları HPLC ölçümünde kullanılacağından, ilk iki dilüsyon antibiyotiğin kendi çözücüsü ile son iki ve özellikle kullanım konsantrasyonu apirojen su ile hazırlanmıştır.

**Tablo 4.** Antibiyotik çözeltilerinin hazırlanışı.

| | Alınan Hacim | Eklenen Çözücü | Dilüsyon | Konsantrasyon |
|---|---|---|---|---|
| **Siprofloksasin** | - | 1000 µL 0.1 M HCl | Stok Çözelti | 10 mg/mL |
| Dilüsyon I | 100 µL (ana stok) | 900 µL 0.1 M HCl | 1:10 | 1 mg/mL |
| Dilüsyon II | 100 µL (Dil I) | 9.9 mL apirojen su | 1:100 | 0.01 mg/mL = 10 µg/mL = 10,000 ng/mL |
| Dilüsyon III | 10 µL (Dil II) | 99.99 mL apirojen su | 1:10000 | 1 ng/mL (kullanım dozu) |
| **Sefuroksim** | - | 1000 µL DMSO | Stok Çözelti | 10 mg/mL |
| Dilüsyon I | 100 µL (ana stok) | 900 µL 0.1 DMSO | 1:10 | 1 mg/mL |
| Dilüsyon II | 100 µL (Dil I) | 9.9 mL apirojen su | 1:100 | 0.01 mg/mL = 10 µg/mL = 10,000 ng/mL |
| Dilüsyon III | 10 µL (Dil II) | 99.99 mL apirojen su | 1:10000 | 1 ng/mL (kullanım dozu) |
| **Sülfametoksazol** | - | 1000 µL DMSO | Stok Çözelti | 10 mg/mL |
| Dilüsyon I | 100 µL (ana stok) | 900 µL 0.1 DMSO | 1:10 | 1 mg/mL |
| Dilüsyon II | 100 µL (Dil I) | 9.9 mL apirojen su | 1:100 | 0.01 mg/mL = 10 µg/mL = 10,000 ng/mL |
| Dilüsyon III | 10 µL (Dil II) | 99.99 mL apirojen su | 1:10000 | 1 ng/mL (kullanım dozu) |
| **Sefazolin** | - | 1000 µL apirojen su | Stok Çözelti | 10 mg/mL |
| Dilüsyon I | 100 µL (ana stok) | 900 µL apirojen su | 1:10 | 1 mg/mL |
| Dilüsyon II | 100 µL (Dil I) | 9.9 mL apirojen su | 1:100 | 0.01 mg/mL = 10 µg/mL = 10,000 ng/mL |
| Dilüsyon III | 10 µL (Dil II) | 99.99 mL apirojen su | 1:10000 | 1 ng/mL (kullanım dozu) |

Mikrokirletici bozunma deneyleri, her bir örnekte 100 µL hücre lizatı ile 20 µL analit karışımının (0.1 ng/µL, her analit için) karıştırılmasıyla başlatılmıştır. Nihai konsantrasyon 16.7 µg/L olarak ayarlanmıştır. Buharlaşmaya bağlı konsantrasyon değişimlerini önlemek amacıyla deneyler %100 bağıl nem ve 30 °C sıcaklıktaki iklimlendirme odasında gerçekleştirilmiştir.

Her deneysel koşul üç tekrar ve bir negatif kontrol (ısı ile inaktive lizat, 100 °C'de 15 dakika, 300 rpm) içerecek şekilde hazırlanmış; toplamda her zaman noktası için 15 örnek ve 5 negatif kontrol kullanılmıştır.

Tüm zaman noktaları için bağımsız 96 kuyulu mikroplakalar kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak arıtılmış aktif çamur flokları üçlü tekrarlarla incelenmiş, ortam koşullarında bozunmanın sürdüğü doğrulanmıştır.

Numuneler hazırlanırken mikroplakalar buz üzerinde tutulmuş, lizat ve kontroller eklendikten sonra tüm kuyucuklara aynı anda analit karışımı eklenmiştir. Mikroplakalar, gaz değişimine izin veren nefes alabilir sızdırmaz film ile kapatılarak inkübasyona alınmıştır. Belirlenen zaman noktalarında (≤30 dk, 4–8 saat, 24 saat, 48 saat, 72 saat) tüm örnekler eşzamanlı olarak 100 °C'de 15 dakika inkübe edilerek inaktive edilmiştir. Bu işlem için nefes alabilir film, ısıya dayanıklı bir sızdırmaz film ile değiştirilmiştir.

T1 zaman noktasındaki örnekler analit başlangıç konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Her inaktivasyon sonrası plakalar 2500 g'de 7 dakika santrifüj edilerek yoğuşma ve flok çökelmesi sağlanmış, ardından her kuyucuktan 100 µL örnek alınıp 1.5 mL tüplerde 4 °C'de saklanmıştır.

### 3.6. HPLC Analiz Koşulları ve Metodu

Antibiyotiklerin kantitatif analizi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler, HPLC (Shimadzu, Japonya) sistemi ile yürütülmüş olup, dedeksiyon işlemi 210 nm dalga boyunda çalışan UV–Vis dedektör aracılığıyla yapılmıştır. Kromatografik ayırma, ters faz C18 kolon kullanılarak sağlanmış; bu amaçla Zorbax Eclipse XDB-C18 kolon tercih edilmiştir. Seçilen kolon ve dedeksiyon koşulları Tablo 5'te verilmiş olup, antibiyotiklerin etkin ayrımı ve hassas tayini için uygun bulunmuştur. Mobil faz olarak Eluent A, %0,1 TFA içeren asetonitril, B ise %0,1 TFA içeren su olacak şekilde bir gradyan programı uygulanmıştır; başlangıçta (0. dakika) %5 A / %95 B kompozisyonu kullanılmış, 20. dakikada %65 A / %35 B oranına lineer olarak çıkılmış, ardından 20, 1. dakikada başlangıç koşullarına dönülmüş ve 25. dakikaya kadar bu koşullarda dengeleme sağlanmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk olarak ayarlanmış, enjeksiyon hacmi 50 µL olarak uygulanmıştır. Numune ve mobil faz hazırlığında, 1 L asetonitrile 1 mL TFA ve 1 L saf suya 1 mL TFA eklenerek çözeltiler hazırlanmıştır. Sistem yaklaşık 40 bar geri basınç altında çalıştırılmıştır.

**Tablo 5.** Antibiyotiklerin HPLC analizine ait kromatografik koşullar.

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Bileşen 1** | %0,1 TFA / Asetonitril (ACN) | | |
| **Bileşen 2** | %0,1 TFA / Su | | |
| **Elüent** | **Zaman** | **Bileşen 1 (%)** | **Bileşen 2 (%)** |
| | 0 | 5 | 95 |
| | 20 | 65 | 35 |
| | 20,1 | 5 | 95 |
| | 25 | 5 | 95 |
| **Kolon Sıcaklığı** | 40 °C | | |
| **Akış hızı** | 1,0 mL/dk | | |
| **Enjeksiyon hacmi** | 50 µL | | |
| **Numune hazırlığı** | Asetonitril içerisinde 1 L'ye 1 mL TFA, su içerisinde 1 L'ye 1 mL TFA ilave edilmiştir. | | |
| **Geri basınç** | 40 bar | | |

HPLC sonuçlarının değerlendirilmesinde, göreli giderim performanslarının karşılaştırılabilmesi amacıyla CIP, CFZ, CXM ve SMX konsantrasyonları normalize edilmiş ve yüzde giderim değerleri hesaplanmıştır. Yüzde giderim değerleri, her bir deney grubunun 0,5. saatte ölçülen başlangıç konsantrasyonu referans alınarak normalize edilmiş ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%\textbf{Giderim} = \left(\mathbf{1} - \frac{\boldsymbol{C_t}}{\boldsymbol{C_{0.5\,h}}}\right) \times \mathbf{100}$$

Burada $C_t$, ilgili zaman noktasındaki siprofloksasin konsantrasyonunu (mg/L), $C_{0.5\,h}$ise 0,5. saatte ölçülen başlangıç konsantrasyonunu (mg/L) ifade etmektedir. Normalizasyon işlemi, deney grupları arasında başlangıç konsantrasyonlarındaki küçük farklılıkların giderilmesini ve uygulamaların zamana bağlı göreli etkinliklerinin daha net bir şekilde karşılaştırılmasını amaçlamaktadır.

Bu yaklaşım ile, mutlak konsantrasyon değerlerinden bağımsız olarak, her bir uygulamanın CIP giderimindeki kinetik eğilimleri ortaya konulmuştur.

Ancak, normalize edilmiş yüzde giderim değerlerinin, mutlak konsantrasyon değişimlerini doğrudan yansıtmadığı göz önünde bulundurulmuştur.

Bu nedenle yüzde giderim grafiği destekleyici nitelikte sunulmuş, mutlak konsantrasyon–zaman profilleri ise ana sonuç olarak değerlendirilmiştir.

## 3.7. MİKROBİYAL TOPLULUK ANALİZİ

Numunelerdeki mikrobiyal topluluğun çeşililiği, NGS analizi ile belirlenmiştir (Berthelet ve diğ., 1996; Bourrain ve diğ., 1999; Green ve Sambrook, 2016; Griffiths ve diğ., 2000; McIlroy ve diğ., 2009; Qu ve diğ., 2009; Shan ve diğ., 2008; Zhou ve diğ., 1996) Analiz aşamaları aşağıda açıklanmıştır.

### 3.7.1. DNA İzolasyonu

Aktif çamur örneklerinin mikrobiyal kompozisyonunun yüksek çözünürlükte belirlenebilmesi amacıyla, yeni nesil dizileme (NGS) analizleri öncesinde toplam genomik DNA izolasyonu laboratuvarımızda gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu için kullanılan tamponlar Tablo 6'da verilmiştir.

**Örneklerin Hazırlanması**

İlkbahar, yaz, sonbahar, kış örneklerinin her birinden ependorf tüplerine (2 mL), -80 ºC derin dondurucuda saklanan çamurdan 200 mg wet pelet tartılarak konulmuştur. Her mevsim için 4 farklı çamur tartımı yapılmıştır. Tartım sırasında buz üzerinde çalışılmıştır.

Ependorf tüplerine alınan çamur üzerine 1 mL soğuk 1x TE tampon eklenmiştir. Düşük ayarda nazikçe vorteks yapılarak resüspansiyon haline getirilmiştir. Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde bulunan süpernatant atılmıştır. Bu işlem, çamur rengi açık kahverengi haline gelene kadar toplamda dört kez tekrarlanmıştır.

Hücre peleti 700 µL 1x TE tampon ile süspansiyon haline getirilmiştir. Numuneler -80 ºC derin dondurucuda 10 dakika bekletilmiş, ardından 37 ºC su banyosunda 3 dakika bekletilmiştir (freeze–thaw). Her çözmede pipet yardımıyla yavaşça resüspansiyon yapılmıştır. Bu işlem aynı sürelerle toplamda üç kez uygulanmıştır.

Sıcaklığı buz yardımıyla 7 ºC'ye düşürülen ultrasonik banyoya alınan örnekler, cihazda 3 dakika bekletilmiştir.

Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde bulunan süpernatant atılmıştır.

**Tablo 6.** DNA izolasyonunda kullanılan tamponlar.

| Tamponlar | Stok | Amaç |
|---|---|---|
| **TE** | 10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA | Resüspansiyon ve yıkama amacıyla kullanılır. EDTA DNazları inhibe ederek DNA'nın parçalanmasını önlemeye yardımcı olur. |
| **Lizozim** | 10–50 mg/mL | Peptidoglikanı parçalar; geniş bakteri gruplarının etkili lizisi için temel bir bileşendir. |
| **Proteinaz K** | 20 mg/mL | Proteinleri ve nükleazları parçalar; DNA verimini ve saflığını artırır. |
| **RNaz A** | 10 mg/mL | DNA elde edildikten sonra RNA'nın uzaklaştırılmasını sağlar. |
| **SDS** | 10% | Hücre zarının parçalanması ve proteinlerin denatürasyonu için kullanılan bir deterjandır. |
| **CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide)** | 2% in CTAB buffer | Polisakkaritler ve EPS (ekstraselüler polimerik maddeler) ile kompleks oluşturur; çamur ve toprak benzeri matrislerde DNA saflığını artırır. |
| **NaCl** | 5 M | Yüksek tuz konsantrasyonu, CTAB–polisakkarit çökelmesini destekler ve DNA'nın çözünürlüğünü artırır. |
| **PVPP (Polivinilpolipirolidon)** | PVPP (%1) | Polifenolik ve humik bileşikleri bağlar; A260/230 oranındaki düşüklük sorunlarını azaltır. |
| **Fenol:Kloroform:İzoamil Alkol (IFA)** | 25:24:1 | Proteinlerin ve EPS'nin uzaklaştırılmasını sağlar; uçucu ve toksik özellikleri nedeniyle çeker ocakta kullanılmalıdır. |
| **Kloroform:İzoamil Alkol** | 24:1 | Kalıntı fenolü ve lipitleri uzaklaştırır. |
| **Sodyum Asetat (NaOAc)** | 3M, pH: 5.3 | DNA'nın çöktürülmesi ve yıkanması için kullanılır. |
| **İzopropanol, Ethanol** | %100, %70 | |
| **Kolon (yıkama için)** | Biocomma HP 50A | Metagenomik kütüphane hazırlığının başarısı için son inhibitör giderme adımıdır. |

**Lizis ve EPS/Humik Bileşiklerin Giderilmesi**

Pelet, 500 µL 1x TE tampon ile resüspanse edilmiştir.

100 mg/mL ana stok lizozimden 5 µL alınarak son konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde eklenmiştir.

Numuneler 37 ºC'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Her 10 dakikada bir rotasyonla yavaşça karıştırılmıştır.

700 µL CTAB (Sigma, ABD) yüksek tuz içeren tampon çözeltisi, 70 µL SDS (%1), Proteinaz K (20 mg/mL, Bioshop, Kanada) 20 µL ve %1 PVPP'den oluşan bir karışım tamponu hazırlanmıştır. Tüm ependorflara 790 µL dağıtılmıştır. Numuneler 60 ºC'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Her 5 dakikada bir rotasyonla yavaşça karıştırılmıştır.

Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant alınarak yeni ependorf tüplerine aktarılmıştır.

**Organik Ekstraksiyon**

Süpernatant hacmi kadar fenol:kloroform:izoamil alkol (25:24:1) eklenmiştir. Numuneler rotasyon hareketi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.

Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz dikkatlice yeni 2 mL ependorfa alınmıştır.

Süpernatant hacmi (750 µL) kadar kloroform:izoamil alkol (24:1) eklenmiştir. Numuneler rotasyon hareketi ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir.

Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz dikkatlice yeni 2 mL ependorfa aktarılmıştır.

**DNA'nın Çöktürülmesi**

Örnek hacmine (500 µL) 0.6 vol izopropanol (300 µL) ve 1 vol NaOAc (3 M stok, 50 µL) eklenmiştir. Numuneler rotasyonla yavaşça karıştırılmış ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir.

Numuneler 16.000 g, 4 ºC'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılmıştır.

Pelete 1 mL %70 etanol eklenmiştir. Numuneler 16.000 g'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası etanolün uçması için numuneler oda sıcaklığında 10–15 dakika bekletilmiştir.

Pelet, 40 µL 10 mM Tris (pH 8, 1 M stok) ile süspansiyon haline getirilmiştir.

**RNaz Uygulaması ve Nihai Saflaştırma**

DNA temiz ependorfa alınmıştır. Üzerine 10 mg/mL RNaz A'dan 0,8 µL eklenmiş ve numuneler 37 ºC'de 15 dakika inkübe edilmiştir.

Numunelere 5–6 M GuSCN (guanidinyum tiyosiyanat) 4 vol (200 µL) eklenmiştir. Numuneler izolasyon kolonuna (Biocomma, HP 50A) alınmış ve 5 dakika bekletilmiştir.

50 mL yıkama tamponu için 40 mL etanol, 10 mM Tris (pH 8.0), 0,1 mM EDTA ve 16 mM NaCl eklenerek hazırlanmıştır. Kolona 650 µL yıkama tamponu eklenmiş ve 16.000 g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Yıkama işlemi bir kez daha tekrarlanmıştır.

Genomik DNA, 50–100 µL 10 mM Tris (pH 8) ile elüe edilmiştir.

Örnekler NanoDrop cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

### 3.7.2. NGS Analizi

Elde edilen genomik DNA'lar NGS analizi için hizmet alımı yapılmıştır (Macrogen, Hollanda). Numuneler, yeni nesil dizileme (NGS) kütüphane hazırlama iş akışına uygun biçimde hazırlanmış ve Illumina platformu kullanılarak dizilenmiştir. Bu kapsamda tüm kütüphane hazırlama ve dizileme basamakları, hizmet alımı yoluyla Macrogen Inc. tarafından gerçekleştirilmiştir. Uygulanan iş akışı genel olarak ligasyon temelli kütüphane hazırlama yaklaşımına dayanmaktadır ve kullanılan protokole bağlı olarak bazı basamaklarda farklılıklar oluşabilmektedir. İlk aşamada numunelerden DNA (veya RNA) izolasyonu yapılmış, ardından yalnızca kalite kontrol kriterlerini sağlayan örnekler kütüphane oluşturma sürecine dahil edilmiştir. Kütüphane hazırlanmasında DNA veya cDNA örnekleri rastgele fragmente edilmiş ve fragmanların 5' ve 3' uçlarına adaptör ligasyonu gerçekleştirilmiştir.

Alternatif olarak bazı protokollerde, fragmantasyon ve adaptör ligasyon adımlarını tek basamakta birleştiren “tagmentation” yaklaşımı uygulanarak kütüphane hazırlama verimliliği artırılabilmektedir. Adaptör ligasyonu tamamlanan fragmanlar, adaptör uçlarına bağlanan primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış ve elde edilen kütüphane şablonları dizilemeye uygunluğunun doğrulanması amacıyla detaylı kalite kontrol ve kantifikasyon süreçlerinden geçirilmiştir. Sonrasında kütüphane, akış hücresine (flow cell) yüklenmiş; adaptörlere tamamlayıcı yüzeye bağlı oligonükleotitler aracılığıyla fragmanlar yakalanmış ve bridge amplifikasyonu ile her bir fragman klonal kümeler (cluster) oluşturacak şekilde çoğaltılmıştır. Küme oluşumu tamamlandıktan sonra dizileme aşamasına geçilmiş ve Illumina Sequencing by Synthesis (SBS) teknolojisi kullanılarak DNA şablon zincirine bazların tek tek eklenmesi prensibiyle yüksek doğrulukta baz-baz dizileme yapılmıştır. SBS yaklaşımında geri dönüşümlü terminatör bazlı yöntem kullanılarak her döngüde dört farklı dNTP’nin rekabetçi biçimde eklenmesi sağlanmış, böylece inkorporasyon yanlılığı azaltılarak ham hata oranları düşürülmüştür. Dizileme sistemlerinde kullanılan kimyasal yöntem; dört-kanallı, iki-kanallı veya tek-kanallı floresan işaretleme prensiplerine dayanmakta olup, görüntüler cihazın yazılımı ile analiz edilerek nükleotit kimlikleri belirlenmiştir. Dizileme sonunda elde edilen ham görüntü verileri, sistem kontrolü ve baz çağırma işlemleri için kullanılan Illumina yazılımı aracılığıyla işlenmiş ve entegre birincil analiz yazılımı olan RTA (Real Time Analysis) ile ham veri çıktıları oluşturulmuştur. Baz çağrı (BCL/cBCL) formatındaki ikili dosyalar Illumina tarafından sağlanan bcl2fastq paketi kullanılarak FASTQ formatına dönüştürülmüş; bu aşamada okumalardan adaptör dizilerinin otomatik olarak kırpılmadığı belirtilmiştir.

# 4. BULGULAR

## 4.1. ENZİM AKTİVİTESİ DENEY SONUÇLARI

Enzim aktivite deneyleri, aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimlerin fonksiyonel olarak aktif olup olmadığının ve ölçülebilir bir katalitik performans sergileyip sergilemediğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, çamur numuneleri İstanbul İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nin havalandırma havuzundan alınmıştır. Çalışmanın başlangıcında alınan **tek bir aktif çamur numunesi** ekstrakte edildikten sonra, p-nitrofenol türevi substratlar kullanılarak kolorimetrik esaslı spektrofotometrik analizler uygulanmış; elde edilen absorbans değişimleri üzerinden farklı örnek fraksiyonlarında enzim aktiviteleri izlenmiştir. Aktivite ölçümlerinde zamana bağlı reaksiyon ilerlemesi, sinyalin ölçülebilirliği ve deneysel tekrarlanabilirlik dikkate alınmıştır.

Deneysel olarak belirlenen enzim aktivite değerleri, aynı aktif çamur numunesinden elde edilen farklı örnek fraksiyonlarında enzimatik potansiyelin değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur (Tablo 7). Özellikle ham (crude) çamur örneklerinde gözlemlenen yüksek fosfataz aktivitesi (3,230 Abs), enzimatik hidroliz kapasitesinin büyük ölçüde katı fazda yoğunlaştığını göstermektedir. Buna karşılık, süpernatant örneklerinde tüm enzim aktivitelerinin belirgin biçimde azalması, hücre içi enzimlerin ve çökelti fazına bağlı mikroorganizmaların aktiviteye olan katkısının baskın olduğunu düşündürmektedir.

Bu ön değerlendirmeyi takiben, elde edilen enzim ekstraktının doz-bağımlı davranışını ortaya koymak amacıyla aynı ekstrakt farklı konsantrasyonlarda (0x–1x) test edilmiştir. Enzim ilaveli örnek setlerinde yapılan spektrofotometrik ölçümler (Tablo 7), enzim konsantrasyonunun artışıyla birlikte enzim aktivitelerinde belirgin bir yükselme olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle glukuronidaz aktivitesi, 1x enzim uygulamasında 3,578 Abs değeri ile maksimum seviyeye ulaşmış; bu durum söz konusu enzimin karboksilik konjugatların yıkımında yüksek etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde galaktosidaz ve glükosidaz aktivitelerinde de enzim dozuna paralel artış gözlenmiş, ancak bu enzimlerin ulaştığı maksimum aktivite seviyelerinin glukuronidaz aktivitesine kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir.

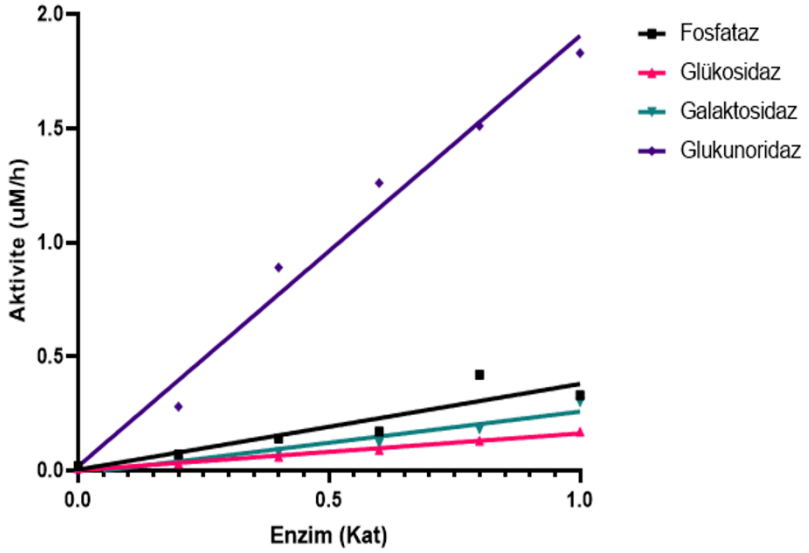
Elde edilen bu bulgular, aktif çamurdan elde edilen enzim ekstraktının hem farklı örnek fraksiyonlarında hem de farklı dozlarda ölçülebilir ve kararlı bir aktivite profili sergilediğini ortaya koymuş; bu nedenle enzim aktivite deneylerinin tek bir aktif çamur numunesi üzerinde gerçekleştirilmesinin yeterli olduğu değerlendirilmiştir.

**Tablo 7.** Aktif çamurdan elde edilen enzim ekstraktının farklı dozlarında ölçülen enzim aktiviteleri.

| | **23 mM Fosfataz aktivitesi** | **3 mM Glükosidaz aktivitesi** | **3 mM Galaktosidaz aktivitesi** | **3 mM Glukunoridaz aktivitesi** |
|---|---|---|---|---|
| **Crude** | 3,230 | 1,204 | 1,467 | 1,205 |
| **Süpernatant** | 0,208 | 0,115 | 0,156 | 0,066 |
| **1x E** | 1,827 | 1,543 | 2,107 | 3,578 |
| **0.8x E** | 2,061 | 1,249 | 1,601 | 3,477 |
| **0.6x E** | 1,195 | 0,979 | 1,234 | 3,371 |
| **0.4x E** | 1,029 | 0,679 | 0,894 | 3,123 |
| **0.2x E** | 0,562 | 0,374 | 0,489 | 2,025 |
| **0x E** | 0,196 | 0,093 | 0,115 | 0,064 |

1x E, seyreltilmemiş stok enzim çözeltisini; 0.8x E, stok enzim çözeltisinin %80 oranında seyreltilmiş halini; 0.6x E, %60'a; 0.4x E, %40'a ve 0.2x E, %20'ye seyreltilmiş enzim çözeltilerini ifade etmektedir. 0x E ise enzim içermeyen kontrol (blank) grubunu temsil etmektedir.

Tek bir aktif çamur numunesinden elde edilen enzim ekstraktının farklı dozları kullanılarak elde edilen verilerin grafiksel analizine göre (Şekil 5), enzim miktarının artmasıyla birlikte tüm enzim türlerinde doğrusal veya yarı-doğrusal artış eğilimleri gözlenmiştir. En dik eğim glukuronidaz aktivitesi için belirlenirken, fosfataz ve galaktosidaz aktiviteleri daha düşük eğimler sergilemiştir. Bu bulgular, glukuronidazın p-nitrofenol türevi substrat üzerinde diğer enzimlere kıyasla daha yüksek substrat afinitesi ve katalitik etkinlik gösterdiğini desteklemektedir.




**Şekil 5.** Aktif çamurdan elde edilen enzim ekstraktının doz-bağımlı enzim aktivite profilleri.

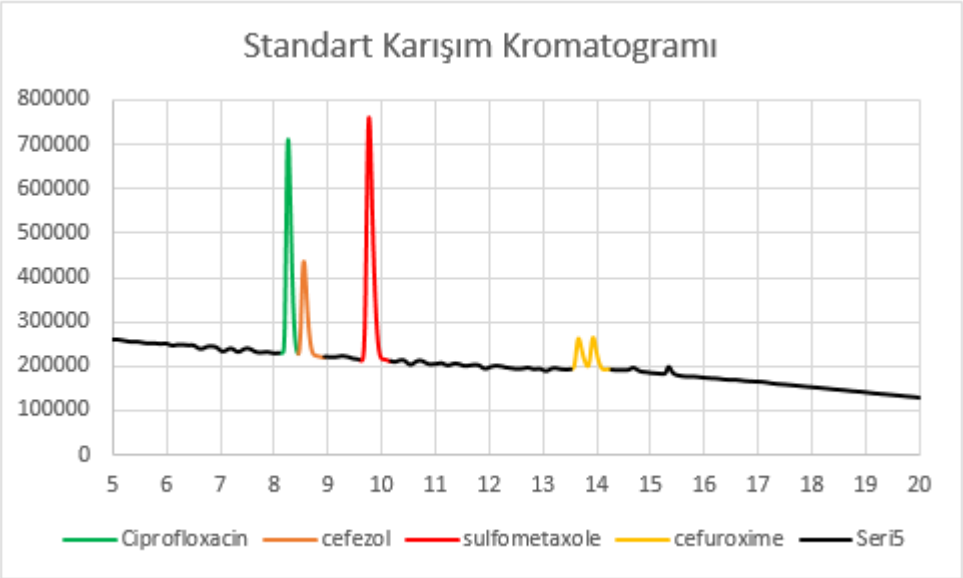
## 4.2. ANTİBİYOTİK BİYOBOZUNMA DENEYİ ANALİZ SONUÇLARI

### 4.2.1. HPLC'DE ANTİBİYOTİK ÖLÇÜMÜ KALİBRASYONU

HPLC analizleri ile antibiyotik konsantrasyonlarının güvenilir ve kantitatif olarak belirlenebilmesi amacıyla, çalışmada yer alan antibiyotikler için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu kapsamda, hedef antibiyotiklerin pik tanımlaması ve alıkonma zamanlarının doğrulanmasının ardından, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak pik alanı–konsantrasyon ilişkileri değerlendirilmiştir.

10 mg/L konsantrasyonda standart karışım kromatogramı incelendiğinde, kullanılan gradyan koşulları altında hedef antibiyotiklerin birbirinden iyi ayrıldığı görülmektedir. Erken elüsyon bölgesinde yaklaşık 8–9. dakikalar arasında CIP (yeşil) ve CFZ (turuncu) pikleri gözlenmekte olup, bu iki bileşiğin nispeten daha polar karakterleri nedeniyle düşük asetonitril oranlarında kolondan ayrıldığı anlaşılmaktadır. Bunu takiben yaklaşık 10. dakikada belirgin ve yüksek sinyalli bir pik olarak SMX (kırmızı) elüe olmakta, bu pik hem alıkonma zamanı hem de absorbans şiddeti açısından iyi tanımlanmış bir referans noktası oluşturmaktadır.

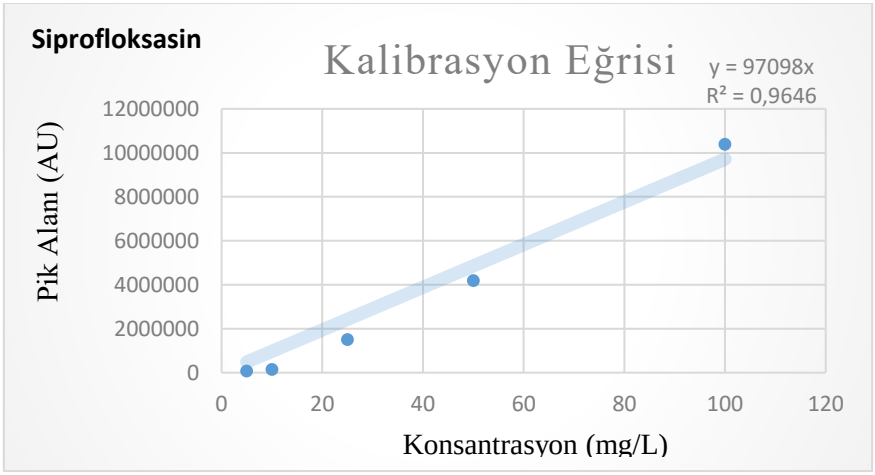
Gradyanın ilerleyen safhasında, daha hidrofobik özellik gösteren SXM (mavi) yaklaşık 13–14. dakikalar arasında iki yakın pik şeklinde gözlenmekte, bu durum izomerik formlar, saflık veya hafif matris/çözücü etkileşimleri ile ilişkili olabilecek ince yapısal ayrıntılara işaret etmektedir. Baseline'ın genel olarak stabil olması ve pikler arasında belirgin girişimler bulunmaması, seçilen kolon–mobil faz kombinasyonunun ve gradyan profilinin antibiyotiklerin eşzamanlı analizi için uygun olduğunu göstermektedir (Şekil 6). Bu ön değerlendirme sonrasında, her bir antibiyotiğin kantitatif analizini gerçekleştirebilmek amacıyla CIP, CFZ, CXM ve SMX için ayrı ayrı kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve doğrusal çalışma aralıkları belirlenmiştir.



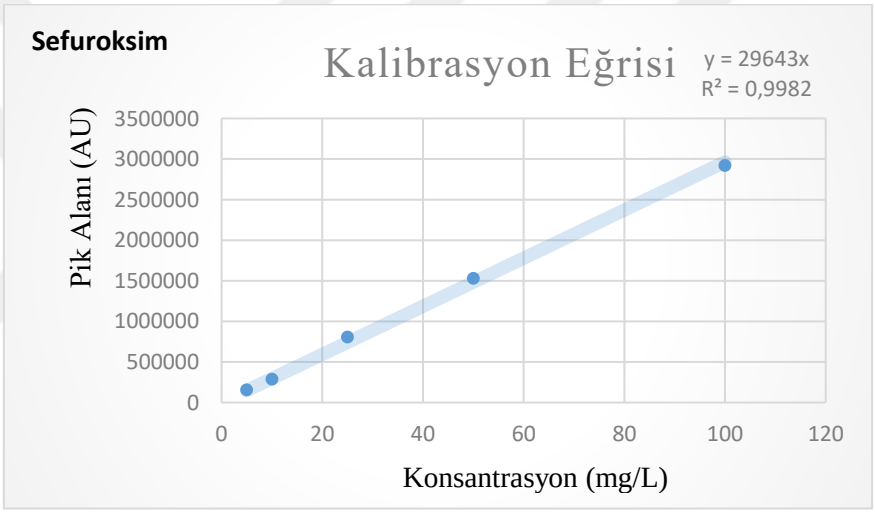

**Şekil 6.** Standart Karışım Kromatogramı.

Şekil 6'da 10 mg/L konsantrasyonda hazırlanan standart antibiyotik karışımının HPLC analizi sonucunda elde edilen kromatogram sunulmaktadır. Kromatogramda x-ekseni alıkonma zamanını (dakika), y-ekseni ise dedektör sinyalini (absorbans, AU) temsil etmektedir.

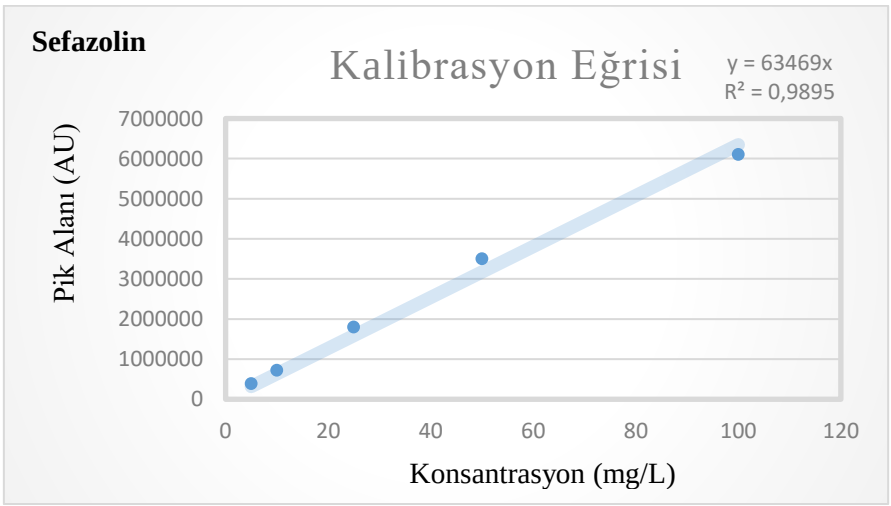
Pik tanımlaması ve alıkonma zamanlarının doğrulanmasının ardından, antibiyotik konsantrasyonlarının kantitatif olarak belirlenebilmesi amacıyla her bir hedef antibiyotik için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Bu kapsamda, CIP, CFZ, CXM ve SMX için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler HPLC sistemine enjekte edilmiş ve elde edilen pik alanları kullanılarak konsantrasyon–sinyal ilişkileri değerlendirilmiştir (Şekil 7-10).



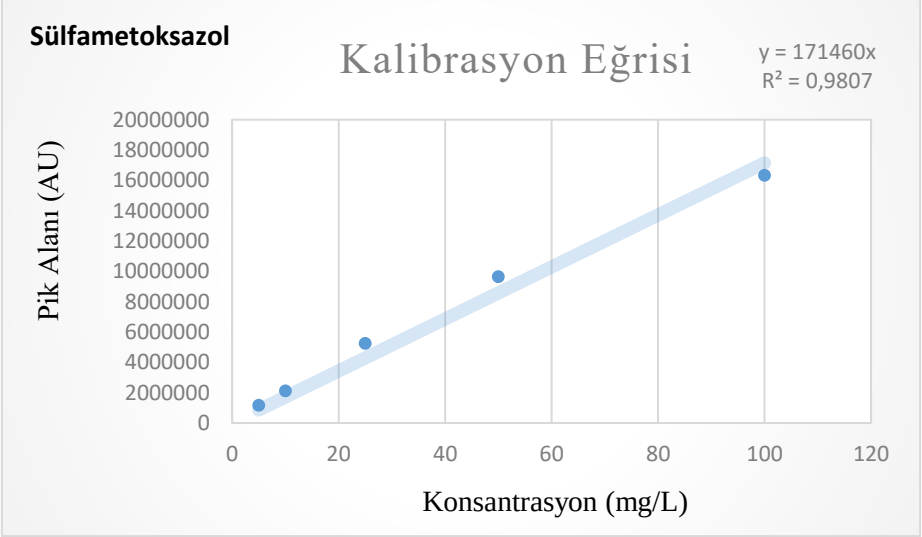

**Şekil 7.** CIP Kalibrasyon Eğrisi.




**Şekil 8.** CFU Kalibrasyon Eğrisi.




**Şekil 9.** CFX Kalibrasyon Eğrisi.




**Şekil 10.** SMX Kalibrasyon Eğrisi.

Tüm antibiyotikler için elde edilen kalibrasyon eğrilerinde pik alanı ile konsantrasyon arasında yüksek düzeyde doğrusal ilişki gözlenmiş olup, belirleme katsayıları ($R^2$) yöntemin seçilen konsantrasyon aralığında güvenilir olduğunu göstermektedir.

### 4.2.2. CIP'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI

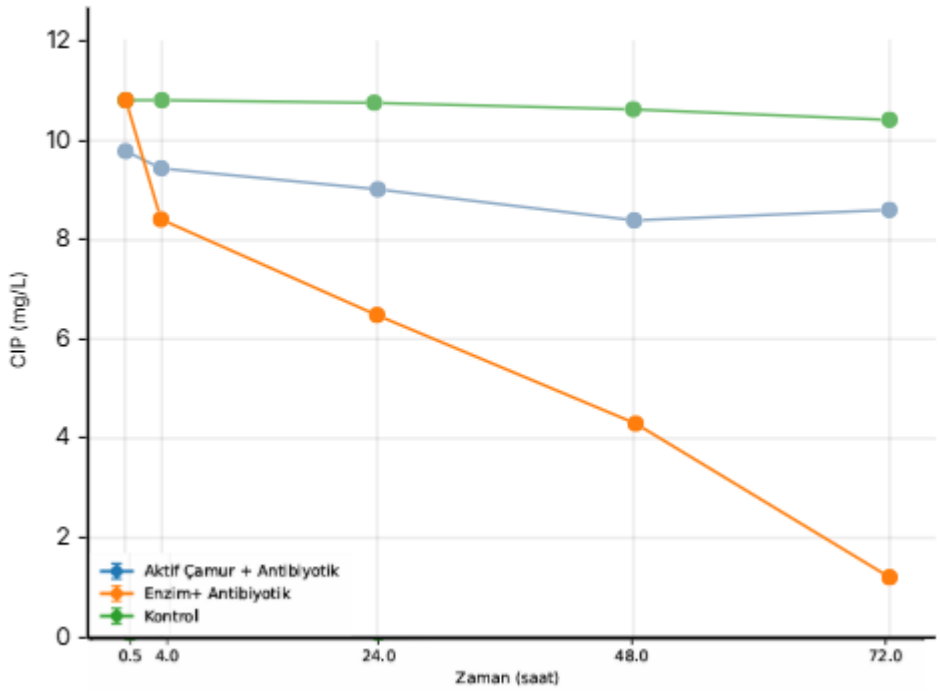
Seçilen antibiyotiklerden biri olan CIP'in, aktif çamur kaynaklı enzimler varlığında zamana bağlı biyolojik bozunumu davranışı HPLC analizleri ile değerlendirilmiştir. CIP, florokinolon grubu antibiyotikler arasında çevresel kalıcılığı, biyolojik arıtma süreçlerinde sınırlı giderimi ve antibiyotik direnç gelişimi üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle çalışmada model bileşik olarak seçilmiştir. Bu kapsamda elde edilen HPLC verileri, CIP konsantrasyonundaki değişimin nicel olarak izlenmesine ve enzimatik biyolojik dönüşümün zamansal ve mevsimsel dinamiklerinin ortaya konmasına olanak sağlamaktadır.

Gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda, İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nden ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış olmak üzere dört farklı mevsimde alınan aktif çamur numunelerinden ekstrakte edilen enzimler kullanılarak CIP'in farklı temas sürelerindeki konsantrasyonları belirlenmiş ve bu veriler doğrultusunda giderim profilleri oluşturulmuştur. Elde edilen bulgular hem ham konsantrasyon değerleri hem de normalize edilmiş giderim yüzdeleri (%) üzerinden değerlendirilmiştir.

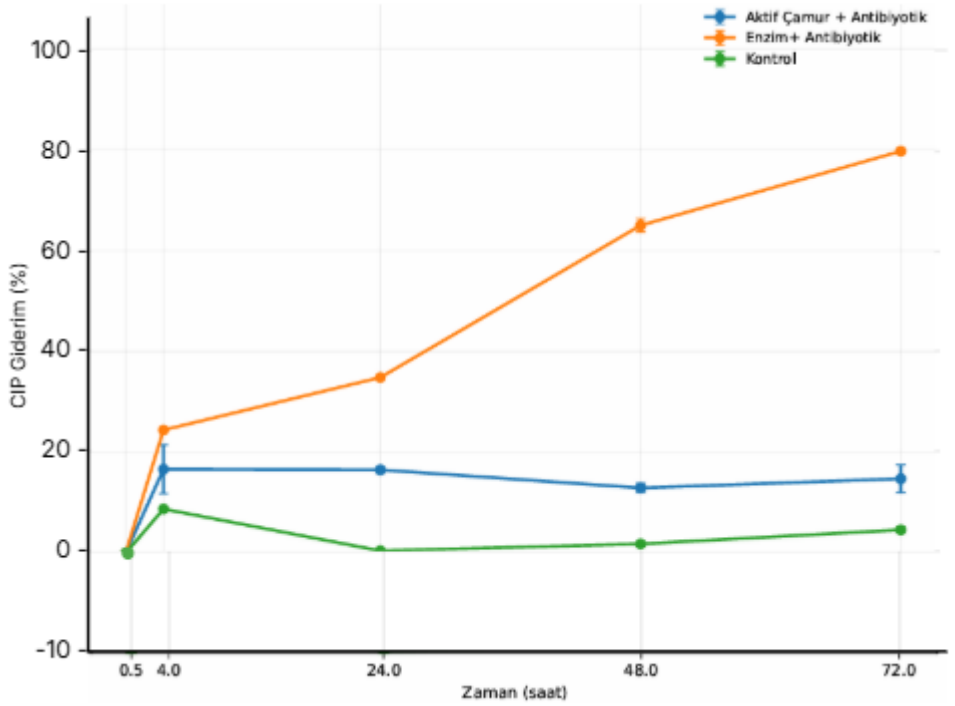
Böylece enzim varlığının CIP'in biyolojik dönüşümü üzerindeki etkisi açık bir şekilde ortaya konmuş ve mevsimsel aktif çamur örneklerinin enzimatik aktivite açısından gösterdiği farklılıkların giderim performansına yansıması incelenmiştir. Sunulan HPLC sonuçları, CIP'in enzimatik bozunma potansiyelinin değerlendirilmesi açısından önemli veriler sağlamaktadır.

Deneysel çalışmalarda CIP giderimi, ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde alınan aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimler kullanılarak 0,5; 4; 24; 48 ve 72 saatlik temas süreleri boyunca izlenmiş; CIP konsantrasyonları (mg/L) ile normalize edilmiş giderim yüzdeleri (%) birlikte değerlendirilmiştir.

İlkbahar numunesinde, CIP'in zamana bağlı değişimi Şekil 11'de sunulmuştur. Şekil 11'de ilkbahar numunesinde kontrol (HN tamponu + antibiyotik), enzim + antibiyotik (filtrelenmiş aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimler) ve çamur + antibiyotik gruplarında CIP konsantrasyonlarının mg/L cinsinden zamana bağlı değişimi gösterilmektedir. Tüm zaman noktalarında her bir numune HPLC ile iki teknik tekrar halinde analiz edilmiş olup, elde edilen konsantrasyon değerleri teknik tekrarların ortalaması ± standart sapma olarak raporlanmıştır (n = 2). İlkbahar numunesinde CIP'in normalize giderim verimi grafiği Şekil 12'de verilmiştir.




**Şekil 11.** İlkbahar numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

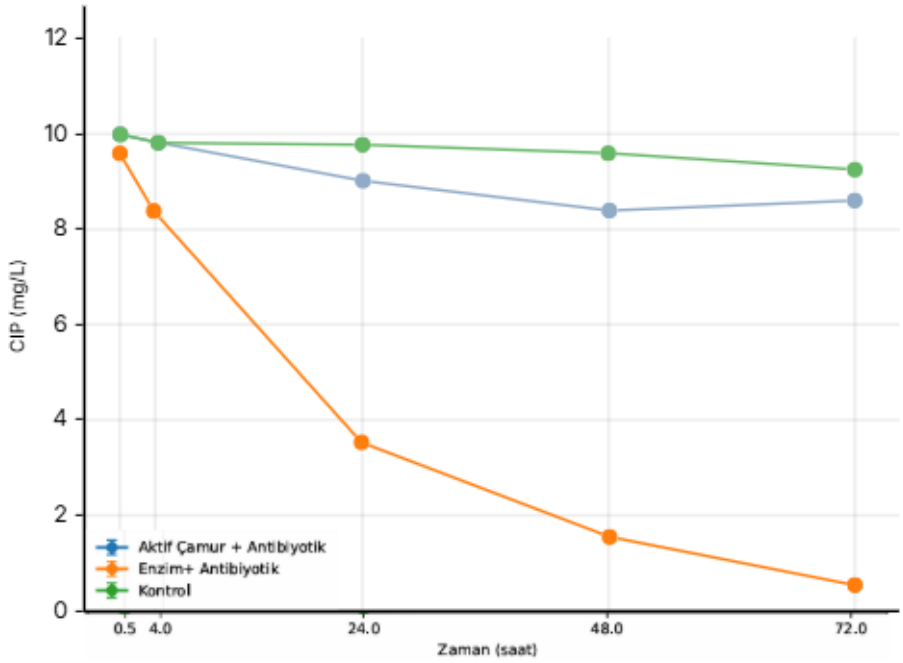



**Şekil 12.** İlkbahar numunesinde CIP'in normalize giderim yüzdesi.

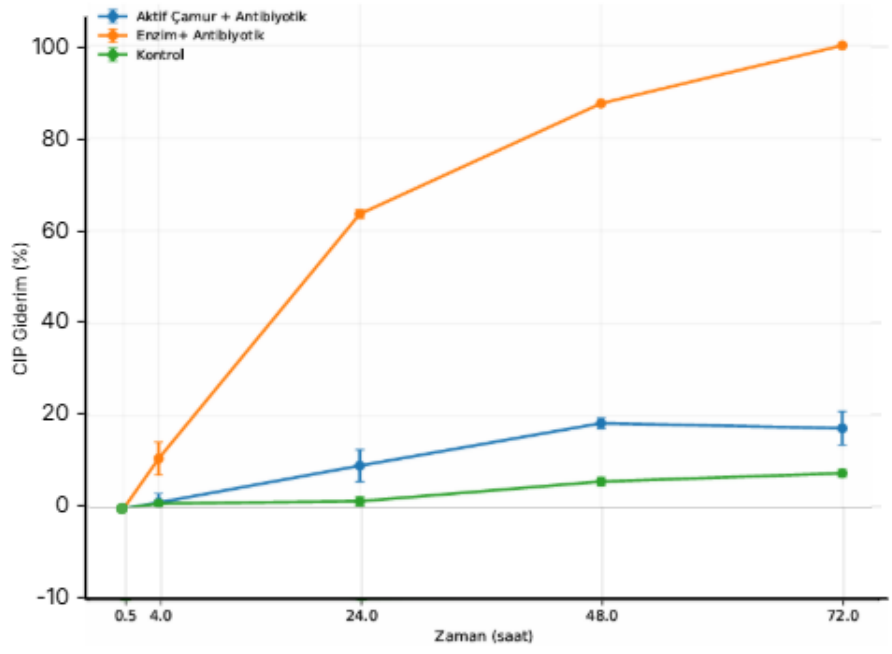
Kontrol grubunda deney süresi boyunca CIP konsantrasyonunda yalnızca sınırlı bir azalma gözlenmiş, bu durum CIP'in HN tamponu ortamında büyük ölçüde kararlı olduğunu ve hidroliz ya da abiyotik bozunmaya karşı dirençli bir yapı sergilediğini göstermiştir. Buna karşılık, enzim + antibiyotik grubunda CIP konsantrasyonu zaman ilerledikçe belirgin bir şekilde azalmış; özellikle 24. saatten sonra düşüş hızının arttığı ve deneyin 72. saatinde CIP konsantrasyonu kromatografik olarak tespit edilemeyecek düzeye düşmüş ve ilgili pik kantitatif olarak hesaplanamamıştır (ND). Çamur + antibiyotik grubunda ise konsantrasyon azalmasının daha kademeli gerçekleştiği, ancak 72. saat sonunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük CIP konsantrasyonlarına ulaşıldığı gözlenmiştir.

Başlangıç CIP konsantrasyonu 10 mg/L olarak belirlenmiştir. İlkbahar numunesinde enzim + antibiyotik grubunda 0,5. saatte anlamlı bir değişim gözlenmezken, 4. saatte CIP konsantrasyonu yaklaşık 8,6 mg/L'ye düşmüş; 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 6,3; 4,2 ve 1,6 mg/L seviyeleri ölçülmüştür. Bu azalma, normalize giderim açısından değerlendirildiğinde sırasıyla %20, %41, %60 ve %85 CIP giderimine karşılık gelmektedir (Şekil 12). Aynı dönemde aktif çamur + antibiyotik grubunda CIP giderimi, 72. saat sonunda yaklaşık %18–19 seviyesinde gerçekleşmiştir.

Kontrol grubunda ise deney süresi boyunca yalnızca sınırlı bir azalma gözlenmiş olup, 72. saat sonunda hesaplanan giderim oranı yaklaşık %8 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, aktif çamur uygulamasının CIP giderimine katkı sağladığını, ancak enzim ilavesi içermeyen koşullarda giderimin sınırlı düzeyde kaldığını göstermektedir.

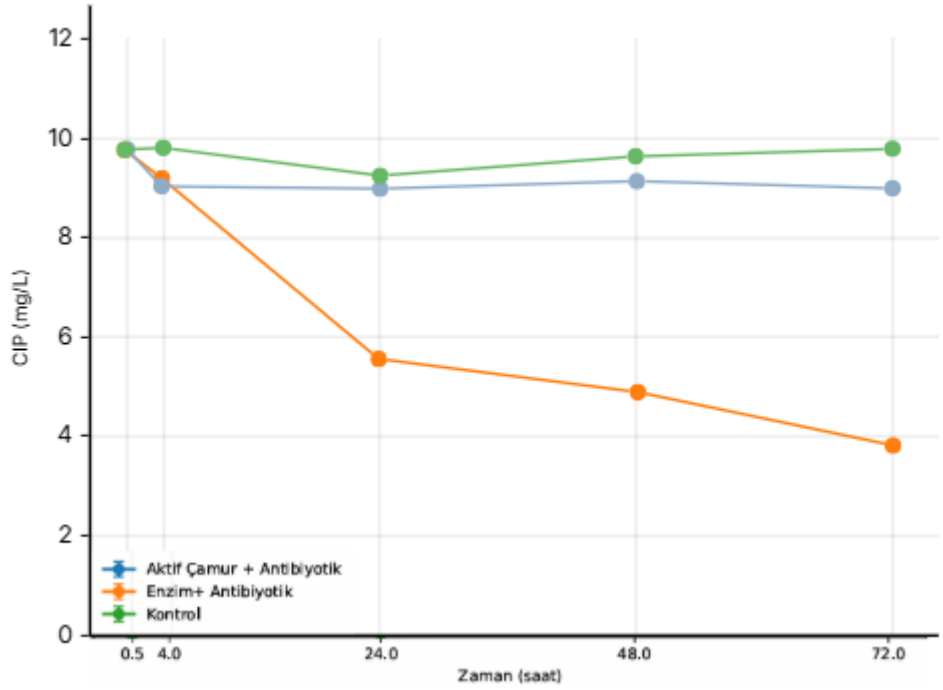



**Şekil 13.** Yaz numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.



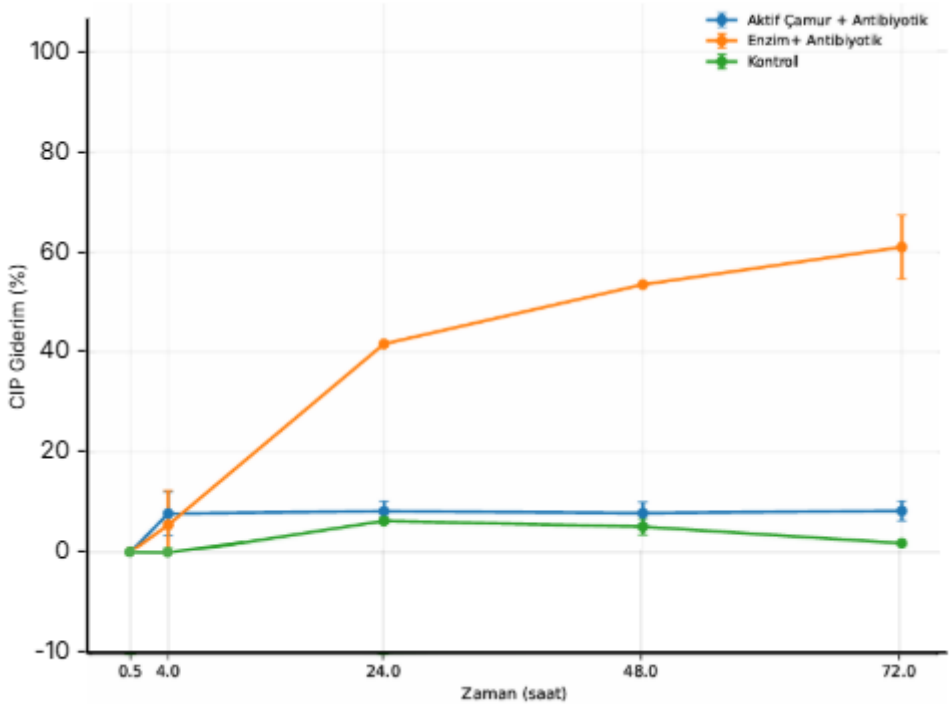

**Şekil 14.** Yaz numunesi CIP normalize giderim yüzdesi.

**Yaz numunesinde**, enzim + antibiyotik uygulaması CIP giderimi açısından en yüksek performansı sergilemiştir. Başlangıçta yaklaşık 10 mg/L olan CIP konsantrasyonu, 4. saatte 8,5 mg/L'ye, 24. saatte 3,5 mg/L'ye, 48. saatte 1,2 mg/L'ye düşmüş ve 72. saatinde CIP konsantrasyonu kromatografik olarak tespit edilemeyecek düzeye düşmüş ve ilgili pik kantitatif olarak hesaplanamamıştır (ND) (Şekil 13). Buna göre, enzim+antibiyotik uygulamasında normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %11, %64, %87 ve %100 olarak hesaplanmıştır (Şekil 14). Aktif çamur + antibiyotik grubunda ise 72. saat sonunda giderim %17–18 düzeyinde kalırken, kontrol grubunda CIP giderimi yalnızca %7–8 seviyesinde gerçekleşmiştir.

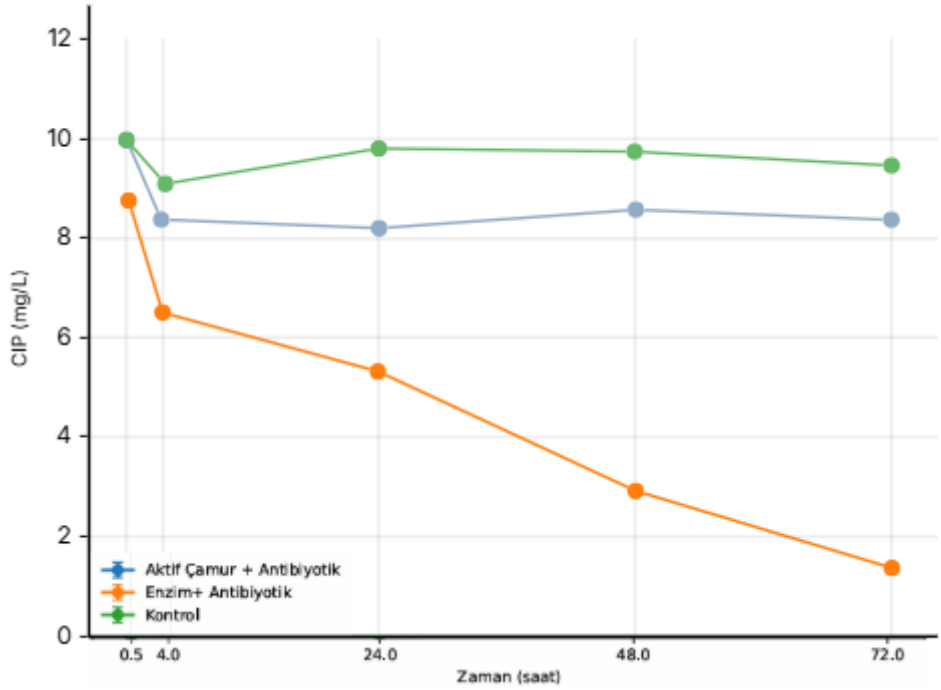



**Şekil 15.** Sonbahar numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

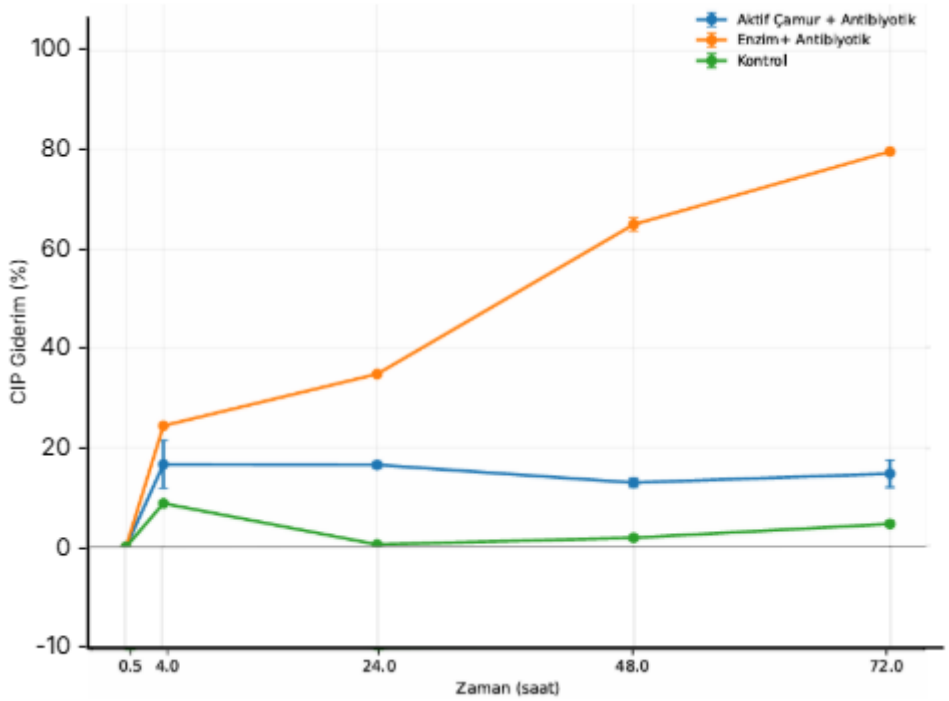
**Sonbahar numunesinde**, enzim + antibiyotik uygulamasında CIP konsantrasyonu 4. saatte 9,4 mg/L, 24. saatte 5,8 mg/L, 48. saatte 4,6 mg/L ve 72. saatte 3,9 mg/L olarak ölçülmüştür (Şekil 15). Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %6, %41, %53 ve %61 giderime karşılık gelmekte olup, CIP gideriminin yaz ve ilkbahar dönemlerine kıyasla daha sınırlı ancak kontrol ve aktif çamur gruplarına göre belirgin şekilde yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 16).




**Şekil 16.** Sonbahar numunesinde CIP normalize giderim yüzdesi.

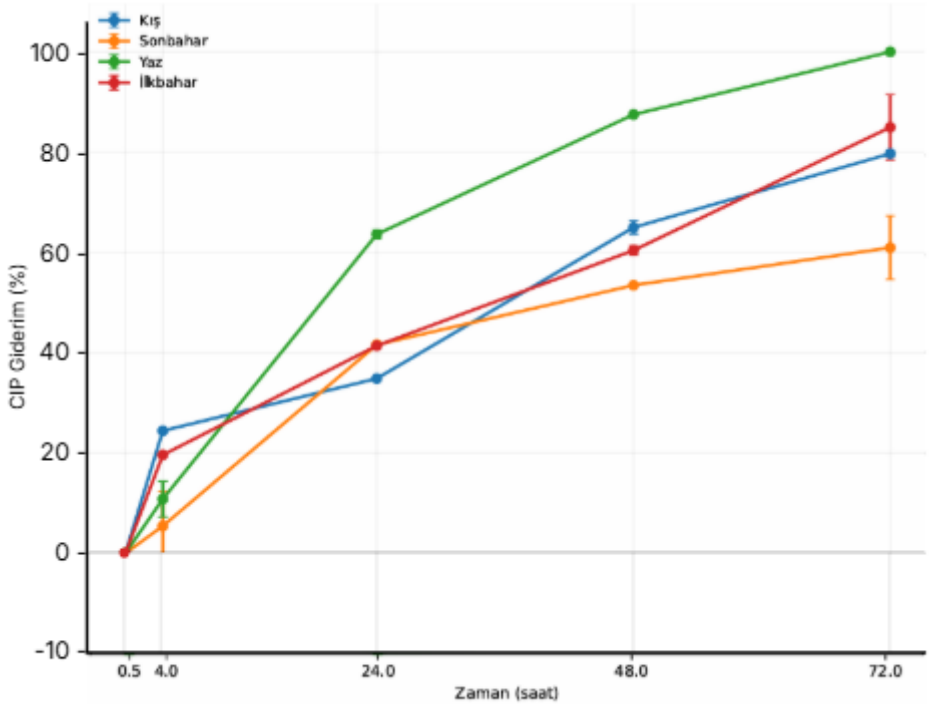



**Şekil 17.** Kış numunesinde CIP konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.




**Şekil 18.** Kış numunesi CIP normalize giderim yüzdesi.

**Kış numunesinde** ise enzim + antibiyotik uygulamasında CIP konsantrasyonu 4. saatte 6,4 mg/L, 24. saatte 5,5 mg/L, 48. saatte 3,0 mg/L ve 72. saatte 1,7 mg/L olarak belirlenmiştir (Şekil 17). Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %24, %35, %65 ve %79 olarak hesaplanmış; düşük sıcaklık koşullarına rağmen enzimatik sistemin CIP gideriminde etkinliğini sürdürdüğü, ancak maksimum giderim veriminin yaz mevsimine kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 18).



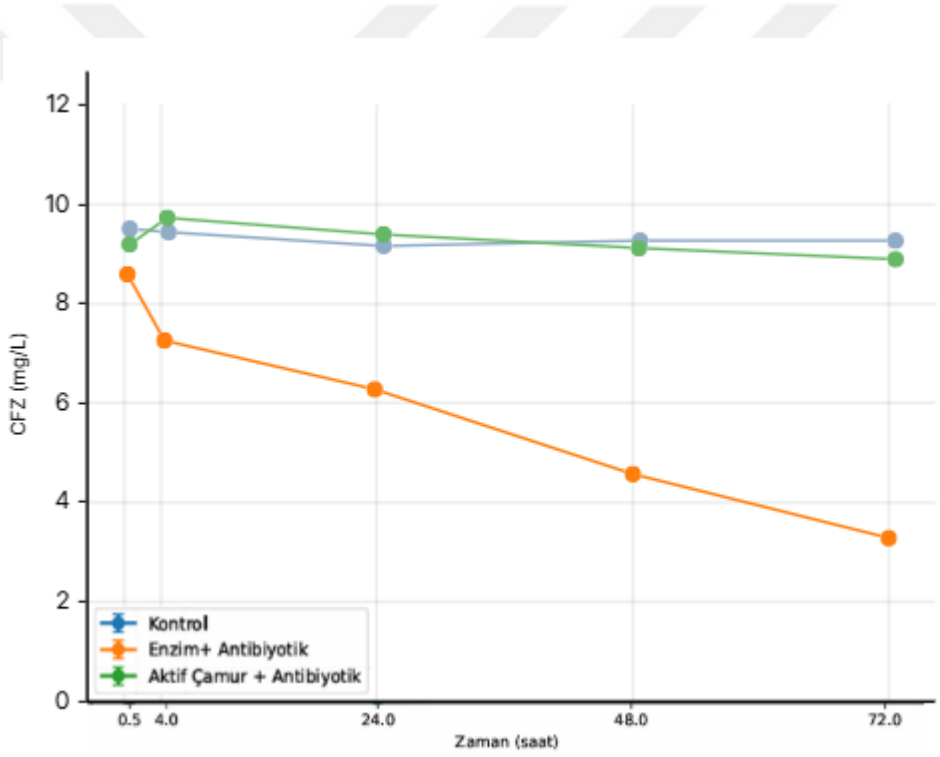

**Şekil 19.** İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CIP normalize giderim yüzdesi.

CIP enzim + antibiyotik uygulaması altında farklı mevsimlerde elde edilen giderim yüzdelerinin karşılaştırmalı değişimi Şekil 19'da sunulmuştur. Ortak grafik incelendiğinde, CIP giderim performansının mevsimlere bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterdiği görülmektedir. En yüksek giderim verimi yaz mevsiminde elde edilmiştir. Yaz döneminde başlangıç konsantrasyonuna kıyasla CIP konsantrasyonu deney sonunda yaklaşık 0,0 mg/L seviyesine kadar düşmüş ve buna karşılık %100 giderim sağlanmıştır. Bu değer, tüm mevsimlerde alınan numuneler arasında kaydedilen en yüksek giderim performansını temsil etmektedir. İlkbahar numunesinde CIP konsantrasyonu deney sonunda 0,15 mg/L seviyesine gerilemiş olup, buna karşılık %85 giderim elde edilmiştir. İlkbahar verimleri, yaz numunesine kıyasla daha düşük olmakla birlikte, yüksek giderim seviyeleriyle öne çıkmaktadır. Kış numunesinde CIP giderimi ilkbahara benzer bir profil sergilemiş; deney sonunda CIP konsantrasyonu 0,20 mg/L olarak ölçülmüş ve %80 giderim sağlanmıştır. Bu değerler, kış numunesinin orta-yüksek düzeyde bir giderim performansına sahip olduğunu göstermektedir. Sonbahar numunesi ise CIP gideriminin en düşük olduğu dönem olarak belirlenmiştir. Deney sonunda CIP konsantrasyonu 0,40 mg/L seviyesinde kalmış ve buna karşılık %60 giderim elde edilmiştir.

Bu sonuç, sonbahar numunesinde CIP giderim veriminin diğer mevsimlerde alınan numunelere kıyasla belirgin şekilde daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak, CIP giderim verimi mevsimsel olarak **Yaz > İlkbahar > Kış > Sonbahar** sıralamasını göstermektedir.

## 4.3. CFZ'NİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI

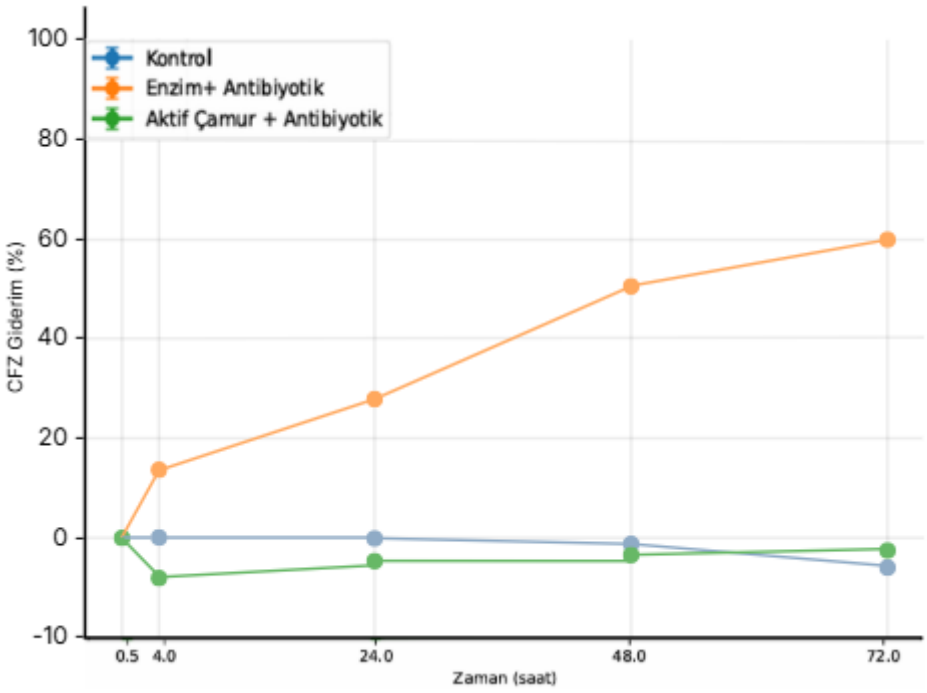
CFZ'nin farklı mevsimler altında zamana bağlı konsantrasyon değişimleri ile normalize edilmiş giderim yüzdeleri aşağıda sunulmuştur. Deneysel çalışmalar, kontrol (HN tamponu + CFZ), enzim + antibiyotik ve aktif çamur + antibiyotik grupları için 0,5; 4; 24; 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir.




**Şekil 20.** İlkbahar numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

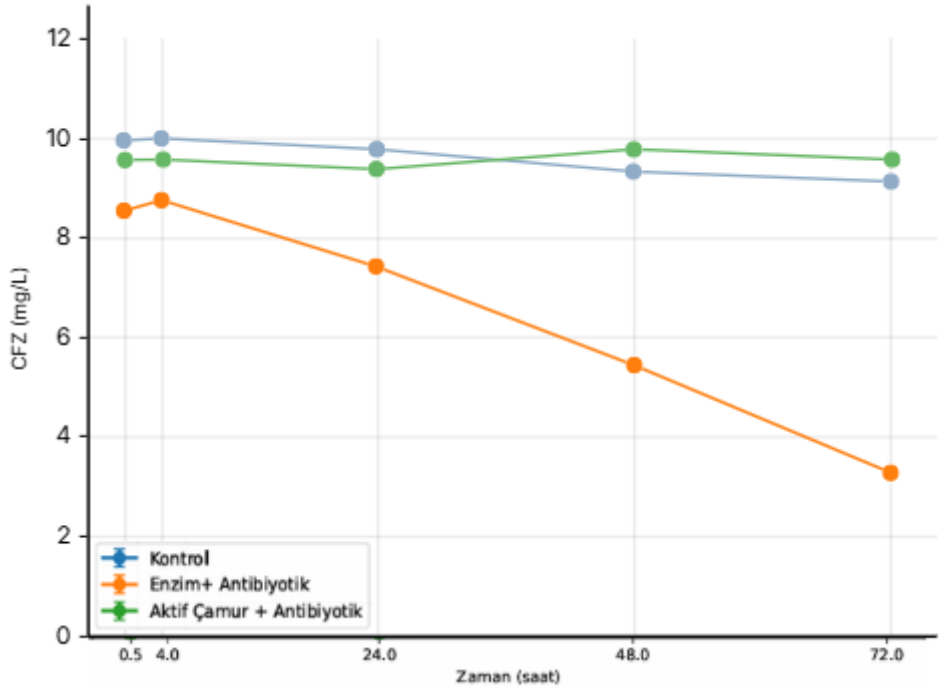
**İlkbahar numunesinde**, kontrol uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte yaklaşık 9,3 mg/L, 24. saatte 9,2 mg/L, 48. saatte 9,4 mg/L ve 72. saatte 9,6 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %0, %1, -%1 ve -%4 giderime karşılık gelmektedir. Aynı dönemde enzim + antibiyotik uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 7,2 mg/L, 24. saatte 6,2 mg/L, 48. saatte 4,2 mg/L ve 72. saatte 3,4 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %14, %26, %50 ve %59 giderim elde edilmiştir.

Aktif çamur + antibiyotik grubunda ise CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,5 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 9,3 mg/L ve 72. saatte 9,3 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla -%4, -%2, -%2 ve -%2 olarak hesaplanmıştır (Şekil 20 ve Şekil 21).

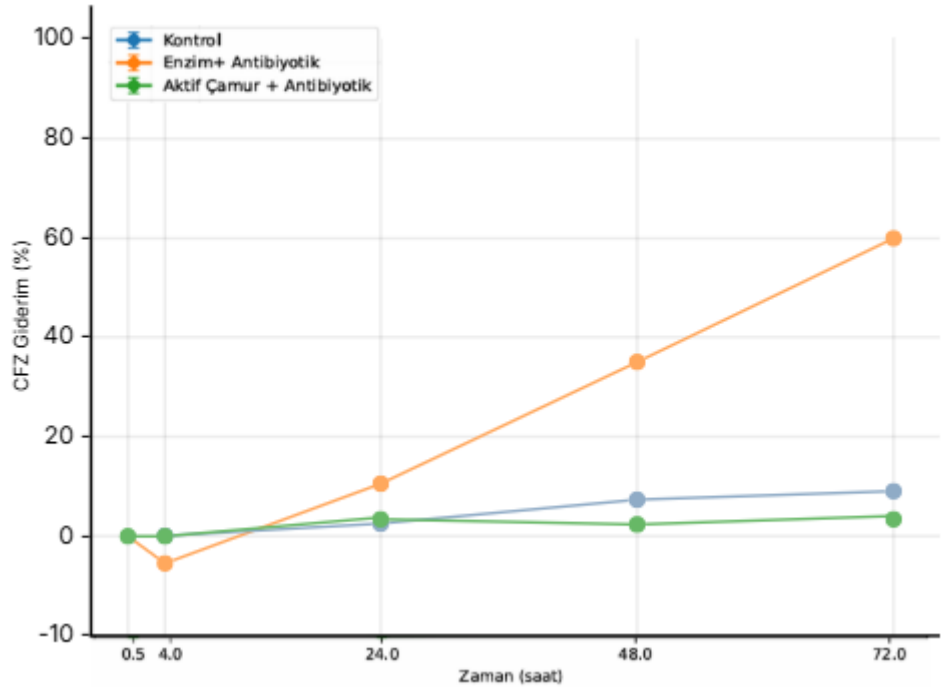



**Şekil 21.** İlkbahar numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi.

**Yaz numunesinde**, kontrol uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 10,0 mg/L, 24. saatte 9,6 mg/L, 48. saatte 9,2 mg/L ve 72. saatte 9,1 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %0, %4, %8 ve %9 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 8,7 mg/L, 24. saatte 7,6 mg/L, 48. saatte 5,4 mg/L ve 72. saatte 3,4 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla -%3, %9, %35 ve %60 giderim değerleri elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,7 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 9,5 mg/L ve 72. saatte 9,4 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %0, %4, %2 ve %3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 22 ve Şekil 23).



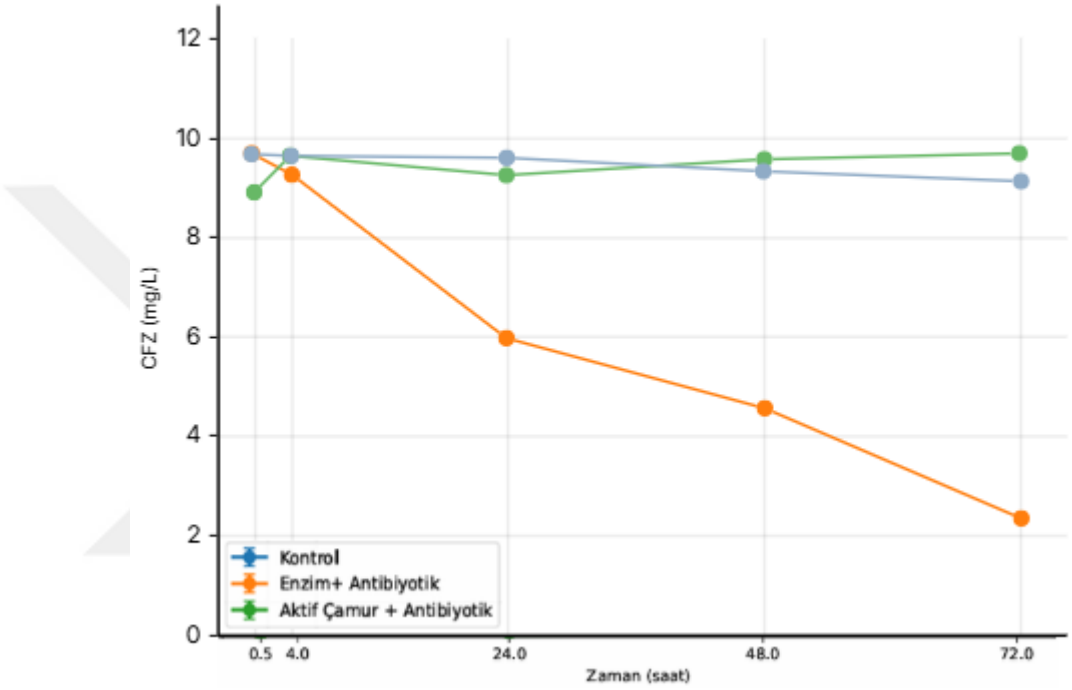

**Şekil 22.** Yaz numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.



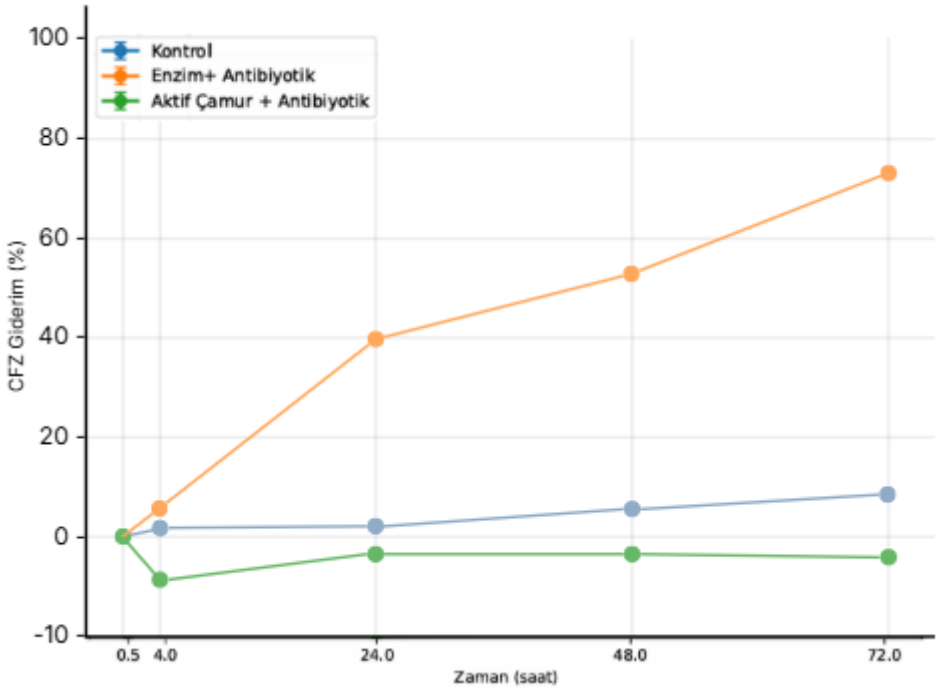

**Şekil 23.** Yaz numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi.

**Sonbahar numunesinde** kontrol uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,6 mg/L, 24. saatte 9,5 mg/L, 48. saatte 9,2 mg/L ve 72. saatte 8,9 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %1, %2, %5 ve %8 giderime karşılık gelmektedir.

Enzim + antibiyotik uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,2 mg/L, 24. saatte 6,0 mg/L, 48. saatte 4,5 mg/L ve 72. saatte 2,4 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %6, %38, %54 ve %75 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,4 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 9,4 mg/L ve 72. saatte 9,4 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla -%4, -%2, -%2 ve -%2 olarak hesaplanmıştır (Şekil 24 ve Şekil 25).

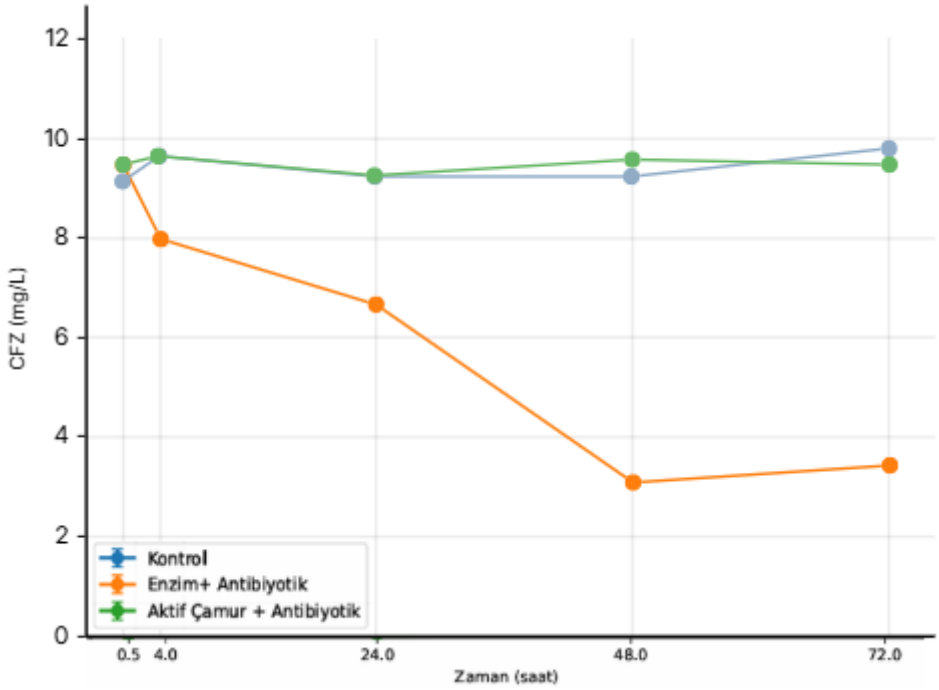



**Şekil 24.** Sonbahar numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

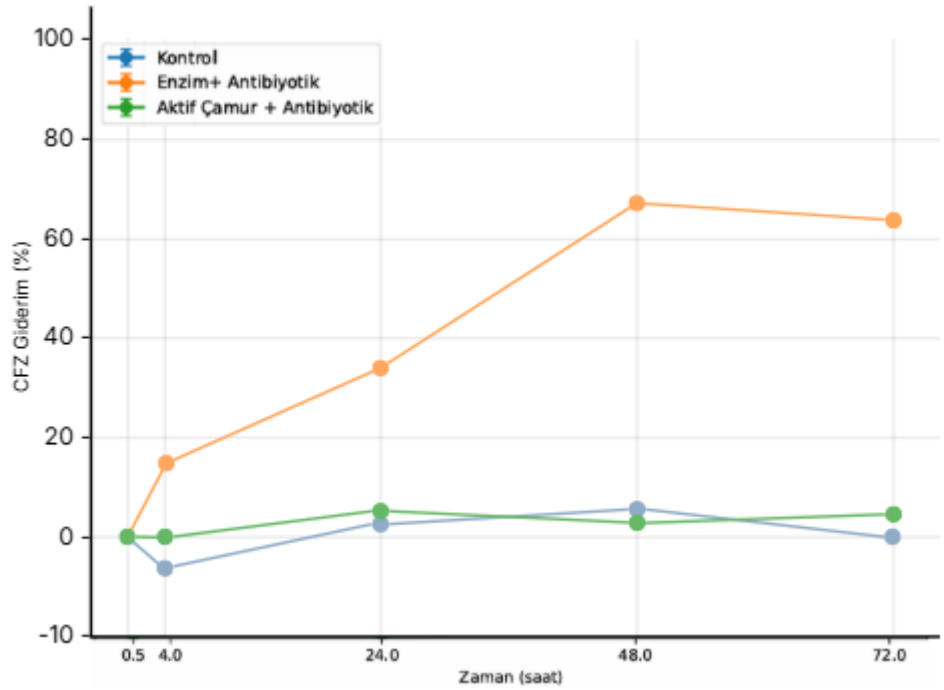



**Şekil 25.** Sonbahar numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi.

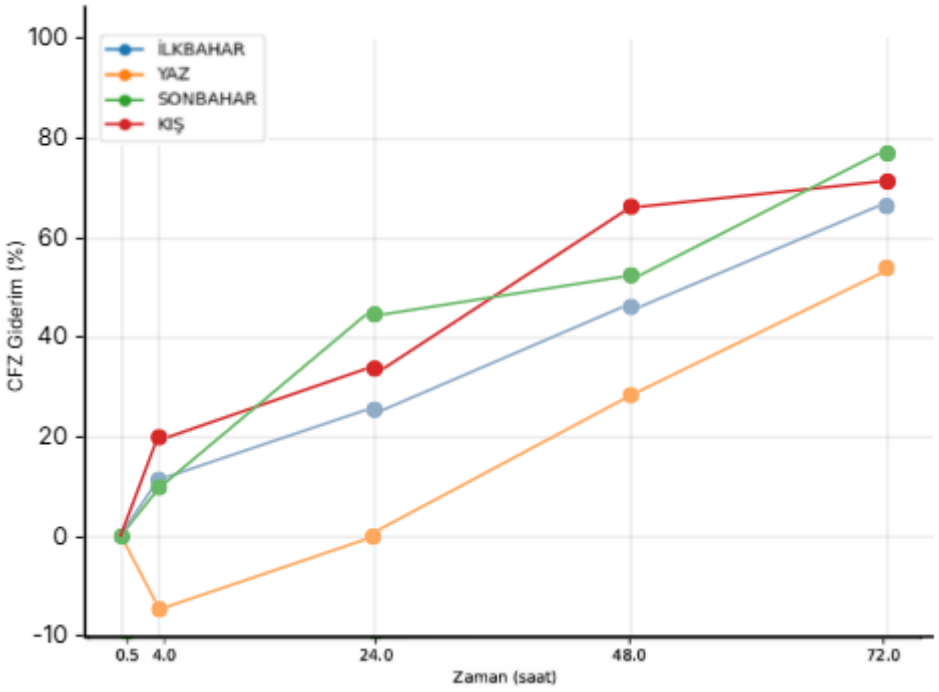
**Kış numunesinde**, kontrol uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,7 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 9,3 mg/L ve 72. saatte 9,6 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla -%2, %3, %4 ve %0 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında CFZ konsantrasyonu 4. saatte 8,1 mg/L, 24. saatte 6,4 mg/L, 48. saatte 3,2 mg/L ve 72. saatte 3,4 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla %17, %34, %67 ve %64 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CFZ konsantrasyonu 4. saatte 9,6 mg/L, 24. saatte 9,4 mg/L, 48. saatte 9,5 mg/L ve 72. saatte 9,4 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %0, %4, %2 ve %3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 26 ve Şekil 27).




**Şekil 26.** Kış numunesinde CFZ konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.




**Şekil 27.** Kış numunesinde CFZ normalize giderim yüzdesi.



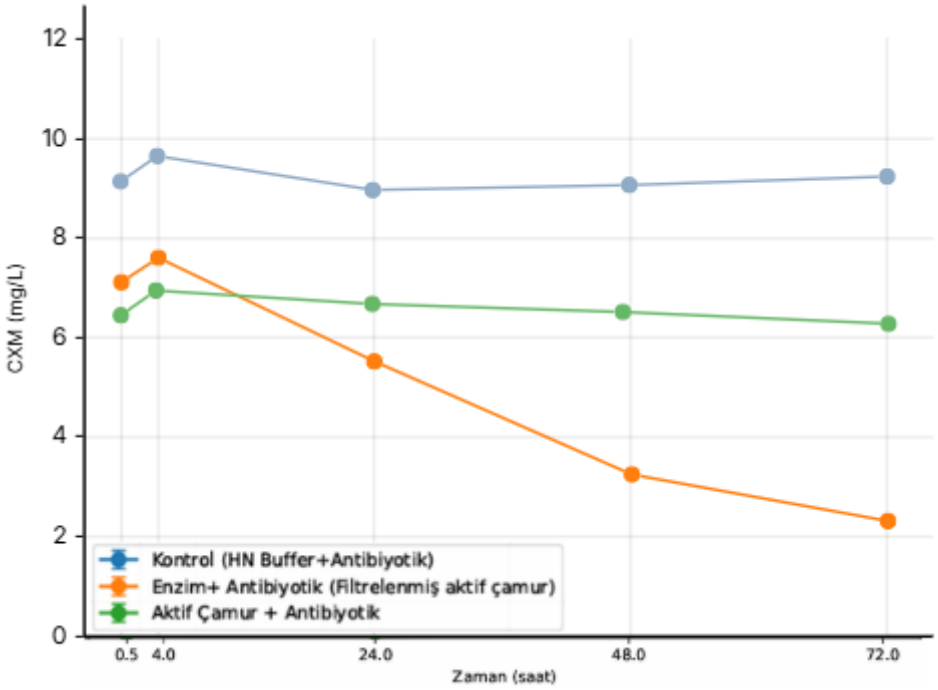

**Şekil 28.** İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CFZ normalize giderim yüzdesi.

CFZ enzim + antibiyotik uygulaması altında farklı mevsimlerde elde edilen giderim yüzdelerinin karşılaştırmalı değişimi Şekil 28'de sunulmuştur. Ortak grafik değerlendirildiğinde, CFZ giderim performansının mevsimlere bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterdiği görülmektedir. En yüksek giderim verimi sonbahar numunesinde elde edilmiştir. Sonbahar numunesinde deney sonunda CFZ konsantrasyonu 0,22 mg/L seviyesine kadar düşmüş ve buna karşılık %78 giderim sağlanmıştır. Bu değer, tüm mevsimlerde alınan numuneler arasında elde edilen en yüksek CFZ giderim verimini temsil etmektedir. Kış numunesinde CFZ giderimi sonbahara yakın bir performans sergilemiş; deney sonunda CFZ konsantrasyonu 0,30 mg/L olarak ölçülmüş ve %68 giderim elde edilmiştir. İlkbahar numunesinde deney sonunda CFZ konsantrasyonu 0,35 mg/L seviyesine gerilemiş olup, buna karşılık %63 giderim sağlanmıştır. İlkbahar verimleri, kış ve sonbahar numunelerine kıyasla daha düşük olmakla birlikte, orta düzey bir giderim performansı göstermiştir. Yaz numunesi ise CFZ gideriminin en düşük olduğu dönem olarak belirlenmiştir. Deney sonunda CFZ konsantrasyonu 0,45 mg/L seviyesinde kalmış ve buna karşılık %55 giderim elde edilmiştir. Bu sonuç, yaz numunesinde CFZ giderim veriminin diğer mevsimlerde alınan numunelere kıyasla daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak, CFZ giderim verimi mevsimsel olarak **Sonbahar > Kış > İlkbahar > Yaz** sıralamasını göstermektedir.

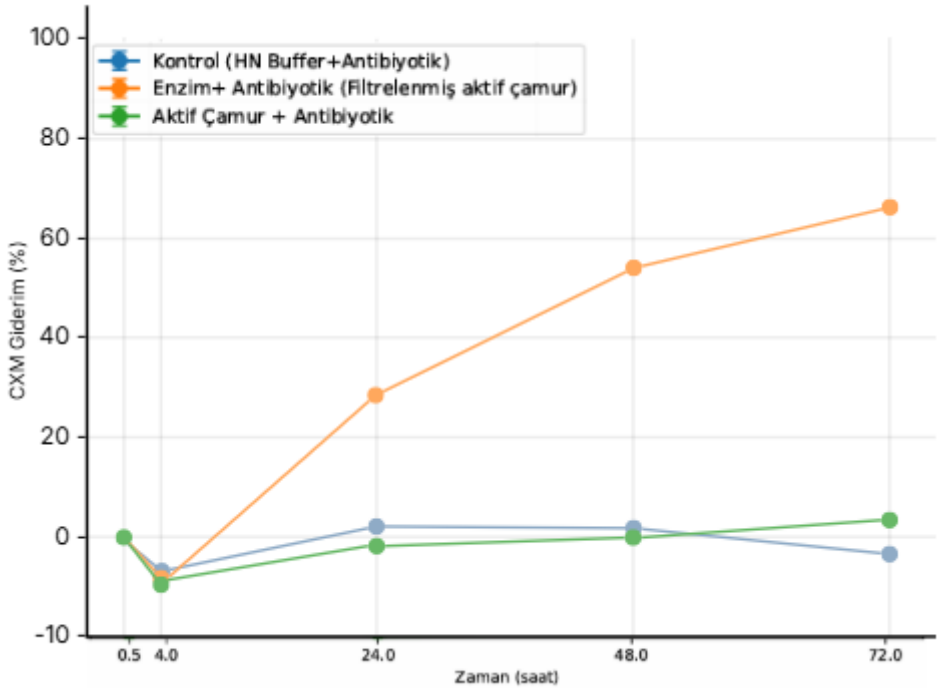
### 4.3.3. CXM'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI

CXM'in farklı mevsim koşulları altında zamana bağlı konsantrasyon değişimleri ve normalize giderim yüzdeleri aşağıda yer almaktadır. Deneyler; kontrol (HN tamponu + CXM), enzim + antibiyotik ve aktif çamur + antibiyotik uygulamaları için 0,5; 4; 24; 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir.

**İlkbahar numunesinde,** kontrol uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte yaklaşık 9,6 mg/L, 24. saatte 9,1 mg/L, 48. saatte 9,1 mg/L ve 72. saatte 9,4 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla -%4, %2, %2 ve -%1 giderime karşılık gelmektedir. Aynı dönemde enzim + antibiyotik uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 7,4 mg/L, 24. saatte 5,2 mg/L, 48. saatte 3,2 mg/L ve 72. saatte 2,2 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla -%5, %25, %54 ve %68 giderim değerleri elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CXM konsantrasyonu 4. saatte 6,7 mg/L, 24. saatte 6,4 mg/L, 48. saatte 6,4 mg/L ve 72. saatte 6,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla -%5, -%1, %0 ve %3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 29 ve Şekil 30).

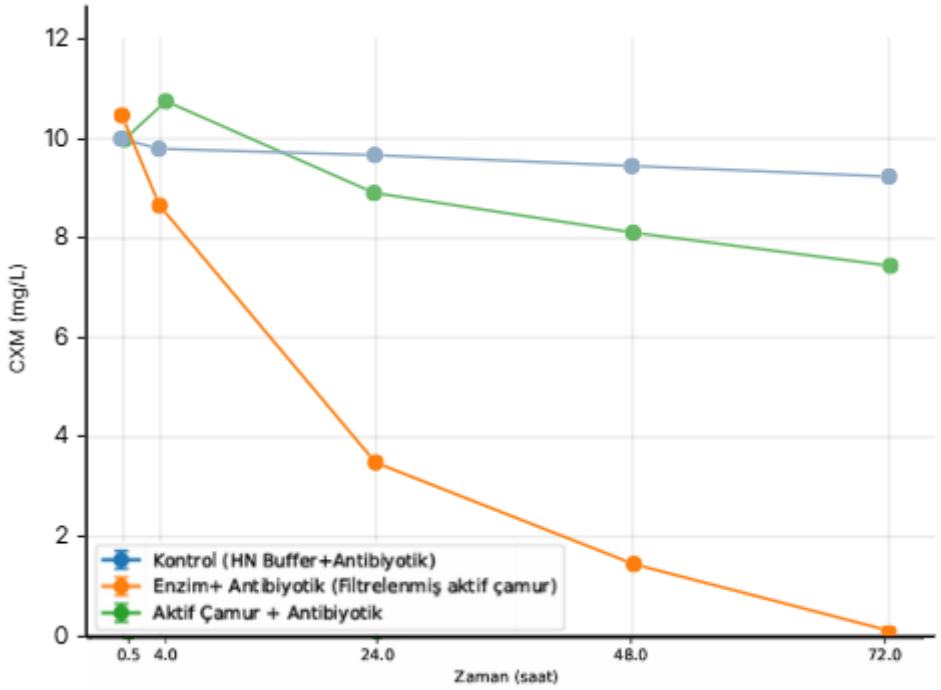



**Şekil 29.** İlkbahar numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

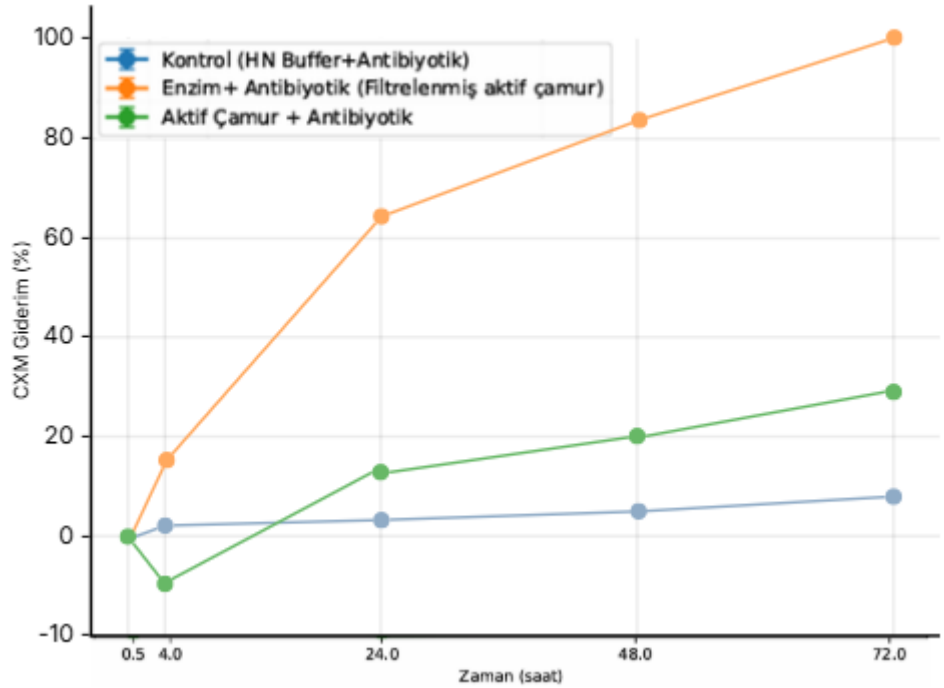



**Şekil 30.** İlkbahar numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi.

**Yaz numunesinde,** kontrol uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 9,9 mg/L, 24. saatte 9,7 mg/L, 48. saatte 9,5 mg/L ve 72. saatte 9,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %2, %4, %6 ve %9 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 8,6 mg/L, 24. saatte 3,6 mg/L, 48. saatte 1,2 mg/L ve 72. saatte 0,0 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %17, %65, %88 ve %100 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CXM konsantrasyonu 4. saatte 10,5 mg/L, 24. saatte 8,9 mg/L, 48. saatte 8,1 mg/L ve 72. saatte 7,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla -%4, %12, %19 ve %28 olarak hesaplanmıştır (Şekil 31 ve Şekil 32).

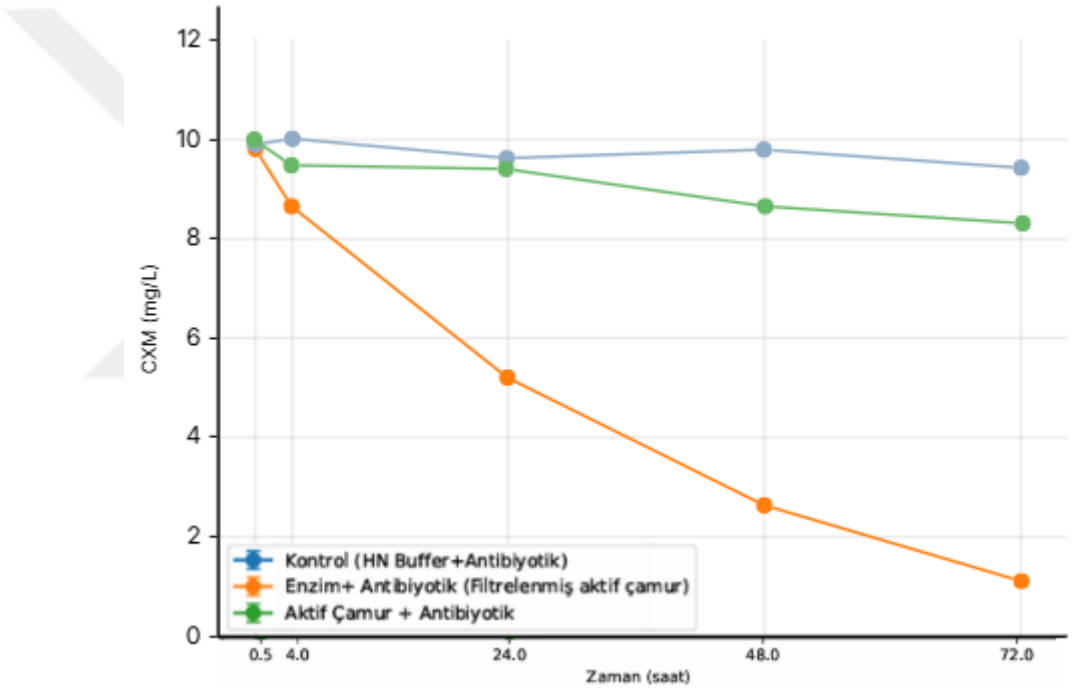



**Şekil 31.** Yaz numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

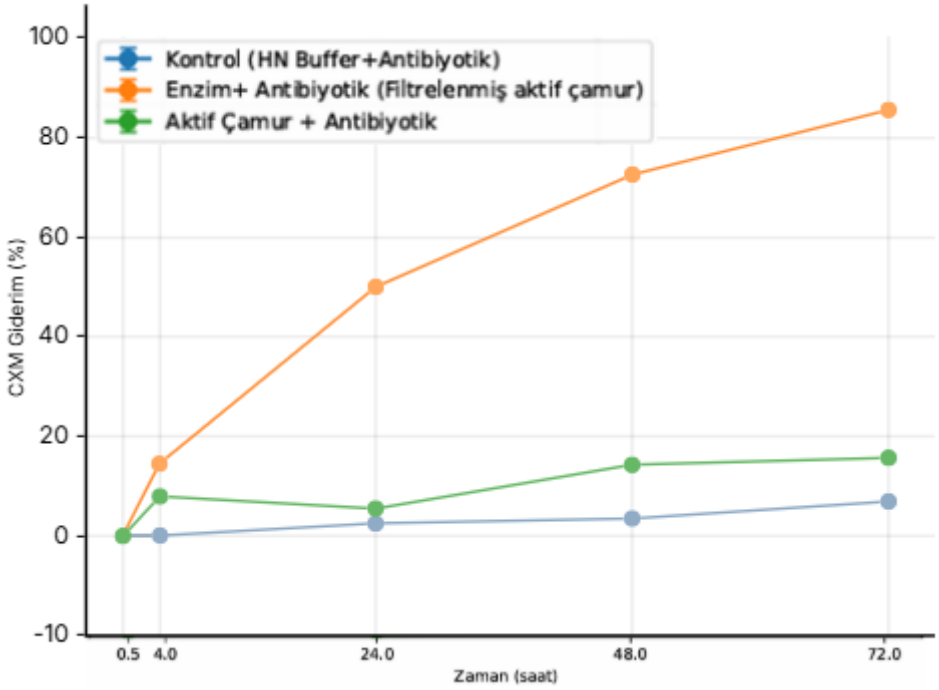



**Şekil 32.** Yaz numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi.

**Sonbahar numunesinde,** kontrol uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 10,0 mg/L, 24. saatte 9,7 mg/L, 48. saatte 9,6 mg/L ve 72. saatte 9,3 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla -%1, %2, %3 ve %6 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 8,7 mg/L, 24. saatte 4,9 mg/L, 48. saatte 2,5 mg/L ve 72. saatte 1,4 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla %11, %50, %74 ve %85 giderim değerleri elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CXM konsantrasyonu 4. saatte 9,6 mg/L, 24. saatte 9,5 mg/L, 48. saatte 8,6 mg/L ve 72. saatte 8,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %4, %4, %14 ve %18 olarak hesaplanmıştır (Şekil 33 ve Şekil 34).

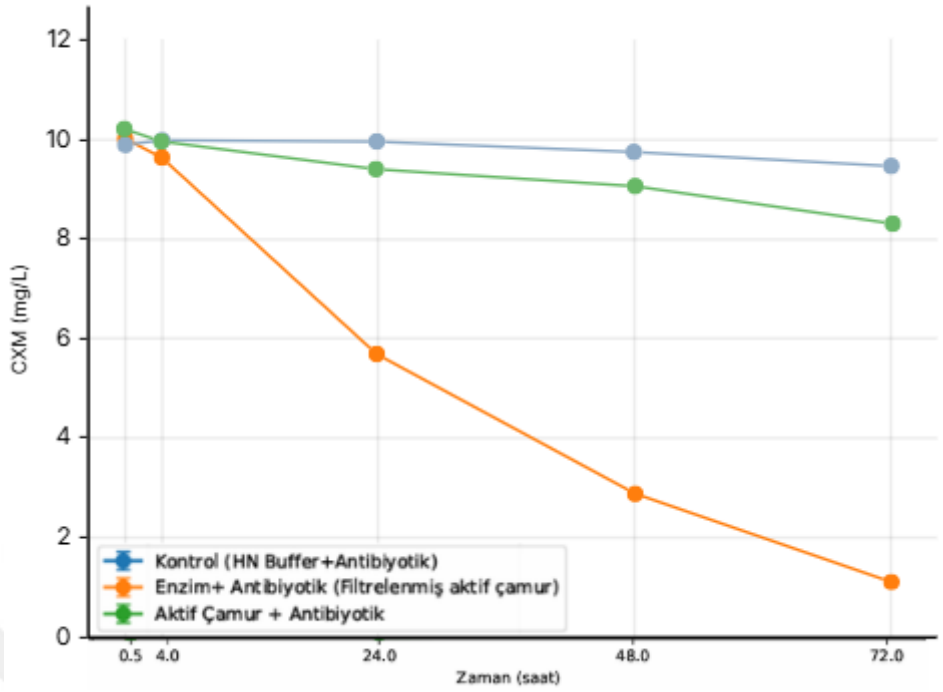



**Şekil 33.** Sonbahar numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

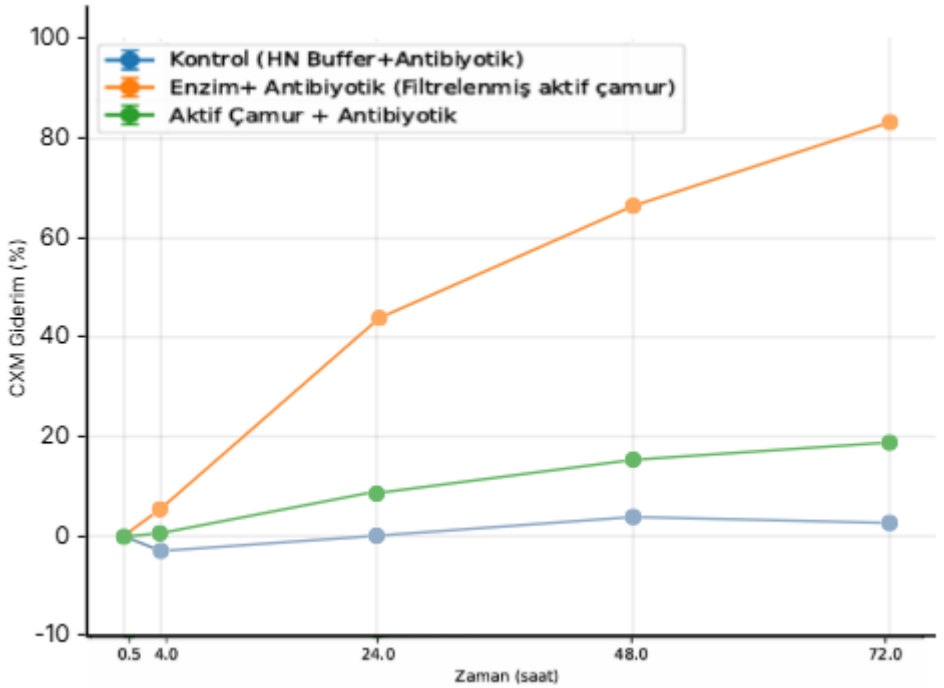



**Şekil 34.** Sonbahar numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi.

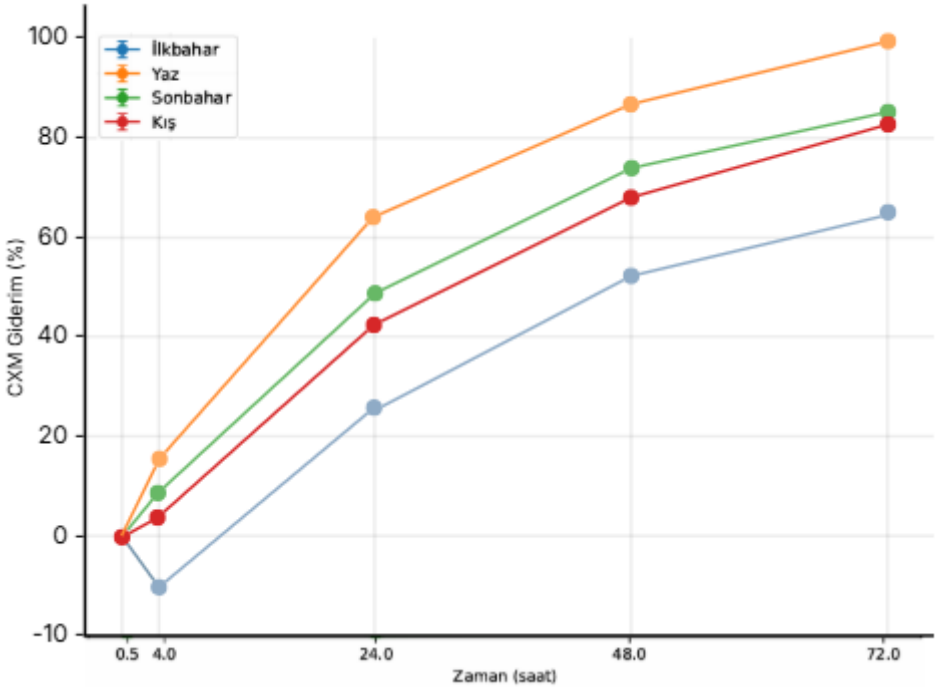
**Kış numunesinde,** kontrol uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 10,0 mg/L, 24. saatte 9,9 mg/L, 48. saatte 9,7 mg/L ve 72. saatte 9,6 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla -%2, -%1, %2 ve %3 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında CXM konsantrasyonu 4. saatte 9,6 mg/L, 24. saatte 5,8 mg/L, 48. saatte 3,0 mg/L ve 72. saatte 1,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %5, %42, %70 ve %83 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise CXM konsantrasyonu 4. saatte 10,1 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 8,9 mg/L ve 72. saatte 8,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %1, %8, %12 ve %19 olarak hesaplanmıştır (Şekil 35 ve Şekil 36).




**Şekil 35.** Kış numunesinde CXM konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.




**Şekil 36.** Kış numunesinde CXM normalize giderim yüzdesi.

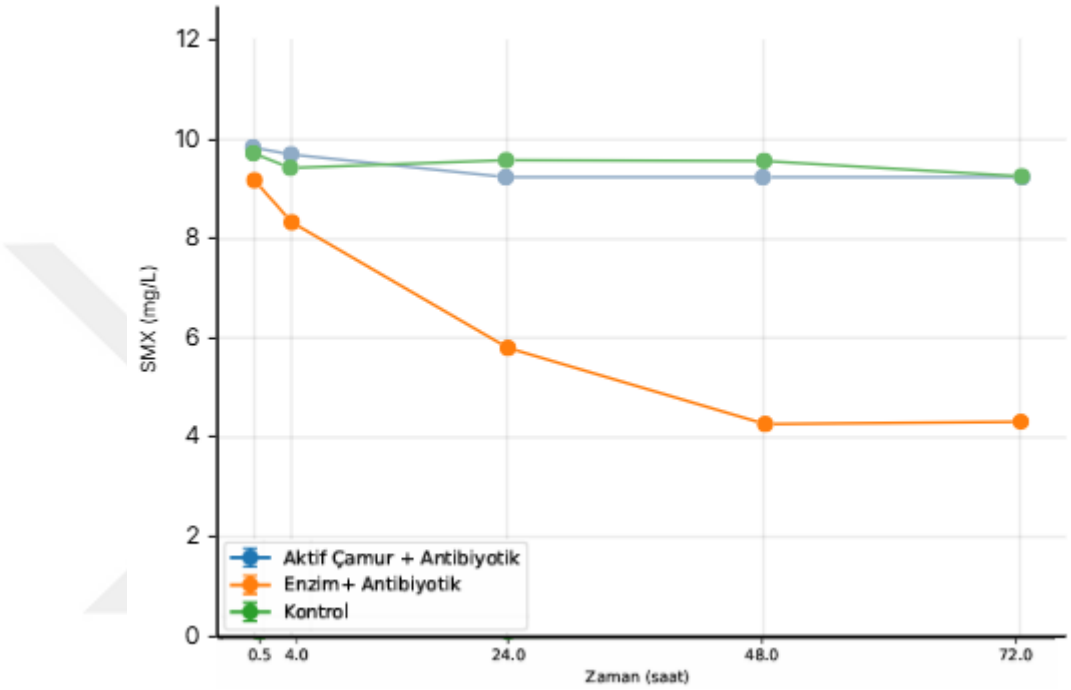



**Şekil 37.** İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde CXM normalize giderim yüzdesi.

CXM'nin enzim + antibiyotik uygulaması altında farklı mevsimlerde elde edilen giderim yüzdelerinin karşılaştırmalı değişimi Şekil 37'de sunulmuştur. Ortak grafik değerlendirildiğinde, CXM giderim performansının mevsimlere bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterdiği görülmektedir. En yüksek giderim verimi yaz numunesinde elde edilmiştir. Yaz döneminde deney sonunda CXM konsantrasyonu 0,0 mg/L seviyesine kadar düşmüş ve buna karşılık %100 giderim sağlanmıştır. Bu değer, tüm mevsimlerde alınan numuneler arasında elde edilen en yüksek CXM giderim performansını temsil etmektedir. Sonbahar döneminde CXM giderimi yaz dönemine yakın bir profil sergilemiş; deney sonunda CXM konsantrasyonu 0,15 mg/L seviyesine gerilemiş ve %86 giderim elde edilmiştir. Kış numunesinde deney sonunda CXM konsantrasyonu 0,18 mg/L olarak ölçülmüş ve buna karşılık %84 giderim sağlanmıştır. Kış ve sonbahar mevsimlerinde alınan numunelerde benzer giderim düzeyleri göstermiştir. İlkbahar numunesinde ise CXM gideriminin en düşük olduğu dönem olarak belirlenmiştir. Deney sonunda CXM konsantrasyonu 0,33 mg/L seviyesinde kalmış ve buna karşılık %68 giderim elde edilmiştir. Genel olarak, CXM giderim verimi mevsimsel olarak **Yaz > Sonbahar ≈ Kış > İlkbahar** sıralamasını göstermektedir.

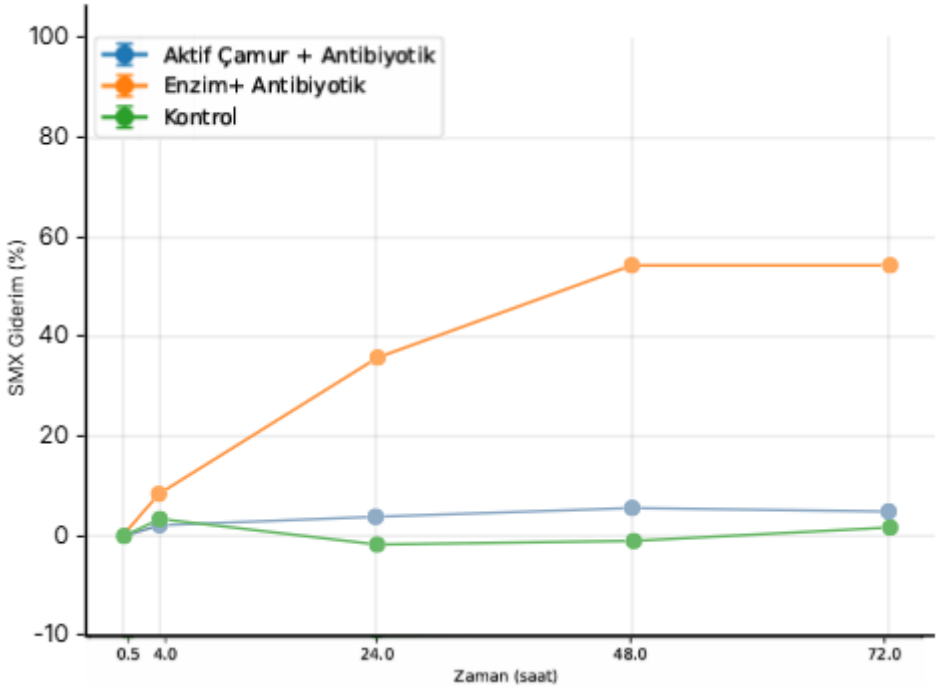
### 4.3.4. SMX'İN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ BULGULARI

SMX'in farklı mevsim koşulları altında zamana bağlı konsantrasyon değişimleri ve normalize giderim yüzdeleri aşağıda yer almaktadır. Deneyler; kontrol (HN tamponu + SMX), enzim + antibiyotik ve aktif çamur + antibiyotik uygulamaları için 0,5; 4; 24; 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir.



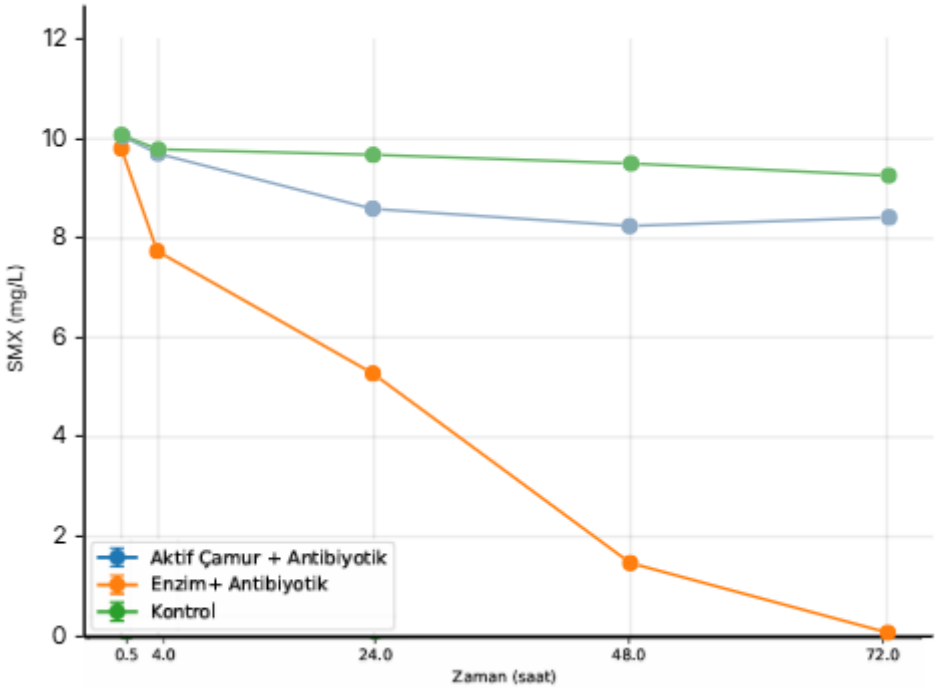

**Şekil 38.** İlkbahar numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

**İlkbahar numunesinde,** kontrol uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,2 mg/L, 24. saatte 9,5 mg/L, 48. saatte 9,5 mg/L ve 72. saatte 9,3 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %1, -%1, -%1 ve %1 giderime karşılık gelmektedir. Aynı dönemde enzim + antibiyotik uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 8,3 mg/L, 24. saatte 5,8 mg/L, 48. saatte 4,2 mg/L ve 72. saatte 4,2 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla %9, %36, %54 ve %54 giderim değerleri elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,4 mg/L, 24. saatte 9,3 mg/L, 48. saatte 9,2 mg/L ve 72. saatte 9,3 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %1, %3, %4 ve %3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 38 ve Şekil 39).

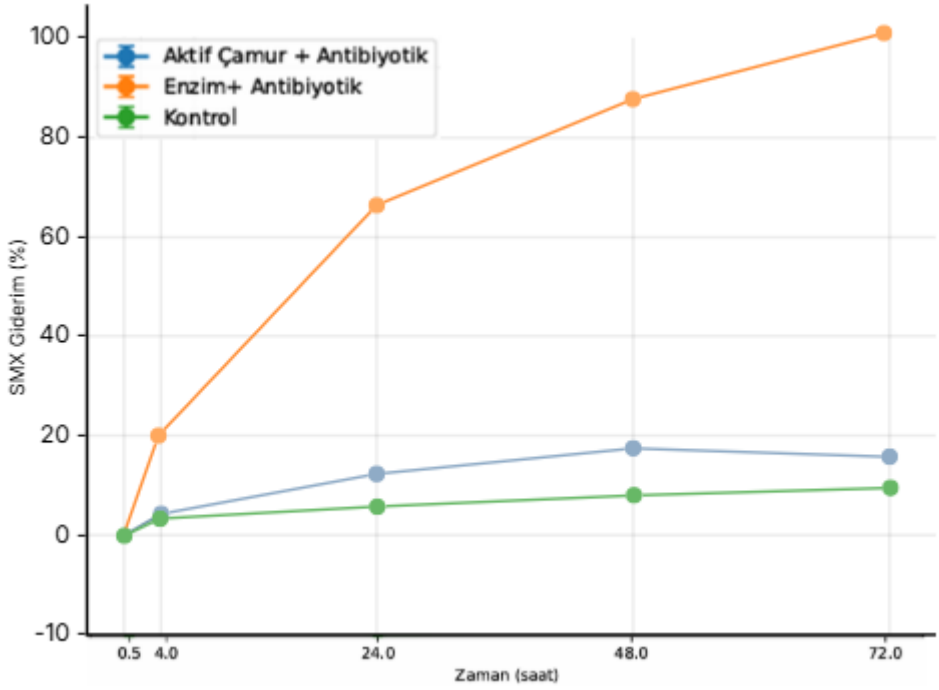



**Şekil 39.** İlkbahar numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi.

**Yaz numunesinde**, kontrol uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,9 mg/L, 24. saatte 9,7 mg/L, 48. saatte 9,4 mg/L ve 72. saatte 9,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %2, %3, %6 ve %8 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 7,9 mg/L, 24. saatte 3,4 mg/L, 48. saatte 1,2 mg/L ve 72. saatte 0,0 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %20, %65, %88 ve %100 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,8 mg/L, 24. saatte 8,8 mg/L, 48. saatte 8,3 mg/L ve 72. saatte 8,4 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %3, %12, %18 ve %17 olarak hesaplanmıştır (Şekil 40 ve Şekil 41).

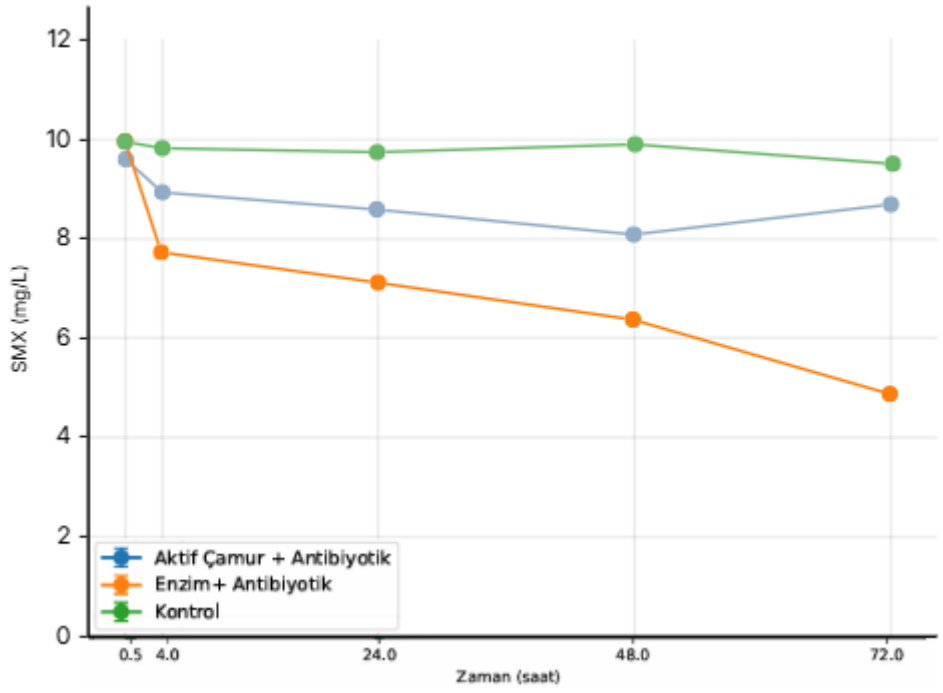



**Şekil 40.** Yaz numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.

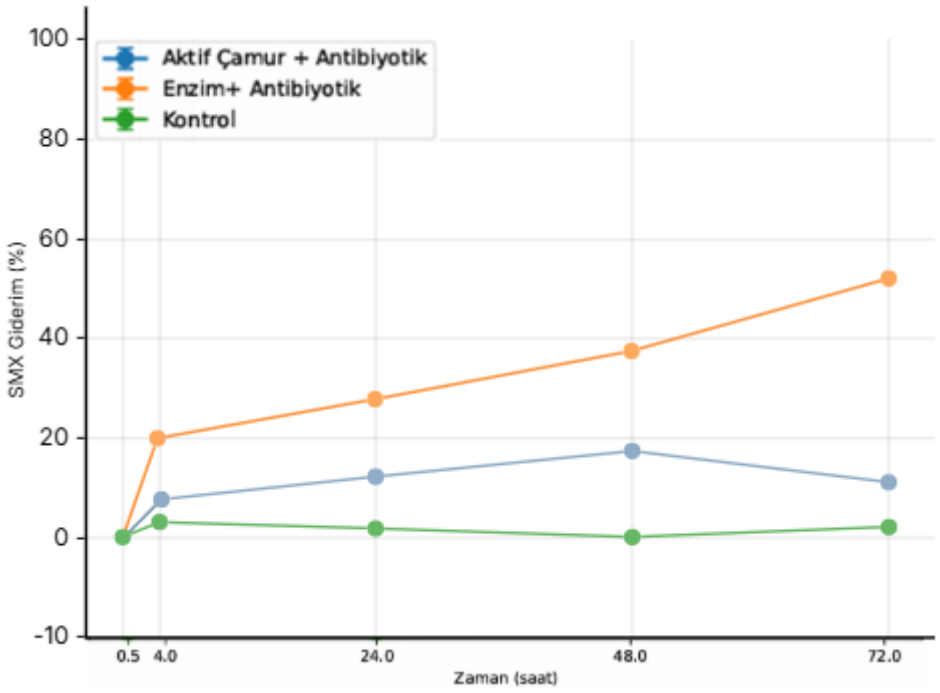



**Şekil 41.** Yaz numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi.

**Sonbahar numunesinde** kontrol uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,7 mg/L, 24. saatte 9,7 mg/L, 48. saatte 9,9 mg/L ve 72. saatte 9,8 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %2, %2, %0 ve %1 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 7,9 mg/L, 24. saatte 7,1 mg/L, 48. saatte 6,1 mg/L ve 72. saatte 4,7 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar normalize edildiğinde sırasıyla %20, %29, %38 ve %53 giderim değerleri elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise SMX konsantrasyonu 4. saatte 8,9 mg/L, 24. saatte 8,5 mg/L, 48. saatte 8,1 mg/L ve 72. saatte 8,7 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %9, %13, %17 ve %11 olarak hesaplanmıştır (Şekil 42 ve Şekil 43).



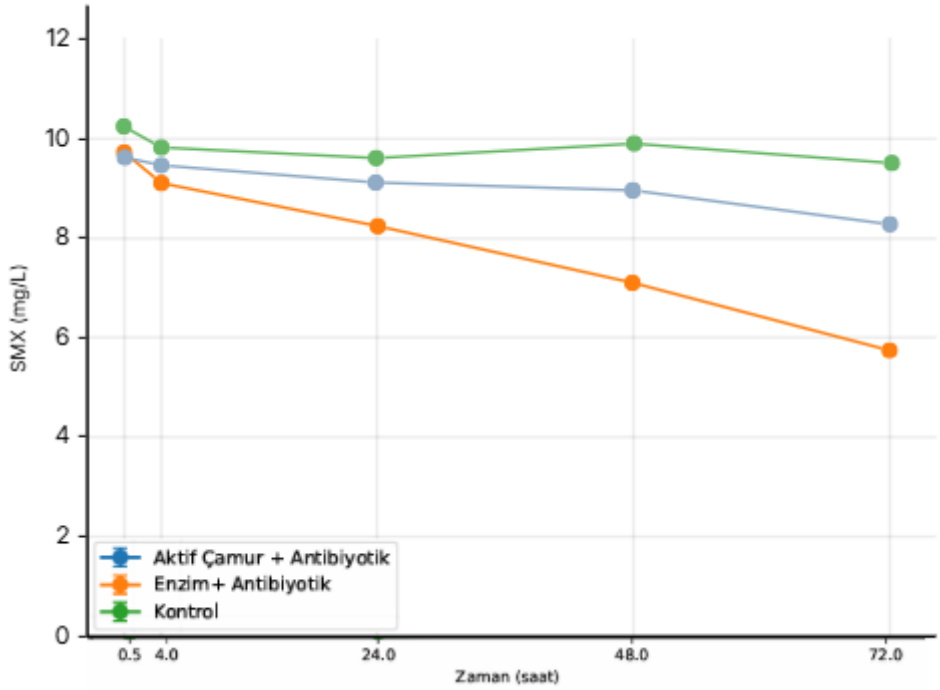

**Şekil 42.** Sonbahar numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.



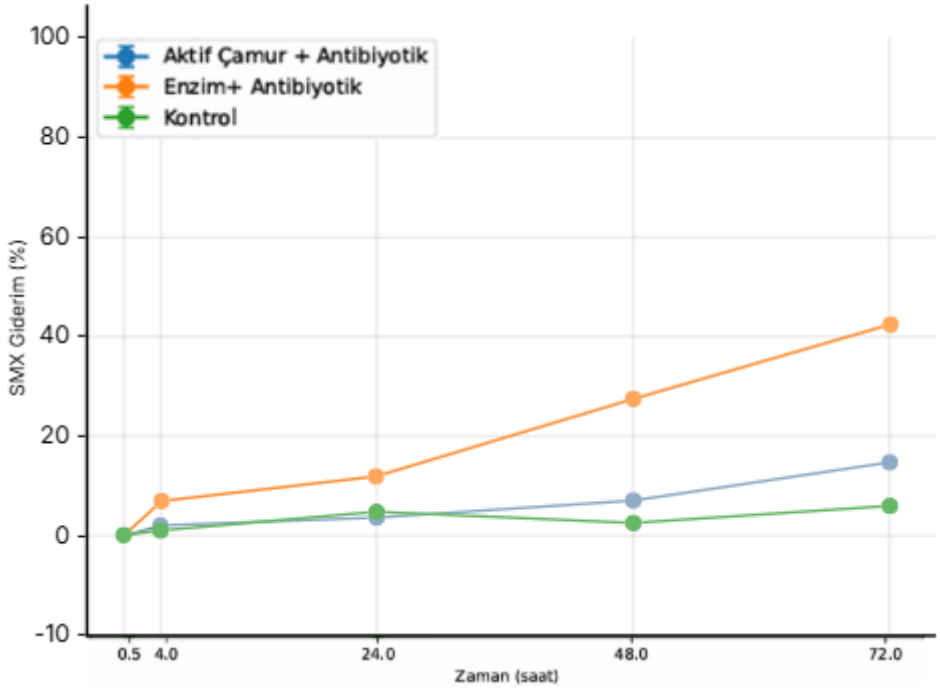

**Şekil 43.** Sonbahar numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi.

**Kış numunesinde,** kontrol uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,9 mg/L, 24. saatte 9,6 mg/L, 48. saatte 9,8 mg/L ve 72. saatte 9,5 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize edildiğinde bu değerler sırasıyla %1, %3, %2 ve %7 giderime karşılık gelmektedir. Enzim + antibiyotik uygulamasında SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,1 mg/L, 24. saatte 8,5 mg/L, 48. saatte 7,1 mg/L ve 72. saatte 5,7 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değerler normalize edildiğinde sırasıyla %7, %13, %28 ve %42 giderim elde edilmiştir. Aktif çamur + antibiyotik uygulamasında ise SMX konsantrasyonu 4. saatte 9,6 mg/L, 24. saatte 9,4 mg/L, 48. saatte 9,1 mg/L ve 72. saatte 8,3 mg/L olarak ölçülmüştür. Normalize giderim yüzdeleri sırasıyla %2, %3, %7 ve %15 olarak hesaplanmıştır (Şekil 44 ve Şekil 45).

.

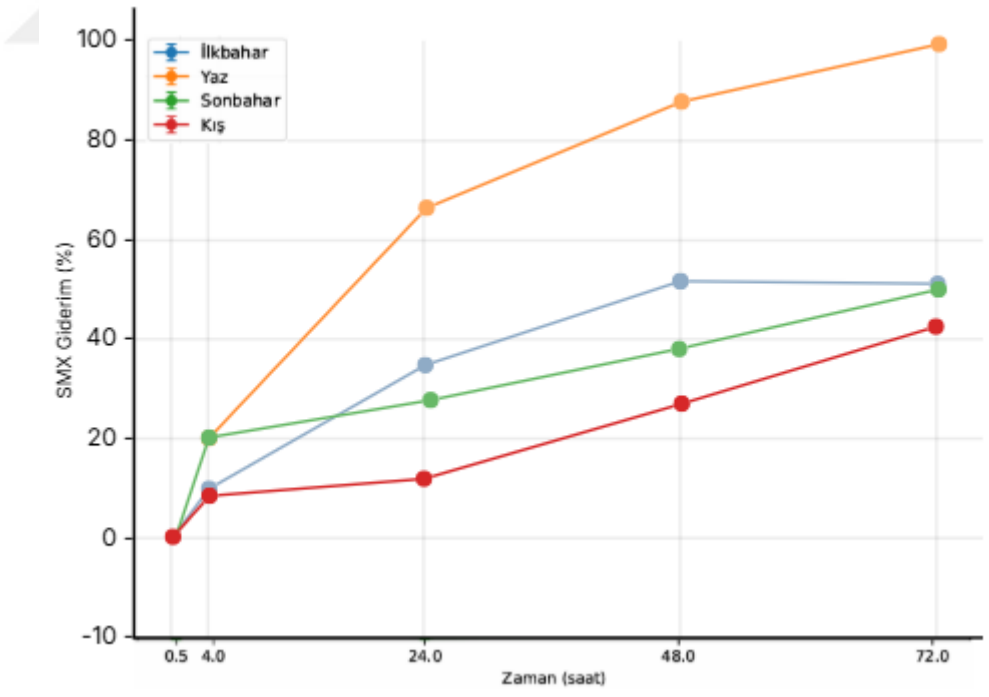



**Şekil 44.** Kış numunesinde SMX konsantrasyonunun (mg/L) zamana bağlı değişimi.




**Şekil 45.** Kış numunesinde SMX normalize giderim yüzdesi.

SMX, enzim + antibiyotik uygulaması altında farklı mevsimlerde elde edilen giderim yüzdelerinin karşılaştırmalı değişimi Şekil 46'da sunulmuştur. Ortak grafik değerlendirildiğinde, SMX giderim performansının mevsimlere bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterdiği görülmektedir. En yüksek giderim verimi yaz numunesinde elde edilmiştir. Yaz numunesinde deney sonunda SMX konsantrasyonu 0,0 mg/L seviyesine kadar düşmüş ve buna karşılık %100 giderim sağlanmıştır. Bu değer, tüm mevsimlerde alınan numuneler arasında elde edilen en yüksek SMX giderim performansını temsil etmektedir. İlkbahar numunesinde deney sonunda SMX konsantrasyonu 0,46 mg/L seviyesine gerilemiş ve buna karşılık %54 giderim elde edilmiştir. Sonbahar numunesinde SMX konsantrasyonu deney sonunda 0,47 mg/L olarak ölçülmüş olup, buna karşılık %53 giderim sağlanmıştır. İlkbahar ve sonbahar mevsimlerinde alınan numuneler arasında benzer giderim düzeyleri göstermiştir. Kış numunesi ise SMX gideriminin en düşük olduğu dönem olarak belirlenmiştir. Deney sonunda SMX konsantrasyonu 0,58 mg/L seviyesinde kalmış ve buna karşılık %42 giderim elde edilmiştir. Genel olarak, SMX giderim verimi mevsimsel olarak **Yaz >> İlkbahar ≈ Sonbahar > Kış** sıralamasını göstermektedir.

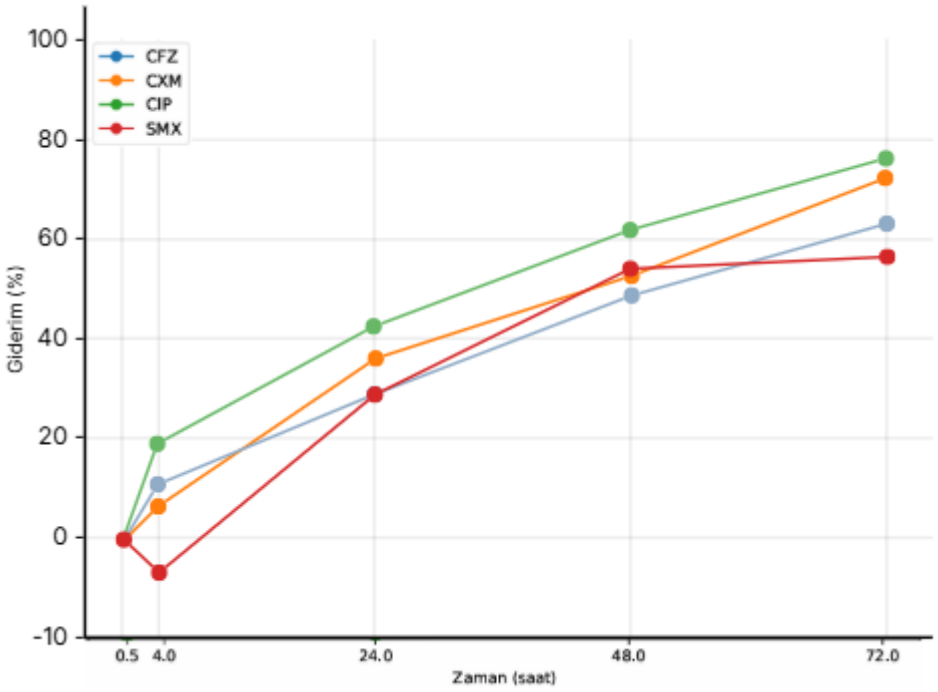



**Şekil 46.** İlkbahar, yaz, sonbahar ve kış numunelerinde SMX normalize giderim yüzdesi.

## 4.4. SEÇİLİ ANTİBİYOTİKLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜNÜN MEVSİMSEL DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**İlkbahar numunesinde**, enzim + antibiyotik uygulaması altında antibiyotiklerin giderim yüzdeleri karşılaştırıldığında, en yüksek giderim CIP için elde edilmiştir. Deney sonunda CIP konsantrasyonu 0,15 mg/L seviyesine düşmüş ve %85 giderim sağlanmıştır. Bunu CXM izlemiş; CXM konsantrasyonu 0,33 mg/L seviyesinde ölçülmüş ve %68 giderim elde edilmiştir. CFX için deney sonunda konsantrasyon 0,35 mg/L, giderim oranı ise %63 olarak belirlenmiştir. En düşük giderim ise SMX için gözlenmiş; SMX konsantrasyonu 0,46 mg/L seviyesinde kalmış ve %54 giderim sağlanmıştır. İlkbahar numunesinde giderim verimi antibiyotiklere göre **CIP > CXM > CFX > SMX** sıralamasını göstermektedir (Şekil 47).

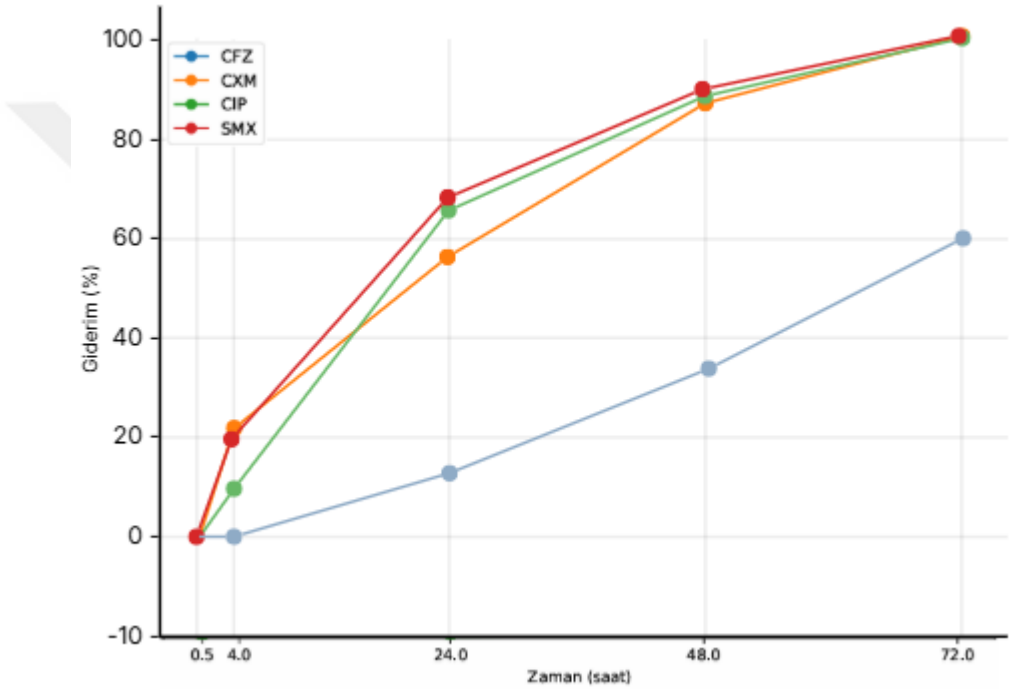
.




**Şekil 47.** İlkbahar numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi.

**Yaz numunesinde** tüm antibiyotikler için yüksek giderim verimleri elde edilmiştir. Deney sonunda CIP, CXM ve SMX konsantrasyonları 0,0 mg/L seviyesine kadar düşmüş ve her üç antibiyotik için de %100 giderim sağlanmıştır. CFZ için ise deney sonunda konsantrasyon 0,45 mg/L olarak ölçülmüş ve %55 giderim elde edilmiştir. Yaz numunesinde antibiyotikler arasında en yüksek giderim **CIP, CXM ve SMX için eşit** düzeyde gerçekleşirken, **CFZ daha düşük** giderim göstermiştir (Şekil 48.).

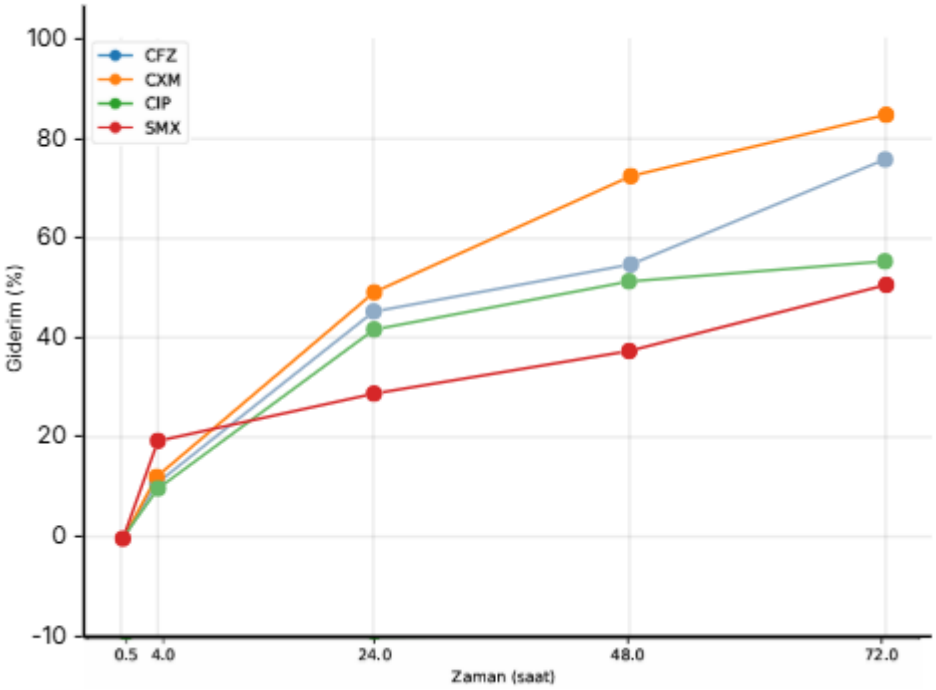
.




**Şekil 48.** Yaz numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi.

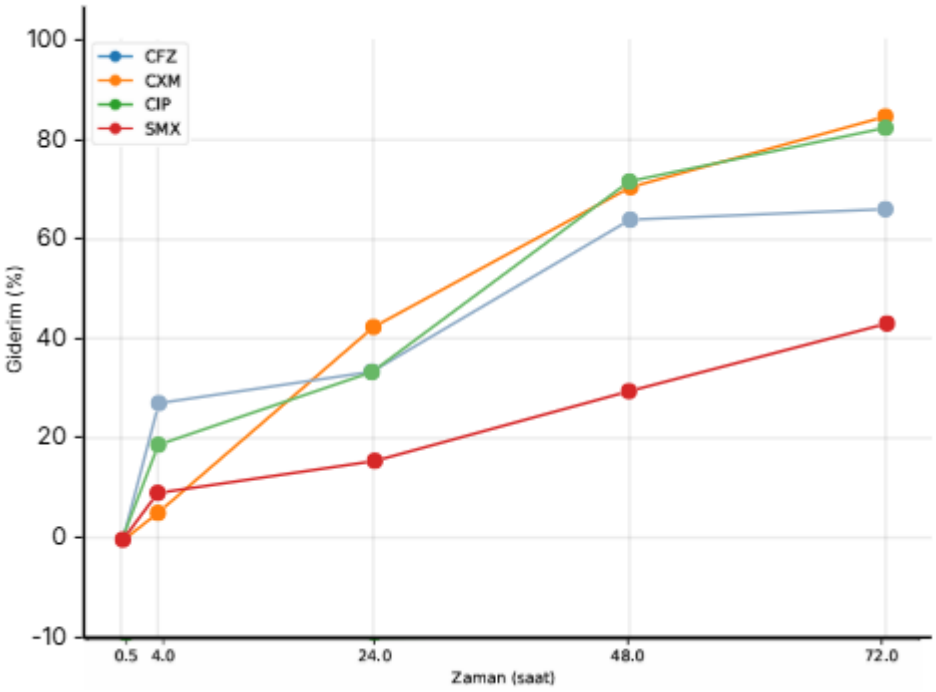
**Sonbahar numunesinde** en yüksek giderim CXM için elde edilmiş; deney sonunda CXM konsantrasyonu 0,15 mg/L seviyesine düşmüş ve %86 giderim sağlanmıştır. CIP için giderim oranı %60 olup, deney sonunda konsantrasyon 0,40 mg/L olarak belirlenmiştir. Sonbahar numunesinde yüksek giderim gösteren antibiyotikler arasında yer almış; deney sonunda konsantrasyon 0,22 mg/L, giderim oranı ise %78 olarak hesaplanmıştır. SMX için ise deney sonunda konsantrasyon 0,47 mg/L seviyesinde kalmış ve %53 giderim elde edilmiştir. Sonbahar numunesinde giderim verimi **CXM > CFZ > CIP > SMX** sıralamasını göstermektedir (Şekil 49).

.



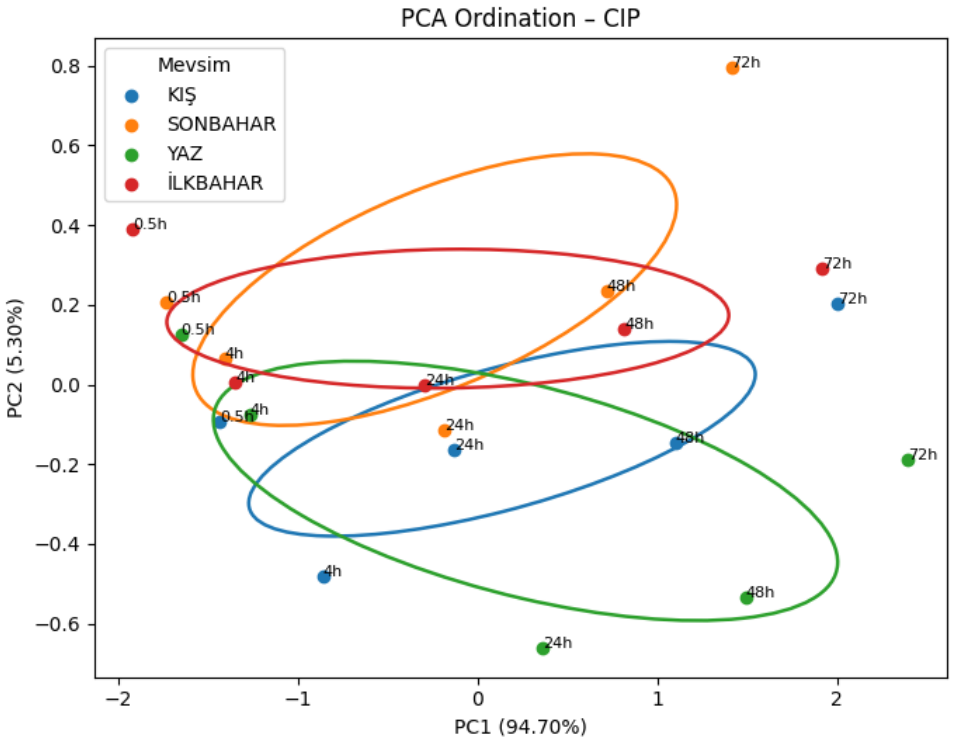

**Şekil 49.** Sonbahar numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi.

**Kış numunesinde** en yüksek giderim CIP için elde edilmiş; deney sonunda CIP konsantrasyonu 0,20 mg/L seviyesine düşmüş ve %80 giderim sağlanmıştır. CXM kış numunesinde benzer bir performans sergilemiş; deney sonunda konsantrasyon 0,18 mg/L, giderim oranı ise %84 olarak belirlenmiştir. CFZ için deney sonunda konsantrasyon 0,30 mg/L, giderim oranı ise %68 olmuştur. SMX kış numunesinde en düşük giderimi göstermiş; deney sonunda konsantrasyon 0,58 mg/L seviyesinde kalmış ve %42 giderim elde edilmiştir. Kış numunesinde giderim verimi **CXM ≈ CIP > CFZ > SMX** şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 50).

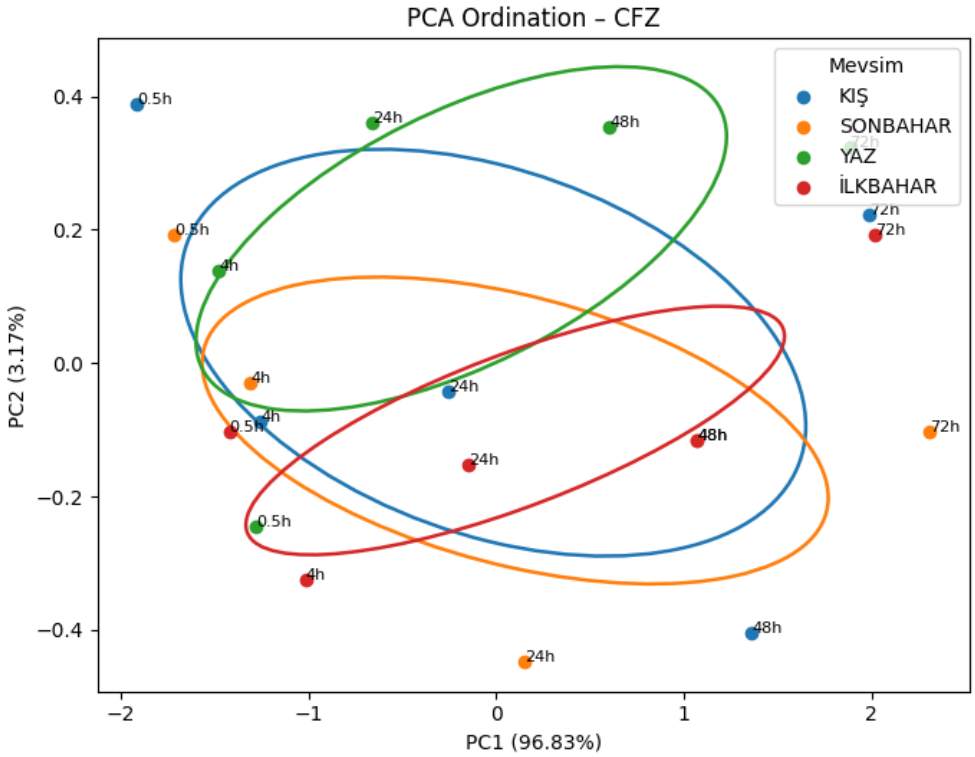



**Şekil 50.** Kış numunesinde CIP, CFZ, CXM ve SMX normalize giderim yüzdesi.

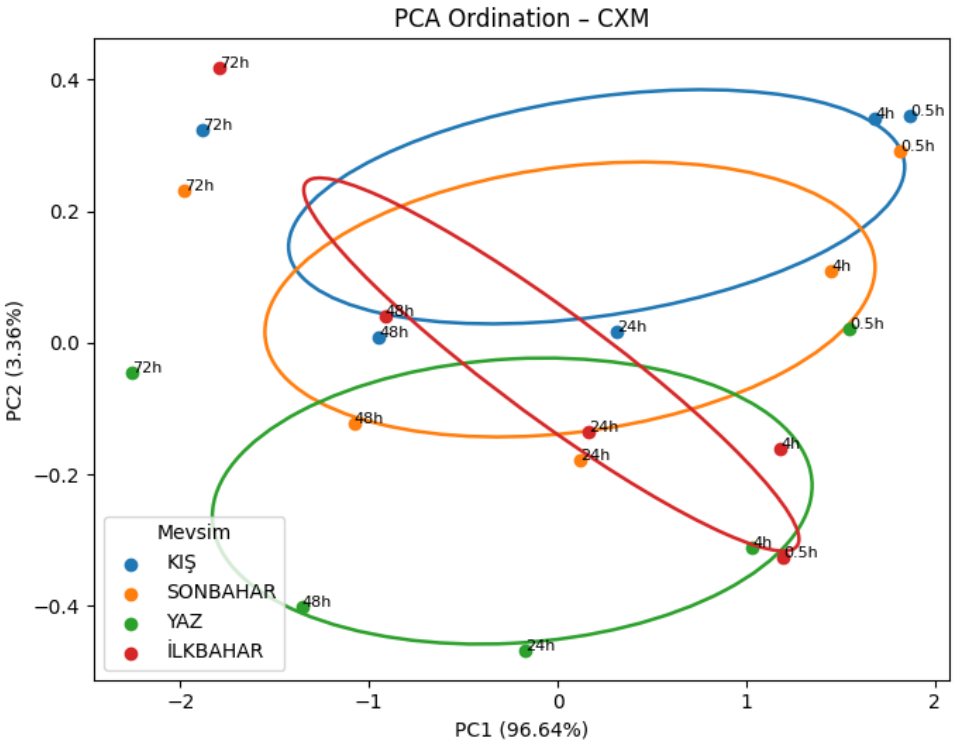
CIP, CFZ, CXM ve SMX antibiyotiklerinin farklı mevsimlerde (ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış) ve farklı zaman noktalarında (0.5, 4, 24, 48 ve 72 saat) ölçülen konsantrasyon değerlerine uygulanan Principal Component Analysis (PCA) sonuçları gösterilmektedir (Şekil 51-54). Grafiklerde her nokta belirli bir zaman noktasını temsil ederken, renkler mevsimsel grupları göstermektedir. Aynı renk ile gösterilen elipsler ise ilgili mevsime ait veri noktalarının dağılımını ve kümelenme eğilimini temsil etmektedir. Aynı mevsime ait veri noktalarının benzer bölgelerde konumlanması, antibiyotik konsantrasyonlarının mevsimsel çevresel koşullardan etkilendiğini göstermektedir. Özellikle yaz mevsimine ait numunelerin bazı antibiyotiklerde diğer mevsimlerden daha belirgin şekilde ayrıştığı gözlenmiştir. Bu durum, sıcaklık artışı ile birlikte mikrobiyal aktivitenin ve enzimatik dönüşüm süreçlerinin hızlanmasıyla ilişkili olabilir. Ayrıca zaman ilerledikçe veri noktalarının PCA uzayında yer değiştirmesi antibiyotik konsantrasyonlarının deney süresince değiştiğini ve biyolojik dönüşüm süreçlerinin zamanla daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Elde edilen bu sonuçlar, antibiyotiklerin çevresel ortamlardaki davranışının hem mevsimsel faktörlerden hem de biyolojik süreçlerin zamansal gelişiminden etkilendiğini ortaya koymaktadır.



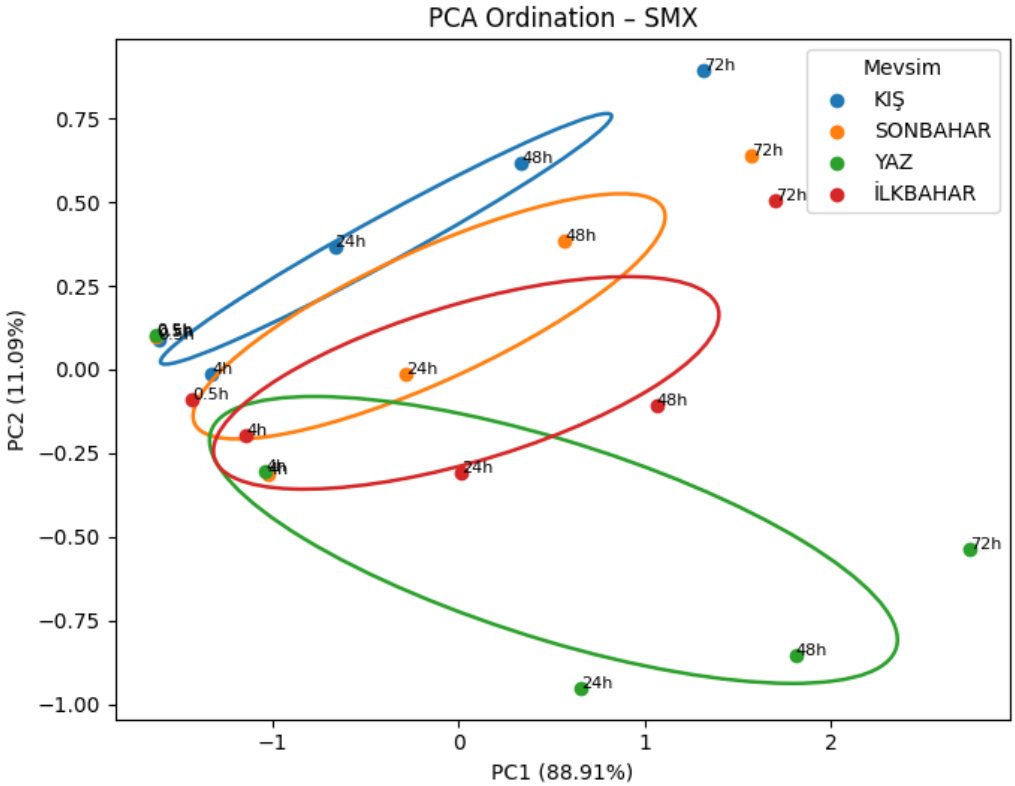

**Şekil 51.** CIP antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği.




**Şekil 52.** CFZ antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği.



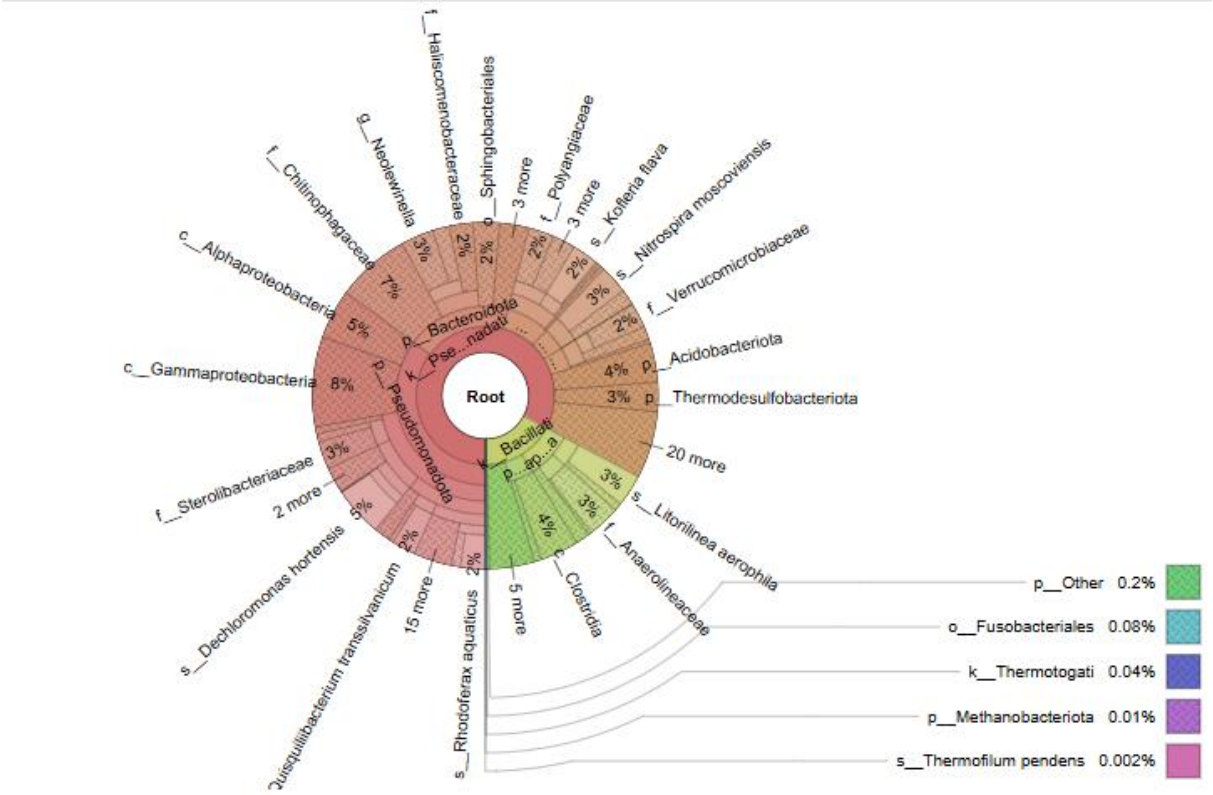

**Şekil 53.** CXM antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği.




**Şekil 54.** SMX antibiyotiğinin farklı mevsimlerde ve zaman noktalarında gösterdiği değişimin PCA ordination grafiği.

## 4.5. NGS ANALİZ SONUÇLARI

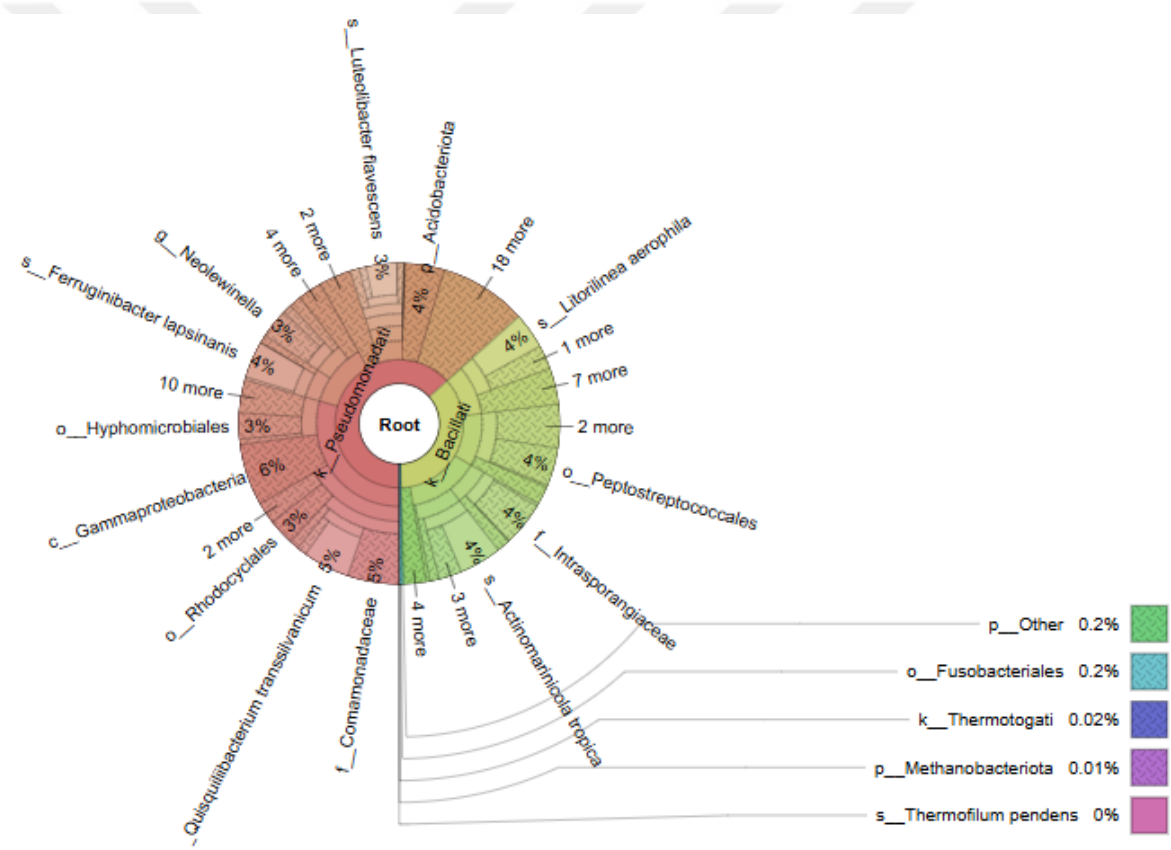
Bu tez çalışması kapsamında, aktif çamur numunelerinin mikrobiyal topluluk yapısının ortaya konulması ve arıtım süreçlerinde rol oynayan baskın mikroorganizma gruplarının belirlenmesi amacıyla yeni nesil dizileme (NGS) analizlerinden yararlanılmıştır. Aktif çamur gibi karmaşık çevresel matrislerde mikroorganizmaların çeşitliliği ve göreli bolluklarının doğru şekilde belirlenebilmesi hem biyolojik arıtımın işleyişini anlamak hem de mikrokirleticilerin biyolojik dönüşüm mekanizmalarını daha kapsamlı yorumlayabilmek açısından önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, analiz sürecinin standardizasyonu ve güvenilir veri üretiminin sağlanması amacıyla numunelerin kütüphane hazırlama, dizileme ve birincil veri çıktılarının oluşturulması basamakları Macrogen Inc. tarafından (Macrogen, Hollanda) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen dizileme verileri üzerinden yapılan taksonomik sınıflandırmalar sonucunda numunelerin mikrobiyal kompozisyonu belirlenmiştir.




**Şekil 55.** Sonbahar numunesi NGS analiz sonucu.

Krona grafiğine göre incelenen aktif çamur örneğinde mikrobiyal topluluğun baskın filumu *Proteobacteria* olarak belirlenmiştir. *Proteobacteria* içerisinde *Gammaproteobacteria* sınıfı

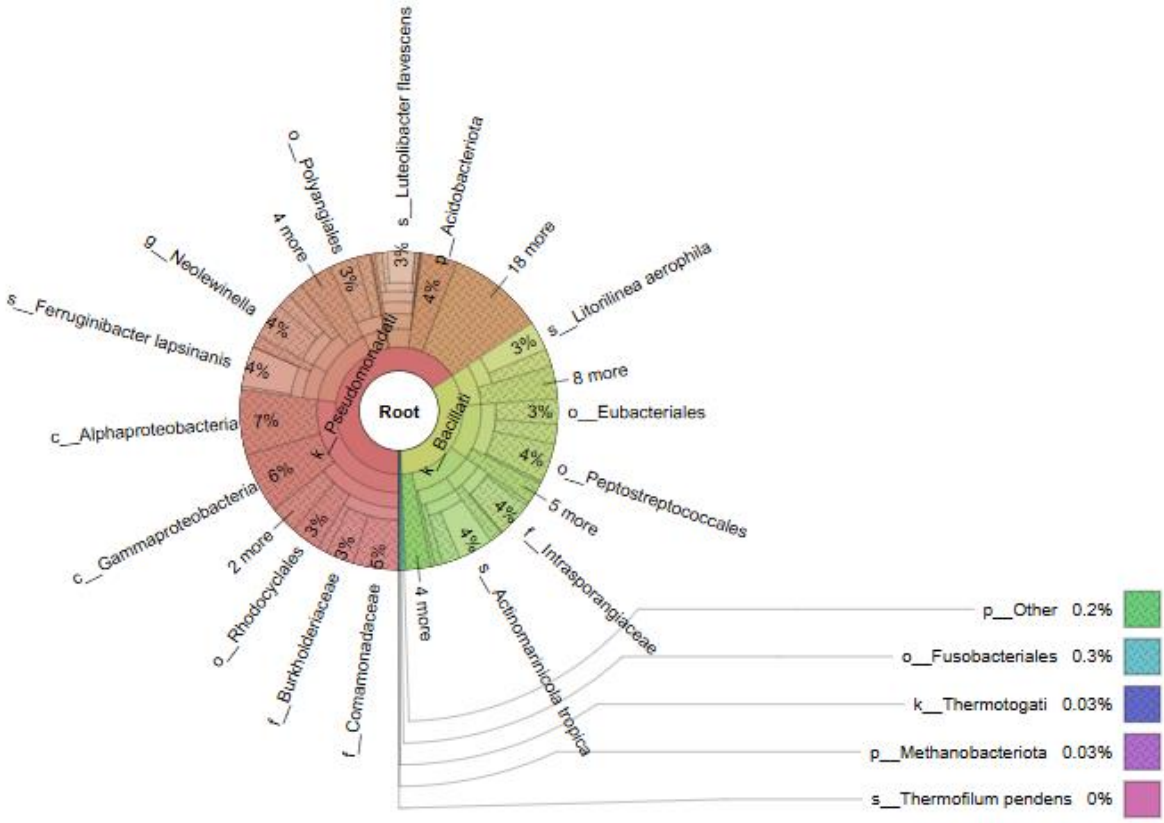
yaklaşık %8 ve *Alphaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %5 oranında temsil edilmektedir; bu grup altında *Pseudomonadati/Pseudomonadales* ile ilişkili taksonların öne çıktığı görülmüştür. Örnek içerisinde ayrıca *Bacteroidota* filumu yaklaşık %3, *Bacillota (Firmicutes)* filumu ve bunun alt gruplarından *Clostridia* ise yaklaşık %4 oranında tespit edilmiştir. Daha düşük oranlarda *Acidobacteriota* yaklaşık %4 ve *Thermodesulfobacteriota* yaklaşık %3 düzeyinde belirlenirken, "20 more" ifadesiyle gösterilen kısım düşük bolluklu birçok farklı taksonun toplamını temsil etmektedir. Lejand verilerine göre örnekte çok düşük düzeylerde *o__Fusobacteriales* (%0,08), *k__Thermotogati* (%0,04) ve *p__Methanobacteriota* (%0,01) grupları da saptanmış olup, ek olarak "p__Other (%0,2)" şeklinde sınıflandırılan düşük bolluklu taksonlar bulunmaktadır (Şekil 55).




**Şekil 56. İlkbahar numunesi NGS analiz sonuçları.**

Krona grafiğine göre bu örnekte mikrobiyal topluluğun baskın filumu *Proteobacteria* olup, bu grup altında *Gammaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %6 oranında temsil edilmektedir. *Proteobacteria* içerisinde *Pseudomonadati/Pseudomonadales* ile ilişkili taksonların öne çıktığı görülmüş, ayrıca *Hyphomicrobiales* yaklaşık %3 düzeyinde tespit edilmiştir. Topluluk yapısında *Bacillota (Firmicutes)* filumu da belirgin düzeyde yer almakta olup, bu gruba ait

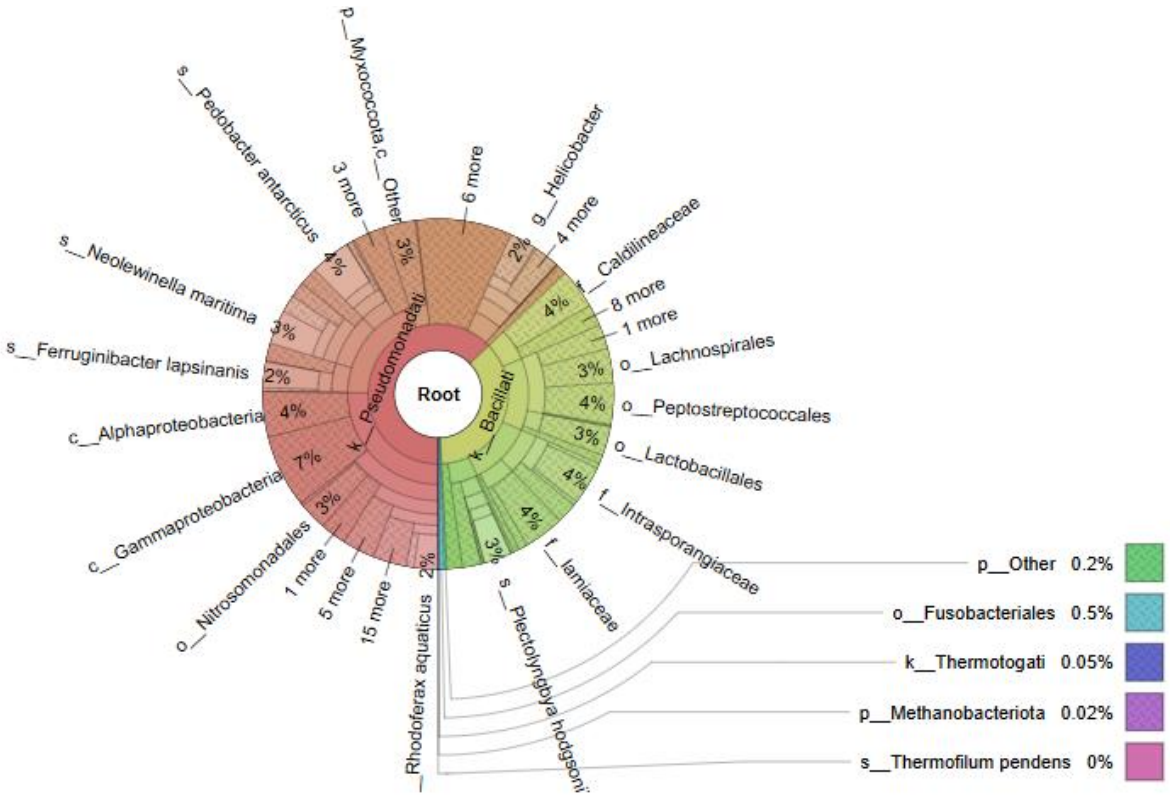
farklı alt taksonların grafikte yaklaşık %4 oranlarında dağılım gösterdiği izlenmektedir; *Bacillota* altında *Peptostreptococcales* ve *Muribaculaceae* gibi taksonların bulunduğu görülmüştür. Örnek içerisinde ayrıca *Acidobacteriota* filumu yaklaşık %4 düzeyinde saptanmış ve "18 more" ifadesiyle gösterilen kısım düşük bolluklu çok sayıda farklı taksonun toplamını temsil etmiştir. Grafikte görülen tür isimleri arasında *Ferruginibacter lapsinanis* ve *Luteolibacter flavescens* yer almakta olup, lejand verilerine göre örnekte düşük oranlarda p__Other (%0,2), *o__Fusobacteriales* (%0,2) ve *k__Thermotogati* (%0,02) grupları tespit edilmiş; ayrıca *p__Methanobacteriota* (%0,01) ve *s__Thermofilum pendens* (0%) düzeyinde belirlenmiştir (Şekil 56).




**Şekil 57.** Yaz numunesi NGS analiz sonuçları.

Krona grafiğine göre bu örnekte mikrobiyal topluluğun baskın filumu *Proteobacteria* olup, bu grup altında *Gammaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %6 ve *Alphaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %7 oranında temsil edilmektedir. *Proteobacteria* içerisinde *Pseudomonadati/Pseudomonadales* ile ilişkili taksonların öne çıktığı görülmüş, ayrıca farklı alt gruplar arasında *Rhodocyclales* ve *Burkholderiales* gibi taksonların yer aldığı izlenmiştir. Topluluk yapısında *Bacillota (Firmicutes)* filumu da belirgin düzeyde bulunmakta olup,

*Bacillota* altında genel dağılımın yaklaşık %3–4 aralığında olduğu ve *Peptostreptococcales* ile *Eubacteriales* gibi taksonların görüldüğü belirlenmiştir. Örnekte ayrıca *Acidobacteriota* filumu yaklaşık %4 düzeyinde saptanmış; grafikte *Ferruginibacter lapsinanis* ve *Luteolibacter flavescens* gibi tür isimleri de yer almıştır. "18 more" ifadesiyle gösterilen kısım düşük bolluklu çok sayıda taksonun toplamını temsil ederken, lejand verilerine göre örnekte düşük oranlarda p__Other (%0,2), *o__Fusobacteriales* (%0,3), *k__Thermotogati* (%0,03) ve *p__Methanobacteriota* (%0,03) grupları tespit edilmiş; ayrıca *s__Thermofilum pendens* (0%) düzeyinde belirlenmiştir (Şekil 57).




**Şekil 58.** Kış numunesi NGS analiz sonuçları.

Krona grafiğine göre bu örnekte mikrobiyal toplulukta baskın filum *Proteobacteria* olup, bu filum içerisinde *Gammaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %7 ve *Alphaproteobacteria* sınıfı yaklaşık %4 oranında temsil edilmektedir; *Proteobacteria* altında *Pseudomonadati/Pseudomonadales* ile ilişkili taksonların öne çıktığı görülmüştür. Topluluk yapısında ayrıca *Bacillota (Firmicutes)* filumu belirgin düzeyde bulunmakta olup, bu grupta *Lachnospirales* (%3), *Peptostreptococcales* (%4) ve *Lactobacillales* (%3) gibi taksonlar tespit edilmiştir. Örnek içerisinde düşük oranlarda *Helicobacter* yaklaşık %2 düzeyinde belirlenirken, *Calditrichaceae* ailesi yaklaşık %4 oranında saptanmış ve grafikte "6 more", "8 more" ve "4

more” ifadeleriyle gösterilen bölümlerin düşük bolluklu çok sayıda taksonun toplamını temsil ettiği izlenmiştir. Ayrıca grafikte *Neoewella maritima* ve *Ferruginibacter lapsinanis* gibi tür isimleri yer almakta olup, lejand verilerine göre örnekte düşük oranlarda p__Other (%0,2), *o__Fusobacteriales* (%0,5), *k__Thermotogati* (%0,05) ve *p__Methanobacteriota* (%0,02) grupları tespit edilmiş; *s__Thermofilum* pendens ise 0% düzeyinde belirlenmiştir (Şekil 58).

# 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, aktif çamurdan ekstrakte edilen enzimler kullanılarak CFZ, CXM, CIP ve SMX'in farklı mevsimlerdeki giderim davranışları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen bulgular, antibiyotiklerin enzimatik giderim performanslarının hem mevsimsel koşullara hem de bileşik bazlı özelliklere bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Mevsimlere göre antibiyotiklerin birlikte değerlendirildiği grafikler ve hesaplanan giderim yüzdeleri, aynı deneysel koşullar altında dahi antibiyotiklerin giderim profillerinin birbirinden ayrıldığını göstermiştir. Bu bölümde, elde edilen deneysel sonuçlar literatürde rapor edilen çalışmalar ışığında tartışılarak, gözlenen mevsimsel ve antibiyotik bazlı farklılıkların olası nedenleri ve biyolojik arıtım süreçleri açısından taşıdığı önem değerlendirilmiştir.

## 5.1. Seçili Antibiyotiklerin Enzimatik Gideriminde Mevsimsel ve Bileşik Bazlı Farklılıkların Değerlendirilmesi

Grafikler incelendiğinde, tüm antibiyotikler için enzim + antibiyotik uygulamasında konsantrasyonların zamana bağlı olarak belirgin biçimde azaldığı görülmektedir. Bu eğilim, deney düzeneğinde antibiyotikleri etkileyen aktif bir enzimatik giderim/biyotransformasyon mekanizmasının devrede olduğuna işaret etmektedir. Kontrol koşullarında gözlenen sınırlı değişim dikkate alındığında, konsantrasyon düşüşünün yalnızca fiziksel etkileşimler veya doğal bozunma süreçleri ile açıklanması güçtür. Dolayısıyla bu sonuçlar, sistemde bulunan enzimlerin ve bu yapıların ürettiği katalitik bileşenlerin antibiyotik molekülleri üzerinde aktif bir dönüşüm etkisi oluşturduğunu düşündürmektedir. Nitekim antibiyotiklerin çevresel koşullar altında kimyasal olarak görece stabil bileşikler olduğu, anlamlı parçalanmanın ise çoğunlukla biyolojik süreçler aracılığıyla gerçekleştiği çeşitli çalışmalarda vurgulanmaktadır. Vetterello ve arkadaşları (2024) tarafından yapılan çalışmada, antibiyotiklerin çevresel koşullar altında kendiliğinden bozunmasının sınırlı olduğu; dönüşümün esas olarak biyolojik yapılar ve bu yapıların ürettiği enzimlerin müdahalesi ile gerçekleştiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada enzimatik aktivite sonucunda antibiyotik miktarında yaklaşık %50 düzeyinde bir dönüşüm meydana geldiği raporlanmıştır. Benzer şekilde, antibiyotiklerin yüksek çevresel stabiliteye sahip olduğu ve anlamlı bozunmanın çoğu durumda biyolojik/enzimatik reaksiyonlarla açıklanabildiği ifade edilmektedir.

Bu bağlamda enzimlerin, antibiyotiklerin kimyasal yapısında dönüşüme yol açarak toksisiteyi azaltabilecek ara ürünlerin oluşumuna katkı sağlayabildiği; ayrıca mikrobiyal yapılar üzerindeki olumsuz etkilerin düzenlenmesinde dolaylı bir rol üstlenebileceği bildirilmektedir (Vettorello ve diğ., 2024).

Öte yandan, insanlar tarafından kullanılan antibiyotiklerin yaklaşık %30–90'ının, atıksu ortamına ulaştıktan sonra mikroorganizmalar tarafından biyolojik dönüşüme uğradığı ve antibakteriyel aktiviteyle ilişkili fonksiyonel grupların uzaklaştırılması sonucu daha az toksik formlara dönüşebildiği bildirilmektedir. Buna karşın antibiyotiklerin çevresel ortamlarda yüksek kimyasal stabilite gösterdiği ve konvansiyonel arıtım süreçleri ile tamamen giderilemeyebildiği belirtilmektedir. Bu nedenle anlamlı düzeyde parçalanmanın büyük ölçüde biyolojik ve enzimatik mekanizmalar üzerinden ilerlediği vurgulanmakta; antibiyotiklerin çevresel ortamlardaki kalıcılığı da mikroorganizmalar ve bunlar tarafından üretilen enzimlerin önemini ortaya koymaktadır (Ezra ve diğ., 2025). Literatürde ayrıca antibiyotiklerin %50–90'ının atıksu ortamında biyolojik dönüşüme uğrayabileceği; özellikle antibakteriyel aktiviteye katkı sağlayan fonksiyonel yapıların modifikasyonu ile bileşiklerin etkilerinin azalabileceği rapor edilmektedir. Bu çerçevede, antibiyotiklerin dönüşüm süreçlerinin büyük ölçüde biyolojik/enzimatik reaksiyonlar temelinde gerçekleştiği ifade edilmektedir. Bu çalışmada elde edilen enzim+antibiyotik uygulama sonuçları incelendiğinde, CIP, CXM ve SMX için maksimum %100, CFZ için ise maksimum %78 oranında biyolojik dönüşüm sağlandığı görülmektedir. Elde edilen bu yüksek giderim yüzdeleri, antibiyotiklerin etkin biçimde dönüştürülmesinde biyolojik kökenli enzimatik mekanizmaların belirleyici rol oynadığını ortaya koymakta olup, literatürde rapor edilen biyolojik dönüşüm aralıklarıyla uyumlu bir eğilim sergilemektedir. Özellikle enzimatik süreçlerin devreye girdiği koşullarda, antibiyotiklerin çevresel stabilitesine rağmen ileri düzeyde dönüşümün mümkün olabileceği bu çalışma ile desteklenmiştir.

Zamana bağlı değişim değerlendirildiğinde, antibiyotik konsantrasyonlarındaki azalmanın özellikle deneyin başlangıç evresinde daha hızlı gerçekleştiği, ilerleyen zaman dilimlerinde ise bu hızın giderek azaldığı dikkat çekmektedir. Deneyin ilk saatlerinde ortamda antibiyotik konsantrasyonunun yüksek olması, enzim–substrat etkileşiminin daha yoğun gerçekleşmesine ve dönüşüm reaksiyonlarının daha yüksek hızlarda ilerlemesine olanak sağlayabilmektedir.

Zamanla antibiyotik miktarının azalmasıyla birlikte reaksiyona girebilecek substratın erişilebilir fraksiyonu azalmakta ve buna bağlı olarak dönüşüm kinetiğinde yavaşlama gözlenebilmektedir. Mejías ve arkadaşları (2024) tarafından yürütülen çalışmada da antibiyotiklerin başlangıçta yüksek konsantrasyonlarda daha hızlı bir şekilde azaldığı, zaman ilerledikçe bu hızın belirgin biçimde düştüğü gösterilmiştir. Bu durum, çözeltide daha kolay erişilebilir fraksiyonların ilk etapta daha baskın olması ve dönüşümün bu fraksiyonlar üzerinden daha hızlı ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla, antibiyotik miktarındaki azalma ile birlikte yıkım reaksiyonlarının hızının da düşebileceği; bunun temelinde ise erişilebilir substrat miktarının azalmasının yer aldığı belirtilmiştir (Mejías ve diğ., 2024). Nuryana ve arkadaşları (2023) tarafından yapılan çalışmada, oksidatif enzimlerin antibiyotiklerin yapısal bütünlüğünü bozarak antibakteriyel aktivite kaybına yol açabileceği deneysel olarak ortaya konmuştur. Rekombinant lakkaz enzimi ile gerçekleştirilen biyobozunma sonucunda antibiyotik aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı ve bakteriyel büyümenin baskılandığı raporlanmıştır. Çalışmada özellikle 6 saatlik enzim uygulaması sonrasında antibiyotiklerin yaklaşık %75'inin inaktive olduğu ve biyolojik etkilerini kaybettiği belirtilmiştir (Nuryana ve diğ., 2023). Bu çalışmada elde edilen enzim+antibiyotik uygulaması bulguları incelendiğinde, daha erken bir zaman noktası olan **ilk 4 saat** sonunda CIP için %24, SMX için %20, CFZ için %14 ve CXM için %11 oranlarında biyotransformasyon gerçekleştiği görülmektedir. Bu sonuçlar, giderimin büyük bir kısmının deneyin başlangıç evresinde gerçekleştiğini ve biyolojik/enzimatik süreçlerin özellikle kısa temas sürelerinde etkin olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, elde edilen giderim yüzdeleri literatürde bildirilen erken dönem biyotransformasyon eğilimleriyle genel olarak uyumlu olup, çalışmada kullanılan aktif çamur kaynaklı enzimlerin, antibiyotiklerin başlangıç aşamasındaki dönüşümünde etkili olduğunu desteklemektedir.

Ayrıca antibiyotiklerin kimyasal yapılarındaki farklılıklar, dönüşüm davranışlarının antibiyotik bazında değişkenlik göstermesine neden olmaktadır. Yapısal olarak enzimler tarafından daha kolay hedef alınabilen fonksiyonel gruplara sahip antibiyotiklerde başlangıçtaki hızlı düşüş daha belirgin olabilmekte; ancak zaman ilerledikçe bu fraksiyonların azalmasıyla birlikte yapısal olarak daha dirençli kısımlar süreçte baskın hale gelebilmektedir. Bu dirençli fraksiyonlar, enzimlerin daha sınırlı etki gösterebildiği ve dönüşümün daha yavaş gerçekleştiği antibiyotik bölümlerini temsil edebilmektedir (Wen ve diğ., 2025). Wang ve arkadaşları (2024) tarafından yapılan çalışmada da yapısal olarak biyotransformasyona daha elverişli antibiyotiklerde deneyin başlangıç aşamasında hızlı bir azalma gözlendiği, ancak ilerleyen

zaman dilimlerinde bu azalmanın yavaşladığı rapor edilmiştir. Zamanla sistemde daha dirençli bileşenlerin baskın hale geldiği ve bu fraksiyonların enzimatik dönüşüme karşı daha düşük duyarlılık gösterebileceği belirtilmiştir. Aynı zamanda, antibiyotiklerin dönüşüm mekanizmalarının moleküler yapılarına bağlı olarak değiştiği ve bu yapısal farklılıkların antibiyotik bazında farklı biyotransformasyon hızlarına neden olduğu ifade edilmiştir (Wang ve diğ., 2025b).

Benzer şekilde Martin ve arkadaşları (2024) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, antibiyotiklerin kimyasal yapılarındaki farklılıkların biyotransformasyon davranışları üzerinde belirleyici bir etken olduğu vurgulanmıştır. Yapısal olarak enzimler tarafından daha kolay hedef alınabilen fonksiyonel gruplara sahip antibiyotiklerde, deneyin başlangıç aşamasında konsantrasyonlarda hızlı bir azalma gözlendiği belirtilmiştir. Zaman ilerledikçe ise daha dirençli bileşenlerin süreçte baskın hale geldiği ve bu fraksiyonların enzimatik etkilere karşı daha sınırlı duyarlılık gösterebildiği raporlanmıştır. Çalışmada, antibiyotiklerin yapısal özelliklerinin biyotransformasyon hızını ve dönüşüm sürecinde oluşan ürünleri belirleyen temel faktörler arasında yer aldığı; dolayısıyla farklı antibiyotiklerin enzimatik dönüşüm profillerinin birbirinden ayrışmasının beklenen bir durum olduğu ortaya konmuştur (Martin ve diğ., 2024).

Trueba-Santiso vd. (2025) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, CIP biyotransformasyonunun, molekülün kimyasal yapısına bağlı olarak hidroksilasyon ve siklopropil halkasının kaybı gibi temel dönüşüm süreçleri üzerinden gerçekleştiği ve bu süreçler sonucunda CIP giderim oranlarının çoğu durumda %90'ın üzerinde olduğu raporlanmıştır. Çalışmada, özellikle piperazin halkasında meydana gelen hidroksilasyon reaksiyonlarının, biyolojik sistemlerde baskın bir dönüşüm mekanizması olduğu ve bu reaksiyonların çoğunlukla karbon atomlarını hedef aldığı belirtilmiştir. Söz konusu biyotransformasyon yolunun, enzimatik mekanizmalar aracılığıyla bakteriyel aktif çamur sistemlerinde gerçekleştiği ifade edilmiştir. Ayrıca, flor atomunun molekül üzerindeki konumunun, katabolik süreçler açısından belirleyici olduğu ve bileşiğin daha ileri düzeyde parçalanabilirliğini etkilediği vurgulanmıştır. Bu kapsamda, hidroksilasyon ve deflorinasyon reaksiyonlarının, CIP'in biyolojik dönüşümünde temel rol oynadığı ortaya konmuştur (Trueba-Santiso ve diğ., 2025). Ben kaida vd. (2025) çalışmalarında, β-laktam antibiyotiklerin, özellikle CFZ, yapısında bulunan β-laktam–dihidrotiazin halkası nedeniyle çoğu durumda biyolojik süreçlerle nispeten kolay parçalanabildiği, ancak çevresel koşullara bağlı olarak belirli bir stabilite gösterebildiği bildirilmektedir.

İlgili çalışmada, CFZ'nin doğal ortamlarda ve geleneksel arıtma yöntemleriyle gideriminin sınırlı olduğu, buna karşılık biyolojik ajanların varlığında bozunma süreçlerinin belirgin şekilde hızlandığı ifade edilmiştir. Bu bağlamda, gerçekleştirilen biyolojik uygulamalar sonucunda CFZ için yaklaşık %80 oranında giderim sağlandığı raporlanmıştır (Ben kaida ve diğ., 2025).

Ullah ve ark. (2025) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, CXM'nin kimyasal yapısında β-laktam halkası bulunduran bir sefalosporin antibiyotik olduğu belirtilmiş; bu halka yapısının hidroksilasyon reaksiyonlarına açık olduğu ve molekülün bozunmasını kolaylaştırdığı ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, CXM'nin %100 giderim oranına ulaştığı rapor edilmiştir (Ullah ve diğ., 2024). Alex ve ark. (2025) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, SMX'in parçalanma süreçlerinin hidrolizasyon, oksidasyon ve rekombinasyon gibi çeşitli reaksiyonları içerdiği belirtilmiş; enzimlerin SMX'in biyodegradasyonunda kritik bir rol oynadığı ve biyolojik koşullar altında yaklaşık %99 giderim sağlandığı rapor edilmiştir (Alex ve Abraham, 2025). Bu çalışmada, enzim + antibiyotik uygulaması altında elde edilen sonuçlar incelendiğinde, antibiyotik bazında giderim yüzdelerinin %42 ile %100 arasında değiştiği görülmektedir. CIP için %80–100, CXM için %68–100, CFZ için %55–78 ve SMX için %42–100 aralığında gözlenen giderim değerleri, antibiyotiklerin moleküler yapıları ve hedeflenebilir fonksiyonel gruplarının enzimatik süreçlere verdiği yanıtın farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle CIP ve CXM'de yüksek giderim oranlarının baskın olması, bu antibiyotiklerin enzimatik olarak daha erişilebilir bağlar içermesiyle ilişkilendirilebilirken; CFZ ve SMX'te daha düşük veya değişken giderimlerin gözlenmesi, yapısal olarak daha dirençli fraksiyonların sistemde daha belirleyici hale gelmesiyle açıklanabilir.

Grafiklerde mevsimsel değişim dikkate alındığında, antibiyotik konsantrasyonlarının yaz mevsiminde daha hızlı azaldığı, kış mevsiminde ise bu azalmanın belirgin şekilde yavaşladığı görülmektedir. Bu farklılığın temel belirleyicisinin sıcaklık olduğu değerlendirilmektedir. Sıcaklık artışı, sistemde yer alan enzimlerin ve mikroorganizmaların aktivitesini doğrudan etkilemekte ve antibiyotik giderim hızlarını belirgin biçimde değiştirmektedir. Bavumiragira ve arkadaşları (2024) tarafından yürütülen çalışmada, mevsimsel değişimin antibiyotik konsantrasyonları üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Yaz döneminde artan sıcaklık ve güneş ışınımına bağlı olarak mikrobiyal aktivitenin ve biyodegradasyon süreçlerinin hızlandığı, bu durumun antibiyotiklerin ortamdan daha hızlı uzaklaşmasına yol açtığı belirtilmiştir.

Çalışmada, bu nedenle yaz aylarında antibiyotik seviyelerinin daha düşük değerlere ulaştığı, kış döneminde ise düşük sıcaklıklar ve sınırlı güneş ışınımı koşullarının söz konusu süreçleri yavaşlattığı ve antibiyotiklerin ortamda kalış sürelerinin uzadığı ortaya konmuştur. Aynı çalışmada, sıcaklık ve iklim koşullarının antibiyotiklerin fizikokimyasal özellikleri ile sorpsiyon davranışlarını da etkilediği ifade edilmiştir. Yüksek sıcaklık koşullarında sorpsiyon kapasitelerinin azaldığı ve buna bağlı olarak antibiyotiklerin hareketliliğinin arttığı, soğuk dönemlerde ise bu süreçlerin daha yavaş gerçekleştiği rapor edilmiştir (Bavumiragira ve diğ., 2025). Aynı şekilde, Pang vd. (2025) çalışmalarında, antibiyotik konsantrasyonlarının mevsimlere bağlı değişimi incelenmiş; kuru sezonda ölçülen seviyelerin daha yüksek, ıslak sezonda ise daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada, bu mevsimsel farklılığın sıcaklık değişimleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte sistemdeki enzimatik ve mikrobiyal aktivitenin arttığı, bunun da antibiyotiklerin giderim hızlarını etkileyerek konsantrasyonlarda gözlenen değişimlere yol açtığı ortaya konmuştur (Pang ve diğ., 2025). Yaz mevsiminde artan sıcaklıkla birlikte enzimlerin moleküler düzeydeki hareket kabiliyetinin ve işlevsel esnekliğinin arttığı, bunun antibiyotik moleküllerinin enzimlerin aktif bölgelerine bağlanmasını kolaylaştırarak dönüşüm reaksiyonlarının hızlanmasına yol açtığı rapor edilmiştir. Bu koşullar altında enzimatik aktivitelerin yükseldiği ve antibiyotik konsantrasyonlarında daha hızlı bir azalma gözlendiği belirtilmektedir. Buna karşılık, kış mevsiminde sıcaklığın düşmesi enzimlerin yapısal dinamizmini sınırlandırmakta, substrat–enzim etkileşimlerini zorlaştırmakta ve reaksiyon hızlarının azalmasına neden olmaktadır. Literatürde ayrıca, enzim aktiviteleri ve stabilitelerinin çevresel koşullara duyarlı olduğu; sıcaklık ve pH gibi faktörlerin enzim performansı üzerinde belirleyici rol oynadığı ifade edilmektedir. Bu nedenle, enzimatik süreçlerin verimliliğinin artırılabilmesi için ortam koşullarının kontrolü ile birlikte enzim mühendisliği ve optimizasyon stratejilerinin uygulanmasının gerekli olduğu bildirilmektedir (Bao ve diğ., 2024; Bozkurt ve diğ., 2024; Song ve diğ., 2023). Mevsimsel farklılıklar yalnızca enzimatik aktiviteyle sınırlı kalmamakta, aynı zamanda mikrobiyal süreçler üzerinde de etkili olmaktadır. Yaz aylarında mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri ve çoğalma hızları artmakta, buna bağlı olarak sistemde üretilen enzim miktarı yükselmektedir. Kış koşullarında ise mikrobiyal büyümenin yavaşlaması, enzim üretiminin azalmasına ve dolayısıyla antibiyotiklerin biyolojik dönüşüm hızlarının düşmesine yol açmaktadır.

İlkbahar ve sonbahar mevsimleri ise geçiş dönemleri olarak değerlendirildiğinde, bu dönemlerde enzimatik ve mikrobiyal aktivitelerin yaz ve kış mevsimleri arasında orta seviyelerde seyrettiği ve buna paralel olarak antibiyotik giderim hızlarının da ara değerler aldığı görülmektedir. Zhang ve arkadaşları (2023), mevsimsel değişikliklerin antibiyotiklerin uzaklaştırılma mekanizmaları ve ortam konsantrasyonları üzerinde önemli etkiler oluşturabildiğini bildirmiştir. Yaz aylarında artan sıcaklıklar ve mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak antibiyotik giderim süreçlerinin hızlandığı, kış aylarında ise bu süreçlerin yavaşladığı ve antibiyotiklerin arıtımında zorluklar yaşanabildiği rapor edilmiştir (Zhang ve diğ., 2023). Bu çalışmada, enzim + antibiyotik uygulaması altında elde edilen sonuçlar incelendiğinde, ilkbahar mevsiminde %54–85, yaz mevsiminde %55–100, sonbahar mevsiminde %53–86 ve kış mevsiminde %42–80 aralığında değişen giderim yüzdeleri gözlenmiştir.

Elde edilen bu mevsimsel giderim aralıkları, literatürde rapor edilen yaz döneminde artan, kış döneminde azalan ve geçiş mevsimlerinde orta seviyelerde seyreden biyolojik giderim eğilimleriyle genel olarak uyumlu bir dağılım göstermektedir.

Bazı antibiyotikler enzimlerin kolayca saldırabileceği bölgeler içerir. Yani enzimin antibiyotiğe ulaşması ve onu değiştirmesi kolaydır. Emamjomeh ve arkadaşları (2024), optimal koşullar altında gerçekleştirilen deneylerde, CIP içeren çözelti için %92 oranında giderim sağlandığını rapor etmiştir. Çalışmada, CIP molekülü içerisinde enzimlerin bağlanmasına ve elektron transferine olanak tanıyan bölgelerin bulunduğu belirtilmiş; özellikle oksidatif enzimlerin bu bölgeleri hedef alarak antibiyotiğin yapısal bozunumunu gerçekleştirdiği ifade edilmiştir. Ayrıca, CIP'in oksidatif bozunma süreçleri ve mineralizasyon yollarına ilişkin detaylı analizlerde, hidroksil radikallerinin moleküldeki çeşitli bağlara ve fonksiyonel gruplara saldırması sonucu oluşan ara ürünlerin tanımlandığı ve bu süreçlerde enzimlerin rolünün dolaylı olarak ortaya konduğu bildirilmiştir (Emamjomeh ve diğ., 2024). Ayrıca, de Boer ve arkadaşları (2025), antibiyotiklerin kimyasal yapılarına bağlı olarak enzimlerin etki düzeylerinin farklılık gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmada, CIP'in moleküler yapısında enzimlerin bağlanmasına ve elektron transferine olanak tanıyan bölgelerin daha erişilebilir olduğu, bu nedenle oksidatif enzimler tarafından daha kolay parçalandığı ifade edilmiştir. SMX için ise, enzim bağlanması ve elektron alışverişine uygun bölgelerin yapısal olarak daha sınırlı erişilebilirliğe sahip olduğu ve bu durumun oksidatif enzimlerle bozunmayı zorlaştırdığı rapor edilmiştir. Buna rağmen, SMX'in önemli ölçüde giderildiği ve dönüşüm ürünlerinin oluştuğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, CIP için piperazin halkasının kırıldığı ve çeşitli dönüşüm ürünlerinin meydana

geldiği belirtilmiş; bu bulgular CIP'in oksidatif bozunma süreçleri yoluyla farklı dönüşüm mekanizmaları üzerinden elimine edildiğini ortaya koymuştur (de Boer ve diğ., 2025). Xu ve arkadaşları (2023), CIP için biyodegradasyonun baskın yolunun piperazin halkasının parçalanması olduğunu bildirmiştir. Çalışmada, bu halkanın antibiyotik yapısında reaksiyonlara açık önemli bir fonksiyonel bölge olduğu ve oksidatif enzimler tarafından hedef alındığı belirtilmiştir. Özellikle monooxygenazlar gibi oksidatif enzimlerin, CIP'in oksijenle reaksiyona girebilen bölgelerine erişerek oksidatif dönüşüm süreçlerini gerçekleştirdiği rapor edilmiştir. Tanımlanan biyodegradasyon yollarında piperazin halkasında deetilasyon ve oksidasyon reaksiyonlarının öne çıktığı ifade edilmiş ve yapılan çalışmada %99,7 oranında bir giderim elde edildiği bildirilmiştir (Xu ve diğ., 2023).

Zhou ve arkadaşları (2024), CIP gideriminin %34,4 ile %50,7 arasında gerçekleştiğini rapor etmiştir. Çalışmada, giderim artışında belirleyici olan temel mekanizmanın CIP moleküllerinin yüzeylere bağlanmasını düzenleyen enzimatik süreçler olduğu belirtilmiştir. Bu bağlanma davranışının ekstraselüler proteinler tarafından kontrol edildiği; özellikle nükleotid bağlayan proteinler, hidrolazlar ve transferazların bu süreçte aktif rol oynadığı ifade edilmiştir. Transferaz aktivitesiyle ilişkili tirozin, alfa-ketoglutarat ve N-ethylmaleimide gibi sinyal moleküllerinin bağlanmayı ve buna bağlı dönüşüm süreçlerini teşvik ettiği bildirilmiştir. Bulgular, CIP biyodegradasyonunda enzim temelli bağlanma ve dönüşüm mekanizmalarının giderim verimini artıran önemli faktörler arasında yer aldığını ortaya koymaktadır (Zhou ve diğ., 2024). Chu ve arkadaşları (2024), CIP için elde edilen giderim oranlarının %38,05 ile %74,29 arasında değiştiğini rapor etmiştir. Çalışmada, bu yüksek giderimin biyosorpsiyon ile birlikte gerçekleşen enzimatik biyotransformasyon süreçleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Enzimatik aktivitelerin CIP'in yapısal dönüşümünde belirleyici rol oynadığı ve metabolik olarak en etkin enzim sisteminin biyotransformasyon sürecine baskın katkı sağladığı ifade edilmiştir. Moleküler düzeyde gerçekleştirilen analizlerde, enzimlerin CIP ile güçlü etkileşimler kurabildiği ve bu etkileşimler sonucunda hidroksilasyon, dekarboksilasyon ve halka açılması gibi bozunma yollarının ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu bulgular, CIP gideriminin enzim temelli metabolik dönüşüm mekanizmalarıyla doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (Chu ve diğ., 2024).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre CIP, ilkbahar, yaz ve kış mevsimlerinde %60–100 aralığında değişen giderim yüzdeleriyle en yüksek giderim performansı gösteren antibiyotik olmuştur. Literatürde, CIP kimyasal yapısında bulunan fonksiyonel grupların enzimatik

reaksiyonlara görece daha duyarlı olduğu ve bu durumun biyolojik arıtım süreçlerinde yüksek giderim oranlarıyla sonuçlanabildiği bildirilmektedir. Bu bağlamda, CIP için gözlenen yüksek giderim yüzdeleri, literatürde rapor edilen biyotransformasyon eğilimleriyle uyumlu olup, enzimatik süreçlerin CIP gideriminde etkin rol oynadığını desteklemektedir.

SMX, yapısal olarak daha sert ve kararlı bir molekül olup aromatik halkalar içermektedir. Bu aromatik yapılar, enzimlerin doğrudan müdahalesine daha az elverişli bölgeler olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, SMX enzimatik bozunmaya karşı daha dirençli bir davranış sergilemekte ve giderim süreci diğer antibiyotiklere kıyasla daha yavaş ilerlemektedir. Bu yapısal direnç, konsantrasyon değişimlerinin zamana bağlı grafiklerinde daha kademeli ve sınırlı bir azalma şeklinde yansımaktadır (Oh ve diğ., 2025).

Sharifzadeh ve arkadaşları (2024), SMX gideriminde enzimatik oksidatif bir yaklaşımın uygulandığını rapor etmiş ve yaklaşık %83 oranında giderim sağlandığı belirtilmiştir. Giderim veriminin enzimin aktivasyonu ve hidrojen peroksit varlığı ile doğrudan ilişkili olduğu ifade edilirken, enzim miktarının artırılmasıyla birlikte giderimin yükseldiği sonucuna varılmıştır (Sharifzadeh ve diğ., 2024). Guo ve arkadaşları (2024), SMX gideriminin %96,4 civarında yüksek verimle gerçekleştirildiğini bildirmiştir. Giderimin, enzimlerin katalitik aktiviteleriyle ilişkili olduğu ifade edilirken, SMX'in oksidatif parçalanmasında etkin rol oynadığı, inhibitörlerle gerçekleştirilen deneylerde bu mekanizmanın kritik olduğunun doğrulandığı bildirilmiştir (Guo ve diğ., 2024). Sarnthima ve arkadaşları (2024), SMX gideriminin lakkaz enzimi kullanılarak 1 saatlik reaksiyon süresi sonunda gerçekleştirildiğini ve bu koşullarda %97,9 oranında giderim elde edildiğini rapor etmiştir (Sarnthima ve diğ., 2024). de Boer ve arkadaşları (2023), farklı enzim sistemleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda SMX'in başlangıçta yaklaşık %60 ile %100 arasında değişen oranlarda giderildiğini rapor etmiştir. Enzimatik ve immobilize enzim uygulamalarıyla sağlanan bu giderimin, belirli zaman noktalarında yapılan ölçümlerde ve özellikle sürekli akış ya da kesikli sistemlerde toplam giderimin %100'e yakın değerlere ulaştığı bildirilmiştir. Çalışmada, giderimin temel olarak oksidoredüktaz özellikteki enzimlerin katalitik aktiviteleriyle ilişkili olduğu ve bu enzimlerin SMX'in yapısal bozunumunu sağladığı ifade edilmiştir (de Boer ve diğ., 2023). Saidulu ve arkadaşları (2025), SMX için anoksik ve oksik koşullarda farklı giderim davranışlarının gözlendiğini bildirmiştir. Çalışmada, giderim oranlarının yaklaşık %45 ile %79 arasında değiştiği ve bu sürecin nitrata bağlı denitrifikasyon mekanizmalarıyla ilişkili enzimatik aktivitelerle bağlantılı olduğu ifade edilmiştir. Nitrifikasyon sürecinde görev alan amonyak

mono-oksidasyonunu katalizleyen enzimler ile nitrit oksidasyonuna katılan enzimlerin ve denitrifikasyon basamaklarında rol oynayan enzimatik sistemlerin, antibiyotiğin dönüşüm süreçlerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Saidulu ve diğ., 2025). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre SMX, ilkbahar, sonbahar ve kış mevsimlerinde %42–54 aralığında değişen giderim yüzdeleriyle seçilen antibiyotikler arasında en düşük giderim performansını göstermiştir. Buna karşılık, yaz mevsiminde SMX için %100 giderim elde edilmiştir. Literatürde, SMX biyolojik ve enzimatik arıtım süreçlerinde mevsimsel koşullara duyarlı bir giderim davranışı sergilediği, buna ek olarak SMX'in bozunmaya karşı dirençli gösterdiği ve bu durumun giderim oranının diğer antibiyotiklere kıyasla daha yavaş oluşmasına neden olduğu bildirilmektedir. Bu kapsamda, çalışmada elde edilen mevsimsel giderim profili, literatürde rapor edilen bulgularla uyumlu bir dağılım göstermektedir.

Gamboa ve arkadaşları (2022), CFZ'nin enzimatik ya da oksidatif yöntemler aracılığıyla belirli oranlarda bozunmaya uğratıldığını rapor etmiştir. Çalışmada, bakteriyel veya mantar kökenli lakkaz enzimlerinin kullanılmasıyla CFZ için %90'a varan degradasyon oranlarının elde edildiği belirtilmiştir (Mora-Gamboa ve diğ., 2022a). Rezaee ve arkadaşları (2023), CFZ gideriminin biyolojik ve biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleştiğini rapor etmiştir. Çalışmada, çözeltiden CFZ gideriminin başlangıç konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği ve farklı konsantrasyonlarda giderim oranlarının %14,3 ile %86,5 arasında seyrettiği belirtilmiştir. CFZ'nin ortamdan uzaklaştırılmasında biyodegradasyon ve adsorpsiyon süreçlerinin etkili olduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, giderim süreciyle birlikte antioksidan savunma sistemine ait enzim aktivitelerinde artış gözlendiği ve bu enzimlerin oksidatif stresin dengelenmesine katkı sağlayarak antibiyotiğin parçalanmasını desteklediği bildirilmiştir. Enzim aktivitelerinin düşük ve orta CFZ konsantrasyonlarında arttığı, yüksek konsantrasyonlarda ise enzim inaktivasyonunun ortaya çıktığı ifade edilmiştir; bu bulgular CFZ gideriminde enzimatik süreçlerin belirleyici rol oynadığını göstermektedir (Rezaee ve diğ., 2023). Sun ve arkadaşları (2025), genom analizlerinde antibiyotiklerin inaktivasyonu ile ilişkili enzimlerin varlığının değerlendirilebileceğini bildirmiştir. Çalışmada, enzim kaynaklı direnç mekanizmalarının özellikle CFZ gibi β-laktam antibiyotiklerini inaktive edebilen β-laktamaz benzeri enzimlerin varlığına işaret edebileceği ifade edilmiştir. Ayrıca, antibiyotik direncinin temel mekanizmaları arasında efluks pompaları, enzimatik modifikasyon süreçleri ve hedef bypass yollarının yer aldığı belirtilmiştir. Bu mekanizmaların, β-laktamaz enzimlerinin CFZ etkisizleştirilmesi veya dönüşümü sürecinde rol oynayabileceğini düşündürdüğü rapor

edilmiştir (Sun ve diğ., 2025). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre CFZ, dört mevsim genelinde %55–78 aralığında değişen giderim oranları sergilemiştir. Literatürde, CFZ grubu antibiyotiklerin biyolojik ve enzimatik arıtım süreçlerinde orta düzeyde ve değişken giderim davranışı gösterebildiği bildirilmektedir. Bu kapsamda, CFZ için gözlenen giderim aralığı, literatürde rapor edilen bulgularla uyumlu bir dağılım sergilemektedir.

Mardani ve ark. (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, enzimlerin aromatik halka bağlarını kırarak antibiyotik molekül yapısını bozduğu ve bu yolla giderimi kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada, söz konusu enzimin β-laktam grubu antibiyotikleri inaktif hâle getirebildiği ve sefalosporinlerin giderimine katkı sağladığı vurgulanmış; giderim oranı %69,53 olarak rapor edilmiştir (Mardani ve diğ., 2023). Waristo ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, enzimler aracılığıyla antibiyotik yapısındaki sefalosporin halkasının parçalandığı ve antibiyotiğin daha az toksik hâle geldiği ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, giderim oranının %81 olduğu rapor edilmiştir (Warsito, 2022). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre CXM, yaz mevsiminde %100 giderim oranı ile en yüksek performansı göstermiştir. Diğer mevsimlerde ise CXM giderim oranlarının %68–86 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Literatürde, sefalosporin grubu antibiyotiklerin biyolojik ve enzimatik arıtım süreçlerinde mevsimsel koşullara duyarlı bir giderim davranışı sergilediği; özellikle yaz döneminde artan sıcaklık ve enzimatik aktiviteye bağlı olarak daha yüksek giderim oranlarının elde edilebildiği bildirilmektedir.

## 5.2. NGS Analiz sonuçları

Dört farklı örneğe ait Krona analizleri karşılaştırıldığında, **tüm örneklerde** mikrobiyal topluluğun **baskın filumunun *Proteobacteria*** olduğu görülmüştür. Bununla birlikte örnekler arasında *Proteobacteria*'nın alt sınıflarının dağılımında farklılıklar dikkat çekmiştir.

**Sonbahar numunesinde**; ***Gammaproteobacteria* (%8)** ve ***Alphaproteobacteria* (%5)** birlikte belirgin düzeyde temsil edilirken, **ilkbahar numunesinde**; ***Gammaproteobacteria*'nın (%6)** baskın olduğu ve buna ek olarak ***Hyphomicrobiales* (%3)** grubunun öne çıktığı izlenmiştir. **Yaz numunesinde**; hem ***Gammaproteobacteria* (%6)** hem de ***Alphaproteobacteria* (%7)** oranlarının birbirine yakın olduğu ve *Alphaproteobacteria*'nın görece daha yüksek temsil edildiği belirlenmiştir. **Kış numunesinde** ise ***Gammaproteobacteria* (%7)** baskınlığını sürdürürken ***Alphaproteobacteria* (%4)** daha düşük oranda gözlenmiş, buna karşılık ***Bacillota (Firmicutes)*** filumu altında ***Peptostreptococcales* (%4)**, ***Lachnospirales* (%3)** ve ***Lactobacillales* (%3)** gibi alt taksonların daha belirgin şekilde raporlandığı görülmüştür. Ayrıca örnekler arasında düşük bolluklu taksonların dağılımında da farklılıklar bulunmuş; özellikle ***Fusobacteriales*** grubunun oranı örneklere göre değişmekle birlikte bazı örneklerde **%0,08–%0,5** aralığında tespit edilmiştir. Mahajna ve ark. (2025) yaptığı çalışma, *Proteobacteria* filumuna ait bakterilerin baskın ve metabolik olarak en aktif mikrobiyal grubu oluşturduğunu, buna ek olarak *Firmicutes* filumuna ait bazı taksonların da dikkate değer düzeyde temsil edildiğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, NGS verileri; özellikle *Proteobacteria* ve *Bacteroidota* filumlarının sistemde baskın bir konumda yer aldığını ve çevresel stres faktörlerine ile değişken tuzluluk koşullarına uyum sağlayabilen tuz toleranslı türlerin mikrobiyal topluluk yapısında ön plana çıktığını göstermektedir (Mahajna ve diğ., 2025). Buna ek olarak, Zhang ve ark. (2025) çalışmalarında, *Proteobacteria* filumunun %14,78 oranında baskın olduğunu belitmişlerdir (Zhang ve diğ., 2025b).

Dört mevsime ait numunelerin Krona analizleri birlikte değerlendirildiğinde, ***Pseudomonas*** grubunu temsil eden ***Pseudomonadales*/*Pseudomonadati*** taksonlarının tüm mevsim örneklerinde ***Proteobacteria*** içerisinde baskın alt gruplar arasında yer aldığı görülmüştür.

Buna karşılık ***Helicobacter*** taksonu **yalnızca kış numunesinde** belirgin şekilde raporlanmış olup, bu örnekte yaklaşık %2 düzeyinde tespit edilmiştir; ilkbahar, yaz ve sonbahar numunelerinde ise Helicobacter'e ait bir bolluk değeri grafikte belirgin olarak gösterilmemiştir. Gurugé ve ark. (2025) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, bakteriyel topluluk yapısının taksonomik analizi sonucunda *Proteobacteria, Bacteroidota, Actinobacteriota* ve *Firmicutes* filalarının yıl boyunca baskın taksonlar olarak sürekli yüksek oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir. Ana filogenetik grupların yıl boyunca farklı sezonlarda değişen oranlarda varlık gösterdiği; bakteriyel topluluk kompozisyonunun mevsimsel olarak farklılık sergilediği belirtilmiştir. Özellikle sonbahar mevsiminde yüksek bakteri çeşitliliği ve tür zenginliği gözlemlenirken, kış aylarında düşük sıcaklıkların etkisiyle soğuğa toleranslı bakterilerin ve potansiyel patojenlerin daha yüksek oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi patojen cinslerin de soğuk sezonlarda (kış ve ilkbahar) belirgin artış gösterdiği belirtilmiştir (Guruge ve diğ., 2025).

Lisintta ve ark. (2025) yaptıkları çalışmada fosfataz üreten bakteri *Bacillus* olarak tanımlanmıştır (Lisintta ve diğ., 2025). Song ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, *Bacillus* cinsinin *Bacillota* (*Firmicutes*) filumuna ait olduğu ve bu cinsin taksonomik konumuna ilişkin bilgiler sunulmuştur. Çalışmada *Bacillus* genusunun sınıflandırılması ile ilgili temel taksonomik özellikler aktarılmış ve *Bacillus* cinsinin literatürde yaygın olarak tanımlanmış bir bakteri grubu olduğu belirtilmiştir (Song ve diğ., 2023a). Jiang ve ark. (2025) tarafından bildirildiği üzere, fosfataz aktivitesi ile ilişkili bakteri grupları içerisinde *Klebsiella* türleri dikkat çekmekte ve bu cins çalışmada "keystone (anahtar) takson" olarak tanımlanmaktadır. Aynı çalışmada *Klebsiella*'nın fosfataz üretimiyle bağlantılı olduğu ve fosforun mobilizasyonu süreçlerinde rol oynayabildiği ifade edilmiştir. Ayrıca *Klebsiella*'nın *Proteobacteria* filumuna ait olduğu belirtilmiş; fosfataz enzimiyle ilişkili bakteriler arasında *Proteobacteria*'nın baskın filumlar arasında yer aldığı vurgulanmıştır (Jiang ve diğ., 2025). Ho ve ark. (2025) çalışmalarında, *Pseudomonadales* (*Pseudomonadati*) taksonunun *Proteobacteria* filumu içerisinde yer aldığını ve bu grubun *Gammaproteobacteria* sınıfı altında sınıflandırıldığını belirtmektedir (Ho ve diğ., 2025). Çalışmamızda *Pseudomonadati* filumu ilkbahar, yaz ve kış numunelerinde %25-29 arasında değişirken, sonbahar numunesinde %35'dir.

Singh ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada, *Limosilactobacillus fermentum* suşunun β-galaktozidaz enzimi üretebildiği raporlanmıştır. Çalışmada söz konusu suşun β-galaktozidaz aktivitesi ve laktoz hidrolizi ile ilişkisi incelenmiş; genom analizinde bu enzimle

ilişkili iki kopya β-galaktozidaz geninin bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca *Limosilactobacillus fermentum*'un *Firmicutes* (*Bacillota*) filumuna ait olduğu ifade edilmiştir (Singh ve diğ., 2025). Jin ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada, *Pseudomonas tritici* suşunun β-galaktozidaz üretim potansiyelinin ortaya konulduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca *Pseudomonas* cinsinin *Proteobacteria* filumu içerisinde sınıflandırıldığı belirtilmiştir (Jin ve diğ., 2025).

Wu ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada β-glukuronidaz enziminin *Clostridium perfringens* kaynaklı olduğu ve bu bakteriden türetildiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada *C. perfringens*'in taksonomik olarak *Firmicutes* (*Bacillota*) filumu içerisinde sınıflandırıldığı ifade edilmiştir (Wu ve diğ., 2025). Zhang ve ark. (2025) tarafından bildirildiği üzere, β-glukuronidaz enzimi üretebilen bakteriler arasında *Streptococcus* türleri ön plana çıkmaktadır. Çalışmada özellikle *Streptococcus dysgalactiae* ve *Streptococcus agalactiae* türlerinin β-glukuronidaz üretim potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu türlerin taksonomik olarak *Firmicutes* (*Bacillota*) filumu içerisinde yer aldığı ifade edilmiştir (Zhang ve diğ., 2025a).

Zeng ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, β-glukozidaz enzimi ile ilişkili bakteriyel gruplar arasında Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes ve Actinobacteria filumlarının yer aldığı belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca β-glukozidaz geni (GH3) taşıyan bakteriler içinde Proteobacteria'nın en baskın filum olduğu ve β-glukozidaz üretimiyle ilişkili önemli bir taksonomik grup olarak raporlandığı ifade edilmiştir (Zeng ve diğ., 2022). Borowik ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, β-glukozidaz aktivitesine katkı sağlayan bakteriler arasında *Bacillus* cinsinin önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir. Çalışmada *Bacillus* cinsinin farklı türleri kapsadığı ve β-glukozidaz üretimiyle ilişkili gruplar arasında yer aldığı ifade edilmiştir. Ayrıca *Bacillus* cinsinin taksonomik olarak çoğunlukla *Firmicutes (Bacillota)* filumu içerisinde sınıflandırıldığı bildirilmiştir (Borowik ve diğ., 2022).

Dört mevsime ait aktif çamur numunelerinde yapılan Krona analizleri birlikte değerlendirildiğinde, tüm örneklerde mikrobiyal topluluğun baskın filumunun *Proteobacteria* olması, biyolojik arıtım ortamlarında mevsimler boyunca korunan ortak bir mikrobiyal çekirdeğin varlığına işaret etmektedir. Bununla birlikte, alt taksonların göreli bolluklarındaki değişimler mikrobiyal kompozisyonun mevsimsel koşullara bağlı olarak dinamik bir yapı sergileyebildiğini göstermektedir. Bu çalışmada *Bacillota* filumu ilkbahar, yaz ve kış

numunelerinde %34–36 aralığında değişirken sonbahar numunesinde %17 düzeyinde belirlenmiş; buna karşılık *Pseudomonadati* filumu ilkbahar, yaz ve kış numunelerinde %25–29 aralığında bulunurken sonbahar numunesinde %35'e yükselmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte mikrobiyal aktivitenin ve topluluk içerisindeki bazı grupların göreli bolluklarının artabildiği, buna bağlı olarak biyolojik dönüşüm süreçlerinin daha etkin hale gelebileceği bilinmektedir. Bu durum, enzim + antibiyotik koşulu altında HPLC ile belirlenen giderim performanslarıyla birlikte ele alındığında daha belirgin hale gelmektedir.

Nitekim ilkbahar numunesinde antibiyotiklerin giderim yüzdeleri genel olarak yüksek seyretmiş; CIP için %85 ile en yüksek giderim elde edilirken, CXM %68 ve CFZ %63 düzeylerinde giderim göstermiş, SMX için ise giderim %54 olarak belirlenmiştir. Yaz numunesinde CIP, CXM ve SMX için giderim oranlarının %100 seviyesine ulaşması ve genel olarak en yüksek giderim verimlerinin bu dönemde elde edilmesi, sıcak dönemlerde biyolojik/enzimatik süreçlerin daha etkin gerçekleşebildiğini düşündürmektedir; buna karşın CFZ için giderimin %55 düzeyinde kalması antibiyotikler arasında giderim davranışının farklılaşabildiğini göstermektedir. Sonbahar numunesinde CXM için %86 ve CFZ için %78 giderim elde edilirken CIP %60 ve SMX %53 düzeyinde kalmıştır. Kış numunesinde ise giderim performansı CXM (%84) ve CIP (%80) için daha yüksek seyrederken, CFZ %68 ve SMX %42 ile daha düşük giderim göstermiştir. Genel olarak bu bulgular, mevsimler arasında mikrobiyal topluluk yapısında gözlenen değişimlerin ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerin, aktif çamurdan elde edilen enzimlerin antibiyotik giderim etkinliği üzerinde belirleyici olabileceğini ve özellikle bazı antibiyotiklerde mevsimsel koşullara bağlı olarak daha değişken bir giderim profili ortaya çıkabildiğini göstermektedir.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nden ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış olmak üzere dört farklı mevsimde alınan aktif çamur numunelerinden elde edilen hücresiz enzim fraksiyonlarının, seçilmiş antibiyotiklerin biyolojik dönüşüm potansiyeli üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Deneysel tasarım kapsamında antibiyotiklerin farklı zaman noktalarında (0,5; 4; 24; 48 ve 72 saat) konsantrasyon değişimleri izlenmiş; uygulamalar kontrol, enzim + antibiyotik ve aktif çamur + antibiyotik grupları üzerinden değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, aktif çamur kaynaklı enzimlerin antibiyotik gideriminde etkili olabileceğini ve biyotransformasyon süreçlerinin zamana, antibiyotik türüne ve mevsimsel farklılıklara bağlı olarak değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymuştur.

Çalışma bulguları incelendiğinde, enzim + antibiyotik uygulamasında tüm antibiyotikler için konsantrasyonların zamana bağlı olarak belirgin biçimde azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, sistemde antibiyotiklerin gideriminde biyolojik kökenli ve aktif bir enzimatik mekanizmanın devrede olabileceğini göstermektedir. Kontrol grubunda antibiyotik konsantrasyonlarında daha sınırlı değişim gözlenmesi, antibiyotiklerin ortam koşullarında kendiliğinden bozunmasının düşük olduğunu ve gözlenen giderim eğiliminin enzimatik süreçlerle ilişkili olduğunu desteklemektedir. Bu sonuçlar, literatürde antibiyotiklerin çevresel koşullarda yüksek stabilite gösterebildiği ve anlamlı düzeyde dönüşümün çoğunlukla biyolojik/enzimatik reaksiyonlarla gerçekleştiğine dair bulgularla uyumlu bir yaklaşım sunmaktadır.

Normalize giderim yüzdeleri dikkate alındığında, çalışmada antibiyotiklerin biyotransformasyonunda yüksek düzeyde giderim elde edildiği görülmüştür. Özellikle CIP, CXM ve SMX için maksimum düzeyde dönüşüm sağlanması, aktif çamurdan elde edilen enzim fraksiyonlarının bu antibiyotikler üzerinde güçlü bir dönüşüm potansiyeli gösterebildiğini ortaya koymaktadır. CFZ için gözlenen maksimum dönüşüm oranının diğer antibiyotiklere kıyasla daha düşük kalması ise antibiyotiklerin moleküler yapı farklılıklarının enzimatik reaksiyonlara duyarlılığı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda, antibiyotiklerin yapısal özellikleri, fonksiyonel grupları ve çevresel davranış parametreleri (pKa, logKow,

çözünürlük gibi) biyotransformasyon süreçlerinin verimliliğini belirleyen önemli faktörler olarak değerlendirilmiştir.

Zamana bağlı değişim profilleri değerlendirildiğinde, giderimin özellikle deneyin başlangıç evresinde daha hızlı gerçekleştiği; ilerleyen zaman dilimlerinde ise dönüşüm hızında kademeli bir yavaşlama meydana geldiği gözlenmiştir. Bu sonuç, yüksek başlangıç konsantrasyonlarında enzim–substrat etkileşiminin daha yoğun olması ve dönüşümün daha erişilebilir fraksiyonlar üzerinden ilerlemesi ile açıklanabilecek bir eğilim ortaya koymaktadır. Zamanın ilerlemesiyle birlikte antibiyotik konsantrasyonlarının azalması, dönüşüm için erişilebilir substrat miktarını sınırlamakta ve buna bağlı olarak reaksiyon hızının düşmesine neden olabilmektedir. Bu durum, enzimatik dönüşüm süreçlerinin kinetik olarak dinamik bir yapıda olduğunu ve temas süresinin giderim verimini önemli ölçüde etkileyebileceğini göstermektedir.

Bu tez kapsamında yalnızca giderim yüzdeleri değil, aynı zamanda mikrobiyal topluluk yapısının mevsimsel değişimi de değerlendirilerek biyolojik arıtımın mikrobiyolojik altyapısı bütüncül şekilde ele alınmıştır. NGS tabanlı 16S rRNA gen dizileme yaklaşımıyla aktif çamur mikrobiyotasının taksonomik profili ortaya konmuş; bu sayede arıtım koşullarına bağlı değişen mikrobiyal dağılımın, enzim üretimi ve biyotransformasyon mekanizmalarıyla ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir. Bu yaklaşım, aktif çamur sistemlerinin yalnızca konvansiyonel kirletici gideriminde değil, aynı zamanda organik mikrokirleticilerin dönüşümünde de önemli bir biyoreaktör ortamı sunduğunu desteklemektedir.

Genel olarak çalışma sonuçları, aktif çamur kaynaklı enzim fraksiyonlarının antibiyotik biyotransformasyonunda etkili olabileceğini, bu etkinliğin antibiyotik türüne ve temas süresine bağlı olarak farklılık gösterebildiğini ve çevre dostu arıtım teknolojilerinin geliştirilmesinde enzim temelli yaklaşımların uygulanabilir bir seçenek olabileceğini göstermiştir. Bu bulgular doğrultusunda, enzim temelli biyolojik dönüşüm süreçlerinin ileri arıtım uygulamalarına entegre edilmesi, atıksu kaynaklı antibiyotiklerin çevresel etkilerinin azaltılması açısından sürdürülebilir bir strateji olarak değerlendirilebilir.

Bu tez kapsamında elde edilen bulgular ve gözlemler doğrultusunda, enzim temelli biyotransformasyon süreçlerinin geliştirilmesine yönelik aşağıdaki öneriler sunulmaktadır:

**Dönüşüm ürünlerinin karakterizasyonu:** Antibiyotiklerin enzimatik dönüşümü sonucunda oluşan ara ürünlerin yalnızca konsantrasyon azalımı üzerinden değil, LC-MS/MS gibi ileri analitik tekniklerle yapısal olarak tanımlanması önerilmektedir. Böylece giderim sonucunda oluşabilecek ürünlerin çevresel riskleri daha doğru şekilde değerlendirilebilir.

**Toksisite ve antibakteriyel aktivite testleri:** Enzimatik dönüşüm sonrasında antibiyotiklerin biyolojik etkilerinin (antibakteriyel aktivite kaybı, ekotoksisite azalımı gibi) test edilmesi önerilmektedir. Bu yaklaşım, yalnızca konsantrasyon azalımının değil, "gerçek çevresel etkinin" ortaya konmasına katkı sağlayacaktır.

**Enzim aktivitesini etkileyen parametrelerin optimizasyonu:** pH, sıcaklık, temas süresi, enzim dozu ve substrat konsantrasyonu gibi parametrelerin sistematik şekilde optimize edilmesi önerilmektedir. Ayrıca inhibitör/aktivator etkilerinin incelenmesi, enzimlerin daha verimli kullanılmasını sağlayabilir.

**Farklı enzim tiplerinin karşılaştırılması ve kombinasyon yaklaşımı:**

Çalışmada elde edilen enzim fraksiyonuna ek olarak lakkaz, peroksidaz gibi oksidoredüktazların tekil ve kombine etkilerinin incelenmesi önerilir. Böylece antibiyotiklerin farklı kimyasal yapılarına yönelik daha geniş bir dönüşüm potansiyeli elde edilebilir.

**Matris etkisinin değerlendirilmesi (gerçek atıksu uygulamaları):** Laboratuvar koşullarında elde edilen giderim verimlerinin, gerçek atıksu matrisi (organik madde, iyonik bileşenler ve diğer kirleticiler) altında değişim gösterebileceği göz önünde bulundurularak saha/yarı pilot ölçekli çalışmalar önerilmektedir.

**Mevsimsel değişimin daha uzun dönem izlenmesi:** Mikrobiyal topluluk yapısı ve enzim aktivitesinde mevsimsel farklılıklar belirgin olabileceğinden, daha uzun süreli izleme çalışmalarıyla enzimatik dönüşüm performansının yıllık döngü içinde nasıl değiştiğinin değerlendirilmesi önerilmektedir.

**Arıtım teknolojilerine entegrasyon çalışmalarının geliştirilmesi:** Enzim temelli biyotransformasyon yaklaşımının, membran prosesler, ileri oksidasyon süreçleri veya adsorpsiyon gibi diğer tekniklerle birlikte değerlendirilerek entegre arıtım stratejileri geliştirilmesi, mikrokirleticilerin gideriminde daha yüksek verim sağlayabilir.

Sonuç olarak, aktif çamurdan elde edilen enzimlerin mikrokirleticilerin biyotransformasyonunda kullanılabilirliği bu tez kapsamında deneysel olarak desteklenmiş; elde edilen bulgular, antibiyotiklerin çevresel ortamlardan uzaklaştırılmasına yönelik sürdürülebilir biyoteknolojik uygulamaların geliştirilmesi açısından önemli bir bilimsel altyapı sunmuştur.

# KAYNAKLAR


Abalasei, M.E. ve diğ., 2025, The Impact of Climate Change on Water Quality: A Critical Analysis, *Water*, publisher.

Abbas, A. ve diğ., 2022, Review of Beta lactams.

Ahern, W. ve diğ., 2026, Atom-level enzyme active site scaffolding using RFdiffusion2, *Nature Methods*.

Ahmad, S. ve diğ., 2022, Microbial adaptation and impact into the pesticide's degradation, *Archives of Microbiology*.

Ahmed, S.F. ve diğ., 2021, Recent developments in physical, biological, chemical, and hybrid treatment techniques for removing emerging contaminants from wastewater, *Journal of Hazardous Materials*.

Akhtar, N. ve diğ., 2021, Various Natural and Anthropogenic Factors Responsible for Water Quality Degradation: A Review, *Water*, publisher.

Albarano, L. ve diğ., 2025, Environmental risk assessment of paracetamol in aquatic ecosystems using species sensitivity distribution and global occurrence data, *Journal of Hazardous Materials*.

Alex, R.A., Abraham, J., 2025, Mycoremediation of Sulfamethoxazole and metabolic pathway by Aspergillus tubingensis strain, *Biotechnology Letters*.

Al-Maqdi, K.A. ve diğ., 2021, Challenges and Recent Advances in Enzyme-Mediated Wastewater Remediation—A Review, *Nanomaterials*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Al-Sakkaf, M.K. ve diğ., 2023, An Up-to-Date Review on the Remediation of Dyes and Phenolic Compounds from Wastewaters Using Enzymes Immobilized on Emerging and Nanostructured Materials: Promises and Challenges, *Nanomaterials*, publisher.

Anacona, J.R., Toledo, C., 2001, Synthesis and antibacterial activity of metal complexes of ciprofloxacin, *Transition Metal Chemistry*.

Aza, P., Camarero, S., 2023, Fungal Laccases: Fundamentals, Engineering and Classification Update, *Biomolecules*, publisher.

Baho, D.L. ve diğ., 2021, Microplastics in terrestrial ecosystems: Moving beyond the state of the art to minimize the risk of ecological surprise, *Global Change Biology*.

Bao, Y. ve diğ., 2024, Focused rational iterative site-specific mutagenesis (FRISM): A powerful method for enzyme engineering, *Molecular Catalysis*.

Barros do Nascimento, A.C. ve diğ., 2025, Exploring Fungal Biodegradation Pathways of 2,4-D: Enzymatic Mechanisms, Synergistic Actions, and Environmental Applications, *ACS omega*.

Bavumiragira, J.P. ve diğ., 2025, Influence of Seasonal Variation in Antibiotic Concentration on the Fate and Transport of Antibiotics Within an Artificial Pond System, *Water*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Belete, B. ve diğ., 2023, Micropollutant Removal Efficiency of Advanced Wastewater Treatment Plants: A Systematic Review, *Environmental Health Insights*.

Ben kaida, A. ve diğ., 2025, *Cefazolin Biodegradation by a Molecularly Identified Bacterium: Hybrid RSM-ANN-GA Optimization and Enzyme Immobilization on $Fe_3O_4$ Nanoparticles*, Social Science Research Network, Rochester, NY.

Berillo, D. ve diğ., 2024, An Overview of Microorganisms Immobilized in a Gel Structure for the Production of Precursors, Antibiotics, and Valuable Products, *Gels (Basel, Switzerland)*.

Berthelet, M. ve diğ., 1996, Rapid, direct extraction of DNA from soils for PCR analysis using polyvinylpolypyrrolidone spin columns, *FEMS microbiology letters*.

Bilal, M. ve diğ., 2022, Biocatalytic remediation of pharmaceutically active micropollutants for environmental sustainability, *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*.

Bilal, M. ve diğ., 2023, Manganese peroxidases as robust biocatalytic tool — An overview of sources, immobilization, and biotechnological applications, *International Journal of Biological Macromolecules*.

Bollen, C. ve diğ., 2023, Environmental, mechanistic and evolutionary landscape of antibiotic persistence, *EMBO reports*.

Borowik, A. ve diğ., 2022, Bacteria and Soil Enzymes Supporting the Valorization of Forested Soils, *Materials*, publisher.

Bourrain, M. ve diğ., 1999, DNA extraction from activated sludges, *Current Microbiology*.

Bozkurt, E.U. ve diğ., 2024, Accelerating enzyme discovery and engineering with high-throughput screening, *Natural Product Reports*, The Royal Society of Chemistry.

Campbell, G. ve diğ., 2025, Occurrence and fate of glyphosate and AMPA in wastewater treatment plants in Australia, *Science of The Total Environment*.

Cárdenas-Moreno, Y. ve diğ., 2023, Oxidoreductase enzymes: Characteristics, applications, and challenges as a biocatalyst, *Biotechnology and Applied Biochemistry*.

Cavalcante, F.T.T. ve diğ., 2021, Current Status and Future Perspectives of Supports and Protocols for Enzyme Immobilization, *Catalysts*, publisher.

Chen, H. ve diğ., 2022a, Functional Redundancy in Soil Microbial Community Based on Metagenomics Across the Globe, *Frontiers in Microbiology*, Frontiers.

Chen, P. ve diğ., 2023, Enzymatic response and antibiotic resistance gene regulation by microbial fuel cells to resist sulfamethoxazole, *Chemosphere*.

Chen, Y. ve diğ., 2022b, Endocrine disrupting chemicals in the environment: Environmental sources, biological effects, remediation techniques, and perspective, *Environmental Pollution*.

Chen, Z. ve diğ., 2025, *Emerging Pollutants in Groundwater: The Origin, Transport Pathways, Remediation, and Challenges*, Emerging Pollutants: Protecting Water Quality for the Health of People and the Environment, Springer Nature Switzerland, Cham. ISBN: 978-3-031-71758-1.

Chmelová, D. ve diğ., 2024, Laccases as Effective Tools in the Removal of Pharmaceutical Products from Aquatic Systems, *Life*.

Chu, Y. ve diğ., 2024, Novel insights into revealing the intrinsic degradation mechanism of ciprofloxacin by *Chlorella sorokiniana*: Removal efficiency, pathways and metabolism, *Chemical Engineering Journal*.

Coccia, M., Bontempi, E., 2023, New trajectories of technologies for the removal of pollutants and emerging contaminants in the environment, *Environmental Research*.

de Boer, S. ve diğ., 2025, Advancing the enzymatic removal of antibiotics with unspecific peroxygenase and vanadium chloroperoxidase, *Journal of Environmental Chemical Engineering*.

de Boer, S.R. ve diğ., 2023, Towards oxidoreductase-based processes for the removal of antibiotics from wastewater, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*.

Di Marcantonio, C. ve diğ., 2024, Linking conventional activated sludge treatment plant performances for micropollutants removal to environmental risk and SimpleTreat model assessment, *International Journal of Environmental Science and Technology*.

Di Santo, A. ve diğ., 2015, Biofilm inhibition by a new Mn(II) complex with sulfamethoxazole: Synthesis, spectroscopic characterization and crystal structure, *Inorganica Chimica Acta*.

Doorenspleet, K. ve diğ., 2025, Advancing molecular macrobenthos biodiversity monitoring: a comparison between Oxford Nanopore and Illumina based metabarcoding and metagenomics, *PeerJ*.

Emamjomeh, M.M. ve diğ., 2024, Anodic oxidation of ciprofloxacin antibiotic and real pharmaceutical wastewater with Ti/PbO2 electrocatalyst: Influencing factors and degradation pathways, *Journal of Water Process Engineering*.

Ethiraj, S. ve diğ., 2024, A comprehensive review of the challenges and opportunities in microalgae-based wastewater treatment for eliminating organic, inorganic, and emerging pollutants, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

Ezra, R. ve diğ., 2025, Sustainable, Targeted, and Cost-Effective Laccase-Based Bioremediation Technologies for Antibiotic Residues in the Ecosystem: A Comprehensive Review, *Biomolecules*.

Fan, X. ve diğ., 2023, Global diversity and biogeography of DNA viral communities in activated sludge systems, *Microbiome*.

Fan, Y. ve diğ., 2024, Mechanisms of partial denitrification in an integrated fixed-film activated sludge (IFAS) system: From progressive startup to stabilization, *Journal of Water Process Engineering*.

Fernández-Fernández, V. ve diğ., 2023, Basic micro-pollutants in sludge from municipal wastewater treatment plants in the Northwest Spain: Occurrence and risk assessment of sludge disposal, *Chemosphere*.

Fu, B. ve diğ., 2024, Ecological criteria for antibiotics in aquatic environments based on species sensitivity distribution, *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Gałązka, A. ve diğ., 2023, Biochemical Characteristics of Laccases and Their Practical Application in the Removal of Xenobiotics from Water, *Applied Sciences*, publisher.

Ge, Y. ve diğ., 2012, Molecular dynamics simulation of the complex PBP-2x with drug cefuroxime to explore the drug resistance mechanism of Streptococcus suis R61, *PloS One*.

Ghosh, R. ve diğ., 2024, Occurrence, fate, transport, and removal technologies of emerging contaminants: A review on recent advances and future perspectives, *CLEAN – Soil, Air, Water*.

Gini, S. ve diğ., 2025, Microbial Remediation of Seafood Processing Effluent Enhances the Removal Efficiency of BOD, COD, and Nitrogenous Compounds and Evaluating its Toxicity, *Water, Air, & Soil Pollution*.

Green, M.R., Sambrook, J., 2016, Precipitation of DNA with Ethanol, *Cold Spring Harbor Protocols*.

Griffiths, R.I. ve diğ., 2000, Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition, *Applied and Environmental Microbiology*.

Guo, X. ve diğ., 2024, Enzyme-induced reactive oxygen species trigger oxidative degradation of sulfamethoxazole within a methanotrophic biofilm, *Water Research*.

Guo, Z. ve diğ., 2023, Photodegradation of organic micropollutants in aquatic environment: Importance, factors and processes, *Water Research*.

Guruge, S.K. ve diğ., 2025, Seasonal variation of antibiotic resistance genes in activated sludge of a full-scale municipal wastewater treatment plant: Contribution of activated sludge functional taxa and clinically relevant taxa, *Water Research*.

Haenelt, S. ve diğ., 2023, The fate of sulfonamide resistance genes and anthropogenic pollution marker intI1 after discharge of wastewater into a pristine river stream, *Frontiers in Microbiology*, Frontiers.

Haji, I. ve diğ., 2023, Hybrid bio-activated sludge-electro-Fenton system for a sustainable removal of cefuroxime sodium antibiotic in aqueous medium: optimization, biodegradability improvement and mechanism, *Nanotechnology for Environmental Engineering*.

Han, T. ve diğ., 2021, Comprehensive insights into core microbial assemblages in activated sludge exposed to textile-dyeing wastewater stress, *Science of The Total Environment*.

Hanna, N. ve diğ., 2023, Antibiotic concentrations and antibiotic resistance in aquatic environments of the WHO Western Pacific and South-East Asia regions: a systematic review and probabilistic environmental hazard assessment, *The Lancet. Planetary Health*.

Hasanan, K. ve diğ., 2024, Biochar-enhanced anaerobic mixed culture for biodegradation of 1,2-dichloroethane: Microbial community, mechanisms, and techno-economics, *Chemosphere*.

Hernández-Tenorio, R., 2023, Pharmaceutical active compounds at drugs manufacturing wastewater: A review, *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*.

Hidayatullah, I.M. ve diğ., 2025, Advances in Antibiotic Biodegradation: Emerging Strategies and Challenges in Mitigating Environmental Contamination and Resistance, *Current Pollution Reports*.

Ho, J.Y. ve diğ., 2025, Discovery of a phylogenetically novel tropical marine Gammaproteobacteria elucidated from assembled genomes and the proposed transfer of the genus Umboniibacter from the family Cellvibrionaceae to Umboniibacteraceae fam. nov, *Frontiers in Microbiology*.

Hommel, E. ve diğ., 2025, Following the Mixtures of Organic Micropollutants with In Vitro Bioassays in a Large Lowland River from Source to Sea, *ACS Environmental Au*, American Chemical Society.

Huang, S. ve diğ., 2022a, The Effect Review of Various Biological, Physical and Chemical Methods on the Removal of Antibiotics, *Water*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Huang, Y. ve diğ., 2022b, Metagenomics and metatranscriptomics analyses of antibiotic synthesis in activated sludge, *Environmental Research*.

Iftikhar, N. ve diğ., 2023, Sulfamethoxazole (SMX) Alters Immune and Apoptotic Endpoints in Developing Zebrafish (Danio rerio), *Toxics*, publisher.

Janusz, G. ve diğ., 2023, Potential of Laccase as a Tool for Biodegradation of Wastewater Micropollutants, *Water*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Jiang, Y. ve diğ., 2025, Enhancement of soil phosphorus mineralization and phosphorus availability by labile carbon in organic amendments through boosting copiotrophic phosphatase-producing bacteria, *Plant and Soil*.

Jijie, R. ve diğ., 2023, Effects of Single and Combined Ciprofloxacin and Lead Treatments on Zebrafish Behavior, Oxidative Stress, and Elements Content, *International Journal of Molecular Sciences*.

Jin, X. ve diğ., 2025, A New β-Galactosidase from Pseudomonas tritici SWRI145 for Efficient Bioproduction of Galactooligosaccharides, *Foods*, publisher.

Kaur Sodhi, K., Singh, C.K., 2022, Recent development in the sustainable remediation of antibiotics: A review, *Total Environment Research Themes*, Elsevier.

Kennes-Veiga, D.M. ve diğ., 2021, Heterotrophic enzymatic biotransformations of organic micropollutants in activated sludge, *Science of The Total Environment*.

Kesari, K.K. ve diğ., 2021, Wastewater Treatment and Reuse: a Review of its Applications and Health Implications, *Water, Air, & Soil Pollution*.

Khan, J.A. ve diğ., 2025, Effective disinfection of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes from water using chlorination, UV and UV/H2O2, *Process Safety and Environmental Protection*.

Khan, N.A. ve diğ., 2023, Emerging membrane technology and hybrid treatment systems for the removal of micropollutants from wastewater, *Desalination*.

Kilpinen, K. ve diğ., 2024, Temporal trends and sources of organic micropollutants in wastewater, *Science of The Total Environment*.

Klanovicz, N. ve diğ., 2023, A review of hybrid enzymatic-chemical treatment for wastewater containing antiepileptic drugs, *Environmental Science and Pollution Research*.

Kotwani, A. ve diğ., 2023, Treatment and disposal practices of pharmaceutical effluent containing potential antibiotic residues in two states in India and perceptions of various stakeholders on contribution of pharmaceutical effluent to antimicrobial resistance: a qualitative study, *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*.

Krah, D. ve diğ., 2016, Micropollutant degradation via extracted native enzymes from activated sludge, *Water Research*.

Kumari, S., Das, S., 2023, Bacterial enzymatic degradation of recalcitrant organic pollutants: catabolic pathways and genetic regulations, *Environmental Science and Pollution Research*.

Kunhikannan, S. ve diğ., 2021, Environmental hotspots for antibiotic resistance genes, *MicrobiologyOpen*.

Kümmerer, K. ve diğ., 2018, A path to clean water, *Science (New York, N.Y.)*.

Le, T.H. ve diğ., 2023, Occurrence and removal of antibiotic resistant Escherichia coli and antibiotic resistance genes in an urban wastewater treatment plant, *International Journal of Environmental Science and Technology*, Springer.

Leichtweis, J. ve diğ., 2022, A review of the occurrence, disposal, determination, toxicity and remediation technologies of the tetracycline antibiotic, *Process Safety and Environmental Protection*.

Li, F. ve diğ., 2022a, Insights into the distribution, partitioning and influencing factors of antibiotics concentration and ecological risk in typical bays of the East China Sea, *Chemosphere*.

Li, S. ve diğ., 2022b, Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: From occurrence to treatment strategies, *Science of The Total Environment*.

Li, X. ve diğ., 2024a, Comprehensive review of emerging contaminants: Detection technologies, environmental impact, and management strategies, *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Li, Z. ve diğ., 2024b, Physiological responses and removal mechanisms of ciprofloxacin in freshwater microalgae, *Journal of Hazardous Materials*.

Lin, J. ve diğ., 2025, One-step degradation of 4 classes of β-lactam using β-lactamase enzyme cocktail, *Scientific Reports*.

Lisintta, E.S. ve diğ., 2025, A psychrotolerant extracellular phosphatase from Krossfjorden sediment bacterium Bacillus cereus KR_O9: purification and functional characterization, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*.

Liu, G. ve diğ., 2024, Biocatalytic membranes with crosslinked enzyme aggregates for micropollutant removal, *Chemical Engineering Journal*.

Liu, Y. ve diğ., 2023a, Occurrence, fate, and risk assessment of antibiotics in typical pharmaceutical manufactories and receiving water bodies from different regions, *PloS One*.

Liu, Z. ve diğ., 2023b, Cross-Linked Enzyme Aggregate (CLEA) Preparation from Waste Activated Sludge, *Microorganisms*, publisher.

Liu, Z., Smith, S.R., 2021, Enzyme Recovery from Biological Wastewater Treatment, *Waste and Biomass Valorization*.

Löffler, P. ve diğ., 2023, Antimicrobial Transformation Products in the Aquatic Environment: Global Occurrence, Ecotoxicological Risks, and Potential of Antibiotic Resistance, *Environmental Science & Technology*.

Lu, Y. ve diğ., 2025, Genome and Metagenome Skimming: Future Sequencing Methods for Environmental DNA (eDNA) Studies, *Molecular Ecology Resources*.

Lyu, B. ve diğ., 2025, Microbial metabolic enzymes, pathways and microbial hosts for co-metabolic degradation of organic micropollutants in wastewater, *Water Research*.

Maghimaa M. ve diğ., 2025, Addressing the Persistent Threat of Emerging Micropollutants: Innovative Treatment Technologies for Protecting Human Health and Ecosystem Stability, *Water, Air, & Soil Pollution*.

Mahajna, A. ve diğ., 2025, Metatranscriptomes of activated sludge microbiomes from saline wastewater treatment plant, *Scientific Data*.

Maleki, E. ve diğ., 2025, Assessment of active heterotrophs and hydrolytic enzyme activities as indicators of hydrolysis rates in anaerobic digestion of mixed primary and waste activated sludges, *Journal of Environmental Chemical Engineering*.

Mardani, G. ve diğ., 2023, Biodegradation of ceftriaxone in soil using dioxygenase-producing genetically engineered Pseudomonas putida, *Bioremediation Journal*, Taylor & Francis.

Martin, M. ve diğ., 2024, Differential biotransformation of micropollutants in conventional activated sludge and up-flow anaerobic sludge blanket processes, *Environmental Science: Water Research & Technology*, The Royal Society of Chemistry.

Martins, T.A.E. ve diğ., 2024, Micropollutant biotransformation under different redox conditions in PhoRedox conventional activated sludge systems, *Environmental Technology and Innovation*.

McIlroy, S.J. ve diğ., 2009, Extracting nucleic acids from activated sludge which reflect community population diversity, *Antonie Van Leeuwenhoek*.

Meiczinger, M. ve diğ., 2022, Stability improvement of laccase for micropollutant removal of pharmaceutical origins from municipal wastewater, *Clean Technologies and Environmental Policy*.

Mejías, C. ve diğ., 2024, Occurrence, dissipation kinetics and environmental risk assessment of antibiotics and their metabolites in agricultural soils, *Journal of Hazardous Materials*.

Meng, Y. ve diğ., 2021, Fate and risk assessment of emerging contaminants in reclaimed water production processes, *Frontiers of Environmental Science & Engineering*.

Moghaddam, A. ve diğ., 2023, Biodegradation of pharmaceutical compounds in industrial wastewater using biological treatment: a comprehensive overview, *International Journal of Environmental Science and Technology*.

Molnarova, L. ve diğ., 2023, Monitoring Pharmaceuticals and Personal Care Products in Drinking Water Samples by the LC-MS/MS Method to Estimate Their Potential Health Risk, *Molecules*, publisher.

Mora-Gamboa, M.P.C. ve diğ., 2022a, Impact of Antibiotics as Waste, Physical, Chemical, and Enzymatical Degradation: Use of Laccases, *Molecules*, publisher.

Mora-Gamboa, M.P.C. ve diğ., 2022b, Impact of Antibiotics as Waste, Physical, Chemical, and Enzymatical Degradation: Use of Laccases, *Molecules*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Morin-Crini, N. ve diğ., 2022, Removal of emerging contaminants from wastewater using advanced treatments. A review, *Environmental Chemistry Letters*.

Mosaka, T.B.M. ve diğ., 2022, Inactivation of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic-resistance genes in wastewater streams: Current challenges and future perspectives, *Frontiers in Microbiology*.

Moussa, A.W.N. ve diğ., 2023, Critical State of the Art of Sugarcane Industry Wastewater Treatment Technologies and Perspectives for Sustainability, *Membranes*, publisher.

Mukhopadhyay, A. ve diğ., 2022, Emerging organic contaminants in global community drinking water sources and supply: A review of occurrence, processes and remediation, *Journal of Environmental Chemical Engineering*.

Murray, L.M. ve diğ., 2024, Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants, *npj Antimicrobials and Resistance*, Nature Publishing Group.

Nuryana, I. ve diğ., 2023, Potential activity of recombinant laccase for biodegradation of ampicillin, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing.

Odabasi, S.U. ve diğ., 2020, Sucul ortamdaki bazı mikrokirleticilerin oluşumu, durumu ve ileri oksidasyon prosesleri ile giderilmesi, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi.

Oh, S. ve diğ., 2025, Assessing the environmental risk potential of transformation byproducts formed during fungal enzymatic treatment of a pharmaceutical mixture, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*.

Ojija, F., 2024, Emerging environmental contaminants: Sources, effects on biodiversity and humans, remediation, and conservation implications, *Science Progress*.

Pan, Y. ve diğ., 2025, Emerging Organic Contaminants in the Third Pole Region: Sources, Transport, and Associated Risks, *Environmental Science & Technology*, American Chemical Society.

Pandis, P.K. ve diğ., 2022, Key Points of Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Wastewater, Organic Pollutants and Pharmaceutical Waste Treatment: A Mini Review, *ChemEngineering*, publisher.

Pang, S. ve diğ., 2025, Seasonal differences, source, and fate of antibiotics in a plain river network-informed watershed, *Emerging Contaminants*.

Patel, M. ve diğ., 2019, Pharmaceuticals of Emerging Concern in Aquatic Systems: Chemistry, Occurrence, Effects, and Removal Methods, *Chemical Reviews*, American Chemical Society.

Priya, A.K. ve diğ., 2022, Occurrences and removal of pharmaceutical and personal care products from aquatic systems using advanced treatment- A review, *Environmental Research*.

Qiao, L.-K. ve diğ., 2025, Deciphering key traits and dissemination of antibiotic resistance genes and degradation genes in pharmaceutical wastewater receiving environments, *Water Research*.

Qu, Y.-Y. ve diğ., 2009, Optimization of metagenomic DNA extraction from activated sludge samples, *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*.

Radwan, E.K. ve diğ., 2023, Recent trends in treatment technologies of emerging contaminants, *Environmental Quality Management*.

Rathore, S. ve diğ., 2022, An innovative approach of bioremediation in enzymatic degradation of xenobiotics, *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*.

Rezaee, A. ve diğ., 2023, Cellular toxicity of cefazolin sodium to the green microalga Chlorella vulgaris: evaluation of biological responses, *Biologia*.

Rich, S.L., Helbling, D.E., 2023, Daily Monitoring at a Full-Scale Wastewater Treatment Plant Reveals Temporally Variable Micropollutant Biotransformations, *Environmental Science & Technology*.

Rodprasert, W. ve diğ., 2021, Endocrine Disrupting Chemicals and Reproductive Health in Boys and Men, *Frontiers in Endocrinology*.

Rodrigues, F. ve diğ., 2025, Pharmaceuticals in urban streams: A review of their detection and effects in the ecosystem, *Water Research*.

Saidulu, D. ve diğ., 2025, Evaluating the role of different redox conditions on the removal of sulfamethoxazole, acetaminophen, and carbamazepine from wastewater: Insights into biodegradation and sorption mechanisms, *Journal of Environmental Chemical Engineering*.

Sarnthima, R. ve diğ., 2024, Laccase from Streptomyces sp. CS29 and molecular insight of sulfamethoxazole degradation, *Biologia*.

Satam, H. ve diğ., 2023, Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements, *Biology*, publisher.

Saxena, V., 2025, Water Quality, Air Pollution, and Climate Change: Investigating the Environmental Impacts of Industrialization and Urbanization, *Water, Air, & Soil Pollution*.

Sellami, K. ve diğ., 2022, Peroxidase enzymes as green catalysts for bioremediation and biotechnological applications: A review, *Science of The Total Environment.*

Shabbirahmed, A.M. ve diğ., 2025, Biomass as eco-friendly adsorbents for the removal of emerging pollutants from wastewater: A review, *Discover Applied Sciences*.

Shan, G. ve diğ., 2008, Purification of total DNA extracted from activated sludge, *Journal of Environmental Sciences (China).*

Shang, W. ve diğ., 2021, Potential biotransformation pathways and efficiencies of ciprofloxacin and norfloxacin by an activated sludge consortium, *The Science of the Total Environment*.

Sharifzadeh, M. ve diğ., 2024, Enzymatic removal of the sulfa drugs sulfamethoxazole and sulfamerazine from synthetic wastewater by soybean peroxidase, *Environmental Science and Pollution Research International*.

Sharma, L. ve diğ., 2021, The Toxic Effects of Antibiotics on Freshwater and Marine Photosynthetic Microorganisms: State of the Art, *Plants*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Singh, A.K. ve diğ., 2024, Biocatalytic Functionalities of Lignin Peroxidase-Based Systems in Lignin Depolymerization and Pollutants Removal from Environmental Matrices, *Current Pollution Reports*.

Singh, A.K. ve diğ., 2025, Genetic and functional characterization of a *Limosilactobacillus fermentum* strain with β-galactosidase activity, isolated from *Chhurpi* sample of Sikkim, *Food and Bioproducts Processing*.

Singh, N.K. ve diğ., 2023, Fate of pesticides in agricultural runoff treatment systems: Occurrence, impacts and technological progress, *Environmental Research*.

Song, Y.C. ve diğ., 2023a, A comparative genome analysis of the Bacillota (Firmicutes) class Dehalobacteriia, *Microbial Genomics*.

Song, Z. ve diğ., 2023b, Rational design of enzyme activity and enantioselectivity, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.

Sowik, P. ve diğ., 2024, Solar-Driven Degradation of Ciprofloxacin in the Aquatic Environment, *Journal of Ecological Engineering*.

Spaolonzi, M.P. ve diğ., 2022, Adsorption of cefazolin on organoclay: experimental design, characterization, and a complete batch study, *Environmental Science and Pollution Research International*.

Sun, K. ve diğ., 2024, Laccase-evoked removal of antibiotics: Reaction kinetics, conversion mechanisms, and ecotoxicity assessment, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, T+F.

Sun, N. ve diğ., 2025, Genomic analysis and antibiotic resistance of a multidrug-resistant bacterium isolated from pharmaceutical wastewater treatment plant sludge, *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Tang, Y. ve diğ., 2025, Occurrence of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria in a Japanese city revealed by wastewater surveillance in the sewer system, *Water Research*.

Tarigan, M. ve diğ., 2025, The Occurrence of Micropollutants in the Aquatic Environment and Technologies for Their Removal, *Processes*, publisher.

Tong, X. ve diğ., 2022, Source, fate, transport and modelling of selected emerging contaminants in the aquatic environment: Current status and future perspectives, *Water Research*.

Torres-Farradá, G. ve diğ., 2024, White Rot Fungi as Tools for the Bioremediation of Xenobiotics: A Review, *Journal of Fungi*, publisher.

Tran, N.H. ve diğ., 2018, Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review, *Water Research*.

Trueba-Santiso, A. ve diğ., 2025, Ciprofloxacin biotransformation during anaerobic digestion: Major transformation products elucidation and environmental proteomics, *Journal of Hazardous Materials*.

Ullah, M. ve diğ., 2024, A Cost-Effective, Eco-Friendly and Functional Wastewater Pre-Treatment Procedure Development for the Degradation of β-Lactam Antibiotic Residues Discharged from Cephalosporin Drug Manufacturing Plant, *Water, Air, & Soil Pollution*.

Vasudeva, G. ve diğ., 2022, Metagenomics: An Approach for Unraveling the Community Structure and Functional Potential of Activated Sludge of a Common Effluent Treatment Plant, *Frontiers in Microbiology*, Frontiers.

Vettorello, G. ve diğ., 2024, Degradation of the Micropollutant Amoxicillin using Enzymatic Treatment and Evaluation of Resulting Byproducts, *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*.

Victorino da Silva Amatto, I. ve diğ., 2022, Enzyme engineering and its industrial applications, *Biotechnology and Applied Biochemistry*.

Wan, P. ve diğ., 2023, Enhanced degradation of extracellular polymeric substances by yeast in activated sludge to achieve sludge reduction, *Bioresource Technology*.

Wang, H. ve diğ., 2021, Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal care products in the water environment: A review, *Science of The Total Environment*.

Wang, J. ve diğ., 2022, Iodide ions enhancing sulfamerazine degradation by horseradish peroxidase/H2O2: Degradation products, degradation mechanism and toxicity assessment, *Journal of Cleaner Production*.

Wang, Q. ve diğ., 2025a, The role of bacteriophages in facilitating the horizontal transfer of antibiotic resistance genes in municipal wastewater treatment plants, *Water Research*.

Wang, X. ve diğ., 2025b, Treatment of antibiotic-manufacturing wastewater enriches for Aeromonas veronii, a zoonotic antibiotic-resistant emerging pathogen, *The ISME Journal*.

Warsito, M.F., 2022, A review on potential microbes for bioremediation of antibiotics contamination in the environment, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing.

Wei, H. ve diğ., 2025, Advanced Materials-Based Nanofiltration Membranes for Efficient Removal of Organic Micropollutants in Water and Wastewater Treatment, *Membranes*.

Wen, Q. ve diğ., 2025, Ultrasonic-Cavitation-Enhanced Biodegradation of Ciprofloxacin: Mechanisms and Efficiency, *Water*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Wu, G. ve diğ., 2024a, Transformation mechanisms of antidepressants in biological wastewater treatment: Removal kinetic, transformation products and pathways, *Chemical Engineering Journal*.

Wu, Q. ve diğ., 2025, Heterologous Expression and Enzymatic Properties of β-Glucuronidase from Clostridium perfringens and Its Application in Bilirubin Transformation, *Microorganisms*, publisher.

Wu, X. ve diğ., 2024b, Mechanism of microplastics promoting sulfamethoxazole biodegradation in activated sludge as revealed by DNA-stable isotope probing, *Science of The Total Environment*.

Xu, D. ve diğ., 2022, Toxic effects and molecular mechanisms of sulfamethoxazole on *Scenedesmus obliquus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Xu, M. ve diğ., 2024a, Anthracene degradation involved by antibiotic biosynthesis monooxygenase (ABM) in *Comamonas testosteroni*, *International Biodeterioration & Biodegradation*.

Xu, Y. ve diğ., 2023, Unravelling ciprofloxacin removal in a nitrifying moving bed biofilm reactor: Biodegradation mechanisms and pathways, *Chemosphere*.

Xu, Y. ve diğ., 2024b, Optimizing ciprofloxacin removal through regulations of trophic modes and FNA levels in a moving bed biofilm reactor performing sidestream partial nitritation, *Water Research X*.

Xue, S.-J. ve diğ., 2024, Multi-pathways-mediated mechanisms of selenite reduction and elemental selenium nanoparticles biogenesis in the yeast-like fungus *Aureobasidium melanogenum* I15, *Journal of Hazardous Materials*.

Yang, H. ve diğ., 2020, Residues, bioaccumulation, and trophic transfer of pharmaceuticals and personal care products in highly urbanized rivers affected by water diversion, *Journal of Hazardous Materials*.

Yao, M.-C. ve diğ., 2025, Aquatic Biofilm as a Hotspot for Manganese Oxidation Enabled by Microbial Extracellular Matrix-Mediated Dual-Pathway Electron Transfer, *Environmental Science & Technology*, American Chemical Society.

Żandarek, J. ve diğ., 2023, *Simulated Sunlight Irradiation of Cefuroxime Axetil: Identification of Photoproducts by Uplc-Ms/Ms and Testing Their Potential Ecotoxicity*, Social Science Research Network, Rochester, NY.

Żandarek, J. ve diğ., 2024, Analysis of pharmacokinetic profile and ecotoxicological character of cefepime and its photodegradation products, *Chemosphere*.

Zaynab, M. ve diğ., 2022, Health and environmental effects of heavy metals, *Journal of King Saud University - Science*.

Zdarta, J. ve diğ., 2021, Enhanced Wastewater Treatment by Immobilized Enzymes, *Current Pollution Reports*.

Zeng, Q. ve diğ., 2022, Intensive citrus plantations suppress the microbial profiles of the β-glucosidase gene, *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

Zhang, H. ve diğ., 2023, Seasonal distribution and dynamic evolution of antibiotics and evaluation of their resistance selection potential and ecotoxicological risk at a wastewater treatment plant in Jinan, China, *Environmental Science and Pollution Research International*.

Zhang, R. ve diğ., 2025a, Preliminary study of biliary microbiota and identification of bacterial species associated with pigmented gallstone formation, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Frontiers.

Zhang, Y. ve diğ., 2025b, High-throughput single-cell sequencing of activated sludge microbiome, *Environmental Science and Ecotechnology*.

Zhao, Y. ve diğ., 2024, Strain-level multidrug-resistant pathogenic bacteria in urban wastewater treatment plants: Transmission, source tracking and evolution, *Water Research*.

Zheng, C. ve diğ., 2024a, Advancements in enzymatic reaction-mediated microbial transformation, *Heliyon*.

Zheng, J. ve diğ., 2024b, Deciphering the core bacterial community structure and function and their response to environmental factors in activated sludge from pharmaceutical wastewater treatment plants, *Environmental Pollution*.

Zhong, F. ve diğ., 2024, Photodegradation of ciprofloxacin and its interaction with Cu(II) in different water matrices: Insight into degradation pathways, *Environmental Pollution*.

Zhou, J. ve diğ., 1996, DNA recovery from soils of diverse composition, *Applied and Environmental Microbiology*.

Zhou, S. ve diğ., 2024, A new understanding on the prerequisite of antibiotic biodegradation in wastewater treatment: Adhesive behavior between antibiotic-degrading bacteria and ciprofloxacin, *Water Research*.

# İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

AKTİF ÇAMUR ENZİMLERİYLE ORGANİK MİKROKİRLETİCİLERİN BİYOLOJİK DÖNÜŞÜMÜ

ORİJİNALLİK RAPORU

| %5 | %4 | %2 | %2 |
|---|---|---|---|
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

BİRİNCİL KAYNAKLAR

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)<br>Öğrenci Ödevi | %1 |
| 2 | acikbilim.yok.gov.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 3 | www.aqua-calc.com<br>İnternet Kaynağı | <%1 |
| 4 | Submitted to Celal Bayar Ãniversitesi<br>Öğrenci Ödevi | <%1 |
| 5 | dergipark.org.tr<br>İnternet Kaynağı | <%1 |
| 6 | www.researchgate.net<br>İnternet Kaynağı | <%1 |
| 7 | Hanedan, Başak. "Enteritisli Köpeklerde Metabolik Asidozisin Mikro CO2Sistemi Ile Ölçümü ve Sağaltımı", Ankara Universitesi (Turkey), 2024<br>Yayın | <%1 |

# ETİK KURUL İZİN YAZISI

**Uyarı:** Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

☐ **Etik Kurul izni gerekmektedir.**

☒ **Etik Kurul izni gerekmemektedir.**

# KURUM İZNİ YAZILARI

**Uyarı:** Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

☒ **Kurum izni gerekmektedir.**

☐ **Kurum izni gerekmemektedir.**