

## 2. MİKROBİYAL METABOLİZMA

Metabolizma 2 genel işlemde oluşur; Anabolizm ve Katabolizm.

**Anabolizm:** Mikroorganizmanın hücre materyalini yapabilmesi için enerji gereksinimi işlemi,

**Katabolizm:** Mikroorganizmanın bileşikleri yükseltgemesi için enerjinin açığa çıkması işlemi.

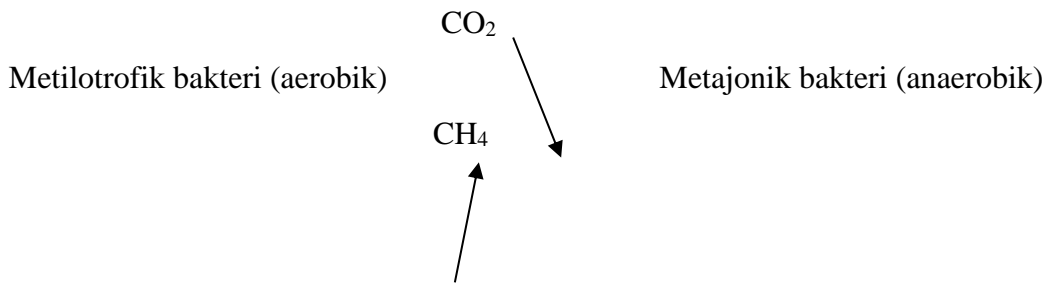
Anabolizm, biyosentez olarak da adlandırılmaktadır. Anabolizm ve katabolizm birbirini takip eden bir seri reaksiyonlardan oluşur. Örneğin, altı karbonlu şeker olan glikozun yükseltgenmesi için 20 ayrı reaksiyon gerçekleşmektedir.

### Enerji:

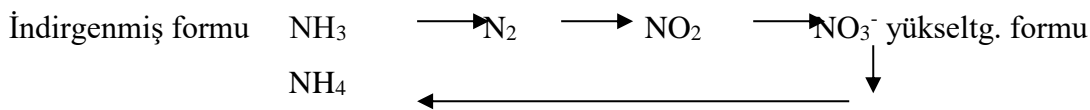
Ekosistem fiziki ve kimyasal sistemlerden oluşur. Bu sistemlerin oluşturduğu bütüne Ekosistem denir. Ekosistem statik değil dinamiktir. Çünkü fiziki ve kimyasal sistemler arasında sürekli iletişim vardır. Bu karşılıklı etkileşimde organizma açısından önemli olan enerji dönüşümleridir.

Birincil üreticilerden (Bitkiler, algler, bakteriler) bakteriler, enerjinin tutuklanmasında ve açığa çıkarılmasında rol oynarlar. Ölen herbivor ve karnivorların dokularındaki organik madde heterotrofik mikroorganizmalar tarafından solunum metabolizması ile açığa çıkarılır. Bu enerji akışı esnasında besleyici madde ekosistemde kaybolmaz. Canlı sistemlerde yer alan temel elementler; C, N, P, S, H ve O'dur. Bunların ekosistemdeki temel miktarlarında değişme olmaz, transformasyonları olur. Örneğin metan ( $CH_4$ ) karbonun en indirgenmiş formu, karbondioksit ( $CO_2$ ) en yükseltgenmiş formudur. Bu değişmelere **biojeokimyasal döngüler** denir. Bu döngüler daha çok C, N ve S için vardır. Biojeokimyasal döngülerin gerçekleşmesinde mikroorganizmaların rolü çok büyüktür.

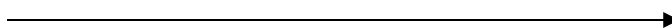
### C:

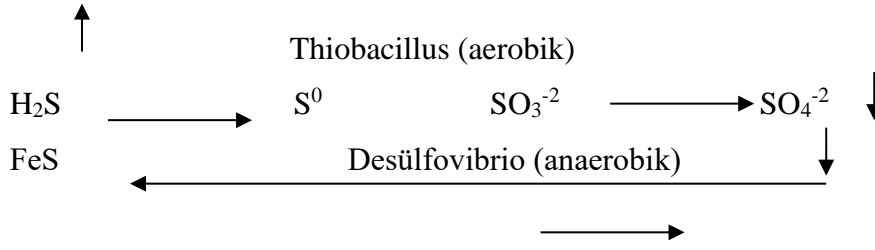


### N:



Temel elementlerin biojeokimyasal döngülerini mikroorganizmalar belirler. Birde transport döngüleri vardır. Bu habitatlar arasındaki dönüşümlerdir.





Mikroorganizmalar bazı habitatlarda çok, bazılarında az bulunurlar. Bir habitatta mikroorganizmanın ne kadar bulunacağını besin kaynakları belirler. Besin kaynakları sınırlı ise mikroorganizma popülasyonu da sınırlıdır.

### Serbest Enerji Oluşumu:

Mikrobiyel büyüme, reaksiyonlar esnasında açığa çıkan serbest enerjiye bağlıdır. Serbest enerji oluşumu (Gg<sup>0</sup>) ya açığa çıkan enerji ya da elementlerin molekül oluşumu için gerekli enerjidir.

$$\Delta G = c.Gg^0 + d.Gg^0 - a.Gg^0 - b.Gg^0$$

$\Delta G$  = Reaksiyon süresince serbest enerji değişimi

Gg<sup>0</sup> = Serbest enerji oluşumu.

Örnek: CH<sub>4</sub> + 2O<sub>2</sub> → CO<sub>2</sub> + 2H<sub>2</sub>O reaksiyonunun serbest enerji değişimini bularak hangi tür reaksiyon olduğunu belirtin.

$$\text{Çözüm: } \Delta G = (1).(-394,4) + (2).(-237,17) - (1).(-50,75) - (2).(0)$$

$$\Delta G = -817,99 \text{ kkal/mol.}$$

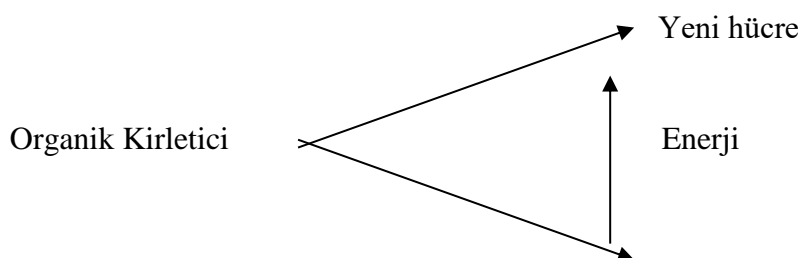
$\Delta G$  negatif olduğu için reaksiyon ekzotermiktir ve reaksiyon ürünler tarafı olan sağa doğru cereyan etmektedir. Bu arada da serbest enerji açığa çıkmaktadır.

$\Delta G$  pozitif olduğu zaman ise reaksiyonun yürümesi için enerjiye gereksinim vardır ve reaksiyon endotermiktir. Katabolizm ekzotermik, anabolizm endotermiktir.

### Mikrobiyal Metabolizmanın Esasları:

Organik kirleticilerin mikrobiyal çevrimi normal olarak cereyan eder, çünkü organizmalar kirleticileri kendi büyümeleri ve üremeleri için kullanırlar. Organik kirleticiler organizmalara:

- yeni hücre üyelerinin temel yapı bloklarından biri olan karbonu ve
- enerji için gerekli elektronu sağlarlar.



Elektron kabul eden  
(Oksijen)

Şekil 3.1 Kirleiciden enerji kazanımı

Mikroplar kirleticileri parçalarlar, çünkü bu esnada büyümeleri ve üremeleri için gerekli olan enerji kazanırlar (Şekil 3.1). Mikroplar kimyasal bağları kırarak kirleticilerden enerji alırlar ve kirleticilerden oksijen gibi elektron alıcılarına elektron taşırlar.

Mikroorganizmalar kimyasal bağları kırarak katalizör enerji üreten kimyasal reaksiyonlar aracılığıyla kirleticilerden elektron taşıyarak enerji kazanırlar. Bu kimyasal reaksiyonlara yükseltgenme (oksidasyon) - indirgenme (redüksiyon) reaksiyonları denir.

Yükseltgenme başka bir element veya maddeye elektron verme, indirgenme ise başka bir element veya maddeden elektron alma (kabul etme) olayıdır. Elektron veren madde pozitif yükünü artırmakta, alan ise negatif yükünü artırmaktadır. Elektron veren maddelere karşısındaki maddeyi indirgedikleri için indirgen madde, elektron alanlara ise kendisi indirgendikleri halde karşıladıkları maddeyi yükselttikleri için yükseltgen madde denir. Örneğin, Fe +2 elektron verdiğinde Fe+3 yükseltgenir. Anılan bu tepkimede +2 değerindeki demir elektron verici yani indirgen, +3 değerlikli demir elektron alıcı yani yükseltgen maddedir. Oksijen en yaygın electron alıcısıdır. Diğer inorganic electron alıcıları nitrat, nitrit, sülfat, karbon dioksit ve Fe+3 dür.

Redoks tepkimelerinde toprağın ana görevlerinden birisi de organik bileşiklerin oksidasyonları sırasında ortaya çıkan elektronları kabul edecek elektron alıcıları sağlamaktır. Organik bileşiklerin oksidasyonu ile fotosentez olaylarında kullanılacak enerji açığa çıkmaktadır. Oksijen en yaygın elektron kabul edici olduğundan toprakta ortaya çıkan enerjinin hemen hemen tamamı oksidasyon olayları sırasında ortaya çıkmaktadır. Toprakta oksijen dışında 2. derece elektron kabul edicilerin ortaya çıkardıkları enerji çok daha az ve ortaya çıkan yeni ürünlerde istenmeyen bileşiklerdir. Örneğin, sülfat bitkinin alabildiği form olmasına rağmen sülfatın indirgenmesi sonunda ortaya çıkan H<sub>2</sub>S gibi sülfür bileşikleri istenmeyen bileşiklerdir.

Toprakta elektron verici maddelerin büyük bir kısmı toprağa karışan taze bitki artıkları ve toprak organik maddesidir. Toprakta organik karbonun yanı sıra amino grubu halindeki azot, sülfidril grubu içindeki sülfür, organik madde içindeki amonyum iyonları elektron verici kaynaklardır.

Organik kirleticiler elektron verici, kimyasal ise elektron alıcıdır. Bu elektron alışverişi esnasında elde edilen enerji daha fazla hücre üremesi için kirleticiden C ve elektron almak için kullanılır. Elektron verici ve alıcı her ikisinde hücre büyümesi için gereklidir ve birincil substrat olarak adlandırılır.

## **A. Organik Materyallerin Metabolizması:**

Mikroorganizmalar 2 yolla organik materyali metabolize ederler. Solunum ve fermentasyon.

**1. Solunum:** Aerobik ve anaerobic solunum vardır. Solunum, kirliliğin biyolojik ayrıştırılmasında bazen doğrudan rol oynar, elektronların devrine imkan verir ve enerji üretiminde kullanmak için bir oksijen kaynağı sağlar. Yer altı suyundan nitratın giderilmesi veya organik kirleticilerden redüktif yolla klorların giderilmesi, elektron aksaptör kullanılarak yapılan çalışmalara iyi örneklerdir (Keeney, 1973; Painter, 1970; Vagel ve ark., 1987). Ancak birçok bakterilerin anoksik veya redüktif koşullar altında oksitlenmiş organik ya da inorganik substratları kullanma yetenekleri özellikle önemlidir. Oksijenin noksan olduğu çevrelerde anaerobik solunum, genellikle organik bileşiklerle ağır bir şekilde kirlenen topraklarda yaygın olan kirleticilerin pek çoğunun ayrışmasına izin vermektedir.

### **1.1. Aerobik Solunum:**

İnsanlarda olduğu gibi pekçok mikroorganizma electron alıcı olarak moleküler oksijeni kullanır. Oksijen ilavesiyle organik bileşiklerin parçalanması işlemine aerobik solunum denilir. Aerobik solunumda mikroplar kirleticide bulunan karbonu karbondioksite yükseltgemek için oksijeni kullanırlar, arta kalan karbonuda yeni hücre oluşumunda kullanırlar. Bu işlem esnasında oksijen azalır, sonuçta aerobik solunum ile temel ürünler karbondioksit ve suya dönüşür ve mikroorganizma popülasyonu artar. Aerobik solunumda eğer ortamda oksijen yeterli değilse veya elverişsizse en iyi 2. electron alıcısı  $Fe^{+3}$ 'tür. Bunu nitrat, nitrit, sülfat ve  $CO_2$  takip eder.

Aerobik solunum boyunca kirleticileri taşıyan mikroplara ilaveten, bu temel işlemlere bağlı varyasyonları kullanan organizmalar zamanla yavaş yavaş gelişirler. Bu varyasyonlar olağan dışı çevrelerde organizmaların büyümesine ve diğer organizmalara faydalı olmayan veya toksik olan bileşikleri parçalamasına izin verir.

### **1.2. Anaerobik Solunum:**

Pekçok organizma oksijen olmadan da varolabilir, bunlar anaerobik solunum prosesini kullanırlar. Anaerobik solunumda öncelikle nitrat, bunu takiben sülfat, demir +3, Mn +2 gibi

metaller hatta karbondioksit oksijenin rolünü oynarlar, yani parçalanana kirleticilerden elektron alırlar.

Anaerobik solunum ürünleri elektron alıcısına bağı olarak elementel azot (N<sub>2</sub>), hidrojen sülfid (H<sub>2</sub>S), indirgenmiş metal formları ve metan (CH<sub>4</sub>) dır. Anaerob organizmaların elektron alıcısı olarak kullandığı bazı metaller kirletici olarak kabul edilmektedir. Son araştırmalar doğrultusunda bazı mikroorganizmaların çözünebilir uranyumu (U<sup>+6</sup>) çözünmeyen uranyum formuna (U<sup>+4</sup>) indirgeyerek kullandıkları belirlenmiştir. Bu koşullar altında organizmalar uranyumu çöktürerek yeraltı suyunda uranyum konsantrasyonu ve hareketliliğini azaltmaktadır. Anaerobik solunum için elektron alıcısı olarak inorganik kimyasalları kullanan organizmalar inorganik molekülleri elektron verici olarak kullanırlar. İnorganik elektron vericilere örnek amonyum, nitrit, indirgenmiş Fe<sup>+2</sup>, indirgenmiş Mn<sup>+2</sup> ve H<sub>2</sub>S verilebilir. Bu inorganik moleküller yükseltendiğinde (örneğin sırasıyla nitrit, nitrat, Fe<sup>+3</sup>, Mn<sup>+4</sup> ve sülfat), hücre sentezi için enerji sağlamak amacıyla elektronlar elektron alıcılarına (genellikle oksijen) transfer olurlar. Çoğu durumda birincil elektron vericileri inorganik moleküller olan mikroorganizmalar atmosferik karbondioksitten karbonları sağlamak durumundadır. Bu işlem karbondioksit fiksasyonu olarak adlandırılmaktadır.

## **2. Fermentasyon:**

Serbest oksijen çevrelerinde rol oynayan metabolizma tipi fermentasyondur. Oksijen ve 2. derecede elektron kabul edici maddelerin bulunmadığı bir ortamda bile mikroorganizmalar bir kısım organik bileşiklerden bir miktar enerjiyi fermentasyon yoluyla açığa çıkarabilmektedir. Fermentasyon enerji oluşum açısından dikkate alındığında organik moleküllerin kararlı yeni bileşikler oluşturmak üzere yeniden düzenlenişi ve bu sırada bir kısım bağı enerjisinin ortaya çıkması olayıdır. Fermentasyon sonunda ortaya çıkan yeni ürünler orjinal organik materyalde mevcut enerjinin % 90'ına yakın kısmını yapılarında hala muhafaza etmektedir. Fermentasyona en iyi örnek glikozun etanol ve karbondioksit'e fermentasyonudur. Glikozun etanol ve karbondioksit'e, organik artıkların metan ve karbondioksit'e veya topraktaki organik maddenin pit ve karbondioksit'e fermente olmaları sırasında yaklaşık olarak % 10 bir enerji oluşumu söz konusu olmaktadır. Fermentasyon ve 2. derecede elektron kabul eden bileşiklerin ortaya çıkardığı durum geçicidir. Ortaya çıkan yeni bileşikler kararlı bir yapıya sahip değildirler, ortama oksijen sağlandığı takdirde daha ileri derecede oksitlenebilirler. Toprak organik maddesi fermentasyon veya tamamlanmamış oksidasyon olayları sırasında meydana gelen

karasız bileşikler veya maddeler topluluğudur. Bir toprakta oksidasyon ne kadar yüksek olursa organik maddelerin mineral maddelere dönüşmesi o derece hızlı olur. Oksidasyonun hızı ve derecesi öncelikle sıcaklık ve oksijen varlığına bağlıdır. . Fermentasyon dışarıdan elektron alıcısına gerek duymaz, çünkü organik kirleticiler hem elektron verici hem de elektron alıcı görevi görürler. Mikroorganizmalar tarafından katalizlenen elektron taşınımı boyunca organik kirleticiler fermentasyon ürünü olarak bilinen zararsız bileşiklere dönüşürler. Fermentasyon ürünlerine örnek olarak asetat, propionat, etanol, hidrojen ve karbondioksit verilebilir. Fermentasyon ürünleri diğer bakteri türleri tarafından biyolojik olarak parçalanırlar ve sonuçta karbondioksit, metan ve suya çevrilirler.

## **B. İnorganik Materyallerin Metabolizması:**

**1. Litotrafi:** Litotrof mikroorganizmalar inorganik bileşiklerin yükseltgenmesi ile enerji sağlarlar. C kaynağı olarak karbondioksidi kullanırlar. Bunlara örnek olarak hidrojen bakterileri, kükürt bakterileri, demir yükseltgeyen bakteriler, denitrifikasyon bakterileri verilebilir. Hidrojen bakterileri enerji kaynağı olarak hidrojeni kullanırlar. Aerob olduklarından elektron alıcısı olarak oksijeni kullanırlar. Aynı zamanda fakültatif litotrof oldukları için sadece hidrojene bağlı değildirler. Hidrojen bulunmadığı durumlarda organik bileşikleri enerji kaynağı olarak kullanırlar.

## **C. Fototrofik Metabolizma:**

En sürekli enerji kaynağı güneş enerjisidir. Güneş enerjisi fotosentez yapan organizmalar tarafından organik madde yapımında kullanılır. Bu şekildeki fotondaki enerji organik maddede kimyasal bağ enerjisi olarak depolanır. Bu depolanan enerjinin bir kısmı fotosentezde mikroorganizmanın solunum mekanizmasında kullanılır. Geri kalan kısmı o ekosistem içindeki herbivor canlılar tarafından kullanılır. Enerji daha sonra herbivorlar üzerinden beslenen karnivorlara aktarılır. Enerji fotosentez ile kimyasal formda tutulur ve bu enerji polimerik maddelerdeki bağ enerjisidir. Böylece sistemin enerjisi artar.

## **D. Kometabolizm:**

Tüm yaşayan organizmalarda olduğu gibi mikroorganizmalar da gelişme ve besinin metabolizması için doğru dengede besin elementlerine ihtiyaç duyarlar. Bu besinlerin çoğu mikrobiyal metabolizma sonucu açığa çıkarılır ya da yeniden oluşturulur. Organik kirleticiler çoğunlukla birincil besin kaynağıdır fakat hücre ve enerji üretiminde önemli olmayıp doğrudan

besin döngüsüyle sonuçlanmaz. Bu işlem kometabolizma veya kooksidasyon olarak tanımlanır. Kometabolizma için iki veya daha fazla organik substrat gereklidir. Biri gelişme meydana getirmeyen substrat olduğundan diğer bileşenler (birincil substratlar) hücre sentezi ya da enerji üretimi için faydalı bir ürüne dönüşür. Gelişme meydana getiren kometabolitler mikroplar tarafından doğrudan kullanılmamasına rağmen, diğer mikroorganizmalar genelde bunların yararlı ürünlere dönüşmesini kolaylaştırırlar (McCarty, 1988).

Belli bir mikroorganizma birçok kirleticileri ikincil substrat olarak kullanır. Bu substratlar kometabolitler olarak işlev görürken aktif mikroorganizmaların gelişmesine az derecede katkıda bulunmalarına rağmen, bazıları basit bir biçimde ayrıştırıcı mikroorganizmalar için daha az istenen besin kaynağı olarak hizmet verirler.

İkincil substratın biyolojik ayrışımı genelde biyolojik olarak yarayırlılığı fazla olan primer substrat tarafından engellenir ya da inhibe edilir ancak bu kural dışında olanlar da mevcuttur (McCarty, 1988). Birincil substrat, kirletici ikincil substrat ile katılan spesifik enzimler için rekabet edebilir ise de kometabolitik işlem sırasında üretilen toksik orta düzeydeki metabolitler de birincil substrat alımını etkiler (Sufliya, 1989). Eğer katılan spesifik enzimlerin üretimi belirtilirse mikrobiyal biyokütle de orantılı bir artış olsun veya olmasın birincil ve ikincil substratlar düşük düzeylerde uygun biçimde ayrışabilir. Enzim üretimi çoğunlukla, toksik substratta arındırma gerektiren biyokimyasal ya da fiziksel özellikler taşıyan bir yola sahip toksik olmayan substrat ilavesiyle teşvik edilebilir. Bu tür enzimleri geliştirme teknikleri yeni olarak TCE'nin aerobik ayrıştırılması (Chaudhry ve Chapalamoduğu, 1991) ve monoaromatik hidrokarbonlar (Alvarez ve Vogel, 1991) ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar (Ogunseiton ve ark. 1991) gibi diğer daha doğal kirleticilerin ayrışmasının belirlenmesi için önerilmiştir.

Belirli bir organik kirletici çevrede iz olarak ya da çok düşük yoğunlukta bulunuyorsa genelde mikroorganizmalar küçük organik bileşiği bir enerji kaynağı olarak kullansa bile üreme için alternatif besin kaynakları gerektirir (McCarty, 1975). Mikroorganizmalar gelişmede bir engelleme olmaksızın birincil substratları yaklaşık milyonda bir düzeye kadar kullanabilirler. Bununla birlikte, ilave birincil substrat daha yüksek konsantrasyonlarda mevcut ise birincil substrat daha düşük düzeylere belki de milyarda bir bölüme (Mg/L) potansiyel olarak ayrışabilir. Bu durumda birincil substrat ikincil substrat gibi kullanılmıştır (McCarty, 1988).

Mikroplarca yeterli besin için ihtiyacın yanısıra, kirlenen bir alana kolay ayrışabilen organik bileşiklerin çok miktarda ilavesinin kirleticinin ayrışma oranları üzerinde engelleyici bir etkisi olabilir. Örneğin, ilave edilen besin kaynağı, yavaş gelişen aktif popülasyonların yerine ayrıştırıcı olamayan mikrobiyal popülasyonların hızlı gelişmesini teşvik edebilir. Bu da mevcut

mikrobiyal birliğin strüktürel yapısını ayrıştırıcı olmayan popülasyonlara uygun hale getirerek yapılabilir.

Engelleme için nedenler karmaşık olabilir ve bu nedenler şunlara bağlı olabilir; aynı enzimler için rekabet, solunum için gereken elektron alıcılarının azalması, rekabet edilen metabolik ürünler ve substratların toksisitesi, enzimleri baskı altına alan son ürünler.

### **Alternatif Oksijen Taşıyıcılar Olarak Nitrat ve Sülfat**

Topraklarda oksijen tüketildiği zaman pek çok aerobik bakteri solunum için nitratı bir oksijen kaynağı olarak kullanır (Keeney, 1972; Painter, 1970 ). Denitrifikasyon olarak tanımlanan bu süreç, yakıtlarda bulunan pek çok aromatik bileşenlerin ayrıştırılmasını desteklemek için kullanılmıştır (Battermann,1986; Berry-Spark ve arkadaşları,1986;Hutchins ve Wilson, 1991). Denitrifikasyonu uyarmak için yeterli nitratın yokluğunda belirli anaerobik bakterinin solunumu için sülfatı oksijen kaynağı olarak kullanabilir. Petrol ürünlerinin anaerobik çalışmasında sülfatın kullanılması için arazi çalışmaları yapılmıştır (Reinhard ve arkadaşları, 1984 ). Arazi çalışmaları ve kirlenen topraklardan alınan örneklerin laboratuvar çalışmaları sülfatı indirgeyen bakterilerin monoaromatik hidrokarbonların biyolojik ayrışmasında etkili olabileceğini göstermektedir (Edwards ve arkadaşları,1991). Son bilgilerde uzun zincirli alkan hidrokarbonların sülfat indirgeyen bakteriler tarafından ayrıştırılabileceği gösterilmektedir ( ASM, News ,1990).

Biyolojik iyileşmeler için getirilen moleküller oksijen yerine sülfat ya da nitratın kullanılması potansiyel avantajdır. Bu anyonların çoğu oksijenden daha fazla çözünürdür. Bu nedenle kütleli aktarım sağlanacak aküfere yeterli konsantrasyonda ilave edilebilir. Yüksek birçok klorlanmış aromatik ve alifatik hidrokarbonlarda anaerobik koşullar altında arıtılabilmektedir.

Çok sayıda laboratuvar ve biyoreaktör çalışmaları klor ve halitlerle yüksek düzeyde yer değiştirmiş organik bileşiklerin anaerobik ayrışmasının olası olduğunu göstermektedir. Fakat yerinde yapılan bu işlemler hakkında çok az bilgi vardır. Yeraltı suyunda halojenlenmiş alifatik bileşiklerin indirgenerek taşınmaları Bouwer ve arkadaşları tarafından denenmiştir.

Semprini ve arkadaşları 1991 'de Kaliforniya'da küçük bir alvea kontrollü bir çalışma yöntemini bu çalışmada doğal bakteriler kullanarak karbon tetra klorür, 1,1,1 tri klor etan, ferro 113, ferro 11 bileşiklerinin düşük düzeylerini anaerob koşullar altında ayrıştığını belirtmişlerdir. Bu reaksiyonlarda son elektron alıcı olarak moleküller oksijenin yokluğunda nitrat ve sülfat ortamda yeteri kadar bulunmakta ve ayrıca asetatta birincil karbon kaynağı olarak görev yapmaktadır.



Çok daha yoğun substitutive (başkası yerine geçen) olmuş karbon tetra klorürün denitrifikasyon koşulları altında ayrıştığı gözlenmiştir. Ancak, bütün kirleticiler için yüksek düzeyde ayrışma oranları yüzey altında nitrat tüketildikten sonra anaerobik solunum için sülfatın tek primer elektron alıcı olduğu ortamlarda yüksek ayrışma oranları saptanmıştır. Denitrifikasyon bakterilerinin karbon tetra klorür, 1,1,1 tri klor etan ve diğer klorlanmış hidro karbonların ayrışmasında düşük yetenekte olduğu ; bu maddelerin ayrışması sülfatı indirgeyen bakteri geliştirici önlemler laboratuvar ve kolon çalışmalarıyla gösterilmiştir.

## **BÜYÜME VE BİYOLOJİK PARÇALANMAYA ETKİLEYEN FAKTÖRLER**

Bir kirletici mikroorganizmalar tarafından ayrıştırılmadan ya da dönüşüme uğratılmadan önce çeşitli olaylar meydana gelmelidir. Mikroorganizma doğrudan doğruya kirleticinin yakınında olmalı, kirletici mikroorganizma için yararlı ve dönüşme veya ayrışma işleminin bazı bölümüne katılma yeteneğine sahip olmalıdır. İnorganik bileşiklerin dönüşümü ve birçok organik kirleticilerin biyolojik dönüşümü ve biyolojik ayrışımı için topraklarda potansiyel bulunmaktadır. Bununla birlikte, genelde mikroorganizmalar hemen biyolojik ayrışım işlemlerine hazır değildirler. Belli bir bileşiğin ayrışması için genetik potansiyel mevcut olabilir fakat çoğunlukla mikrobiyal populasyonlar sınırlıdır ve enerji muhafazası sürekli olmamaktadır. Bu özellikle yakın tarihsel süreden önce mevcut olmayan yabancı , insan yapımı kirleticiler için doğrudur.

Belli mikrobiyal populasyonlar belirli çevresel şartlara ihtiyaç duyarlar ya da tercih ederler. Bu şartlar mevcut değilse bu populasyonlar daha ideal şartlar oluşana kadar hareketsiz kalma eğilimindedirler; bu populasyonlarda bazı mikroorganizmalar ölebilir. Genellikle bu şartlar ve değişimler mikro ölçektir, fakat bazen populasyon dinamiğinde ya da komünite yapısında geniş ölçekte değişiklik meydana gelir. Sınırlanan çevresel faktörler çoğunlukla takip edilen biyolojik ıslah prosedürleri olarak kabul edilir. Biyolojik arıtım süreçleriyle yüzeyaltı çevresi değiştirilebilirse de bu işlemler genellikle zor , büyük harcamalar gerektiren yöntemler olup genellikle de bazı eksiklikler içerir.

Mikrobiyal oluşum ve yoğunluğu ile kirleticilerin taşınım oranı çevresel, substrat ve mikrobiyal faktörlerden etkilenmektedirler. Başlıca çevresel faktörler; nem, havalanma, sıcaklık, pH ve besin madde yararlılığıdır. **Biyolojik değişimi (biotransformation)** etkileyen substrat özellikleri ise toksisite, konsantrasyon, çözünürlük, katı fazın bölümleri ve kimyasal yapıyı içermektedir. Mikrobiyolojik faktörler de ilgili bileşiğin parçalanması için gerekli olan mikroorganizma varlığı ve ekolojik faktörlerdir. Biyolojik parçalanmada etkili olan en önemli faktörler aşağıda tartışılacaktır.

## 1. Besin Madde Gereksinimi

Mikroorganizmalar bazı habitatlarda çok, bazılarında az bulunurlar. Bir habitatta mikroorganizmanın ne kadar bulunacağını besin kaynakları belirler. Besin kaynakları sınırlı ise mikroorganizma popülasyonu da sınırlıdır. Besin madde gereksinimi mikrobiyal metabolizma organizmaların yeniden üremesi ile ilgilidir ve bunun içinde yeni hücre materyalinin sentezi ve asimilasyonu için elverişli olan hücre komponentlerinin kimyasal unsurları gerekmektedir. Tablo 4.2.'de elementlerin yaklaşık olarak gerekli miktarları verilmiştir. Besin elementleri sınırlı sayıda elementin varlığında asimile olmaktadır ve besin maddesinin varlığı ve durumu çok önemlidir. Örneğin, heterotrofik bakteriler organik formda karbona gereksinim duyarlar. Pekçok bakteri türü sınırlı oranda organik bileşiklerden yararlanabilirler. Sadece çok az tür oksijen varlığında 5-karbon-şeker laktozu metabolize etme yeteneğindedir ve bu özellikten suda koliform organizmalarının tespitinde yararlanılmaktadır. En muhtemel sayı yönteminden yararlanılmaktadır. Çoğu bakteri azotu amonyum (-3), nitrit (+3) ve nitrat (+5) oksidasyonu ile asimile ederler. Kükürt asimilasyonu sadece sülfat (+6) oksidasyonu ile gerçekleşir. Metaller ise Genellikle her durumda iyonik halde asimile edilirler.

Biyolojik iyileştirme işlemlerinin çoğu sık sık biyolojik olarak yararlı azot ve fosfor takviyesini içerir ve aerobik metabolizmayı teşvik edici bir şekilde oksijen takviyesini gerektirir. Sonuçta toprak karbon/azot/fosfor oranını 100: 10: 1'den 100: 10:05 düzeyine ulaştırmak amacıyla yapılan besin takviyelerinin çoğu yapılan uygulamaya ve kirlilik türüne bağlıdır (Torpy ve ark. 1989). Bununla birlikte azot ve fosforun düşük düzeyleri spesifik alanlarda ideal olabilir. Örneğin JP-4 jet yakıtı ile kirlenen florida alanında 300: 10: 1'lik C/N/P oranı yeterli olmuştur ve besin ilavesinin de hidrokarbon ayrışım oranlarına belirgin bir etkisi yoktur. Mikrobiyal hücre biyokütlesinde besinlerin yeniden işleyerek kullanılabilir hale getirilmesi, kirlilik meydana getiren maddelerin enerji üretiminde daha fazla değişimi ve topraktaki azot gazının mikrobiyal değişimi dinitrojen tespiti ile yararlı şekilde dönüştürülmesi besinsel denge gereksinimini azaltabilir (Miller ve Hinchee, 1990).

Çevrede sıklıkla bir yada iki besin elementi mikrobiyal büyümeyi sınırlandırır. Sınırlayıcı (kısıtlayıcı) besin elementi kavramı kirlenmelerin etkilerinin tahmininde ve biyolojik uygulama proseslerinde son derece faydalıdır. Great gölünde sınırlayıcı element fosfordur ve 1960'lı yıllarda biyolojik olarak parçalanabilir deterjanların göle karışması sonucunda ötrofikasyon oranı hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Atıksu boşaltım sisteminden Great göl ayağına fosforun uzaklaştırılması sınırlı besin elementi kavramının uygulamasıdır.(85). Pekçok endüstriyel atıksuyu besin elementi özellikle azot ve fosforun dengesini bozmaktadır.

## 2. Toprak pH'sı

Bir toprağın pH'sı birkaç faktör tarafından tayin edilir;

1. Toprak çözeltisindeki tuzların derişimleri,
2. Toprak çözeltisindeki çözünmüş karbondioksit derişimi,
3. Ortamdaki değişebilir katyonların varlığı.

Toprak pH'sı mikrobiyal aktiviteyi önemli bir şekilde etkilemektedir. Mikrobiyal stoplazmanın pH düzeyi yaklaşık olarak nötraldır ve pekçok mikroorganizmanın büyümesi genellikle 6-8 pH aralıklarında olur ancak bu durumun istisnaları da vardır. Örneğin *Thiobacillus* cinsi bakteriler 6 pH düzeyinde yaşayabilen asidofilik organizmalardır. Genel olarak toprak bakteri ve aktinomisetleri asit koşullara karşı mantarlardan daha az toleranslıdır. Bazı mantar türlerinin optimum pH istekleri 5'in altındadır. Çok fazla asit yada alkali koşullar genelde mikrobiyal aktiviteyi engeller ve pekçok bakteri için nötr koşullar en uygun olanıdır. Bunun yanısıra asidik koşullara adapte olmuş bakterilerde bulunmaktadır. Örneğin sülfürü okside eden bakteriler, obligat aerobik kemoototrofik ve H<sub>2</sub>S'in oksidasyonu boyunca kükürt okside ederler, 1 ph'da en iyi fonksiyonu gösterirler. Toprak pH'sı aynı zamanda toprakta zararlı metallerin taşınımı için ve mikroplar için önemli besin elementi olan fosforun çözünlülüğünü de etkilemektedir. Fosfor çözünlülüğü maksimum pH 6.5 seviyelerinde gerçekleşir, metal taşınımı ise 6 pH seviyesinden daha fazlası ile minimize edilmiştir. Yani toprak pH'sı arttıkça metalin hareketliliği azalmaktadır (Sims et al, 1990). Doğada pekçok toprak asidiktir. pH'nın artması için toprağa kalsiyum kalsiyum/magnezyum içeren bileşikler ilave edilebilir. Bu işlem kireçleme olarak bilinmektedir ve bu amaçla kalsiyum oksit (kıraç), kalsiyum hidroksit, kalsiyum karbonat, magnezyum karbonat, kalsiyum silikat kullanılmaktadır. Toprak pH'sı fazla miktarda karbonat konsantrasyonundan veya pH değeri yüksek zararlı atıkların varlığından dolayı yüksektir daha sonra asidifikasyon gererekebilir. Asidifikasyon (asitleşme) veya toprak pH'sının azaltılması elementel kükürt veya sülfürik asit, sıvı amonyum polisülfid, alüminyum ve demir sülfat gibi kükürt içeren bileşiklerin ilavesiyle gerçekleştirilebilir. (Dupont et al, 1988).

Nötral toprak pH değerine yakın değerler organik kirleticilerin çoğunun biyolojik ayrışımı için en uygun değerlerdir. Nötral pH düzeylerinde, fosfatların çökmesi yoluyla kuyuların tıkanma problemleri azalabilir. Topraktaki hidrojen iyon konsantrasyonu, mikrobiyolojik aktiviteyle üretilen bileşiklerin türüne bağlı olarak yönlendirilir ve özellikle karbonat-bikarbonat-karbondioksit dengesi tarafından kontrol edilir. Bunla birlikte, organik bileşikler ve inorganik karışımlar (örneğin, metaller ve besin maddeleri) toprak çözeltilerinden hidrojen ve hidroksil iyonlarının uzaklaştırılmasında önemlidir (Phung ve Fiskell, 1972). Hidrojen iyon aktarımı genellikle bir elektron transferi yoluyla olduğu için pH redoks potansiyelleri bir birine bağlıdır.

### 3. Sıcaklık

Toprak organizmaları güneş ışınması, toprak rengi, topoğrafya, yön, vejetasyon örtüsü çeşit ve yoğunluğu, toprak-su bilançosu gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan sıcaklık faktörü ile yakından ilgilidir. Toprak sıcaklığı mikrobiyal aktiviteyi ve biyolojik parçalanma derecesini çok fazla etkilemektedir. Belirli bir sıcaklık derecesi biyolojik varlıkların büyük bir kısmının optimum gelişme gösterebilmesi bakımından gereklidir. Toprakta yaşayan bazı bakteri türlerinin aktiviteleri sıcaklık ile çok yakından ilgilidir. Azot oksidasyonu oluşturan nitrifikasyon bakterileri optimum 25-30 ...derecede gelişirken sıcaklığın 5..drecenin altına düşmesiyle gelişimleri durur.

#### **Mikroorganizmalar sıcaklık ihtiyaçlarına göre 3 gruba ayrılırlar:**

1. **Psikrofil organizmalar:** 5...drecenin altındaki düşük sıcaklıklarda gelişebilen fakat mezofillere benzer şekilde daha yüksek sıcaklıkta optimum gelişme gösteren organizmalardır.
2. **Mezofil organizmalar:** Düşük sıcaklıkta veya 40 drecenin üzerindeki sıcaklıklarda gelişemeyenler. (Optimum 25-35...)
3. **Termofil organizmalar:** 45-65 ...derece gibi yüksek sıcaklıklarda gelişebilen ve 40 ...drecenin altında çok zayıf gelişme gösteren organizmalardır.

#### ***Genel kural şudurki sıcaklıktaki her 10...drecedeki artış biyolojik değişimin 2 kat artışına neden olur (US, EPA, 1985).***

Sıcaklığın artışına bağlı olarak biyolojik değişimin artışı mikrobiyal aktivitenin artışına, kirleticilerin çözünürlüklerinin artışına ve kirleticilerin toprağa adsorbsiyonunun azalmasına bağlanabilir. Genel olarak 40..drecenin altındaki sıcaklıkta biyolojik parçalanma enzim ve proteinlerin denaturasyonundan dolayı azalma gösterir sıcaklık 0..dereceye ulaştığında da biyolojik parçalanma tamamen durur (Sims et al, 1990). Genel kural olarak, bakteriler düşük sıcaklık koşullarına daha fazla toleranslıdır. Çok yüksek sıcaklıklarda bakteri popülasyonlarının çoğu ölür.

Tarla koşullarında mevsimsel iklim değişiklikleri toprak sıcaklığını ve dolayısıyla biyolojik parçalanma oranını belirler. Malçlar (mulches) bazen toprak sıcaklığını değiştirmede (azaltmada) kullanılırlar. Malç materyaline örnek olarak kompost, ahır gübresi, testere talaşı, çakıl, asfalt emülsiyonu veya kırık taş verilebilir (Dupont et al, 1988). Sulama da toprak sıcaklığını düzenler. Nem toprak matriksinin termal kondaktivitesini azaltır ve toprak sıcaklığında günlük düşüşler meydana gelir.

Toprak sıcaklığı mikrobiyal aktiviteyi ve topraktaki organik madde ayrışım oranını kontrol eden önemli faktörlerden biridir. Genelde enzimatik ayrışım ve mikrobiyal metabolizma her 10 °C'lik sıcaklık artışında iki katına çıkar, bu durum engelleyici sıcaklığa kadar devam eder, bu düzey ise toprak mikroorganizmalarının çoğu için genelde 40°C civarındadır. Bununla birlikte, sıcaklığın sıfırın altına düşmesi haricinde, toprak çevre sıcaklıklarının çoğunda toprak mikroorganizmaları ayrıştırma yeteneğindedir (Atlas, 1981, Leahy ve Colwell, 1990). Sıcaklık bir bileşiğin ya da karışımın fiziksel özellikleri değiştirerek biyolojik ayrışmasını, biyolojik yararıyı (etkilenebilirliğini) ya da mikrofloraya toksikliğini de dolaylı olarak etkileyebilir (Atlas ve Bartha, 1972). Sıcaklığın topraklardan organik maddelerin buharlaşması üzerine değişken etkileri bulunabilir. Sıcaklıktaki artış genelde buhar konsantrasyon dengesini artırır, bu durum buharlaşma oranında artışla sonuçlanır, fakat bazı zamanlarda toprak parçacıklarının sorpsiyonunu artırır (Lyman ve ark. 1982).

#### **4. Nem içeriği**

Toprağın nem içeriği biyolojik aktiviteyi kuvvetle etkiler. Su bakteriyal protoplazmanın temel bileşenidir. Ve yeterli su varlığı mikrobiyal büyüme ve koruma için gereklidir. Su aynı zamanda organik komponentlerin ve besin maddelerinin hücre içine, metabolik artık ürünlerinin de hücre dışına hareketi gibi önemli taşınma ortamı olarak da hizmet verir. Toprak-su içeriği havalanmayı (oksijen taşınımı), toprak bileşenlerinin çözünürlüğü ve pH'yı etkiler. Topraktaki çok az miktardaki nem kurak bölgeyle ve mikrobiyal aktivite kaybıyla sonuçlanır. Çok fazla nem ise gaz alışverişini engeller ve anaerobik bölgelerin oluşumuna sebebiyet verir. Havalanma ve nem birbirleriyle direkt olarak ilişkilidirler çünkü topraktaki suyla doldurulmamış gözenek boşlukları gaz ile doldurulmuştur. Mikroorganizmalar en yoğun olarak 0.5-10 µm büyüklükteki orta por grubunda bulunurlar. Mikroorganizmalar gözenek sisteminde olduğu kadar, agregat yüzeylerinde veya agregat içi yapıda bulunabilirler. Toprak agregatlarının oluşumunda çeşitli türden mikroorganizmalar organ ve metabolitleri ile büyük etkiye sahiptirler. Toprak atmosferi genellikle yeryüzü atmosferinden mikroorganizma ve bitki köklerinin solunumu nedeniyle (oksijen tüketip karbondioksit üretmeleri) daha fazla karbondioksit ve daha az oksijen içerir. Toprak havası %0.25-0.17 arasında karbondioksit içerir ( bu oran havada %0.03). Nemli topraklarda oksijen difüzyonunun azalması nedeniyle ve mikrobiyolojik aktivitenin yoğunluğuna bağlı olarak kısa süreler için karbondioksit düzeyi % 10'u aşabilir. Havalanmanın uygun olmadığı koşullarda bitkilerin biyolojik aktiviteleri azalmakta, aerob yaşayan nitrifikasyon bakterileri, azot fikse edenler ve kükürt bakterilerinin aktivite ve gelişmeleri engellenmektedir.

Anaerob koşullara adapte olmuş mikroorganizma türlerinin metabolik aktiviteleri sonucu toprakta bitki ve diğer mikroorganizmalar için toksik nitelikli maddeler oluşmaktadır. Örneğin karbon mineralizasyonu sonucunda karbondioksit yanında çeşitli organik asitler (süt asidi, yağ asitleri) oluşmakta, metan ve kükürtlü hidrojen gibi anaerob fitotoksik maddeler ortaya çıkar.

Mikrobiyal hücrelerin pek çoğu toprağın kuruması sırasında ölmektedir. Sadece evre koşullarına dirençli olan türler uzun süre kuraklığa dayanabilmektedir. Kurumanın etkisi topraktaki emme basıncı terimi ile tanımlanabilir. Toprak mikroorganizmalarının çoğu toprak pF değeri 4.2'yi (15 atm) aştığında, yani çoğu bitkilerin daimi solma noktası aşıldığında yaşayamamaktadır. Mikrobiyal gelişme için optimum pF değeri bunun altındadır. Toprak mikroorganizmalarının bazıları pF artışına karşı çok duyarlıdır. Bakterilerin çoğu duyarlı organizmalar iken penicillium ve aktinomisetler yüksek negatif basınçlarda yaşamalarını srdrlebilirler. Toprak faunasının pF yükselmesine karşı dirençleri daha düşüktür.

Toprakta bazı mikroorganizmalar ise aerob nitelikli olmalarına karşın sadece düşük oksijen basıncı düzeylerinde iyi gelişebilmektedir. Bu tür organizalar "mikroaerofil" olarak tanımlanır.

Biyolojik ayrışım mikrobiyal gelişme, besinlerin ve atık yan ürünlerin difüzyonu için suya ihtiyaç duyar. Toprağın nem düzeyi mevcut mikroorganizma türünü etkileyebilir. Toprak nem düzeyli, topraktaki buharlaşma işlemlerini de etkileyebilir.

Yüksek su doğunluğu topraklardaki buhar akış oranlarını engelleyebilmesine rağmen (Sims ve Bass, 1984), düşük nem düzeyleri toprakta sorpsiyonun artmasıyla uçucu organiklerin buharlaşma evresini de azaltabilir (Chiou ve Shoup, 1985). Torpy ve arkadaşları (1989) biyolojik iyileştirim için en uygun (optimal) toprak nemini yaklaşık 1 bar basınç olarak verirken; Miller ve Hinchee (1990) ağırlıkça % 6.5 'taki toprak nemi düzeyinin biyolojik ayrışım ve toprak havalanmasını büyük ölçüde engelemediğini gözlemlemişlerdir.

## **5. Substrat faktörü**

Organik bileşenlerin yapısı mikroorganizmalar tarafından alınabilirliği ve biyolojik parçalanabilirliği üzerine temel etkiye sahiptir. Bazılarının parçalanması çok zordur, veya dayanıklıdır, toprakta ve suda bulunan kimyasallar sentetik polimerleri, aromatik bileşikleri DDT ve chlordane gibi pestisitleri içerir. Mikrobiyal hücreden geçemeyecek kadar ve ekstraselüler enzimler tarafından değiştirilemeyecek kadar büyük olan bileşikler (polivinil klorit ve polietilen) parçalanamazlar. Çok düşük suda çözünebilirliğe sahip bileşikler hücre içine taşınamazlar ve kolaylıkla parçalanamazlar. Kimyasalların çevredeki konsantrasyonu onların biyolojik parçalanabilirlik oranını etkiler. Bileşikler mikrobiyal populasyonunun büyümesine

veya populasyon miktarını korumaya yeterli olan eşik konsantrasyonlardan ziyade daha az miktarlarda verilmelidirler. Örneğin: 2,4-D ve dichlorophenol bileşikleri 1-100 ppm konsantrasyonlarında çok fazla parçalanabilirler, fakat ppb dozlarında verildiğinde yıllarca parçalanmadan kalabilmektedirler (Alexander, 1981).

## **6. İkincil substratların kullanımı (kometabolizm)...anlatıldı.**

## **7. Toprak redoks potansiyeli**

Genelde Eh olarak tanımlanan redoks potansiyeli topraklarda farklı organik kirleticilerin ve inorganik bileşikleri biyolojik dönüşüm düzeninde son derece önemlidir. Genellikle, yoğun bir biçimde kirlenen bir alan, süregelen mikrobiyal solunum nedeniyle mevcut tüm oksijeni tükettiğinden anaerobiktir. Anaerobik şartların oluşması oksitlenmiş bileşiklerin başlangıçta kullanılmasıyla farklı elektron alıcılara eğilimi uygun hale getirir. Diğer bir değişimle oksijen gazının nitrattan daha fazla (aerob solunum), nitratin sülfattan daha fazla (denitrifikasyon) ve sülfatın karbondioksitten daha fazla olarak kullanılması (sülfat indirgenmesi), sonuçta karbondioksit veya bikarbonat redüksiyonuyla metan oluşumu (methanogenesis) buna örnek verilebilir (Şekil 2). Farklı ayrıştırıcı potansiyellere sahip böyle mikrobiyal populasyonlar redoks potansiyeli değiştiğinde benzer kirli alanda farklı zamanlarda etkili olabilir. Eh ölçümleri toprak ya da sediment jeokimyasal sistemlerin işlevleri hakkında değerli ipuçları verdiği halde onlar tek başına kimyasal türler hakkında kesin bilgiler vermez.

Mikrobiyal solunumda olduğu gibi bunlar bazı redoks reaksiyonları için belli bir potansiyel olduğunu gösterir. Değişik organik ve inorganik redoks reaksiyonları onların karmaşıklığı ve farklı reaksiyon oranları nedeniyle çok iyi tanımlanamaz ve ifade edilemez (Blumar, 1967; Stumm, 1984). Kirlenmiş yüzeyaltı çevrelerinde redoks koşullarının değişimi zor olabilir (Barcelona va Holm, 1991).

Metabolik yollar moleküler oksijenin varlığı ve yokluğu, pH veya besin maddeleri koşulları gibi özel çevresel faktörler yoluyla belirlenir. Böylesi değişken şartlar, belli bir mikroorganizmadaki spesifik enzim sistemlerinin gelişimini ve kullanılmasını sağlar veya toprakta hareketsiz halde bulunan diğer mikroorganizmaların gelişimine ve metabolik aktiviteye geçmesine yol açar.

Tek bir organizma düzeyinde bile metabolik işlevler oldukça karmaşık olmasına rağmen, bileşiklerin özel grupları benzer ayrışma koşulları göstermeye eğilimlidir. Örneğin petrol bileşikleri moleküler oksijenin bulunduğu koşullarda, aerobik şartlar altında en hızlı olarak ayrışırlar. Buna karşın yüksek düzeyde klor ve halojenlerle (perkloretilen ve yüksek klorlu

PCB'ler) doyun bileşikler başlangıçta halojen gruplarının ilk hızlı giderimi için anaerobik şartlara gereksinin gösterirler.