

**ORGANOFOSFORLU PESTİSİDLERDEN PHOSMET'İN
Pseudomonas fluorescens İLE BİYODEGRADASYONUNUN
KESİKLİ VE SÜREKLİ SİSTEMLERDE ARAŞTIRILMASI**

Selin YILMAZ DURDU

**Yüksek Lisans Tezi
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Gülşad USLU**

ARALIK-2012

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORGANOFOSFORLU PESTİSİDLERDEN PHOSMET'İN *Pseudomonas fluorescens* İLE BİYODEGRADASYONUNUN KESİKLİ VE SÜREKLİ SİSTEMLERDE
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin YILMAZ DURDU

(092112103)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

Programı: Çevre Teknolojisi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Gülşad USLU

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 11 Aralık 2012

ARALIK-2012

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANOFOSFORLU PESTİSİDLERDEN PHOSMET'İN *Pseudomonas fluorescens* İLE BİYODEGRADASYONUNUN KESİKLİ VE SÜREKLİ SİSTEMLERDE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin YILMAZ DURDU

(092112103)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11 Aralık 2012

Tezin Savunulduğu Tarih : 26 Aralık 2012

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Gülşad USLU (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Arzu Yadigar DURSUN (F. Ü)

Yrd. Doç. Dr. Erdal ÖBEK (F.Ü)

ARALIK-2012

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın bütün aşamalarında desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Gülşad USLU'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca çalışmamın yürütülmesinde maddi destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi (FÜBAP) çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmamın hazırlanması sırasında emeği geçen hocalarım Yrd. Doç. Dr. Mehtap TANYOL'a ve Araştırma Görevlisi Özlem TEPE'ye ne kadar teşekkür etsem azdır. Ayrıca analizlerime katkıları olan Uzman Mehmet ŞAHİN'e de teşekkür ediyorum.

Beni yetiştirip bugünlere gelebilmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve tez çalışmamda da desteklerini benden hiç esirgemeyen babam Suat YILMAZ ve annem Sema YILMAZ' a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmam sırasında desteklerini hep hissettiğim eşim Miraç Metehan DURDU' ya ve ailesine de teşekkür ediyorum.

Selin YILMAZ DURDU
ELAZIĞ – 2012

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİL LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
EKLER LİSTESİ	X
SEMBOLLERİ LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. PESTİSİTLERLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pestisitlerin Tanımı	4
2.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması	5
2.2.1. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Pestisitler	6
2.2.2. İnsektisitler	7
2.2.2.1. Kimyasal Formüllerine Göre İnsektisitlerin Sınıflandırılması	7
2.2.2.2. Phosmet	11
2.2.3. Etki Şekillerine Göre Pestisitler	12
2.2.4. Zararlının Biyolojik Durumuna Göre Pestisit Çeşitleri	12
2.3. Pestisitlerin Faydaları ve Zararları	12
2.4. Pestisitlerin Etkileri	13
2.4.1. Pestisitlerin Genel Etkileri	13
2.4.1.1. Pestisitlerin Canlılar ve İnsanlar Üzerine Etkisi	15
2.4.1.2. Pestisitlerin Atmosfer Üzerine Etkileri	19
2.4.1.3. Pestisitlerin Toprağa Etkileri	19
2.4.1.4. Pestisitlerin Sulara Etkisi	21
2.5. Pestisit Uygulamaları Sonucu Çevre Kirlenmesinde Etkili Olan Faktörler	23
2.5.1. Meteorolojik Faktörler	23
2.5.2. Püskürtme Sistemleri ve Etkileri	24
2.5.3. Kullanımdan Kaynaklanan Faktörlerin Etkisi	25
2.6. Pestisit Kullanımı, Sorunlar Ve Alınabilecek Önlemler	26

2.6.1.	Pestisit kullanımı ve ortaya çıkan sorunlar.....	26
2.6.1.1.	DDT (Dikloro Difenil Trikloretan) Kullanımı	27
2.6.2.	Pestisitlerin İnsan ve Çevre Sağlığına Etkilerini Azaltmak İçin Alınması Gereken Önlemler	28
2.6.3.	Pestisit Kalıntıları ve İlgili Çalışmalar	29
2.7.	Mikroorganizmalar	32
2.7.1.	Mikroorganizmaların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri.....	32
2.7.2.	Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları ve Gelişme Koşulları	33
2.7.2.1.	Prokaryotik Hücreler	35
2.7.2.2.	Ökaryotik Hücreler	35
2.8.	Bakteriler	35
2.8.1.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	36
2.9.	Mikroorganizmaların Kimyasal Bileşimleri.....	36
2.10.	Mikroorganizmalar Üzerine Çevrenin Etkileri.....	37
3.	BİYODEGRADASYON	39
3.1.	Biyodegradasyonun Tanımı.....	39
3.2.	Biyodegradasyona Etki Eden Faktörler	39
3.3.	Pestisitlerin Biyodegradasyonu	40
3.3.1.	Pestisitlerin Biyodegradasyonunun Biyokimyasal Esasları	40
3.3.2.	Mikroorganizmalarla Pestisit Parçalanmasının Genetik Esasları	42
3.4.	Mikrobiyal Kinetik.....	43
3.4.1.	Kesikli Karıştırmalı Reaktör.....	43
3.4.1.1.	Mikroorganizmanın Üremesi.....	43
3.4.1.2.	Mikroorganizmaların Üreme Kinetiği.....	44
3.4.2.	Dolgulu Kolon Reaktör	46
3.4.3.	Dolgulu Kolonda Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması.....	47
4.	MATERYAL VE METOT	49
4.1.	Materyal.....	49
4.2.	Pestisitlerin LS MS / MS Cihazında Tayin Şartlarının Tespit Edilmesi.....	49
4.3.	Pestisit Standartlarının Hazırlanması ve Pestisitlerin Nicel Olarak Analizi	51
4.4.	Mikroorganizma Üretimi.....	51
4.4.1.	Mikroorganizmanın Pestisit İçeren Ortama Alıştırılması	52
4.4.2.	Pestisit çözeltisinin hazırlanması	53

4.4.3.	Kesikli Düzende Çalışan Karıştırmalı Kapta Üreme Çalışmaları	53
4.5.	Mikroorganizmanın Tutuklanması.....	53
4.6.	Dolgulu Kolon Deney Düzenegi.....	54
5.	SONUÇLAR.....	57
5.1.	Genel	57
5.2.	Kesikli Düzende Çalışan Karıştırmalı Kapta <i>P. fluorescens</i> 'in Üremesi Üzerine Pestisitlerin Etkisi	57
5.2.1.	Phosmet İnsektisitinin Biyodegradasyonu	57
5.2.1.1.	Başlangıç pH' ının Etkisi	57
5.2.1.2.	Sıcaklığın Etkisi.....	59
5.2.1.3.	Başlangıç Phosmet Konsantrasyonunun Etkisi	61
5.2.1.4.	Başlangıç Glukoz Konsantrasyonunun Etkisi	63
5.3.	Dolgulu Kolon Çalışmaları.....	65
5.3.1.	Besleme Akış Hızının Etkisi	65
5.3.2.	Besleme Phosmet Derişiminin Etkisi.....	67
5.3.3.	Dolgulu Kolon Reaktörde Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması.....	69
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	70
	KAYNAKLAR	73
	EKLER.....	76
	ÖZGEÇMİŞ	82

ÖZET

Bu çalışma da, phosmet'in *P. fluorescens* bakterisi ile biyodegradasyonu kesikli karıştırılmalı reaktörde ve dolgulu kolon reaktörde incelenmiştir. Substrat olarak seçilen glukoz pestisit ek karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Deneylerde serbest *P. fluorescens* ile kesikli sistemde başlangıç pH'ı, sıcaklık ve başlangıç pestisit konsantrasyonu gibi parametrelerin substrat tüketim ve mikroorganizma üretim hız ve verimliliklerine etkileri araştırılmış ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Optimum sıcaklık 40 °C ve başlangıç pestisit konsantrasyonu 5 mg/L'de, optimum Ph phosmet için 7 olarak bulunmuştur.

5 mg/L pestisit konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonlarda aşırı toksik bileşen inhibisyonunun etkili olduğu gözlenmiştir. Deneylerde kesikli sistemde substrat inhibisyonunun gözlemlendiği durumda mikroorganizmanın büyüme hızı substrat derişimine bağlı olarak Haldane Eşitliği ile ifade edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *P. fluorescens*, Phosmet, Biyodegradasyon, pH, Sıcaklık, Başlangıç pestisit konsantrasyonu.

SUMMARY

INVESTIGATION OF BIODEGRADATION OF PHOSMET ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES *by Pseudomonas fluorescens* IN BATCH AND CONTINUOUS SYSTEMS

In this study, biodegradation of the phosmet with *P. fluorescens* was investigated in a batch stirred reactor and bed reactor. Glucose was used as carbon source in addition to pesticides. The effects of initial pH, temperature and initial pesticides concentrations on the substrate removal and specific growth rates and yields were investigated and results were compared.

Optimum initial pH values were obtained as 7 for phosmet and which optimum temperature as 40°C and 5 mg/L respectively.

At higher pesticide concentrations (>5 mg/L), substrate inhibition was observed. At experiments, where substrate inhibition observed, microorganism's specific growth was implied with Haldane Equality depending on substrate concentration.

Keywords: *P. fluorescens*, Phosmet, Biodegradation, pH, Temperature, Initial pesticide concentration.

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2. 1. Phosmet Pestisitinin Molekül Şekli	11
Şekil 2.2. Tarım ilaçlarının uygulandığı bölgede hedef olmayan başka canlılara etkileri	18
Şekil 2.3. Bilinçsiz ve gereğinden fazla dozda tarım ilacı uygulamalarının insan sağlığı üzerine etkisi.	19
Şekil 2.4. Toprak kirliliğine sebep olan etmenlerin doğadaki döngüsü	21
Şekil 2.5. Pestisitlerin içme sularına bulaşması	22
Şekil 2.6. 1940'lı yıllarda DDT kullanımı	28
Şekil 3.1. Mikroorganizmaların üreme evreleri	44
Şekil 4.1. LC MS/MS Cihazının Fotoğrafı	50
Şekil 4.2. Dolgulu Kolon Reaktör Sisteminin Şematik Şekli	55
Şekil 4.3. Dolgulu Kolon Reaktör Sisteminin Fotoğrafı	56
Şekil 5.1. 5 mg/L Başlangıç Phosmet Konsantrasyonun da Üreyen <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun pH ile Değişimi ($T=40^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	58
Şekil 5.2. Farklı Başlangıç pH'larında <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi ($T=40^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_{F0}=5\text{ mg/l Phosmet}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	58
Şekil 5.3. pH Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi ($T=40^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; Phosmet; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	59
Şekil 5.4. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen Mikroorganizma Konsantrasyonunun Sıcaklıkla Değişimi ($\text{pH}=7$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	60
Şekil 5.5. Farklı Sıcaklıklarda <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi ($\text{pH}=7$; $C_{F0}=5\text{ mg/L Phosmet}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	60
Şekil 5.6. Sıcaklık Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi ($\text{pH}=7$; $C_{F0}=5\text{ mg/L Phosmet}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	61
Şekil 5.7. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarında <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonu ($\text{pH}=7$; $T=40^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	62
Şekil 5.8. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarında <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi ($\text{pH}=7$; $T=40^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)	62

Şekil 5.9. Phosmet pestisitinin Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarının Özgöl Üreme Hızına Etkisi (pH =7; T = 40 °C; X ₀ = 15 mL; C ₀ = 5 g/L; V _R = 150 mL; KH= 150 rpm).....	63
Şekil 5.10. Farklı Başlangıç Phosmet Pestisiti Bulunan Ortamda Üreyen <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun Farklı Glukoz Konsantrasyonları İle Değişimi (pH=7; T = 40 °C; X ₀ = 15 mL; V _R =150 mL; KH= 150 rpm)	64
Şekil 5.11. Farklı Başlangıç Glukoz Konsantrasyonlarında <i>P. fluorescens</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH=7; T=40 °C; C _{F0} =5mg/L Phosmet; V _R =150mL; KH=150rpm)	65
Şekil 5.12. <i>P. fluorescens</i> 'in Özgöl Üreme Hızının Başlangıç Glukoz Konsantrasyonu ile Değişimi (pH=7; T=40 °C; C _{F0} =5mg/L Phosmet; V _R =150mL; KH=150rpm).....	65
Şekil 5.13. Dolgulu Kolonda Phosmet Tüketim Hızının Kolon Reynolds Sayısı İle Değişimi (pH =7, T=30°C, C _{F0} =1 mg/L, w= 10.15 g, ϵ =0.33, dp=2 mm)	67
Şekil 5.14. Phosmet Derişiminin Kolon Phosmet Tüketim Hızına Etkisi (pH=7, T=30°C, C _{F0} =1 mg/L,w=10.15 g, ϵ =0.33, dp=2 mm, τ =0.30 sa)	68

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Kullanıldıkları Zarar Grubuna Göre Pestisit Çeşitleri.....	6
Tablo 2.2. Pestisitlerin bazı kronik ve akut etkileri	16
Tablo 2.3. Bazı pestisitlerin ağız ve deri yoluyla belirlenen akut toksisiteleri.....	17
Tablo 3.1. Pestisit Parçalanmasında Katabolik Plazmid Bulunduran Organizmalar.....	42
Tablo 4.1. <i>P. fluorescens</i> ' in üretiminde kullanılan zengin sıvı besi yerinin bileşimi.....	49
Tablo 4.2. Biyodegradasyon çalışmalarında kullanılan besin ortamı	52
Tablo 4.3 Tutuklanmış mikroorganizmalarla yapılan biyodegradasyon deneylerinde kullanılan besi ortamı	54
Tablo 5.1. Farklı Phosmet Konsantrasyonlarında Elde Edilen Maksimum Mikroorganizma Konsantrasyonları ve % Pestisit Tüketim Değerleri.....	63
Tablo 5.2. Farklı Akış Hızlarında Elde Edilen Alıkonma Süreleri ve % Phosmet Tüketim Değerleri (pH= 7, T=30 °C, C _{F0} = 1 mg/L, w=10.15g, ϵ = 0.33).....	67
Tablo 5.3. Farklı Phosmet Derişimlerinde Elde Edilen Kolon % Phosmet Tüketim Değerleri (pH=7, T=30°C, w=10.15 g, ϵ =0.33 τ =0.30 sa).....	68
Tablo 5.4. Çeşitli Akış Hızlarında Elde Edilen Görünür Tepkime Hız Sabiti Değerleri (pH=7, T=40 °, C _{F0} = 1 mg/L, w=10.15 g, ϵ =0.33)	69

EKLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
EK 1. Mikroorganizma Derişimi Tayini.....	76
EK 2. Kesikli Karıştırılmalı Kaptan ve Dolgulu Kolon Reaktörde Substrat % Tüketim Değerlerinin Hesaplanması.....	78
EK 3. Biyodegradasyon Ortamının Yoğunluk ve Viskozitesinin Hesabı.....	79
EK 4. Dolgulu Kolon Reaktörde Reynolds Sayıları ve Alıkonma Süresinin Hesabı.....	80
EK 5. Dolgulu Kolon Reaktörde Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması.....	81

SEMBOLLER LİSTESİ

A	: Absorbans
C	: Substrat derişimi (mg veya g/L)
C_F	: Pestisit derişimi (mg/L)
C_{F0}	: Kesikli karıştırmalı kaptaki başlangıç pestisit derişimi (mg/L)
C₀	: Başlangıç substrat derişimi (mg veya g/L)
DDT	: Dikloro difenil trikloro etan
ε	: Porozite
g k.mo./L	: 1L üreme ortamındaki kuru mikroorganizma miktarı (g)
g k.mo.sa	: Üreme ortamında 1 saatte oluşan kuru mikroorganizma miktarı (g)
ha	: Hektar
k	: 1. derece reaksiyon hız sabiti (sa ⁻¹)
KH	: Karıştırma hızı
K_s	: Monod sabiti (Substrat doygunluk derişimi) (mg veya g/L)
kp	: Görünür tepkime hızı (cm ³ /g. sa)
LD50	: Test hayvanlarının % 50'sini öldürmek için gerekli doz
LC50	: Test hayvanlarının % 50'sini öldürmek için gerekli konsantrasyon
mM	: Milimol
μM	: Mikromol
μ	: Mikroorganizma özgül üreme hızı (sa ⁻¹)
μ_{max}	: Mikroorganizmanın maksimum özgül üreme hızı (sa ⁻¹)
μL	: Mikrolitre
N_{Re}	: Dolgulu kolon Reynolds sayısı
ppb	: Hacimsel ve kütleli olarak milyarda kısım
ppm	: Hacimsel ve kütleli olarak milyonda kısım
Q₀	: LC MS/MS cihazında moleküllerin sıraya girdiği akış hızı
Q₁	: LC MS/MS cihazında molekülün yakalandığı akış hızı
Q₂	: LC MS/MS cihazında molekülün azotla çarpıştığı akış hızı
Q₃	: LC MS/MS cihazında molekülün miktar tayininin yapıldığı akış hızı
T	: Sıcaklık (°C)
t_d	: Mikroorganizmanın ikilenme süresi (sa)
τ	: Dolgulu kolon reaktörde alıkonma süresi (sa)
v	: Pestisit tüketim hızı (mg/g k. mo.sa)
v_k	: Kolon phosmet tüketim hızı (mg/g k. mo.sa)
V_R	: Numüne alınan kaptaki toplam hacim (mL)
V	: Kolon boşluk hacmi (cm ³)
w	: Kolon kuru mikroorganizma ağırlığı (g)
X₀	: Aşı olarak kullanılan mikroorganizma miktarı (g/L)
X	: Üstel üreme bölgesindeki kuru mikroorganizma derişimi (g/L)
X_m	: Üreme ortamındaki maksimum kuru mikroorganizma derişimi (g/L)
X_y	: Yaş mikroorganizma derişimi (g/L)

1.GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerde kullanılması yasak olan ve hala üretimine devam edilen tarım ilaçlarının geri kalmış veya gelişmekte olan ülkelere kullanımları giderek artmaktadır. Dünyamızda özellikle son 40–45 yıl içerisinde milyonlarca ton pestisit kullanılmıştır. Bir tarım ülkesi olan Türkiye’de bu miktardan payına düşeni almıştır. Ülkemizin tarıma dayalı ekonomik yapıya sahip olması yanında, nüfusun hızlı ve sürekli artış göstermesi tarıma daha fazla önem verilmesi gerekliliğini ortaya koymakta, birim alandan en fazla verimi elde etmek için her türlü çabanın harcanması gerekmektedir. Ülkemizde 1934 yılında 11,6 milyon ha olan tarım arazisinin artışı 1970’li yıllara kadar hızla devam etmiş ve doğal sınırlara ulaşmıştır. Günümüzde 27,7 milyar ha alan tarımsal işletmeye elverişlidir. Bunun yanı sıra tarıma elverişli toprakların şehirleşme, sanayi, kamu ve turistik yatırımlar gibi tarım dışı amaçlarla kullanılması eklendiğinde tarım sektöründe yeni teknoloji ve girdiler kullanmamızın gereği kendiliğinden ortaya çıkar (Ünal ve Gürkan, 2001).

Tarımsal üretimi artırmak için yüksek verimli tohum kullanımı, sulama ve gübreleme gibi tekniklerin yanında bitki korumanın da çok önemli yeri vardır. Bugün dünyada bitki hastalıklarının, zararlıların ve yabancı otların neden olduğu ürün kaybı yaklaşık % 35 olup, yapılan araştırmalar mücadele yapılmadığı takdirde bu kaybın iki kat olabileceğini göstermektedir (Ünal ve Gürkan, 2001).

Pestisitlerin sadece hedef seçilen zararlılara etkili olması arzu edilir. Fakat pestisitler imalat, depolama, pazarlama ve kullanıma sırasında hava, su ve toprağa karışarak hedef olmayan canlıları olumsuz yönde etkilemektedir. Buna bir de bilinçsiz ve dikkatsiz kullanım da eklenirse suda, toprakta, bitkisel ve hayvansal besinler de artan oranlarda birikirler (Şanlı,1984). Pestisitler çevremizde amaçsız, sınırsız, nerede ise kontrolsüz olarak atılan birkaç toksik kimyasal grubundan biridir. Pestisitler hemen her türlü ögede bulunmaktadır. Havada, suda, toprakta, yağmurda, karda, buzda, yüzeysel sularda ve siste bile bulunabilmektedirler. Dünyadaki bütün canlılar, bitkiler, hayvanlar pestisitlerden etkilenirler (Güler ve diğ., 1998).

Doğal kaynakların kirlilikten korunması için tarımsal amaçlı kimyasalların kontrollü olarak kullanılması daha fazla kirlenmenin önlenmesi açısından önemlidir. Pestisitlerin bazı özellikleri, örneğin aşırı derecede hareketlilik, dayanıklılık veya buharlaşma, çevre kirliliği açısından olumsuz sonuçlara yol açabilmektedir. Pestisit kirlilik düzeyinin en alt

düzeye indirilmesinde pestisit kullanımından beklenen faydanın sağlanması da dikkate alınmak durumundadır (Ünlü ve diğ.,1997).

Pestisitlerin kontrolsüz olarak kullanılması, toprak, hava ve yüzey ile yeraltı su kirliliklerine sebep olmaktadır. Tarımda kullanılan kimyasalların kontrollü kullanılması bu doğal kaynakların ileri derecede kirlenmelerini önlemek bakımından çok önemlidir. Tarımsal ilaçların bilimsel denetimden yoksun, gelişi güzel ve aşırı dozlarda kullanımları sonucunda zararlılar yanında yararlı canlılar ve çevrenin diğer unsurları üzerine de olumsuz etkileri bulunmaktadır.

İnsanlığın geleceğini tehlikeye düşürecek nitelikte doğal dengenin bozulmasında pestisitlerin büyük rolü vardır. Bu maddeler toprakta birikerek önce gıda zincirine daha sonrada canlı bünyesine ulaşırlar. Doğada kurulmuş olan bir zincir vardır; bu zincirin halkalarından birine müdahale ettiğimiz zaman mutlaka bir bozulma yaşanacaktır. Pestisitlerin hastalık ve zararlılarla mücadelede kullanımlarının giderek artmasıyla, mikroorganizmaların faaliyetlerini ve ekolojik dengeyi bozdukları, yaşam zinciri içinde hareket ederek varlıklarını sürdürmeleri ve organizma dokularında birikerek toksik etkiler göstermiş olmaları nedeniyle de toprakta ki devamlılıklarının ve yan etkilerinin arttığını görmekteyiz.

Bu maddelerin bir kısmı canlı bünyede mutajenik ve kanserojenik etkiye sahip olurken, diğer bir kısmı ise canlı bünyede birikime ve toksik etkiye sebep olurlar (Ceritli, 1997). Tarım alanlarında kullanılan yapay kimyasal maddeler, moleküler yapılarının bir sonucu olarak oldukça dayanıklıdırlar ve doğal koşullar altında yapısal özelliklerini korurlar. Bu kararlılıklarının sonucu olarak yıllarca yapılarının bozulmaması sayesinde doğal çevrimlere katılırlar. Yapısal dayanıklılık nedeniyle toprak, su, yeraltı suyu ve yüzeysel sularda önemli ölçüde kirlenmeye yol açarlar (Gürman, 1993; William ve diğ.,1993).

Zirai mücadele amacı ile kullanılmakta olan kimyasal maddeleri çeşitli şekillerde sınıflandırmak mümkündür. En yaygın sınıflandırma şekli hedef alınan organizma grubuna göre yapılıdır. Buna göre; insektisidler böcek öldürmek için, herbisidler yabancı otları öldürmek için, akarısidler kırmızı örümcekleri öldürmek için, bakterisidler bakteri öldürmek için, afisidler yaprak bitkilerini öldürmek için, rodentisidler kemiricileri öldürmek için, nematosidler nematod öldürmek için, algisidler algleri öldürmek için, avisidler kuşları öldürmek veya kaçırmak için vb. şeklinde isimlendirilirler. İnsektisidler, herbisidler ve akarısidler yaygın olarak ve çok miktarda kullanıldıkları için kontaminasyonda da en fazla önem verilen pestisitleri meydana getirmektedirler.

Pestisitlerin aktif maddelerinin yapısı, etki şekli ve özellikleri birbirlerinden farklıdır. Bitki yüzeyine temas eden pestisit, aktif maddelerinin özelliklerine göre burada belli bir süre kalır, bir kısmı bitkinin içine girer, bir kısmı da suda çözülerek kökler, yapraklar veya dallar vasıtasıyla bitki içine transloke olur. Bu şekilde bitki ile birlikte bulunan pestisitlerin etkili maddeleri, aktivitelerini tamamladıktan sonra yağmurla yıkanmak, sızmak, damlamak, rüzgârla taşınmak, buharlaşmak, güneş altında oksidasyona uğramak, yüksek rutubet ile hidrolize olmak veya bitki salgılarıyla karışarak bozulmak gibi giderme mekanizmaları ile zamanla giderek azalır (TÇSV, 1995). Burada önemli olan husus mevcut pestisit kalıntılarının, tüketim için pazara gelmeden önce her türlü gıda maddesinde insan, hayvan ve çevre sağlığına zarar vermeyecek düzeyde bulunmasıdır (Güvener, 1980).

Yapay organik pestisitler genellikle konsantre maddeler halinde üretilir. Formüle edilmiş ticari bir pestisitinin aktif madde içeriği, ağırlık bazı üzerinden % 1 ile % 95 arasında değişebilir ve toz, granül, çözelti, emülsiyon veya ısıtılabilir ince tozlar halinde uygulanır (Öztürk, 1990). Yapılan araştırmalara göre, ilacın uygulama şeklinin verime olduğu gibi, çevre kirliliğine de katkısı büyüktür.

Sunulan tez çalışmasında pestisitlerin giderimi, *P. fluorescens* bakterisi ile kesikli karıştırılmalı ve dolgulu kolon reaktörde incelenmiştir. Elde edilen veriler kesikli karıştırılmalı kapta mikroorganizma sıcaklık, pH, glukoz konsantrasyonu, substrat (pestisit) tüketim hızları ve substrat tüketim yüzdeleri açısından değerlendirilmiştir. Dolgulu kolon reaktörde ise besleme akış hızının etkisi ve phosmet derişiminin etkisi açısından değerlendirilmiştir.

2. PESTİSİTLERLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitlerin Tanımı

Pestisitler; istenmeyen böcek, kemirgen, bitki, yosun ve diğer zararlıların önlenmesi için uygulanan maddeler olup, kullanımı çevre üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Daha açık bir ifadeyle pestisitler; bitki hastalıkları, zararlı böcekler ve yabancı otlar gibi tarımsal ürünlerin azalmasına neden olabilecek, çeşitli etmenlere karşı kullanılan kimyasal bileşiklerin hepsine birden verilen genel isimdir. Pestisit kelimesi, Latince kökenli olup, darmanada “hastalık öldürücü” anlamına gelmektedir. Tam olarak tanımlamak gerekirse, pestisitler; besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında, besin değerini bozan ve bitkilere zarar veren böcekleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan kimyasal maddelerdir (TÇSV, 2003).

Pestisitlerin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanması, 19. yy. sonu ve 20. yy. başlarına rastlamaktadır. Bunların önemli bir kısmını inorganik bileşikler oluşturmakta, az miktarda da organik bileşikler bulunmaktadır. II. Dünya Savaşı’ndan önce birkaç organik kökenli ilacın dışında kullanılan ilaçların tümü inorganik kökenliydi. 1945’lerden itibaren klorlanmış hidrokarbonların, organik fosforlu insektisitlerin, karbamatların tarım alanında kullanılmaya başlanması ile pestisit sanayi hızla ilerlemiş ve yeni preparatların piyasaya sürülmesi ile kimyasal mücadele önem kazanmıştır.

Pestisitlerde aranan en önemli özellik, zararlı hayvan ve organizmalara karşı çok toksik ve etkili olmasıdır. Bunun yanı sıra sıcakkanlılara, özellikle insanlara karşı az toksik veya zararsız olması istenmektedir. Ancak şimdiye kadar imal edilmiş ilaçlar içerisinde bu nitelikleri taşıyanlar çok azdır. Bu nedenle bitki koruma ilaçlarının genel bir kural olarak insanlar ve diğer bütün canlılara zehirli olacağı kabul edilmelidir. Zira biyolojik etkenliğe sahip ilaçların, kullanılmaları sonucu, bazı potansiyel tehlikeler doğuracağı, çevre bulaşması gibi arzu edilmeyen bazı sorunların ortaya çıkmasına neden olacağı bellidir ve bu son zamanlarda iyice belirlenmiştir (Toros, 1980).

Pestisitler genellikle belli bir organizmaya karşı kullanılmaktadır. İdeal durum, pestisitinin yalnızca hedef alınan organizmayı zehirleyip diğerlerine zarar vermemesidir. Gerçekten de seçiciliği yüksek maddeler, belli bir derişimde istenmeyen canlıyı öldürürken

diğer hayvan ve bitkileri fazla etkilememektedir. Yine de tam bir seçicilik mümkün değildir.

Bazı pestisitler akut zehirlilik etkisi göstermekte ve kolaylıkla bozunabilmektedir. Bunlar, sınırlı bir bölgede önemli zarara neden olsalar da uzun sürede bir kirlilik yaratmazlar. Diğer bazı pestisitler, akut zehirlilik etkisi az, fakat dayanıklı olabilirler ve uzak mesafelere taşınarak uygulama alanından başka yerlerde de zarara neden olabilirler.

İdeal bir pestisit;

- İstenmeyen zararlıyı kontrol edebilmeli,
- Hedef alınmayan canlıya zarar vermemeli (seçici olmalı),
- Uygun bir zaman sürecinde ekolojik olarak kabul edilebilir ürünlere dönüşmeli,
- Uygulama alanında kalabilmeli,
- Çevrede birikme potansiyeli olmamalıdır.

Ancak günümüzde kullanılan hiçbir pestisit yukarıda belirlenen ideal niteliklerin tümüne sahip değildir. Çevresel etkilerinin güncellik kazanması sonucu çevreye olan olumsuz etkileri nedeniyle bazı pestisitler yasaklanmış ya da kullanımı sınırlandırılmıştır. Kalıcı pestisitlerin başlıca sakıncaları; yaygın kullanılmaları, çevrede bir ortamdan diğerine aktarılması ve biyolojik ve kimyasal bozunmaya karşı dirençli olmalarıdır (Uslu ve Türkman 1987).

Zararlılara olan etkilerinin yanı sıra, insanlar tarafından ekonomik bir şekilde imal edilebilmeleri bu maddelerin geniş ölçüde kullanılmalarının sebeplerinden bir tanesi olmuştur. Bu tür kimyasal maddelerden on binlercesi formüle edilmiş, geliştirilmiş ve test edilerek kullanıma sunulmuştur. Günümüzde 900 çeşit kimyasal madde ve bunların 60.000 tür değişik formülasyonu geliştirilmiş ve zararlı ve hastalıklara karşı kullanılmaktadır (Haktanır, 1985).

2.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Zirai mücadele amacı ile kullanılmakta olan kimyasal maddeleri çeşitli şekillerde sınıflandırmak mümkündür. En yaygın sınıflandırma, hedef alınan hastalık etmeni organizma grubuna göre yapılanıdır. Pestisitlerin değişik yönlerden sınıflandırılması şöyle yapılabilir.

1. Kullanıldıkları zararlı grubuna göre,
2. Kimyasal formüllerine göre,
3. Etki şekillerine göre,
4. Kullanım tekniğine göre,
5. İlacın fiziki haline göre(tozlar, çözeltiler, süspansiyonlar, uçucu katılar ve diğ.),
6. Zararlının biyolojik durumuna göre,
7. Kontrol ettiği zararlının bulunduğu yer ve konukçu durumuna göre,
8. Bileşimindeki etkili madde grubuna göre (TÇSV, 2003)

2.2.1. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Pestisitler

Kullanıldıkları zararlı grubuna göre pestisit çeşitleri Tablo 2.1’ de verilmiştir.

Tablo 2.1. Kullanıldıkları Zararlı Grubuna Göre Pestisit Çeşitleri (TÇSV, 2003)

	Pestisit Grupları	Kullanım Amacı
1	İnsektisidler	Böcek öldürmek için
2	Fungusidler	Mantar öldürmek için
3	Fungostatikler	Mantarların gelişmesini durdurmak için
4	Herbisidler	Yabancı otları öldürmek için
5	Akarisidler	Kırmızı böcekleri öldürmek için
6	Bakterisitler	Bakterileri öldürmek için
7	Afisitler	Yaprak bitkilerini öldürmek için
8	Rodentisitler	Kemiricileri öldürmek için
9	Nematosidler	Nematodları öldürmek için
10	Mollukisitler	Yumuşakçaları öldürmek için
11	Algisitler	Algleri öldürmek için
12	Avisidler	Kuşları öldürmek veya kaçırmak için
13	Repellentler	Böcek ve tavşan gibi zarar veren hayvanları kaçırmak için
14	Atraktanlar	Zararlı böcek ve hayvanları kendine çekmek için
15	Antifidingler	Böceklerde beslenmeye engel olmak için

2.2.2. İsektisitler

Günümüzde kullanılmakta olan insektisitlerin miktarı diğler pestisit gruplarının her birinden fazladır. İhtiva ettikleri aktif madde, etki tarzları ve kullanma şekillerine göre çok değışik şekilde sınıflandırılmaktadırlar.

2.2.2.1. Kimyasal Formüllerine Göre İsektisitlerin Sınıflandırılması

Halen 300 kadar sentetik organik insektisit bilinmektedir. Bunlardan türetilcek çeşitli ad ve formülasyonda 10.000'in üstünde ticari insektisit preparatı hazırlanmıştır. Sayıları ve formülasyonları çok olmasına rağmen, insektisitler kimyasal formüllerine göre birkaç ana gruba ayrılırlar.

1. Klorlanmış hidrokarbonlar: Klorlanmış hidrokarbonlar, genellikle sadece karbon-hidrojen ihtiva eden organik maddelerin (alifatik veya aromatik) klorlanmasıyla elde edilirler. Bunların yararlarının yanında zararları da çoktur. Zararları özellikle çevre kirliliğı meydana getirmelerindendir.

Klorlanmış hidrokarbonların diğler pestisit gruplarına göre daha çok kullanılması ve doğal şartlara daha dayanıklı olmaları çevre kirliliğine sebep olmalarının başlıca nedenleridir.

Bu gruba dahil olan başlıca pestisitler DDT, aldrin, lindan, heptaklor, dieldirin, klordan ve teksofendir. Bunlar içinde en çok kullanılanı DDT diye bilinen diklorodifeniltriokloroetandır. Kimyasal adlarının çok uzun olması nedeniyle gerek klorlanmış hidrokarbonlar, gerekse öteki pestisitler hep kısaltılmış adlarıyla söylenir. Bir pestisitın dayanıklı olması çevre bakımından çok zararlıdır. Dayanıklılığı, onun doğal şartlarda % 95'inin bozunması için geçen süre olarak verilir. Bazı pestisitler 1–12 haftada bozunurlar, bunlara orta ömürlü, bazıları da 2 yıl veya daha fazla zamanda bozunurlar, bunlara da uzun ömürlü denir.

Klorlu pestisitlerin büyük çoğunluğu uzun ömürlüdür. Bunlar için de en uzun ömürlüsü de DDT'dir. DDT'nin % 95'inin bozunması için geçen zaman, yaklaşık 10 yıldır. Bunu dieldirin, endirin, lindan, klordan, heptaklor ve aldrin takip eder. Ancak aldrinin bile bozunma ömrü 2 yılın üstündedir. Bu zamanlar, adı geçen maddelerin topraktaki bozunma

ömürleridir. Hava ve sudaki bozunma ömürleri hakkında henüz güvenilir bilgilerimiz yoktur.

Klorlu pestisitlerin organizma üzerindeki toksik etkisinin mekanizması henüz bilinmemektedir. Yalnız insektisitlerin sinir liflerini çevreleyen yağ dokularında çözündükleri ve sinir sisteminden çıkmalarını engelledikleri zannedilmektedir.

Klorlanmış pestisitlerin kullanılması bazı devletlerde ve özellikle de Amerika Birleşik Devletlerinde sınırlandırılmıştır. İlk sınırlama 1973 yılında DDT'ye konulmuş, bunu dieldirin ve aldirin kullanımının sınırlandırılması takip etmiştir. Söz konusu bu maddeler kullanıldığı yerlerden çeşitli yollarla (yağmur, kar, rüzgâr, su akıntıları gibi) başka yerlere sürüklenir ve orada da zararlı olmaya devam ederler sonunda mücadele amacıyla hedef alınmayan organizmalara da büyük zarar verirler. Bundan dolayıdır ki, klorlanmış hidrokarbonlar zamanımızda her yerde ve hatta birçok canlı mikroorganizma da bulunur. Kısacası ciddi bir çevre sorunu yaratmışlardır (Gündüz, 1998)

2. Klorofenoksi Asitler: Klorofenoksi asitler herbisit olarak çok kullanılır. Bu maddeler çayır gibi ince yapraklı bitkilerden ziyade geniş yapraklı bitkiler üzerinde etkilidir. Bundan dolayı bu maddeler daha çok karayolları, demiryolları, elektrik direkleri etrafındaki çimenliklerde ve bahçelerdeki geniş yapraklı yabani otlarla mücadele için kullanılır. Geniş yapraklı bitkiler bu maddeleri çimen gibi ince yapraklı bitkilerden daha çok absorbe ederler. Bunlardan odunlu bitkiler de etkilenirler, ancak onlar hemen kurumazlar ve kabuk değiştirirler. Sık sık kabuk değiştirme bitkinin gıda deposunu tüketeyeceğinden onlar da zamanla kurur.

Klorofenoksi asitlerin bitkiler üzerindeki toksik etkisi, bu maddelerin bitkilerin doğal hormonlarını taklit etmeleri ve onları anormal bir şekilde büyümeye zorlamaları ve bunun sonucu bitkilerin biriktirdiği enerjinin kâfi gelmemesi temeline dayanmaktadır. Kısaca söylemek gerekirse, bu maddelerin etkisiyle bitkiler kendi ölümlerini hazırlamak için anormal bir şekilde büyürler ve kendilerini tüketirler.

Bu asitler oda sıcaklığında katı ve kristal yapıları maddelerdir. Bunların türevleri asitlerden daha etkilidir. Amin tuzları oda sıcaklığında sıvıdır ve suda daha çok çözünür. Esterleri ise organik çözücülerde çözünür, ama suda çözünmezler. Ancak suda çok iyi emülsiyon verirler. En büyük biyolojik aktiviteyi bu maddelerin esterleri gösterir. Toprağın cinsine, sıcaklığına, nemine ve havalanmasına bağlı olarak maddenin etkisi 1–4 haftaya

kadar devam eder. Bu asitlerin veya türevlerinin karışımı çok daha şiddetli herbisitlerdir (Gündüz,1998).

3. Organofosfatlar: Organofosfatlar, fosfor ihtiva eden karışık yapılı organik maddelerdir. 1950’li yıllarda insektisit olarak sentezlenmişlerdir. Halen de büyük ölçüde kullanılmaktadırlar. Büyük ölçüde kullanılmalarının başlıca nedeni, bazı böceklerin, klorlu insektisitlere direnç kazanmalarındır. Bunların çok kullanılmasının bir başka nedeni de, böyle maddelerin doğal çevre şartlarına klorlu bileşiklere göre daha az dayanıklı olmaları ve çok kısa zamanda deaktivite edilmeleridir. Ne var ki, bunlar insanlar için, klorlu organik bileşiklerden çok daha toksiktir.

Bazı organofosfatların toksik etkileri çok bilinen klorlu insektisitlerin toksik etkileriyle karşılaştırılırsa bunların daha toksik oldukları görülür. Toksikliğin ölçüsü, kilogram böcek başına bir defa da kullanılan pestisit miktarıdır. Hayvanlar için öldürücü olan maddeler genellikle insanlar içinde öldürücüdür. İnsanlar üzerindeki bilgiler, daha çok kaza sonucu meydana gelen ölümlere dayanır. Buna bir örnek, buğdayın bir organofosfat olan paration ile karışması sonucu 1958’de Hindistan’da 102 kişinin, 1967’de Kolombiya’da ise 88 kişinin ölümüdür.

İnsanlar üzerinde olan şiddetli toksik etkileri bir tarafa bırakılırsa, organofosfatlar klorlanmış hidrokarbonlara göre daha kullanışlıdır. Çünkü bunların çevrede doğal şartlarda bozulmaları daha kolaydır. Bundan dolayı insan vücudunda birikim yapmazlar ve kronik zehirlenmeler meydana getirmezler. Ancak şiddetli toksik maddeleri kullanırken çok dikkatli olunması gerekmektedir (Gündüz, 1998).

4. Karbamatlar: Karbamatlar en yeni pestisitlerdir. Bunların hipotetik karbamik asitin türevleri olduğu kabul edilir.

Karbamatlar karbamik asitin organik esterleri veya tuzlarıdır. Esterleşme hipotetik karbamik asit üzerindeki –OH grubu üzerinden gerçekleşir. Karbamatlar çok yönlü pestisitlerdir. Bazıları insektisit, bazıları fungusit, bazıları da mollusittir.

Karbamatlar, dayanıklılık bakımından organofosfatlara benzerler. Organizmada birikme özellikleri yoktur (çabucak degrade olurlar). Toksisiteleri çok farklıdır. Bazıları DDT’den daha az zehirlidir. Bunların canlı vücudundaki etkileri de organofosfatlarınkine benzer (Gündüz, 1998).

5. Pyrethroid İsektisitler: Bu grubun oldukça uzun bir tarihçesi olmasına rağmen son yıllarda çok önem kazanmıştır. Pyrethrum cinsine ait belirli türlerin çiçeklerinin öğütülmesi ile elde edilen piretrum ekstraktı % 1–2 pirethrin içermekte olup bu tozların insektisit etkisi 1880’li yıllara dayanır. Prethrum ekstraktını oluşturan maddelerin en önemlisi Pyrethrin I ve Pyrethrin II olup ekstraktın % 73’ünü oluştururlar. Pyrethrin I’in insektisit özelliği yüksek, Pyrethrin II ise kısa sürede böceği sersemletecek etkiye sahiptir. Bunun yanı sıra ekstrakta % 19 civarında Cinerin I ve Cinerin II; % 8 civarında Jasmoline I ve II bulunmaktadır.

Doğal piretrumların insektisit olarak birçok avantajları vardır. Geniş spektrumlu olmaları, memelilere zehirliliklerinin ihmal edilebilir düzeyde olması ve doğal koşullarda kısa sürede dekompoze olmaları en önemli avantajlarıdır. Ancak, kolay bozunmalarının yanı sıra, üretim maliyetinin oldukça yüksek olması, üretiminin sürekli olmasındaki zorluklar doğal piretroitlerin kullanımını sınırlamıştır.

Bu grubu dört sınıfta incelemek mümkündür.

a) I. Nesil Sentetik Piretroitler: Bu sınıfın tek üyesi olan Allethrin 1949 yılında sentezlenmiştir. Bu etkili maddenin sentezi çok zor olup 13 aşamalı kimyasal işlem sonucunda üretilmiştir. Alternatiflerine göre pahalı bileşikler olarak kalmıştır.

b) II. Nesil Sentetik Piretroitler: Resmethrin ve bioresmethrin 1967 yılında keşfedilmiş ve kullanıma girmiştir. Resmethrin doğal piretrumdan 20 kat daha etkilidir.

Bioresmethrin yine aynı yılda sentezlenmiş olup doğal piretrumdan 50 kat daha etkili olduğu anlaşılmıştır.

Birinci ve ikinci nesilde yer alan etkili maddelerin özellikle doğal pretroidlere göre daha yüksek toksisite göstermesi ve geniş spektrumlu olmasının yanısıra sıcakkanlılara toksisite yönünden daha güvenilir olması, bu konudaki çalışmaları hızlandırmıştır. Örneğin bioresmethrin seçicilik yönünden ele alındığında ev sineklerine olan toksisitesinin sıçanlardan 40.000 kez daha az olması nedeniyle uygulamada en emin insektisit olarak yerini almıştır.

İlk iki nesil sentetik piretroidler de doğal pyretrinler gibi hava ve ışıktaki kararsız bileşik olma özelliğini devam ettirmişlerdir.

c) III. Nesil Sentetik Piretroitler: Yapı ve etkinlik ile ilgili yoğun çalışmalarla ışığa dayanıklı sentetik pyretroidler keşfine olanak tanınmıştır. Bu grup piretroitler asimetrik asit ve alkol esteridirler. Etkinlikleri ise doymamış uygun merkezin varlığı ile doğal

ekstraktının en kuvvetli insektisit özelliği gösteren pirethrinine benzer moleküler yapıda olmasına bağlıdır.

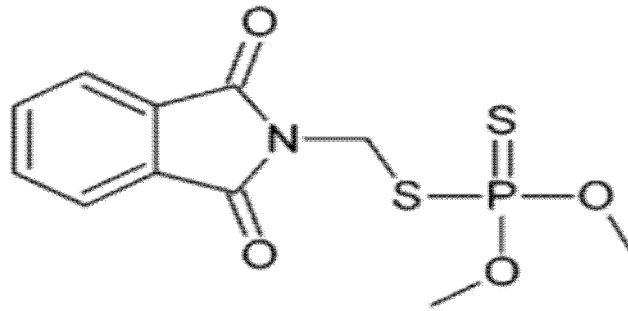
d) IV. Nesil Sentetik Piretroitler: Bu gruptaki etkili maddelerin insektisit etkileri çok yüksek olup kullanım dozları en aza indirgenmiştir. Özellikle son yıllarda üretilen etkili maddeler, polar yapının korunmasına yardımcı olan ve kalıcılığı nispeten artıran flor atomları içermektedir.

Ticari olarak pazarlanan tüm sentetik piretroit etkili maddeler lipofilik olup, suda çözünürlükleri ve buharlaşma basınçları düşüktür. Bu açıdan bakıldıklarında hidrokarbonlarla benzer özellikler gösterirler. Ancak ester bağlarının hidroliz veya oksidasyonla oldukça kolay metabolize olmalarından dolayı bu grup klorlandırılmış hidrokarbonlar gibi benzer çevre sorunlarına neden olmazlar (Ünal ve Gürkan,2001).

2.2.2.2. Phosmet

İnsektisit ve akarisit olarak kullanılan phosmet organik fosforlular grubundandır.1987 yılında üretilmiştir. Beyaz-pembe mumsu katı bir özelliğe sahiptir. Yüksek asit veya alkali karakterli ilaçlar hariç diğerleri ile karıştırılabilir. Bekleme süresi 14 gündür.

Phosmetin akut oral LD50 özelliği 113- 160 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Arılara ve balıklara zehirlidir. Phosmet için işlenmiş gıdalar üzerinde tanınmış bazı toleranslar 1994 yılında EPA tarafından iptal edilmiştir. Kimyasal formülasyonu $C_{11}H_{12}NO_4PS_2$ şeklindedir. Phosmet pestisitinin molekül şekli Şekil 2. 1.'de verilmiştir.



Şekil 2. 1. Phosmet Pestisitinin Molekül Şekli

Bitkiler ve hayvanlar üzerinde oldukça etkili olan phosmetin kullanıldığı bitkiler elma, şeftali, patates, meyve ağaçları ve bağdır. Phosmetin etkili olduğu organizmalar ise elma

ağ kurdu, elma iç kurdu, kahverengi örümcek, şeftali güvesi, patates böceği, yaprak bitleri ve salkım güvesidir.

2.2.3. Etki Şekillerine Göre Pestisitler

1. Kanserojen Etkili Pestisitler: Aldrin, benomil, kaptafol, karbofuran, klorotalonil, 2,4-Diklorofenoksiasetik asit, lindan, thiram, trifluralin, zineb (Akman ve diğ., 2000).

2. Teratojen Etkili Pestisitler: Bunlar ana karnındaki yavrunun oluşum bozukluklarına sebep olan maddelerdir. Örneğin aldrin, benomil, kaptafol, kaptan, 2,4-Diklorofenoksiasetik asit, dinoseb, dikuat, lindan, maneb, MCPA, parakuat, propaklor, thiram, zineb gibi (Akman ve diğ., 2000).

3. Mutajen Etkili Pestisitler: Canlının genetik yapısında değişikliklere neden olan maddeler: aldikarb, aldrin, aldrazin, benomil, kaptafol, karbofuran, klorfenvinfos, siyanazin, diklorofuanid, dimetoat, disulfoton, parakuat, simazin (Akman ve diğ., 2000).

4. Alerji Yapan Pestisitler: Benomil, kaptafol, kaptan, klorotalonil, lindan, nabam, parakuat, propaklor, triazin ve zineb (Akman ve diğ., 2000).

2.2.4. Zararlının Biyolojik Durumuna Göre Pestisit Çeşitleri

Bu şekilde yapılan sınıflandırmada pestisit etkilediği canlının biyolojik gelişim dönemi esas alınır. Larvisitler (larva öldüren), ovisitler (yumurta öldüren) ve erginleri öldüren pestisitler zararlının biyolojik gelişim dönemi esas alınarak sınıflandırılan pestisitlerdir.

2.3. Pestisitlerin Faydaları ve Zararları

Dünya nüfusunun hızla artmasına karşılık, gıda maddelerinin üretiminde önemli bir gelişmenin olmaması, bütün ülkeleri üretimi artırma sorunu ile karşı karşıya bırakmıştır. Tarım ürünlerini zararlı böcekler, patojenler ve yabancı otlardan korumak ve açlık tehlikesini önlemek için tarımsal mücadelede pestisitlerden yararlanmak kaçınılmaz olmuştur. Ayrıca tarım ürünlerinin verimliliğinin artırılmasında, yüksek kalitede olmasında ve bazı böceklerle yayılan hastalıkların kontrolünde önemli rolleri vardır. Bunlara ek olarak pestisitler, depolanmış ürünlerin korunmasında, orman ağaçlarına zarar veren

böceklerle karşı, su kanallarında akışı engelleyen ve demiryolu ulaşımını güçleştiren otlara karşı da geniş çapta kullanılmaktadır.

Pestisitlerin gelişi güzel kullanılışı, herhangi bir toksik maddenin kullanılması gibi genel ve potansiyel tehlike yaratır. Çünkü inorganik, sentetik-organik, sistemik, spesifik ve diğer özelliklerde üretilen pestisitlerin hepsi de tamamen doğaya yabancı karakter de diğer bir deyişle “xenobiotik” maddelerdir.

Günümüzde pestisit kullanılmadan üretim yapılması durumunda, ürün miktarında ortalama % 65 oranında kayıp beklenilmektedir. Dolayısıyla pestisitler, dünyada kullanımı kısıtlanamayan maddeler olarak kabul edilmektedirler.

Pestisitlerin büyük çoğunluğu hem kontrol ettikleri canlılara hem de insan ve memelilere çok zararlıdır. Bunların büyük bir bölümü uygulandıkları bitki, toprak ve su ortamında uzun süre bozulmadan kalabilen, canlıların bünyesinde birikebilen maddelerdir. Tarımsal ve tarım dışı amaçlar için günümüzde binlerce ton pestisit kullanılmaktadır. Bunların büyük bir bölümü uygulandıkları yerlerden çeşitli etkiler altında başka yerlere taşınmaktadır ve bu taşınım önemli çevre kirliliği problemleri ortaya çıkarmaktadır.

Pestisitlerin çevre sağlığı açısından ortaya çıkardığı problemlerin nedenleri arasında, bu ilaçların kullanımının denetimden yoksun olması, satıcı-üretici ve tüketicilerin eğitim eksikliği gibi konulardan söz edilebilir.

2.4. Pestisitlerin Etkileri

2.4.1 Pestisitlerin Genel Etkileri

Pestisitlerin çevrede oluşturduğu kalıntılar çok yönlü ve karmaşık özelliğe sahiptir. Pestisitlerin kendileri olduğu gibi çeşitli metabolitleri de birikim oluşturmaktadır. Pestisit kullanılmış alanlarda bu ilaçların kendileri ya da kalıntıları yağmur ve sulama sularıyla yer altı sularına veya nehir sularına karışarak özelliklerine göre sucul bitki ve hayvanlara ulaşmakta ve farklı toksik etkiler oluşturmaktadır. Su sistemine karışan pestisitlerden suda çözünenler ve yağda çözünenler sistem içinde farklı organizmalar tarafından alınır ve metabolize edilirler. Bir kısmını da dip çamurundaki partiküller de birikirler. Pestisitlerin neden olduğu etkiler birikim düzeyi ve canlının yağ içeriği ile yakından ilişkilidir. Örneğin ülkemize yoğun olarak kullanılan metil bromitin toprakta 5–75 gün kalabildiği, toprak yüzeyinden 2 m derine indiği ve hızla yeraltı su sistemine karıştığı belirtilmiştir (TÇSV, 2003).

Su ekosisteminde ppm ve ppb düzeyinde bulunan pestisitler, su fauna ve florasını olumsuz etkileyerek, zooplankton ve fitoplanktonların gelişimini önlerler. Ayrıca pestisitlerin etkisiyle ölen organizmalar dibe çökerek biriktiği gibi, çürüyerek sedimentte pestisit yoğunlaşmasına yardımcı olurlar. Çürüme sırasında çıkan CO₂ ve diğer zehirli gazlar başka organizmaların o bölgeye yaklaşmasını da engellerler.

Pestisitlerin bilinen yararlarına rağmen kullanıldığında birtakım zararlı etkileri de görülmektedir. Özellikle önceden fark edilmeyen çok ciddi etkileri sonradan ortaya çıkmaktadır. Moore (1967) yaptığı bir çalışmada, pestisitlerin tahrip edici etkileriyle bazı sekonder etkilerini göz önünde bulundurarak bunların ekosistemin tamamını etkilediğini belirtmiştir. Gerçekte pestisitler ekosistemin tamamını etkiler ve etkisi tek taraflı değildir. Bu nedenle kullanılan pestisitlerin ekolojik özelliklerini bilmek gerekir. Bu özellikler;

1. Pestisitler birçok durumda bitkilerde olduğu kadar hayvanlarda da bir zehir etkisi gösterir.
2. Pestisitlerin sıcakkanlı omurgalılar ve soğukkanlı hayvanlar için zehirleyici etkileri oldukça fazladır.
3. İnsanlar bu maddeleri bir kısım organizmaları yok etmek için kullanır. Canlılar üzerinde çeşitli derecelerde etki etmekle birlikte biyosfer de, topluluk halindeki türlerin sadece % 0,5'ne etki eder.
4. Pestisitler daima popülasyonlara karşı kullanılır.
5. Pestisitlerin etkileri yoğunluğa bağlı değildir. Fakat popülasyon seviyesinde kullanıldığında zararları çok fazla olmaktadır.
6. Kullanılan pestisit miktarı genelde zararlıyı yok etmek için gerekenden fazladır.
7. Pestisitlerin dağıldığı alanlar çok geniş olup bugün Avrupa ölçeğinde 10 milyon hektardan fazladır.
8. Bu maddelerin bir kısmı, toprakta yıllarca bozunmadan kalabilir.
9. Pestisitler sıvı veya çözelti şeklinde toprağın alt kısımlarına geçer ve yıkanma yoluyla su kaynaklarına karışır.
10. Pestisitler toprak mikroorganizmaları tarafından yapısal ve biyokimyasal ayrışmaya uğrayabilirler.

11. Pestisitler toprak kolloidleri tarafından absorbe edilirler. Pestisitlerin toprakta tutulmasında kil mineralleri, organik maddeler, oksit ve hidroksitler rol oynamaktadırlar. pH ve sıcaklık kontrol edici bir rol oynamaktadır (Akman ve diğ.,2000).

Pestisitlerin ekolojik etkileri 2 kategoride incelenir.

1. Demoekolojik Etki: Kullanılan madde, popülasyondaki her türü, etkisi altında bırakabilir ve bu etkinin sonuçları da hemen görülür. Bu bileşikler kullanıldığı alandaki bitki ve hayvan türlerine şiddetli bir zehir etkisi gösterir. Bu maddeler, bulaştığı popülasyonda, belirli miktarda da olsa, ölüme neden olur. Eğer kullanılan doz yüksek ise ölüm oranı artar. Pestisit, yoğunluktan bağımsız bir ekolojik faktör gibi hareket eder.

2. Biyosenotik Etki: Biyosenotik etki çok daha karışıktır. Pestisitlerin hassas tür popülasyonları üzerindeki etkileri bu grup içindedir.

Pestisitlerin kullanılmasıyla görülen diğer bir etki, ilacın uygulanmasından önce oldukça az popülasyondaki türlerdeki çoğalmayla ifade edilir. Bu olaylar ya yuva kurma ya da beslenme gereksinimi olan rekabet halindeki bir türün yok olması ile sonuçlanır. Pestisitlerin kullanılması “biyolojik dengelerin bozulması” olarak adlandırılan kaçınılmaz biyosenotik bozukluklara neden olur (Akman ve diğ., 2000).

2.4.1.1. Pestisitlerin Canlılar ve İnsanlar Üzerine Etkisi

Bir takım canlı organizmaları öldürmeyi hedef olarak geliştirilen pestisitlerin insanları da etkisi altında bırakacağı bir gerçektir. İnsanlarda zehirlenmeler; ilaçların vücuda deri, solunum veya sindirim yoluyla girmesi sonucu meydana gelir. Bu zehirli bileşiklere ait yönetmelik tam uygulanmadığı zaman akut zehirlenmeler ortaya çıkmaktadır. Örneğin; bazı organik fosforlu bileşikler o kadar zehirlidir ki, koruyucu elbise ve maske giymeden kullanılması ani ölümlere neden olur. Pestisitlerin bazı kronik ve akut etkileri Tablo 2. 2.'de verilmiştir.

Tablo 2. 2. Pestisitlerin bazı kronik ve akut etkileri

KRONİK	AKUT
Kanser riski	Zehirlenmeler
Aplastik anemi	
Doğum defektleri	
Üreme sistemi ve fertilite üzerine olumsuz etkiler	
Nörolojik hasar	
Endokrin bozukluklar	

İnsanları öldürücü etkisi olan pestisitlerin zehirlilik dereceleri, laboratuarda değişik test hayvanları üzerinde belirlenen LD50 ve LC50 değerleri ile kıyaslanır. LD50, ağız veya deri yolu ile deneme hayvanlarına uygulandığı zaman % 50'sini öldüren konsantrasyon olup, mg/kg veya ppm cinsiden ifade edilmektedir. LC50 ise, genellikle 4 saatlik süre içinde teneffüs sonrası deneme hayvanlarının % 50'sini öldüren konsantrasyondur ve mg/m³ cinsinden ifade edilmektedir (TÇSV, 2003).

Bazı pestisitlerin zehirlilik yönünden birbiriyle karşılaştırılması, Tablo 2. 3 'de gösterilmektedir (TÇSV, 2003).

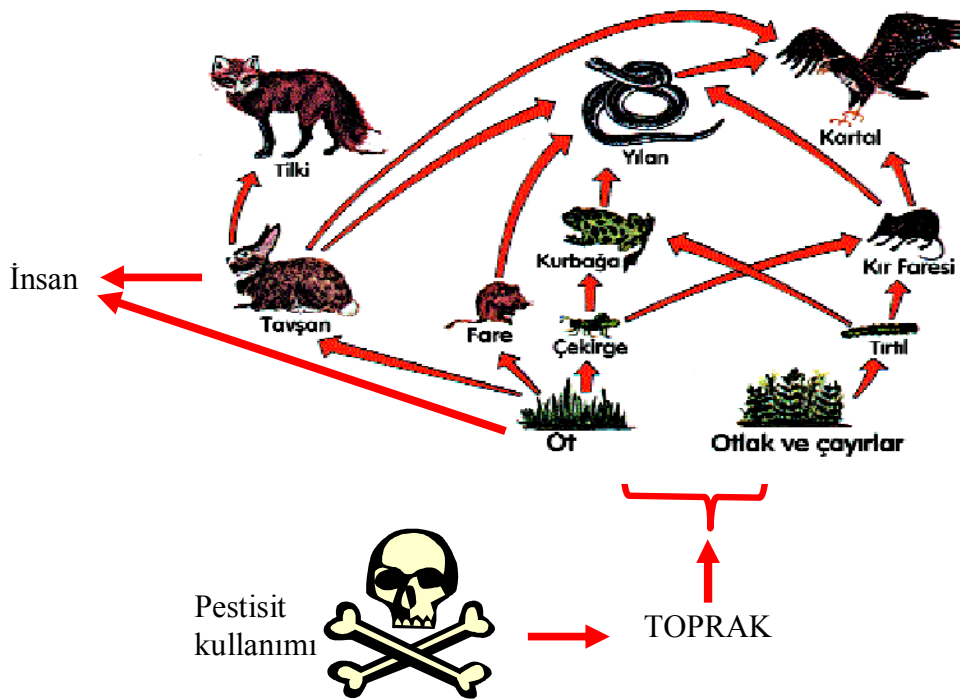
Pestisitlerden kaynaklanan zehirlenmeler genellikle ilaç fabrikalarında, ilaç hazırlama, ilaçlama veya ilaçlanmış besinlerin yenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. İlaçlanmış besinlerin yenmesiyle ortaya çıkan zehirlenmeler, en yaygın ve en tehlikeli olanıdır. Çünkü alınan her türlü hayvansal ve bitkisel besinde, suda ve hatta teneffüs edilen hava da bile zehirli ilaç artıkları vardır. Böylece de büyük kitleler bu durumun farkında olmaksızın etkilenmektedir. Bu zehirlenmeler akut, yani şiddetli ve kısa sürede meydana gelebildiği gibi kronik yani yavaş ve uzun sürede de meydana gelebilir.

Tablo 2.3. Bazı pestisitlerin ağız ve deri yoluyla belirlenen akut toksisiteleri (TÇSV, 2003)

Pestisit Grubu	Denek Hayvanlarında Ağız Yoluyla Alınan Miktar(mg/kg)	Denek Hayvanlarında Deri Yoluyla Alınan Miktar(mg/kg)
KLORLANMIŞ HİDROKARBONLU PESTİSİTLER		
Endrin	7.5	15
Aldrin	39	98(fare)
Toxaphane	80	780
Lindan	88	900
DDT	113	2.51
Endosulfan	30–110	359
ORGANOFOSFATLI İNSEKTİSİTLER		
Azinphos-methyl	5–20	220(fare)
Fenitrothion	800	1.300(fare)
Diazinon	300	3.6
Malathion	1.000	4.100
HERBİSİTLER		
Benthiocard	1.300	2.900(fare)
Atrazine	1.780	3.500
Klorosülfuron	5.545	3.400
FUNGUSİTLER		
Dodine	1.000	1.500
Benomyl	10.000	10.000
Zineb	5.200	5.000
Maneb	7.900	10.000
Thibendazole	3.200	-

Pestisitler insanlar üzerinde; alerji, deri iltihaplanması ve saman nezlesi meydana getirmektedir. Ayrıca böbrek ve böbrek kanallarında olumsuz etkileri olmakta, kandaki glikoz seviyesini yükseltmekte, sedimentasyon oranını etkilemekte, serum seviyesi ve karaciğerin safra kesesine salgıladığı enzim miktarını yükseltmektedir. Toprak üstünde yaşayan hayvanlar, pestisitlerin kullanılması esnasında genellikle direkt olarak etkilenirler. Bazı durumlarda pestisitler uygulandığı bölgede dolaylı olarak hedef olmayan başka canlıları olumsuz etkileyebilir. Bu durum Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Akar ve böcek öldürücü ilaçlarla yapılan her uygulamanın sonunda büyük bir kısım canlının hayatına son verilmektedir. Bu öldürülen hayvanların içinde zararlıları yemek suretiyle dengeyi sağlayan yararlı gruplar da vardır (Uygun, 1976).

Pestisitlerin hatalı kullanımı, ülke ekonomisinde önemli yeri olan bal arıları ve ipek böceğinin yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir. Pestisitlerin cinsi, uygulama yeri ve zamanı, dekara kullanılan dozu, bitkiler üzerindeki kalıcılığı ve ilaçlamanın yapıldığı günlerdeki meteorolojik koşullar, bal arılarına değişik oranlarda toksik etki yapmaktadır.



Şekil 2.2. Tarım ilaçlarının uygulandığı bölgede hedef olmayan başka canlılara etkileri



Şekil 2.3. Bilinçsiz ve gereğinden fazla dozda tarım ilacı uygulamalarının insan sağlığı üzerine etkisi.

2.4.1.2 Pestisitlerin Atmosfer Üzerine Etkileri

Pestisitlerin çevreye olan zararları hava yoluyla da olmaktadır. Buharlaşabilme özelliğine sahip bazı pestisitler, soluduğumuz havayı kirletebilmektedir. Etkili maddenin buharlaşabilir olması, yoğun ilaç kullanılan alanların çevresindeki yerleşim yerlerindeki tüm canlılar üzerinde zararlı etkiler meydana getirmektedir. Örneğin; 1989 yılında Amerika’da yapılan bir araştırmaya göre yerleşim merkezlerinde atrasin, parathoinmethy, molinate, malathion ve thiobencarb gibi etkili maddelerin bulunduğu kaydedilmiştir (TÇSV, 2003).

2.4.1.3 Pestisitlerin Toprağa Etkileri

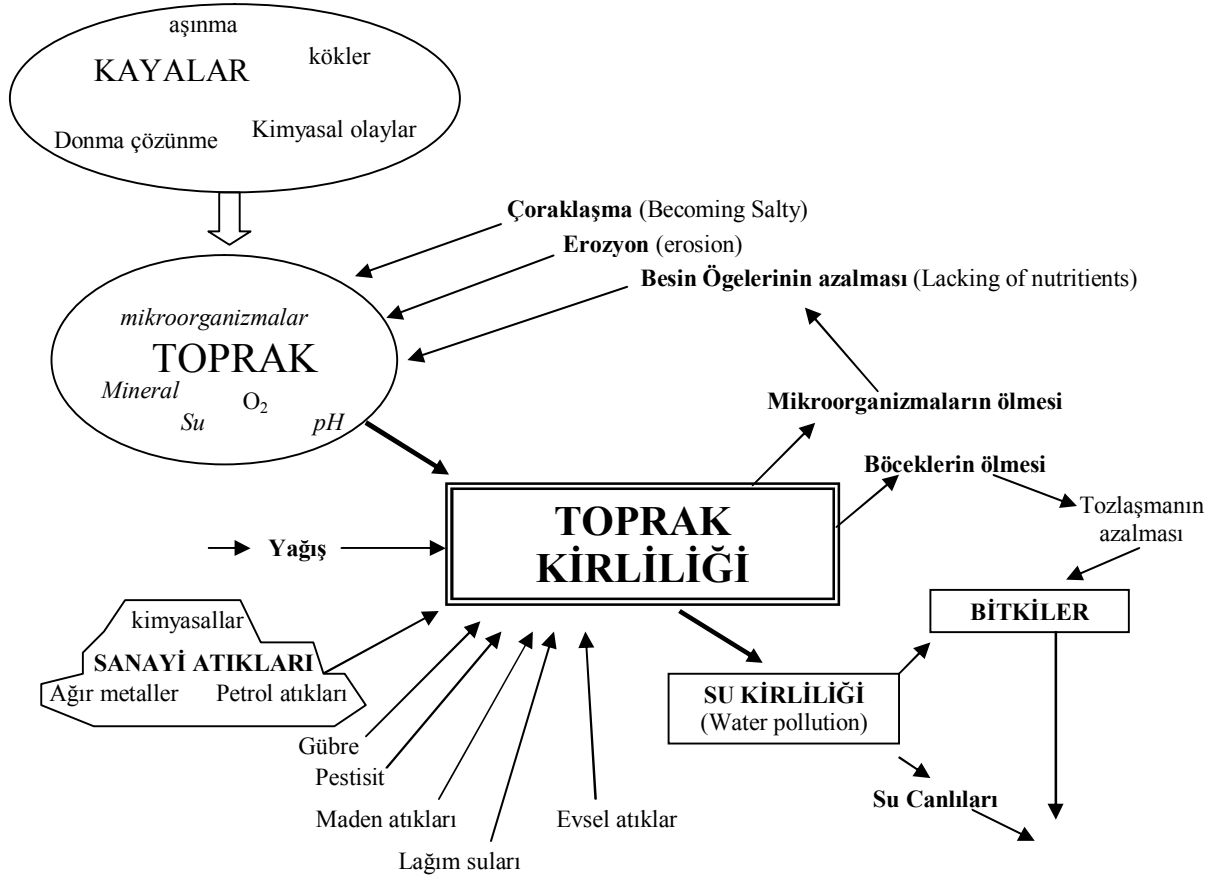
Bitki hastalıkları ve zararlılarına karşı kullanılan pestisitler yağmur, rüzgar gibi çeşitli etkenlerle toprağa dolaylı yollarla ulaşabilmektedir. Topraktaki zararlı böceklerle, *nematod*’lara ve tohum ilaçlamaları sırasında tohumla uygulanan pestisitler doğrudan toprağa karışmaktadır. Bu şekilde toprakta devamlı birikim halinde olan pestisitler, tüketilen ürünler aracılığı ile insana, evcil hayvanlara ve yaban hayatına ulaşarak çevre sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Pestisitlerin toprakta kalıcı yani “persistent” olması, kullanılan ilacın grubuna, formülasyon şekline, toprak tekstürüne, ilacın absorbe edilme durumuna, toprak nemi ve sıcaklığına, ilacın yağmur sularına veya drenaj suları ile yıkanma özelliğine göre değişmektedir (TÇSV, 2003).

Toprağa ve tarlaya tatbik edilen pestisitlerin tamamı uygulama alanlarında durmamakta, maddenin fiziksel özelliklerine bağlı olarak rüzgar ve yağmur gibi etkenlerle başka yerlere sürüklenmekte ve çevre sorunları meydana getirmektedir. Bir kısmı buharlaşarak havaya karışmakta ve atmosferde kalıcı, toksik madde birikimine sebep olmaktadır. Bir kısmı ise; fotokimyasal yolla parçalanarak ya daha toksik ya da toksik olmayan maddelere dönüşmektedir. Diğer bir kısmı ise toprakta absorbe olarak, toprağı kirletmekte ve toprak içinde mikroorganizmalar tarafından mikrobiyolojik parçalanma reaksiyonları vermektedir. Ayrıca yağmur, sel ve kar ile topraktan sürüklenerek yeraltı suyu, nehir, ırmak, göl ve deniz sularını kirletmektedir.

Toprağa doğrudan doğruya veya dolaylı olarak intikal eden bu ilaçlar toprakta yıkanma, parçalanma, buharlaşma, tutulma gibi bir takım olaylara maruz kalmaktadırlar. Şekil 2.4’de toprak kirliliğine sebep olan etmenlerin doğadaki döngüsü gösterilmiştir. Toprakta pestisitlerin hareketi difüzyon ve su yolu ile olmaktadır. Difüzyonla hareket daha çok gaz halinde toprağa uygulanan pestisit türleri (fumigantlar) için geçerlidir. Su ile hareket ise bu grup haricindeki diğer bütün pestisitler için geçerlidir. Ortamda hiç su yoksa veya çok az su varsa pestisit toprağa temas ettiği yerde kalmaktadır. Su fazla ancak toprak suya doymun değilse hareket yerçekimi doğrultusunun dikine olmaktadır. Nemli ve kuru koşulların birbirini takip etmesi halinde; nemli koşullarda biraz hareket eden pestisit kuru koşullarda kapilarite ile toprak yüzeyine çıkmakta ve buhar basıncına bağlı olarak az veya çok buharlaşma ile kaybolmaktadır. Ancak su ile hareket etmeyen bütün pestisitler kolloidler tarafından tutulmaktadır (Sayın, 1988).

Toprağa değişik yollarla ulaşan pestisitler, topraktaki faydalı mikroorganizmaların faaliyetini engellemekte, bunların kısmen veya tamamen yok olmasına ya da belirli sürelerle aktivitelerini kaybetmelerine sebep olmaktadır. Örneğin insektisitler genel olarak topraktaki fungus popülasyonunu artırırken, *Nodosite* bakterilerini azaltmakta, fungusitler sadece fungus ve *Actinomyces*’leri engellemekte, herbisitler ise, bazı durumlarda küçük dozlarda bile *Nodosite* bakterilerinin oranını 4/5 oranında düşürmektedir (TÇSV, 2003).



Şekil 2.4. Toprak kirliliğine sebep olan etmenlerin doğadaki döngüsü

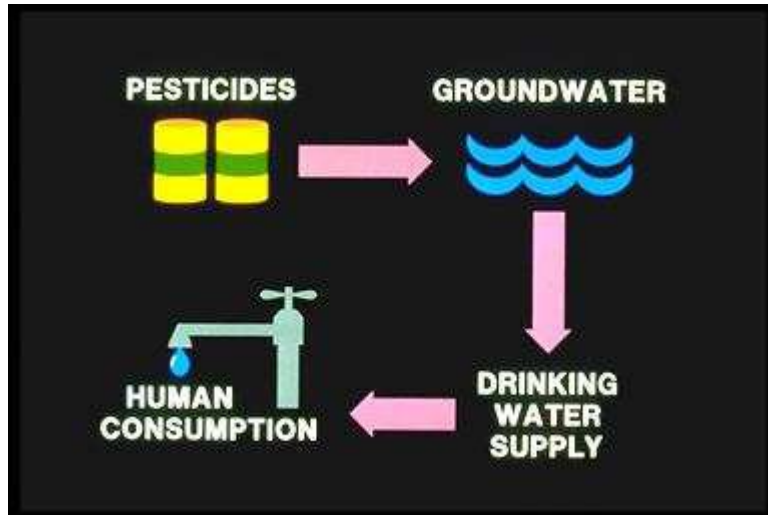
Topraktaki katı bileşenler içinde en kolay değişime uğrayan maddeler organik maddelerdir. Topraktaki organik maddelerin artırılması bir taraftan mikrobiyal faaliyetin artmasına bir taraftan da pestisitlerin toprakta daha uzun kalmasına sebep olacaktır. Toprakta daha uzun süre kalan pestisitlerin taban suyuna karışması engellenmiş olacaktır. Özellikle suyu yüksek bölgelerdeki kaba bünyeli toprakların organik maddece zenginleştirilmesi pestisitlerden kaynaklanan su kirliliğini önleme açısından çok önemlidir.

2.4.1.4. Pestisitlerin Sulara Etkisi

Pestisit kalıntılarının suya geçerek burada yaşayan canlılar üzerine olumsuz etki yaptığı bilinmektedir. Pestisitlerin su ekosistemine ulaşmaları değişik yollarla olmaktadır. Örneğin, drenaj ve sulama kanalları içindeki ve çevresindeki yabancı otlara veya sivrisinek gibi vektör böceklerle karşı yapılan mücadele esnasında doğrudan yapılan pestisit uygulamalarıyla sulara çeşitli pestisitler karışmaktadır. Pestisit kullanılmış alanlardaki kalıntıların, yağmur suları ile yeraltı sularına ve akarsulara karışması yoluyla da çeşitli

pestisitler, bitki ve böceklerle ulaşmaktadır. Ayrıca, havadaki ilaç zerrecilerinin rüzgarla sulara taşınması veya pestisit üretimi yapan fabrikaların durgun veya akarsulara boşaltılması sonucu denizler de pestisitlerle kirlenmektedir. Buna ek olarak, uygulama araçlarının ve boş ambalaj kaplarının yıkanıp temizlenmesi sırasında da pestisit artıkları sulara karışmaktadır.

Bir su ekosistemine ulaşan pestisit su içinde dağılışı, ilacın stabilitesine, formülasyonuna ve kimyasal yapısına bağlıdır. Bazı organik pestisitlerin suda erime ve homojen şekilde dağılma özelliği çok yüksektir. Genelde böcekler ve karada yaşayan diğer canlılar üzerinde yüksek dozda etkisi olan bir pestisit, su ürünleri için çok düşük dozlarda bile öldürücü olabilmektedir. İçme ve sulama suyu sağlayan baraj göllerindeki sulara çeşitli pestisitlerin değişik konsantrasyonlar da bulaşması, evcil ve yaban hayvanlarının sağlığı bakımından beklenmeyen tehlikeler yaratabilir. Şekil 2.5’de pestisitlerin içme sularına kadar ulaşabileceği gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Pestisitlerin içme sularına bulaşması

Pestisitler bir alana uygulandıklarında bir dizi sürece tabidirler. Pestisitler bitkiler, böcekler veya mikroorganizmal canlılar tarafından alınabilir, buharlaşabilir, sürüklenabilir ya da toprak parçacıklarının yüzeyinde adsorbe edilebilir ve sulama veya yağmur suyunda eriyebilir. Yıkanma yoluyla da pestisitler yeraltı sularına ulaşabilir. Yeraltı sularında bulunan pestisitler biyolojik ve fiziksel özelliklerine göre farklılık gösterirler. Örneğin, son derece yüksek buharlaşma özelliğine sahip fumigantlar aynı zamanda suda çok yüksek oran da çözünürler. Toprakta çok hareketli olan bu özelliktekiler toprak altına uygulandıkları için aşağı doğru taşınırlar. Ülkemizde 1997 yılında etkili madde olarak

1.322.345 kg fumigant özellikteki pestisit kullanılırken bu miktar 1998 yılında % 64 oranında artarak 2.175.969 kg olmuştur.

Eriyicilik, belirli sıcaklık ve pH değerinde bir pestisit suda ana molekülüne dönüşümüdür ve KSP ile ifade edilir. Su toprak içinde hareket ederken beraberinde erimiş kimyasalları da taşır. Bu olaya yıkanma adı verilir. Suda eriyicilik değeri ne derece yüksek ise pestisit suda o derece fazla çözünür. Suda çözünürlüğü düşük olan pestisitlerin yeraltı suyunu kirletme riski daha fazladır. Buharlaşma, pestisiti oluşturan ana molekülün buhar formuna dönüşmesidir ve VP ile ifade edilir. Sıvı haldeki bir pestisit hava ile teması durumunda ne kadar hızlı buharlaşacağını tanımlamak için kullanılır. Fumigantlar yüksek buharlaşma yeteneğine sahip olan pestisitlerdir. Buharlaşma yeteneği düşük olan pestisitlerin yeraltı sularına geçme olasılığı daha fazladır.

Toprak aktivitesi ve adsorpsiyon, pestisitlerin çevredeki davranışlarını etkileyen diğer bir özelliktir ve pestisit toprağın organik karbonlarına tutulmasının göstergesidir. Pestisit toprağın organik karbonlarına tutulmasını KOC ile ifade ederiz. KOC, bir bileşiğin toprak parçalarına hangi sıklıklarla bağlanmaya başladığının göstergesidir. Çok sıkı adsorbe olan pestisitler, su ile süzülen toprakta daha az hareket ederler ve yeraltı suyuna daha az geçerler.

Bazı pestisitler bazı yörelerde yeraltı suyuna diğer yörelere nazaran daha fazla geçebilir. Yeraltı suyunun kirlenme sorunu bölgeden bölgeye farklılık gösterir. İklim, nüfus yoğunluğu, tarım ve endüstriyel etkinliklerin yoğunluğu, bölgenin hidrojeolojisi ve yeraltı suyunu korumak için çıkarılan yasa ve yönetmeliklerin yetersiz olması bu tür kirlenmeyi etkileyen başlıca etmenlerdir. Pestisitlerin yeraltı suyuna karışmasına etki eden bir diğer etmen yöredeki yeraltı suyu derinliğidir. Derinliğin az olması durumunda pestisitler kısa sürede yeraltı suyuna ulaşabilirler.

2.5. Pestisit Uygulamaları Sonucu Çevre Kirlenmesinde Etkili Olan Faktörler

2.5.1. Meteorolojik Faktörler

Meteorolojik faktörlerden sıcaklık, rüzgar ve bağıl nem; damlanın ömrüne, hareket yönüne ve büyüklüğüne doğrudan etki etmektedir. Uçakla yapılan uygulamalarda uçuş hızı, kullanılan pestisit formülasyonu, uçuş yüksekliği ve uygulama normuna bağlı olarak damla çapı büyüklüğü damlanın hareket şekline etki etmektedir. Uygun olmayan

koşullarda yapılan ilaçlamalarda birçok problem çıkmaktadır. Bu faktörler aşağıda sıralanmıştır.

a. Sıcaklık: Uygulamaların sabah erken saatlerde yapılarak bitirilmesi gerekmektedir. Maksimum çalışma sıcaklığının 32 °C'nin üzerinde olmaması lazımdır. Çünkü sıcaklık artışı ile ilacın bitkiye olan fitotoksik (bitki zehirleyici) etkisi de artmaktadır.

b. Rüzgar: Durgun havada yapılan ilaçlama uygulamalarında sürüklenme kayıpları en aza iner. Rüzgar hızının çalışma sırasında 12 km/h'in altında olması ilaçlama için uygun olarak kabul edilmektedir. Bu sınırın altında pestisitlerin sürüklenmesi ve çevre kirlenmesi engellenir.

c. Bağıl Nem: Bağıl nemin düşük ve sıcaklığın yüksek olduğu hava koşullarında ilaç damlalarındaki suyun buharlaşma oranı artmaktadır. Buharlaşma oranı damla çapları küçüldükçe de meydana gelmektedir. Damlaların yüzey alanı arttığı için küçük damlaların hızlarının düşük olması, havada kalma sürelerini de arttırmakta ve bunun sonucunda daha da küçülen damla sürüklenerek uzaklara taşınmaktadır. Uygulamalarda bağıl nemin % 30–80 arasında olması bu nedenle istenen bir hava koşuludur. Uçuş hızı ve uygulama yüksekliği de ilacın çevre kirlenmesine etkisini artırmaktadır. Uygulama yüksekliği arttıkça buharlaşma ve rüzgarın etkisiyle sürüklenme sonucu kirlenme meydana gelmektedir. Uygulama yüksekliğinin artması damlanın hedefe ulaşması sırasında almış olduğu yolu arttırmaktadır. Havadan yapılan normal uygulamalarda uçuş yüksekliği 2-3 m'dir.

2.5.2. Püskürtme Sistemleri ve Etkileri

Tarımsal savaş araçlarıyla kullanılan farklı püskürtme sistemlerinde, istenilen damla çapları belirli sınırlar içerisinde elde edilmektedir. Damla çapının kontrol edilebilmesi ile birim alana atılacak damla sayısı dağılım yoğunluğu değişmektedir. Yapılan uygulamanın şekline ve zarar etmenin özelliğine göre büyük veya küçük çaplı damlalarla uygulamaların yapılması gerekmektedir. Kimyasalın uygulanmasında sabit mikroklima koşullarında, pestisit kayıpları üzerinde en etkin organ püskürtücü kısımdır. Kayıpların azaltılmasında en önemli çalışmalar bu organların tasarımı üzerinde olmaktadır.

Günümüzde artık toz pestisitler yerine tamamen sıvı formülasyonlu pestisitler kullanılmaktadır. Bir depo içine doldurulan sıvı pestisit bir pompa ile basınçlandırılarak

püskürtücülere gönderilmekte, püskürtücü ölçülerine bağlı olarak değişik büyüklükte damlalar elde edilmektedir. İlaçlamada istenen biyolojik etkinliğin sağlanması için damla çapları ve damla sıklığı büyük önem taşımaktadır.

Uygulama sırasında sıvı pestisit meme ağzında yüksek bir hızla çıkar. Ancak, hava direnci ile hız hemen düşer. Başlangıçta hava sürtünme kuvveti azdır. Bir süre sonra artar ve damlanın hızlanarak düşmesini önler ve damla sabit bir hıza ulaşır. Bu durumda damlaya yerçekimi kuvveti, havanın kaldırma ve sürtünme kuvveti etki eder (Delen ve Özbek, 1993).

2.5.3. Kullanımdan Kaynaklanan Faktörlerin Etkisi

Tarım ilacı kullanan insanların kendi sağlıklarını ve çevre kirliliğini önleyebilmeleri, etkin bir ilaçlama yapabilmeleri için bu konuda kurs ve seminerlerle eğitilerek bilinçlendirilmeleri gerekmektedir. Sonuçta her şey insan faktörüne bağlıdır. Bu nedenle pestisit kullanımından kaynaklanan çevresel sorunlar üzerinde önemle durulması gereken bir konudur. Pestisitler tarlaya ulaşmaya kadar birçok aşamadan geçmektedir. Bu sırada aşağıdaki konulara dikkat etmek gerekmektedir (Öztürk, 1993).

- Fabrikada kontrollü üretim, sağlam ambalajlama ve emniyetli bir depolamanın yapılması,
- Ulaşım ve taşıma sırasında iyi tedbir alınması,
- Uygun formülasyonlu ilacın seçilmesi, kullanma talimatlarına uyulması,
- Uygulama sırasında karışımın uygun dozda hazırlanması,
- Kullanılan alet ve ekipmanların temizlenip, artıkların, ambalajların uygun şekilde ortadan kaldırılması,
- Aletlerin kalibrasyon kontrollerinin yapılması ve uygulama sırasında gerekli uygun koşulların olması,
- İlaçlı alanda çalışabilmek için pestisit özelliğine göre belirtilen bekleme süresinin geçirilmesi,
- İlaçlanmış ürünün hasat edilebilmesi için, pestisit etiketinde son uygulama ile hasat arasında belirtilen bekleme süresine uyulması gerekmektedir,

- İlaçlama araçlarını kullanan operatörlerin de bilgi ve becerilerinin yeterli olması ve yapacağı hataların çevreye vereceği tehlikenin farkında olacak kadar eğitilmeleri gerekir.

2.6. Pestisit Kullanımı, Sorunlar Ve Alınabilecek Önlemler

2.6.1. Pestisit kullanımı ve ortaya çıkan sorunlar

Tarımda kullanım; % 75-80'dir. Tarım dışı kullanım; Ahşap koruyucu, çimler, evler, işyerleri, endüstride kullanım (koruyucular, boyalar, yapıştırıcılar, çadır yapımında kullanılan kumaşlar, kemiriciler ve vektörlerle savaşta, uçaklarda) olarak ifade edilmektedir. Pestisitler tüm dünyada; hava, yağmur, kar, toprak, yüzeysel ve yeraltı suları, sis, arktik buzullar ve gıdalarda tespit edilmektedirler.

Pestisit kullanımında ilk kullanılan maddeler; arsenik ve kükürt, botanik kökenli maddeler nikotin (balık avlamak için(16.yy), krizantemden elde edilen piretrum (19.yy), cıva ve kurşun bileşikleri ve bakır-arsenik bileşikleridir (patates böceğine karşı). Pestisit kullanılmasında dikkat edilecek bazı hususlar aşağıdaki gibidir:

- Çocuklardan uzak tutulmalı
- Evcil hayvanlardan uzak tutulmalı
- Yiyecek ve su kaplarının içine bulaşmamasına dikkat edilmeli
- Kutuları ateşe atılmamalı, ezilmemeli, ağızındaki püskürtücü bölümün çıkartılmasına çalışılmamalı
- Hiçbiri bebek ve çocukların uyuduğu odalarda kullanılmamalı
- İlaçlama yapanlar daima önlük giymeli, ilaçlama sonrası önlüklerini çıkarıp bol su ve sabunla banyo yapmadan çocuklar kucağa alınmamalı
- İlaçlama sırasında saçlar örtülmelidir

Tarım ilaçlarının fazla kullanılmasıyla ortaya çıkan sorunlar şunlardır:

- Doğal dengede bozulmalar başlamıştır,
- Zararlı ve hastalıklarda dayanıklılık artmış, yararlı olan türlerde azalma görülmüştür,

- Kronik zehirlenmeler artmıştır,
- Yeni zararlı türler ortaya çıkmıştır,
- Hastalık ve zararlıların çeşidi azalırken popülasyonları kat kat artmıştır.

Tarım İlaçları Sorunlarının Artış Nedenleri

- Aşırı tarım ilacı kullanma alışkanlığı,
- İlaç karışımlarına ilgi duyma,
- Gereksiz ilaçlama,
- Kullanımda sınırlama yetersizliği,
- İlaç bayilik sisteminde yetersizlik,
- Alınan yasal önlemlerde ve uygulamada yetersizlik,
- Yetersiz eğitimidir.

Yasalarımızda tarım ilacı kullanımı ile çıkarılmış yasal önlemler yetersizdir. Şu an hala yürürlükte olan Pestisit Yasası'na göre,

* Her türlü tarım ilacı Tarım Bakanlığının iznine bağlıdır.

* Toptan satışlar Tarım Bakanlığı'nın, perakende satışlar Valilik'in iznine bağlıdır.

* 21 Ağustos 1996 tarihli Ziraî Mücadele İlaçlarının Toptan ve Perakende Satılması ile Depolanması Hakkındaki yönetmeliğin 18. maddesinin d fıkrasına göre; ilaçlar, Bakanlık teknik talimatlarında, reçetesinde ve etiketinde belirtilen esaslar ve konular dışında tavsiye edilemez. Yönetmeliğin ilgili maddesinin ihlali durumunda 1 ay süre ile faaliyet durdurulur.

2.6.1.1.DDT (DİKLORO DİFENİL TRİKLORETAN) Kullanımı

1874'de Alman kimyacı Othmar Ziedler sentezledi.1939'da etkili bir insektisit olduğu bulundu.1948'de Geigy firmasında çalışan Paul Muller fizyoloji ve tıp Nobel Ödülü aldı.1940 ve 1942 'de yaygın olarak DDT kullanımı başladı.1942'de savaşta İtalya'da tifüs salgınında kullanıldı ve çok etkili oldu.1943'de parathion kullanıldı.

1955'te DSÖ'nün başlatmış olduğu sıtma eradikasyon programında kullanıldı ve 15 milyon yaşamı kurtardı. Sivrisineklerle beslenen pek çok hayvan türünün de ölümüne neden olduğu belirlendi. 1960'lı yıllarda DDT'nin farelerde kanserojen olduğu gösterildi.

1962’de Rachel Carson DDT ve klorlu HC’ların toksik, ekolojik ve insan sağlığına olumsuz etkilerini “Silent Spring” adlı kitabında dile getirdi.1970’de EPA kuruldu. 1969 yılında İsveç’te, 1971’de ABD’de yasaklandı. Şekil 2.6.’da 1940’lı yıllarda DDT’nin kullanımı gösterilmiştir.



Şekil 2.6. 1940’lı yıllarda DDT kullanımı

2.6.2. Pestisitlerin İnsan ve Çevre Sağlığına Etkilerini Azaltmak İçin Alınması Gereken Önlemler

- “Hasat-İlaçlama aralığı” belirlenmeli, yeterince uzun olmalı ve üreticiler bu süreye uymalıdır.
- Gıdaların işleme sürecinde pestisit azaltıcı uygulamalar (ysp) yapılmalıdır,
- Her bir pestisit için LD 50 dozu bilinmeli, açıkça yazılmalıdır.
- İnsan ve çevresi için daha az toksik olan pestisitler tercih edilmelidir.
- Kalıcı Organik kirliliğe neden olan Cl HC (DDT, Dieldrin, Endrin, Heptaklor) yasaklanmalıdır.
- Uygulayıcılar eğitilmeli, uygulamada çocuklar çalıştırılmamalı, özel ekipman ve elbise maske vb. kullanılmalıdır. Preparat hazırlanırken ve uygulama sırasında bir şey yenmemeli, içilmemelidir.
- Aşırı dozdan ve gereksiz tekrarlı uygulamalardan kaçınmalıdır.
- Havadan ilaçlama yapılacağı zaman meteorolojik koşullara dikkat edilmeli, arı üreticileri uyarılmalıdır.
- İlaçlamada kullanılan alet ekipman imha edilmelidir.

Pestisit uygulanırken dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır:

- Pestisit uygulanmadan önce uygun pestisit seçimi ve bunların uygulanmasına yönelik bilgilerin sağlanmasına yönelik olarak ilgili kuruluş ve teknik adamlara danışılmalıdır.
- Pestisitlerin kullanımı için alınması gereken koruyucu gereçler hazırlanmalıdır.
- Pestisit uygulanırken mutlaka tulum giyilmeli ve tulum kesinlikle eve sokulmamalıdır.
- Rüzgara karşı pestisit uygulanmamalıdır.
- Uygulama sırasında diğer hayvan ve canlılara zarar vermemek için gerekli önlemler alınmalıdır.
- Pestisit kaplarına hiç bir yiyecek konulmamalıdır.
- Hazırlanan pestisit solüsyonları eve sokulmamalıdır.
- Uygulama sırasında ağız ve burun kapatılmalıdır.
- İnsektisit uygulamasında kullanılan araç ve gereçler imha edilmelidir.

2.6.3. Pestisit Kalıntıları ve İlgili Çalışmalar

Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuıcı etkiler saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuşlar ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır.

Ülkemizde pestisit kalıntılarıyla ilgili çalışmalar 1959 yılında Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitü Kalıntı Analiz Laboratuvarı'nın kurulmasıyla başlamıştır ve ilk çalışma Otacı ve Güvener (1959) tarafından yapılmıştır. Literatür araştırmaları sonucunda Türkiye'de gıda ürünlerindeki pestisit kalıntıları üzerinde bugüne kadar yaklaşık 90 çalışma yayınlandığı görülmektedir (Durmuşoğlu, 2004). Konuyla ilgili çalışan kişiler ile yapılan görüşmeler sırasında sonuçları henüz yayınlanmamış veya devam eden başka araştırmalar da olabileceği anlaşılmış ancak bunlar bu sayıya dahil edilmemiştir. Ayrıca, burada sadece gıdalardaki pestisit kalıntıları ile ilgili araştırma ve yayınlar ele alınmış, insan dokusu ve anne sütü ile çevresel örneklerdeki pestisit kalıntıları ile ilgili araştırmalar dikkate alınmamıştır. Bu çalışmalardan 8'i 1959 - 1969 yılları arasında, 30'u 1970 - 1979 yılları arasında, 17'si 1980-1989 yılları arasında, 26'sı 1990-1999 yılları arasında gerçekleşmiştir. 2000 - 2003 yılları arasında ise 9 çalışma yapılmıştır. Kalıntı analiz çalışmalarının 45 yıl önce başladığı düşünüldüğünde bu sayıların oldukça az olduğu anlaşılmaktadır.

Ülkemizde yürütülen çalışmaların yaklaşık 30 tanesi pestisitlerin bekleme sürelerinin saptanmasına yönelik rutin analizlerdir. Genelde, analizlerde kullanılan yöntemler yabancı kaynaklıdır ve metod geliştirme konusunda yapılmış oldukça az sayıda çalışma vardır (Durmuşoğlu ve Çelik, 2001).

Gıdalardaki pestisit kalıntılarını saptamaya yönelik piyasa kontrol niteliğindeki saptayabildiğimiz çalışmaların sayısı yaklaşık 50 kadardır. Bu çalışmalardan 30'unda pestisit kalıntıları toleransların altında, 15'inde biraz üzerinde, 5 tanesinde ise endişe verici boyutlarda saptanmıştır. Üzerinde en çok analiz yapılan ürünler, 32 araştırmayla, yaş meyve ve sebzelerdir. Ayrıca, buğday veya unlarda 9 çalışma, çeşitli yağlarda 8 çalışma, balıklarda 6 çalışma, üzümelerde 6 çalışma ve zeytinde de 5 çalışma yapılmıştır.

İl Gıda Kontrol Laboratuvarlarının ortaklaşa yürüttükleri bir proje kapsamında, 1990-1994 yılları arasında Antalya, Fethiye ve İzmir çevresinden elde edilen domates, biber ve salatalık örnekleriyle, toptancı hallerinden toplanan üzüm, elma, şeftali ve armut örnekleri analiz edilmiştir (Anonymous, 1996). Projede toplam 1920 örnek insektisit ve fungisit kalıntıları açısından değerlendirilmiştir. Seralardan alınan domates, salatalık ve biber örneklerinden %89'u insektisitler açısından toleranslara uygun bulunmuştur. Dithiocarbamate grubu fungisitler yönünden domates ve biber örneklerinin tümü, salatalık örneklerinin ise %96'sı toleranslar içinde oldukları saptanmıştır. Yine kapsamlı diğer bir projede ise, 1996 yılında Isparta, Çanakkale, Antalya, Ankara, İzmir, İçel, Konya,

Denizli’den sağlanan elma, armut, yaş üzüm örnekleri ile çalışılmış ve 311 numune analiz edilmiştir. Aynı proje kapsamında 1997’de 273, 1998’de yukarıdaki illere Antalya’nın da katılımı ile 280 ve 1999 yılında ise Ankara, İzmir, Bursa illerinden alınan domates, salatalık ve biberlerden elde edilen 135 örnekten analizler yapılmıştır (Anonymous 2002). Analizler sonucu, 429 elma örneğinden 6 tanesinde ve 137 armut örneğinden de 2 tanesinde toleranslar üzerinde dithiocarbamate grubu fungusit kalıntıları saptanmıştır. 180 yaş üzüm örneği ile 63 şeftali örneğinde ise dithiocarbamate’li fungusitlerin kalıntısı bulunmamıştır. 45’şer tane sera domatesi, sera salatalığı ve sera biberinde de toleranslar üzeri kalıntıya rastlanmamıştır. Örneklerin hiç birinde insektisitler açısından bir sorun saptanamamasına karşın, 12 yaş üzüm örneğinde toleranslar üzerinde fungusit kalıntısı saptanmıştır.

Az sayıda da olsa, yapılan analizlerde kimi endişe verici bulgulara da rastlanmıştır. Örneğın Özgün (1997) yaptıkları çalışmada toplam 203 adet örnekten hiçbirinde organik fosforlu ve karbamatlı pestisit kalıntısına rastlamazken, 26 örnekte, tamamı yıllarca önce yasaklanmış olan klorlandırılmış hidrokarbonlu insektisitlerin kalıntılarına rastlanılmıştır. Aynı şekilde, 32 çilek örneğinin 21’inde dichlorvos kalıntılarını toleranslar üzeri düzeylerde olduğunu göstermiştir. Bu yüksek kalıntı, bazı örneklerde 10 - 77 kat tolerans üstü değerlere kadar ulaşmıştır.

Yukarıda özetlendiği gibi, pestisit kalıntıları konusundaki çalışmaların büyük kısmı insektisitlerle ilgilidir. Çalışmaların büyük bölümünde, örneklerde özellikle organik fosforlu ve klorlandırılmış hidrokarbonlu insektisitler aranmıştır. Fungisitlerle ilgili çalışmalar daha az olup, analizler genelde dithiocarbamate’liler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu sonuçlar da, özellikle ülkemizin AB’ye girme aşamasına geldiği günümüzde çalışmaların çok yetersiz olduğunu göstermektedir. Oysa, gelişmiş ülkelerde bu yönlü çalışmalar büyük bir yoğunluk kazanmıştır ve gıdalarda rutin olarak yapılmaktadır.

Diğer taraftan Avrupa Birliği uyum çalışmaları çerçevesinde izleme programlarının oluşturulması ve bu programlar çerçevesinde kalıntı analizlerinin rutin olarak yapılması gerekmektedir. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından bu programların oluşturulması, kalıntı analiz ve laboratuvarların akreditasyonu ile ilgili çalışmaların başlaması sevindirici bir gelişmedir.

2.7. Mikroorganizmalar

2.7.1. Mikroorganizmaların Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Mikroorganizmalar ancak mikroskopla görülebilen, genellikle tek hücreli canlılardır. Aynı ayrı veya koloniler halinde yaşarlar. Mikroorganizmalar, yüksek yapıları organizmalarda görülmeyen bazı ortak özellikleriyle birbirlerine benzerler. Mikroorganizmaları inceleyen bilim dalına ise mikrobiyoloji denir (Özçelik, 1996).

Jawetz vd. (1985), canlıları dört grup altında sınıflandırmaktadırlar.

1. Eukaryotlar :

- a) Alga
- b) Protozoa
- c) Fungi
- d) Slime Mold (Yapışkan Küfler)

2. Prokaryotlar:

- a) Eubacteria
- b) Archaeobacteria
- c) Cyanobacteria (Mavi-yeşil Algler)

3. Bitkiler

4. Hayvanlar

Mikroorganizmalar, doğada toprak, su, hava, bitki, insan, hayvan, gıda, yem v.b. her türlü ortamda bulunur ve gelişirler. Sulardaki mikroorganizma sayısı ise kirlilikle birlikte artmaktadır (Unat, 1993; Özçelik, 1996).

Dünyanın en eski, en yaygın ve en küçük canlıları olan mikroorganizmalar, insanlara hem yararlı hem de zararlı birçok olaya sebep olmakta ve hızla gelişen biyoteknoloji için büyük önem kazanmaktadırlar.

Mikroorganizmalar, çeşitli enerji kazanma yolları ve farklı karbon kaynaklarını değerlendirmeleri bakımından ototrof ve hetetrof olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Genel

olarak ototrof organizmalar organik maddeleri değerlendiremezler ve karbon kaynağı olarak CO₂'yi kullanırlar. Hetetrof mikroorganizmalar ise, enerji kaynağı olarak hazır organik maddelerden yararlanırlar. Mikroorganizma türlerinin çoğu hetetroftur.

Oksijen ihtiyaçlarına göre mikroorganizmalar aerobik, anaerobik, fakültatif anaerob ve mikroaerofil olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Aerobik mikroorganizmalar oksijenli, anaerobik mikroorganizmalar oksijensiz ortamda faaliyet gösterirler. Fakültatif anaerobik mikroorganizmalar hem oksijenli hem de oksijensiz ortamda üreyebilirler. Mikroaerofilik mikroorganizmalar ise çok az oksijene ihtiyaç duyarlar (Pekin, 1983).

2.7.2. Mikroorganizmaların Besin İhtiyaçları ve Gelişme Koşulları

Mikroorganizmaların gelişmesi için gerekli veya gelişmeyi teşvik eden maddeleri içeren ortama besiyeri denir. Mikroorganizmaları, laboratuvar şartlarında geliştirebilmek için besin ihtiyaçlarını iyi bilmek gerekir ve besin ihtiyaçları sahip oldukları enzim sistemine göre değişir (Özçelik, 1996).

Bütün organizmalar karbon, azot, oksijen, hidrojen, fosfor, kükürt ve minerallerden oluşmuşlardır. Hücrelerin bileşimi, organizmanın cinsine ve ortam şartlarına bağlı olarak değişir.

Mikroorganizmaların gelişmesi için su gereklidir. Mikroorganizma hücresinin yapısında % 77–85 arasında su vardır. Çözücü ortam olarak su, organik ve inorganik besin maddelerinin hücreye alınması ve taşınması için gereklidir. Besin maddelerinin hücreye alınması ve metabolizma atıklarının hücreden atılması su ile olur. Su, sahip olduğu ısı kapasitesi sayesinde, hücrenin ısı durumunu ayarlar (Özçelik,1995; Pekin, 1983; Kargı, 1993).

Mikroorganizmaların çoğu enerji kaynağı olarak organik bileşikleri (özellikle karbonhidratları) kullanırken, mavi-yeşil algler bu amaçla ışık enerjisinden, kemotrof mikroorganizmalar ise inorganik bileşiklerinden yararlanırlar. Azot kaynağı olarak organik azotlu maddelerden, amonyum veya nitrat tuzlarından yararlanırlar. Protein, aminoasitler, üre ve ürik asit de azot kaynağı olarak kullanılabilir. Azot, hücre bileşiminin kuru ağırlık bazında % 10-15'ini teşkil eder. Ayrıca mikroorganizmaların gelişmeleri ve üremeleri için fosfor, kükürt, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve sodyum gibi mineral maddeler ile demir, bakır, çinko, mangan, molibden, bor, kobalt, nikel, silisyum, vanadyum ve klorür

gibi eser miktardaki elementlere de ihtiyaç duyarlar. Fosfor, hücre kuru ağırlığının yaklaşık % 8'ini; kükürt ise % 1'ini teşkil eder (Pekin, 1983; Özçelik,1995).

Mikroorganizmaların gelişme ve çoğalmaları yeterli besin maddelerinin yanında uygun çevre şartlarına da bağlıdır. Nem, sıcaklık, pH, moleküler oksijen, osmotik basınç ve ışık mikroorganizmaların çoğalma ve gelişmelerini etkileyen önemli faktörlerdir.

Mikroorganizmaların her türü, gelişme ve çoğalması için çevre şartları uygun olduğu sürece varlığını sürdürür. Besin maddelerinin azalması, sıcaklık, nem, pH v.b. çevre faktörleri, mikrobiyal popülasyon üzerinde seçici etkiye sahiptir. Mikroorganizma türünün canlı kalması ve gelişebilmesi için, değişen çevre şartlarına uyum sağlaması gerekmektedir.

Kullandıkları enerji türüne göre mikroorganizmalar ikiye ayrılır. Işık enerjisi kullananlara fototrof, enerjilerini besinlerin parçalanmasından ve yükseltgenme-indirgenme işlemlerinden yani kimyasal yolla sağlayan mikroorganizmalara ise kemotrof mikroorganizmalar denir.

Mikroorganizmaların büyüme ve üremeleri için karbon, azot, kükürt ve fosfora gereksinimleri vardır. Su her zaman hücre içinden elde edilebilir. Eğer organizma bu gereksinimleri karşılamak için tamamen inorganik bileşiklerden yararlanıyorsa, bu tür mikroorganizmalara litotrof mikroorganizmalar denir. Besin olarak organik bileşikleri kullananlar ise organotrof mikroorganizmalardır.

Karbon gereksinimleri bakımından da mikroorganizmalar iki grupta toplanabilirler. Eğer bütün karbonu CO₂'den sağlıyorsa, ototrof, organik bileşiklerden sağlıyorsa hetetroftur.

Bakterilerde eşeysiz üreme görülür. Eşeysiz üreme vegetatif olarak mezozom yardımıyla hücrenin ortadan ikiye bölünmesiyle olur. Bakterilerde üreme mitoz bölünme şeklinde değildir. Çekirdekleri de gerçek bir çekirdek olmadığından bakterilerdeki bölünmeye schizon veya ikiye bölünme ya da ikiye ayrılma denir. Bu özelliklerinden dolayı da bakteriler schizomyetes sınıfı içerisinde toplanarak incelenirler.

Mikroorganizmalar üreme ve çalışma sıcaklık aralıklarına göre üç gruba ayrılırlar. 40–60 °C arasında faaliyet gösterenler termofilik, 18–40 °C arasında faaliyet gösterenler mezofilik, 18 °C'nin altında faaliyet gösterenler ise sakrofilik mikroorganizmalar olarak adlandırılırlar.

Elektron mikroskopuyla yapılan çalışmalarda çok farklı türde mikroorganizma türü görülmüştür. Buna göre mikroorganizmalar prokaryotik ve ökaryotik hücreler olmak üzere iki ana grupta toplanabilir (Kargı, 1993) .

2.7.2.1. Prokaryotik Hücreler

Prokaryotlar, bakteri ve mavi-yeşil algleri içerirler. Basit bir hücre yapısına sahip olup, hücre duvarı ve zarı ile çevrili stoplazmanın içinde DNA parçacıklarından ibaret olan ve zarı olmayan primitif bir çekirdekten oluşurlar. Prokaryotlarda gerçek hücre çekirdeği yoktur. Stoplazma içinde depolama parçacıkları ve ribozomlar bulunur.

2.7.2.2. Ökaryotik Hücreler

Algler, mayalar, protozoalar, mantarlar, küfler, bitki ve hayvan hücrelerini içerirler. Ökaryotlar, prokaryotlara göre 5–10 kat daha büyük olup, daha gelişmiş ve kompleks bir yapıya sahiptirler. Ökaryotlarda, hücre duvarı ve zarı ile çevrilmiş stoplazmanın içinde çekirdek zarı ile çevrili ve kromozomlardan oluşan gerçek hücre çekirdeği, mitokondri, ribozomlar, endoplazmik retikulum, golgi cisimcikleri, depolama parçacıkları bulunmaktadır (Kargı, 1993).

2.8. Bakteriler

Bakteriler, prokaryotlar sınıfından tek hücreli ve bölünerek çoğalan canlılardır. Atık su arıtma ünitelerinde bakterilere sıklıkla rastlanılır. Boyutları genel olarak 0,5–20 µm uzunluk ve 0,2–0,4 µm çapındadır. Ökaryotik hücrelerden farklı olarak çekirdek zarları yoktur. Çekirdekleri ipliksi bir ağ görünümünde olup doğrudan doğruya stoplazma ile sınırlanmıştır. Bakteriler üç farklı şekilde bulunurlar (Pekin, 1979).

1. Çomak Şeklinde Olanlar: Basiller bu gruba girmektedir. Genel olarak 0,5–20 µm uzunluğunda ve 0,5–4,0 µm genişliğindedir.

2. Küresel Şekilde Olanlar: Koklar bu sınıftandır. Çapları 0,5–4,0 µm arasında değişmektedir.

3. Sarmal Biçimde Olanlar: Spiriller olarak bilinen bu türler yaklaşık 10 µm uzunluk ve 0,5 µm genişlikte dirler.

Bakteriler gram boyası ile boyanabilirliklerine göre gram (+) ya da gram (-) olarak iki gruba ayrılırlar. Bu özellik hücre duvarı yapısındaki farklılıklara bağlıdır. Gram (+) bakterilerde N-asetil muramik asit, N-asetil glukozamin ve teikhoik asitten oluşan hücre duvarı gram (-) bakterilerde protein-polisakkarid-lipid bileşimindedir. Gram (-) bakterilerde hücre duvarı hücre dışı ve hücre içi zarı arasında yer alır. Gram (+) bakterilerde hücre dışı zarı olmayıp sadece stoplazmik zar vardır. Hücre zarı protein, lipid, karbonhidrat yapısındadır (Kargı, 1993).

2.8.1. *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens üstel büyüme fazında rodları 0.7- 0.8 µm ile 2.3- 2.8 µm arasında değişen, yaşlı kültürlerde daha kısa ve ince olabilen gram-negatif bir bakteridir. Tek veya çift halinde çoğalabilir. Polar multitrik flagellasyon ile hareket eder, bezende hareketsizdir. Kültürleri, özellikle demir olmayan ortamlarda dağılabilir, floresan pigmentler üretir. Bazı suşları dağılmayan mavi pigmentler üretebilir.

Organik büyüme faktörlerine gereksinim duymaz. Farklı suşları 80'den fazla farklı karbon kaynağı kullanabilir. Denitrifikasyon yeteneğine sahip ve nitratlı ortamda anaerobik şartlarda büyüeyebilen suşları dışında zorunlu aerobiktir. Optimum büyüme sıcaklığı 25- 30 °C'dir. Bazı suşları 4 °C veya altında büyüeyebilirler ama 41 °C'de büyüeyemezler. Toprak ve sudan, ayrıca çeşitli karbon kaynakları ile zenginleştirilmiş aerobik ortamda inkübe edildikten sonra izole edilebilirler.

Biyotip I, II, III ve IV olmak üzere dört farklı biyotipi vardır. Genel olarak biyotip I lipolitikdir. Biyotip II lipolitik değildir ve diğer biyotipler için lipolitik özellik değişkendir.

Ayrıca bu bakteri genel olarak gıdaların bozulmasına (yumurta, balık, süt ve et) neden olur (Buchanan ve Gibbons, 1974).

2.9. Mikroorganizmaların Kimyasal Bileşimleri

Virüsler hariç bütün mikroorganizmalar yaklaşık % 80 su içerirler. Bakteri, maya ve tek hücreli algler, protein içeriği bakımından çok benzerdirler ve yaklaşık kuru ağırlıklarının % 50'si proteindir. Virüsler ise tamamen nükleoproteinden oluşurlar. Mantarlar gibi daha karmaşık mikroorganizmaların hücre duvarını oluşturan inert polisakkarit bileşikler, kuru

ağırlığın büyük bir oranını oluştururlar. Bazı virüsler hariç bütün mikroorganizmaların diğer bir önemli bileşeni de lipitlerdir.

2.10. Mikroorganizmalar Üzerine Çevrenin Etkileri

Mikroorganizmalarda başka canlılar gibi çevreden etkilenirler. Uygun şartlarda büyürler ve çoğalırlar. Uygun olmayan şartlarda ise üreyemezler ve ölürler veya bu koşullara dayanabilecek sporlar oluştururlar. Mikroorganizmaların gelişme ve üremesi için gerekli besinleri ve uygun koşulları içeren ortama “ besiyi ya da besin ortamı” adı verilir. Mikroorganizmalar, bulundukları ortamdan besin maddelerini alarak hücrenel bileşiklere dönüştürürler ve bölünerek ya da birleşerek çoğalırlar. Bu besinin bir kısmını enerji üretimi, bir kısmını ise biyosentez ve formasyon için kullanırlar. Mikroorganizmaların gelişme ve üremeleri için besin olarak bol miktarda karbonlu ve azotlu organik maddelerden yararlanılır. Ancak besin ortamının hazırlanmasında, bunların dışında; belirli oranda fosfor, kükürt içeren organik ya da inorganik maddeler ile magnezyum, sodyum, potasyum, kalsiyum ve başka iz elementlere de gereksinim vardır.

Kesikli kültürlemede mikroorganizmaların çoğalması ortamdaki gerekli besin maddeleri tükeninceye kadar sürer. Ayrıca bu tür kültürlemede mikroorganizmaların oluşturacağı ürün ya da yan ürünler de gelişme ve çoğalma üzerine etki eden bileşenler arasındadır. Bunun dışında besin ortamına katılan bazı maddelerin belli bir oranın altında tutulması da gereklidir.

Sıcaklık, mikroorganizmaların üreme ve çalışmasını sınırlayan bir etkidir. Bazı mikroorganizmalar yüksek sıcaklıkta üreyebildikleri halde bazıları orta ve düşük sıcaklıkta gelişir ve faaliyetlerini sürdürürler. Sıcaklık, optimum üreme sıcaklığı yönünde arttıkça her $^{\circ}\text{C}$ artışta üreme hızı yaklaşık iki katına çıkar. Optimum sıcaklık seviyesinin üstünde üreme hızı düşer ve termal ölüm meydana gelir.

Mikroorganizmaların faaliyetlerini sürdürebilmeleri için suya ihtiyaçları vardır. Bakteri ve mayalar, bileşimlerinde fazla miktarda su bulunan besiyi yerlerini tercih ettikleri halde, küfler az miktarda suyun bulunması halinde de yaşayabilir ve üreyebilirler.

Mikroorganizmaların üreyebilecekleri ve çalışabilecekleri pH değerleri farklı olabilmektedir. Örneğin bakterilerin bazıları bazik şartları sevdikleri halde, mayalar ve küflerle, bakterilerin bir kısmı asidik ortamı tercih ederler. Birtakım mikroorganizmalar ise kendilerini çeşitli ortamlara adapte edebilirler.

Bunlardan başka mikroorganizmaların üreme ve çalışmaları üzerine birçok kimyasal madde de etki eder. Örneğin asitler, bazlar, alkoller, formaldehit ya da aldehitler ve metal tuzları protoplazmanın koagülasyonuna neden olurlar. Fenol ve fenol bileşikleri ile sabunlar mikroorganizma zarlarının geçirgenliğini bozmaktadırlar. Öte yandan bazı kimyasal maddeler de enzimlerle birleşerek onların çalışmasına ve sentez yapma işlemlerine engel olurlar.

Sonuç olarak mikroorganizmaların gelişerek üreyebilmeleri için aşağıdaki koşulların sağlanması gerekmektedir:

1. Mikroorganizmanın yaşaması, gelişmesi ve üremesi için gerekli besin maddelerini ve enerji kaynağını içeren besin ortamının bulunması: Mikroorganizmaların yaşamlarını sınırlayan vazgeçilmez besinler mikrobiyal kinetikte substrat olarak kabul edilirler. Atık suların mikrobiyal yoldan temizlenmesinde, arıtılması öngörülen maddeler de substrattır.
2. Besin ortamına canlı mikroorganizmaların katılması (aşılama).
3. Besin ortamında; gelişme maddelerinin bulunması ve gelişmeyi engelleyici maddelerin (inhibitörlerin) yokluğu.
4. Besin ortamında; optimum pH, sıcaklık, iyon kuvveti gibi mikroorganizmaların için uygun koşulların oluşturulması (Pekin, 1980; Kargı, 1993).

3. BİYODEGRADASYON

3.1. Biyodegradasyonun Tanımı

Biyodegradasyon (biyolojik parçalanma), organik bileşiklerin organizmaların salgıladıkları enzimler tarafından parçalanması anlamına gelir (İleri, 2000). Tüm organik bileşikler, bir veya birden fazla element ile birleşim halinde olan karbonu içerirler. Çok sayıda bileşikler karbon, hidrojen ve oksijen içermektedirler ve bu elementler esas-element olarak ele alınırlar. Organik maddelerde bulunan diğer elementler ise, azot, fosfor ve kükürttür. Organik maddelerin yapısında bulunan birçok element organizmalar için besin değeri taşır ve biyodegradasyonun gerçekleşmesi için gereklidirler.

3.2. Biyodegradasyona Etki Eden Faktörler

1. Başlangıç pH'ının Etkisi: Biyodegradasyon için başlangıç pH'ı çok önemlidir. Başlangıç pH'ı mikroorganizmanın özgül üreme hızını ve substrat tüketimini etkiler.

2. Sıcaklığın Etkisi: Mikroorganizma üremesini ve buna bağlı olarak substrat tüketim hızını etkileyen en önemli parametrelerden biri de sıcaklıktır. Mikroorganizmanın üremesi ve substrat tüketimi için belirlenen en uygun sıcaklığın seçilmesi gerekir. Sıcaklık, özellikle mikroorganizmaların enzim sistemleri üzerinde etkilidir. Biyodegradasyon prosesinde mikroorganizmaların enzimleri üzerinde etkili sıcaklıklar seçilmemelidir. Çünkü bu sıcaklıklarda mikroorganizmanın enzim yapısı bozulur. Enzim yapısı bozulan mikroorganizmanın özgül üreme hızı ve substrat tüketim hızı değişikliklere uğrar.

3. Başlangıç Substrat Konsantrasyonu: Biyodegradasyon deneylerinde mikroorganizmanın üremesini ve substrat tüketim hızını etkileyen en önemli parametrelerden biri de başlangıç substrat konsantrasyonudur. Besi maddesi konsantrasyonu mikroorganizmaların büyümelerini en az sıcaklık ve pH kadar etkilemektedir. Üreme ortamındaki besi maddesi konsantrasyonlarının belli oranlarda olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır.

4. Karıştırma Hızının Etkisi: Mikroorganizmaların besi ortamı ile iyi bir şekilde temas etmesinin sağlanması için karıştırma işlemi gereklidir. Karıştırma hızı aynı zamanda mikroorganizmaların üreme ve substrat tüketim hızını etkileyen önemli bir faktördür.

3.3. Pestisitlerin Biyodegradasyonu

Mikroorganizmaları kullanarak çevredeki pestisit kirliliğinin biyomeditasyonu (biyoyiyeleştirilmesi) önemli bir bilim konusudur. Kimyasalların çoğu, atıkların boşaltılması ve uygulanma yöntemleri sonucunda çevreye yayılır. Bu, toksik veya toksik kirleticiler içeren pestisitler içinde böyledir. Pestisitler, modern tarımda verim sağlamak için kullanılan temel maddelerdendir ve kullanımları her yıl % 6–8 oranında artmaktadır. Geçen kırk yılda, pestisitlerin aşırı kullanımı zararlı böceklerin güçlenmesine ve ürünlerde, topraklarda pestisit kalıntılarına neden olmuştur (Yan ve diğ., 2003).

Esterazların, organofosfat (OPs) ve karbamat (CB) içeren insektisitleri parçalayabilme yeteneği, bunların biyoyiyeleştirme programlarında kullanılabilme ihtimallerini artırmaktadır. Enzimlerin katalitik biyoyiyeleştirici olarak pestisitlerin biyodegradasyonunda kullanılması günümüzde çok popüler bir araştırma konusudur (Russel ve diğ., 1998). OPs'in, fosfoester bağlarının hidrolizlenmesi ile zehri giderilebilir. OPs'ler, karboksilester bağlarının hidrolizlenmesi yoluyla ayrıştırılabilir. Karbamat içeren insektisitler, herbisitler ve fungusitler de amit veya benzer bağlarının hidrolizlenerek ayrıştırılmasıyla zehirsiz hale getirilebilirler. Bugüne kadar keşfedilen biyoyiyeleştirici enzimlerin çoğu hidrolizlenmiştir (Russel ve diğ., 1998). Biyoyiyeleştirici potansiyele sahip enzimlerle, ökaryotik zararlı organizmalar mutasyona uğramış pestisit korumalı organizmalardan ayrılmıştır (Beard, 1993; Newcom ve diğ., 1997).

Nemacur (TM) (yaygın kimyasal adı fenamiphos) çimlerdeki böceklerin ve bazı nematodların kontrolü için kullanılan organik bir pestisittir. Problemlili zeminlerde veya fenamiphosun yüksek hızda kullanımıyla detoksifikasyon oluşursa bileşen etkisiz kalır. Böylece pestisit hedef alınan zararlılar için etkisiz olur. Bakteri ve fungi gibi toprakla karışmış mikroorganizmalar, kompleks organik bileşenlerin CO₂ ve H₂O gibi basit ve zararsız son ürünlere dönüşümünden sorumludur. Eğer bu dönüşüm hızlandırılmış oranlarda oluşturulursa geliştirilmiş biyodegradasyon meydana gelir (Skipper ve diğ., 2001).

3.3.1. Pestisitlerin Biyodegradasyonunun Biyokimyasal Esasları

Saf bakteri kültürleri kullanılarak pestisitlerin parçalanmasında, biyokimyasal reaksiyonların doğrudan etkili olduğu bilinmektedir. Pestisitlerin parçalanmasını katalize eden enzimler; hidrolazlar (esteraz, amidaz, halihidrolaz) ve oksijenajlar (mono veya di oksijenaz) olarak iki grupta incelenebilirler.

Yapılan araştırmalarda hidrolazların atık arıtımında kullanıldıkları belirtilmektedir. Hidrolazlar, aktivite için kofaktöre ihtiyaç duymazlar. Oldukça geniş pH ve sıcaklık derecelerine dayanıklıdırlar. Ayrıca çok sayıda farklı substrat için zelleşmişlerdir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen hidrolazların pestisitleri parçaladıkları belirtilmektedir (Karns ve diğ., 1987; Head ve diğ., 1990; Head ve Cain, 1992). Tarımda yaygın olarak kullanılan ve çevrede kalıntı bırakarak kirliliğe sebep olan, organik fosforlu insektisitlerden parathion, *Pseudomonas diminuta* tarafından parathion hidrolaz enzimi ile parçalanmaktadır (Karns ve diğ., 1987).

Sethunathan ve Yoshida (1973), yaptıkları çalışmada, diazinon ve parathionun *Flavobacterium sp.* hidrolaz enzimleri ile parçalandığını gözlemlemişlerdir. Araştırmada kullanılan bakteri tarafından diazinon, 2 izopropil 6-metil 4-hidroksi primidine, parathion ise Pnitrofenole hidrolizlenmiştir. Aynı çalışmada diazinonun karbon kaynağı olarak kullanıldığı belirtilmektedir.

Topraktan izole edilip *Achromobacter sp* olarak teşhis edilen bakterinin, karbofuranı azot kaynağı olarak metabolizmada kullandığını bilinmektedir. Araştırmacılar, besi yerine ilave ettikleri 200 µg/mL karbofuranın belirtilen bakteri tarafından 42 saat süre sonunda % 99'nun parçalandığını bulmuşlardır. Ayrıca karbofuran ihtiva eden Nutrient Buyyon da *Pseudomonas sp.* 30 gün süreyle inkübe edilmiş ve pestisit % 95'nin parçalandığını grlmştir (Karns ve diğ., 1986).

Toprak bakterileri tarafından karbofuranın minerilizasyonu üzerine yapılan çalışmalarda ise topraktan izole edilerek *Arthrobacter sp.* olarak teşhis edilen bakteriler kullanılmıştır. Mineral salt ortamına 20 µg/mL karbofran ilave edilmiş ve bakteri gelişmesi için, 20 ve 35 °C de aerobik şartlar altında inkübe edilmiştir. Karbofuran belirtilen bakteri tarafından 72 120 saat içerisinde karbon ve azot kaynağı olarak kullanılmıştır. Minerilizasyon işlemi 35 °C'de daha süratli olmaktadır. Pestisit konsantrasyonu, 35 °C'de 48 saat sonra orijinal seviyenin % 10'u azalırken, 20 °C'de aynı süre içerisinde azalma görülmemiştir. 35 °C' de inkübe edilen ortamdaki hızlı azalmanın sebebi, karbofuranın buharlaşma ile de kaybolmasındandır. Çünkü kontrollü olarak kullanılan ortamda da pestisit konsantrasyonun azaldığını tespit etmişlerdir (Ramanand ve diğ., 1988).

3.3.2. Mikroorganizmalarla Pestisit Parçalanmasının Genetik Esasları

Genellikle bakteriler tarafından pestisitlerin parçalanmasından sorumlu genler, bakterilerin tek kromozomu üzerinde değildir. Söz konusu genler, plazmid olarak isimlendirilen ekstrakromozomal DNA molekülleri üzerinde lokalize olmuştur (Kaerney ve Kellog, 1985; Mulbr ve diğ., 1986; Söyler ve diğ., 1990).

Plazmidde şifrelenen genler bakteri gelişimi için önemli değildir. Pek çok plazmidler farklı bakteri cins ve türleri arasında transfer olabilir. Plazmidler, ekstrakromozomal yapılar olup, kromozomdan ayrı elementlerdir. Küçük, halka şeklinde kapalı, DNA çift zincirinden oluşur. Bakteri kromozomundan bağımsız olarak çoğalır (Özçelik, 1985). Pestisitlerin parçalanmasından sorumlu genler plazmidde şifrelenmiştir.

2.4.5-T (2.4.5-Triklorofenoksi asetik asit)'yi parçalayan *Pseudomonas cepacia* ve karbofuranı parçalayan *Achromobacter sp.* nin plazmit DNA'sı bulundurduğu tespit edilmiştir (Kaerney ve Kellog, 1985; Tomasek ve Karns, 1989). *Flavobacterium sp.* nin ATCC 27551 tarafından üretilen ve parathionu parçalayan parathion hidrolaz enzimini plazmidde şifrelediği bulunmuştur (Karns ve diğ., 1986)

Chsudhry ve Huang (1988), *Flavobacterium sp.* tarafından 2.4-D nin parçalanabildiğini tespit etmişler ve civaya dayanıklı pRC10 plazmidi ihtiva ettiğini belirtmişlerdir. Plazmidi kaybolmuş *Flavobacterium sp.* suşları ıslah edilince, klorinat bileşiklerini daha iyi parçalamaktadır. Araştırmacılar *Alcaligenes eutropus*'da tespit edilen ve 2,4-D yi parçalayan genetik şifrelerin bulunduğu pJP4 plazmidi, pRC10 plazmidi ile karşılaştırıldığında, iki plazmid arasında benzer bölgelerin olduğunu bulmuşlardır.

Pestisit parçalanmasında katabolik plazmid bulunduran organizmalar Tablo 3.1 de verilmiştir.

Tablo 3.1. Pestisit Parçalanmasında Katabolik Plazmid Bulunduran Organizmalar (Head ve Cain, 1992)

Pestisit	Plazmid	Organizma
Karbofuran	pPDL 1t	<i>Achromobacter sp.</i>
Karbofuran	pIH3,pIH4	<i>Flavobacterium sp.</i>
2-Hloalkanoikasit	pUU 204	<i>Pseudomonas sp.</i>
MCPA&2.4-D	pJP 4	<i>Alcaligenes sp.</i>
Paration	pCS 1	<i>Pseudomonas sp.</i>
Paration	P PDL 2	<i>Flavobacterium sp</i>

3.4. Mikrobiyal Kinetik

Yapılan çalışmada *P. fluorescens* bakterisi ile kesikli karıştırmalı kapta ve dolgulu kolonda phosmet pestisitinin biyodegradasyonu gerçekleştirilmiştir. Substrat tüketimi mikroorganizmanın faaliyetleri ve hücre metabolizmasındaki tepkimelerin sonucudur. Hücre metabolizmasındaki tepkimelerin çoğunun bilinmemesi ve mikrobiyal sistemlerin çeşitli etkilere, kimyasal sistemlerden farklı şekilde etkilenmelerinden dolayı tüm sistemi tanımlayacak modeli oluşturmak oldukça güçtür. Bu çalışmada pestisitlerin mikrobiyal gelişme üzerine etkisi araştırılmıştır ve sistemi en iyi tanımlayan modelin Haldane Modeli olduğu bulunmuştur.

3.4.1. Kesikli Karıştırmalı Reaktör

3.4.1.1. Mikroorganizmanın Üremesi

Mikroorganizmalar, bulundukları ortamdaki besin maddelerini alarak hücresel bileşiklere dönüştürürler ve bölünerek ürerler. Üreme ya mikroorganizmaların sayısal artışı ya da kütleli artışı şeklinde olur. Mikroorganizmaların kesikli sistemde üremesinde 5 dönem gözlenir (Şekil 3.1.) (Kargı, 1993).

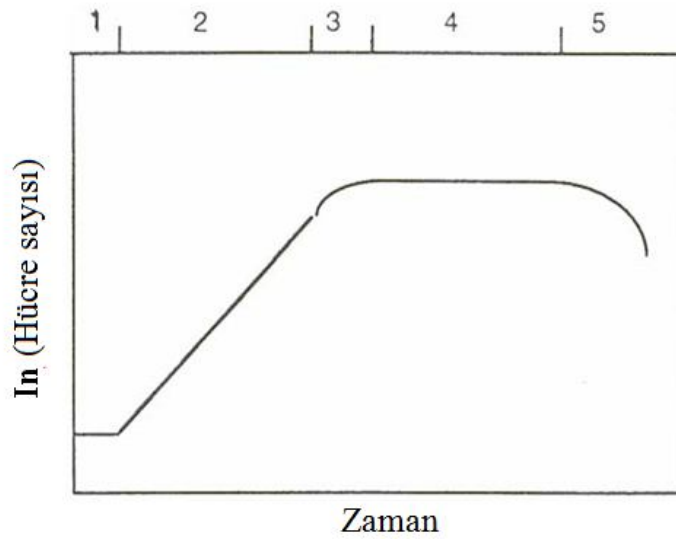
1- Gelişme ya da Gecikme Evresi: Mikroorganizmaların yeni ortama uyum sağlayıp, çoğalmaya başlayıncaya kadar geçirdikleri bekleme dönemidir. Bu dönemde besin ortamının bileşimine ve şartlara göre mikroorganizmaların içyapısında bazı değişiklikler olur. Yeni enzimler üretilir ve bazı enzimlerin de üretimi durdurulur. Bu evrede hücre ağırlığı çok az artsa bile hücre sayısında bir değişiklik olmaz. Ekonomik açıdan bu sürenin kısa olması istenir. Bu nedenle yüksek derişimde aktif hücre kütlesi aşısı olarak kullanılmalı, ortam şartları uygun olmalı ve ortamda toksik özellik gösterebilecek madde bulunmamalıdır.

2- Logaritmik ya da Üstel Üreme Evresi: Mikroorganizma derişimi belli bir düzeye ulaşınca üstel üreme evresine gelinir. Ortama uyum sağlayan mikroorganizmalar, bu dönemde maksimum hızla büyürler. Bu dönemde mikroorganizmaların canlı, genç ve dinç olduğu kabul edilir ve ölüm yok sayılır. Hücrelerin kütlesi zamanla üstel olarak artar ve büyüme hızı besin maddesi derişiminden bağımsızdır.

3- Duraklama Evresi: Bu evrede mikroorganizmaların yaşlanması ve ölüm olayının belirginleşmesi nedeni ile logaritmik evreye kıyasla üreme hızında azalma gözlenir.

4- Sabit Evre: Bu evrede kimi mikroorganizma ürer, kimileri ölür ve bazıları da üremeden yaşamlarını sürdürür. Bu üç etken birbirini dengelediğinden hücre derişiminde zamanla net bir artma ya da azalma olmaz. Sabit evrede toplam hücre kütlesi sabit kalmakla birlikte canlı ve aktif hücre derişimi düşer. Dış ortamda yeteri kadar besin maddesi kalmadığından mikroorganizmalar hücre içi kaynakları tüketirler. Bu dönemi geciktirebilmek için toksik maddeler ortamdaki uzaklaştırılmalıdır.

5- Ölüm Evresi: Mikrobiyal kinetiğin son evresi olan bu evrede mikroorganizmanın ölüm hızı arttığı için zamanla derişiminde azalma gözlenir ve bu evreye ölüm evresi adı verilir. Ölüm evresi başlamadan önce hücreler taze besin ortamına aktarılırsa yeniden büyüyebilirler (Bailey ve Ollis, 1986; Kargı, 1993; Pekin, 1979).



- 1- Gelişme veya gecikme evresi 2- Logaritmik veya üstel üreme evresi
3- Duraklama evresi 4- Sabit evre 5- Ölüm evresi

Şekil 3.1. Mikroorganizmaların üreme evreleri

3.4.1.2. Mikroorganizmaların Üreme Kinetiği

Kesikli sistemde üstel üreme bölgesinde mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi özgül üreme hızı ile karakterize edilir ve aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$dX / dt = \mu X \quad (3.1)$$

Burada;

X: Kuru mikroorganizma derişimi (g/L)

μ : Özgöl üreme hızı (sa⁻¹)

Bu eşitlik;

t=0 anında X=X₀

t=t anında X=X

sınır şartları ile çözüldüğünde Eş. 3.2 elde edilir.

$$\ln X/X_0 = \mu t \quad (3.2)$$

Bu evredeki substrat tüketim hızı Eş. 3.3 ile verilir.

$$v = (1/X)(dc/dt) \quad (3.3)$$

Burada;

v : Substrat tüketim hızı (g substrat/g k.mo. sa)

C : Substrat konsantrasyonu (g/L)' dir.

Mikroorganizmanın başlangıç konsantrasyonunun iki katına çıkması için geçen süre ise Eş. 3.4 ile verilir ve t_d, ikilenme süresi olarak adlandırılır.

$$t_d = \ln 2 / \mu \quad (3.4)$$

Kesikli sistemde substrat inhibisyonunun gözleendiği durumda mikroorganizmanın büyüme hızı substrat konsantrasyonuna bağılı olarak Haldane Eşitliği ile ifade edilir.

$$\mu = \mu_{\max} \cdot C / K_S + C + (C^2/K_I) \quad (3.5)$$

Burada;

$\mu_{\max}$: Mikroorganizmanın maksimum özgöl üreme hızı (sa⁻¹)

K_S : Doygunluk sabiti (Substrat doygunluk konsantrasyonu) (g/ L)

K_I : Aşırı substrat derişiminin sebep olduğı inhibisyon sabiti (g/ L)'dir.

3.4.2. Dolgulu Kolon Reaktör

Biyoteknolojik işlemlerde kesikli düzende çalışan reaktörlerin yanında sürekli düzende çalışan kolon tipi reaktörlerin kullanımı da oldukça yaygındır. Dolgulu kolon reaktörler, mikroorganizma miktarı ayarlanarak büyük miktarda atık su arıtımı yapılabilmesi, mikroorganizma bulaşmasının görülmemesi ve arıtılmış atık suyun sistemden kolaylıkla ayrılabilmesi gibi özelliklerinden ötürü tercih edilen bir reaktör türüdür. Çalışmada phosmetin biyodegradasyonu için kalsiyum aljinatta tutuklanmış *P. fluorescens* taneciklerini içeren dolgulu kolon reaktör kullanılmıştır.

Dolgulu kolon reaktörde phosmet tüketim hızı Eş. 3.6. ile tüketim yüzdesi ise Eş. 3.7. ile tanımlanmıştır.

$$u_k = (C_{Fo} - C) \frac{Q}{w} \left(\frac{60}{1000} \right) \quad (3.6)$$

u_k : Kolon phosmet tüketim hızı (mg phosmet / g k.mo.sa)

C_{Fo} : Kolon phosmet besleme derişimi (mg / L)

C : Kolon phosmet çıkış derişimi (mg / L)

Q : Hacimsel akış hızı (mL / dak)

w : Kolondaki toplam kuru mikroorganizma miktarı (g)

$$\% Tüketim = \frac{C_o - C}{C_o} \times 100 \quad (3.7)$$

A : Kolon kesit alanı (cm²)

A 'nın hesabında Eş. 3.8 kullanılır.

$$A = \frac{\pi D^2}{4} \epsilon \quad (3.8)$$

D : Kolon çapı (cm)

ϵ : Porozite

Alıkonma süresi ise Eş. 3.9 yardımıyla hesaplanır.

$$\tau = \frac{V}{Q} \epsilon \quad (3.9)$$

V : Boşluk hacmi (cm³)

3.4.3. Dolgulu Kolonda Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması

Dolgulu kolonda substrat için süreklilik denkliği aşağıdaki şekilde verilir.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_z \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} + D_r \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial C}{\partial r} \right) - U \frac{\partial C}{\partial z} - v_k \quad (3.10)$$

-Yatışkın durum

-Tıpa tipi akış

-Radyal ve eksenel yöndeki difüzyonla kütle aktarımı ihmal edilebilir, varsayımları yapılarak Eş. 3.11 elde edilir.

$$U \frac{\partial C}{\partial z} = -v_k \quad (3.11)$$

Buradaki tepkime hızı (v_k) (g mol/L-sa) birimindedir.İncelenen tepkime tutuklanmış mikroorganizma ile katalizlenen tepkime olduğundan tepkime hızı (mg/g k.mo.sa) biriminde olmalıdır. Eşitliğin sol tarafı h/w ile çarpıldığında ve akış hızı hacimsel akış hızı olarak alındığında gerekli birim değişikliği yapılmış olur.

$$\frac{h}{w} Q \frac{\partial C}{\partial z} = -v_k \quad (3.12)$$

Burada,

h : Kolon boyu (cm)

w : Tutuklanmış taneciklerdeki toplam kuru mikroorganizma miktarı (g)

Q : Hacimsel akış hızı (cm³/dak.)'dır.

Düşük substrat derişimlerinde biyodegradasyonun 1. Derece bir tepkime olduğu kabul edilirse;

$$v_k = k_p C \quad (3.13)$$

k_p : Görünür tepkime hızı ($\text{cm}^3/\text{g. sa}$)'dir.

Eş. 3.12 ve Eş. 3.13'de kullanılırsa

$$\frac{hQ}{w} \frac{dC}{dz} = -k_p C \quad (3.14)$$

elde edilir.Eş 3.11; $z=0$ $C=C_{F0}$ ve $z=h$ $C=C$ sınır koşulları ile çözülürse, Eş. 3.15 elde edilir.

$$\ln \frac{C_{F0}}{C} = \frac{w}{Q} k_p \quad (3.15)$$

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan phosmet pestisitinin analitik standardı Dr Ehrenstorfer firmasının Türkiye temsilcisinden temin edilmiştir. Phosmet % 98.5 saflıktadır.

Phosmet pestisitinin etkin maddesi metanolde (% 98) çözünerek 10 ppm'lik stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti çalışma süresince derin dondurucuda -15 °C'de muhafaza edilmiştir. Pestisit stok çözeltisinden seyreltme ile 1- 10 ppm arasında bir dizi standart çözelti hazırlanmıştır.

American Type Culture Collection (A.T.C.C.)'dan sağlanan BAA-477 kodlu *P.fluorescens* çalışmalarda kullanılmak üzere laboratuarda üretilmiştir. *P.fluorescens*'in üretiminde kullanılan zengin sıvı besiyerinin bileşimi Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *P. fluorescens* ' in üretiminde kullanılan zengin sıvı besi yerinin bileşimi

Bileşen	Konsantrasyon (g/L)
Glukoz	5
Maya özütü	1
Bakteriyolojik pepton	1
K ₂ HPO ₄	0,5
KH ₂ PO ₄	0,5
(NH ₄) ₂ .SO ₄	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05

4.2. Pestisitlerin LC MS / MS Cihazında Tayin Şartlarının Tespit Edilmesi

LC MS/MS; ilaçların ve metabolitlerinin iyon yüküne göre küçük konsantrasyonda bile ölçülmesini sağlayan cihazdır. İleri teknoloji ürünüdür. Miktersal tayin yapmaktadır.

LC-MS/MS (high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry) tekniğinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan moleküller kütle dedektörü ile analiz edilmektedir. Birinci kuadropol filtrede m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılan moleküller collision gaz adı verilen yüksek saflıkta özel bir gaz ile parçalanmaya tabi tutulmaktadır. İkinci kuadropol filtrede

parçalanma sonucu oluşan iyonların (daughter veya product ion) üzerinden teşhis ve miktar tayini yapılmaktadır.

Aynı m/z oranına sahip pek çok molekülün mevcut olmasına karşın aynı parçalanma iyonlarına sahip molekül sayısı doğada 1/10000 dır. Bu nedenle LC-MS/MS tekniği neredeyse babalık testi kadar özgün bir test olmasının yanı sıra çok düşük konsantrasyonlarda maddenin miktar tayininin yapılabilmesini mümkün kılmaktadır. Ayrıca sonuçların doğrulanmasına da gerek duyulmamaktadır.

Bu çalışmada phosmet pestisitinin analizinde Shimadzu marka LC MS / MS cihazı kullanılmıştır. Cihazın fotoğrafı Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Kullanılan LC MS/MS cihazının kısımları;

- 2 adet yüksek basınçlı pompa
- Otomatik Numune Örnekleyici
- Kolon
- Kolon Fırını
- Dedektör



Şekil 4.1. LC MS/MS Cihazının Fotoğrafi

4.3. Pestisit Standartlarının Hazırlanması ve Pestisitlerin Nicel Olarak Analizi

Stok çözeltilerden seyrelme ile daha düşük konsantrasyonda çözelti elde etmek amacıyla, stok çözeltiler derin dondurucudan alınarak sıcaklıklarının oda sıcaklığına gelmesi için yeterince laboratuvar koşullarında bekletildi. Oda sıcaklığına gelen stok çözeltilerden seyreltme yapılarak 1, 2.5 , 5 ve 10 ppm 'lik konsantrasyonlarda pestisit için ayrı ayrı standart çözeltiler hazırlandı.

Pestisit analizlerinde pestisit miktarlarının tam ve kesin olarak yapılması çok önemlidir. Genellikle analiz neticesinde bulunacak pestisit konsantrasyonları düşük olduğundan pestisit analizlerinde güçlük çekilmektedir. LC MS/MS ile pestisitlerin analizinde öncelikle numuneler vial adı verilen küçük cam şişelere filtreler yardımıyla enjekte edilir . Metanol ve su çözeltisi ile amonyum formattan oluşan hareketli faz belli bir akış hızıyla gelir ve numuneyi alarak sürüklemeye başlar. Kolon kısmına gelir ve buradan da numune MS kısmındaki elektrota geçer. Burada phosmet iyonlaşarak gaz fazına geçer. Buradan gaz 1 'in olduğu kuadropole gelir.

Q_0 'da moleküller spiral hareket yaparak sıraya girer. Q_1 'de phosmet yakalanır. Q_2 'de azot jeneratöründen gelen azotla phosmet molekülü çarpıştırılır ve parçalanma ürünleri oluşur. Q_3 'de parçalanma ürünleri yakalanarak dedektör tarafından miktar belirlenir ve pik olarak tayin edilir.

4.4. Mikroorganizma Üretimi

Liyofilize halde getirilen bakteri kültürü, önce içinde agarlı katı besin ortamı bulunan petri kutularında ve içinde yatık agar bulunan tüplerde 30 °C deki etüvde üretilerek aktive edilmiş, daha sonra bu ortamlardan yine glukoz içeren zengin sıvı besin ortamlarına aktarılmıştır. Tablo 4.1'de ki bileşime sahip besiyerinden 250 mL' lik erlenlere 100 mL ilave edilerek, erlenlerin ağızları pamuk tıkaç ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan besiyeri 1 atm basınç ve 121 °C' de 45 dakika süre ile otoklavda sterillemiştir. Sterillenerek üretime hazırlanan besiyerine *P. fluorescens* 1/10 oranında aşılanmıştır. Daha sonra 30 °C sıcaklık ve 150 rpm karıştırma hızında çalışan orbital inkübatörde 24 saat süre ile bekletilerek, *P. fluorescens*'in üremesi gerçekleştirilmiştir.

4.4.1. Mikroorganizmanın Pestisit İçeren Ortama Alıştırılması

P. fluorescens'in pestisit gibi toksik organik bileşiklere alıştıırılması, mikrobiyal aktivitenin arttırılabilmesi için yapılması gerekli olan önemli bir işlemdir. Alıştırma süresi kullanılan aşının niteliklerine bağlı olarak birkaç saatle birkaç hafta arasında değişir (Buitron ve diğ.,1990). Bu doğrultuda *P. fluorescens*'in pestisitlere alıştıırılması için bir dizi deney yapılmıştır.

Mikroorganizmanın pestisite alıştıırılması işlemi kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. Önce 5 g/L glukoz + 0.01 g/L pestisit içeren sıvı besin ortamları hazırlanmış ve hazırlanan sıvı besin ortamına 5 g/L glukozlu ortamda üremiş kültürlerden ekim yapılmıştır. Üreme gözlendikten sonra mikroorganizmanın alıştıırma işlemine devam edilmiştir. Alıştırma işlemi, 3 g/L glukoz + 0.01 g/L pestisit, 1 g/L glukoz + 0.01 g/L pestisit ve 0 g/L glukoz + 0.01 g/L pestisit içeren ortamlarda aynı şekilde yapılarak, daha sonra biyodegradasyon ortamına aktarılmıştır. Biyodegradasyon çalışmalarında kullanılan besin ortamı bileşimi Tablo 4.2.' de verilmiştir. Alıştırma işleminden sonra üretilmiş mikroorganizma bu ortama ilave edilerek biyodegradasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.2.'deki bileşime göre hazırlanan çözeltiye deneyin niteliğine göre değişen miktarlarda pestisit eklenmiştir.

Tablo 4.2. Biyodegradasyon çalışmalarında kullanılan besin ortamı

Bileşen	Konsantrasyon (g/L)
Glukoz	0-5
K ₂ HPO ₄	0.5
KH ₂ PO ₄	0.5
(NH ₄) ₂ .SO ₄	0.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05

Çalışılan ortamlarda oluşabilecek her türlü enfeksiyonun engellenmesi için tüm canlı organizmayla yapılan çalışmaların steril şartlarda gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Besin ortamı içeren erlenler, tüpler ve pipetler 1 atm basınç ve 121 °C' sıcaklıkta otoklavda 45 dakika tutularak sterillemiştir. Ekim işleminin gerçekleştirildiği ortam ekimden önce etil alkol ile kimyasal olarak sterillemiştir ve belli bir süre UV lambası kullanılmıştır. Ekimler bek alevi karşısında, sterilizasyonun bozulmayacağı şekilde yapılmıştır. Aktif halde

üretilmiş olan katı ve sıvı besin ortamı içeren tüp ve erlenler, 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Buzdolabında saklanan mikroorganizma 15 günde bir yeni besin ortamlarına nakledilerek mikroorganizmanın aktifliğini korunması sağlanmıştır.

4.4.2. Pestisit çözeltisinin hazırlanması

Phosmet pestisitinin mikroorganizmalarla biyodegradasyonunda mevcut pestisitten 10 ppm konsantrasyonunda stok çözelti hazırlanmıştır. Besi ortamına bu stok çözeltiden istenilen konsantrasyonu oluşturacak şekilde pipet yardımıyla pestisit çözeltisi ilave edilmiştir.

4.4.3. Kesikli Düzendeki Çalışan Karıştırma Kaptaki Üreme Çalışmaları

Kesikli düzendeki üreme çalışmaları 150 mL hacmindeki 250 mL'lik erlenlerin kullanıldığı sabit sıcaklık ve karıştırma hızında çalışabilen orbital inkübatörde gerçekleştirilmiştir.

Kesikli düzendeki üreme çalışmalarında; 60 mL besiyeri, 15 mL mikroorganizma konsantrasyonu ve belli konsantrasyonlarda pestisit çözeltisi esas alınarak, çalışma hacmi 150 mL' ye tamamlanmıştır. Mikroorganizma konsantrasyonu hariç, hazırlanan deney düzeneğinin pH' sı ayrı ayrı ayarlanarak, başlangıç pestisit konsantrasyonu tayini için örnek alınıp, buzdolabında saklanmıştır. pH' sı ayarlanan üreme ortamı otoklavda 1 atm basınç ve 121 °C' sıcaklıkta 45 dak. süre ile steriliz edilmiştir. Steriliz edilerek üretime hazırlanan pestisit içeren besiyerine 15 mL aşısı *P. fluorescens* eklenerek, sabit sıcaklık ve karıştırma hızında orbital inkübatörde 24 saat süre ile bekletilmiştir. Üreme tamamlandıktan sonra mikroorganizmalar, 4000-5000 rpm' de 15 dakika santrifüjlenerek sıvı ortamdan ayrılmıştır. Yaş haldeki *P. fluorescens* konsantrasyonu g/L cinsinden spektrofotometrik olarak, absorbansa karşı yaş mikroorganizma derişimi çalışma doğrusu yardımıyla tayin edilmiştir. Daha sonra da yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusundan yararlanarak g/L cinsinden kuru mikroorganizma konsantrasyonuna geçilmiştir (EK-1). Sıvı kısım ise, pestisit tayini için hemen di kloro metan ile ekstrakte edilerek analize kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

4.5. Mikroorganizmanın Tutuklanması

Çalışmaların bir bölümünde mikroorganizma, iyon değişirme ile jelleşme temeline göre oluşturulan kalsiyum aljinat jele tutuklanarak kullanılmıştır (Kierstan M. ve diğ.,

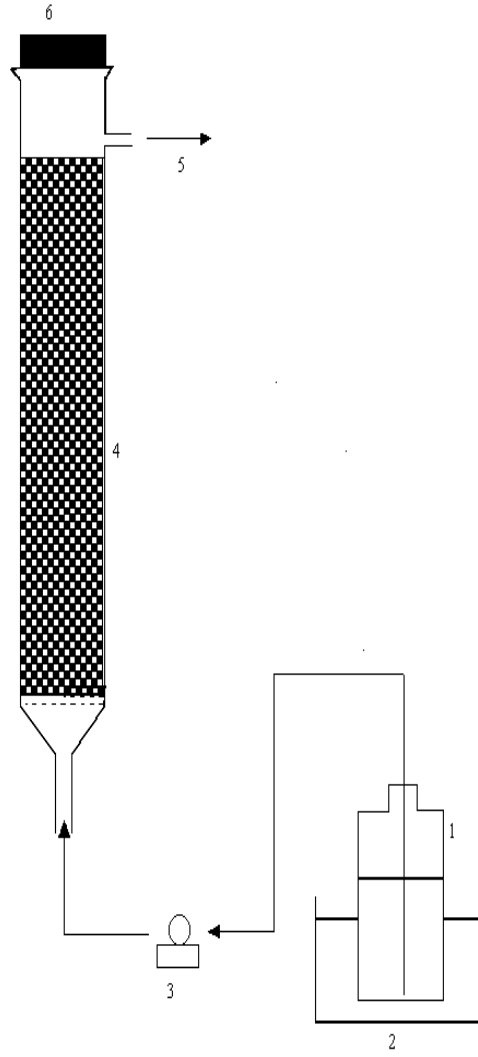
1977; Cheetham ve diğ., 1979; Bucke 1987; Keweloh ve diğ., 1989; Bülbul, 1995; Dursun ve Aksu, 2000). Tutuklama işleminde önce bir aljinik asit tuzu olan sodyum aljinattan, % 2 'lik sodyum aljinat çözeltisi hazırlanır. Daha sonra zengin sıvı besi ortamında üstel üreme bölgesine kadar üretilen mikroorganizmalar, 5000 devir/dak. hızda santrifüjlenmiş ve 1 g yaş hücre/3 mL sodyum aljinat çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım düzgün küresel tanecikler oluşturabilmek için bir şırınga yardımıyla % 20'lik kalsiyum klorür çözeltisi içine damlatılır. Sodyum aljinat-mikroorganizma karışımı CaCl_2 çözeltisine damlatıldığında kalsiyum iyonları, sodyum iyonları ile yer değiştirir ve kalsiyum aljinat jeli çöker. Mikroorganizma hücreleri de kalsiyum aljinat jeli içine hapis olur. Tutuklanmış hücreleri içeren kalsiyum aljinat taneciklerinin jel oluşumunu tamamlayabilmeleri için en az 2 saat CaCl_2 çözeltisi içinde laboratuvar ortamında bekletilir daha sonra buzdolabına bırakılarak uzun süre saklanabilir.

Tablo 4.3 Tutuklanmış mikroorganizmalarla yapılan biyodegradasyon deneylerinde kullanılan besi ortamı

Bileşen	Konsantrasyon (g/L)
Maya özütü	0.010
Pepton	0.040
KH_2PO_4	0.007
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.015
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.050

4.6. Dolgulu Kolon Deney Düzenegi

Dolgulu kolon reaktör deneylerinde iç çapı 2. 2. cm, dolgu yüksekliği 27. 5 cm olan pyrex camdan yapılmış bir dolgulu kolon reaktör kullanılmıştır. Kolon ortalama çapı 2 mm olan tutuklanmış mikroorganizmalarla doldurularak dolgulu yatak elde edilmiştir. Kolon reaktör sisteminin şekli Şekil 4. 2.'de fotoğrafı ise Şekil 4. 3.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Dolgulu Kolon Reaktör Şematik Şekli

- 1.Besleme çözeltisi tankı
- 2.Sabit sıcaklıktaki su banyosu
- 3.Besleme pompası
- 4.Dolgulu kolon reaktör
- 5.Reaktör çıkışı
- 6.Tıpa



Şekil 4.3. Dolgulu Kolon Reaktör Sisteminin Fotoğrafi

5.SONUÇLAR

5.1.Genel

Bu çalışmada; pestisitlerin *P. fluorescens*'ın üreme hızı üzerine etkisi kesikli karıştırmalı reaktör ve dolgulu kolonda incelenmiştir. Substrat olarak seçilen glukoz, pestisite ek karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Deneylerde serbest *P. fluorescens* ile kesikli sistemde başlangıç pH'ı, sıcaklık, başlangıç substrat konsantrasyonu ve başlangıç pestisit konsantrasyonu gibi parametreler dolgulu kolonda ise besleme akış hızının ve phosmet derişiminin substrat tüketim ve mikroorganizma üretim hız ve verimliliklerine etkileri araştırılmış ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

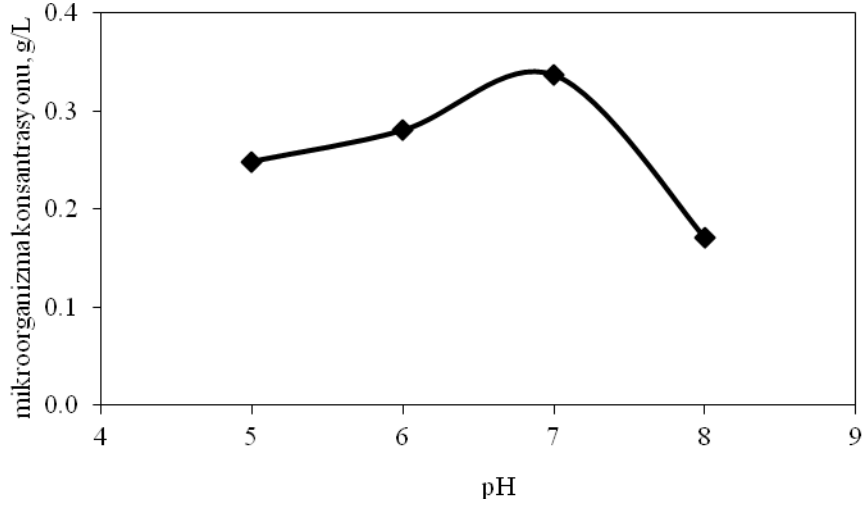
5.2. Kesikli Düzendeki Çalışan Karıştırmalı Kaptaki *P. fluorescens*'in Üremesi Üzerine Pestisitlerin Etkisi

5.2.1. Phosmet İnsektisitinin Biyodegradasyonu

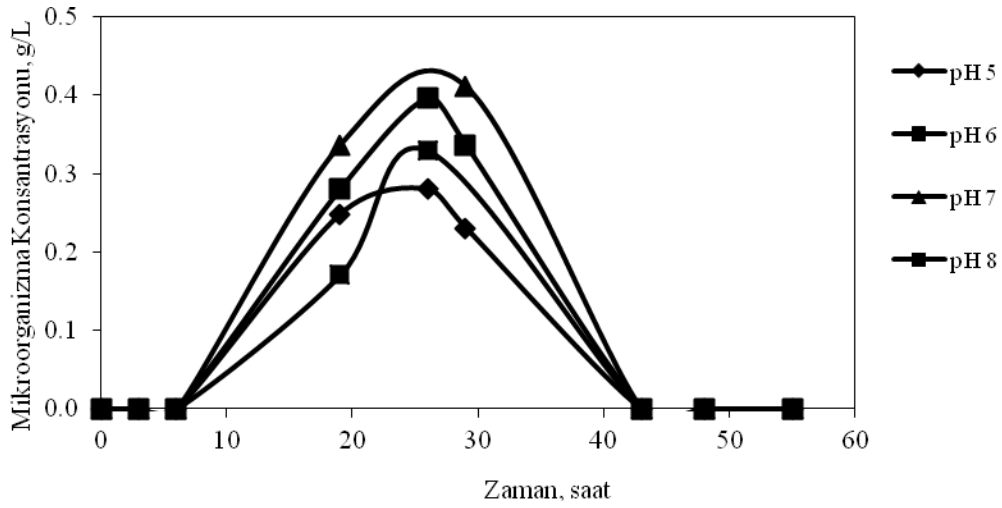
5.2.1.1. Başlangıç pH' ının Etkisi

Phosmet içeren üreme ortamında *P. fluorescens*'in özgül üreme hızı ve pestisit tüketim hızına etkisi için başlangıç pH' ısı önemli bir parametredir. Hidrojen iyon konsantrasyonu mikroorganizmaların aktivitelerini ve büyümelerini önemli ölçüde etkiler. Her mikroorganizmanın maksimum aktivite gösterdiği optimum bir pH aralığı vardır. Organizmaların aktivitelerini maksimize edebilmek için ortamın pH' ının optimum değerinde kontrol edilmesi gerekmektedir. Karıştırma hızı, sıcaklık ve phosmet konsantrasyonu sabit tutularak, farklı başlangıç pH değerlerinde (pH= 5-8) mikroorganizma konsantrasyonunun değişimi Şekil 5. 1' de, zamana göre değişimi Şekil 5. 2'de görülmektedir. Şekil 5. 1' den de görüldüğü gibi 5 mg/L başlangıç phosmet konsantrasyonu bulunan ortamda, pH= 7 değerinden daha düşük ve yüksek pH değerlerinde üremede azalma gözlenmiştir. Başlangıç pH' ı 7 olduğunda maksimum özgül üreme hızı 0.0135 sa⁻¹ olarak elde edilmiştir (Şekil 5.3). Daha düşük ve daha yüksek başlangıç pH değerlerinde, daha düşük mikroorganizma özgül üreme hızı gözlenmiştir. Başlangıç pH' ının mikroorganizmanın üremesi sırasında oluşan enzimatik tepkimeler için oldukça önemli bir faktör olduğu

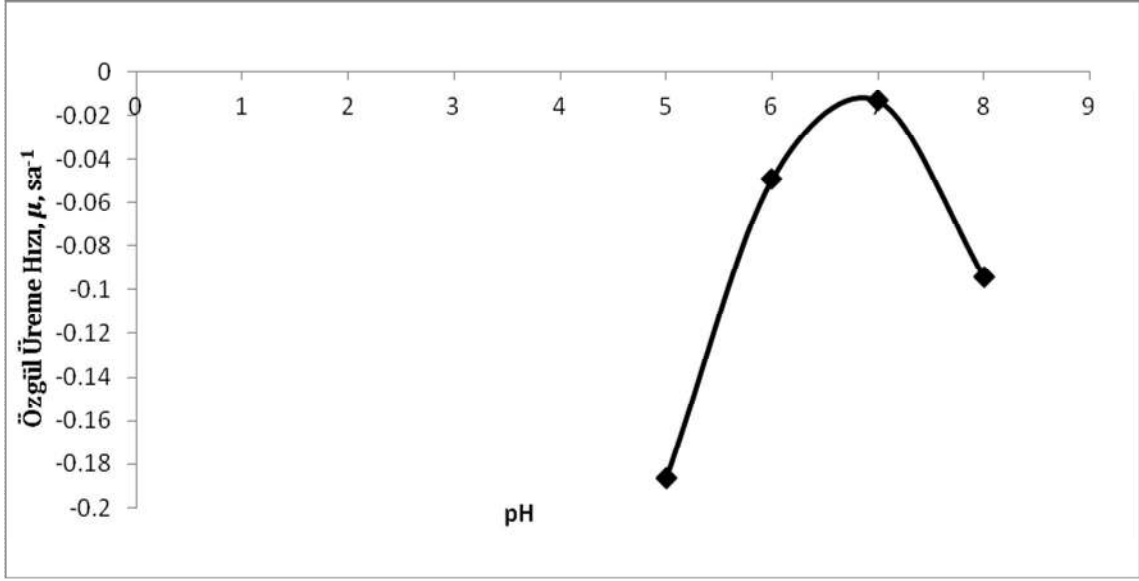
belirlenmiş ve pH=7 değerinin optimum pH değeri olarak daha sonraki deneylerde kullanımına karar verilmiştir.



Şekil 5.1. 5 mg/L Başlangıç Phosmet Konsantrasyonunda Üreyen *P. fluorescens* Konsantrasyonunun pH ile Değişimi (T=40 °C; X₀= 15 mL; C₀=5 g/L; V_R=150 mL; KH=150 rpm)



Şekil 5.2. Farklı Başlangıç pH'larında *P. fluorescens* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (T=40 °C; X₀= 15 mL; C_{FO}=5 mg/l Phosmet; C₀=5 g/L; V_R=150 mL; KH=150 rpm)

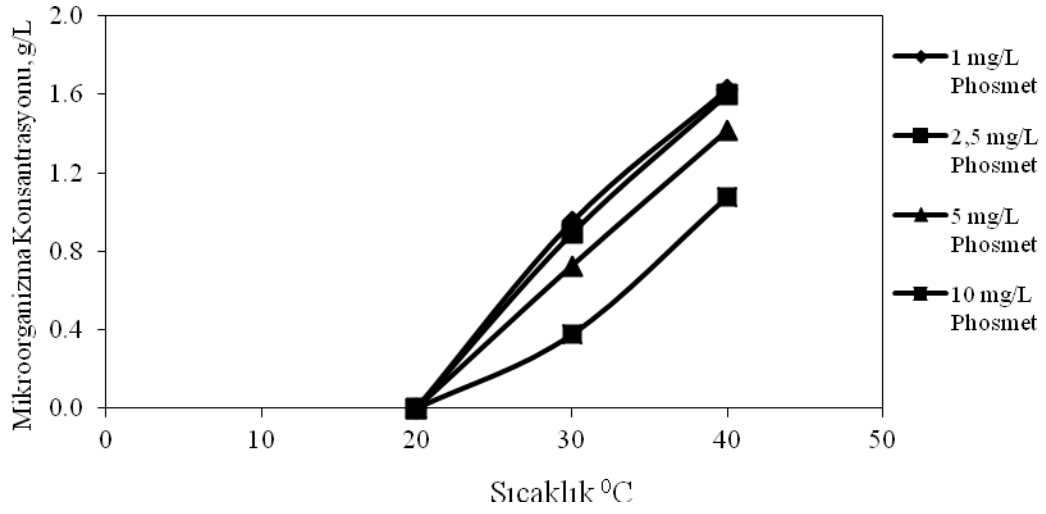


Şekil 5.3. pH Değişiminin Özgöl Üreme Hızına Etkisi ($T=40\text{ }^{\circ}\text{C}$; $X_0=15\text{ mL}$; Phosmet; $C_0=5\text{ g/L}$; $V_R=150\text{ mL}$; $KH=150\text{ rpm}$)

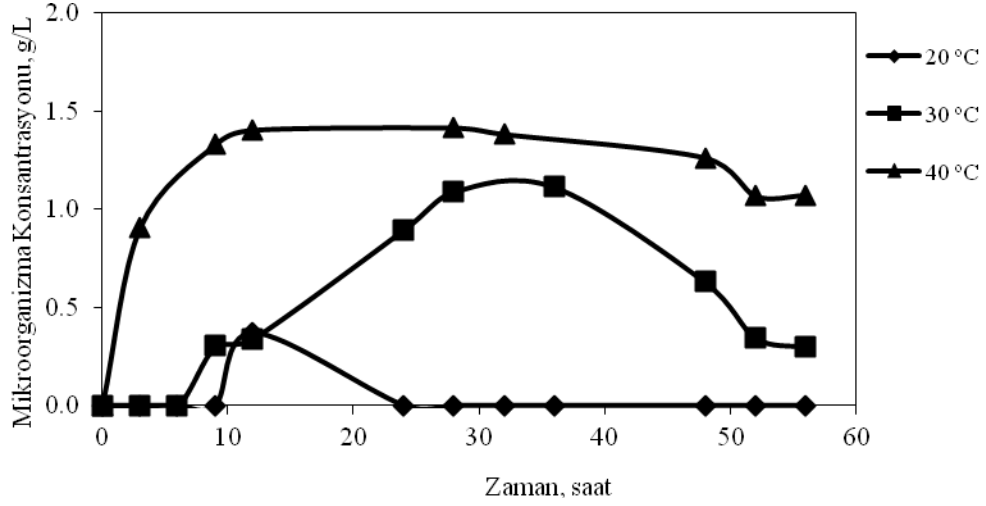
5.2.1.2. Sıcaklığın Etkisi

Mikroorganizmanın üreme hızını etkileyen önemli parametrelerden biri de sıcaklıktır. Phosmet pestisitini içeren üreme ortamlarında *P. fluorescens*'in üremesi üzerine sıcaklığın etkisi $20\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$ aralığında araştırılmıştır. Mikroorganizma konsantrasyonunun sıcaklığa bağlı olarak değişimi Şekil 5. 4'de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi sıcaklığın *P. fluorescens*' in üremesi üzerindeki etkisi önemlidir. *P. fluorescens*, pestisit içeren ortamlarda optimum $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, pestisit içermeyen ortamlarda ise $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de üremektedir. Pestisitli ortamda optimum sıcaklık olan $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin altında mikroorganizma üremesinin az olduğu gözlenmiştir. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta maksimum özgül üreme hızı 0.0509 sa^{-1} olarak elde edilmiştir (Şekil 5.6). Sıcaklık, özellikle mikroorganizmaların enzim sistemleri üzerinde etkilidir. Düşük sıcaklıklar, *P. fluorescens*'in üremesi üzerine inhibisyon etkisi yaparken, yüksek sıcaklıklar ise, mikroorganizmanın enzim sistemini bozmaktadır.

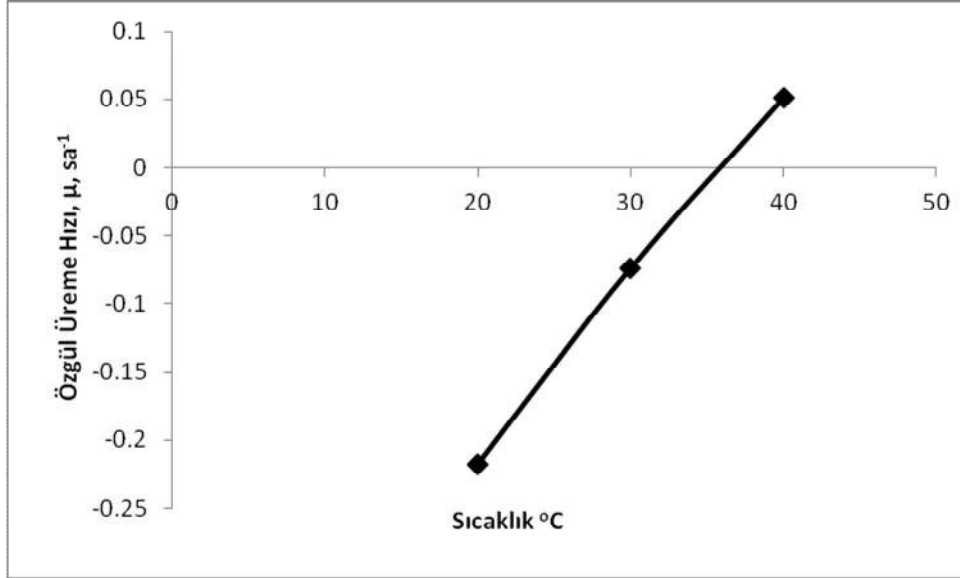
P. fluorescens'in farklı konsantrasyonlar da pestisit içeren üreme ortamlarında, farklı sıcaklıklarda yaklaşık olarak ilk 36 saatte logaritmik fazda ürettiği daha sonra ise mikroorganizma konsantrasyonunun sabit kaldığı Şekil 5. 5'de görülmektedir.



Şekil 5.4. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen Mikroorganizma Konsantrasyonunun Sıcaklıkla Değişimi (pH=7; X_0 = 15 mL; C_0 =3 g/L; V_R = 150 mL; KH=150 rpm)



Şekil 5.5. Farklı Sıcaklıklarda *P. fluorescens* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH=7; C_{F0} =5 mg/L Phosmet; X_0 = 15 mL; C_0 =5 g/L; V_R = 150 mL; KH= 150 rpm)

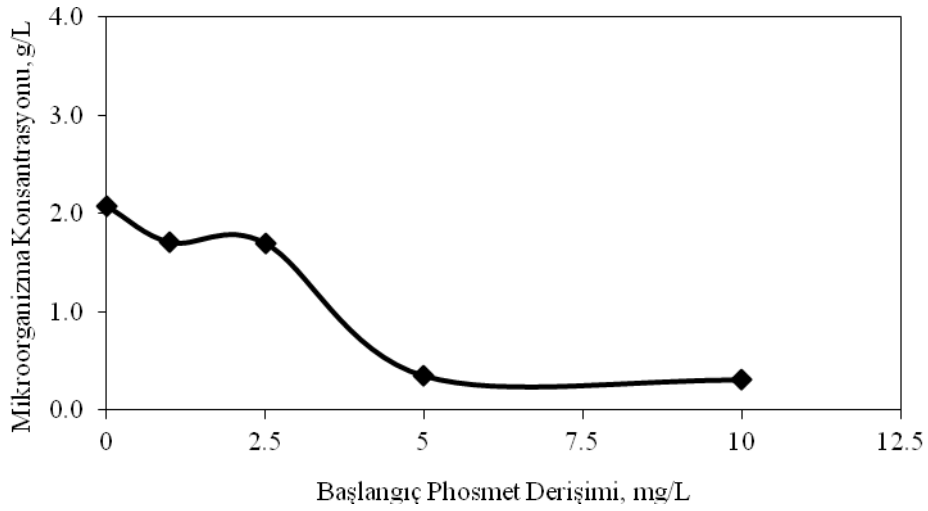


Şekil 5.6. Sıcaklık Değişiminin Özgöl Üreme Hızına Etkisi (pH=7; C_{F0} =5 mg/L Phosmet; X_0 = 15 mL; C_0 =5 g/L; V_R = 150 mL; KH= 150 rpm)

5.2.1.3. Başlangıç Phosmet Konsantrasyonunun Etkisi

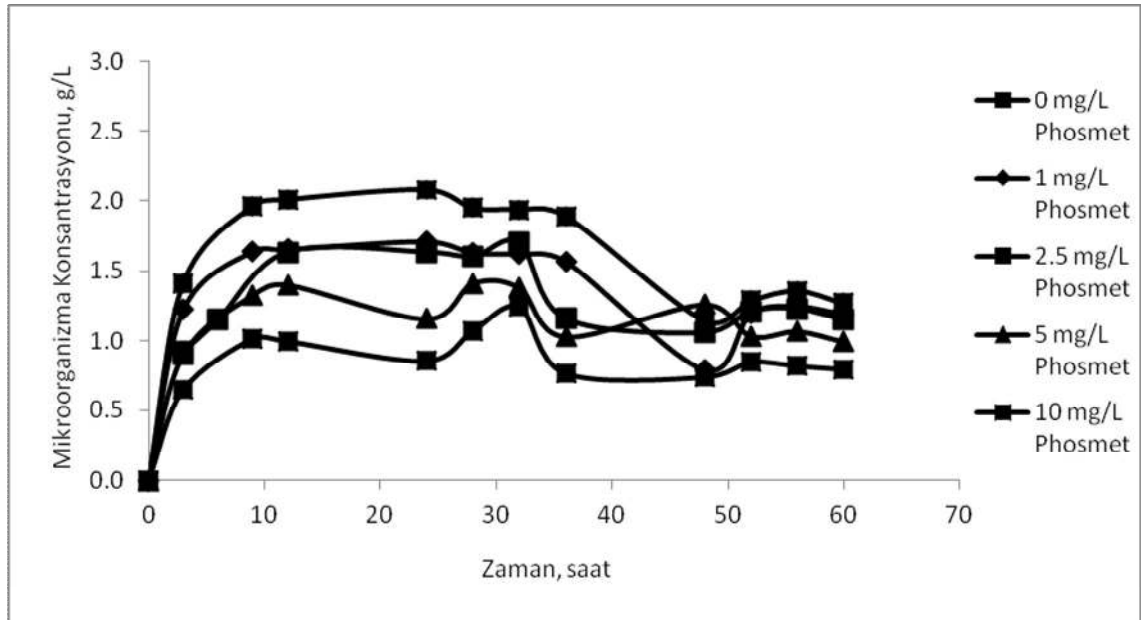
Biyodegradasyon deneylerinde başlangıç phosmet konsantrasyonu, *P. fluorescens*'in üremesini ve substrat tüketim hızını etkileyen önemli bir parametredir. Sabit sıcaklık ve karıştırma hızında, başlangıç phosmet konsantrasyonunun mikroorganizmanın üremesi üzerine etkisi 1-10 mg/L konsantrasyon aralığında araştırılmıştır.

Farklı başlangıç phosmet konsantrasyonlarında, üreme ortamında bulunan phosmet konsantrasyonunun artmasıyla birlikte üreyen *P. fluorescens* miktarının azaldığı saptanmıştır (Çünkü phosmet konsantrasyonu arttığı zaman mikroorganizmayı inhibe etmektedir ve üreme durmaktadır). 1 mg/L başlangıç phosmet konsantrasyonunda maksimum özgül üreme hızı 0.0357 sa^{-1} olarak elde edilmiştir (Şekil 5.9). Düşük başlangıç phosmet konsantrasyonlarından başlayarak phosmet miktarının 10 mg/L değerine kadar üremenin azalarak devam ettiği Şekil 5.7 'de görülmektedir.

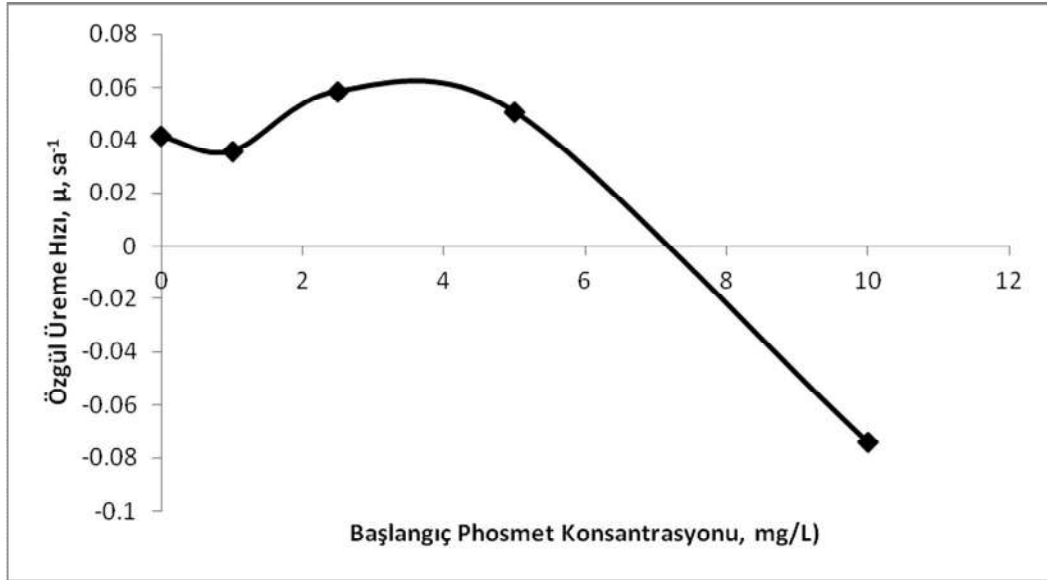


Şekil 5.7. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarında *P. fluorescens* Konsantrasyonu (pH=7; T = 40 °C; X₀= 15 mL; Co= 5 g/L; V_R= 150 mL; KH= 150 rpm)

P. fluorescens'in düşük konsantrasyonlar da pestisit içeren üreme ortamlarında ilk 12 saatte adaptasyon fazda, 36 saatte ise logaritmik fazda ürediği; yüksek konsantrasyonlarda ise üreme gözlenmediği Şekil 5. 8'de görülmektedir. Üremenin pestisit konsantrasyonu artıkça azalması pestisit *P. fluorescens*'in üremesi üzerine inhibisyon etki yapmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 5.8. Farklı Başlangıç Phosmet Konsantrasyonlarında *P. fluorescens* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH =7; T = 40 °C; X₀= 15 mL; Co= 5 g/L; V_R= 150 mL; KH= 150 rpm)



Şekil 5.9. Phosmet pestisitinin Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarının Özgül Üreme Hızına Etkisi (pH =7; T = 40 °C; X₀= 15 mL; C₀= 5 g/L; V_R= 150 mL; KH= 150 rpm)

Farklı phosmet konsantrasyonlarında elde edilen maksimum mikroorganizma konsantrasyonu ve % pestisit tüketim değerleri Tablo 5.1. de birlikte verilmiştir.

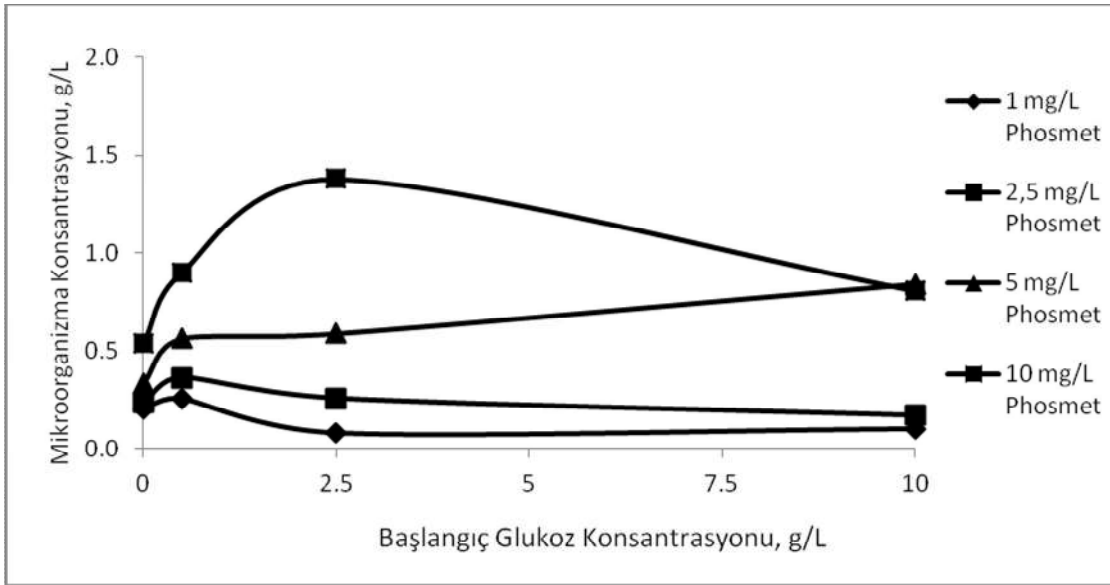
Tablo 5.1. Farklı Phosmet Konsantrasyonlarında Elde Edilen Maksimum Mikroorganizma Konsantrasyonları ve % Pestisit Tüketim Değerleri

C _{F0} (mg/l)	C _F (mg/l)	X _{max} (g.k.mo/L)	% Pestisit Tüketimi
1	0.72	1.709	27
2.5	1.20	1.699	52
5	3.75	1.413	25
10	8.55	1.243	14.5

5.2.1.4. Başlangıç Glukoz Konsantrasyonunun Etkisi

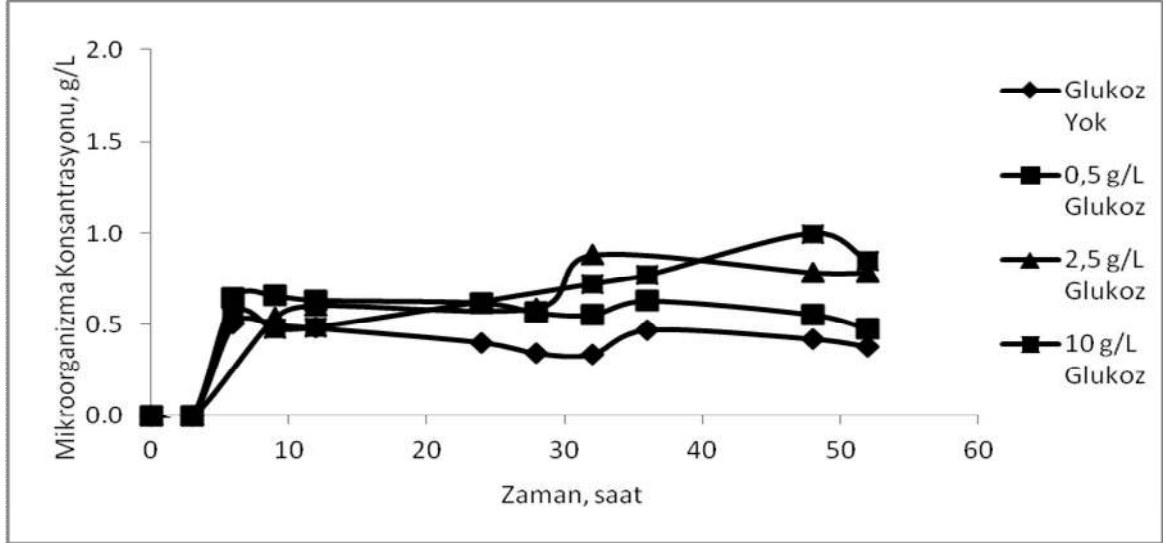
Besi maddesi miktarı mikroorganizmaların büyümelerini en az pH, sıcaklık ve başlangıç pestisit miktarı kadar etkilemektedir. Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonunun belli değerler arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır. Bu tip inhibisyon genellikle rekabetsiz inhibisyonudur. Farklı ortamda; glukoz konsantrasyonu arttıkça *P. fluorescens*'in konsantrasyonu da artmaktadır. 0.5 mg/L' ye kadar glukoz konsantrasyonun

da mikroorganizma konsantrasyonu artmakta, 0.5 mg/L' den daha büyük glukoz konsantrasyonlarında ise, mikroorganizma konsantrasyonu azalmaktadır. 0.5 mg/L Glukoz konsantrasyonunda maksimum özgül üreme hızı 0.0060 sa⁻¹ olarak elde edilmiştir. Glukoz miktarının aynı olmadığı koşullarda ise; pestisitli ortama alıştırılarak üretilen ve 52 saatte üreme tamamlandıktan sonraki *P. fluorescens* konsantrasyonu, pestisit konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azalmaktadır (Şekil 5. 10).



Şekil 5.10. Farklı Başlangıç Phosmet Pestisiti Bulunan Ortamda Üreyen *P. fluorescens* Konsantrasyonunun Farklı Glukoz Konsantrasyonları İle Değişimi (pH=7; T = 40 °C; X_o= 15 mL; V_R=150 mL; KH= 150 rpm)

Farklı başlangıç glukoz konsantrasyonlarında, mikroorganizma konsantrasyonunun ilk 7 saatte lineer değiştiği daha sonraki zamanlarda ise, yaklaşık sabitleştiği gözlenmiştir (Şekil 5.11).



Şekil 5.11. Farklı Başlangıç Glukoz Konsantrasyonlarında *P. fluorescens* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH=7; T=40 °C; C_{F0}=5mg/L Phosmet; V_R=150mL; KH=150rpm)



Şekil 5.12. *P. fluorescens*'in Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glukoz Konsantrasyonu ile Değişimi (pH=7; T=40 °C; C_{F0}=5mg/L Phosmet; V_R=150mL; KH=150rpm)

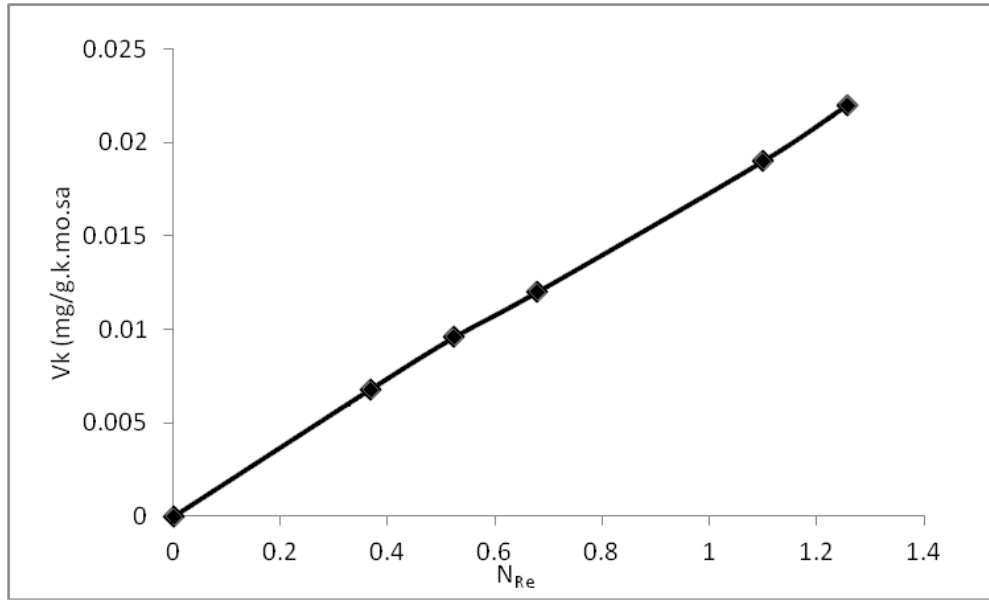
5.3. Dolgulu Kolon Çalışmaları

Kesikli sistemde işletme değişkenleri saptandıktan sonra kolon çalışmalarına geçilmiş, besleme akış hızının ve phosmet derişiminin, phosmet tüketim hızına ve verimliliğine etkileri araştırılmıştır.

5.3.1. Besleme Akış Hızının Etkisi

Besleme akış hızının phosmet tüketimine etkisi, kolon substrat tüketim hızı ve substrat tüketim verimi cinsinden incelenmiştir. Bu amaçla kalsiyum aljinatta tutuklanmış bakteri hücrelerini içeren ve 30 °C’de tutulan dolgulu kolona pH 7’de 1 mg/L phosmet içeren ve Tablo 4.3. de verilen besleme çözeltisi 1.17-4.00 ml/dak. arasında değişen akış hızlarında beslenmiştir.

Mikroorganizmalar gözenekli bir matrikste tutuklandığında, substrat ilk olarak tutuklanmış tanecik etrafındaki film tabakasından difüzlenerak porların içine ulaşır. Burada reaksiyon verir ve ürünler sıvı besin ortamına difüzlendirir. Düşük akış hızlarında tanecik etrafındaki film tabakası direnci kırılmadığından düşük phosmet tüketim hızları gözlenmektedir. Akış hızı artırıldığında ise phosmet tüketim hızı bir plato değerinde kalmaktadır. Substrat dönüşüm yüzdesi açısından veriler değerlendirildiğinde ise akış hızının artması ile dönüşüm yüzdesinin sürekli olarak azalması söz konusudur (Tablo 5.2). En yüksek substrat tüketim yüzdesi en düşük akış hızı olan 1.17 mL/dak’da elde edilmiştir. Düşük alıkonma sürelerinde çalışıldığı takdirde, sistemde geri döngü yapılarak % dönüşüm artırılabilir. Tek geçişte amaç yüksek dönüşüm verimi elde etmek olduğundan aynı zamanda film direncini düşük, substrat dönüşüm hızını da yüksek seviyede tutabilmek için 1.67 mL/dak besleme akış hızı, daha sonraki çalışmalarda kullanılabilecek uygun bir değer olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.13. Dolgulu Kolonda Phosmet Tüketim Hızının Kolon Reynolds Sayısı İle Değişimi (pH=7, T=30°C, C_{F0} =1 mg/L, w= 10.15 g, ϵ =0.33, dp=2 mm)

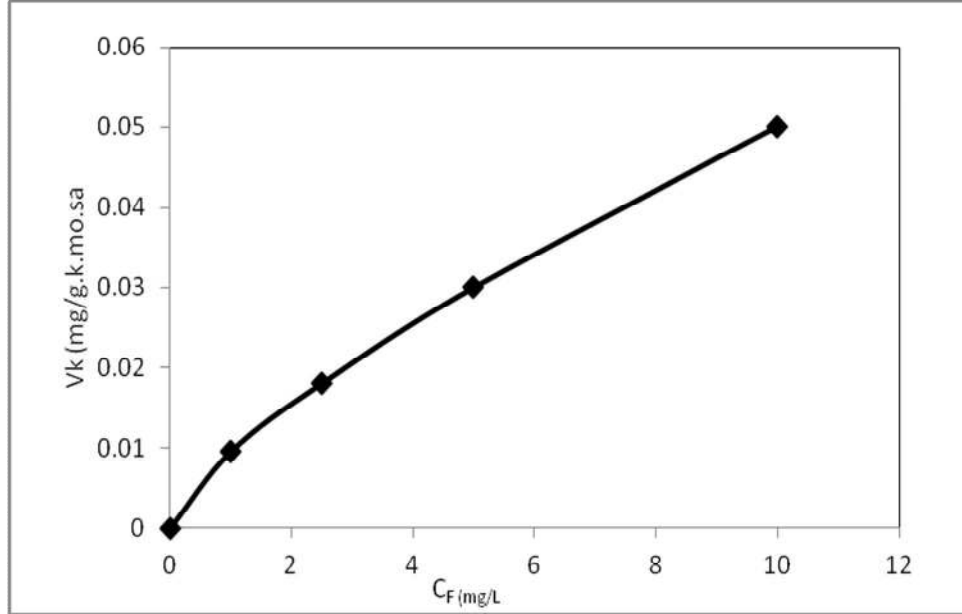
Tablo 5.2. Farklı Akış Hızlarında Elde Edilen Alıkonma Süreleri ve % Phosmet Tüketim Değerleri (pH= 7, T=30 °C, C_{F0} = 1 mg/L,w=10.15g, ϵ = 0.33)

Q (mL/dak)	τ (sa)	% Tüketim	N_{Re}
1.17	0.56	99	0.367
1.67	0.39	97.5	0.524
2.16	0.30	96.7	0.678
3.5	0.19	95.6	1.099
4.0	0.16	94.9	1.256

5.3.2. Besleme Phosmet Derişiminin Etkisi

Çalışmaların bu kısmında başlangıç phosmet derişiminin kolon phosmet tüketim hızına ve % dönüşümüne etkisi, 30 °C sabit sıcaklık, başlangıç pH'ı 7 ve 1.67 mL/dak besleme akış hızında incelenmiş, sonuçlar Şekil 5.14'de sunulmuştur. Tablo 5.3'de ise farklı phosmet derişimlerinde elde edilen kolon phosmet yüzde tüketim değerleri verilmiştir. Şekil 5.14 ve Tablo 5.3'den phosmet derişimi arttıkça kolon phosmet tüketim hız

değerlerindeki arttığı, tüketim yüzdesinin ise % 97.5'den % 55.4'e kadar azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 5.14 Phosmet derişiminin kolon phosmet tüketim hızına etkisi (pH=7, T=30°C, $C_{F0}=1$ mg/L, w=10.15 g, $\epsilon=0.33$, dp=2 mm, $\tau=0.30$ sa)

Tablo 5.3. Farklı Phosmet Derişimlerinde Elde Edilen Kolon % Phosmet Tüketim Değerleri (pH=7, T=30°C, w=10.15 g, $\epsilon=0.33$ $\tau=0.30$ sa)

C_{F0} (mg/L)	% Tüketim
1	% 97.5
2.5	% 76.4
5	% 63.2
10	% 55.4

5.3.3. Dolgulu Kolon Reaktörde Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması

Dolgulu kolon için 1. derece biyodegradasyon kabulü ile süreklilik denkleğinin çözümünden elde edilen Eş. 3.15 kullanılarak çeşitli akış hızları için görünür tepkime hız sabitleri hesaplanmıştır (Ek 5). Tablo 5.4.'de çeşitli akış hızları için bulunan görünür tepkime hız sabiti değeri sunulmuştur. Sıvı akımındaki türbülansın artması, sıvı film difüzyon direncinin sebep olduğu kütle aktarım kısıtlamalarını düşürür, dolayısı ile tepkime hızı artar.

Tablo 5.4. Çeşitli Akış Hızlarında Elde Edilen Görünür Tepkime Hız Sabiti Değeri (pH=7, T=40 °, C_{F0}= 1 mg/L, w=10.15 g, ε=0.33)

Q (ml/dak.)	C/Co	k _p (cm ³ /g k. mo. sa)
1.17	100	31.85
1.67	40	36.4
2.16	30.30	43.5
3.5	22.72	64.6
4.0	19.6	70.35

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında pestisitlerin giderimi, *P. fluorescens* bakterisi ile kesikli karıştırmalı ve dolgulu kolon reaktörde incelenmiştir. Elde edilen veriler kesikli karıştırmalı kapta mikroorganizma sıcaklık, pH, glukoz konsantrasyonu, substrat (pestisit) tüketim hızları ve substrat tüketim yüzdeleri açısından değerlendirilmiştir. Dolgulu kolon reaktörde ise besleme akış hızının etkisi ve phosmet derişiminin etkisi açısından değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen genel sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Biyodegradasyon ortam bileşiminin pestisitlerin tüketimini büyük ölçüde etkilediği anlaşılmış ve ortamda başka bir karbon kaynağı bulunduğunda bakterinin pestisiti tüketmek yerine kullanımı daha kolay olan diğer karbon kaynağını tercih ettiği anlaşılmıştır. Mikroorganizmalar ortamda bulunan pestisitleri karbon kaynağı olarak tüketmekte ve böylece çok önemli bir çevre kirleticisi olan pestisitleri ortamdan uzaklaştırmaktadırlar.

Kesikli sistemde, mikroorganizmanın üremesi ve substrat tüketim hızına pH, sıcaklık ve başlangıç pestisit konsantrasyonu gibi sistem parametrelerinin etkileri araştırılmış, optimum pH' ı; phosmet için 7, sıcaklık 40 °C ve başlangıç pestisit konsantrasyonu 5 mg/L olarak belirlenmiştir.

5 mg/L pestisit konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonlarda aşırı toksik bileşen inhibisyonunun etkili olduğu gözlenmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda ise 5 mg/L pestisit konsantrasyonu için kesikli sistemde substrat inhibisyonunun gözlendiği durumda mikroorganizmanın büyüme hızı substrat derişimine bağlı olarak Haldane Eşitliği ile ifade edilmiştir. Bu şartlarda; phosmet pestisitinin *P. fluorescens* bakterisi ile biyodegradasyonunda elde edilen substrat doygunluk derişimi 2.542 mg/L olarak bulunmuştur. Kesikli sistemde phosmet giderimi % 52 olarak belirlenmiştir.

Daha sonraki çalışmalarda dp=2mm çaplı tutuklanmış *P. fluorescences* tanecikleri ile dolgulu kolon reaktörde, öncelikle 1 mg/L phosmet derişiminde besleme akış hızının phosmet tüketim hızına etkisi incelenmiştir. Akış hızı arttıkça film difüzyon direncinin azaldığı ve phosmet tüketim hızının arttığı gözlenmiştir. En yüksek phosmet % tüketim değeri (% 99) en düşük akış hızında (1.17 mL/dak) elde edilmiştir. Amaç yüksek dönüşüm yüzdesi elde etmek olduğu kadar, yüksek phosmet tüketim hızıda sağlamak olduğundan 1.67 mL/dak akış hızı daha sonraki denemelerde kullanılabilecek akış hızı olarak

belirlenmiştir. Bu akış hızında elde edilen phosmet tüketim hızı; 0.0096 mg/ g k.mo.sa, tüketim yüzdesi ise % 97.5 'dur. Dolgulu kolon reaktörde phosmet giderimi % 99 olarak belirlenmiştir.

Yapılan öneriler aşağıda sıralanmıştır.

Üreme çalışmalarında kullanılan *P. fluorescens*'in çok iyi sterillenmesi gerekmektedir. Canlı sistemlerle çalışmada en önemli sorun sterilizasyondur. Mikroorganizmanın pestisitli ve pestisitsiz ortamda üretilmesi sırasında kullanılan tüm ekipman, malzeme, besiyeri ve çözeltilerin steril olması gerekmektedir. Ayrıca üretim sırasında mikroorganizmanın başka mikroorganizmalarla kontamine olma riskini de göz önüne alarak sterilliğin devamlılığını sağlamak şarttır. Bu durumda inaktif hale getirilmiş mikroorganizmalarla çalışmak bir avantajdır. Daha ileri çalışmalarda çeşitli yöntemlerle inaktif hale getirilmiş mikroorganizmalar kullanılabilir.

Kesikli düzende canlı sistemlerde pestisitlerin biyodegradasyonunda; karışık kültürlerle çalışılarak, pestisitlerin üreme hızı üzerindeki artırıcı ve azaltıcı etkileri incelenebilir. Laboratuar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışma endüstriyel bir atık su arıtım prosesine dönüştürülebilir. Kesikli düzende çalışan karıştırmalı kapta yapılan bu çalışma yarı kesikli düzende çalışan tepkime kaplarında incelenebilir. Daha ileriki çalışmalarda mikroorganizma sayısı artırılarak aynı üreme ortamında bulunan birden fazla mikroorganizmanın üremesi üzerine pestisitlerin etkisi araştırılabilir. Sürekli sistemde mikroorganizmalarla kademeli arıtma denenebilir.

Mikroorganizmaların bulundukları ortamdan pestisitleri seçici olarak bünyelerinde biriktirebilme özelliklerinden yararlanılarak, atık su arıtımında kullanılması, klasik yöntemlere göre pratik ve ekonomik bir prosestir.

Serbest mikroorganizma ile kesikli sistemde çalışıldığında sistem pH, substrat derişimi ve sıcaklık gibi parametrelerden oldukça fazla etkilenmektedir. Eğer arıtılacak atık su miktarı az ve phosmet derişimi düşük ise kesikli sistem önerilebilir.

Tutuklanmış mikroorganizma sistemlerinin kullanımı ile yoğun hücre derişimi sağlanır ve mikroorganizmalar uzun süre biyolojik aktivitelerini kaybetmeden kullanılabilirler. Ayrıca pH, sıcaklık, substrat derişimi gibi ortam özelliklerinden daha az etkilendiklerinden daha geniş pH, sıcaklık, substrat derişim aralıklarında kullanılabilirler.

Dolgulu kolon reaktörde ise mikroorganizma miktarı ve akış hızı ayarlanarak istenilen phosmet tüketim hızı ve dönüşüm değerlerinde çalışmak mümkündür. Tek geçişte yüksek dönüşüm istendiğinde düşük akış hızlarında çalışmak gerekir. Yüksek akış hızlarında

dönüşüm azalır. Geri döngü yapılarak verim artırılabilir. Sistem substrat inhibisyonundan daha az etkilendiğinden yüksek phosmet derişimlerinde çalışılabilir. Arıtılmış atık suyun mikroorganizmalardan kolayca ayrılabilmesi sistemin önemli bir üstünlüğüdür. Besleme çözeltisi sürekli akış halinde olduğundan diğer mikroorganizmalar uygun üreme ortamı bulamazlar. Dolayısıyla sistemde bulaşma gözlenmez. Arıtılacak atık su miktarı fazla, phosmet derişimi yüksek ise dolgulu kolon reaktör sistemi akış hızı ve mikroorganizma miktarı ayarlanarak başarı ile uygulanabilir.

KAYNAKLAR

- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Evren, H., Kurt, L., Düzenli, S.,** 2000, Çevre Kirliliği (Çevre Biyolojisi), Palme Yayıncılık; Ankara.
- Arda, M.,** 2000, Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayıncılık; Ankara.
- Bergey, D.H.,** 1974, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Edition; William and Wilkins, Baltimor; 219-223.
- Buitron, G., Koeffed, A., Capdeville, B.,** 1993, Control of Phenol Biodegradation by Using CO₂ Evollution Rate as an Activated Indicator, Enviromental Technology, 14, 227-236.
- Ceritli, İ.,** 1997, Türkiye'nin Toprak Sorunu, Ekoloji ve Çevre Dergisi; Yıl:6; Sayı:22.
- Delen, N., Özbek, T.,** 1993, "Pestisitlerin Çevre Kirliliğindeki Roller", I. Ulusal Çevre ve Ekoloji Kongresi, Atatürk Kültür Merkezi, İzmir.
- Güler, Ç., Uz, H. ve Sur, H.,** 1998, Pestistler; Standart Ekonomik ve Teknik Dergi; 440 (37); 54-59.
- Gündüz, T.,** Çevre Sorunları, A.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü; Ankara, 1998.
- Gürman, A.,** Pestisitler ve Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Çevre Kimya Mühendisliği Dergisi; 138. Sayı, 1993.
- Güvener, A.,** Pestisit Kalıntı Sorunları, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Zirai Müc. ve Kar. Gn. Müd. I. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu; DİE; Ankara, 27-29 Kasım, 1980.
- Haktanır, K.,** 1985 Çevre Kirliliği; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1985.
- Head, I.M., Cain, R.B.,** Encanhd Pesticide Degradation in Soil-Microbiology Genetics; Pesticide Degradation, 1992.
- Head, I.M., Cain, R.B. and Suett, D.L.,** Molecular Aspects of Encanhd Microbial Degradation of Pesticides; Brighton Crop Protection Conference-Pests and Diseases, 1990.
- Hışıl, Y.** Gıdalardaki Pestistlerin Kalıntılarının Kontrolü, Tarım İlaçlarının Kullanılması Semineri, ODTÜ Gaziantep kampüsü; Yayın No:1, Ankara, 27-40, 26-27 Kasım, 1976.
- İleri, R.,** Çevre Biyoteknolojisi; Değişim Yayınları, Adapazarı, 2000.

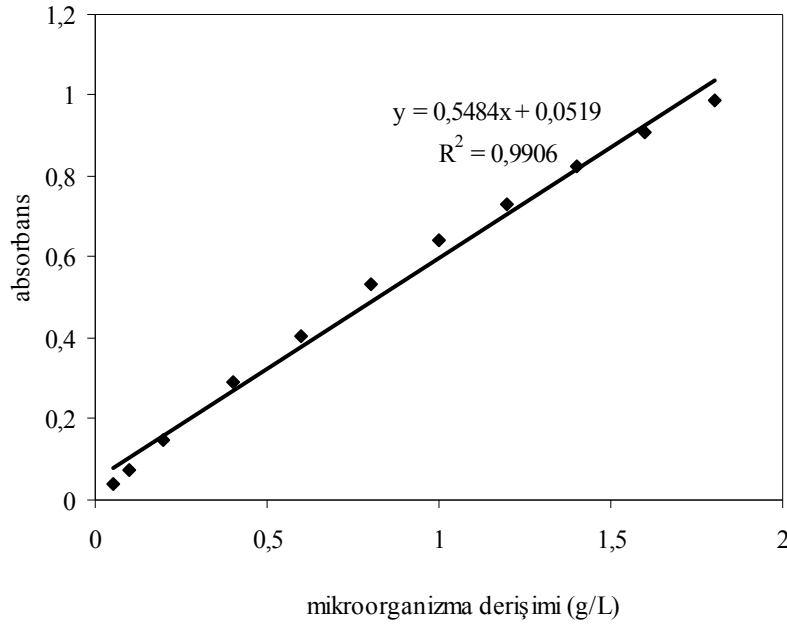
- Kargı, F.**, 1993. Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler, D.E.Ü Mühendislik Fakültesi Yayınları, No: 234, 57-83, İzmir, 1993.
- Karns, J.S., Mulbry, W.W., Nelson, J.O. and Kearney, P.C.**, 1986. Metabolism of carbofuran by a pure bacteria culture, Pesticide Biochemistry and Physiology; 1986.
- Karns, J.S., Muldoon, T.M., Mulbry, W.W.,1987.** Derbyshire, M.K. and Kearney, P.C., Use of Microorganisms and Microbial Systems in the Degradation of Pesticides, Biotechnology in Agricultural Chemistry, ASC Symposium Series, 1987.
- Kearney, P.C. ve Kellogg, S.T.**, Microbial Adaptation of Pesticides, Pure and Appl. Chem., 57, 2, 1985.
- Mulbry, W.W., Karns, J.S., Kearney, P.C., Nelson, J.O., MC Daniel, C.S. and Wild, J.R.**,1986,Identification of a plasmid-borne parathion hydrolase gene from Flavobacterium sp. Southern hybridization with opd from Pseudomonas diminuta ,Appl. And Environ. Microbiol..
- Özcelik, S.**,1985, Genel Mikrobiyoloji, S.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Özer, D.**, 2005, Enzim Teknolojisi Ders Notları.
- Qiao, L., Yan, H., Shang, X., Zhou, T., Zhang, Y.**, 2003, Biodegradation of Pesticides by Immobilized Recombinant Esharia Coli.
- Pekin, B.**, 1979, I.Kitap, I.Kısım ve II.Kısım, Biyokimya Mühendisliği (Temel İlkeler), E.Ü. Kimya Fak. Yayınları, No:3, İzmir.
- Pekin, B.**, 1983, Biyokimya Mühendisliği, Biyoteknoloji, 2.Kitap, E.Ü. Kimya Fak. Yayınları, No:4, İzmir.
- Ramanand, K., Shormila, M. and Sethunathan, N.**, 1988,Mineraization of Carbofuran by asoil bacterium, Appl. Environ. Microbial.
- Sayın, M.**,1988, Pestisitler ve Toprak, Çevre ve İnsan, Sayı: 3.
- Skipper, B., Boyd,M., Martin,B. And Royals, J.**, 2001,Enhanced Biodegradation of Nema-cur, Clemson.
- Söyler, G.S., Hooper, S.W., Layton, A.C. and King, J.M.H.**, 1990, Catabolic Plasmids of Enviromental and Ecological Significance, Microbial Ecology.
- Şanlı, Y.**, 1984, Çevre Sorunları ve Besin Kirlenmesi, S.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, Özel Sayı, 17-37.
- T.Ç.S.V. Yayını**,2003, “Türkiye’nin Çevre Sorunları”, Ankara.

- Tomasek, P.H. and Karns, J.S.,**1989, Cloning of a carbofuran hydrolase gene Achromobacter sp. Strain WM111 and its expression in gram-negative bacteria, J. Of Bacteriology.
- Toros, S.,** 1976, “Bitki Koruma İlaçlarının Çevreye Bulaşmasının Nedenleri ve Bazı Öneriler”, Tarım İlaçlarının Kullanılması Semineri, O.D.T.Ü Gaziantep Kampusü, Yayın No:1, Gaziantep.
- Tutarlı, A.,** 1991, Elazığ’da Kullanılan Pestisitlerin Topraktaki Kalıntılarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Uslu, O., Türkmen, A.,** 1987, “Pestisitler”, Su Kirliliği ve Kontrolü, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi:1, İzmir.
- Uygun, N.,**1976, “Tarım Savaş İlaçlarının Olumsuz Etkileri”, Tarım İlaçlarının Kullanımı Semineri, O.D.T.Ü Gaziantep Kampusü, Yayın No:1 Gaziantep.
- Ünal, G., Gürkan, M.O.,** 2001, “İnsektisitler, Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri”, Ankara.
- Ünlü, K., Özenirler, G. Ve Sözüdoğru, S.,** 1997, Türkiye’de Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Kirlilik Potansiyellerine Göre Sınıflanması, Tr. J. Of Engineering and Enviromental Sciences, 21, 189-202.
- William, M.D., Coates, J.A., Garcia, K.L., Signorella, L.L. and Delfino, J.J.,** 1993, Efficient screening method for determining base/neutral and acidic semi-volatile organic priority pollutants in sediments Journal of Chromatography A, 643, 341-350.

EKLER

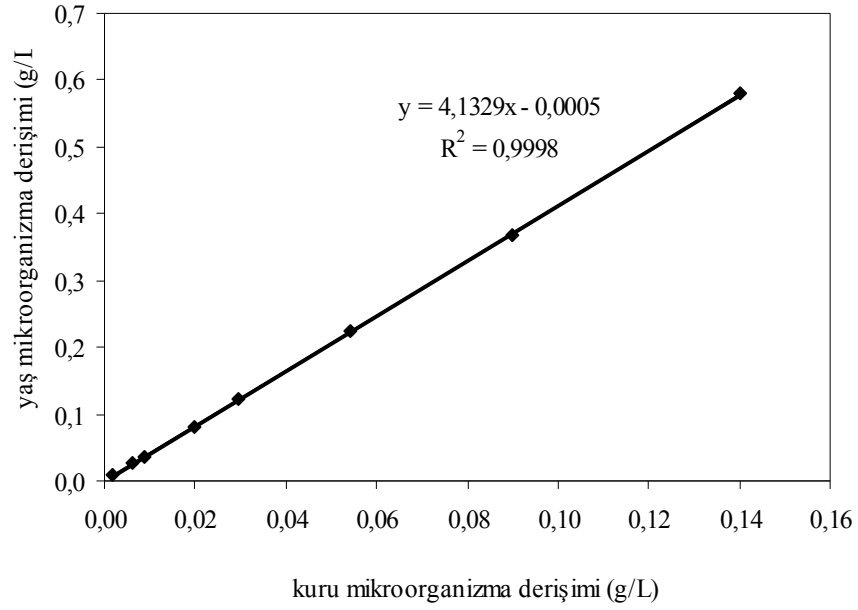
EK 1. Mikroorganizma Derişimi Tayini

Mikroorganizma derişimi spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bunun için öncelikle, 2 gr/L ye kadar farklı derişimlerde hazırlanan mikroorganizma çözeltilerinin uygun dalga boyu olarak seçilen 400 nm’de absorbanslarının okunmasıyla yaş mikroorganizma çalışma doğrusu oluşturulmuştur (Şekil E.1.1.). Verilerin değerlendirilmesinde kuru mikroorganizma ağırlığı kullanıldığından, yaş ve kuru ağırlık arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere mikroorganizma, sıvı ortamda üretilip santrifüjlenerek ayrılmış, ayrılan mikroorganizmalar değişik ağırlıklarda tartılarak, 50 °C’ deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuş ve tekrar tartılarak kuru ağırlıkları saptanmıştır. Kuru ağırlığa karşı yaş mikroorganizma ağırlığı grafiğe geçirilerek *P. fluorescens* bakterisi için kuru mikroorganizma çalışma doğrusu elde edilmiştir (Şekil E.1.2.).



Şekil E.1.1. Yaş Mikroorganizma Çalışma Doğrusu

Analiz için, fermentasyon ortamından alınan 5 mL örnek 5000 devirde 5 dakika santrifüjlenmiş, tüpte kalan mikroorganizma kütlesi su ile tekrar 5 mL' ye seyreltilerek 400 nm'de suya karşı absorbands okunmuş ve çalışma doğruları kullanılarak kuru mikroorganizma ağırlığı saptanmıştır.



Şekil E.1.2. Yaş Ağırlık-Kuru Ağırlık Çalışma Doğrusu

EK 2. Kesikli Karıştırılmalı Kaptan ve Dolgulu Kolon Reaktörde Substrat % Tüketim Değerlerinin Hesaplanması

Kesikli Karıştırılmalı Kaptan Substrat % Tüketim Değerinin Hesaplanması

Kesikli karıştırılmalı kaptan substrat % tüketim değeri aşağıdaki şekilde tanımlanır;

$$\% \text{ Tüketim} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$$

$C_0 = 2.5 \text{ mg/L}$ ve $C = 1.20 \text{ mg/L}$ phosmet alınarak buradan

% Tüketim = % 52 olarak bulunmuştur.

Dolgulu Kolon Reaktörde Substrat Tüketim Hızı ve Substrat % Tüketim Değerinin Hesaplanması

Dolgulu kolon reaktörde substrat tüketim hızının bulunmasında Eşitlik 3.7 kullanılmıştır. Örnek olarak 1 mg/L başlangıç phosmet derişimi ile 1.17 mL/dak akış hızında çalışıldığında phosmet tüketim hızı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$C_{F0} = 1 \text{ mg/L}$$

$$Q = 1.17 \text{ mL/dak}$$

$$w = 10.15 \text{ g}$$

$$C_F = 0.01 \text{ mg/L}$$

$$U_k = (C_{F0} - C) \frac{Q}{w} \left(\frac{60}{1000} \right)$$

$$U_k = 0.0068 \text{ mg phosmet /g k.mo.sa}$$

Dolgulu kolon reaktörde substrat % tüketim değeri aşağıdaki şekilde tanımlanır;

$$\% \text{ Tüketim} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$$

$C_0 = 1 \text{ mg/L}$ ve $C = 0.01 \text{ mg/L}$ phosmet alınarak buradan

% Tüketim = % 99 olarak bulunmuştur.

EK 3. Biyodegradasyon Ortamının Yoğunluk ve Viskozitesinin Hesabı

Yoğunluk Hesabı

Yoğunluk ölçümü için 50 mL hacmindeki piknometre kullanılmıştır.

$$V = 50 \text{ cm}^3$$

$$M = 49.907 \text{ g}$$

verileri kullanılarak,

$$\rho = M/V = 49.907/50 = 0.99814$$

Viskozite Hesabı

Viskozite ölçümünde Ubbelohde Viskozimetresi kullanılmıştır.

$$\mu/\mu_{su} = (t/t_{su})(\rho/\rho_{su})$$

30 °C ‘ da,

$$\mu_{su} = 0.803 \text{ cp}$$

$$\rho_{su} = 0.9956 \text{ g/cm}^3$$

$$\rho = 0.9981 \text{ g/cm}^3$$

$$t_{su} = 12.54 \text{ sn}$$

$$t = 13.14 \text{ sn}$$

verileri kullanılarak,

$$\mu = 0.845 \text{ cp}$$

olarak bulunmuştur.

EK 4. Dolgulu Kolon Reaktörde Reynolds Sayıları ve Alıkonma Süresinin Hesabı

Dolgulu kolon reaktörde Reynolds Sayısı aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$N_{Re} = dp \ G / \mu$$

Burada G ve A aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır.

$$G = Q\rho / A$$

$$A = (\pi D^2 / 4) \ \varepsilon$$

1.17 mL/dak akış hızında,

$$dp = 0.2 \text{ cm}$$

$$D = 2.2 \text{ cm}$$

$$\mu = 0.845 \text{ cp} = 0.00845 \text{ p}$$

$$\rho = 0.99814 \text{ g/cm}^3$$

$$\varepsilon = 0.33$$

verileri kullanılarak

$$A = (3.14(2.2)^2/4)0.33$$

$$A = 1.238 \text{ cm}^2$$

$$G = ((1.17)(0.9981))/((60)(1.238))$$

$$G = 0.015 \text{ g/cm}^2$$

$$N_{Re} = ((0.2)(0.015))/(0.00845) = 0.367$$

olarak bulunmuştur.

Dolgulu kolon reaktörde alıkonma süresi aşağıdaki eşitlik ile verilir.

$$\tau = (V/Q) \ \varepsilon$$

Yine aynı akış hızı için

$$V = 120 \text{ cm}^3$$

$$Q = 1.17 \text{ cm}^3/\text{dak}$$

$$\varepsilon = 0.33$$

verileri kullanılarak

$$\tau = ((120)(0.33))/((1.17)(60)) = 0.56 \text{ sa}$$

olarak bulunmuştur.

EK 5. Dolgulu Kolon Reaktörde Görünür Tepkime Hız Sabitinin Hesaplanması

Görünür tepkime hız sabiti Bölüm 3.4.3 'de türetilen Eş. 3.15 ile hesaplanabilir.

$$\ln (C_0/C) = (w/Q) k_p$$

1.17 cm³/dak akış hızında,

$$Q = 1.17 \text{ cm}^3/\text{dak.}$$

$$w = 10.15 \text{ g k. mo.}$$

$$C_0 = 1 \text{ mg/L}$$

$$C = 0.01 \text{ mg/L}$$

Verileri kullanılarak

$$k_p = ((1.17 \times 60)/10.15) \times \ln(1/0.01)$$

$$k_p = 31.85 \text{ cm}^3/\text{g k. mo. sa}$$

ÖZGEÇMİŞ

15.12.1984'te Arhavi'de doğan Selin YILMAZ DURDU ilk ve orta öğretim eğitimini Elazığ'da tamamlamıştır. Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü'nden 2008 - 2009 öğretim yılında mezun olduktan sonra, 2009 - 2010 yılında Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. Şubat 2010 itibariyle AK- TEL Mühendislikte Çevre Mühendisi olarak çalışmaktadır.