

Pestisit Kaynaklı Endosülfanın Yeraltı Sularının Arıtımında Kükürt Bazlı Ototrofik Denitrifikasyona Etkisi

Arzu KILIÇ^{1*}, Dilek ÖZGÜN¹, Serden BA AK², Yakup CUC², Özer ÇINAR²

¹ K.S.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ve Bilimleri Ana Bilim Dalı, Kahramanmara

² K.S.Ü Müh. Mim. Fak. Çevre Mühendisliği Bölümü, Kahramanmara

Geli Tarihi (Received) :30.04.2013

Kabul Tarihi (Accepted) :17.07.2013

Özet: Yer altı suları birçok ülkede içme amaçlı kullanım için belirlenen sınırların üzerinde nitrat içermektedir. Ülkemizde nitrat konsantrasyonunun 180 mg/L NO₃'a kadar yükseldiği bilinmektedir. Azotlu gübrelerin kullanımındaki artış ve arıtılmadan de arj edilen evsel-endüstriyel nitelikli atıksular yer altı sularında nitratın artmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, yeraltı sularının arıtımı için ekonomik ve etkili nitrat giderim teknolojilerinin araştırılması gerekmektedir. Nitrat giderim teknolojileri arasında ototrofik denitrifikasyon prosesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, yeraltı suları birçok pestisit ve farklı kimyasal maddeler ile kirlenmektedirler. Organoklorlu pestisitler içerisinde yer alan endosülfan, diğer organoklorlu pestisitlerden daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Bu sebeple endosülfanın arıtımı ve arıtma prosesleri üzerine etkisinin araştırılması gerekmektedir. Bu çalışmada, kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi ile içme sularından nitrat giderimi sağlanırken, sulara bulunan tehlikeli ve sağlığa zararlı pestisitlerden biri olan endosülfanın denitrifikasyona ve bakteriyel çeşitliliğe etkisi araştırılmıştır. Kolon reaktörde yüksek endosülfan konsantrasyonunda % 93 nitrat giderimi sağlanmıştır. Floresanlı Yerinde Hibritizasyon (Fluorescence In-Situ Hybridization-FISH) ile pestisit verilmeden önce ve verildikten sonra *Pseudomonas* sp. değişimi gösterilmiştir. FISH sonuçlarına göre, 200 ppb endosülfan *Pseudomonas* sp.'ler üzerinde azalma göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: İçme Suyu Arıtımı, Ototrofik Denitrifikasyon, Pestisit, Endosülfan

Effect of Endosulfan Source Pesticide to Sulfur-Based Autotrophic Denitrification in Ground Waters Treatment

Abstract: Groundwater contains nitrate which is on the limits set for drinking purposes in many countries. In our country, nitrate concentrations are known to be rising up to 180 mg/L NO₃. Increased use of nitrogenous fertilizers and the discharge of untreated domestic-industrial wastewaters cause an increase in nitrate in groundwater. Therefore, investigation of the economic and efficient nitrate removal technologies required for groundwater treatment. Autotrophic denitrification from nitrate removal technologies are widely used. In addition, groundwater is contaminated with many pesticides and different chemical substances. Endosulfan, located within organochlorine pesticides, has a higher resolution than other organochlorine pesticides. For this reason, endosulfan treatment and its effect on treatment processes should be investigated. In this study, while nitrate removal from drinking water was provided with sulfur-based autotrophic denitrification, the effect of endosulfan, one of the pesticides, on the dangerous and harmful, denitrification and bacterial diversity was investigated. The nitrate removal was 93% in high endosulfan concentration in the column reactor. *Pseudomonas* sp. change was shown before and after adding of pesticide with Fluorescence In-Situ Hybridization (FISH). According to the results of FISH, the effect of 200 ppb of endosulfan on the *Pseudomonas* sp. was not shown to decrease.

Key words: Drinking Water Treatment, Autotrophic Denitrification, Pesticide, Endosulfane

G R

İçme sularında varlığı sağlığı açısından sakıncalı olan nitratın yer altı suları ve içilebilir su kaynaklarında, belirli konsantrasyonlarda bulunmasına izin verilmektedir. Çevre Koruma Ajansı (EPA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile dünyada, TS 266 standardı ile ülkemizde, nitrat konsantrasyonunun içme ve kullanma sularında sınır değeri, 50 mg/L NO₃ olarak belirlenmiştir. Nitrat, atık suların de arjı ve gübre kullanımına bağlı olarak yeraltı sularında, yüksek dozlara çıkarak bir kirlenme halini almaktadır. Genel olarak yoğun tarım yapılmayan alanlardaki sulara göreceli olarak daha düşük; tarımsal faaliyetlerin yoğun olduğu alanlarda ise daha yüksek

nitrat konsantrasyonları gözlenmektedir. Nitrat bulunduğu su kaynaklarının rengine, kokusuna veya tadına herhangi bir etki etmemektedir. Bu nedenle bu yollarla kirlenmenin tespiti imkânsızdır. Literatür araştırmaları birçok ülkedeki yeraltı sularında nitrat konsantrasyonu hızla artmış olduğunu göstermektedir. EPA 1992'de 43.500 küçük çocuğun bulunduğu yaklaşıklık olarak 3 milyon insanın kabul edilebilir seviye olan 10 mg/L NO₃'den fazla nitrat içeren yeraltı suyunu içtiğini göstermiştir. Danimarka ve Hollanda'da yeraltı sularındaki nitrat konsantrasyonunun yılda 0,2-1,3 mg/L gibi yüksek bir hızla artmakta olduğu rapor edilmiştir (WHO 1996, Tutar 2006).

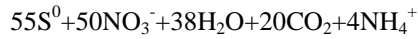
*Sorumlu Yazar: Kılıç, A., arzukilic@hotmail.com

ABD’de su kayna ı olarak kullanılan kuyuların %10 ile 25’inde maksimum sınır olan 50 mg/L NO₃ a ılımlı durumdadır. Ülkemizde ise anlıurfa, Harran ovasında yapılan bir çalı mada (Ye ilnacar ve ark., 2008) 24 kuyudan bir yıl boyunca alınan su numunelerinde nitrat takip edilmi olup, konsantrasyonların oldukça yüksek oldu u belirlenmi tir. Bazı kuyularda nitrat konsantrasyonunun 790 mg/L NO₃’e kadar yükseldi i ve tüm ovada ortalama nitrat konsantrasyonunun 155 mg/L NO₃ oldu u belirtilmi tir.

nsanlarda nitratin bilinen en yaygın toksik etkisi yeni do anlarda meydana getirdi i methemoglobinemi ve buna ba lı olarak mavi bebek (blue-baby) hastalı ıdır. Üst gastrointestinal bölümde üreme olana ı bulan bu bakteriler nitrata indirgeyerek nitrit olu umuna neden olurlar, daha sonra kana geçen nitrit, hemoglobinle birle erek methemoglobin olu turur ve ölüme sebebiyet verebilir. Yenido an dönemindeki methemoglobiden sonra, nitrat ve nitrit alımının meydana getirebilece i en önemli etki üphesiz kanser olu umudur (Della Rocca ve ark., 2007). Bu olasılıkları ortadan kaldırmak için içme suyundan nitrat ve nitritin giderilmesi konusunda çalı maların yapılması gerekmektedir.

çme suyu ve yer altı su kaynaklarındaki nitrat düzeyinin azaltılmasına yönelik ba lıca iki yakla ım bulunmaktadır. İki, suya nitrat transferinin önlenmesi, ikincisi ise, nitratin suların uzakla tırılması ya da sulardaki nitrat düzeyinin azaltılmasıdır (Akkurt ve ark., 2002).

Suya nitrat transferinin önlenmesi veya giderimi arasındaki tercih tamamen ekonomik nedenlere göre

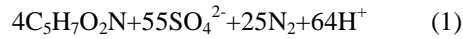


Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi ile etkin bir ekilde gerçekte tirilen nitrat gideriminde, bir ba ka kirleticinin denitrifikasyonu ne ekilde etkileyece i merak edilen bir konudur. çme sularında yaygın olarak bulunan nitrat dı nda pek çok kirletici bulunabilmektedir. Pestisitler yasaklanmalarına ra men uzun yarılanma ömürlerinden dolayı hala sulara tehdit edici miktarlarda bulunabilmektedirler (Golfınopoulos ve ark.,2003). Endosülfan tarımsal alanlarda sık kullanılan bir pestisittir. Tarım alanlarında pamukta, sebze ve meyvelerde, tarla bitkilerinden çeltik, sorgum ve ya lı tohumlarda yaygın kullanılan organoklorlu bir insektisittir (Goebel ve ark., 1982).Endosülfan di er organoklorlu pestisitler ile kar ıla tırıldı nda sudaki çözünürlü ü çok daha yüksek (0,32mg/l) ve lipidlereafinitesiise daha azdır. Bu nedenle gıda zincirinde endosülfanın birikiminin olaca ı dü ünülmektedir. Endosülfanın yüzeysel ve yer altı sularında bulunması, onun insanlar ve sucul ya am üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle büyük ilgi uyandırmı tir (Mersie ve ark.,2003). EPA’ ya göre 0,22 µg/L üzerindeki endosülfan konsantrasyonları sucul organizmalar için olumsuz etkiye neden olmaktadır (Mersie ve ark., 2003). Ayrıca endosülfanın

belirlenmektedir. Nitratin içme ve yeraltı sularından gideriminde uygulanan metotlar ço unlukla iyon de i tırme, ters osmoz, ve elektrodializ gibi fiziko-kimyasal proseslerdir. Bu arıtma yöntemleri ileri arıtım metotları olarak kar ımıza çıkmaktadır. Fiziko-kimyasal proseslerin ço u bir kirleticiyi ba ka bir kirletici özelli i olan kimyasal maddelerle gidermek demektir ki, bu metotların hem i letme bakım maliyetleri yüksek, hem de dü ük seçicilik özellikleri ve tuzlu atıksu üretimi ile uygulanabilirli i dü üktür (ahinkaya ve ark., 2011).

Bu metotlara alternatif bir metot olarak nitrat gideriminde biyolojik denitrifikasyon metodu oldukça yaygın kullanılmaktadır. Fiziko-kimyasal yöntemlere göre hem ekonomik hem de uygulama yönünden pek çok avantajı bulunmaktadır.

Bu çalı mada, maliyet ve i letme kolaylı ı açısından sahip oldu u avantajlar nedeniyle kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi tercih edilmi tir. Ototrofik denitrifikasyon mikroorganizmaları enerji kayna ı ve elektron verici olarak hidrojen, kükürt gibi elementleri, karbon kayna ı olarak da inorganik bile ikleri (CO₂, HCO₃ gibi) kullanırlar. Elementel kükürdün toksik olmaması, suda çözünmemesi, normal artlarda stabil olması ve bazı endüstrilerde yan ürün olarak olu abilmesi, kolay ta nabilmesi, yanıcı ve patlayıcı olmaması nedeniyle hidrojenin elektron kayna ı olarak kullanıldı ı ototrofik denitrifikasyon prosesine kıyasla daha avantajlıdır. Kükürdün elektron verici olarak kullanılması durumunda gerçekte en denitrifikasyon prosesi Denklem (1)’de verilmi tir.



ikincil bir kirletici olarak arıtımı veya di er arıtma proseslerine etkisi üzerine çok az sayıda çalı ma bulunmaktadır.

Literatür incelendi inde sınırlı sayıda kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde nitrat giderimi üzerine çalı ma yapıldı ı görülmektedir. Pestisitlerden özellikle endosülfanın kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesine etkisi üzerine bir çalı ma ise henüz yapılmı de ildir. Bu nedenle içme sularında yaygın olarak görülebilen bu iki önemli kirleticinin birlikte ekonomik ve uygulanabilirli i yüksek bir metot ile arıtımı ve etkisinin belirlenmesi üzerine çalı maların yapılması önemli görülmektedir.

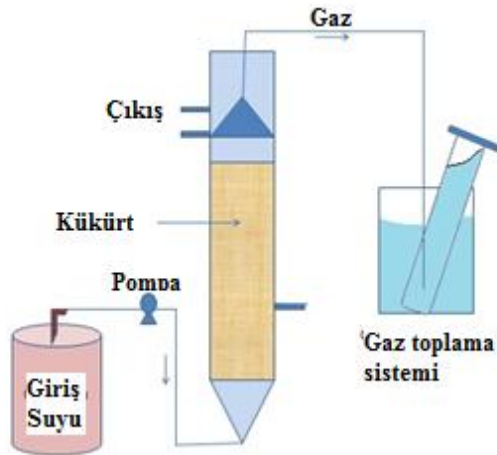
MATERYAL ve YÖNTEM

Çalı mada Kullanılan Kolon Reaktör

Çalı mada cam malzemedan yapılmı kolon reaktör kullanılmı tir (ekil 1). Reaktör yukarı akı lı olarak i letilecek olup, bo yatak hacmi (empty bed volume) yakla ık 500 mL, çapı ise yakla ık 5,5 cm olacak ekilde tasarlanmı tir. Kolon dolgu malzemesi olarak elementel kükürt kullanılmı tir. Sistem sürekli akı lı olarak i letilip, çalı malar oda sıcaklı nda (23±2 °C) yürütülmü tür. Anoksik artların sa lanması amacıyla

giri suyundan azot gazı geçirilmi ve besin sürekli olarak anoksik ko ullarda ve sabit sıcaklıkta dolapta tutulmu tur. Denitrifikasyon sonucu olu an gaz, ekil 1'de gösterilen düzenek ile günlük olarak toplanmı ve teorik gaz üretim hızı ile kıyaslanmı tur.

Reaktörde, dolgu malzemesi olarak kullanılacak elementel kükürt granül yapıda 1-4,5 mm büyüklü ündedir. Çalı mada kullanılan reaktörde kuyu suyundan temin edilen musluk suyu kullanılmı tur. Nitrat ve nitrit konsantrasyonları N cinsinden verilmi tur. Musluk suyuna çalı ma ko ullarına göre farklı miktarlarda 25 mg/L NO₃-N ve mikrobiyal aktiviteyi desteklemek için, verilen nitrat azotu miktarının 1/5'i oranında PO₄-P eklenmi tur. Nitrat konsantrasyonu 25 mg/L NO₃-N, Hidrolik Bekleme Süresi (HRT) 12 saat olarak sabit tutulmu ve endosülfan konsantrasyonu de i tirilerek, denitrifikasyona etkisi gözlenmeye çalı ılmı tur. Ayrıca kolon reaktöre endosülfan verilmeden önce ve 200 ppb endosülfan verildikten sonra bakteri numuneleri alınmı tur. Homojen olarak cam pipetle alınan bakteri numunelerinde *Pseudomonas* sp. üzerindeki de i im FISH ile belirlenmi tur.



ekil 1. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon çalı malarında kullanılacak kolon reaktör ve gaz toplama sistemi

Reaktör çıkı nda haftada en az iki kez düzenli olarak NO₃-N, NO₂-N, sülfat, sülfür, pH, çözünmü organik karbon ÇOK, alkalinite ve sertlik ölçümü için numune alınmı tur. Besin çözeltilisinden ise her hazırlamı nda NO₃-N, NO₂-N, sülfat, (ÇOK), pH, alkalinite ve sertlik analizi için numune alınmı tur. Çalı mada kullanılacak endosülfan (+) stok çözeltilisi aseton veya asetonitril gibi çözücülerle çözümlenerek elde edilmi tur. Tüm çözeltiler ve numuneler buzdolabında +4 °C de ve karanlıkta saklanmı tur.

Analitik metotlar

NO₃⁻-N, NO₂⁻-N, sülfat, çözünmü organik karbon ve sertlik analizleri 0.45 µm selüloz asetat ırına filtrelerden geçirilerek +4 °C de muhafaza edilen çıkı

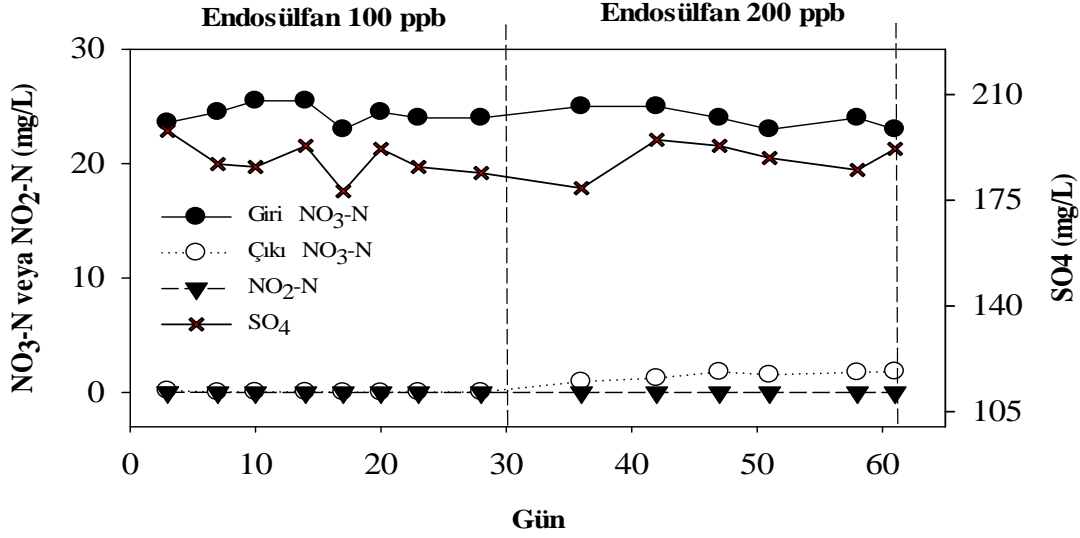
su numunelerinde yapılmı tur. yonların analizi DIONEX 5000 iyon kromatografi cihazı ile yapılmı tur. Sonuçlarda nitrat ve nitrit, N cinsinden verilmi tur. Alkalinite standart metotlara göre metil oranj indikatör yöntemi kullanılarak ölçülmü tür (APHA, 2005). Sertlik analizleri yine aynı ekilde standart metotlara göre EDTA titrasyon metodu ile analiz edilmi tur (APHA, 2005). ÇOK, TOC analizörü (TeledynTekmar USA) ile ölçülmü tür. Pestisit analizi ise sıvı-sıvı ekstraksiyon sonrasında Shimadzu Marka, GC-2010 Model Gaz Kromatografisi ile tayin edilmi tur.

FISH için reaktörden endosülfan verilmeden önce ve 200 ppb endosülfan verildikten sonra bakteri örnekleri alınmı tur. Örnekler kolonun giri e yakın bir noktadan bakterilerin yo un bulundu u bir bölgeden alınmı tur. Reaktörden alınan çamur örnekleri 10000xg'de 3 dakika santrifüj (Sigma, Almanya) edilerek üst faz uzakla tırılmı tur. Pellet, fosfat tampon ile temizlenmi tur. Sonrasında ise %4 paraformaldehit solüsyonu ile fiske edilmi ve 1:1 etanol:PBS ile -20 °C'de saklanmı tur. Fikse olmu hücreler, hibridizasyon çözeltisi ve flüoresan i aretli problemler ile +46 °C'de 45 dakika hibridize edilmi tur. Hibridizasyonun gerçekleşmesi için, Rodamin i aretli EUB338 ve Cy3 i aretli PSTUT problemleri kullanılmı tur. EUB338 16S rRNA probu bütün bakteriler için tanımlanmı tur (Amann ve ark., 1990). Hibridizasyon sonrası +48 °C'de 20 dakika yıkama yapılmı tur. Bu i lemlerden sonra flüoresan ık bulunan mikroskop (Nikon, Japan) kullanılarak, hibridize olmu hücrelerin kamera ile foto rafları çekilmi , NIS Elements programı yardımıyla görüntüler elde edilmi tur.

BULGULAR ve TARTI MA

Kükürt Bazlı Kolon Reaktörde Denitrifikasyon

Elektron verici olarak granül kükürdün kullanıldı ı reaktörde, elektron alıcı olan nitrat, 25 mg/L NO₃-N olarak ortama verilmi tur. HRT'nin 12 saat oldu u i letme ko ullarında, alkalinite kayna ı olarak sisteme verilen HCO₃ giri alkalinitesi yakla ık 500 mg/L CaCO₃ olacak ekilde kullanılmı tur. Çalı manın öncesinde sistem ko ullarının kararlı ko ullara ula ması ve adaptasyonun sa lanması için 45 gün boyunca reaktörler +23 C⁰de yukarda belirtilen ko ullarda çalı tırıldı. Bu süreçte % 100 denitrifikasyon verimi sa landıktan sonra reaktöre sularda ve toprakta sıkça rastlanan bir pestisit olan endosülfan (+) verilmeye ba landı (ekil 2). Sularda 10 ppbnin üzerinde endosülfan gözlenmemesine ra men denitrifikasyona ve mikrobiyal aktiviteye etkisini gözlemleyebilmek için yüksek konsantrasyonlar seçildi. Aynı ekilde Aslan (2002), yaptıkları çalı mada endosülfanın denitrifikasyona etkisini belirlemek amacıyla aktif karbon ve beyaz bu day samanı kullandıkları biyoreaktörlerde yüksek endosülfan konsantrasyonlarında çalı mı larıdır.



ekil 2. Kolon reaktörde endosülfan konsantrasyonuna bağlı olarak denitrifikasyonun de i mi

Bu çalı mada sisteme ilk olarak 100 ppb endosülfan verilmi tir ve reaktör bu ko ullarda 30 gün boyunca i letilmi tir. 30 günlük elde edilen sonuçlarda 100 ppb endosülfan verildi inde denitrifikasyonda olumsuz bir de i imin gözlenmedi i görülmü tür (ekil 2). çme sularında denitrifikasyon ve endosülfan giderimi üzerine yapılan çalı malarda, HRT ve endosülfan konsantrasyonunun denitrifikasyon verimi üzerinde etkili oldu u görülmü tür. Gündo an (2012), membran biyoreaktörler ile nitrat giderimi çalı malarında 1 ppb endosülfan konsantrasyonunda %100 denitrifikasyon verimi elde ederken, konsantrasyonun 15 ppb'ye yükseltilmesiyle denitrifikasyon verimi %94'e dü mü ve sistemde NO₂ birikimi görülmeye ba lanmı tir. Bu çalı mada daha yüksek endosülfan konsantrasyonlarında 100 ppb'de %99, 200 ppb'de ise %94 denitrifikasyon verimi elde edilmi tir.

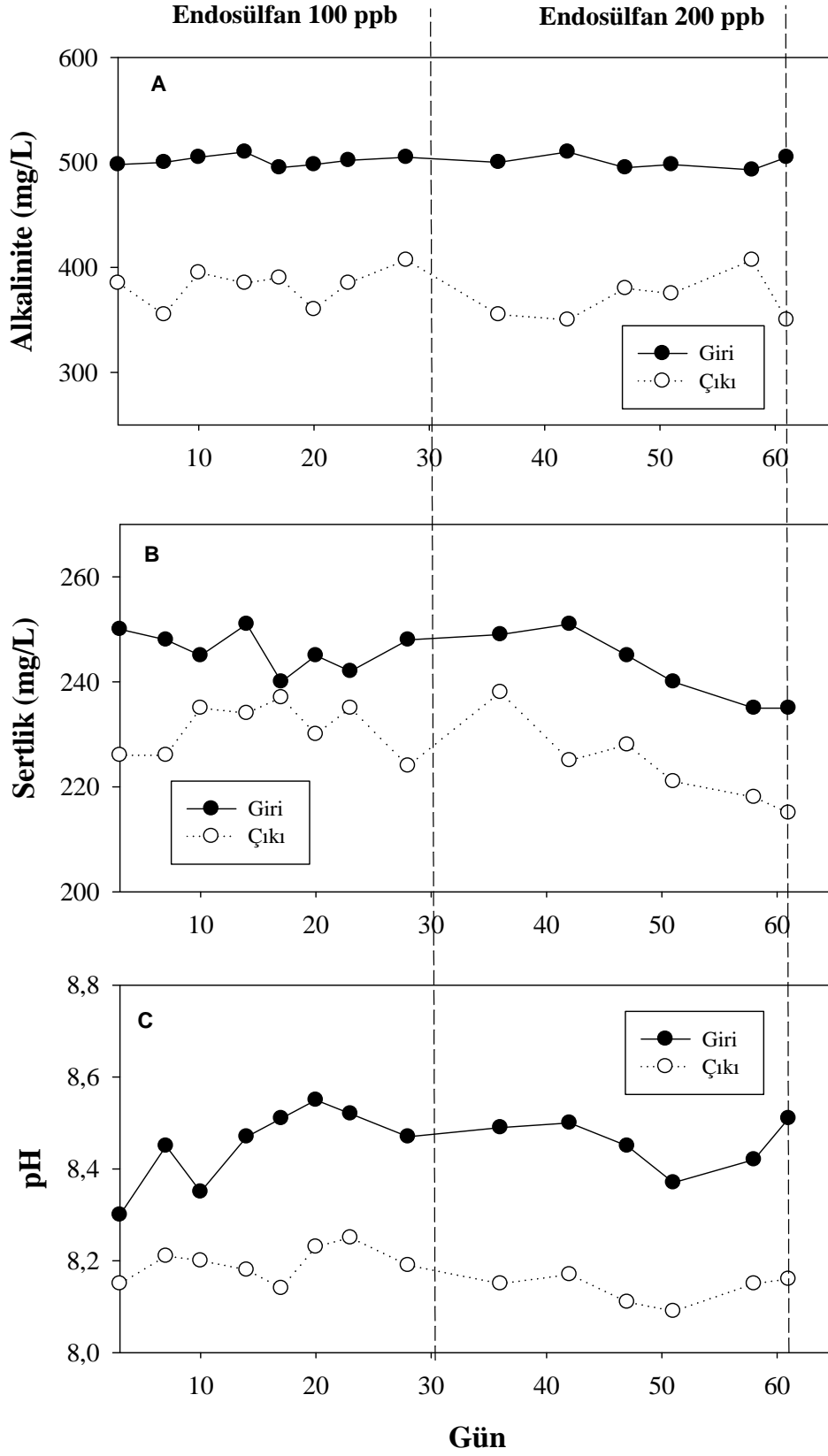
Kükürt Bazlı Kolon Reaktörde Alkalinite ve Sertlik

Kolon reaktörde takip edilen önemli parametrelerden biri de alkalinitedir. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde stokiyometrik denklemde (Denklem 1) ortaya çıkan H⁺ iyonları ortamda hızlı bir biçimde pH'ın dü mesine neden olmaktadır. Ototrofik denitrifikasyon bakterileri pH 6-9 arasında ya ayabilmektedirler (Rittmann ve ark.,2001; Sahinkaya ve ark., 2011). Bu nedenle ortam pH'ını ayarlamak ve bakterilerin karbon ihtiyacını karşılayabilmek için alkalinite sağlayıcı olarak HCO₃ kullanılmı tir. Giri suyuna yakla ık alkalinite olarak 500 mg/L CaCO₃ olacak ekilde NaHCO₃ ilave edilmi tir. ekil 3A'da görüldü ü üzere giri te verilen 500 mg/L CaCO₃ alkalinitenin yakla ık 150 mg/L si kullanılmı ve çıktı suyunda alkalinite de eri 350 mg/L CaCO₃ civarında seyretmi tir. Reaktöre pestisit verilmeye ba lanmasıyla

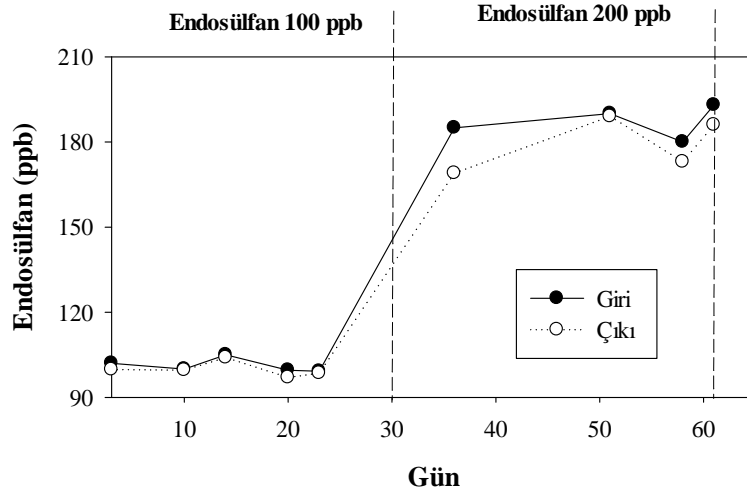
birlikte alkalinite de erleri dikkatli bir biçimde takip edilmi tir. Ancak hem 100 ppb hem de 200 ppb endosülfan konsantrasyonunda alkalinite kullanımında de i iklik olmamı sistem performansında olumsuz bir de i iklik gözlenmemi tir. ekilde sertlik sonuçlarına bakıldı nda giri te içme suyundan gelen sertlik yakla ık 250 mg/L civarında görülmektedir. Besin çözeltilisinde kullanılan musluk suyu kuyudan sa landı ndan giri suyunun sertli i sınır de erlere yakındır. Bununla birlikte proseste sertli i artırıcı herhangi bir biyokimyasal reaksiyon gerçekleşmemektedir. Çıktı suyunda ise sertlik de erlerinde bir miktar azalma görülmektedir. Bunun nedeni suya sertlik veren Mg ve Ca gibi iyonların sistemde bakteriler tarafından kullanılmasından veya kimyasal reaksiyonlarda kullanılmasından olabilir.

Kükürt Bazlı Kolon Reaktörde Endosülfanın Etkisi

Kükürt bazlı kolon reaktörde her iki endosülfan konsantrasyonunda denitrifikasyon olumsuz yönde etkilenmemi olmasına rağmen endosülfanda bir giderim gözlenmemi tir. Çalı madaki amaç endosülfanın denitrifikasyona ve mikrobiyal aktiviteye etkisinin ölçülmesi olsa da dü ük endosülfan konsantrasyonlarında nitratla birlikte endosülfanında giderildi i çalı malar mevcuttur (Aslan, 2002; Gündo an, 2012). Ancak bu çalı maların ço unda endosülfanın gideriminin sa lanması için adsorban bir madde kullanılmı tir. Bu durumda tamamen biyolojik denitrifikasyon ile endosülfanın içme sularından giderimi için çalı maların çok yönlü olarak devam etmesi gerekmektedir. Bu çalı mada elde edilen bulgulara göre giri te verilen endosülfanın reaktörde herhangi bir reaksiyon göstermeksizin aynen çıktı ı görülmektedir (ekil 4).



ekil 3. Kolon reaktörde Alkalinite (A), Sertlik (B) ve pH (C) de iimleri

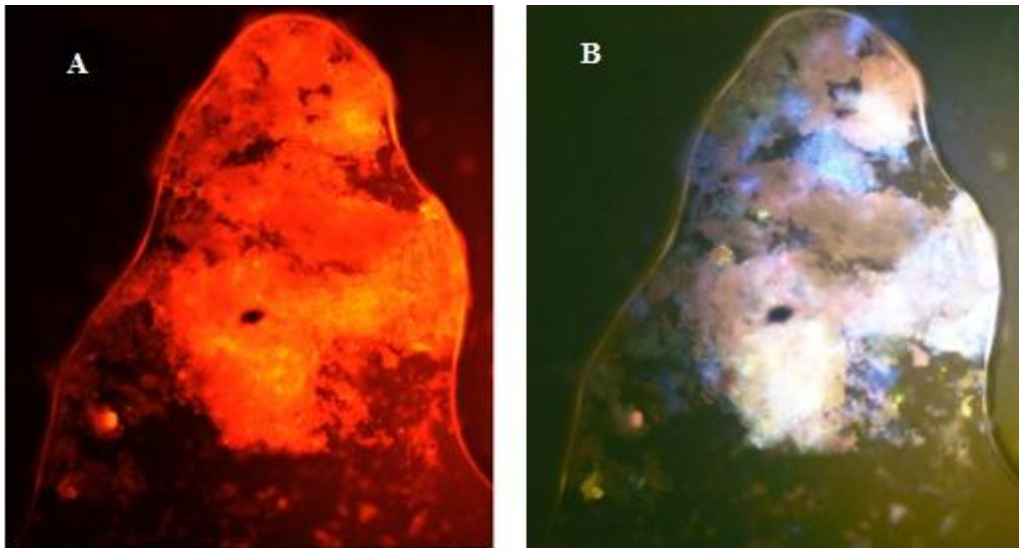


ekil 4. Kükürt bazlı kolon reaktörde giri ve çıkı ta endosulfan konsantrasyonu

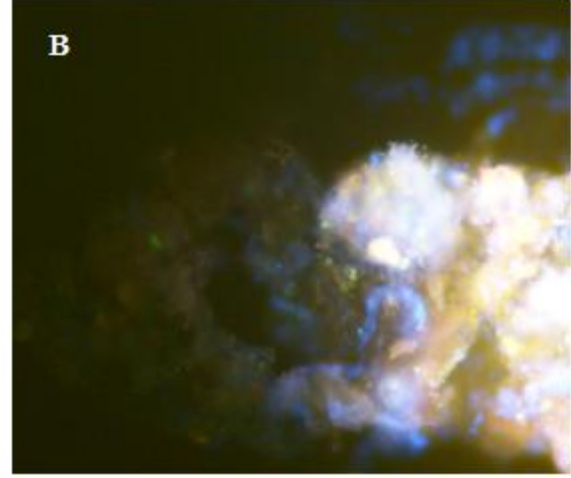
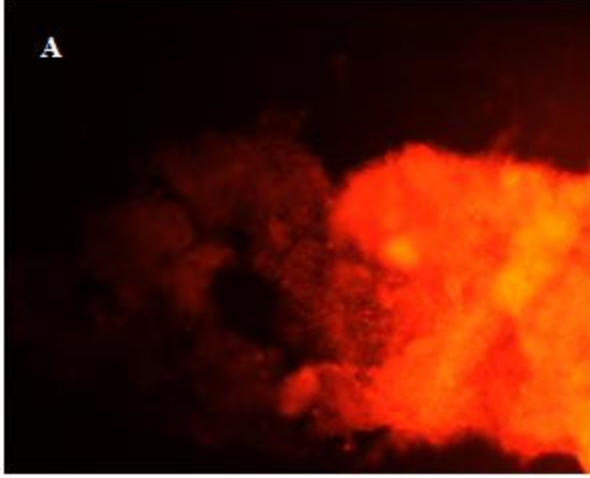
Kükürt Bazlı Kolon Reaktörde Endosulfanın *Pseudomonas sp.* Aktivitesine Etkisi

Sisteme pestisit ilave edilmeden ve pestisit ilave edildikten sonra reaktör içerisinde homojen olarak alınan numunelerde, *Pseudomonas sp.*'nin mikrobiyal popülasyon üzerindeki da ılımının belirlenmesi için FISH metodu ile tanımlama yapılmı tır. Evsel ve endüstriyel atıksularda *Pseudomonas sp.*'lere sıklıkla rastlanmaktadır (Park ve Yoo, 2009). Bu bakteriler, özellikle heterotrofik denitrifiyerler içerisinde dominant olarak tanımlanabilirken, ototrofik denitrifiyerler içinde de yer almaktadır. Ancak ototrofik bakteriler içerisinde farklı bakterilere daha fazla rastlanmaktadır (Lee ve ark., 2013). Bu çalı mada, sistem karı ık kültür ile i letildi inden, optimizasyon artlarının daha genel bir bakteri olan *Pseudomonas sp.* ile ba lanmasına karar verilmi tir. ekil 5'de sisteme pestisit verilmeden önce,

EUB338 ile boyanan bütün bakteriler, ekil 6'da EUB338 ile boyanan genel bakterilerin içerisinde PSTUT ile boyanan *Pseudomonas sp.* görülmektedir. Sisteme pestisit verildikten sonra, EUB338 ile boyanan bütün bakteriler ekil 5A.'da, EUB338 ile boyanan genel bakterilerin içerisinde PSTUT ile boyanan *Pseudomonas sp.*'ler ise ekil 5B.'de gösterilmi tir. FISH sonuçlarına göre, pestisit verildikten sonra *Pseudomonas sp.*'nin azalmadı ı, aksine az da olsa arttıkları belirlenmi tir. Dolayısıyla, pestisit içerisinde yer alan endosulfanın 200 ppb konsantrasyonda *Pseudomonas sp.*'lere stimule etki yapmı olması ya da di er türleri inhi be edici etkiye sebep olabilece i ve uygun ortam ko ullarında *Pseudomonas sp.*'lerin büyümesinin daha fazla oldu u dü ünülmektedir.



ekil 5A ve 5B. Pestisit içermeyen hücrelerin 20x'deki görüntüleri A. EUB338 ile hibridize olan bakteriler B. PSTUT ile hibridize olan *Pseudomonas sp.*'ler



ekil 6A ve 6B. Pestisit içeren hucelerin 40x'deki gorntleri A. EUB338 ile hibridize olan bakteriler B. PSTUT ile hibridize olan *Pseudomonas* sp.'ler

SONUÇ ve NER LER

Bu alı mada, yasaklanmı olmasına ra men uzun yarılanma süreleri nedeniyle hala içme sularında kirlili e neden olan pestisitlerden biri olan endosülfanın kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesine ve *Pseudomonas* sp.'nin etkisinin ara tırılması amaçlanmı tır.

Bu amaçla yapılan çalı mada;

- Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi ile içme sularından nitrat %99,9 verimle arıtılabilmı tır.
- Nitrat gideriminde etkili bir proses olan kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyonun 100 ve 200 ppb endosülfan konsantrasyonunda önemli ölçüde etkilenmedi i görülmü tır.
- Sisteme içme sularında bulunabilen miktarın üzerinde endosülfan verildi inde 100 ppb endosülfan konsantrasyonunda denitrifikasyon verimi % 99 iken 200 ppb endosülfan konsantrasyonunda denitrifikasyon verimi % 94 olmu tır.
- FISH ile yapılan mikrobiyal analizlerde sisteme pestisit verilmeden önce görüntülenen *Pseudomonas* sp.'nin, pestisit vermeye ba landıktan sonra da önemli bir de i ime u ramadı ı sonucuna ula ılmı tır. Bu nedenle kullanılan endosülfanın, *Pseudomonas* sp.'lere stimule etki yapmı ya da di er türleri inhibe ediyor olabilmesi d ünülmektedir.
- Bu alı manın, 200 ppb'den daha yüksek konsantrasyonlarda endosülfanın ototrofik denitrifikasyon prosesine ve bakteri popülasyonuna uzun süreli maruziyetler sonunda etkisini gözlemek ve uygulanan FISH metodu ile ba ka tür ve/veya cinlerin endoslfana tepkisini ve inhibisyon etkisini ara tırma için te vik edici ve yol gösterici olaca ı d ünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Amann, R.I., Krumholz, L., Stahl, D.A. 1990. Fluorescent oligonucleotide eprobing of whole cells for determinative, phylogenetic and environmental studies in microbiology. *Journal of Bacteriology*, 172: 762–770.
- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59: 143–169.
- Akkurt, F., Alılar, A., Sendil, O. 2002. Sularda Bulunan Nitratın Adsorpsiyon Yoluyla Uzakla tırılması. *Gazi niv. Mh. Mim. Fak. Der.* 17: 83-91.
- APHA AWWA WEF, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 21st Edition, Washington DC, USA.
- Aslan, S. 2002. Combined Biological Removal of Pesticides and Nitrates in Drinking Waters. Doktora Tezi. Dokuz Eyll niversitesi. zmir.
- Della Rocca C., Belgiorno V., Meric S. 2007. Overview of in-situ applicable nitrate removal processes. *Desalination*, 204, 46-62.
- Goebel, H., Gorbach, S., Knauf, W., Rimpau, R. H., Huttenbach, H. 1982. Properties, Effects, Residues and Analytics of The Insecticide Endosulfan. *Residue Reviews*, 83:1-122
- Golfinopoulos, S. K., Nikolaou, A. D., Kostopoulou, M. N., X, Lourgidis, N. K., Vagi, M. C., Lekkas, D. T. 2003. Organochlorine Pesticides in the Surface Waters of Northern Greece. *Chemosphere*, 50:507-516.

- Gündo an, E.G. 2012. Hidrojene Dayalı Membran Biyofilm Reaktörlerinde Denitrifikasyona Endosülfanın Etkisi. Kahramanmara Sütçü mam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisli i Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmara .
- Lee, D.J., Pan, X., Wang, A., Ho, K.L. 2013. Facultative autotrophic denitrifiers in denitrifying sulfide removal granules. *Bioresource Technology* 132: 356–360.
- Liu H., Jiang. W., Wan D., Qu J. 2009. Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 23–28.
- Mersie, W., Seybold, C., A., Mcnamee, C., Lawson, M., A. 2003. Abating Endosulfan from Run off Using Vegetative Filter Strips: The Importance of Plant Species and Flow Rate. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 97:215-223.
- Park, J. Y., Yoo, Y.J. 2009. Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: which electron donor we can choose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 415–429.
- Rittmann, B.E., McCarty, P.L. 2001. *Environmental biotechnology: principles and applications*. New York: McGraw-HillBookCo.
- Sahinkaya, E., Dursun, N., Kilic, A., Demirel, S., Uyanik, S., Çınar, Ö. 2011. Simultaneous heterotrophicand sulfur oxidizingautotrophic denitrification process for drinking watertreatment:control of sulfate production. *WaterRes.* 45: 6661–6667.
- Tu rul, Z. 2006. Toz Halinde Fe⁰ ve Al⁰ ile Nitratın Kimyasal Denitrifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisli i Ana Bilim Dalı. Isparta.
- Ye ilnacar, M. I., ahinkaya, E., Naz, M., Özkaya, B. 2008. Neural network prediction of nitrate in groundwater of Harran Plain, Turkey. *Environmental Geology*. 56: 19-25