

**PORSUK ÇAYI'NDA
DETERJANLARI PARÇALAYAN
MİKROORGANİZMALARIN
ARAŞTIRILMASI**

ERDOĞAN ÇAKIR
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
HAZİRAN - 1998

Merkez Kütüphane

Erdoğan ÇAKIR'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı Porsuk Çayı'nda Deterjanları Parçalayan Mikroorganizmaların Araştırılması başlıklı tez 30. 06. 1998 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Merih KIVANÇ

Üye : Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Kıymet GÜVEN

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..10.07.1998.. tarih ve12/7..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÖNETİM KURULU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PORSUK ÇAYI'NDA DETERJANLARI PARÇALAYAN MİKROORGANİZMALARIN ARAŞTIRILMASI

ERDOĞAN ÇAKIR

**Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ
1998, Sayfa 77**

Günümüzde büyük ölçülere ulaşan ve yoğun tartışmalara yol açan çevre kirlenmesinde, sentetik deterjanlar önemli bir yere sahiptir. Biyolojik olarak parçalanamayan maddelerin, su ve toprakta ayrışmadan kalıp akarsularla göl ve denizlere ulaşması, buralarda yaşayan canlıları ve onlarla beslenen insanların sağlığını tehdit etmektedir.

Bu çalışmada, Porsuk Çayı'nda deterjanları parçalayan mikroorganizmalar ile bu mikroorganizmaların doğal ortamdaki deterjanları ve ortama ilave edilen SLES, LAB, ALES, ALS ve NI deterjan aktif maddelerini parçalama oranları araştırılmıştır.

Deterjanların biyolojik olarak parçalanmasını sağlayan bu mikroorganizmalar, Porsuk Çayı Mezbaşa istasyonundan alınan su örneklerine ilave edilen 1 mg/l oranındaki aktif maddeleri, 36 gün sonunda şu oranlarda parçalamışlardır: SLES % 96.82, ALS % 95.15, ALES % 93.91, LAB % 88.85, NI % 80.54. Deterjan aktif maddesi ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı ise, % 78.62 oranında parçalanmıştır.

Porsuk Çayı'nda 10 istasyondan alınan su örneklerinden, deterjan aktif maddelerini kullanan ve biyolojik parçalanmayı gerçekleştiren, toplam 76 tane bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlardan 19 tanesinin *Pseudomonas putida*; 16 tanesinin *Enterobacter aerogenes*; 14 tanesinin *Bacillus cereus*; 11 tanesinin *Escherichia coli*; 9 tanesinin *Proteus vulgaris* ve 7 tanesinin de *Klebsiella pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Porsuk Çayı'ndaki doğal mikrobiyal flora, deterjanları parçalayabilmektedir. Ancak deterjan kirliliğinin belli bir konsantrasyonu aşmaması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Deterjan Aktif Maddesi, Sürfektan, Biyolojik Parçalanma

ABSTRACT**Master of Science Thesis****THE STUDY OF THE MICROORGANISMS
DEGRADING DETERGENT
IN THE PORSUK RIVER****ERDOĞAN ÇAKIR
Anadolu University****Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology: Major Biology****Supervisor: Prof. Merih KIVANÇ
1998, Page 77**

Nowadays, synthetic detergents are very important subject causing discussions. Non biodegradative substances endanger plants and animals and also humen who feed on them staying not get degraded in the soil and water and then glowing in the river to the lakes and seas.

In this study, microorganisms that degrade detergent in the Porsuk River and also degradation rates of SLES, LAB, ALES, ALS and NI which are added to this environment as detergent active substances addition to their natural environmental detergents were detected.

These microorganisms having active roles in biodegradation degraded 1 mg/l active substances added to samples taken from The Porsuk River Mezbaħa station in 36 days at these rates: SLES 96.82 %, ALS 95.15 %, ALES 93.91 %, LAB 88.85 %, NI 80.54 %. Detergent amount in water sample which didn't have added detergent active substances was degraded at the rate of 78.62 %.

Total 76 bacteria isolates, using and degrading detergent active substances in water samples taken from 10 different The Porsuk River stations were obtained. It was seen that 19 of these isolates *Pseudomonas putida*, 16 of them *Enterobacter aerogenes*, 14 of them *Bacillus cereus*, 11 of them *Escherichia coli*, 9 of them *Proteus vulgaris* and 7 of them were *Klebsiella pneumoniae*.

As a result, natural microbial flora in The Porsuk River can biodegrade detergents. On the other hand, detergent pollution shouldn't be more than a certain concentration rate.

Keywords: Detergent Active Substances, Surfactant, Biodegradation

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde, yol gösterici düşünce, değerli bilgileri ve yardımları ile bana her zaman için destek olan değerli hocam Prof. Dr. Merih KIVANÇ'a öncelikle teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarımda kullandığım deterjan aktif maddelerinin temin edilmesinde yardımları olan, Procter&Gamble firmasında görevli Berna PASİN'e, yine bu firmadan bilgilerine danıştığım Rita ÖZBIYIKLIYAN'a, ayrıca Procter&Gamble ve Lever firmalarının çalışmama göstermiş oldukları ilgilerine teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Deneylemin yürütülmesinde bilgilerine danıştığım hocam Yrd. Doç. Dr. Kıymet GÜVEN'e, Arş. Gör. Nuray KARAKAŞ'a, Uzman Levent AKYALÇIN'a, Öğr. Gör. Nalan YILMAZ'a, Öğr. Gör. Filiz SUSUZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bütün çalışmalarımı bana her zaman destek olan sevgili eşim Nezihat ÇAKIR'a ve emeği geçen herkese teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOD.....	14
2.1. Materyal	14
2.1.1. Su Örneklerinin Alınması	14
2.1.2. Deterjan Aktif Maddeleri	15
2.1.3. Kontrol Mikroorganizması	15
2.1.4. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler	15
2.1.4.1. Deterjan agar	15
2.1.4.2. Nütrient agar (Difco)	16
2.1.4.3. Mannitol-egg-yolk-polymyxine-agar (M.Y.P.-agar)	16
<i>Bacillus</i> selektif agar (Merck)	
2.1.4.4. GSP-Agar (Merck)	17
<i>Pseudomonas</i> selektif agar	
2.1.4.5. Hareketlilik-nitrat ortamı	17
2.1.4.6. Simmon sitrar agar (Oxoid)	17
2.1.4.7. Nişasta agar	18
2.1.4.8. Nütrient jelatin ortamı	18
2.1.4.9. MR-VP broth	18
2.1.4.10. Trypton broth	19

2.1.4.11. Laktoz broth (fenol-red ilaveli)	19
2.1.4.12. Karbonhidrat fermentasyon ortamları	19
2.1.4.13. Stok aktif madde çözeltisi	20
2.1.4.14. Standart aktif madde çözeltisi	20
2.1.4.15. Metilen mavisi çözeltisi (30 mg/l)	20
2.1.4.16. Fenolfitalein indikatör çözeltisi	20
2.1.4.17. Fosfat yıkama çözeltisi	20
2.1.4.18. Sodyum hidroksit çözeltisi (10 gr/l)	21
2.1.4.19. Sülfirik asit stok çözeltisi (% 14'lük)	21
2.1.4.20. Sülfirik asit dilüsyon çözeltisi (% 0.7'lik)	21
2.1.4.21. Fosfat tampon çözeltisi	21
2.1.4.22. Magnezyum sülfat çözeltisi	21
2.1.4.23. Kalsiyum klorür çözeltisi	21
2.1.4.24. Demir (III) klorür çözeltisi	22
2.1.4.25. Kristal viyole boyası	22
2.1.4.26. Safranin boyası	22
2.1.4.27. İyodür (lugol) çözeltisi	22
2.1.4.28. Kovaks çözeltisi	22
2.1.4.29. α -Naftol çözeltisi	22
2.1.4.30. KOH çözeltisi (% 40'lık)	23
2.1.4.31. Metil kırmızısı indikatör çözeltisi	23
2.1.4.32. Tetrametil p-fenilen diamin dihidroklorid çözeltisi	23
2.1.4.33. Sülfanilik asit çözeltisi	23
2.2. Metod	24
2.2.1. Metilen Mavisi Metodu	24
2.2.2. Toplam Bakteri Sayımı	25
2.2.3. Test Deterjan Aktif Maddelerini Karbon Kaynağı Olarak Kullanan Bakterilerin Sayımı ve İzolasyonu	26
2.2.4. <i>Bacillus</i> Sayımı	26
2.2.5. <i>Pseudomonas</i> Sayımı	26
2.2.6. Koliform Bakterilerin Sayımı	26

2.2.7. NO ₃ -N, NO ₂ -N, NH ₃ -N ve Total Cl ₂ Ölçümleri	27
2.2.8. Çözülmüş Oksijen ve Biyolojik Oksijen Gereksinimi (BOD) Ölçümleri	27
2.2.9. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Testleri	28
2.2.9.1. Gram boyama	28
2.2.9.2. Katalaz üretimi	29
2.2.9.3. İndol üretimi	29
2.2.9.4. MR-VP (Metil Red-Voges Proskauer) testi	29
2.2.9.5. Sitrat testi	30
2.2.9.6. Sitokrom oksidaz üretimi	30
2.2.9.7. Hareketlilik testi	30
2.2.9.8. Nitratların indirgenmesi testi	30
2.2.9.9. Nişasta hidrolizi (amilaz üretimi)	31
2.2.9.10. Jelatin hidrolizi (jelatinaz üretimi)	31
2.2.9.11. Karbonhidratların fermentasyonu	31
2.2.9.12. Endospor boyama	32
3. BULGULAR	33
3.1. Porsuk Çayı'ndan Alınan Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik İncelenmesi	33
3.2. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda Biyolojik Parçalanması	33
3.3. Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarındaki Deterjan Aktif Maddelerinin Parçalanması	43
3.4. Porsuk Çayı Suyunda Deterjanları Kullanabilen Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Tanımlanması	50
3.5. Tanımlanan Bakterilerin Aktif Maddeleri Parçalama Oranları	56
4. SONUÇLAR, YORUM VE ÖNERİLER	61
4.1. Porsuk Çayı'ndan Alınan Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik İncelenmesi	61

4.2. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda	
Biyolojik Parçalanması	63
4.3. Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarındaki Deterjan	
Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda Parçalanması	67
4.4. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı'ndan	
İzole Edilen Bakteriler Tarafından Parçalanması	69
5. KAYNAKLAR	72
6. EKLER	75
EK-1 LAB ve SLES Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi	75
EK-2 ALES ve ALS Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi	76
Ek-3 NI Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. Çalışmamızda Porsuk Çayı üzerinde belirlenen istasyonlar	14
2.1. Durgun ortamda deterjan aktif maddelerinin 36 gün sonunda ortamda kalan deterjan %'leri	43
3.1. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki SLES aktif maddesinin parçalanması	45
3.2. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında SLES aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi	45
3.3. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki LAB aktif maddesinin parçalanması	46
3.4. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında LAB aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi	46
3.5. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki ALES aktif maddesinin parçalanması	47
3.6. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında ALES aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi	47
3.7. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki ALS aktif maddesinin parçalanması	48
3.8. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında ALS aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi	48
3.9. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki NI aktif maddesinin parçalanması	49
3.10. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında NI aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi	49
4.1. Hareketlilik testi	51
4.2. Nitrat indirgenmesi testi	51
4.3. Sitrat, Metil kırmızısı ve Voges Proskauer testi	52
4.4. Karbonhidratların fermentasyon testleri	52
5.1. <i>Pseudomonas putida</i> 'nın mikroskop altındaki görünüşü	53

1. GİRİŞ

İlerleyen teknoloji topluma kolay yaşama şartları kazandırırken, çevreye yeni kirletici unsurlar katmakta ve giderek doğal dengeyi bozmaktadır. Çok geniş bir kullanım alanı bularak, üretim ve tüketim miktarları büyük ölçüde artan yüzey aktif maddeler de bu kirletici unsurlar arasındadır. Özellikle "sert" kategoride yer alan deterjanlarda, biyolojik oksidasyon ve parçalanma daha uzun sürede gerçekleşmektedir [1].

Deterjanlar, genel temizleme işlerinde kullanılan ve içerisinde, esas temizleyici olarak alkil sülfat ve alkil aril sülfonat tipindeki anyonik yüzey aktif maddeler ve temizleme işlemine yardımcı diğer maddeler bulunan toz, granül, yumuşak kıvamlı veya sıvı haldeki karışımlardır [2].

Deterjanlar, temelde evlerde ve endüstride, deri, kağıt, tekstil, kozmetik, fotoğrafçılık, çamaşırhanelerde, lastik endüstrisinde, gıda endüstrisinde süt ve meşrubat fabrikalarında şişe yıkama işlemlerinde büyük ölçüde kullanılmaktadır [2].

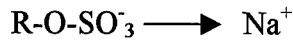
Bu asrın başında, sabun elde edilmesinde kullanılan yağların kıtlığı, temizleyici başka maddelerin bulunması için çalışmaların başlamasına neden olmuştur. Bu nedenle, ham petrolden sentetik yolla elde edilen deterjanların üretilmesine başlanmıştır. ABD'de ilk olarak 1932 yılında kullanılmaya başlanan deterjanlar, II. Dünya Savaşı ve daha sonra giderek yaygın bir biçimde kullanılmaya başlanmıştır. 1953 yılında sabun üretimiyle eşdeğerde olan deterjanlar, 1970 yılında toplam temizleyicilerin % 85'ini oluşturacak kadar hızla yayılmıştır [3].

Deterjanlar, suda çözündüklerinde verdikleri iyonun yüküne göre anyonik, katyonik, noniyonik (iyonik olmayan) ve amfoterik (ampholytes) deterjanlar olarak 4 grupta toplanmıştır [2].

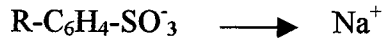
Katyonik, noniyonik ve amfoterik deterjanların kullanışları sınırlıdır. Anyonik deterjanlar ise daha çok temizlik işlerinde kullanılmaktadır [3]. 1987 yılından itibaren batı ülkelerinde üretilen yüzey aktif maddelerinin, % 62'si anyonik, % 29'u noniyonik, % 9'u katyonik, % 5'i amfoterik özellikte olduğu bildirilmiştir [2].

Anyonik deterjanlar; sulu çözeltide $R-O-SO_3^- - CH_3(CH_2)_n$ gibi negatif yüklü bir grup veya anyon vermektedir.

Anyonik deterjanlar iki kısımda toplanmaktadır. Bunlardan biri; primer veya sekonder sodyum alkil sülfatlarıdır.

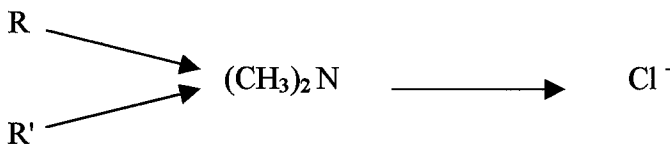


Diğeri ise sodyum alkil benzen sülfonatlar (alkil veya aril) dir.

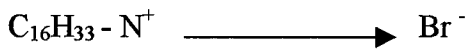


Ençok kullanılan ve evlerde tüketilen deterjanlar, anyonik deterjan grubuna aittir. Genel olarak sodyum tetrapropilen veya dodesil benzen sülfonat ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-ONa}$) yapısındadır ve uzun zincirli alkil gruplarının bir karışımıdır. Bütün bu bileşiklerde hidrokarbon zinciri hidrofob, sülfat ve sülfonat grupları ise hidrofilyk olup, deterjanların suda çözünmesine yardım etmektedirler [2].

Kasyonik deterjanlar; organik bazların tuzlarıdır. İyonize oldukları zaman, pozitif yüklü hidrofob, amonyum veya pridinyuma ve negatif yüklü hidrofilyk gruba ayrılmaktadır.



R ve R' uzun hidrokarbon radikalidir.



Setil pridinyum bromür

Bu tip deterjanların bakteriyölçürücü özelliğı vardır. Yiyecek fabrikaları, restoranları, otellerdeki eşyaları ve mutfak kaplarını yıkamakta, ayrıca eczacılıkta kullanılmaktadır [2].

Noniyonik deterjanlar; suda tamamen iyonize olmamaktadır. Alkil fenollerin poliglikol eterleri ($\text{R-C}_6\text{H}_4\text{- (C}_2\text{H}_4\text{O)}_n\text{-OH}$) bu gruptandır.

Şekerin yüksek yağ asitleriyle yaptığı mono, diesterleri $\text{C}_{14}\text{-C}_{18}$ (palmitik, stearik, oleik asit vb.) bir katalizörle (K_2CO_3) dimetil formamit çözeltisinde, yağ asitlerinin metil esterleri ile sakkaroz kondensasyonu yapılarak hazırlanan bu deterjanlar son yıllarda geliştirilmiştir. Bu nedenle deterjanlar renk açma özelliklerinden dolayı tekstil sanayiinde yaygın olarak kullanılmaktadır [2].

Amfoterik (ampholytes) deterjanlar; asidik ortamda katyonik, bazik ortamda anyonik özellikte olan deterjanlardır [2].

Ticari sentetik deterjanların temel yapısı, yüzey aktif madde olmasına karşın, diğer bileşenleri de içermektedir. Aktif kısım olarak kullanılan miktar % 20-40 arasında değişmektedir. Bu aktif bileşene ilaveten ürünün % 30-50 kadarı dehidrate fosfat olup, kirin süspansiyon, dispersiyon ve emülsifikasyonunu kolaylaştırmaktadır. Sentetik deterjanlarda yaklaşık % 20 oranında bulunan sodyum sülfat ilave bir elektrolit gibi davranarak ıslatma ile dispersiyona yardım etmektedir. Sodyum silikat ise metallerin, özellikle alüminyumun korozyonunu kontrol etmektedir. Bileşimin kalan kısmı, köpüğün stabilize edilmesi için yağ asitleri, beyazlaştırıcı (sodyum perborat gibi), kirin kumaş üzerine tekrar çökmesini engellemek için sodyum karboksil metil selüloz gibi maddeler içermektedir [4].

Yapıcı maddeler, birçok fonksiyonu birden yerine getirerek yıkamanın tamamlanmasına yardımcı olmaktadır. Yıkama suyundan, tekstilden ve diğer kirli ortamlardan, kompleks teşkil ederek zararsız hale getirme veya çöktürme yoluyla kalsiyum ve magnezyum gibi metal elementlerini uzaklaştırmaktadırlar. Bu maddeler, yıkama suyunun devamlı olarak alkali olmasını sağlayarak, kirlerin yıkama sırasında tekrar tekstil elyafının üzerinde çökme yoluyla birikmesini önlemektedirler. Aynı zamanda yüzey aktif maddelerin yıkama güçlerini arttırmaktadırlar. Yapıcı maddeler, alkaliler, kompleks yapıcılar ve iyon değiştiriciler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır [5].

Alkalilerde, en çok sodyum karbonat ve sodyum silikat kullanılmaktadır. Suyun sertliğini arttıran metal iyonlarını çöktürmektedirler. Deterjan çözeltisinin pH'sını dengede tutarak kirlerin ve tekstil elyafının negatif potansiyelini arttırıp bazı kirlerin tekrar elyaf üzerine çökmesini önlemektedirler. Fakat toprak alkali karbonat ve silikatlarının elyaf ve çamaşır makinası parçaları üzerinde toplanmasına neden oldukları için bir deterjanın yapısında yalnız başlarına kullanılmamaktadırlar [5].

Kompleks yapıcılarda, en çok sodyum tripolifosfat (STPP) kullanılmaktadır. Alkalilere göre çok büyük avantajlar sağlamaktadır. Su sertliğine neden olan metal iyonlarını kompleks olarak bağlayıp, zararsız hale getirmekte ve bir çözeltiliye neden olmamaktadır. Ayrıca ağır metal iyonlarını da kompleks halinde bağlamaktadır. Bu

özelliğine ek olarak STPP tampon etkisi nedeniyle yıkama çözeltisinde alkaliliğin devamlılığını sağlamaktadır. Sodyum difosfat, sodyum trifosfat, nitrilotriasetik asit (NTA), EDTA, sitrik asit, bazı fosforik asit türevleri ile bazı polikarboksilik asitler de kompleks yapıcı maddeler arasında yer almaktadır [5].

İyon değiştiriciler kalsiyum ve magnezyum metalleri sodyum iyonu ile değiştirerek zararsız hale getirmektedirler. İyon değiştiricilerden en çok Zeolit-A (Sasil) kullanılmaktadır [5].

Deterjanların bileşiminde bulunan beyazlatıcılar, enzimler, kir çökmesini önleyici maddeler, köpük ayarlayıcılar, optik beyazlatıcılar ve korozyon önleyiciler de temizleme işleme yardımcı olmaktadır [5].

Son yıllarda NTA (Nitrilotriasetik asit) deterjanlarda fosfatın yerine kullanılmaktadır. Fosforun, alg büyümesinde önemli bir besleyici element olduğu bilinmektedir. Ötrofikasyon olayının, fosfatın deterjanlardan ayrılması ile daha iyi kontrol altına alınabileceği düşünölmektedir. Bu da deterjan formöllerinde değişiklik yapmayı gerektirmektedir [2].

Günümüzde binlerce sentetik deterjan hazırlanmaktadır. Bunlar hidrofobik ve hidrofilik özellikte iki ayrı grup taşımaktadırlar. İki grubun suya karşı zıt davranışı, temizlenecek materyaller üzerindeki hidrofobik karakterdeki kirlere uzaklaştırılması yeteneğini ortaya çıkarmaktadır [6]. Molekülün hidrofobik kısmı yani uzun hidrokarbon kısmı yağ ve kirlere yapışmaktadır. Hidrofilik uç, kir moleküllerini dokudan uzaklaştırarak suya geçirmektedir [4].

Birçok üstün özellikleri nedeniyle sabuna tercih edilen sentetik deterjanların yarattığı çevre sorunları ekonomik gelişme ve nüfus artışı sonucunda her geçen gün büyük boyutlara ulaşmakta ve gelecekte de ne gibi sorunlar getireceği kesin olarak bilinmemektedir. Deterjan artıklarının, toprağa, kanalizasyonla denizlere, göllere ve nehirlerle karışması sonucu çevrede büyük zararlar oluşmaktadır [7]. Deterjanlar, toprak geçirgenliğinin değişmesine neden olurlar. Bunun yanında mikroorganizmalar, köpük içinde birikerek etrafa yayılırlar. Bu sular, sulama suyu olarak kullanıldığında, köpük içerisindeki mikroorganizmalar, bitki ve hayvanlara zarar verebilmektedir. Deterjanlar, su arıtılması sırasında problemlere neden olmaktadır. Deterjanlar içerisinde katkı maddesi olarak kullanılan fosfatlar, su bitki ve canlılarını etkilemektedir [2].

Ayrıca yüzey aktif maddeler, sudaki çözünmüş oksijen miktarlarına etki ederek biyolojik oksijen gereksinimi ile kimyasal oksijen gereksinimi arasındaki dengeyi bozmaktadırlar. 1 mg/lt konsantrasyonda deterjan yapısını oluşturan alkil aril sülfat, suyun havalanma derecesini düşürmektedir. Bu durum suda yaşayan canlılar ve doğal suların kendi kendini arıtması açısından büyük önem taşımaktadır [3].

Atıksu arıtma tesislerinde deterjanlar, hava su ara yüzeyinde köpük oluşturarak, oksijenin suya verilmesini kısıtlamaktadırlar. Havalandırma tankı çıkışında yapılan ölçümler, içinde 13 g/m³ ABS (alkil benzen sülfonat) bulunan atıksuların oksijen içeriğinin, sürekli olarak, hiç ABS bulunmayandan daha az olduğunu göstermiştir. Oksijenin toplam absorpsiyon katsayısı bu durum için % 12 azalma göstermiştir. Yine 13 g/m³ 'lük bir derişimde LAS (lineer alkil sülfonat) hiçbir etki göstermemiştir. Ayrıca deterjanlar biyolojik prosesleri inhibe edici etki de gösterebilmektedirler [4].

Katyonik deterjanlar, düşük derişimlerde bile proteolitik bakterilerin gelişmesini engellemektedir. Bu deterjanlar 1-100 g/m³ derişimlerde azot bakterileriyle alglerin gelişmesini tamamıyla durdurmakta, 0.01 g/m³ derişimde büyümeyi yavaşlatmaktadır [4].

Evsel atıkların yeraltı sularına ulaşması durumunda ayrışmaya uğramayan deterjanlar, içilerek bünyeye alınmakta ve olumsuz etkilere neden olmaktadır. Ülkemizde bu konuda yapılan çalışmalar, yöresel olarak içme sularında Dünya Sağlık Örgütü'nce saptanan tehlikeli sınırın 140 katına ulaşan miktarlarda deterjan bulunduğunu ortaya koymuştur [4].

Türkiye'de alkil benzensülfonat veya sodyum tetra propilen benzen sülfonat gibi sert deterjanların tercih edilmesi ve ayrıca dolgu maddesi olarak da fosfat veya sülfatlar yerine % 50 oranında soda katılmakta olması halk sağlığını bozucu etkilerini daha fazla arttırabilmektedir [1].

Büyük şehirlerimizin içme ve kullanma sularındaki deterjan miktarları izin verilen sınırları geçmiştir [1].

0.5-0.6 ppm konsantrasyonlarda suya sabunsu özellik verebilirken 0.8 ppm seviyesindeki akarsuyu ve musluk suyunu köpürtebilen ve 50 ppm'lik konsantrasyonu aştıklarında suyun tat, koku, vb. özelliklerini bozabilen deterjanlar bu suları içen veya bu suların beslediği çayırları yiyen hayvanlara da zarar vermektedirler [1].

Deterjanların derin sulara ulaşmaları da özellikle kanalizasyon tertibatının bulunmadığı kırsal bölgelerde sık rastlanan bir durumdur. Atık suları yerleşim bölgesinden uzağa taşıyan kanalizasyon sistemi yoksa, deterjan içeren ev ve endüstri atık sularının septik çukurlardan veya birikinti sularından toprağın derinliklerine sızması mümkün olmaktadır. Bu deterjanlar, yeraltı suyundan yararlanmak için açılan kuyulardan insan, hayvan ve bitkilere yeniden ulaşabilmektedirler [1].

Merkezi Londra'da bulunan "Sentetik Deterjanlar Daimi Teknik Komitesi" 4. gelişim raporunda aldığı kararla, deterjanların da bir kirlilik indikatörü olarak kabul edilmelerini, bakteriyolojik ve fizik özellikleriyle temiz görünen bir suda 0.5 ppm'den fazla deterjan bulunması halinde o suyun kirli kabul edilmesini önermiştir. Deterjanların suda bulunmasına izin verilen miktarı Amerika ve Avrupa'nın birçok ülkesinde 0.5 ppm olmasına rağmen, Dünya Sağlık Örgütü'nün temkinli bir yaklaşımı ile bu seviye 0.2 ppm'de tutulmaktadır [1].

İçme ve kullanma sularında giderek artan derişimlerde deterjana rastlanması bu maddelerin toksisitesi konusunda pek çok soruyu gündeme getirmiştir. Yapılan çalışmalarda çeşitli yüzey aktif maddelerin toksisitesinin büyük değişim gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin; bazı yüzey aktif maddelerin LD₅₀ değeri çok küçük olmasına karşın, diğerleri çok farklı sonuçlar vermiştir [4].

Kural olarak katyonik yüzey aktif maddeler en büyük toksisiteye sahiptir. Ancak katyonikler, anyonikler varlığında, nötralizasyon nedeniyle aynı etkiyi gösterememektedir. Bu nedenle anyonikler (su kirliliğine neden olan grup) suda bulunduğu sürece katyoniklerin toksik etkisi konusunda önemli bir sorun oluşturmamaktadır [4].

Deterjanlar, özellikle toksik etkileri yanında, toksik dozun altında da sulardaki biyolojik yaşam üzerinde birçok olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Sucul hayvan türlerinde patolojik, embriyolojik, reproduktif, fizyolojik, biyokimyasal ve diğer etkilere sebep olurken, sucul bitki türlerinde klorozis, klorofil-protein kompleksinin parçalanması, membrana zarar vererek hücre ölümü, metabolizma ve büyümenin geciktirilmesi, patomorfolojik başkalaşımalar, biomas artışında, protein ve DNA sentezinde azalmalar gibi deterjana bağlı etkiler deneylerle gösterilmiştir [7].

Etkili deterjan kirlenmesinin, en çok insanların besin kaynaklarının başında gelen sucul ortamlarda olması, insanları doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Tüm çevre kirliliği açısından dikkate alındığında, bu tür su kirliliğinin canlı sistemler arasındaki ve diğer etkileşimlerden dolayı, canlılar üzerinde dikkate değer olumsuz etkilere neden olduğu görülmektedir [7].

Karşılaştırmalı bir çalışmada, deterjanların etkisine karşı balıkların, omurgasızlara göre daha hassas oldukları bildirilmektedir [7].

Kronik toksisite etkileri üzerindeki çalışmalarda ise kullanılmasına izin verilen en yüksek konsantrasyon değeri 0.6 mg/l olarak tespit edilmiştir. 0.5 mg/l'lik LAS veya ABS konsantrasyonunun aynı zamanda balıklara yem olan diğer canlılara da zarar verdiği, balıkların tat alma organlarını çalışmaz hale getirdiği ve yeni yumurtadan çıkmış balık yavrularının yaşama şanslarını ise büyük ölçüde düşürdüğü bildirilmektedir. Büyük balıkların ise ABS konsantrasyonu 1 mg/l olan sulardan derhal kaçtığı, fakat konsantrasyon 10 mg/l olduğu zaman olasılıkla tat alma organlarındaki zarar yüzünden çok etkilenmiş görünmelerine rağmen temiz sulara kaçmadıkları ve zarara uğradıkları rapor edilmiştir [7].

Balıklar, ABS'ye karşı en fazla duyarlı olan canlılardır (96 saat LC₅₀ 0.8-6.5 ppm), ikinci sırada midye (96 saat LC₅₀ 5-100 ppm) bulunur ve çok daha dayanıklı canlılar Krustase'lerdir (96 saat LC₅₀ 25-100 ppm). Türlerin fizyolojik ve anatomik özellikleri, bu etki değişkenliğinin sebebidir. Kural olarak daha aktif türler, ağır hareket edenlere göre daha fazla etkilenmektedir [8].

İçme sularına deterjan karışması, sentetik deterjanların 3,4 benzopiren gibi kanserojen maddelerin çözünmesine neden olmaktadır [4].

Türk içme suyu standartlarında ABS için verilen 0.5 mg/l değeri, pekçok ülkede de kabul edilen standart olup, bu derişim toksikolojiktan ziyade estetik nedenlere dayanmaktadır. ABS bu derişimlerde toksik olmamasına karşın, çeşmeden alınırken köpük yapabilmektedir. Ayrıca bu derişim, suyun en az % 5'inin atık orijinli olduğunu ortaya koyan bir indikatör niteliğindedir [4].

İçme suları ve detarjanlarla temizlenmiş besin kaplarında kalan artıklar, insanlar tarafından absorbe edilmemektedir. Sindirim yolu ile bir bireyin bir yılda 1gr. deterjan aldığı hesaplanmıştır. Londra'da Rayne Enstitüsü'nde yapılan bir araştırmada içme

sularına bir kaç ay boyunca % 1 deterjan çözeltisi karıştırılan altı farenin sindirim kanallarının çeşitli bölümlerinde iltihabi ve atrofik değişiklikler meydana geldiği görülmüştür. Yine İstanbul DETAM'da yapılan bir çalışmada 0.03 mg/gün-0.20 mg/gün arasındaki dozlarda belirli bir süre yemlerine karıştırılan deterjanla beslenen farelerde 0.15 mg/kg dozdan başlayarak mide-ince bağırsak ve kalın bağırsakta yüzeysel erozyonlar; kronik iltihabi belirtiler, ülserasyon gibi bulgular tesbit edilmiştir. Toksikoloji ve gastronomi açısından tabakları, bardakları ve diğer kap kacağı deterjan ile temastan sonra iyice yıkayıp durulamak ve kurulamak gerekmektedir [7].

Devlet Planlama Teşkilatı, Türkiye'de 1992 yılında deterjan üretiminin 300.000 tona yaklaştığını, tüketiminin de bu miktara yakın olduğunu bildirmiştir [5]. 1988-1992 yılları arasında % 46'ya yakın bir üretim artışı olmasına rağmen kişi başına tüketim, AET ülkelerine göre 1/5 oranında gerçekleşmiştir [5].

Biyolojik parçalanma, deterjanların karbon kaynağı olarak kullanılmasıyla gerçekleşmektedir.

Son 25 yıl içinde birçok ülke, deterjan üretiminde biyolojik parçalanabilen yüzey aktif maddeler ve katkı maddeleri kullanmaktadır. Yüzey aktif maddesi lineer alkil benzen (LAB) ve benzeri yapıda olan deterjanlar, su ve toprakta daha hızlı parçalandığından deterjan üretiminde tercih edilmektedirler [3].

Tüketicinin kullanımının bir sonucu olarak ve nehir sularına ulaşmadan önce deterjan kimyasallarının düzenlenmesi nedeniyle, biyoayırma çalışmalarına gereksinim duyulmuştur. Bu kimyasalların, akuatik mikrobiyal komünitelerin, metabolik aktivitelerinin bir sonucu olarak, ayrışmaya maruz kalmalarına rağmen, çevredeki ksenobiyotik organik bileşiklerin ayrışmasının oluşumu ve herşeyden önce önemi; özellikle sentetik deterjan ürünlerinde kullanılan kimyasallar için, henüz kayda değer bir ilgi sağlamamıştır. Bu ilgi azlığı, akuatik çevrenin sınırsız bir çöplük olmadığı ve belirli kimyasalların, gıda zincirinde biyolojik olarak biriktiği düşünülürse sonuç şaşırtıcıdır [9]. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından bildirildiğine göre; Larson and Payne bazı deterjan kimyasalları için, su yüzeyi çevrelerinde önemli biyoayırma aktivitesinin var olduğunu gözlemlemişlerdir.

Suda bulunan doğal mikroorganizmalardan bazıları deterjanlara adapte olmuşlardır. Uygun sıcaklık koşullarında parçalanmanın tamamlanabilmesi için uygun

bir zamana gereksinim vardır. Eskiden kullanılan tetrapropilen benzensülfonat %30 oranında parçalanmaya uğrarken, günümüzde kullanılan deterjanların %90 oranında parçalanmaya uğradığı bildirilmiştir [2].

Farklı tuzluluktaki suların yumuşak deterjanları %80-90 arasında biyolojik parçalanmaya uğrattığı saptanmıştır [2].

Alkil benzen sülfonatlar (ABS), sentetik deterjanlarda kullanılan yüzey aktif maddeler ve anyonik dallanmış zincirli hidrokarbonlardır. Normal atık su arıtma işlemlerine karşı oldukça dayanıklıdırlar. Mikroorganizmalarla parçalanamayıp, doğal sularda birikime neden olmaktadır. Bu nedenle, birçok ülkede ABS üretimi durdurulmuş ve daha fazla biyolojik ayrışmaya uğrayabilen lineer alkil benzen sülfonatlar (LAB) kullanılmaya başlanmıştır [8].

Lineer alkil benzen sülfonat ve alkil etoksilat gibi yüzey aktif maddelerin biyolojik parçalanmasının tam anlamıyla başarıldığı bildirilmiştir [10].

Deterjan ve şampuanların bulunduğu nehir suyu örneklerinde doğal mikrobiyal kommunitelere gibi hücre sayısındaki artışın, metabolik işlemler için tek karbon ve enerji kaynağı olarak sülfektanların kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir. Deterjan ve şampuanlardaki sodyum tripolifosfat gibi maddeler, mikrobiyal gelişme için besin kaynağı olarak da kullanılabilirler. Sıvı deterjanlarda, sodyum tripolifosfat şeklinde fosfor bulunmaktadır. Fosforun gelişme için gerekli olabileceği bildirilmiştir [9].

Deterjan ve şampuanlardaki sürfaktanların ayrışabilirliği, nehir suyunda die-away test metoduyla incelenen bir çalışmada; şampuanların, sıvı deterjanlara göre daha hızlı bir primer biyolojik parçalanmaya uğradığı bildirilmiştir. Parçalanmanın kolaylığının, deterjan ve şampuanların yapılarında içerdiği sülfat konsantrasyonlarıyla bağlantılı olduğu belirtilmiştir. İncelenen deterjan ve şampuanların, mikrobiyal gelişimi desteklediği bildirilmiştir [9].

Griffiths, Hales et al. [11], ister saf, isterse ticari deterjan karışımlarının bir bileşeni olsun, sodyum dodesiltrioksitoksit [35S] sülfatın (SDTES), nehir suyunda die-away testlerinde, karışık bakteri kültürlerinde hızlı primer biyoayrışmaya uğradığını rapor etmişlerdir. Sülfatın tam mineralizasyonunun gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Sentetik bileşenlerin çevresel kabul edilebilirliğini test etmek için, biyoayrışabilirlik testlerinde, genelde mikroorganizmaların karışık kültürleri kullanılmıştır [9]. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından bildirildiğine göre; Swisher, bu testleri, mikrobiyal ayrışmaya, kimyasalın duyarlılığını belirleyen biyoayrışabilirlik potansiyel testleri ve ilgili çevre şartlarında, biyoayırışma oranları üzerine bilgi sağlayan simülasyon testleri (örneğin; nehir suyunda die-away testleri) olarak iki grupta toplamıştır.

Yapılan bir çalışmada, satılan bazı deterjanların biyolojik parçalanmaya dirençli bileşenler içerdiği belirtilmiştir. Bu kimyasal ürünler, kanalizasyon gibi akuatik çevreye karışıklarında, dirençli olarak kalmaya devam ettikleri bildirilmiştir [12].

Özkalp ve Özçelik [13], çeşitli deterjanlar kullanarak yaptıkları çalışmada, başlangıçta 200 mg deterjan içeren ortamlarda 18 günlük inkübasyon sonunda, toprak mikroflorası tarafından % 38.61-% 61.56 oranlarında; atıksu mikroflorası tarafından % 36.70-% 60.03 oranlarında ve deterjan ilave edilmemiş ortamda ise % 7.05-% 13.86 oranlarında deterjanların parçalandığını; aynı deterjanların *E. coli* tarafından % 34.59-% 56.59 oranlarında ve *P. aeruginosa* tarafından ise % 38.23-% 65.77 oranlarında parçalandığını bildirmişlerdir.

Ćosović, Vojvodić et al. [14], Yugoslavya'da üç nehirde yapmış oldukları çalışmada, üç haftalık inceleme periyodunda nehirdeki yüzey aktif maddelerinin parçalanmaya dirençli olduğunu ve bu aktif maddelerin % 20'den daha az oranda parçalandıklarını bildirmişlerdir.

Ćosović, Vojvodić et al. [14] tarafından bildirildiğine göre; Fischer, son yıllarda deterjanlarda, biyolojik olarak parçalanamayan bileşiklerin yerine, biyolojik olarak parçalanabilen bileşiklerin kullanılması nedeniyle, dünya nehirlerinde daha düşük deterjan miktarlarının bulunduğunu bildirmiştir.

Okpokwasili and Olisa [9] tarafından yapılan bir çalışmada, Apollo, Triton X-100, Teepol, Spencer, Flex, Rainbow ve SDS deterjan ve aktif maddelerinin biyolojik parçalanması incelenmiş ve bu deterjanları kullanan mikroorganizmalar sayılmıştır. Mikroorganizma sayısı en yüksek olan Teepol aktif maddesinde, en hızlı parçalanmanın olması beklenirken az parçalanma olduğunu, mikroorganizma sayısı düşük olan SDS ve Triton X-100 aktif maddesinde ise daha fazla parçalanma olduğu bildirilmiştir.

Hales et al. [15], yaptıkları çalışmada, deterjanları parçalayan 4 bakteri türü tarafından, sodyum dodesiltrioksülfatın (SDTES) biyolojik parçalanmasını incelemişlerdir. İki izolatanın SDTES'den direk olarak sülfatı serbest bırakmalarının, anyonik sürfektanların primer biyolojik parçalanmasında önemli olduğunu ve parçalanmaya %30-40 oranında katkı sağladıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Okpokwasili and Olisa [9], yüksek sülfat konsantrasyonlarında, yüksek oranda parçalanma olduğunu saptamışlardır.

Schwab, Maruscik et al. [16] tarafından bildirildiğine göre; Lewis and Holm, akuatik sistemlerden, ksenobiyotiklerin ve sürfektanların uzaklaştırılmasında biyolojik parçalanmanın önemli bir yeri olduğunu bildirmişlerdir. Shimp, Schwab et al. [17] a göre, ortama adapte olmuş doğal mikroorganizmalar, deterjanları daha iyi parçalayabilmektedirler. Bunun da kimyasalların biyolojik parçalanmasında, ortama adapte olmuş mikroorganizmaların artması ile olabileceğini bildirmişlerdir.

Okpokwasili and Olisa [9], yaptıkları çalışmanın sonucunda, ortamda bulunan yüksek sayıdaki mikroorganizmaların, deterjanları en fazla parçalayan olmasının gerekmediğini bildirmişlerdir.

Pehlivan, Özçelik vd. [6], 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l ve 2 mg/l DABS aktif maddesi içeren Keban Baraj Gölü suyunda 32 günlük sürede, DABS aktif maddesinin parçalanmasının % 50'nin üzerine çıkamadığı, aynı miktarlarda LABS aktif maddesi içeren suda ise LABS aktif maddesinin parçalanmasının DABS aktif maddesine göre daha fazla oranda olduğunu bildirmişlerdir.

Okpokwasili and Nwabuzor [12], yapmış oldukları çalışmada, deterjanları parçalayan mikroorganizmaları izole etmişler ve bu izolatların % 33.3'ünün *Pseudomonas*; % 26.7'sinin *Bacillus*; % 13.3'ünün *Proteus*; % 6.7'sinin *Vibrio* ve % 6.7'sinin *Actinomyces* olduğunu bildirmişlerdir.

Okpokwasili and Olisa [9], çalışmalarında nehir suyundaki deterjanları parçalayan bakteri izolatlarının % 43.3'ünün *Vibrio*; % 10'unun *Flavobacterium*; % 10'unun *Klebsiella*; % 6.7'sinin *Pseudomonas*; % 6.7'sinin *Enterobacter*; % 6.7'sinin *Bacillus*; % 3.3'ünün *Shigella*; % 3.3'ünün *Citrobacter*; % 3.3'ünün *Escherichia*; % 3.3'ünün *Proteus* ve % 3.3'ünün de *Actinomyces* olduğunu bildirmişlerdir. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından bildirildiğine göre; Gledhill, bu

mikroorganizmalardan bazılarının saf anyonik sürfektan moleküllerinin bir bölümünü asimile edebildiğini rapor etmiştir.

Özkalp ve Özçelik [13], durgun sıvı ortamdaki deterjan parçalanmasının, çalkalanan sıvı ortamdaki parçalanmaya göre daha düşük oranda gerçekleştiğini bildirmişler ve denemede kullandıkları deterjanlarda en fazla parçalayıcı etki gösteren mikroorganizmanın *Pseudomonas aeruginosa* olduğunu saptamışlardır.

Deterjanların parçalanmasında rolü olan koliform bakteriler, Malkoçoğlu [18] tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada 10^2 - 10^4 /100 ml olarak bulunmuştur. Irak'ta Tigris Nehri'nde Khalaf [19] tarafından yapılan bir çalışmada da toplam bakteri sayısının 9.7×10^3 /ml ve koliform bakteri sayısının 21.5×10^2 - 1.0×10^3 /100 ml olarak bulunduğu bildirilmiştir.

Özkalp ve Özçelik [13] tarafından bildirildiğine göre; Lee and Houg, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella* ile yaptıkları çalışmalarda, belirtilen mikroorganizmaların alkil benzen sülfonatın ve dodesil sülfonatın sırası ile % 40-60 ve % 70-75'den fazla oranlarda parçalandıklarını bildirmişlerdir.

Özkalp ve Özçelik [13] tarafından bildirildiğine göre; Hrsak et al, sürekli akış gösteren birimler içinde, lineer alkil benzen sülfonatın parçalanma durumunu *Pseudomonas*'a ait beş tür, *Achromobacter* ve *Acinetobacter*'e ait iki tür ile araştırmışlardır. Araştırmacılar, hiçbir türün lineer alkil benzen sülfonatın tamamını parçalamadığını saptamışlardır.

Orhan ve Büyükgüngör [10], tarafından yapılan bir çalışmada, dodesil benzen sülfonat ve lineer alkil benzen sülfonat gibi kullanımı yaygın yüzey aktif maddelerin *Pseudomonas putida* (DSM 50026) tarafından biyolojik parçalanması, 30 gün süreyle 26 °C'de çalkalamalı ortamda incelenmiş ve DBS ile LAS parçalanma oranlarının sırasıyla % 70 ve % 80 olarak bulunduğu bildirilmiştir.

Takada, Mutoh et al. [20] tarafından bildirildiğine göre; Larson and Payne LAS biyoayırışmasının kirli nehir suyu kullanan deney sistemlerinde, saf bakteri kültürü kullanan sistemlerdekinden daha hızlı olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, ortalama verdisi $10 \text{ m}^3/\text{s}$ ve 488 km uzunluğunda, Sakarya'nın en uzun kolu olan, Eskişehir ve Kütahya'nın kentsel ve bazı sanayi kuruluşlarının atık suları [21]; Kütahya ili kanalizasyon atıkları, Kütahya Mezbahası, Kütahya Şeker

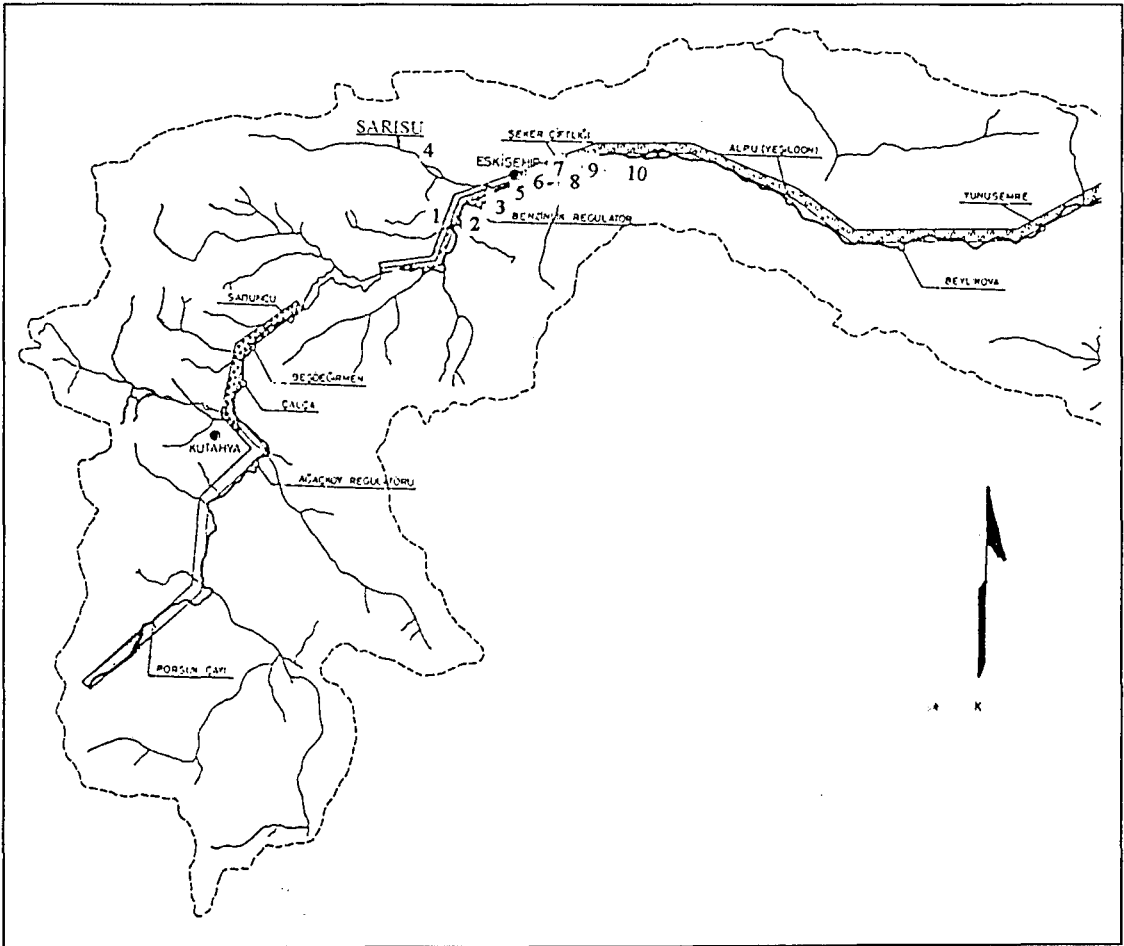
Fabrikası, Azot Fabrikası, Kümaş Manyezit Fabrikası, Sümerbank Basma Fabrikası, Tülomsaş Lokomotif Fabrikası, Eskişehir Şeker Fabrikası, Eskişehir İspirto Fabrikası, Eskişehir Mezbahası, Eskişehir organize sanayiindeki fabrikalar, havzadaki tarım alanları (sulamadan dönen sularla organik maddeler, gübre kalıntıları, pestisitler, herbisitler akarsuya karışmaktadır) gibi kirletici kaynakların sürekli etkisi altında kalan Porsuk Çayı'nda deterjanları parçalayan mikroorganizmalar ile bu mikroorganizmaların doğal ortamdaki deterjanları ve ilave edilen bazı deterjan aktif maddelerini parçalama oranları araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Su Örneklerinin Alınması

Porsuk Çayı'ndan, Regülatör giriş (1) ve çıkışı (2), Sümerbank Basma Fabrikası önü (3), Sarısu (4), Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü (5), Köprübaşı (6), Osmangazi Üniversitesi Çamlık Kampüsü önü (7), Şeker Fabrikası giriş (8) ve çıkış (9), Mezbaşa çıkışı (10) olmak üzere toplam on istasyondan (Şekil 1.1) her ay birer litre su örneği steril şişeler içine alınarak, buz çantası içerisinde laboratuvara getirilip aynı gün incelenmeye alınmıştır.



Şekil 1.1. Çalışmamızda Porsuk Çayı üzerinde belirlenen istasyonlar

2.1.2. Deterjan Aktif Maddeleri

Çalışmadaki, deterjan aktif maddeleri; LAB (Lineer Alkil Benzen), SLES (Sodyum Lauril Eter Sülfat) ve NI (Nitrojen İyodür) Lever'den; ALS (Amonyum Lauril Sülfat) ve ALES (Amonyum Laureth-3 Sülfat) Procter & Gamble'dan temin edilerek kullanılmıştır.

2.1.3. Kontrol Mikroorganizması

Deterjanların parçalanmasında karşılaştırma amacıyla, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service Midwest Area National Center for Agriculture Utilization Research, 1815 North University Street Peoria, Illinois 61604'den sağlanan *Pseudomonas putida* NRRL B-13 suşu kullanılmıştır.

2.1.4. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

2.1.4.1. Deterjan agar

NaCl	5.0 gr/l
KCl	0.6 gr/l
MgSO ₄ .7H ₂ O	7.0 gr/l
NH ₄ NO ₃	1.0 gr/l
Deterjan aktif maddesi	10.0 ml/l
Agar	20.0 gr/l

1 litre distile suyla tamamlanarak, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.2. Nütrient agar (Difco)

Bacto-Et ekstrakt	3.0 gr/l
Bacto-Pepton	5.0 gr/l
Bacto-Agar	15.0 gr/l

Bacto nütrient agar, 23 gr/l olacak şekilde distile suda eritilerek, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.3. Mannitol-egg-yolk-polymyxine-agar (M.Y.P.-agar)

Bacillus selektif agar (Merck)

Pepton	10.0	gr/l
Et ekstrakt	1.0	gr/l
D (-) mannitol	10.0	gr/l
NaCl	10.0	gr/l
Fenol red	0.025	gr/l
Agar-agar	12.0	gr/l
Distile su	900	ml

Otoklav edildikten sonra ayrıca ortama ilave edilenler:

Egg-yolk emülsiyon	100	ml/l
Polymyxin B Sülfate	0.01	gr/l

Besiyeri içeriğine 900 ml distile su ilave edilerek, karıştırılmış ve 15 dakika 121 °C'de otoklav edilmiştir. 45-50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra, ortama 100 ml steril egg-yolk emülsiyonu ve 0.01 gr polymyxin B sülfat eklenerek, karıştırılıp, petrilere dökülmüştür.

2.1.4.4. GSP-Agar (Merck)

Pseudomonas selektif agar

Sodyum L(+) Glutamat	10.0 gr/l
Nişasta,eriyebilir	20.0 gr/l
Potasyum dihidrojen fosfat	2.0 gr/l
Magnezyum sülfat	0.5 gr/l
Fenol red	0.36 gr/l
Agar agar	12.0 gr/l

GSP-agar 45 gr/l olacak şekilde distile suda eritilerek, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.5. Hareketlilik-nitrat ortamı

Et ekstrakt	3.0 gr/l
Pepton	5.0 gr/l
Sodyum nitrat	1.0 gr/l
Gliserol	5.0 ml/l
Galaktoz	5.0 gr/l
Agar	3.0 gr/l
Distile su	995.0 ml

Besiyeri iğeriği, distile suda çözülererek, ısıtılmış ve tüplere aktarılarak pH 7.0±0.2'ye ayarlandıktan sonra, 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.6. Simmon sitrat agar (Oxoid)

Magnezyum sülfat	0.2 gr/l
Amonyum dihidrojen fosfat	0.2 gr/l
Sodyum amonyum fosfat	0.8 gr/l

Sodyum sitrat, tribasic	2.0 gr/l
Sodyum klorid	5.0 gr/l
Bromtimol mavisi	0.08 gr/l
Agar	15.0 gr/l
Distile su	1 litre

Besiyeri distile su içinde çözülerek, ısıtılmış ve tüplere aktarılmıştır. 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.7. Nişasta agar

100 ml nütrient agar içine 2 gr çözünür nişasta ilave edilip, kaynatılarak hazırlanmıştır. Kaynatma esnasında buharlaşmayı önlemek için kabın ağzı kapatılmıştır. Nişasta tamamen çözüldükten sonra pH 6.8-7'ye ayarlanarak ve 121 °C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

2.1.4.8. Nütrient jelatin ortamı

Nütrient broth içine % 4 oranında jelatin ilave edilerek hazırlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

2.1.4.9. MR-VP broth

Pepton	7.0 gr/l
Glukoz	5.0 gr/l
K ₂ HPO ₄	5.0 gr/l
Distile su	1 litre

Besiyeri içeriği, distile su içinde çözülerek 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.10. Tripton broth

Tripton	3.0 gr/l
NaCl	0.3 gr/l
Distile su	100 ml

Tripton ve NaCl distile su içinde çözülerek, tüplere aktarılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.11. Laktoz broth (fenol-red ilaveli)

Et ekstrakt	0.1	gr/l
Pepton	1.0	gr/l
NaCl	0.5	gr/l
Laktoz	0.7	gr/l
Fenol red	0.0018	gr/l
Distile su	100	ml

Besiyeri içeriği distile su içinde çözülerek, tüplere aktarılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.12. Karbonhidrat fermentasyon ortamları

Karbonhidrat fermentasyon deneylerinde kullanılan Sakkaroz, Glukoz, Galaktoz, Arabinoz ve Laktoz'dan 10'ar gr alınmış (filtreden geçirilip steril edilerek) ve 1000 ml steril Nütrient Broth'a ilave edilerek kullanılmıştır.

2.1.4.13. Stok aktif madde çözeltisi

1.0 gr aktif madde tartılarak, distile suyla 1 litreye tamamlanmış ve karıştırılarak, çözülmüştür. Bu çözelti kullanılıncaya kadar buzdolabında 4 °C'de saklanmıştır.

2.1.4.14. Standart aktif madde çözeltisi

10 ml stok aktif madde çözeltisi alınarak, distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Sülfirik asit ile pH 2'ye ayarlanarak, karıştırılmış ve kullanılıncaya kadar buzdolabında 4 °C saklanmıştır.

2.1.4.15. Metilen mavisi çözeltisi (30 mg/l)

0,1 gr metilen mavisi 100 ml distile suda çözülmüştür. Bu çözeltinin 30 ml'si, 1 lt hacimli erlenmeye aktarılarak, üzerine 500 ml distile su ilave edilmiştir. Bu çözeltiye %14'lük sülfirik asit stok çözeltisinden 50 ml ve 50 gr sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) eklenmiştir. Çözelti tamamen çözülene kadar çalkalanmış ve distile su ile 1 lt'ye tamamlanarak iyice karıştırılmıştır.

2.1.4.16. Fenolfitalein indikatör çözeltisi (5.0 g/l)

50 ml % 95'lik etil alkol içinde 0.5 gr fenolfitalein çözülerek, distile suyla 100 ml'ye tamamlanmış ve karıştırılmıştır.

2.1.4.17. Fosfat yıkama çözeltisi

1 lt hacimli erlenmeyerde, 500 ml distile su içinde 50 gr sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) çözülerek, % 14'lük sülfirik asit stok çözeltisinden 50 ml eklenmiş ve distile suyla 1 litreye tamamlanarak, karıştırılmıştır. Çözeltinin pH'sı 1.8'e ayarlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.18. Sodyum hidroksit çözeltisi (10 gr/l)

10 gr sodyum hidroksit (NaOH) 1 lt distile su içinde çözülerek, karıştırılmıştır.

2.1.4.19. Sülfirik asit stok çözeltisi (% 14'lük)

700 ml soğuk (0-5 °C) distile suya, 140 ml konsantre sülfirik asit (H₂SO₄, d=1.84) dikkatli bir şekilde ilave edilerek, distile su ile 1 litreye tamamlanmış ve karıştırılmıştır.

2.1.4.20. Sülfirik asit dilüsyon çözeltisi (% 0.7'lik)

50 ml % 14'lük sülfirik asit stok çözeltisi, 1 litre distile suya tamamlanarak, karıştırılmıştır.

2.1.4.21. Fosfat tampon çözeltisi

8.5 gr potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄); 21.75 gr dipotasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄); 17.69 gr susuz amonyum klorür (NH₄Cl), 500 ml distile su içinde çözülerek, 1 litreye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı 7.2'ye ayarlanarak kullanılmıştır.

2.1.4.22. Magnezyum sülfat çözeltisi

22.5 gr MgSO₄.7H₂O 500 ml distile suda çözülerek, 1 litreye tamamlanmıştır.

2.1.4.23. Kalsiyum klorür çözeltisi

27.5 gr susuz CaCl₂ distile suda çözülerek, 1 litreye tamamlanmıştır.

2.1.4.24. Demir (III) klorür çözeltisi

0.25 gr $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ distile suda çözülerek, 1 litreye tamamlanmıştır.

2.1.4.25. Kristal viyole boyası

20 ml etanolde (% 95'lik) 2 gr kristal viyole çözülmüş ve 80 ml distile suda, 0.8 gr amonyum oksalat çözülerek, bu çözelti alkolde çözülmüş olan kristal viyoleye ilave edilmiştir.

2.1.4.26. Safranin boyası

0.25 gr safranin 10 ml etanolde (% 95'lik) çözülerek, distile su ile 100 ml'ye tamamlanmış ve iyice karıştırılarak, filtre kağıdından süzülmüştür.

2.1.4.27. İyodür (lugol) çözeltisi

1 gr iyot ve 2 gr KI havanda iyice karıştırılarak toz haline getirilmiş ve üzerine yavaş yavaş 300 ml distile su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır.

2.1.4.28. Kovaks çözeltisi

5 gr para-dimetil aminobenzaldehit 75 ml butil alkolde çözülerek, su banyosunda hafifçe ısıtılmıştır. Tamamen çözüldükten sonra 25 ml HCl (% 37'lik) dikkatlice ilave edilerek, karıştırılmıştır.

2.1.4.29. α -Naftol çözeltisi

5 gr α -naftol, 100 ml etanolde (% 95'lik) çözülerek hazırlanmıştır.

2.1.4.30. KOH çözeltisi (% 40'lık)

40 gr KOH, 75 ml distile suda çözülerek, çözelti oda sıcaklığında bir süre bekletilmiştir. Daha sonra 0.3 gr kreatin ilave edilerek iyice çözüldükten sonra, distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak, hazırlanmıştır.

2.1.4.31. Metil kırmızısı indikatör çözeltisi

0.1 gr metil kırmızısı 250 ml etanolde (% 95'lik) çözülüp, üzerine 250 ml distile su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra filtre kağıdından süzülerek kullanılmıştır.

2.1.4.32. Tetrametil p-fenilen diamin dihidroklorid çözeltisi

1 gr Tetrametil p-fenilen diamin dihidroklorid, 10 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

2.1.4.33. Sülfanilik asit çözeltisi

294 ml glasiyal asetik asit, 706 ml distile suya ilave edilerek karıştırılmış ve 8 gr sülfanilik asit ilave edilerek iyice çalkalanmıştır.

2.2. METOD

2.2.1. Metilen Mavisi Metodu

Anyonik deterjanlardaki Alkil Benzen Sülfonatlar (ABS) ve Alkil Sülfatlar (AS), metilen mavisi ile reaksiyona girerek, kloroformda çözünebilen mavi renkli bir kompleks meydana getirirler. Bu maddeler genellikle “metilen mavisi aktif maddeleri” olarak adlandırılmıştır. Kloroform fazına çekilen kompleksin optik yoğunluğu, metilen mavisi aktif maddelerin miktarına bağlı olduğundan, 652 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçülerek miktar tayini yapılmıştır.

Dizi halindeki 7 tane ayırma hunisine sırası ile 0, 1ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, 9 ml ve 12 ml hacimlerde standart aktif madde çözeltisi konularak, distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu standart aktif madde çözeltisi hacimlerine karşılık gelen aktif madde miktarları sırasıyla şu şekildedir: 0, 10 µg, 30 µg, 50 µg, 70 µg, 90 µg ve 120 µg. Bundan sonra herbir ayırma hunisindeki çözeltilere, sırası ile, aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

3 damla fenol fitalein indikatör çözeltisi eklenerek, pembe renk elde edilinceye kadar damla damla sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilmiştir. Pembe renk giderilene kadar damla damla sülfirik asit çözeltisi katılmıştır. 25 ml metilen mavisi çözeltisi eklenip karıştırıldıktan sonra, 25 ml kloroform ilave edilerek, 30 saniye süreyle şiddetle çalkalanmıştır. Fazların ayrılması için dinlendirilerek, ara yüzeydeki emülsiyon, birinci hunide kalacak şekilde, alttaki kloroform fazı ikinci bir ayırma hunisine alınmıştır. 25'er ml'lik kloroformla ekstraksiyon iki kere daha tekrarlanmıştır. İkinci ayırma hunisinde toplanan kloroform ekstraktlarına, 50 ml fosfat yıkama solusyonu ilave edilerek, 30 saniye süreyle şiddetle çalkalanmıştır. Fazların ayrılması için dinlendirilmiş ve kloroform fazı, cam pamuğundan 100 ml'lik temiz bir ölçülü erlenmayere süzülmüştür. Ayırma hunisindeki çözelti, iki kere daha 10'ar ml'lik kısımlar halinde kloroformla ekstrakte edilerek, dinlendirildikten sonra ayrılan kloroform ekstraktları aynı cam pamuğundan erlenmayere süzülmüştür. Cam pamuğu, birkaç ml kloroformla yıkanmış ve kloroform erlenmeyere ilave edilmiştir.

Kloroform ekstraktlarının toplandığı erlenmayer kloroformla işaret çizgisine kadar seyreltilerek, iyice karıştırılmıştır..

Bundan sonra her bir kalibrasyon çözeltisinin kloroform ekstraktları, sırası ile optik hücrelere alınarak, optik yoğunluğu ölçülmüştür. Spektrofotometrik ölçmeler 652 nm dalga boyunda yapılmıştır [2]. Kalibrasyon çözeltisi optik hücreye konulduktan sonra, en kısa zamanda optik yoğunluk ölçülmüş ve hücre boşaltıldıktan sonra kloroformla çalkalanmıştır. Kurutulduktan sonra yeni kalibrasyon çözeltisi ölçülmüştür. Herbir kalibrasyon çözeltisinin optik yoğunluğu dikey eksene ve bu değeri karşılayan aktif madde miktarı mg olarak yatay eksene işaretlenerek, bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Numunenin 1 litresindeki aktif madde miktarı (c), mg olarak aşağıdaki formül ile bulunmuştur:

$$c = m / v \quad (1-1)$$

Burada:

m : Kalibrasyon eğrisi yardımı ile deney numunesinde tayin edilen aktif madde miktarı (μg),

v : Orijinal deney numunesinin hacmi (ml) göstermektedir.

2.2.2. Toplam Bakteri Sayımı

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinden 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} oranlarında seyreltmeler yapılarak, nütrient agar petrilere, iki paralel olmak üzere, 20'şer μl damlatma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Petrilere inkübasyon için $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda toplam bakteri sayımları yapılmıştır.

2.2.3. Test Deterjan Aktif Maddelerini Karbon Kaynağı Olarak Kullanan Bakterilerin Sayımı ve İzolasyonu

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinden 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} oranlarında seyreltmeler yapılarak, her test aktif maddesi için ayrı hazırlanan deterjan agar petrilere, iki paralel olmak üzere, 20'şer µl damlatma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Petriler inkübasyon için 28 °C'de 48 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda, test deterjan aktif maddelerini karbon kaynağı olarak kullanan bakterilerin sayımları yapılmıştır. Farklı morfolojik yapıya sahip bakteri kolonileri izole edilerek, identifikasyon testleri yapılmış ve kültürler stok edilmiştir.

2.2.4. *Bacillus* Sayımı

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinden 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} oranlarında seyreltmeler yapılarak, M.Y.P. agar petrilere, iki paralel olmak üzere, 100'er µl damlatma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Petriler inkübasyon için 32 °C'de 18-40 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda, pembeden mor renge doğru olan koloniler, *Bacillus* olarak sayılmıştır.

2.2.5. *Pseudomonas* Sayımı

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinden 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} oranlarında seyreltmeler yapılarak, GSP-agar petrilere, iki paralel olmak üzere, 100'er µl damlatma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Petriler inkübasyon için 30 °C'de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda *Pseudomonas* sayımları yapılmıştır.

2.2.6. Koliform Bakterilerin Sayımı

Porsuk Çayı'nda belirlenen istasyonlardan alınan su örneklerinde, koliform bakterilerin sayımı en muhtemel sayı (EMS) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Su

örneğinden, tek kuvvetli laktoz broth tüplerinin üç tanesine 1ml, üç tanesine 0.1 ml, çift kuvvetli laktoz broth tüplerinin üç tanesine 10 ml aşılanmıştır. Dilüsyonlardan ekim yapıldıktan sonra, bütün tüpler 37 °C de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, tüplerdeki bulanıklılık, renk değişimi ve durham tüplerinde gaz birikimi gibi özellikler kaydedilerek, 100 ml de en muhtemel sayı tablosundan, koliform bakteri sayıları hesaplanmıştır.

2.2.7. NO₃-N, NO₂-N, NH₃-N ve Total Cl₂ Ölçümleri

Su örneklerindeki NO₃-N, NO₂-N, NH₃-N ve total Cl₂ ölçümleri, Hach Dr/2000 model spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

2.2.8. Çözünmüş Oksijen ve Biyolojik Oksijen Gereksinimi (BOD) Ölçümleri

Saf su içinden temiz hava geçirilerek, çözünmüş oksijen ile doyması sağlanmıştır. Havalandırılmış suyun her litresi için, 1'er ml magnezyum sülfat, kalsiyum klorür, demir (III) klorür ve fosfat tampon çözeltisi eklenmiştir. Fosfat tampon çözeltisi, seyreltme suyu kullanılmadan hemen önce ilave edilmiş ve seyreltme suyu 20±1 °C'de bekletilmiştir. Havalandırılmış seyreltme suyu 24 saat bekletildikten sonra kullanılmıştır.

Şişelere konulacak numune miktarı 1 ml'den küçük olduğunda, orijinal numune bir balon jodede 1/10 veya 1/100 oranında seyreltilerek, numunenin şişelere daha hassas olarak alınması sağlanmıştır. Her seyreltme için iki BOD şişesi olmak üzere, gerekli sayıda şişe masa üzerine ikili gruplar halinde dizilmiştir. Kontrol numunesi için de iki BOD şişesi hazırlanmıştır. Saptanan miktarlarda numuneler, pipet ile BOD şişelerine alınmıştır. BOD şişeleri, içinde hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde seyreltme suyu ile doldurulmuştur. Bütün şişeler doldurulduktan sonra, her şişenin kendi kapağı, şişe içinde hiç hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılmış ve döndürülerek sıkıştırılmıştır. Kontrol şişeleri, sadece seyreltme suyu ile doldurulmuştur. Şişeler, 5 gün 20±1 °C'lik inkübatörde bekletilmiştir. 5 gün sonra,

BOD şişeleri inkübatörden çıkarılarak, kalibre edilmiş oksijen metre ile çözülmüş oksijenleri ölçülmüş ve 5 günlük BOD değeri şu formüle göre hesaplanmıştır:

$$BOD_5 = \frac{CO_5 \text{ (kontrol)} - CO_5 \text{ (numune)}}{A} \times V \text{ şişe} \quad (2-1)$$

Burada:

BOD₅ : 5 günlük biyolojik oksijen gereksinimi (mg/l),

CO₅ (kontrol) : Kontrol numunesinin 5 gün sonundaki çözülmüş oksijen miktarı (mg/l),

CO₅ (numune) : Numunenin 5 gün sonundaki çözülmüş oksijen miktarı (mg/l),

V şişe : Şişe hacmi (ml),

A : Orijinal numune miktarı (ml) göstermektedir.

2.2.9. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Testleri

2.2.9.1. Gram boyama

İzole edilen bakteriler ile lam üzerinde birer preparat hazırlanarak gram boyama yapılmıştır. Havada kuruyan preparatlar, üç kez alevden geçirilerek tespit edilmiş ve soğumaya bırakılmıştır. Preparatlar, kristal viyole ile mikrobiyal film kaplanacak şekilde örtülerek, bir dakika bekletilmiştir. Fazla boya akıtılarak, preparatlar lugol çözeltisiyle örtülmüş ve bir dakika bekletilmiştir. Fazla lugol akıtılarak, alkol (% 95'lik) ile kısa süre (6 sn.) muamele edilmiştir. Suyu yıkanarak, alkol uzaklaştırılmıştır. Son olarak, preparatların üzeri safranin ile kaplanarak 30 saniye bekletilmiştir. Fazla boya akıtılarak, suyla yıkanmış ve tüy bırakmayan kurutma kağıdıyla hafif kurulanmıştır. Havada iyice kuruduktan sonra, immersiyon yağı objektifi yardımıyla incelenmiştir.

Boyanmış olan preparatlarda gram (+) olan mikroorganizmalar koyu mor (menekşe) renkli, gram (-) olanlar ise, açık pembe renkli görünmüşlerdir.

2.2.9.2. Katalaz üretimi

İzole edilen bakterilerin, nütrient agardaki 24 saatlik kültürleri üzerine, H₂O₂ damlatılarak, gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. H₂O₂ damlatıldıktan sonra gaz kabarcıklarının çıkışı, katalaz enziminin varlığını göstermiştir.

2.2.9.3. İndol üretimi

Trypton brothlu tüpler, izole edilen bakteriler ile ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Bir tüp de, kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Tüpler 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, her tüpe yaklaşık 1 ml kloroform ilave edilmiştir. Daha sonra tüplere birkaç damla Kovaks çözeltilisinden damlatılmış ve hafifçe çalkalanmıştır. Kovaks çözeltilisi ile besiyerinin teması neticesinde kırmızı bir renk oluşumu, indol üretimi için pozitif bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

2.2.9.4. MR-VP (Metil Red-Voges Proskauer) testi

MR-VP Broth içeren tüplere, izole edilen bakteriler ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Tüpler 37 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra temiz tüplerin herbirine, farklı mikroorganizmalardan hazırlanan kültürlerin herbirinden 2'şer tüp olmak üzere, 1'er ml aktarılmıştır. (Bu tüplerden 1 tanesi metil-red testi için, 1 tanesi de Voges-Proskauer testi için kullanılmıştır). Metil red testi için, farklı mikroorganizma kültürleri içeren tüpler üzerine, metil red çözeltilisinden yaklaşık olarak 5 damla ilave edilmiştir. Üst kısımda kırmızı bir rengin oluşumu, metil red testi için pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Voges-Proskauer testi için, farklı mikroorganizma kültürleri içeren tüpler üzerine, önce 0.5 ml α -naftol çözeltilisinden, daha sonra 0.5 ml KOH çözeltilisinden ilave edilmiştir. Çalkalanarak 5-10 dakika bekletilmiştir. Asetil metil karbinolün oluşumuna bağlı olarak, kırmızı renge doğru bir pembelik, pozitif sonuç kabul edilmiştir.

2.2.9.5. Sitrat testi

İzole edilen bakteriler, Simmon sitrat agarlı tüplere ekilmiştir. Bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Tüpler 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Eğer organizmalardan bazıları karbon kaynağı olarak sitratı kullanıyorsa, besiyeri rengi yeşilden maviye dönecektir. Bu rengin gözlenmesi, sitrat testi için pozitif bir sonuç olmuştur.

2.2.9.6. Sitokrom oksidaz üretimi

Nütrient agar petrilere, izole edilen bakterilerin herbiri ayrı ayrı inoküle edilmiştir. 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra petrilere üzerine tetrametil p-fenilen diamin dihidroklorid çözeltisinden dökülmüş ve değişimleri incelenmiştir. Kolonilerde morumsu mavi bir renk gözlenmesi sitokrom oksidazın varlığını göstermiştir.

2.2.9.7. Hareketlilik testi

Tüplerde bulunan steril, hareketlilik-nitrat ortamlarına, izole edilen bakteriler, transfer iğnesi ile dikey olarak çizgi şeklinde inoküle edilmiştir. Tüpler 30 °C'de 4-6 gün inkübasyondan sonra, tüplere dikey olarak çizgi şeklinde yapılan ekimler incelenmiştir. Besiyeri içerisinde dikey çizgi şeklinde yapılan ekimin, kenarlara doğru üreyip yayılması hareketlilik testi için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

2.2.9.8. Nitratların indirgenmesi testi

Hareketlilik-nitrat ortamı içeren tüplerin herbirine izole edilen bakteriler ayrı ayrı ekilmiştir. Bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Bütün tüpler 30 °C'de 4-6 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, tüplerde üreme olan besiyeri üzerine sülfanilik asit çözeltisinden 3 damla ve α -naftol çözeltisinden 2 damla ilave edilmiştir. Nitrit varlığında, ortamdaki nitritlerle bu iki çözelti karışımı pembemsi kırmızı renkli

bir bileşik oluşturduğundan, bu renk oluşumu nitritler için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

2.2.9.9. Nişasta hidrolizi (amilaz üretimi)

Nişasta agarlı petrilerin alt kısmı cam kalemi ile bölmelere ayrılmıştır. İşaretlenmiş bölmelere, izole edilen bakterilerin herbiri ile bölmelerin tam ortasından birbirleriyle karışmayacak şekilde tek çizgi ekimi yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 30 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, petrilerin üzerine yüzeyi örtecek kadar iyodür çözeltisi dökülmüştür. Çizgi boyunca olan üremelerin çevresinde, nişastanın hidrolize edilmesi halinde bir zon oluştuğu görülmüştür. Çizgi boyunca üremenin etrafında bu rengin oluşmaması, nişastanın kullanıldığını belirleyeceğinden, böyle bir durum nişastanın hidrolizi yönünden pozitif bir sonuç olarak kabul edilmiştir.

2.2.9.10. Jelatin hidrolizi (jelatinaz üretimi)

Nütrient jelatin tüplerinin her birine izole edilen bakteriler inoküle edilmiş ve bir tüp de kontrol olarak inokülesiz bırakılmıştır. Bütün tüpler 25 °C'de 7 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra mikroorganizmaların gelişimi ve besiyerinin durumu incelenmiştir. Besiyerinin sıvı hale gelmesi, jelatinin hidrolizlendiğini göstermiş ve pozitif sonuç olmuştur.

2.2.9.11. Karbonhidratların fermentasyonu

Sakkaroz, laktöz, glukoz, galaktoz ve arabinoz içeren nütrient brothlu tüplerin her birine izole edilen bakteriler ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Her çeşitten bir tüp inokülesiz, kontrol olarak bırakılmıştır. Bakterilerden ekim yapılan tüpler, 30 °C'de 24-48 saat inkübe edilerek, inkübasyon süresi sonunda tüpler incelenmiştir.

Mikroorganizmalar, bu karbon kaynaklarını kullanıyorsa, sonuçta ya sadece asit yada hem asit hem gaz oluşumu gözlenmiştir. Asit oluşumu, besiyerindeki

indikatörün renginin kırmızıdan sarıya dönüşmesi ile, gaz oluşumu ise ters çevrili durumdaki durham tüplerindeki gaz birikimi ile gözlenmiştir.

2.2.9.12. Endospor boyama

Bacillus'un 48-72 saatlik kültürlerinden preparat hazırlanmış ve üç kez alevden geçirilerek fikse edilmiştir. Preparatlar 3-5 dakika metilen mavisi ile muamele edilerek, fazla boya akıtılmış ve suyla yıkanmıştır. Havada kurutulduktan sonra incelenmeye alınmıştır. İncelemede, sporlar renksiz, vejetatif hücreler maviye boyanmış olarak görülmüştür.

3. BULGULAR

3.1. Porsuk Çayı'ndan Alınan Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik İncelenmesi

Kütahya-Eskişehir arasındaki Porsuk Çayı'nda seçilen 10 istasyondan alınan su örneklerinde, sıcaklık, pH, nitrat, nitrit, amonyak, toplam klor, çözünmüş oksijen, biyolojik oksijen ihtiyacı, deterjan miktarı ile toplam bakteri, koliform bakteri, *Bacillus* ve *Pseudomonas* sayımları yapılmıştır (Çizelge 1.1.).

Bir yıl boyunca alınan su örneklerinin istasyonlara göre ortalama sıcaklık değişimi 9-19 °C arasında olmuştur. Porsuk Çayı'nın ortalama pH değeri 7.48-8.19 arasında bulunmuştur. Nitrat miktarı ise 0.2-2.2 mg/l arasında, nitrit bir istasyonda hiç bulunmazken, iki istasyonda 2 mg/l'ye kadar çıkmıştır. Amonyak 0.08-1.16 mg/l arasında, toplam klor 0.01-0.05 mg/l arasında değişmiştir. Çözünmüş oksijenin 4.7-6.6 mg/l, biyolojik oksijen ihtiyacının ise 0.7-3.6 mg/l arasında değiştiği görülmüştür. Deterjan miktarı 13.53-43.21 µg/100 ml arasında değişmiştir.

İstasyonlara göre su örneklerindeki toplam bakteri sayısı mililitrede 30×10^5 - 46×10^7 arasında değişmiş, 100 ml'deki koliform bakteri sayısı ise 10 istasyonun 6'sında 200'ün altında, bir istasyonda 900, bir istasyonda 2300 ve diğer iki istasyonda da 11×10^4 'ün üzerinde bulunmuştur. Mililitredeki *Bacillus* sayısı 4×10^3 - 42×10^4 arasında değişmiş, mililitredeki *Pseudomonas* sayısı ise 5×10^3 - 75×10^4 arasında değişmiştir.

3.2. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda Biyolojik Parçalanması

Mezbaha istasyonundan alınan su örneğine, hiç bir aktif madde ilave edilmeden ve 1 mg/l SLES, LAB, ALES, ALS ve NI aktif maddeleri ilave edilerek 3'er günlük periyodlarda, 36 gün süreyle pH ve deterjan miktarı ölçümleri ile toplam bakteri, koliform bakteri, *Bacillus* ve *Pseudomonas* sayımları yapılmıştır. Ayrıca bu aktif maddeleri kullanabilen mikroorganizma sayımları da Çizelge 2.1.-2.6'da verilmiştir.

Çizelge 1.1. Porsuk Çayı'nda farklı istasyonlardan alınan su örneklerinin ortalama¹ analiz sonuçları

İstasyon	°C	pH	NO ₃ -N mg/l	NO ₂ -N mg/l	NH ₃ -N mg/l	Cl ₂ mg/l	Ç.O. mg/l	BOİ mg/l	Deterjan miktarı µg/ 100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml
1.	9.5	7.80	1.0	2	0.44	0.04	5.4	2.2	15.68	32x10 ⁶	<200	4x10 ³	5x10 ³
2.	11	7.65	2.2	0	0.26	0.03	5.1	3.2	21.43	54x10 ⁶	900	22x10 ³	11x10 ³
3.	10	7.71	1.2	1	0.10	0.05	4.7	1.2	14.96	43x10 ⁵	<200	18x10 ³	46x10 ³
4.	10	7.72	0.2	1	0.14	0.01	5.4	1.1	17.12	51x10 ⁵	<200	62x10 ³	34x10 ³
5.	12	8.02	0.5	1	0.22	0.03	5.0	3.6	13.53	62x10 ⁵	<200	36x10 ³	25x10 ³
6.	16.5	7.76	1.4	1	0.08	0.04	5.1	0.7	17.83	30x10 ⁵	<200	8x10 ³	10x10 ³
7.	9	8.08	1.7	1	0.52	0.02	5.7	0.9	19.99	20x10 ⁶	<200	14x10 ⁴	39x10 ⁴
8.	16	8.19	1.8	1	0.84	0.01	5.2	3.1	28.65	42x10 ⁶	2300	34x10 ⁴	72x10 ⁴
9.	18	7.96	1.1	1	0.63	0.01	6.0	2.9	30.82	26x10 ⁷	>11x10 ⁴	36x10 ⁴	75x10 ⁴
10.	19	7.48	1.3	2	1.16	0.05	6.6	3.4	43.21	46x10 ⁷	>11x10 ⁴	42x10 ⁴	12x10 ⁴

İstasyonlar:

1. Regülatör giriş
2. Regülatör çıkış
3. Sümerbank Basma Fabrifakası önü
4. Sarısu
5. Anadolu Üniversitesi Yunusemre Kampüsü önü

6. Köprübaşı
7. Osmangazi Üniversitesi Çamlık Kampüsü önü
8. Şeker Fabrikası giriş
9. Şeker Fabrikası çıkış
10. Mezbaha çıkışı

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Porsuk Çayı'nda Mezbaşa istasyonundan alınan su örneklerinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	SLES kullanan bakteri kob/ml	LAB kullanan bakteri kob/ml	ALES kullanan bakteri kob/ml	ALS kullanan bakteri kob/ml	NI kullanan bakteri kob/ml
0.	7.48	43.21	46x10 ⁷	>11x10 ⁴	42x10 ⁴	12x10 ⁴	12x10 ⁶	5x10 ⁶	8x10 ⁶	8x10 ⁶	5x10 ⁶
3.	7.52	38.10	50x10 ⁷	>11x10 ⁴	49x10 ⁴	16x10 ⁴	18x10 ⁶	9x10 ⁶	13x10 ⁶	16x10 ⁶	11x10 ⁶
6.	7.60	33.00	58x10 ⁷	>11x10 ⁴	58x10 ⁴	26x10 ⁴	27x10 ⁶	14x10 ⁶	16x10 ⁶	21x10 ⁶	17x10 ⁶
9.	7.68	27.93	67x10 ⁷	>11x10 ⁴	66x10 ⁴	32x10 ⁴	34x10 ⁶	23x10 ⁶	20x10 ⁶	27x10 ⁶	22x10 ⁶
12.	7.74	25.04	75x10 ⁷	>11x10 ⁴	72x10 ⁴	39x10 ⁴	41x10 ⁶	30x10 ⁶	26x10 ⁶	33x10 ⁶	28x10 ⁶
15.	7.79	21.43	81x10 ⁷	>11x10 ⁴	80x10 ⁴	46x10 ⁴	49x10 ⁶	38x10 ⁶	32x10 ⁶	40x10 ⁶	33x10 ⁶
18.	7.88	18.55	89x10 ⁷	>11x10 ⁴	86x10 ⁴	58x10 ⁴	55x10 ⁶	46x10 ⁶	39x10 ⁶	47x10 ⁶	38x10 ⁶
21.	7.96	17.12	94x10 ⁷	>11x10 ⁴	93x10 ⁴	65x10 ⁴	61x10 ⁶	54x10 ⁶	45x10 ⁶	53x10 ⁶	44x10 ⁶
24.	7.82	16.40	97x10 ⁷	>11x10 ⁴	10x10 ⁵	72x10 ⁴	69x10 ⁶	62x10 ⁶	51x10 ⁶	60x10 ⁶	49x10 ⁶
27.	7.89	14.96	99x10 ⁷	>11x10 ⁴	14x10 ⁵	78x10 ⁴	78x10 ⁶	67x10 ⁶	60x10 ⁶	66x10 ⁶	56x10 ⁶
30.	7.98	13.53	11x10 ⁸	>11x10 ⁴	17x10 ⁵	82x10 ⁴	83x10 ⁶	71x10 ⁶	68x10 ⁶	73x10 ⁶	61x10 ⁶
33.	7.81	11.39	12x10 ⁸	>11x10 ⁴	19x10 ⁵	84x10 ⁴	85x10 ⁶	74x10 ⁶	70x10 ⁶	76x10 ⁶	64x10 ⁶
36.	7.71	9.24	13x10 ⁸	>11x10 ⁴	20x10 ⁵	85x10 ⁴	87x10 ⁶	76x10 ⁶	72x10 ⁶	78x10 ⁶	66x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

Aktif madde ilave edilmeyen su örneğinin pH değeri 7.48-7.98 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 43.21 $\mu\text{g}/100$ ml'den 9.24 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür. Toplam bakteri sayısı mililitrede 46×10^7 'den 13×10^8 'e ulaşmıştır. Koliform bakteri sayısının mililitrede 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 42×10^4 - 20×10^5 arasında, *Pseudomonas* sayısının da 12×10^4 - 85×10^4 arasında değiştiği gözlenmiştir (Bkz. Çizelge 2.1).

SLES aktif maddesi ilave edilen su örneğinin pH değeri 7.54-7.00 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 145.08 $\mu\text{g}/100$ ml'den 4.61 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür.

Toplam bakteri sayısı ml'de 43×10^7 'den 11×10^8 'e ulaşmıştır. Koliform bakteri sayısının 100 ml'de 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 40×10^4 - 93×10^4 arasında, *Pseudomonas* sayısının da 10×10^4 - 73×10^4 arasında değiştiği gözlenmiştir.

SLES aktif maddesi içeren besiyerinde, bu aktif maddeyi kullanan toplam bakteri sayısının ise mililitrede 28×10^6 - 89×10^6 arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 2.2.).

LAB aktif maddesi ilave edilen su örneğinin pH değeri 7.63-7.01 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 143.89 $\mu\text{g}/100$ ml'den 16.04 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür.

Toplam bakteri sayısı mililitrede 38×10^7 'den 99×10^7 'ye ulaşmıştır. Koliform bakteri sayısının 100 ml'de 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 38×10^4 - 99×10^4 arasında, *Pseudomonas* sayısının da 9×10^4 - 84×10^4 arasında değiştiği gözlenmiştir.

LAB aktif maddesi içeren besiyerinde, bu aktif maddeyi kullanan toplam bakteri sayısı da mililitrede 9×10^6 - 79×10^6 arasında değişmiştir (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.2. SLES aktif maddesi ilave edilen su örneğinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	SLES kullanan bakteri kob/ml
0.	7.54	145.08	43x10 ⁷	>11x10 ⁴	40x10 ⁴	10x10 ⁴	28x10 ⁶
3.	7.48	110.76	46x10 ⁷	>11x10 ⁴	43x10 ⁴	16x10 ⁴	34x10 ⁶
6.	7.39	103.47	51x10 ⁷	>11x10 ⁴	47x10 ⁴	21x10 ⁴	40x10 ⁶
9.	7.32	81.82	59x10 ⁷	>11x10 ⁴	52x10 ⁴	29x10 ⁴	47x10 ⁶
12.	7.26	71.32	65x10 ⁷	>11x10 ⁴	58x10 ⁴	37x10 ⁴	55x10 ⁶
15.	7.20	47.98	74x10 ⁷	>11x10 ⁴	64x10 ⁴	46x10 ⁴	62x10 ⁶
18.	7.17	38.46	79x10 ⁷	>11x10 ⁴	74x10 ⁴	52x10 ⁴	68x10 ⁶
21.	7.12	32.28	87x10 ⁷	>11x10 ⁴	79x10 ⁴	58x10 ⁴	72x10 ⁶
24.	7.09	23.95	92x10 ⁷	>11x10 ⁴	83x10 ⁴	63x10 ⁴	75x10 ⁶
27.	7.06	17.48	98x10 ⁷	>11x10 ⁴	88x10 ⁴	67x10 ⁴	80x10 ⁶
30.	7.04	12.46	99x10 ⁷	>11x10 ⁴	90x10 ⁴	70x10 ⁴	84x10 ⁶
33.	7.02	7.46	10x10 ⁸	>11x10 ⁴	92x10 ⁴	72x10 ⁴	87x10 ⁶
36.	7.00	4.61	11x10 ⁸	>11x10 ⁴	93x10 ⁴	73x10 ⁴	89x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.3. LAB aktif maddesi ilave edilen su örneğinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliiform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	LAB kullanan bakteri kob/ml
0.	7.63	143.89	38x10 ⁷	>11x10 ⁴	38x10 ⁴	9x10 ⁴	9x10 ⁶
3.	7.57	118.49	44x10 ⁷	>11x10 ⁴	46x10 ⁴	15x10 ⁴	17x10 ⁶
6.	7.51	110.38	49x10 ⁷	>11x10 ⁴	51x10 ⁴	22x10 ⁴	24x10 ⁶
9.	7.42	94.31	56x10 ⁷	>11x10 ⁴	60x10 ⁴	28x10 ⁴	30x10 ⁶
12.	7.37	77.69	63x10 ⁷	>11x10 ⁴	68x10 ⁴	36x10 ⁴	37x10 ⁶
15.	7.33	63.12	69x10 ⁷	>11x10 ⁴	73x10 ⁴	44x10 ⁴	44x10 ⁶
18.	7.26	46.14	76x10 ⁷	>11x10 ⁴	78x10 ⁴	51x10 ⁴	50x10 ⁶
21.	7.20	37.73	82x10 ⁷	>11x10 ⁴	84x10 ⁴	59x10 ⁴	57x10 ⁶
24.	7.13	29.01	86x10 ⁷	>11x10 ⁴	88x10 ⁴	68x10 ⁴	66x10 ⁶
27.	7.09	25.04	91x10 ⁷	>11x10 ⁴	91x10 ⁴	74x10 ⁴	71x10 ⁶
30.	7.06	22.51	94x10 ⁷	>11x10 ⁴	94x10 ⁴	79x10 ⁴	74x10 ⁶
33.	7.02	17.83	97x10 ⁷	>11x10 ⁴	97x10 ⁴	82x10 ⁴	77x10 ⁶
36.	7.01	16.04	99x10 ⁷	>11x10 ⁴	99x10 ⁴	84x10 ⁴	79x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

ALES aktif maddesi ilave edilen su örneğinin pH değeri 7.69-6.97 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 145.87 $\mu\text{g}/100$ ml'den 8.89 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür.

Toplam bakteri sayısı mililitrede 40×10^7 'den 13×10^8 'e ulaşmıştır. Koliform bakteri sayısının 100 ml'de 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 35×10^4 'den 11×10^5 'e yükseldiği, *Pseudomonas* sayısının da 11×10^4 - 71×10^4 arasında olduğu gözlenmiştir.

ALES aktif maddesi içeren besiyerinde, bu aktif maddeyi kullanan toplam bakteri sayısının ise mililitrede 11×10^6 - 77×10^6 arasında olduğu görülmüştür (Çizelge 2.4.).

ALS aktif maddesi ilave edilen su örneğinin pH değeri 7.78-6.76 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 146.66 $\mu\text{g}/100$ ml'den 7.11 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür.

Toplam bakteri sayısı mililitrede 41×10^7 'den 11×10^8 'e ulaşmıştır. Koliform bakteri sayısının 100 ml'de 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 37×10^4 - 95×10^4 arasında, *Pseudomonas* sayısının da 8×10^4 - 68×10^4 arasında değiştiği gözlenmiştir.

ALS aktif maddesi içeren besiyerinde, bu aktif maddeyi kullanan toplam bakteri sayısı da mililitrede 14×10^6 - 76×10^6 arasında değişmiştir (Çizelge 2.5.).

NI aktif maddesi içeren su örneğinin pH değeri 7.88-6.85 arasında değişmiştir. Otuz altı gün sonunda, deterjan miktarı 143.50 $\mu\text{g}/100$ ml'den 27.93 $\mu\text{g}/100$ ml'ye düşmüştür.

Toplam bakteri sayısı mililitrede 42×10^7 'den 11×10^8 'e yükselmiştir. Koliform bakteri sayısının 100 ml'de 11×10^4 'ün üzerinde olduğu görülmüştür. *Bacillus* sayısının mililitrede 36×10^4 - 99×10^4 arasında, *Pseudomonas* sayısının da 7×10^4 - 74×10^4 arasında değiştiği gözlenmiştir.

NI aktif maddesi içeren besiyerinde, bu aktif maddeyi kullanan toplam bakteri sayısı ise mililitrede 24×10^6 - 92×10^6 arasında değişmiştir (Çizelge 2.6.).

Çizelge 2.4. ALES aktif maddesi ilave edilen su örneğinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	ALES kullanan bakteri kob/ml
0.	7.69	145.87	40x10 ⁷	>11x10 ⁴	35x10 ⁴	11x10 ⁴	11x10 ⁶
3.	7.58	128.20	46x10 ⁷	>11x10 ⁴	41x10 ⁴	17x10 ⁴	17x10 ⁶
6.	7.51	115.78	51x10 ⁷	>11x10 ⁴	48x10 ⁴	22x10 ⁴	25x10 ⁶
9.	7.44	105.39	58x10 ⁷	>11x10 ⁴	57x10 ⁴	28x10 ⁴	31x10 ⁶
12.	7.36	69.45	66x10 ⁷	>11x10 ⁴	65x10 ⁴	33x10 ⁴	38x10 ⁶
15.	7.28	56.82	74x10 ⁷	>11x10 ⁴	73x10 ⁴	40x10 ⁴	43x10 ⁶
18.	7.23	45.04	80x10 ⁷	>11x10 ⁴	79x10 ⁴	46x10 ⁴	49x10 ⁶
21.	7.17	36.64	87x10 ⁷	>11x10 ⁴	87x10 ⁴	51x10 ⁴	56x10 ⁶
24.	7.13	31.55	94x10 ⁷	>11x10 ⁴	92x10 ⁴	57x10 ⁴	62x10 ⁶
27.	7.10	24.67	98x10 ⁷	>11x10 ⁴	95x10 ⁴	62x10 ⁴	68x10 ⁶
30.	7.07	19.27	10x10 ⁸	>11x10 ⁴	98x10 ⁴	66x10 ⁴	72x10 ⁶
33.	7.02	11.74	12x10 ⁸	>11x10 ⁴	10x10 ⁵	69x10 ⁴	75x10 ⁶
36.	6.97	8.89	13x10 ⁸	>11x10 ⁴	11x10 ⁵	71x10 ⁴	77x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir

Çizelge 2.5. ALS aktif maddesi ilave edilen su örneğinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	ALS kullanan bakteri kob/ml
0.	7.78	146.66	41x10 ⁷	>11x10 ⁴	37x10 ⁴	8x10 ⁴	14x10 ⁶
3.	7.69	83.71	48x10 ⁷	>11x10 ⁴	44x10 ⁴	14x10 ⁴	20x10 ⁶
6.	7.57	63.86	55x10 ⁷	>11x10 ⁴	50x10 ⁴	19x10 ⁴	27x10 ⁶
9.	7.48	52.02	63x10 ⁷	>11x10 ⁴	57x10 ⁴	26x10 ⁴	34x10 ⁶
12.	7.40	39.19	70x10 ⁷	>11x10 ⁴	64x10 ⁴	32x10 ⁴	40x10 ⁶
15.	7.32	34.82	76x10 ⁷	>11x10 ⁴	69x10 ⁴	38x10 ⁴	46x10 ⁶
18.	7.21	23.59	85x10 ⁷	>11x10 ⁴	74x10 ⁴	45x10 ⁴	53x10 ⁶
21.	7.14	19.27	90x10 ⁷	>11x10 ⁴	78x10 ⁴	51x10 ⁴	60x10 ⁶
24.	7.07	16.76	94x10 ⁷	>11x10 ⁴	82x10 ⁴	56x10 ⁴	65x10 ⁶
27.	6.98	14.61	97x10 ⁷	>11x10 ⁴	87x10 ⁴	62x10 ⁴	69x10 ⁶
30.	6.89	11.74	99x10 ⁷	>11x10 ⁴	91x10 ⁴	65x10 ⁴	72x10 ⁶
33.	6.81	8.53	10x10 ⁸	>11x10 ⁴	93x10 ⁴	67x10 ⁴	74x10 ⁶
36.	6.76	7.11	11x10 ⁸	>11x10 ⁴	95x10 ⁴	68x10 ⁴	76x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

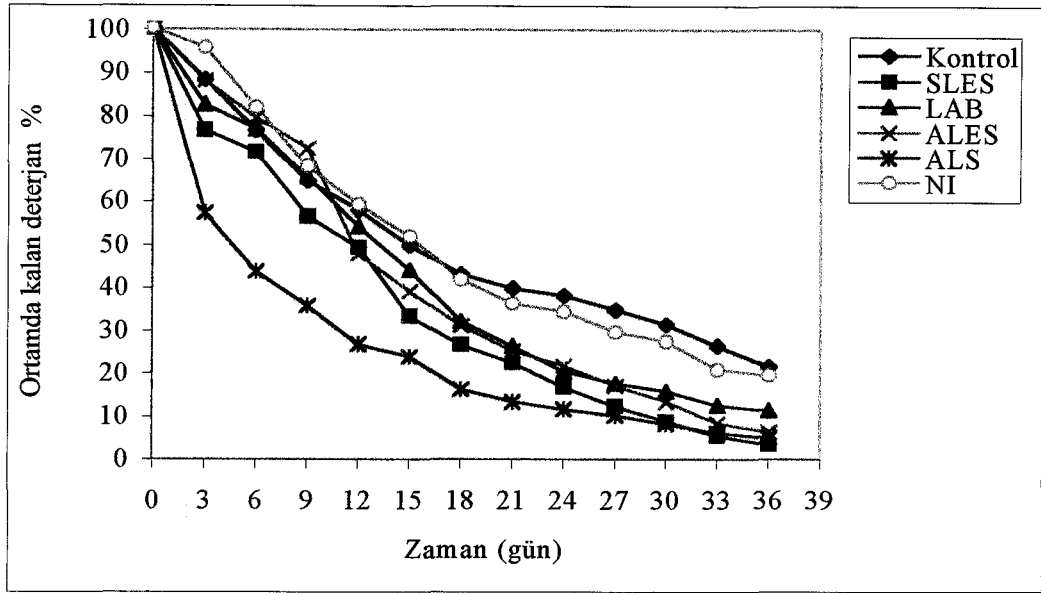
Çizelge 2.6. NI aktif maddesi ilave edilen su örneğinin ortalama¹ analiz sonuçları

Günler	pH	Deterjan miktarı µg/100ml	Toplam Bakteri kob/ml	100 ml'de Koliform Bakteri	<i>Bacillus</i> kob/ml	<i>Pseudomonas</i> kob/ml	NI kullanan bakteri kob/ml
0.	7.88	143.50	42x10 ⁷	>11x10 ⁴	36x10 ⁴	7x10 ⁴	24x10 ⁶
3.	7.76	137.20	46x10 ⁷	>11x10 ⁴	43x10 ⁴	15x10 ⁴	30x10 ⁶
6.	7.63	117.32	51x10 ⁷	>11x10 ⁴	50x10 ⁴	22x10 ⁴	39x10 ⁶
9.	7.51	97.74	57x10 ⁷	>11x10 ⁴	57x10 ⁴	30x10 ⁴	46x10 ⁶
12.	7.44	84.84	62x10 ⁷	>11x10 ⁴	61x10 ⁴	35x10 ⁴	52x10 ⁶
15.	7.37	74.31	67x10 ⁷	>11x10 ⁴	68x10 ⁴	43x10 ⁴	59x10 ⁶
18.	7.30	59.78	74x10 ⁷	>11x10 ⁴	75x10 ⁴	49x10 ⁴	67x10 ⁶
21.	7.23	51.65	82x10 ⁷	>11x10 ⁴	80x10 ⁴	55x10 ⁴	75x10 ⁶
24.	7.17	49.08	89x10 ⁷	>11x10 ⁴	87x10 ⁴	62x10 ⁴	79x10 ⁶
27.	7.09	42.11	94x10 ⁷	>11x10 ⁴	92x10 ⁴	66x10 ⁴	84x10 ⁶
30.	7.01	39.19	99x10 ⁷	>11x10 ⁴	95x10 ⁴	70x10 ⁴	87x10 ⁶
33.	6.92	29.74	10x10 ⁸	>11x10 ⁴	97x10 ⁴	73x10 ⁴	90x10 ⁶
36.	6.85	27.93	11x10 ⁸	>11x10 ⁴	99x10 ⁴	74x10 ⁴	92x10 ⁶

(1)

Bir yıllık sonuçların ortalama değerleri verilmiştir.

Porsuk Çayı'ndan alınan su örneğinde, 36 günlük inkübasyon sonunda deterjan miktarlarındaki azalmaya göre, her bir aktif maddenin parçalanma %'si hesaplanarak, ortamda kalan deterjan %'leri Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Durgun ortamda deterjan aktif maddelerinin 36 gün sonunda ortamda kalan deterjan %'leri

36 gün sonunda, SLES % 96.82; ALS % 95.15; ALES % 93.91; LAB % 88.85; NI % 80.54 ve deterjan aktif maddesi ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı % 78.62 oranında parçalanmıştır.

3.3. Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarındaki Deterjan Aktif Maddelerinin Parçalanması

Mezbaha istasyonundan alınan su örneklerine, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l oranlarında SLES, LAB, ALES, ALS ve NI deterjan aktif maddelerinin herbiri ayrı ayrı ilave edilerek, durgun ortamda 6'şar günlük periyotlarda, 33 gün süreyle aktif madde miktarları ölçülmüştür. Ayrıca toplam bakteri sayımları yapılmıştır (Şekil 3.1.-3.10.).

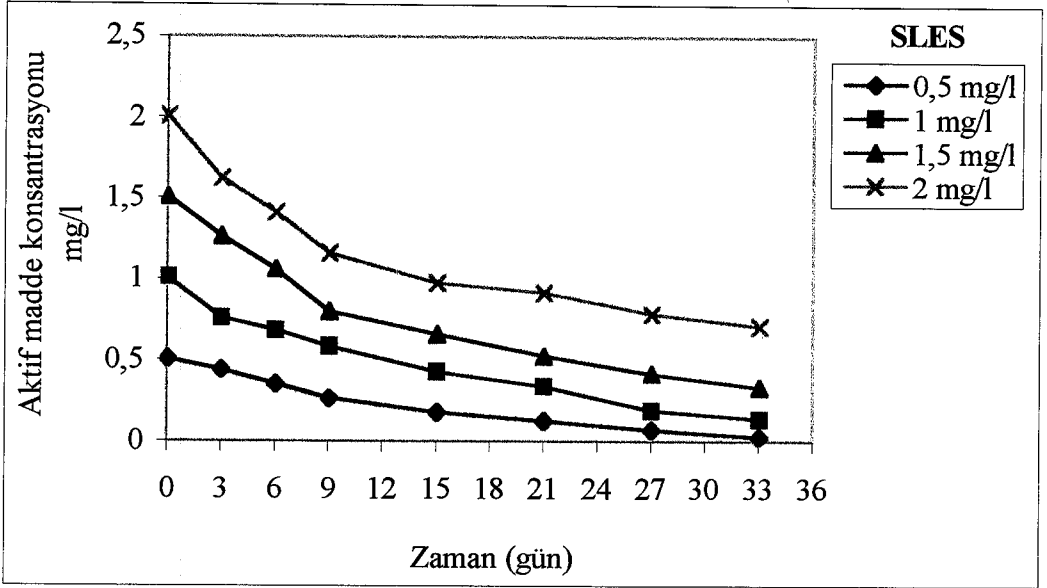
0.5 mg/l oranında SLES aktif maddesi ilave edilen su örneğinde, 33 gün sonunda SLES aktif maddesinin parçalanma oranı % 95 olmuştur. SLES aktif madde miktarı arttıkça parçalanma oranı düşmüştür. 1 mg/l SLES aktif maddesi içeren su örneğinde % 87; 1.5 mg/l SLES aktif maddesi içeren su örneğinde % 78 ve 2 mg/l SLES aktif maddesi içeren su örneğinde % 65 oranında parçalanma görülmüştür (Şekil 3.1.). 0.5 mg/l oranında LAB aktif maddesi ilave edilen su örneğinde, 33 gün sonunda LAB aktif maddesinin parçalanma oranı % 86.32 olmuştur. LAB aktif madde miktarı arttıkça parçalanma oranı düşmüştür. 1 mg/l LAB aktif maddesi içeren su örneğinde % 79.29; 1.5 mg/l LAB aktif maddesi içeren su örneğinde % 65.44 ve 2 mg/l LAB aktif maddesi içeren su örneğinde % 52.18 oranında parçalanma görülmüştür (Şekil 3.3.).

0.5 mg/l oranında ALES aktif maddesi ilave edilen su örneğinde, 33 gün sonunda ALES aktif maddesinin parçalanma oranı % 89 olmuştur. ALES aktif madde miktarı arttıkça parçalanma oranı düşmüştür. 1 mg/l ALES aktif maddesi içeren su örneğinde % 81; 1.5 mg/l ALES aktif maddesi içeren su örneğinde % 69 ve 2 mg/l ALES aktif maddesi içeren su örneğinde % 56 oranında parçalanma görülmüştür(Şekil 3.5.).

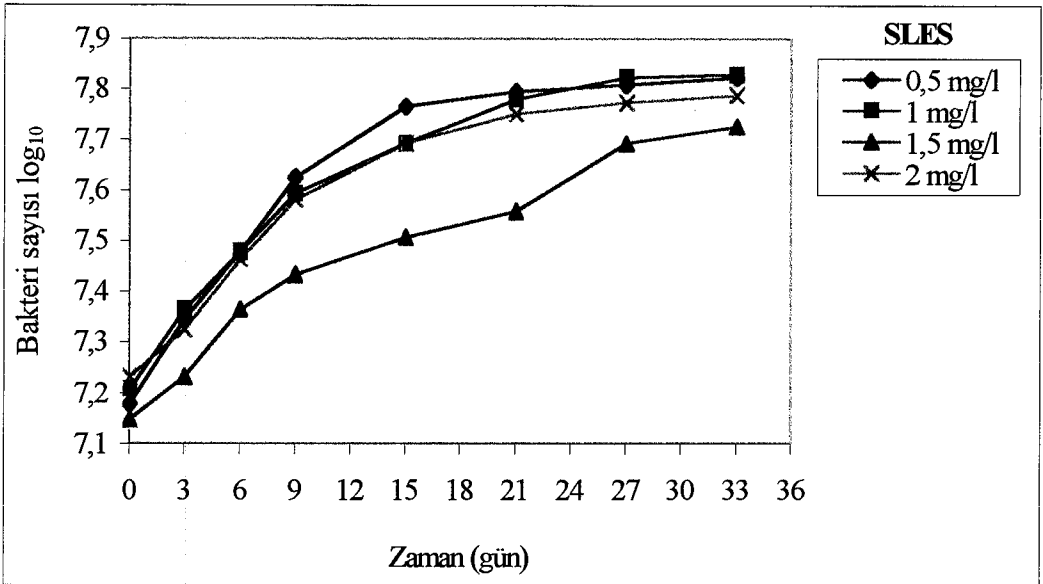
0.5 mg/l oranında ALS aktif maddesi ilave edilen su örneğinde, 33 gün sonunda ALS aktif maddesinin parçalanma oranı % 92.5 olmuştur. ALS aktif madde miktarı arttıkça parçalanma oranı düşmüştür. 1 mg/l ALS aktif maddesi içeren su örneğinde % 84; 1.5 mg/l ALS aktif maddesi içeren su örneğinde % 74 ve 2 mg/l ALS aktif maddesi içeren su örneğinde % 61 oranında parçalanma görülmüştür (Şekil 3.7.).

0.5 mg/l oranında NI aktif maddesi ilave edilen su örneğinde, 33 gün sonunda NI aktif maddesinin parçalanma oranı % 82.76 olmuştur. NI aktif madde miktarı arttıkça parçalanma oranı düşmüştür. 1 mg/l NI aktif maddesi içeren su örneğinde % 75.67; 1.5 mg/l NI aktif maddesi içeren su örneğinde % 62.24 ve 2 mg/l NI aktif maddesi içeren su örneğinde % 49.16 oranında parçalanma görülmüştür (Şekil 3.9.).

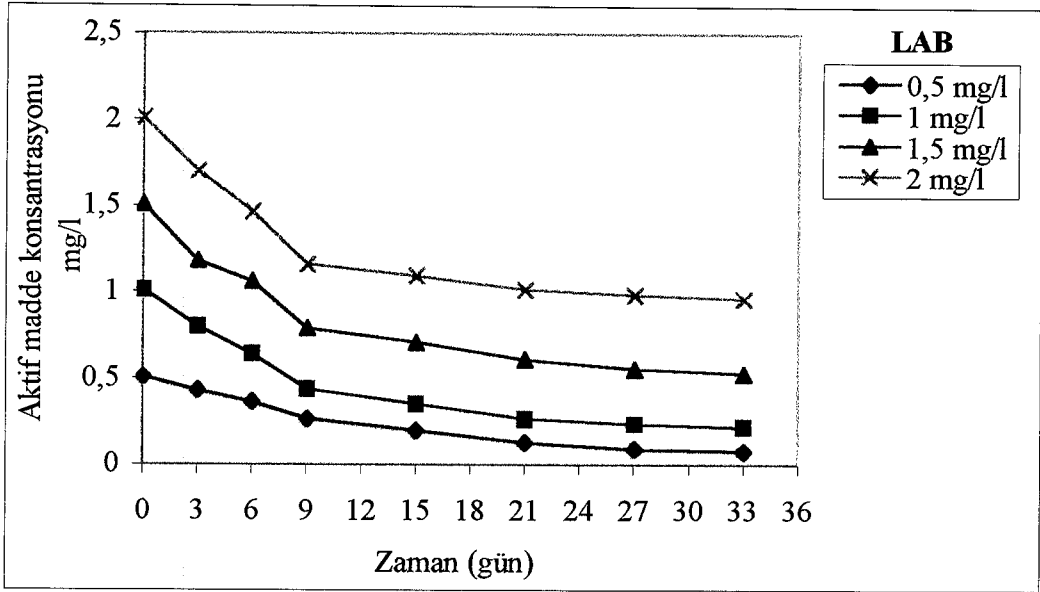
Farklı konsantrasyonlarda aktif madde ilave edilen su örneklerindeki mikroorganizma sayıları, aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki mikroorganizma sayılarına göre daha düşük bulunmuştur. ALES, ALS ve NI deterjan aktif maddelerinde, aktif madde konsantrasyonu arttıkça, bu ortamlardaki mikroorganizma sayıları yükselmiştir.



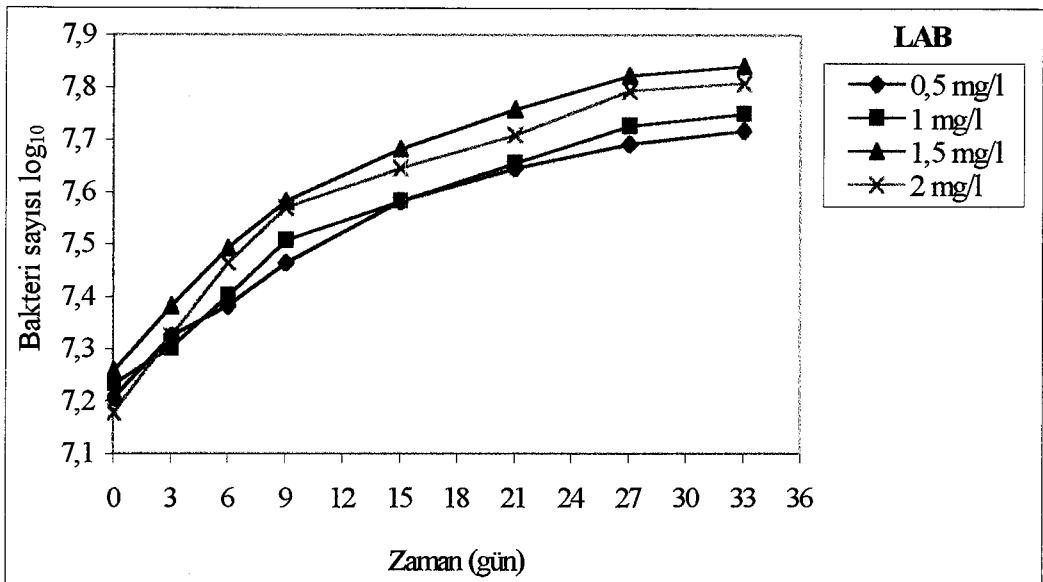
Şekil 3.1. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki SLES aktif maddesinin parçalanması



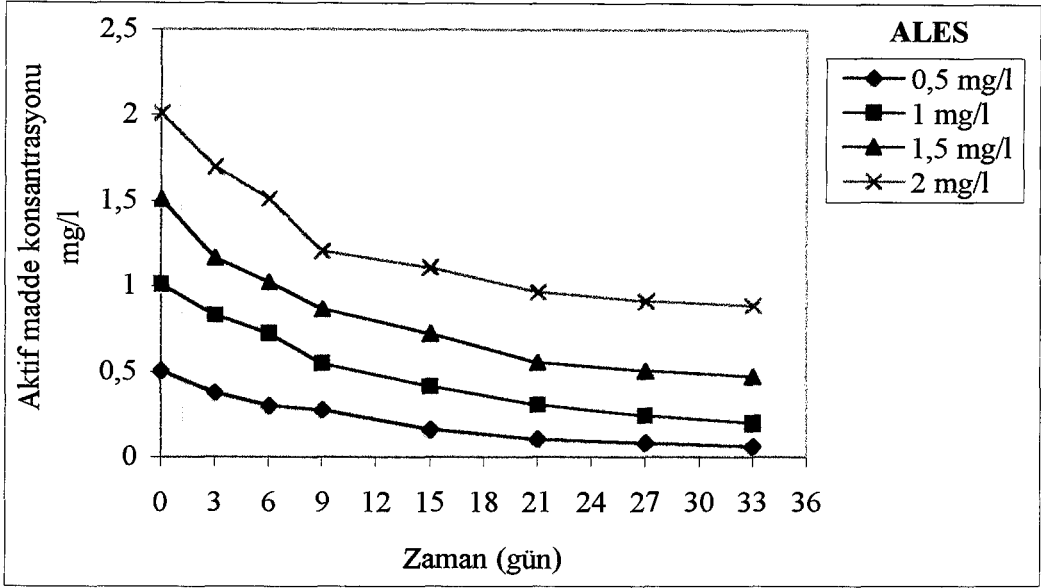
Şekil 3.2. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında SLES aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi



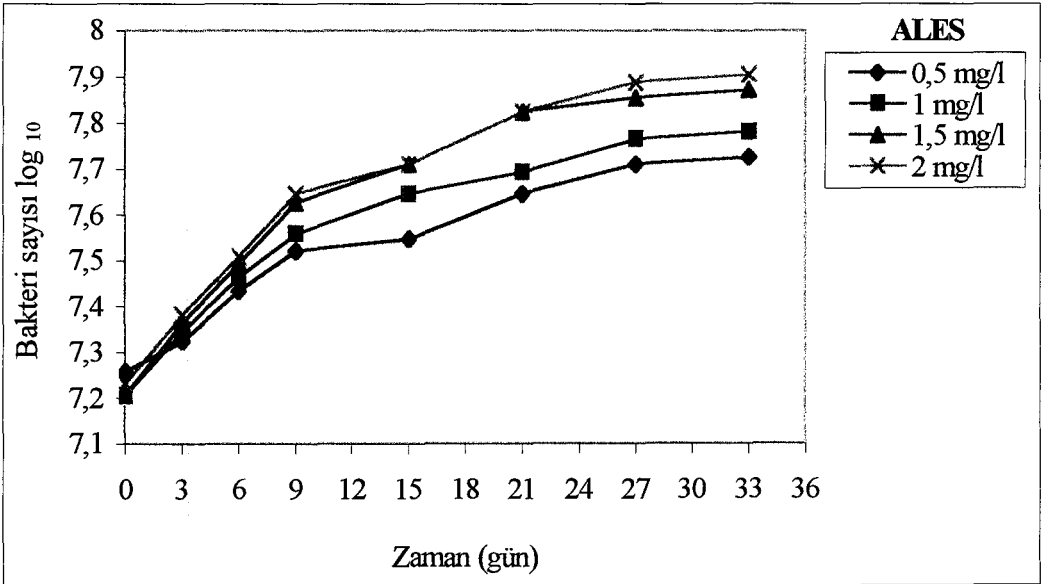
Şekil 3.3. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki LAB aktif maddesinin parçalanması



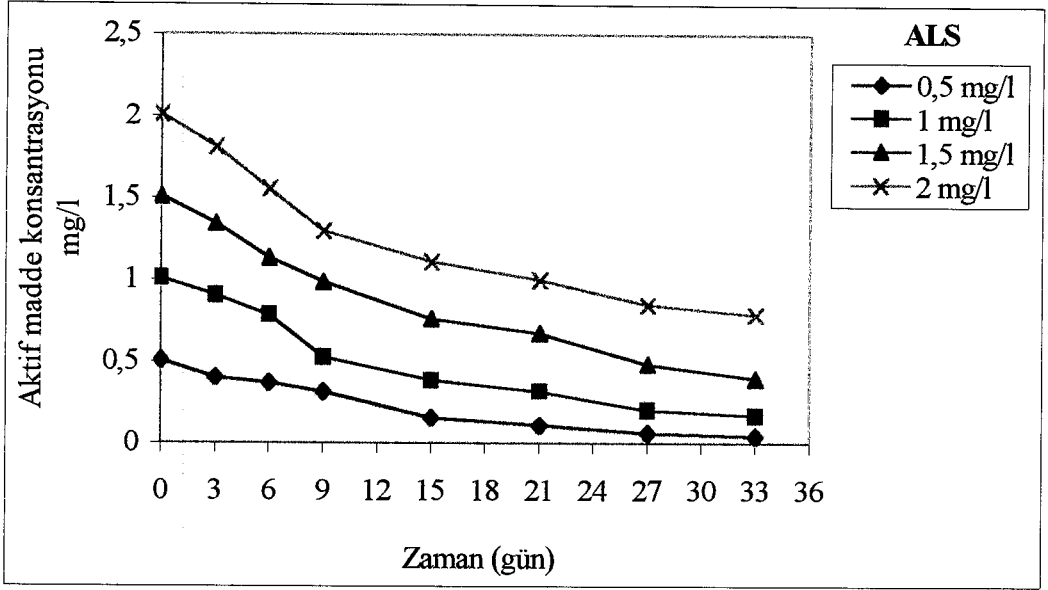
Şekil 3.4. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında LAB aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi



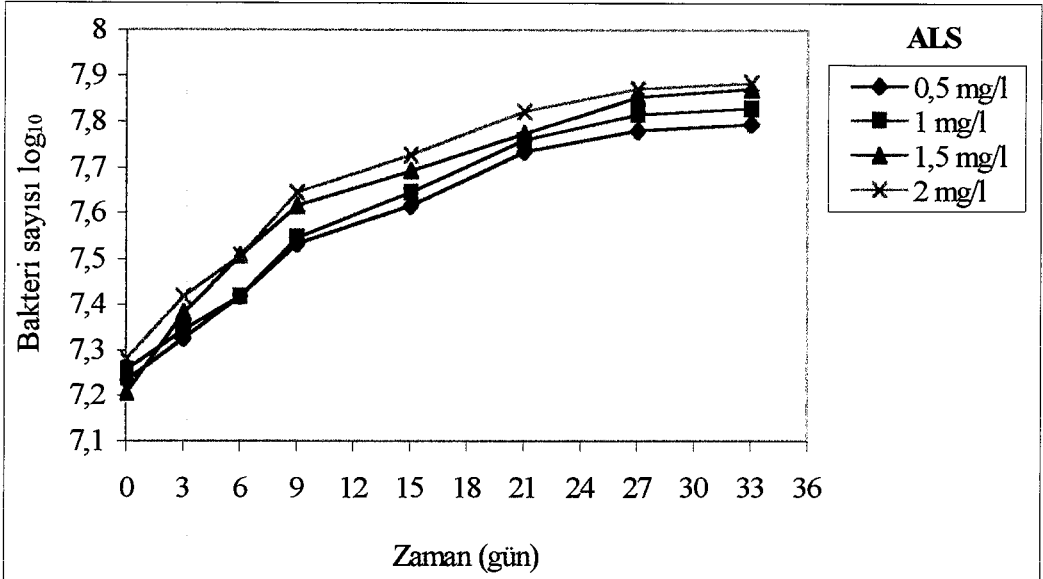
Şekil 3.5. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki ALES aktif maddesinin parçalanması



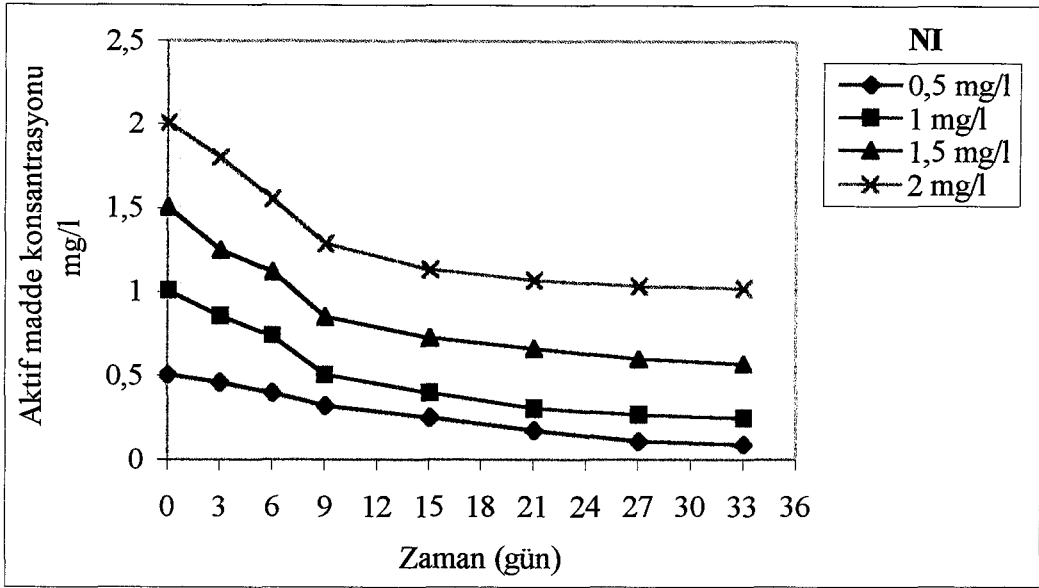
Şekil 3.6. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında ALES aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi



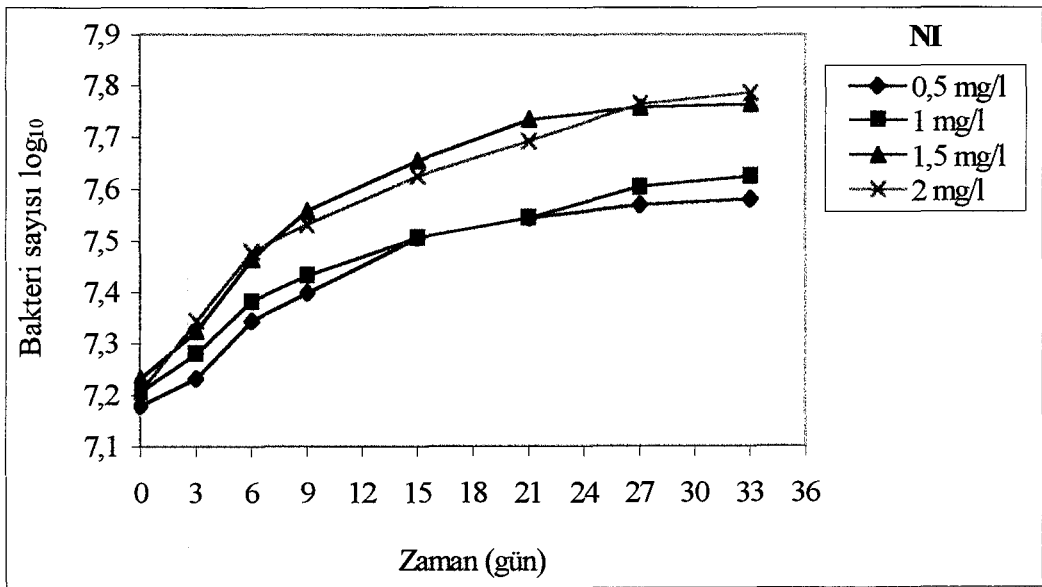
Şekil 3.7. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki ALS aktif maddesinin parçalanması



Şekil 3.8. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında ALS aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi



Şekil 3.9. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki NI aktif maddesinin parçalanması



Şekil 3.10. Farklı başlangıç konsantrasyonlarında NI aktif maddesi içeren su örneğindeki toplam bakteri sayısının zamanla değişimi

3.4. Porsuk Çayı Suyunda Deterjanları Kullanabilen Mikroorganizmaların İzolasyonu ve Tanımlanması

Porsuk Çayı'nda, farklı istasyonlardan alınan su örneklerinden SLES, LAB, ALES, ALS ve NI aktif maddelerini içeren besiyerlerine ekimler yapılmış ve inkübasyon sonunda, bu aktif maddeleri karbon kaynağı olarak kullanan bakteriler stoklanarak, mikroskopik incelemeleri ve identifikasyon test sonuçları Çizelge 3.1.ve Şekil 4.1-4.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. İzole edilen bakterilerin identifikasyon test sonuçları

Bakteri No	1	2	3	4	5	6
Gram Boyama	-	-	-	-	+	-
Çap/Uzunluk(µm)	0.7-1.1;2-4	1-1.4;2-4	0.6-1;1.2-3	0.4-0.8;1-3	1-1.2;3-6	0.3-1.5;1-3
Katalaz testi	+	+	+	+	+	+
Oksidaz testi	+	-	-	-	-	-
Hareketlilik testi	+	+	+	+	+	-
Nitrat indirgenme	+	+	+	+	+	+
Sitrat testi	+	-	+	+	+	+
İndol üretimi	-	+	-	+	-	-
Metil kırmızısı	+	+	-	+	-	-
Voges Proskauer	-	-	+	-	+	+
Nişasta hidrolizi	-	-	+	-	+	-
Jelatin hidrolizi	-	-	+	+	+	-
Sakkaroz	-	A+G	A+G	A+G	A	A
Laktoz	-	A+G	A+G	-	-	A+G
Glikoz	A	A+G	A+G	A+G	A	A+G
Galaktoz	-	A+G	A+G	A+G	A	A+G
Arabinoz	-	A+G	A+G	-	-	A

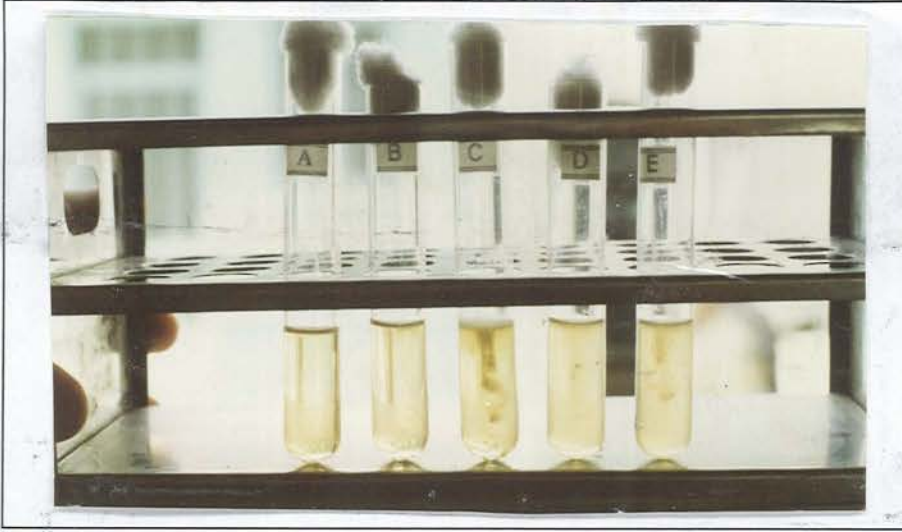
+ : Pozitif
- : Negatif

A : Asit oluşumu
A+G : Asit ve gaz oluşumu

Test sonuçlarına göre, çizelgedeki 1 no.lu bakteri *P. putida*; 2 no.lu *E. coli*; 3 no.lu *E. aerogenes*; 4 no.lu *P. vulgaris*; 5 no.lu *B. cereus*; 6 no.lu *K. pneumoniae* olarak tanımlanmıştır.

Porsuk Çayı'nda 10 istasyondan alınan su örneklerinden, toplam 76 tane bakteri izolatu elde edilmiştir. Elde edilen bu izolatların, mikroskopik incelenmeleri ve identifikasyon testleri sonucu, 19 tanesinin *Pseudomonas putida*; 16 tanesinin *Enterobacter aerogenes*; 14 tanesinin *Bacillus cereus*; 11 tanesinin *Escherichia coli*; 9

tanesinin *Proteus vulgaris* ve 7 tanesinin de *Klebsiella pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Hareketlilik testi

A : Kontrol
B : Negatif
C, D, E: Pozitif



Şekil 4.2. Nitrat indirgenmesi testi

A : Kontrol
B : Negatif
C, D, E: Pozitif



Şekil 4.3. Sitrat, Metil kırmızısı ve Voges Proskauer testi

Sitrat testi

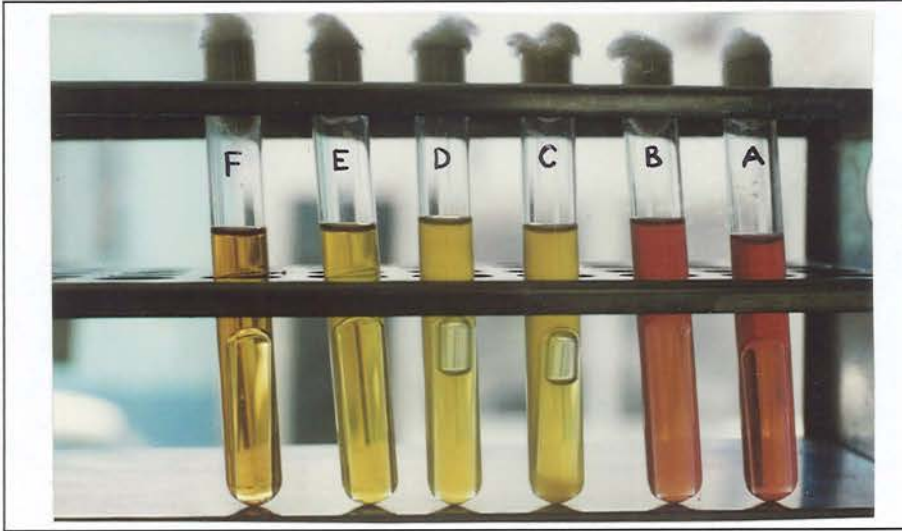
A: Kontrol
B: Pozitif
C: Pozitif

Metil kırmızısı testi

D: Kontrol
E: Negatif
F: Pozitif

Voges Proskauer testi

G: Kontrol
H: Negatif
I: Pozitif



Şekil 4.4. Karbonhidratların fermentasyon testleri

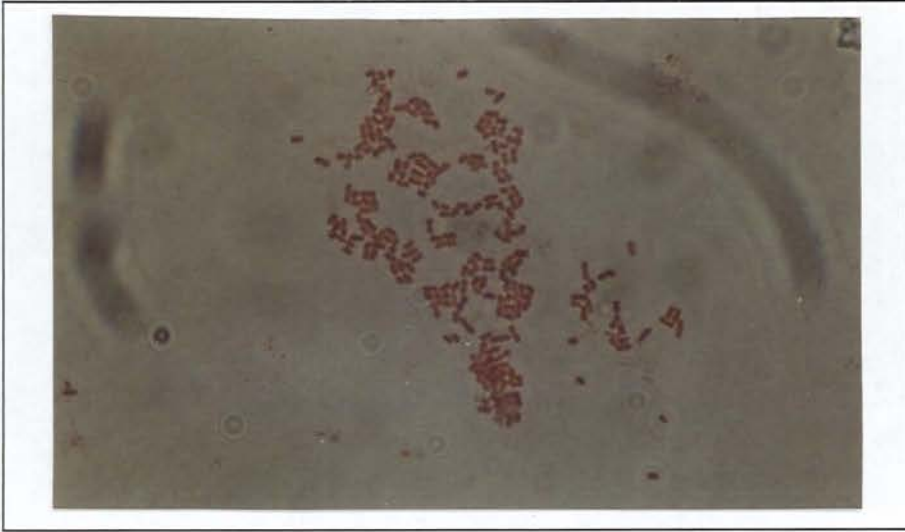
A : Kontrol
B : Negatif
C, D : Asit ve gaz oluşumu
E, F : Asit oluşumu

Toplam izolatların % 25'i *Pseudomonas putida* olarak bulunmuştur (Şekil 5.1.).



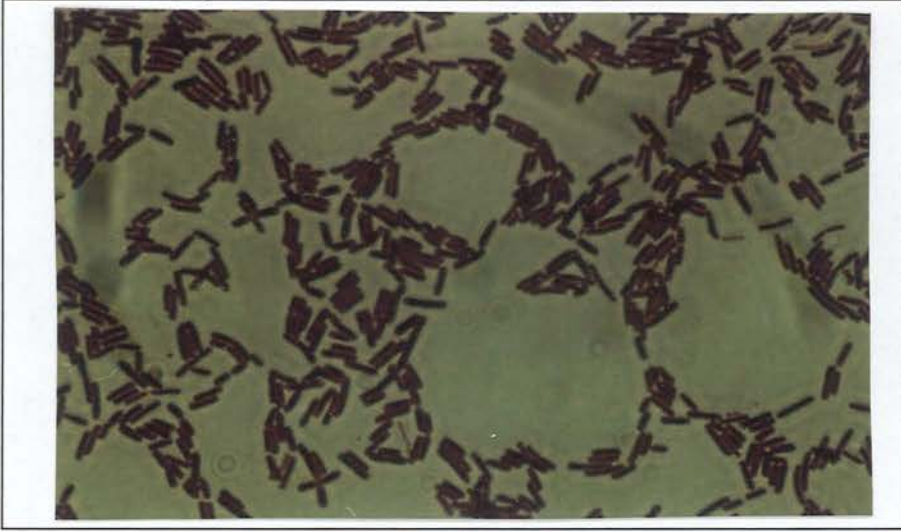
Şekil 5.1. *Pseudomonas putida*'nın mikroskop altındaki görünüşü

Toplam izolatların % 21.05'i *Enterobacter aerogenes* olarak saptanmıştır (Şekil 5.2.).



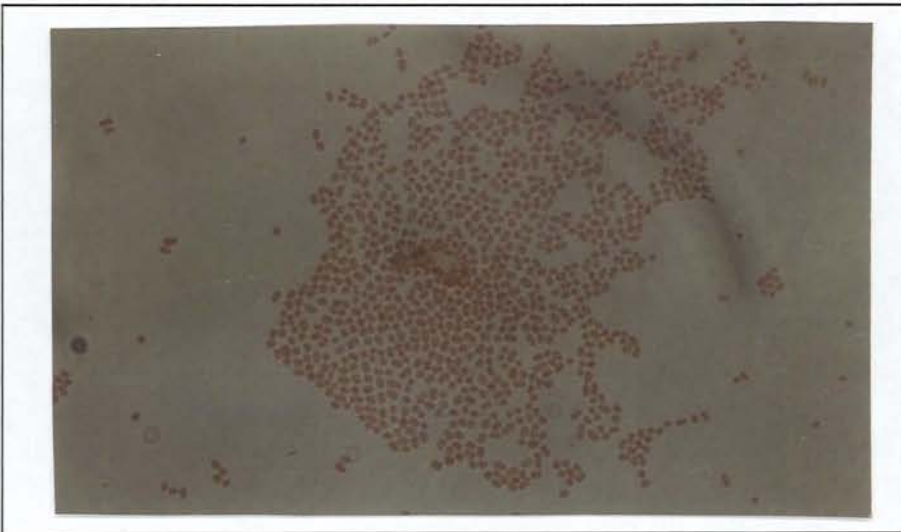
Şekil 5.2. *Enterobacter aerogenes*'in mikroskop altındaki görünüşü

Toplam izolatların % 18.42'si *Bacillus cereus* olarak saptanmıştır (Şekil 5.3.).



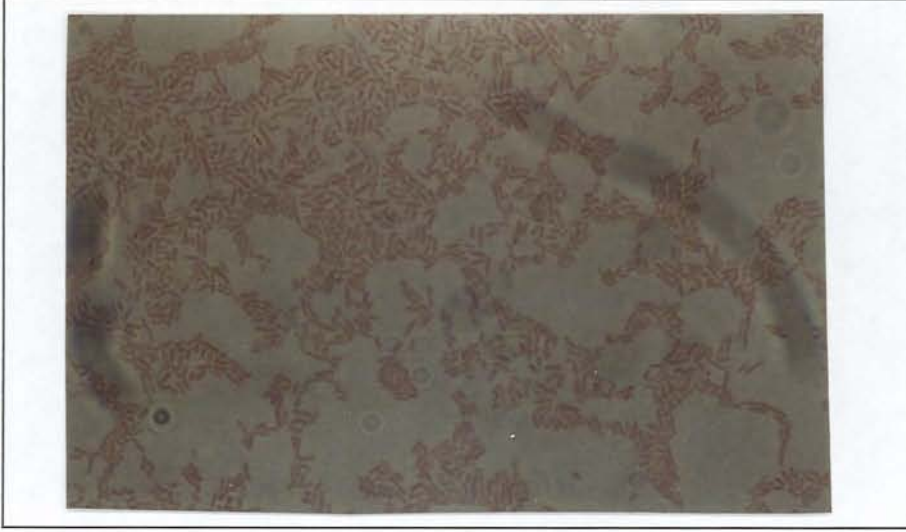
Şekil 5.3. *Bacillus cereus*'un mikroskop altındaki görünüşü

Toplam izolatların % 14.47'si *Escherichia coli* olarak bulunmuştur (Şekil 5.4.).



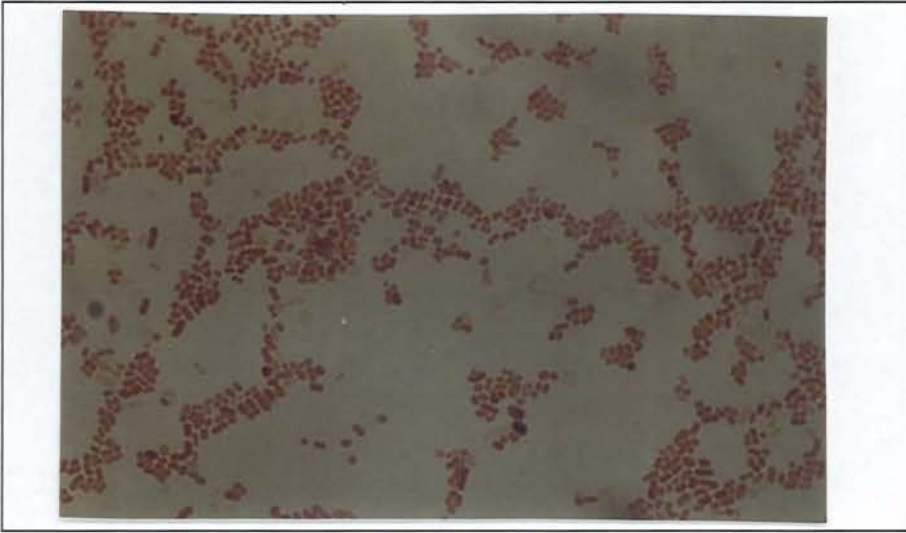
Şekil 5.4. *Escherichia coli*'nin mikroskop altındaki görünüşü

Toplam izolatların % 11.84'ü *Proteus vulgaris* olarak saptanmıştır (Şekil 5.5.).



Şekil 5.5. *Proteus vulgaris*'in mikroskop altındaki görünüşü

Toplam izolatların % 9.21'i *Klebsiella pneumoniae* olarak bulunmuştur (Şekil 5.6.).



Şekil 5.6. *Klebsiella pneumoniae*'nin mikroskop altındaki görünüşü

3.5. Tanımlanan Bakterilerin Aktif Maddeleri Parçalama Oranları

Tanımlanan bakterilerin herbiri, Porsuk Çayı su örneği steril edildikten sonra, bu örneğe ilave edilmiştir. Aynı örneklere 1mg/l oranında en kolay parçalanabilen SLES ve en zor parçalanabilen NI aktif maddeleri eklenerek, 33 gün süreyle durgun ve çalkalamalı ortamlarda, aktif maddeleri parçalama oranları gözlenmiştir. Mezbaha istasyonundan alınan su örneği kontrol olarak kullanılmıştır. Ayrıca Kontrol örneğine 1 mg/l SLES ve NI aktif maddeleri ilave edilerek, aktif madde parçalanma oranlarına bakılmıştır. Kontrol olarak, *Pseudomonas putida* NRRL-B13 suşu kullanılmıştır.

Durgun ortamda, 33 günlük inkübasyondan sonra, 1 mg/l SLES aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 51.24; *P. putida*: % 50.96; *K. pneumoniae*: % 45.42; *E. coli*: % 40.46; *E. aerogenes*: % 36.07; *B. cereus*: % 32.88; *P. vulgaris*: % 26.22 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 76.92; bu ortama ilave edilen 1 mg/l SLES aktif maddesi ise % 88.99 oranında parçalanmıştır.

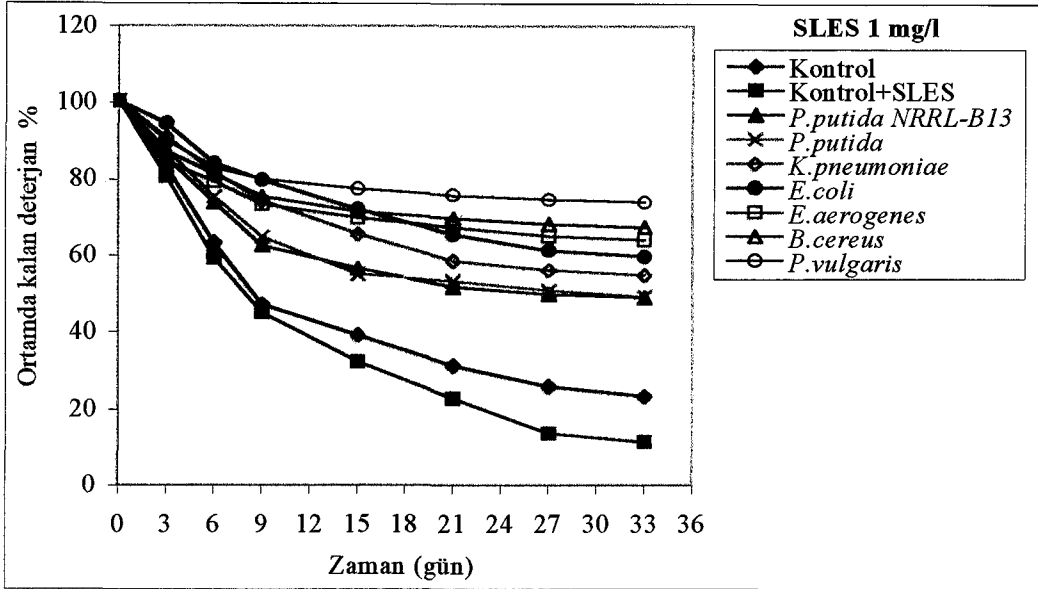
Çalkalamalı ortamda ise 1 mg/l SLES aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 60.89; *P. putida*: % 60.11; *K. pneumoniae*: % 54.3; *E. coli*: % 49.18; *E. aerogenes*: % 44.2; *B. cereus*: % 39.89; *P. vulgaris*: % 33.07 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 84.96; bu ortama ilave edilen 1 mg/l SLES aktif maddesi ise % 96.79 oranında parçalanmıştır.

Durgun ortamda, 1 mg/l NI aktif maddesini 33 günlük inkübasyondan sonra, *P. putida* NRRL-B13: % 44.26; *P. putida*: % 43.9; *K. pneumoniae*: % 37.72; *E. coli*: % 33.94; *E. aerogenes*: % 29.84; *B. cereus*: % 25.38; *P. vulgaris*: % 18.89 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 68.09; bu ortama ilave edilen 1 mg/l NI aktif maddesi ise % 75.86 oranında parçalanmıştır.

Çalkalamalı ortamda ise 1 mg/l NI aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 53.4; *P. putida*: % 53.05; *K. pneumoniae*: % 46.85; *E. coli*: % 40.42; *E. aerogenes*: % 38.37; *B. cereus*: % 36.11 ve *P. vulgaris*: % 27.92 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar

tarafından % 79.22; bu ortama ilave edilen 1 mg/l NI aktif maddesi ise % 86.37 oranında parçalanmıştır.

Tanımlanan bakterilerin, durgun ortamda SLES aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan yüzdeleri Şekil 6.1.ve bakteri sayıları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

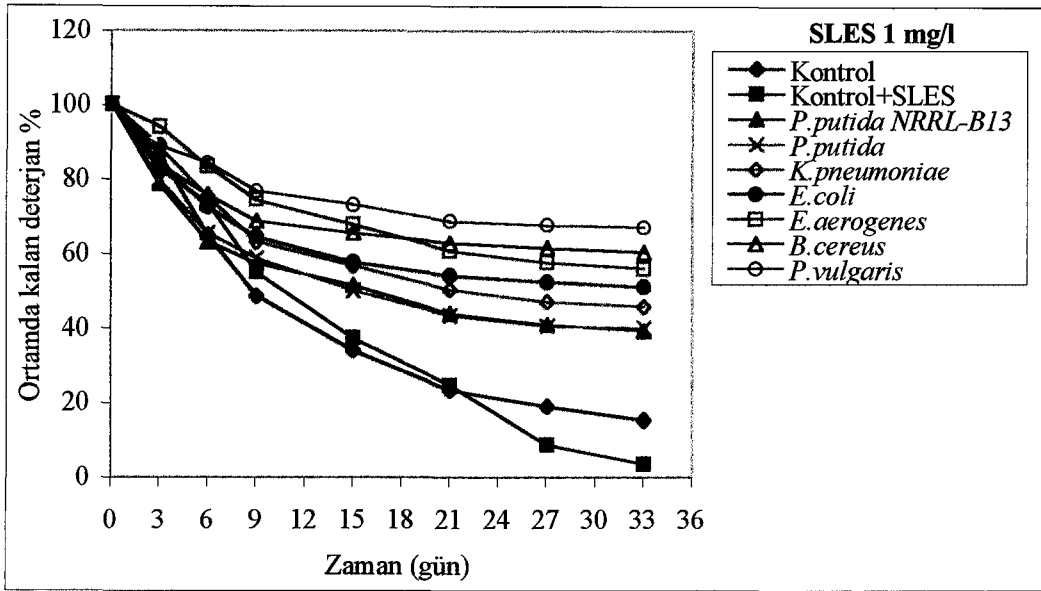


Şekil 6.1. Tanımlanan bakterilerin, durgun ortamda 1 mg/l SLES aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan %'leri

Çizelge 4.1. Durgun ortamda, 1 mg/l SLES aktif maddesini parçalayan bakterilerin ml'deki sayıları

Gün	Kontrol Toplam Bakteri	Kontrol+SLES Toplam Bakteri	<i>P.putida</i> NRRL-B13	<i>P.putida</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>B.cereus</i>	<i>P.vulgaris</i>
0	50×10^7	44×10^7	63×10^4	60×10^4	9×10^4	15×10^4	20×10^4	17×10^4	11×10^4
3	57×10^7	51×10^7	71×10^4	68×10^4	16×10^4	21×10^4	26×10^4	23×10^4	17×10^4
6	62×10^7	58×10^7	76×10^4	73×10^4	20×10^4	27×10^4	32×10^4	29×10^4	22×10^4
9	71×10^7	69×10^7	83×10^4	80×10^4	27×10^4	34×10^4	41×10^4	36×10^4	30×10^4
15	83×10^7	77×10^7	92×10^4	86×10^4	33×10^4	39×10^4	47×10^4	43×10^4	36×10^4
21	91×10^7	83×10^7	97×10^4	92×10^4	41×10^4	46×10^4	53×10^4	49×10^4	44×10^4
27	10×10^8	91×10^7	12×10^5	10×10^5	47×10^4	55×10^4	61×10^4	57×10^4	49×10^4
33	11×10^8	96×10^7	13×10^5	12×10^5	52×10^4	59×10^4	69×10^4	63×10^4	55×10^4

Tanımlanan bakterilerin, çalkalamalı ortamda SLES aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan yüzdeleri de Şekil 6.2'de bakteri sayıları ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.

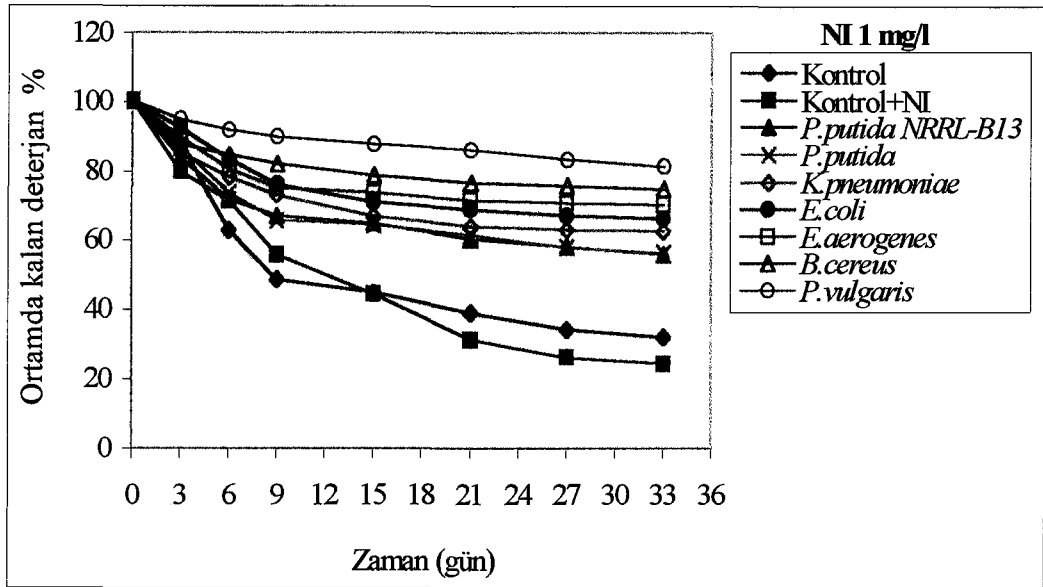


Şekil 6.2. Tanımlanan bakterilerin, çalkalamalı ortamda 1 mg/l SLES aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan %'leri

Çizelge 4.2. Çalkalamalı ortamda, 1 mg/l SLES aktif maddesini parçalayan bakterilerin ml'deki sayıları

Gün	Kontrol Toplam Bakteri	Kontrol+SLES Toplam Bakteri	<i>P. putida</i> NRRL-B13	<i>P. putida</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. vulgaris</i>
0	52×10^7	45×10^7	65×10^4	61×10^4	11×10^4	16×10^4	19×10^4	19×10^4	12×10^4
3	62×10^7	58×10^7	79×10^4	77×10^4	26×10^4	30×10^4	35×10^4	34×10^4	26×10^4
6	70×10^7	67×10^7	84×10^4	83×10^4	29×10^4	36×10^4	40×10^4	38×10^4	33×10^4
9	79×10^7	76×10^7	93×10^4	91×10^4	37×10^4	43×10^4	51×10^4	47×10^4	41×10^4
15	92×10^7	87×10^7	99×10^4	96×10^4	42×10^4	50×10^4	58×10^4	54×10^4	45×10^4
21	10×10^8	96×10^7	11×10^5	10×10^5	50×10^4	55×10^4	62×10^4	60×10^4	55×10^4
27	12×10^8	10×10^8	13×10^5	11×10^5	58×10^4	64×10^4	70×10^4	68×10^4	60×10^4
33	14×10^8	12×10^8	16×10^5	14×10^5	63×10^4	68×10^4	80×10^4	74×10^4	66×10^4

Tanımlanan bakterilerin, durgun ortamda NI aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan yüzdeleri Şekil 6.3. ve bakteri sayıları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

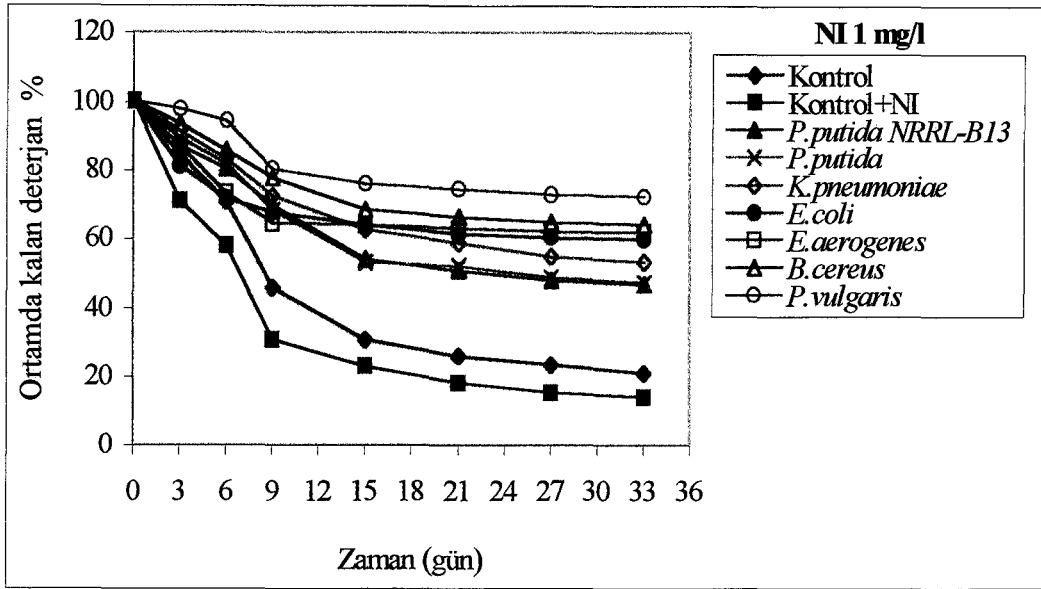


Şekil 6.3. Tanımlanan bakterilerin, durgun ortamda 1 mg/l NI aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan %'leri

Çizelge 4.3. Durgun ortamda, 1 mg/l NI aktif maddesini parçalayan bakterilerin ml'deki sayıları

Gün	Kontrol Toplam Bakteri	Kontrol+NI Toplam Bakteri	<i>P.putida</i> NRRL-B13	<i>P.putida</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>B.cereus</i>	<i>P.vulgaris</i>
0	52x10 ⁷	41x10 ⁷	59x10 ⁴	57x10 ⁴	6x10 ⁴	11x10 ⁴	17x10 ⁴	14x10 ⁴	8x10 ⁴
3	58x10 ⁷	45x10 ⁷	70x10 ⁴	66x10 ⁴	13x10 ⁴	18x10 ⁴	23x10 ⁴	19x10 ⁴	14x10 ⁴
6	64x10 ⁷	51x10 ⁷	74x10 ⁴	70x10 ⁴	19x10 ⁴	25x10 ⁴	30x10 ⁴	25x10 ⁴	20x10 ⁴
9	73x10 ⁷	55x10 ⁷	79x10 ⁴	76x10 ⁴	24x10 ⁴	31x10 ⁴	40x10 ⁴	33x10 ⁴	27x10 ⁴
15	82x10 ⁷	66x10 ⁷	90x10 ⁴	85x10 ⁴	31x10 ⁴	36x10 ⁴	45x10 ⁴	41x10 ⁴	34x10 ⁴
21	89x10 ⁷	81x10 ⁷	95x10 ⁴	91x10 ⁴	38x10 ⁴	44x10 ⁴	50x10 ⁴	47x10 ⁴	42x10 ⁴
27	99x10 ⁷	92x10 ⁷	10x10 ⁵	97x10 ⁴	45x10 ⁴	53x10 ⁴	58x10 ⁴	54x10 ⁴	45x10 ⁴
33	11x10 ⁸	10x10 ⁸	11x10 ⁵	10x10 ⁵	50x10 ⁴	57x10 ⁴	66x10 ⁴	61x10 ⁴	53x10 ⁴

Tanımlanan bakterilerin, çalkalamalı ortamda NI aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan yüzdeleri de Şekil 6.4'de ve bakteri sayıları ise Çizelge 4.4'de verilmiştir.



Şekil 6.4. Tanımlanan bakterilerin, çalkalamalı ortamda 1 mg/l NI aktif maddesini parçalamasıyla, ortamda kalan deterjan %'leri

Çizelge 4.4. Çalkalamalı ortamda, 1 mg/l NI aktif maddesini parçalayan bakterilerin ml'deki sayıları

Gün	Kontrol Toplam Bakteri	Kontrol+NI Toplam Bakteri	<i>P.putida</i> NRRL-B13	<i>P.putida</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>B.cereus</i>	<i>P.vulgaris</i>
0	51x10 ⁷	42x10 ⁷	60x10 ⁴	58x10 ⁴	7x10 ⁴	10x10 ⁴	18x10 ⁴	13x10 ⁴	9x10 ⁴
3	60x10 ⁷	55x10 ⁷	71x10 ⁴	69x10 ⁴	18x10 ⁴	25x10 ⁴	29x10 ⁴	24x10 ⁴	23x10 ⁴
6	68x10 ⁷	66x10 ⁷	80x10 ⁴	77x10 ⁴	26x10 ⁴	34x10 ⁴	37x10 ⁴	32x10 ⁴	31x10 ⁴
9	77x10 ⁷	73x10 ⁷	89x10 ⁴	86x10 ⁴	35x10 ⁴	40x10 ⁴	48x10 ⁴	44x10 ⁴	38x10 ⁴
15	90x10 ⁷	83x10 ⁷	95x10 ⁴	91x10 ⁴	40x10 ⁴	51x10 ⁴	55x10 ⁴	52x10 ⁴	44x10 ⁴
21	98x10 ⁷	92x10 ⁷	10x10 ⁵	98x10 ⁴	51x10 ⁴	57x10 ⁴	60x10 ⁴	60x10 ⁴	53x10 ⁴
27	11x10 ⁸	99x10 ⁷	11x10 ⁵	10x10 ⁵	59x10 ⁴	63x10 ⁴	67x10 ⁴	66x10 ⁴	59x10 ⁴
33	13x10 ⁸	11x10 ⁸	13x10 ⁵	12x10 ⁵	64x10 ⁴	66x10 ⁴	76x10 ⁴	71x10 ⁴	64x10 ⁴

4. SONUÇLAR, YORUM VE ÖNERİLER

4.1. Porsuk Çayı'ndan Alınan Su Örneklerinin Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik İncelenmesi

Porsuk Çayı'ndan bir yıl boyunca alınan su örneklerinde deterjan miktarlarının istasyonlara göre 0.135-0.432 mg/l arasında değiştiği görülmüştür. 4 Eylül 1988 yılı 19919 sayılı Resmi Gazete'ye göre yüzeysel sular, anyonik yüzey aktif madde miktarları bakımından 4 sınıf altında toplanmıştır. 0.5 mg/l anyonik aktif madde içeren yüzeysel sular 1. Sınıf (yüksek kaliteli su); 1 mg/l anyonik aktif madde içeren yüzeysel sular 2. Sınıf (az kirlenmiş su); 1.5 mg/l anyonik aktif madde içeren yüzeysel sular 3. Sınıf (kirlenmiş su); 1.5 mg/l'den daha fazla anyonik aktif madde içeren yüzeysel sular 4. Sınıf (çok kirlenmiş su) olarak sınıflandırılmıştır.

Elde ettiğimiz verilere göre, aktif madde miktarı dikkate alındığında, bütün veriler 0.5 mg/l'nin altında bulunmuştur. Porsuk Çayı'nı anyonik aktif maddeler bakımından 1. Sınıf (yüksek kaliteli su) kabul edebiliriz. Ancak Porsuk Çayı'nın diğer kimyasal özelliklerine baktığımız zaman; Resmi Gazete'de 1. Sınıf sular için belirtilen özellikleri taşımadığı görülmektedir. Resmi Gazete'de 1. Sınıf sular için, $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarının 0.02 mg/l'nin altında olması; $\text{NO}_2\text{-N}$ miktarının 0.002 mg/l'nin altında olması istenmektedir. Bir yıl boyunca istasyonlardan aldığımız sonuçlar; $\text{NO}_2\text{-N}$ miktarları için bir istasyon hariç, bu değerlerin üzerindedir. $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarları ise bütün istasyonlarda yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte $\text{NO}_3\text{-N}$ miktarı için önerilen (5 mg/l) değerinin altında olduğu saptanmıştır. Porsuk Çayı'nda yapılan benzer çalışmalarda da bu durum vurgulanmıştır [22, 18, 23].

Malkoçoğlu [18] tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada $\text{NO}_3\text{-N}$ miktarları 0.39-2.23 mg/l, $\text{NO}_2\text{-N}$ miktarları ise 0.002-0.09 mg/l arasında bulunmuştur. Yine Eskişehir Devlet Su İşleri 3. Bölge Müdürlüğü tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan diğer bir çalışmada $\text{NO}_2\text{-N}$ miktarları 0.005-0.330 mg/l (ortalama 0.084 mg/l), $\text{NO}_3\text{-N}$ miktarları ise 1.50-6.40 mg/l (ortalama 3.18 mg/l), $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarı 0-4.65 mg/l (ortalama 0.78 mg/l) olarak bildirilmiştir [23]. Kıvanç, Güven vd. [22] tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada ise Resmi Gazete'de belirtilen $\text{NH}_3\text{-N}$ değerlerine

göre, bütün istasyonlarda örnek alma periyodu süresince çok yüksek sayılar saptanmıştır. $\text{NO}_2\text{-N}$ miktarı ise birkaç istasyonda bazı aylar dışında Resmi Gazete'de belirtilen değerlerin çok üstünde bulunmuş olup, çok kirli sular sınıfına dahil edilmiştir. $\text{NO}_3\text{-N}$ bakımından birkaç ekstrem durum dışında genel olarak Resmi Gazete'de belirtilen değerlerin altında olduğunu bildirmişlerdir.

Erdur [24] tarafından yapılan bir çalışmada, İzmir İç Körfez'e dökülen Melez Çayı'nda bulunan $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ ve $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarlarının çok yüksek olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda istasyonlara göre bir yıllık ortalama toplam klor miktarı 0.01-0.05 mg/l arasında değişmiştir. Ölçülen toplam klor miktarları düşük olduğundan, Porsuk Çayı'nda deterjanları karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizmalar üzerinde olumsuz bir etki yaptığı sanılmamaktadır.

Porsuk Çayı'ndan alınan su örneklerinde, istasyonlara göre bir yıllık ortalama çözünmüş oksijen miktarları 4.7-6.6 mg/l arasında değişmiştir. Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ) miktarlarının ise 0.7-3.6 mg/l arasında değiştiği görülmüştür. Bu değerler ile Porsuk Çayı, Resmi Gazete'de (1988) yapılan sınıflandırmaya göre BOİ açısından 1. sınıf sular kategorisine girmektedir.

Kıvanç, Güven vd. [22] tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada, bir yıl boyunca ölçülen BOİ miktarları, istasyonlara göre 0-20.4 mg/l arasında değişmiştir. Bu değerler ile Porsuk Çayı'nın Resmi Gazete'de (1988) yapılan sınıflandırmaya göre 2. ve 3. sınıf sular kategorisine girdiği bildirilmiştir. Çalışmamızda, 1. sınıf kategorisine girmesini sağlayan daha düşük değerlerin ölçülmesi, Porsuk Çayı'nın kirlenmesine neden olan endüstri kuruluşlarının, bu konuda bazı önlemler almalarından dolayı olabilir.

Porsuk Çayı'ndan alınan su örneklerinde, istasyonlara göre bir yıllık ortalama pH değerleri 7.48-8.19 arasında değişmiştir. Bu değerler ile Porsuk Çayı Resmi Gazete'de (1988) yapılan sınıflandırmaya göre pH açısından 2. Sınıf sular kategorisine girmektedir.

Kıvanç, Güven vd. [22] tarafından Porsuk Çayı'nda yapılan bir çalışmada, bir yıl boyunca ölçülen pH değerleri, istasyonlara göre 6-8.94 arasında değişmiştir. Bu

değerler ile Porsuk Çayı'nın Resmi Gazete'de (1988) yapılan sınıflandırmaya göre 3. ve 4. sınıf sular kategorisine girdiği bildirilmiştir.

Porsuk Çayı boyunca istasyonlardaki deterjan miktarı, Porsuk Çayı'nın şehrin çıkış noktasına doğru artmıştır. Benzer bir çalışmada, Ćosović, Vojvodić et al. [14], Yugoslavya'da Sava ve Drava Nehir'lerinde, şehrin çıkışına doğru deterjan miktarlarının arttığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, şehir merkezindeki nehir suyunda 100-300 µg/l deterjan saptamışlardır.

Yaptığımız çalışmada, Porsuk Çayı'nda toplam bakteri sayısı istasyonlara göre, mililitrede 30×10^5 - 46×10^7 arasında değişmiştir. Deterjanların parçalanmasında rolü olan koliform bakteri, *Bacillus* ve *Pseudomonas* sayıları istasyonlara göre değişmiştir (Bkz. Çizelge 1.1). 100 ml'deki koliform bakteri sayısı 2 istasyonda 11×10^4 'ün üzerinde, 6 istasyonda 200'ün altında, bir istasyonda 900 ve bir istasyonda da 2300 olarak bulunmuştur. *Bacillus* sayısı mililitrede 4×10^3 - 42×10^4 arasında, *Pseudomonas* sayısı ise mililitrede 5×10^3 - 75×10^4 arasında değişmiştir.

Porsuk Çayı'nda yapılan diğer çalışmalarda, koliform bakteri sayıları benzer bulunmuştur. Malkoçoğlu [18], Porsuk Çayı'nda 10^2 - 10^4 /100 ml toplam koliform bakteri bulmuştur. Khalaf [19], Irak'ta Tigris Nehri'nde toplam bakteri sayısını 9.7×10^3 /ml olduğunu ve bunun istasyonlara göre değiştiğini bildirmiştir. Koliform bakteri sayısı açısından ise, 21.5×10^2 - 1.0×10^3 /100 ml olduğunu bildirmiştir.

4.2. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda Biyolojik Parçalanması

Porsuk Çayı su örneklerindeki bakteri sayıları birbirlerinden çok farklı olmamıştır. Otuz altı günlük inkübasyon süresi sonunda toplam bakteri, koliform bakteri *Bacillus* ve *Pseudomonas* sayılarında bir artış gözlenmiştir. Aktif maddeleri karbon kaynağı olarak kullanan bakteri sayıları da aktif maddelere göre büyük ölçüde değişmemiştir.

Porsuk Çayı Mezbaha istasyonundan alınan su örneğinde, başlangıçta saptanan deterjan miktarı 43.21 µg/100ml iken, 36 günlük inkübasyon sonunda bu miktar 9.24 µg/100ml olarak ölçülmüştür. Porsuk Çayı Mezbaha istasyonundan alınan su örneklerine, 1'er mg/l deterjan aktif maddeleri ilave edildiği zaman, inkübasyon

periyodu sonunda suda kalan deterjan aktif madde miktarları farklılık göstermiştir. Su örneğine SLES aktif maddesi ilave edildiğinde, başlangıçta deterjan aktif maddesi miktarı 145 µg/100 ml ölçülürken, 36 gün sonunda 4.61 µg/100 ml'ye düşmüştür. LAB aktif maddesi 143.89 µg/100 ml'den 16.04 µg/100 ml'ye; ALES aktif maddesi 145.87 µg/100 ml'den 8.89 µg/100 ml'ye; ALS aktif maddesi 146.66 µg/100 ml'den 7.11 µg/100 ml'ye ve NI aktif maddesi 143.5 µg/100 ml'den 27.9 µg/100 ml'ye düşmüştür. Mezbaha istasyonu su örneğinde bulunan deterjan miktarı, 36 gün sonunda % 78.62 oranında parçalanırken, deterjan aktif maddesi ilave edilen su örneklerinde daha fazla oranlarda deterjan aktif madde parçalanması görülmüştür. Bu parçalanma oranları SLES aktif maddesi için % 96.82; ALS aktif maddesi için % 95.15; ALES aktif maddesi için % 93.91; LAB aktif maddesi için % 88.85 ve NI aktif maddesi için % 80.54 olarak bulunmuştur. En yüksek parçalanma SLES aktif maddesinde sağlanırken, en düşük NI aktif maddesinde olmuştur.

Benzer olarak, Özkalp ve Özçelik [13], çeşitli deterjanlar kullanarak yaptıkları çalışmada, başlangıçta 200 mg deterjan içeren ortamlarda 18 günlük inkübasyon sonunda, toprak mikroflorası tarafından % 38.61-% 61.56 oranlarında; atıksu mikroflorası tarafından % 36.70-% 60.03 oranlarında ve deterjan ilave edilmemiş ortamda ise % 7.05-% 13.86 oranlarında deterjanların parçalandığını bildirmişlerdir. Porsuk Çayı'nda deterjan ve aktif maddelerin parçalanma yüzdesi daha yüksek bulunmuştur.

Ćosović, Vojvodić et al. [14], bizim çalışmamızın aksine; Yugoslavya'da üç nehirde yapmış oldukları çalışmada, üç haftalık inceleme periyodunda nehirdeki yüzey aktif maddelerinin parçalanmaya dirençli olduğunu ve bu aktif maddelerin % 20'den daha az oranda parçalandıklarını bildirmişlerdir. Bunun nedeni, deterjan aktif maddelerinin kimyasal yapısı olabileceği gibi, ortamda bulunan mikroorganizmalar da olabilir.

Ćosović, Vojvodić et al. [14] tarafından bildirildiğine göre; Fischer, son yıllarda deterjanlarda, biyolojik olarak parçalanamayan bileşiklerin yerine, biyolojik olarak parçalanabilen bileşiklerin kullanılması nedeniyle, dünya nehirlerinde daha düşük deterjan miktarlarının bulunduğunu bildirmiştir.

Porsuk Çayı suyuna deterjan ilave edilmemiş örneklerde; başlangıçta SLES aktif maddesini tek karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizmaların oranı % 2.61 iken, 36 gün sonunda bu oran % 6.69'a çıkmıştır. LAB aktif maddesini kullanan mikroorganizma oranı başlangıçta % 1.02 iken, 36 gün sonunda % 5.85 olmuştur. Bu oranlar, ALES aktif maddesini kullanan mikroorganizmalarda % 1.74'den % 5.54'e; ALS aktif maddesini kullanan mikroorganizmalarda % 1.74'den % 6'ya ve NI aktif maddesini kullanan mikroorganizmalarda ise % 1.9'dan % 5.08'e çıkmıştır.

Porsuk Çayı'ndan alınan su örneklerine, SLES aktif maddesi ilave edildiğinde, bu aktif maddeyi karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizmaların oranı başlangıçta % 6.5 iken, 36 gün sonunda bu oran % 8.1'e yükselmiştir. Bu mikroorganizmaların oranı, LAB aktif maddesinde % 2.36'dan % 7.9'a; ALES aktif maddesinde % 2.75'den % 5.9'a; ALS aktif maddesinde % 3.4'den % 6.9'a ve NI aktif maddesinde % 5.7'den % 8.3'e çıkmıştır. Deterjan aktif maddesini karbon kaynağı olarak kullanan bakteri sayısına bağlı olarak, sudaki deterjan miktarı da azalmıştır. ALES aktif maddesini karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizma sayısı, 36 günlük inkübasyon süresi sonunda, diğer aktif maddeleri kullanan mikroorganizma sayılarından daha düşük bulunmuştur.

Deterjan aktif maddesi ilave edilmeyen Porsuk Çayı su örneklerindeki, deterjan aktif maddelerini kullanabilen mikroorganizma sayısı ile deterjan aktif maddeleri ilave edilen su örneklerindeki, bu aktif maddeleri kullanabilen mikroorganizma sayıları karşılaştırıldığı zaman, LAB aktif maddesi hariç, diğer aktif maddelerin Porsuk Çayı'nda bulunan ve bu aktif maddeleri parçalayan doğal mikroorganizmaların gelişmesini yavaşlattığı görülmektedir. LAB aktif maddesi ise mikroorganizmaların gelişmesini desteklemiştir. Deterjan aktif maddesi ilave edilmeyen su örneğinde, doğal mikrobiyal floranın gelişimi daha hızlı olmuştur.

Otuz altı günlük inkübasyon periyodunda, deterjan aktif maddesi ilave edilmemiş Porsuk Çayı su örneklerindeki deterjan aktif maddesini kullanabilen mikroorganizma sayısı hızlı bir şekilde yükselirken, bu oran deterjan aktif maddesi ilave edilen su örneklerinde daha yavaş olmuştur. SLES aktif maddesi içeren su örneği, bu aktif maddeyi kullanan mikroorganizmaların en yavaş gelişmesini sağlayan ortam olarak bulunmuştur. Gerek deterjan aktif maddesi ilave edilmemiş Porsuk Çayı su

örneklerinde, gerekse deterjan aktif maddesi ilave edilmiş örneklerde, en hızlı mikrobiyal gelişmenin görüldüğü aktif madde LAB olmuştur.

Otuz altı günlük inkübasyon periyodu sonunda, en yüksek bakteri sayısına ulaşılan NI aktif maddesi içeren su örneğindeki parçalanma oranının, beklenildiği gibi yüksek olmadığı, hatta diğer aktif maddelerine göre en düşük olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, mikrobiyal gelişmenin en düşük olduğu ALES aktif maddesinde parçalanma, NI aktif maddesinden daha fazla olmuştur.

SLES aktif maddesini karbon kaynağı olarak kullanan mikroorganizma sayısındaki artış, diğer aktif maddelerdeki artışa göre en yavaş olmasına rağmen, en fazla parçalanma bu aktif maddede görülmüştür. LAB aktif maddesi, mikroorganizma gelişimini en fazla desteklemesine rağmen, aynı oranda parçalanma olmamıştır. Buna göre mikroorganizma sayısı ile deterjanların parçalanması arasında beklenildiği gibi yakın bir ilişki görülmemiştir.

Benzer olarak, Okpokwasili and Olisa [9] tarafından yapılan bir çalışmada, mikroorganizma sayısı en yüksek olan Teepol aktif maddesinde, en hızlı parçalanmanın olması beklenirken az parçalanma olduğunu, mikroorganizma sayısı düşük olan SDS ve Triton X-100 aktif maddesinde ise daha fazla parçalanma olduğunu bildirmişlerdir. Deterjan aktif maddelerinden SLES, ALES ve ALS'nin su örneklerinde az miktarlarda bulunması, Hales et al. [15] in, bildirdiği gibi, bu aktif maddelerdeki sülfatın, mikroorganizmalar tarafından serbest bırakılması sonucunda, parçalanmanın daha kolay gerçekleşmesi nedeniyle olabilir.

Hales et al. [15], deterjanları parçalayan 4 bakteri türü tarafından, sodyum dodesiltrioksülfatın (SDTES) biyolojik parçalanmasının incelendiği bir çalışmada, iki izolatın SDTES'den direk olarak sülfatı serbest bırakmalarının, anyonik sürfektanların primer biyolojik parçalanmasında önemli olduğunu ve parçalanmaya %30-40 oranında katkı sağladıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Okpokwasili and Olisa [9], yüksek sülfat konsantrasyonlarında, yüksek oranda parçalanma olduğunu saptamışlardır.

Schwab, Maruscik et al. [16] tarafından bildirildiğine göre; Lewis and Holm, akuatik sistemlerden, ksenobiyotiklerin ve sürfektanların uzaklaştırılmasında biyolojik parçalanmanın önemli bir yeri olduğunu bildirmişlerdir. Shimp, Schwab et al. [17] a

göre, ortama adapte olmuş doğal mikroorganizmalar, deterjanları daha iyi parçalayabilmektedirler. Bunun da kimyasalların biyolojik parçalanmasında, ortama adapte olmuş mikroorganizmaların artması ile olabileceğini bildirmişlerdir.

Porsuk Çayı'ndan alınan su örneklerinin, 36 günlük pH değişimi 7.48-7.98 arasında olmuştur. Aktif madde ilave edilen Porsuk Çayı su örneklerindeki 36 günlük pH'lar genellikle düşmüştür. pH'daki düşüş, söz konusu deterjan aktif maddelerinin parçalanması sırasında oluşan asidik metabolitler yüzünden olabilir. Okpokwasili and Olisa [9], çalışmalarında kullandıkları Teepol ve Rainbow deterjanlarının bulunduğu ortamların pH'sının, 12 günlük periyotta önce yükseldiğini ve daha sonra da düşüş gösterdiğini; şampuan içeren ortamın pH'ının bir yükseliş bir düşüş gösterdiğini; Triton X-100, Apollo, Spencer ve Flex deterjanlarını içeren ortamların pH'ının da sürekli düşüş gösterdiğini ve bu pH'daki düşüşlerin de söz konusu deterjanların parçalanmasıyla, ortamda asidik metabolitlerin ortaya çıkmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Bazı deterjan içeren ortamlarda da pH yükselmesinin, bu ortamlarda alkalın ara ürünlerinin oluşması nedeniyle olabileceğini rapor etmişlerdir.

4.3. Farklı Başlangıç Konsantrasyonlarındaki Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı Suyunda Biyolojik Parçalanması

Farklı aktif maddelerin ilave edildiği Porsuk Çayı suyunda, mikroorganizma sayısı değişik oranlarda artmıştır. SLES aktif maddesi hariç, diğer aktif maddelerde en düşük mikrobiyal gelişme, 0.5 mg/l'de olmuştur. SLES'de ise 1.5 mg/l'de en düşük gelişme görülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda aktif madde ilave edilen su örneklerindeki mikroorganizma sayıları, aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki mikroorganizma sayılarına göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum aktif maddelerin, mikroorganizmaların gelişmelerini desteklemediğini ortaya koymuştur. Ancak ALES, ALS ve NI deterjan aktif maddelerinde, aktif madde konsantrasyonu arttıkça, bu ortamlardaki mikroorganizma sayıları yükselmiştir. Aktif maddelerin parçalanma oranlarına baktığımızda, aktif madde konsantrasyonu arttıkça parçalanma miktarı düşmüştür. Pehlivan, Özçelik vd. [6], farklı konsantrasyonlardaki aktif maddelerle yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamızın aksine, aktif madde ilave edilmeyen su

örneğinde, aktif madde ilave edilen ortamlara göre, mikroorganizma sayısının daha fazla olduğunu; aktif madde konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma sayısının düştüğünü ve aktif madde konsantrasyonu arttıkça, aktif madde parçalanmasının da arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada deterjan aktif maddelerinin konsantrasyonu arttıkça, mikroorganizmalar üzerine toksik etkisi de artmış ve onların gelişmelerini yavaşlatmış olabilir. Çalışmamızda da ALES, ALS ve NI aktif maddelerinin konsantrasyonu arttıkça, Porsuk Çayı'ndaki doğal mikroorganizmaların da bu aktif maddeleri karbon kaynağı olarak kullanması ile sayıları artış göstermiştir. Okpokwasili and Olisa [9], yaptıkları çalışmanın sonucunda, ortamda bulunan yüksek sayıdaki mikroorganizmaların, deterjanları en fazla parçalayan olmasının gerekmediğini bildirmişlerdir.

Deterjan aktif maddeleri, mikroorganizmaların gelişmelerini belli oranda etkilemiştir. Büyük ihtimalle mikroorganizma sayısındaki düşüş, ortamda bulunan ve söz konusu aktif maddeleri kullanamayan mikroorganizmaların bu aktif maddeden etkilenmesi nedeniyle olabilir.

Pehlivan, Özçelik vd. [6], çalışmalarında mikroorganizma popülasyonunun, başlangıçta azaldığını ve sonra arttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise mikroorganizma sayısında başlangıçta bir azalma görülmemiştir. Bu durum Porsuk Çayı'nda deterjanların bulunmasına ve ortamdaki mikroorganizmaların bu şartlara adapte olmasına bağlanabilir. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından yapılan bir çalışmada da 12 günlük periyotta mikroorganizma sayılarının sürekli arttığı bildirilmiştir.

Pehlivan, Özçelik vd. [6], 0.5 mg/l, 1 mg/l, 1.5 mg/l ve 2 mg/l DABS aktif maddesi içeren Keban Baraj Gölü suyunda 32 günlük sürede, DABS aktif maddesinin parçalanmasının % 50'nin üzerine çıkmadığı, aynı miktarlarda LABS aktif maddesi içeren suda ise LABS aktif maddesinin parçalanmasının DABS aktif maddesine göre daha fazla oranda olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, başlangıçta deterjan aktif maddelerinin, mikrobiyal popülasyona öldürücü etkisi yaptığını ve buna bağlı olarak sayıda azalma olduğunu, sonra ortama alışarak arttığını ve daha sonra da düşerek sabit bir şekilde ilerlediğini açıklamışlardır.

4.4. Deterjan Aktif Maddelerinin Porsuk Çayı'ndan İzole Edilen Bakteriler Tarafından Parçalanması

Çeşitli deterjan aktif maddelerini içeren Porsuk Çayı su örneklerinden izole edilen mikroorganizmalardan *Pseudomonas putida* toplam izolatların % 25'ini; *Enterobacter aerogenes* % 21.05'ini; *Bacillus cereus* % 18.42'sini; *Escherichia coli* % 14.47'sini; *Proteus vulgaris* % 11.84'ünü ve *Klebsiella pneumoniae* % 9.21'ini oluşturmuştur.

Porsuk Çayı suyundan genel olarak Gram (-) bakteriler izole edilmiştir. Bu da, Gram (-) bakterilerin deterjanları daha iyi tolere edebildiğini göstermektedir. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından bildirildiğine göre; Higgins and Burns, 10-20 ppm miktarındaki deterjanların Gram (+)'leri etkilerken, daha yüksek miktarlardaki deterjanların bile Gram (-)'leri hiç etkilemediklerini bildirmişlerdir.

Benzer olarak, Okpokwasili and Nwabuzor [12], yapmış oldukları çalışmada izolatların % 33.3'ünün *Pseudomonas*; % 26.7'sinin *Bacillus*; % 13.3'ünün *Proteus*; % 6.7'sinin *Vibrio* ve % 6.7'sinin *Actinomyces* olduğunu bildirmişlerdir.

Okpokwasili and Olisa [9], çalışmalarında nehir suyundaki bakteri izolatlarının % 43.3'ünün *Vibrio*; % 10'unun *Flavobacterium*; % 10'unun *Klebsiella*; % 6.7'sinin *Pseudomonas*; % 6.7'sinin *Enterobacter*; % 6.7'sinin *Bacillus*; % 3.3'ünün *Shigella*; % 3.3'ünün *Citrobacter*; % 3.3'ünün *Escherichia*; % 3.3'ünün *Proteus* ve % 3.3'ünün de *Actinomyces* olduğunu bildirmişlerdir. Okpokwasili and Olisa [9] tarafından bildirildiğine göre; Gledhill, bu mikroorganizmalardan bazılarının saf anyonik sürfektan moleküllerinin bir bölümünü asimile edebildiğini rapor etmiştir.

Durgun ortamda, 33 günlük inkübasyon sonunda, 1 mg/l SLES aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 51.24; *P. putida*: % 50.96; *K. pneumoniae*: % 45.42; *E. coli*: % 40.46; *E. aerogenes*: % 36.07; *B. cereus*: % 32.88; *P. vulgaris*: % 26.22 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 76.92; bu ortama ilave edilen 1 mg/l SLES aktif maddesi ise % 88.99 oranında parçalanmıştır.

Çalkalamalı ortamda ise 1 mg/l SLES aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 60.89; *P. putida*: % 60.11; *K. pneumoniae*: % 54.3; *E. coli*: % 49.18; *E. aerogenes*: %

44.2; *B. cereus*: % 39.89; *P. vulgaris*: % 33.07 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 84.96; bu ortama ilave edilen 1 mg/l SLES aktif maddesi ise % 96.79 oranında parçalanmıştır.

Durgun ortamda, 1 mg/l NI aktif maddesini 33 günlük inkübasyon sonunda, *P. putida* NRRL-B13: % 44.26; *P. putida*: % 43.9; *K. pneumoniae*: % 37.72; *E. coli*: % 33.94; *E. aerogenes*: % 29.84; *B. cereus*: % 25.38; *P. vulgaris*: % 18.89 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 68.09; bu ortama ilave edilen 1 mg/l NI aktif maddesi ise % 75.86 oranında parçalanmıştır.

Çalkalamalı ortamda ise 1 mg/l NI aktif maddesini *P. putida* NRRL-B13: % 53.4; *P. putida*: % 53.05; *K. pneumoniae*: % 46.85; *E. coli*: % 40.42; *E. aerogenes*: % 38.37; *B. cereus*: % 36.11 ve *P. vulgaris*: % 27.92 oranında parçalamıştır. Aktif madde ilave edilmeyen su örneğindeki deterjan miktarı, içerisindeki doğal mikroorganizmalar tarafından % 79.22; bu ortama ilave edilen 1 mg/l NI aktif maddesi ise % 86.37 oranında parçalanmıştır.

Durgun ortamdaki parçalanmanın, çalkalamalı ortamdaki parçalanmaya göre daha düşük oranda gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalkalanan ve benzeri hareketli ortamlarda mikroorganizma çoğalması daha fazla olmuştur. Ayrıca ortama sürekli oksijen akışı olduğundan, durgun ortama göre parçalanma daha fazla oranda olmuştur. Çalkalamalı ve durgun ortamlar arasındaki farkın oluşmasında; deterjan aktif maddesi ve mikroorganizma çeşidinin etkilerinin önemli olduğu görülmüştür.

Benzer bir çalışmada Özkalp ve Özçelik [13], durgun sıvı ortamdaki parçalanmanın, çalkalanan sıvı ortamdaki parçalanmaya göre daha düşük oranda gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Denemeye alınan SLES ve NI aktif maddelerini, durgun ve çalkalamalı ortamda en fazla *Pseudomonas putida*, en az ise *Proteus vulgaris* parçalamıştır. Sudaki doğal mikroorganizmalar, bu aktif maddeleri saf kültüre göre daha fazla parçalamışlardır.

Benzer olarak, Özkalp ve Özçelik [13] tarafından yapılan bir çalışmada, denemede kullandıkları deterjanlarda en fazla parçalayıcı etki gösteren mikroorganizmanın *Pseudomonas aeruginosa* olduğu saptanmıştır.

Özkalp ve Özçelik [13] tarafından bildirildiğine göre; Lee and Houg, *P. aeruginosa* ve *Klebsiella* ile yaptıkları çalışmalarda, belirtilen mikroorganizmaların alkil benzen sülfonatın ve dodesil sülfonatın sırası ile % 40-60 ve % 70-75'den fazla oranlarda parçalandıklarını saptamışlardır.

Özkalp ve Özçelik [13] tarafından bildirildiğine göre; Hrsak et al, sürekli akış gösteren birimler içinde, lineer alkil benzen sülfonatın parçalanma durumunu *Pseudomonas*'a ait beş tür, *Achromobacter* ve *Acinetobacter*'e ait iki tür ile araştırmışlardır. Araştırmacılar, hiçbir türün lineer alkil benzen sülfonatın tamamını parçalamadığını saptamışlardır.

Orhan ve Büyükgüngör [10], tarafından yapılan bir çalışmada, dodesil benzen sülfonat ve lineer alkil benzen sülfonat gibi kullanımı yaygın yüzey aktif maddelerin *Pseudomonas putida* (DSM 50026) tarafından biyolojik parçalanması, 30 gün süreyle 26 °C'de çalkalamalı ortamda incelenmiş ve DBS ile LAS parçalanma oranlarını sırasıyla % 70 ve % 80 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Takada, Mutoh et al. [20] tarafından bildirildiğine göre; Larson and Payne LAS biyoayırışmasının kirli nehir suyu kullanan deney sistemlerinde, saf bakteri kültürü kullanan sistemlerdekinden daha hızlı olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, Porsuk Çayı'ndaki deterjan miktarı düşük oranda bulunmuştur. Bunun nedeni, deterjan aktif maddelerini parçalayan mikroorganizmaların, Porsuk Çayı'nda doğal olarak bulunması, biyolojik parçalanabilir deterjan ve aktif maddelerin üretilerek kullanıma sunulması, Porsuk Çayı'nın kirlenmesine neden olan endüstri kuruluşlarının, bu konuda bazı önlemler almalarından dolayı olabilir. Deterjan aktif madde konsantrasyonu arttığında, biyolojik parçalanma oranı azalmaktadır. Buna göre, Porsuk Çayı deterjanlar ile daha fazla kirletildiğinde, bu ortamdaki deterjan konsantrasyonu artacak, bu konsantrasyon yüksek dozlara ulaştığında doğal mikrobiyal flora üzerine toksik etki yaparak, daha düşük oranlarda biyolojik parçalanmaya neden olacaktır. Saf mikroorganizma kültürleri içeren ortamlarda deterjan parçalanması, karışık mikroorganizma kültürlerini içeren ortamlardaki deterjan parçalanmasından daha düşük olmaktadır. Bu nedenle doğal mikrobiyal floraya toksik etki yapan deterjan ve aktif maddelerin yerine, biyolojik parçalanabilen deterjan ve aktif maddelerin üretilip tüketilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

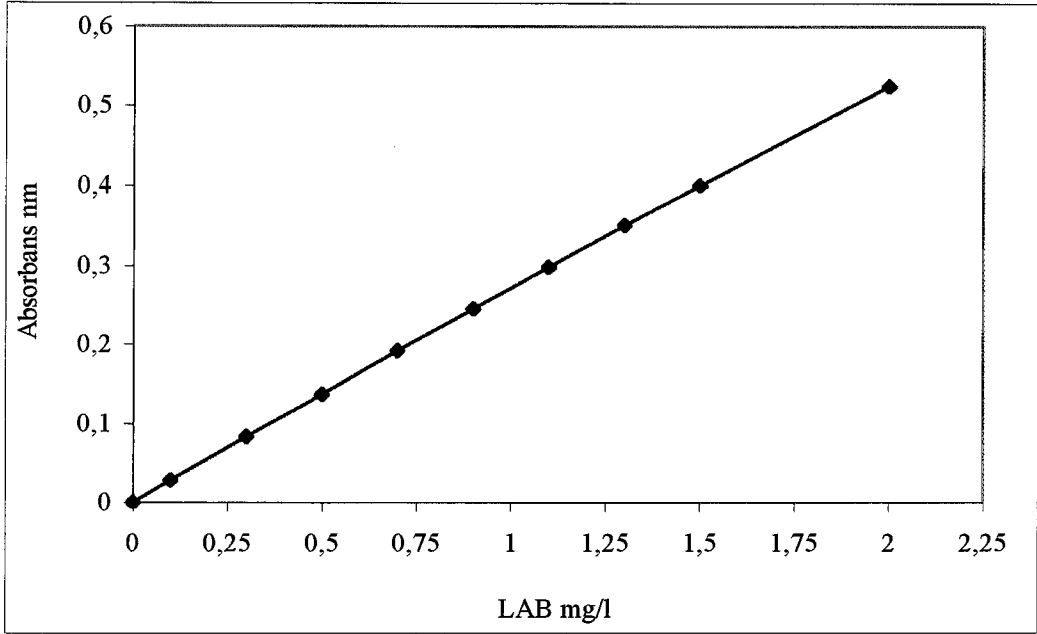
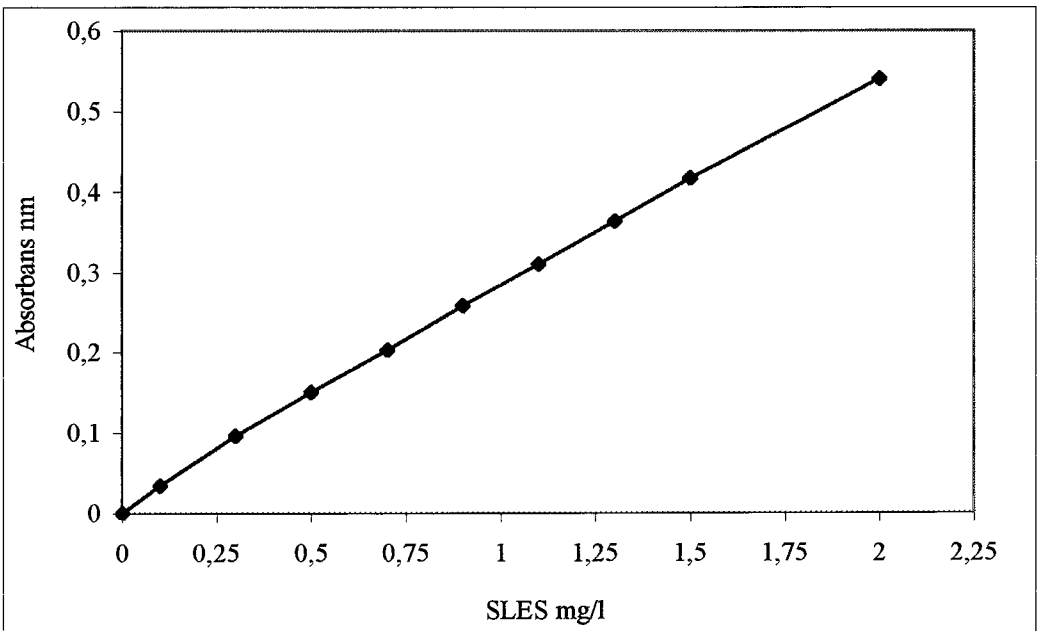
1. DOĞAN, F., TOKGÖZ, M. ve TARIMCI, A.A., *İzmir Şehri İçme ve Kullanma Sularında Deterjan Araştırması*, Anadolu Tıp Dergisi, 8, 93-102, 1986.
2. YARAMAZ, Ö., *Çevre ve Su Kirliliği*. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1992.
3. DÖKMECİ, İ., *Toksikoloji Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi*. Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara, 1994.
4. USLU, O. ve TÜRKMEN, A., *Su Kirliliği ve Kontrolü*, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları, Eğitim Dizisi 1, Ankara, 1987.
5. ÜSTÜN, İ., SEVERGE, A. ve ABDELAL, E., *Deterjan*. T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Müsteşarlığı Yayınları, DPT 2426, ÖİK 484, Ankara, 1996.
6. PEHLİVAN, D., ÖZÇELİK, S. ve YÖRÜK, S., *Deterjan Aktif Maddesinin Göl Sularında Biyolojik Parçalanması*, Doğa Dergisi, 17, 249-254, 1993.
7. ÖZTÜRK, M.A.ve TÜRKAN, İ., *Canlılar ve Çevre*. Ege Üniversitesi Ofset Basımevi, İzmir, 1989.
8. BAYKUT, F., AYDIN, A. ve BAYKUT, S., *Çevre Sorunları ve Korunma*. İstanbul Üniversitesi Yayınları: 3449, İstanbul, 1987.
9. OKPOKWASILI, G.C. and OLISA, A.O., *River-Water Biodegradation of Surfactants in Liquid Detergents and Shampoos*, Water Research, 25, 11, 1425-1429, 1991.
10. ORHAN, Y., BÜYÜKGÜNGÖR, H., *Yüzey Aktif Maddelerin Pseudomonas putida Kullanılarak Biyodegradasyonunun İncelenmesi*. II. Ulusal Biyoteknoloji Simpozyumu Bildiri ve Poster Özetleri Kitabı, s. 6, 1994.
11. GRIFFITHS, E.T., HALES, S.G., RUSSELL, N.J., WATSON, G.K. and WHITE, G.F., *Metabolite Production during the Biodegradation of the Surfactant Sodium Dodecyltriethoxy Sulphate under Mixed-culture Die-away Conditions*, Journal of General Microbiology, 132, 963-972, 1986.
12. OKPOKWASILI, G.C. and NWABUZOR, C.N., *Primary Biodegradation of Anionic Surfactants in Laundry Detergents*, Chemosphere, 17, 11, 2175-2182, 1988.

KAYNAKLAR (devam)

13. ÖZKALP, B. ve ÖZÇELİK, S., *Türkiye'de Üretilen Bazı Deterjanların Biyolojik Yolla Parçalanabilme Durumlarının Araştırılması*, IX. Ulusal Biyoloji Kongresi, Genel Biyoloji, Numerik Taksonomi ve Kantitatif Ekoloji Paneli Bildirileri, Cilt: 1, 217-226, 1988.
14. ĆOSOVIĆ, B., VOJVODIĆ, V. and PLEŠE, T., *Electrochemical Determination and Characterization of Surface Active Substances in Freshwaters*, Water Research, 19, 2, 175-183, 1985.
15. HALES, S.G., WATSON, G.K., DODGSON, K.S. and WHITE, G.F., *A Comparative Study of the Biodegradation of the Surfactant Sodium Dodecyltriethoxy Sulphate by Four Detergent-degrading Bacteria*, Journal of General Microbiology, 132, 953-961, 1986.
16. SCHWAB, B.S., MARUSCIK, D.A., VENTULLO, R.M. and PALMISANO, A.C., *Adaptation of Periphytic Communities in Model Streams to A Quaternary Ammonium Surfactant*, Environmental Toxicology and Chemistry, 11, 1169-1177, 1992.
17. SHIMP, R.J., SCHWAB, B.S. and LARSON, R.J., *Adaptation to A Quaternary Ammonium Surfactant by Suspended Microbial Communities in A Model Stream*, Environmental Toxicology and Chemistry, 8, 723-730, 1989.
18. *Eskişehir'de Porsuk Çayı ile Sulanan Bazı Sebzelerde Meydana Gelen Mikrobiyal Nitrit Miktarının Belirlenmesi.*, MALKOÇOĞLU, B. (yayınlanmamış) Yüksek Lisans Tezi., Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1993, 67.
19. KHALAF, J.M., *Bacterial Pollution of the River Tigris*, Journal of Environmental Science Health, 25, 5, 495-503, 1990.
20. TAKADA, H., MUTOH, K., TOMITA, N., MIYADZU, T. and OGURA, N., *Rapid Removal of Linear Alkylbenzenesulfonates (LAS) by Attached Biofilm in An Urban Shallow Stream*, Water Research, 28, 9, 1953-1960, 1994.
21. HAKTANIR, K., *Çevre Kirliliği*. A. Ü. Ziraat Fakültesi Teksir No.140, Ankara, 1987.

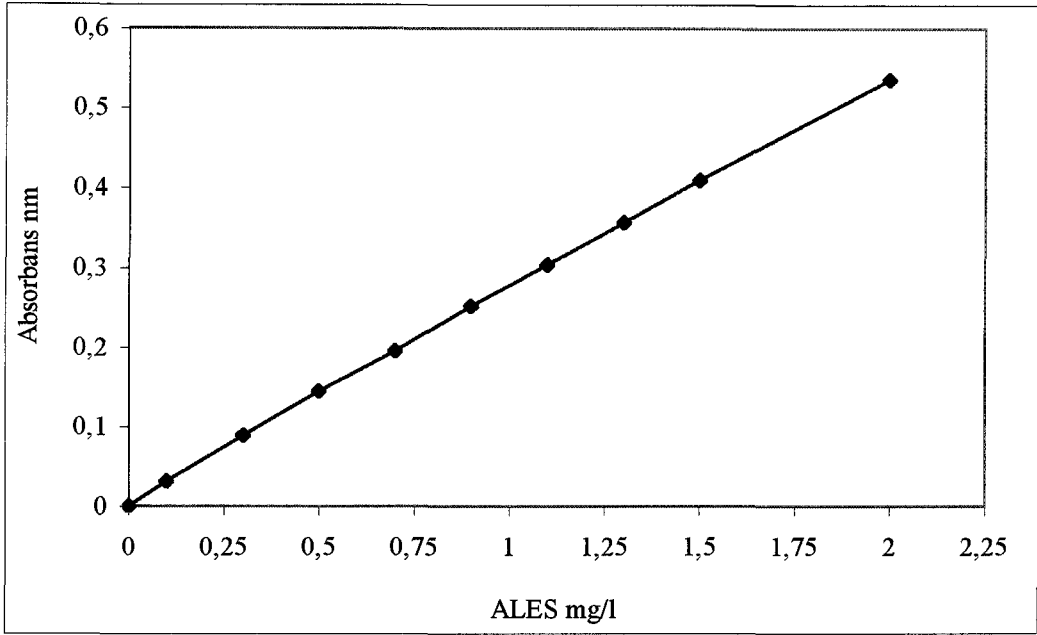
KAYNAKLAR (devam)

22. KIVANÇ, M., GÜVEN, K. ve KARAKAŞ, N., *Porsuk Çayı'ndaki Nitrifikasyon-Denitrifikasyon Bakterilerinin İzolasyonu; Bu Bakteriler ile Porsuk Çayı'nın Azot Kirliliğinin Giderilebilirliğinin Araştırılması*. Anadolu Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenen (yayınlanmamış) Proje, 54, 1995.
23. ANON., *Eskişehir Devlet Su İşleri 3. Bölge Müdürlüğü Su Kalitesi Gözlem Yıllığı*. Teknik Araştırma ve Kalite Kontrol Şube Müdürlüğü, Eskişehir, 1984.
24. *İzmir Körfezi'ne Dökülen Nehir ve Derelerdeki Azot Kirliliği*., ERDUR, D. Çevre Mühendisliği Bölümü (yayınlanmamış) Bitirme Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, İzmir, 1990.

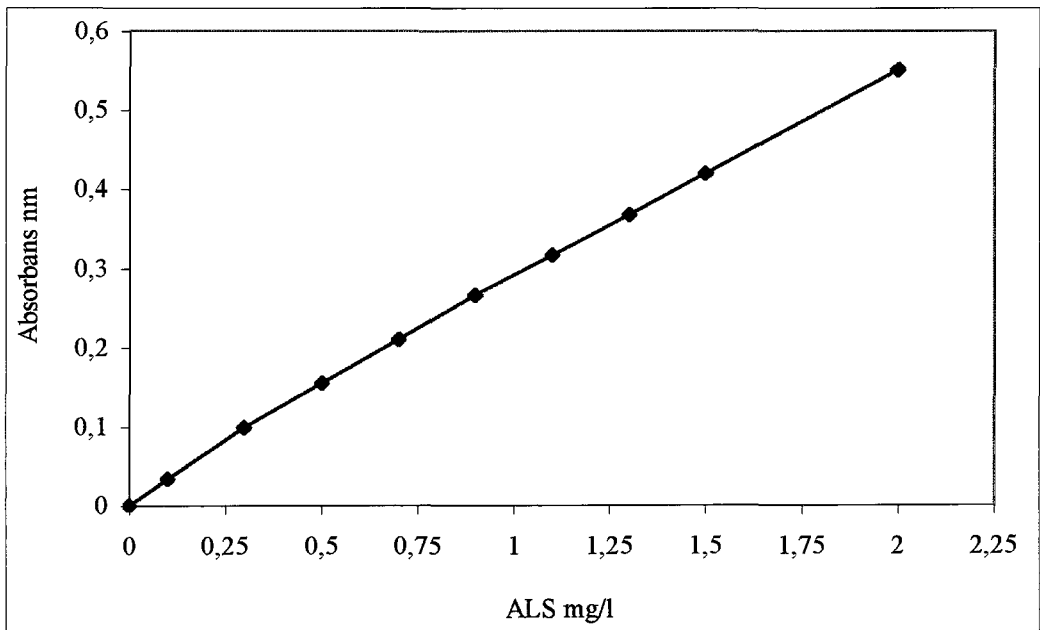
LAB Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi**SLES Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi**

EK-2

ALES Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi



ALS Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi



NI Deterjan Aktif Maddesi İçin MBAS Standart Eğrisi

