

1. MİKROORGANİZMALARDA BÜYÜMEYİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Biyolojik arıtma sistemlerinde mikroorganizmaların kontrollü olarak büyümeleri istenir. Dolayısıyla mikroorganizmaların büyümesinde hangi faktörlerden etkileniyorsa, bu faktörlerin belirlenmesi gerekir. Bu faktörler, arıtma verimi ve arıtma sistemlerinin çalışma prensipleri üzerinde önemli etkiye sahiptirler. Büyümeyle ilgili çevre şartları aşağıda verilmiştir.

1.1. Sıcaklık

Mikroorganizmaların vücut ısılarını kontrol mekanizmaları yoktur. Yani kendi hücre ısılarını kontrol etmeleri veya kontrol altında tutmaları mümkün değildir. Mikroorganizmaların buldukları ortamın ısısı ne derece ise, hücre ısıları da aynı derecede olur. Dolayısıyla mikroorganizmaların buldukları ortamın ısısı, mikroorganizma üzerinde rol oynayan en önemli faktörlerin başında gelir. Mikroorganizmaların dayanabildikleri sıcaklık aralıkları türlere göre farklılıklar gösterir.

Her mikroorganizmanın sevdiği ve yaşadığı belli bir sıcaklık aralığı vardır. Mikroorganizmaların yaşadıkları (sevdikleri) sıcaklık aralıkları türlere göre de değişebilmektedir. Mikroorganizmaları yaşamayı sevdiği sıcaklık aralıklarına göre 3 grupta toplamak mümkündür.

- ✓ **Pisikofilik Mikroorganizmalar:** 20 °C'nin altında yaşamayı seven mikroorganizmalara yani Düşük sıcaklığı seven mikroorganizmalara denir.
- ✓ **Mezofilik Mikroorganizmalar:** 20–45 °C arasında yaşamayı seven mikroorganizmalara yani orta sıcaklığı seven mikroorganizmalara denir.
- ✓ **Termofilik Mikroorganizmalar:** 45 °C'nin üstünde yaşamayı seven mikroorganizmalara yani yüksek sıcaklığı seven mikroorganizmalara denir.

Mikroorganizmaların sıcaklık istekleri **Örneğin;**

- ✓ **Protozoa** türlerinde çoğunlukla termofiliktir. Bilhassa hastalık yapan protozoa türleri vücut sıcaklığını severler. Protozoa türlerinin dayandığı maksimum sıcaklık, 45–50 °C arasında değişmektedir.
- ✓ **Alglerin** büyük çoğunluğu mezofilik sıcaklık şartlarını severler. Algler aynı zamanda eurytermal mikroorganizma grubundandır. Alg türlerinin dayandığı maksimum sıcaklık, ≈ 56 °C civarındadır.
- ✓ **Fungusların** büyük çoğunluğu termofilik sıcaklık şartlarını severler. Fungus türlerinin dayandığı maksimum sıcaklık, ≈ 60 °C civarındadır.
- ✓ **Bakteriler** her türlü sıcaklık şartlarını severler. Piskofilik, mezofilik veya termofilik şartlarda hayatlarını idame ettirebilen bakteri türleri pek çoktur. Bakteri türlerinin dayandığı maksimum sıcaklık, > 99 °C dir.
- ✓ Gelişmiş hücrelerde 60 °C nin üstündeki sıcaklığa dayanma özellikleri yoktur.

Düşük sıcaklıklarda mikroorganizmalarda ölümden ziyade faaliyetleri durdurma veya azaltma etkisi söz konusudur. Maksimum sıcaklığın üstündeki yüksek sıcaklıklarda ise, mikroorganizmalar üzerinde kesin olarak ölüm olayına neden olmaktadır. Çün

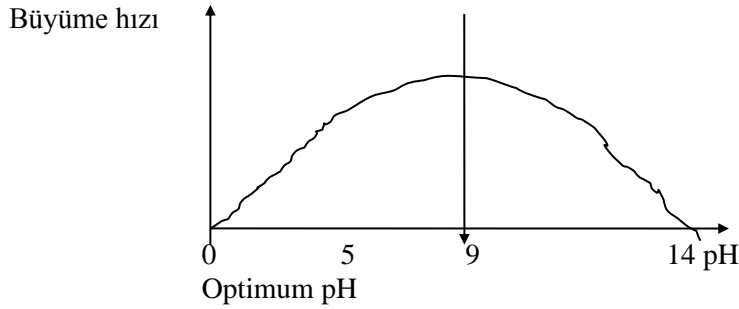
Sıcaklıktaki artış hızı da hücre yaşamı için önemlidir. Hızlı ani sıcaklık artışları olduğu zaman, hücrenin tepkisi ve etkilenmesi de daha fazla olmaktadır. Sıcaklık artışları yavaş yavaş olduğu zaman, hücrelerin sıcaklıktan etkilenmesi daha uzun olmaktadır.

1.2. pH

pH da mikroorganizmalar üzerinde ve büyümelerinde sıcaklık gibi bir etkiye sahiptir. Her mikroorganizmanın sevdiği ve yaşadığı belli bir pH aralığı vardır. Bu pH aralıklarında mikroorganizmalar maksimum hızla büyüme göstermektedir. Mikroorganizmaların çoğunluğu pH 5-9 aralığında en uygun şekilde büyürler.

Mikroorganizmaların pH büyüme aralıkları Tablo I.1.de gösterilmiştir. Tablo I.1.de verilen pH aralıkları genel özellikleri göstermektedir. Bu değerlerin dışında, ekstrem özellikler gösteren mikroorganizma türleri de mevcuttur.

- ✓ Fungusların dayanabileceği aralık asidik tarafa doğru olup, yaşantılarını asidik olarak da sürdürüyorlar. pH =1.0 de bile yaşayabilen fungus türleri mevcuttur.
- ✓ Alglerin dayanabileceği aralık bazik tarafa doğru olup, yaşantılarını bazik olarak da sürdürüyorlar. pH, 9.0 un üstünde bile büyüeyebilen alg türleri mevcuttur.
- ✓



Tablo I.1. Mikroorganizmaların pH Büyüme Aralıkları

MİKROORGANİZMA TÜRÜ	pH ARALIĞI	OPTİMUM pH
BAKTERİ	5-9	7
PROTOZOA	5-8	7
ALG	6-11	8.5
FUNGİ	1-9	5

Mikroorganizmaların optimum ve maksimum büyüdüğü pH aralıkları, **biyolojik artıma** tesislerinde arıtmada önemli bir faktördür. Biyolojik arıtma tesislerinde arıtılacak atıksuların pH değerleri, mikroorganizmaların büyüdüğü optimum pH aralığında olması gerekmektedir.

Mikroorganizmaların büyüdüğü veya yaşadıkları optimum pH değerinin altında veya üstündeki pH değerlerinde büyüme hızı azalmaktadır. pH değerleri 5-9 aralıklarının dışına doğru olunca, ilk önce mikroorganizmanın metabolizma faaliyetleri yavaşlar daha sonra ise, **ölüm olayı** gerçekleşiyor.

Mikroorganizmaların optimum pH aralığının hem üstünde hem de altındaki değerlerde mikroorganizma büyüme hızı durur ve sonuçta ölüm olayı meydana gelmektedir. pH değıştikçe proteinin yapısını oluşturan amino asitlerdeki peptit bağlarının yapılarındaki hidrojen bağları koparak protein yapıları bozulur. Hücre zarındaki ve hücredeki diğer proteinlerin yapısının bozulması hücrede ölüm meydana getirmektedir.

pH değışiklikleri mikroorganizmaların buldukları ortamın ve hücrenin **çözünürlük** ve **iyonlaşma** olaylarını etkilemektedir. Bundan dolayı da mikroorganizmalarda yaşam faaliyetleri yavaşlamakta ya da durmaktadır.

1.3. Oksijenin Etkisi

Mikroorganizmalar bir seri reaksiyon sonucu besinleri parçalayarak enerji sağlamaktadırlar. Mikroorganizmalar besinleri yani besin maddelerini sonuç olarak CO₂ ve H₂O ya indirgiyorlar. Bu bağlamda Oksijenin hücredeki görevi iki noktada toplanır.

1. **Oksijen, ortamda açığa çıkan elektronu alıyor.** Bazı mikroorganizma türleri bu iş için başka maddeleri kullanabiliyorlar. Bundan dolayı farklı ortamlarda yaşayan mikroorganizma türleri ortaya çıkabilmektedir. Bu durumda oksijen, elektron alıcısı olarak görev yapar.
2. **Bazı hidrokarbonlu malzemelerin parçalanması işinde reaksiyona giren bir madde olarak görev alıyor.** Anaerobik canlılar; yağları, hidrokarbonları parçalayamamalarının nedeni oksijen olmadığı için bu reaksiyonu gerçekleştirememelerindedir. Oksijenin element olarak kullanılması gerekiyor. Ama bu canlılar oksijen olduğu için yaşayamıyorlar. Bu reaksiyonları da gerçekleştiremiyor. Yeryüzündeki petrolün oluşumunun temel nedeni budur.

Oksijen Gerilimi

Bazı mikroorganizmalar ortamdaki mevcut oksijen miktarına göre faaliyet gösteriyorlar ve ortamdaki oksijen

miktarına göre de faaliyeti değişiyor. Bu canlılar fakültatif mikroorganizmalardır. Eğer ortamda oksijen az ise, asetik asit, oksijen çok ise, CO₂ ve H₂O oluşumu meydana getirebiliyorlar.

Ortamdaki oksijen dengesinin azalıp çoğalmasıyla mikroorganizma faaliyet sahasının değişmesi olayına oksijen **gerilimi** adı verilir. Oksijen, ortamdaki mikroorganizma faaliyetlerini;

- ✓ Durdurabilir,
- ✓ Azaltabilir,
- ✓ Arttırabilir,
- ✓ Tamamen durdurabilir,
- ✓ Üretime geçme faaliyetlerini arttırabilir.

1.4. Nütrientler

Karbonlu maddelerin dışında kalan yardımcı besin maddelerine nütrient, karbonlu maddelere ise, substrat adı verilir. Hücrenin kullandığı C, H, O gibi organik maddelere esas maddeler denir. Nütrientler ise, N, P, S, K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, CO, Cu, Zn, Bor Mo, ve Silistir. Bunlardan N ve P çok önemlidir.

Azot: Bütün proteinlerde bulunur. Nükleik asit ve benzeri maddelerin yapılarında yer alır. Önemli bir hücresel yapı elemanıdır. Azotun hücrede;

- ✓ Nitrifikasyon olayında e⁻ vericisi olarak
- ✓ Denitrifikasyon olayında e⁻ alıcısı olarak kullanılır.

Fosfor: Nükleik asitler, Co-enzimler ve fosfolipitlerde yapı taşı olarak yer alır. Enerji reaksiyonlarda ortaya çıkan enerjiyi almak veya ortama enerji vermek için kullanılır.

Sülfür: Protein ve Co-enzimlerin yapı taşı olarak bulunurlar. -SH olarak da belli protein ve enzimlerin yapısında yer alırlar. Sülfür, sülfür bakterileri tarafından e⁻ alıcısı, Anaerobik H₂S bakterileri de bunu parçalayarak e⁻ vericisi olarak kullanırlar.

K, Na, Ca, Mg, Fe: Enzimler için Co-faktör özellikleri oldukları için çok fazla kullanılmaktadır.

1.5. Osmotik Basınç

Hücre duvarlarında, hücrenin yapısal özelliklerine bağlı olarak bir koruyuculuk görevi vardır. Bu koruyucu görevlerinden birisi de hücrenin hücre duvarlarına basınç uygulamasıdır. Hücre içinde çok sayıda çözünmüş madde yer alır.

Hücre su ortamında veya sulu bir faz içinde ise, hücredeki çözünmüş maddelerin hücreden dışarı çıkmasına ve su ortamındaki maddelerin ve suyun hücrenin içine girmesini engel için, hücrenin hücre duvarlarına uyguladığı basınca **osmotik basınç** denir. Bu basınç hücreyi dış ortamda dengede tutar.

Doğadaki tüm canlılar kendilerine özgü, belli bir osmotik basınç mekanizmasına sahiptir. Örneğin; Tuzlu suda yaşayan balığın, tatlı suda, Tatlı suda yaşayan balığın tuzlu suda yaşayamadığı gibi. Su içindeki iyonizasyon, çözünmüş madde fazla olduğu zaman, hücreden su kaybı olur. Hücre büzülür. Eğer ortamdaki şartlarda ani değişiklik olursa, osmotik basınç değişmesi de ani olur. Ortam şartlarındaki değişiklik yavaş yavaş olursa canlı hücre hemen adaptasyon sağlayabilir. Hücrelerin su geçişleri yalnızca osmotik basınçla olur. Yani canlı su geçişlerini osmotik basınçla ayarlar.

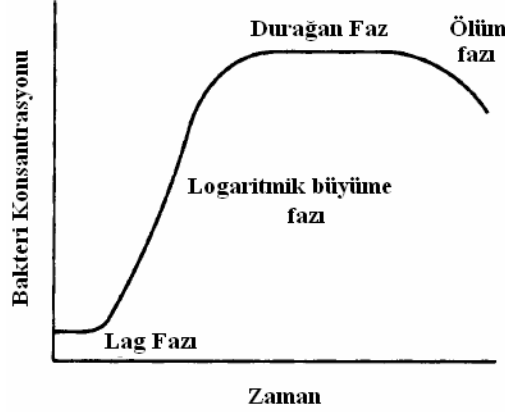
1.6. Hidrostatik Basınç

Her canlının dayandığı belli bir hidrostatik basınç düzeyi mevcuttur. Bu düzeyin altında veya üstündeki hidrostatik basınç değerlerinde canlı yaşayamaz. Havalandırma havuzlarında basınç daha fazla olduğu zaman oksijen daha rahat bir şekilde çözünüyor. Havalandırma havuzlarında basınç az olduğu zaman hava habbecikler halinde yukarı çıkar. Basınç arttırıldığı takdirde oksijen çözülür.

1.7. Radyasyon Etkisi

Canlılar ışıktaki radyasyon enerjisini kullanarak kendileri için gerekli enerjiyi sağlıyorlar. Aynı zamanda ışığın bazı canlılar için de öldürücü etkisi vardır. Radyasyonun en büyük kaynağı güneştir. Güneşten gelen radyasyon atmosferden geçerken tutulmaktadır. Ozon tabakasındaki bu tutulma esnasında radyasyonun öldürücü etkisi (ultraviyole gibi) yok ediliyor. Güneşten gelen radyasyon enerjisi (x ışınları, Beta ışınları, Kozmik ışınları, Gama ışınları gibi) moleküllerin yani proteinlerin parçalanmasında etkili oluyor.

2. BAKTERİ BÜYÜME EĞRİSİ



Bakteriyel Büyümede Safhalar:

- Lag Fazı
- Logaritmik (Ekspansiyel) Faz
- Durağan (Duraklama, Satationary) Faz
- Ölüm Fazı

Lag Fazı: Mikroorganizmaların yeni büyüme ortamlarına alışmaları için gerekli olan süredir. Başka bir ortamda büyüyen hücre yeni bir ortama alındığı zaman hücreler bu yeni ortama alışmaya çalışır. Bu sürenin uzunluğu; yeni ortamın fiziko-kimyasal özelliklerine ve hücrenin geçmişine bağlıdır. Kısacası bu fazda yeni ortama uyum vardır.

Logaritmik Faz: Bu fazda hücre sayısı logaritmik olarak artar. Logaritmik büyüme hızı birçok faktöre bağlıdır. Bunlar sıcaklık, substrat, pH vb. olarak sıralanabilir. Bakteri sayısı maksimum sayıya ulaşır.

Durağan Faz: Mikrobiyal büyüme sonsuza kadar devam etmez. Substrat ve nutrientlerin tüketilmesi, elektron alıcısının (oksijen) tüketilmesinden dolayı büyüme duracaktır. Büyüme ve ölüm hızı birbirine eşittir.

Ölüm Fazı: Bu fazda bakterilerin ölme hızı, büyüme hızlarından daha büyüktür. Canlı hücre sayısı azalır.

3. BESİ ORTAMLARI VE BESİ ORTAMLARININ HAZIRLANMASI

Besi ortamı (medium) mikroorganizmaların büyümeleri, saklanmaları ve transferleri için hazırlanan katı veya sıvı preparasyonlardır. Mikroorganizmaların kültür edilmeleri (büyütülmeleri) için hazırlanan herhangi bir besi ortamında mikroorganizmanın türüne göre gerekli olan tüm beslenme gereksinimleri bulunmalıdır. Bunlar;

- a. Enerji kaynağı olarak görev yapan bir karbon kaynağı,
- b. Su,
- c. Azot kaynağı,
- d. Sülfat kaynağı,

e. Fosfat kaynağı, Fe⁺², Mg⁺² vb. çeşitli mineraller olarak sıralanabilir.

Besi ortamlarının çeşitlerinden söz etmeden önce, bakteriolojide sıklıkla kullanılan bazı terimleri açıklamak basit laboratuvar işlemlerinde kolaylık sağlayacaktır. E. coli gibi bir mikroorganizmayı geliştirmek için önce uygun ve steril bir besi ortamı hazırlanır. Daha sonra bu mikroorganizmanın canlı hücrelerini içeren bir miktar materyal steril besi ortamına aktarılır. Bu az miktardaki materyale **İnokulum (aşı)** adı verilir. Aktarma işlemine ise **İnokülasyon (aşılama)** adı verilir. İnoküle edilmiş besi yeri uygun şartlar altında bir süre bekletilir. Bu işleme ise **İnkübasyon** adı verilir. İnkübasyon süresince bakteriler büyür ve bölünürler, böylece kültür oluşur. Kültür; içerisinde ve üzerinde mikroorganizmanın geliştiği besi ortamıdır.

3.1. Besi Ortamı Çeşitleri

3.1.1. Genel Besiyeri

Laboratuvar da her zaman hazırlanabilir ve bileşimine giren maddeler kolay bulunur. Çok çabuk üreyen m.o'ları üretmek için bir veya birkaç nütrient bir arada kullanarak yapılır. Mikroorganizmaları yeterince üretecek karbon ve enerji kaynakları (amino asit, mineraller) bulunur. Genel besi ortamları görünüşlerine göre sıvı ve katı olmak üzere iki türdür.

a) Sıvı Besiyerleri

Test tüpleri içinde kullanılır. Sıvı besiyerinde bulunan bir bakteri çoğalma özelliğine göre ve ortam şartlarına bağlı olarak uzunca bir süre ölmeden kalır. Sıvı besiyerlerinde üreyen bir bakteri bir aradaki lüzumlu maddeleri kullanır. Bakteri sıvı besiyerinde homojen bir bulanıklık meydana getirerek üreyeceği gibi dipte çökelti veya yüzeyde zar oluşturarak üreyebilir.

b) Katı Besiyerleri

Katı besiyeri içeren petri kutuları plate olarak adlandırılır. . Tüpte dondurulmuş ise yatık agar ve dik agar olarak adlandırılırlar. Katı besiyerlerin de ekilen bakteri ancak ekildiği yerde ürer ve koloni oluşturur. Meydana gelen koloniler bakterinin türüne göre özellik gösterirler. Katı besiyeri, sıvı besiyerine besin değerini değiştirmeyen bir madde (agar) ilave edilerek elde edilir.

Agar mikrobiyologlar için ideal bir katılaştırıcıdır. Katı besiyerlerine agarlı besiyerleri de denilir. Agar, agar adındaki bir deniz yosunundan elde edilir. Bakteriler ve funguslar (mantarlar) agarı kompleks yapısından dolayı parçalayamazlar

Katı agar 90-100 °C'de erir, Sıvı agar da 42 °C' de katılaştır ve 37 °C' de erimezler.

Katı besi ortamları genellikle 9 cm çaplı kutularda kullanılır steril katı besi ortamı eritilmiş halde steril petri kutularına dökülür ve donması için bekletilir.

3.1.2. Özel Besiyerleri

Bu tür ortamlar çalışma amacına göre hazırlanarak kullanılır ve yapıları daha komplekstir.

1. Selektif (Seçici Besiyeri)

Bu tür besiyerlerin birleşimine bazı kimyasal maddeler konarak selektif hale getirilir (boyalar, antibiyotik, sofra tuzları, inhibitörler vb.) bazı m.o'lar öldürülür ve üremesi istenen mo'ların üremesi teşvik edilir.

Gr(-) m.o'ları karışık kültürlerden izole etmek için ortama gr(+) üremesine inhibe eden kristal viyole ilave edilir. Gram (+)'ları izole etmek için gram (-)'leri inhibe eden potasyum tellürit, talyum asetat, sodyum azid katılır. Sallmonelları inhibe etmek için sofra tuzu katılır.

2. Diferansiyel Besiyeri

Araştırılan m.o.ların belirli bir görünüşte geliştiği besiyeridir. Gelişmesi istenen m.onın yanında diğer m.o.larda gelişebilir. Ancak başta koloni morfolojisi olmak üzere çeşitli farklılıklar ile diğerlerinden ayrılır. Bu besiyerine katılan çeşitli indikatör ve kimyasal maddeler ile üreyen bakterilerin olduğu kolonilerin aldıkları renge göre

m.o'ları ayırt etmek mümkündür.

Örnek: Mac Conkey Agar Salmonelları tanımak için EMB agarda E-Colileri ayırt etmek için kullanılır. Canlı Agarda hemolitik bakterileri hemolitik olmayanlardan ayırt etmekte önemli rolle sahiptir.

3. Zenginleştirilmiş Besiyerleri

Geliştirilmek istenen m.o. nın istediği besin maddeleri ile zenginleştirildiği besiyerleridir. Amaç karışık bir mikroflora içinde hedeflenen m.o. yı geliştirmek, sayısını artırmak, hücredeki hasarların giderilmesini sağlamaktır. Çok zor üreyen m.o'ların üretmek için kullanılır. Katı nünrientler, kan, serum, glikoz konulabilir.

4. Sentetik Besiyerleri

Bu besiyerlerinin birleşimine giren maddelerin kimyasal yapıları bellidir ve özel amaçlar için kullanılır. Birleşimine giren maddeler m.o'ların ihtiyacını tam sağlayacak durumdadır. Karbon enerji kaynağı için amonyum tuzları çeşitli inorganik maddeler kullanılabilir.

3.2. Bakterilerin Boyanarak İncelenmesi

Mikroorganizmalar, mikroskopta incelendikleri zaman yarı saydam ve renksiz oldukları için iyi görünemezler. Mikroorganizmaların morfolojik ve sitolojik özelliklerinin incelenebilmesi amacıyla, mikroorganizmaların boyanmaları mikrobiyolojide büyük önem taşır.

Mikroorganizmaların boyanmaları için önce bunların preparatların hazırlanması gerekmektedir. Hazırlanan preparatların fiksasyonu sırasında mikroorganizmalar canlılarını ve hareket kabiliyetlerini kaybederler. Zeminle bir kontrast oluşturarak daha iyi incelenebilir hale gelirler. Bakterileri boyayarak incelemenin önemli bir diğer avantajı da, farklı boyanma özelliklerinin farklı bakterilerin tanılarında önemli rol oynamasıdır.

Mikrobiyolojide kullanılan boyalar doğal veya yapay olmakla birlikte genellikle yapay boyalar kullanılmaktadır. Yapay boyalar, maden kömürünün distilasyonu sırasında elde edilen benzen halkası içeren organik bileşiklerdir. Boyalar, benzen halkasına bağlı kromofor ve oksokrom gruplarını içerir. Boyadaki benzen renksiz organik bir solvent olup, buna bağlı kromofor grubu renk özelliklerini, oksokrom grubu ise bileşiğe elektrik ayrışımı özelliğini verir.

Boyaların protein veya nükleik asitler gibi makromoleküler, hücre bileşenlerini boyama kabiliyeti kromogen kısmın üzerinde bulunan elektrik yüküne bağlıdır.

Boyalar kimyasal özelliklerine göre asit, baz ve nötr boyalar olmak üzere ayrılır. Asit boyalarda renk maddesi negatif elektrik yüklüdür yani asit köktedir, bunlara aniyonik boyalar adı da verilir. Asidik boyalar sodyum, potasyum, kalsiyum, amonyum tuzları halindedir. Asidik boyalar hücrenin pozitif yüklü bileşenlerine büyük ilgi duyarlar. Proteinler pozitif olarak yüklü hücre bileşenleridir. Aniyonik boyalarla kolaylıkla boyanırlar. Pikrik asit asidik bir boyadır.

Bazik veya katyonik boyalarda renk maddesi baz köktedir yani pozitif elektrik yüklüdür, bu nedenle hücrenin negatif bileşenlerine büyük ilgi duyarlar. Bazik boyalar klor veya sülfat tuzu şeklindedir. Bakteriler negatif elektrik yüklü nükleik asitlerce zengin oldukları için bazik boyalarla iyi boyanırlar. Metilen mavisi bazik bir boyadır.

Asit ve bazik renk maddesinin birlikte oluşturdukları tuza nötral boya adı verilir. Asit boyalar, bazik hücre komponentlerini, bazik boyalar asidik hücre komponentlerini boyarlar. Boyama süresi, boya ile bakteri hücresi içindeki veya yüzeyindeki aktif bölgeler arasındaki iyon değişimi reaksiyonlarını kapsar. Boyanma sırasında hücrenin katyon kısmı boyanın katyon kısmı ile yer değiştirir.

Boya ile suda çözünmeyen bileşikler oluşturma özelliğine sahip olan ve böylece boyanın mikroorganizma hücrelerine girmesini fazlalaştıran maddelere mordan adı verilir. Amonyum oksalat, potasyum hidroksit, tannik asit, osmik asit, ferrik asit, pikrik asit, iyot, alüminyum, potasyum, demir, çinko, bakır, krom mordan olarak kullanılmaktadır.

Bakterilerin hücre yapıları ve morfolojik özelliklerini görebilmek, ayırmak ve tanıyabilmek için çok sayıda boyama yöntemi vardır. Boyama yöntemleri ikiye ayrılabilir.

1. Basit boyama
2. Diferansiyel boyama

Basit boyamada tek bir boya kullanılır. Mikroorganizmaların morfolojik şekillerini ve dizilişlerinin görmek amacıyla yapılır.

Diferansiyel boyama ayırt edici ve yapıları incelemek amacıyla yapılır. İki farklı boya kullanılır.

4. BİYOJEOKİMYASAL DÖNGÜLERDE MİKROORGANİZMANIN ROLÜ

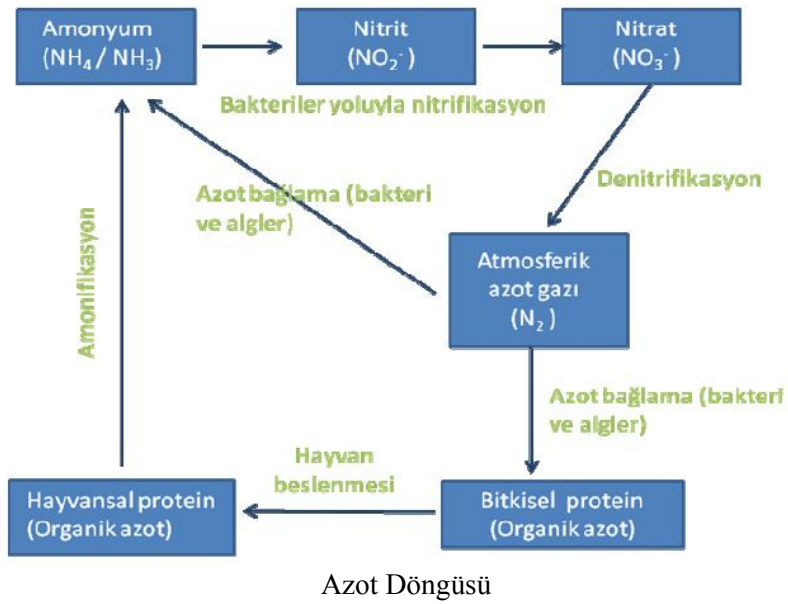
Bu bölümde doğada önemli olan üç önemli besin döngüsü üzerinde durulacaktır;

- 1.1. Azot Döngüsü
- 1.2. Fosfor Döngüsü
- 1.3. Kükürt Döngüsü

4.1. Azot Döngüsü

Azot hayat için gereklidir çünkü hayvan, bitki ve mikroorganizma hücresinde bulunan proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında bulunur. Havada %79 azot bulunmakta olup, en yaygın gazdır. Fakat sucul ortamlarda ve toprakta sınırlı nütrienttir. Gelişen ülkelerde milyonlarca insan topraktaki azot eksikliğinden dolayı ürün yetiştirememekte ve yetersiz beslenmektedir. Bunun nedeni ise, azot gazı çoğu organizma tarafından direk olarak kullanılamamakta olup, azotun önce bazı bakteriler tarafından amonyağa dönüştürülmesi gerekmektedir. Mikroorganizmalar azot döngüsünde çok önemli bir rol oynar. Azot döngüsü beş adımdan meydana gelmektedir;

1. Azot bağlanması (azot fiksasyonu)
2. Asimilasyon
3. Azot Mineralizasyonu
4. Nitrifikasyon
5. Denitrifikasyon



1. Azot Bağlanması (Azot fiksasyonu)

Sadece birkaç çeşit bakteri ve Siyanobakter azot bağlayabilmekte ve azot gazını amonyuma dönüştürmektedir. Azot bağlayan bakteriler, simbiyotik ve simbiyotik olmayanlar olarak sınıflandırılırlar. Simbiyotik olmayanlar (nonsymbiotic) serbest yaşar. En önemli grup, gram negatif olan ve hem toprakta hem de suda azot bağlayan Azotobacterdir. Diğer önemli azot bağlayanlar ise; Klebsiella, Clostridium (anaerobik, spor oluşturan bakteri) ve Siyanobakter dir. Siyanobakter, diğer serbest yaşayan (simbiyotik olmayan) organizmalara kıyasla 10 kat daha hızlı azot bağlamaktadır. Simbiyotik azot bağlayan bakteriler ise genellikle bitkiler ile beraber bulunmaktadır.

Nitrogenase: Azot bağlamada kullanılan enzim. Bu enzim demir sülfür içerir. Oksijene karşı hassastır. Azot bağlanmasında, Mg^{+2} ve ATP formunda enerji (15-20 ATP/N₂) gerekir. Bu enzimin üretim, nif genleri tarafından kontrol edilir. Bakteriler bu enzimi oksijenden korur. Örneğin, Azotobakter polisakarit üreterek oksijenin difüzmesini azaltır.

2. Azot asimilasyonu (hücre içine alınması)

Heterotrofik ve ototrofik organizmalar NH_4^+ ve NO_3^- 'ı alarak asimilasyon (hücre sentezi) için kullanır.

Mikroorganizmalar her ne kadar NO_3^- 'ı asimilasyon için kullansa da, nitrata önce amonyuma dönüştürür ve daha sonra hücre sentezi (protein sentezi) için kullanır. Atıksu arıtım tesislerinde hücre sentezi için azotun giderilmesi nedeniyle bir miktar azot giderimi mümkün olur. Bitki ve alg hücreleri azotu amonyum şeklinde tercih eder. Bu nedenle NH_4^+ bazlı gübreler NO_3^- bazlı gübrelere tercih edilir.

3. Azot Mineralizasyonu (Amonifikasyon)

Amonifikasyon, organik azotun inorganik azota (amonyum, amonyak) dönüşümüdür. Bu işlem birçok mikroorganizma tarafından gerçekleştirilir (bakteri, aktinomiset, mantar).

Proteinler, aşağıdaki gibi amonyuma dönüştürülürler. Dönüşümden urease enzimi sorumludur;

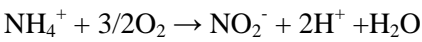
Protein → Aminoasit → Amonyum

Proteinler hücre dışı proteolitik enzimler ile peptit ve amino asitlere dönüştürülür. Amino asitlerden deaminasyon adımıyla amonyum üretilir. Deaminasyon oksidatif ya da reductive olabilir.

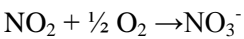
NH_4^+ asidik ve nötral ortamlarda bulunur. Yüksek pH larda (pH>9) ise amonyum, amonyağa dönüşür ve amonyak uçucu olup atmosfere karışır.

4. Nitrifikasyon

Nitrifikasyon, amonyumun nitrata dönüştürülmesi işlemidir. İki basamakta gerçekleşir: Amonyumun nitrite dönüşümü ve nitritin de nitrata dönüşümü. Amonyumun nitrite dönüştürülmesinde Nitrosomonas türleri görev alır. Ayrıca, Nitrosococcus, ve Nitrosolobus diğer amonyum oksitleyen türlerdir.



Amonyum oksitleyen bakteriler (AOB), seçici büyüme ortamı kullanılarak EMS yöntemi ile ölçülebilir. Ayrıca, moleküler biyolojik yöntemlerde bu iş için kullanılabilir. İkinci yöntem daha iyi olup, bu yöntem AOB lerin, protobakter grubunun α , β , γ alt grubuna ait olduğunu göstermiştir. Nitritin nitrata oksidasyonu ise nitrit oksitleyen bakteriler (NOB) tarafından gerçekleştirilir. En önemli bakteri ise α -protobakteri grubuna ait ve zorunlu ototroftur. Fakat Nitrobacter asetat, format ve purivat varlığında heterotrof olarak büyüebilir. Nitrobacter nitriti aşağıdaki şekilde oksitler;



5. Denitrifikasyon

Azot, alıcı ortamlarda oksijeni tüketir. Bu nedenle deşarjdan önce giderilmesi gerekir. Nitrifikasyon işleminde azot sadece form değiştirerek, nitrate dönüşür ve azot ancak denitrifikasyon yolu ile giderilir. Denitrifikasyon, oksijensiz ortamda nitratın (NO_3^-), azot gazına (N_2) dönüştürülmesidir. Burada, nitrat elektron alıcı olarak davranır. Bazı aerobik heterotrofik ve ototrofik organizmalar, oksijensiz ortamda nitratı elektron alıcı olarak kullanarak denitrifikasyon işlemini gerçekleştirirler.

4.2. Fosfor Döngüsü

Fosfor tüm canlılar için gerekli bir makronutrienttir. Fosfor, ATP, nükleik asit ve hücre membranında fosfolipitlerin yapısında bulunur. Fosfor granül olarak prokaryot ve ökaryot hücrelerde depolanabilir. Alg büyümesi için göllerde sınırlı bir nutrienttir. Atıksularda ortalama toplam fosfor konsantrasyonu 10-20 mg/L'dir.

1. Mineralizasyon: Organik fosforun, bakteriler ve funguslar tarafından ortofosfora dönüştürülmesidir.

2. Assimilasyon (hücre üretimi için kullanılması): Mikroorganizmalar enzim ve yeni hücre oluşumu için fosfora ihtiyaç duyarlar. Ayrıca bazı mikroorganizmalar fosfor depolama özelliğine sahip olup, bu özellik atıksulardan fosfor giderimi için kullanılır.

3. Fosforlu Bileşiklerin Çöktürülmesi: Yüksek pH değerlerinde fosfor Ca^{+2} , Mg^{+2} , Fe^{+3} ve Al^{+3} varlığında çöker. Ayrıca bazı durumlarda, mikrobiyal aktiviteden dolayı çökmüş fosfat tekrar çözünmüş fosfora dönüşebilir. Bu ise, mikroorganizmalar tarafından üretilen organik, inorganik asitler ve CO_2 nedeniyle suyun pH değerinin düşmesi nedeniyle olur.

Atıksu Arıtma Tesislerinde Fosfor Giderimi

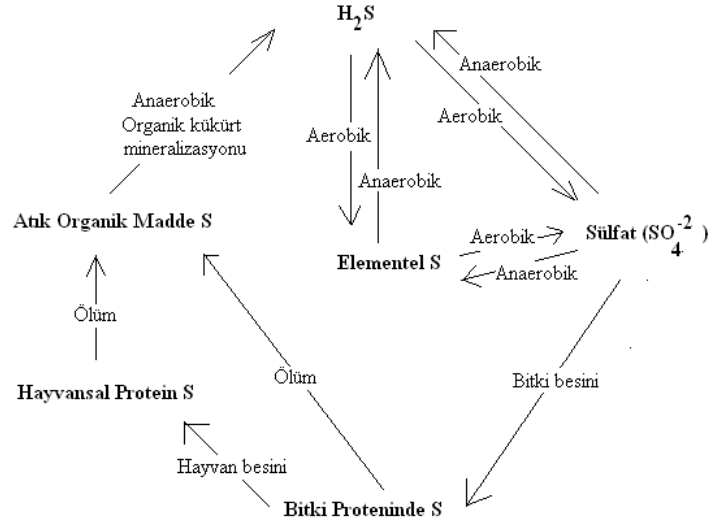
Atıksularda toplam fosfor konsantrasyonu 10-20 mg/L olup, genellikle ortofosfat (%50-70) ve organik fosfor şeklindedir. Biyolojik olarak arıtılmış sularda ortofosfat hakimdir. Fosfor, alıcı ortamlarda ötrofikasyona sebep olup, deşarj edilmeden önce mutlaka giderilmesi gerekmektedir. Fosfor giderimi kimyasal ya da biyolojik yollarla gerçekleştirilebilir:

1. Yüksek pH larda Ca, Fe ve Al ilavesi ile kimyasal çöktürme
2. Mikroorganizmalar tarafından hücre içine alınması (asimilasyon)
3. İleri biyolojik fosfor giderimi
4. Mikroorganizmalarında kullanıldığı, kimyasal çökeltim
5. Adsorpsiyon ve iyon değişimi.

Klasik atıksu arıtma tesislerinde sadece %10-25 fosfat arıtımı gerçekleştirilebilir. İlave fosfat giderimi, atıksuya demir, alüminyum tuzları ilavesi ile gerçekleştirilir. Kireç, aşırı çamur oluşumuna neden olduğundan pek tercih edilmez.

4.3 Kükürt Döngüsü

Kükürt doğada çok yaygın olarak bulunan bir elementtir. En büyük kaynağı ise denizlerde bulunan sülfattır. Diğer önemli kaynakları ise, kükürt içeren mineraller (pirit FeS_2 , kalkopirit CuFeS_2), fosil yakıtlar ve organik maddelerdir. Mikroorganizmalar için önemli bir element olup, aminoasitlerin ve enzimlerin bünyesinde bulunur. Doğadaki kükürt döngüsü aşağıda gösterilmiştir.



Kükürt döngüsünde dört önemli basamak vardır;

1. Organik kükürtün mineralizasyonu
2. Assimilasyon (hücre üretimi için kullanma)
3. Kükürt ve sülfür oksidasyonu
4. Sülfat indirgeme

1. Organik kükürtün mineralizasyonu: Birçok mikroorganizma organik kükürtün mineralizasyonundan sorumludur. Aerobik koşullarda organik kükürt oksitlenerek sülfat üretilir.

2. Assimilasyon: Mikroorganizmalar hücre ve enzim sentezi için kükürdü kullanır. Anaerobik bakteriler indirgenmiş kükürt bileşiklerini kullanırken, aerobik bakteriler daha çok oksitlenmiş haldeki kükürt formlarını (örneğin sülfat) kullanırlar.

3. Oksidasyon: Kükürt oksidasyonunda birçok bakteri görev alır.

- H₂S oksidasyonu: Aerobik ve anaerobik şartlarda H₂S oksitlenebilir. Aerobik şartlar altında Thiobacillus thioparus S⁻²'yi S⁰'a oksitler. Ayrıca, ipliksi kükürt bakterileri (örneğin, Beggiatoa, Thiotrix) H₂S'i oksitleyerek S⁰ üretir ve üretilen S⁰ granül olarak depolanır.

Anaerobik şartlarda ise; fotoototrofik bakteriler (pembe kükürt bakterileri) ve kemootroflar (Thiobacillus denitrificans) sülfür oksidasyonundan sorumludurlar. Pembe kükürt bakterileri fotosentetik bakteriler olup, ışığı enerji kaynağı olarak kullanırlar ve fotosentez yaparlar. Ancak tepkime sonucu oksijen çıkmaz. Bunlar genel olarak anaerobdur. Göl ve su birikintilerinin dibindeki sedimentlerde bulunur. Fotosentezde su yerine H₂S gibi indirgenmiş S bileşikleri kullanılır ve hücrede granül S oluştururlar.

- Elementel Kükürtün Oksidasyonu: Bu oksidasyon daha çok ve düşük pH değerlerinde yaşayan bakteriler tarafından gerçekleştirilir. En önemli türlerden biri Acidithiobacillus thiooxidans (eski adı Thiobacillus thiooxidans) dır. Diğer kükürt oksitleyen önemli bakteri türü ise Sulfolobus türleri olup termofilik ve düşük pH larda yaşar. Bu bakteriler ototrofik olup sıcak asidik kaynak sularında bulunur. (pH 2-3, sıcaklık 55-85°C). Bu bakteri türü indirgenmiş demir ve kükürdü oksitleyerek yaşarlar.

4. Sülfat İndirgeme: Sülfat anaerobik şartlarda sülfat indirgeyen bakteriler tarafından indirgenerek H₂S'e dönüştürülür. En önemli türleri Desulfovibrio, Desulfotomaculum, Desulfobulbus, Desulfomonas, Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfonema, Desulfosarcina, Desulfobacterium'dur.

- ✓ Sulfat indirgeyen bakteriler, bazı aerobik arıtma sistemlerinde gözlenmiş olup, bu bakterilerin mikroaerofilik ya da oksijene tolere edebilen bakteriler olduğu düşünülmektedir.
- ✓ Sulfat indirgeyen bakterilerin direk aktiviteleri ya da ürettikleri H₂S nedeniyle metallerin korozyona uğraması en önemli problemdir.