

Atıksu Arıtımında Genetik Mühendisliği

ERDAL ÖBEK⁽¹⁾, Ekrem ATALAN⁽²⁾, Ubeyde İPEK⁽¹⁾ ve Halil HASAR⁽¹⁾

⁽¹⁾Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 23271 ELAZIĞ

⁽²⁾Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 65080, Zeve- VAN

Özet : Mikroorganizmalar farklı tipteki atık maddeleri zararsız hale dönüştürmede aktif rolleri olduğu bilinmektedir. Atık suların arıtılmasında genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak yeni ve değişmeyen mutant mikroorganizmalar geliştirilebilir. Atık suların arıtımında kullanılan mikroorganizmalar günümüzde rekombinant DNA tekniği kolayca değiştirilmektedir. Genetik Mühendisliği, mikrobiyoloji, fizyoloji, ekoloji, biyokimya ve moleküler biyoloji bilim dalları arıtma işlemleri ile alakalı olduğundan arıtma sorununun çözümünde tüm bilim dallarının arasında işbirliği olması gerekir. Tek bir bilim dalı atık madde ve atık su arıtımı ile ilgili problemleri çözmek için yeterli bilgi içermez. Ayrıca çevresel uygulamalarda hem uygun mikroorganizma hemde fiziksel faktörlerin tanımlanması önemlidir.

Anahtar Kelimeler : Atık su, genetik mühendisliği, rekombinant DNA, arıtma

Genetic Engineering In Refining Of Wastewater

Abstract : Microorganisms are known that have active role in recycling of different kind waste into harmless form. To refine wastewater a new stable mutant microorganisms can be developed using genetic engineering techniques. Genetic engineering involve the genetic manipulation of microorganisms for refining of wastewater. Since refining process consist of various field, genetic engineering, microbiology, physiology, ecology, biochemistry, molecular biology and process engineering should make collaborative study. Any scientific discipline do not contain sufficient information to solve the problem of refining of waste and wastewater. Thus, it is difficult to define appropriate microorganisms and physical factors in environmental applications.

Key words: wastewater, genetic engineering, recombinant DNA, refining

Giriş

Hızlı kentleşme ve sanayileşme sonucu oluşan bol miktardaki katı, sıvı ve gaz atıklar, mikroorganizmalar tarafından bulundukları ortamda yok edilemediğinden, çevre kirliliği oluşturmaktadır. Gün geçtikçe artış gösteren atık maddelerin oluşturduğu çevre kirliliği canlıların sağlığında olumsuz etkilere neden olmaktadır. Çevre kirliliğine neden olan atıkların arıtılması canlıların sağlıkları açısından oldukça önemlidir. Canlıların kirlilikten etkilenmeleri ve zarar görmeleri kaçınılmaz bir durumdur. Çevre kirliliğine neden olan atıkların oluşturduğu kirliliği önleme ve azaltmada mikroorganizmaların oynadığı rol oldukça önemlidir. Ayrıca bazı mikroorganizmaların arıtımda istenilen neticenin alınmasında olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir.

Katı, sıvı ve gaz atıkların giderilmesinde ve çevre kirlenmesinin önlenmesinde biyolojik yöntemler önemli bir yer alır. Doğada mevcut organizmalar, organik bileşiklerin parçalanması ve

sentezine katkıda bulunarak C, N, S, O ve P döngülerinde önemli rol oynarlar. Doğal şartlarda kontrolsüz olarak oluşan bu dönüşümler doğanın dengesini sağlarlar. Doğada mevcut olan bu organizmaları kullanarak reaktörlerde kontrollü şartlar altında, atık maddeleri doğada mevcut tehlikesiz bileşenlere (CO₂, H₂O, O₂, N₂, PO₄⁻³, SO₄⁻²) dönüştürmek çevre mühendislerinin görevidir. İstenen dönüşümleri sağlayacak organizmaların doğadan bulunup çıkarılması, geliştirilmesi, atık maddelere adaptasyonu, arıtma sistemlerinin tasarlanıp kurulması, işletilmesi, kontrol ve analizi çevre mühendisliğinin kapsamı içerisindedir. Uygun organizmalar karışımı ile hemen her türlü organik bileşiği parçalamak mümkündür (Kargı, 1993). Çevre kirliliğine neden olan atıkların mikroorganizmalarca parçalanıp yararlı hale getirilmesinde belli metabolik aktivite gösteren mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır. Gelişmiş ülkelerde mikroorganizmalar yoluyla atıkların temizlenmesi çalışmaları oldukça yaygın uygulama

alanı bulmuştur. Son yıllarda yapılan genetik çalışmalarda farklı enzim aktivitesi gösteren mikroorganizmaların kalıtsal materyallerinin birleştirilmesi ve süper mikroorganizma (superbug) elde edilmesi amaçlanmaktadır. Biyolojik arıtmadaki hariç diğer birçok mikroorganizmanın genetik yapıları genelde bilinmemektedir. Bu derleme çalışmasında, atıksu arıtımında genetik mühendisliğinin uygulanabilirliği araştırıldı. Ayrıca atıksuyun karakterizasyonu ile biyolojik arıtımında mevcut bazı problemlere genetik mühendisliğince getirilen çözüm önerileri verildi.

Çevrede Mikroorganizmaların Fonksiyonları

Evsel ve endüstriyel kaynaklı atıksular arıtım tesislerinde tam yada kısmen temizlenmeden çoğunlukla doğal su alıcı ortamına verilmesi, doğal su ortamları için tehlikeli çevre kirliliği oluşturmaktadır. Bu kirli atıksuların doğal su alıcı ortamlarına verilmeden, kaynaklarında arıtılarak doğal su alıcı ortamına verilmesi, arıtım düzeyine göre çevre kirliliğini önlemektedir. Atıkların, doğal ortamda oluşturduğu kirlilik türü ve miktarı kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle çevre kirliliğini tanımlamak ve ana hatları ile sınıflandırmakta yarar vardır.

Çevre insan veya başka bir canlının yaşamı boyunca ilişkilerini sürdürdüğü dış ortamdır. Hava, su ve toprak bu çevrenin fiziksel unsurlarının, insan, bitki ve diğer mikroorganizmalar ise biyolojik unsurlarını teşkil etmektedir. Doğanın temel fiziksel unsurları olan hava, su ve toprak üzerinde olumsuz etkilerin oluşması ile ortaya çıkan ve canlı öğelerin hayati aktivitelerini olumsuz yönde etkileyen çevre sorunlarına çevre kirliliği adı verilmektedir. Çevre kirliliği şu şekilde sınıflandırılır; a) Çevre özelliklerine göre; fiziksel kirlenme, kimyasal kirlenme ve biyolojik kirlenmedir. b) Çevresel unsurlara göre; hava kirliliği, toprak kirliliği ve gıda kirliliğidir. c) Kaynaklarına göre; endüstriyel, kentsel ve tarımsal kaynaklı çevre kirliliğidir (Topbaş ve ark., 1998).

Yukarıda yapılan sınıflandırmalar genel bir sınıflandırma olup, temel sorunlar göz önünde bulundurularak temel bir fikir vermesi amacıyla yapılmıştır. Çevre; bir organizma veya organizmalar toplumunun yaşamını sağlayan ve onu sürekli etkisi altında bulduran süreçler, enerjiler ve maddesel varlıkların bütünüdür. Diğer

bir ifade ile organizmaların yaşamı üzerinde etkili tüm faktörlerdir. Ancak biyosferde çevre faktörleri o kadar çeşitlidir ki, bu faktörlerin tümünün bir canlı veya canlı grubunun etkilemesi özellikle mekan açısından mümkün değildir. Bu nedenle canlılar çevre koşulları açısından kendilerini belli yerleşim alanlarına adapte ederek yaşamaktadırlar. Tüm canlılar yaratılışından günümüze değin birbirleri içinde buldukları ortamlarda beslenme, barınma ve çoğalma gibi amaçlarda çok karmaşık ilişkiler kurarak yaşamışlardır. Bu ortamların hepsinin kendine özgü canlı grupları ile madde dolaşımı ve enerji akımları vardır. Tüm bu ilişkileri belirleyen canlılar her ekosisteme özel olduğu gibi mikroorganizmalarda ekosistemlere özel olarak değişir.

Doğadaki mikroorganizmalar çok nadiren saf kültür halinde bulunabilirler. Çoğu zaman bakteri, mantar, alg ve protozoalar karışık olarak bir ortamı paylaşırlar. Her mikroorganizma türü gelişme ve çoğalmasını çevre şartları uygun olduğu müddetçe yapabilir. Besin maddelerinin azalması, sıcaklık, nem ve pH gibi faktörlerin değişimi mikrobiyal populasyonlar üzerinde seçici etki yapar. Türlerin canlı kalması ve gelişmesi için canlı ve cansız çevre faktörlerine uyum sağlaması gerekir. Mikroorganizmalar buldukları ekosistemlerde gösterdikleri metabolik faaliyetleri ile madde dolaşımını ve enerji akımları üzerinde anahtar parametre görevi üstlenirler. Bu nedenlerle mikroorganizmalar olmadan hayatın devamından söz edilemez. Mikroorganizmaların ekosistemlerdeki temel fonksiyonları onların buldukları ortamda gösterdikleri metabolik aktiviteleri sonucunda oluşturulur. Mikroorganizmaların grup ve türü belirtmeden genel aktiviteleri şöylece sıralanabilir;

1. Salgıladıkları çeşitli enzimlerle organik maddeleri fermente ederek daha küçük moleküllere dönüştürürler.
2. Organik maddeleri parçalayarak mineralize ederler. Böylece doğada madde döngüleri sağlanarak, atık organik maddelerin tekrar kullanımı meydana gelir.
3. Organik maddeleri veya mineral maddeleri beslenme ve çeşitli yollarla bünyelerine alarak ortamdaki uzaklaştırırlar, yani stabilize ederler. Böylece kanalizasyon ve alıcı ortamda bulunan biyolojik atıkların arıtılmasını sağlarlar.

4. Azot ve kükürt gibi birçok maddeyi bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürürler.
5. Çeşitli asit ve salgılar salgılayarak kayaların parçalanmasını sağlamak suretiyle toprak oluşumuna yardımcı olurlar.
6. Kompostlamada görev alarak katı atıkların bertaraf edilmesi ve organik gübreye dönüştürülmesinde görev alırlar.
7. Ürettikleri enzimlerle fermantasyon yapar, fermente ürünler, antibiyotik gibi insanlar için son derece önemli maddeler oluştururlar.
8. Birçok canlı ile simbiyotik yaşayarak canlının metabolik faaliyetlerine yardımcı olurlar.
9. Oksijen üreterek (algler) doğadaki oksijenin yenilenmesinde önemli görevler alırlar.
10. Beslenme basamaklarında birçok canlının besinini oluştururlar.
11. Bazı toksik maddeleri antitoksik hale getirirler, birçok patojenin üremesini engelleyici antibiyotik maddeler üretirler.
12. Sanayi atıkları ve insektisitler gibi ayrışması zor maddeleri biyolojik olarak ayrıştırabilirler ve bazı mikroorganizmalar bu konuda seçicidir. Bu alanda genetik çalışmalar hızla ilerlemektedir.
13. Bazı maddeleri seçici olarak almak suretiyle suların arıtımında görev alabilirler (*Bacillariophyta*'ların silikalaları ayrıştırması gibi).

Yukarıda ana hatlarıyla bazı fonksiyonları anlatılan mikroorganizmaların bunların yanında doğada birçok görevleri vardır. Tüm bu fonksiyonları ile madde döngüleri ve enerji akımlarının birer halkasının oluşturarak ekolojik döngülerin devamlılığını ve doğal dengenin korunmasını sağlarlar. Kısaca mikrobiyal aktivite olarak adlandırdığımız mikroorganizmaların çeşitli metabolik etkinlikleri olmadan doğada hiçbir madde çevrimi sağlanamaz ve hayatın devamı mümkün olmaz.

Evsel atıkların birçoğu ile arıtılmadan kanalizasyona verilen endüstriyel atıklar tamamen alıcı ortam denen sulara ve topraklara verilmektedir. Böylece organik ve inorganik madde bakımından zengin bu yerlerde mikroorganizma sayısı da çok artmaktadır. Özellikle planktonik algler sulara çokça bulunarak fotosentez yoluyla organik madde üretirken, diğer taraftan da birçok deniz canlılarının besin kaynağının oluştururlar.

Planktonik algler belirli bölgelerde çok miktarda gelişerek suların renk, koku ve tadını önemli derecede etkilerler. Birçok bakteri sulara çözünmüş veya parça halinde bulunan organik atıkları parçalayarak mineralize eder. Mikroorganizmalar büyüme ve üremeleri için gerekli olan enerjiyi sağlamak için organik ve inorganik maddeleri kullanırlar ve metabolik faaliyetleri esnasında değişik formlarda oksijene gereksinim duyarlar. Atıksu arıtımında kullanılan mikroorganizmalar su içerisinde çözünmüş oksijene bağlı olarak üç gruba ayrılırlar. Bunlar aerobik, anaerobik ve fakültatif mikroorganizmalardır.

Kanalizasyon sistemi ile nehir, göl ve denizlere verilen atıksular evsel ve endüstriyel olmak üzere iki kökenlidir. Evsel atıksularda hem organik (300 mg/lt) hem de anorganik (500 mg/lt) maddeler bulunur. Endüstriyel atık suların bileşimi ise kullanılan teknolojiye göre toksik, organik, sentetik organik ve anorganik olabilir. Kanalizasyon suyu organik ve anorganik bileşikler bakımından zengin olduğu için bol miktarda mikroorganizma içerir.

Mikroorganizmalar atıksulardaki organik ve anorganik maddeleri fermantasyon, mineralizasyon ve stabilizasyon olmak üzere üç ana metabolik işlem sonucu arıtılmaktadır. Tüm mikrobiyal arıtma işlemleri benzer biyokimyasal yollarla olur. İşlemlerdeki farklılıklar proje tasarımı ve sistemler arasındaki farklılıklardan kaynaklanan mekanik etkilerden oluşur. Mikroorganizmalar atık sulardaki organik maddeleri yani protoplazma oluşturmak için bünyelerine alarak fermente ederek veya parçalayarak daha küçük moleküllere ayırarak veya mineralize ederek ortamdan uzaklaştırırlar. Mikroorganizmaların organik maddeleri mineralize etme ve inorganik maddeleri bünyelerine alma özelliklerinden yararlanarak çağımızda kentleşme ve sanayileşmenin sonucu oluşan birçok atık madde, kurulan tesislerde mikrobiyal faaliyet ile çevreye zararsız hale dönüştürülmektedir. Bu anlamda katı ve sıvı birçok atığın arıtılmasında mikroorganizmalar aktif olarak kullanılmaktadır (Nuhoğlu, 1996). Mikroorganizmaların aktivitelerinden daha fazla yararlanabilmek için mikrobiyal reaksiyonların ve manipulasyonları hem çevresel hem de genetik tanımlanması gerekir. Mikroorganizmalar farklı ve önemli karakterler taşır. Bunlar;

1. Yüzey alanın hacme oranının yüksek olması nedeni ile metabolizma ve biyosentezin yüksek hızını desteklemek için gerekli nutrientlerin hızlı alınımını sağlar.
2. Ticari işletmeler için sekonder metabolitlerin üretiminde temel rol oynarlar.
3. Farklı ekolojik faktörlere toleranslı olmaları nedeni ile kültüre alınmalarını kolaylaştırmaktadır.
4. Mikroorganizmaların spesifik biyokimyasal reaksiyonları gerçekleştirebilmeleri.
5. İstenilen bileşiklerin üretimi çevresel ve genetik manipulasyonlarla hem *invivo* hem de *invitro* şartlarda artırılabilir.
6. Farklı türler aynı reaksiyonu katalizleyen oldukça farklı enzimleri üretirler (Demain, 1984).

Aktif çamur prosesi ilk olarak gerçekleştirildiği 1914'den beri atıksu arıtımı, kanalizasyon ve endüstriyel atıkların ayrıştırılması ve toksiklerin giderilmesinde mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Çamur prosesinin şekli, herbir organizmanın atık materyal bileşenlerini parçalama ve tüm sistemde diğerleriyle birlikte (kompleks) olma yeteneğinden dolayı doğal olarak oluşan/oluşturulan mikroorganizma popülasyonuna bağlıdır. Yapılacak iş, çamuru istenilen mikroorganizma kültürleri ile inoküle ederek zenginleştirmek olacaktır. İnoküle edilen mikroorganizma kültürleri, endüstriyel atıktaki spesifik bileşikleri ayrıştırmak için hazır olacak ve bunları parçalayacaktır.

Çevredeki toksik bileşiklerin mevcudiyeti, tabiat için büyük bir sorun teşkil etmektedir. Birçok mikroorganizma sentetik organik kimyasal bileşikleri tamamen inorganik materyallere dönüştürecek yeteneklere sahiptir. Pseudomonaslar, özellikle organik bileşiklerin parçalanmasında aktiftirler Pseudomonasların bazı türleri, yapı bakımından çoğu ender olarak görülen 100'den fazla organik bileşiği parçaladığı bilinmektedir (Demain, 1984). Bununla birlikte tabiatta bazı sentetik bileşikler mikroorganizmalarca karbon (C) kaynağı olarak tamamen parçalanamaz, ancak diğer organik maddelere dönüştürülerek başka organizmaların istedikleri forma dönüştürülür ve bu işleme kometabolizma denir. Bazı inatçı pestisitler, poliklorlanmış bifeniller, sentetik polimerler, sulfaktanlar, toprağın azotca zenginleştirilmesi gibi

sorunlar, petrol ve ürünlerinin tabiatta oluşturdukları sülfür bileşikleri mikroorganizma faaliyeti sonucu çözümler geliştirilebilmektedir (Alexander, 1973, 1980; Malik, 1978). Özellikle *Pseudomonas putida* bakterisi türünün taşıdığı plazmidler üzerinde bulunan yapısal genler vasıtasıyla petrolün yapısında bulunan hidrokarbonların daha hızlı şekilde parçalanırken *Thiobacillus* bakterileri ise bakır ve uranyum gibi değerli elementlerin yüksek grade (leaching) elde edilmesinde etkili rol oynarlar. Bu amaçla bakterilerin genomunda yapılacak genetik manipulasyonlarla bu özellikleri artırılabilir veya kuvvetlendirilebilir.

Dört çeşit mikroorganizma tipi evsel atıkların arıtımında kullanılmaktadır. Bunlar, fungi, alg, fotosentetik bakteri ve oligotroflardır (Rittmann, 1984). Fungi, kompleks organik maddeleri kısmen parçalayabildiğinden oldukça önemlidir. Bu özellik onların maddelerin parçalanmasında faydalı kılar ve fungi çamur ile süpürüntülerin kompostlaştırılma florasının önemli bir ögesidir. Fungi, kompleks organikleri ve nispeten yüksek katı içeren sistemlerde seçilmektedir. Alg'ın esas avantajı, enerji kaynağı olarak ışık ve elektron vericisi olarak da suyun kullanımından büyümeleleridir. Bu yüzden büyük alg biyokütellerinin gelişimi, biyolojik proseslerde (organik karbon ve enerji kaynakları) faydalı sınırlayıcı faktörlerden bağımsız olabilir. Alg dirençli organik bileşikleri adsorblamak için faydalı olabilir. Bunlar heterotrofik mikroorganizmaların büyümesi için organik ürün sağlamakta ayrıca fotokimyasal reaksiyonları katalize etmektedirler. Alg stabilizasyon lagünlerinin kritik bir unsuru olmasına rağmen, az bir miktarı bile üstte anlatılan fonksiyonları gerçekleştirmektedir. Algleri büyütme, ortamda tutmak ve kontrol etmek diğerlerine göre daha hassasiyet gösterir. Fotosentetik bakteriler de enerji kaynağı olarak ışıkla büyüme avantajına sahiptir. Fototroflar, suyun organik madde içeriğinden bağımsız olarak biyokütle büyümesini sağlamaktadır. Fotosentetik bakteri, anaerobik sistemlerde üretilen H₂S'i okside edebilir ve klor gidermede çöktürücü niteliktedir. Işık, indirgenmiş sülfür ve anaerobik şartlar fotosentetik bakteriyi önemli kılmaktadır. Oligotrofik mikroorganizmalar, düşük nütrient konsantrasyonlara kısmen adapte olan

mikroorganizmalardır. Oligotroflar, herhangi bir mikroorganizma grubundan olabilmesine rağmen, bakteri en favori olanıdır. Çok düşük nütrient konsantrasyonları mevcut olduğunda, oligotrofların ortama uygulanması en avantajlı durum olur. Oligotrofların seçimi ve akümülyasyonu ile ilgili çalışmalar, halen araştırma aşamasındadır. Endüstriyel atıksular, su ortamında ve evsel atıksu arıtma sistemlerinde yaygın olarak bulunan organizmaların normal fizyolojik sınırların ötesinde fiziksel ve kimyasal karakteristikleri açısından kritik ortamlardır. Bununla birlikte klasik arıtım, evsel atıksu arıtma tekniklerine dayanır ve çoğu kez böyle sistemlerden alınan aşı ile işletilir. Birçok endüstriyel atıksuyun ekstrem özelliklerinden dolayı, bu sular klasik teknikler ile arıtılmadan önce çeşitli ön ayarlamaları gerekmektedir.

Kirlilik kontrolü için toksik bileşikleri parçalamak için yeni organizmalar geliştirilmektedir. Mikroorganizma modifikasyonu sonucu bir maddeyi parçalayabilme özelliği kazandırıldığından aslında mikroorganizma kendisi yeni bir ürün kabul edilebilir. Bu amaçla Chakrabarty (1978), Kellogg ve arkadaşları (1981) çok sayıda farklı maddelerin degradasyonunu sağlayan genleri taşıyan plazmidleri organizmaya aktararak organizmanın besin spektrumunu artırmışlardır. Sonuçta ortaya çıkan organizma *Pseudomonas cepacia* 2,4,5-T bileşiğini hem karbon hemde enerji kaynağı olarak kullanabilme özelliğini kazanmıştır. Rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak tabii veya plazmid transferi yapılmış strainlerle parçalanamayan rekalsitran moleküllerini parçalayan mikroorganizma geliştirilebilmektedir. Genetik olarak değiştirilmiş mikroorganizma atık suların arıtımında kullanılabilir. Böylece rekombinant DNA teknolojisi gelecekte çevresel problemlerin çözümünde rolü büyük olacaktır. Bu yöntemle hem atık maddelerin arıtılması hemde toksik etkisi olan bileşiklerin toprakta, suda barajlarda, göllerde ve diğer habitatlarda ya tamamen veya düşük oranda etkisi olacaktır. Bunun yanında hem ekologlar hemde genetikçiler bu tip organizmaların çevreye salıverilmesinde dikkatli olmalıdırlar.

Kanalizasyon atık maddeleri lağam suyu, bu sudan oluşan çamur ve süprüntüden oluşur. Bu üç tip atık insanların beraberce yaşadıkları ortamlarda sürekli oluşur. Bu atıkların arıtılması ve oluşan

atıkların ortamdaki kaldırılmaları genelde belediyelerin ve diğer kamu kuruluşların çözümlenmeye çalıştıkları problemlerdir.

Genetik mühendisliği teknikleri ile mikroorganizmalar da istenmeyen karakterlerin eliminasyonu ve iki yada daha fazla organizmadan istenen genetik bilgiyi laboratuvar şartlarında biraraya getirmek mümkündür. Böylece mikroorganizmalar tarafından normalde sentezlenemeyen maddeler, genetik mühendisliği işlemleri sayesinde sentezlenebilir hale getirilmektedir. Yalnız manipüle edilecek mikroorganizma türünün hali hazırda kullanım bulan bir tür olması gerekir. Genetik mühendisliğinin ana hedefleri arasında yeni mikroorganizmalar bulmaktan ziyade mevcut türlerdeki genetik bilgiyi değiştirerek daha üretken şekillere dönüştürmek, karmaşık biyokimyasal olayları çözümlenmek, bu olayların akışını değiştirmek ve mikroorganizmaları yönetilebilir hale getirmektir. Genetik olarak geliştirilmiş mikroorganizmalar atıksu arıtımında da kullanılabilir. Böylece genetik mühendisliği çevre uygulamalarında da atık azaltma ve gideriminde de önemli bir rol oynar.

Bu çalışmamızda atık maddelerin arıtılmasında ve tekrar ekonomiye kazandırmada genetik kontrolün ne derece uygulanabileceğini göstermektedir. Bu nedenle ilk olarak arıtımla ilgili teşhisi yapılmış problemlerin çözümlenmesinde 4 potansiyel öneri yapılmaktadır. Bunlar arıtım işleminin ilgili teknolojik gelişmelerle geliştirilmesi (Friello *et al.*, 1976), ortaya çıkan yeni sorunlar için yeni teknolojilerin uygulanması, halihazırda arıtımda kullanılmayan mikroorganizma türlerinin seçilerek kullanılması ve arıtım için uygun mikroorganizmaların rekombinant teknolojisi kullanılarak geliştirilmesidir. Bu çalışmamızda genetik mühendisliğinin arıtımda kullanılan mikroorganizma türlerinin geliştirilmesi üzerinde duracağız.

Rekombinant DNA Teknolojisi Ve Gen Klonlama

İki farklı DNA molekülünün birleştirilmesi anlamına gelen "Rekombinant DNA" genel olarak son yıllarda gelişmekte olan moleküler biyolojik tekniklere verilen bir isimdir. Rekombinant DNA veya genetik mühendislik metot ve kavramları

1997; Dubey, 1998). Rekombinant DNA teknolojisi ile bakteri mutantlarının elde edilmesi basit hale getirilebilir. Çünkü onunla istenilen genetik markırları içeren fragmentler saflaştırılabilir, değiştirilebilir ve deney tüpünde kombine edilerek daha sonra diğer bir hücreye sokulabilirler. Bu zaman ve emekten tasarruf sağlar ve standart genetiksel tekniklere göre mutant elde edilmesini daha pratik kılar (Bahçeci, 1993).

Buraya kadar anlatılanların ışığında evsel ve endüstriyel atık suların arıtım ve gideriminde karşılaşılan problemlerin genetik mühendisliğince nasıl iyileştirilip giderilebileceğini vermeye çalışacağız. Genetik mühendisliğinde, yeni mikroorganizmaların faydalı kullanımı üç aşamayı gerektirmektedir. Bu aşamalar istenilen fonksiyonu yürütebilen bir organizmanın tanımlanması, organizmaların büyümesini sağlayan bir ortamın sağlanması ve istenilen reaksiyonu verimli hale dönüştürecek reaktör sisteminin kullanılmasıdır. Genetik mühendisliğinde, arıtma şartları altında muvaffak olabilen, başka bir ifadeyle arıtma ortamına uygun organizmaların kullanımı esas alınır. Bu nedenle organizmaların fonksiyonlarının gen düzeyinde iyi tanımlanması gerekir. Evsel ve endüstriyel atıksu ve çamurun biyolojik arıtımında istenilen yeni düzenlemeler içerisinde yer alan bir mikroorganizmanın kullanımı ve / veya genetik manipülasyonu sonucu birçok problemin çözümü bulunacaktır.

Evsel atıksuların biyolojik arıtımında mevcut olan aktif bulking çamurunun eliminasyonu, biyofilm tutunması, damlatmalı filtrelerde çamurlaşmanın önlenmesi, aerobik proseslerde O₂ limitlerinin azaltılması, P gideriminin sağlanması, ksenobiyotik organikleri parçalama, toksikleri yok etmede genetik manipülasyonu uygulama ve bunun yanısıra P giderimi, koku generasyonunu önlemede yeni bir mikroorganizma kullanımı gibi problemlerin çözümlenebileceği belirtilmiştir. Aynı şekilde biyolojik atıksu çamur arıtımı esnasında oluşan aerobik parçalayıcıların kararsızlığının giderilmesi, çamurun susuzlaştırılması, çamur kompostlaştırmanın daha verimli ve hızlı gerçekleştirme ve çamurdan ağır metal eliminasyonu gibi temel sorunların çözümünde etkili olduğu belirtilmiştir (Rittmann,1984). Aynı araştırmacı bu problemlerden bazılarının çözümünü de şu şekilde ifade

etmektedir. Aktif çamur kabarmasının, iyi çökmeyen çamur olayının ve katı madde kayıplarının önlenmesi, istenen flok meydana getiren bakterilerin büyümesini ya da istenmeyen filamentli mikroorganizmaların gelişmesini kontrol eden faktörlerin belirlenmesiyle olur. Arzu edilen sonuç, güçlü olarak floklaşan (yumaklaşan) ve flokların içinde çok düşük çözünmüş oksijen konsantrasyonlarda bile iyi çalışabilen bakteri suşlarının elde edilmesidir. Film oluşturan bakterinin yada biyofilmlerin bağlanışının (malzemeye, taş, vs.) artırılması, hücrelerin güçlü adhezyonu ve şartların değişmesini sağlayan faktörleri kapsar. Stabil nitrifikasyon oranı nitrifiye edici bakteriler tarafından daha hızlı artırıldığından heterotroflarla karşılaştırıldığında daha yüksek olacaktır. Çözünmüş oksijen limitasyonunun azaltılması ve CO₂'i bağlama gereksinimi büyüme hızlarını artıracaktır. Oksijen limitasyonunun azaltılması, O₂'ye daha yüksek ilgisi olan elektron aktarım enzimlerini oluşturacak modifikasyonla olur. Eğer mikroorganizmalar seçilirse ya da kuru hücre materyallerindeki P içeriklerini artırmak için manipule edilirse, daha fazla biyolojik fosfor uzaklaştırılması mümkün olacaktır.

Ksenobiyotik organik bileşiklerin biyolojik ayrışması, arıtma sistemlerinde kullanılan mikroorganizmaların ksenobiyotikleri ayrıştırarak enzimlere de sahip olması yoluyla olur. Böyle fonksiyonlar, arıtma proseslerinde yaşayan mevcut organizmalara transfer edilebilecektir. Anaerobik proseslerde H₂S'in oluşumundan kaynaklanan kokular, ototrof veya litotrof mikroorganizmaların kullanılması ile önlenecektir. Anaerobik parçalama ya da kompostlama, kompleks organik katı maddelerin hidroliz hızlarının artırılmasıyla geliştirilmektedir. Ayrıca, daha az nütrient gereksinimleri ve inhibisyona daha az bağımlı olan methanogenler bulunursa yada oluşturulursa methanogenik prosesler daha kullanışlı olacaktır.

Son çalışmalar, belli işletme şartları altında flok oluşturuca bakterileri filamentli bakterilerin etkisinden kurtaran iki fizyolojik karakteri (flok oluşturuca bakterilerin) ortaya çıkarmıştır. Flok oluşturuca bakterilerin oksijen istekleri belirli filamentli bakterilere göre daha az olduğu bilinmektedir. Bu durum ikisini birbirinden ayıran önemli özelliştir. Genetik mühendisliğinin yüksek çamur kabarmalarını önlemek için kullanıldığı en iyi şekli, flok oluşturuca bakterilerin oksijen

meyilinin artırılmasıdır. Yükleme çok düşük olduğunda ikinci çamur kabarma problemi meydana gelir. Belirli filamentli bakteriler, flok oluşturucularla kıyaslandığında yavaş ölüm/solunum hızı oranıyla karakterize edilir. Flok oluşturucular için önemli bir avantaj ölüm/solunum oranının azaltılması olacaktır.

Bunlardan başka ekstrem ortam olarak belirlenen çeşitli endüstriyel atıksu ortamı benzersiz olmayıp mikrobiyal yaşamı destekleyen birçok doğal ortama benzediğinden bu doğal ortamlarda yaşayan mikroorganizmalardan yararlanmak mümkündür. Bu amaçla denizaltı hidrotermal bölgelerde aeroblardan anaeroblara kadar birçok bakteri türü olarak metilotroflar, methanotroflar, methanogenler ve sülfür bakterileri; alkali ve aşırı tuzlu göllerde yaşayan obligat heterotroflar ve methanogenler; düşük nem içerikli ortamlarda üreyebilen organizmalar, filamentli funguslar ve düşük pH içerikli atıklarda üreyebilen organizmalar kullanılabilir.

Seçilen ortamlarda endemik organizmaların manipule edilerek partiküler bileşikleri metabolize etmek için substrata tutulması, bileşiklerin parçalanması için enzim üretiminin artırılması ve birçok substratı kullanacak genetik yapıları modifiye edilmiştir. Bu özelliklere sahip organizmaların geliştirilmesi genetik mühendisliğinin kompleks atıksu arıtımının uygulanmasında da oldukça önemli bir özelliğidir (Rittmann, 1982).

Sonuçlar

Atıkların biyolojik arıtımında, iyi proses kontrolü ve mevcut mikroorganizmaların geniş çapta uygulanması henüz yeterli seviyede değildir (Rittmann, 1982). Genetik mühendisliği, uygulanmadan önce kullanılacak organizmaları fizyolojisi, biyokimyası ve genetiklerinin bilinmesi, organizmaların adapte edileceği ortamların ekolojisinin bilinmesi gerekir (Kobayashi, 1983, 1984). Arıtımın farklı safhalarından ve kompleksliğinden dolayı, biyokimya, mikrobiyoloji, ekoloji, moleküler biyoloji ve proses mühendisliği bilim dallarının koordinasyonlu çalışmaları gerekli kılmaktadır. Hiçbir disiplin bütün bu gerekli bilgilere ve bütün işi yapacak yöntemle sahip değildir (Rittmann, 1982). Farklı ortamlarda yaşayan organizmaların (deniz ortamında, aşırı tuzlu ve alkali ortamlarda

v.b.) gen düzeyinde tanımlanıp bunlardan elde edilecek mutantların, istenilen ortama adapte edilerek arıtım sağlanabilir. Rekombinant DNA teknolojisinin kullanımı ile doğal ırklarca parçalanamayan molekülleri parçalayabilen mikroorganizmaların geliştirilmesi çevre uygulamalarında atıkların gideriminde ve arıtımında önemli rol oynayacağı bir gerçektir.

Kaynaklar

- Alexander, M.** 1973. Nonbiodegradable and recalcitrant molecules. *Biotechnol. Bioengineering*. **15**: 611-647
- Alexander, M.** 1980. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* **211**:132-138.
- Bahçeci, Z.** 1993. *Moleküler Biyoloji*. Atatürk Üniversitesi, Fen Edb. Fak. Yayınları, Erzurum.
- Demain, A.L.** 1984. Capabilities of microorganisms and microbiologist. In *Genetic Control of Environmental Pollutants*. Edited by G.S. Ommen and A. Hollaender, Volume 28, pp. 277-299. Plenum Press, Newyork.
- Dubey, A.L.** 1998. Biomass: A renewable source of energy. In *Biotechnology*, pp. 289-308. Chand and Company Ltd., New delhi, India.
- Friello, D.A., Mylroie, J.R. and Chakrabarty, A.M.** 1976. Use of genetic engineered plasmid microorganisms for rapid degradation of fuel hydrocarbons. In *Proc. Int. Biodegradation Symposium, 3rd, 1975*, pp. 205-213. Edited by J.M. Sharpley and A.M. Kaplan. Applied Sciences Publishers Ltd., London.
- Glazer, A. N. and Nikaido, H.** 1995. *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology*. Edited by W.H. Freeman, Newyork.
- Gupta, P.K.** 1997. Biotechnology and environment: pollution control. In *Elements of Biotechnology*, pp. 511-523. Rastogi Publications, Meerut, India.
- Kargı, F.** 1993. *Çevre mühendisliğinde Biyoprosesler*. Dokuz Eylül Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Kellogg, S.T., Chaterjee, D.K. and Chakrabarty, A.M.** 1981. Plasmid assisted molecular breeding: new techniques for enhanced biodegradation of persistent toxic chemicals. *Science* **214**:1133-1135.
- Kobayashi, H.A.** 1984. Application of genetic engineering to industrial waste/wastewater

- treatment. In *Genetic Control of Environmental Pollutants*. Edited by G.S. Omenn and A. Hollaender, Volume 28:195-214. Plenum Press, Newyork.
- Kobayashi, H.A.** 1983. Use of photosynthetic bacteria for hydrogen sulfide removal from anaerobic waste treatment effluent. *Water Res.* **17**:579-588.
- Kornberg, A. and Baker, T.A.** 1992. *DNA Replication, 2nd edition*, Freeman, Newyork.
- Madigan, T., Martinko, J.M. and Parker** 1997. Genetic engineering and biotechnology. In *Biology of Microorganisms*, pp. 357-397, 8th edition. Prentice Hall Press, London.
- Malik, K.A.** 1978. Microbial removal of organic sulfur from crude oil and their environment: Some new perspectives. *Processes Biochemistry* **13 (9)**: 10-13.
- Mitra, S.** 1996. Genetic engineering: Principles and practice. In *Genetic Engineering*, pp. 59-63. Macmillan India Ltd, India.
- Nuhoğlu, Y.** 1996. *Çevre Mikrobiyolojisi*. Atatürk Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Yayınları, Erzurum.
- Rittmann, B.E.** 1982. Comparative performance of biofilm reactor types. *Biotech. Bioengr.* **24**:1341-1370.
- Rittmann, B.E.** 1984. Needs and strategies for genetic control: Municipal wastes. . In *Genetic Control of Environmental Pollutants* **28**: 215-228. Edited by G.S. Omenn and A. Hollaender. Plenum Press, Newyork.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T.** 1989. *Molecular cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Topbaş, M.T., Brohi, A.R. ve Karaman, M.R.** 1998. *Çevre Kirliliği*. T.C. Çevre Bakanlığı Yayınları, Ankara.
- Wu, R.** 1980. Recombinant DNA, *Methods in Enzymology* **68**. Academic Press, Newyork.