

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROORGANİZMALAR YARDIMIYLA PETROL
HİDROKARBONLARININ BİYOLOJİK PARÇALANMASI**

Çevre Müh. Hüma KURTOĞLU

**FBE Çevre Mühendisliği Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Beyza ÜSTÜN

İSTANBUL, 2009

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
KISALTMA LİSTESİ.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
ÇİZELGE LİSTESİ	iv
ÖNSÖZ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 PETROLÜN OLUŞUMU	1
1.2 PETROLÜN ÖZELLİKLERİ VE SINIFLANDIRILMASI.....	1
1.2.1 Petrolün Fiziksel Özellikleri	2
1.2.2 Petrolün Kimyasal Özellikleri.....	4
1.3 PETROL KİRLİLİĞİ.....	8
1.3.1 Petrol Dökülmesi ile Deniz Ortamında Görülen Süreçler.....	11
1.3.2 Petrol Kirliliğinin Canlılar Üzerindeki Etkisi.....	12
1.4. PETROL KİRLİLİĞİNİ GİDERME	14
1.4.1 Biyolojik Sistemler	15
2. MATERYAL VE METOTLAR.....	21
2.1 MATERYAL.....	21
2.1.1 Bakteriler	21
2.1.2 Kimyasal Maddeler.....	21
2.1.3 Cihazlar	21
2.2. METOT	22
2.2.1 Bakteri Kültürlerinin Eldesi.....	22
2.2.2 Besiyerlerinin Hazırlanması	22
2.2.3 Petrolün Seçimi.....	22
2.2.4 Ön Deneme ve İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi.....	23
2.2.5 Deney Düzeneklerinin Kurulması	23
2.2.6 Optik Yoğunluk (OD) Ölçümü.....	26
2.2.8 Ultraviyole Fluorospektrofotometre (UVF) Analizi.....	27
2.2.9 Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometre (GC-MS) Analizi	27
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
3.1. OD ÖLÇÜMÜ	28
3.2. PH ÖLÇÜMÜ	29
3.3. UVF ÖLÇÜMÜ	31
3.4. GC-MS ANALİZLERİ	34
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR.....	49
EKLER.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	123

KISALTMA LİSTESİ

API :	Amerikan Petrol Enstitüsü
EPA:	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
GC-MS:	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometre
IMO:	Uluslar arası Denizcilik Örgütü
MSM:	Mineral Salt Medium
OD:	Optik Yoğunluk
PAH:	Poliaromatik Hidrokarbon
SBL:	Siberian Light Ham Petrolü
TPH:	Toplam Petrol Hidrokarbonu
UVF:	Ultraviyole Fluorospektrofotometre

ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL 1. 2-METİL BÜTAN İÇİN VİSKOZİTENİN SICAKLIK İLE DEĞİŞİMİ	4
ŞEKİL 2. PETROLÜN BİLEŞİMİNDE BULUNAN BAZI BİLEŞİKLER	4
ŞEKİL 3. PETROL DÖKÜLMELERİYLE DENİZ ORTAMINDA OLUŞAN SÜREÇLER	11
ŞEKİL 4. DENEYSEL OLARAK ELDE EDİLMİŞ MİKROBİYAL HİDROKARBON KULLANIMI ALTERNATİFLERİ.....	18
ŞEKİL 5. DENEYSEL AKIŞ ŞEMASI	25
ŞEKİL 6. DENEYDE KULLANILAN BAKTERİLERE AİT BÜYÜME EĞRİLERİ	28
ŞEKİL 7. DENEY DÜZENİĞİNDEKİ NUMUNELERDE İNKÜBASYON PERİYODU SÜRESİNCE UVF ÖLÇÜMÜNE GÖRE BELİRLENEN TOPLAM PETROL HİDROKARBONU (TPH, µG/ML) KONSANTRASYONLARI.	32
ŞEKİL 8. DENEY DÜZENİĞİNDEKİ NUMUNELERDE İNKÜBASYON PERİYODU SÜRESİNCE UVF ÖLÇÜMÜNE GÖRE BELİRLENEN TOPLAM PETROL HİDROKARBONU (TPH, µG/ML) KONSANTRASYONLARI.	33
ŞEKİL 9. DENEY DÜZENİĞİNDEKİ NUMUNELERDE İNKÜBASYON PERİYODU SÜRESİNCE UVF ÖLÇÜMÜNE GÖRE BELİRLENEN TOPLAM PETROL HİDROKARBONU (TPH, µG/ML) KONSANTRASYONLARI.	34
ŞEKİL 10. SİBERIAN LIGHT HAM PETROLÜNE AİT TOPLAM İYON KROMATOGRAMI (TIC)	35
ŞEKİL 11. ÖRNEK BİR M/Z 85 İYONU KROMATOGRAMI	35
ŞEKİL 12. AFRIKA HAM PETROLÜ İÇİN I-VI NUMARA SIRASIYLA ARTAN BİYOLOJİK	36
ŞEKİL 13. İNKÜBASYON PERİYODU BOYUNCA İZLENEN C17/PR VE C18/PH İSOPRENOİD ORANLARI.	37
ŞEKİL 14. İNKÜBASYON PERİYODU BOYUNCA İZLENEN C17/PR VE C18/PH İSOPRENOİD ORANLARI.	38
ŞEKİL 15. İNKÜBASYON PERİYODUNUN 31. GÜNÜNDE NUMUNELERİN C17/PR (%) İSOPRENOİD ORANLARI	39
ŞEKİL 16. İNKÜBASYON PERİYODUNUN 31. GÜNÜNDE NUMUNELERİN C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI.....	39
ŞEKİL 17. 11 NOLU ORTAMIN 7., 25. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	41
ŞEKİL 18. 12 NOLU ORTAMIN 19. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR(%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	41
ŞEKİL 19. 13 NOLU ORTAMIN 16. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	42
ŞEKİL 20. 14 NOLU ORTAMIN 16. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	42
ŞEKİL 21. 16 NOLU ORTAMIN 16. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	43
ŞEKİL 22. 17 NOLU ORTAMIN 19. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	43
ŞEKİL 23. 15 NOLU ORTAMIN 7. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	44
ŞEKİL 24. 19 NOLU ORTAMIN 16. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	44
ŞEKİL 25. 18 NOLU ORTAMIN 22. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	45
ŞEKİL 26. 20 NOLU ORTAMIN 10. VE 31. GÜN NUMUNELERİNE AİT C17/PR (%), C18/PH (%) İSOPRENOİD ORANLARI	45

ÇİZELGE LİSTESİ

ÇİZELGE 1. HAM PETROL FRAKSİYONLARI	2
ÇİZELGE 2. KİRLENME AŞAMALARINA GÖRE AYIRMA, UZAKLAŞTIRMA VE GERİ KAZANMA YÖNTEMLERİ.....	14
ÇİZELGE 3. ARTAN BİYOLOJİK PARÇALANMA SEVİYELERİNDE PETROLÜN BAZI ÖZELLİKLERİNİN DEĞİŞİMİ	20
ÇİZELGE 4. AEROBİK BİYOLOJİK PARÇALANMA ÇALIŞMASINDA HAZIRLANAN ORTAMLAR	26
ÇİZELGE 5. DENEY DÜZENİĞİNDEKİ NUMUNELERİN İNKÜBASYON PERİYODU BOYUNCA ÖLÇÜLEN PH DEĞERLERİ	29

ÖNSÖZ

Uluslar arası çevre hukukunun genel ilkesi olan “kirleten öder” prensibinin aşılması, “doğa biterse, insanlık biter” anlayışıyla doğal ortamların sürdürülebilirliğinin korunması gerekmektedir. Bu doğrultuda mikroorganizmalar kullanılarak petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasının araştırıldığı bu tez çalışması bana bilimsel çalışma mutluluk ve heyecanı katmıştır.

Çalışmalarım sırasında değerli düşünce ve önerileri ile beni yönlendiren, ilgisini ve zamanını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Beyza ÜSTÜN’e ve tez çalışmamda olanaklarını kullanımına sunan proje eski yürütücüsü Sayın Doç. Dr. Abdülrezzak MEMON’a teşekkürler ederim.

Mikroorganizmalar yardımıyla petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasının araştırıldığı bu tez çalışması, TÜBİTAK Kamu Kurumları Araştırma ve Geliştirme Projelerini Destekleme Programı (1007) çerçevesinde “Bitki, Alg ve Mikroorganizmalar Kullanılarak Hidrokarbonlarla Kirlenmiş Alanların İyileştirilmesinin Araştırılması” başlıklı 105G079 no’lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Bu nedenle yardımlarından ötürü Sayın Doç. Dr. Gülşen ALTUĞ’a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Selma ÜNLÜ’ye ve emeği geçen tüm proje çalışma arkadaşlarıma teşekkürler ederim.

Ayrıca anlayışını hiçbir zaman esirgemedi beni destekleyen proje yürütücüsü Sayın Dr. Bayram YÜKSEL’e teşekkür ederim.

Tez çalışmamda verdikleri anlamlı katkılarından ötürü jüri üyelerim Sayın Prof. Dr. Bahar İNCE’ye ve Sayın Prof. Dr. Ülker BEKER’e teşekkür ederim.

Yaşamımın her anında olduğu gibi bu çalışmam sırasında da desteklerini üzerimden eksik etmeyen aileme hürmet ve teşekkürlerimi sunmaktan büyük mutluluk duyarım.

Temmuz, 2009.

Hüma KURTOĞLU

ÖZET

MİKROORGANİZMALAR YARDIMIYLA PETROL HİDROKARBONLARININ BİYOLOJİK PARÇALANMASI

Hüma KURTOĞLU

Çevre Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi

Doğal sızıntıların yanı sıra petrolün üretimi, işlenmesi, taşınması aşamalarında ve meydana gelen tanker kazaları sebebiyle petrol kirliliği ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizmalar, petrol ve petrol türevleriyle kirlenmiş ortamlarda biyokimyasal süreçlerle petrol hidrokarbonlarını karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilmektedirler. Bu tez çalışmasında, laboratuvar ortamında *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* bakterileri ve bu bakterilerin karışık kültürleri kullanılarak Siberian Light ham petrolünün biyolojik parçalanması araştırılmıştır.

Bir ön çalışma olarak bakterilerin 600 nm’de optik yoğunluk (OD) tayini ile sayımı yapılmıştır ve OD ölçümüne göre bakterilerin logaritmik gelişme evresinde olduklarının belirlendiği 7 saatlik inkübasyon periyodu sonunda çalışma düzeneğine katılmaları amaçlanmıştır.

Çalışma, hazırlanan farklı ortamlarda yürütülmüştür.

- Yalnızca Siberian Light ham petrolü ve besiyeri içeren negatif kontrol ortamı
- Farklı bakteri süspansiyonları, besiyeri ve Siberian Light ham petrolü içeren ortamlar
- Siberian Light ham petrolü içermeyen, farklı bakteri süspansiyonları ve besiyerinden oluşan ortamlar

Hazırlanan ortamlar 31 gün süreyle 25°C ve 150 rpm’de tutulmak üzere orbital inkübatör çalkalayıcıya bırakılmıştır. Analizler için bu ortamlardan 72 saat aralıklar ile 3’er ml örnek alınıp pH ölçümleri yapılmış ve numuneler +4°C’de saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi her numune üzerine 1: 1 hacim oranında n-hekzan eklenmiş ve hidrokarbon içeren hekzan fazları elde edilmiştir. Bu fazlarda ultraviyole fluorospektrofotometre cihazında 310- 360 nm dalga boyu aralığında toplam petrol hidrokarbonu konsantrasyonları ölçülmüştür ve bu ölçümler GC-MS cihazında yapılan hidrokarbon analizleriyle desteklenmiştir. GC-MS analizlerinden elde edilen kromatogramlarda Siberian Light ham petrolünün bulunduğu ortamlardaki petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasının izlenmesi amacıyla, C17/Pristane (C17/Pr) ve C18/Phytane (C18/Ph) isoprenoid oranları dikkate alınmıştır. Yapılan değerlendirmede; çalışmada kullanılan bakteriler arasında *Vibrio fluvialis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin biyolojik parçalanmayı en iyi düzeyde gerçekleştirdikleri tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik parçalanma, hidrokarbon, petrol.

ABSTRACT

BIODEGRADATION OF PETROLEUM HYDROCARBONS THROUGH MICROORGANISMS

Hüma KURTOĞLU

Environmental Engineering, M.S. Thesis

Petroleum production, processing, transportation and tanker accidents cause petroleum pollution as well as natural leakages. In contaminated sites with petroleum and its derivations, it is the case that the petroleum hydrocarbons can be used by microorganisms as a source of energy and carbon with biochemical processes. In this thesis study, Siberian Light crude oil implementation has been applied using *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacteria in the laboratory experiments.

As a preliminary work, these bacteria are enumerated using the determination of optical density (OD) at 600 nm. It has been identified that the bacteria were in the logarithmical development phase in the 7th hour of OD measurement and it has been aimed to add bacteria to the system in this reproduction phase.

Experimental setup has been established with different media:

- Negative control media, including Siberian Light crude oil and Mineral Salt Medium
- Media consist of different bacteria, Mineral Salt Medium and Siberian Light crude oil
- Media consist of different bacteria and Mineral Salt Medium, not including Siberian Light crude oil

Established setup has been left in orbital incubator shaker for 31 days to be kept at 25°C and 150 rpm. After 3 ml samples have been taken from each of these media within periods of 72 hours, their pH has been measured and they have been kept in +4°C. In the process of extraction, n-hexane of 1:1 volume ratio has been added to each sample and hexane phase including hydrocarbon has been obtained. Total petroleum hydrocarbon concentrations of samples have been measured with the ultraviolet fluorospectrophotometer at 310/360 nm (ex/em) and hydrocarbon analysis in GC-MS supported these measurements. In GC-MS chromatograms the degree of biodegradation is determined using the ratios of C17 to pristane (C17/Pr) and C18 to phytane (C18/Ph). In the evaluation, it has been concluded that *Vibrio fluvialis* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria have fulfilled the biodegradation successfully.

Keywords: Biodegradation, hydrocarbon, petroleum.

1. GİRİŞ

1.1 Petrolün Oluşumu

Milyonlarca yıl önce yaşamış bitki ve hayvan kalıntılarının denizlerde biriken çökel katmanlar içerisinde çürüyerek belirli bir basınç ve sıcaklık altında ayrışmasından oluşan petrol, bileşimi oldukça karmaşık ve bölgeden bölgeye değişen bir üründür. Başlıca parafinik ve naftenik hidrokarbonlarla kükürt, oksijen ve azot içeren bileşiklerin bir karışımıdır. Ayrıca petrol içerisinde metal bileşikleri de bulunmaktadır (Speight, 2006).

Petrol içerisinde elementlerin kütlece (%) dağılımı şu şekilde verilmektedir (Uysal, 2006);

- Karbon (C): %83,0- 87,0
- Hidrojen (H): %10,0- 14,0
- Azot (N): % 0,1- 2,0
- Oksijen (O): %0,05- 1,50
- Kükürt (S); % 0,05- 6,0
- Metal; Nikel, Vanadyum, Bakır (<1000ppm;%0,1)

Hidrokarbonlar, parçalanma ve destilasyon yöntemleri ile çeşitli petrol ürünlerinin elde edilmesine yarayan ham petrolün %55-98'ini oluşturmaktadır. Petrolün yapısındaki hidrokarbonlar sınıflandırıldığında; %30'unu parafinik hidrokarbonların, %50'sini sikloalkanların, %15'ini aromatik bileşiklerin ve %5 ini kükürt, oksijen ve azotlu hidrokarbonların oluşturduğu görülmektedir (Aras,2000). Yerküre içerisinde organik materyalin başkalaşımı ile oluşmuş ve gözenekli kayalar içerisinde depolanmış sıvı haldeki hidrokarbonlara ham petrol adı verilir. Petrolün başındaki "ham" terimi bir hammadde olduğunu ve henüz işlenmediğini göstermektedir. Ham petrolden, rafinerilerde bileşenlerine ayrıştırılarak (damıtılarak) günlük yaşamımızda kullandığımız pek çok ara madde ve akaryakıt ürünleri elde edilmektedir (Uysal, 2006).

1.2 Petrolün Özellikleri ve Sınıflandırılması

Ham petrolün içerisinde alifatik, aromatik, asfaltik ve reçine fraksiyonları mevcuttur. Tüm bu içeriği ile ham petrol oldukça kompleks bir materyaldir (Nikolopoulou, 2007). Dünyada

üretile petrolün sınıflandırılmasında dikkate alınan en önemli faktörler petrolün özgül ağırlığı (spesifik gravite), viskozitesi ve içerdği kükürt miktarı gibi özellikleridir (PIGM, 2007).

1.2.1 Petrolün Fiziksel Özellikleri

Ham petrolün fiziksel özellikleri geniş sınırlar arasında değişir. Ham petrol içinde yer alan hidrokarbon türleri ve fiziksel özellikleri EK 1’de verilmiştir.

Ham petrol 21°C (70°F)’de kaynamaya başlamaktadır ve sıcaklık arttıkça kaynama yüksek sıcaklıklara kadar devam etmektedir. Hidrokarbon molekülleri farklı sıcaklıklarda kaynamaktadır. Propan için -44°F (-41°C)’den, 1500°F (816°C)’de asfalta kadar geniş kaynama sıcaklığı aralığı söz konusudur (Uysal, 2006).

Petrol fraksiyonları; karbon aralıklarına göre gaz (C1-C4), nafta (C5-C10), kerosin (C10-C14), dizel (C14-C18), yağlama yağı (C18-C50) ve vaks (C16-C70) olarak gruplanacağı gibi (Çizelge 1), kaynama noktası aralıklarına göre de hafif (0- 150°C), orta (150- 370°C) ve ağır (< 370°C) olarak da sınıflandırılabilir (EK 2).

Çizelge 1. Ham petrol fraksiyonları (Uysal, 2006)

Fraksiyonlar	Karbon Aralığı	Kaynama Noktası Aralığı (K)
Doğal gaz	C1-C4	110- 300
Nafta	C5-C10	300- 450
Kerosin	C10-C14	450- 530
Dizel	C14-C18	530- 600
Yağlama yağı	C18-C50	600- 850
Vaks	C16-C70	560- 920

- “Petrolün yoğunluğu 60°F (15,5°C) sıcaklık ve 1 atmosfer basınç altındaki petrolün yoğunluğu ile ifade edilir. Petrol içerisindeki hidrokarbon yüzdesi, gaz miktarı, reçine ve asfalt gibi ağır hidrokarbonların oranı, sülfür oranı, sıcaklık gibi faktörler petrolün yoğunluğunu etkiler.

Petrolün yoğunluğu 0,6- 1,00 g/cm³ arasında değişir. Yoğunluk Amerika’da API, Avrupa’da ise Baume derecesi ile ifade edilir. Dünya petroleri 27- 35° API gravitesindedir. Gravite petrolün yoğunluğu anlamına gelmez. Yoğunlukla ters orantılı olup formülü aşağıdaki gibidir:

$$API = \frac{141,5}{\text{Özgöl ağırlık (60°F)}} - 131,5$$

$$Baume = \frac{140}{\text{Özgöl ağırlık (60°F)}} - 130$$

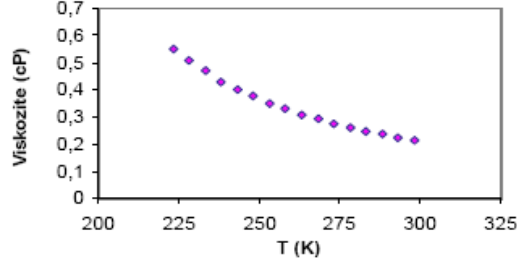
Petrolün graviteye göre sınıflandırılması; “ Hafif >31; Orta 20- 31; Ağır 10- 20 ve tabii Bitümen <10 ” şeklindedir.

Kolay üretilebilir olması, taşınabilmesi ve işlenebilmesi sebebiyle günümüzde dünya petrol talebinin %90’i hafif ve orta petrol ile karşılanmaktadır (PİGM, 2007).

- Sıvı petrolün hacmi 60°F (15,5°C) sıcaklık ve 1 atmosfer basınçta ölçülür, varil cinsinden ifade edilir (1 varil=159 litre). Rezervuardaki petrol hacmi, petrolün tankta dinlendirilmesi ile % 6- 8 oranında azalmaktadır.
- Petrolün ultraviyole ışık altında sarı, yeşil ve mavi renklerde flüoresans gösterme özelliği vardır, bu özellik eser miktardaki petrolün kolayca belirlenmesini sağlamaktadır.
- Kırılma indisi petrolün kimyasal bileşimine bağlı bir özelliktir. Petrolün yoğunluğuna göre 1,39 ile 1,49 arasında değişir. Hafif petrolerin kırılma indisi daha küçüktür.
- Petrolün parlama noktası, petrolün bileşimine göre değişir; çeşitli ısı derecelerinde destile edilebilen ürün oranlarının belirlenmesinde kullanılır.
- Petrolün rengi yansıyan ışıktaki yeşilimsi, kırılan ışıktaki ise açık sarı, kırmızı ve bazen de siyahtır. Özgöl ağırlık arttıkça renk de koyulaşır. Hafif hidrokarbonlu petroler hoş kokulu; doymamış hidrokarbon, kükürt ve nitrojen içeren petroler ise kötü kokuludur.
- Petrolün kalori değeri özgül ağırlığı ile ters orantılıdır. Özgöl ağırlığı 0,9 olan 17°API petrolün kalori değeri 10500 kal/g iken özgül ağırlığı 0,7 olan 70°API petrolün kalori değeri 11700 kal/g’ dır.

- Petrolün viskozitesi petrolün bileşimine bağlıdır. Yoğunluk ve ağır bileşen miktarı arttıkça viskozite artar.” (Tüysüz, 2008).

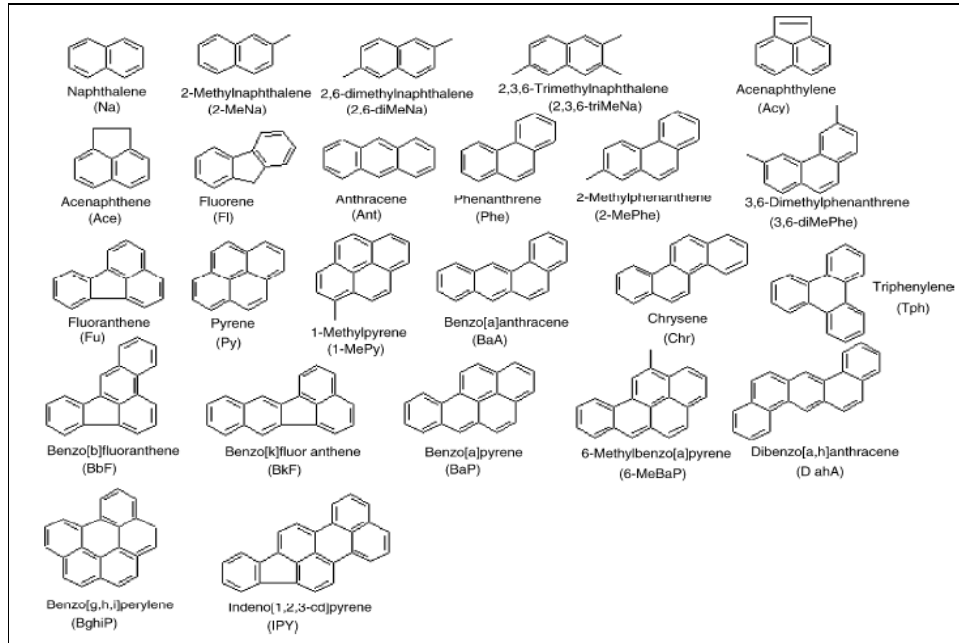
Sıcaklık da viskoziteyi etkileyen önemli bir parametredir. Saf organik sıvılarda ve petrol sıvılarında sıcaklık arttıkça viskozite azalmaktadır (Şekil 1). Düşük viskoziteli petrolerin üretimi, taşınması, işlenmesi daha kolay ve ekonomik olduğundan dünya ticaretinde bu tür petroler tercih edilmektedir (PİGM, 2007).



Şekil 1. 2-Metil bütan için viskozitenin sıcaklık ile değişimi (Uysal, 2006)

1.2.2 Petrolün Kimyasal Özellikleri

Ham petrol fraksiyonları başlıca enerji sektöründe kullanıldığı gibi kimya endüstrisinin de önemli ham ve ara maddeleridir. Petrol fraksiyonlarının yapısının bilinmesi, rasyonel olarak kullanımı, kaynak sarfını ve çevre kirliliğini azaltır (Uysal, 2006).



Şekil 2. Petrolün bileşiminde bulunan bazı bileşikler (Liguori vd., 2006)

Petrol temelde sadece karbon ve hidrojen elementlerinden oluşan hidrokarbonlardan meydana gelmektedir, ancak bu iki element çok çeşitli moleköl yapıları oluşturur. Şekil 2’de petrolün bileşiminde bulunan bazı bileşikler verilmiştir.

“Petrolde hidrokarbonların yanı sıra bunlara oranla düşük, ancak malzemenin yapısını etkileyebilecek kadar da yüksek oranlarda azot, kükürt ve oksijen de bulunur. Ağırlığı %0,5 ile %5 arasında değişen kükürt, yandığında çıkardığı zehirli gazlar nedeniyle petrolden uzaklaştırılır. Ağır hidrokarbonların yapısında olan oksijen, ağırlıkça %2’yi geçmez. Azot ise bütün petrol türlerinde %0,1’den daha azdır. Çoğu ham petrolün bileşiminde sodyum klorür de bulunur, ancak bu da kükürt gibi üründen uzaklaştırılır. Ağır petrollerde karbon, azot, kükürt ve oksijenin arttığı hidrojenin ise azaldığı gözlenmektedir.

Petrolde, oluştuğu organik biçimler ve deniz suyu arasındaki ilişkiden dolayı deniz suyunda bulunan metal elementlerin çoğu dahil, birçok metal element yer alır, (Aras, 2000; Uysal 2006). En bol bulunan elementler vanadyum ve nikeldir. Petroldeki vanadyum ve nikel miktarlarının (5-40g/ton) petrolün asfaltten içeriğinin artması ile arttığı bilinmektedir. Ayrıca Fe, Co, Cr, Hg, As, Sb gibi elementlerin de bileşikleri halinde ham petrolde varlığı bilinmektedir. Bu elementler ham petrolde genellikle organometalik bileşikler, asidik reçinelerin tuzları, karışık kompleksleri halinde veya kolloidal anorganik tuzlar halinde (NaCl ve silikatlarda olduğu gibi) bulunmaktadır.

Petrol açısından en önemli hidrokarbonlar; parafin (metan) serisi, olefin (naften) serisi, aromatik serisi (aromatikler) ve asetilen serisi olarak sıralanabilir. Yapıdaki tüm karbon atom bağları hidrojen atomları ile doldurulmuş ise bu tip hidrokarbonlara ‘Doymuş Hidrokarbonlar’ adı verilir ve bunlar parafinler, parafinik hidrokarbonlar, alkanlar ve sikloalkanlar olarak bilinirler. Alkanlar (parafinik hidrokarbonlar) tek karbonlu metan (CH_4) ve iki karbonlu etandan, 60 veya daha fazla karbonlu bileşiklere kadar uzanmaktadır. Düz zincirli ya da dallanmış yapıda bulunabilirler. Petrolde düz zincirli bileşikler diğerlerine oranla daha çok bulunmaktadır. Düz zincir yapıları; normal parafinler, dallanmış zincir yapıları; izo parafinler, halka yapıları; siklo parafinler veya naftenlerdir. Sikloalkanlar (naftenler) 5 veya 6 karbon atomu halkasına sahip tek halkalı siklopentan veya sikloheksan ve türevleri ile bazı çok halkalı yapılar ve alkil grupları bağlı halkalı yapılardan oluşmaktadır.

Hidrokarbon yapısında olması gerekenden daha az sayıda hidrojen atomu mevcut ise bunlara ‘Doymamış Hidrokarbonlar’ adı verilir. Söz konusu hidrokarbonların karakteristik özellikleri; bitişik iki karbon atomunun birbirine 2 ya da 3 bağla bağlanmış olmalarıdır. Bu bağlar çift ya da üçlü bağ olarak isimlendirilir. Bunlar tek bağların aksine daha zayıftırlar. Bu nedenle doymamış hidrokarbonlar doymuş olanlara kıyasla kimyasal olarak daha reaktiftirler.

Bir adet çift bağ içeren düz veya dallanmış zincir yapılı hidrokarbonlar mono olefinler veya alkenlerdir. Bir adet çift bağ bulunduran halka yapılı hidrokarbonlar siklo-olefinler veya siklo-alkenlerdir. İki adet çift bağ ihtiva eden hidrokarbonlar diolefinler olarak isimlendirilirler. Üç bağlı hidrokarbonlar asetilenler veya alkinler olarak bilinirler. Olefin serisinin en basit maddesi etilendir; $\text{CH}_2=\text{CH}_2$. Diolefin serisinin en basit maddesi bütadien’dir; $\text{CH}_2=\text{CH}=\text{CH}=\text{CH}_2$. Asetilen serisinin en basit maddesi asetilendir; $\text{CH}\equiv\text{CH}$. Olefinler ve asetilenler ham petrol ya da doğal gaz içerisinde bulunmazlar, ancak rafinasyon sırasında elde edilirler ve kimyasal sentezler için çok önemli hammaddeleri teşkil ederler.

Bünyesinde bir ya da daha fazla benzen halkası bulunduran halka yapılı bileşiklere ‘Aromatik’ adı verilir. Benzen, toluen ve ksilen gibi yapılardan oluşurlar. Bu gruplara ek olarak petrolün yüksek kaynama fraksiyonlarında polinükleer aromatik hidrokarbonlar da bulunurlar. Polinükleer aromatik hidrokarbonlar, alkil naftalinler ve bifeniller olarak iki genel grubu içerirler.” (Uysal, 2006).

İçerdikleri hidrokarbon cinslerine göre ham petroller başlıca üç sınıfta toplanırlar (Uysal, 2006; Tüysüz, 2008):

Parafinik Ham Petroller: Parafinik hidrokarbonlardan oluşurlar, asfaltik maddeler yok denecek kadar azdır. Bunlardan yüksek miktarda mum ve yüksek dereceli yağlama yağları elde edilir. Bütün hidrokarbon atomları tek bağlarla birbirlerine bağlanmışlardır. Bu nedenle tüm hidrojen atomları doymuş olduğundan parafin serisine doymuş hidrokarbon grubu da denilir. 5 karbona kadar olanlar doğal gaz; 5- 17 karbonlu olanlar sıvı (benzin, gazyağı, mazot); 17- 22 karbonlu olanlar yarı katı (makine yağları, jölemsi petrol ürünleri); 23 ve daha fazla karbonlu olanlar katı formundadır (parafin, asfalt, zift).

Naftenik Ham Petroller (Asfaltik Ham Petroller): Naftenik hidrokarbonlardan oluşurlar. Önemli miktarda asfaltik madde içerirler. Bunlardan elde edilen yağlama yağlarının viskoziteleri parafinik ham petrollerden elde edilenlere nazaran sıcaklığa karşı daha hassastır. Ancak özel rafinasyon metotları sayesinde parafinik esaslı ham petrollerden elde edilen yağlama yağlarına eşdeğer hale getirilirler.

Hidrojen eksikliği ve çift bağı bulunduğu için doymamış hidrokarbon grubuna dahildirler. Doymamış oldukları için kolayca kimyasal reaksiyonlara girerler, bu nedenle de petrol içerisinde seyrek bulunurlar.

Karışık Ham Petroller: Bunlar hem naftenik hem de parafinik hidrokarbonlar ile bir miktar aromatik hidrokarbonlardan oluşurlar. Mum ve asfaltik maddeler içerirler. Petrol ürünlerinin elde edilmesinde destilasyon prensibinin çeşitli uygulamaları kullanılır. Rafinasyon prosesinde destilasyonun önemi petrolün değişik kaynama noktasına sahip kompleks organik bileşiklerin (hidrokarbonların) bir karışımı olmasından ileri gelmektedir.

Hidrokarbon Bileşiklerinin Tayini

Hidrokarbon bileşiklerinin tayininde kromatografik ve spektroskopik analitik yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

- Kromatografik yöntemlerden bazıları;

- GC (Gaz Kromatografi)
- GC-MS (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi)
- HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

- Spektroskopik analizler ise;

- Infrared analizleri (FTIR)
- Ultraviyole analizleri

şeklinde sıralanabilmektedir.

1.3 Petrol Kirliliği

Birleşmiş Milletler'in GESAMP* adlı *Deniz Kirlenmesinin Bilimsel Yönleri Üzerine Çalışan Uzman Grubu*, deniz kirlenmesini şöyle tanımlamaktadır:

‘Kirlenme insanlar tarafından haliçler de dahil olmak üzere deniz ortamına, doğrudan veya dolaylı olarak, canlı kaynaklarına zarar veren, insan sağlığını bozan, balıkçılık da dahil olmak üzere, denizlerdeki faaliyetleri engelleyen, denizin kullanımı ile ilgili kalitesini etkileyen ve değerini azaltan madde veya enerji bırakılmasıdır’.

Dolayısıyla deniz kirlenmesi, denizlerin kendini arıtma yeteneğinin üzerinde kirleticilerle yüklenmesi sonucunda oluşmaktadır (Yönel, 2008). Her yıl yaklaşık olarak altı milyon ton petrol (Dünyadaki petrol üretiminin yaklaşık % 0,25'i) doğal ve antropojenik kaynaklardan deniz ve okyanuslara giriş yapmaktadır (Üstün, 2007).

- Doğal sızıntılar,
- Deniz taşımacılığı,
- Tanker kazaları,
- Deniz yatağında yapılan petrol arama ve çıkarma çalışmaları sebebiyle petrol kirliliği ortaya çıkmaktadır.

İnsanlığın en önemli ve vazgeçilmez gereksinimlerinden birisi enerjidir. Dünyanın bugünkü birincil enerji tüketiminde petrol %40'lık pay ile ilk sırayı alırken, doğalgaz %23 ile %28'lik payı olan kömürün ardından gelmektedir (DPT, 1996). Türkiye'nin toplam birincil enerji tüketimi içinde fosil yakıtlar % 90'lık paya sahiptir (DPT, 2007). Tarım ve sanayide en önemli enerji kaynağı olarak kullanılan petrol Orta Doğu, Türki Cumhuriyetler ve Rusya Federasyonu'ndan çıkarıldıktan sonra Türkiye üzerinden başta Avrupa olmak üzere tüm dünyaya dağıtılmaktadır. Dolayısıyla Türk boğazlar sistemi ve petrol boru hatları, petrol ve petrol türevlerinin Avrupa ve Uzak Doğu'ya yayılmasında köprü vazifesi görmektedir. Türkiye'de özellikle Marmara Denizi, Boğazlar ve İstanbul, İzmir, Mersin, İskenderun gibi yoğun deniz trafiğinin gerçekleştiği kıyı kentleri, petrol ve diğer maddelerin dökülmesi riskine, deniz kirlenmesine maruz kalmaktadır. Coğrafi konumu nedeniyle yoğun bir deniz kirliliğine maruz kalan ülkemiz denizlerindeki kirliliğe gemi ve diğer deniz araçlarından atılan sıvı ve katı atıklar da büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır (DPT 1998a; TÜBİTAK 'Proje kodu 505G210'-EKII, 2005).

*: United Nations Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution

Petrolün üretilmesi, işlenmesi, taşınması ve kullanılması aşamasında petrol üretiminin karadan üretimde olduğu gibi, denizden üretim sürecinde de sızmalar ve petrol platformlarında meydana gelen çeşitli kazalar sonucu petrolün akması ile deniz kirliliği söz konusu olmaktadır. Okyanuslarda bile yüzen petrol kalıntılarına sık rastlanması ve tüm denizlerin suyunda ölçülebilir oranda petrol hidrokarbonlarının bulunması ise, sorunun boyutunun büyük olduğunu göstermektedir (Aras, 2000).

Akdeniz yeryüzündeki deniz alanlarının yüzde birini kapsamaya karşın, dünya yüzeyindeki yüzer petrol ve zift tabakalarının yarısını içinde barındırmaktadır (Ünsan, 1999). Yoğun bir gemi trafiğinin var olduğu ve kıyılarında petrol işleyip sevk eden, tüketen çok miktarda tesisin bulunduğu Akdeniz ve Ege Denizi petrol filmi (yüzeyde ince petrol tabakası) oluşumu açısından özel bir öneme sahiptir ve yılda ortalama 350 milyon ton petrolün Akdeniz’ de hareket halinde olduğu açıklanmıştır (Yönsel, 2008).

Deniz suyunda, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi uluslararası örgütler tarafından belirlenen petrol hidrokarbonu kirliliği sınır değeri 13 µg/l’dir. Ülkemizde deniz sularında petrol hidrokarbonlarının dağılımına bakıldığında; 1997- 2001 yılları arasında Karadeniz’ de petrol kirliliği miktarları 16,1 – 126,9 µg/l ve Marmara Denizi’nde 31,7 – 106,4 µg/l olarak tespit edilmiştir.

Ülkeler ve kıtalararası ulaşımın önemi gittikçe artmış ve sanayi kollarının hızla gelişmesine paralel olarak petrol hidrokarbonlarının kullanımı dikkat çekecek boyutlara ulaşmıştır. Bununla birlikte, dünyada pek çok örneklerine rastladığımız büyük çaplı tanker kazalarının ‘İspanya’da (2002) Prestige, Japonya’da (1997) Nakhodka, Alaska’da (1989) Exxon Valdez, Fransa’da (1978) Amoco Cadiz; ve (1999) Erika’ benzerlerine Türk boğazlar sisteminde de yakın tarihe kadar sıkça rastlanmaktadır, Türkiye’de ‘(2004) Gotia, (2002) Volgoneft-248, (1994) Nassia, (1979) Independenta’. İstanbul Boğazı’nın Marmara denizine açıldığı çıkışta yaşanan Independenta kazası (1979) 95000 ton ve İstanbul Boğazı’nın Karadeniz’e olan kuzey çıkışında yaşanan Nassia kazası (1994) 13500 ton ham petrolün denize dökülmesiyle sonuçlanmıştır (Talınlı, 2002). Örneğin İstanbul Boğazı’nda Nassia tanker kazasından sonra gerçekleştirilen ölçümlerde boğaz kuzey ve güney girişindeki tespit edilen petrol

konsantrasyonları; İstanbul Boğazı kuzey girişi: (1996), 27.0 µg/l ve güney girişi: (1996), 39.5 µg/l'dir (Yönsel, 2008).

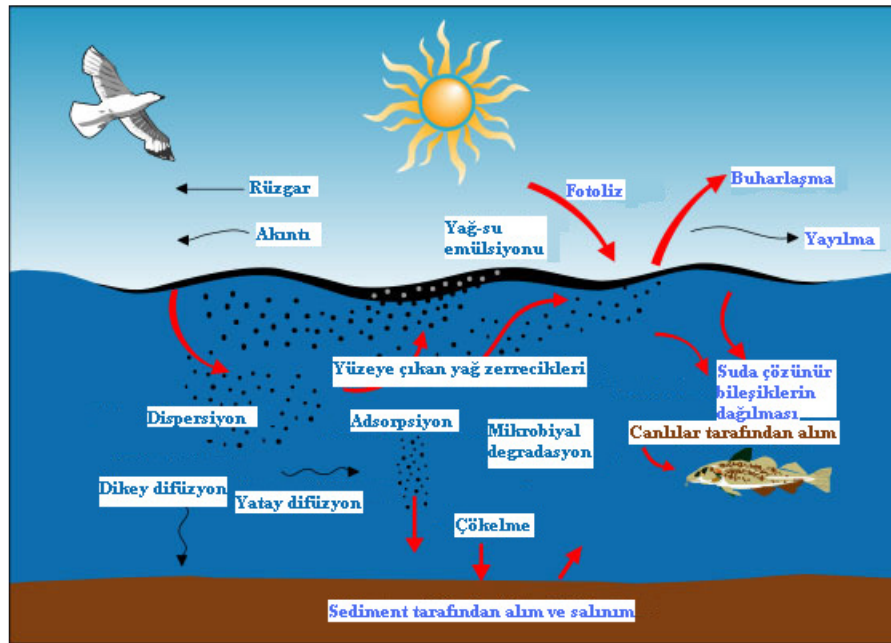
Tanker kazaları sonucu okyanuslara karışan petrolün miktarı, gün geçtikçe artmaktadır. Kazalardan daha sık, daha az miktarlarda ortaya çıkan diğer önemli bir kirlenme biçimi de, enerji üretim tesislerine yakıt taşıyan gemilerin sintine ve balastlarını denize boşaltmaları ya da atık yağların tersanelerden denize dökülmesidir. Bu durum körfez ve haliçleri kirlletmekte, deniz ekosisteminde kısa ve uzun vadeli çeşitli zararlara sebep olmaktadır (Aras, 2000). Ayrıca kara tanker taşımacılığı ve petrol boru hatlarının geçtiği tarım alanları da petrol ve petrol türevlerinin kontaminasyonu açısından risk altındadır.

Yolcu gemilerinde yasal olmamasına rağmen yağlı balast tanklarının yıkanması, sintine sularının denize boşaltılması ve çöplerin denize dökülmesi problemlerin büyümesine katkıda bulunmaktadır. Bu tip işlemler nedeni ile denize bırakılan petrol ürünlerinin, yaklaşık 1 milyon ton/yıl gibi inanılmaz boyutlara ulaşması tüm dünya ülkelerinde endişelere yol açmaktadır (Yönsel, 2008). Petrol kirlenmesinin, uluslar arası önlemler gerektiren bir konu olarak kabul edilmesi hakkında ilk antlaşma, Birleşmiş Milletler aracılığıyla 1954'te imzalanmıştır (Uluğ, 1997). Gemiler, açık deniz tesisleri, deniz limanları ve petrol işleme tesislerinin sebep olduğu kirlilik olayları ile deniz çevresinin karşı karşıya kaldığı ciddi tehdidi öngören, petrol kirliliğine karşı hazırlıklı olma, müdahale ve işbirliği konulu bir uluslar arası sözleşme de bulunmaktadır.

Montrö Antlaşması ile Türkiye'nin Boğazlar bölgesindeki tam egemenliği kabul edilmekle birlikte daha önceki Lozan Antlaşması'nda olduğu gibi 'Ticaret Gemileri için Serbest Geçiş İlkesi' muhafaza edilmektedir (Yönsel, 2008). Türkiye'de gemilerin atık bertaraf yöntemleri ve izleme düzenleri ilke olarak, "Uluslararası Denizcilik Örgütü (IMO)" tarafından kabul edilen kurallara göre yapılmaktadır. Halen IMO Genel Kurulu'nun 17. olağan oturumunda (1991) yenilenmiş şekliyle geçerli olan "Gemilerin Güvenli İşletimi ve Kirliliğin Önlenmesi ile İlgili IMO Yönetim Rehberleri" ve "Gemilerin Güvenliği ve Kirliliğin Önlenmesi ile İlgili İşletim Kurallarının Kontrol Yöntemleri" yürürlükte. Türkiye'de kayıtlı tüm gemilerin bu kurallara uyup uymadıkları denetlenmektedir (TÜBİTAK 'Proje kodu 505G210'-EKII, 2005).

1.3.1 Petrol Dökülmesi ile Deniz Ortamında Görülen Süreçler

Petrol deniz ortamında yayılma, buharlaşma, emülsifikasyon ve çökelme davranışları göstermektedir (Şekil 3). Genelde herhangi bir nedenden dolayı denize dökülen yağ, ham petrol ve petrol türevi kirleticilerin kalınlığı kısa sürede 1 mm'nin altına düşer ve km'lerce büyüklükte bir alana yayılır. Yüzey akıntısı ve rüzgarla daha büyük alanlara yayılan bu kirleticilerin bir kısmı buharlaşmaktadır. Rüzgar ve dalgalar buharlaşmayı artırır, buharlaşma miktarı; kirleticinin uçuculuğu, ortam sıcaklığı, kirleticinin dağıldığı yüzey alanı ve kirleticinin kalınlığı ile doğru orantılıdır (Ünsan, 1999).



Şekil 3. Petrol dökülmeleriyle deniz ortamında oluşan süreçler (Tahnlı, 2002)

Petrolün bir kısmı emülsiyon haline gelmeden fotolitik olarak, bir kısmı da mikroorganizmalar tarafından parçalanır. Yağ deniz suyundan daha az bir yoğunluğa sahip olduğundan, yüzeyde bir tabaka oluşturur, bu da canlılar için hayat kaynağı olan oksijenin deniz içine yayılmasını önler. Petrol deniz ortamına döküldüğünde bileşimindeki hafif ve çabuk buharlaşabilen kısımları bu saçılma esnasında hızlı bir şekilde atmosfere yayılır ve geride sudan daha ağır olan katranımsı kısımlar kalmaktadır (Yönsel, 2008).

Dalga ve çarpıntılar, yüzeydeki kirletici tabakanın parçalanmasına ve kirletici damlacıklarının meydana gelmesiyle bunların suya batıp yüzeyin altında ikinci bir tabaka oluşturmaya sebep olur (Ünsan, 1999). Türbülans, dalga ve akıntı hareketleriyle çalkantı olan yüzey kısımlarda değişik kalınlıklarda yağ-su emülsiyonları oluşmaktadır. Yüzeyden kopan yağ yuvarlakları su

kütlesinde kısmen çözünür, çözünmeyecek kadar ağır kısımlar ise küresel biçimlerini koruyarak dibe çökelirler. Çökelme sırasında çarpışıp yapışarak ağırlıkça büyüyen bu küreler dip akıntılarıyla hareket ederek sedimentleri kaplamaktadırlar (Yönsel, 2008).

Buharlaşıma ise kirleticinin viskozitesini arttıracığından temizleme işlemini zorlaştıran bir faktördür. Viskoz kirleticiler fazla dağılmadan uzun süre su yüzeyinde kalabilirler. Viskozitesi düşük olan kirleticiler ise çabucak parçalanıp dağılma eğilimindedirler. Bu olay sübyeleşme adıyla anılır. Kirleticinin içindeki asfalt oranı % 5'den fazla ise kararlı sübye oluşur. Sübyeeler durgun havada veya kıyıda tekrar ayrışır. Viskozite sübyeleşmeyi ters oranda etkiler; denizdeki 3 Beaufort kuvvetinden daha kuvvetli rüzgarlarda düşük viskoziteli kirleticiler 2- 3 saatte % 60- 80 oranında sübyeleşirken, yüksek viskoziteli kirleticilerin % 10 oranında sübyeleşmesi için yaklaşık 10 saat geçmesi gerekmektedir (Ünsan, 1999).

Sudaki petrol hidrokarbonları bu çeşitli buharlaşma, çözünme, emülsiyon, sedimentasyon, oksidasyon veya mikrobiyolojik ayrışma olaylarına uğramaktadırlar. Hidrokarbon molekülleri ya çözünmekte ya da birleşerek katranları oluşturmaktadırlar. Çözünme oranı ve miktarı, kirleticinin miktarına, cinsine, ortamın ısisına, dalgalara ve dağılma yüzeyine bağlıdır. Güneş ışığı altında ince filmler 24 saatte % 1'in altında bir oranda parçalanmaktadır. Bununla birlikte kirleticiye yapışan organik maddeler ve ısı değişimleri çökelmeye neden olmaktadır. 10°C ısı yükselmesi, deniz suyu yoğunluğunu % 25, kirleticinin yoğunluğu da ortalama % 0.5 oranında değiştirmektedir. Bu nedenle gündüz yüzer halde olan kirletici gece bataabilmekte ve daha tehlikeli olan dip kirlenmesine neden olabilmektedir (Ünsan, 1999).

1.3.2 Petrol Kirliliğinin Canlılar Üzerindeki Etkisi

Atmosfer ve deniz arasındaki gaz alışverişini engelleyerek sudaki çözünmüş oksijen konsantrasyonunun düşmesine neden olan petrol ışık geçirgenliğini azaltarak deniz ortamındaki yaşam için çok önemli olan fotosentez olayını engellemektedir.

Deniz kuşlarının kanatlarına yapışıp yüzücü ve dalıcı kuşların uçuş yetenekleri ile soğuğa karşı dayanıklılıklarının yok olmasına ve ölümlerine neden olan petrol kirlenmesi suyun rekreasyon amacı ile kullanılmasını da engeller.

Deniz ortamında çok yaygın olan petrol kirlenmesi ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan bileşikler, ekosistem içerisindeki tüm organizmaları az veya çok etkilemektedir. Deniz ortamında yaşayan değişik canlı türlerinin petrol bileşiklerine karşı dayanıklılığı da farklıdır. Petrol bileşiklerinin deniz canlıları üzerine toksik etkisi, doku ve hücrelerde birikim ve fizyolojik faaliyetlerin etkilenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Yengeç, ıstakoz ve karidesler gibi yaşamını zemine gömülü olarak sürdüren türler petrol kirlenmesine karşı en duyarlı olan olanlardır. Bunlar 1- 10 ppm oranında petrol konsantrasyonlarından etkilenirler. Midye gibi çift kabuklular ve balık türleri 5- 50 ppm, deniz bitkileri ise 10- 100 ppm oranına duyarlıdır (Yönsel, 2008). Petrol ürünleri ile kirlenmiş balık ve diğer su ürünlerinin tüketimi, ham petrolü oluşturan bileşiklerin bir bölümünün, memeli hayvanlar ve insanlarda kanser yapıcı olduğu bilinen maddelerden oluşması nedeniyle sağlık açısından sakıncalıdır.

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), alkanlar, n-alkanlar, halojenli hidrokarbonlar toksik ve kanserojen nitelikli bileşiklerdir. Özellikle polisiklik aromatik hidrokarbonların canlı organizmalar üzerinde toksik, mutajenik ve kanserojenik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bazı hidrokarbon bileşikleri duyu organlarında yer alan kimyasal algılayıcıları kapatarak sudaki organizmaların besin alma açısından yeteneksiz duruma geçmesine yol açabilmektedir ve yine bu hidrokarbon kirlilikleri, sudaki bazı canlılarda üreme için büyük önem taşıyan feromonları maskeleyerek üremeyi olumsuz yönde etkileyebilmektedirler (Aras, 2000). Deniz kazaları sebebiyle deniz organizmalarında kütleli ölümler gözlenmektedir ve bazı bölgelerde bu tür etkilerin kazadan en az iki yıl sonrasına kadar sürdüğü izlenmiştir.

Her türlü deniz taşıma araçlarının sintine ve balast sularından, rafineri ve petrokimya komplekslerinin atık sularından, petrol dolum ve boşaltım tesislerinden ve tanker trafiğinden kaynaklanan petrol kirliliği denizlerdeki besin zincirinin tüm halkaları üzerinde önemli etkilere sahiptir. Petrolün bileşimindeki mikro kirleticiler (poliaromatik hidrokarbonlar) tek hücreli organizmalardan başlayarak balıklara ve son olarak da insana kadar ulaşan besin zinciri yoluyla taşınırlar. Her bir seviyede yaklaşık 1000 kez katlanarak (biyoakümülyasyon) arttığı düşünüldüğünde tehlikenin boyutları daha net görülmektedir. Mikro kirleticilerden 16 tanesi birincil öncelikli kanserojenik ve mutajenik etkiye sahip olduğundan EPA tarafından tehlikeli kirleticiler sınıfında değerlendirilmektedir (TÜBİTAK 'Proje kodu 505G210'-Cilt1, EKII 2005).

1.4. Petrol Kirliliğini Giderme

Petrolün üretilmesi, işlenmesi, taşınması ve kullanılması aşamalarında petrol kirliliğine karşı çeşitli önlemler almak gerekmektedir. Örneğin, deniz taşımacılığında petrol tankerlerinin yıkanması esnasında ortaya çıkan atık suların arıtımı, alınacak bu önlemler arasındadır.

Petrol dökülmelerine müdahale ise çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Sentetik olarak üretilen temizleyici ile kirleticinin parçalanması veya kirleticinin tam katı hale getirilip kolay bir şekilde toplanabilmesini sağlamak gibi kimyasal yöntemlerin yanı sıra; emici, adezyon sistemli, mekanik taşıyıcılı, suda delik sistemli ve girdap prensipli toplayıcılardan oluşan çeşitli mekanik temizleme yöntemleri de bulunmaktadır (Ünsan, 1999). Petrolün toplandığı bu sistemler (Tahınlı, 2002):

- Manuel toplama (kova, kürek, kepçe, vb)
- Mekanik toplayıcılarla toplama (emme tulumba, taşkan savaklar, vb)
- Tutucu maddelerle (sorbent) toplama (kil, çimento tozu, vb)
- Pıhtılaştırarak toplama (flokülant maddeler) şeklinde sıralanabilmektedir.

Petrol hidrokarbonlarıyla kirlenmiş ortamlardan alınan bu petrol döküntüleri için kirlenme aşamalarına göre ayırma, uzaklaştırma ve geri kazanma yöntemleri Çizelge 2’de verilmiştir. Örneğin kontamine olmuş sıvı ortamdan emülsifiye yağlar çeşitli emülsiyon kırıcı kimyasallar kullanılarak ayrılıp yakma yöntemiyle uzaklaştırılabilmektedir.

Çizelge 2. Kirlenme aşamalarına göre ayırma, uzaklaştırma ve geri kazanma yöntemleri (Tahınlı, 2002)

	Materyal tipi	Ayırma Yöntemleri	Uzaklaştırma Yöntemleri
SIVILAR	Emülsifiye olmamış yağlar	• Gravite ile sudan ayırma	• Yağın yakıt olarak geri kazanımı veya rafineriye gönderilmesi
	Emülsifiye yağlar	• Emülsiyon kırma ile sudan ayırma • Isıl işlem • Emülsiyon kırıcı kimyasallar kullanma • Kum, kil ile karıştırma	• Yağın yakıt olarak geri kazanımı veya rafineriye gönderilmesi • Yakma • Ayrılan kumun kaynağına geri döndürülmesi
KATILAR	Kum ile karışmış yağlar	• Geçici depolama sırasında kumdan sızan yağın toplanması • Su veya solventle yıkayarak kumdan yağın ekstraksiyonu • Eleme ile katı yağın giderimi	• Yağın yakıt olarak geri kazanımı veya rafineriye gönderilmesi • Doğrudan uzaklaştırma • İnorganiklerle stabilize etme • Kırsalda bozundurma veya kompostlama • Yakma
	Kum, çakıl, kaya ile karışmış yağlar	• Geçici depolama sırasında plaj malzeme esinden sızan yağın toplanması • Su veya solventle yıkama ile ekstraksiyon	• Doğrudan uzaklaştırma • Yakma
	Ahşap, plastik, yosun ve sorbentle karışmış yağlar	• Geçici depolama sırasında sızan yağın toplanması • Atıktan yağın su ile yıkanması	• Doğrudan uzaklaştırma • Yakma • Kırsalda kompostlama veya bozundurma
	Katran toprakları	• Elekleme ile kumdan ayırma	• Doğrudan uzaklaştırma • Yakma

1.4.1 Biyolojik Sistemler

Petrol dökülmelerine müdahalede kullanılan diğer bir yöntem de biyolojik sistemlerdir. Petrol hidrokarbonlarının doğal parçalanmasını hızlandırmak için çeşitli biyolojik iyileştirme metotlarını geliştirmek üzere 1990'lardan bu yana artan yoğun bir ilgi söz konusudur (Del'Arco, 2001).

Petrol ile kontamine olmuş ortamda biyokimyasal süreçlerle mikroorganizmaların karbon ve enerji kaynağı olarak petrol hidrokarbonlarını kullanabildikleri bilinmektedir (Boopathy, 2000). Dolayısıyla petrol hidrokarbonlarıyla kirlenmiş alanların temizlenmesinde, seçilmiş mikrobiyal flora kullanılarak gerçekleştirilen biyolojik iyileştirme uygulamaları tercih edilebilmektedir (Vasudevan ve Rajaram, 2001).

Mikroorganizmaların petrol hidrokarbonlarıyla kirlenmiş ortamlara eklenmesiyle harekete geçen biyolojik parçalama mekanizması, hem ekosisteme zararsız olması, hem de diğer yöntemlere kıyasla düşük maliyetli oluşu sebebiyle cazip bir arıtma alternatifi olmuştur.

Mikrobiyal metabolizmada, ekzoenzimler yardımıyla hücre membranlarından geçebilecek boyutlara indirilen protein, karbonhidrat, lipit vb. maddeler sitoplazma içinde de parçalanmaya devam ederek en küçük yapı taşlarına dek ayrışabilirler. Gerekli olduğu durumlarda da fazla ayrışmadan üniteler halinde hücre içinde tekrar kullanılmak üzere depolanabilirler. Sitoplazmada süren ayrışma olaylarını endoenzimler katalize ederler ve mikroorganizmalar bu yapı taşlarından veya daha büyük moleküllerden, kendilerine gerekli olan maddeleri (protein, polisakkarit, lipit, enzim vs.) sentezlemektedirler. Metabolik olaylar, birçok enzimin katalitik etkisiyle ardışık olarak yönetilmektedir ve enzimlerde oluşabilecek en küçük değişimler, bu seri biyokimyasal olayların bozulmasına veya yön değiştirmesine neden olabilmektedir.

Literatürde yapılan bu mikrobiyal metabolizma gözlemleri sonucu, tanker kazaları yoluyla petrol dökülmelerine biyolojik yöntemle müdahaleyi simule eden biyoreaktör uygulamaları da bulunmaktadır (Del'Arco ve França, 2001; Rosenberg vd., 1992).

Hidrokarbonların gideriminde mikroorganizmaların etkin olduğu tespit edilmiştir (Olivera vd., 1997). Yayınlanmış çalışmalardan hareketle, hem toprak hem de deniz ortamlarında en önemli hidrokarbon parçalayan bakterilerin *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas* ve korineformlar oldukları tespit edilmiştir.

Bakterilerin, deniz ortamındaki mikrobiyal topluluk içerisinde baskın hidrokarbon parçalama özelliği gösteren elementler oldukları düşünülmektedir. Bununla birlikte, topraktaki hidrokarbonların bakteri ve funguslar tarafından parçalanma oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, kum dolu bir yerde n-heksadekanın kullanımının %82'sinin bakteriler ve sadece %13'ünün funguslar tarafından yapıldığı gözlenmiştir (Demir, 1999).

Petrolün biyolojik parçalanması çevresel koşullara ve petrolün kimyasal bileşimine bağlıdır (Swannell vd., 1996; Aldrett vd., 1997; Del'Arco ve Franca, 2001). Petrolün kimyasal bileşimine göre biyolojik parçalanmanın hızı da değişmektedir (Del'Arco, 2001)

Sıcaklık ise, petrolün fizikokimyasal kompozisyonunu ve mikrobiyal topluluğun yapısını etkilemesi sebebiyle hidrokarbonların biyolojik parçalanmalarını etkilemektedir. Ortamdaki inorganik-organik besi maddeleri ve kullanılan mikroorganizmalar, biyolojik iyileştirmede rol oynayan başlıca faktörlerdir (Vasudevan ve Rajaram, 2001). Yanı sıra enzimler, mutasyon, yatay gen transferi, mikrobiyal büyüme, mikroorganizmaların hidrokarbonları biyolojik parçalama kapasiteleri ve toksik metabolitlerin üretimi, kirleticilerin; konsantrasyonu, kimyasal yapısı, çözünürlüğü ve toksisitesi, elektron alıcıların varlığı, oksijen difüzyonu ve çözünürlüğü gibi çok çeşitli faktörler biyolojik iyileştirmeyi etkilemektedir (Boopathy, 2000).

Bununla birlikte ortamda alternatif karbon kaynaklarının varlığı ya da mikroorganizmaların aktivitesini inhibe eden şartların bulunması biyolojik parçalanma sürecini yavaşlatan/durduran faktörlerdir (Boopathy, 2000).

Örneğin oksijen biyolojik parçalamaya etki eden bir parametre olarak ele alındığında, karada hidrokarbonlarla kirlenmiş alanlarda topraktaki düşük oksijen içeriğinin biyolojik iyileştirmeyi sınırlayıcı bir faktör olduğu görülmüştür. Bu oksijen içeriği; mikrobiyal aktivite, toprağın cinsi ve su içeriği ile ilişkilidir. Freijer'in laboratuvar ölçekli bir çalışmasında,

topraktaki oksijen içeriği %10'un altına düştüğünde hidrokarbonların biyolojik parçalanmasının sınırlandığı gözlenmiştir (Freijer vd., 1997).

Mikroorganizmalar aerobik biyolojik parçalanma mekanizmasında, kirleticideki karbonu parçalayıp karbondioksit (CO_2) yükseltgemek için oksijeni kullanmaktadırlar ve bu reaksiyon sonucu açığa çıkan ürünler; biyokütle, su ve karbondioksittir.

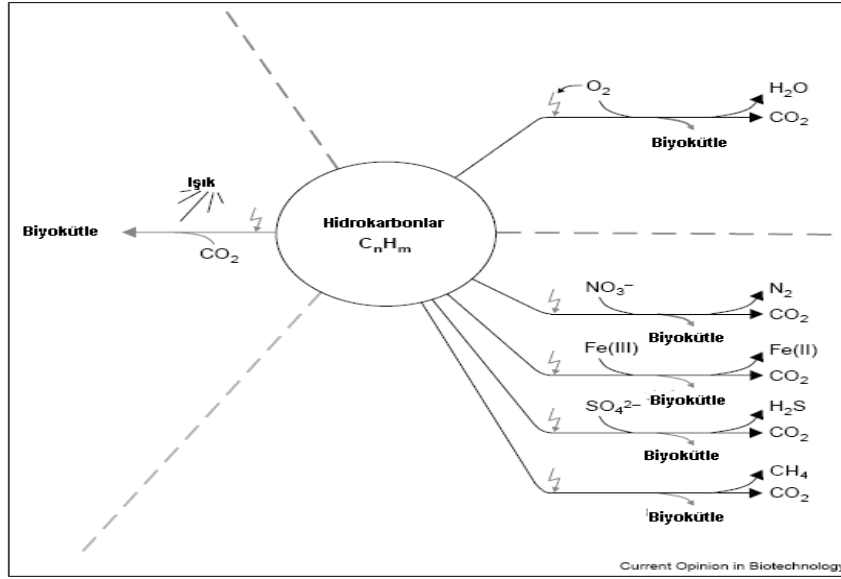
Alkanların aerobik biyolojik parçalanması genellikle bir aldehit ve monokarboksilik asidin tepkimesi sonucu alkolün oluşumuyla başlar. Aerobik proseslerde, birincil enzimlerden monooksijenazlar ile dioksijenazlar, mineralizasyon ve transformasyon boyunca aerobik organizmalar tarafından kullanılmaktadır (Boopathy, 2000).

Ardından beta oksidasyonu yoluyla görülen karboksilik asit degradasyonu ile yağ asitleri ve asetil koenzim A, son olarak da karbondioksit ortamdan ayrılır. Bazı toksik yağ asitlerinin ise hidrokarbonların biyolojik parçalanması süresince birikiminin olduğu tespit edilmiştir (Atlas, 1981).

Serbest oksijenin bulunduğu durumlarda meydana gelen biyooksidasyon reaksiyonlarında genellikle hidrojen peroksit oluşmaktadır. Aerobik mikroorganizmalar bunu kendilerinde bulunan özel katalaz enzimleri ile ayrıştırırlar ancak, anaeroblar oksijen ile ilişkili herhangi mekanizmaya (sitokrom oksidaz, katalaz, peroksidaz, vs.) sahip değildirler ve dolayısıyla bu enzim olmadığından, H_2O_2 ayrıştırılamamaktadır. Su ve toprak ekosistemlerindeki anaerob mikroorganizmalarda (klostridium, aktinomices, sferoforus, vs.) oksijen toksik etki yaratmaktadır (Arda, 2000).

Bununla birlikte, deniz sedimentlerinde yapılan bazı çalışmalarda, poliaromatik hidrokarbonların ve alkanların aerobik koşullar altındaki biyolojik parçalanmaları ile anaerobik koşullarda sülfatın indirgendiği şartlar altında gerçekleşen biyolojik parçalanmalarının aynı hızda olduğu izlenmiştir (Caldwell vd., 1998, Coates vd., 1997).

Widdel'in de çalışmasında (2001) özetlediği üzere, hidrokarbonların anaerobik biyolojik parçalanması ise çoğunlukla denitrifikasyonun gerçekleştiği ortamlarda ya da sülfatın indirgendiği şartlar altında meydana gelmektedir (Şekil 4).



Şekil 4. Deneyisel olarak elde edilmiş mikrobiyal hidrokarbon kullanımı alternatifleri (Widdel, 2001)

Kompleks hidrokarbonların biyolojik parçalanması genellikle birden fazla bakteri türünün bir arada bulunmasıyla gerçekleşmektedir. Mikroorganizmaların hidrokarbonları yalnız baslarına, sadece sınırlı oranlarda metabolize edebilmeleri nedeniyle toprak ve su ortamlarında kompleks hidrokarbonları parçalayabilmek için geniş enzimatik kapasitelerinden dolayı karışık kültürlerle ihtiyaç duyulmaktadır (Demir, 1999).

Karışık mikroorganizma toplulukları, petrolün biyolojik parçalanma kapsamını ve oranını arttırmaktadır.

Petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanması, önce alifatik kısmın ve düşük moleküler ağırlıklı aromatiklerin, sonra yüksek moleküler ağırlıklı aromatiklerin yıkımı şeklinde gerçekleşmektedir.

Bununla birlikte, ham petrolde mikrobiyal aktiviteyi inhibe eden toksik hidrokarbon içeriği de söz konusu olabilmektedir ve sudaki toksik hidrokarbonların çözünürlüğünün bir fonksiyonu olarak toksisite meydana gelmektedir.

Petrolün bileşimindeki alkanların en kolay biyolojik parçalanmaya uğrayan bileşikler olduğu düşünülmektedir; kompleks alisiklik bileşenlerden hopan ve steranlar ise biyolojik parçalanmaya en dayanıklı gruplardır (Atlas, 1981).

Petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanması; n-alkanlar, monosiklik alkanlar, alkilbenzenler, isoprenoid alkanlar, alkilnaftalenler, bisiklik alkanlar, steranlar ve hopanlar sırasını izlemektedir (Connan, 1984).

Dallanmış yapıda olan alkanlar moleküler yapılarıyla ilişkili olarak n-alkanlara kıyasla mikrobiyal parçalanmaya daha dirençlidirler (Del'Arco ve França, 2001; Atlas ve Bartha, 1973; de Jonge vd., 1997). Dallı yapıda bulunan metil grubu ise mikrobiyal saldırılara karşı direnci yükseltmektedir ve beta oksidasyonunun gerçekleşmesine engel olan bu duruma az sayıda mikroorganizma karşı koyabilmektedir (Venosa ve Zhu, 2003).

Petrolün polar fraksiyonunu temsil eden reçine ve asfaltik malzemeler kısmı, biyolojik parçalanmaya yüksek direnç gösteren kısım olarak tanımlanmaktadır (Del'Arco ve França, 2001). Bununla birlikte, kometabolizma yoluyla asfaltinin biyolojik parçalanmasının gerçekleştiği görülmüştür. Kometabolizma, iki bileşiğin eş zamanlı metabolizması olarak tanımlanabilir. Örneğin metanın biyolojik parçalanması prosesinde bazı bakteriler klorlu solventleri de parçalayabilmektedirler (Leahy ve Colwell, 1990).

Bazı reçinelerin, özellikle düşük moleküler ağırlıklı reçine fraksiyonlarının düşük konsantrasyonlarda biyolojik parçalanmaya uğrayabildikleri tespit edilmiştir. Biyolojik parçalanmaya yüksek direnç gösteren bu fraksiyonlar hakkında detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir (Venosa ve Zhu, 2003).

Hidrokarbonların yapısındaki aromatiklerin (özellikle alkilli aromatiklerin) biyolojik parçalanmaya dirençli olmasının yanı sıra naftalen gibi düşük moleküler ağırlıklı aromatiklerin, çoğu doymuş bileşikten daha önce parçalandığı bilinmektedir (Foght ve Westlake, 1987).

Monoaromatik hidrokarbonların bazı mikroorganizmalar için toksik etkileri söz konusudur, fakat genellikle aerobik şartlar altında düşük konsantrasyonlarda bu bileşiklerin kolaylıkla biyolojik parçalanmaya uğrayabildikleri bilinmektedir (Venosa ve Zhu, 2003).

Fenantren ve naftalene göre daha yüksek moleküler ağırlıklı krisen ve benzo(a)piren gibi poliaromatik hidrokarbonların ise biyolojik parçalanmaya karşı direnci yüksektir (Hadibarata vd., 2009).

Öte yandan farklı biyolojik parçalanma seviyelerinde petrolün özellikleri de değişmektedir. Biyolojik parçalanma sonucu petrolün sülfür içeriği, asiditesi ve viskozitesinde artış gözlenmektedir (Röling vd., 2003).

Çizelge 3'te artan biyolojik parçalanma seviyelerinde petrolün API gravitesi, içeriğindeki doymuş, aromatik ve polar bileşiklerin yüzdesi gibi bazı özelliklerde meydana gelen değişimler verilmiştir.

Çizelge 3. Artan biyolojik parçalanma seviyelerinde petrolün bazı özelliklerinin değişimi (Uysal, 2006)

	API Gravitesi	Sülfür (w%)	Vanadyum (ppm)	Nikel (ppm)	Asfalten (%)	Doymuş Bileşikler (%)	Aromatik Bileşikler (%)	Polar Bileşikler (%)
Bozunmamış petrol	32	0,6	30,6	16,4	2	55	23	21
Kısmen bozunmuş petrol	12	1,6	224	75,1	14	25	21	39
Aşırı bozunmuş petrol	4	1,5	137,5	68,5	21	20	21	41

Örneğin artan biyolojik parçalanma seviyelerinde petroldeki doymuş bileşiklerin yüzdesinde azalma, asfalten miktarında ve polar bileşiklerin yüzdesinde artış olduğu görülmektedir (Çizelge 3).

2. MATERYAL ve METOTLAR

2.1 Materyal

2.1.1 Bakteriler

Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen aerobik biyolojik parçalanma çalışmalarında *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* bakterileri kullanılmıştır.

2.1.2 Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan Mineral Salt Medium (MSM)* besiyerinde $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , CaCO_3 , Starch Soluble ve Trace Element** bulunmaktadır. MSM besiyerindeki Trace Element solüsyonunun içeriği, $\text{g}/1.10^2 \text{ ml}$: 0.1 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.1 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0.1 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ şeklindedir. Bakterilerin sıvı besiyerine ekimi için Lactose Broth (Merck), katı besiyerine ekimi için Nutrient agar (Merck) kullanılmıştır.

Petrol örneği olarak deneme serilerinde kullanılan Siberian Light ham petrolünün özellikleri: API Gravitesi; 37.8, Sülfür (% Ağırlık); 0.42, Yoğunluk (g/ml); 0.8358'dir. Analitik metotlarda solvent olarak n-heksan (Merck) kullanılmıştır.

2.1.3 Cihazlar

Çalışmada kullanılan bakterilere ait optik yoğunluk ölçümleri, BIO-RAD *SmartSpec 3000* spektrofotometre cihazında yapılmıştır. Çalışmada hazırlanan düzenekler *Sanyo Gallenkamp* orbital inkübatör çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Toplam petrol hidrokarbonu konsantrasyon bilgilerinin elde edildiği ultraviyole florespektrofotometre ölçümleri *Shimadzu RF 5301* cihazında, detaylı hidrokarbon analizleri *Perkin Elmer Auto System XL GC - Turbo Mass Spectrometer* gaz kromatografi-kütle spektrometre cihazında yapılmıştır.

*: http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium252.pdf

** : http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium84.pdf

2.2. Metot

2.2.1 Bakteri Kùltürlerinin Eldesi

Laboratuar ortamında aerobik biyolojik parçalanma çalışmalarında kullanılmak üzere Marmara Denizi'nden 0-30 cm yüzey deniz suyundan ve Batman Petrol Rafinerisi toprak örneklerinden alınan *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* bakterileri izole edilmiş ve identifikasyonu yapılmıştır*.

Westlake ve arkadaşları (1974), Alveraz ve Pucci (1993) çalışmalarında hidrokarbonları başarıyla okside eden bakteriler arasında gram negatif olanların baskın olduğunu vurgulamışlardır. Bu tez çalışmasında petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasının test edileceği bakterilerden *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* bakterilerinin gram negatif, *Bacillus subtilis*'in ise gram pozitif olduğu gram boyama yapılarak tespit edilmiştir.

2.2.2 Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan Mineral Salt Medium (MSM) besiyeri, g.l⁻¹: 2 (NH₄)₂SO₄; 1 K₂HPO₄; 1 MgSO₄.7H₂O; 1 NaCl; 2 CaCO₃; 10 Starch Soluble ve 1 ml Trace Element alınıp 1 L'ye distile su ile tamamlanarak hazırlanmıştır. MSM'in pH'sı, 1N H₂SO₄ kullanılarak 7,2'ye ayarlanmıştır. Bakterilerin sıvı besiyerine ekimi için Lactose Broth, katı besiyerine ekimi için Nutrient agar hazırlanmıştır. Deney düzeneğinde kullanılan besiyerleri ve malzemeler 120°C'de 20 dk süreyle otoklav edilmiştir.

2.2.3 Petrolün Seçimi

2003 yılı sonrasında ÷lkemize boru hattı aracılığıyla gerçekleştirilen petrol alımları durdurulunca ham petrol açığı Karadeniz kaynaklı, Rusya Federasyonu merkezli Siberian Light ve Ural gibi petrollerle karşılanmaya başlanmıştır (2003-2006). Bu çalışmada ihraç karışımı olan Ural yerine, hafif ve daha düşük kükürt yüzdesi bulunduran Siberian Light ham

*: Doç.Dr. Gülşen Altuğ, Yük. Biyolog Sevan Gürün (İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi)

petrolü tercih edilmiştir. Ayrıca kaynağı Türkiye – Batman merkezli sağlanan Batman Light ham petrolü ile de iki hafta süren bir ön deneme yapılmıştır.

2.2.4 Ön Deneme ve İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi

Batman Light ham petrolü ile iki hafta süreli bir ön deneme gerçekleştirilmiş ve çalışmada kullanılacak mikroorganizmalar bu aşamada seçilmiştir. Ancak ön deneme periyodunun sonlarına doğru, kullanılan Batman Light ham petrolünde katranlaşma görülmesi sebebiyle numune alımı durdurulmuş ve inkübasyon periyodu sona erdirilmiştir.

Bu çalışmada kullanılan Siberian Light ham petrolü ile hazırlanan ortamlarda ise numune alımları iki haftadan uzun bir periyotta sürdürülebilmiş, petrolde katranlaşma görülmemiş ve numune alımında sıkıntı yaşanmaması üzerine deneme bir ay süreyle devam ettirilmiştir. Literatürde biyolojik parçalanma çalışmalarında izlenen inkübasyon periyodu süreleri çeşitlidir, örneğin Del'Arco ve França (2001), petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasını izledikleri çalışmalarını 28 gün sürdürmüşlerdir.

2.2.5 Deney Düzenekinin Kurulması

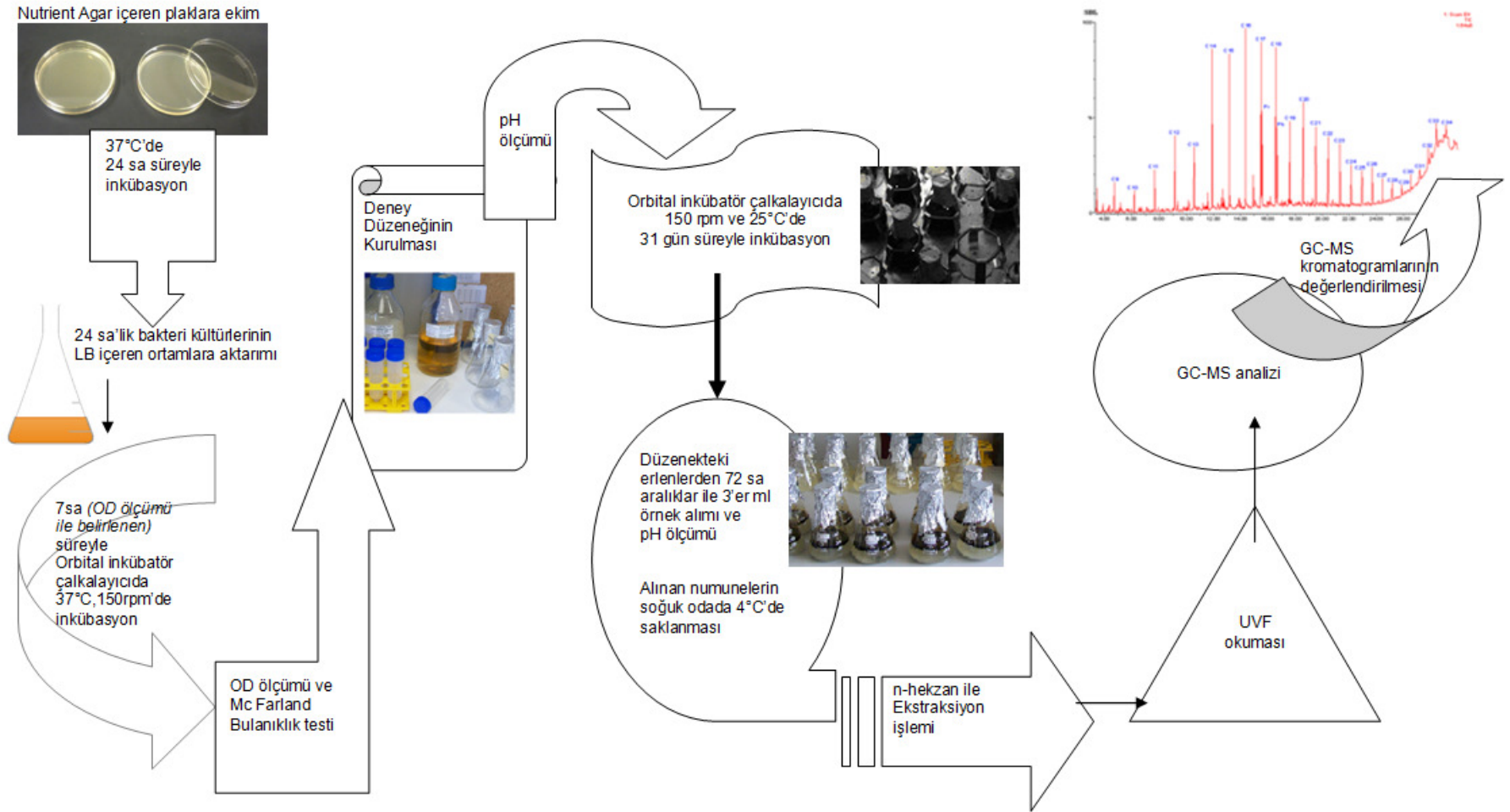
Çalışmada, “Bakteri + Besiyeri ‘*Mineral Salt Medium*’(MSM) içeren ortamlar; 1 – 10 ”, “Bakteri + MSM + Siberian Light ham petrolü (SBL) içeren ortamlar”; 11 – 20 aralığında”, “Negatif kontrol numunesi olan ‘MSM+SBL’ ise 21” olarak numaralandırılmıştır.

- Genel içeriği “1 Bakteri Kültürü+ Lactose Broth (LB)” olan 1- 4 aralığındaki numara sırasıyla *Vibrio fluvialis*+ LB, *Pseudomonas aeruginosa*+ LB, *Bacillus subtilis*+ LB, *Escherichia coli*+ LB süspansiyonlarından 4 ayrı 250 ml’lik steril erlene 25’er ml eklenmiş ve her birinin üzerine 100’er ml Mineral Salt Medium (MSM) besiyeri ilave edilmiştir. Deney düzeneğinde 11- 14 no aralığındaki numuneler, 1- 4 aralığında verilen ortamlara ek olarak 25’er ml Siberian Light ham petrolü (SBL) içermektedir.
- Genel içeriği “2 Bakteri Kültürü+ LB” olan 5- 7 aralığındaki numara sırasıyla (*V.fluvialis*+ *P.aeruginosa*) + LB, (*V.fluvialis*+ *B.subtilis*) + LB, (*P.aeruginosa*+

B.subtilis)+ LB süspansiyonlarından 3 ayrı 250 ml'lik steril erlene 25'er ml eklenmiş ve her birinin üzerine 100'er ml MSM besiyeri ilave edilmiştir. Deney düzeneğinde 15- 17 no aralığındaki numuneler, 5- 7 aralığında verilen ortamlara ek olarak 25'er ml SBL içermektedir.

- Genel içeriği “3 Bakteri Kültürü+ LB” olan 8- 9 aralığındaki numara sırasıyla (*V.fluvialis*+ *P.aeruginosa*+ *B.subtilis*)+ LB ve (*P.aeruginosa*+ *B.subtilis*+ *E.coli*)+ LB süspansiyonlarından 2 ayrı 250ml'lik steril erlene 25'er ml eklenmiş ve üzerlerine 100'er ml MSM besiyeri ilave edilmiştir. Deney düzeneğinde 18-19 no aralığındaki numuneler, 8- 9 aralığında verilen ortamlara ek olarak 25'er ml SBL içermektedir.
- Genel içeriği “4 Bakteri Kültürü+ LB” olan 10 no'lu (*V.fluvialis*+ *P.aeruginosa*+ *B.subtilis*+ *E.coli*)+ LB süspansiyonundan 250 ml'lik bir steril erlene 25 ml eklenmiş ve üzerine 100 ml MSM besiyeri ilave edilmiştir. Deney düzeneğinde 20 no'lu numune, 10 no'lu ortama ek olarak 25 ml SBL içermektedir. Ayrıca 100 ml MSM, 25 ml SBL içeren 21 no'lu MSM+ SBL numunesi, herhangi bir bakteri süspansiyonunun katılmadığı negatif kontroldür.

Deneysel akış şemasında da gösterildiği gibi (Şekil 5); öncelikle “*Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*” bakterilerinden 100'er µl alınıp Nutrient Agar içeren plaklara ekim yapılmıştır. Plaklar, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır ve ardından hazır olan 24 saatlik kültürler (*Vibrio fluvialis*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Bacillus subtilis*; *Escherichia coli*) Lactose Broth içeren ortamlara aktarılmıştır. Lactose Broth ortamına alınan kültürler 37°C'de 150 rpm'de 7 saat süreyle orbital inkübatör çalkalayıcıda tutulmuştur ve ardından bu süre sonunda çalkalayıcıdan alınarak optik yoğunluk (OD) ölçümleri yapılmıştır. Bundan sonra deney düzeneğinin kurulması aşamasında, Mc Farland bulanıklık testi (*Mc Farland 1 no'lu tüp*) ve kontrol amacıyla yapılan OD ölçümü esas alınarak hazırlanan ilgili ‘bakteri süspansiyonlarından, düzenekteki 250ml'lik sterilize edilmiş erlenlere 25'er ml, Mineral Salt Medium besiyerinden 100'er ml [1'den - 10 no'ya kadar olan erlenler]’ ve Siberian Light ham petrolünden 25'er ml ilave edilmiştir [11'den- 20 no'ya kadar olan erlenler].



LB: Lactose Broth; MSM: Mineral Salt Medium; SBL: Siberian Light Ham Petrolü; OD: Optik yoğunluk;

UVF: Ultraviyole Fluorospektrofotometre; GC-MS: Gaz kromatografi-Kütle Spektrometresi

Şekil 5. Deneysel Akış Şeması

Çizelge 4. Aerobik biyolojik parçalanma çalışmasında hazırlanan ortamlar

No	Bakteri + Besiyeri ‘Mineral Salt Medium’(MSM) içeren ortamlar:
1	<i>Vibrio fluvialis</i> +MSM
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> +MSM
3	<i>Bacillus subtilis</i> +MSM
4	<i>Escherichia coli</i> +MSM
5	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i>)+MSM
6	(<i>V.fluvialis</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM
7	(<i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM
8	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM
9	(<i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i> + <i>E.coli</i>)+MSM
10	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i> + <i>E.coli</i>)+MSM
	Bakteri + MSM + Siberian Light ham petrolü (SBL) içeren ortamlar:
11	<i>Vibrio fluvialis</i> +MSM+SBL
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> +MSM+SBL
13	<i>Bacillus subtilis</i> +MSM+SBL
14	<i>Escherichia coli</i> +MSM+SBL
15	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i>)+MSM+SBL
16	(<i>V.fluvialis</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM+SBL
17	(<i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM+SBL
18	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i>)+MSM+SBL
19	(<i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i> + <i>E.coli</i>)+MSM+SBL
20	(<i>V.fluvialis</i> + <i>P.aeruginosa</i> + <i>B.subtilis</i> + <i>E.coli</i>)+MSM+SBL
	Negatif kontrol:
21	MSM+SBL ortamı

Kurulan düzenekler, t=0 anındaki pH ölçümlerinin ardından 31 gün süreyle 25°C ve 150 rpm’de tutulmak üzere orbital inkübatör çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Petrol hidrokarbonlarının ışık ile temasında foto-oksidasyon yoluyla hidrokarbonların parçalanmaya uğraması söz konusudur (Delille ve arkadaşları, 1998). Çalışmada ışıkla petrolün doğrudan temasının istenmemesinden ötürü, bu çalkalayıcının ışık düzeyi %0 (kapalı) konumda sabit tutularak deneme sürdürülmüştür.

2.2.6 Optik Yoğunluk (OD) Ölçümü

Nutrient agar içeren plaklara bakterilerin ekimi ve inkübasyon (37°C’de, 24 sa) sonrasında hazır olan 24 saatlik kültürler (*Vibrio fluvialis*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Bacillus subtilis*; *Escherichia coli*), Lactose Broth (LB) ortamına alındıktan sonra bu sıvı besiyeri ortamında (LB) 37°C’de 150 rpm’de orbital inkübatör çalkalayıcıda 7 saat süreyle tutulmuştur ve ayrı bir çalışma olarak deneyin uygulama aşaması öncesinde bu bakterilerin optik yoğunluk tayini ile sayımı yapılmıştır.

2.2.7 Numune Alımı, pH Ölçümü ve Ekstraksiyon İşlemi

Deney düzeneğindeki 1'den 21'e kadar numaralandırılmış erlenlerin inkübasyon periyodunun 1., 7., 16., 28. ve 31. günlerine ait gözlemleri, EK 68'den 72'ye kadar verilmiştir. Analizler için bu erlenlerden 72 saat aralıklar ile 3'er ml örnek alınıp pH ölçümleri yapılmış ve numuneler +4°C'de soğuk odada saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi için her numune üzerine 1:1 hacim oranında n-heksan eklenmiş ve ardından hidrokarbon içeren heksan fazı elde edilmiştir.

2.2.8 Ultraviyole Fluorospektrofotometre (UVF) Analizi

Ekstraksiyon işleminin ardından, numunelerin ultraviyole fluorspektrofotometre (*Shimadzu RF 530I*) cihazında ölçümleri sonucunda toplam petrol hidrokarbonu konsantrasyon bilgileri elde edilmiştir.

UVF Cihazı Çalışma Şartları:

Dalga boyu aralığı : 310 – 360 nm (Excitation - Emission)

Kullanılan çözücü : n-heksan

2.2.9 Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometre (GC-MS) Analizi

GC-MS cihazıyla (Perkin Elmer Auto System XL GC - Turbo Mass Spectrometer) numunelerin hidrokarbon analizinde iyon kromatogramlarındaki isoprenoid miktarları, pik alanlarıyla ilişkili olarak belirlenmiştir.

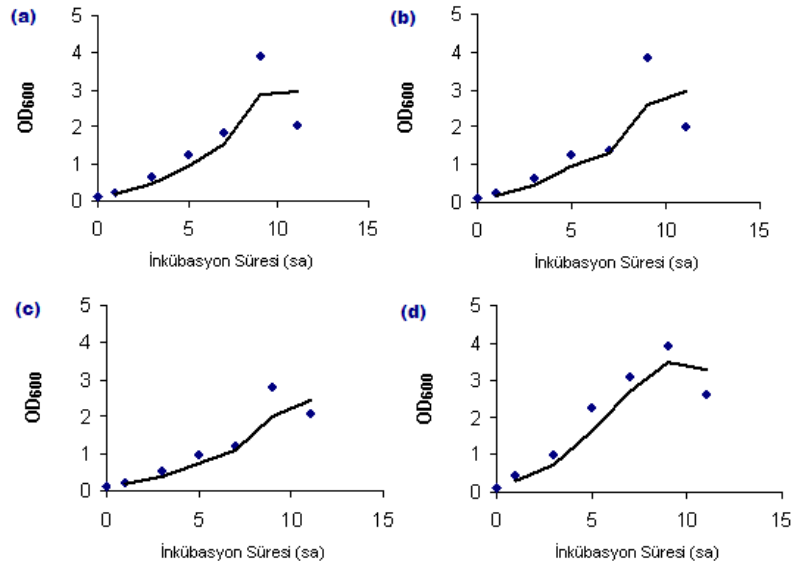
Analiz sırasında uygulanan GC-MS metodu ve cihazın çalışma şartlarına ilişkin parametreler aşağıdaki gibidir;

Kolon:	30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, HP 5-MS kapiler kolon
Enjeksiyon:	1 µl splitless mod
İnlet sıcaklığı	280 °C
Fırın sıcaklığı:	1dk 50°C, 10° C/dk 320°C ye, 5 dk 320°C.
Taşıyıcı gaz:	Helyum
İnlet Basıncı	Sabit akış, 1 ml/min

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. OD Ölçümü

Ön çalışma olarak *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerinin optik yoğunluk ölçümleri 600nm’de; t=0, 1., 3., 5., 7., 9. ve 11. saatlerde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6. Deneyde kullanılan bakterilere ait büyüme eğrileri
(a) *V.fluvialis*, (b) *P.aeruginosa*, (c) *B.subtilis* ve (d) *E.coli*

Şekil 6’da gösterilen bakteri büyüme eğrilerinde OD ölçümünün yapıldığı 7. saatte (a) *Vibrio fluvialis*, (b) *Pseudomonas aeruginosa*, (c) *Bacillus subtilis* ve (d) *Escherichia coli* bakterilerinin logaritmik çoğalma evresinde olduğu görülmektedir.

Bakterilerin büyüme eğrisinin logaritmik gelişme evresinde bulunan mikroorganizmalar hızlı çoğalma içerisindedirler ve hücre ölümleri yeni hücre oluşum hızı ile kıyaslandığında son derece azdır; dolayısıyla deneyin uygulama aşamasında bakterilerin en aktif olduğu bu evrede sisteme katılması amaçlanmıştır. Logaritmik gelişme evresinin ortasında biyolojik parçalanmanın arttığı yönündeki bir değerlendirmeyi ele alan Prabhu ve Phale (2003), *Pseudomonas* sp. PP2 izolatı için izledikleri fenantrenin biyolojik parçalanma mekanizmasında, logaritmik gelişme evresinin ortalarında artan hidroforik etki ile ilişkili olarak fenantrenin biyolojik parçalanmasının arttığı şeklinde bir sonuca varmışlardır.

3.2. pH Ölçümü

Deney düzeneğindeki 21 numunenin 31 günlük inkübasyon periyodu boyunca ölçülen pH değerleri Çizelge 5’te verilmiştir.

Düzenekte t=0 anında yapılan ölçümde tüm numunelerin pH’sının 7 olduğu görülmektedir. 21 nolu numunenin pH’sı inkübasyon periyodu sona erene dek 7 değerinde sabit kalmıştır.

Çizelge 5. Deney düzeneğindeki numunelerin inkübasyon periyodu boyunca ölçülen pH değerleri

	İnkübasyon Süresi (Günler)	0.	3.	6.	7.	10.	13.	16.	19.	22.	25.	28.	31.
NO	Numuneler												
1	<i>Vibrio fluvialis</i> +MSM	7	4	4,5	4,5	5	4	4	4	4,5	4,5	4,5	4,5
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> +MSM	7	5	5,5	5,5	5,5	5,5	6	6	6	6	6	6
3	<i>Bacillus subtilis</i> +MSM	7	5	5,5	5	5,5	4,5	5	5	5	5	5	5
4	<i>Escherichia coli</i> +MSM	7	7	6	6	6	4,5	5	5	5	5	5	5
5	V.f.+P.a.+MSM	7	5	5,5	7	6	6	6	6	6	6	6	6
6	V.f.+B.s.+MSM	7	6	6	7	6	6	6	6	6	6	6	6
7	P.a.+B.s.+MSM	7	4	4,5	4,5	5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
8	V.f.+P.a.+B.s.+MSM	7	5	6	7	7	7	6	6	6	6	6	6
9	P.a.+B.s.+E.c.+MSM	7	5	5	5,5	5,5	4,5	5	5	5	5	5	5
10	V.f.+P.a.+B.s.+E.c.+MSM	7	5	6	7	5,5	5	5,5	5,5	5,5	6	6	6
11	<i>Vibrio fluvialis</i> +MSM+SBL	7	5	5,5	6	5	6	6	6	6	6	6	6
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> +MSM+SBL	7	5	6	7	5	6	6	6	6	6	6	6
13	<i>Bacillus subtilis</i> +MSM+SBL	7	5	4,5	4,5	4,5	5	3	3,5	3,5	3,5	3	4
14	<i>Escherichia coli</i> +MSM+SBL	7	7	6	7	6	5,5	5	5	4,5	4,5	4,5	4,5
15	V.f.+P.a.+MSM+SBL	7	7	5,5	5	6	6	6	6	6	6	6	6
16	V.f.+B.s.+MSM+SBL	7	4	4,5	4,5	5,5	4	6	7	7	7	7	7
17	P.a.+B.s.+MSM+SBL	7	4	4,5	4,5	5	4,5	5,5	5	5,5	6	6	6
18	V.f.+P.a.+B.s.+MSM+SBL	7	5	4,5	4,5	5	4,5	5,5	5	5,5	5	5	5
19	P.a.+B.s.+E.c.+MSM+SBL	7	5	5	5,5	5	5	5,5	5	5	5	5	5
20	V.f.+P.a.+B.s.+E.c.+MSM+SBL	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5,5	5,5	5,5
21	SBL+MSM	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Vibrio fluvialis’in 1 nolu numunesinin pH’sının inkübasyon periyodunun 22. gününden itibaren 4.5; *Vibrio fluvialis* ’in SBL uygulanan 11 nolu numunesinin pH’sının 13. günden itibaren 6 değerini aldığı görülmektedir. 11 nolu ortamda 1 nolu ortama kıyasla pH’da artış olmuştur.

Benzer şekilde pH artışı, *Vibrio fluvialis*+ *Bacillus subtilis*’ in 6 ve 16 nolu; *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis*’in 7 ve 17 nolu ortamlarında da söz konusudur. Bununla birlikte “*Vibrio fluvialis*+ *Bacillus subtilis*” ile “*Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis*”’in 6 ve 7 nolu numunelerinin pH’larında, *Vibrio fluvialis*’in 1 nolu numunesine göre daha erken bir dönemde pH’da sabitlenme görülmüştür. (6 ve 7 nolu numuneler 10. ve 13. günlerde sırasıyla pH=6 ve pH=4.5 değerlerinde sabitlenmiştir.)

Pseudomonas aeruginosa'nın 2 ve 12 nolu numunelerinde sırasıyla 16. ve 13. günlerden itibaren pH'nın 6 değerini aldığı, yanı sıra *Pseudomonas aeruginosa*'nın *Vibrio fluvialis* ile birlikte bulunduğu 5 ve 15 nolu ortamlarda da 10. günden sonra pH'nın 6 değerine eşitlendiği görülmektedir.

Bacillus subtilis'in SBL uygulanan 13 nolu numunesine ait pH ölçümlerinde 31 gün boyunca dalgalanmalar meydana gelmiştir; SBL uygulanmayan 3 nolu örneğinde ise pH 16. gün itibariyle 5'te sabitlenmiştir.

4, 8 ve 10 nolu ortamlarda pH'lar sırasıyla 16. günde 'pH=5', 16. günde 'pH=6', 25. günde 'pH=6' değerlerinde iken; bu numunelerin SBL uygulanmış 14, 18 ve 20 nolu ortamlarında pH'da bir miktar düşüş olduğu gözlenmektedir. (14, 18 ve 20 nolu numunelerde sırasıyla 22. günde 'pH=4.5', 25. günde 'pH=5' ve yine 25. günde 'pH=5.5' değerlerine düşmüştür). 4, 10, 14 ve 20 nolu ortamlar *Escherichia coli* kültürü içermektedir.

Vibrio fluvialis' in olmadığı *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis*+ *Escherichia coli* karışık kültürü ortamına ait 9 ve 19 nolu numunelerde ise pH sırasıyla 16. ve 19. günlerden itibaren eş değeri almıştır, pH=5'tir.

Bu çalışmada *Vibrio fluvialis* +MSM+SBL, *Pseudomonas aeruginosa* +MSM+SBL ve *Vibrio fluvialis* + *Pseudomonas aeruginosa* +MSM+SBL ortamlarında inkübasyon periyodunun 13. gününden itibaren kararlı şekilde pH'nın 6 değerinde seyrettiği gözlemlenmiştir.

Verstraete ve arkadaşları (1976) gazolinin biyolojik parçalanmasını izledikleri pH 4.5 ortam şartlarında, pH'nın 7.4'e yükseltilmesi sonucu biyolojik parçalanma hızının arttığını kaydetmişlerdir. Bununla birlikte pH 8.5'in üzerine çıktığında mikrobiyal aktivitede ve dolayısıyla biyolojik parçalanma hızında düşüş gözlemlenmiştir.

Benzer şekilde, Dibble ve Bartha (1979) çalışmalarında petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanması için pH'nın uygun değerinin 5- 7.8 aralığında olduğunu rapor etmişlerdir.

Crews ve arkadaşlarının (1993) hidrokarbonların biyolojik parçalanması üzerine ortamda havalandırma, pH, azot – fosfor oranının etkisini inceledikleri bir biyoreaktör çalışmasında, pH 6- 6.3 değer aralığına getirildiğinde söz konusu oksijen alım hızındaki artış ile ilişkili

olarak, bu şartlarda (pH: 6- 6.3) mikroorganizmaların petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasını etkin şekilde gerçekleştirebildiklerini kaydetmişlerdir.

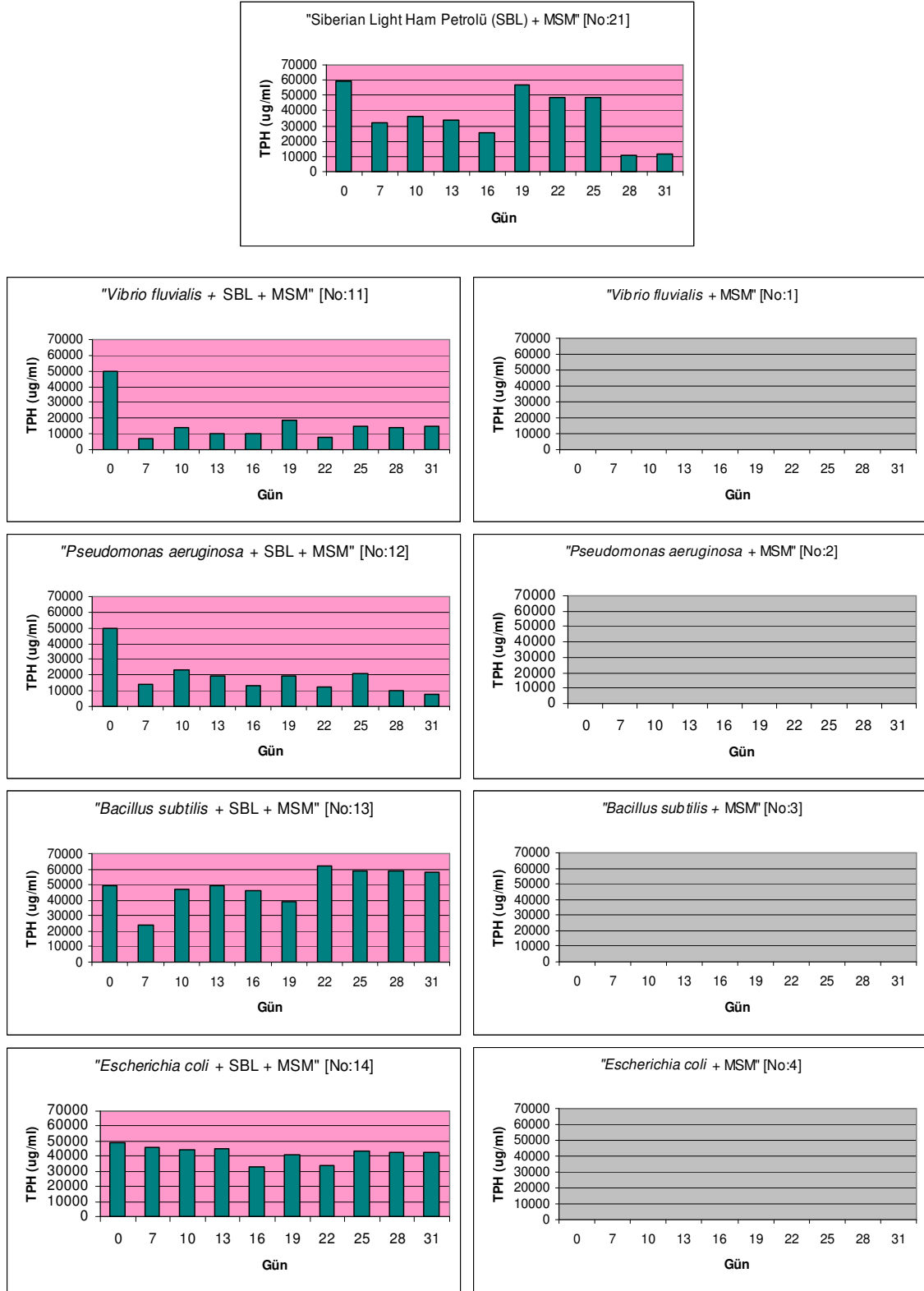
3.3. UVF Ölçümü

Deney düzeneğinin tüm numunelerinde yapılan UVF ölçümü ile belirlenen toplam petrol hidrokarbonu (TPH, µg/ml) konsantrasyonlarının zamana bağlı değişimi Şekil 7, 8 ve 9’da verilmiştir.

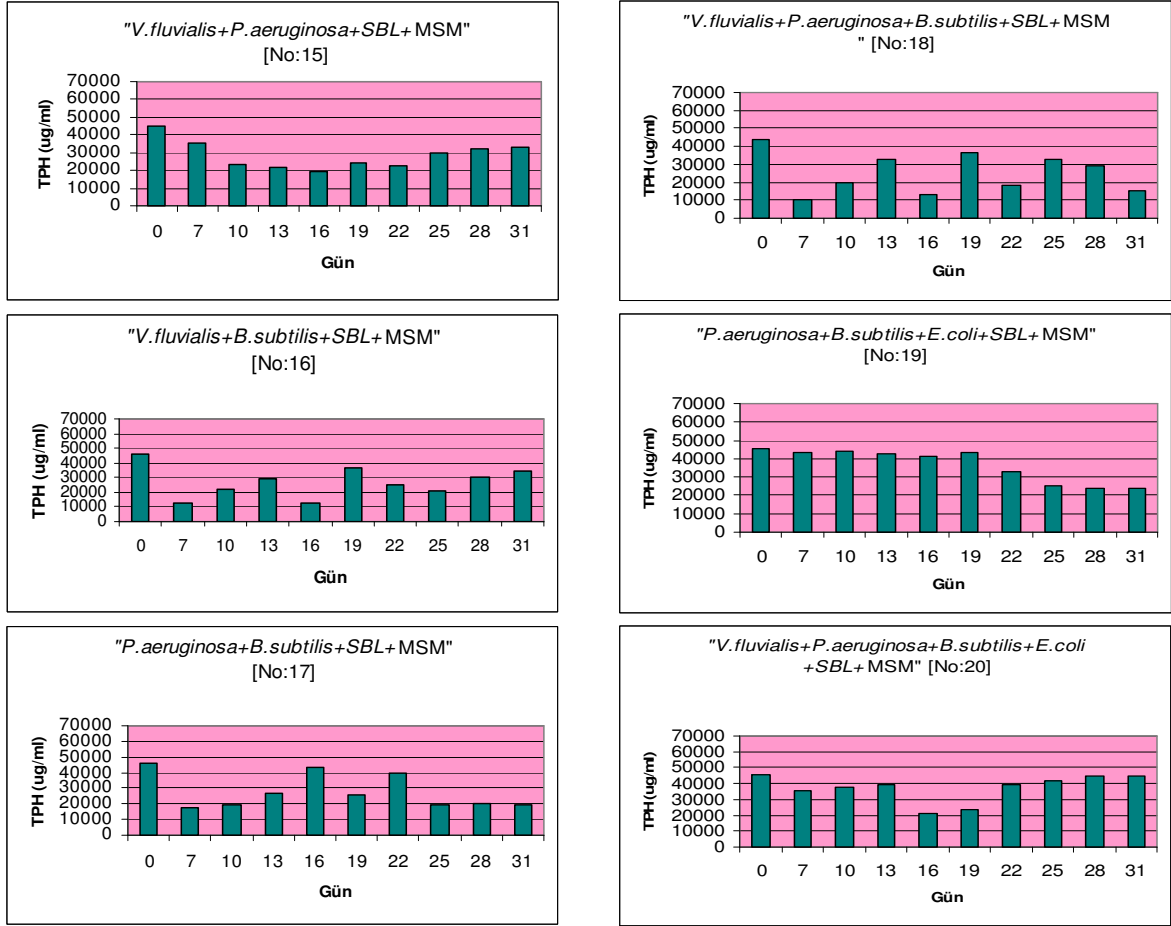
SBL ham petrolünün uygulanmadığı 1’den 10’a kadar numaralandırılmış tekli, ikili, üçlü ve dörtlü bakteri kültürü içeren kontrol setindeki UVF ölçümleri sonucunda numunelerde TPH konsantrasyonunun söz konusu olmadığı Şekil 7 ve 9’da görülmektedir.

31 günlük inkübasyon periyodu boyunca 12 nolu, *Pseudomonas aeruginosa*’nın yalnız başına bulunduğu ortam ile 11 nolu, *Vibrio fluvialis*’in yalnız başına olduğu ortamdaki TPH konsantrasyonlarının değişimleri birbirine benzer şekilde seyretmiştir. Bununla birlikte, 31. gündeki TPH konsantrasyonları kıyaslandığında 12 nolu numunenin TPH konsantrasyonu 11 nolu numuneye göre daha düşüktür. Yanı sıra, 11- 20 no aralığındaki SBL uygulanmış tekli, ikili, üçlü ve dörtlü bakteri kültürü içeren set içerisinde inkübasyon periyodunun sonunda TPH konsantrasyonunda en fazla azalma 12 nolu *Pseudomonas aeruginosa* numunesinde görülmektedir. 12 nolu bu numuneyi, 11 nolu *Vibrio fluvialis* izlemektedir.

Bundan sonra, *Vibrio fluvialis*+ *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis*’in bir arada bulunduğu ortam 18 ile *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis*’in birlikte olduğu 17 nolu numunenin son gündeki (31.gün) TPH konsantrasyonları karşılaştırıldığında; *Bacillus subtilis*’in varlığında *Vibrio fluvialis*+ *Pseudomonas aeruginosa*’nın, 17 nolu ortama kıyasla daha fazla TPH konsantrasyonu azalması meydana getirdiği görülmektedir. Bununla birlikte 17 nolu *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis* ortamı, 19 nolu *Escherichia coli*’nin de katıldığı *Pseudomonas aeruginosa*+ *Bacillus subtilis* ortamı (PBE) ile kıyaslandığında son günde (31.gün) daha az TPH konsantrasyonuna sahiptir.



Şekil 7. Deney düzeneğindeki numunelerde inkübasyon periyodu süresince UVF ölçümüne göre belirlenen toplam petrol hidrokarbonu (TPH, $\mu\text{g/ml}$) konsantrasyonları. (Numune No; 1-4, 11-14 ve 21)

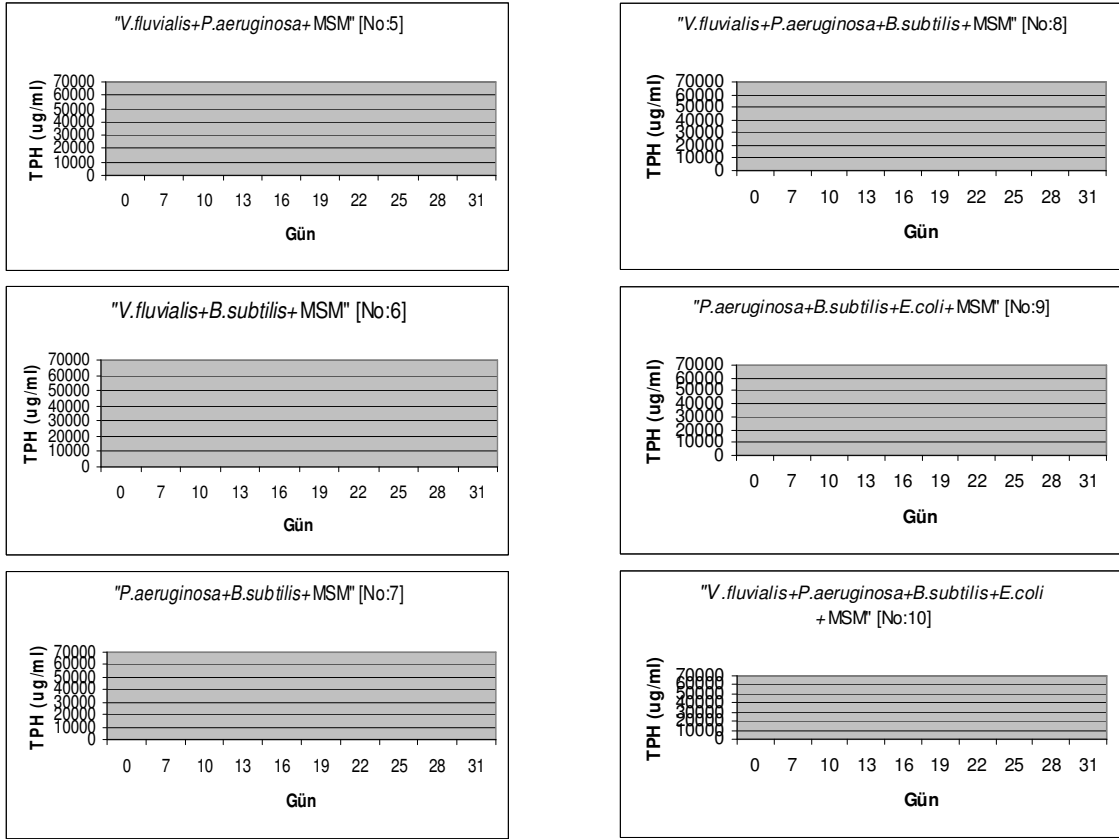


Şekil 8. Deney düzeneğindeki numunelerde inkübasyon periyodu süresince UVF ölçümüne göre belirlenen toplam petrol hidrokarbonu (TPH, µg/ml) konsantrasyonları. (Numune No; 15-20)

SBL uygulanmış 15 ve 16 nolu iki bakteri türü içeren *Vibrio fluvialis*+ *Pseudomonas aeruginosa* ve *Vibrio fluvialis*+ *Bacillus subtilis* numunelerine ait grafiklerde TPH konsantrasyonlarında benzer değişimler ortaya çıkmıştır.

Dört bakteri türü içeren karışık kültüre SBL uygulamasının yapıldığı 20 nolu numunede son güne (31.gün) ait yapılan UVF ölçümünde 44812 µg/ml değerinde yüksek bir TPH konsantrasyonu elde edilmiştir.

Tek başına *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*'nin bulunduğu SBL uygulanmış 13 ve 14 nolu ortamlarda ise TPH konsantrasyonunda belirgin bir azalma olmamıştır. 13 nolu örneğin TPH konsantrasyonunun değişimi grafiğinde, örneğin pH ölçümlerindeki durumuna benzer şekilde dalgalanmalar gözlenmiştir.



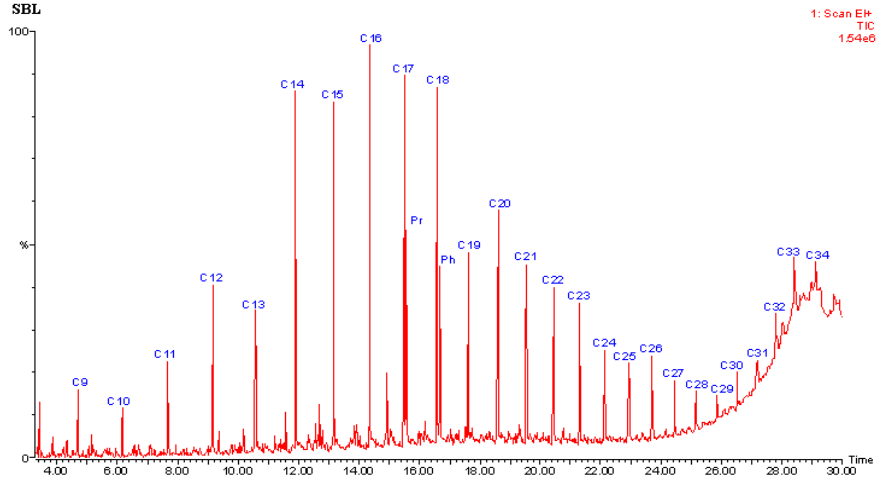
Şekil 9. Deney düzeneğindeki numunelerde inkübasyon periyodu süresince UVF ölçümüne göre belirlenen toplam petrol hidrokarbonu (TPH, $\mu\text{g/ml}$) konsantrasyonları. (Numune No; 5-10)

3.4. GC-MS Analizleri

Deney düzeneğindeki tüm numunelerin GC-MS analizlerinden elde edilen kromatogramları EK [4- 67]'de verilmiştir.

GC-MS analizlerinden elde edilen grafik görüntülere kromatogram denilmektedir. Şekil 10'da ele alınan örnek kromatogramda görüldüğü gibi, kromatogramın x eksenı boyunca cihazda farklı alıkönma zamanlarında sıralanan karbon dizisi yer almakta iken, y eksenı numune içeriğindeki bu karbonların yüzde (%) cinsinden miktarlarını ifade etmektedir.

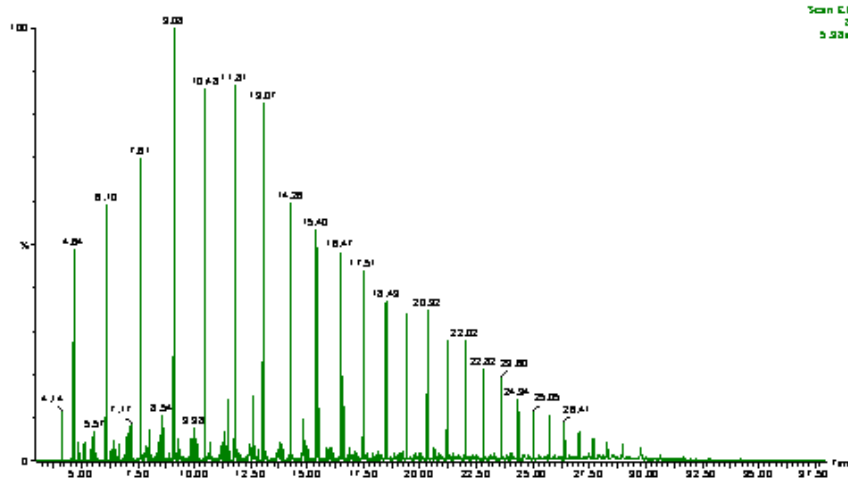
Aerobik biyolojik parçalanma çalışmasında, Siberian Light ham petrolünün uygulandığı ([11- 21] nolu ortamlar) ve uygulanmadığı ([1- 10] nolu ortamlar) tüm numuneler için GC-MS analizleri yapılmıştır.



Şekil 10. Siberian Light ham petrolüne ait toplam iyon kromatogramı (TIC)

SBL uygulanmayan kontrol setine ([1- 10] nolu ortamlar) ait toplam iyon kromatogramları EK [6- 25]'te verilmektedir, bu numunelerin genel içeriği çalışmanın başında da belirtildiği üzere 'bakteri+besiyeri' bileşimidir.

SBL uygulanan numuneler ([11- 21] nolu ortamlar) için ise GC-MS analizleri sonucunda elde edilen toplam iyon kromatogramlarının yanı sıra, m/z (kütle/değerlik) 85 iyonu kromatogramları da alınmıştır (EK 26- 67).



Şekil 11. Örnek bir m/z 85 iyonu kromatogramı

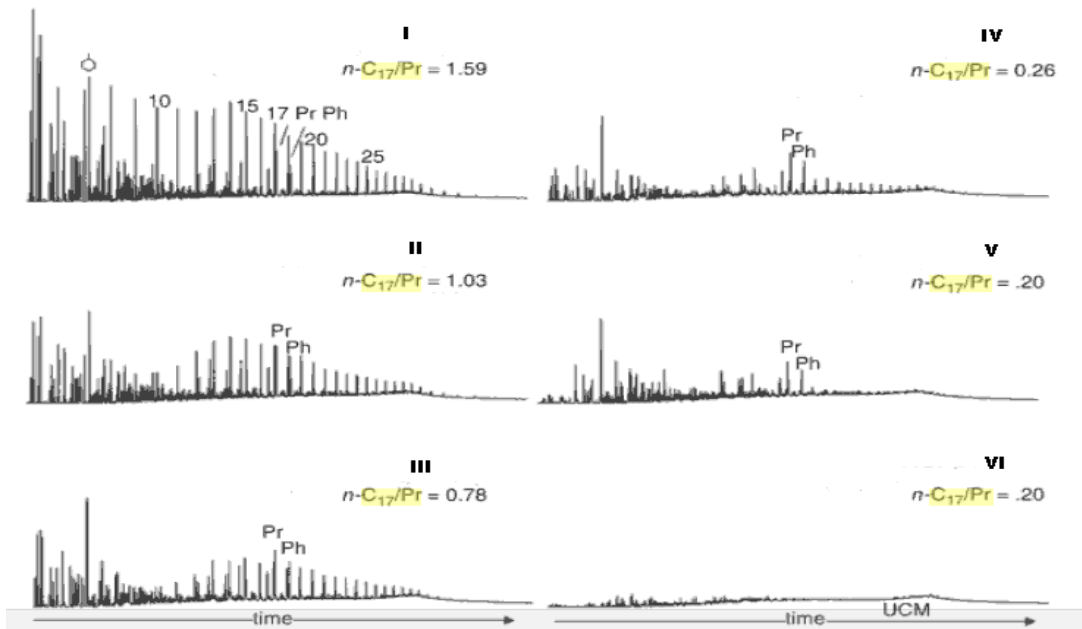
Alkanların karakteristik dizisini veren m/z 85 iyonu kromatogramlarında (Şekil 11), Siberian Light ham petrolünün bulunduğu ortamlarda petrol hidrokarbonlarının biyolojik

parçalanmasının izlenmesi amacıyla, C17/Pristane (C17/Pr) ve C18/Phytane (C18/Ph) isoprenoid oranları kullanılarak biyolojik parçalanma seviyeleri belirlenebilmektedir. Dallanmış asiklik isoprenoidler (Pristane ve Phytane), C17 ve C18'e göre biyolojik parçalanmaya daha dirençlidirler bu nedenle söz konusu bu iki orandaki (C17/Pr ve C18/Ph) azalma biyolojik parçalanmanın gerçekleştiğini göstermektedir. GC-MS cihazında pik alanlarının hesaplanması ile belirlenen C17/Pr ve C18/Ph isoprenoid oranları biyolojik parçalanabilirliğin bağıl seviyesi hakkında fikir vermek üzere kullanılmıştır.

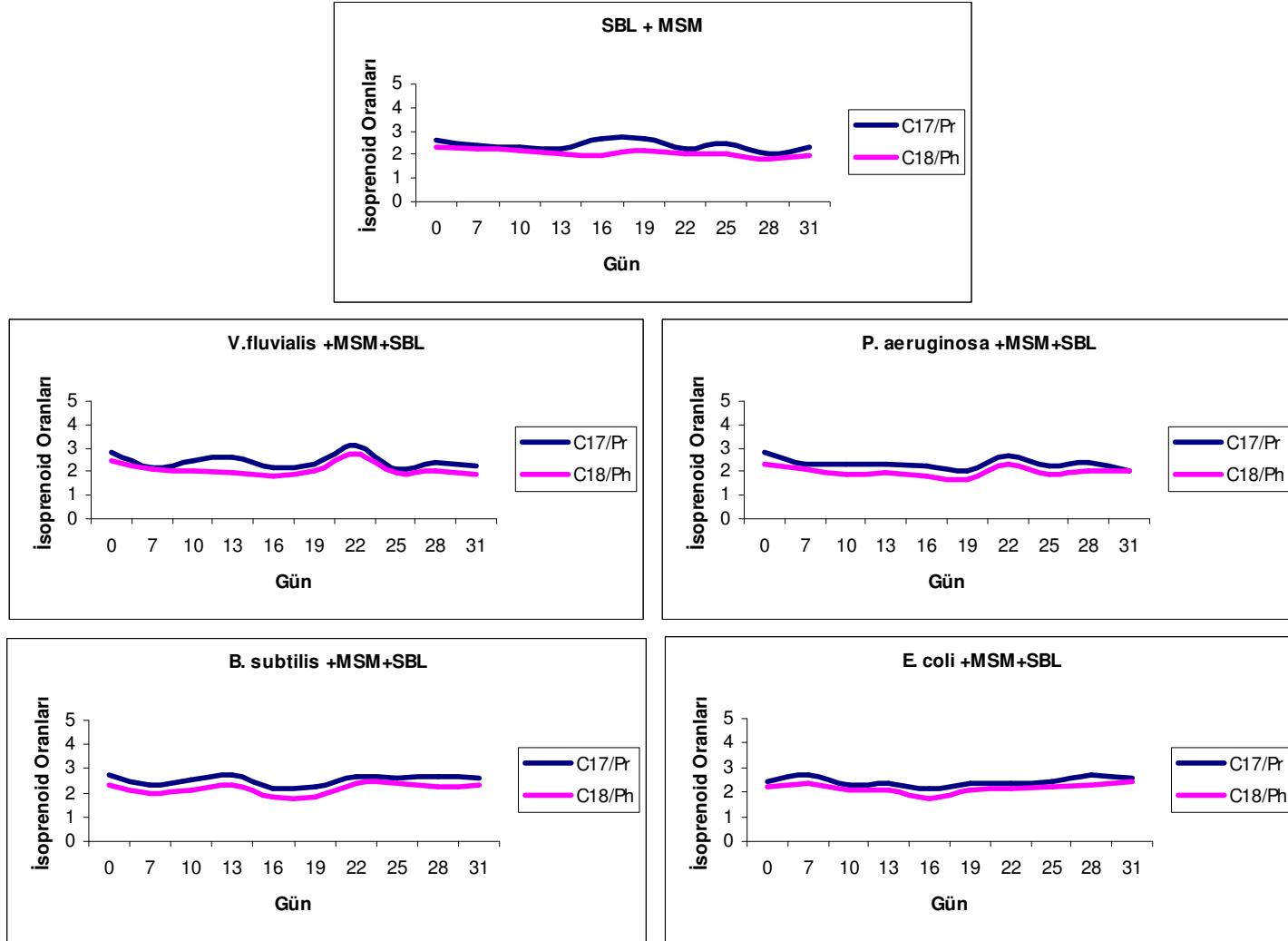
Şekil 13 ve 14'te de görüldüğü gibi, deney düzeneğindeki [11- 21] nolu numunelere ait C17/Pr ve C18/Ph isoprenoid oranları inkübasyon periyodu boyunca tüm numunelerde değişkenlik göstermektedir. Bu isoprenoid oranı grafiklerine göre başlangıçtaki ($t=0$) C17/Pr ve C18/Ph oranları 100 kabul edilerek Şekil [15- 26]'da görülen diyagramlar oluşturulmuştur.

Örnek olarak, Şekil 12'de Afrika ham petrolü için sırasıyla I-VI aralığında artan biyolojik parçalanma seviyelerini gösterir kromatogramlar dizilmiş ve C17/Pr oranındaki düşüş kayıtları birlikte verilmiştir (Wang ve Stout, 2006).

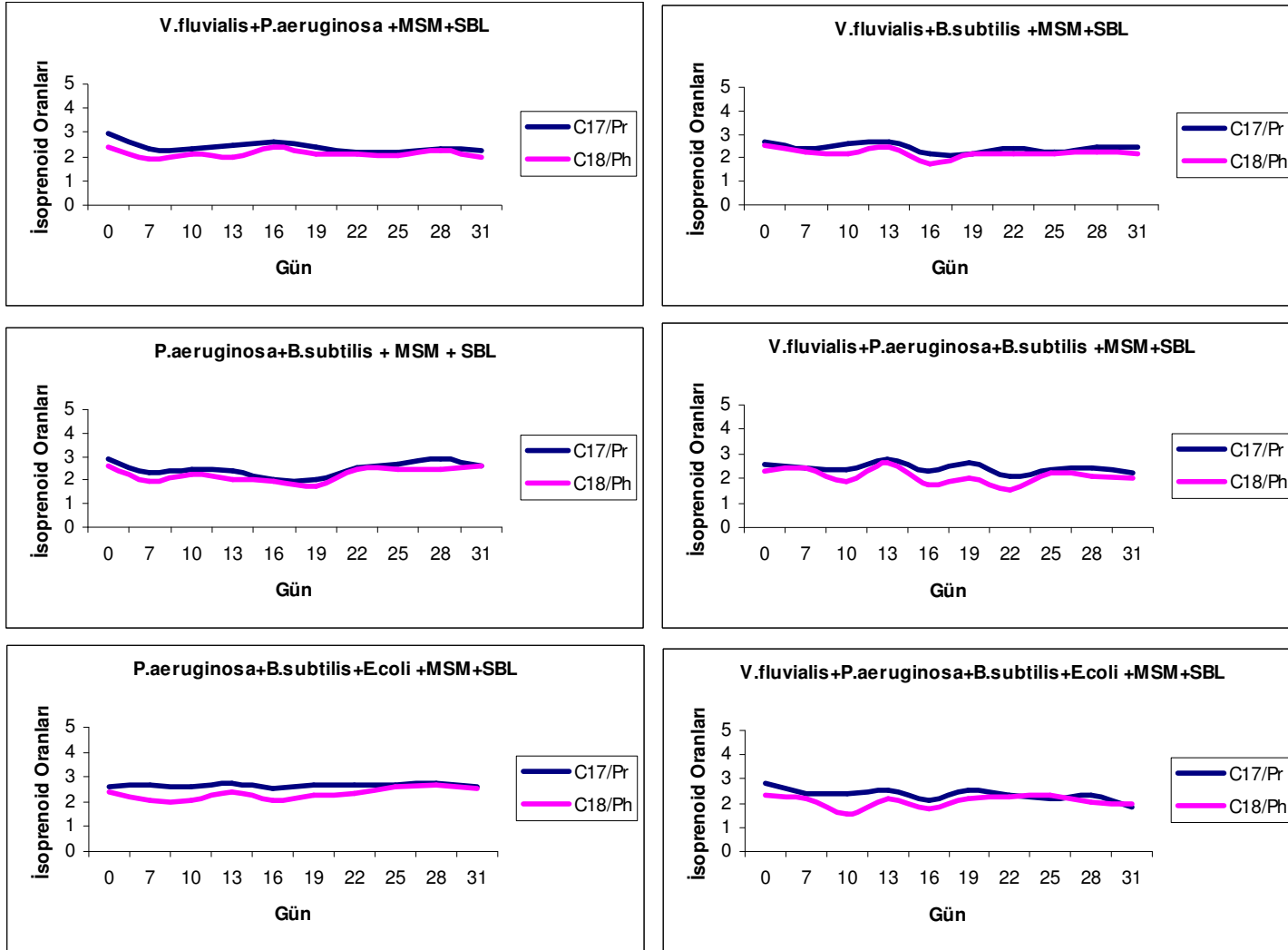
Dreau ve arkadaşları (1997) ise, Arabian Light ham petrolünü kullandıkları çalışmalarında isoprenoid oranı değerlendirmelerini yapmak yerine, petrol hidrokarbonlarının yapısındaki hopan fraksiyonunun izlemesini yapmayı tercih etmişlerdir.



Şekil 12. Afrika ham petrolü için I-VI numara sırasıyla artan biyolojik parçalanma seviyelerini gösterir kromatogramlar (Wang ve Stout, 2006)

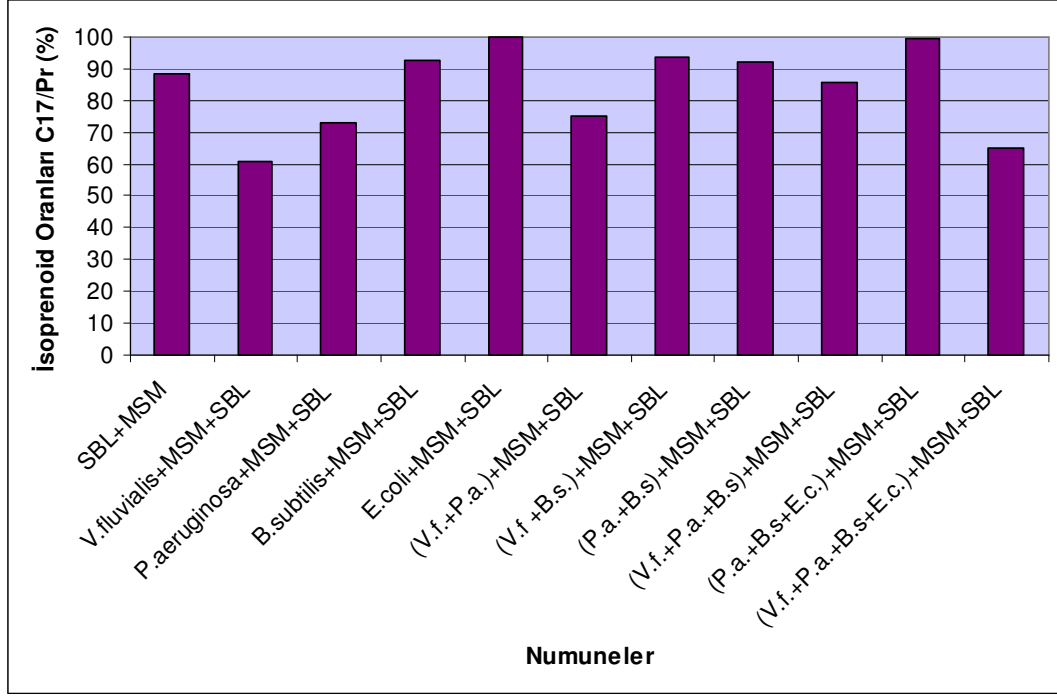


Şekil 13. İnkübasyon periyodu boyunca izlenen C17/Pr ve C18/Ph isoprenoid oranları. Pr, pristane; Ph, phytan.

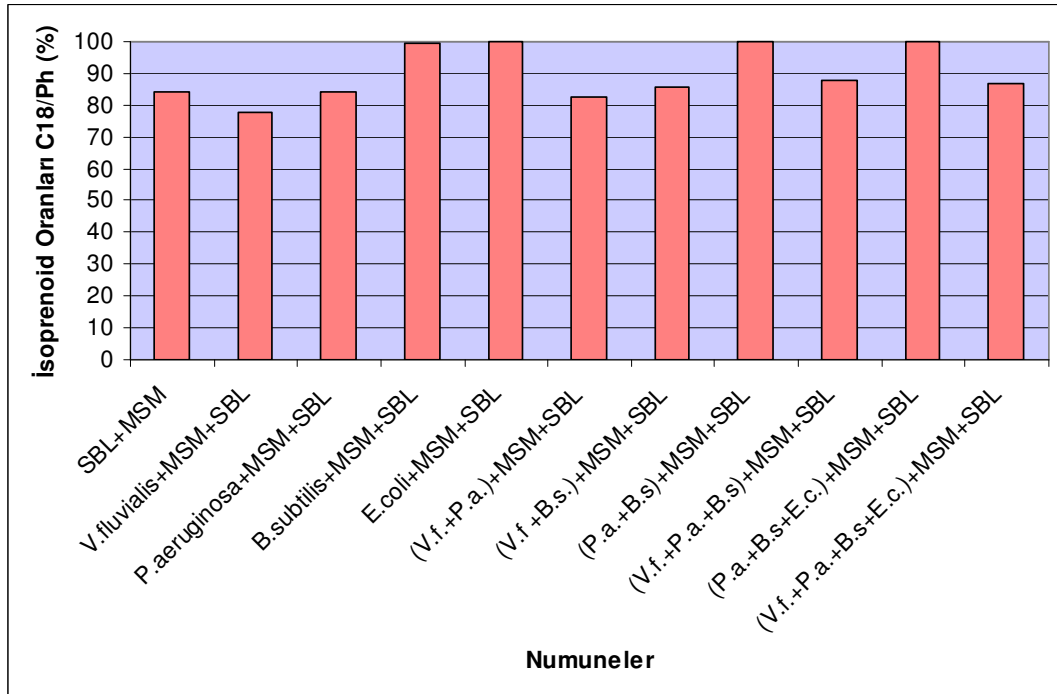


Şekil 14. İnkübasyon periyodu boyunca izlenen C17/Pr ve C18/Ph isoprenoid oranları. Pr, pristane; Ph, phytan.

Şekil 15 ve 16’da [11- 21] nolu ortamlar için inkübasyon periyodunun 31. gün (son gün) numunelerinde yüzde cinsinden C17/Pr (Şekil 15) ve C18/Ph (Şekil 16) değerleri yer almaktadır.



Şekil 15. İnkübasyon periyodunun 31. gününde numunelerin C17/Pr (%) isoprenoid oranları



Şekil 16. İnkübasyon periyodunun 31. gününde numunelerin C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Negatif kontrol olan 21 nolu SBL+MSM ortamının 31. gün numunesi için C17/Pr değeri %88,4 iken, C18/Ph: %84,2 değerini almıştır. 11 nolu *Vibrio fluvialis*+MSM+SBL'nin 31.gün numunesi ise C17/Pr: %60,7 ve C18/Ph: %77,7 olmak üzere belirtilen diğer tüm numuneler arasında başlangıçtaki isoprenoid oranlarına kıyasla sırasıyla %39,3 ve %22,3'lük en yüksek düşüşleri göstermiştir.

14 ve 19 nolu (*Escherichia coli*+MSM+SBL ve *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+*Escherichia coli*+MSM+SBL) ortamların 31.gün numunelerinin isoprenoid oranlarında başlangıç durumuna göre herhangi bir azalma meydana gelmemiştir.

Deney düzeneğinde 11, 12 ve 13 nolu tek bakteri türü içeren ortamlarda C17/Pr (%); *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* için sırasıyla %60,7; %73,2; %92,7 oranları söz konusu iken, C18/Ph (%) oranları sırasıyla %77,7; %84 ve %99,5 değerlerini almıştır.

15, 16 ve 17 nolu iki bakteri türü içeren ortamlara ait C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları ise sırasıyla;

Vibrio fluvialis+*Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL için %75,2 ve %82,6

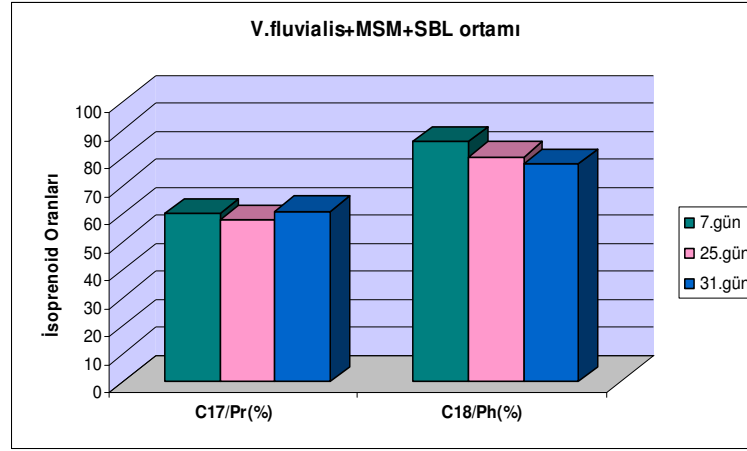
Vibrio fluvialis+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL için %93,6 ve %85,7

Pseudomonas aeruginosa+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL için %91,9 ve %100 (%100: İsooprenoid oranı başlangıç durumuna göre hiç azalmamıştır.)

Dört bakteri türü içeren 20 nolu *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+*Escherichia coli*+MSM+SBL ortamının isoprenoid oranlarındaki azalma ise üç bakteri türü içeren *Escherichia coli*'nin bulunmadığı *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamına göre daha yüksek olmuştur. C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları sırasıyla; 20 nolu ortam için: %65,1 ve %86,5; 18 nolu ortam için: %85,7 ve %87,8'dir.

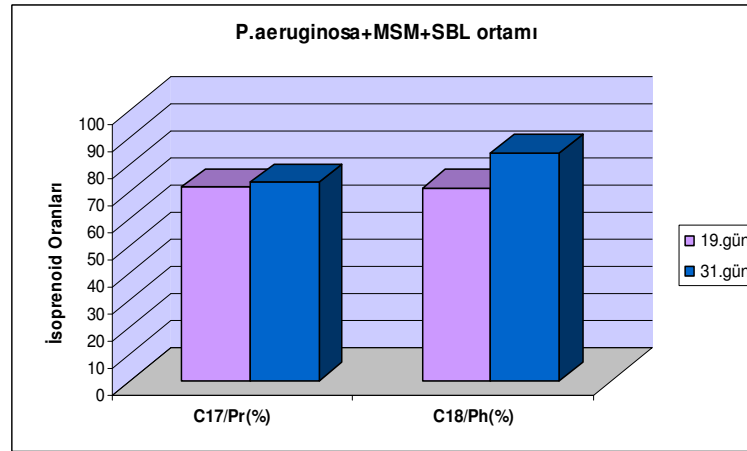
Dolayısıyla inkübasyon periyodunun sonunda C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları yardımıyla yapılan değerlendirmede; negatif kontrol olan SBL+MSM ortamında isoprenoid oranlarının aldığı değerlerin (C17/Pr: %88,4 ve C18/Ph: %84,2) her ikisinden de daha düşük % değerler alabilen 11 (*Vibrio fluvialis*+MSM+SBL), 12 (*Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL) ve 15 (*Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL) nolu ortamlarda biyolojik parçalanmanın iyi düzeyde gerçekleştiği görülmektedir.

Bununla birlikte Şekil 13 ve 14'te görüldüğü üzere inkübasyon periyodunun son gününden önceki günlerde de numunelerin isoprenoid oranlarında azalmalar olmuştur.



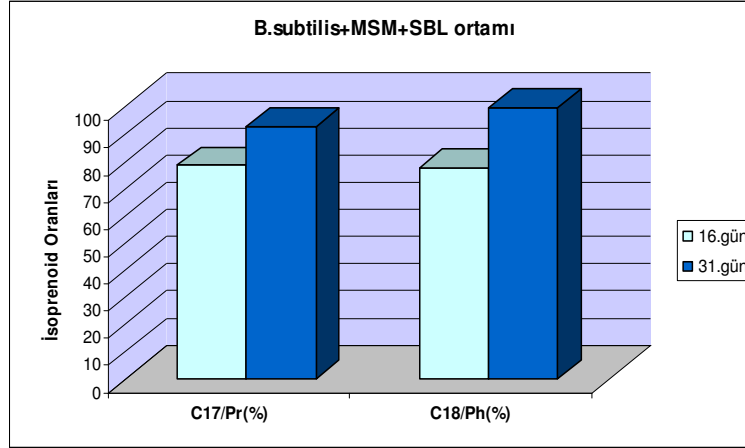
Şekil 17. 11 nolu *Vibrio fluvialis*+MSM+SBL ortamının 7., 25. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Örneğin Şekil 17'de *Vibrio fluvialis*+MSM+SBL ortamının 7. ve 25. gün numunelerinde C17/Pr (%) oranlarında 31. günde elde edilen isoprenoid oranı değerine yakınlık söz konusudur. Bu değerler sırasıyla; C17/Pr (%) için: 7. gün: %59,8; 25.gün: %57,6 ve 31.gün %60,7'dir. Ayrıca C18/Ph(%) için: 7. gün: %85,5; 25.gün: %80,2 ve 31.gün %77,7'dir.



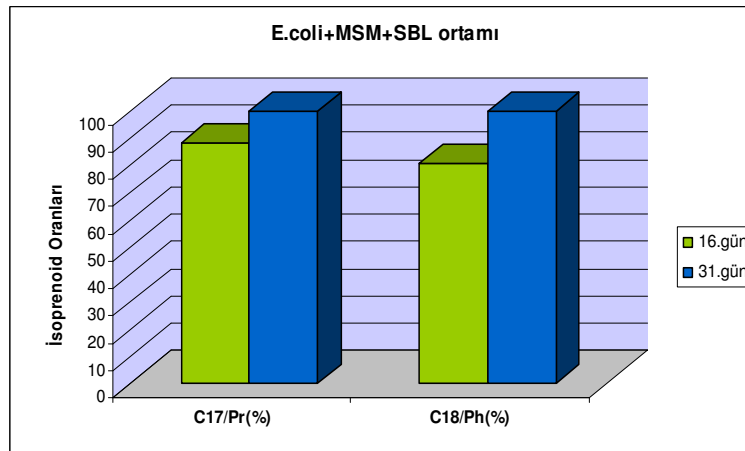
Şekil 18. 12 nolu *Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL ortamının 19. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr(%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Şekil 18’de *Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL ortamında C17/Pr (%) oranları 19. günde %71,4 ve 31. günde %73,2 iken, C18/Ph (%) oranları 19. ve 31. gün için sırasıyla %71 ve %84’tür.



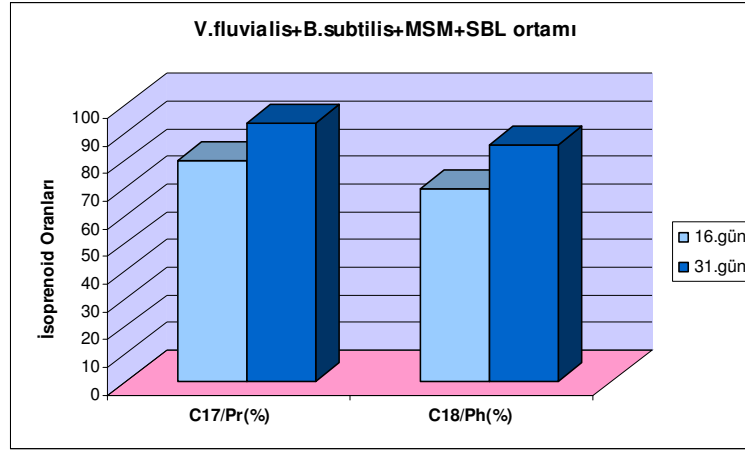
Şekil 19. 13 nolu *Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamının 16. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Şekil 19’da C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları *Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamı için sırasıyla 16.günde %78,3 ve %77,6; 31.günde %92,7 ve %99,5’tir.

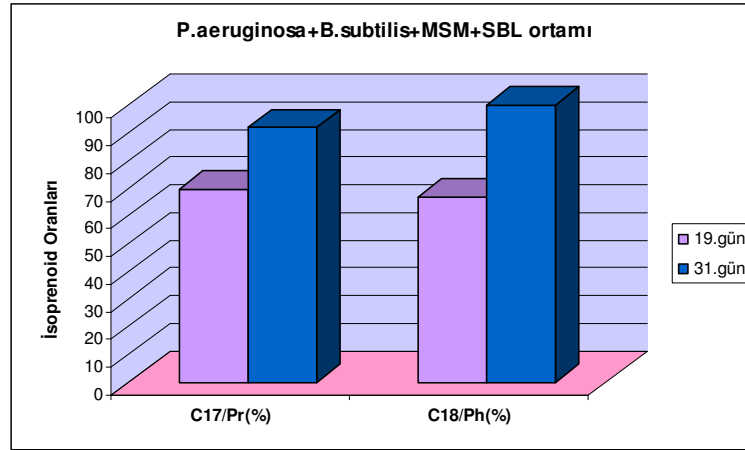


Şekil 20. 14 nolu *Escherichia coli*+MSM+SBL ortamının 16. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Escherichia coli+MSM+SBL ortamı için 31. günde isoprenoid oranlarında herhangi bir azalma söz konusu olmamakla birlikte bu ortamın 16. gün numunesinde C17/Pr: %88,4 ve C18/Ph: %80,8 değerlerini almıştır (Şekil 20).

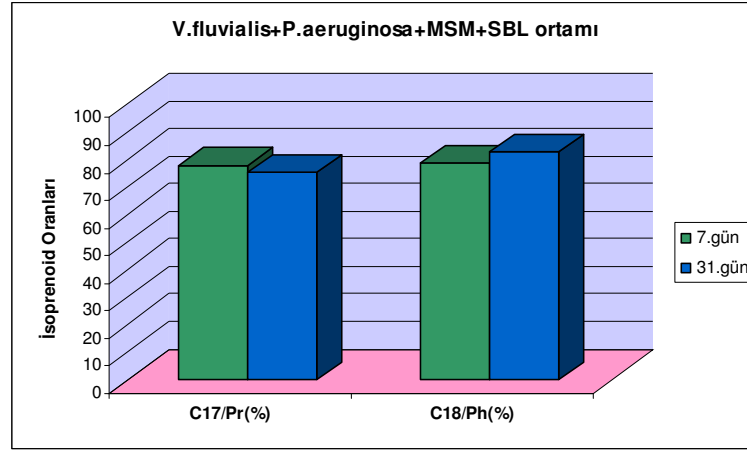


Şekil 21. 16 nolu *Vibrio fluvialis*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamının 16. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları



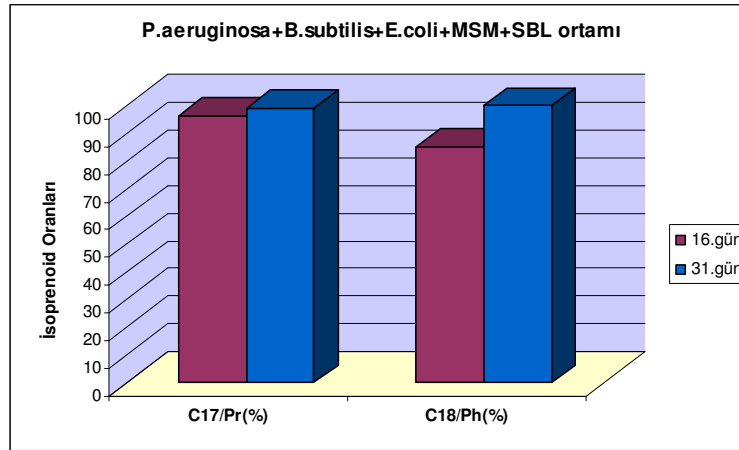
Şekil 22. 17 nolu *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamının 19. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Şekil 21 ve 22’de *Vibrio fluvialis*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamında 16. günde, *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamında 19. günde isoprenoid oranlarında azalma olduğu görülmüştür. C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) her numune için sırasıyla: *Vibrio fluvialis*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamı: 16.günde %80,1 ve %69,9; *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamı: 19. günde %69,6 ve %66,7 oranları bulunmaktadır.



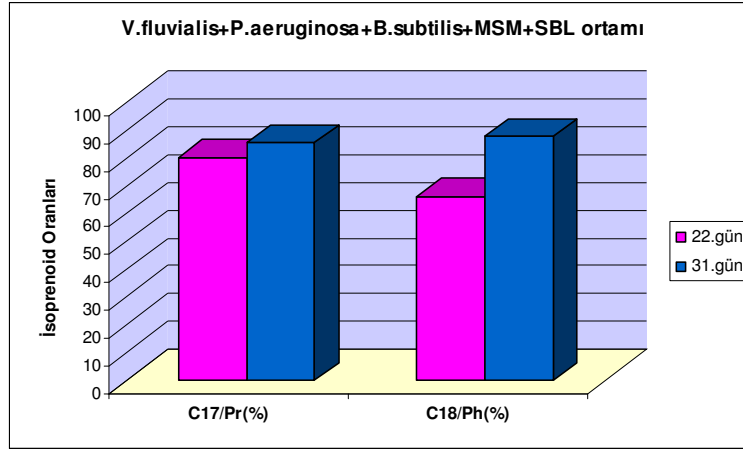
Şekil 23. 15 nolu *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL ortamının 7. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Bununla birlikte *Vibrio fluvialis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın birlikte olduğu 15 nolu ortamda 7.günde, 31.gündeki isoprenoid oranlarına oldukça yakın değerler elde edilmiştir (Şekil 23). C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları 7. ve 31. günler için sırasıyla: 7.gün %77,9 ve %78,8; 31.gün %75,2 ve %82,6'dır.

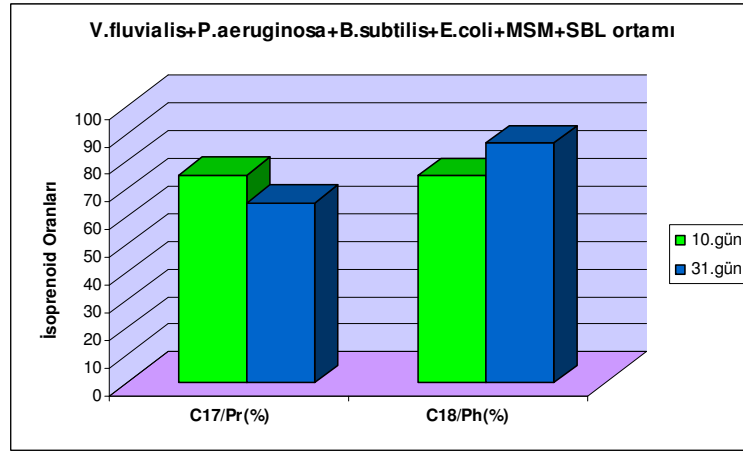


Şekil 24. 19 nolu *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+ *Escherichia coli*+MSM+SBL ortamının 16. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Üç bakteri kültürü içeren *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+*Escherichia coli*+MSM+SBL ortamında 16.gün numunesinde isoprenoid oranlarında çok az miktarda bir azalma görülmekle birlikte C17/Pr (%) oranı son gündeki değerine oldukça yakındır (Şekil 24). C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları 16. ve 31. günler için sırasıyla: 16.gün %96,5 ve %85,2; 31.gün %99,2 ve %100 (%100: İso-prenoid oranı başlangıç durumuna göre hiç azalmamıştır.).



Şekil 25. 18 nolu *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamının 22. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları



Şekil 26. 20 nolu *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+ *Escherichia coli*+MSM+SBL ortamının 10. ve 31. gün numunelerine ait C17/Pr (%), C18/Ph (%) isoprenoid oranları

Buna karşın *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+MSM+SBL ortamında (18 nolu ortam): C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları 22. ve 31. günler için sırasıyla: 22.gün %80,2 ve %66,2; 31.gün %85,7 ve %87,8'dir. Bu oranlar dikkate alındığında, isoprenoid oranlarında 22. gündeki azalmanın daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 25). *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+ *Escherichia coli*+MSM+SBL ortamında ise hem 10. gün, hem 31.günde 18 nolu ortama kıyasla C17/Pr (%) oranında daha fazla azalma meydana gelmiştir. C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları 10. ve 31. günler için sırasıyla: 10.gün %75,1 ve %74,8 ; 31.gün %65,1 ve %86,5'dir (Şekil 26).

4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Doğanın kendini yenileme ve iyileştirme yeteneğinin üzerindeki seviyelerde kirletici maddelerle karşılaşması sonucu kirlenme meydana gelmektedir. Petrol ve petrol türevleri sebebiyle ortaya çıkan hidrokarbon kirliliği; doğal sızıntılar, rafineri ve petrokimya tesislerinde üretim-işleme, petrol arama-çıkarma çalışmaları, taşımacılık ve tanker kazaları kaynaklı pek çok yolla ekosisteme zarar vermektedir.

Petrol dökülmelerine müdahale çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Petrol hidrokarbonlarıyla kirlenmiş ortamlardan alınan petrol döküntüleri için kirlenme aşamalarına göre uygulanan ayırma, uzaklaştırma ve geri kazanma yöntemlerinden farklı olarak mikroorganizmaların petrol hidrokarbonlarıyla kirlenmiş ortamlara eklenmesiyle harekete geçen biyolojik parçalanma mekanizmalarından da yararlanılmaktadır.

Petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanması, önce alifatik kısmın ve düşük moleküler ağırlıklı aromatiklerin, sonra yüksek moleküler ağırlıklı aromatiklerin yıkımı şeklinde gerçekleşmektedir, yağ molekülleri bakterilerin ekzoenzimleri yardımıyla hidrolize uğramaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında; *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* bakterileri ve bu bakterilerin karışık kültürleri kullanılarak Siberian Light ham petrolünün biyolojik parçalanması araştırılmıştır.

Deneyde kullanılan bakterilere ait optik yoğunluk ölçümlerine göre (600 nm’de) bakterilerin (*Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) 7.saatte logaritmik gelişme evresinde oldukları tespit edilmiştir. Mikroorganizmaların bu evrede hızlı çoğalma içinde olması ve hücre ölümlerinin yeni hücre oluşumu ile kıyaslandığında son derece az görülmesi nedeniyle, uygulama aşamasında bakteriler, en aktif oldukları bu çoğalma evresinde çalışma düzeneğine katılmıştır.

Deneyin uygulama aşaması sonrası numune alımını izleyen pH ölçümü ve ekstraksiyon işleminin ardından, numunelerin ultraviyole florespektrofotometre cihazında toplam petrol hidrokarbonu konsantrasyonları ölçülmüş ve bu ölçümler gaz kromatografi kütle spektrometre (GC-MS) cihazında yapılan hidrokarbon analizleriyle desteklenmiştir.

Tüm numunelerde toplam petrol hidrokarbonu (TPH) konsantrasyonlarının dağılımı inkübasyon periyodu boyunca değişkenlik göstermiştir.

GC-MS analizlerinden elde edilen, alkanların karakteristik dizisini veren m/z (kütle/değerlik) 85 iyonu kromatogramlarında, Siberian Light ham petrolünün bulunduğu ortamlarda petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasının izlenmesi amacıyla,

- C17/Pristane (C17/Pr) ve
- C18/Phytane (C18/Ph)

isoprenoid oranları kullanılarak biyolojik parçalanma seviyeleri belirlenebilmektedir. Dallanmış asiklik isoprenoidler (Pristane ve Phytane), C17 ve C18'e göre biyolojik parçalanmaya daha dirençlidirler bu nedenle söz konusu bu iki orandaki (C17/Pr ve C18/Ph) azalma biyolojik parçalanmanın gerçekleştiğini göstermektedir. GC-MS cihazında pik alanlarının hesaplanması ile belirlenen C17/Pr ve C18/Ph isoprenoid oranları biyolojik parçalanabilirliğin bağıl seviyesi hakkında fikir vermek üzere kullanılmıştır.

İnkübasyon periyodunun sonunda C17/Pr (%) ve C18/Ph (%) oranları yardımıyla yapılan değerlendirmede; isoprenoid oranlarında en fazla azalma:

- *Vibrio fluvialis* +Mineral Salt Medium ('MSM' besiyeri)+Siberian Light Ham Petrolü (SBL)
 - *Pseudomonas aeruginosa* + MSM + SBL
 - *Vibrio fluvialis* + *Pseudomonas aeruginosa* + MSM + SBL
- ortamlarında görülmüştür.

Bacillus subtilis +MSM+SBL ve *Escherichia coli* +MSM+SBL ortamları için ise inkübasyon periyodunun 16. gününde isoprenoid oranlarında düşüş söz konusudur. 16. gün sonrasında bu bakteriler için isoprenoid oranlarında belirgin bir düşüş elde edilememiştir. Dolayısıyla *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerinin belli oranlarda biyolojik parçalama düzeyine 16 günlük inkübasyon sürecinde erişebildikleri tespit edilmiştir. (16. günde; *Bacillus subtilis*'in bulunduğu ortamda C17/Pr: %78,3 ve C18/Ph: %77,6 iken *Escherichia coli*'nin bulunduğu ortamda isoprenoid oranları C17/Pr: %88,4 ve C18/Ph: %80,8 değerlerini almıştır.)

Ayrıca, *Vibrio fluvialis*'in bulunmadığı *Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+*Escherichia coli* +MSM+SBL ortamında inkübasyon periyodu boyunca isoprenoid oranlarında çok az miktarlarda azalmalar görülebiliyorken, *Vibrio fluvialis*+*Pseudomonas aeruginosa*+*Bacillus subtilis*+*Escherichia coli* +MSM+SBL içeren *Vibrio fluvialis*'in

katıldığı karışık kültür ortamında 10 günlük inkübasyon sürecinde C17/Pr: %75,1 ve C18/Ph: %74,8 değerleri ile biyolojik parçalama yeteneğinde artış elde edilebildiği görülmüştür.

Deney süresince yapılan pH ölçümlerinde elde edilen pH değerleri biyokimyasal sürece katılan bakteri ve ortama göre değişkenlik göstermiştir. Çalışma düzeneğinde hazırlanan tüm ortamlar için yapılan pH ölçümlerinde biyolojik parçalanmayı en iyi düzeyde gerçekleştiren *Vibrio fluvialis* +MSM+SBL, *Pseudomonas aeruginosa* +MSM+SBL ve *Vibrio fluvialis* + *Pseudomonas aeruginosa* +MSM+SBL ortamlarında inkübasyon periyodunun 13. gününden itibaren kararlı şekilde pH'nın 6 değerinde seyrettiği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak;

- Bakterilerin logaritmik gelişme evresinde olduklarının belirlendiği inkübasyon periyodu sonunda çalışma düzeneğine katılmaları,
- Siberian Light ham petrolünün biyolojik parçalanmasında, hazırlanan diğer ortamlara kıyasla deney süresi boyunca başarı gösteren *Vibrio fluvialis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinin kullanımı,
- *Vibrio fluvialis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine göre Siberian Light ham petrolünün biyolojik parçalanmasına daha az katkısı olan *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerinin kullanımı durumunda ortamda 16 gün süreyle inkübe edilmeleri,
- Karışık kültür olarak hazırlanan ortamlar arasında Siberian Light ham petrolünün biyolojik parçalanmasını iyi düzeyde gerçekleştirebilen *Vibrio fluvialis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın birlikte olduğu ortamın kullanımı,
- *Vibrio fluvialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli*'nin birlikte bulunduğu karışık kültür ortamının Siberian Light ham petrolü ile 10 gün inkübasyon süresi için kullanımı

önerilmektedir.

Petrol ve petrol türevlerinin sebep olduğu hidrokarbon kirliliklerinin giderimi için biyolojik iyileştirme yönünde çevre biyoteknolojisi uygulamalarının önemli bir adım olduğu görülmüştür. Mikroorganizmalar yardımıyla petrol hidrokarbonlarının biyolojik parçalanmasına yönelik bu gibi çalışmaların yanı sıra deniz ortamında kirlenmiş sedimentte hidrokarbon kirliliklerinin yerinde arıtımı konusu da oldukça önemlidir ve biyolojik metotların araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Aldrett S., Bonner J.S., Mills M.A., Autenrieth R.L., Stephens F.L., (1997) "Microbial degradation of crude oil in marine environments tested in a flask experiment" *Water Research* 31, 2840-2848.

Aras O.N., (2000) "Petrol Üretiminin Deniz Kirliliğine Etkisi ve Kontrolü" Qafqaz Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Azerbaycan.

Arda M., (2000) "Temel Mikrobiyoloji" Medisan Yayın Serisi, Genişletilmiş İkinci Baskı No:46, Ankara.

Atlas R.M., Bartha R., (1973) "Fate and effects of polluting petroleum in the marine environment", *Residue Review* 49, 49-83.

Atlas R.M., (1981) "Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective" *Microbial Rev.*, Vol. 45, 180–209.

Boopathy R., (2000) "Factors limiting bioremediation technologies", *Bioresource Technology* 74, 63-67.

Caldwell, M.E., Garrett, R.M., Prince, R.C., Suflita, J.M., (1998) "Anaerobic biodegradation of long-chain n-alkanes under sulfatereducing conditions" *Environ. Sci. Technol.* 32, 2191–2195.

Crews, Bonny, Malachosky, Edward, ARCO E and P Technology; Hinman, L.D., ARCO Oil and Gas Co. (1993) "The Effect of pH on Microbial Degradation of Oil-Based Drilling Mud in a Slurry-Phase Bioreactor" SPE/EPA Exploration and Production Environmental Conference, 7-10 March 1993, San Antonio, Texas.

Coates, J.D., Woodward, J., Allen, J., Philip, P., Lovley, D.R., (1997) "Anaerobic degradation of polycyclic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbour sediments" *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3589–3593.

Connan J., (1984) "Biodegradation of crude oils in reservoirs, in: J. Brooks, D.H. Welte (Eds.)", *Advances in Petroleum Geochemistry*, Academic Press, London, 299–330.

Cybulski Z., Dziurla E., Kaczorek E., Olszanowski A., (2003) "The influence of emulsifiers on hydrocarbon biodegradation by Pseudomonadacea and Bacillacea strains", *Spill Science and Technology Bulletin*, Vol. 8, No. 5–6, 503–507.

Del'Arco J. P., França F.P., (2001) "Influence of oil contamination levels on hydrocarbon biodegradation in sandy sediment" *Environmental Pollution* 110, 515-519.

Delille D., Bassh A., Dessommes A., Rosiers C., (1998) "Influence of Daylight on Potential Biodegradation Crude Oil in Antarctic Seawater of Diesel and Marine Environmental Research, Vol. 45, No. 3, 249-258.

Demir İ. ve Demirbağ Z., (1999) "Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Biyolojik Olarak Parçalanması" *Tr. J. of Biology* 23 (1999) 293–302.

Dibble, J. T., Bartha R., (1979) "Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge" Appl. Environ. Microbiol. 37, 729-739.

Erakın S., (2005) "Deniz Alglerinde Petrol Kirliliği", Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enstitüsü.

Freijer J.I., de Jonge H., Verstraten J.M., Westerveld J., Van Der Wielen F.W.M., (1997) "Relation between bioavailability and fuel oil hydrocarbon composition in contaminated soils", Environmental Science and Technology 31, 771-775.

Foght, J.M., Westlake, D.W.S., (1987) "Biodegradation of hydrocarbons in freshwater. In: Vandermeulen, J.H., Hrudey, S.E. (Eds.), Oilin Freshwater: Chemistry, Biology, Countermeasure Technology. Pergamon Press, New York, 217-230.

Hadibarata T., Tachibana S., Itoh K., (2009) "Biodegradation of chrysene, an aromatic hydrocarbon by *Polyporus* sp. S133 in liquid medium" Journal of Hazardous Materials 164, 911-917.

Le Dréau Y., Gilbert F., Doumenq P., Asia L., Bertrand J.C., Mille G., (1997) "The use of hopanes to track in situ variations in petroleum composition in surface sediments" Chemosphere, Vol.34, Issue 8, 1663-1672.

Leahy, J.G., Colwell, R.R., (1990) "Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment" Microb. Rev. 53 (3), 305-315.

Liguori L., Heggstad K., Hove H.T., Julshamn K., (2006) "An automated extraction approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes", Analytica Chimica Acta 573-574, 181-188.

Maki H., Hirayama N., Hiwatari T., Kohata K., Uchiyama H., Watanabe M., Yamasaki F., Furuki M., (2003) "Crude oil bioremediation field experiment in the Sea of Japan", Marine Pollution Bulletin 47, 74-77.

Nikolopoulou M., Pasadakis N., Kalogerakis N., (2007) "Enhanced bioremediation of crude oil utilizing lipophilic fertilizers" Desalination 211, 286-295.

Olivera N.L., Esteves J.L., Commendatore M.G., (1997) "Alkane Biodegradation by a Microbial Community from Contaminated Sediments in Patagonia, Argentina" *International Biodeterioration and Biodegradation*, Vol. 40, No. 1, 75-79.

OPRC, (1990) " Petrol Kirliliğine Karşı Hazırlıklı Olma, Müdahale ve İşbirliği ile İlgili Uluslar arası Sözleşme "

Prabhu Y. ve Phale P.S., (2003) "Biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas* sp. strain PP2: novel metabolic pathway, role of biosurfactant and cell surface hydrophobicity in hydrocarbon assimilation", Appl. Microbiol. Biotechnol. 61, 342-351.

Reisfeld A., Rosenberg E. ve Gutnick D., (1972) "Microbial degradation of crude oil: Factors affecting the dispersion in sea water by mixed and pure cultures" Appl. Microbiol., Vol. 24, pp. 363-368.

Rosenberg E., Legmann R., Kushmaro A., Taube R., Adler E., Ron E.Z., (1992) "Petroleum bioremediation- a multiphase problem", *Biodegradation* 3, 337-350.

Rosenberg, E., Ron, E.Z., (1996) "Bioremediation of petroleum contamination" In: Crawford, R.L., Crawford, D.L. (Eds.), *Bioremediation: Principles and Applications*. Cambridge University Press, UK, 100-124.

Röling W., Head I.M., Larter R., (2003) "The microbiology of hydrocarbon degradation in subsurface petroleum reservoirs: perspectives and prospects", *Research in Microbiology* 154, 321-328.

Swannell R.P.J., Lee K., McDonagh M., (1996) "Field evaluations of marine oil spill bioremediation" *Microbiological Reviews* 60, 342-365.

Speight J.G., (2006) "The Chemistry and Technology of Petroleum", CRC Press, fourth edition.

Talınlı İ. ve Sarıöz K., (2002) "Marmara Kıyı Alanında Petrol Dökülmesine Bağlı Çevresel Hasar Değerlendirmesi: Volgoneft-248 Kazası" Türkiye Kıyıları '02 – Konferansı, İzmir.

TÜBİTAK, MAM- KÇE, (2005) "Kara Kökenli Kirleticilere İlişkin Ulusal Eylem Planı-Türkiye" Cilt 1 (Proje kodu 505G210), Gebze, Kocaeli.

TÜBİTAK, MAM- KÇE, (2005) "Kara Kökenli Kirleticilere İlişkin Ulusal Eylem Planı-Türkiye" EK II (Proje kodu 505G210), Gebze, Kocaeli.

Tüysüz O., (2008) "Petrol Jeolojisi Ders Notları", İstanbul Teknik Üniversitesi, Avrasya Yer Bilimleri Enstitüsü.

Uluğ E., (1997) "Çevre Kirlenmesinin Boyutları", İnsan Çevre Toplum, (Hız.) Keleş R., İmge Kitabevi, 41-49, Ankara.

Uysal A., (2006) "Ham Petrol Fraksiyonlarının Biyolojik Bozunma Sonrası Fizikokimyasal Özelliklerinin Değişimi", Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ünsan, Y. (1999) "Denizden Yağ Toplama Teknikleri ve Yeni Geliştirilen Bir Yöntem", Gemi İnşaatı ve Deniz Teknolojisi Teknik Kongresi'99, Bildiri Kitabı, Yapım Matbaacılık, İstanbul.

Üstün Kurnaz S. ve Büyükgüngör H., (2007) "Kızılırmak Deltası Kıyı Şeridinde Su ve Midye Örneklerinde PAH Kirliliğinin Araştırılması" İTÜ Dergisi, Su Kirlenmesi Kontrolü, Cilt:17, Sayı:2, 15-22.

Vasudevan N., Rajaram P., (2001) "Bioremediation of oil sludge-contaminated soil", *Environment International* 26, 409-411.

Venosa A.D., Zhu X., (2003) "Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands", *Spill Science & Technology Bulletin*, Vol. 8, No. 2, 163-178.

Verstraete W., Vanlooocke R., DeBorger R., Verlinde A., (1976) "Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsaturated soil layers" In J. M. Sharpley and A. M. Kaplan (ed.), Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium" Applied Science Publishers Ltd., London. 99-112.

Wang Z., Stout S.A., (2006) "Oil Spill Environmental Forensics: Fingerprinting and Source Identification", Academic Press.

Ward, D. M., and T. D. Brock. (1978) "Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments" Appl. Environ. Microbiol. 35:353-359.

Widdel F., Rabus R., (2001) "Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons" Current Opinion in Biotechnology, Volume 12, Issue 3, 1 June 2001, 259-276.

http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium252.pdf

http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium84.pdf

[http://ekutup.dpt.gov.tr/DPT,\(1996\)](http://ekutup.dpt.gov.tr/DPT,(1996)) "Madencilik Özel İhtisas Komisyonu Enerji Hammaddeleri Alt Komisyonu: Petrol ve Doğalgaz Çalışma Grubu Raporu" 105s.(DPT.2447-öiK.504) ISBN: 975-19-1394-2, Ankara.

[http://ekutup.dpt.gov.tr/DPT,\(2007\)](http://ekutup.dpt.gov.tr/DPT,(2007)) "Dokuzuncu Kalkınma Planı: Madencilik Özel İhtisas Komisyonu Raporu." 192s.(DPT.2739-ÖİK.690) ISBN: 978- 975-19-4168-8, Ankara.

<http://www.lukoil.com.tr>

<http://www.pigm.gov.tr>

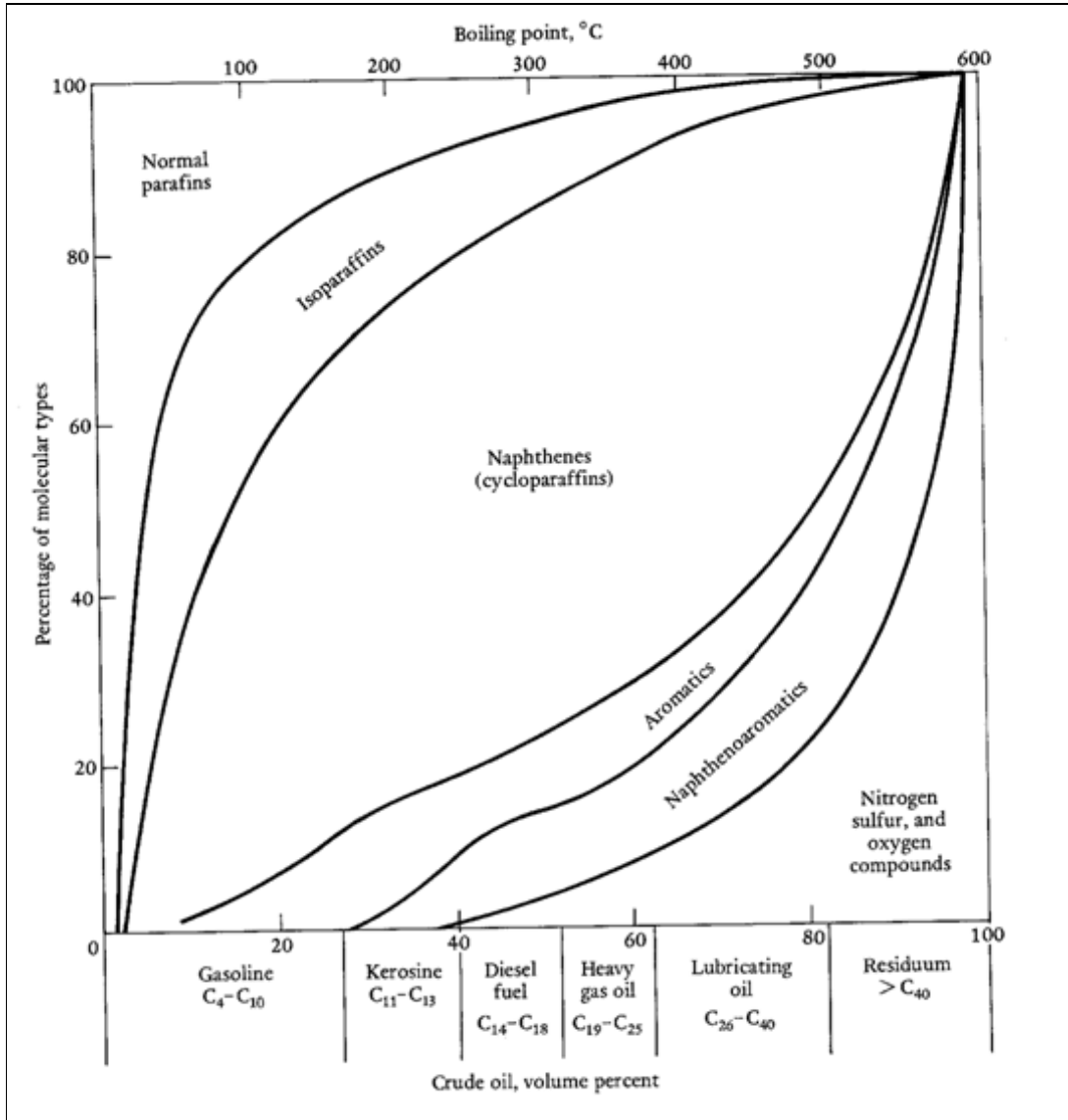
<http://www.tupras.com.tr>

<http://www.ulasim2023.org/Yönsel F.,> "Deniz Ulaşımı ve Deniz Kirliliği", İstanbul Teknik Üniversitesi, Gemi İnşaatı ve Deniz Bilimleri Fakültesi, Deniz Teknolojisi Mühendisliği Bölümü.

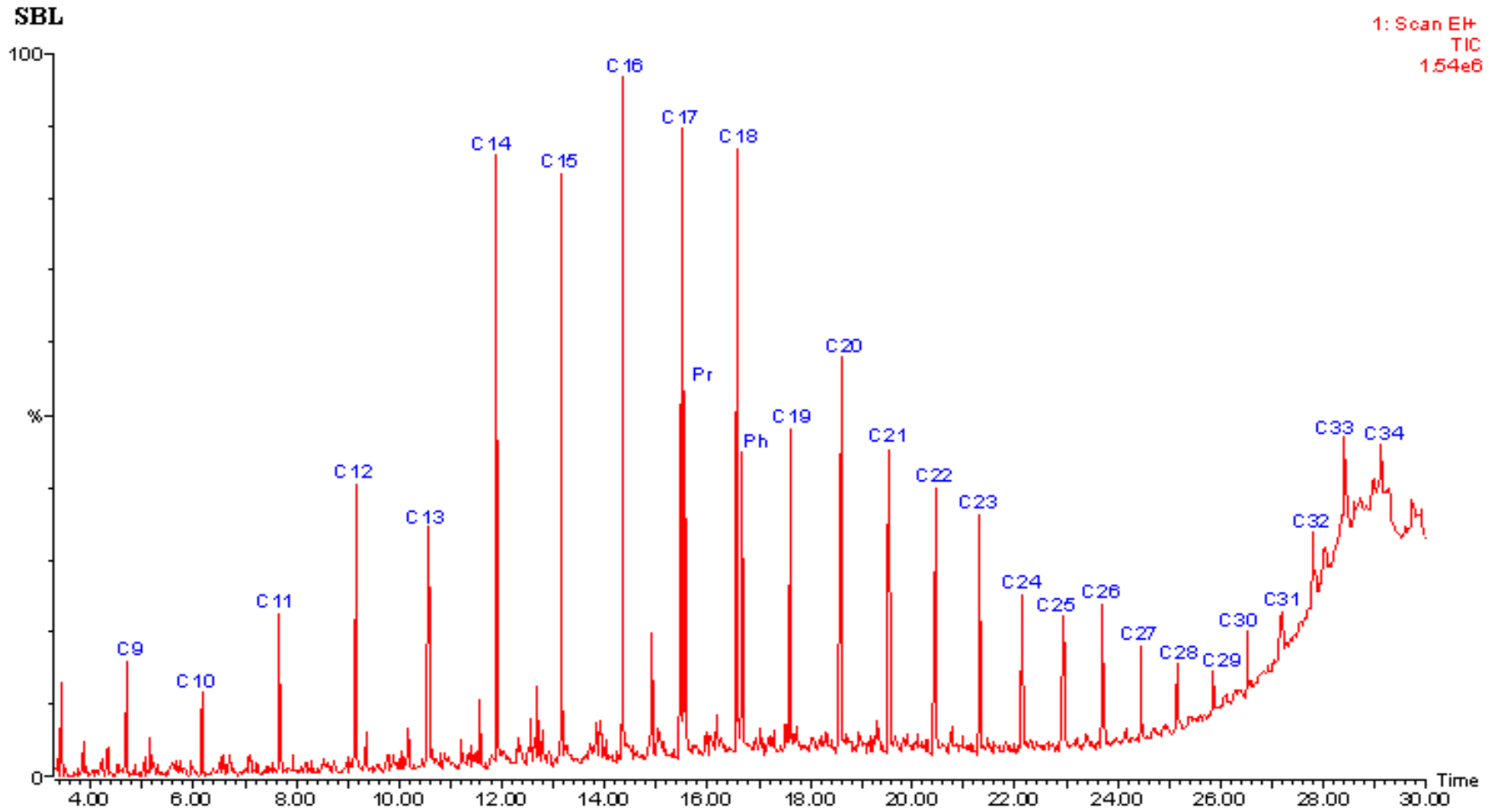
EKLER

Bileşik	Karbon Sayısı	Kaynama Noktası (Co)	Erime Noktası (Co)	Yoğunluk (SG)	Sudaki Çözünürlüğü
Parafinler					
Metan	1	-161,5		0,424	90 ml/l (20°C)
Etan	2	-88,5		0,546	47 ml/l (20°C)
Propan	3	-42,2		0,542	65ml/l (18°C)
Bütan	4	-0,5		0,579	150ml/l (17°C)
Pentan	5	36,2		0,626	360ppm (17°C)
Heksan	6	69,0		0,660	139ppm (15,5°C)
Heptan	7	98,5		0,684	52 ppm (15,5°C)
Oktan	8	125,7		0,703	15 ppm (15,5°C)
Nonan	9	150,8		0,718	10 ppm
Dekan	10	174,1		0,730	3 ppm
Undekan	11	195,9		0,741	
Dodekan	12	216,3		0,766	
Tridekan	13	235,6	5,5	0,756	
Tetradekan	14	253,6	6	0,763	
Pentadekan	15	270,7	10	0,769	
Heksadekan (Setan)	16	287,1	18	0,773	
Heptadekan	17	302,6	22	0,778	
Naftenler					
Siklopropan	3	33			
Siklobütan	4	13			
Siklopentan	5	49,3		0,751	
Metilsiklopentan	6	71,8		0,749	
Sikloheksan	6	80,7		0,779	
Metilsikloheksan	7	100,9		0,769	
Etilsiklopentan	7	103,5		0,763	
Etilsikloheksan	8	131,8		0,788	
Trimetilsikloheksan	9	141,2		0,777	
Aromatikler					
Benzen	6	80,1		0,879	820 ppm (22°C)
Toluen	7	110,6		0,866	470ppm (16°C)
Etilbenzen	8	136,2		0,867	140ppm (15°C)
p - Ksilen	8	138,4		0,861	
m - Ksilen	8	139,1		0,864	80 ppm
o - Ksilen	8	144,4		0,874	
iso - Propilbenzen (Kumen)	9	152,4		0,864	
n - Propilbenzen	9	159,2		0,862	60ppm (15°C)
Naftalin	10	217,9	80,2	1,145	20 ppm
2 - Metil naftalin	11	241,1	37	1,029	
1 - Metil naftalin	11	244,8	22	1,029	
Dimetilnaftalin	12	262,0	18	1,016	
Trimetilnaftalin	13	285,0	92	1,01	
Antrasen	14	354	216	1,25	

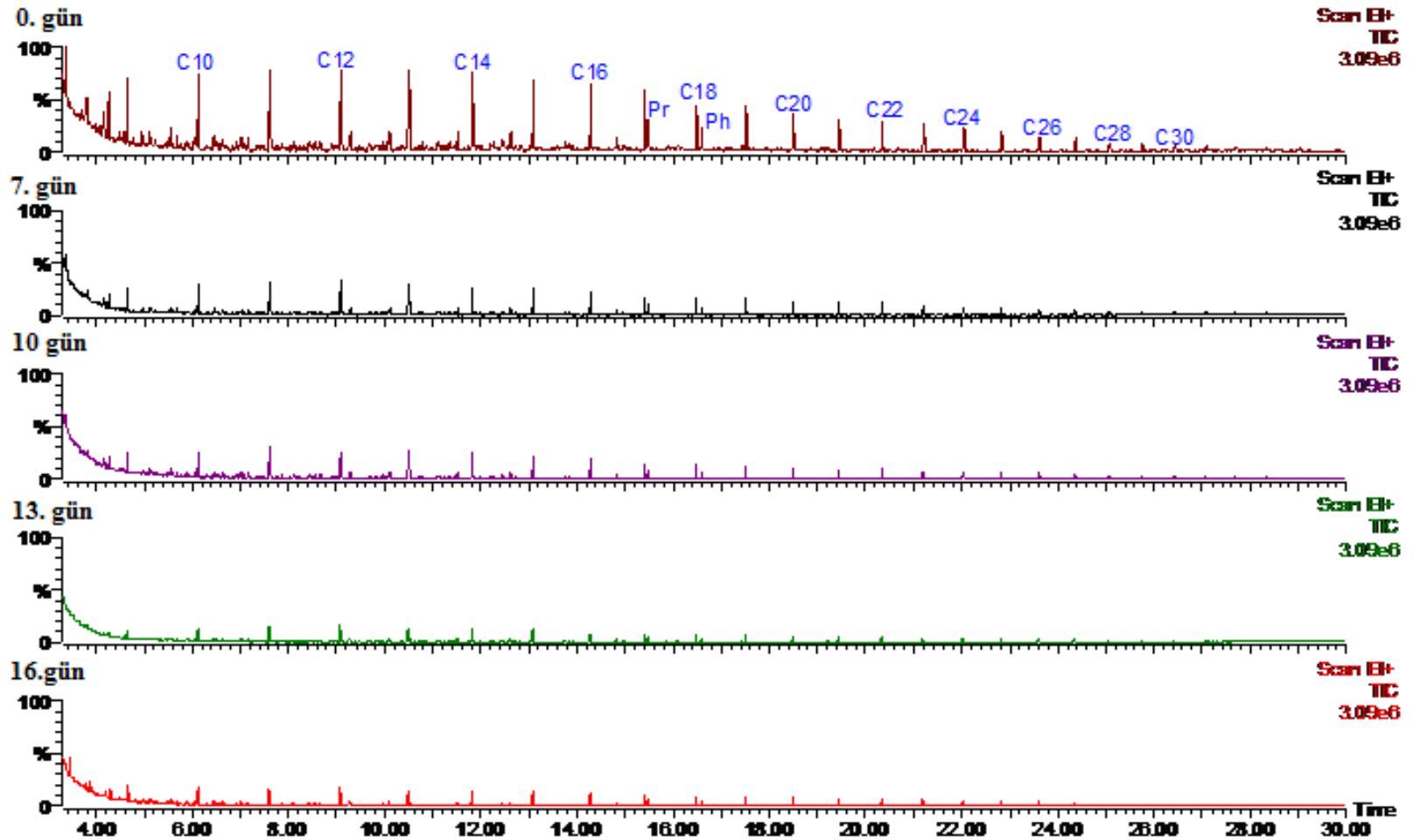
EK 1. Ham petrol içinde yer alan hidrokarbon türleri ve fiziksel özellikleri (Erakın, 2005)



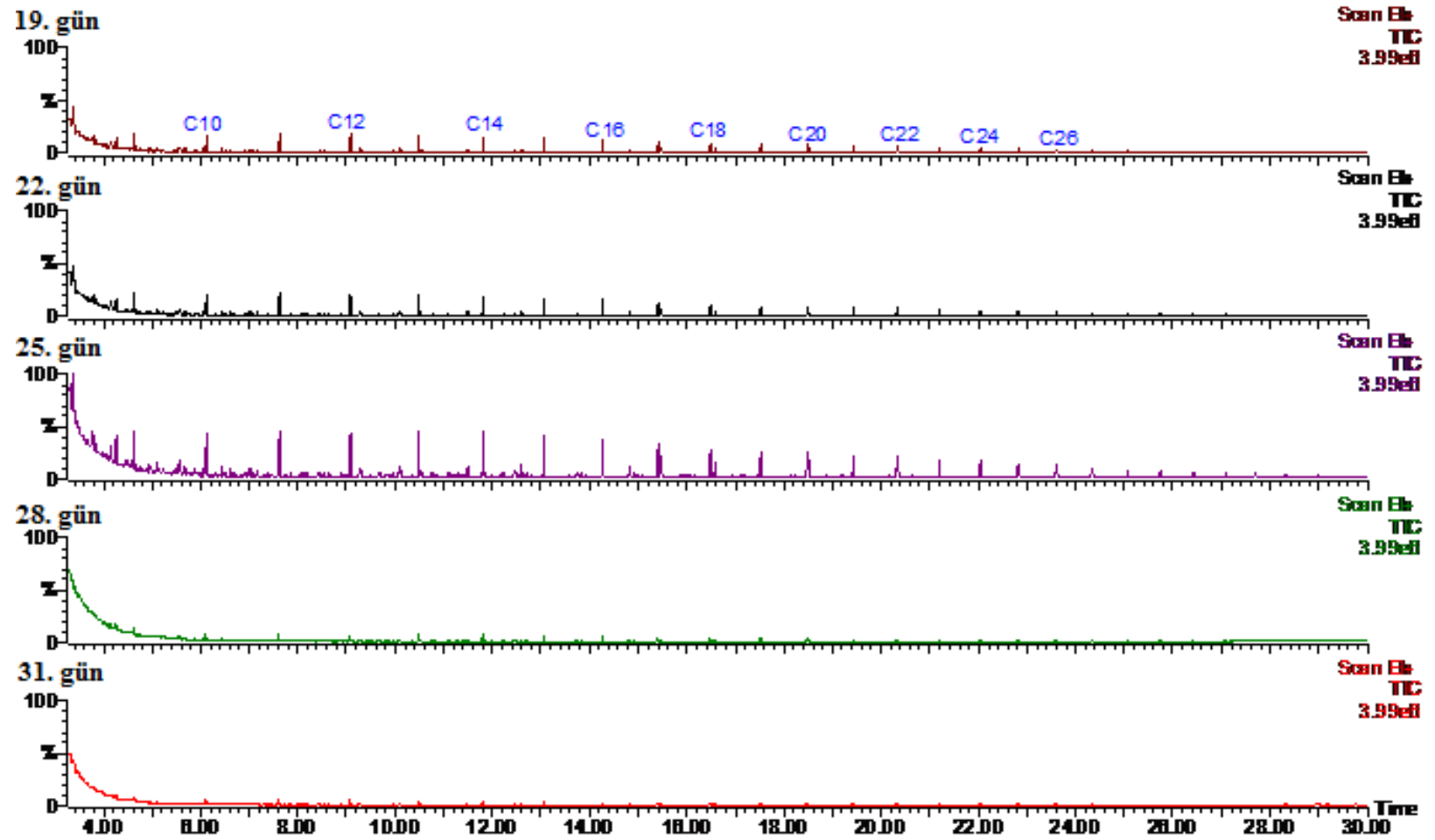
EK 2. Petrolün sınıflandırılması (Tüysüz, 2008)



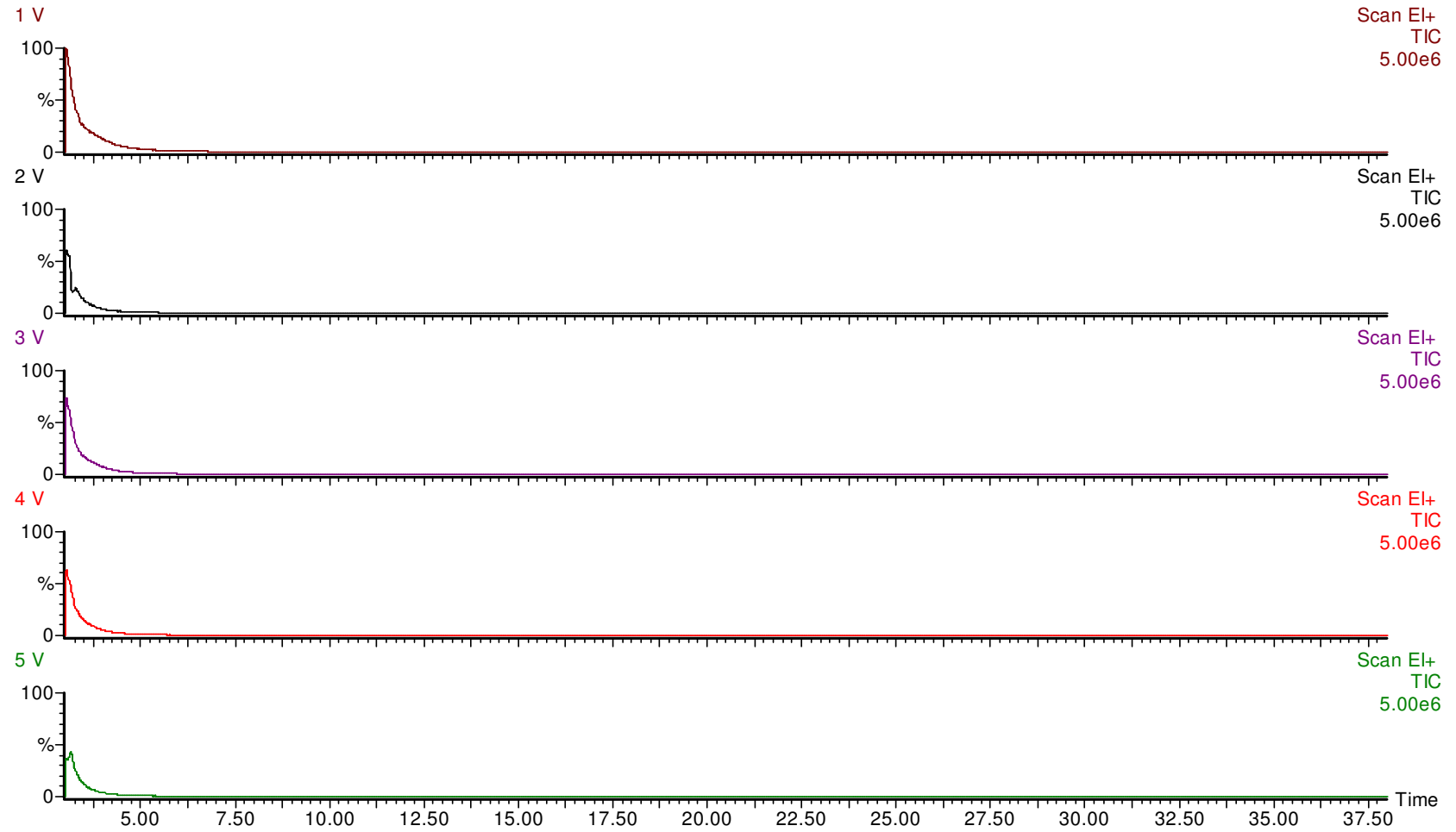
EK 3. Siberian Light ham petrolüne ait toplam iyon kromatogramı (TIC). C9 – C34, karbon sayısı 9 – 34 olan n-alkanları göstermektedir. Pr, pristane; Ph, phytan.



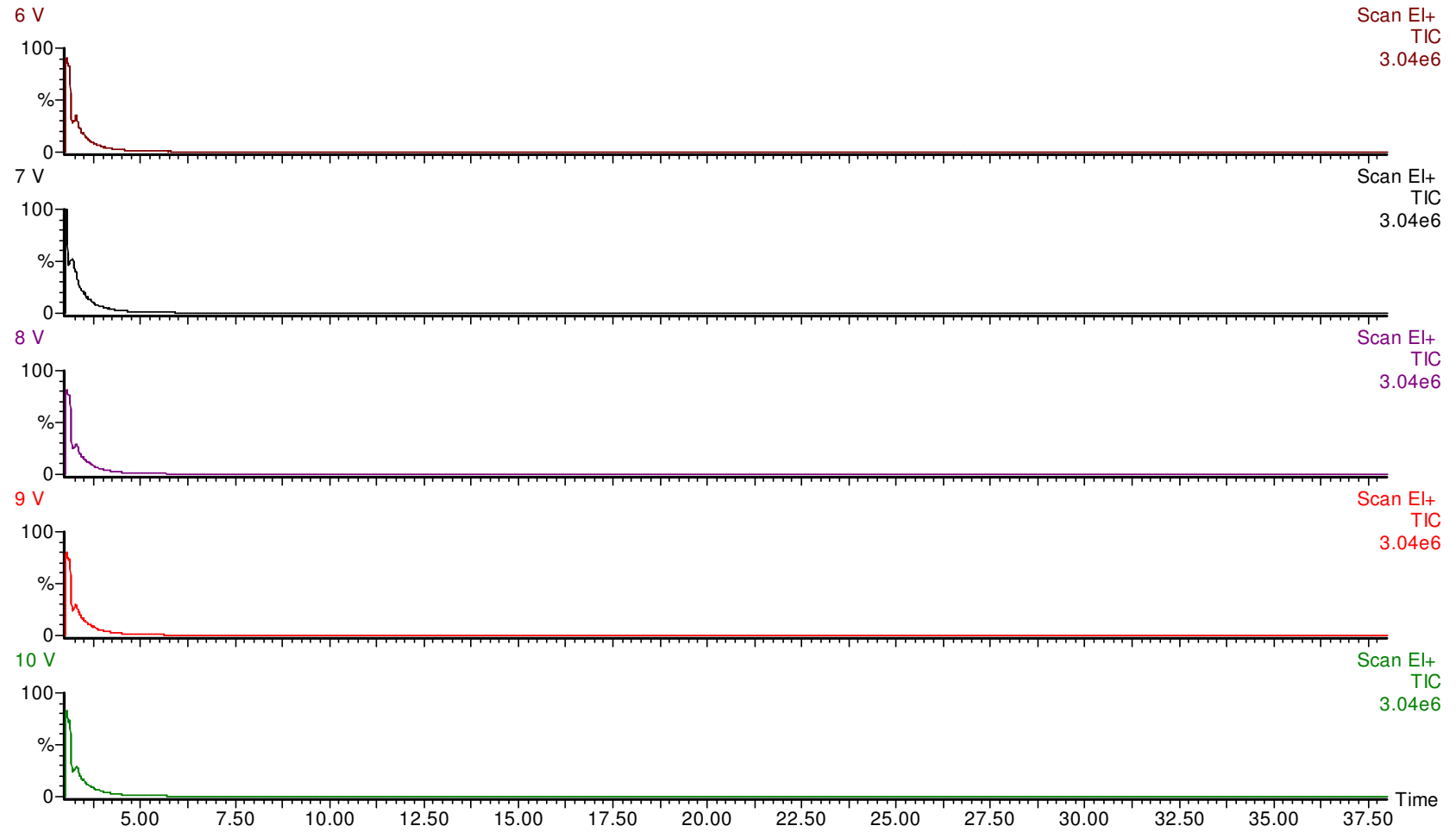
EK 4. Negatif kontrol olan SBL+MSM ortamı; 0.,7.,10.,13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC). C10 – C30, karbon sayısı 10 – 30 olan *n*-alkanları göstermektedir. Pr, pristan; Ph, fitan.



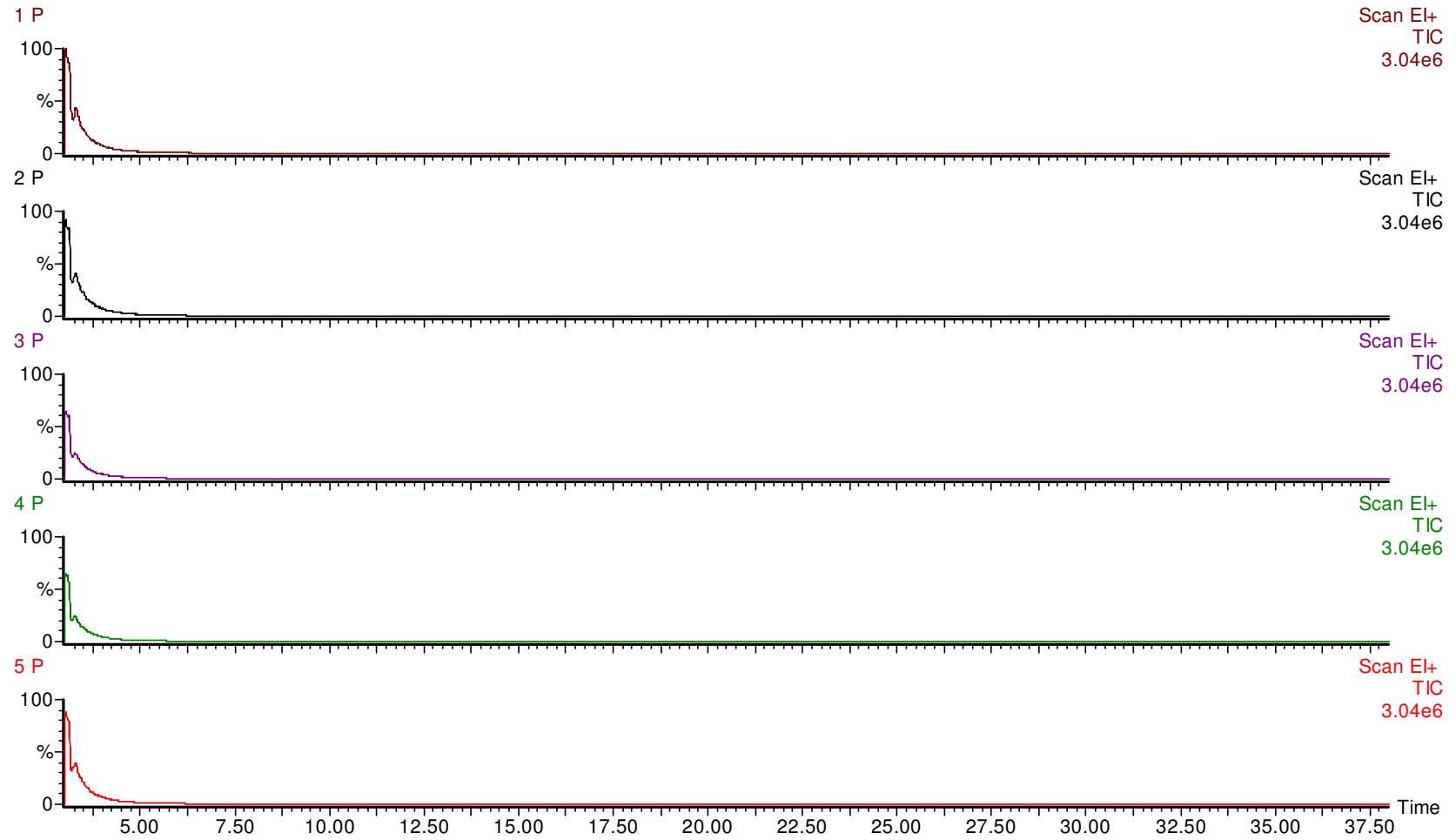
EK 5. Negatif kontrol olan SBL+MSM ortamı; 19.,22.,25.,28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC). C10 – C30, karbon sayısı 10 – 30 olan *n*-alkanları göstermektedir.



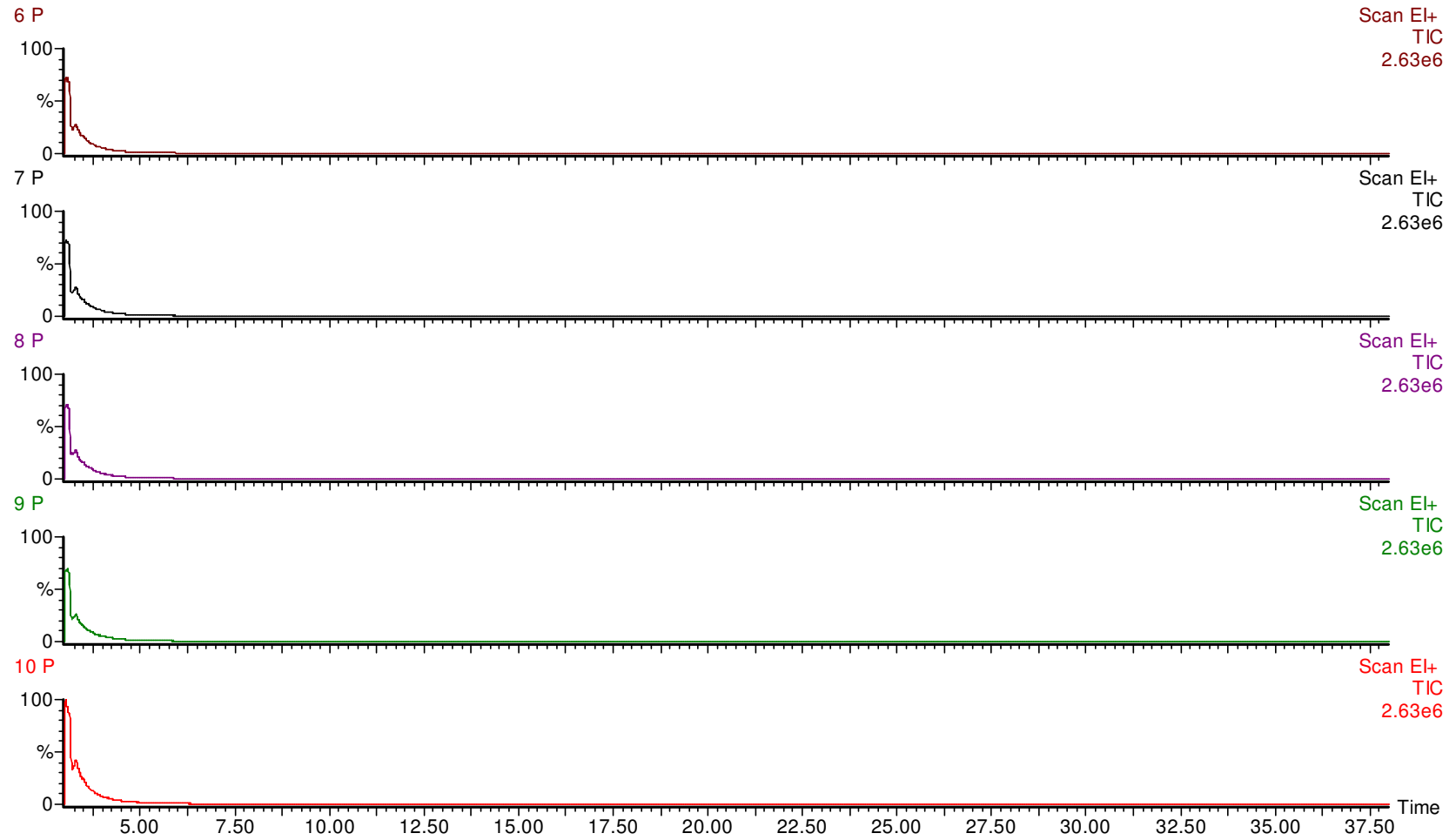
EK 6. *Vibrio fluvialis* + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



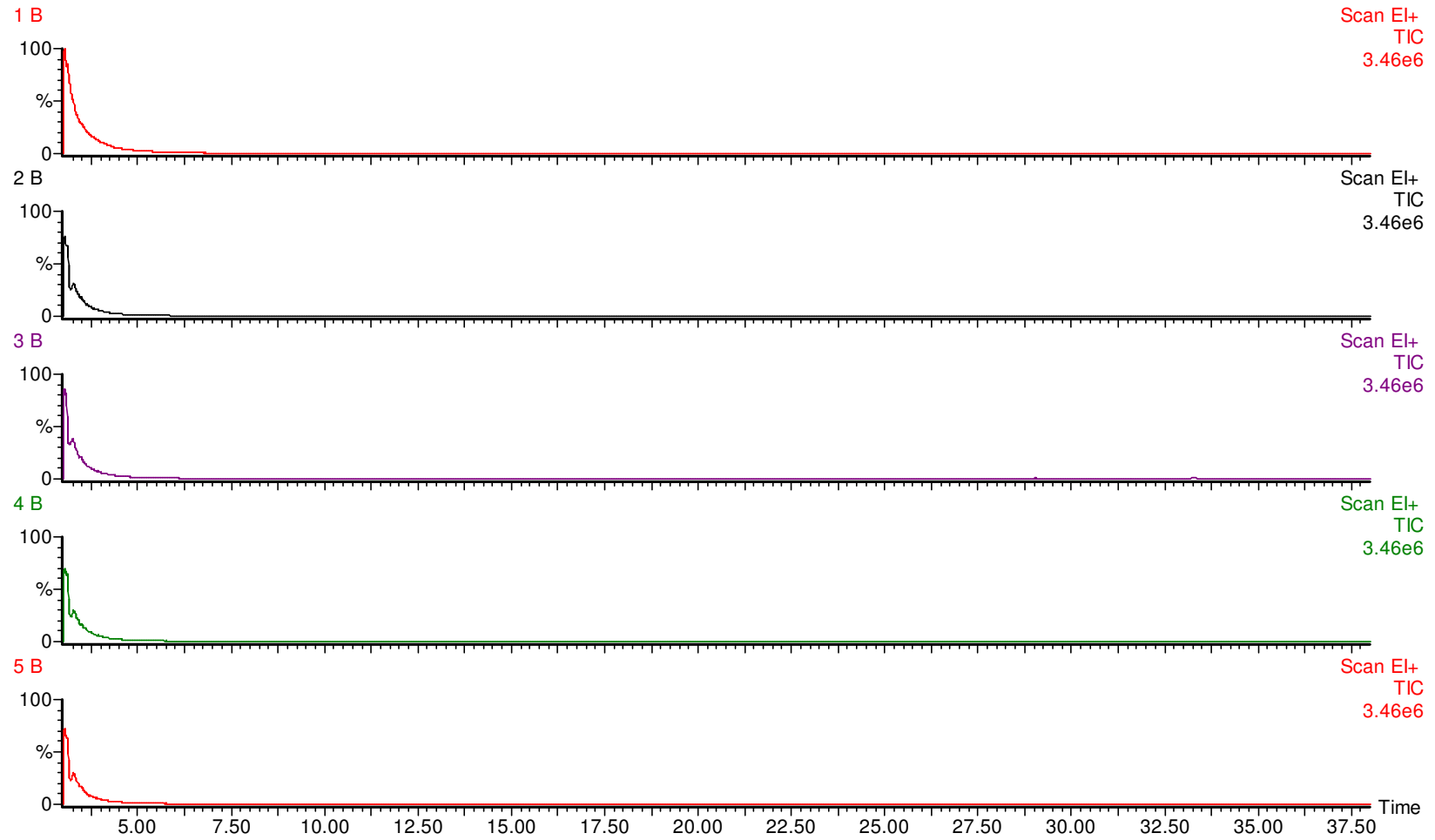
EK 7. *Vibrio fluvialis* + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



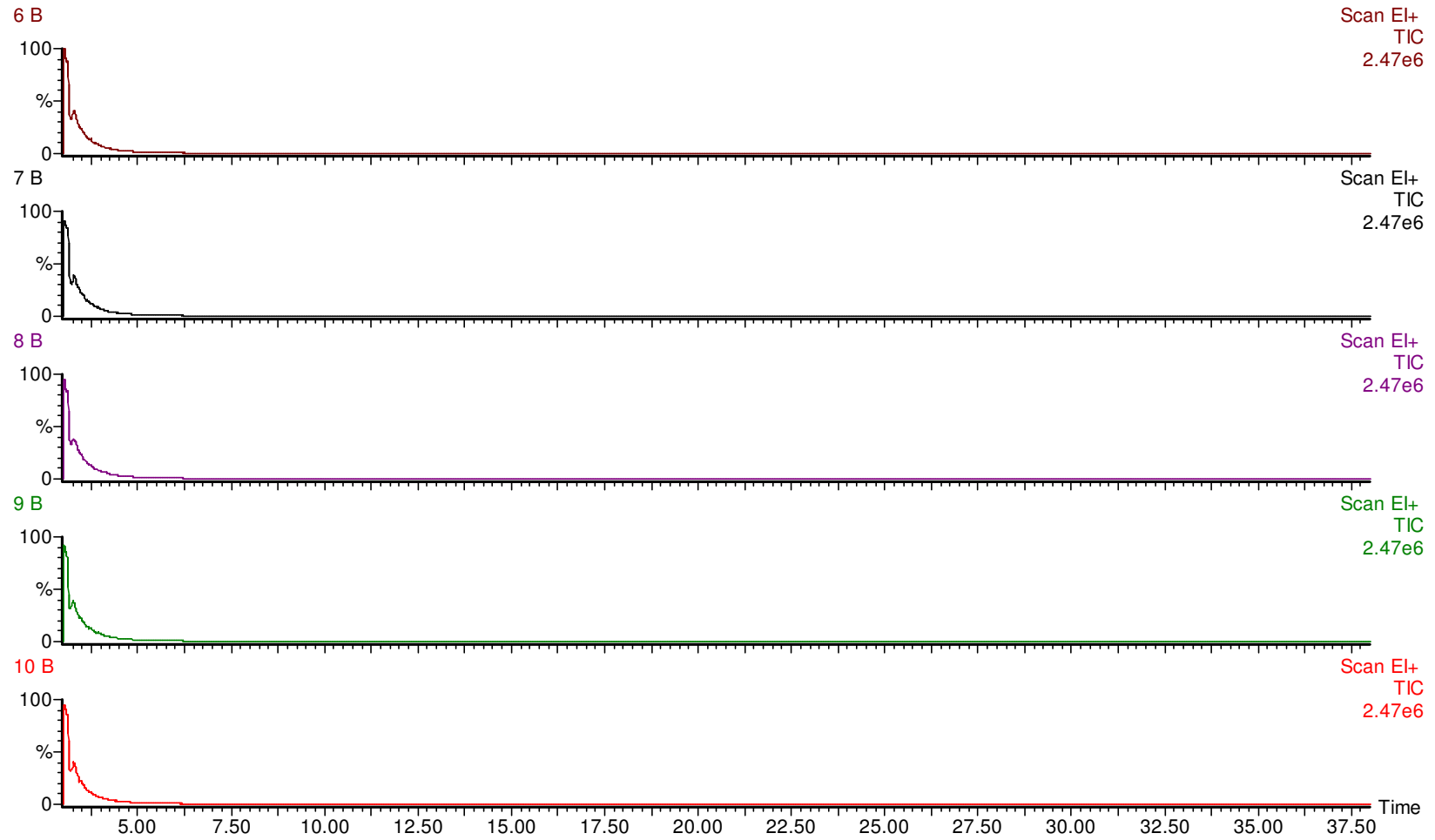
EK 8. *Pseudomonas aeruginosa*+ MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



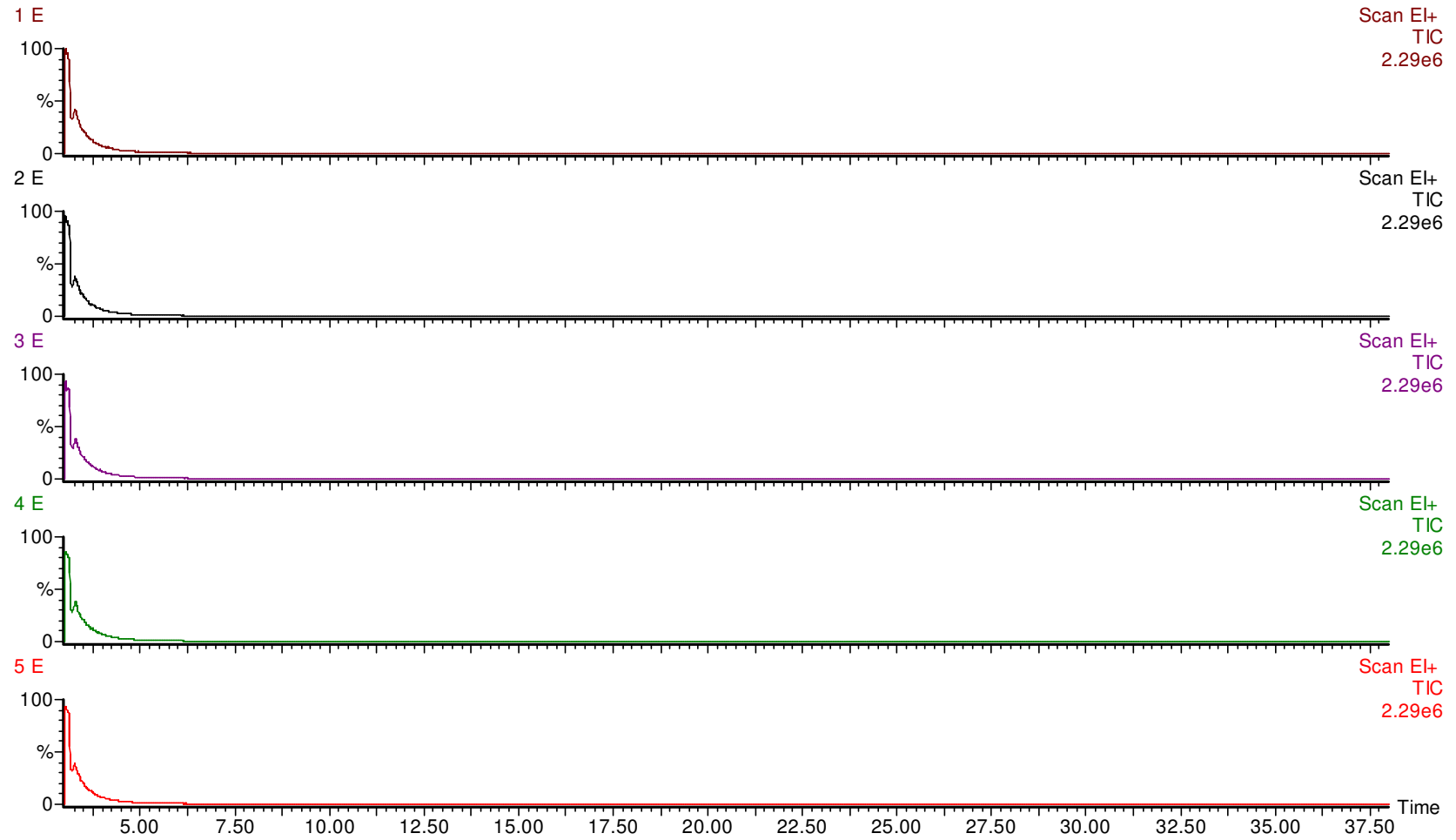
EK 9. *Pseudomonas aeruginosa*+ MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



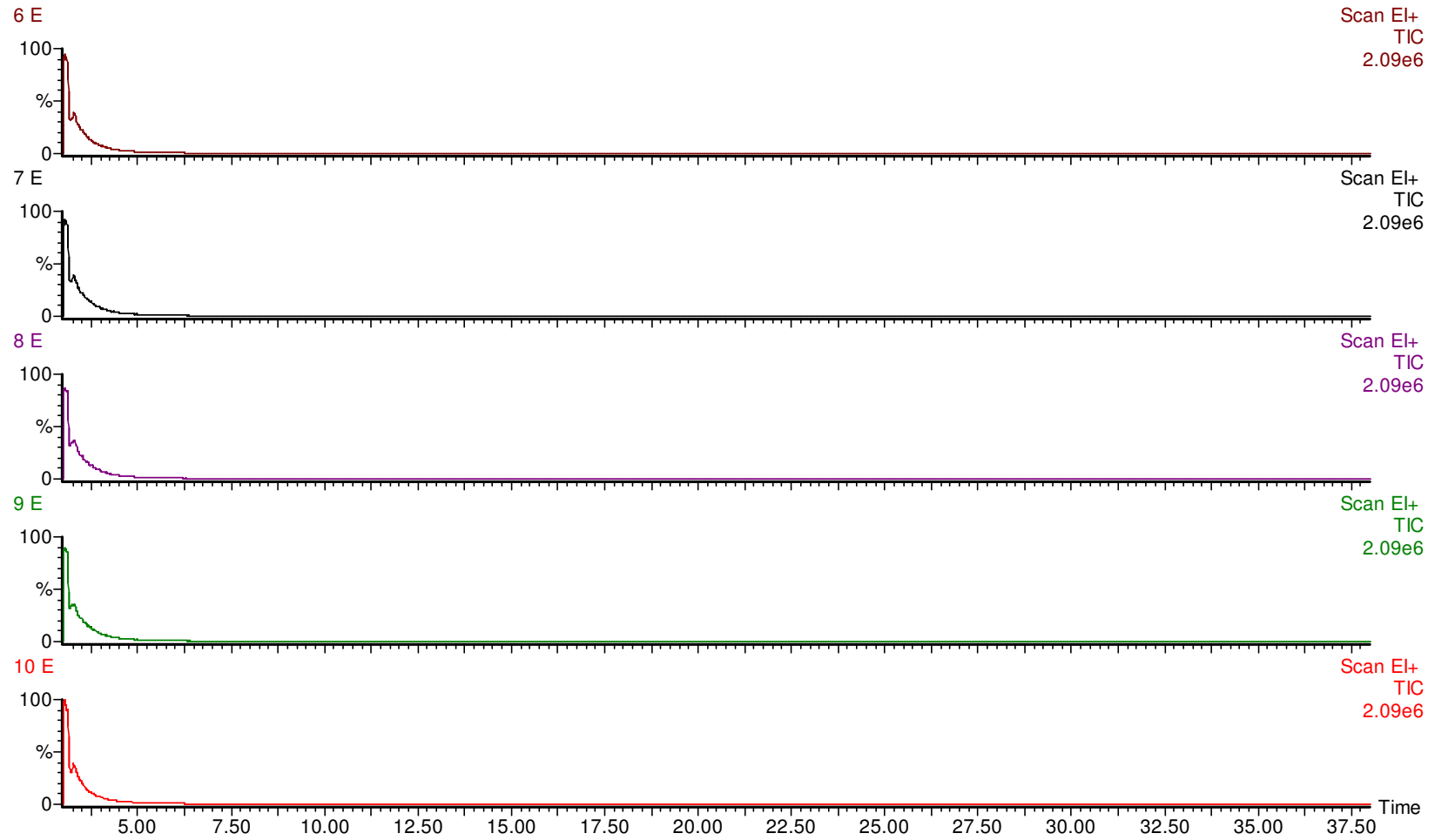
EK 10. *Bacillus subtilis* + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



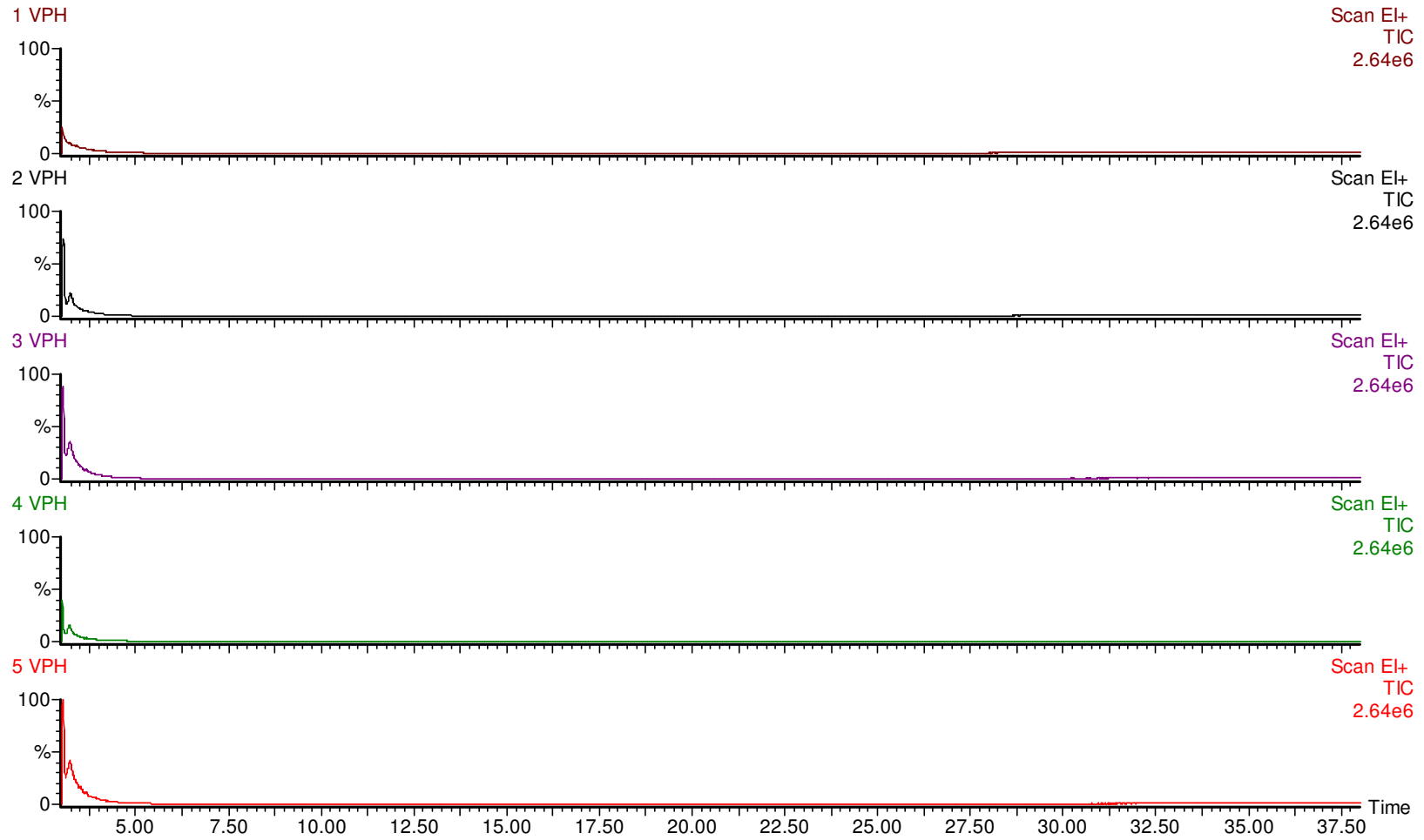
EK 11. *Bacillus subtilis* + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



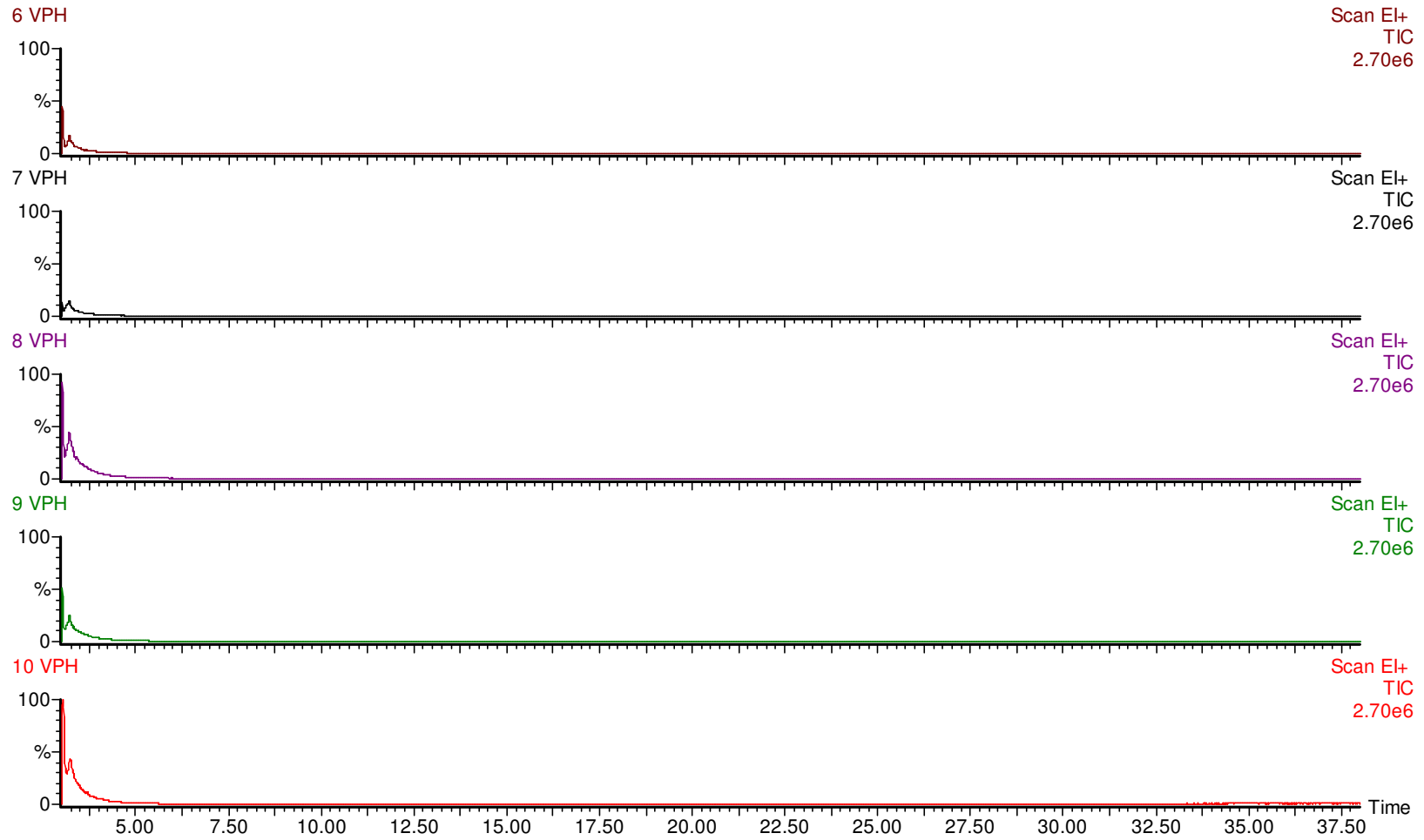
EK 12. *Escherichia coli* + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



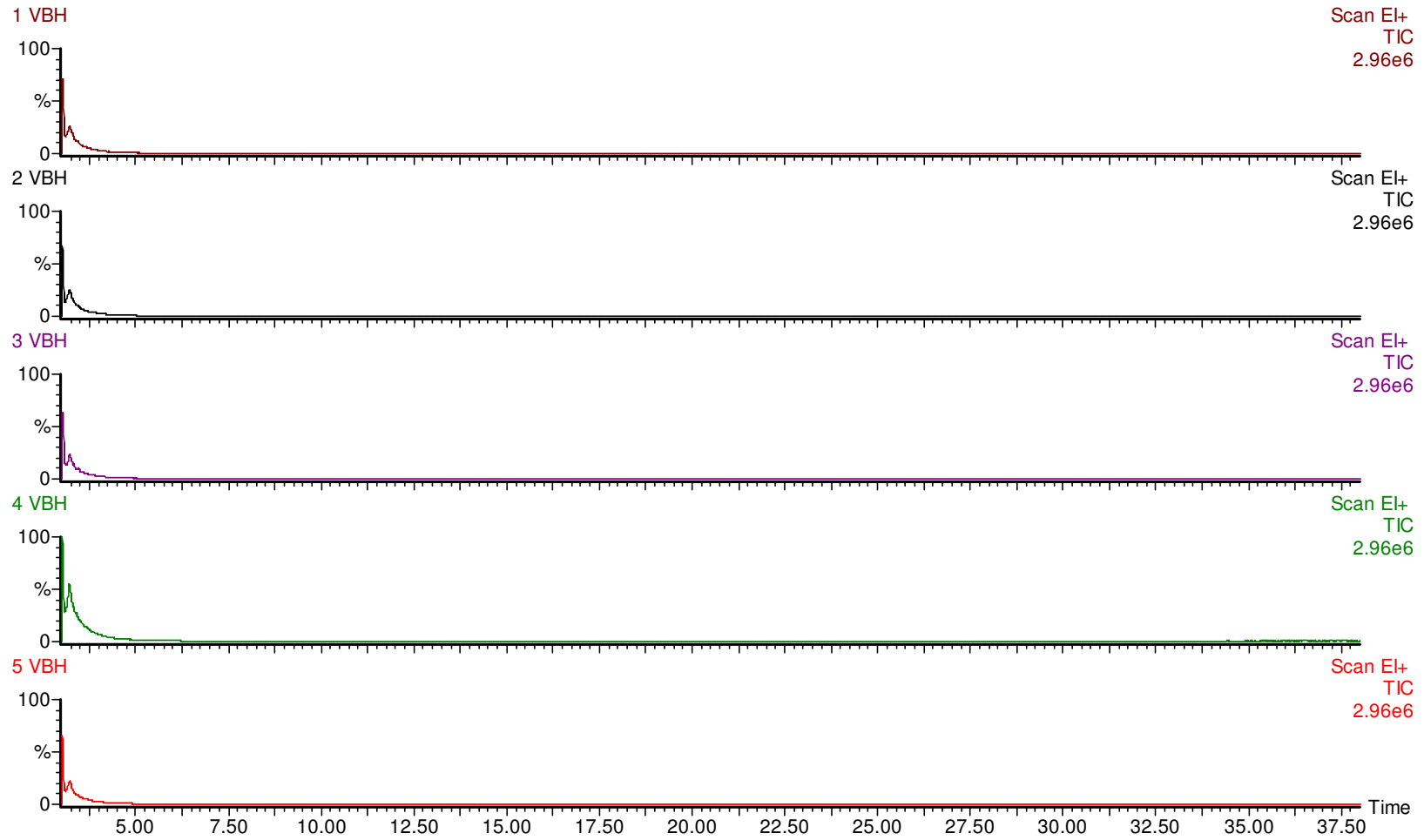
EK 13. *Escherichia coli* + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



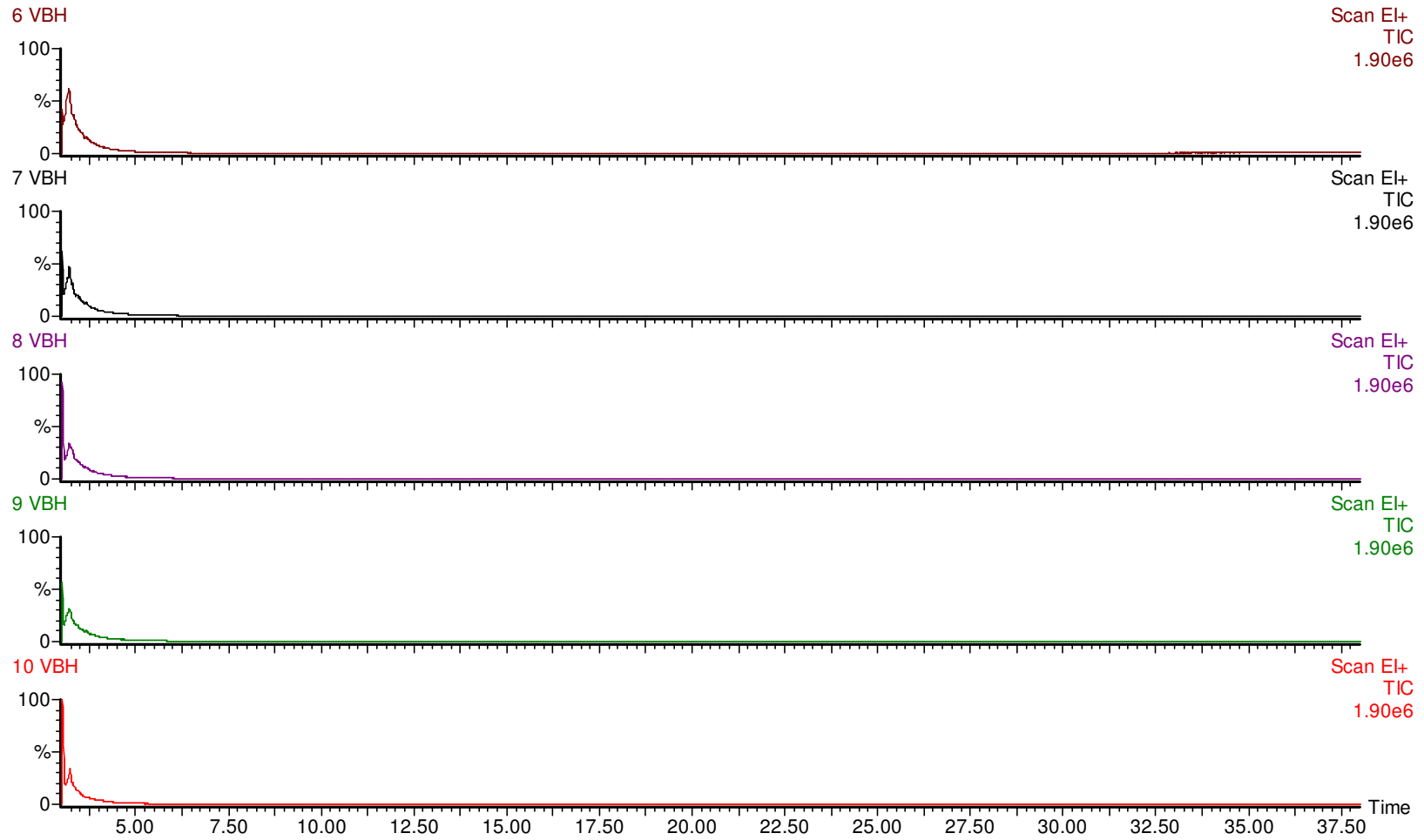
EK 14. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



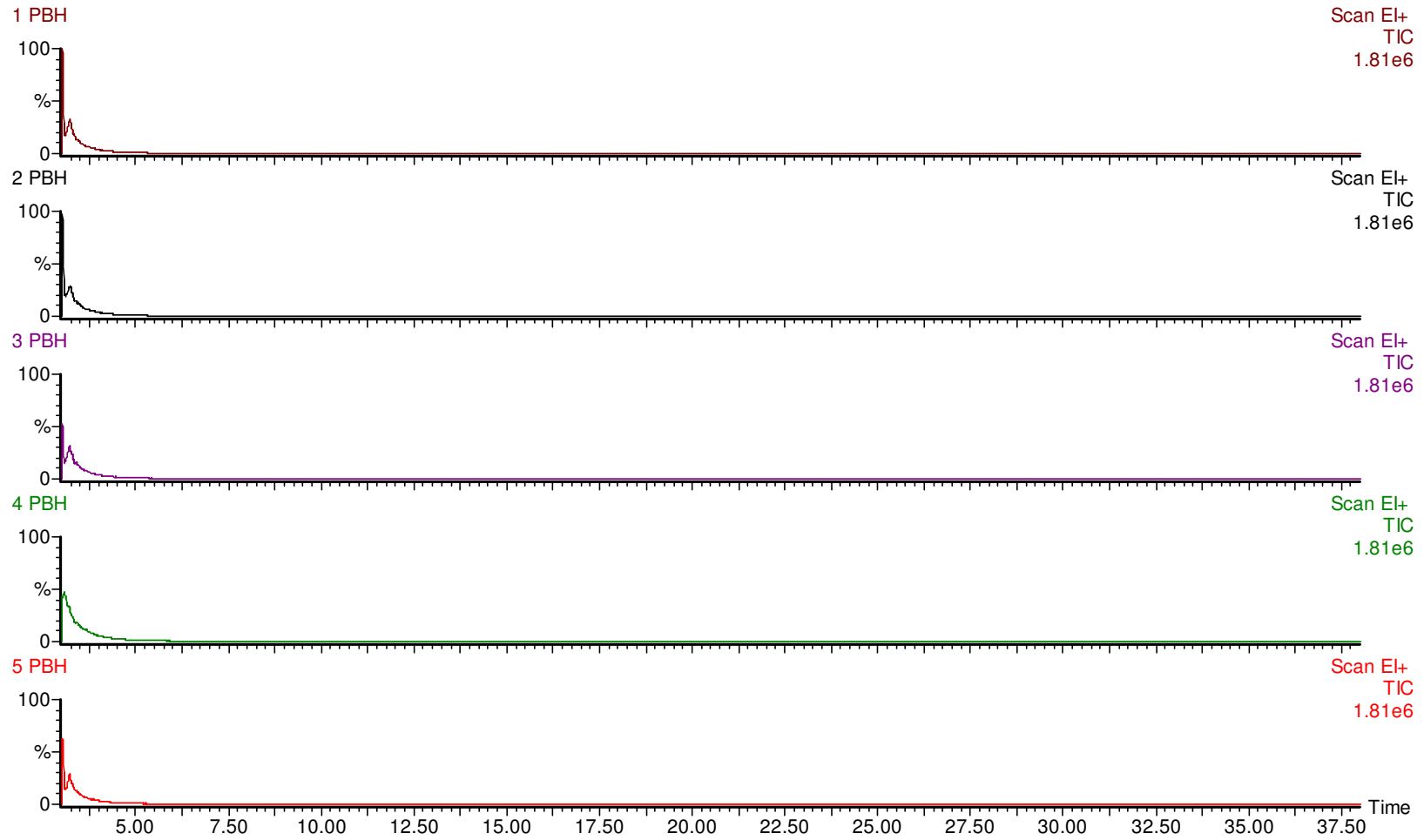
EK 15. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



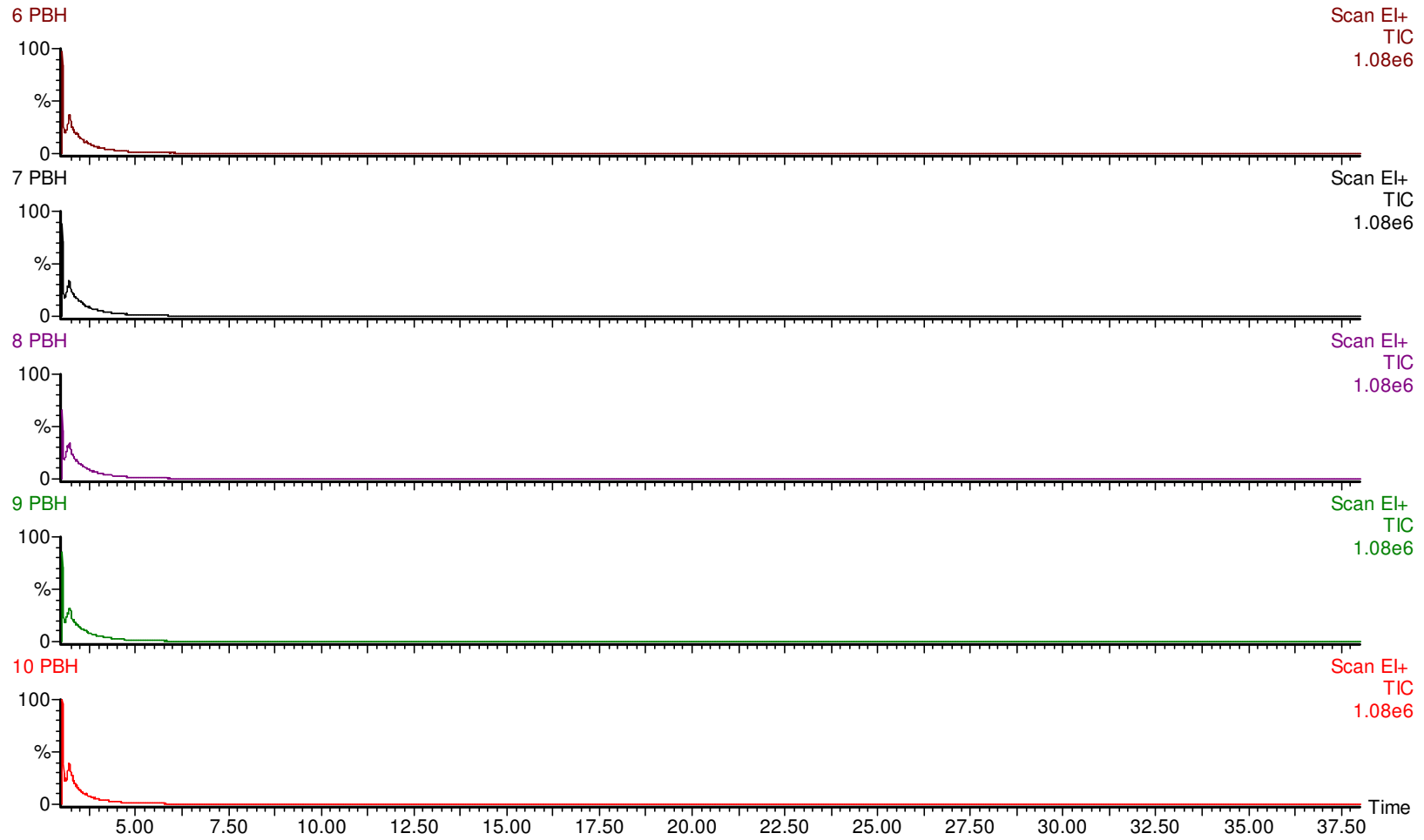
EK 16. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



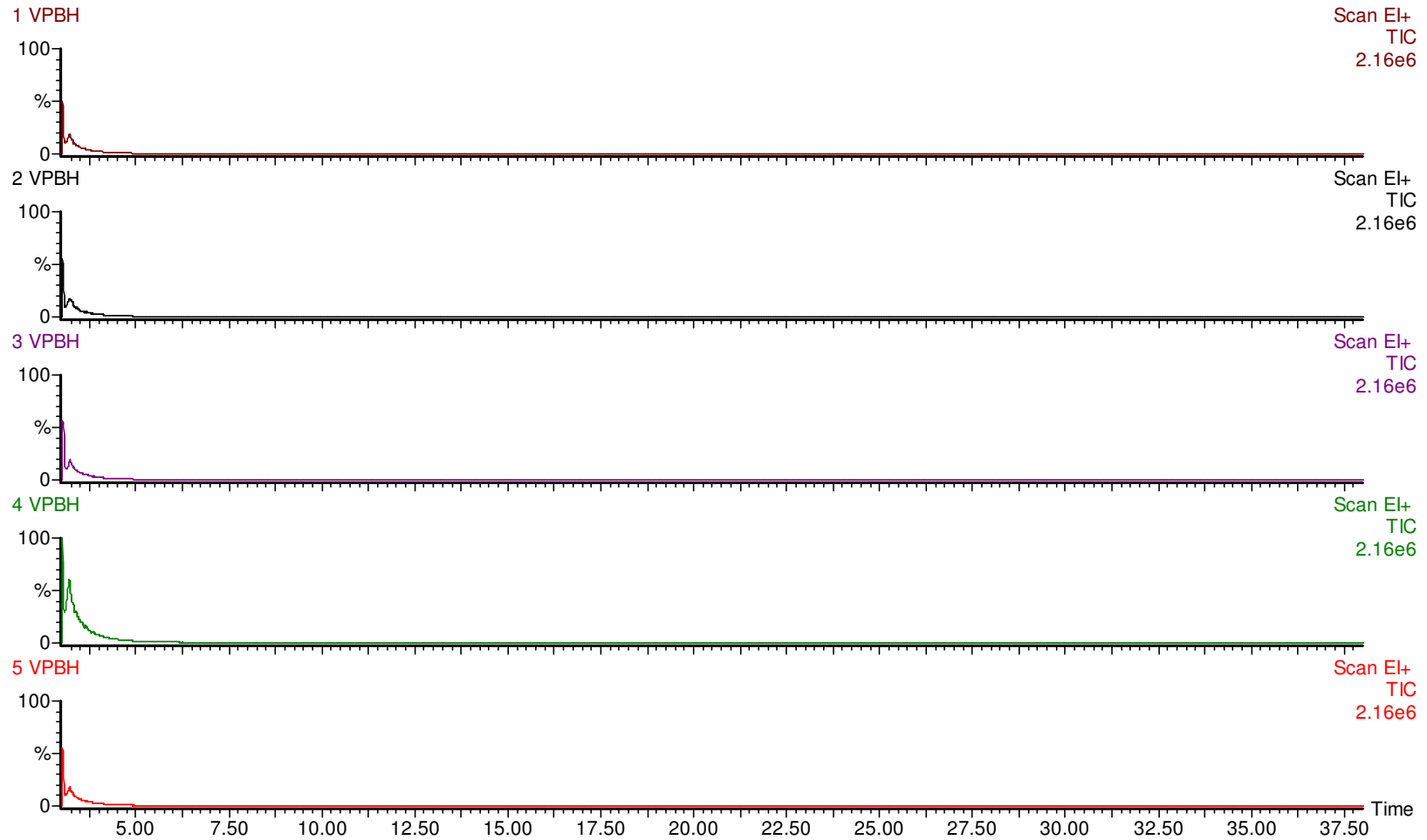
EK 17. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



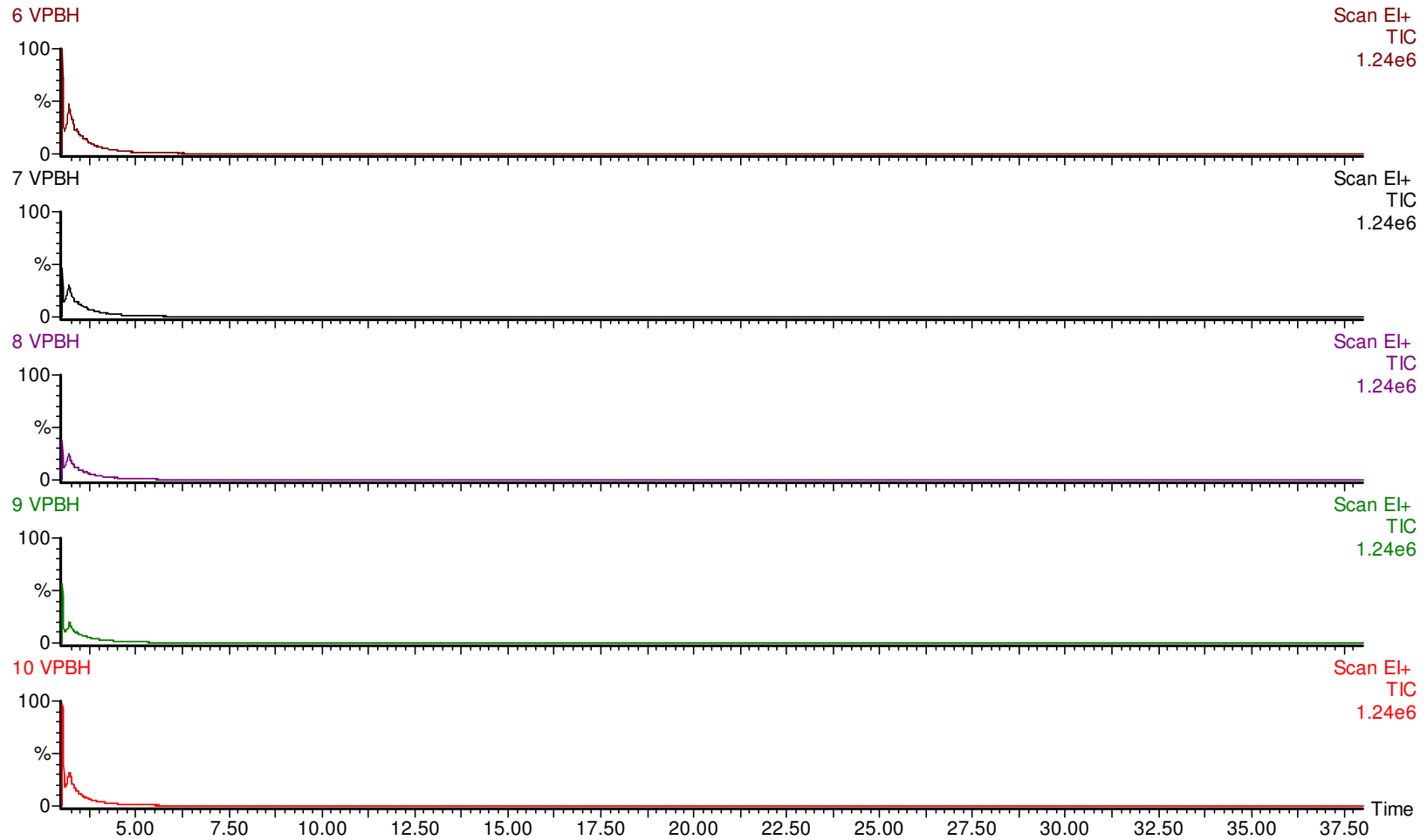
EK 18. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



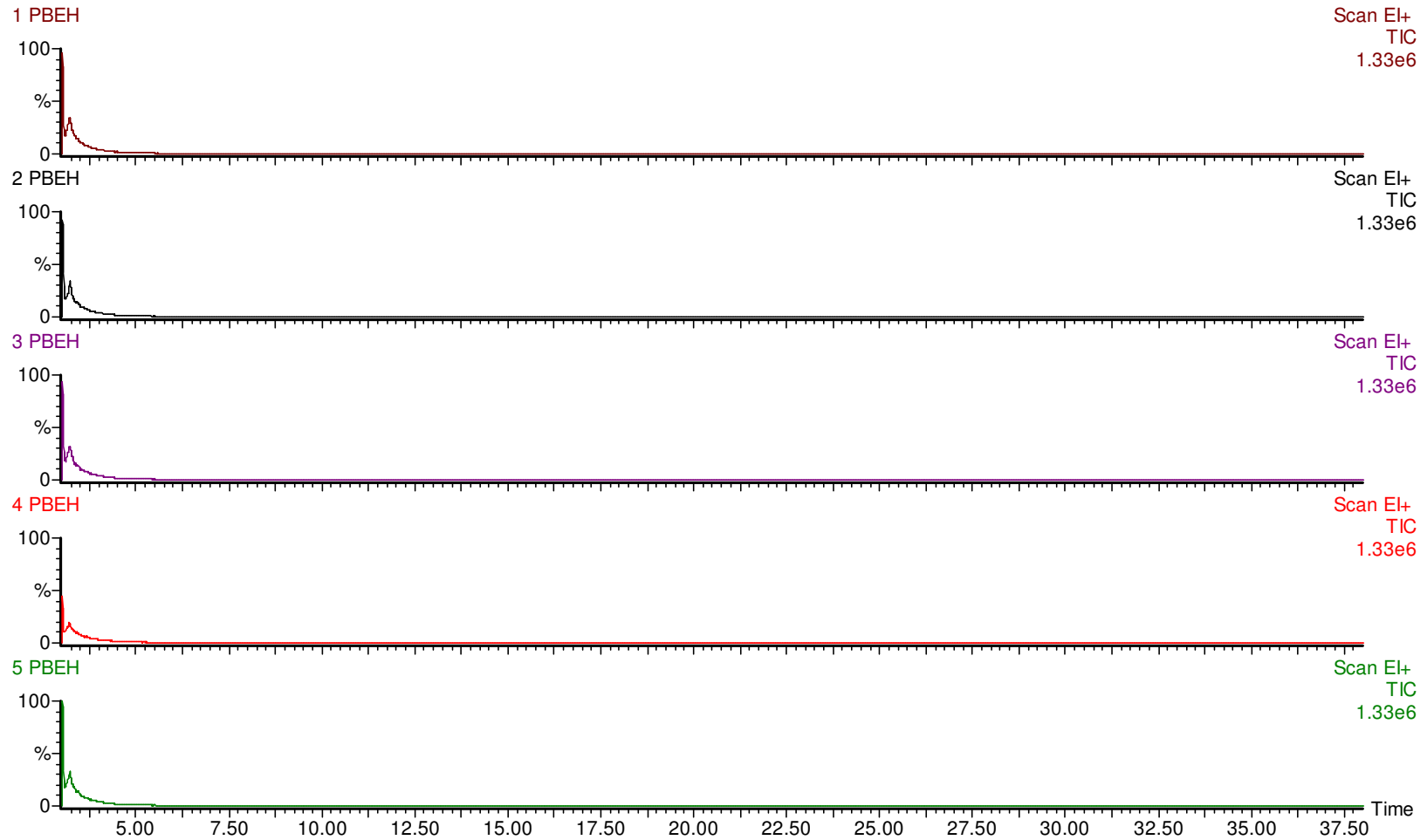
EK 19. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



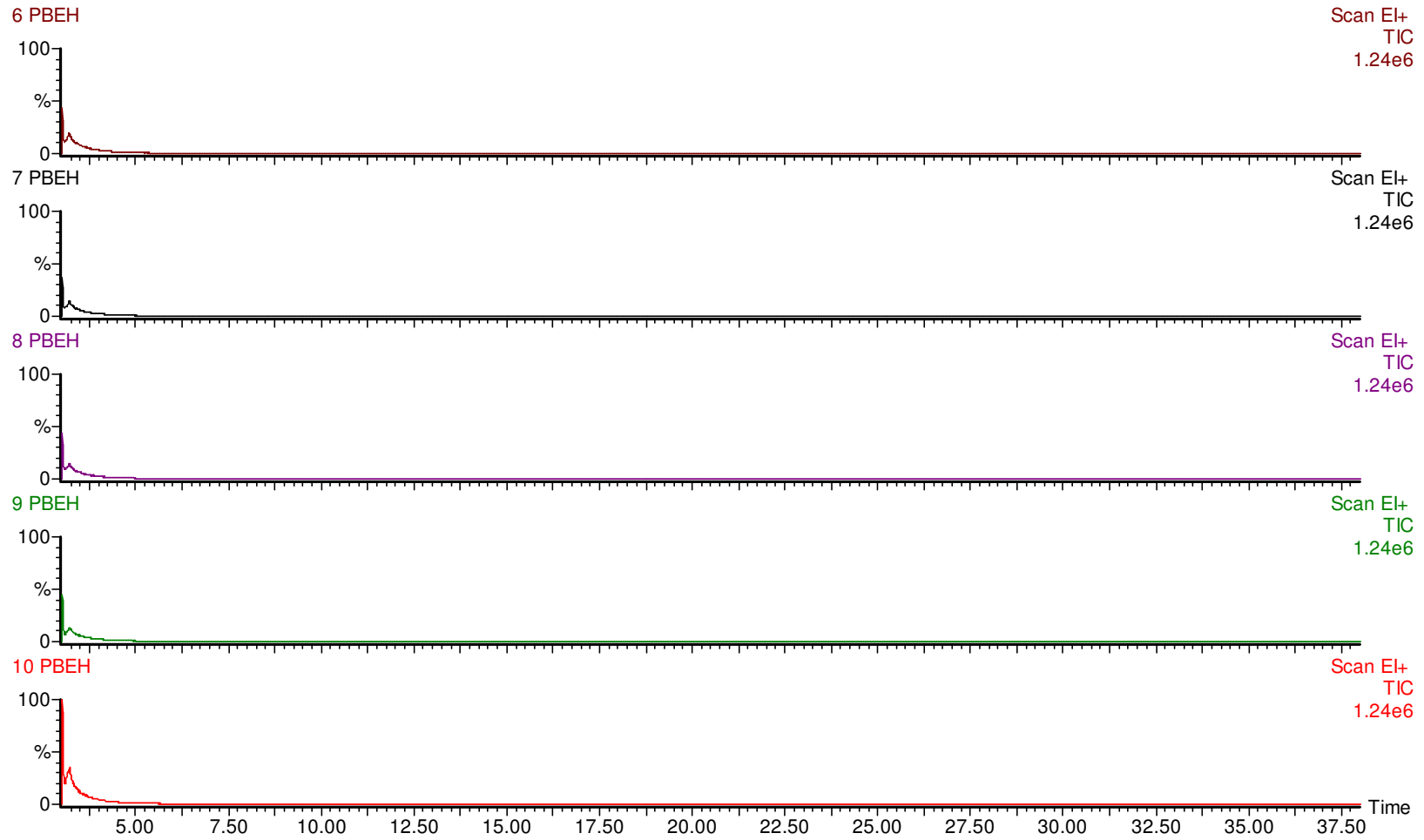
EK 20. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



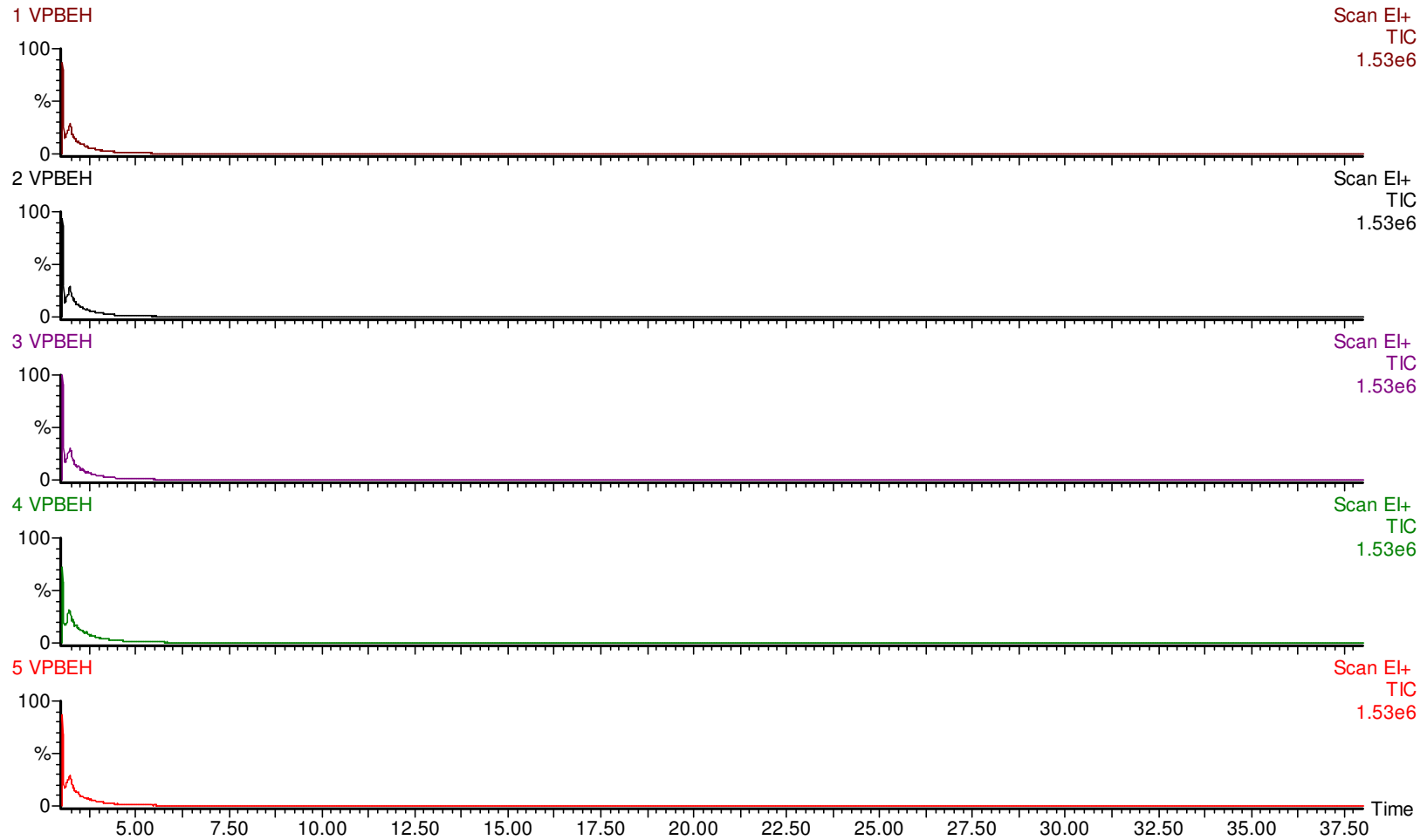
EK 21. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



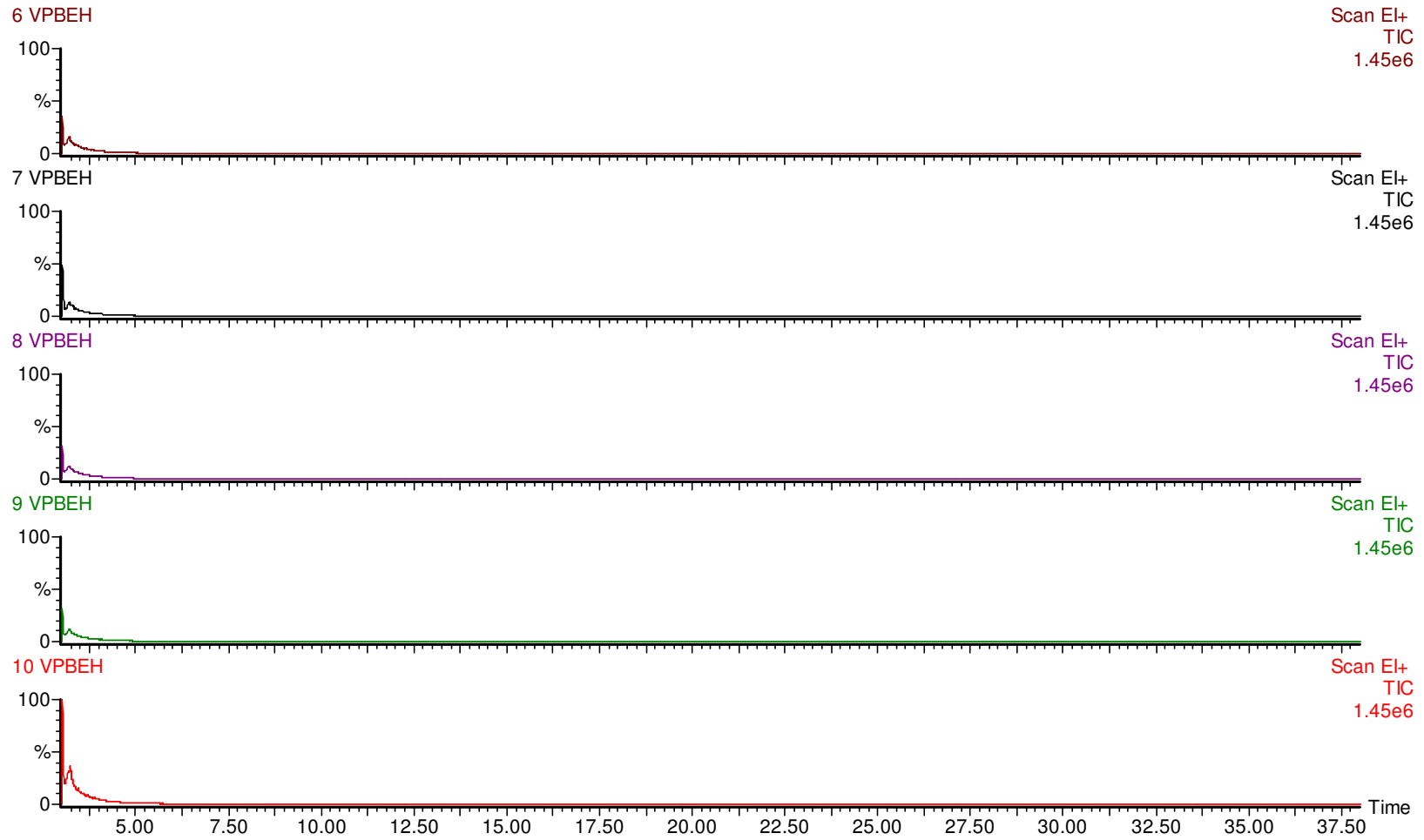
EK 22. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



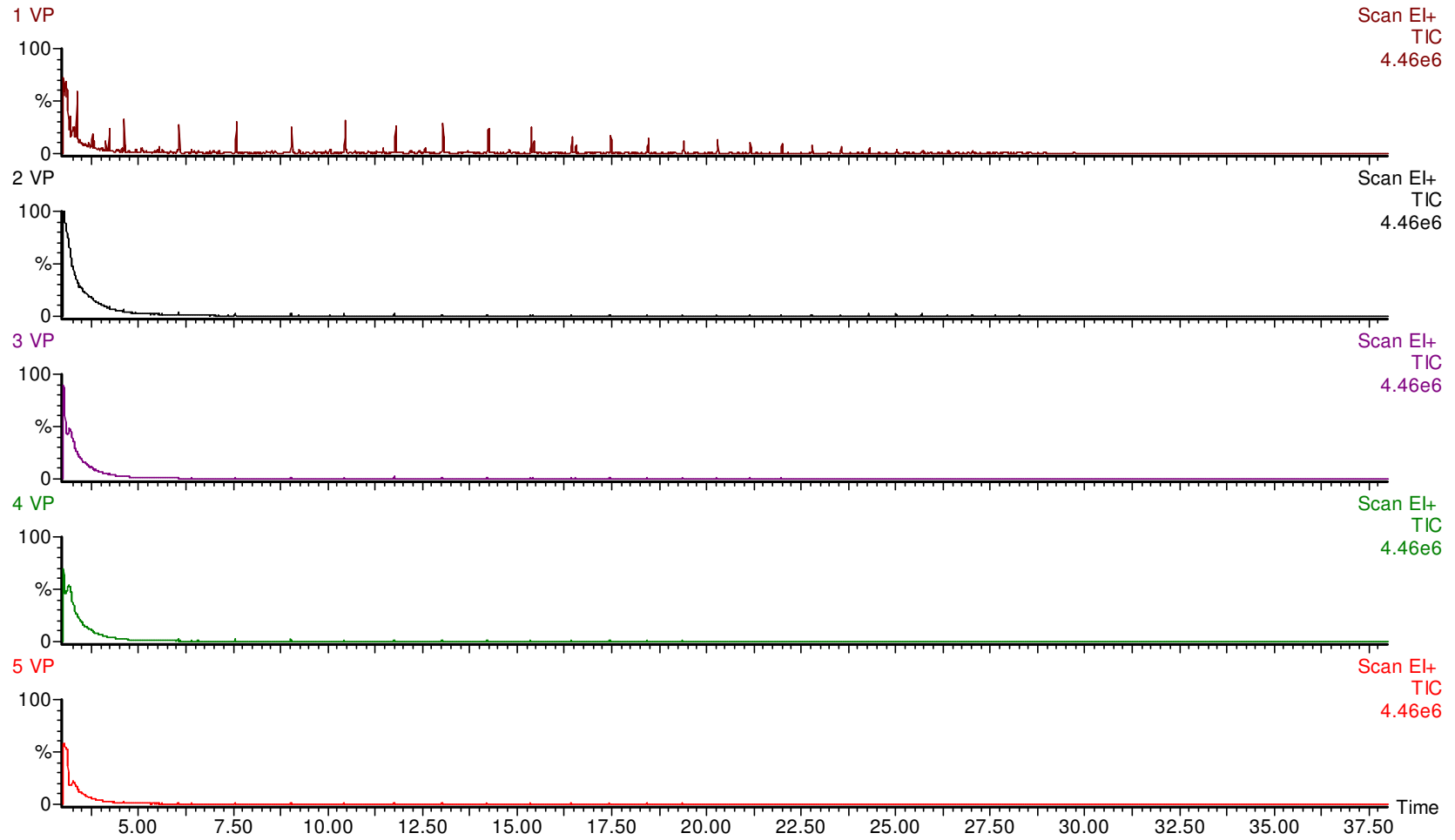
EK 23. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



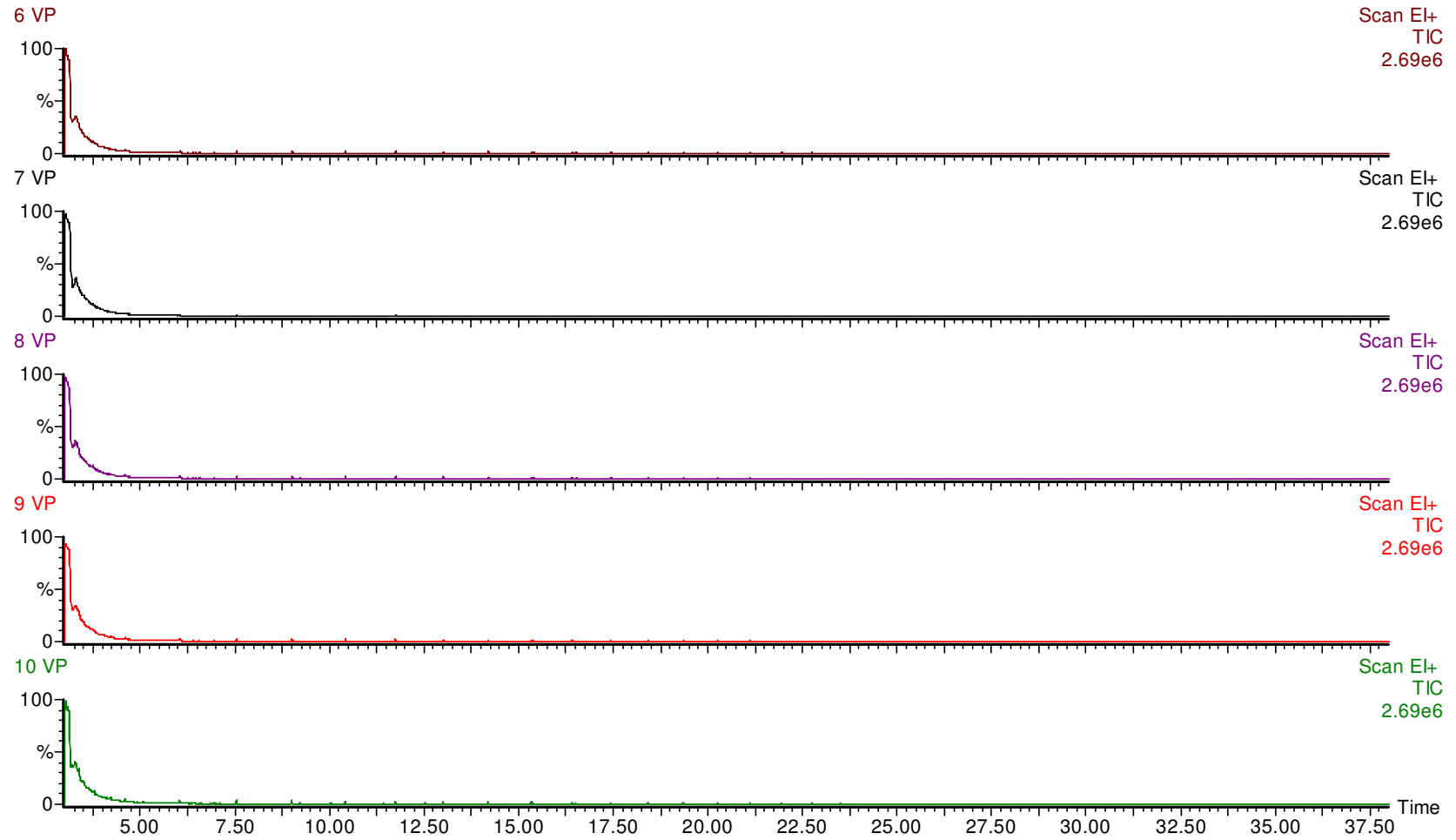
EK 24. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



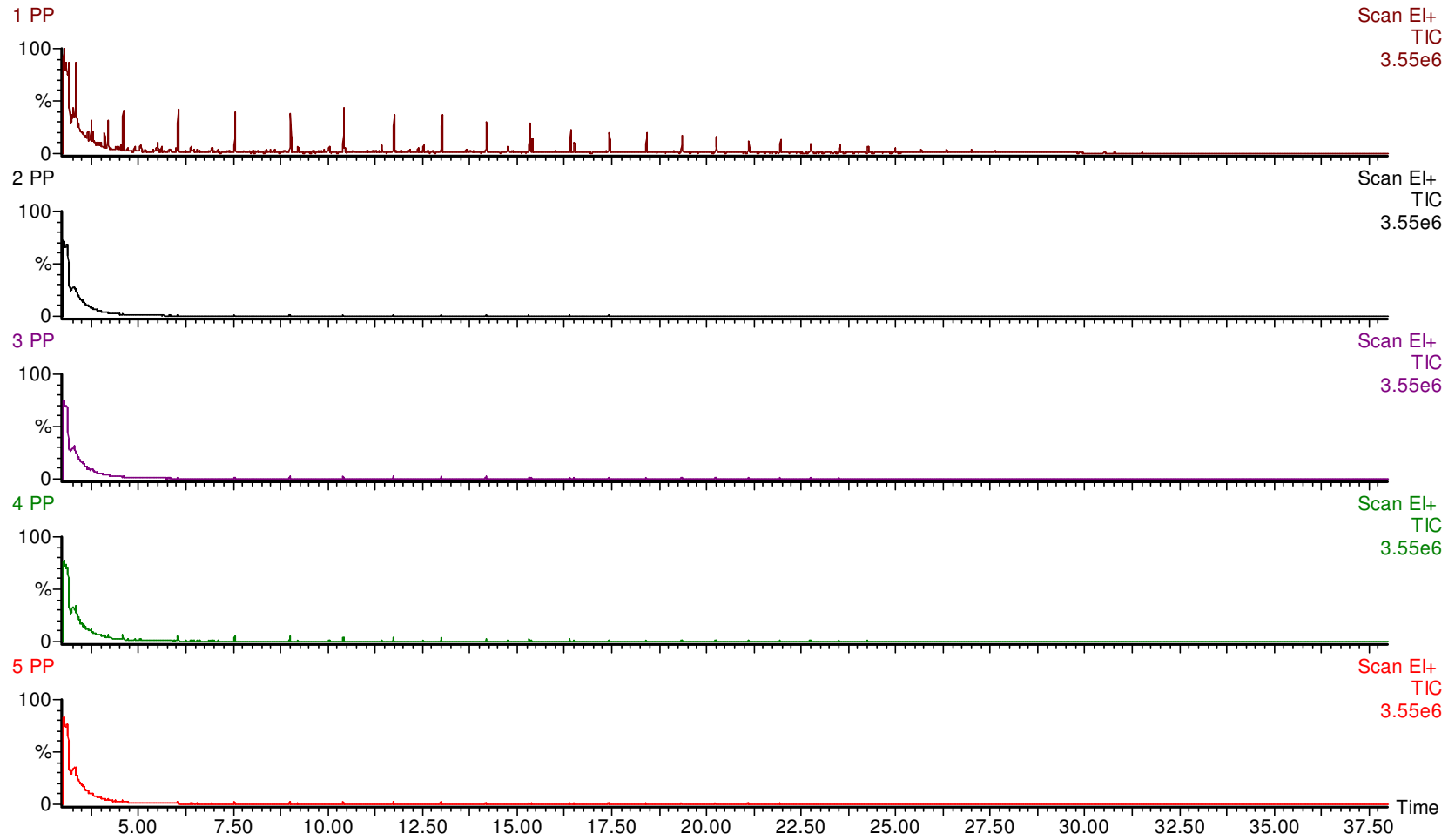
EK 25. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



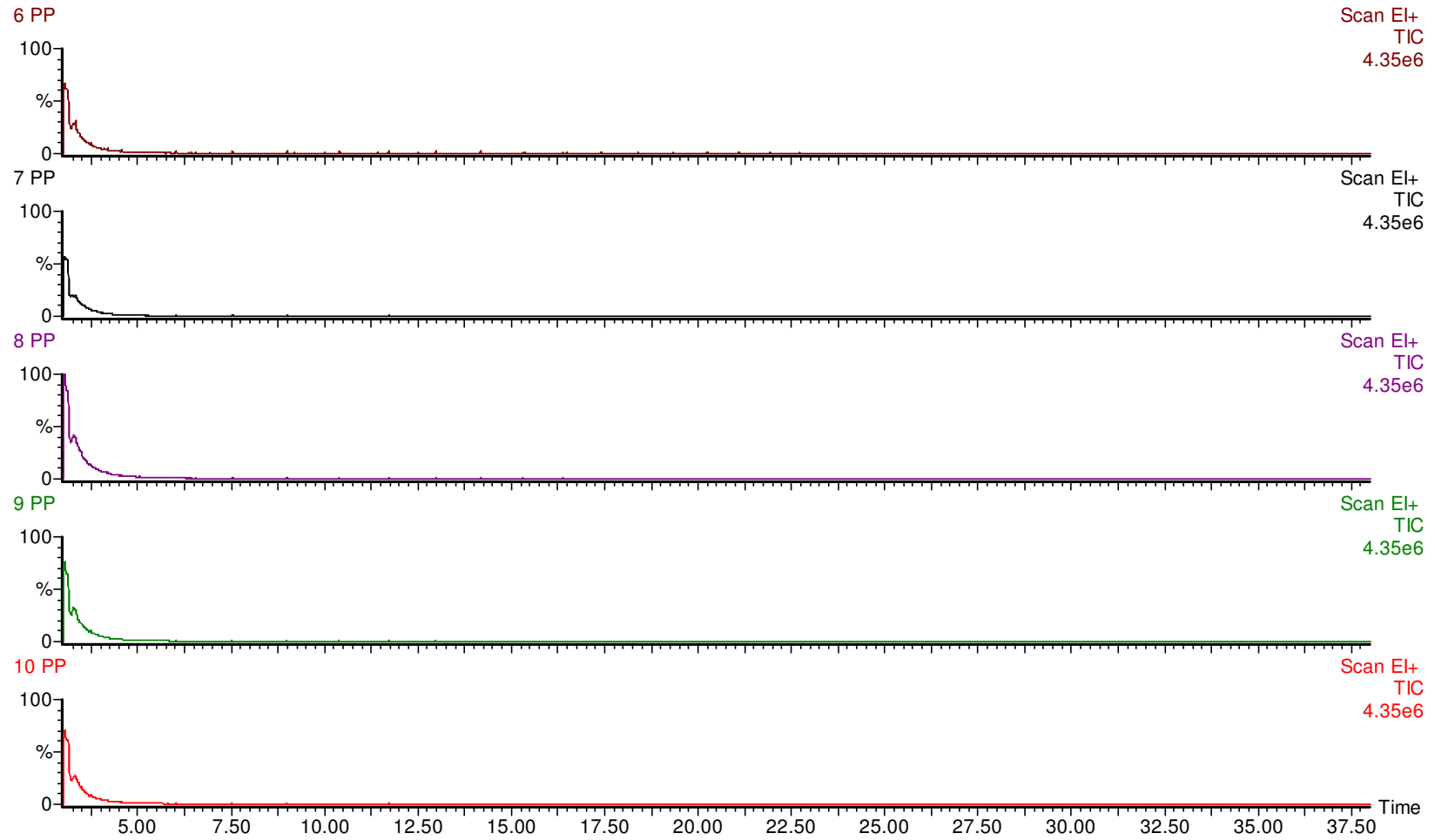
EK 26. *Vibrio fluvialis* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



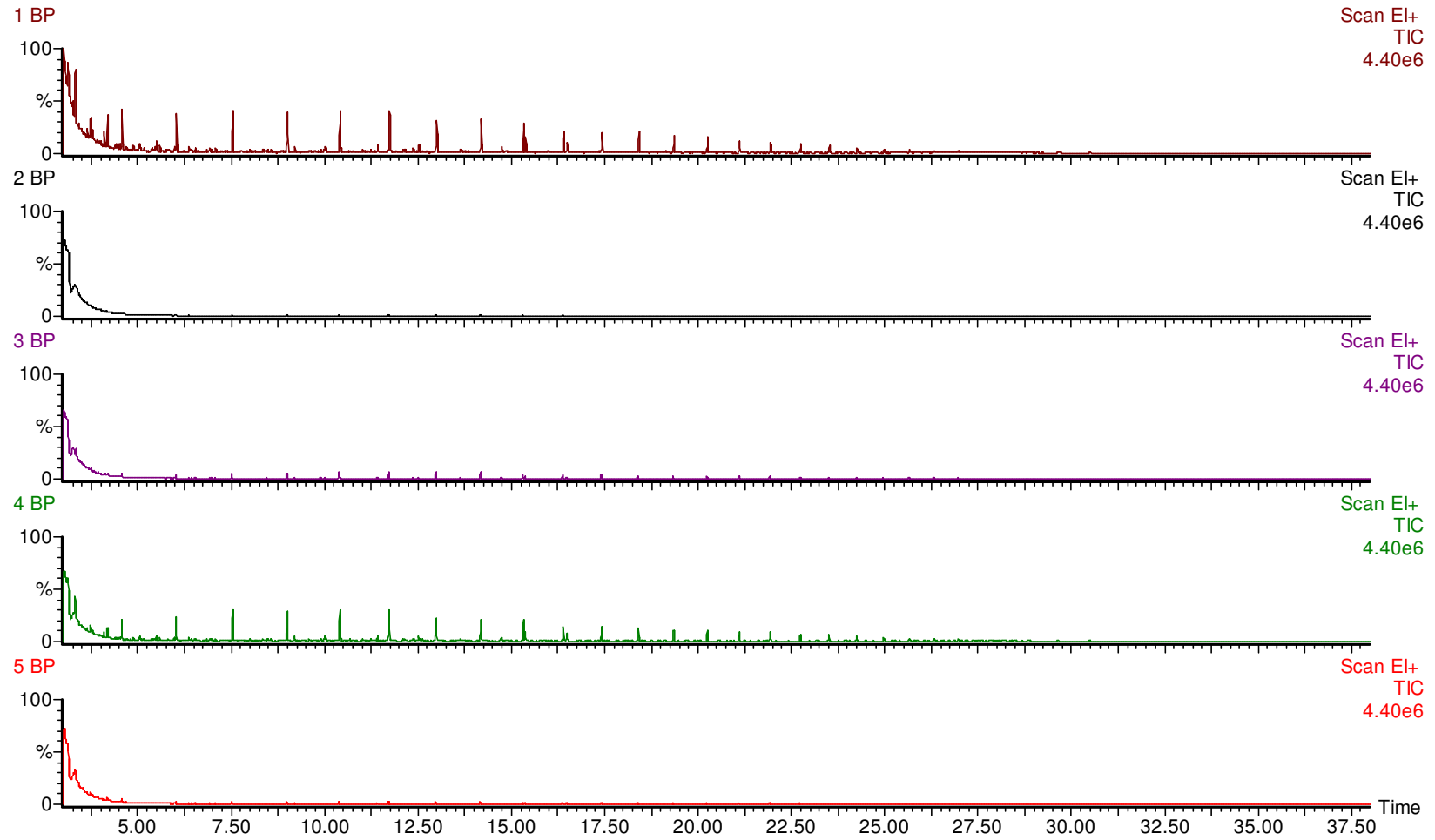
EK 27. *Vibrio fluvialis* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



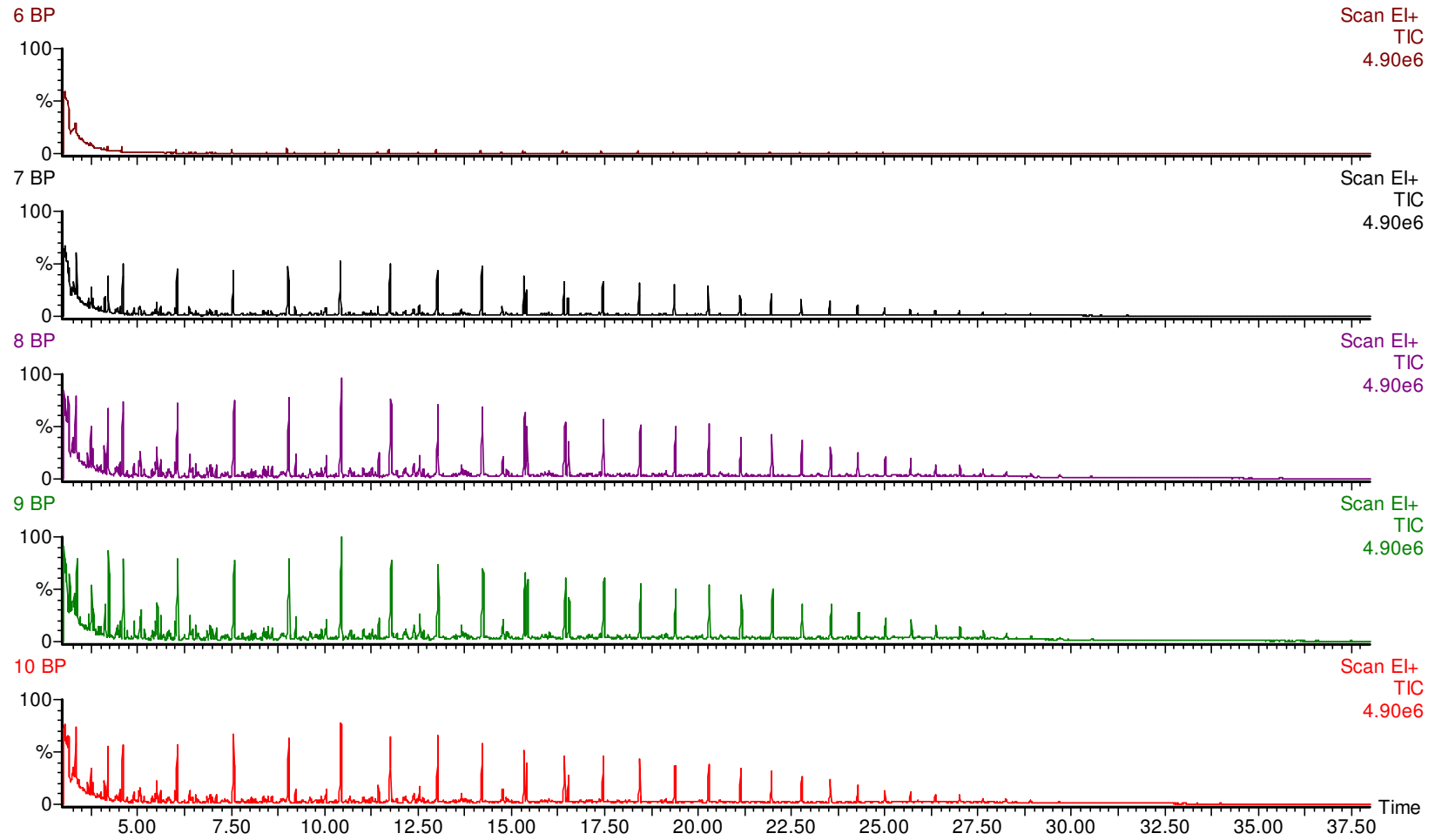
EK 28. *Pseudomonas aeruginosa*+ MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



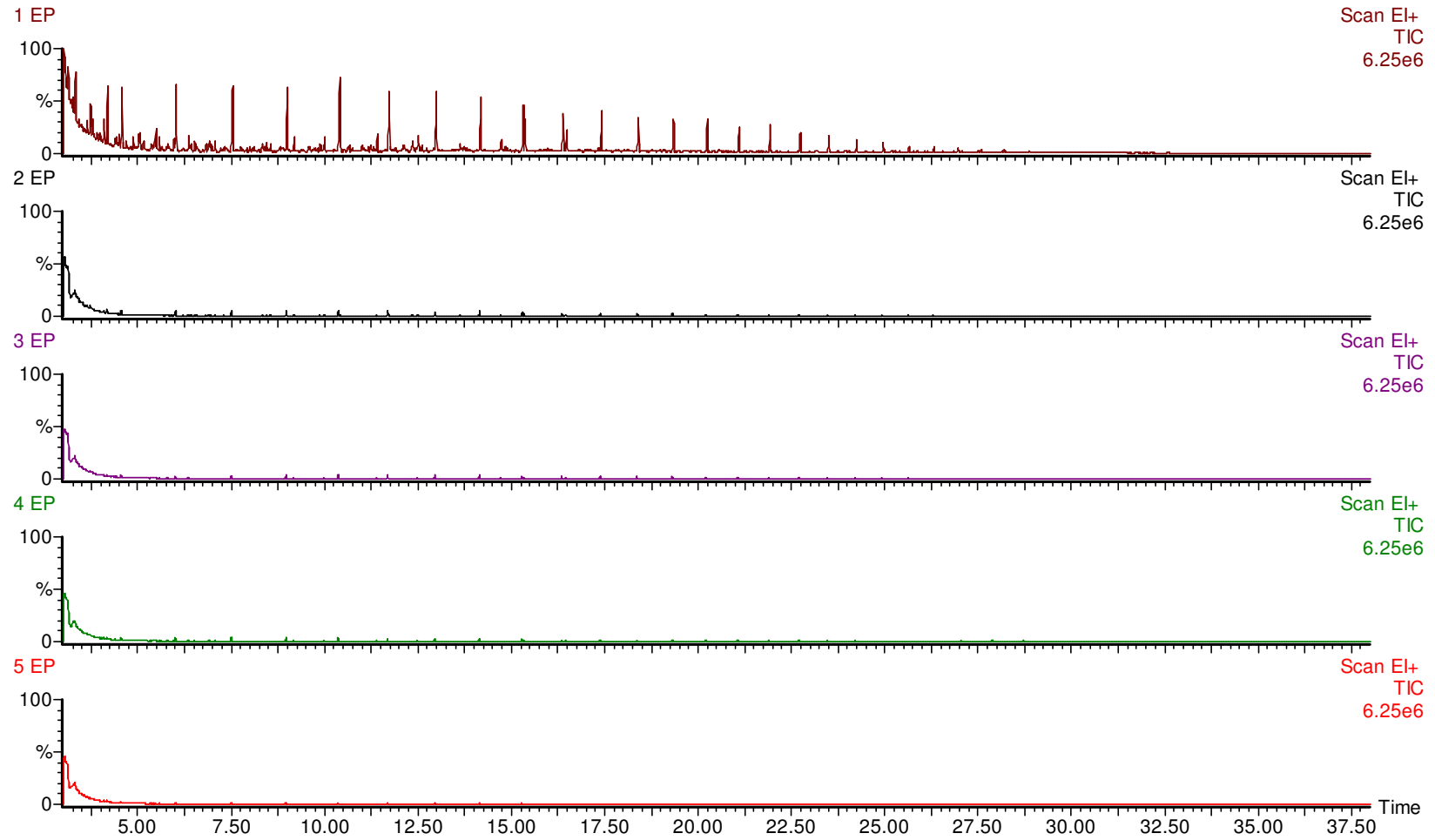
EK 29. *Pseudomonas aeruginosa*+ MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



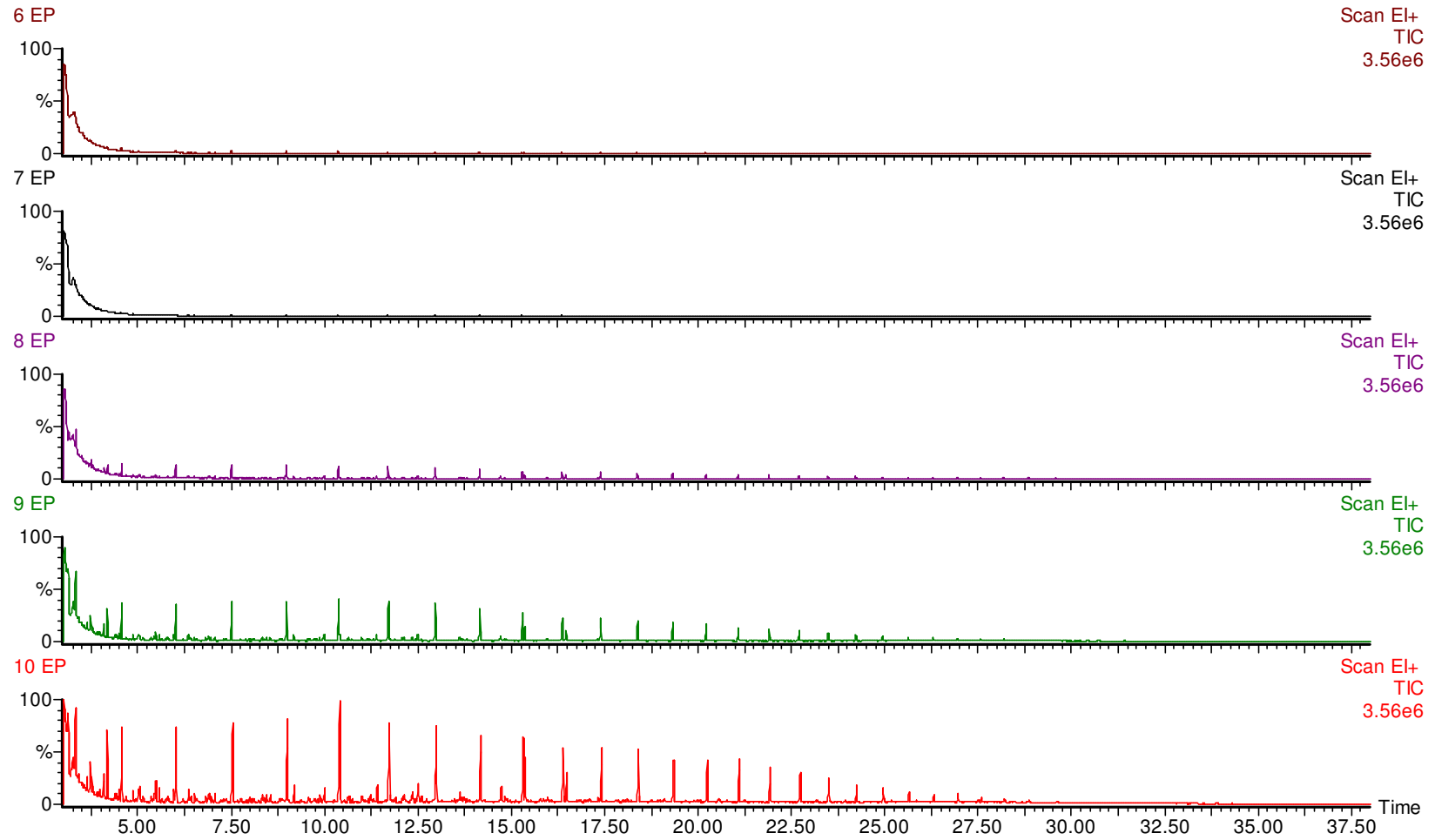
EK 30. *Bacillus subtilis* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



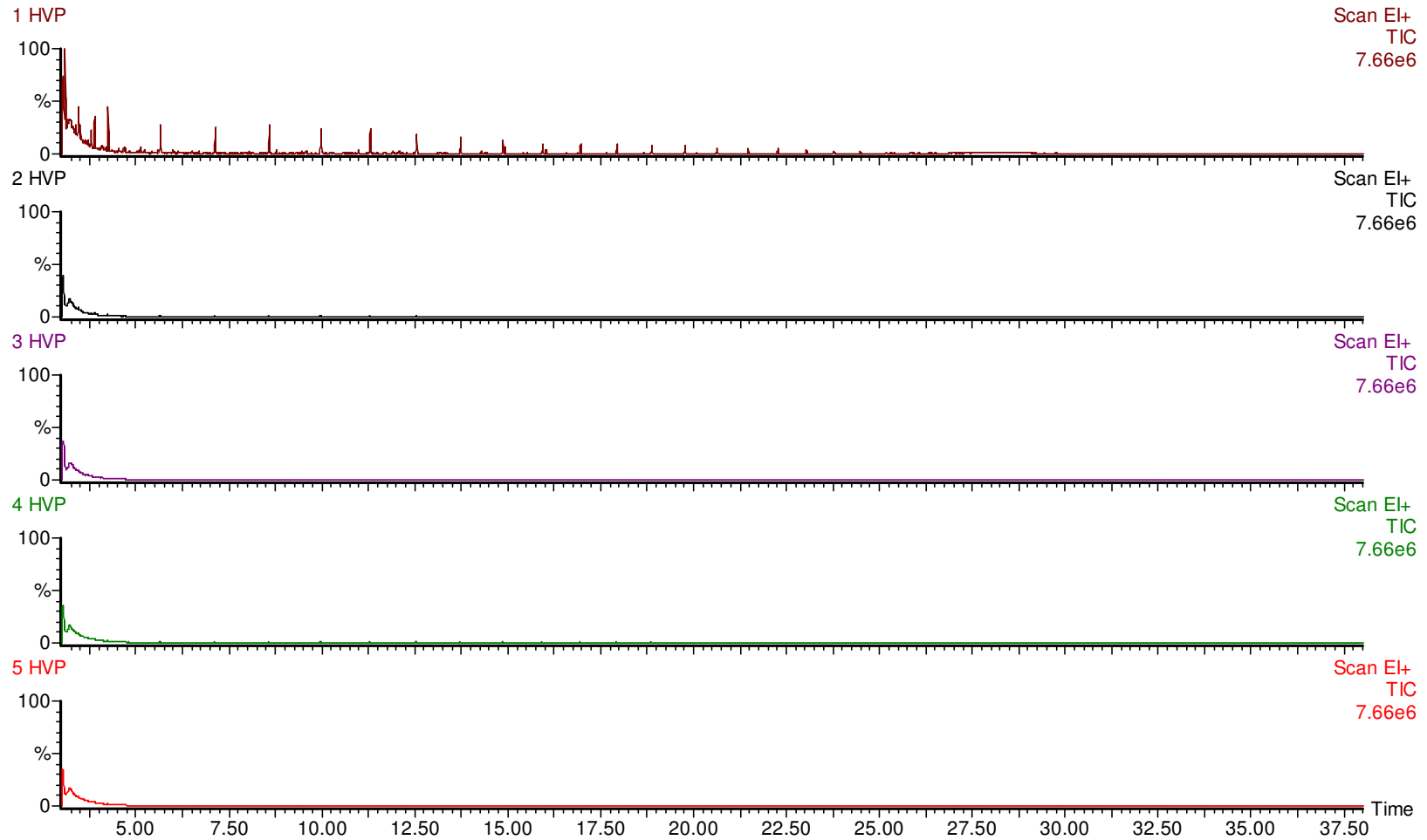
EK 31. *Bacillus subtilis* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



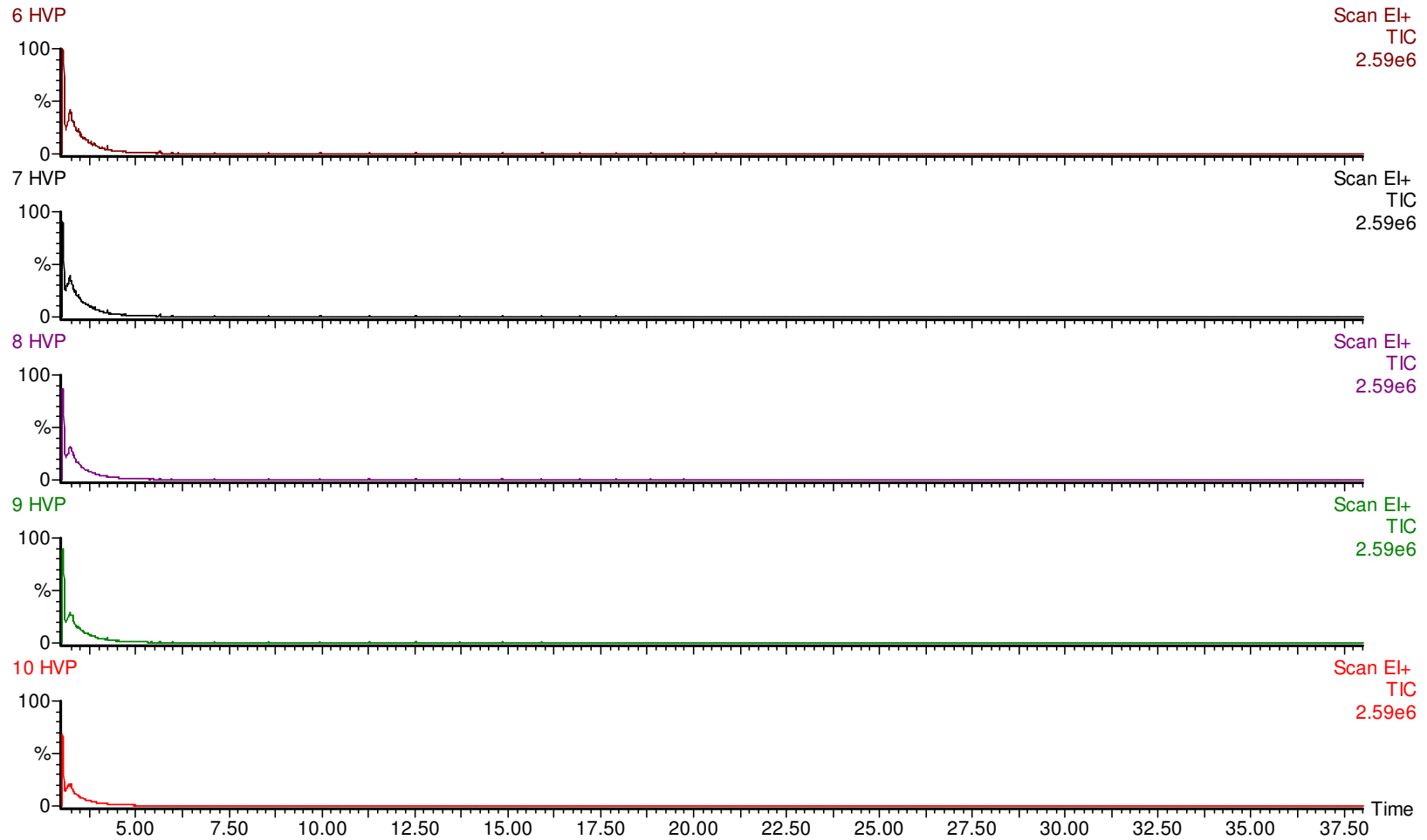
EK 32. *Escherichia coli* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



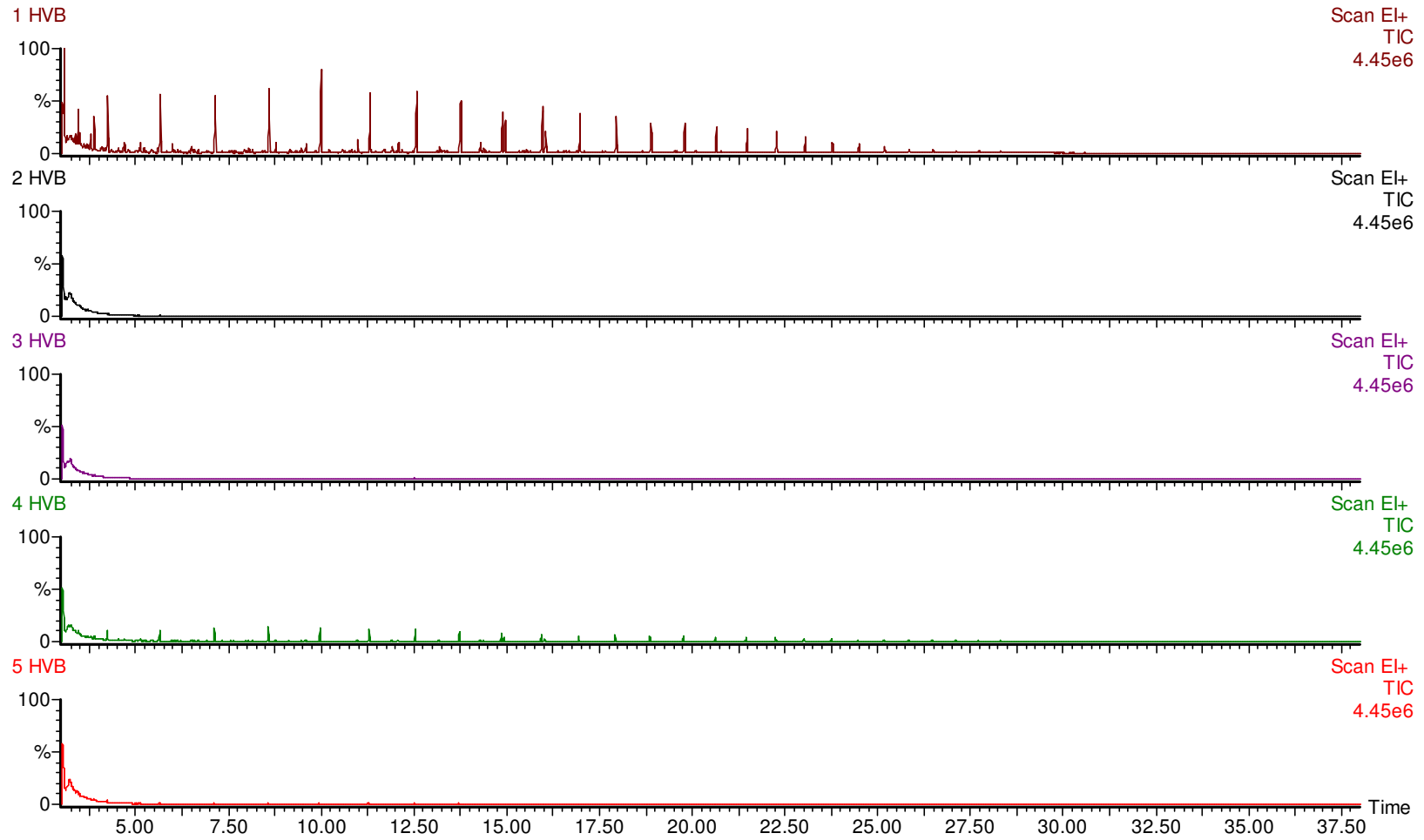
EK 33. *Escherichia coli* + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



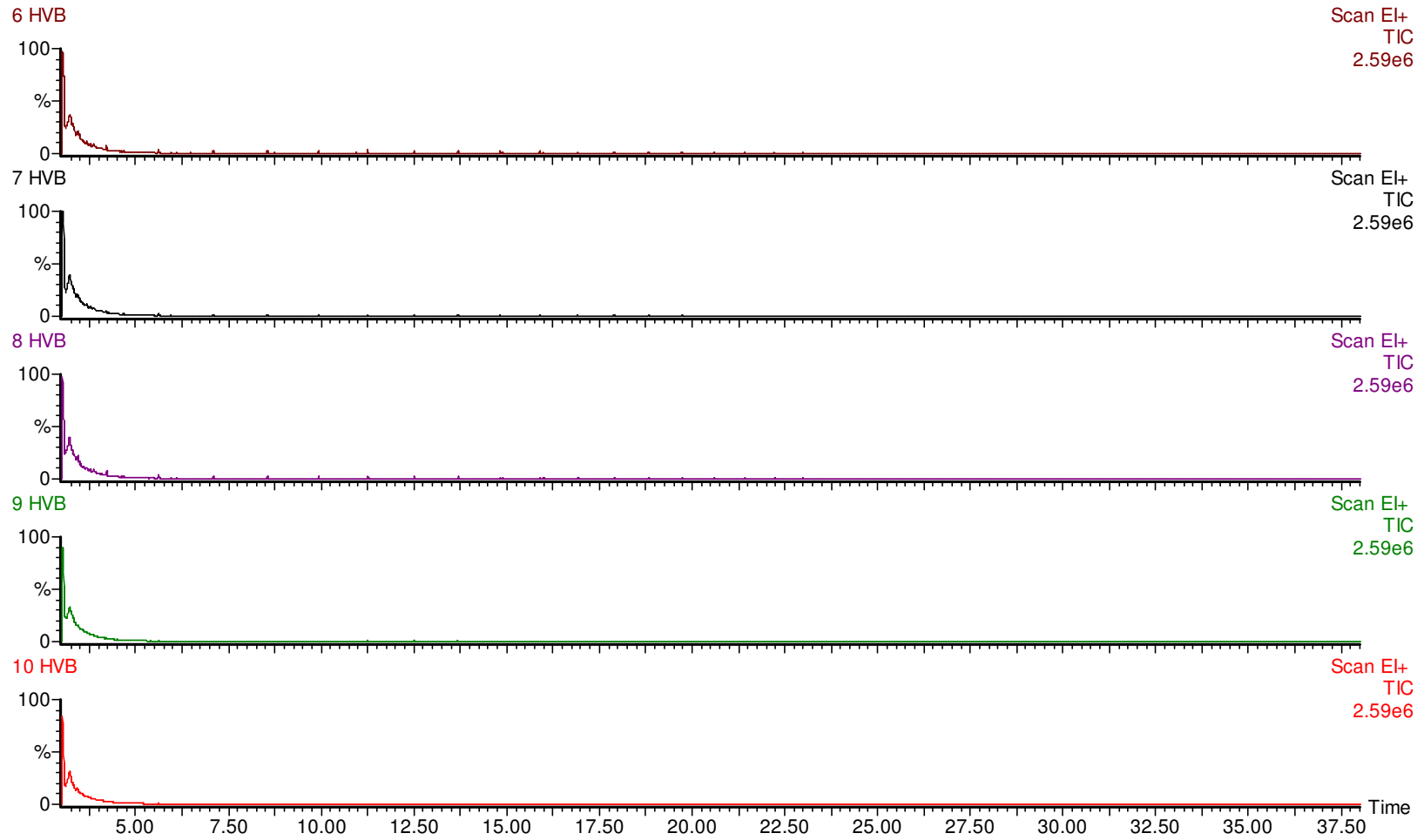
EK 34. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



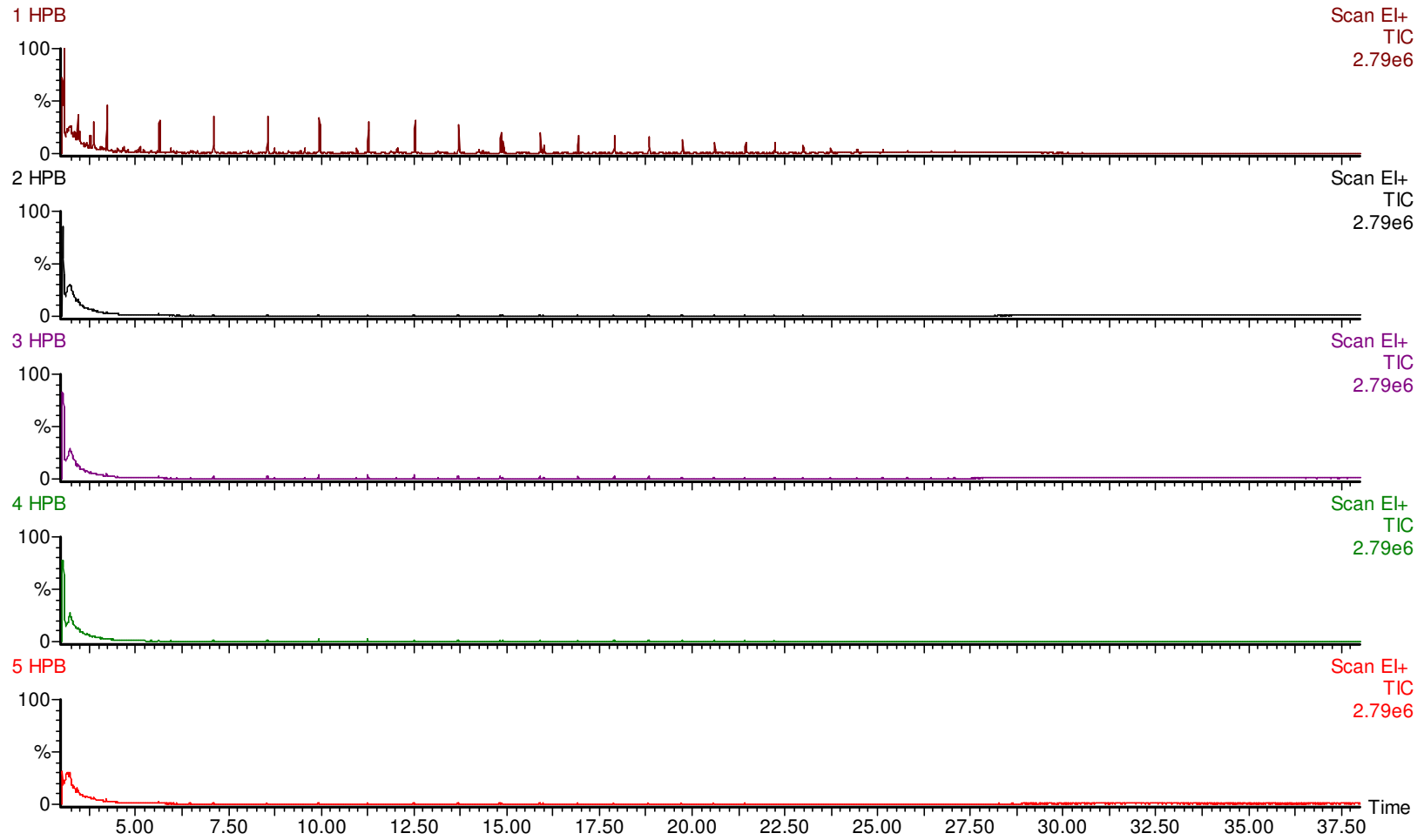
EK 35. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



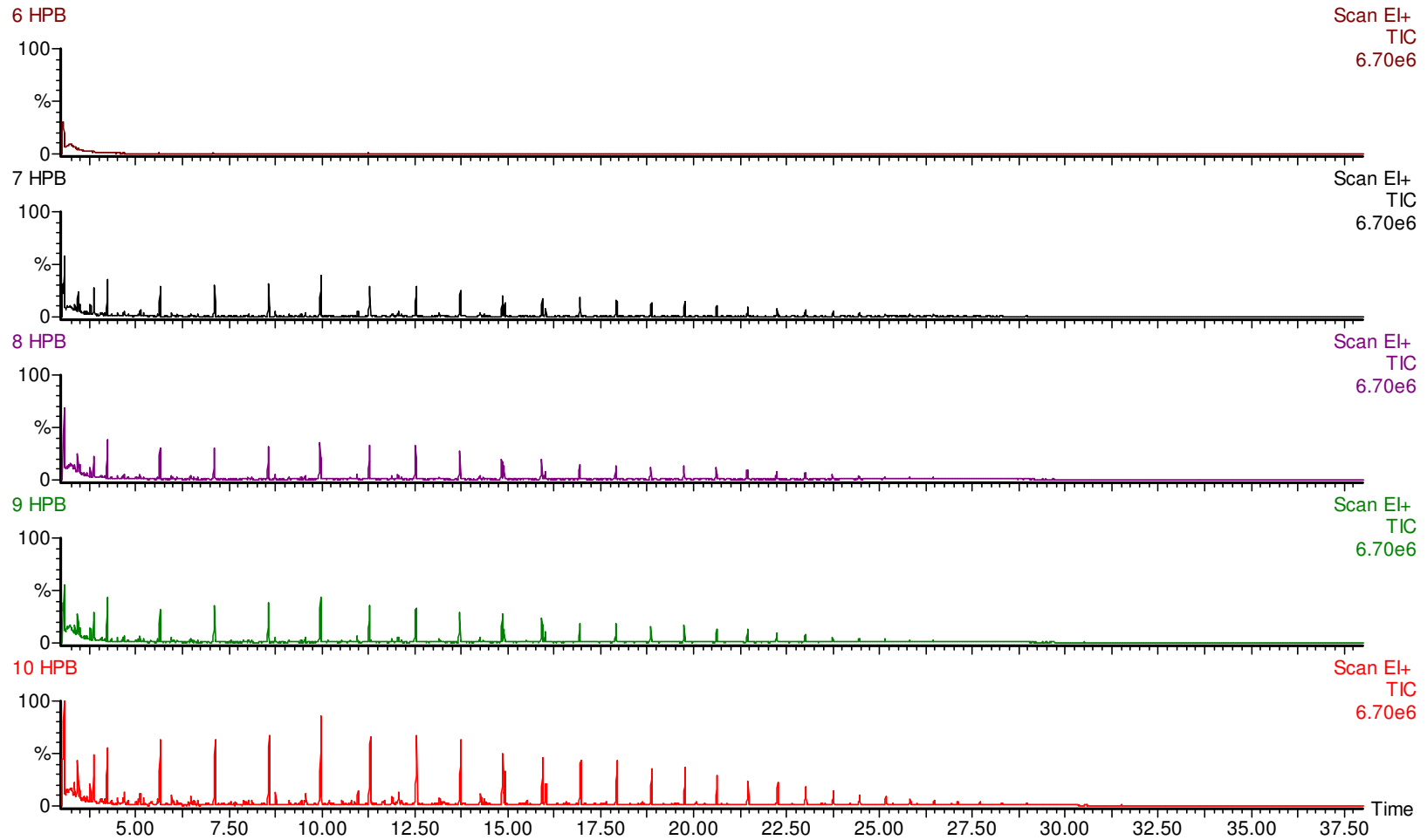
EK 36. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



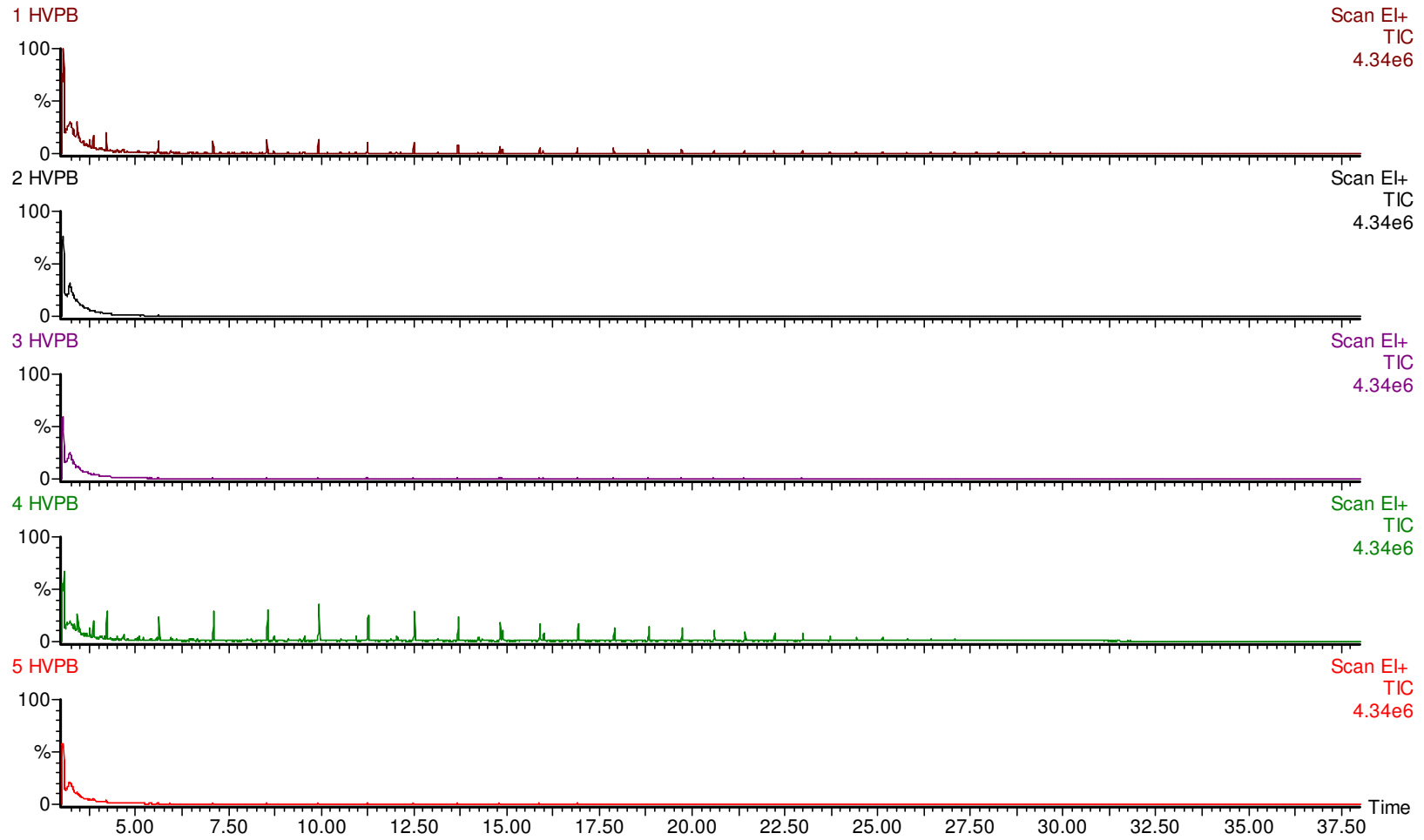
EK 37. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



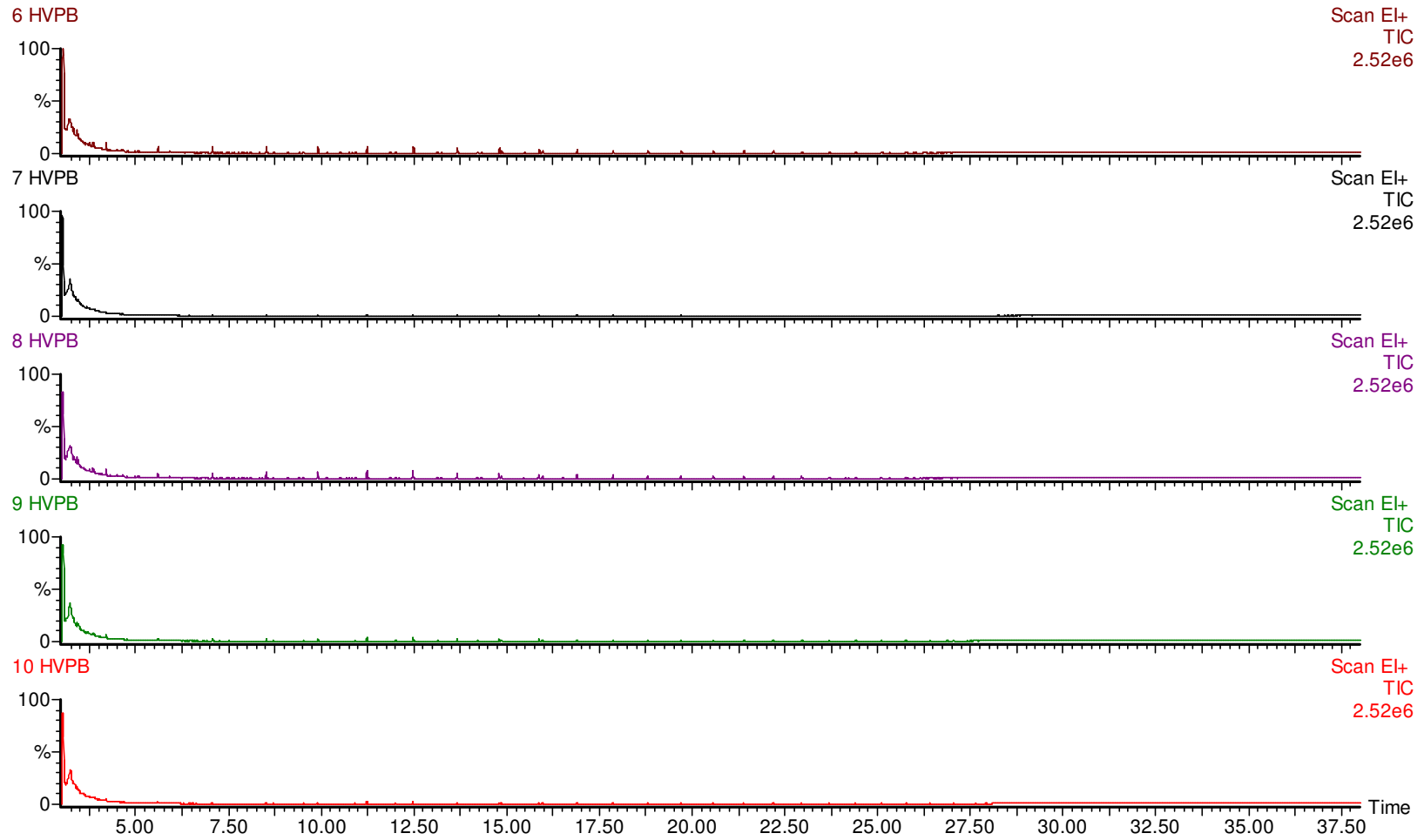
EK 38. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



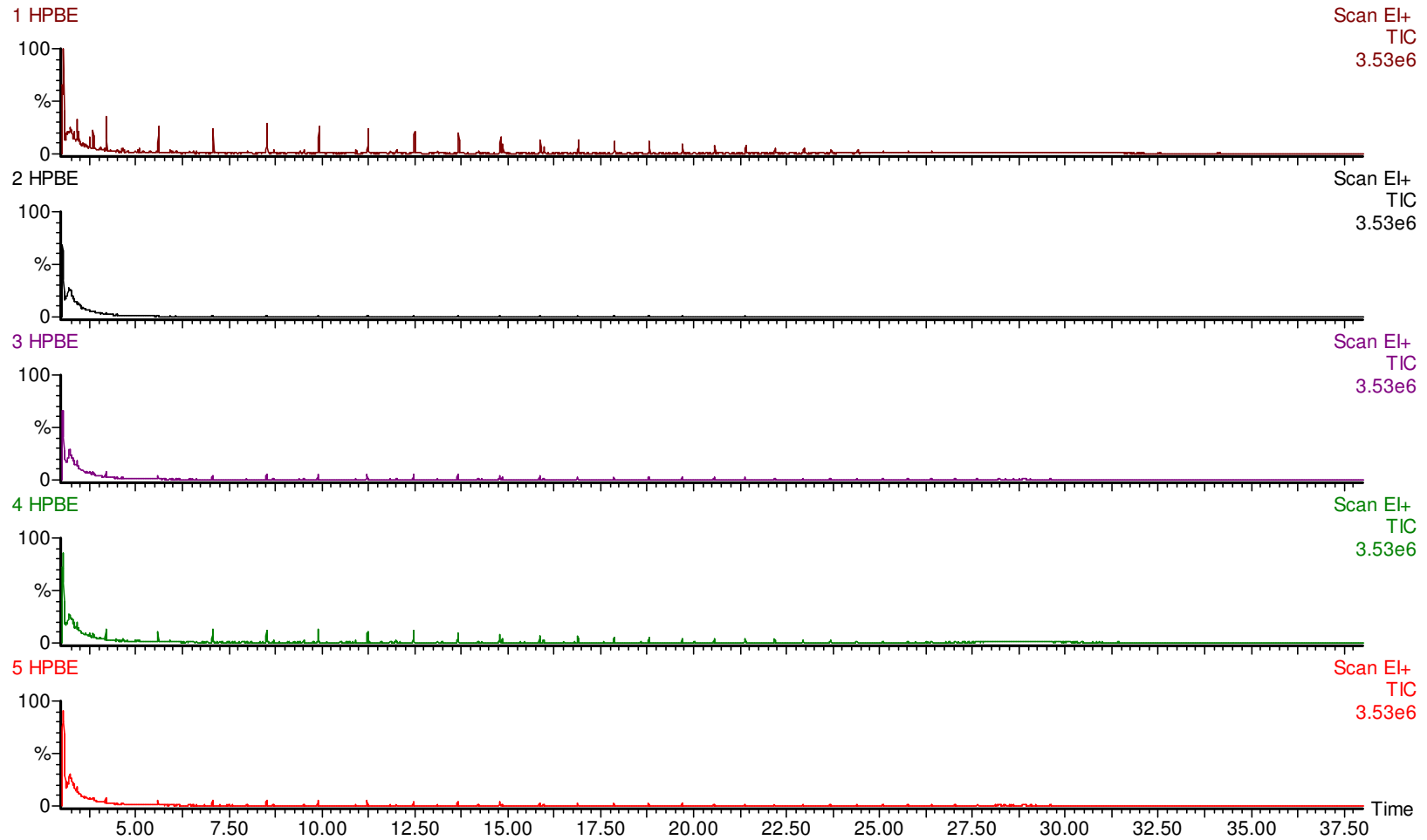
EK 39. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



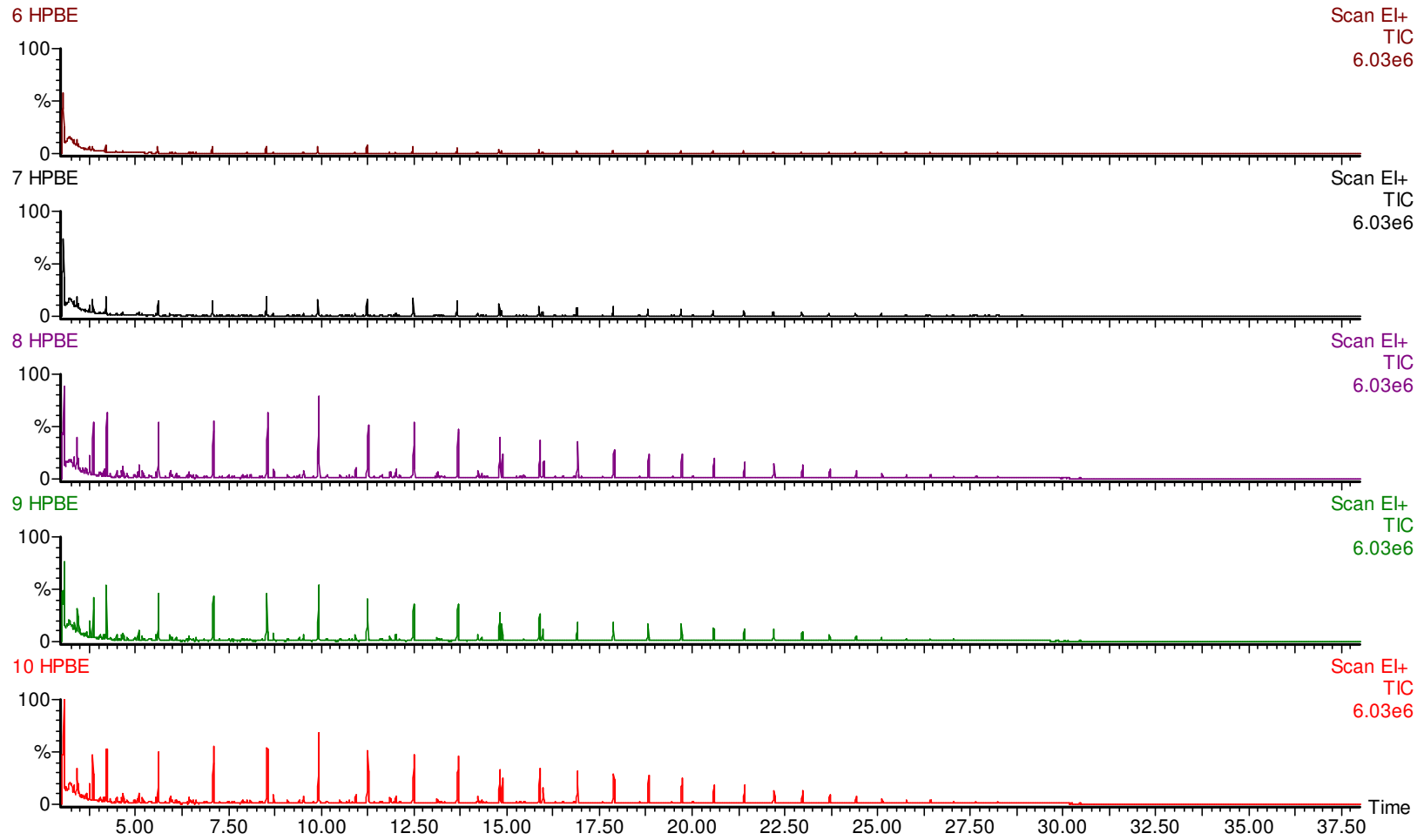
EK 40. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



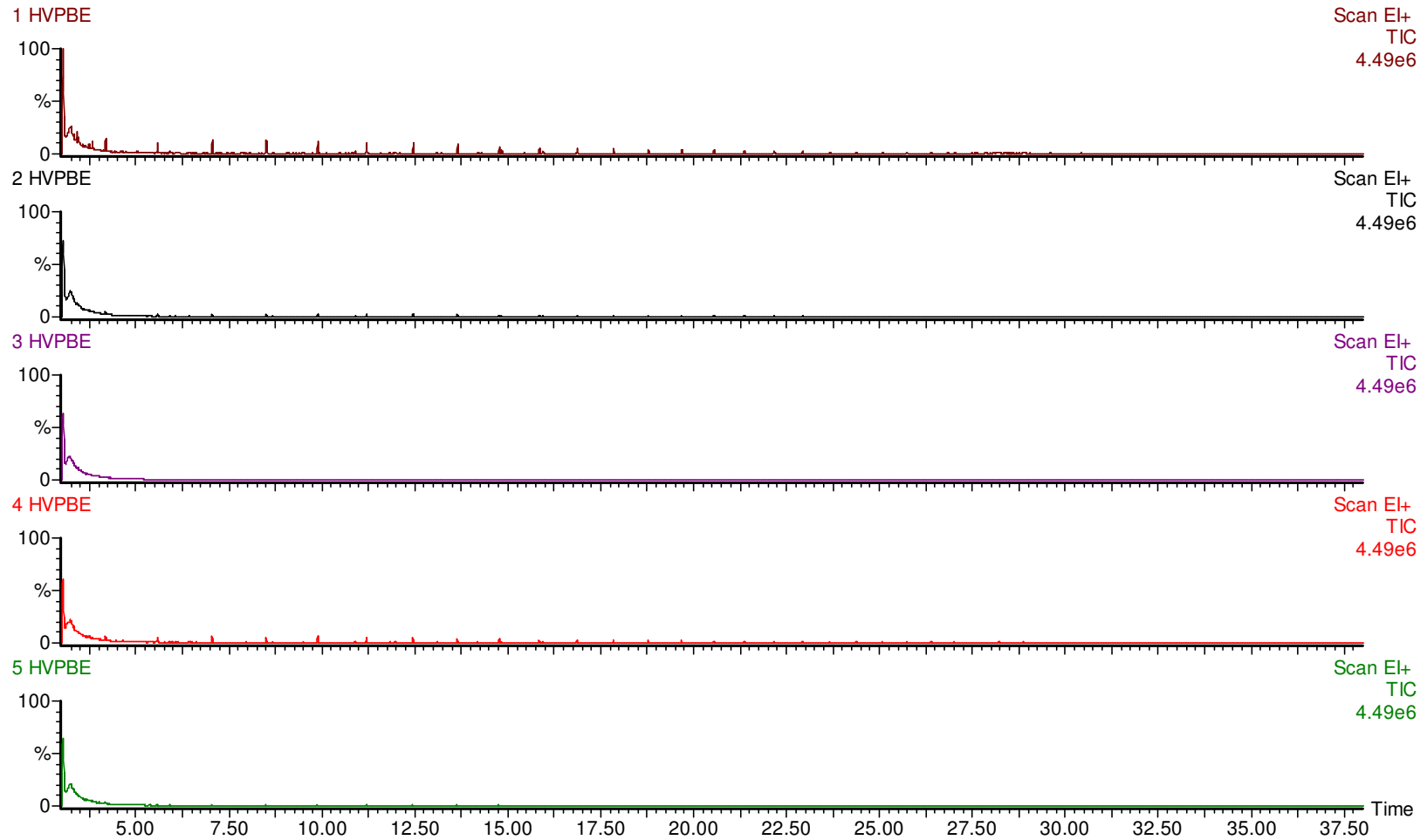
EK 41. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



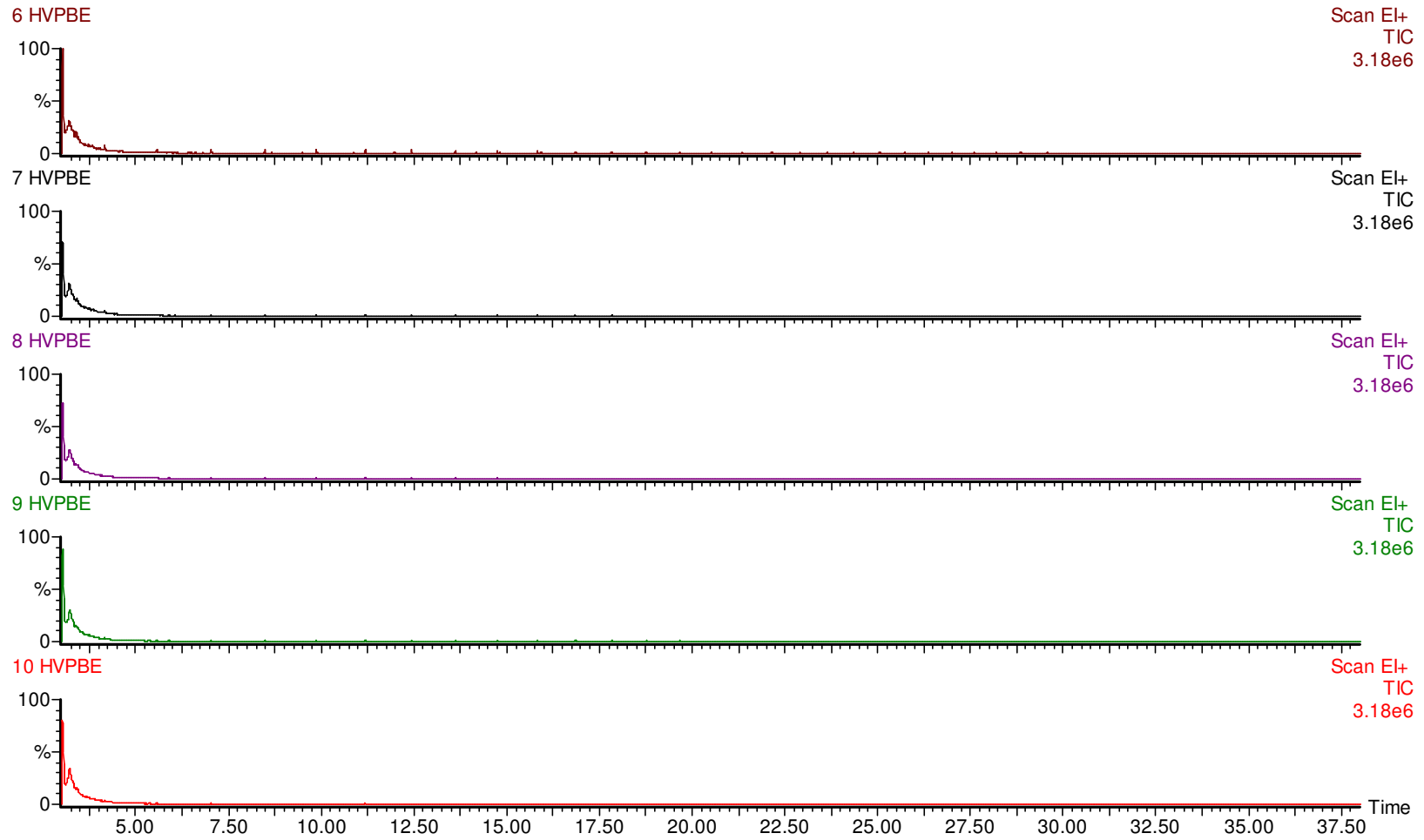
EK 42. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



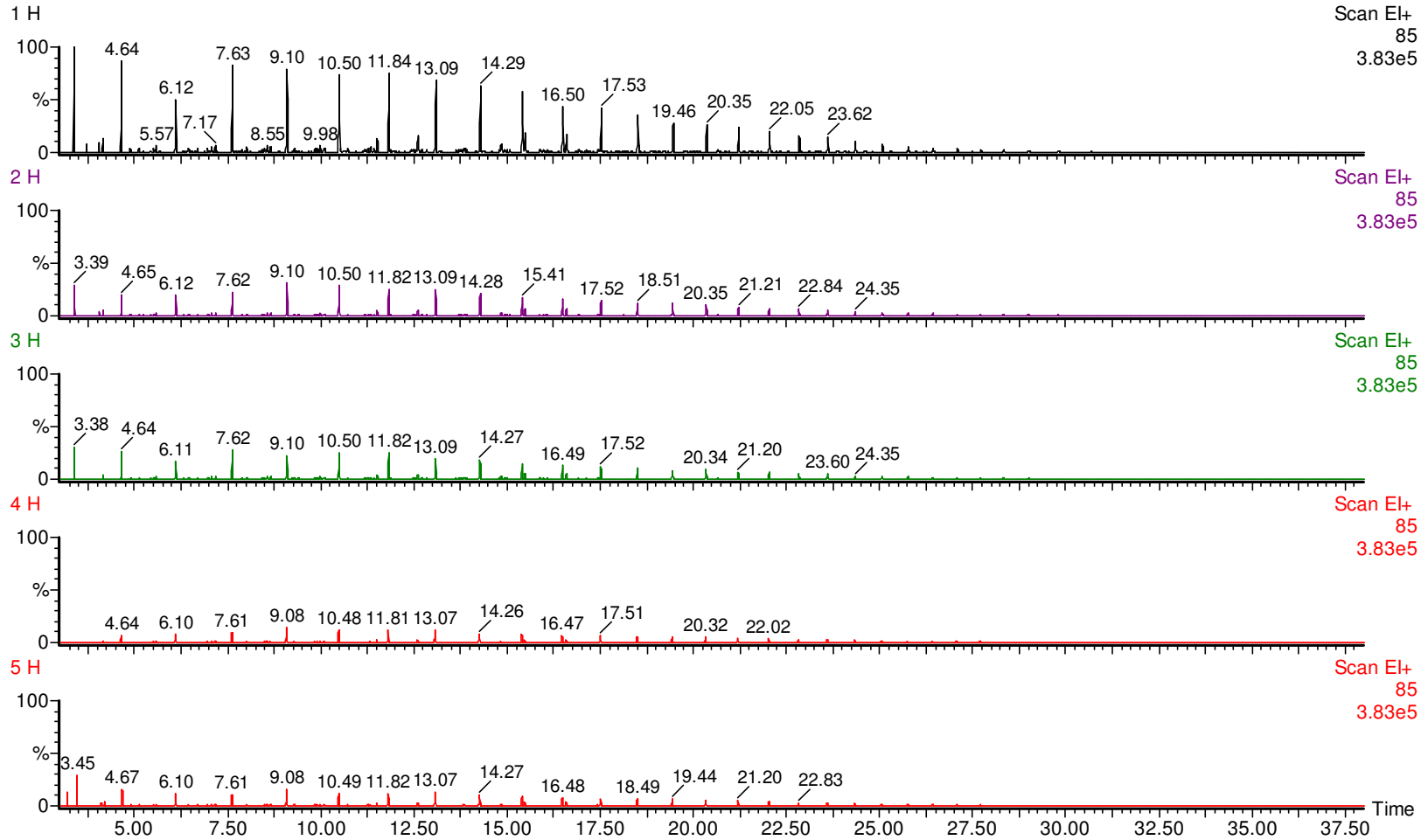
EK 43. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



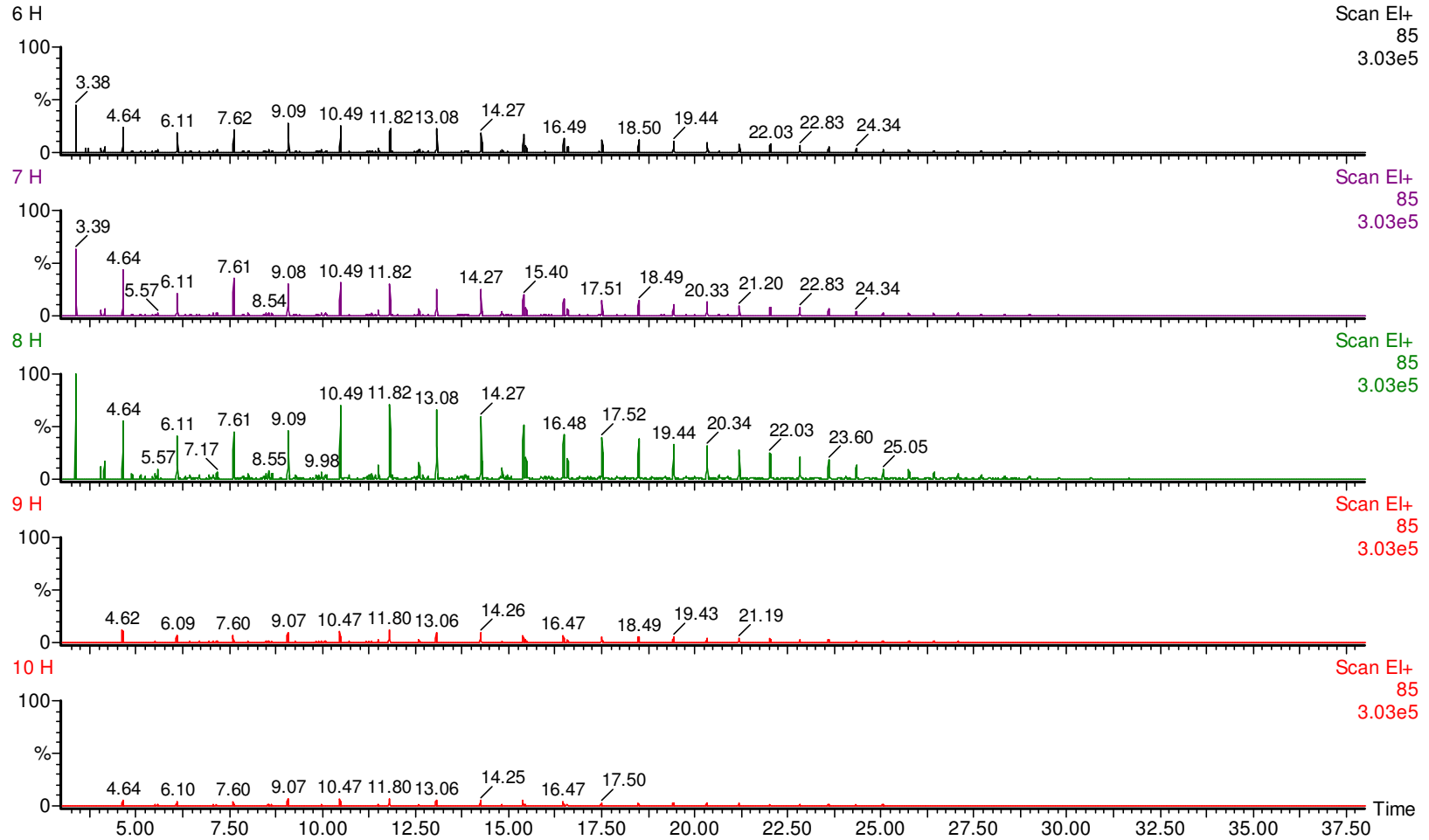
EK 44. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



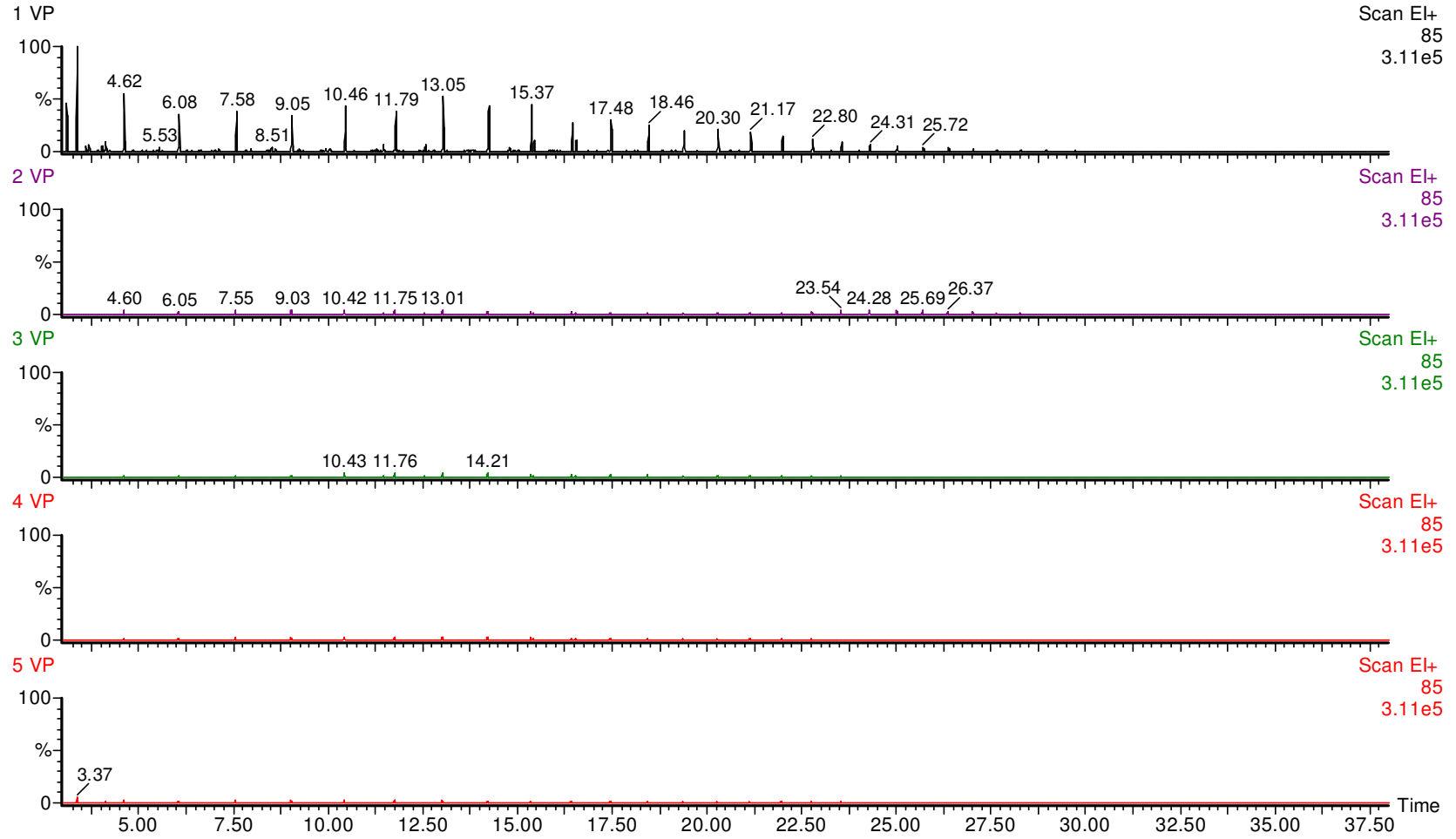
EK 45. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) + MSM + SBL ortamı; sırasıyla 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait toplam iyon kromatogramları (TIC)



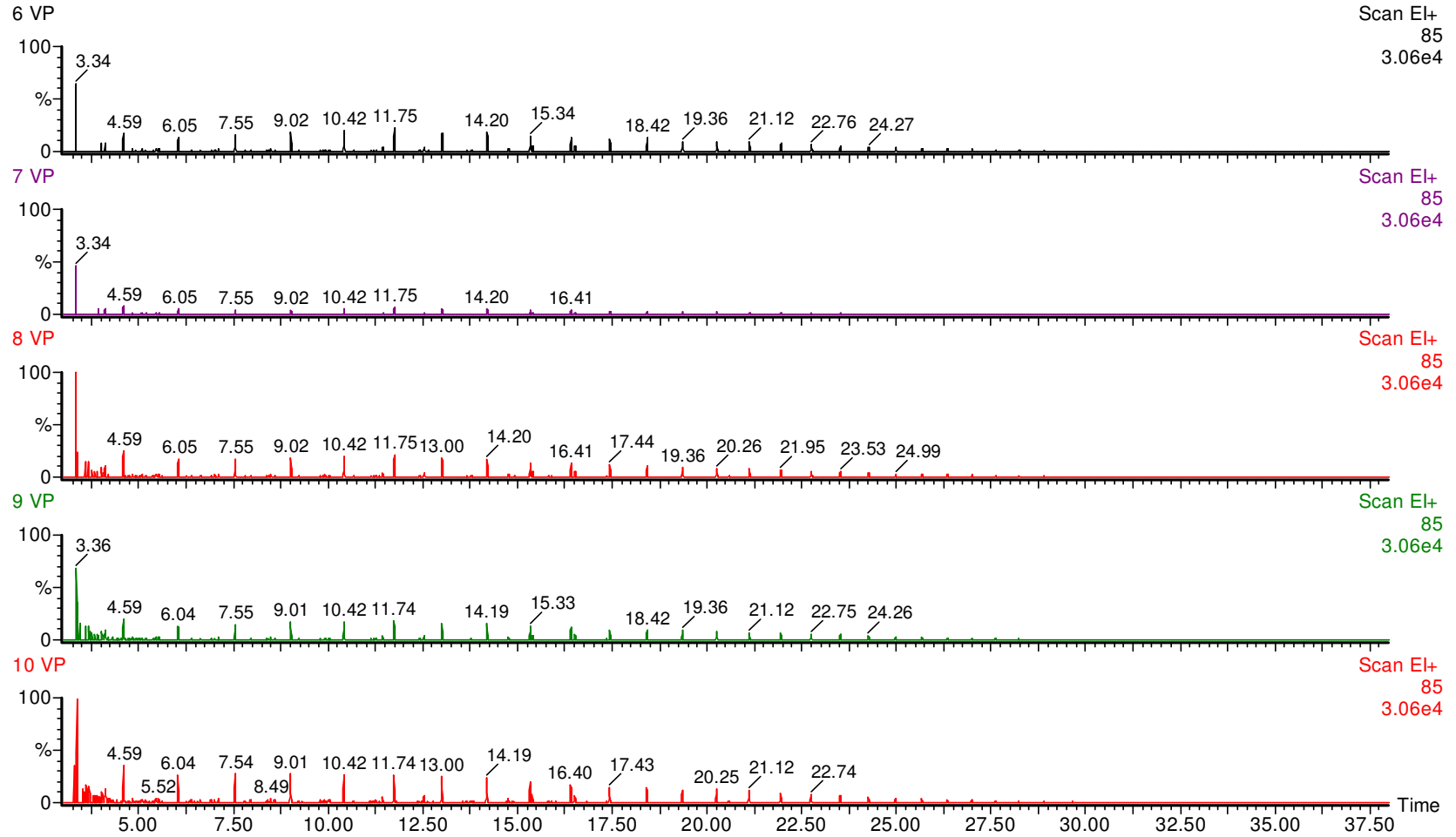
EK 46. Negatif kontrol olan SBL+MSM ortamı; 0.,7.,10.,13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



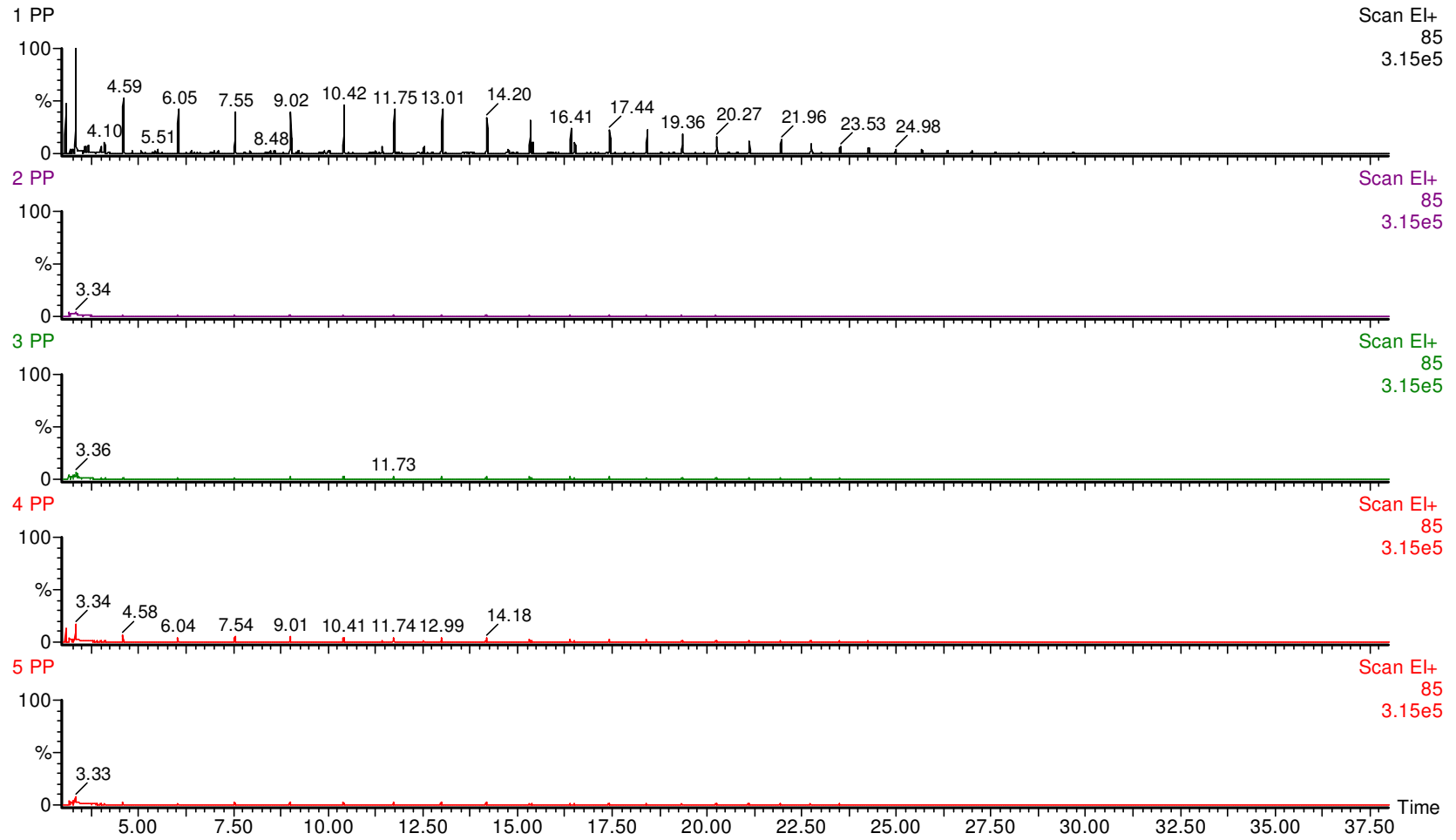
EK 47. Negatif kontrol olan SBL+MSM ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



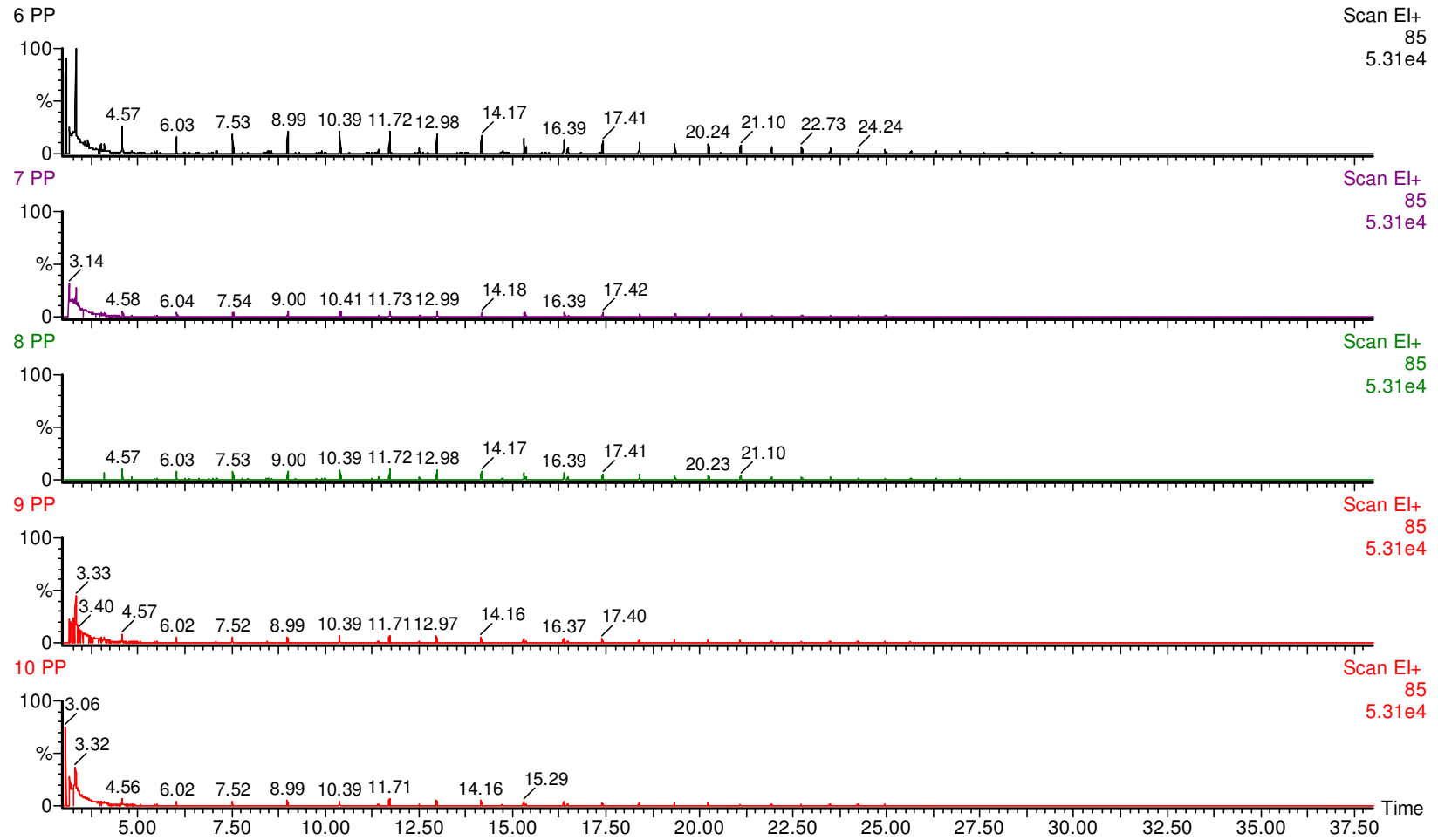
EK 48. *Vibrio fluvialis* +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



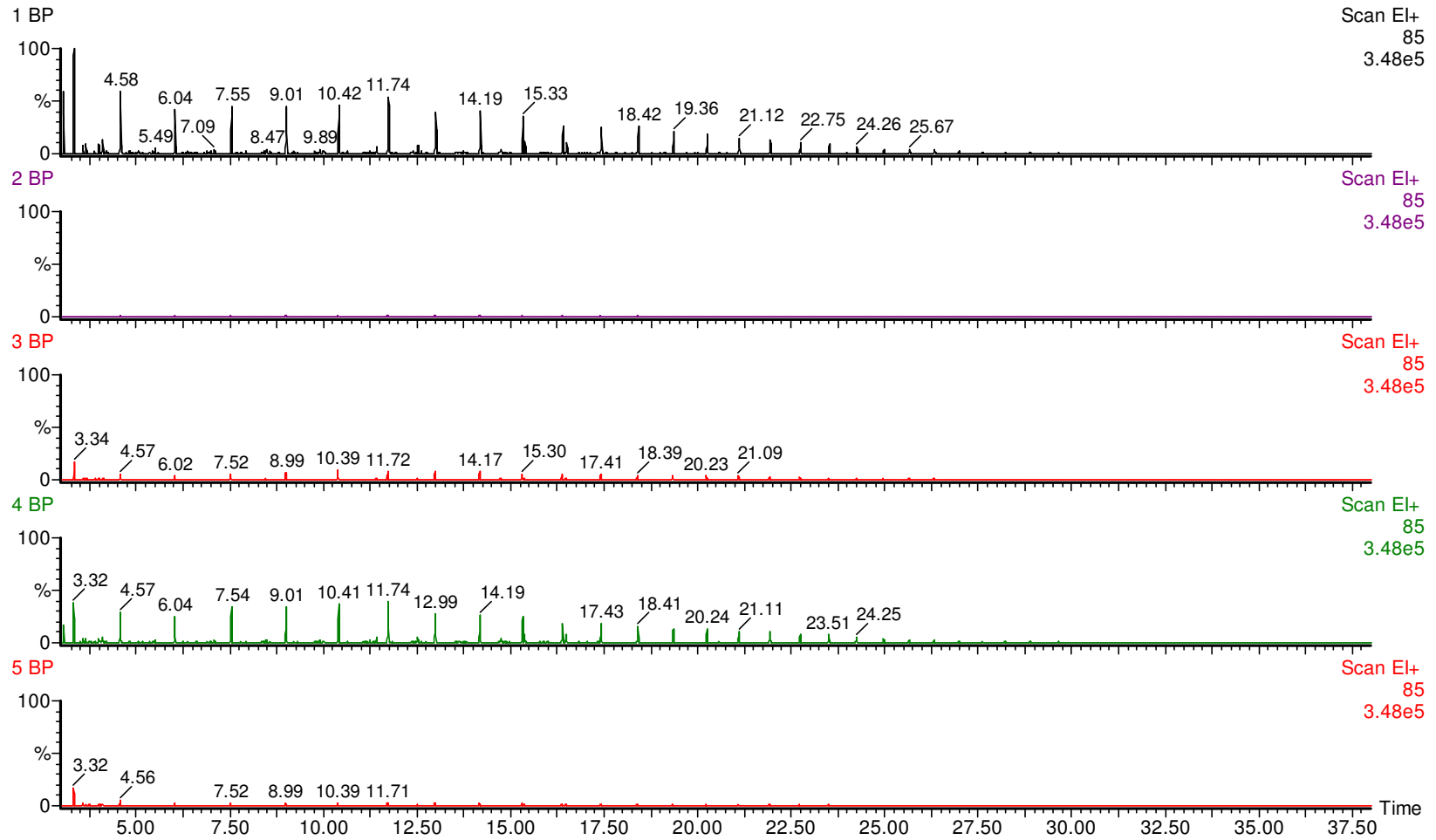
EK 49. *Vibrio fluvialis* +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



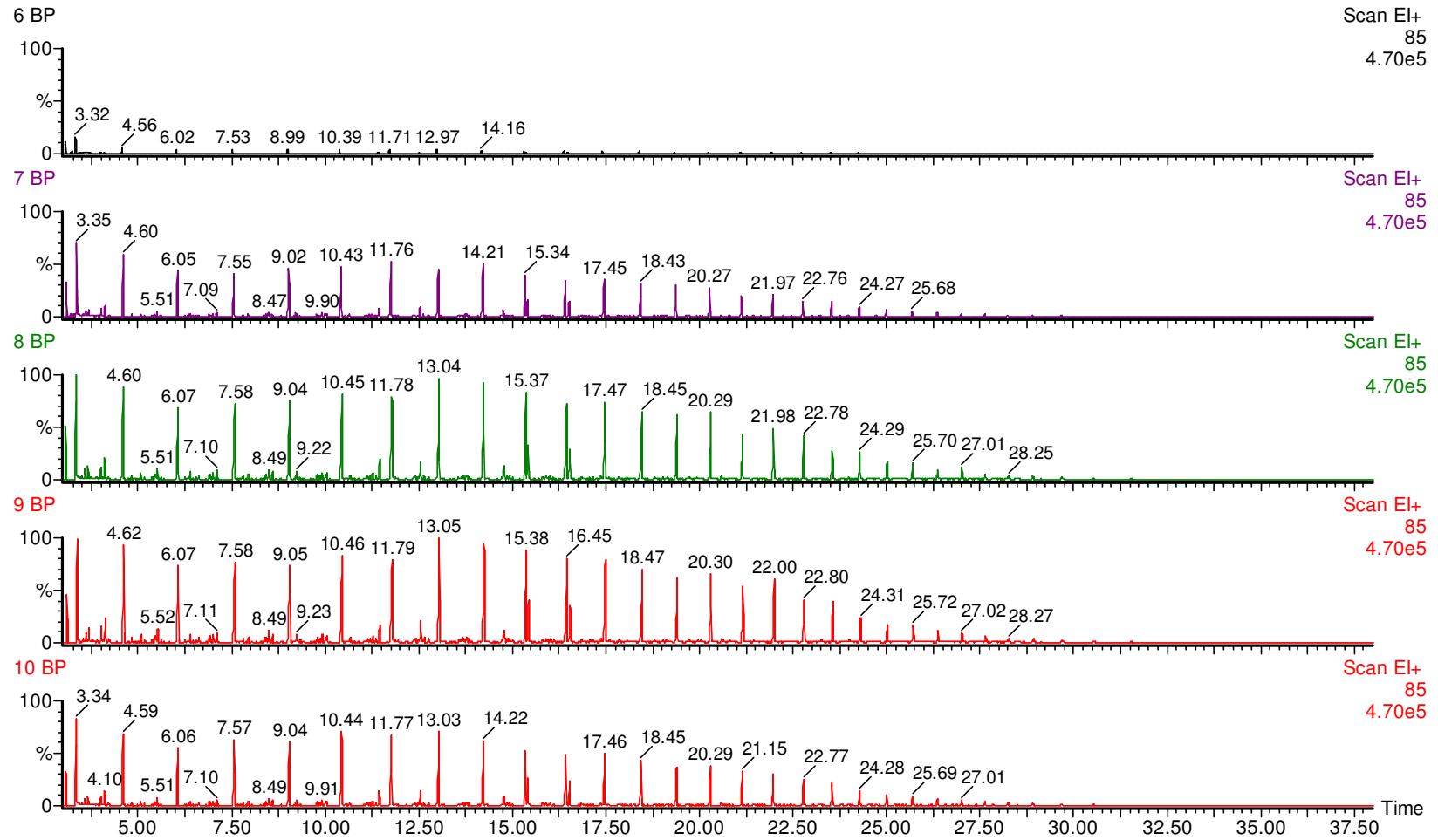
EK 50. *Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



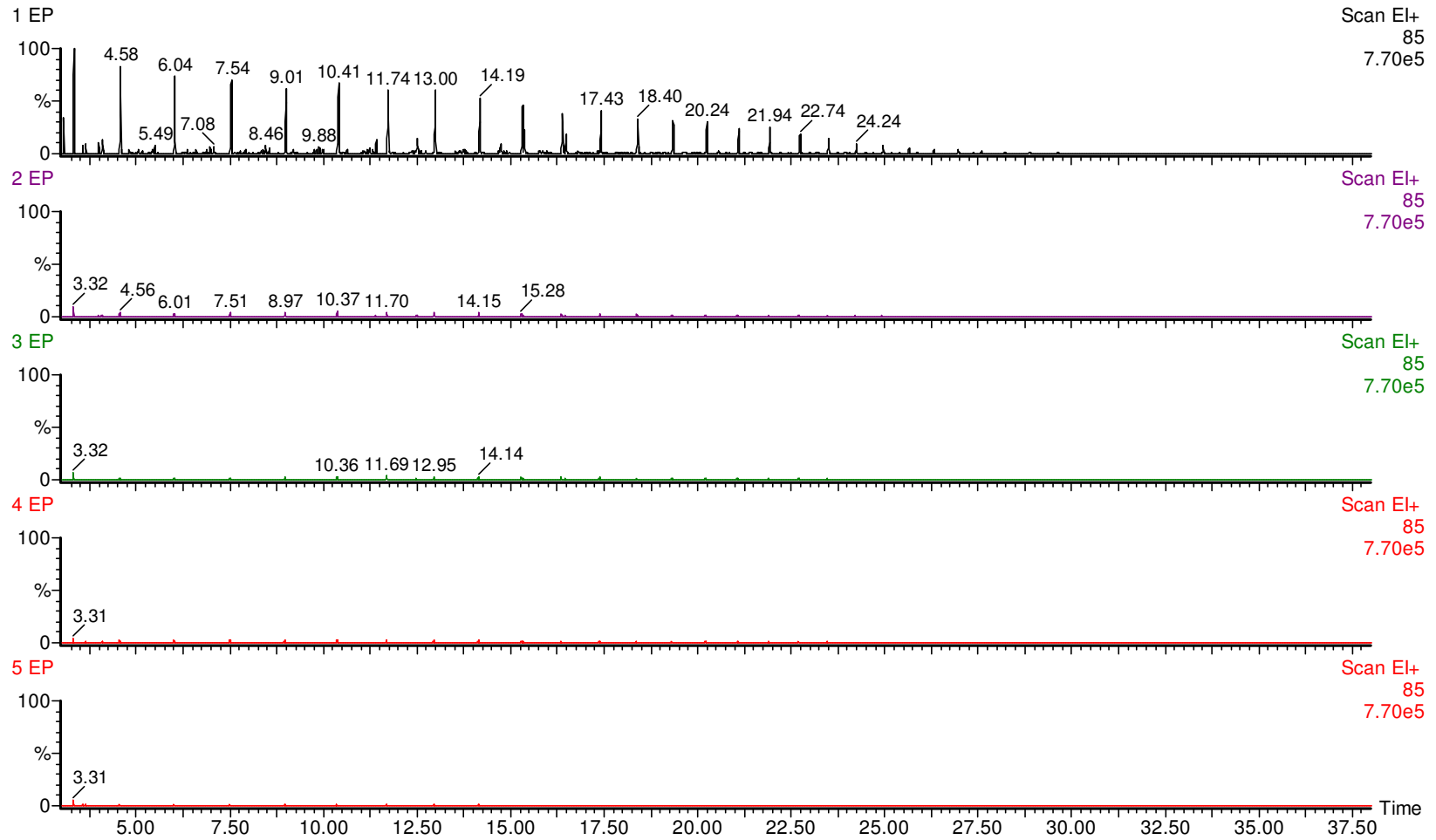
EK 51. *Pseudomonas aeruginosa*+MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



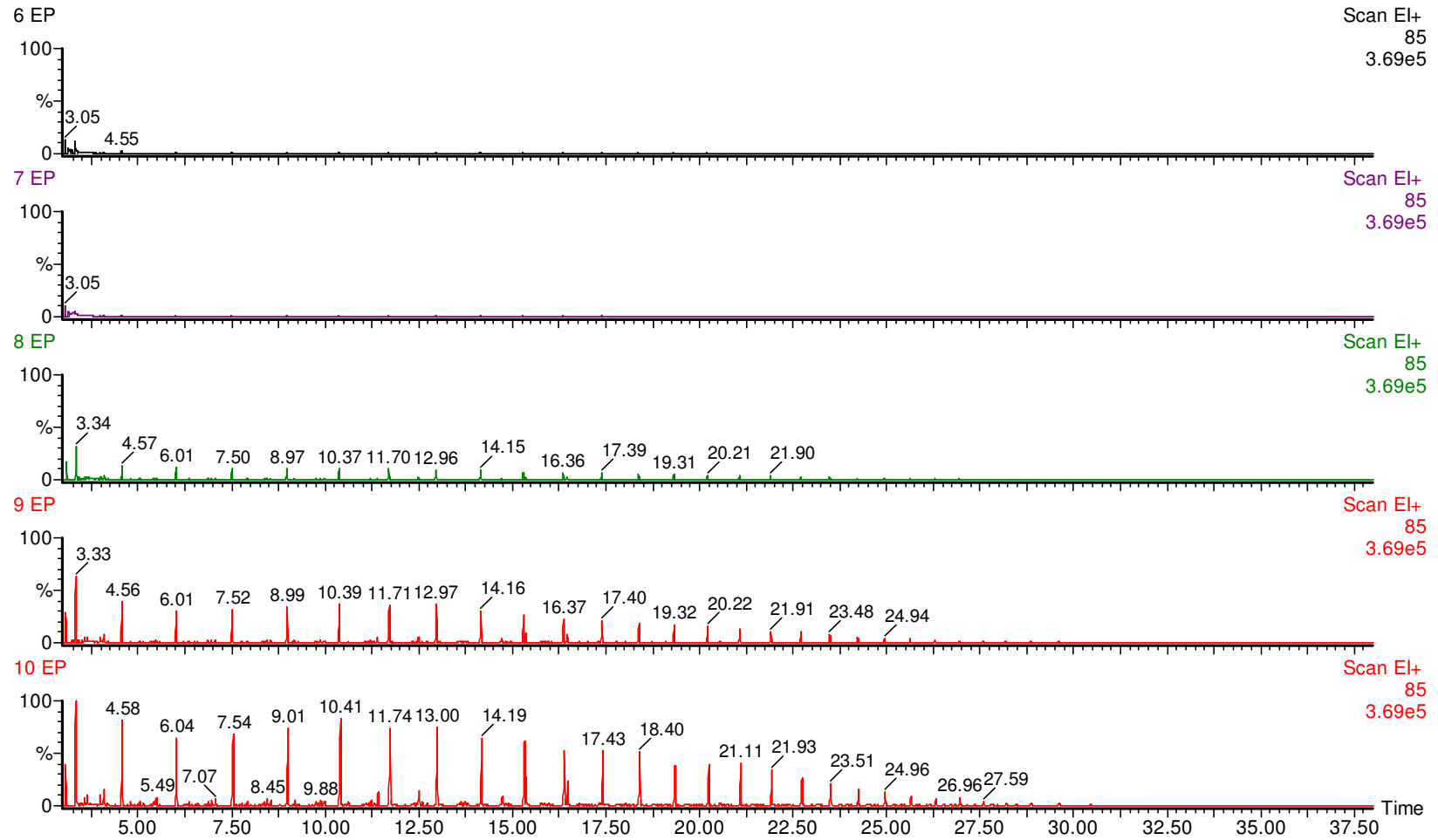
EK 52. *Bacillus subtilis* +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



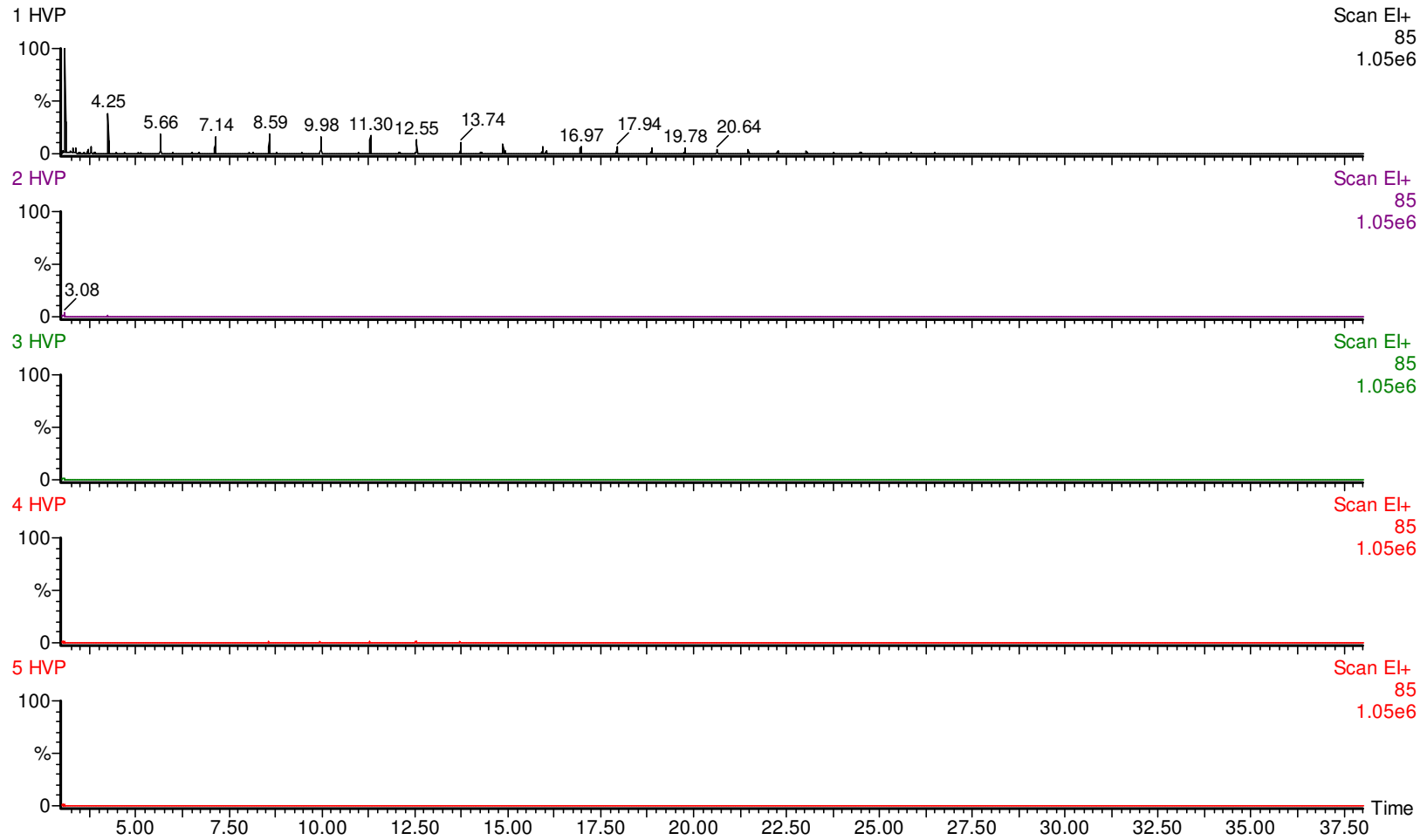
EK 53. *Bacillus subtilis* +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



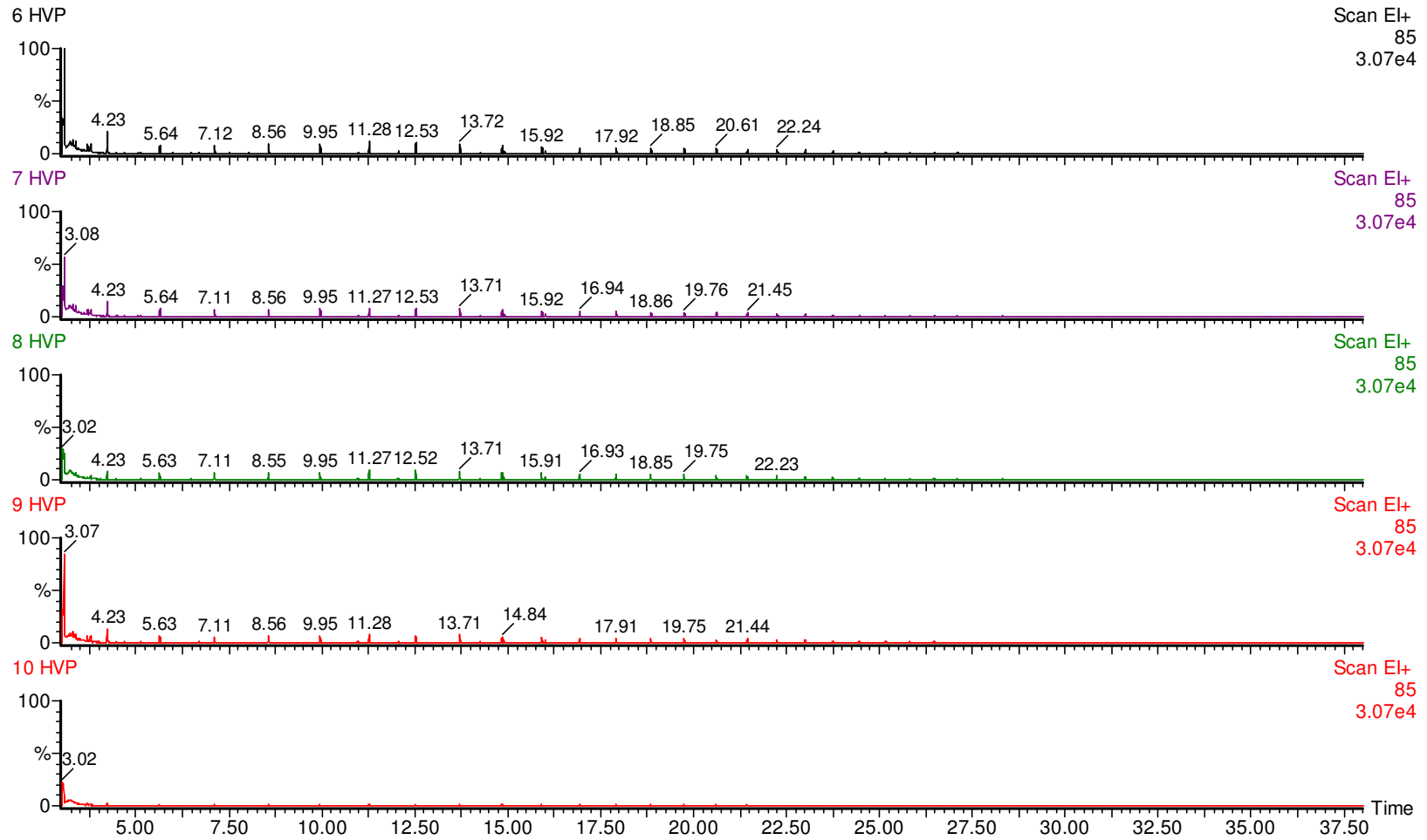
EK 54. *Escherichia coli* +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



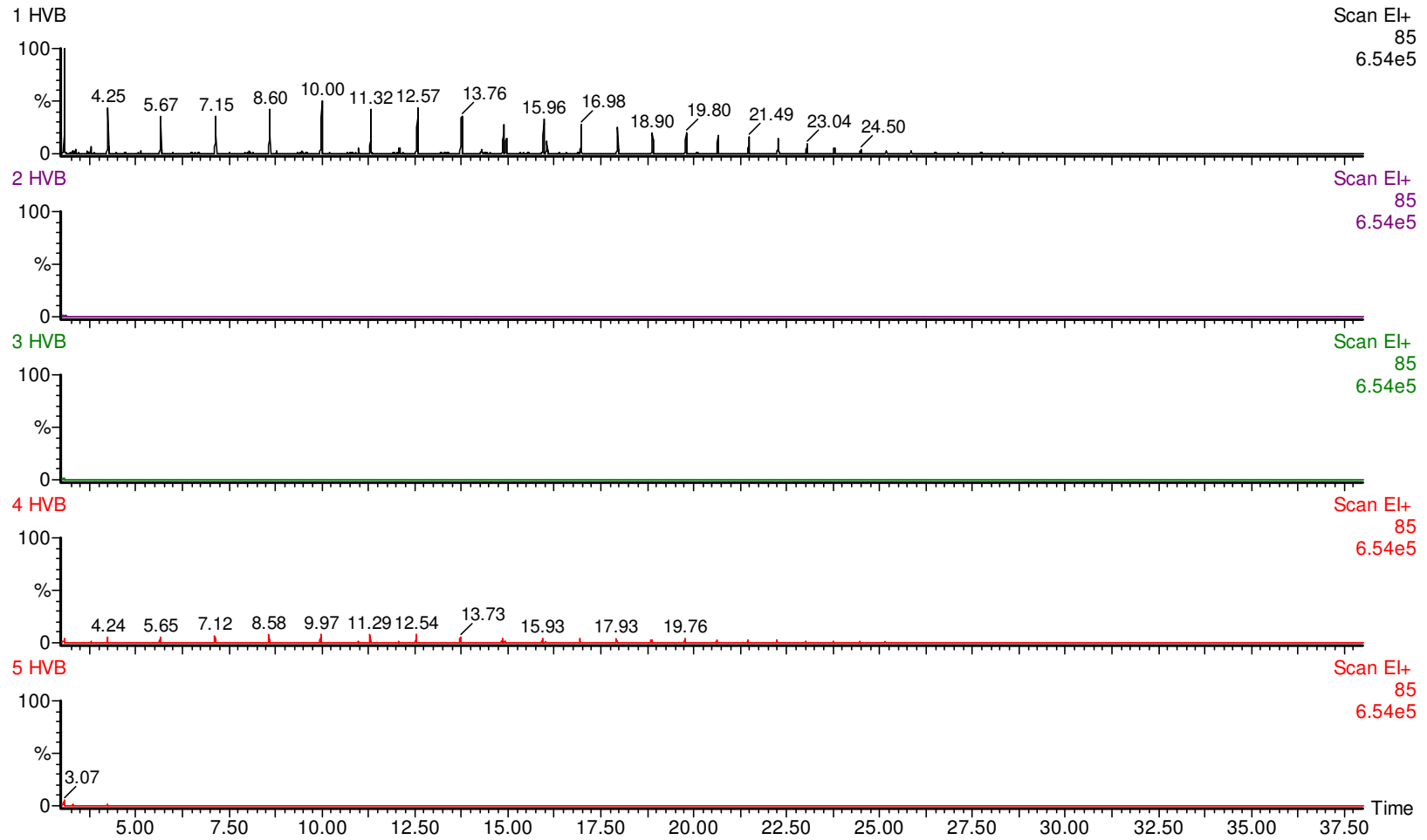
EK 55. *Escherichia coli* +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



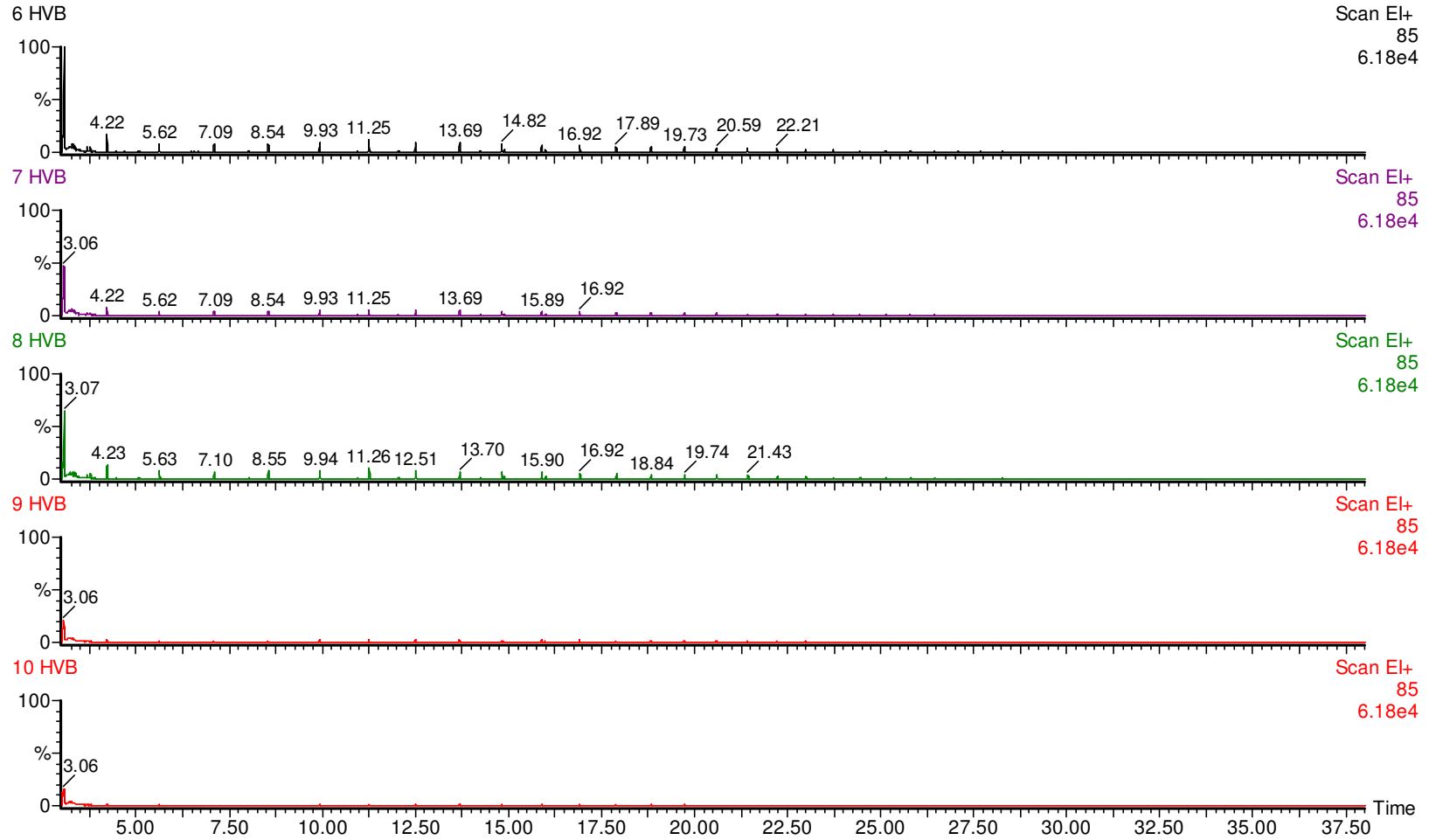
EK 56. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



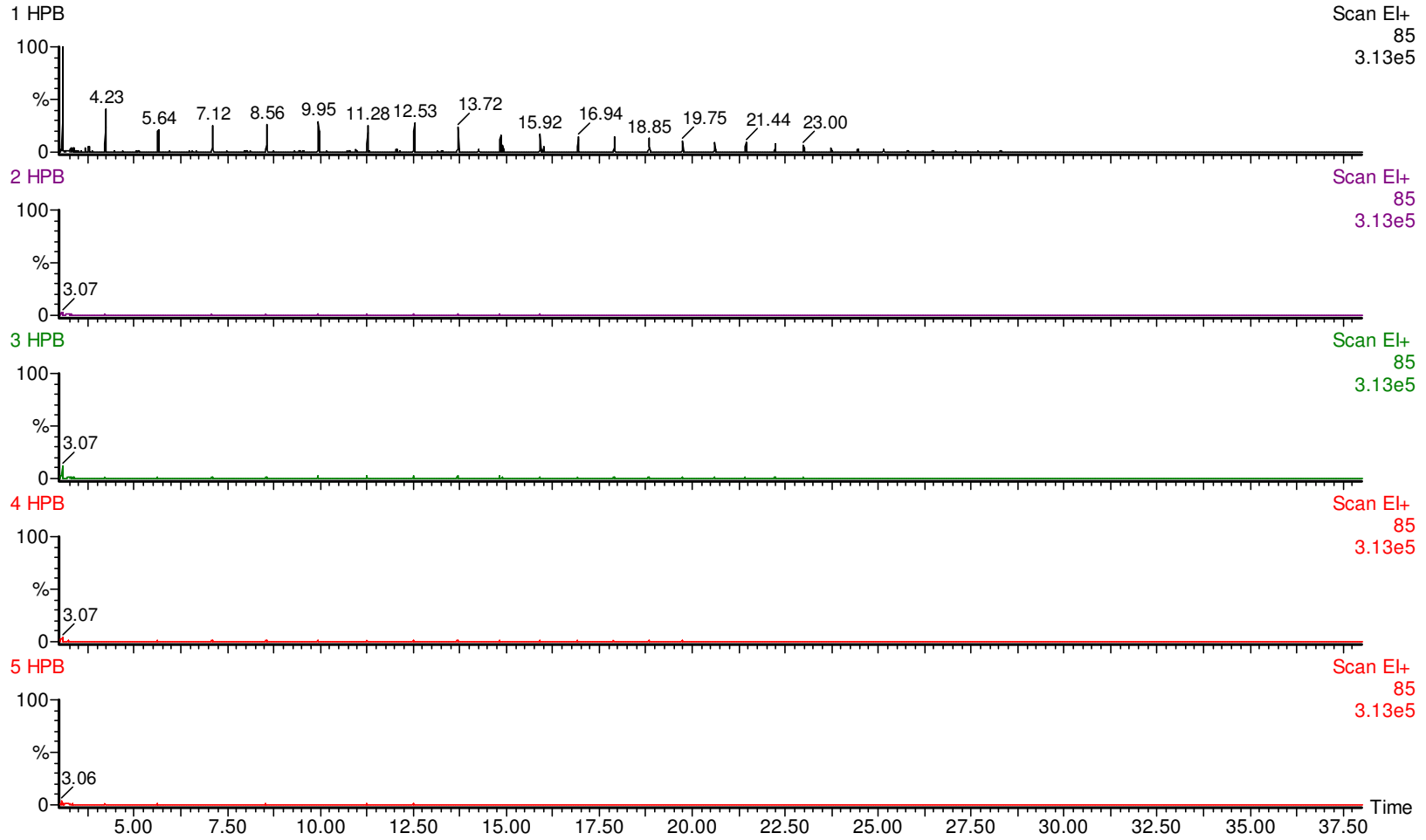
EK 57. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



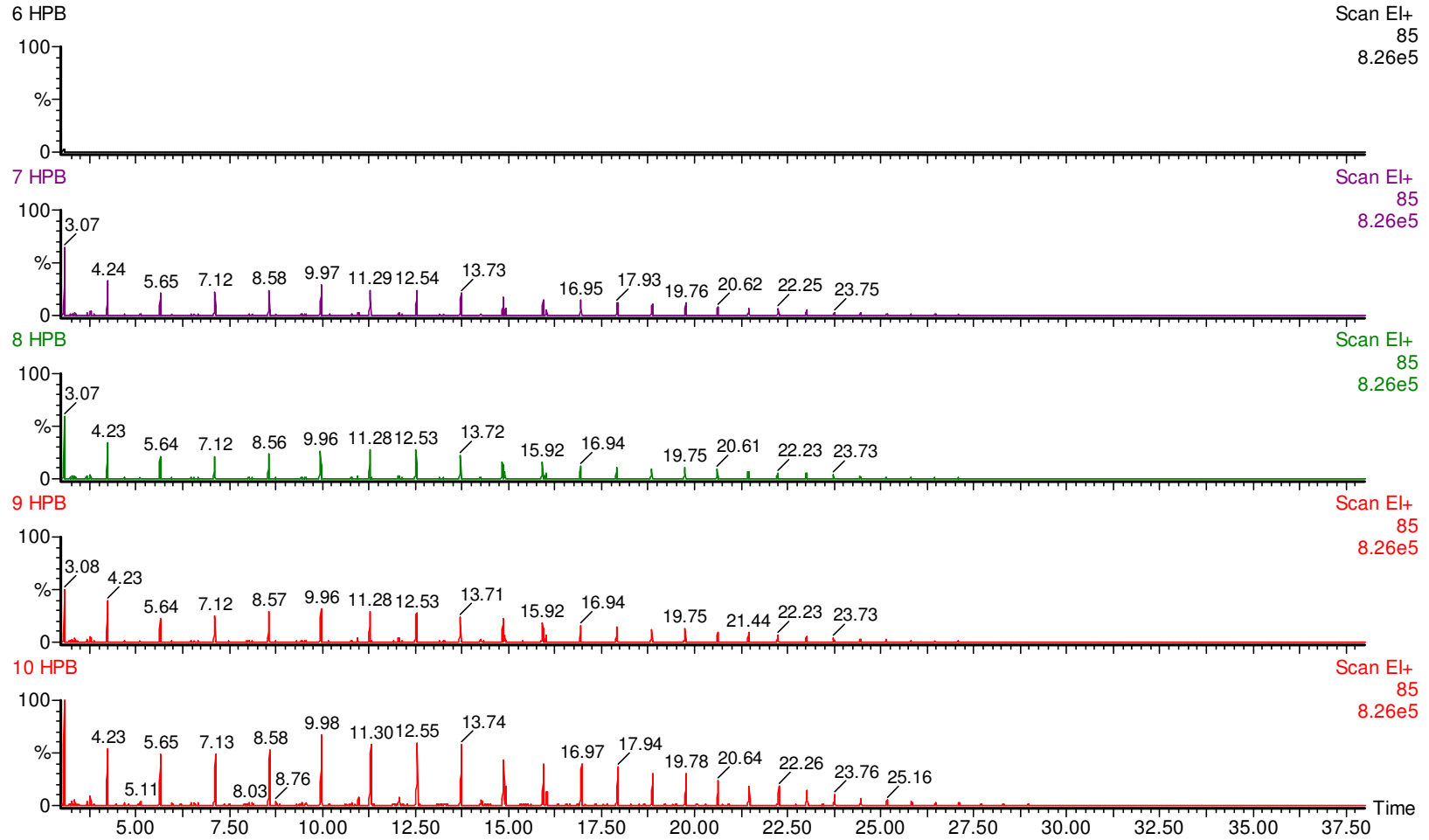
EK 58. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



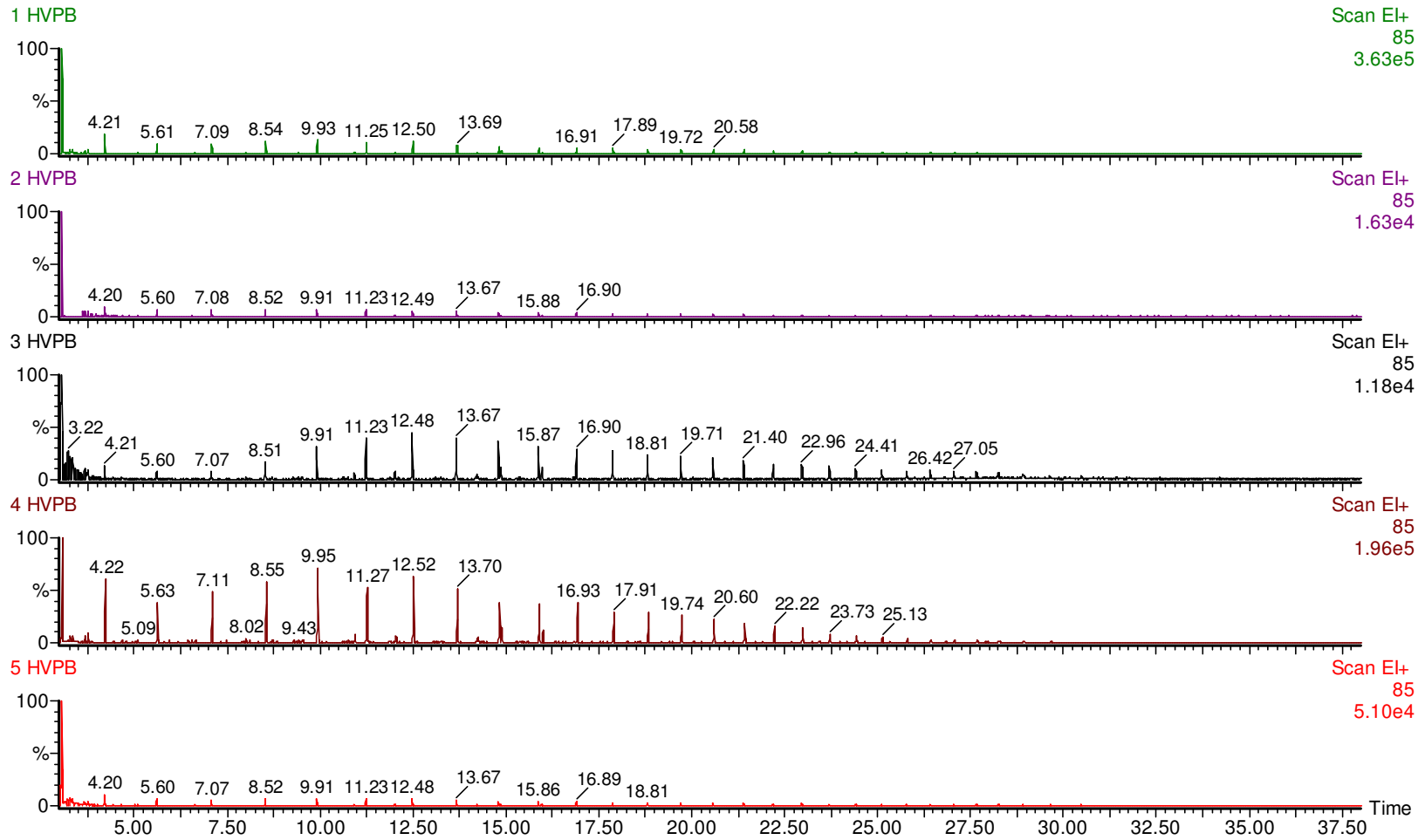
EK 59. (*V.fluvialis* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



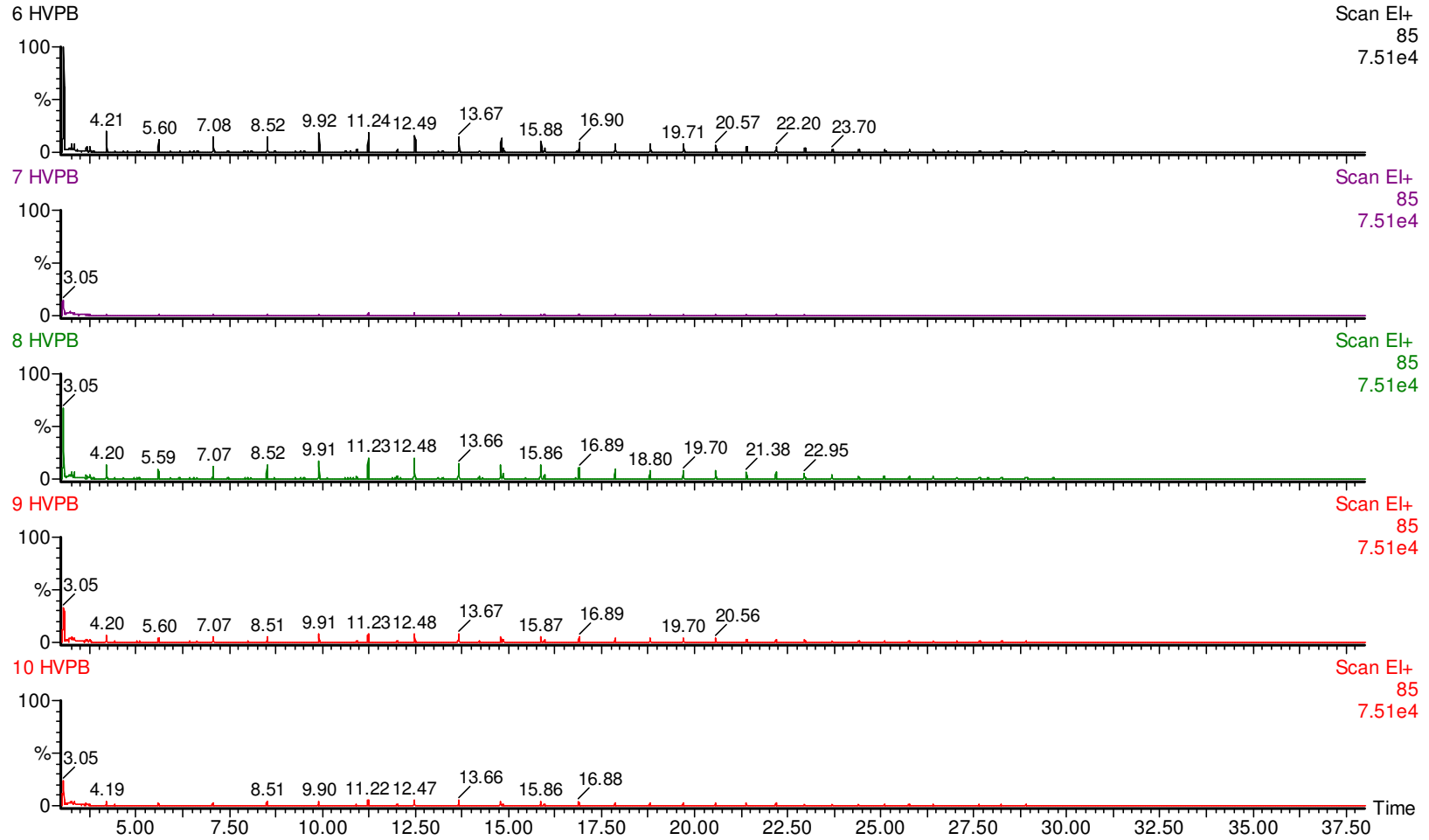
EK 60. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



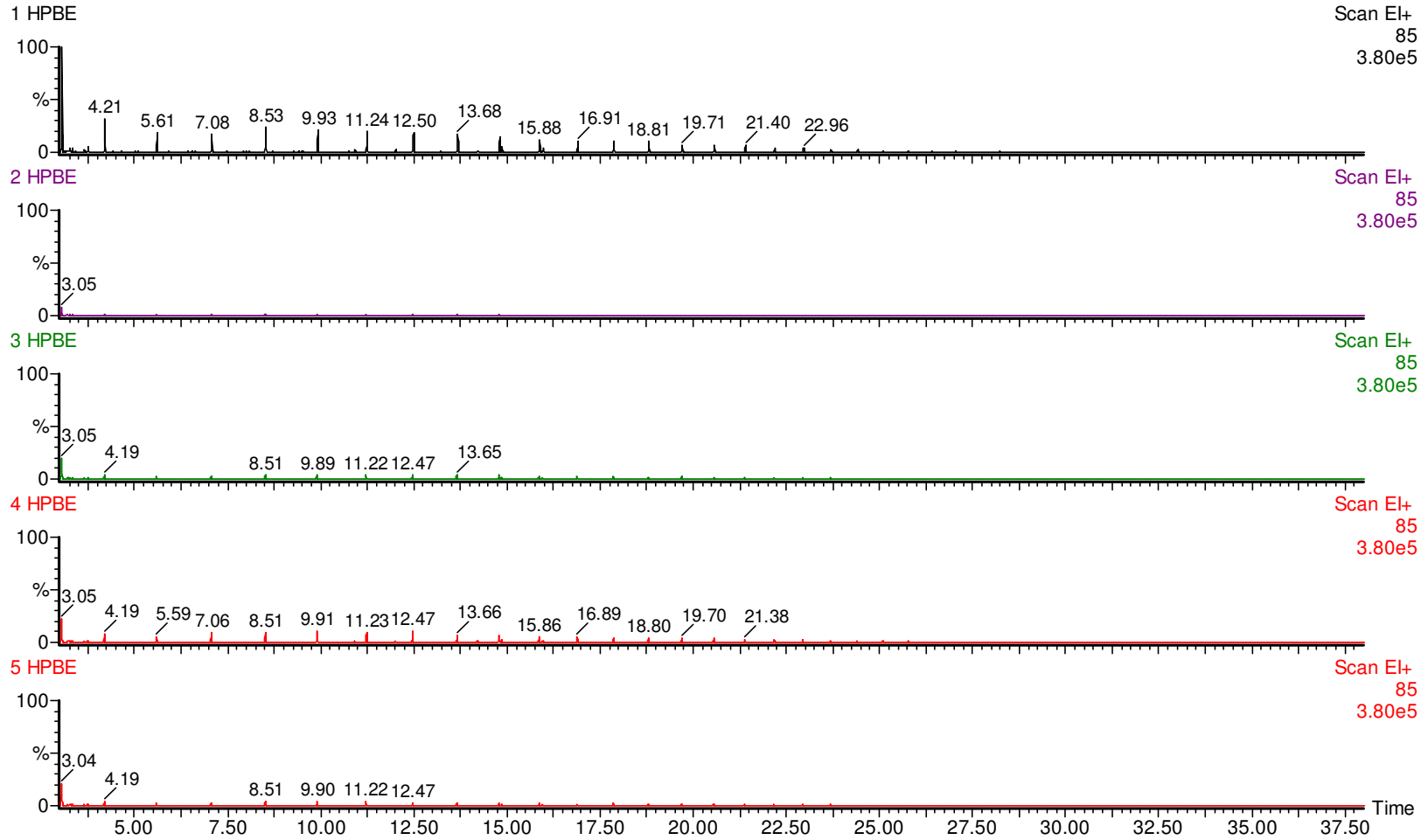
EK 61. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



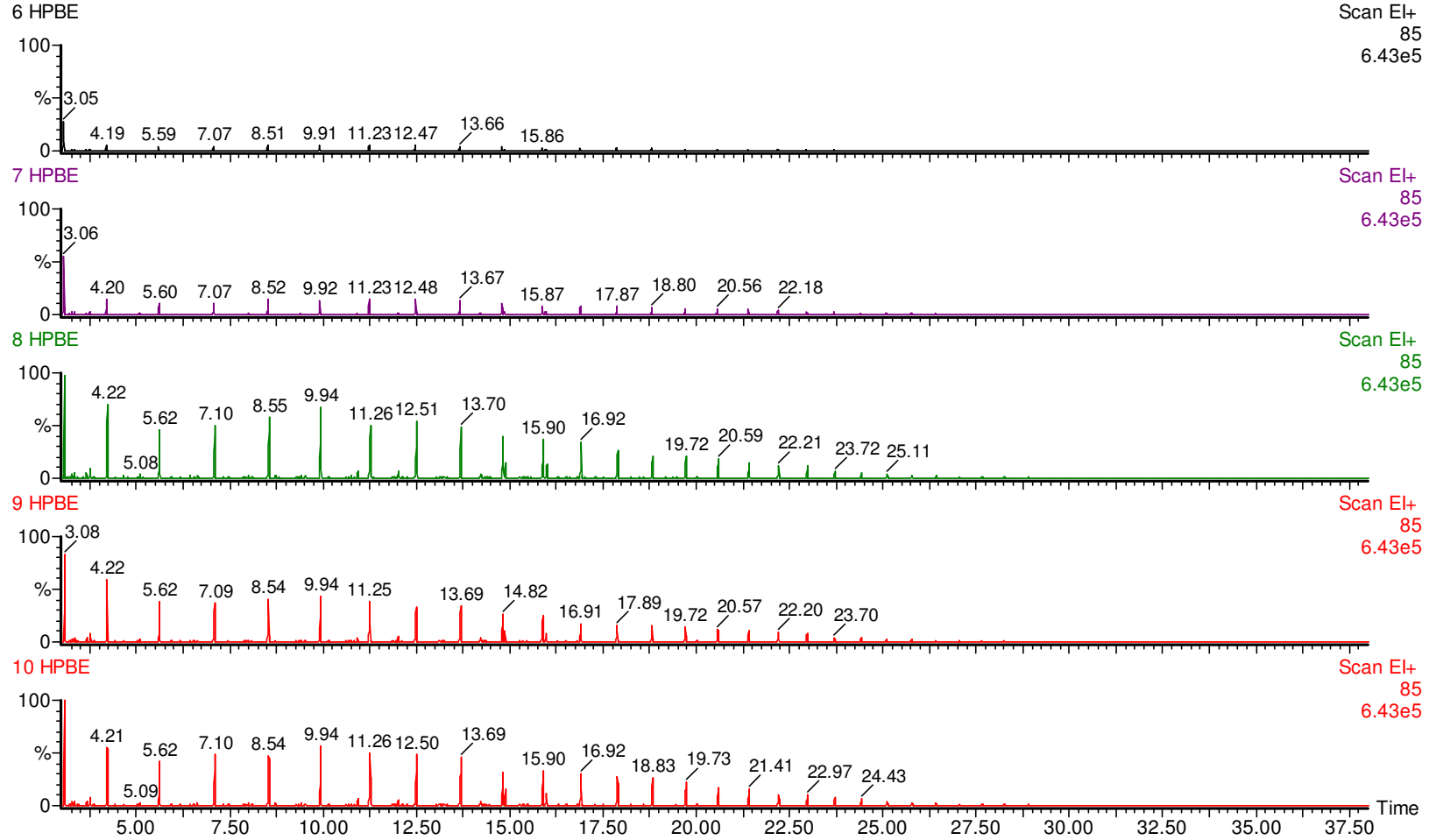
EK 62. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



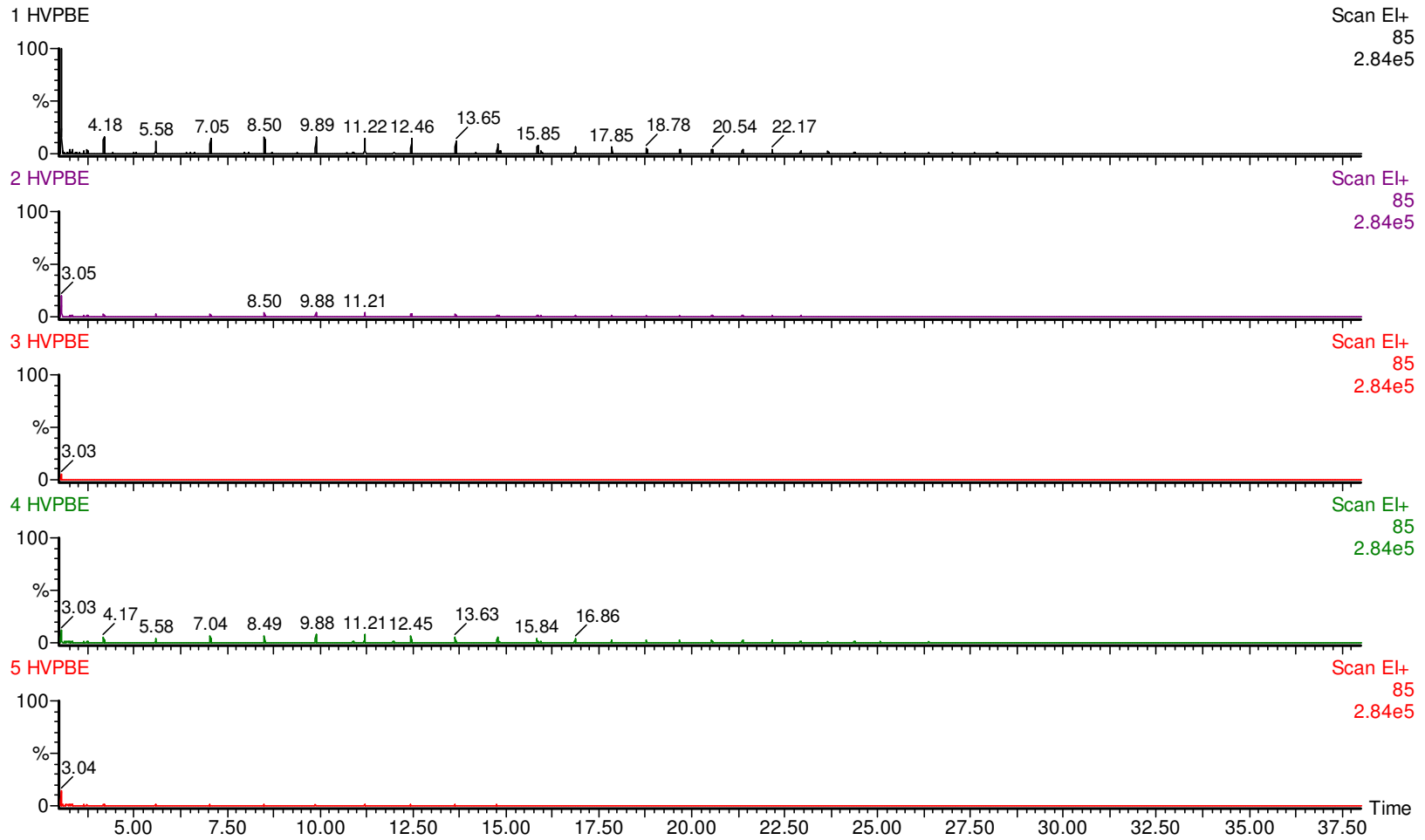
EK 63. (*V.fluviialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



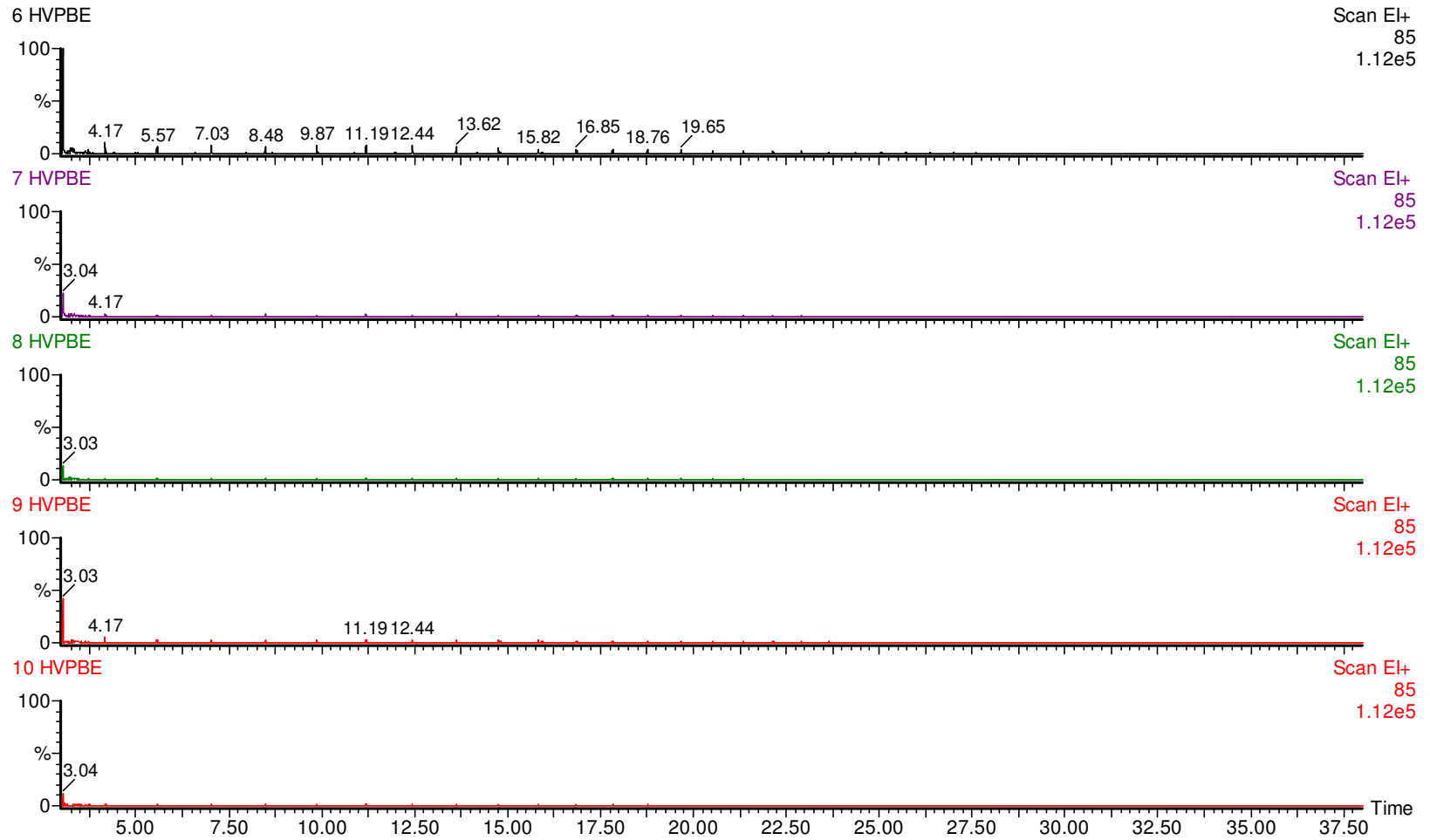
EK 64. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



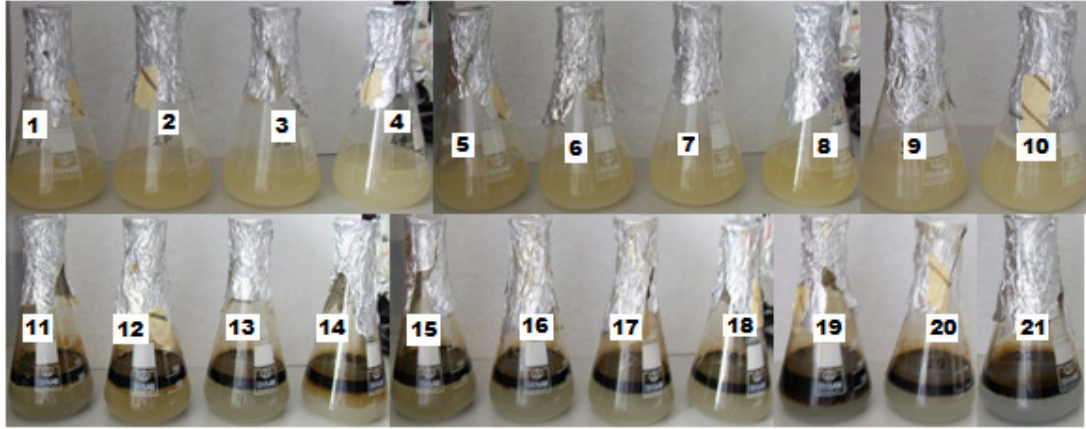
EK 65. (*P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



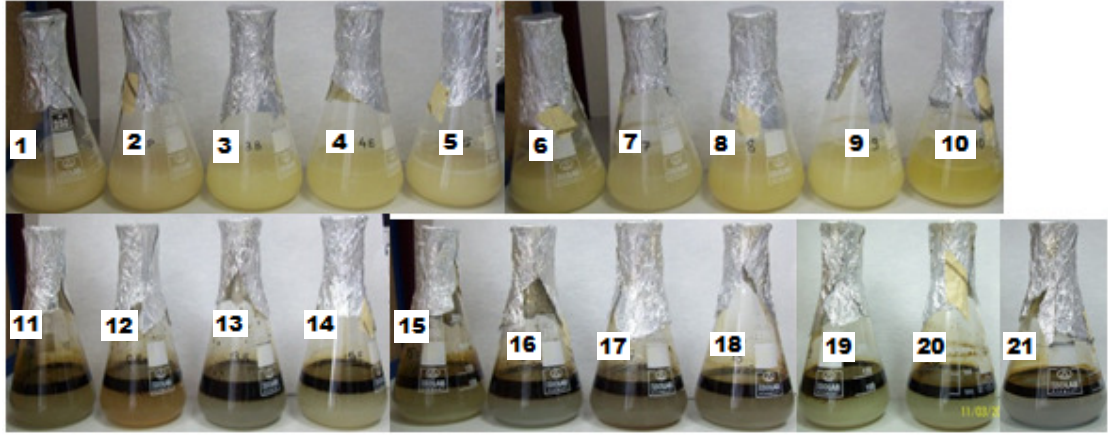
EK 66. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) +MSM+SBL ortamı; 0., 7., 10., 13. ve 16.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



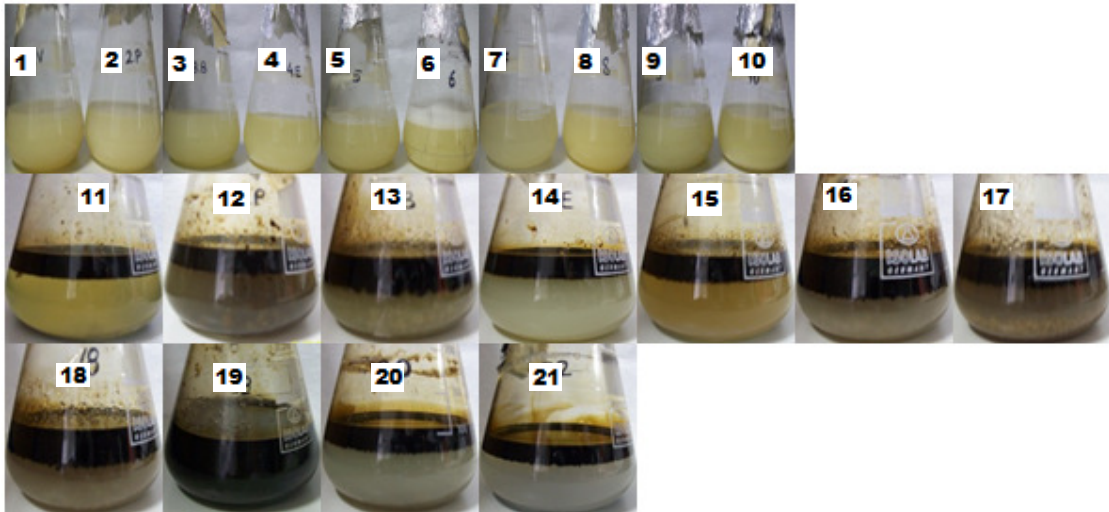
EK 67. (*V.fluvialis* + *P.aeruginosa* + *B.subtilis* + *E.coli*) +MSM+SBL ortamı; 19., 22., 25., 28. ve 31.gün numunelerine ait m/z 85 iyonu kromatogramları



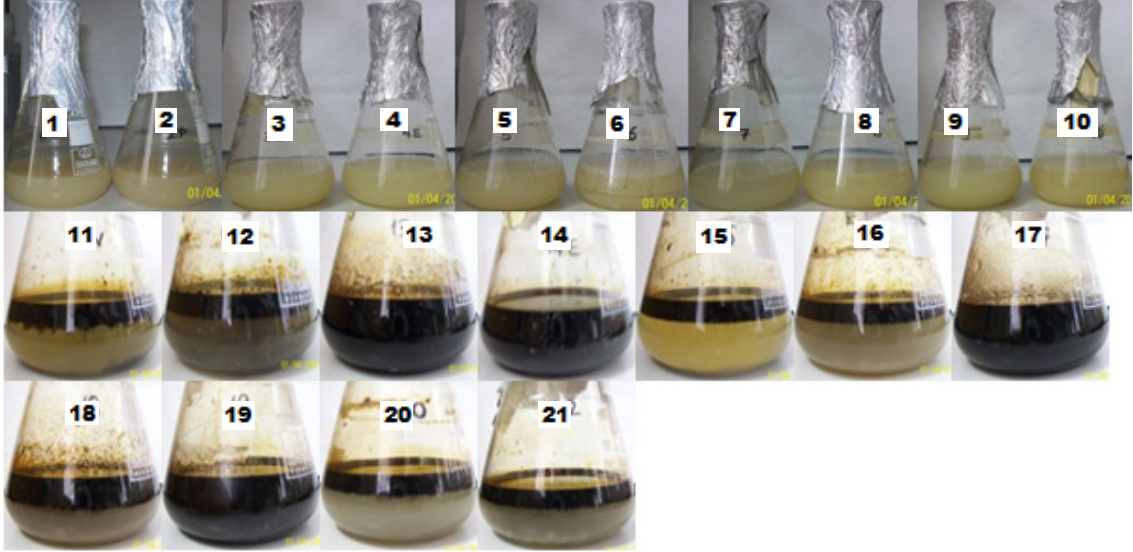
EK 68. Deney düzeneğindeki 21 numunenin 1.günü



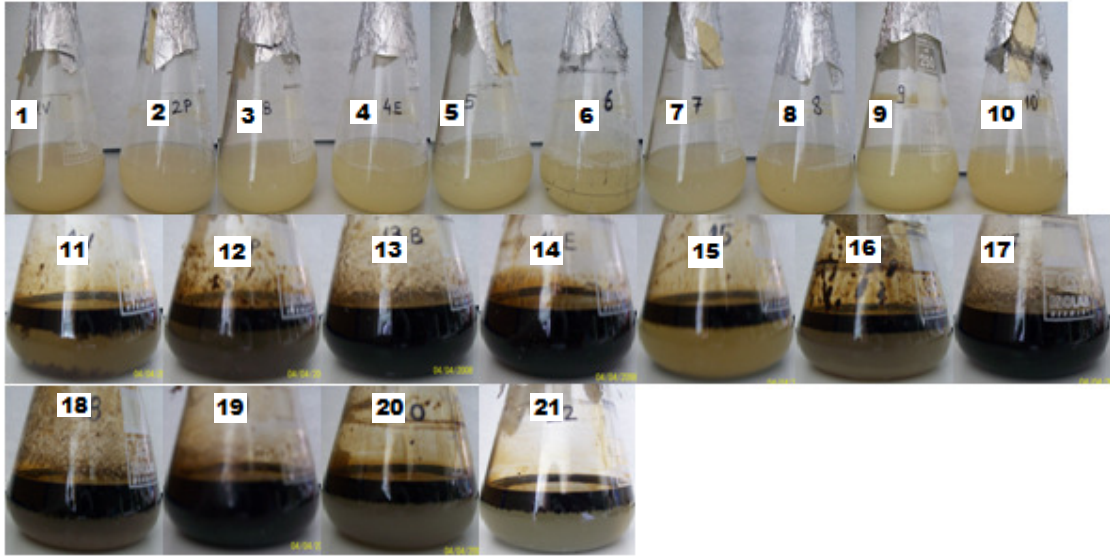
EK 69. Deney düzeneğindeki 21 numunenin 7.günü



EK 70. Deney düzeneğindeki 21 numunenin 16.günü



EK 71. Deney düzeneğindeki 21 numunenin 28.günü



EK 72. Deney düzeneğindeki 21 numunenin 31.günü

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	24.02.1985	
Doğum yeri	Erzurum	
Lise	1999- 2003	Adnan Menderes Anadolu Lisesi
Lisans	2003- 2007	Yıldız Teknik Üniversitesi İnşaat Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü
Yüksek Lisans	2007- 2009	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Programı
	2007-	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Marmara Araştırma Merkezi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü TARAL 1007, Proje Kodu: 105G079, TÜBİTAK Bursu