

**MICROBIAL COMMUNITY ANALYSIS WITH PCR-DGGE-SEQUENCING
BASED MOLECULAR METHODS IN MUNICIPAL SOLID WASTE
MANAGEMENT****Betamin ÖZKAYA*, Ahmet DEMİR***Yıldız Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Esenler-İSTANBUL*

Received/Geliş: 31.08.2009 Accepted/Kabul: 09.07.2010

ABSTRACT

In this work, existing studies on Polymerase Chain Reaction (PCR), Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and sequence analysis based molecular techniques was included in the solid waste management. In this context, the current studies were examined on landfills and determination of active composting microbial population.

Keywords: Landfill, composting, PCR, DGGE, sequencing.

**KENTSEL KATI ATIK YÖNETİMİNDE PCR-DGGE-DİZİ ANALİZİ TEMELLİ MOLEKÜLER
TEKNİKLERLE MİKROBİYAL TÜR TAYİNİ****ÖZET**

Bu çalışmada, katı atık yönetiminde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Denature Gradyan Jel Elektrofrez (DGGE) ve Dizi Analizi temelli moleküler tekniklerle ilgili yapılan çalışmalara yer verilmiştir. Bu kapsamda, kompostlaştırmada etkin mikrobiyal türün belirlenmesi ve katı atık düzenli depolama sahalarında gerçekleştirilen mevcut çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Depolama, kompostlaştırma, PCR, DGGE, sekanslama.

1. GİRİŞ

Günümüzde hızlı nüfus artışı, gelişen teknoloji, endüstriyel ürünler ve uygulamalar katı atık miktarının artmasına sebep olmakta ve bu atıkların bertaraf edilmesi esnasında hem insan sağlığı hem de çevre açısından riskler ortaya çıkmaktadır. Katı atıkların yönetimi atık azaltma, geri kazanma ve yeniden kullanma, yakma, kompostlaştırma ve düzenli depolama gibi sistemlerle gerçekleştirilmektedir. Katı atıkların düzenli depolanması ekonomik avantajlarından dolayı öncelikle tercih edilen yöntemlerdendir. Katı atıkların bertarafı için kullanılan düzenli depolama yönteminin diğer alternatiflere göre ucuz ve basit bir yöntem olması avantajı yanında, bertaraf için uygun alanların sınırlı olması, mevcut sahaların hızlı bir şekilde dolması, katı atıkların uzak mesafelere taşınması, sızıntı suyu oluşumu ve depo gazı emisyonları gibi dezavantajları da mevcuttur. Bu bakımdan gerek faaliyette olan depolama alanları gerekse sahalar kapatıldıktan

*Corresponding Author/Sorumlu Yazar: e-mail/e-ileti: bozkaya@yildiz.edu.tr, tel: (212) 383 53 74

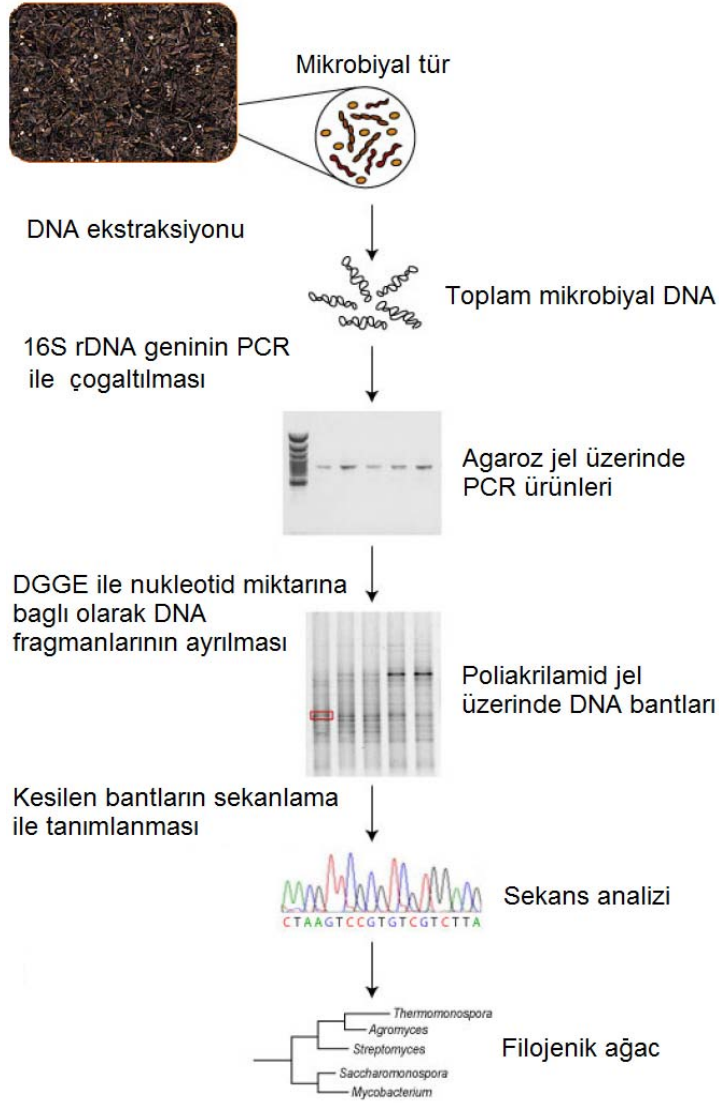
sonra izleme ve kontrol çalışmaları su kaynaklarının ve çevre sağlığının korunması bakımından önemlidir. Yeni moleküler tekniklerle tanımlanan türlerin depo sahası izleme çalışmalarında indikatör olarak kullanılması da depo sahalarından kirletici yayılımının kontrolü ve ıslah çalışmaları için katkı sağlamaktadır. İlave olarak, kompostlaştırma tesislerinde aktif mikrobiyal türlerin belirlenmesi de katı atık yönetiminde yapılan çalışmalara katkı sağlamaktadır.

2. MOLEKÜLER TEKNİKLER

Son yıllarda mikrobiyal türlerin belirlenmesinde kültürün hangi bakterilerden oluştuğunu belirlemek amacıyla 16SrRNA genlerinin'nin incelenmesine dayanan moleküler metotlar ve denature gradyan jel elektroforezi (DGGE) kullanılmaktadır. Bu metot farklı işletme koşullarında mikroorganizma popülasyonunda meydana gelen değişimleri izlemek amacıyla kullanılan bir tekniktir. Mikrobiyal tür tayininde, kültürden izole edilen 16SrRNA örneği birleştirilmiş zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile çoğaltılmakta ve RNA profili belirlenerek karışık kültürün hangi bakterilerden oluştuğu belirlenmektedir. Şekil 1'de mikrobiyal türlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen adımların şematik gösterimi verilmiştir.

Dizi analizi öncesi tür farklılıkları, denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) tekniği ile Guanin (G) ve Sitozin (C) içeriğine göre tespit edilmektedir. DGGE, PCR ile çoğaltılmış DNA örneklerindeki tek baz değişimlerinin belirlenmesinde etkili bir genetik analiz yöntemidir. DGGE analizinde denatüre madde (formamit ve üre karışımı), poliakrilamid jellerdeki yarı erimiş, çift-sarmallı DNA moleküllerinin elektroforetik hareketine bağlıdır. Mevcut çalışmalarda bu deneyden faydalanılarak türlerin zamana bağlı değişimleri gözlemlenmektedir.

Türlerin birbirinden ayırt edilmesi için klasik PCR ile 16S rRNA genlerinin çoğaltılmasından sonra, DGGE analiziyle türler birbirinden ayırt edilmektedir. Dizi analizi için seçilecek klonların miktarı PCR ve DGGE analizleri sonunda tespit edilmektedir. PCR ya da DGGE jellerinde görüntülenen bandlar, uygun saflaştırma kitleri kullanılarak saflaştırılmakta, bu ürünler daha sonra "dye terminator cycle sequencing" reaksiyonuna sokularak floresan işaretli fragmanların amplifikasyonları gerçekleştirilmektedir. Elde edilen ürün saflaştırılmakta ve formamid çözeltisi içinde süspansiyonlanmaktadır. Kapiler elektroforez tekniği ile çalışan cihazdan el edilen dizi analizi verileri, A-G-C-T dizin dosyaları biçiminde kopyalanarak, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> internet sitesinde BLAST programında değerlendirmeye alınmakta ve bu veri tabanında tanımlanmış mevcut türlerle olan muhtemel farklılıklar raporlanmaktadır.



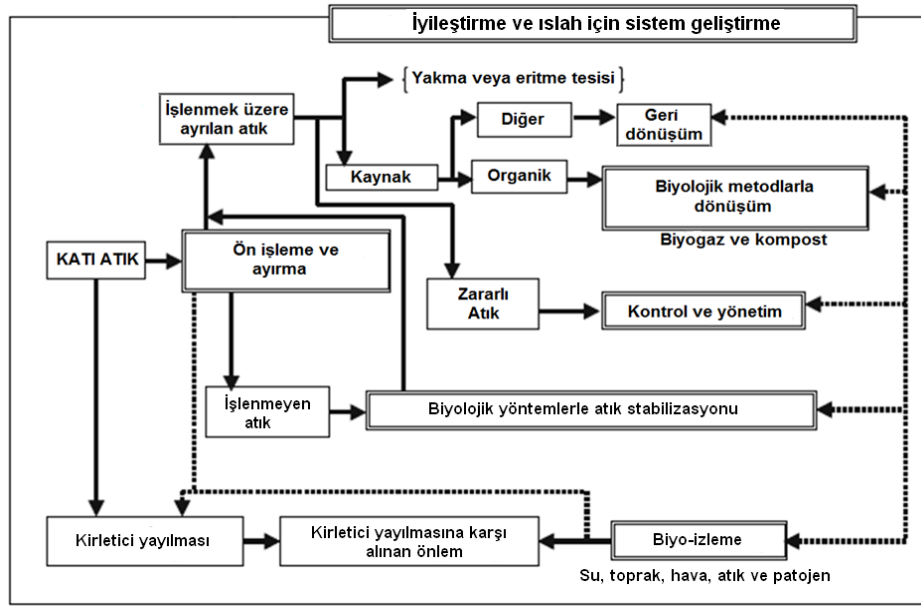
Şekil 1. Mikrobiyal türlerin belirlenmesi için gerçekleştirilen adımların şematik gösterimi

3. KATI ATIK YÖNETİMİNDE MOLEKÜLER TEKNİKLERİN KULLANILMASI

Katı atık yönetiminde, kirletici yayılımının izlenmesi çalışmalarında, biyolojik bertaraf metodlarında etkin mikrobiyal türlerin belirlenmesinde, zeminlerin biyolojik ıslah çalışmalarında, gözenekli ortamda kirletici hareketi konularında moleküler tekniklerle tür tayini son yıllarda kullanılan tekniklerdendir. Şekil 2'de katı atık yönetiminde iyileştirme ve ıslah çalışmaları için sistem geliştirme akım şeması görülmektedir. Entegre katı atık yönetiminin en önemli hususlarından biri atıkların çevreye en az zarar verecek şekilde bertarafının sağlanmasıdır. Katı atık bertaraf sistemlerinden kirletici yayılması, yayılmaya karşı alınacak önlem çalışmalarında

biyo-izleme çalışmaları su, hava, toprak kirliliği kontrolü açısından oldukça önemlidir. Bunun yanında depolama alanlarının kapatıldıktan sonra rehabilitasyon ve izleme çalışmalarında da biyolojik izleme çalışmaları ile etkin kirlilik kontrolü sağlanabilmektedir. İzleme çalışmalarının yeni moleküler tekniklerle gerçekleştirilmesi kirlenici yayılımını kontrol altına alma açısından önemlidir. Yeni moleküler tekniklerle tanımlanan türlerin izleme çalışmalarında indikatör olarak kullanılması da depo sahalarından kirlenici yayılımının kontrolü ve ıslah çalışmaları için katkı sağlayacaktır.

İlave olarak, Avrupa Birliği'nin direktifleri arasında yer alan Su Çerçeve Direktifi (SÇD), 2015 yılında istenen su kalitesine ulaşmayı hedeflemektedir. Bu hedef, sucul ortamların iyileştirilmesi ve korunmasının sürdürülebilirliğinin sağlanması için öncelikli madde deşarj standartlarının iyileştirilmesi, azaltılması ve öncelikli tehlikeli maddelerin kullanımının azaltılması ve/veya üretiminin bitirilmesi ile gerçekleştirilecektir. SÇD, durum değerlendirmesi çalışmalarında olduğu gibi katı atık yönetiminde de biyolojik kalite elementlerinin referans koşullarını karşılayıp karşılamadığı da moleküler tekniklerle *biyolojik indikatör tespiti* çalışmaları ile gerçekleştirilebilir.



Şekil 2. İyileştirme ve ıslah için sistem geliştirme
(Ishii et al. 2005'ten uyarlanmıştır.)

3.1. Kompostlaştırma ile İlgili Çalışmalar

Mikroorganizmalar çoğunlukla hücre yapısı ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılmaktadır. Prokaryotik grup veya bakteriler katı atıkların organik kısmının biyolojik olarak ayrışmasında önemlidir. Organik atıkların biyolojik olarak ayrışmasında görev yapan ökaryot organizmalar mantarlar ve aktinomisetlerdir. Kompostlaştırma işlemi, nemli ortamda ve organik atıkları havalandırmak suretiyle kendiliğinden çoğalan mikroorganizmalar vasıtasıyla gerçekleştirilir. Başlangıçta çoğunlukla bakteri olan bu organizmaların çoğalması sırasında, ısı, CO₂ ve su buharı açığa çıkar. İlk aşamada mezofilik bakterilerle birlikte aktinomisetler, mantarlar ve mayalar, yağları, proteinleri ve karbonhidratları ayrıştırırlar. Sıcaklık 30 °C ye erişinceye kadar küf

mantarları, bakteriler, protozoonlar ve nematodlar kompostlaştırma işleminde etkin rol oynarlar. Sıcaklık 30-40 °C ye çıktığında aktinomisetler baskın hale gelmeye başlar ve toprakta bir koku oluştururlar. Aktinomisetler humuslaştırıcı organizmalar olarak da bilinmektedirler. Bunun yanında, bu türler antibiyotik etki üreterek patojenlerin ölmesini de sağlamaktadır. Sıcaklık 40-50 °C'ye çıktığında başlangıçtaki türler ölür ve 70 °C'ye kadar faaliyet gösterebilen termofilik bakteriler gelişmeye başlar. Bu aşamada gelişen bakteri ve aktinomisetler zor ayrışabilen organiklerin ayrışmasında görev yapmaktadırlar. Sıcaklık artışıyla birlikte patojen mikroorganizmalar da ölür. Ortamdaki besi maddesi tükendiğinde ısı düşmeye başlar ve kompostun soğuması gerçekleşir. Soğuyan komposta son özelliğini veren genellikle mantar ve aktinomisetlerden oluşan türlerdir. Görüldüğü gibi sırası ile gerçekleşen kompost prosesinde tüm kademeler farklı mikrobiyal türler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu bakımdan kompostlaştırma prosesinin performansı ve gelişimi mikrobiyal türlerle yakından ilişkilidir.

Kompostlaştırma esnasında organik maddeyi substrat olarak kullanan mikroorganizmalar kompostlaştırma prosesinin performansını ve gelişimini yansıtmaktadırlar. Organizmaların kompostlaştırma esnasında substratı metabolik yollarla nihai ürünlere dönüştürmesi ile fiziksel ve kimyasal parametrelerde önemli değişiklikler meydana gelmekte ve buna bağlı olarak kompostlaştırma prosesinde rol alan mikrobiyal türlerde değişim meydana gelmektedir. Ayrıca, kompostlaştırma prosesi uygun yönetilmediği takdirde patojen oluşumu gerçekleşebilir. Bu yüzden organik atıkların farklı mikrobiyal gruplarla nihai ürünlere dönüştürülmesi özel öneme sahiptir. Ancak, hammaddenin farklı olması ve kompostlaştırma için gerekli şartların çeşitliliği sebebiyle (atık türü, tesis dizaynı, havalandırma oranı, pH, C/N oranı, sıcaklık ve su muhtevası) birçok çalışmanın sonuçları birbirleri ile genelde tam olarak uyumlu olmadığı gibi kompost stabilitesi ile mikrobiyal türler arasındaki ilişki tam olarak belirlenememiş de değildir (Ishii and Takii, 2003).

Kompostlaştırma kendi karakteristik termal profili tarafından belirlenen dört aşamalı bir proses olarak düşünülebilir (Fogarty and Tuovinen, 1991). Kompostlaştırma esnasında farklı mikrobiyal türler hızlı ve sırası ile gerçekleşen fiziko-kimyasal değişimlerin meydana geldiği bir ortam oluşturmaktadır. Bu değişimin tam olarak ortaya konması için mikrobiyal karakterizasyon çalışmaları ile daha da anlaşılır hale gelmektedir. Bu yüzden mikrobiyal türlerin belirlenmesinin, kompost prosesi, işleyişi ve ürün kalitesini tayin etme potansiyeli mevcuttur (Peters et al., 2000).

Kompost prosesinde mikrobiyal türlerin belirlenmesi geçmiş yıllarda bakteri ve mantarların izolasyonu, tanımlanması veya sayım işlemleri ile gerçekleştirilmekteydi (Beffa et al., 1996; Choi and Park, 1998). Son yıllarda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve 16S rDNA temelli moleküler tekniklerle kompostlaştırma prosesinde mikrobiyal türlerin tayini ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Ishii et al., 2000; Riddech et al., 2002).

DNA temelli moleküler tekniklerde son yıllarda kaydedilen ilerlemeler klasik teknikler üzerinde bazı avantajlar sunmaktadır. Öncelikle, 16S rDNA ve PCR temelli teknikler kompostlaştırma prosesinde klasik tekniklerle tespit edilemeyen türlerin çeşitliliğini belirlemede ön plana çıkmaktadır (Peters et al., 2000; Dees and Ghiorse, 2001). Son yıllarda, profilleme teknikleri ile kombine edilen 16S rDNA temelli yaklaşımlara olan ilgi giderek artmaktadır. Kompostlaştırma prosesindeki tür tayininde, Denature Gradyan Jel Elektrofrez tekniği (DGGE), tür profilleme tekniği olarak son yıllarda en çok kullanılan metodlardandır (Ishii et al., 2000; Ishii and Takii, 2003, Gurtner, vd., 2000, Hassen, et al., 2001). Mikrobiyal türlerin belirlenmesi konusunda güçlü bir teknik olan yöntemin kompostlaştırmada rol alan mikrobiyal türlerin belirlenmesi ile özellikle karışık toplanan kentsel katı atıkların kompostlaştırılmasında proses işletilmesi ve optimizasyonu konularında daha detaylı bilgiler elde edilecektir. İlave olarak kompost ürününde hastalık yapıcı mikrobiyal türlerin belirlenmesi ile de sağlık açısından güvenli kompost oluşturulacaktır. Kentsel katı atık kompostunun fiziksel ve kimyasal yapısı zamanla değişme eğilimindedir ve kompost kalitesinin dikkatli bir şekilde kontrolü gerekmektedir (Hicklenton vd., 2001). Kentsel katı atık kompostunu kullanan araştırmacılar ve bireyler devamlı olarak kaliteli ürün aldıklarından emin olmalıdırlar. Bu önerilerin gerçekleştirilmesi kentsel katı

atık kompostunun tarımda kullanımına muhalefeti azaltacak, çiftçileri, belediyeleri, bahçe düzenleyicilerini ve bahçıvanları bu ürünü kullanma konusunda cesaretlendirecektir.

3.2. Katı Atık Depo Sahaları ile İlgili Çalışmalar

Katı atık depolama alanları konusunda mikrobiyal tür tayini ile ilgili yapılan çalışmalar, atık stabilizasyon kademelerinin belirlenmesi, sızıntı suyunda ve sızıntı suyu arıtma tesislerinde mikrobiyal türlerin belirlenmesi, depo gazı ve kondensatında gerçekleştirilen tür analizleri, izleme ve kontrol çalışmaları, kirlenmiş zeminlerin biyolojik ıslahı ve rehabilitasyon çalışmalarında gerçekleştirilen çalışmalar olarak özetlenebilir.

3.2.1. Atık Stabilizasyon Kademelerinin Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar

Katı atık depo sahası, temel giriş maddelerinin katı atık ve yağmur suyu, başlıca çıkış elementlerinin ise depo gazı ve sızıntı suyu olduğu bir biyokimyasal reaktör olarak düşünülebilir. Katı, sıvı ve gaz fazının bir arada bulunduğu bir çeşit reaktör olan depo sahalarında sıvı faz, çözünmüş veya askıda organik maddeleri ve katı fazdan gelen inorganik iyonları içerir. Gaz fazı ise genellikle karbon içeriklidir. Depo sahalarında katı atıkların ayrışması anaerob şartlar altında gerçekleşir.

Depo sahalarında atıkların stabilizasyon işlemleri, fiziksel (adsorbsiyon, filtrasyon, seyrelme ve dispersiyon), kimyasal (hidroliz, adsorbsiyon/desorbsiyon, asit baz etkileşimi, çökme, iyon değiştirme, kompleks oluşumu) ve biyolojik (aerobik ve anaerobik ayrışma) işlemlerle yürütülmektedir. Depo sahalarında, atıklar alan kapasitesine (atıkların ulaşabileceği minimum su muhtevası) ulaşırken, basınç gradyanının sonucu olarak da seyrelme meydana gelmektedir. Atıkların su muhtevası artırıldığında fiziksel proseslere bağlı olarak çözünme hızlanmaktadır. Depo sahalarında atıkların stabilizasyonunda fiziksel ve kimyasal prosesler etkili olmasına rağmen atıkların biyolojik ayrışması en önemli proseslerdir.

Katı atık depo sahalarındaki stabilizasyon safhaları, üretilen biyogazın bileşeni, miktarı, sızıntı suyunun kirlenici bileşenleri göz önünde bulundurularak belirlenmektedir. Yapılan birçok çalışmada stabilizasyon süreçleri bu hususlar ele alınarak değerlendirilmekte, depolanan katı atıkların kararlı hale gelmesine kadar geçen süre içinde aktif rol alan mikrobiyal türlerin belirlenmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Depo sahalarının rehabilitasyonu esnasında detaylı mikrobiyal analizlerle metanojenik Archeanın miktar ve türü belirlenerek kurulacak enerji tesisinin işlerliği ve verimi ile ilgili bilgiler elde etmek yapılan çalışmalara katkı sağlamaktadır. Son yıllarda, depo sahalarında atık gövdesinde stabilizasyon sürecinde etkin rol alan mikrobiyal türlerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar 16S rDNA geni ile moleküler teknikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Chen vd., 2003; Calli ve Girgin, 2005). Katı atık depo sahalarının stabilizasyon sürecinde aktif rol alan mikrobiyal türlerin tespiti, gerek düzensiz depolama alanlarının rehabilitasyonu ile ilgili çalışmalar ve gerekse stabilizasyon sürecini kısaltmaya yönelik çalışmalara katkı sağlar.

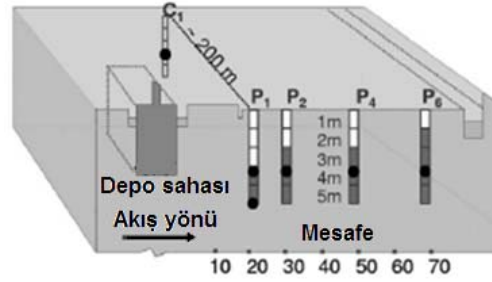
Literatürde depo sahasının çeşitli yerlerinden ve çeşitli derinliklerinden sondaj ile çıkarılan katı atık numuneleri (Chen vd., 2003), drenaj borularından alınan sızıntı suyu numuneleri (Huang vd., 2002) veya depo sahasında oluşan biyogazın toplandığı bacalardan alınan gaz numunelerinde (Kim, 2003) tür tayini ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Yeraltı Suyu İzleme ve Kontrol Çalışmaları

Depo sahalarından kaynaklanan yeraltı suyu kirliliği izleme çalışmalarında moleküler tekniklerle tür tanımlaması ile sahaların kirlenici yayımında etkin mekanizmanın (doğal azalma ve biyolojik bozunma) belirlenmesi konusunda çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Brad, et al., 2008). Yapılan

çalışmalar, DGGE profillerinin depo sahalarının izleme kuyularında temiz bir akiferden gelen yeraltı suyunda bulunan referans türlerle karşılaştırıldığında profillerin oldukça farklı olduğunu göstermiştir. Tespit edilen türlerin kirlenici yayılımının kontrolü için indikatör organizmalar olarak kullanılabilceği de vurgulanmıştır. İlave olarak yeraltı suyunda yer alan mikrobiyal türlerin analizi biyolojik ıslah ve izleme çalışmalarına da yön vermektedir. Biyolojik zemin ıslahı, sadece kirlenmiş bir gözenekli ortamın temizlenmesini içermemekte aynı zamanda kirlenmenin bir kaynaktan yayılmasının da engellenmesini içermektedir. Örneğin kirlenici kaynağına maruz kalan bir akiferde kirlenmenin biyolojik olarak ayrışmasına direkt veya dolaylı yoldan yapılacak katkıyla ilgili olarak ökaryotların aktivitesi ile ilgili bilgiler gözenekli ortamda doğal olarak kirlenici azalmasını tahmini, izlenmesi ve değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir (Brad, et al., 2008).

Depo sahasından yayılan kirlenmenin biyolojik yolla ayrışmasına direkt ve dolaylı katkıları ile ilgili kirlenmiş akiferlerde mikrobiyal türlerin varlığı hakkında elde edilen bilgiler doğal olarak akiferde taşınma esnasında meydana gelen azalmanın (natural attenuation) değerlendirilmesi, modellenmesi, izlenmesi ve tahmini için oldukça önemlidir. Şekil 3'de bir depo sahası matrisinde izleme ve kontrol kuyuları yer almaktadır.



Şekil 3. Bir depo sahası matrisinde izleme ve kontrol kuyuları (Temiz sedimentte iletkenlik $<750 \mu\text{s/cm}$, kirlenici kaynağına maruz kalmış sedimentte $>750 \mu\text{s/cm}$) (Brad, vd., 2008'den uyarlanmıştır.)

Sızıntı suyu ile kirlenen yeraltı suyunun tespitinde demir döngüsü oldukça önemlidir. Özellikle kirlilik izleme çalışmalarında demir bakterilerinin varlığından önemli bulgular elde edilebilir. Demir yer kabuğunda en fazla bulunan elementlerden olup indirgenmesi mikrobiyal redoks prosesi ile gerçekleşir. Organik madde ayrışması oksijen ve nitratın hızlı bir şekilde tüketimine yol açtığı için demir indirgenmesi organik kirliliğin gerçekleşmesi durumunda baskın hale gelir (Lin, B., 2006). Demir indirgenmesi sızıntı suyu kaynaklı akifer kirliliğinde önemli bir redoks prosesidir. Organik içeriği oldukça yüksek olan sızıntı sularının yeraltı suyuna geçişi durumunda ortamda bulunan elektron alıcıların (oksijen ve nitratın) hızlı bir şekilde tüketilmesi ile Fe(III) elektron alıcısı olarak mikroorganizmalar tarafından kullanılarak demir bakterileri baskın hale gelir. Yapılan çalışmalarda demir indirgenmesinin çoğu sızıntı suyu kaynaklı akifer kirliliğinde önemli bir redoks prosesinin olduğu da vurgulanmıştır. Sonuç olarak, izleme çalışmalarında mikrobiyal türlerin tespitinin depo sahalarının izleme ve kontrolü açısından, biyolojik ıslah çalışmaları açısından oldukça önemli olduğu da ortaya çıkmaktadır. Katı atıkların gelişigüzel depolandığı düzensiz depolama alanlarında, geçirimsiz taban ve son örtü sistemi yoktur. Bunun sonucu olarak sızıntı suları yağış suları ile atıkların gövdesinden sızarak yeraltı suyunun kirlenmesine sebep olmaktadır (Lin, B, vd., 2005). Mikrobiyal tür tayiniyle, izleme ve kontrol çalışmaları sahaların rehabilitasyonu açısından oldukça önemlidir (Kerndorff, H, 2005; Demnerova, 2005; Kasai, Y., 2006).

3.2.3. Diğer Çalışmalar

Son yıllarda, depo sahalarının örtü toprağında metan okside eden organizmaların (Metanotroflar) izolasyonu ile ilgili çalışmalar da gerçekleştirilmiştir. Metanotroflar enerji ve karbon kaynağı olarak metanı kullanabilen bir gruptur. Metanın metanole oksidasyonu metanomonooxygenaz enzimiyle kataliz edilmektedir. Metanotroflar çözünmüş ve partiküler formda olabilen metanomonooxygenaz enzimlerine sahiptirler. Bu enzimlerin her ikisi de en önemli kaynağının atık depolama alanlarının olduğu Tri Kloro Etileni (TCE) kometabolik olarak kataliz edebildiği için biyolojik ıslah çalışmalarında metanotrofların kullanılması oldukça önemlidir. Depo sahalarının üst örtü toprağı biyolojik ıslah çalışmalarında kullanılabilen metanotrof kaynağıdır (Chen, Y., 2007).

4. SONUÇ

Organik atıkların kompostlaştırma işleminde baskın türlerin belirlenmesi, katı atık depo sahalarında atık stabilizasyon kademelerinin belirlenmesi maksadıyla mikrobiyal tür tayini çalışmaları moleküler tekniklerle gerçekleştirilmektedir. Son yıllarda katı atık depo sahalarından yayılan kirleticinin izlenmesi ve kontrol çalışmalarında da tür tayini ile ilgili çalışmalar yer almaktadır. Son yıllarda söz konusu moleküler çalışmalar, atık bertarafının vazgeçilmez olan düzenli depolama alanlarında da yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde, Avrupa Birliği'ne uyum sürecinde taslak halinde yayımlanan Atıkların Düzenli Depolanmasına İlişkin Yönetmeliğin amacı; atıkların düzenli depolama yöntemi ile bertarafı sürecinde; oluşabilecek sızıntı sularının ve depo gazlarının toprak, hava, yer altı ve yüzey suları üzerindeki olumsuz etkilerinin asgari düzeye indirilerek çevre kirliliğinin önlenmesi, düzenli depolama tesislerinin işletilmesi, kapatılması ile kapatma sonrası kontrol ve bakım süreçleri, işletme, kapatma ve kapatma sonrası bakım süreçlerinde düzenli depolama tesislerinden kaynaklanabilecek, çevre ve insan sağlığı açısından risk teşkil edebilecek olumsuzlukların (sera etkisi de dâhil olmak üzere) önlenmesi, mevcut depolama tesislerinin rehabilitasyonu, kapatılması ve kapatma sonrası bakım süreçleri ile ilgili teknik ve idari hususlar ile uyulması gereken genel kuralları belirlemektir. Aynı yönetmelikte, işletme aşamasında veya kapatma sonrası aşamasında alınan numunelerde analiz edilmesi gereken parametreler; beklenen sızıntı suyu kompozisyonu ve bölgedeki yeraltı suyunun kalitesine göre seçilmelidir denmektedir. İzleme parametreleri (özellikle pH, TOK, fenoller, ağır metaller, florür, arsenik, yağ / hidrokarbonlar vb.) su kalitesindeki değişikliklerin erkenden tespit edilebilmesi amacıyla gerekli gösterge parametrelerini içermelidir. İlgili yönetmelikte yeraltı suyunun kalitesi ve seviyesi her altı ayda bir ölçülmelidir hükmü yer almaktadır. Katı atık depolama alanlarındaki izleme kuyularında gerçekleştirilecek mikrobiyal tür tayinleri ile indikatör organizmaların izlenmesi, izleme ve kontrol çalışmalarına katkı sağlayacaktır.

REFERENCES / KAYNAKLAR

- [1] Ishii, K., Takii, S., 2003. Comparison of microbial communities in four different composting processes as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology* 95, 109–119.
- [2] Ishii, K., Fukui, M., Takii, S., 2000. Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology* 89, 768–777.
- [3] Fogarty and Tuovinen, 1991 Microbiological degradation of pesticides in yard waste composting *Microbiol Mol Biol Rev.* 1991 June; 55(2): 225-233.
- [4] Beffa, T., M. Blanc, P.F. Lyon, G. Vogt, M. Marchiani, J.L. Fischer and M. Aragno, Isolation of *Thermus* strains from hot composts (60 to 80 °C), *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (1996), pp. 1723–1727.

- [5] Brad, T., Braster, M., et al., 2008., Eukaryotic diversity in an anaerobic aquifer polluted with landfill leachate, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74 (13) p.3959-3968.
- [6] Lin, B., 2006., Composition and functioning of iron-reducing communities in two contrasting environments, i.e. a landfill leachate-polluted aquifer and estuarine sediments, A thesis, Vrije University, Amsterdam, The Netherland.
- [7] Kerndorff, H., Kühn, S., Minden, T., Orlikowski, D., Struppe, T., 2008. Effects of natural attenuation processes on groundwater contamination caused by abandoned waste sites in Berlin, *Environ. Geol.*, 55, p. 291-301.
- [8] Demnerova, K., et al., 2005. Two approaches to biological decontamination of groundwater and soil polluted by aromatics-characterization of microbial populations, *International Microbiology*, 8, 205-211.
- [9] Kasai, Y., Takahata, Y., Manefield, M., Watanabe, K., 2006. RNA-based stable isotope probing and isolation of anaerobic benzene-degrading bacteria from gasoline-contaminated groundwater, *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(5).
- [10] Calli, B. ve Girgin, E. 2005. Microbial analysis of leachate using fluorescent in-situ hybridization (FISH) technique to evaluate the landfill stability. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14(8), 737-745.
- [11] Chen, A.C., Imachi, H., Sekiguchi, Y., Ohashi, O., Harada, H. 2003. Archaeal community compositions at different depth (up to 30 m) of a municipal solid waste landfill in Taiwan as revealed by 16S rDNA cloning analyses. *Biotechnology Letters*, 25, 719-724.
- [12] Huang, L.N., Zhou, H., Chen, Y.Q., Luo, S., Lan, C.Y., Qu, L.H. 2002. Diversity and structure of the archaeal community in the leachate of a full-scale recirculating landfill as examined by direct 16S rRNA gene sequence retrieval. *FEMS Microbiology Letters*, 214, 235-240.
- [13] Dees, P.M., Ghiorse, W.C., 2001. Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. *FEMS Microbiology Ecology* 35, 207–216.
- [14] Kim, M. 2003. The study of landfill microbial communities using landfill gas and landfill gas condensate. Thesis, Drexel University.
- [15] Gurtner, C., Heyrman, J., Pinar, G., Lubitz, W., Swings, J., Rolleke, S., 2000. Comparative analyses of the bacterial diversity on two different biodeteriorated wall paintings by DGGE and 16S rDNA sequence analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation* 46, 229–239.
- [16] Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A., 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 80 (3), 217–225.