

---

## HAM PETROL VE ATIK YAĞ İLE KİRLENMİŞ TOPRAKLARDA ARITMA ÇAMURU UYGULAMASININ ENZİM AKTİVİTELERİNE ETKİSİ

*Efsun DİNDAR\**  
*F. Olcay TOPAÇ ŞAĞBAN\**  
*Hüseyin S. BAŞKAYA\**

---

Alınma: 29.08.2016; kabul: 23.02.2017

**Öz:** Petrol kökenli ürünler toprak ekosisteminde büyük tahribatlar yaratır. Bu durum, bu maddelerin düşük biyolojik organik bileşik karışımlarının çoğu zaman potansiyel karsinojenik ve mutajenik olarak tarif olmasından kaynaklanmaktadır. Biyolojik parçalanmaya dayanıklı petrol kökenli hidrokarbonların toprakta birikmesi, enzim aktiviteleri ve mikroorganizma varlığı gibi biyolojik parametrelerin değişmesine sebep olmaktadır. Bu çalışmada, ham petrol ve atık mineral motor yağı ile seçilen oranlarda (%0,5 ve %5) kirlenilen topraklara organik kirleticinin parçalanmasını kolaylaştırmak amacıyla arıtma çamuru ilave edilmiştir. Hazırlanan örneklerle 12 aylık bir inkübasyon çalışması yürütülmüş olup seçilen enzim aktiviteleri (ürez, dehidrojenaz, alkali fosfataz,  $\beta$ -glukosidaz) analizlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, arıtma çamuru ilavesi ham petrol ve atık yağ ile kirlenmiş topraklarda enzim aktivitelerinin iyileşmesine katkıda bulunmuştur. Ürez, alkali fosfataz ve dehidrojenaz aktivitelerinin ham petrol ve atık mineral yağ kirliliğinden olumsuz etkilendiği tespit edilmiş olup  $\beta$ -glukosidaz aktivitesinde ise olumsuz bir etki gözlenmemiştir. Ham petrol ve atık yağ ile kirlenmiş topraklar arasında bir kıyaslama yapıldığında kirlenici tipleri açısından enzim aktiviteleri üzerinde önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** atık yağ, enzim aktiviteleri, ham petrol, inkübasyon, toprak.

### The Effect of Wastewater Sludge on Soil Enzyme Activities in Soil Contaminated with Crude Oil and Waste Engine Oil

**Abstract:** Petroleum products cause great devastation in soil ecosystems. This results from the fact that these substances are mixtures of organic compounds with a low bioavailability, often described as potentially carcinogenic and mutagenic. As a result of the high potential of petroleum hydrocarbons to accumulate in the soil environment, together with their resistance to biodegradation, these compounds cause substantial changes in biological parameters, such as enzymatic activity and abundance of microbes. The objective of this study was to evaluate the effects of different types of hydrocarbon pollution (crude oil and waste engine oil) on soil enzyme activities at the end of incubation period of 12 months. The possible use of wastewater sludge as a biostimulating agent in petroleum-contaminated soils was also evaluated. Enhanced enzyme activity levels in contaminated soils indicated that crude oil and waste engine oil appeared to stimulate microbial growth and enzyme activity in the soil environment. Results showed that hydrocarbon contamination inhibited enzymatic activities (except  $\beta$ -glucosidase) in all the amended soil samples. The effect of wastewater sludge amendment on soil enzymes in polluted soil appears to depend on contaminant dose and the origin of the petroleum product.

**Keywords:** crude oil, enzyme activities, incubation, soil, waste engine oil.

---

\*Uludağ Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 16059, Görükle, Bursa  
İletişim Yazarı: Efsun Dindar ([efsun@uludag.edu.tr](mailto:efsun@uludag.edu.tr))

## 1. GİRİŞ

Petrol, bir asrı aşkın bir süredir dünyanın en önemli enerji kaynağı olmaya devam etmektedir. Petrole eşdeğer yeni bir enerji kaynağı bulunmadığı sürece bu öneminin devam edeceği de ortadadır (Yılmaz, 2012). Bu artan enerji talebi petrol ve petrol ürünleri (PPÜ)'nin kullanımını arttırarak, petrolün çıkarılmasını, işlenmesini ve nakliyesini gündeme getirmiştir. Bu faaliyetler sırasında ortaya çıkan kazalar, sızıntılar, dikkatsizlikler toprak ve su ortamında büyük bir çevre kirliliği oluşturmaktadır (Li ve ark. 2006).

Petrol ile kirlenmiş toprakların arıtılması oldukça pahalı ve güç olup, uzun zaman gerektirmektedir. Petrol, toprak kırıntılarını dağıtarak toprak strüktürünü etkilemekte, böylece toprağın hava ve su ekonomisini bozmaktadır. Toprak kolloidleri olan humus ve kilin yüzeyini kaplayarak bunların besin maddelerini tutma kapasitesini (adsorpsiyon kapasitesini) azaltmakta ve böylece toprakta besin maddesi iyon dengesini de bozulmasına sebep olmaktadır. Petrol ürünü olan mineral yağların toprakta kalma süresi (30-40 yıl), petrolün kalma süresi (70 yıldan çok) çok uzun olduğundan zarar derecesi de o derece tehlikelidir. Bu nedenle petrol kökenli hidrokarbon konsantrasyonları kirliliğin gideriminde tespit ve takip edilmelidir.

Ham petrolün içeriğinde yüksek oranda metal ve ağır polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) yer almaktadır (Boonchan vd., 2000). PAH'ların büyük bir kısmının çevrede birikmesi ve uzun süre kalması sonucu, çevreyi kirlettiği ve biyolojik dengeyi olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Kirletici özelliklerinden dolayı biyolojik dengeyi önemli ölçüde etkileyen PAH'lardan ve petrol ile petrol türevlerinden çevrenin temizlenmesi, çevre ve uygulamalı mikrobiyoloji açısından oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Van Hamme vd., 2003).

Atık mineral yağların kirletici gücü de oldukça yüksektir. Atık motor yağları, düşük ve yüksek moleküler ağırlıkta olan (C<sub>15</sub>-C<sub>20</sub>) alifatik hidrokarbonları, aromatik hidrokarbonları, PCB'leri, klorodibenzofuranları, yağlayıcı katkı maddelerini, ayrılmış ürünleri, ağır metalleri (alüminyum, krom, tin, kurşun, mangan, nikel) ve silikon gibi farklı kimyasalları içermektedir (Achuba ve Clarke 2008). Bu yağlar doğada doğal bulunmayan fakat yaygın olarak rastlanan toksik kirleticilerdir. Yüksek miktarda atık motor yağı, motor yağı değiştiğinde ve kanallara verildiğinde su drenajıyla, açık boş arazi ve tarım arazilerinde motor mekanikleri ve üretici mekanizmalar tarafından çevreye karışmaktadır.

Kirletilmiş alanlardaki bileşiklerin parçalamasında mikroorganizmaların kendi metabolik enzimlerini kullandığı bilinmektedir. Toprakta yaşayan mikroorganizmaların kompleks organik maddeleri, basit anorganik bileşiklere veya besin iyonlarına kadar parçalaması sırasında enzim aktiviteleri ölçülerek organik maddenin mineralizasyonu hakkında bilgi edinilebilmektedir. Toprak enzimolojisi alanında yapılan araştırmalar toprak enzimlerinin verimlilik üzerine etki yaptıklarını, bir toprağın çeşitli enzimlerinin aktivitelerinin tayini suretiyle o toprağın verimlilik derecesi hakkında bir fikir edinilebileceğini ortaya koymaktadır (Dindar vd., 2015). Her kültür toprağında o toprağa göre bir enzim seviyesi olduğu belirtilmiştir. Topraktaki enzimler azot (ürezaz, proteaz), fosfor (fosfatazlar) ve karbon ( $\beta$ -glukosidaz) döngüsünde yer aldıkları için toprağın biyolojik verimliliğinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilirler. Dehidrogenaz aktivitesi toprak mikroorganizmalarının metabolik aktivitelerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Ürezaz aktivitesinin orijini temel olarak mikrobiyal ve toprakta oluşabilen kararlı komplekslerdir. Fosfatazlar, topraktaki fosfor döngüsünün anahtar enzimleridir. Fosfataz aktivitesindeki değişimler, topraktaki fosforlu substratların kalitesinde meydana gelen değişimlerin bir göstergesi olduğu gibi, toprağın biyolojik durumunun da iyi bir göstergesi olarak kabul edilirler.  $\beta$ -glukosidaz ise  $\beta$ -glukosidlerin hidrolizini katalizleyen bir enzimdir ve bu enzim aktivitesi organik maddenin parçalanmasına ilişkin fikir vermektedir (Ndiaye vd., 2000).

Bu çalışmada, ham petrol ve atık mineral dizel motor yağı ile belirli oranlarda kirletilmiş toprakların incelenmesi amaçlanmıştır. Ham petrol ve atık mineral dizel yağı ile yüksek miktarda kirlenme şartlarını simüle etmek amacıyla yüksek doz (%5), sızma (damlama) şartlarını simüle etmek amacıyla düşük doz (%0,5) olmak üzere 2 farklı kirletici dozu belirlenmiştir. Petrol hidrokarbonları biyolojik olarak parçalanmasını hızlandırmak amacıyla

organik madde katkısı olarak toprağa arıtma çamuru ilavesi yapılmıştır. Uygulanacak yöntemlerle hidrokarbonların parçalanması sürecinde toprak enzim aktivitelerine etkinin sıcaklığa bağlı olarak değişimini belirlemek amacıyla inkübasyon çalışmasının +18°C ve +28°C'ler olmak üzere iki ayrı sıcaklıkta yürütülmüştür. Farklı sıcaklıklarda yürütülen bu uygulamalara ait toprak numunelerindeki enzim aktiviteleri için 12 aylık inkübasyon süresi belirlenmiştir. Toprak numunelerine uygulanan söz konusu değişkenlerin mikrobiyal aktiviteye olan etkisini izlemek amacıyla yapılan çalışmada toprak enzimlerinden üreaz, fosfataz, dehidrogenaz ve  $\beta$ -Glukosidaz enzim aktiviteleri analizlenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Toprak Örnekleri

Toprak örnekleri, Balabancık Köyü'nde bulunan bir tarım arazisinden alınmıştır. Köy Bursa ilinin Mudanya ilçesinde yer almaktadır. Bursa İzmir yoluna 5 km uzaklıkta olup, Uludağ Üniversitesi Görükle kampüsüne Bursa Ovası'ndan gelen Nilüfer Çayı ile sınırlıdır. Köyün tarım arazisi son derece verimli ve sulak toprağa sahiptir. Toprak tekstürü kumlu-killi olup % 56 kum, % 18,5 silt ve % 25,4 kil içeriğine sahip olarak tespit edilmiştir (Dindar 2014).

0-20 cm derinlikten alınan toprak örnekleri bez çuvalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Hava kuru durumuna gelinceye kadar laboratuvar ortamında kurutulup, toprak örneklerindeki taşlar ayıklanarak ve örnekler ezilerek 4 mm'lik eleklerden elenmiştir. Toprak örneğinin karakterizasyon özellikleri Tablo 1'de verilmektedir.

### 2.2. Arıtma Çamurları

Araştırmada kullanılan arıtma çamuru örneği, Bursa-İzmir karayolu 22. Km'sinde bulunan Penguen Gıda Sanayi A.Ş.' den temin edilmiştir. Fabrikanın arıtma tesisinin atıksu kapasitesi 5500 m<sup>3</sup>/gün' dür ve tesisten ortalama 15 ton/ay arıtma çamuru keki çıkmaktadır. Arıtma tesisini terk eden arıtılmış atıksular hemen yakında bulunan dereye deşarj edilirken, ham çamur fabrikanın kullanım sahası içinde depo edilmektedir.

Topraklara uygulanan çamurlardaki ağır metaller 08.06.2010 tarihli ve 27605 sayılı Toprak Kirliliğinin Kontrolü ve Noktasal Kaynaklı Kirlenmiş Sahalara Dair Yönetmelik' indeki sınır değerlerini aşmamaktadır.

Kirlenmiş toprağa ıslah için 100 ton/ha (40 g/kg) oranında aerobik arıtma çamuru uygulanmıştır. Arıtma çamuruna ait karakterizasyon özellikleri de Tablo 1'de verilmektedir.

**Tablo 1. Çalışmada kullanılan toprak ve arıtma çamuru özellikleri**

Parametre	Değerler	
	Arıtma Çamuru	Toprak
pH	6,97	7,76
EC, mS/cm (1:5)	5,04	0,23
Katı Madde %	16,4	-
Organik C %	33,5	1,7
Total N %	3,5	0,12
C/N oranı	9,57	14,17
NH <sub>4</sub> -N, mg/kg kuru çamur	201,93	24,1
NO <sub>3</sub> -N, mg/kg kuru çamur	171,64	24,1
Toplam P, %	0,5	0,17
Yarayışlı PO <sub>4</sub> -P, mg/kg kuru çamur	386,11	20,69
Toplam ağır metaller (mg/kg):		
Zn	334,2	65,02
Cu	53,50	15,34
Ni	58,29	128,0
Cr	48,20	98,69
Cd	3,50	0,21
Pb	11,66	İz miktarda

### 2.3. Petrol ve Petrol Ürünleri

Çalışmada kirlenici olarak ham petrol ve atık mineral dizel motor yağı kullanılmıştır. Ham petrol Aliğa rafineri tesisinden işlenmemiş olarak, atık mineral dizel yağı ise değişim esnasında doğrudan traktör motoru atık yağ çıkışından alınmıştır. Kirlenici dozu % 0,5 ve % 5 (w/w) olarak uygulanmıştır.

Kullanılan ham petrolün spesifik gravitesi 0,86 (60F/60F), gravitesi 33,4 API, viskozitesi 10,20 cs (70F), toplam sülfat yüzdesi %1,79 (wt), vanadyum konsantrasyonu 20,50 ppm, nikel içeriği 4,40 ppm ve toplam azot yüzdesi %0.0980 (wt)'dir.

Kullanılan atık motor yağı ise 10W/40 dizel olup, tipik karakterizasyon özellikleri kurşun (Pb, 40 ppm, çinko (Zn, 650 ppm), kalsiyum (Ca, 1200 ppm), baryum (Ba, <5 ppm) and magnezyum (Mg, 65 ppm) olup viskozitesi 80 mm<sup>2</sup>/s (40°C)'dir.

### 2.4. İnkübasyon

Toprak örnekleri 40 gr olarak tartılarak cam inkübasyon kaplarına konulmuştur. Hazırlanan topraklara ağırlıkça %0,5 ve %5 oranında ham petrol ve atık motor yağı uygulanmıştır. Kirlenmiş toprak örneklerinden seçilenlere 40 g/kg oranında arıtma çamuru uygulanarak 18°C ve 28°C'de 12 Ay süresince 3 tekrarlı inkübasyon çalışması yapılmıştır. İnkübasyon süresi boyunca topraktaki nem içeriği tarla kapasitesinin %70 i oranında muhafaza edilmiştir. Buharlaşıma yoluyla su kaybına engel olmak için distile su kullanarak günlük periyotlarda sulama yapılmıştır.

### 2.5. Analitik Metotlar

#### 2.5.1. Toprak ve arıtma çamurunun kimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Toprak ve arıtma çamuru örnekleri analizler için aynı şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerde elektriksel iletkenlik ve pH 1:5 (w/v) oranında saf su ile çalkalanarak elde edilen ekstraktlarda ölçülmüştür (Rhoades, 1982; McLean, 1982). Toplam azot içeriğinin belirlenmesi için Kjeldahl yöntemiyle yakma yapılarak ve toplam azot konsantrasyonları su buharı destilasyonu ile belirlenmiştir (Bremner ve Mulvaney 1982). Nitrat ve amonyum azotu miktarlarının belirlenmesi için de örnekler 1.0 N KCl çözeltisi ile ekstrakte edilerek ve MgO ve Devarda alaşımı kullanılmak suretiyle su buharı destilasyonu yöntemiyle belirlenmiştir (Keeney ve Nelson 1982).

Örneklerdeki organik karbon %'leri dikromat oksidasyonuna dayalı Walkley-Black yöntemine göre belirlenmiştir (Nelson ve Sommers 1982). Toplam fosfor miktarının belirlenmesi için ise nitrik asit ve sülfürik asitle yakma yapılmıştır. Ekstraktlardaki fosfor miktarı askorbik asit yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Anonim 1985).

Toplam ağır metal konsantrasyonları da örneklerin HNO<sub>3</sub> ile muamele edildikten sonra mikrodalga ile yakma işlemi ardından ICP OES (Perkin Elmer 2100 DV Optima) ile analizlenmesiyle belirlenmiştir (Isaac ve Johnson, 1998).

#### 2.5.2. Toprak Enzim Aktiviteleri Analiz Yöntemleri

Toprak örnekleri 18°C ve 28°C olmak üzere 2 gruptan oluşturulmuştur. Oluşturulan örnek gruplarında 4 farklı toprak enziminin (ürezaz, fosfataz, dehidrogenaz, β-glukosidaz) değişimi incelenmiştir. İncelenen enzim aktivitelerinin analizleri Tabatabai (1994) tarafından bildirildiği şekilde tayin edilmiş olup, analiz yöntemleri aşağıda verilmiştir.

**-Ürezaz Aktivitesi:** Ürezaz aktivitesinin belirlenmesi için toprak örnekleri 7,5 gr tartılmıştır. Toprak örneklerine 13,5 ml THAM tampon çözeltisi, 0,3 ml toluen ve 1,5 ml üre çözeltisi ilavesi yapılmıştır. Hazırlanan örnekler 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun

ardından örneklere 52,5 ml KCl-Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenerek aktivite durdurulmuş ve toprak süspansiyonundaki amonyum azotu miktarı buhar destilasyonu ile belirlenmiştir. Sonuçlar mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N /kg kuru toprak.sa cinsinden hesaplanmıştır.

**-Fosfataz Aktivitesi:** Fosfataz aktivitesinin belirlenmesi için 1 gr toprak örneğine 0,2 ml toluen, 4 ml MUB (alkali fosfataz için pH=11) ve substrat olarak aynı tamponla hazırlanmış 1 ml ρ-nitrofenil fosfat eklenmiştir. Toprak örnekleri 37°C'de 1 saat inkübe edilmiş, inkübasyonun ardından toprak örneklerine 1 ml 0,5 M CaCl<sub>2</sub> ve 4 ml 0,5M NaOH eklenerek aktivite durdurulmuş ve toprak süspansiyonu katlı filtreden süzölmüştür. Oluşan sarı renk yoğunluğu 410 nm' de belirlenmiştir. Filtratın ρ-nitrofenol (PNP) içeriği saf ρ-nitrofenolle hazırlanan kalibrasyon serisiyle karşılaştırılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar µg PNP/gr kuru toprak.sa olarak hesaplanmıştır.

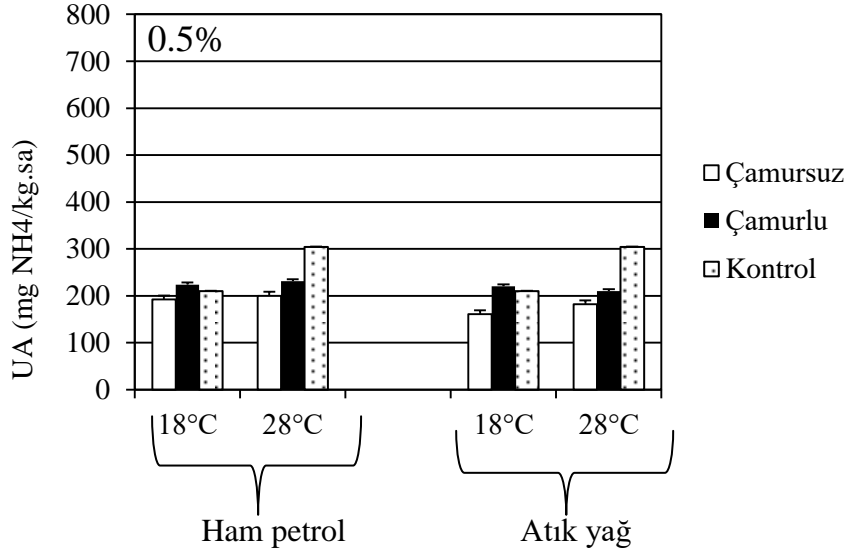
**-Dehidrogenaz Aktivitesi:** Dehidrogenaz aktivitesini belirlemek üzere 20 gr hava kuru toprak 0,2 gr CaCO<sub>3</sub> ile karıştırılmış ve bu karışımdan 6 gr alınarak üzerine 1 ml %3'lük TTC (2,3,5-trifenil tetrazolyum klorür) çözeltisi ve 2,5 ml destile su eklenmiştir. Tüplerdeki karışım cam bagetle karıştırılır ve ağzı kapanarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından karışıma 10 ml metanol eklenerek 1 dk karıştırılmıştır. Elde edilen süspansiyon pamuktan süzölmüştür. Elde edilen kırmızı renk 485 nm' de ölçölmüştür. Filtratın TPF (trifenil formazan) içeriği TPF standart çözeltisinden hazırlanan kalibrasyon serisiyle karşılaştırılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar µg TPF/ gr kuru toprak.24sa olarak hesaplanmıştır.

**-β-Glukosidaz Aktivitesi:** β-glukosidaz aktivitesini belirlemek üzere 1 gr toprak üzerine 0,25 ml toluen, 4 ml MUB (pH=6) ve 1 ml PNG (ρ-nitrofenil-β-D-glukosit) solüsyonu eklenmiştir. 37°C'de 1 saat inkübe edildikten sonra örnekler üzerine 1 ml 0,5 M CaCl<sub>2</sub> ve 4 ml 0,1 M THAM tampon çözeltisi (pH=12) eklenmiştir. Kağıt filtreden süzölen toprak süspansiyonundaki sarı renk yoğunluğu 410 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Filtratın ρ-nitrofenol (PNP) içeriği saf ρ-nitrofenolle hazırlanan kalibrasyon serisiyle karşılaştırılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar µg PNP/ gr kuru toprak.sa olarak hesaplanmıştır.

### 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Üreaz Aktivitesi

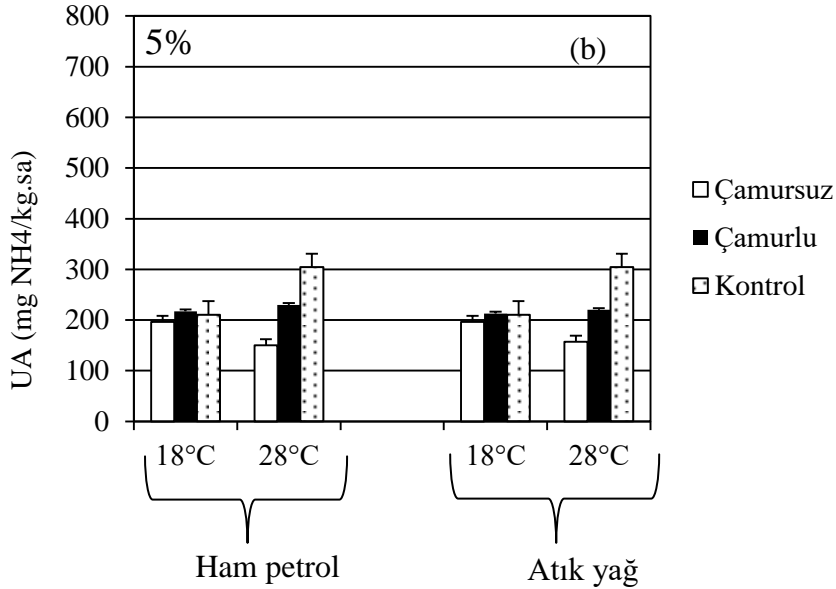
Üreaz enzimi, ürenin karbondioksit ve amonyaka hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. Üreaz aktivitesi üzerine organik karbonun, organik madde kapsamının, toplam azotun yüksek düzeyde etki ettiği bilinmektedir (Kızılkaya vd. 1998). Yapılan analizler sonucu %0,5 ve %5 oranlarında ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda arıtma çamuru uygulamasının 18°C ve 28°C sıcaklıkta elde edilen üreaz aktivitesi (UA) değerlerindeki değişim sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de görölmektedir. Şekil 1 incelendiğinde, her iki sıcaklıkta ham petrol ve atık yağ ile kirlenmiş topraklarda arıtma çamuru uygulamasının üreaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Düşük doz (%0,5) ham petrol ve atık mineral dizel motor yağı ile kirlenmiş toprakların üreaz aktivitesi incelendiğinde, üreaz aktivitesinin 12 aylık inkübasyon süresi sonunda kontrol toprağına göre daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Bu durum düşük dozda kirlenmenin topraktaki üreaz aktivitesini inhibe ettiğini düşöndürmektedir.



**Şekil 1:**  
*Düşük dozda kirlenmiş toprakta üreaz aktivitesinin değişimi*

Düşük dozda kirletici tipine bağlı kıyaslama yapıldığında ham petrol ve atık mineral motor yağı arasında önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Yüksek dozda (%5) ham petrol ve atık mineral dizel motor yağı ile kirlenmiş toprakların üreaz aktivitesi incelendiğinde, 12 aylık inkübasyon süresi sonunda kontrol toprağına kıyasla daha düşük üreaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Bu durum ham petrol ve atık mineral motor yağ kirliliğinin üreaz aktivitesini inhibe ettiği, özellikle 28 °C sıcaklık için bu durumun daha belirgin olduğu görülmektedir.



**Şekil 2:**  
*Yüksek dozda kirlenmiş toprakta üreaz aktivitesinin değişimi*

Arıtma çamuru ilavesi yapıldığında ise kirlenmiş topraklarda her iki sıcaklık için üreaz aktivitesinde artış olduğu dikkat çekmiştir. Bunun sebebi ortamdaki organik madde ilavesi ile mikroorganizmaların besin kaynağının artmasıyla mikrobiyal aktivitenin de artması ile

açıklanabilir. Ortamda canlılığını sürdüren mikroorganizmalar besin kaynağı olarak organik azotu mineral azot formuna dönüştürmektedir. Yüksek azot içeriğinin, hidrokarbon parçalayan mikroorganizmaların aktivitesinin artmasına yol açtığı bilinmektedir (Mohn ve Stewart 2000, Caravaca ve Roldan 2003). Azot ile toplam petrolü hidrokarbonlar arasında azalan bir doğrusal ilişkinin olduğunu ve azotun petrol hidrokarbonlarının parçalanması için uygun bir ortam sağladığı bildirilmiştir (Odokuma ve Dickson 2003b).

Her iki doz kıyaslandığında arıtma çamuru uygulaması yapılmamış topraklarda 28°C’de üreaz aktivitesinin kirlenmeden dolayı daha fazla miktarda etkilendiği tespit edilmiştir.

### 3.2. Alkali Fosfataz Aktivitesi

Toprak sisteminde anahtar rol oynayan fosfataz enzimleri toprak verimliliği tespitinde kullanılan başarılı bir indikatördür. Fosfataz aktivitesi organik fosforu düşük molekül ağırlıklı organik ve inorganik fosfor bileşiklerine mineralize eder. Bu enzim özellikle hidrokarbon kirlenmesi altında olan ve toprak C:P oranının yüksek olduğu durumlarda önemlidir. Bu yüzden hidrokarbonla kirlenmiş topraklarda fosfataz aktivitesi indikatör olarak kullanılmaktadır.

Ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile %0,5 ve %5 oranlarında kirlenmiş topraklarda arıtma çamuru uygulamasının 18°C ve 28°C sıcaklıkta elde edilen alkali fosfataz aktivitesi (APA) değerleri Şekil 3 ve Şekil 4’de görülmektedir.

Düşük dozda 18°C’de ham petrol ile kirlenmiş toprakların APA seviyesi, kontrol toprağına kıyasla daha düşük bulunmuştur. Arıtma çamuru ilavesinin APA seviyesini arttırdığı özellikle 28°C’de kontrol seviyesinden daha yüksek bir seviyeye getirdiği görülmektedir. Bu durum yüksek sıcaklıkta arıtma çamurunun daha hızlı ve kolay mineralize olarak organik kirleticinin de parçalanmasını sağladığını, kirlilik kaynaklı inhibisyonu baskıladığını düşündürmektedir. Yapılan başka bir çalışmada da organik madde ilavesinin fosfataz enzim aktivitesinde artışa neden olduğu belirtilmiştir (Kremer ve Li 2003).

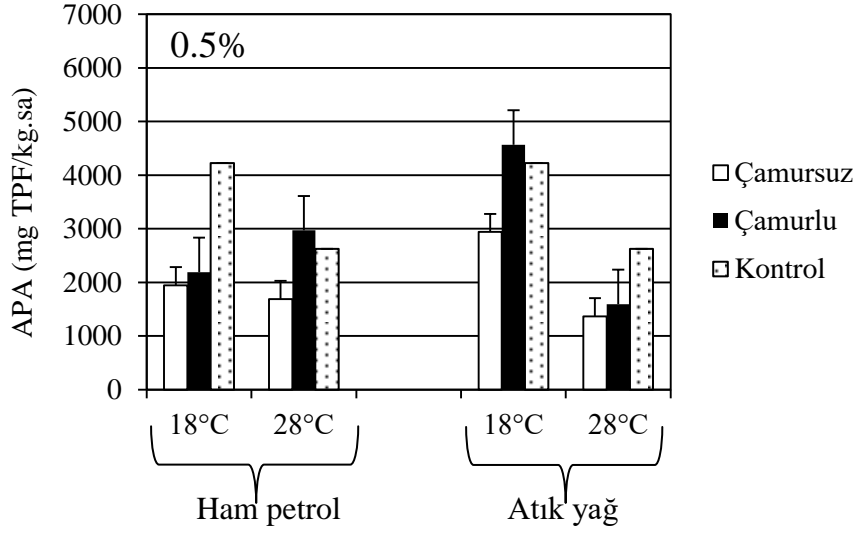
Düşük dozda atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda APA değerleri incelendiğinde, arıtma çamuru uygulaması yapılmamış kirlili toprakların APA seviyesinin kontrol değerlerine göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Arıtma çamuru ilavesinin topraklardaki APA seviyesini arttırdığı görülmektedir. Her iki kirlenici tipi için sıcaklığa bağlı değerler kıyaslandığında genel olarak 18°C’deki APA değerlerinin daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Ancak kirlenici tipleri düşük sıcaklıkta önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.

Yüksek dozda ham petrol ile kirlenmiş topraklarda her iki sıcaklık için arıtma çamuru uygulanmamış kirlili topraklardaki APA seviyesi kontrol değerlerine göre daha düşük gözlenmiştir. Arıtma çamuru ilavesi yapılan topraklarda APA seviyesinin artış gösterdiği tespit edilmiştir.

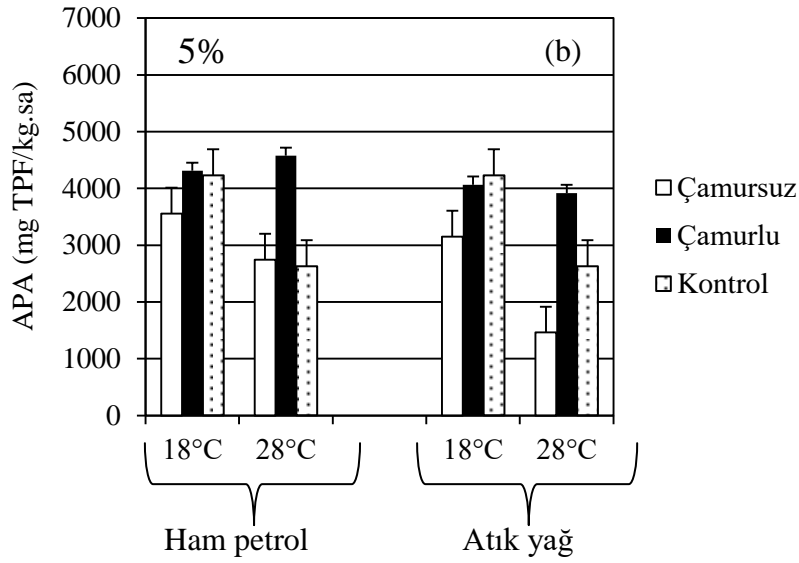
Genel olarak, ham petrol ile kirlenmiş toprakların APA seviyesinin atık motor yağı ile kirlenmiş topraklara nazaran daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Bu durumun muhtemel sebebinin atık motor yağı içerisinde yanmadan kaynaklı ortaya çıkan toksik bileşenlerin inhibisyon etkisi ve atık yağın hidrofobik yapısı olduğu düşünülmektedir (Kirk vd., 2005).

Her iki kirlenici tipi için sıcaklığa bağlı değerler kıyaslandığında genel olarak 18°C’deki APA değerlerinin daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Yüksek sıcaklıkta organik madde parçalanmasının daha kolay olmasıyla ortaya çıkan ara ürünlerin enzim aktivitesini inhibe etmiş olmasından dolayı APA seviyesinin düşmüş olabileceği göz önüne alınmıştır.

Dozlar arasında bir kıyaslama yapıldığında %5 oranındaki ham petrol kirlenmesinde APA seviyesi %0,5 kirlenmeye göre daha yüksek olarak belirlenirken, atık mineral yağ ile kirlenmiş topraklarda büyük bir farklılık olmadığı görülmektedir.



**Şekil 3:**  
Düşük dozda kirlenmiş toprakta alkali fosfataz aktivitesinin değişimi



**Şekil 4:**  
Yüksek dozda kirlenmiş toprakta alkali fosfataz aktivitesinin değişimi

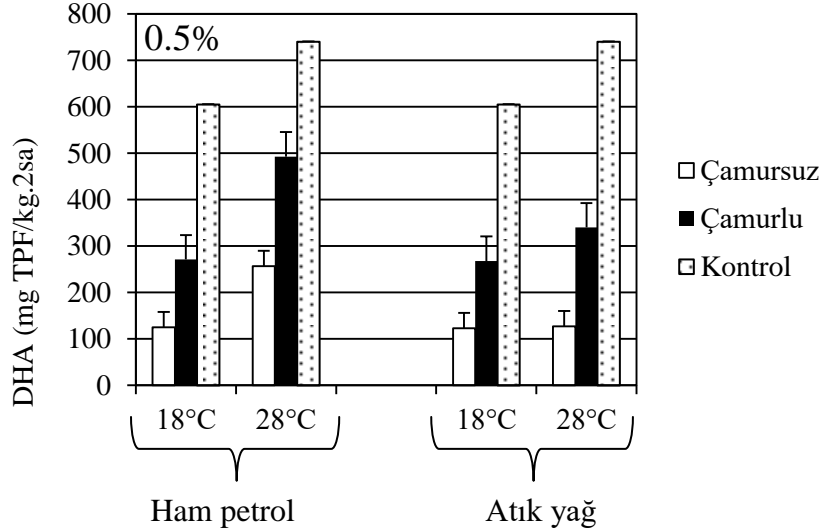
### 3.3. Dehidrogenaz Aktivitesi

Dehidrogenaz aktivitesi, toprak verimliliğinin sürdürülebilir olması için gerekli biyokimyasal proseslerin belirlenmesinde önemli bir indikatördür. Yapılan analizler sonucu, %0,5 ve %5 oranlarında ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda arıtma çamuru uygulamasının 18°C ve 28°C sıcaklıkta elde edilen dehidrogenaz aktivitesi (DHA) değerleri Şekil 5 ve Şekil 6'de görülmektedir.

Düşük dozda ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda DHA seviyelerinin kontrol değerlerine kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum enzim aktivitesinin kirlilikten olumsuz etkilendiğini göstermektedir. Arıtma çamuru uygulamasının DHA seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. Bu durum arıtma çamurunun kirli topraklarda



iyileştirici olarak kullanılabileceğine dair bir önemli bir bulgudur. Sonuçlar incelendiğinde 28°C’de DHA seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. DHA seviyesinin değişiminde sıcaklığın önemli bir etkisi olduğu açıkça görülmektedir. Kirletici tipleri kıyaslandığında ham petrol ile kirlenmiş topraklarda aktivitenin daha yüksek olduğu söylenebilir.



Şekil 5:

Düşük dozda kirlenmiş toprakta dehidrogenaz aktivitesinin değişimi

Yüksek dozda ham petrol ve atık mineral dizel motor yağı ile kirlenmiş topraklarda her iki sıcaklıkta DHA seviyeleri kontrol değerlerine kıyasla önemli derecede düşük tespit edilmiştir. Arıtma çamuru ilavesinin 28°C’de atık yağ ile kirlenmiş toprak örneği dışında önemli bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bu durum ortamdaki toksik etki artışı yanında kullanılabilir substrat miktarı sınırlanması ile ilgili olduğu izlenimini vermektedir. Brohon vd. (2001), dehidrogenaz aktivitesinin petrol kirliliğine duyarlı olduğu bildirmişti. En yoğun oranda petrol ile kirlenmiş toprakta dehidrogenaz aktivitesinin %50 oranında sınırlandığı tespit edilmiştir. Petrolün parçalanması sonrasında dehidrogenaz aktivitesinin azaldığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Janke vd. 1992, Van der Waarde vd. 1995, Margesin ve Schinner 2000).

Yüksek dozda kirleticileri tipleri arasında önemli bir farklılık belirlenmezken, her iki kirletici için 18°C’de DHA seviyelerinin daha yüksek olduğu göze çarpmaktadır.

### 3.4. β-Glukosidaz Aktivitesi

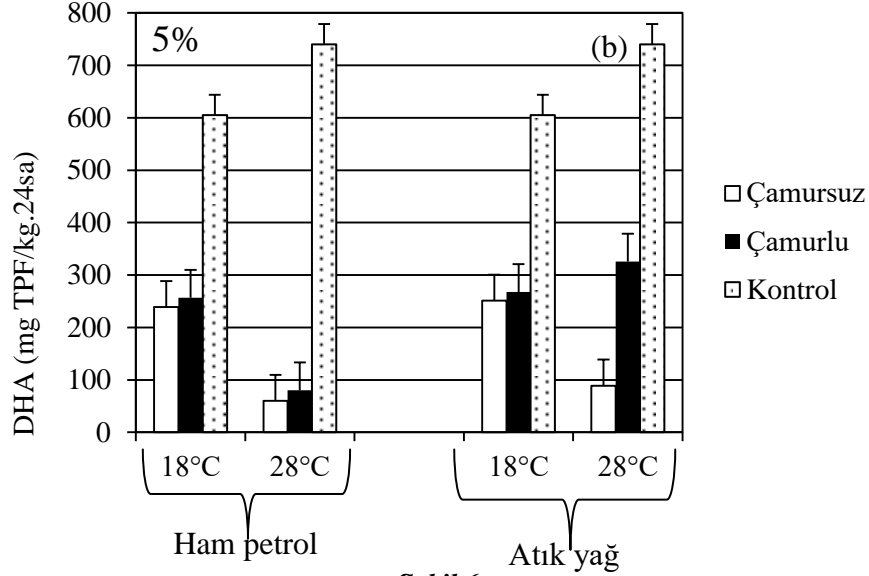
β-glukosidaz toprak kalitesinin belirlenmesinde kullanılan bir indikatör olup geçmiş biyolojik aktivitelerin yansıması hakkında bilgi vermektedir. Organik maddenin hidrolizini kapsadığından önemli bir rol oynamaktadır. Oluşan son ürün glikoz olduğundan toprak mikroorganizmaları için önemli bir karbon enerji kaynağıdır (Esen, 2010).

Yapılan analizler sonucu %0,5 ve %5 oranlarında ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda arıtma çamuru uygulamasının 18°C ve 28°C sıcaklıkta elde edilen β-Glukosidaz aktivitesi (BGA) değerleri Şekil 7 ve Şekil 8’de görülmektedir.

Düşük dozda ham petrol ile kirlenmiş toprakta BGA değerleri kontrol değerlerinden daha yüksek tespit edilmiştir (Şekil 7). Bu durum düşük dozdaki ham petrol kirlenmesinin inhibe edici bir etki yapmadığını düşündürmektedir. Ham petrol içerisinde organik karbon miktarının yüksek olması organik madde dekompozisyonunda rol oynayan BGA seviyesini olumlu etkilemiştir. Ancak arıtma çamuru ilavesi durumunda BGA seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Arıtma çamuru içerisindeki bileşenlerin parçalanma esnasında toksik ara ürünler

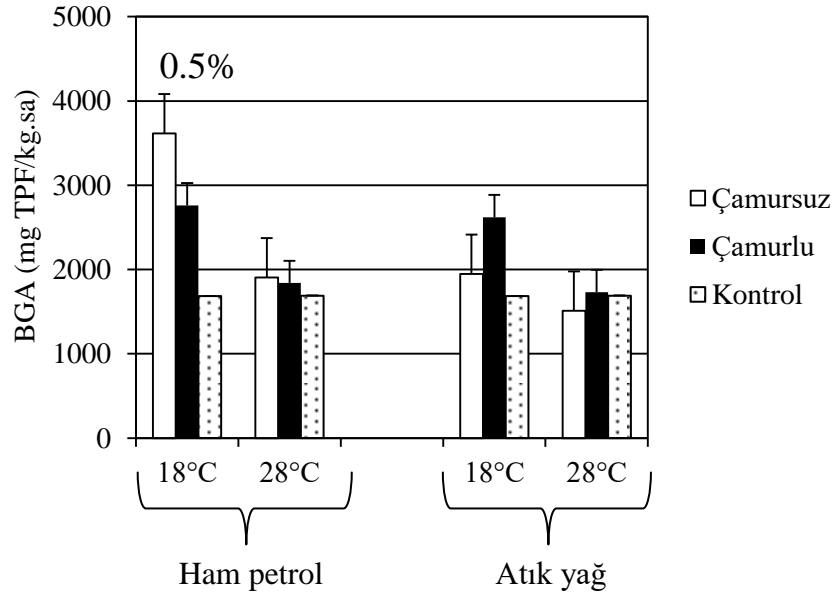
meydana getirmiş olabileceği ya da aşırı miktarda karbon içeriğinin aktiviteyi inhibe etmiş olabileceği düşünülmektedir.

Atık yağ ile düşük dozda kirlenmiş toprakların BGA seviyesi ise genel olarak kontrol değerinden yüksek tespit edilmiştir. Arıtma çamuru uygulaması da kirlenmiş toprakların enzim aktivitesinin iyileşmesine katkıda bulunmuştur.



Şekil 6:

Yüksek dozda kirlenmiş toprakta dehidrogenaz aktivitesinin değişimi

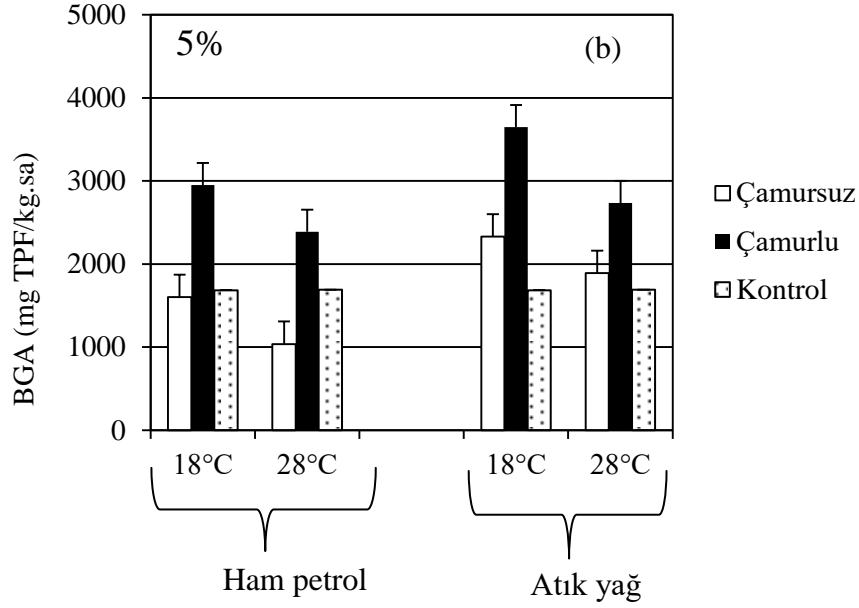


Şekil 7:

Düşük dozda kirlenmiş toprakta  $\beta$ -Glukosidaz aktivitesinin değişimi

Yüksek dozda (%5) ham petrol ve atık mineral dizel yağ ile kirlenmiş topraklarda BGA seviyeleri genel olarak kontrol değerlerinin üstünde tespit edilmiştir. Arıtma çamuru uygulamasının yüksek dozda kirlenmiş toprakların BGA seviyelerini olumlu etkilediği ve iyileştirme yönünde katkı sağladığı görülmektedir (Şekil 8). Atık yağ ile kirlenmiş topraklarda

tespit edilen BGA seviyelerinin ham petrol ile kirlenmiş toprakların BGA seviyelerinden yüksek olduğu dikkat çekmektedir.



**Şekil 8:**  
Yüksek dozda kirlenmiş toprakta  $\beta$ -Glukosidaz aktivitesinin değişimi

#### 4. DEĞERLENDİRME

- Çalışma sonuçlarına göre ham petrol ve atık yağ ile kirlenmiş topraklarda enzim aktiviteleri ( $\beta$ -glukosidaz hariç) kontrol toprağına kıyasla düşük bulunmuştur. Enzim aktiviteleri ham petrol ve atık yağ kirliliğinden olumsuz etkilenmiştir.
- Arıtma çamuru ilavesi ham petrol ve atık yağ ile kirlenmiş toprakların enzim aktivitelerinin iyileşmesine olumlu katkıda bulunmuştur.
- Toplam petrolü hidrokarbon kirliliğine maruz kalmış topraklarda organik madde ilavesi olarak arıtma çamurunun kullanımı hem toprak iyileştirici olarak arıtma çamurunun kullanımını gündeme getirmekte hem de arıtma çamuru bertarafına da bir alternatif yol göstermektedir.
- Kullanılacak arıtma çamurunun orijini ve miktarı yapılacak inkübasyon çalışmaları ile belirlenmelidir.

#### 5. TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'nun UAP(M) 2011/28 nolu projesi tarafından desteklenmiştir.

#### KAYNAKLAR

1. Achuba, F.I., Peretiemo Clarke, B.O. (2008) Effect of spent engine oil on soil catalase and dehydrogenase activities. International Agrophysics, 22, 1-4.
2. Anonim, (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA-AWWA-WPCF, Copyright by American Public Health Association, Washington, p. 1269.
3. Boonchan, S., Britz, M.L., Stanley, G.A. (2000) Degradation and mineralization of high-Molekular-weight polycyclic Aromatic hydrocarbons by defined fungal bacterial cocultures.

- Applied and Environmental Microbiology. 66, 3, 1007–1019. doi: 10.1128/AEM.66.3.1007-1019.2000
4. Bremner, JM, Mulvaney CS (1982) Nitrogen-total. In: Page, A.L., Miller, R.H. (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Agron. Monogr, second ed., vol. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 595-624.
  5. Brohon, B., Delolme, C., Gourdon, R. (2001) Complementarity of bioassays and microbial activity measurements for the evaluation of hydrocarbon-contaminated soils quality. Soil Biology and Biochemistry, 33, 883-891. doi:[10.1016/S0038-0717\(00\)00234-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00234-0)
  6. Caravaca, F., Roldan, A. (2003) Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludges under semiarid Mediterranean condition. Geoderma. 117; 53-61. doi:[10.1016/S0016-7061\(03\)00118-6](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(03)00118-6)
  7. Dick, W.A., Cheng, L., Wang, P. (2000) Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. Soil Biology and Biochemistry, Volume 32 (13): 1915-1919. doi: [10.1016/S0038-0717\(00\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00166-8)
  8. Dindar, E. (2008) Arıtma Çamuru Verilen Tarım Topraklarında Solucan Aktivitesinin Azot Formlarına ve Toprak Enzim Aktivitelerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, U.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
  9. Dindar, E., Topaç Sağban, F.O., Alkan, U., Başkaya, H.S. (2010) The influence of wastewater sludge amendment on the nitrogen content and urease activity of soil with earthworms. Fresenius Environment Bulletin, 19, 8a, 1655-1660.
  10. Dindar, E. (2014) Petrol ve Petrol Ürünleriyle Kirlenmiş Toprakların Islahı, Doktora Tezi, U.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı Bursa.
  11. Esen, A. (2010)  $\beta$ -Glucosidases, overview. In: ESEN, A. (Ed),  $\beta$ -Glucosidase: Biochemistry and Molecular Biology. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 1-13.
  12. Frankenberger, W.T., Johanson, J.B. (1982) Influence of crude oil and refin petroleum products on soil dehydrogenase activity. J. Environ Qualtiy, 11, 602-607. doi:[10.2134/jeq1982.00472425001100040010x](https://doi.org/10.2134/jeq1982.00472425001100040010x)
  13. Frankenberger, W.T. (1992) The need for a laboratory feasibility study in bioremediation of petroleum hydrocarbons, In: E. J. Calabrese and P. T. Kosteki, Eds., Hydrocarbon Contaminated Soils and Groundwater, Lewis Publication, Boca Raton, 1992, pp. 237-293.
  14. Isaac, R.A., Johnson, Jr W.C. (1998) Elemental determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. In: Kalra, Y.P. (Ed.), Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA., pp. 165-170.
  15. Janke, S., Schamber, H., Kunze, C. (1992) Beeinflussung der bodenbiologischen Aktivitat durch Heizöl. Angew. Botanik 66, 42- 45.
  16. Labud, V., Garcia, C., Hernandez, T. (2007) Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. Chemosphere. 66: 1863-1871. doi:[10.1016/j.chemosphere.2006.08.021](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.021)
  17. Li, G., Xia, X., Yang, Z., Wang, R., Voulvoulis N. (2006) Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the middle and lower reaches of the Yellow River, China, Environmental Pollution, 144, 985-993. doi:[10.1016/j.envpol.2006.01.047](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.047).
  18. Keeney, D.R., Nelson, D.W. (1982) Nitrogen inorganic forms. In: Page, A.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 2, Agron. Monogr, second ed., vol. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 643-698.

19. Kızılkaya, R., Arcak, S., Horuz, A., Karaca A. (1998) Çeltik tarımı yapılan toprakların enzim aktiviteleri üzerine toprak özelliklerinin etkisi, Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi, 4,3, 797-804.
20. Kirk, J.L., Montoglis, P., Klironomos, J., Lee, H., Trevors, J.T., (2005) Toxicity of diesel fuel to germination, growth and colonization of *Glomus intraradices* in soil and in vitro transformed carrot root cultures. *Plant Soil* 270, 23-30.
21. Kremer, R.I., Li, J. (2003) Developing weed-suppressive soils through improved soil quality management. *Soil Till. Res.* 72: 193-202. doi:10.1016/S0167-1987(03)00088-6
22. Margesin, R., Zimmerbauer, A., Schinner, F. (2000a) Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*. Vol.40, Issue 4, p. 339-346. doi:10.1016/S0045-6535(99)00218-0
23. Margesin, R., Walder, G., Schinner, F. (2000b) The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Biotechnology world congress on biotechnology, Berlin, Allemagne*. Vol (20),no:3-4,p: 313-333.
24. McLean, E.O. (1982) Soil pH and lime requirement. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, second ed. Am. Soc. Agron., Madison, WI, pp. 199-224
25. Mohn, W.W., Stewart, G.R. (2000) Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. *Soil Biol Biochem* 32(8):1161-1172. doi:10.1016/S0038-0717(00)00032-8
26. Ndiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D., Dick, R.P., (2000) Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Alter. Agric.* 15:26-36. doi:10.1017/S0889189300008432
27. Nelson, D.W., Sommer, L.E. (1982) Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Page, A.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, ASA Monogr*, second ed., vol. 9(2). American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 539-579.
28. Odokuma, L.O., Dickson, A.A. (2003a) Bioremediation of a crude oil polluted tropical mangrove environment. *Journal of Applied Science and Environmental Management*, vol 7:2, 23-29. doi: 10.4314/jasem.v7i2.17207
29. Odokuma, L.O., Dickson, A.A. (2003b) Bioremediation of a crude oil polluted tropical rain Forest soil. *Global Journal of Environmental Science*. Vol:2, No:1;29-40. doi:10.4314/gjes.v2i1.2403
30. Pascual, J.A., Hernandez T., Garcia C. ve ve Ayuso, M., (1998) Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: Laboratory experiment, *Bioresource Technology*, 64, 131-138. doi:10.1016/S0960-8524(97)00171-5
31. Rhoades, J.D., (1982) Cation exchange capacity. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, second ed. Am. Soc. Agron., Madison, WI, pp. 149-158.
32. Tabatabai, M.A. (1994) *Soil Enzymes, Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy Monograph No:9 (2nd ed.) ASA-SSSA. Madison, Wisconsin. USA, p. 903-943.*
33. Van Hamme J. D., Singh A., Ward O. P. (2003) Recent Advances in Petroleum Microbiology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, Cilt 67, No. 4, s.503-549. doi:10.1128/MMBR.67.4.503-549.2003

34. Van der Waarde, J.J.V., Dijkhuis, E.L., Henssen, M.J.C. and Keuning, S. (1995) Enzyme assays as indicators for biodegradation. In van den Brinck, W. J., Bomsan, R., Arendt, F. (Eds.). Contaminated Soil'95. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995, pp. 1377-1378.
35. Wyszowska, J., Kucharski, J. (2004) The biochemical properties of soil contaminated by diesel oil and the yield of yellow lupin. Rocz. Glebozn. 50, 299.
36. Wyszowska, J., Kucharski, J. (2005) Correlation between the number of microorganisms and soil contamination with diesel oil . Pol. J. Environ. St. 14 (3) 359.
37. Wyszowska, J., Kucharski, M., Kucharski, J. (2006) Application of the activity of soil enzymes in the Evaluation of soil contamination. Pol J Environ Stud, 3, 501–506.
38. Yılmaz M. (2012) The energy potential of Turkey and its importance of renewable energy sources in terms of electricity production, Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi 4(2), 33-54.