

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ \* FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYA ENDÜSTRİSİ ATIKSULARI AKTİF ÇAMURUNDA  
BİYOKÜTLENİN PROTEİN İLE BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Müh. Aykan KARADEMİR**

**Ana Bilim Dalı : ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ**

**EKİM 1997**

67077

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ \* FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYA ENDÜSTRİSİ ATIKSULARI AKTİF ÇAMURUNDA  
BİYOKÜTLENİN PROTEİN İLE BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**


**Müh. Aykan KARADEMİR**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30.10.1997**  
**Tezin Savunulduğu Tarih : 26.12.1997**

**Tez Danışmanı**  
**Prof.Dr.Savaş AYBERK**

  
(.....)

**Üye**  
**Prof.Dr.Selahattin GÖKMEN**

  
(.....)

**Üye**  
**Yrd. Doç.Dr. Mithat BAKOĞLU**

  
(.....)

**EKİM 1997**

# MAYA ENDÜSTRİSİ ATIKSULARI AKTİF ÇAMURUNDA BIYOKÜTLENİN PROTEİN İLE BELİRLENMESİ

Aykan KARADEMİR

**Anahtar Kelimeler :** Protein, Biyokütle, Aktif Çamur, İnhibisyon, Kinetik

**Özet :** Aktif çamur sistemlerinde biyokütlenin belirlenmesi, biyokütlenin diğer çamur bileşenlerinden ayrılabilmesi nedeniyle birçok güçlükler içermektedir. Bu konuda yapılan pek çok çalışmaya rağmen, canlı biyokütlenin belirlenmesine yönelik standart bir yöntem henüz geliştirilememiştir.

Bu çalışmada maya endüstrisi atıksularında, proteinin bir aktif biyokütle göstergesi olup olmayacağı incelenmiştir. Endüstrinin aktif çamur tesisinden alınan örnekler, kesikli, kesikli-beslemeli ve inhibisyonlu süreçlerde izlenerek besin gideriminin protein üretimi ile bağlantısı ortaya konulmuştur. Ek olarak, bu süreçlerdeki kinetikler ve reaksiyon dereceleri incelenmiştir. Kesikli süreçlerde reaksiyonun birinci dereceden olduğu, kesikli-beslemeli süreçlerin ise Monod kinetiğine uydukları belirlendi.

## **DETERMINATION OF BIOMASS BY PROTEIN IN ACTIVATED SLUDGES OF YEAST INDUSTRY**

**Key Words:** Protein, biomass, activated sludge, inhibition, kinetics.

**Abstract:** Determination of biomass in activated sludge systems has many difficulties, because distinguishing between the biomass and other sludge constituents is very difficult. In spite of many works on it, there is no standard method for determining the active biomass yet.

It is examined whether protein could be an indicator for active biomass in activated sludges of yeast industry. The samples taken from the industrial activated sludge plant were placed in an aerobic reactor and experimental studies were conducted with batch, fed-batch and inhibitory processes. In addition, the kinetic relationships and the reaction rates were examined. The reaction rate was found to be first degree in batch reactors. In fed-batch reactor, Monod kinetics dominates.



## ÖNSÖZ

Aktif çamur süreçlerinde kinetik modellerin rolü, sürecin işletimi ve denetimi açısından giderek önem kazanmaktadır. Arıtma verimini yüksek bir dereceye çıkarmayı amaçlayan bu modeller, sürece ilişkin substrat ve oksijen tüketim hızları ile biyokütle ve diğer son ürünlerin üretim hızları gibi kinetik değerlere dayanmaktadır. Bu modellerin oluşturulmasında karşılaşılan güçlüklerden bir tanesi, aktif çamur yumağının karmaşık matrisi içinde, canlı olan ve organik maddeleri kullanarak arıtma işlemini gerçekleştiren biyokütle miktarının belirlenmesidir.

Biyokütlenin belirlenmesi için şimdiye kadar birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan bazıları, mikroskop altında canlı hücre sayma tekniklerine dayanırken, bazıları da, belirli kararlı miktarlarda tüm canlı hücrelerde bulunduğu düşünülen bir indikatörün ölçülerek, bu değer in biyokütle cinsinden ifade edilmesini amaçlamaktadır. Yöntemlerden bir kısmı, değişik atıksularda, birbirinden farklı derecelerde başarılı sonuçlar vermiş ise de, tüm atıksularda kullanılabilir, basit, hassas ve tekrarlanabilir standart bir yöntem henüz yoktur.

Bu çalışma, maya endüstrisi atıksularında proteinin bir aktif biyokütle parametresi olup olmayacağını ortaya çıkarmak amacıyla, PAK-BIOMER Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında, kesikli, yarı-sürekli ve engellemeli süreçlerde çeşitli hız ve ürün değerlerinin nasıl bir eğilim izledikleri de gözlenmiştir.

Çalışmanın, biyolojik atıksu arıtma tesislerinin daha verimli bir şekilde çalıştırılması için gösterilen çabalara mütevazı bir katkı olmasını dilerim.

## TEŞEKKÜR

Makale, tez ve benzeri bilimsel yayınlarda çoğu kez okunmadan üzerinden atlandığına tanık olduğum teşekkür bölümleri, kanımca, bir alışkanlık, bir nezaket ya da bir zorunluluktan çok öte anlamlar ifade ederler. Bu bölümler, çalışmanın hangi koşullar altında gerçekleştiğinin yanısıra, çalışmanın sahibinin, başlığın altında ismi/isimleri yazılı olanlardan ziyade, karşılıklı anlayış ve dayanışma bilinci içinde bir arada çalışan bir ekip olduğunu; ve çalışmanın da bu bakımdan, bireysel bir zeka ve yetenek gösterisi değil, bu bilinçten doğan kollektif bir ürün sayılması gerektiğini dışavururlar. Eğer gelecek, şu anda yaşadığımızdan daha güzel olacaksa, bunda, bilimsel ilerlemelerin yanında, bu sayfalarda dolaşmakta olan bu biraradalık ruhunun da payı olacağını düşünüyorum. Bu bağlamda;

beni bu çalışma için teşvik eden, bu olanağı sağlayan ve hiçbir zaman da yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Savaş AYBERK'e (KO.Ü.),

bana, gerek tezimin konusunu, gerekse bu konuda çalışma yapma olanağı sağlayan, engin bilgileri ve yaptıkları eleştirilerle deneylerin tasarlanışından sonuçların yorumuna kadar tüm çalışmalarımı yönlendiren, bu tezin oluşmasındaki temel rollerini asla unutamayacağım; ve bunların ötesinde, kendilerinden çok şey öğrendiğim ve birlikte çalışmaktan büyük bir mutluluk duyduğum, teze ve bana yaptıkları katkıları birbirinden ayıramayacağım için ayrı ayrı teşekkür etmeye cesaret edemediğim değerli hocalarım Doç. Dr. Şems YONSEL (PAK-BİOMER), Doç. Dr. Levent DAĞAŞAN (PAK-BİOMER) ve Doç. Dr. Yılmaz ARHAN'a;

sıcak ve yardımsever davranışlarıyla yeni gittiğim yerlerde yaşadığım o katlanılmaz acemilik ve çekingenlik duygusunu bir an önce üzerimden atmama büyük katkıları olan PAK-BİOMER Biyokimya Laboratuvarı'nın değerli çalışanları Refika Abla, Dinçer Abi, ve laboratuvar sorumlusu Rezzan Hanım'a,

laboratuvar çalışmaları sırasında karşılaştığım sorunlarla içtenlikle ilgilenen ve bu çalışmalarım sırasındaki deneyim eksikliğimi gidermekte çaba gösteren Sadun Bey'e,

protein ölçümlerinde çırağı olduğum yardımsever dostum Mustafa'ya,

OTR ve CPR ölçümleri için, prosesi aksatma pahasına ikide bir bilgisayarlarına el koyan ve üstelik, reaktörün her sorununda anında yanlarında bitiveren beni büyük bir güleryüz ve yardımseverlikle karşılayan başta Özgür (Turan Sancar) Abi olmak üzere Ekrem, Fikri ve Sefa Abilere,

ve yaptığım tüm ölçüm ve değerlendirmelerde yardım ve katkıları olan, iyiliği ve dürüstlüğü kelimelerle tarifsiz değerli arkadaşım Uzman Nevim GENÇ'e (KO.Ü.),

ve örneklerin alınmasından ölçüm sonuçlarının değerlendirilmesine kadar bu çalışmanın her aşamasında bulunan ve gerçekleşmesinde en az benim kadar payı olan, bitmez tükenmez sorunlarımla büyük bir sabır ve içtenlikle ilgilenen, Çevre Laboratuvarının "benden sorumlu" görevlisi, ve tüm bunların ötesinde, bu vesileyle kendisiyle tanışmaktan büyük bir mutluluk duyduğum, anlatılamaz derecede iyi ve asil insan, değerli dostum Faik ÇALIŞKAN'a,

ve bir de, tüm bu çalışmalarım sırasında varlığıyla bana güç veren, özellikle de yoğun çalışmalarımın ardından sıcacık bir "merhaba"sına neredeyse hava gibi, su gibi ihtiyaç duyduğum Terlan'a

kelimenin dolu dolu anlamıyla sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. AKTİF ÇAMUR SÜRECİ .....	2
2.1. Genel.....	2
2.2. Süreç Mikrobiyolojisi.....	5
2.2.1. Bakteriler.....	7
2.2.1.1. Hücre Yapısı.....	7
2.2.1.2. Hücre Bileşimi .....	8
2.2.1.3. Beslenme ve Solunum.....	9
2.2.1.4. Mikrobiyal Etkinliği Etkileyen Çevresel Faktörler .....	11
2.2.1.5. Büyüme Evreleri.....	13
2.2.1.6. Atıksu Arıtımında Kullanılan Bakteri Türleri.....	17
2.3. Biyokimyasal Kinetikler .....	18
2.3.1. Substrat Giderim Kinetikleri .....	18
2.3.2. Organizmaların Büyüme Kinetiği .....	24
2.3.2.1. Kesikli Büyüme.....	25
2.3.2.2. Yarı Sürekli Büyüme.....	32
2.4. Aktif Çamur Sürecinde Aktif Biyokütle Belirlenimi .....	33
2.4.1. Aktif Biyokütlenin Önemi .....	33
2.4.2. Aktif Biyokütlenin Belirlenmesi.....	34



2.4.3. Proteinler .....	40
2.4.3.1. Proteinlerin Yapısı .....	40
2.4.3.2. Proteinlerin Türleri.....	43
2.4.3.3. Bakteri Hücrelerinde Proteinler .....	43
2.4.3.4. Aktif Çamurda Protein İçeriği .....	47
2.4.4. Bir Biyokütle Parametresi Olarak Protein .....	53
2.4.5. Aktif Çamurda Protein Ölçüm Yöntemleri.....	54
<b>BÖLÜM 3. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>58</b>
3.1. Reaktörün Tanıtılması .....	58
3.2. Diğer Deneyler .....	60
3.2.1. KM ve UKM Ölçümleri .....	60
3.2.2. OTR ve CPR Ölçümleri .....	60
3.2.3. TOC ve IC Ölçümleri.....	61
3.2.4. Amonyak ve Amonyum Ölçümleri .....	62
3.2.5. Protein Ölçümleri.....	63
3.2.5.1. Deneyin Yapılışı.....	63
3.2.5.2. Standart Eğrinin Çıkarılması.....	64
3.2.6. Kullanılan Substratın Özellikleri .....	66
<b>BÖLÜM 4. DENEYLER.....</b>	<b>67</b>
4.1. Kesikli Reaktör Deneyleri .....	67
4.1.1. Birinci Deney.....	67
4.1.1.1. Deneyin Yapılışı.....	67
4.1.1.2. Aktif Biyokütle Parametreleri .....	68
4.1.1.3. Ürün değerleri.....	73
4.1.1.4. Reaksiyon Kinetiklerinin Belirlenmesi .....	78
4.1.2. İkinci Deney .....	81
4.1.3. Üçüncü Deney .....	87
4.1.4. Değerlendirme .....	90
4.2. Kesikli-Beslemeli Reaktör Deneyi .....	94
4.2.1. Deneyin Yapılışı.....	94

4.2.2. Aktif biyokütle Parametreleri.....	96
4.2.3. Ürün Değerleri.....	101
4.2.4. Reaksiyon Kinetiğinin Belirlenmesi .....	102
4.3. Engelli Büyüme Deneyleri.....	106
4.3.1. Birinci Engelli Büyüme Deneyi .....	106
4.3.1.1 Verilerin Yorumlanması .....	108
4.3.1.2 İnhibisyonun İncelenmesi .....	113
4.3.2. İkinci Engelli Büyüme Deneyi .....	115
BÖLÜM 5. DEĞERLENDİRME .....	121
KAYNAKLAR.....	124
ÖZGEÇMİŞ .....	127



## SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR

A	: Absorbans
bp	: Temelçift
C	: Derişim
CPR	: Karbondioksit Üretim Hızı
F	: Reaktöre Verilen Hava Debisi
IC	: İnorganik Karbon
K	: Sıfıncı Derece Reaksiyon Hız Sabiti
K <sub>a</sub>	: Denge Sabiti
K <sub>m</sub>	: Kullanım Hızı Maksimum Hızın Yarısı Olduğunda Substrat Derişimi
K <sub>s</sub>	: Doygunluk Sabiti
K <sub>si</sub>	: Substrat İnhibisyonu İçin Doygunluk Sabiti
K <sub>IH</sub>	: İyonize Olmamış Substrat İçin İnhibisyon Sabiti
K <sub>SH</sub>	: İyonize Olmamış Substrat İçin Doygunluk Sabiti
K <sub>t</sub>	: Birinci Derece Reaksiyon Hız Sabiti
OTR	: Oksijen Transfer Hızı
q	: Özgül Substrast Kullanım Hızı
q <sub>max</sub>	: Maksimum Özgül Substrast Kullanım Hızı
r	: Korelasyon Katsayısı
R-KM	: Kuru Madde Üretim Hızı
R-O <sub>2</sub>	: Oksijen Transfer Hızı (mg/l.dak olarak)
R-Pr	: Protein Üretim Hızı
R-TOC	: TOC Giderim Hızı
R-UKM	: Uçucu Kuru Madde Üretim Hızı
S	: Substrat Derişimi
t	: Zaman
T	: Sıcaklık
TOC	: Toplam Organik Karbon
V <sub>L</sub>	: Reaktör Hacmi
X	: Hücre Kütlesi Derişimi
$\bar{X}$	: Biyokimyasal Reaksiyon Sırasındaki Ortalama Hücre Kütlesi Derişimi

$y$  : Özgöl (Spesifik) Verim katsayısı  
 $Y$  : Verim Katsayısı (Ürün)  
 $\mu$  : Özgöl Büyüme Hızı  
 $\mu_{max}$  : Maksimum Özgöl Büyüme Hızı  
 $\sigma$  : Standart Sapma

ATP : Adenosin Tri-Fosfat  
BOİs : 5 Günlük Biyolojik Oksijen İhtiyacı  
BSA : Bovine Serum Albumin  
BSRT : Çamur Yaşı  
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit  
KM : Kuru Madde  
KOİ : Kimyasal Oksijen İhtiyacı  
MLSS : Karışık Sıvıdaki Askıda Katı Madde  
MLVSS: Karışık Sıvıdaki Uçucu Askıda Katı Madde  
UAKM: Uçucu Askıda Katı Madde  
UKM : Uçucu Kuru Madde

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Çubuk Şeklindeki Bir Bakteri Hücresinin Şematik Çizimi .....	7
Şekil 2.2	Canlı Hücre Sayısı Temelinde Mikrobiyal Büyüme Evreleri .....	14
Şekil 2.3	Canlı Hücre Kütlesi Temelinde Mikrobiyal Büyüme Evreleri.....	14
Şekil 2.4	Tipik Bir $\alpha$ -Aminoasidinin Yapısı.....	41
Şekil 2.5	Zwitterion .....	41
Şekil 2.6	Protein Oluşturan Aminoasitler.....	42
Şekil 3.1	Deneyde Kullanılan Reaktör .....	58
Şekil 3.2	Atıksu Örneklerinin Alındığı Yerin Şematik Gösterimi.....	59
Şekil 3.3	Lowry Yöntemi İçin Standart Eğri(1).....	64
Şekil 3.4	Lowry Yöntemi İçin Standart Eğri(2).....	65
Şekil 4.1	Kesikli Deney I' de Zamana Göre TOC Değişimi.....	68
Şekil 4.2	Kesikli Deney I' de zamana Göre Protein, KM ve UKM Değişimi ..	69
Şekil 4.3	Kesikli Deney I' de R-TOC ve R-Pr Değişimi .....	71
Şekil 4.4	Kesikli Deney I' de OTR ve CPR Değişimi.....	72
Şekil 4.5	Kesikli Deney I' de Ürün Değerlerinin Değişimi .....	74
Şekil 4.6	Kesikli Deney I' de Spesifik Ürün Değerleri Değişimi.....	75
Şekil 4.7	Kesikli Deney I' de Monod Kinetiğinin Substratta Denemesi .....	78
Şekil 4.8	Kesikli Deney I' de Monod Kinetiğinin Proteinde Denenmesi .....	79
Şekil 4.9	Kesikli Deney I' de Sıfıncı Derece Reaksiyon Grafiği .....	80
Şekil 4.10	Kesikli Deney I' de Birinci Derece Reaksiyon Grafiği .....	81
Şekil 4.11	Kesikli Deney II' de R-TOC ve R-Pr Değişimi.....	83
Şekil 4.12	Kesikli Deney II' de Ürün Değerlerinin Değişimi .....	84
Şekil 4.13	Kesikli Deney II' de Monod Kinetiğinin Substratta Denemesi .....	85
Şekil 4.14	Kesikli Deney II' de Monod Kinetiğinin Proteinde Denemesi.....	85
Şekil 4.15	Kesikli Deney II' de Sıfıncı Derece Reaksiyon Grafiği .....	86
Şekil 4.16	Kesikli Deney II' de Birinci Derece Reaksiyon Grafiği.....	86
Şekil 4.17	Kesikli Deneylerde R-TOC/R-Pr İlişkisi.....	92
Şekil 4.18	Kesikli Deneylerde R-TOC/R-O <sub>2</sub> İlişkisi.....	92
Şekil 4.19	Kesikli-Beslemeli Deneyde TOC Değişimi .....	96

Şekil 4.20 Kesikli-Beslemeli Deneyde Protein, KM ve UKM Değişimi .....	97
Şekil 4.21 Kesikli-Beslemeli Deneyde R-TOC ve R-Pr Değişimi .....	98
Şekil 4.22 Kesikli-Beslemeli Deneyde R-KM ve R-UKM Değişimi .....	8
Şekil 4.23 Kesikli-Beslemeli Deneyde OTR ve CPR Değişimi .....	100
Şekil 4.24 Kesikli-Beslemeli Deneyde Ürün Değerlerinin Değişimi .....	101
Şekil 4.25 Kesikli-Beslemeli Deneyde Monod'un Substratta Denenmesi .....	103
Şekil 4.26 Kesikli-Beslemeli Deneyde Monod'un Proteinde Denenmesi .....	103
Şekil 4.27 Kesikli-Beslemeli Deneyde R-TOC/R-Pr İlişkisi .....	104
Şekil 4.28 Kesikli-Beslemeli Deneyde R-TOC/R-O <sub>2</sub> İlişkisi .....	104
Şekil 4.29 Engelli Büyüme Deneyi I' de TOC Değişimi .....	108
Şekil 4.30 Engelli Büyüme Deneyi I' de Protein Değişimi .....	108
Şekil 4.31 Engelli Büyüme Deneyi I' de R-TOC ve R-Pr Değişimi .....	110
Şekil 4.32 Engelli Büyüme Deneyi I' de OTR ve CPR Değişimi .....	110
Şekil 4.33 Engelli Büyüme Deneyi I' de Y <sub>o/s</sub> Değişimi .....	112
Şekil 4.34 Engelli Büyüme Deneyi I' de Monod'un Besinde Denenmesi .....	113
Şekil 4.35 Engelli Büyüme Deneyi I' de İnhibisyon Kinetiğinin İncelenmesi ...	114
Şekil 4.36 Engelli Büyüme Deneyi II' de TOC Değişimi .....	116
Şekil 4.37 Engelli Büyüme Deneyi II' de Protein Değişimi .....	116
Şekil 4.38 Engelli Büyüme Deneyi II' de R-TOC ve R-Pr Değişimi .....	119
Şekil 4.39 Engelli Büyüme Deneyi II' de OTR ve CPR Değişimi .....	119

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1Mikroorganizmaların Sınıflandırılması .....	6
Tablo 2.2Bakteri Hücrelerinin Tipik Bileşimi .....	9
Tablo 2.3Bazı Atıksular İçin Reaksiyon Dereceleri ve Hız Sabitleri .....	23
Tablo 2.4Farklı Proteinler İçin Folin ile Elde Edilen Renk Değerleri.....	56
Tablo 4.1Kesikli Reaktör ,Deneyi I'ın Sonuçları.....	67
Tablo 4.2Kesikli Deney I'de Reaksiyon Kinetiğine İlişkin Substrat ve Biyokütle Değerleri.....	80
Tablo 4.3Kesikli Deney II'de Elde edilen Sonuçlar.....	82
Tablo 4.4Kesikli Deney III'de Elde edilen Sonuçlar .....	88
Tablo 4.5Kesikli-Beslemeli Reaktör Deneyi Sonuçları.....	95
Tablo 4.6Engelli Büyüme Deneyi I'de Elde Edilen Sonuçlar .....	107
Tablo 4.7Engelli Büyüme Deneyi II'de Elde edilen Sonuçlar .....	115

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Biyolojik arıtma sistemleri, yüzyıldan fazla bir süredir Avrupa ve Amerika'da son birkaç on yıllık sürede de ülkemizde evsel ve endüstriyel karakterli pek çok atıksuyun arıtımında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Atıkların doğadaki bakteriler tarafından parçalanma süreçlerinin, daha yoğun bir bakteri ortamında kontrollü bir şekilde gerçekleştirilmesine dayanan biyolojik arıtma sistemleri, basitliği ve verimliliği ile arıtma alanında en çok tercih edilen sistemler olma özelliklerini daha uzun bir süre sürdüreceğe benzemektedirler.

Ülkemizde ve dünyada giderek artan çevre duyarlılığı ve bunun beraberinde çıkarılan sıkı çevre yasaları, biyolojik arıtma süreçlerini kullanan sistemlerde, sürecin kontrolü ve verimliliğin artırılması konularının öne çıkmasına yol açmış, bu durum da gelişen biyoteknolojik yaklaşımların gerek arıtma tesislerinin tasarımı, gerekse işletim ve kontrolüne dahil olmasını getirmiştir. Bununla bağlantılı olarak ortaya çıkan kinetik modeller, bilimsel bakış açısını biraraya getirerek arıtma tesislerinin daha verimli bir biçimde çalışmasına yönelik işlevler görmüşlerdir.

En yaygın biyolojik arıtma süreci olan aktif çamur sistemlerinde giderek artan bir oranda kullanılmaya başlayan kinetik model yaklaşımları, canlı ve aktif bir biyokütle miktarını olabildiğince uzun bir süre arıtma sürecinde tutarak, hem atık giderim verimini artırmayı, hem de bu işlemlerden çıkan atık çamur miktarını azaltmayı hedeflemektedirler. Bu konudaki ilerlemeler gelişip yaygınlaştıkça hem ekonomik, hem de çevresel açıdan son derece değerli kazanımlar elde edilmiş olacaktır.



## BÖLÜM 2..AKTİF ÇAMUR SÜRECİ

### 2.1. Genel

Katı, sıvı ve gaz atıkların giderilmesinde ve çevre kirlenmesinin önlenmesinde biyolojik yöntemler önemli bir yer tutar. Biyoprosesler her türlü canlı (bakteri, maya, küf, yosun, protozoa, bitki ve hayvan hücreleri, dokular ve organlar) tarafından yapılan dönüşümleri kapsar. Doğada mevcut organizmalar, organik bileşiklerin parçalanması ve sentezine katkıda bulunarak karbon, azot, kükürt, oksijen ve fosfat döngülerinde önemli rol oynarlar. Doğal şartlarda kontrolsüz olarak oluşan bu dönüşümler, doğanın dengesini sağlarlar. Doğada mevcut olan bu organizmaları kullanarak reaktörlerde kontrollü şartlar altında, atık maddeleri doğada mevcut bileşenlere ( $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $PO_4$ ,  $SO_4$ ) dönüştürmek çevre mühendislerinin görevidir (Kargı, 1995).

Çevre mühendisliğinde kullanılan biyolojik işlemler içinde en yaygın aktif çamur sürecidir. Aktif çamur süreci, kolay işletilebilmesi, esnek olması ve şok etkilere dayanıklılığı gibi birçok avantaja sahip olması bakımından yaklaşık 100 yıldan beri dünyanın her tarafında en çok tercih edilen ve kullanılan biyolojik işlemdir.

Aktif çamur süreci, çoğu organik atığı daha kararlı inorganik formlara veya hücre biyokütlesine çevirebilme özelliğine sahiptir. Bu süreçte, birinci çöktürmeden sonra geriye kalan çözünebilir ve koloidal organik maddelerin büyük bir kısmı farklı türlerdeki mikroorganizmalarca karbondioksit ve suya metabolize edilir. Aynı zamanda bir bölümü de hücre kütlesine dönüşür ve bu kısım gravite ile çöktürülerek atıksudan ayrılabilir. Sistem, temel olarak oksijen sağlanan bir biyolojik reaktör (havalandırma tankı), bir katı-sıvı ayırıcı (son çöktürme) ve çamur geri dönüşü pompalarından oluşur.

Aktif çamur, çoğunluğu bakteriler, protozoa, rotiferler ve küflerden oluşan heterojen bir mikrobiyal kültürdür. Ancak organik maddelerin çoğunu özümseyen grup

bakterilerdir. Protozoa ve rotiferler, tesisin çıkış suyuna karışabilecek dağılık bakterilerin giderilmesinde önemlidirler.

Substratın bakteri hücresi tarafından kullanımı üç aşamalı bir süreç olarak tanımlanabilir: (1) substrat molekülü hücre duvarı ile temas eder, (2) substrat molekülü hücreye transfer edilir, ve (3) substrat molekülünün hücre tarafından biyolojik oksidasyon yoluyla metabolize edilmesi gerçekleşir. Ancak, bakteriler substratı çözülmüş bir formda gereksindikleri için, koloidal, ya da uygun formda bulunmayan moleküller hücreye kolaylıkla taşınmazlar; ilk önce hücre yüzeyine adsorbe edilirler, sonra da egzoenzimler veya duvara-bağlı enzimlerce taşınabilir fraksiyonlara dönüştürülürler.

Biyolojik oksidasyon için gereken oksijen, çoğunlukla havalandırma tankına yerleştirilen difüzörlerle ya da mekanik yüzey havalandırıcılar ile sağlansa da, bu amaç için saf oksijenin kullanıldığı örnekler de vardır. İlk ikisi için havalandırmanın aerobik biyo-oksidasyon için gerekli oksijeni sağlamanın dışında aktif çamur ve atıksudaki organik maddeler arasında yeterli teması sağlayacak bir karıştırmayı da oluşturması gibi ikinci bir amacı vardır.

İyi kalitede bir çıkış suyu elde etmek için, organik maddeler atıksudan giderildikten sonra biyokütle, sıvı akıntıdan ayrılmalıdır. Bu işlem, ikinci çöktürmede gerçekleştirilir ve etkili olması için mevcut mikroorganizmaların yeterince kümeleşmiş olmaları gerekir. İkinci çöktürme hemen her zaman çıkış suyu kalitesini belirleyen aşamadır. Çıkış suyundaki çözülmüş BOİs genellikle 5 mg/l'nin altındadır, ancak biyokütle katılarının kalıntıları 20 mg/l veya daha büyük çıkış suyu BOİs değerlerine neden olabilir.

Biyolojik flokülasyonun mekanizmasını tanımlamak için pekçok çalışma yapılmıştır, ancak Pavoni tarafından yapılan çalışma en kapsamlı olanıdır. Bu çalışmada biyolojik flokülasyonun, mikroorganizmaların fizyolojik durumu ile ilişkili olduğu ve substratın tükendiği ve endojenik büyüme fazına girildiği andan önce gerçekleşmediği ortaya çıktı. Biyolojik flokülasyonun, endojenik büyüme sırasında hücre yüzeyinde biriken hücre-dışı polimerlerin etkileşiminden kaynaklandığı sanılmaktadır. Bu polimerlerin

hücrelerin yüzeyine fiziksel veya elektrostatik olarak bağlanmaları sonucu hücreler üç boyutlu bir matris oluşturacak şekilde birleşirler.

Sıvı fazı katı fazdan ayırdıktan sonra, substrat kullanımını sırasındaki sentezlemeden kaynaklanan biyokütle artışı uzaklaştırılır ve geriye kalan miktar havalandırma tankına döndürülür. Dolayısıyla oldukça sabit bir mikroorganizma kütlesi sistem içinde tutulmuş olur. Sistemin performansı da yeteri kadar biyokütlenin geriye döndürülmesine bağlıdır. Eğer biyokütlenin ayrıştırılması ve yoğunlaştırılması gerçekleştirilemez ise tüm sistem başarısızlığa uğrar.

Aktif terimi de bu bağlamda biyolojik katıların sorptif özelliklerine gönderme yapar. Reaktörün çıkış tarafında aktif çamur düşük substratlı bir ortamdadır ve sorbladığı organik maddeleri kullanmaktadır; dolayısıyla asılı ve çözünmüş organik maddeler için görece yüksek bir sorpsiyon kapasitesi mevcuttur. Reaktörün giriş bölümünde ise çamur, sorpsiyon kapasitesinin çoğunu kullanmış bulunmaktadır ve sorbladığı organik maddeleri biyolojik olarak okside edene kadar yeniden aktif hale gelmez.

Aktif çamur sürecinde organik maddelerin solunum ve hücre sentezi için substrat olarak kullanılmasına ilişkin basitleştirilmiş bir biyokimyasal denklem şu şekilde ifade edilmektedir:

#### Aerobik mikroorganizmalar

Organik Madde + O<sub>2</sub> -----> Yeni Hücreler + Hücreler İçin Enerji  
+ CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + Diğer Son Ürünler

Diğer son ürünlerin bazıları amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+1</sup>), nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-1</sup>), nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-1</sup>), ve fosfat (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>)'ten oluşur. Aktif çamur genellikle C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N (moleküler ağırlığı 113) şeklindeki ampirik denklemle ifade edilir. Günlük olarak üreyen net hücre kütlesi, günlük olarak atılması gereken atık aktif çamur kütlesine eşit olmalıdır; bu da toplam sentezlenen hücre kütlesinden endojenik olarak çürüyen hücre kütlesinin çıkarılmasıyla bulunur.

Fazla miktarda endüstriyel atık içermeyen bir evsel atıksuda yaygın olarak bulunan organik maddeler karbonhidratlar, yağlar, proteinler, üre, sabun ve deterjanlar, veya bunların bozunması ya da parçalanması sonucu ortaya çıkan ürünlerden oluşur. Karbonhidratlar ve yağlar karbon, hidrojen ve oksijen; proteinler ise bunlara ek olarak azot, kükürt ve fosfor içerirler. Üre, karbon, hidrojen, oksijen ve azottan oluşur. Sabunlar çoğunlukla karbon, hidrojen ve oksijen, deterjanlar da bunlarla birlikte fosfor içerir. Bunların yanında infiltrasyon yoluyla atıksuya karışan pestisitler, herbisitler ve diğer tarımsal atıklardan da iz miktarlarda bulunabilir. Endüstriyel atıksulardaki organik madde ve bileşikler ise endüstrinin tipine bağlı olarak değişir. Petrokimya endüstrisinde olduğu gibi bir endüstri türü içinde de farklılıklar olabilir. Biyolojik arıtmadan sonra geriye kalan organik maddeler (biyolojik olarak parçalanamayan fraksiyon) çok yavaş parçalanan ya da biyolojik olarak dirençli maddelerden oluşur (Benefield and Randall 1980; Reynolds, 1982).

## **2.2. Süreç Mikrobiyolojisi**

Atıkların gideriminde kullanılan mikroorganizmalar karma kültür halinde birçok organizmadan oluşurlar. Genellikle nitel ve nicel özellikleri tam olarak bilinmeyen bu organizma karışımları atık maddenin bileşimine ve ortam şartlarına bağlı olarak değişirler (Kargı, 1995).

Yüzey sularında ve atıksularda bulunan başlıca organizma grupları ökaryotlar, öbakteriler (eubacteria) ve arkaebakteriler (archaeobacteria) olarak sınıflandırılabilir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Mikroorganizmaların Sınıflandırılması (Tchobanoglous and Burton, 1991)

Grup	Hücre Yapısı	Özellikleri	Üyeleri
Ökaryotlar	Ökaryotik <sup>a</sup>	Çok hücreli, hücre ve dokuların yaygın farklılaşması  Tek hücreli, koenositik (coenocytic) veya mantarsal (mycelial), doku farklılaşması çok az veya hiç yok	Bitkiler(tohum bitkileri, eğreltiotları, karayosunları) Hayvanlar (omurgalılar, omurgasızlar) Protistler (denizyosunları (algae), küfler, protozoa)
Öbakteriler	Prokaryotik <sup>b</sup>	Hücre kimyası ökaryotlara benzer	Çoğu bakteriler
Arkaebakteriler	Prokaryotik <sup>b</sup>	Hücre kimyası farklı	Metanojenler, halofiller, termasidofiller

<sup>a</sup> Çekirdek içeren

<sup>b</sup> Çekirdek zarı içermeyen

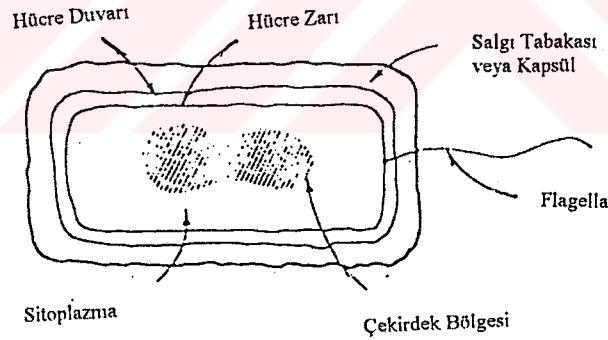
Aktif çamur sisteminde kullanılan karışık kültür dinamik bir sistem oluşturur. Ortamda bulunan tür sayısı ve bu türlere ilişkin populasyonlar artılan atıksuyun özelliklerine ve reaktör-durultucu sistemindeki çevresel koşullara bağlıdır. Bu mikroorganizmalar bakteriler (hem tek hem de çok hücreli), protozoa, mantarlar (fungi), rotiferler ve zaman zaman da nematodları kapsar. Bakteri, protozoa ve mantarlar Protistler Sınıfı'na, rotifer ve nematodlar ise Hayvanlar Sınıfı'na dahildirler. Atıksudaki organik maddelerin biyolojik oksidasyonunu gerçekleştiren başlıca grup ise tek hücreli bakterilerdir (Reynolds, 1982).

### 2.2.1. Bakteriler

Atıksudaki organik maddelerin biyolojik oksidasyonunun gerçekleştiren başlıca organizmalar tek hücreli bakterilerdir. Tek hücreli bakteriler şekillerine göre basil (çubuk şeklinde), kok (küresel) ve spirilla (spiral) şeklinde sınıflandırılabilirler. Bakteriler tekil hücreler, hücre grupları, ya da hücre zincirleri şeklinde bulunabilirler. Hücre şekli ve gruplaşma biçimi her türün belirleyici özelliklerindedir.

#### 2.2.1.1. Hücre Yapısı

Bakteriler genel olarak bölünme ile çoğalırlar. Üreme zamanı olarak da bilinen bölünme zamanı türe ve ortam koşullarına bağlı olarak değişir, ancak optimum şartlarda 20 dak civarındadır. Bakteri hücreleri besini çözülmüş formda alırlar. Bazı türler hareket etme özelliğine sahiptirler. Şekil 2.1 çubuk şeklindeki bir bakteri hücrelerinin şematik çizimini göstermektedir



Şekil 2.1. Çubuk şeklindeki bir bakteri hücrelerinin şematik çizimi (Reynolds, 1982)

Sitoplazma olarak adlandırılan hücrenin iç kısmı proteinler, karbonhidratlar ve diğer kompleks organik maddelerin koloidal bir süspansiyonunu içerir. Protein sentezi gibi hücre yaşamı için temel teşkil eden biyokimyasal reaksiyonlar sitoplazma içinde gerçekleşir. Çekirdek bölgesi bazı türlerde iyice belirgin ise de bazı türlerde pek belirgin değildir. Bu bölge, hücre bileşenlerinin yeniden üretimini kontrol eden tüm kalıtsal özelliklerden sorumludur. Hücre zarı hücrenin içine doğru ve hücreden dışarıya madde akışını kontrol eder. Yarı-katı bir yapı olan hücre duvarı ise hücrenin

iç kısmını korur ve sitoplazmayı belirli bir hacim ve şekilde tutar. Salgı tabakası (slime layer) veya kapsül kuru bir ortama konduğunda hücreyi kurumaktan korur ve ayrıca bir besin rezervi görevi görür. Kamçı, hücrenin hareket etmesini sağlayan saç şeklindeki bir organeldir ve sadece hareketli hücrelerde bulunur. Enzimler (Şekil 1.1'de gösterilmemiş) gerekli biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran organik katalizörlerdir. Bazı enzimler hücre içinde (endocellular) iken, bazıları da hücrenin dışına (exocellular) salgılanırlar. Hücre-dışı enzimler proteinler ve nişastalar gibi büyük molekülleri hücre duvarı ve hücre zarından geçebilecek küçük moleküllere parçalarlar. Bakteri hücreleri öldüklerinde parçalanırlar ve hücre içi maddeler ortama yayılır (Reynolds, 1982).

#### 2.2.1.2. Hücre Bileşimi

Farklı bakteri türleri üzerinde yapılan testler, bakteri hücrelerinin % 80'inin su, % 20'sinin de kuru maddeden oluştuğunu; kuru maddenin de % 90'ının organik, % 10'unun ise inorganik olduğunu göstermiştir. Bakteri hücrelerinin bileşimine ilişkin tipik değerler Tablo 1.2'de verilmiştir. Organik fraksiyonu temsil eden yaklaşık bir formül  $C_5H_7O_2N$  şeklinde ifade edilebilir. Formülden de görüldüğü gibi organik fraksiyonun ağırlık bakımından yaklaşık % 53'ü karbondur. Fosfor da düşünüldüğünde  $C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$  formülasyonu kullanılabilir. İnorganik kısmı oluşturan bileşikler ise  $P_2O_5$  (% 50),  $SO_3$  (% 15),  $Na_2O$  (% 11),  $CaO$  (% 9),  $MgO$  (% 8),  $K_2O$  (% 6) ve  $Fe_2O_3$  (% 1)'tür. Bu element ve bileşiklerin tümü ortamdan sağlanmak zorunda olduğu için, bunlardan herhangi birinin eksikliği büyümeyi sınırlandıracak, hatta bazı durumlarda da değiştirecektir (Tchobanoglous and Burton, 1991).

Tablo 2.2. Bakteri Hücrelerinin Tipik Bileşimi (Tchobanoglous and Burton, 1991)

Element	Kuru Kütle Yüzdesi Olarak	
	Aralık	Tipik
Karbon	45-55	50
Oksijen	16-22	20
Azot	12-16	14
Hidrojen	7-10	8
Fosfor	2-5	3
Kükürt	0.8-1.5	1
Potasyum	0.8-1.5	1
Sodyum	0.5-2	1
Kalsiyum	0.4-0.7	0.5
Magnezyum	0.4-0.7	0.5
Klor	0.4-0.7	0.5
Demir	0.1-0.4	0.2
Diğerleri	0.2-0.5	0.3

### 2.2.1.3. Beslenme ve Solunum

Mikroorganizmalar enerji ve karbon kaynaklarına göre sınıflandırılabilirler. Enerji gereksinimi için hücre dışındaki inorganik maddeleri kimyasal olarak oksitleyen mikroorganizmalar *kemolitotroflar* olarak adlandırılırken, bunun için hücre dışındaki organik maddeleri oksitleyenler *kemoorganotroflar* olarak bilinir. Enerji kaynağı olarak ışık kullanan ancak solunum için bazı inorganik maddelere ihtiyaç duyan mikroorganizmalar *fotolitotroflar*; ışık kullanan ancak solunum için organik maddelere ihtiyacı olanlar ise *fotoorganotroflar* olarak adlandırılır. Karbon kaynağı olarak inorganik maddeler (örneğin karbon dioksit) kullanan mikroorganizmalar *ototroflar*; organik maddeler kullananlar ise *heterotroflar* olarak bilinir. Aktif çamur sürecinde kullanılan çoğu bakteriler enerji ve hücre sentezi için organik maddeler kullanırlar, dolayısıyla kemoorganotrofikler ve heterotroflardır. Nitrifiye edici



bakteriler, Nitrosomonas ve Nitrobacter, enerji kaynağı olarak bir inorganik azot bileşiminin kimyasal oksidasyonunu, sentezleme için de karbon dioksiti kullanırlar, dolayısıyla kemolitotrofik ve de ototrofturlar.

Beslenme için gereken temel element ve maddeler (1) birincil (major) elementler, (2) ikincil (minor) elementler, (3) iz elementler, ve (4) büyüme faktörleri olarak sınıflandırılabilir. Birincil elementler karbon, hidrojen, oksijen, azot ve fosfordur. İkincil elementlerin başlıcaları ise kükürt, potasyum, sodyum, magnezyum, kalsiyum ve klordur. İz elementler ise genelde demir, mangan, kobalt, bakır, bor, çinko, molibden ve alüminyumdan oluşur (Reynolds, 1982). Bunlara selenyum, nikel, vanadyum ve volfram da eklenebilir (Tchobanoglous and Burton, 1991).

Büyüme faktörleri iz miktarlarda ihtiyaç duyulan ve hücrelerin sentezleyemediği temel organik maddelerdir. Bunlar temel olarak vitaminleri, temel amino asitleri ve temel amino asitlerin ya da gerekli başka sentezlenmiş bileşiklerin sentezlenmelerinin habercilerini (precursor) (purin ve pirimidinler gibi) kapsar. Ayrıca belirtmek gerekir ki, yukarıda anılan ikincil ve iz elementler ve büyüme faktörlerinin hepsi tüm mikroorganizmalarca gereksinilmez, zira ihtiyaçlar türlere göre farklılık gösterir.

Mikroorganizmalar solunum ihtiyaçlarına göre de *aeroblar*, *anaeroblar* ve *fakültatif anaeroblar* olarak sınıflandırılabilir. Solunum yaşam süreci için enerji üretir ve temel olarak bir hidrojen verici maddeden hidrojen atomlarının enzimatik olarak uzaklaştırılması ve neticede oksitlenmesinden oluşur. Hidrojen atomları bir hidrojen alıcı ile birleşir ve bu madde indirgenir. Aerobik solunumda hidrojen alıcısı moleküler oksijendir ve son ürün de sudur. Anaerobik solunumda hidrojen alıcısı karbonat, nitrat ve sülfat iyonu gibi radikaller halinde bulunan birleşik oksijen veya organik bir bileşik olabilir. Bu alıcıların son ürünleri sırasıyla metan, amonyak, hidrojen sülfür veya indirgenmiş bir organik bileşiktir. Fakültatif anaeroblar eğer ortamda moleküler oksijen varsa aerobik solunum, yoksa da anaerobik solunum yaparlar. Aktif çamur sürecinde mikroorganizmalar aerob ve fakültatif anaeroblardan oluşur.

#### 2.2.1.4. Mikrobiyal Etkinliği Etkileyen Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üçe ayrılabilir. Mikrobiyal etkinlik üzerine çevresel faktörlerin etkisi şu bakımlardan önemlidir: (1) İyi bir arıtım için aktif çamur kültürünün optimum bir etkinlikte tutulması istenir. (2) Belirli organik atıksuların aktif çamur süreci yoluyla arıtılabilirliğinin değerlendirilmesinde çevresel faktörler önemlidir. (3) Biyolojik arıtım süreçlerinden çıkan çıkış sularının dezenfekte edilmesinde çevresel faktörler de göz önünde tutulmalıdır.

Aktif çamur sürecini etkileyen fiziksel faktörlerden başlıcaları (1) sıcaklık, (2) osmotik basınç, ve (3) moleküler oksijenin varlığıdır. Mikrobiyal bir hücre içindeki sıcaklık yaklaşık olarak ortam sıcaklığına eşit olduğundan, sıcaklıkta meydana gelen bir artış mikrobiyal etkinliği de artırır. Bu durum sıcaklığın, tüm hücrelerin öleceği bir noktaya ulaşmasına kadar sürer. 10 °C'lik bir sıcaklık artışı mikrobiyal etkinliği yaklaşık olarak iki katına çıkarır. Mikroorganizmalar optimum sıcaklık aralıklarına göre saykrofiller, mezofiller ve termofiller olarak üçe ayrılırlar. Bunların optimum sıcaklık aralıkları sırasıyla 0-10 °C, 10-45 °C ve 45-75 °C'dir. 75 °C'nin üzerinde mikroorganizmalar, temas süresi yeterli ise, hızla ölürler. Aktif çamur sürecinde kullanılan mikroorganizmaları büyük çoğunluğu saykrofil ve mezofildir, ancak her zaman termofiller de bulunur. Ortamdaki tuz derişimine bağlı olan osmotik basınç belirli bir aralık içerisinde olmalıdır zira mikroorganizmalar besinlerini osmoz yoluyla alırlar. Çoğu mikroorganizmalar 500 ile 35,000 mg/l arasındaki tuz içeriğinden etkilenmezler. Aktif çamur sürecinde karşılaşılan hidrostatik basınç aralıkları da mikrobiyal etkinliği etkilemezler. aeroblar ve aerobik solunum yaptıklarında fakültatif anaeroblar için ortamda moleküler ya da çözünmüş oksijen bulunması gerekir. Aerobik biyolojik reaktörlerde tasarım değeri olarak genelde 2.0 mg/l'ye yakın derişim değerleri kullanılır.

Aktif çamur sürecini etkileyen kimyasal faktörlerin başlıcaları ise (1) pH, (2) belirli asit ve bazların varlığı, (3) oksitleyici ve indirgeyici reaktiflerin varlığı, (4) ağır metal tuzları ve iyonlarının varlığı, ve (5) belirli kimyasalların varlığıdır. Aktif çamur sürecinde kullanılan mikroorganizmalar, tüm mikroorganizmaların çoğunluğu gibi, 6.5

ile 9.0 arasındaki nötral bölgede en iyi biçimde gelişirler. Aerobik biyo-oksidasyonun son ürünlerinden biri karbon dioksit olduğu için biyolojik reaktörde karbonat-bikarbonat tamponlama sistemi kurulur ve bu da nötral bir pH'ın korunmasına yardımcı olur. Ancak bazı endüstriyel atıksular, arıtmadan önce pH nötralizasyonu gerektirecek kadar düşük veya yüksek pH'a sahip olabilirler.

Benzoik asit gibi belirli asitler, ve amonyum hidroksit gibi belirli bazlar yeterli derişimlerde bulduklarında mikroorganizmalar için toksiktirler; ancak yüksek derişimlerde bütün asit ve bazlar toksiktir. Güçlü oksitleyici veya indirgeyici rektifler, oldukça düşük derişimlerde bile mikroorganizmalar açısından toksiktirler. Halojenlerin tümü (klor, flor, brom, ve iyot) ve bunların tuzları, eğer halojen en düşük değerlikli durumundan daha yukarıda bir değeriğe sahipse çok toksiktirler., zira bu halde güçlü bir oksitleyici maddedirler.

Ağır metal tuzları ve ağır metal iyonları da düşük derişimlerde dahi toksik etki yaparlar. Metalik iyonun toksisitesi, genelde, atomik ağırlık artışıyla birlikte artar. Atıksularda karşılaşılan ağır metaller, çoğunlukla civa, arsenik, kurşun, krom, çinko, kadmiyum, bakır, baryum ve nikeldir. Fotoğrafçılık işlemlerinde kullanılmasından dolayı bazı durumlarda gümüş de bulunur, ancak değerinden dolayı genellikle geri kazanılır. Civa, arsenik ve kurşun en toksik ağır metallerdir.

Organik asitler, alkoller, eterler, aldehitler, fenoller, klorofenoller, kresoller ve boyalar gibi belli endüstriyel kimyasallar da belirli derişimlerde bulduklarında toksik etkiye sahiptirler. Oldukça yüksek derişimlerde sabun ve deterjanlar da toksiktir, ancak atıksularda rastlanan derişimlerde genellikle toksik değildirler. İlaç fermentasyonlarında üretilen antibiyotikler çok küçük derişimlerde dahi toksiktirler. Önemli miktarda bulduklarında gresler, aktif çamurdaki mikroorganizmaları kaplayarak aerobik solunumu engellerler.

Yukarıda sözü edilen tüm kimyasal madde ve bileşiklerin etkileri, temelde, derişim, sıcaklık ve temas süresinin bir fonksiyonudur. Temas süresi arttıkça, ve genelde sıcaklık da arttıkça görece toksisite de artar. Sabit bir temas süresi ve sıcaklıkta, mikrobiyal etkinlik üzerine derişimin etkisi genelde şu şekildedir: Görece düşük

derişimlerde hiç bir etki yoktur; ancak derişim artmaya başladıkça söz konusu kimyasal madde veya bileşik mikrobiyal büyümei teşvik etmeye başlar. Derişim daha da artarsa bu kez inhibisyona neden olmaya başlar, ve bu aralığın ötesine geçtiğinde de mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ya da toksik bir etki yapar.

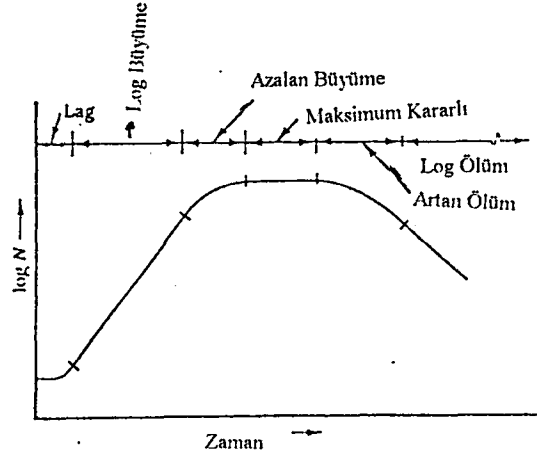
Aktif çamur sürecine etkiyen biyolojik faktörler ise çoğunlukla karışık kültürde istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasdır. Örneğin, kamçılı bir tür olan *Sphaerotilis*'in aşırı miktarda büyümesi, zayıf çökeltme özellikleri olan bir çamurun oluşmasına yol açar. Bu da son durulama işlemini zorlaştırır (Reynolds, 1982).

#### 2.2.1.5. Büyüme Evreleri

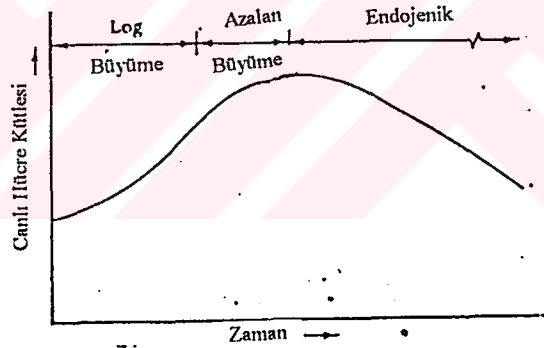
Mikroorganizmaların büyümesi, temelde mevcut canlı hücre sayısı ve ortamdaki substrat veya başka bir sınırlayıcı nutrientin miktarı ile, ve bunlara ek olarak diğer çevresel faktörlerle ilişkilidir. Mikroorganizmaların sürekli büyümelerine ilişkin pekçok kavram, aktif çamur sürecinde de olduğu gibi, kesikli kültürlerdeki büyüme ilişkileri aracılığıyla tanımlanmıştır.

#### **Saf Kültürlerde Büyüme**

İlk olarak bir substrat ve büyüme için gereken diğer tüm maddelerin mevcut olduğu bir ortama tek bir bakteri türünün aşılandığı bir durum düşünülürse, büyüme Şekil 2.2 ve Şekil 1.3'te görüldüğü gibi olacaktır. Şekil 2.2'de büyüme canlı hücre sayısı,  $N$ , olarak ölçülmüştür. Bu eğrinin (1) adaptasyon (lag), (2) logaritmik büyüme, (3) azalan büyüme, (4) maksimum kararlı büyüme, (5) artan ölme, ve (6) logaritmik ölme olarak adlandırılan ayrı evreleri vardır Frobisher, Hisdill, Crabtree ve Goodheart, bu değişik evrelerde meydana gelen fizyolojik değişimleri şu şekilde tanımlamışlardır:



Şekil 2.2. Canlı hücre sayısı temelinde mikrobiyal büyüme evreleri (Reynolds, 1982)



Şekil 2.3. Canlı hücre kütlesi temelinde mikrobiyal büyüme evreleri (Reynolds, 1982)

*Adaptasyon evresinin* başlangıcında mikroorganizmalar yeni ortamlarına alışmaya başlarlar. Bu evre tam olarak anlaşılmış değilse de, organizmaların aşılama öncesi taşınma sırasında meydana gelen yaralarını iyileştirdikleri ve su ve substrat absorplayarak büyük substrat moleküllerini parçalamak üzere hücre dışı enzimler salgıladıkları bilinmektedir. Adaptasyon evresinin girişinde canlı hücre sayısında bir artış yoktur; ancak, evrenin sonuna doğru metabolik etkinlik ve hücreler artmaya başlar. Adaptasyon evresinin son kısmında ise bölünme zamanı derece derece artar,

hücre büyüklüğü azalır, ve bölünme hızı, tür ve büyüme koşulları tarafından belirlenen bir maksimuma ulaşır. Adaptasyon evresinin süresi, büyük oranda aşılana kùltüre ve kùltürün miktarına bağlıdır. Eğer konulan kùltür genç ve biyolojik olarak aktif ise, adaptasyon evresi çok kısa sürer. Aynı şekilde, eğer aşılana kùltür görece büyük bir miktarda ise, adaptasyon evresi en aza iner. Çok miktarda aşılana kùltür, kendi ortamından az ama etkin miktarlarda enzimler, belirli temel nutrientler ve büyüme faktörlerini de beraberinde getirir, ya da aşılama içindeki hücrelerin çokluğu yüzünden bunları kısa süre içerisinde sentezler veya salgılar. (Reynolds, 1982)

Ortamda birden fazla karbon bileşinin bulunduğu durumlarda birden fazla adaptasyon evresi görülebilir. Buna *Dioksik Büyüme* denir. Karbon kaynaklarından biri diğerinden daha kolaylıkla metabolize edilebiliyorsa, organizmalar önce onu kullanıp sonra diğeri üzerinde büyürler. (Örneğin glüköz ve xiloz). Böylece iki büyüme eğrisi ve iki adaptasyon evresi gözlenir (Kargı, 1995).

*Logaritmik büyüme evresinde* bölünme zamanı olası en yüksek değerindedir ve hücrelerin ortalama büyüklüğü de türe ait en küçük değerdedir. Hücre duvarı ve zarları, bu evre boyunca, en ince kalınlıktadır, ve metabolik etkinlikler de maksimum bir hızda sürer. Hücreler, fizyolojik olarak genç, biyolojik olarak aktif, ve kötü etkilere karşı olgun ve daha az aktif hücrelere göre daha hassastırlar. Bu evre bir üstel büyüme evresidir ve zaman ile canlı hücre sayısının logaritması bir düz-çizgi ilişkisi ortaya koyar. Bölünme veya üreme zamanı türe, besine ve çevresel koşullara göre değişir ve birkaç dakikadan birçok güne kadar değişebilir. Ancak genellikle 10 ile 60 dakika arasındadır.

Logaritmik büyüme evresinin sonuna doğru hücreler, substratın ya da herhangi başka bir temel nutrientin tükenmesi, ve toksik son ürünlerin inhibe edici bir miktara ulaşabilecek şekilde birikmeleri gibi güçlüklerle karşılaşmaya başlarlar. Bu da *azalan büyüme evresinin* başlangıcını oluşturur. Bu evrede bölünme hızı azalmaya başlar ve mikroorganizmalar giderek artan sayılarda ölürler; dolayısıyla da canlı hücre sayısındaki artış daha düşük bir düzeydedir. Atıksu arıtımındaki çoğu durumlarda, azalan büyüme evresi, toksik son ürünlerin birikmesi yüzünden değil, substratın tükenmesi yüzünden meydana gelir.

Sonunda ölen hücre sayısı üreyen hücre sayısına eşitlenir ve kültür, canlı hücre nüfusunun görece sabit bir değerde kaldığı *maksimum kararlı evreye* girer. Bu evreye ulaşmak için gereken zaman, öncelikle türe, mikroorganizma derişimine, ortamın bileşimine ve sıcaklığa bağlıdır. Çevre mikrobiyal büyüme açısından kötüleştikçe *artan ölüm evresi* başlar. Hücreler giderek daha yavaş ürerler ve hücre ölüm hızı büyüme hızını geçer. Son olarak, artan ölüm evresi ilerleyerek *logaritmik ölüm evresine* evrilir.

Substrat veya temel bir nutrient, ya da başka bir büyüme faktörü sınırlayıcı olunca, ya da inhibe edici bir düzeyde birikmiş toksik son ürün mevcut ise, hücre kütlesi üretim hızı azalmaya başlar. Bu koşul, logaritmik büyüme evresinin sonunu ve azalan büyüme evresinin başlangıcını ifade eder. Çevresel koşullar hücre büyümesi için daha da uygunsuz olunca büyümedeki azalış daha belirginleşir. Hücre kütlesinin artış hızı, azalış hızına eşit olunca da eğri maksimum bir değere ulaşır. Bu da azalan büyüme evresinin sona erdiğini ve endojenik evrenin başladığını gösterir.

*Endojenik fazda* mikroorganizmalar, besin olarak biriktirdikleri besin maddeleri ve protoplazmaya ek olarak ortamda bulunan bir kısım ölü hücreleri de kullanırlar. Endojenik fazın net etkisi zamana göre toplam hücre kütlesinde bir azalıştır. Hücre kütlesinin endojenik olarak çürüme hızı, günde % 5-% 20 arasında görece sabit bir değerdir. Endojenik bozunma hızı süreklidir; bu, logaritmik büyüme ve azalan büyüme evrelerinde de vardır, ama görece çok daha büyük olan büyüme hızı tarafından maskelenir (Reynolds, 1982).

### **Karışık Kültürlerde Büyüme**

Biyolojik artım süreçlerinin çoğu karmaşık, birbirleriyle ilişkili, karışık ve her biri kendi büyüme eğrisine sahip biyolojik popülasyonlarla gerçekleştirilir. Sistemdeki bu türe özgü büyüme eğrileri zaman ölçeğinde, mevcut mevcut besin ve nutrientlere, sıcaklık, pH gibi ortam faktörlerine ve sistemin aerobik ya da anaerobik olmasına bağlıdır.. Organik atıkların stabilizasyonunda her ne kadar bakteriler birincil



önemdeyseler de, başka pekçok mikroorganizma da yer alır (Tchobanoglous and Burton, 1991).

#### 2.2.1.6. Atıksu Arıtımında Kullanılan Bakteri Türleri

Atıksu arıtımında kullanılan bakterilerin çoğu toprak mikroorganizmalarıdır. Bağırsak orijinli olanlar çok azdır. Nitrifiye edici bakteriler gibi bazı gruplar hariç olmak üzere, bakteri türlerinin çoğunluğu saprofitik heterotroflardır ve substrat olarak önceden oluşmuş cansız organik maddeleri gereksinirler. Amonyum iyonunu nitrite, nitrit iyonunu da nitrate çeviren nitrifiye edici bakteriler ise ototrofturlar ve karbon kaynağı olarak önceden oluşmuş organik maddeler yerine karbondioksit kullanırlar.

Evsel atıksuların arıtımında, aktif çamur içinde bulunan başlıca bakteri türleri şunlardır: *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Alkaligenes*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Zoogloea*, *Nitrosomonas* ve *Nitrobacter*. İlk dört türe ait hücreler en çok sayıda olanlardır. Ortamda ayrıca nitrifiye edici bakterilere ek olarak kükürt ve demir bakterileri gibi bazı özel gruplar da bulunurlar, ancak sayıları azdır. Bağırsak bakterileri havalandırma tankında hızla ölürlar, çünkü mevcut ortamda diğer mikroorganizmalarla rekabet edemezler (Reynolds, 1982).

Öte yandan (Tchobanoglous and Burton, 1991)'e göre yukarıda anılanların haricinde aktif çamur içinde bulunan başlıca bakteri türlerine *Nocardia*, *Bdellovibrio* ve *Mycobacterium* türleri ve *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Lecicothrix* ve *Geotrichum* gibi kamçılı mikroorganizmalar da eklenebilir.

Aktif çamur ortamında bazı mikrobiyal hücreler tekil halde bulunsalar da, çoğunluk, canlı ve ölüp dağılmış bakteri hücrelerinin salgı tabakalarından gelen polisakkarit zamlı kütlesine gömülü karışık türlerdeki hücrelerin oluşturduğu zoogleal biyokütle parçacıkları halinde bulunurlar. *Flok* olarak da bilinen bu zoogleal parçacıklar atıksu arıtımında önemli bir yere sahiptirler çünkü oldukça iyi sorplama özellikleri vardır ve çabuk çökerler. *Sphaerotilus natans* bakterisi gibi kamçılı organizmalar ve çoğu mantarlar, genelde az sayıda bulunurlar ve atıksu arıtımında istenmezler, zira sayıları



çok olduğunda zayıf çökme özelliklerine sahip bir çamurun oluşmasına neden olabilirler (Tchobanoglous and Burton, 1991).

### 2.3. Biyokimyasal Kinetikler

#### 2.3.1. Substrat Giderim Kinetikleri

Aktif çamur sürecinde oluşan substrat giderim hızını belirlemek için iki temel yaklaşım kullanılır. İlk yaklaşım fermentasyon endüstrilerinde kullanılan bağıntılara dayalı Michaelis-Menten, ya da Monod eşitliğidir. İkinci yaklaşım ise kimyasal kinetiklerin bir modifikasyonunu içerir. Eğer kesikli olarak çalışan bir aktif çamur reaktörü aşılırsa ve hücre kütlesi ve substrat miktarı derişimi değerleri reaksiyon zamanına göre kaydedilirse, veriler, her iki yaklaşımda da gereken kinetik sabitleri verecek analizler yapılabilir. Anlamlı veriler elde edebilmek için aşı, sürekli akışlı bir reaktörde geliştirilen ortama alışık bir kültürden alınmalıdır.

İlk yaklaşım endüstriyel fermentasyonlar için geliştirilen formülasyonları kullanır. Tek bir substrat içeren ve enzimle katalizlenen reaksiyonların, görece yüksek substrat derişimlerinde, substrat bakımından sıfırıncı derecede, görece düşük substrat derişimlerinde ise birinci derecede olduğu bulunmuştur. Kesikli bir sistemde substrat kullanımı aşılamadan hemen sonraki bir süre için sıfırıncı, ardından da birinci derecedeki bir reaksiyona uygun düşer. Buna ilişkin bir açıklama, yüksek substrat derişimlerinde enzimlerin yüzeylerinin substrat bakımından doymuş olduğu, ve dolayısıyla reaksiyonun substrat derişiminden bağımsız olduğu şeklindedir. Görece düşük substrat derişimlerinde ise, substrat ile örtülü enzim yüzeylerinin bir kısmı substrat derişimi ile orantılıdır. Bu olgu, Michaelis-Menten kavramıyla açıklanmıştır.

Michaelis-Menten denklemi, fermentasyon ürünü üretim hızı,  $dP/dt$ , ile substrat derişimi,  $S$ , arasındaki ilişkiyi verir. Ürün üretim hızı, ayrıca, özgül (spesifik) ürün üretim hızı,  $(1/X)(dP/dt)$ , olarak da ifade edilebilir. Burada  $X$ , hücre kütlesi derişimini gösterir. Özgül substrat kullanım hızı,  $(1/X)(dS/dt)$ , özgül ürün üretim hızı ile orantılı olduğundan, bu durum Michaelis-Menten formülüyle birleştirilebilir:

$$\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = k_s \left( \frac{S}{K_m + S} \right) \quad (2.1)$$

Burada

$(1/X)(dS/dt)$	= özgül substrat kullanım hızı, q, [kütle/(mikroorganizma kütlesi)(zaman)];
$dS/dt$	= substrat kullanım hızı, [kütle/(hacim)(zaman)];
$k_s$	= maksimum substrat kullanım hızı, [kütle/(mikroorganizma kütlesi)(zaman)];
$K_m$	= kullanım hızı maksimum hızın yarısı olduğunda substrat derişimi, [kütle/hacim];
$S$	= substrat derişimi, [kütle/hacim].

Özgül substrat kullanım hızı (q), maksimum değerinin ( $q_{max}$ ) yarısına eşit iken  $K_m=S$  olacağı görülebilir. (2.1) denklemi, Monod tarafından 1949'da geliştirilen formülasyona benzerdir ve mikroorganizmaların büyüme hızı ile substrat derişimi arasındaki bağıntıyı verir. Bu bağıntı, aktif çamur sürecinde substrat kullanım hızı ile substrat ve hücre derişimlerini ilişkilendirmek için kullanılabilir.

(2.1) denklemi incelendiğinde iki sınırlayıcı durumun varlığı görülebilir. Eğer S görece büyük ise  $K_m$  ihmal edilebilir. Bu durumda S'ler denklemden düşer ve reaksiyon substrat bakımından sıfırcı derece olur:

$$\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = k_s = K_0 \quad (2.2)$$

Burada  $K_0$ , sıfırcı derece reaksiyon için hız sabitidir. Öte yandan, eğer, S görece küçük ise paydadana ihmal edilebilir ve reaksiyon substrat bakımından birinci derecede olur;

$$\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = \frac{k_s}{K_m} (S) = K_1 S \quad (2.3)$$

Burada  $K_1$ , substrat açısından birinci derecede bir reaksiyon için hız sabitidir.

Michaelis-Menten kavramını kullanan yaklaşımı özetlersek; substrat kullanımında yüksek substrat derişimleri sıfırcı, düşük substrat derişimleri de birinci dereceden reaksiyonlar üretirler. Bu bağıntı, aşılana kütlenin sentezlenen maksimum hücre kütlesine oranla küçük olduğu ve endojenik bozunmanın hücre büyümesine nazaran ihmal edilebilir düzeyde gerçekleştiği endüstriyel fermentasyonlarda oldukça ayrıntılı bir şekilde çalışılmıştır. Hücre büyümesinin aşının birkaç katına erişebilmesi için başlangıçtaki substrat/hücre oranı oldukça büyük olmalıdır.

Aktif çamur sürecine uygulanan biyokimyasal kinetiklere ilişkin ikinci yaklaşım kimyasal kinetik teorisini kullanır. Michaelis-Menten yaklaşımının yüksek substrat derişimleri için reaksiyonun sıfırcı dereceden olduğunu gösterdiği göz önüne alınıp, düşsel (pseudo) bir sıfırcı derece reaksiyonu için hız denklemleri yazılırsa;

$$-\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = K \quad (2.4)$$

Burada  $K$  hız sabitidir. Eksi işaret substratın zamanla azaldığını gösterir. (1.4) denklemini integrasyon için yeniden düzenlersek;

$$\int_{S_0}^{S_t} dS = -K \bar{X} \int_0^t dt \quad (2.5)$$

Burada;

$K$  = hız sabiti, [zaman<sup>-1</sup>];  
 $\bar{X}$  = biyokimyasal reaksiyon sırasındaki ortalama hücre kütlesi derişimi,

yani  $\bar{X}=(X_0 + X_t)/2$ ,  $X_0$  ve  $X_t$ ,  $t=0$  ve  $t=t$  anlarındaki hücre kütlesi derişimleri, [kütle/hacim];

$S_t$  = t anındaki substrat derişimi, [kütle/hacim];

$S_0$  =  $t=0$  anındaki substrat derişimi, [kütle/hacim].

(2.5) denkleminin integrali alınırsa,

$$S_t - S_0 = -K \bar{X} t \quad (2.6)$$

ya da

$$S_t = S_0 - K \bar{X} t \quad (2.7)$$

olur. (2.7) denklemini  $y = mx + b$  şeklindedir; dolayısıyla aritmetik kağıt üzerinde  $S_t$  y-ekseninde,  $X_t$  de x-ekseninde çizildiğinde, eğer reaksiyon sıfırıncı derece ise bir doğru elde edilecek ve eğim de  $-K$ 'ya eşit olacaktır.

Düşük substrat derişimlerdeki birinci dereceden reaksiyon Michaelis-Menten kavramında gösterilmişti; dolayısıyla, düşsel bir birinci derece reaksiyonu için hız denklemini şöyle yazılabilir:

$$-\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = KS \quad (2.8)$$

Burada  $K$ , [hacim/(mikroorganizma kütlesi)(zaman)] cinsinden hız sabitidir. İntegrasyon için yeniden düzenlenirse;

$$\int_{S_0}^{S_t} \frac{dS}{S} = -K \bar{X} \int_0^t dt \quad (2.9)$$

İntegral alınırsa;

$$\ln S \int_{S_0}^{S_t} = -K \bar{X}t \quad (2.10)$$

(2.10) denklemi şu şekilde basitleştirilebilir:

$$\ln S_t = \ln S_0 - K \bar{X}t \quad (2.11)$$

(2.11) denklemi  $y = mx + b$  şeklindedir; dolayısıyla yarı-logaritmik bir kağıt üzerinde  $S_t$  y-ekseninde,  $Xt$  de x-ekseninde çizildiğinde, eğer reaksiyon birinci derecede ise bir doğru elde edilecek ve eğim de  $-K$ 'ya eşit olacaktır.

Atıksularda pekçok substrat bulunduğundan dolayı kinetik denklemler için hız sabiti,  $K$ , ve Michaelis-Menten denklemi sabitleri bütüne ilişkin ortalama değerleri temsil edeceklerdir.

Kinetik denklemler için hız sabiti  $K$ 'nın değeri temelde atıksuya bağlıdır zira organik substratların türleri farklı atıksular, özellikle de endüstriyel atıksular ve önemli miktarlarda endüstriyel atıklar içeren evsel atıksular için değişecektir. Özel bir organik bileşiği ancak, ortama alıştırılmış çamur içindeki belirli mikroorganizma türlerinin biyolojik olarak okside edebileceği ve her türün de kendine özgü bir kullanım hızı olduğu düşünülürse, bütünü temsil eden bir  $K$  hız sabitinin farklı türdeki atıksular için değişik değerler alacağı ortaya çıkar. Tablo 2.3 bazı tipik atıksular için, ortama alışık aktif çamur tarafından biyolojik olarak parçalanabilir TOC değerlerine göre reaksiyon derecesini ve hız sabitlerini göstermektedir. Buradan,  $K$ 'nın geniş bir aralıkta değiştiği ve hatta, petrokimya endüstrisi gibi belli bir tür endüstride bile hız sabitinde önemli farklılıklar olduğu görülebilir. Daha düşük  $K$  değerlerine sahip petrokimya atıksuları, insektisitler (böcek öldürücüler), herbisitler (zararlı bitki öldürücüler), fungusitler (mantar öldürücüler), sert plastik üretiminde kullanılan organik bileşikler ve belirli organik solventler (çözücüler) gibi biyolojik olarak oksitlenmeleri görece zor olan organik bileşikleri üreten tesislerden çıkmaktadırlar. Yüksek  $K$  değerlerine sahip petrokimya atıksuları ise, sentetik kauçuk ve esnek (flexible) plastik üretiminde

kullanılan doymamış hidrokarbonlar gibi biyolojik olarak daha kolay parçalanabilen bileşikler üreten tesislerin atıksularıdır. Evsel atıksuların herhangi bir atıksuya nazaran daha kolay parçalanabilen substratlar içerdiği söylenebilir, ancak bu, her zaman için doğru değildir. Bu konudaki sınırlı veriler, evsel atıksular için K hız sabitinin, organik içeriğin ölçümü için toplam BOİs, yani çözünebilir ve çözünemez BOİs, kullanıldığında, 0.10-1.25 l/(gm MLSS)(saat) arasında olacağını göstermektedir (Reynolds, 1982). Burada MLSS karışık sıvıdaki askıda katı madde anlamındadır, ve MLVSS, yani karışık sıvıdaki uçucu askıda katı madde ile birlikte canlı hücre kütlelerinin bir göstergesi olarak kullanılır.

Tablo 2.3. Bazı Atıksular İçin Reaksiyon Dereceleri ve Hız Sabitleri (Reynolds, 1982)

Atıksu Türü	Reaksiyon Derecesi	Reaksiyon Hız Sabiti K <sup>a</sup> , l/(gm MLSS)(saat), 25 °C
Kağıt Sanayii	Birinci	0.375
Kağıt Sanayii	Birinci	0.528
Kimyasal Madde Üretimi	Birinci	0.479
Kimyasal Madde Üretimi	Birinci	0.601
Rafineri	Birinci	0.504
Rafineri	Birinci	0.660
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	0.592
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	0.686
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	0.713
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	0.911
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	1.221
Petrokimya Endüstrisi	Birinci	1.333
Evsel	Birinci	1.717

<sup>a</sup> Biyolojik olarak parçalanabilir TOC bazında

### 2.3.2 Organizmaların Büyüme Kinetiği

Organizmalar, buldukları ortamdan besin maddelerini alarak hücresel bileşiklere dönüştürürler ve bölünerek çoğalırlar. Çoğalma ya organizmaların sayısal artışı, ya da kütleli artışı şeklinde olur ve aşağıdaki denklemle ifade edilebilir:



Besinler + Organizmalar  $\rightarrow$  Ürünler + Yeni organizmalar

Organizmaların büyümesi otokatalitik tepkimelere iyi bir örnektir. Organizmalar, biyokatalistler olduklarından büyüdükçe konsantrasyonları ve dolayısıyla büyüme ve besin giderme hızı artar. Besin maddeleri substrat ya da BOİ ve KOİ (özellikle atık gidermede) olarak ölçülürler.

Özgül büyüme hızı aşağıdaki denklemle ifade edilir:

$$\mu = (1 / X) (dX / dt) \quad (2.13)$$

Bu eşitlikte  $\mu$ , özgül büyüme hızı; X organizma konsantrasyonu [g hücre/l] ve t de zamandır (h). Benzer şekilde, daha önce de belirtildiği gibi özgül substrat giderme ve ürün oluşum hızları da tanımlanabilir:

$$q_s = (1 / X) (dS / dt) \quad [g S / g hücre. h] \quad (2.14)$$

$$q_p = (1 / X) (dP / dt) \quad [g P / g hücre. h] \quad (2.15)$$

Substrat ve ürün birden fazla olabilir. Bu durumda her substrat /ürün için yukarıdaki eşitlikler yazılabilir.

Ortamdaki organizma derişimi ya hücre sayarak (örneğin 10<sup>6</sup> hücre/ml) ya da ağırlık ölçerek (örneğin 5 g k. ağı./l) belirlenir. Bazı durumlarda ortamın absorbansı spektrometre ile (600 nm'de) ölçülerek ya da protein/DNA derişimleri ölçülerek

organizma derişimleri saptanabilir. Ortamın özelliklerine göre bu yöntemlerden biri kullanılır. Substrat giderilmesi ve ürün oluşumu da büyümenin bir ölçütü olabilir (Kargı, 1995).

### 2.3.2.1 Kesikli Büyüme

Organizmalar, büyüme ortamına konduklarında ortamdaki besi maddelerini (C, N, O, H, P, S, mineral vb.) kullanarak büyürler.

#### i- Adaptasyon Evresi

Organizmaların yeni ortama uyum için geçirdikleri bekleme dönemidir. Bu dönem boyunca hücre ağırlığı çok az artsa bile hücre sayısı pek artmaz.

#### ii- Logaritmik Büyüme Evresi

Ortama adapte olan mikroorganizmalar, bu dönemde maksimum hızla büyürler ve bütün hücre bileşenleri aynı hızla büyüdüklerinden ortalama hücre bileşimi sabit kalır. Bu döneme dengeli büyüme dönemi de denir. Hücrelerin kütlesi, zamanla zamanla üstel (eksponansiyel) olarak artar ve büyüme hızı besi madesi konsantrasyonundan bağımsızdır.

$$dX/dt = \mu_{\max} X \quad (2.16)$$

İntegrasyonla aşağıdaki eşitlik bulunur:

$$\ln (X/X_0) = \mu_{\max} t \text{ ya da}$$

$$X = X_0 e^{\mu_{\max} t} \quad (2.17)$$



Bu eşitlikte;

- $\mu_{\max}$  : maksimum özgül büyüme hızı [ $h^{-1}$ ];  
 $X_0$  : başlangıç hücre konsantrasyonu [g/l].

### iii- Yavaşlayan Büyüme Evresi

Bu dönemde bir ya da birden fazla besi maddesi limitleyici rol oynadığından ya da toksik ürünler ortamda biriktiğinden büyüme yavaşlar ve büyüme hızı besi maddesi derişimine bağılı olarak düşer.

Büyüme hızı aşağıdaki eşitlikle verilebilir:

$$dX/dt = \mu X = (\mu_{\max} S X) / (K_s + S) \quad (2.18)$$

Hücre konsantrasyonu X ile besi konsantrasyonu arasında da aşağıdaki bağıntı yazılabilir:

$$X - X_0 = Y_{x/s} (S_0 - S) \quad (2.19)$$

Bu eşitliklerde  $K_s$ , doygunluk ya da Michaelis sabiti [g/l];  $Y_{x/s}$  de verim katsayısıdır [g hücre/g S] (Kargı, 1993).

### iv- Maksimum Kararlı Büyüme Evresi

Bu dönemde hücre konsantrasyonu sabit kalır. Net büyüme hızının sıfır olduğu bu dönemde, büyüme hızı ölüm hızına eşittir ( $\mu_b = b$ , ya da  $\mu_b = kd$ ). Bu dönemde net büyüme hızı sıfır olmakla beraber, hücreler metabolik olarak aktiftirler ve ikincil ürünleri üretirler. Bazı ürünler (antibiyotikler, hormonlar vb.) besi konsantrasyonunun

düşük olduğu (düşük C, N, P) şartlarda üretilirler. Bunlar büyüme ile ilişkisi olmaya ürünlerdir. Birincil ürünler de büyüme fazında üretilirler.

Bu dönemde, toplam hücre kütlesi sabit kalmakla birlikte canlı ve aktif hücre konsantrasyonu düşer. Bazı hücreler parçalanırlar ve canlı hücreler parçalanmış hücreler üzerinde büyürler. Dış ortamda yeteri kadar besi malzemesi kalmadığından, organizmalar hücre içi kaynakları tüketirler.

#### v- Ölüm Evresi

Bu dönemde ölüm hızı, büyüme hızından büyüktür ve hücre konsantrasyonu zamanla düşer.

Düşük hızlı (besi limitleyici) büyüme dönemini karakterize eden

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S) \quad (2.20)$$

eşitliği Monod eşitliği adıyla bilinir ve bir tek besi maddesinin büyüme hızını sınırladığı durumlarda geçerlidir.

Bu eşitlikte  $\mu_{\max}$ , maksimum büyüme hızını ( $S \gg K_s$  olduğunda) ve  $K_s$  de doygunluk sabitini göstermektedir.  $K_s$  değeri  $\mu = 1/2 \mu_{\max}$  olduğu durumda besi konsantrasyonuna eşittir. Düşük besi konsantrasyonlarında ( $S \ll K_s$ );  $\mu = \mu_{\max} S / K_s$  olup büyüme hızı birinci derece kinetiğiyle ifade edilir. Yüksek besi konsantrasyonlarında,  $S \gg K_s$  ve  $\mu = \mu_{\max}$  olup sıfırıncı derece kinetiği geçerlidir (Kargı, 1995).

Monod kinetiği çeşitli yollarla denenebilir. Lineweaver-Burk yaklaşımında eşitlik ters çevrilerek

$$1/\mu = (K_s + S) / \mu_{\max} S = (K_s / \mu_{\max}) (1 / S) + 1/\mu_{\max} \quad (2.21)$$

şeklinde yazılır. Buradan  $1/S$ 'e karşı  $1/\mu$  grafiği çizilirse elde edilen çizginin eğimi  $K_s/\mu_{\max}$ 'e; y-eksenini kestiği nokta ise  $1/\mu_{\max}$ 'e eşit olur. Langmuir yaklaşımında ise denklem,

$$(S/\mu) = (K_s/\mu_{\max}) + (1/\mu_{\max}) S \quad (2.22)$$

şeklinde yazılır. Bu durumda da  $S$ 'e karşı  $S/\mu$  grafiği çizilirse elde edilen çizginin eğimi  $1/\mu_{\max}$ 'e; y-eksenini kestiği nokta ise  $K_s/\mu_{\max}$ 'e eşit olur. Son olarak Eddie-Hofstee yaklaşımında denklem,

$$(\mu_{\max}/\mu) = K_s (1/S) + 1$$

$$\mu_{\max} = K_s (\mu / S) + \mu \text{ ve}$$

$$\mu = -K_s (\mu / S) + \mu_{\max} \quad (2.23)$$

şekline getirilir. Bu durumda  $\mu/S$ 'e karşı  $\mu$  grafiği çizilirse elde edilen çizginin eğimi  $-K_s$ 'ye; y-eksenini kestiği nokta ise  $\mu_{\max}$ 'e eşit olur. (Yonsel, 1996)

Monod eşitliği tek enzimle katalizlenen/taşınan olguların hız sınırlayıcı olduğu durumları karakterize eder. Birçok durumda besi sınırlamasını belirten eşitlik olarak kullanılabilen bu eşitlik, genellikle büyümenin yavaş ve hücre değişiminin düşük olduğu durumlarda geçerlidir.

#### vi-Engellemeli (İnhibisyonlu) Büyüme

Özellikle atık gideriminde, ortamda toksik veya engelleyici (inhibitor) bileşikler mevcuttur. Bu bileşikler organizmaların büyümesini ve  $BOİ/KOİ$  giderimini yavaşlatır. Ayrıca yüksek besi ( $BOİ$ ;  $KOİ$  vb.) ve ürün derişimleri de engellemeye neden olur. Bu durumlarda hız eşitliği, engelleme (inhibisyon) terimini içerir.

### i- Besi (BOİ/KOİ) Engellemesi (Substrat Inhibition)

Yüksek besi maddesi konsantrasyonlarında, besi engellemesi (inhibisyonu) gözlenir. Bu inhibisyon genellikle rekabetsiz engelleme olmakla beraber, bazı özel durumlarda rekabetli inhibisyon da olabilir.

$$\text{Rekabetsiz İnhibisyon: } \mu = \frac{\mu_{\max}}{(1 + K_s / S) (1 + S / K_{s1})} \quad (2.24)$$

$$K_{s1} \gg K_s \text{ ise } \mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + S^2 / K_{s1}} \quad (2.25)$$

$$\text{Rekabetli İnhibisyon: } \mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s (1 + S / K_{s1}) + S} \quad (2.26)$$

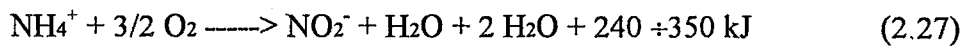
Besi inhibisyonu, besinin ortama yavaş yavaş ilavesi ile (fed-batch) giderilebilir.

Besi maddelerinin büyümeyi engellemesi konusunda yapılan deneylere ilişkin olarak olarak amonyak inhibisyonu ayrıntılarıyla incelenmiştir:

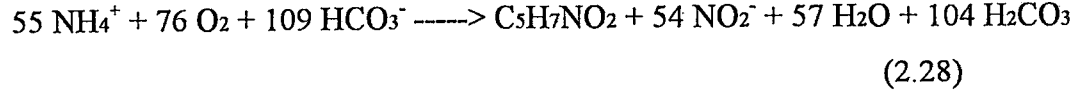
### Amonyak (NH<sub>3</sub>) İnhibisyonu

Azot, atıksularda amonyak, nitrit, nitrat ve amino asitler gibi bileşiklerde bulunur. Biyolojik parçalanma sırasında organik azot, amonyağa dönüştürülür.

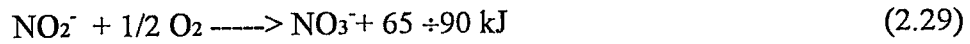
Amonyak, kemolitoototrofik bakterilerce nitrite okside edilir. Bu işte en önemli tür *Nitrosomonas europaea* adlı, kısa çubuk şeklinde, 1x1.5 µm uzunluğunda ve kutupsal bir flagelluma sahip bakteri grubudur. Katabolizması şu şekildedir:



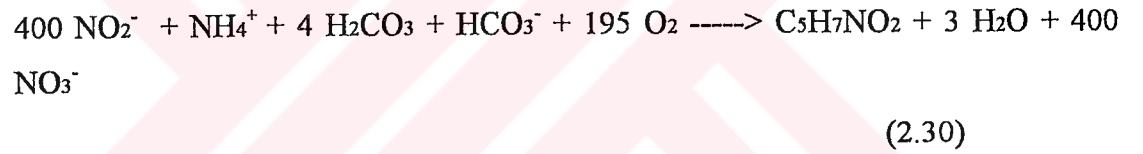
Görüldüğü gibi, denklem için yüksek miktarda oksijen gereklidir ve pH kontrolü yapılmadığında pH düşer. Katabolizma ve anabolizma şu şekilde gerçekleşir:



En önemli nitrit oksitleyici ise *Nitrobacter winogradskiy* adlı, kısa çubuk (0.5 x1 µm) şeklinde, kok olarak da görünebilen ve Nitrosomonas ile ortak-yaşam halinde olan bakteri grubudur. Katabolizması,



Nitrosomonas'a göre büyümek için daha az enerji sağlar. Katabolizması ve anabolizması şu şekildedir:



Nitrobacterlerin  $\text{NH}_4^+$ -N'ini biyosentez için gereksindikleri düşünülmektedir.

Amonyak, iyonize olmamış biçiminde Nitrosomonas için gerçek elektron vericisidir (substrat), çünkü hücreye taşınımı,  $\text{NH}_4^+$  gibi iyonize bir molekülün taşınımından daha az enerji gerektirir.

Besi inhibisyonu son on yılda tanımlanmıştır. Besi inhibisyonunun en basit tanımı Haldane kinetikleriyle verilmiştir:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C (\text{NH}_3\text{-N})}{K_{SH} + C (\text{NH}_3\text{-N}) + [C (\text{NH}_3\text{-N})]^2 / K_{IH}} \frac{C'}{K' + C'} \quad (2.31)$$

Burada,

- $C(NH_3-N)$  : Amonyak azotu derişimi, (kütle/hacim),  
 $K_{SH}$  : İyonize olmamış substrat için doyunluk sabiti, (kütle/hacim),  
 $K_{IH}$  : İyonize olmamış substrat için inhibisyon sabiti, (kütle/hacim),  
 $C_2$  : Çözünmüş oksijen konsantrasyonu, (kütle/hacim),  
 $K'$  : Oksijen doyunluk sabiti, (kütle/hacim).

(2.31) denklemindeki ikinci faktör oksijen sınırlamasını göstermektedir. Eğer  $C' \gg K'$  ve  $K_{IH} \gg [C(NH_3-N)]^2$  ise, (2.31) denklemi,

$$\mu = \mu_{max} \frac{C(NH_3-N)}{K_{SH} + C(NH_3-N)} \quad (2.32)$$

olur.

Amonyak inhibisyonu,  $pH < 9$  ve  $c(N) < 65$  mg/l ( $NH_4-N + NH_3-N$ ) ise her zaman ihmal edilebilir.



denkleminde

$$C(NH_3-N) = \frac{C(NH_4-N) \times 10^{pH}}{K_a} \quad (2.34)$$

elde edilir. Burada

$$K_a = \exp\left(\frac{6344}{273 + T}\right) \quad (2.35)$$

formülüyle verilen denge sabitidir ( T, °C olarak sıcaklık).

(2.34) ve (2.35) denklemlerinden

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C (\text{NH}_4\text{-N})}{K_s + C (\text{NH}_4\text{-N})} \quad (2.36)$$

ve

$$K_s = K_{SH} K_a 10^{-\text{pH}} \quad (2.37)$$

elde edilir. (2.36)) denklemi düşük amonyak konsantrasyonlu tüm kinetik çalışmalarda ve atıksu arıtma tesislerinde nitrifikasyon modellemelerinde yaygın olarak kullanılır.

Yapılan birçok çalışmada, sınırlayıcı besin olarak amonyak için bulunan

$$K_{SH} = 0.71 \text{ mg/l NH}_3\text{-N ve,}$$

$$K_{IH} = 540 \text{ mg/l NH}_3\text{-N}$$

değerlerin pH'tan etkilenmedikleri gözlenmiştir (Wiesmann, 1994).

#### 2.3.2.2 Yarı Sürekli Büyüme

Bu işletme biçimi “kesikli besleme” adıyla da bilinir. Besi maddeleri (atık), reaktöre çıkış akımı olmadan sürekli-yarı sürekli olarak verilir ve reaktör hacmi belli bir seviyeye geldikten sonra boşaltılır. Genellikle yüksek besi konsantrasyonlarında ya da toksik madde içeren atıkların gideriminde kullanılan bu işletme şekli şok etkileri önler ve atık giderme hızını artırır.

Sistem önce kesikli olarak başlatılır. Organizmalar ortama alıştırılır ve organizma konsantrasyonu yükseltilir. Kesikli büyümenin sonunda hücre konsantrasyonu  $X_m = YS_0$  ve  $S=0$  olur. Bu durumda sisteme, besi maddeleri  $Q$  hızı ve  $S_0$  konsantrasyonu ile sürekli olarak beslenmeye başlanır. Atıksu hacmi belli bir seviyeye geldiğinde ( $V_m$ ), beslenme kesilir ve reaktör boşaltılır.

## 2.4 Aktif Çamur Sürecinde Aktif Biyokütle Belirlenimi

### 2.4.1. Aktif Biyokütlenin Önemi

Aktif çamur sistemlerinde kinetik modellerin ve yeni tasarım kriterlerinin gelişmesiyle birlikte büyüme hızı gibi kinetik değerler giderek daha çok önem kazanmıştır. Özgül büyüme hızları, aktif çamurdaki biyokütleyi ölçecek basit ve yeterince doğru sonuçlar veren bir yöntemin olmaması nedeniyle çoğu zaman karışık sıvıdaki askıda katı madde (MLSS), uçucu askıda katı madde (UAKM) ya da aktif çamur KOİ'si temelinde hesaplanırlar. Bu uygulama tatmin edici olmamaktadır, zira özgül büyüme hızları, dikkate alınan çamur kütlesine göre büyük oranda değişebilmektedir (Liebeskind and Dohmann, 1994).

Atıksu arıtma tesislerindeki aktif çamur kütlesi sadece biyokütleyi değil, bilinmeyen bileşimlerde yüksek miktarda organik ve inorganik maddeleri de içerir. Atıksu içindeki çözülmüş organik maddeleri metabolize eden, başka bir deyişle arıtma işlemini gerçekleştiren kısım biyokütledir. Bu bakımdan özgül tüketim ve büyüme hızları gibi kinetik değerlerin hesaplanmasında dikkate alınması gereken kısım da biyokütledir. Dolayısıyla bu değerlerin doğru ve hassas bir şekilde ölçülebilmesi için biyokütleyi diğer çamur bileşenlerinden ayırabilecek bir yöntemin geliştirilmesi zorunludur. Oysa bu çamur bileşenleri arasında ayırım yapmak çok zordur.

Hatta bazı durumlarda “canlı biyokütle” ile “aktif biyokütle” terimleri, birbirinden önemli derecede farklı aktif çamur kısımları olarak ele alınırlar. Bu, özellikle gelen atıksu içindeki bazı kirleticilerin mikroorganizma metabolizmasını engellediği durumlar için geçerlidir. Bu bakımdan, sürekli izlenmenin amaçlandığı yerlerde aktivite verileri daha önemli iken, modelleme amaçlı (evsel arıtma tesislerine ilişkin genel parametrelerin belirlenmesi düşünüldüğünde) çalışmalarda uzun erimli olgular daha önemlidir ve ortama adapte olmuş aktif çamurun ortalama *canlı* biyokütlesinin çamurun ortalama *aktif* biyokütlesi ile özdeş olduğu düşünülür (Liebeskind and Dohmann, 1994).



Bu noktaya kadar aktif biyokütle konsantrasyonu X ile gösterildi. Bu gösterim genel olarak geçerlidir, ancak sistemdeki gerçek aktif biyokütlenin ölçülmesi gerektiğinde, yukarıda sözedildiği gibi, sorunlar çıkmaktadır. Çoğunlukla, uçucu askıda katı maddenin (UAKM) bu parametreyi yeterince ölçtüğü düşünülür. Suda çözünebilir bir atığın arıtımı, aktif-büyüyen, aktif-büyümeyen ve kalıcı organik kısımlara sahip bir flok üretir. Atıksuyun çözünemeyen ve biyolojik olarak parçalanamayan organik maddeler içerdiği koşullarda durum daha da karmaşıklaşır. Bir örnek olarak McKinney, evsel atıksuyu arıtan bir aktif çamur için aktif biyokütlenin, karışık sıvıdaki askıda katı maddenin (MLSS) sadece % 30-% 50'sini temsil ettiğini öne sürmüştür. Bu değerler, uzun havalandırma süreçlerinde % 10'un altına kadar düşer. Weddle ve Jenkins ise aktif çamurdaki aktif heterotrofik mikroorganizma içeriğinin karışık sıvıdaki uçucu askıda katı maddenin (MLVSS) % 10 ile % 20'si arasında olduğunu belirtmişlerdir. Her iki durumda da aktif biyokütleyle ilişkin UAKM ölçümlerinin şüpheli olduğu açıktır.

Ham atıksunun büyük oranda biyolojik olmayan askıda organik madde içerdiği durumlarda, aktif biyokütle ölçüsü olarak UAKM kullanıldığında bu tutarsızlıkların daha da artacağı belirtilmişti. MLVSS'deki gerçek aktif biyokütle yüzdesinin biyolojik katı alıkonma süresinin (çamur yaşı; BSRT) bir fonksiyonu olduğu açıktır ve bu yüzde metabolize edilmemiş organiklerin varlığında daha da azalır (Benefield, 1980).

#### 2.4.2. Aktif Biyokütlenin Belirlenmesi

Biyokütleyi belirlerken hedef, organik atıkları metabolize eden, dolayısıyla aktif bir durumda bulunan bakterilerin belirlenmesidir. Bu konuda şimdiye kadar yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen verili bir durumda hangi parametrenin biyokütle için en uygun olduğu sorusuna hala bir cevap bulunabilmiş değildir. Bunun açıklaması, alınan numunelerde mikroorganizmaları saymanın ya da biyokütleyi belirlemenin aşırı zorluğu, ve hangi yöntemin kullanılacağı sorusunun birden fazla cevabı bulunmasıdır. Kullanılacak yöntem numune alınan yerdeki egemen çevresel koşullara, ve istenen seçicilik ve hassaslığa bağlı olarak değişebilmektedir.

Biyokütleyi belirlemek veya bakterileri saymak için temelde üç yaklaşım mevcuttur:

(1) *Doğrudan sayma işlemleri*; bunlar genelde sayımdan önce florasan ile renklendirme işlemlerini de içerir. Bu yöntemler, ölü ve canlı maddelerin birbirinden ayrılmasının güçlüğü nedeniyle çoğunlukla biyokütleyi olduğundan daha büyük bir değerde gösterirler. Bu sorunu çözmek için sayımdan önce bir numunedeki canlı bakterilerin metabolik olarak ifade edilmesini kapsayan birçok teknik geliştirilmiştir.

(2) *Canlı sayma işlemleri*; karışık sıvının seyreltilmiş ve dağıtılmış (dispersed) süspansiyonlarının bir besiyer yüzeyine yayılarak belli bir sıcaklıkta (genellikle 20 °C) belli bir süre ( 7 güne kadar) için inkübe edilmesinden ve bu süre içinde oluşan kolonilerin sayılmasından oluşur. Bu ve buna benzer yöntemlerin temel sorunu, bakterilerin büyüyeceği ortamın seçiminden kaynaklanan seçiciliğin bakteri sayısının, doğrudan sayma işlemlerinin tersine, olduğundan daha az bir değerde görünmesine neden olmasıdır. Droste and Sanchez (1983)'te sayılan canlı hücrelerin solunum yapan veya toplam hücre sayısının küçük bir yüzdesini oluşturduğu ve bu nedenle besiyerde sayma işlemlerinin karışık bir kültürdeki aktivitenin tahmin edilmesine ilişkin güvenli bir yöntem olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca yöntem açısından biyolojik flokların dağıtılması ve seri seyreltmeler yapılması gerektiği, ve ortamdaki bu şiddetli değişikliklerin de bakteri popülasyonu üzerinde şok etkileri olduğu ifade edilmiştir.

(3) *Biyokimyasal bir iindikatör yardımıyla biyokütle ölçümü*; bu yöntemlerde biyokütleyi yansıtmak üzere genellikle hücre bileşenlerinden biri olan bir indikatör miktarı ölçülür ve bu indikatörün hücredeki miktarı temel alınarak değerler aktif biyokütle cinsinden ifade edilir. Özellikle son yıllarda biyokütle hakkında yapılan çalışmalar, geleneksel, yani tüm ölü, inaktif ve aktif hücreleri ölçen yöntemlerden ziyade, bu tür yöntemler üzerinde yoğunlaşmıştır. Şimdi amaç, belli sabit bir oranda tüm bakterilerde bulunan ve aktivite gibi farklı ortamlarda hızlı bir şekilde yön değiştirebilen metabolik bir indikatörün bulunabilmesidir (Jensen et al, 1988).

Bu yöntemlere ilişkin sınırlılıklar ise daha çok bu değerlerin biyokütleyle çevrilmesiyle bağlantılıdır. Liebeskind and Dohmann(1994)'te ölçülen herhangi bir aktif çamur bileşeninden (karbonhidratlar, protein, UAKM, ATP, DNA vb.) biyokütlenin

hesaplanmasına olanak verecek uygun bir matematiksel çevirme faktörünün olmayacağı belirtilmiştir. Bunun nedeni bir yandan ölçülen bu bileşenlerden bazılarının yalnız biyokütle içinde bulunmaması, öte yandan da aktif çamur mikroorganizmalarının besinsel koşullarının sabit olmamasıdır. Mikroorganizmaların içerdikleri polimer miktarları çamur yükleme hızına bağlı olarak değişebilir. Bu bakımdan sabit bir çevirme faktörünün bulunması olanaksızdır (Liebeskind and Dohmann, 1994).

Bu yöntemlerden en çok kullanılanlar adenosin trifosfat (ATP), dehidrojenaz enzimi aktivitesi ve deoksiribonükleik asit (DNA) ölçümleridir.(Droste ve Sanchez, 1983) Bunlara protein de eklenebilir (Kargı, 1995).

### **ATP İçeriğinin Ölçümü**

ATP enerji depolaması ve transferinde kullanılan bir moleküldür. Biyolojik reaksiyonlarda enerji, ATP ile yüksek enerjili fosfat bağı halinde depo edilerek kullanılır. Bu bakımdan hücre metabolizmasında temel bir rol oynar.

Biyokütlenin belirlenmesine ATP kullanılması, sözkonusu alanda doğru ve tutarlı sonuçlar veren yöntemlerden bir tanesidir. Bu yöntem ATP ekstraksiyonunu, buna saflaştırılmış luciferin-luciferase enzimi eklenmesini ve ATP'nin bir biyosayıcıda (biocounter) ışık birimi olarak okunmasını kapsar. Bu değer ATP değerine çevirilebilmesi için deneyden önce bilinen ATP standartlarıyla kalibrasyon eğrisinin çıkarılması gerekir (Jensen et al, 1988; Droste and Sanchez, 1983).

Daha sonra, elde edilen bu ATP içeriği bir çevirme faktörü ile canlı hücre sayısına (örneğin, 10<sup>-6</sup> ng ATP / hücre (Jensen et al, 1988)), ya da biyokütle miktarına (örneğin 0.9-1.3 µg ATP / mg aktif hücre kütlesi, (Droste and Sanchez, 1983)) çevirilir.

Jensen et al. (1988)'de, büyüyen kültürlerde ATP'nin mikrobiyal aktivite ile çok iyi bir korelasyon gösterdiği, ancak arıtılmamış atıksu ile yapılan deneylerin, biyokütle/ATP oranının değişen fizyolojik koşullara göre değişebileceği yargısını doğruladığı

belirtilmektedir. Buna rağmen diğer biyokütle parametrelerine nazaran en iyi sonuçları veren biyokütle parametresi olarak ATP verilmiştir.

Droste and Sanchez(1983)'te de çok sayıda organizmanın üretilen ATP molü başına 10.5 g hücre malzemesi ürettiği ve bu sabitliğin, mikrobiyolojik araştırmalarda kullanılan substrat ve ortamın az çeşitliliğine atfedilmesine rağmen pek çok araştırmacı tarafından “evrensel sabit” olarak alındığına değinilerek ATP üretimi ile hücre sentezi arasındaki yakın ilişkiye dikkat çekilmiştir. Burada da karışık bir mikrobiyal kültürde aktivitenin en iyi tahminini ATP'nin sunduğu belirtilmiştir.

### **DNA İçeriğinin Ölçümü**

DNA, bakterilerin çekirdeksel (nuclear) bölgesinde bulunan ve tüm hücre bileşenlerinin yeniden üretimi için gereken tüm kalıtsal bilgiyi içinde taşıyan maddedir. Bu bakımdan hücrenin helyografi olarak düşünülebilir (Tchobanoglous and Burton, 1991).

Bakterilerde DNA, temel olarak kromozom olarak adlandırılan tekil, uzun yuvarlak molekülde bulunur. Bakteriyal kromozom açıldığında hücrenin kendisinden yaklaşık bin kat daha uzun olabilir. Plasmidler denilen ve kromozomdan bağımsız bir şekilde kopyalanan daha küçük moleküllerde de bir miktar DNA bulunabilir. Bakteriyal plasmidler çoğunlukla bakterileri antibiyotiklere karşı dirençli yapan genler taşırlar (Davis et al., 1990).

Bu yöntem, aktif çamurda, santrifüjleme ve sodyum klorür ile yıkamadan sonra  $\text{HClO}_4$  ile DNA ekstraksiyonu yapılmasını ve difenilamin reaktifi ile yaklaşık bir günlük bir reaksiyondan sonra kolorimetrik ölçümle (595 nm; Liebeskind and Rohmann, 1994) DNA miktarının belirlenmesini içerir. Burada da deneylerden önce bilinen DNA miktarlarıyla kalibrasyon eğrisi çıkarılır.

Liebeskind and Rohmann (1994)'e göre aktif çamur mikroorganizmalarının ortalama besinsel koşulları değişebilse de ortalama genom büyüklüğü değişmeyebilir. Dolayısıyla DNA ile mevcut mikroorganizma sayısı arasında bir orantı faktörü

bulunabilir. Mikroorganizma genomları, bazı istisnalar olmakla birlikte yaklaşık 4 -  $5 \times 10^6$  temelçift (basepair) içerirler (örneğin E. Coli 4.35 bp). Aktif çamur saf bir kültürden ziyade yüz veya bin mikroorganizma türünün bir biyokoenosisini (biocoenosis) temsil eder, dolayısıyla 4.5 bp'lik bir ortalama genom büyüklüğü kabul edilebilir. Ölü mikroorganizmaların serbest DNA'ları da canlı biyokütle tarafından hızla parçalanır. Buradan, DNA verileri kullanılarak mevcut mikroorganizma sayısı kolaylıkla bulunabilir. Öte yandan mikroorganizma genomları intron içermediği için aktif çamurların ortalama aktivitesi ve DNA içeriği arasında da orantısal bir faktör bulunabilir.

Yine aynı kaynaktan bilinmeyen aktif çamur bileşenlerinden ve özellikle demirden fazlasıyla etkilenmesine rağmen DNA ölçümünün basit, hızlı ve tekrarlanabilir olması bakımından en iyi aktivite ölçme yöntemi olduğu belirtilmektedir.

### **Dehidrojenaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

Bu teknik florasan mikroskopisinin kullanımını ve dehidrojenaz enzimlerinin aktivitesini kapsar. Yöntem solunum yapan organizmaların elektron taşıma sisteminin 2- (*p*-iyodofenil)-5-fenil tetrazolyum klorürü (INT) INT-formazana indirilmesi ilkesine dayanır. Solunumun yoğunluğuna bağlı olarak bakteriler, optik olarak yoğun, koyu kırmızı hücre-içi lekeler şeklinde birikmiş INT-formazan içerirler ve bu lekeler ışık mikroskopisinde incelenebilir. Formazan tespiti, AOE (acridine orange epifluorescence) ile birleştirilerek bakterilerin kalıntılardan (detritus) ayırt edilmesine, ve solunum yapan ve yapmayan hücreler arasındaki farklılığın gözlenmesine olanak veren bir yöntem geliştirilmiştir.

Droste and Sanchez (1983)'te dehidrojenaz enzimleri aktivitesinin diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında iyi ve tutarlı sonuçlar vermediği belirtilmektedir. Bunun nedenlerinden birisi, flok dağıtma ve seyreltme işlemlerinin, besiyerde canlı hücre sayımında olduğu gibi, populasyon üzerinde şok etkiler yaptığı ve dolayısıyla test sırasındaki enzim aktivitesini de etkilediği şeklindedir. Başka bir neden de canlı hücre başına solunum hızlarının sabit olmaması ve düşük büyüme hızlarında daha da artması olarak ifade edilmiştir.

Bu yöntemlerin dışında daha farklı yollarla biyokütleyi ölçebileceği düşünülen parametreler ve bu parametrelere ilişkin ölçme yöntemleri de mevcuttur. Bunlardan en bilinenleri optik yoğunluk ve oksijen tüketimidir.

### **Optik Yoğunluk**

Spektrofotometrede doğrudan absorbans ölçümü yoluyla yapılır. Dalgaboyu Jensen et al. (1988)'de 450 nm, Kargı (1995)'te ise 600 nm olarak verilmiştir. Absorbans bir çevirme faktörü ile biyokütle cinsinden ifade edilir. Bu çevirme faktörü tartılmış ve kurutulmuş bakteri biyokütlesinin bilinen değerlerine göre elde edilen absorbans değerlerinden hesaplanır. (Örneğin, birim absorbansta 250 ng/ml, Jensen et al., 1988).

Seçici olmaması ve yoğun flok içeren arıtılmamış atıksularda kullanılamaması en büyük dezavantajlarıdır. Kullanım alanı saf ve büyüme kültürleri ile sınırlıdır.

### **Oksijen Tüketimi**

Aktif biyokütlenin organik atıkları metabolize ederken oksijen kullanmasından hareketle tüketilen oksijen miktarının ölçümünün aktif biyokütle için bir göstere olabileceği düşünülmüştür. Ölçüm basitçe numunenin içindeki çözülmüş oksijen derişiminin bir oksijen elektrodu yardımıyla ölçülmesine dayanır.

Droste and Sanchez(1983)'te özgül çözülmüş oksijen tüketimi hızının belli koşullar altında aktiviteyi gösterebileceği, ama bunun tüm koşullarda geçerli olmadığı savlanmıştır. Aerobik metabolizmada oksijene duyulan ihtiyaç, temel olarak, oksijenin elektron taşınımı zincirinde merkez (terminal) elektron alıcısı olmasıyla ilgilidir. Dolayısıyla tüketimi de ATP üretimi ile bağlantılıdır. Bakteriyal türler içinde ATP sentezi işleminin bileşenleri arasında bir birbirine benzerlik olmadığı ve bir bakterinin, substrat bileşimi ya da çözülmüş oksijen konsantrasyonu gibi ortam koşullarına bağlı olarak alternatif elektron taşınımı yolları kullanabileceği bilinmektedir. Bu bakımdan indirgenen oksijen atomu başına sentezlenen ATP molekülü sayısı karışık kültürlerde sabit değildir ve ortam koşullarına ya da baskın olan türlerdeki değişmelere bağlı

olarak önemli miktarda değişebilir. Bakteriler, oksidatif fosforilasyonun farklı biçimlerine sahip alternatif elektron taşınımı yolları ve ATP hidrolizi ile hücre sentezi ve solunum arasındaki bağı koparabilirler. Kaldı ki, solunum hızının da biyokütle göstergesi olamayacağı belirtilmiştir. Ve dahası, oksijen tüketim hızı, karışık sıvıdaki, yani hücrenin dışsal bir elemanındaki, çözülmüş oksijen konsantrasyonu ile yapılmaktadır ve dolayısıyla bu hız ölçümleri, ortamdaki engellemelere maruz kalır ve ayrıca oksijenin biyolojik flok içine girebilme etkinliğine bağlıdır. Tüm bunlar göz önüne alındığında oksijen tüketim hızı ile hücre sentezi arasında yakın bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır (Droste and Sanchez, 1983).

Son olarak Benefield (1982)'de, aktif biyokütle ölçümlerinde, MLVSS ölçümlerinin de, en az yukarıda sözü edilen karmaşık ve zor yöntemler kadar doğru ve tutarlı sonuçlar verdiği belirtilmektedir.

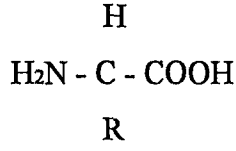
### 2.4.3 Proteinler

#### 2.4.3.1. Proteinlerin Yapısı

Proteinler hücrelerin % 40 - % 70'ini teşkil eden, aminoasitlerden oluşmuş makromoleküllerdir. Molekül ağırlıkları  $6 \times 10^3$ - $3 \times 10^5$  arasında değişir (Kargı, 1995).

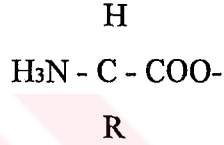
Proteinler karbon, hidrojen, oksijen, azot ve bazı durumlarda da kükürt içerirler. Bu elementlerin atomları *aminoasit* denilen moleküler altbirimler oluşturmak üzere sıralanırlar. Aminoasitlerin hepsi aynı karbon atomuna bağlı bir amino grubu ( $-NH_2$ ) ve bir karboksil grubu ( $-COOH$ ) içerirler, ancak "R" grupları adı verilen yan zincirleri farklıdır. Şekil 2.4'te tipik bir  $\alpha$ -aminoasit gösterilmektedir. Örneğin en basit aminoasit olan glisin R grubu ya da yan zincir olarak bir hidrojen atomuna sahip iken alanin bir metil ( $-CH_3$ ) grubuna sahiptir (Davis et al., 1990).





Şekil 2.4. Tipik bir a-aminoasidin yapısı (Kargı, 1995)

Aminositlerin -COOH grubu asidik, -NH<sub>2</sub> grubu da baziktir. Yüksek pH değerlerinde (pH>pKa) aminoasitler negatif yüklü, düşük pH değerlerinde (pH<pKa) pozitif yüklüdürler. Ortalama pH değerlerinde aminoasitler pozitif ve negatif gruplar içerirler ve “Zwitterion” adını alırlar (Şekil 2.5).



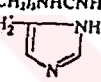
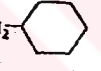

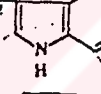
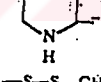
Şekil 2.5. Zwitterion (Kargı, 1995)

Bir aminoasidin yüksüz olduğu pH, izoelektrik noktası olarak bilinir. İzoelektrik noktası -R grubuna bağlı olarak değişir (Kargı, 1995).

Aminoasitler, bir molekülün karboksil grubunun başka bir molekülün amino azotuna bağlanması yoluyla kimyasal olarak birleşirler. İki aminoasidi bağlayan bu kovalent bağ *peptid bağı* olarak bilinir. İki aminoasit birleştiğinde bir *dipeptid* oluşur, aminoasitlerin daha uzun bir zinciri ise bir *polipeptid* oluşturur. Polipeptidler genellikle 50'den az aminoasit içerirler. Daha fazla aminoasit içeren zincirlere protein adı verilir. Bazı proteinler organik ve inorganik gruplar içerirler ve bunlara *prostetik grup* adı verilir. Prostetik grup içeren proteinlere *konjuge protein* denir. Hemoglobin bir konjuge proteindir.

Aminoasitler ribozomlar tarafından karmaşık bir işlem sonucu birbirlerine bağlanırlar, ancak bu işlem polisakkaritlerde olduğu gibi gelişigüzel bir şekilde değil, belirli bir diziliş sırasına göre yapılır. Biyolojik proteinlerde bulunan 20 tür aminoasit Şekil 2.6'da verilmektedir (Kargı, 1995).



R Grubu	İsim	Kısaltılmış İsim	Sınıf
-H	Glisin	GLY	Alifatik
-CH <sub>3</sub>	Alanin	ALA	
-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Valin	VAL	
-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Leusin	LEU	
-CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	İsöloisin	ILU	
-CH <sub>2</sub> OH	Serin	SER	-OH yada -S içeren
-CHOHCH <sub>3</sub>	Treonin	THR	
-CH <sub>2</sub> SH	Cystein	CYS	
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>	Metionin	MET	
-CH <sub>2</sub> COOH	Aspartik asit	ASP	Asit yada amid içeren
-CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	Asparagin	ASN	
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	Glutamik asit	GLU	
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	Glutamin	GLN	
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	Lisin	LYS	Bazik
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> NHCNHNH <sub>2</sub>	Arginin	ARG	
-CH <sub>2</sub> 	Histidin	HIS	Aromatik
-CH <sub>2</sub> 	Fenilalanin	PHE	
-CH <sub>2</sub> 	Tirosin	TYR	
-CH <sub>2</sub> 	Triptofan	TRP	
	Prolin	PRO	
-CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -	Sistin	-	Disulfid

Şekil 2.6. Protein oluşturan aminoasitler (Kargı, 1995)

Proteinlerin üç boyutlu yapısı dört seviyede incelenebilir. Birincil yapı, aminoasitlerin diziliş sırasındır. Her protein sadece belli bir aminoasit kompozisyonuna değil, aynı zamanda sırasına da sahiptir. Birincil yapı, lineer yapıdır ve üç boyutlu yapıyı belirler.

Proteinlerin ikincil yapısı, aminoasitler arasındaki (-COOH ve -NH<sub>2</sub> grupları) hidrojen bağları ile belirlenir. İki tür ikincil yapı vardır: a.Helis, b.Tabaka. Helis yapısı, a-helis

ya da üçlü helis olabilir. A-helis yapıdaki bir aminoasidin -COOH grubu ile dört ünite ötedeki aminoasidin -NH<sub>2</sub> grupları arasında hidrojen bağı oluşur. Üçlü helis yapıda (kollagen), üç helis halat gibi sarılarak sağlam bir yapı oluşturur. Tabaka yapısında, aminoasit zincirleri arasında hidrojen bağları oluşur. Tabaka yapı, a-helis yapıdan daha sağlamdır.

Üçüncül yapı ise, yan gruplar (R- grupları) arasındaki etkileşimden kaynaklanır. Aminoasit zincirinin katlanması ve bükülmesi üçüncül yapıyı teşkil eder. Yan gruplar arasındaki etkileşim kovalent, hidrojen ya da kükürt bağlarından oluşur.

Birden fazla polipeptid içeren proteinler dördüncül bir yapıya sahiptirler. Polipeptid zincirleri/ yumakları arasındaki etkileşim dördüncül yapıyı belirler. Alt üniteler arasındaki etkileşim çift kükürt bağları ya da van der Waals gibi zayıf bağlar olabilir (Kargı, 1995).

#### 2.4.3.2 Proteinlerin Türleri

Fiziksel yapı itibarıyla iki tür protein vardır: Fiber(lif) proteinler ve yumak (globular) proteinler. Fonksiyonları bakımından ise proteinler beş ana grupta toplanabilirler:

1. Yapısal Proteinler : Kollogen, keratin, glukoproteinler
2. Katalitik Proteinler : Enzimler
3. Taşıyım Proteinleri : Hemoglobün, serum albumin
4. Düzenleyici Proteinler : Hormonlar (insülin)
5. Koruyucu Proteinler : Antikorlar, trombin

#### 2.4.3.3 Bakteri Hücrelerinde Proteinler

Hücrelerdeki proteinler, hücrenin türüne ve ortamın koşullarına bağılı olarak tür ve miktar bakımından farklılaşsalar da, yapısal ve katalitik proteinler, tüm hücrelerde en büyük protein gruplarını oluştururlar.

Basit prokaryotlar olan bakterilerde yapısal proteinler genellikle hücre duvarı içinde ve etrafında bulunurlar. Sitoplazma membranı ile kapsül ihtiva eden mikroorganizmalardaki kapsül yapısı arasında bulunan ve bir takım tabakalardan oluşan hücre duvarı, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerde değişiklikler gösterir. Gram-pozitiflerde duvar başlıca *peptidoglikan* ve *teykoik asitlerden* oluştuğu halde gram-negatiflerin duvar yapısında *peptidoglikan*, *lipoprotein*, *dış membran* ve *lipopolisakkarid* tabakaları bulunur (Kılıçturgay, 1992).

Gram-pozitif bakterilerde proteinler hücre zarında moleküller halinde bulunurlar. Gram-negatif bakterilerde ise hücre duvarında daha fazla protein mevcuttur. Lipoprotein tabakası dış membran ile peptidoglikan tabakayı çapraz bağlarla bağlayan, değişik yapıdaki lipoprotein moleküllerinden oluşmuştur. 57 aminoasitten oluşan protein komponenti, peptidoglikon tabakada yer alan tetrapeptid yan zincirlerinin diaminopimelik asit kalıntılarıyla peptid bağları aracılığıyla bağlantı kurar. Gram-negatif bakterilerin protein içeriği en bol olan bileşeni lipoprotein tabakadır. Fonksiyonu dış membranı stabilize etmek ve peptidoglikan tabakayı bağlamaktır.

Dış membran ise iki tabakalı bir fosfolipid yapıdır. Sitoplazmik membranda olduğu gibi, dış membranda da, fosfolipid matrikse gömülmüş spesifik protein gruplarından oluşmuş bir sıvısal mozaik yapı söz konusudur. Dış membran, periplazmik proteinlerin dış ortama sızmasını önler. Bu membranda bulunan protein yapısındaki porlar, düşük mol ağırlıklı solütelerin geçmesine izin verdiği halde, büyük moleküller dış membrana nispeten yavaş penetre olurlar.

Dış membranın major proteinlerinin ilki matriks proteini adını alan ve dış membranın her iki yüzüne de penetre olmuş olan trimetrik proteinlerdir. Matriks proteinleri, küçük hidrofilik solütelerin membrana difüzyonunu sağlayan nispeten non-spesifik porlar oluştururlar. Por oluşumunda rolü olan ikinci grup proteinler ise daha fazla spesifite gösterirler. Üçüncü grup major proteinler ise por oluşumu ile ilgisi bulunmayan, fakat bu yapıyı peptidoglikan tabakaya bağlayan ve aynı zamanda seks pilusları aracılığı ile yapılan konjugasyonda rolü olan seks pilus reseptörleridir. Dış membranda bunlardan başka daha az miktarda bir seri protein daha bulunmaktadır.

Minör proteinler denen bu yapılar küçük moleküllerin geçişlerinde görevlidirler (Kılıçturgay, 1992).

Bir de dış membran yüzeyinden dışarıya doğru çıkan ve hücrenin dış ortamı ile, gerek başka hücrelerle, gerekse mesajcı moleküller ile iletişimini sağlayan glikoproteinler vardır. Bunlar hücre açısından, özellikle savunma (bağışıklık) sistemi bağlamında çok önemli görevler üstlenen proteinlerdir. Karbonhidratların bağlı olduğu bu proteinlerin bir kısmı membrana gömülü iken bir kısmı da membrana gömülü olmayıp hücre yüzeyine gevşek bir şekilde bağlıdır (çevresel proteinler). Bu proteinlerin tümü kendilerine bağlı karbonhidratlarla birlikte oldukça yoğun bir tabaka (glycocalix) meydana getirerek hücre için koruyucu bir örtü oluştururlar (Davis et al, 1990).

Bunun yanında peptidoglikan tabaka ile dış membran arasında bulunan periplazmik tabakada da çok sayıda protein ve enzim bulunmaktadır.

Gram-negatif bakterilerin anlatılan sağlam duvar yapısı, bu bakterileri, gram-pozitiflere nazaran, dış etkilere (antibiyotikler gibi) karşı daha dayanıklı kılmaktadır (Kılıçturgay, 1992).

Metabolizmanın temeli olan enzimler ise, bakterilerin yaşamla ilgili fonksiyonlarını, gerek onun genetik, gerekse içinde bulunulan ortam koşullarına göre yürütürler. Enzimler canlı hücreler tarafından oluşturulan, biyokimyasal reaksiyonları katalize eden, çok küçük miktarları ile etkili olabilen ve reaksiyon sonunda yapı ve miktarı değişmeyen organik moleküllerdir.

Protein yapısında olan her bir enzim, özgül bir biyokimyasal reaksiyonu katalize eder ve yalnız kendi substratı ile birleşir (enzim-substrat bileşiği). Bakteri metabolizması sırasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlar çoğunlukla birden fazla sayıda enzim tarafından katalize edilirler. Her enzim kimyasal reaksiyonun bir basamağında yer alır ve sonuçta reaksiyonun tamamı ortaya çıkar. O halde metabolizma olaylarında enzim sistemlerinden söz etmek gerekir. Ortamdaki besin maddelerinin parçalanıp hücre zarından geçebilecek hale gelmesi, enzim sistemlerinin çalışması sonucu gerçekleşmektedir.

Enzimlerin etkinliği çeşitli faktörlerle sağlanır:

1. Öncelikle enzimlerin oluşturulması genetik temele dayanır.
2. Her enzimin en etkin olduğu optimum sıcaklık derecesi vardır. Mikroorganizmaların üredikleri sıcaklık sınırı, enzimlerin etkinliği için önem taşır.
3. Ortamdaki hidrojen iyonları konsantrasyonu (pH) enzimatik reaksiyonlarda etkili bir faktördür.
4. Ortamın tuz konsantrasyonunun artması enzimatik reaksiyonlarda olumsuz etki gösterir.
5. Çeşitli kimyasal maddeler (ağır metaller, asitler, alkaliler, deterjanlar, antiseptikler, boyalar vb.) ile fiziksel ajanlar (ultraviyole ve X ışınları) enzimlerin yapısını bozarak etkinliklerini durdururlar.
6. Enzimlerin etkili oldukları substrat yoğunluğunun artması , etkinliklerini yavaşlatır.
7. Metabolik olaylar sırasında oluşan son ürünlerin ortamda birikmesi, enzimleri baskılamak suretiyle etkinliklerini engeller.
8. Metabolizma sırasında oluşan enerji, ATP halinde depolanır. ATP'nin fazla miktarda birikmesi sonucu, enerji kaynaklarının ekonomik olarak tüketimini sağlamak amacıyla, enzimlerin etkinliği yavaşlar. ATP'deki rezerv azalınca kadar enerji oluşumu baskılanır.
9. Bazı enzimler kendi substratlarına sterik benzerlik gösteren proteinlerin (allosterik proteinler) etkisiyle de inhibe edilirler.

Enzimatik etkinliğe bağlı olan bakteri metabolizmasında başlıca iki tip enzim görev almaktadır:

1- Ekzoenzimler: Bakterilerin buldukları ortamdaki besin maddelerinin çoğu hücre zarından geçebilecek kadar küçük ve uygun yapıda değildir. Ekzoenzimler, üreme ortamında bulunan bu kompleks bileşikleri hidrolize ederek, daha basit ve eriyebilen maddelere dönüştürürler. Böylece hücre içersine girebilecek hale gelen bu bileşikler, ya hücre içi, ya da hücre dışı yoğunluklarına bağlı olarak hücreye alınırlar veya permeaz adı verilen bir takım enzimlerin etkisiyle sitoplazmaya aktarılırlar.

2-Endoenzimler: Bazı hallerde hücre içine giren moleküller, oksidasyona elverişli olmazlar. Bunların, birtakım hazırlayıcı tipte, değişik reaksiyon basamaklarından geçmeleri, fosforile olmaları, ve böylece oksidasyona uygun hale getirilmeleri gerekir. Endoenzimler bu tip hücre içi metabolik olayları yürüten ve çoğunlukla sitoplazma zarı civarında veya sitoplazma içinde etkinlik gösteren yapılardır. (Kılıçturgay, 1992)

#### 2.4.3.4 Aktif Çamurdaki Protein İçeriği

Aktif çamurdaki protein içeriğini incelerken canlı hücrelerde bulunan proteinlerin yanında hücre dışı (extracellular) polimerlerdeki proteinlerden de bahsetmek gerekir. Bu polimerler birbirleri aralarında fiziksel ve elektrostatik bağlar meydana getirerek üç boyutlu bir çamur floku matrisi oluştururlar. Bu polimerler, gerek bakteriler, gerekse çamurun fiziksel özellikleri açısından önem taşırlar.

Aktif çamur, bir polimer matrisi içinde bazı organik ve inorganik maddelerle birlikte bir ağ gibi örülmüş canlı ve ölü mikroorganizmaların yumaklaşmış (floklaşmış) bir süspansiyonudur. Hücre dışı (extracellular) polimerler bu flokun içinde canlı mikrobiyal topluluk için koruyucu bir bariyer görevi görürler ve floka bütünlüğünü ve katılığını verirler. Ayrıca, mikrobiyal hücrelerin bir aktif çamur sisteminde floklaşmaları da bu hücre dışı polimer malzemesinin varlığı tarafından belirlenir.

Çamur floğu matrisi yapı ve bileşim itibarıyla oldukça karmaşıktır. Polimer matrisinin temel bileşenlerinden biri bakteriyal polisakkaritlerdir. Bunların yanında matriste hücrelerin parçalanmalarının sonucu olarak ortaya çıkan proteinler ve nükleik asitler de bulunur. Bu bileşenlerin de farklı fiziksel ve kimyasal özellikleri vardır. Bileşenlerinin kimyasal yapısı ve konumuna göre polimerler değişen sağlamlıklarda bağlar oluşturabilirler. Hücre dışı polimerlerde minimum enerji ile birbirine bağlanmış, oldukça gevşek bağlı polimerler olduğu gibi (slime tabaka), daha çok bağ olasılığı sunan, lipidler ve proteinler gibi su sevmez (hidrofobik) polimerler de mevcuttur. Su sevmez polimerler ile hücre yüzeylerinin su sevmez bölümleri hidrofobik bağlar yapmak yoluyla sıkı bir şekilde bağlanabilirler. Dahası, flokun iç taraflarında bakterileri sıkıca saran polisakkaritler mevcuttur. Bunlar da kapsüller (capsular) tabakayı

oluşturur. Hücre dışı polimerler flokun, hücreler ve sudan sonraki üçüncü en büyük bileşenidir (Sanin and Vesilind, 1994).

Hücre dışı polimerlerin protein içeriği konusunda farklı görüşler mevcuttur. Bunun başlıca nedeni hücre dışı polimerlerin kimyasal bileşimine ilişkin olarak yapılan analizlerin ve elde edilen sonuçların, kullanılan ekstraksiyon yöntemlerine, bu yöntemlerin canlı hücrelere zarar verip vermediğine, ekstraksiyon sıcaklıklarına, pH'a ve benzeri faktörlere sıkı sıkıya bağlı olmasıdır. Özellikle ekstraksiyon işlemlerine hücrelerin parçalanması sonucunda hücre içi maddeler de ortama yayılmakta ve bu da hücre dışı polimer miktarına ilişkin yanlış ve yanıltıcı sonuçlar vermektedir. Daha çok aktif çamur yüzeylerinin fiziksel özelliklerini ve bunun çökme karakteristikleri ile ilişkisini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan analizlerde hücre dışı polimerlerin ekstraksiyonuna ilişkin birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde başlıca sorun, slime tabakanın kolaylıkla sıyrılabilmesine karşın kapsüler tabakanın, canlı hücrelere zarar vermeksizin sıyrılamamasıdır. Hücrelere sıkıca bağlı olan bu polimer tabakasını canlı hücreden tamamen ayırmak, özellikle karmaşık kültürler söz konusu olduğunda neredeyse imkansızdır. Dolayısıyla bu yöntemler, ancak yumak halindeki üç boyutlu bir yapı olan flokun sadece dış yüzeyindeki gevşek bağlı polimerleri koparabilmekte, ısı ya da kimyasal yollarla floğun dağıtılmasına ve iç kısımda bulunan polimerlerin ortaya çıkarılmasına çalışıldığında, bu, hücrelere zarar vermeksizin gerçekleştirilememektedir.

Hücre dışı polimerlerin ekstraksiyonu için geliştirilen yöntemlerin en çok kullanılanlarını kısaca incelersek;

### **Fiziksel Yöntemler**

1- Santrifüjleme: Atıksu numunelerinin değişik hızlarda değişik süreler için santrifüjlenmesini içerir. Santrifüjleme düşük hızda olabileceği gibi (örneğin 900 G), yüksek hızda da (örneğin 33.000 G) yapılabilir. Daha sonra üst sıvıda hücre dışı polimer analizi yapılır. Bu konuda yapılan çalışmalarda santrifüjlemenin gevşek bağlı slime tabakayı kopardığı, ancak kapsüler tabakayı gideremediği ortaya çıkmıştır (Sanin, 1994). Bunun nedeni olarak flokların çoğunun maksimum hıza, dolayısıyla da



santrifüj kuvvetine ulaşılmadan çökmesi gösterilmiştir (Brown and Lester, 1980). Bu bakımdan santrifüjleme ekstraksiyon işlemlerinde genellikle asıl işlemde önce bir ön işlem olarak uygulanır.

2- Ultrasonikasyon: Numunelerin bir ultrasonik banyoda tutularak flokların dağıtılmasını ve ardından hücreleri gidermek üzere santrifüjlenmesini içerir. Etkili bir yöntem değildir (Brown and Lester, 1980).

3- Isıtma, Kaynatma, ya da Otoklavlama: Çeşitli derecelerde gerçekleştirilen ısı işlemlerdir. Bu işlemlerin amacı ısı yoluyla flokların dağıtılmasıdır. Isıtma ve kaynatma işlemleri genellikle bir kimyasal işlemle birlikte gerçekleştirilir (bir çözücüyle ısıtma, asit veya alkali ile, ya da benzen ile kaynatma gibi). Bu konuda yapılan deneyler, bu tür ısı işlemlerde hücrelerin zarar görebildiği ve deneylerin yanıltıcı sonuçlar verdiğini göstermiştir (Gehr and Henry.,1983). Otoklavlama da aynı sonucu vermektedir (Brown ve Lester, 1980).

4- Buhar Uygulama: Kaynatma ve otoklavlamamanın ters etkilerini azaltmak amacıyla geliştirilmiştir. Hücrelere daha az zarar verdiği düşünülmektedir (Brown and Lester, 1980).

5- Karıştırma: Numunelerin, bir karıştırıcı yardımıyla yüksek hızda karıştırılmasını içerir. Karıştırmanın bir miktar kapsüller maddeyi giderebildiği öne sürülmektedir. Daha çok giderim için karıştırma sayısı artırıldığında ise bu işlemde zarar gören hücre sayısının giderek artmasına yol açmaktadır (Gehr and Henry, 1983).

### **Kimyasal Yöntemler**

Kimyasal yöntemler genel olarak çamura belli kimyasal maddelerin katılmasını ve çalkalama ya da ısıtma gibi işlemlerle hücre dışı polimerlerin açığa çıkarılmaya çalışılmasını kapsar. Bu kimyasallar genel olarak şunlardır:

1- Sodyum Hidroksit (NaOH): Çok güçlü bir alkali olarak sodyum hidroksitin hücreler üzerinde çok şiddetli etkileri vardır. Bu bakımdan 0.1 M gibi derişimlerde ve



oda sıcaklığında dahi yoğun hücre parçalanmasına yol açmaktadır (Brown and Lester, 1980). Bunun yanında büyük miktarlardaki organik bileşikleri (proteinler dahil) çözebildiği için hücre içi ve dışı polimerleri kapsayan toplam bir değer elde etmek için en kullanışlı kimyasaldır (Lerch et al., 1993).

2- Etilendiamintetraasetik asit (EDTA): EDTA da % 2'lik çözeltilerinde dahi canlı hücrelerin parçalanmasına yol açan bir maddedir. Bu nedenle NaOH gibi toplam değerler elde etmek için kullanılabilir (Lerch et al., 1993).

3- Su: Çöktürülmüş ya da kurutulmuş çamurların su ile uzun süreli olarak (16 saat gibi) çalkalanmasını içerir. Uzun ekstraksiyon zamanına karşılık az miktarda hücre dışı polimer ekstre edebilmektedir (Lerch et al., 1993).

4-Deterjan: Proteinlerin izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla yaygın olarak kullanılır. Amfoterik yapısı su sevmez membran proteinlerini, suda çözünebilen proteinleri, ve doğallığı bozulmuş proteinleri çözebilmesine olanak sağlar. Hücre dışı proteinlerin ekstraksiyonu için önerilebilir (Lerch et al., 1993).

Bunların yanında ekstraksiyon için amonyum hidroksit, sülfürik asit, trikloroasetik asit (Brown, 1980), potasyum fosfat dibazik (Gehr and Henry, 1983), Ringer çözeltisi (Goodwin and Forster, 1985) vb. kullanılabilir.

Ekstraksiyon deneylerinde çoğunlukla birden çok yöntem, ardarda veya birleşik olarak kullanılır. Ancak bugüne kadar yapılan tüm çalışmalara rağmen hücre dışı polimerlerin ekstraksiyonuna ilişkin standart bir yöntem geliştirilememiştir. Bu bakımdan bu polimerlerin kimyasal yapısı hakkında çelişkili görüşler mevcut olmaktadır.

Sanin and Vesilind (1994)'te hücre dışı polimerlerin temel maddelerinden biri olarak polisakkaritler gösterilmiştir. Brown and Lester (1980)'de hücre dışı polimerlerin temel olarak polisakkarit yapıda oldukları, ancak bakterilerin parçalanmalarından (autolysis) gelen protein ve nükleik asitlerin de matrisin yapısında buldukları belirtilmiştir. Buna ilaveten aktif çamur bakterilerinin çoğunun gram negatif olduğu hücre duvarlarının karmaşık ve geçirgen olmayan yapısı yüzünden gram negatiflerde

hücre dışı protein üretiminin çok seyrek olduğu da ifade edilmiştir. Ancak, yapılan deneyler sonucu aktif çamur floklarından çıkan protein miktarının tüm ekstraksiyon yöntemlerinde şeker konsantrasyonunun yaklaşık üç katı olduğu da yine aynı kaynaktan söylenmekte ve bunun nedeni olarak da ekstraksiyon sırasında canlı hücrelerin parçalanması ve proteinlerinin açığa çıkması gösterilmektedir.

Goodwin and Forster (1985)'te ise çamur yüzeylerine ilişkin özet olarak, başlıca polimer bileşenlerinin protein, karbonhidrat ve lipidler olduğu; polisakaritlerin hem nötral, hem de asidik şekerlerden oluştuğu; ve yüzeyin kimyasal yapısının yüzeyin toplam yükünü ve dolayısıyla çamurun çökme karakterini etkilediği belirtildikten sonra yüzey polimerlerinin yapısı konusunda bunlardan başka fazla bir şey söylenemeyeceği öne sürülmektedir. Yapılan deneylerde ise proteinin hücre dışı polimer çözeltisinin temel bileşeni olduğu, ancak konsantrasyonunun önemli miktarlarda değişebildiği ortaya çıkmıştır. Bazı yazarlar bu durumu, kullanılan ısı ekstraksiyon yöntemleri sonucu bakteri hücrelerinin parçalanmaya uğramaları ile açıklarken (Brown and Lester, 1980; Novak and Haugan, 1981; Gehr and Henry, 1983); Goodwin and Forster. (1985), bunun yanında bakteriyel hücrelerin doğal parçalanmaları sonucu oluşan proteinlerin de çamur yüzeylerinde bulunabileceği ve dolayısıyla hücre dışı polimerlerdeki protein varlığının normal olduğunu söylemektedirler. Yazarlar son olarak da, hücre dışı polimerlerin temel bileşeninin bir glikoprotein olabileceğini belirtmişlerdir (Goodwin and Forster, 1985). Kerley and Forster (1995)'de da hücre dışı polimerlerin en önemli maddesinin basit bir glikoprotein olduğunu söylemektedirler.

Hücre dışı polimerlerin ekstraksiyonu amacıyla yapılan deneylerde, bu polimerlerdeki protein içeriğine ilişkin olarak geniş bir aralığa yayılan birçok sonuç elde edilmiştir. Bunun nedeninin, çamurdaki protein içeriğinin ortam koşullarına ve çamur özelliklerine göre değişebilmesi olduğu söylenebilirse de, kullanılan ekstraksiyon yönteminin elde edilen sonuçları önemli miktarda etkilediği de açıktır.

Brown and Lester(1980)'de, yaklaşık 8.2 g/l'lik askıda katı maddeye sahip bir atıksu çamurunda, hücre dışı polimerlerin ekstraksiyonu amacıyla deneyler yapılmış ve bu deneylerde çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu polimerlerdeki protein

içeriği hakkında, yöntemine göre ve mg protein/g askıda katı madde ile mg protein/litre aktif çamur cinsinden; yüksek hızdaki santrifüjleme ile 4.9 mg/g (40.2 mg/l), ultrasonikasyon ile 2.1 mg/g (17.2 mg/l), ikisinin bileşimi ile 3.2 mg/g (26.2 mg/l), buhar uygulaması ile 77.1 mg/g (632.2 mg/l), sodyum hidroksit ile 530.3 mg/g (4348.5 mg/l) ve EDTA ile de 120.2 mg/g (985.6 mg/l) sonuçları elde edilmiştir.

Goodwin ve Forster(1985)'te, düşük hızda santrifüjleme ve ardından seyreltik Ringer çözeltisiyle ısıtma işlemi tabii tutma sonucu elde edilen hücre dışı polimerlerde, protein içeriğine ilişkin olarak mg protein/litre aktif çamur cinsinden 490 mg/l ile 2760 mg/l arasında değişen değerler verilmiş ve bunun ekstraksiyon sıcaklığıyla yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Lerch et al.(1993)'te ise, su, deterjan ve sodyum hidroksit ekstrantaları ile yapılan deneylerde, protein içeriği için g protein/kg kuru madde cinsinden sırasıyla 14 g/kg, 36 g/kg ve 173 g/kg ortalama değerleri verilmektedir.

Bu değerler, aktif çamur içindeki canlı hücrelerin protein içeriğinden ziyade, floklardaki hücre dışı polimerlerin miktarını belirlemek amacıyla yapılan deneylerde ve bu amaca yönelik olarak geliştirilen yöntemler kullanılarak elde edilmişlerdir. Dolayısıyla aktif çamur içindeki toplam proteini göstermemektedirler. Ancak özellikle ekstraktant olarak sodyum hidroksitin kullanıldığı deneylerde elde edilen ve diğer yöntemlere göre oldukça büyük değerler içeren sonuçlar, bu bazın son derece güçlü olan çözücü etkisinin yoğun hücre parçalanmasına yol açtığını, bunun sonucu olarak çok miktarda hücre içi malzemenin açığa çıkıp sonuçlara etki ettiğini, ve dolayısıyla da bu değerlerin hücre dışı malzemedan ziyade bir toplamı ya da toplama yakın bir değeri ifade ettiğini göstermektedir.

Aktif çamurdaki toplam protein içeriği hakkında yapılan araştırmalar, yukarıda belirtilen nedenlerden ötürü genellikle baz (çoğunlukla NaOH) ekstraksiyonu ile yapılmaktadır. Bu konuda elde edilen sonuçlar da geniş bir aralık sunmaktadır. Özellikle anaerobik çamurlarda yapılan çalışmalarda, g protein/kg kuru madde bazında 98 g/kg ile 561 g/kg, ya da yüzde olarak verilirse % 9.8 ile % 56.1 arasında değişen birçok değer mevcuttur (Lerch et al., 1993).

#### 2.4.4 Bir Biyokütle Parametresi Olarak Protein

Bilindiği gibi, bir aktif biyokütle indikatöründe aranan özellikler, bu indikatörün belli sabit bir oranda tüm bakterilerde bulunması ve farklı ortamlarda aktivite ile uyumlu bir şekilde yön değiştirebilmesidir (Jensen et al., 1988). Bu bakımdan proteinin aktif biyokütleyi gösteren bir parametre olarak kullanılmasında karşılaşılan sorunlar da ikiye ayrılabilir. Bunlardan ilki, biyokütlenin diğer çamur bileşenlerinden ayrılması ile ilişkilidir. Yukarıda da açıklandığı gibi, flok matrisinde canlı hücreler ile proteinleri de kapsayan hücre dışı polimerleri birbirinden ayıracak ve dolayısıyla sadece canlı hücrelerdeki protein içeriğinin ölçülmesine olanak verecek bir yöntem henüz geliştirilememiştir ve dahası bunun imkansız olduğu görüşü mevcuttur (Gehr and Henry, 1985; Sanin and Vesilind, 1994). Kaldı ki, bu gerçekleşse dahi, bununla ilişkili olarak, başka bir sorunla daha karşılaşılacaktır. Bu da hücre dışı polimerlerdeki protein miktarının ne kadarının hücre tarafından çeşitli işlevleri yürütmek amacıyla üretilmiş ve hücre yüzeyine gevşek bağlı çevresel (glikoproteinler), ne kadarının da hücre ile ilişkisi olmayan, substrattan gelmiş ya da ölmüş hücrelerin parçalanması sonucu ortaya çıkmış proteinler olduğunu belirlemenin çok zor olmasıdır.

Yapılan araştırmalar, hücre dışı polimerlerdeki proteinlerin temelde glikoproteinler olduğuna işaret etmektedir (Goodwin and Forster, 1985; Kerley and Forster 1995). Buna ilaveten Brown and Lester(1980)'de, aktif çamur bakterilerinin çoğunun gram negatif olduğu ve hücre duvarlarının karmaşık ve geçirgen olmayan yapısı yüzünden gram negatiflerde hücre dışı protein üretiminin çok seyrek olduğu da ifade edilmiştir. Bunlara, aktif çamur sisteminde kullanılan mikroorganizmaların çoğunun toprak bakterileri olduğu (Reynolds, 1982), bu bakterilerin serbest proteinleri kolayca parçalayıp substrat olarak kullanabildiği ve bazılarının doğrudan proteolitik bakteriler olduğu (Lerch et al., 1993) bilgileri de eklenmelidir. Tüm bu bilgilerin ışığında, flok içerisinde bulunan toplam protein miktarının büyük bir kısmının canlı hücre faaliyeti sonucu üretildiğini söylemek olası hale gelmektedir.

İkinci sorun ise, hücrelerdeki protein miktarının bakteri türlerine ve ortam koşullarına göre değişkenlik gösterebilmesidir. Yukarıda verilen birbirinden oldukça farklı

değerler bu yargıyı doğrulamaktadır. Ancak, hepsi de birbirinden farklı koşullarda çalışmakta olan farklı sistemlerden elde edilen sonuçları karşılaştırmak yerine, tek bir sistem ele alınıp, bu sistemdeki protein içeriği izlenirse, sonuçların belli bir kararlılık göstermesi beklenebilir. Nitekim, Lerch et al. (1993)'te farklı yerlerden alınan çamur örneklerinde protein miktarları birbirlerine nazaran önemli derecede değişse de, aynı yerden alınan örneklerde bu durum gözlenmemektedir.

Bu bilgiler, proteinin bir aktif biyokütle göstergesi olabileceğine işaret etmektedir. Kargı (1995)'te de protein izlenmesi yoluyla biyokütle artışının gözlenebileceği belirtilmektedir. Protein değerlerinin biyokütle cinsinden ifade edilmesi, yani protein/biyokütle miktarının belirlenmesi de önemli bir sorun teşkil eder. Bu, her sistem için ayrı ve kapsamlı çalışmalar yapılarak elde edilebilir. Ancak, Kargı (1995)'te ifade edilen proteinlerin hücrelerin % 40 - % 70'ini oluşturdukları bilgisinden hareketle % 55 gibi ortalama bir değer verilebilir.

#### 2.4.5. Aktif Çamurda Protein Ölçümü Yöntemleri

Aktif çamurda protein ölçümü yöntemleri daha çok, hayvan ve bitki hücrelerinde protein ölçülmesine yönelik olarak geliştirilen yöntemlerin atıksulara modifiye edilmeleri sonucu ortaya çıkmışlardır. Bunların yanında proteinde bulunan maddelerin (özellikle de azotun) ölçülmesi ve bunların protein cinsinden ifade edilmesine dayanan yöntemler de mevcuttur. Lowry yöntemi ilk, organik azot ile amino asit ve  $\alpha$ -amino azotu ölçümleri ise ikinci tür yöntemlerin örnekleridir.

#### **Lowry Yöntemi**

Lowry yöntemi, proteinlerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlenmesini kapsar. Folin ve Ciocalteu'nun 1927'de geliştirdikleri "fenol reaktifi", temelde fosfotungstik-fosfomolibdik bir asit çözeltisidir ve fenoller (ve başka pekçok madde) tarafından "molibden mavisi"ne indirgenir. Bu da kolorimetrik olarak gözlenebilir. Proteinler de fenol reaktifini indirgediği için, protein belirlenimi için de kullanılabilir. Ancak ortaya çıkan renk miktarı farklı proteinlere göre büyük oranda değişmektedir, zira bu

renk neredeyse tamamen proteinlerin tirozin ve triptofan içeriğine bağlı olup, diğer amino asitlerin küçük bir etkisi söz konusudur.

1941'de Herriot, proteinlere alkali ve iz miktarda bir bakır tuzuyla ön-uygulama yapılmasının, Folin reaktifi ile elde edilen rengi büyük miktarda artırdığını buldu. Bakır tuzları, serbest tirozin ve triptofanın renk verme özelliklerini (chromogenicity) artırmazlar, etkileri daha ziyade diğer amino asitlerle kompleksler yapabilmeleri sonucudur. Folin yönteminin bu şekilde geliştirilmesi (modifikasyonu) hassaslığı artırmakla kalmaz, değişik proteinlerin birbirinden çok farklı renk verme özelliklerini de azaltır. Bu bakımdan birçok araştırmacı tarafından benimsenmiştir. Lowry (1951)'de bu yöntemi geliştirilerek birkaç ayrıntıyla birlikte tüm mikroorganizmalara uygun hale getirilmiştir.

Lowry yönteminde çözünebilir proteinlere Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmeden önce NaOH-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-CuSO<sub>4</sub>-tartrat reaktifi uygulanırken, çözünmez proteinler önce NaOH içinde çözülür, sonra da Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-CuSO<sub>4</sub>-tartrat reaktifi uygulanır. İkinci yöntem kullanılırken, örneklerin NaOH içinde 100 °C'ye ısıtılmalarının hücrenin tüm proteinlerini çözebileceği belirtilmektedir. Ayrıca kolorimetrik olarak okunan değerlerin protein değerlerine çevirilebilmesi için standart protein (örneğin bovine serum albumin) miktarlarıyla, bunlara karşılık gelen absorbanslar kullanılarak bir standart eğri çıkarılır.

Lowry yöntemi, yapılması basit ve otomatik analize adapte edilmesi kolay bir yöntemdir. Ancak, görece daha az tekrarlanabilir, zira pekçok müdahaleye maruz kalır; geniş bir çeşitlilikte pekçok madde, örneğin, glukoz, aromatik aminler, üre, ürik asit, doygun olmayan alifatik bileşikler, sülfidler, sülfür asit, hidrojen peroksit, demir iyonları, vb. , hepsi Folin reaktifini indirger. Lowry, kesin sonuçlar veren bir yöntem olarak düşünülmemelidir, zira Tablo 2.4'te de görüldüğü gibi farklı proteinlerle farklı renk değerleri verir. Bu yöntemin en büyük avantajı, hassaslığıdır ve 10 µg'a kadar inen protein miktarlarının ölçülmesine olanak verir (Lowry et al., 1951).



Tablo 2.4. Farklı Proteinler İçin Folin-Ciocalteu Reaktifi ile Elde Edilen Renk Değerleri (Lowry, 1951)

Protein	ε-750 değerleri <sup>a</sup>		
	Bakır Uygulaması Olmadan <sup>b</sup>	Alkali Bakır Uygulaması <sup>c</sup>	Bakır İnkrementi ile
Tripsin	910	3,600	2,690
İnsülin	998	3,000	2,002
Kimotripsin	425	2,930	2,505
Sitokrom <i>c</i>	738	2,495	1,757
İnsan serumu	365	2,120	1,755
Bovine Serum Albumin	358	2,050	1,692
Jelatin	78	1,145	1,067
Tirosin	13,850	15,100	1,250

<sup>a</sup> Litrede 1 g protein-N atomu ile 750 nm'deki absorbans

<sup>b</sup> Folin reaktifi eklenmeden önce alkali uygulanıp bakır uygulanmayan

<sup>c</sup> Metinde anlatıldığı gibi folin reaktifi eklenmeden önce alkali ve bakır uygulanan

### Organik Azot Ölçümü

Atıksudaki organik azotun ölçülüp bu değer 6.25 ile çarpılmasıyla toplam proteinin ölçülmesi işlemidir. Bu işlem proteinlerin ortalama % 16'sının azottan oluştuğu kabulüne dayanır. Atıksudaki toplam azot, organik azot, amonyak, nitrit ve nitrat kısımlarından oluşur. Organik azot kısmı, genellikle polipeptid ve amino asit atıklarından kaynaklanır ve Kjeldahl yöntemi ile ölçülür. Sulu numune, önce amonyağı uçurmak amacıyla kaynatılır, daha sonra da organik azot, Kjeldahl yöntemiyle (derişik sülfürik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ve potasyum sülfat (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ile 340 °C'de kaynatma) organik bileşikteki azot amonyağa dönüştürülür. Daha sonra da amonyak azotu tayin yöntemlerinden birisi yardımıyla organik azot ölçülür (Şengül, 1995).

Ancak Lerch et al.(1993)'te, organik azot/protein oranı için verilen 6.25'lik değer atıksu çamurlarında geçerli olmadığı belirtilmektedir. Onun yerine Hattingh et al.,

anaerobik çamurlarda protein/organik azot oranı için 3.9 değerini vermektedir. Dahası, Sommers et al. ve Ryan et al., çamurlarda amino asitler, amino şekerler ve başka tanımlanmamış formlarda organik azotun bulunduğunu göstermişlerdir (Lerch et al., 1993).

### **Hidrolizden Sonra Amino Asitlerin ve $\alpha$ -Amino Azotunun Ölçümü**

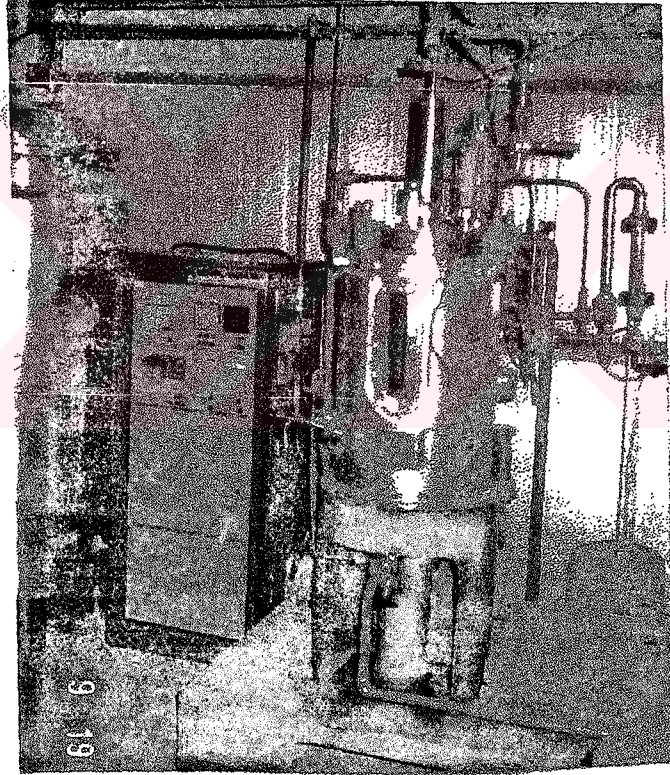
Bu yöntemde hidrolize edilen proteinlerden ortaya çıkan amino asitler bakır kompleksleri aracılığıyla, ya da  $\alpha$ -amino veya karboksil gruplarının belirlenmesiyle ölçülürler. Bunlar protein belirlenmesi açısından en kesin ve spesifik yöntemlerdir. Ancak sıkça kullanılmazlar, zira çok fazla zaman gerektirirler. Ölçülen değerler, belirli çevirme faktörleriyle protein olarak ifade edilirler. Kullanım alanları daha çok, serbest amino asit ölçümü ve bu amino asitlerin karakterizasyonu ile ilgilidir.



### 3.MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Reaktörün Tanıtılması

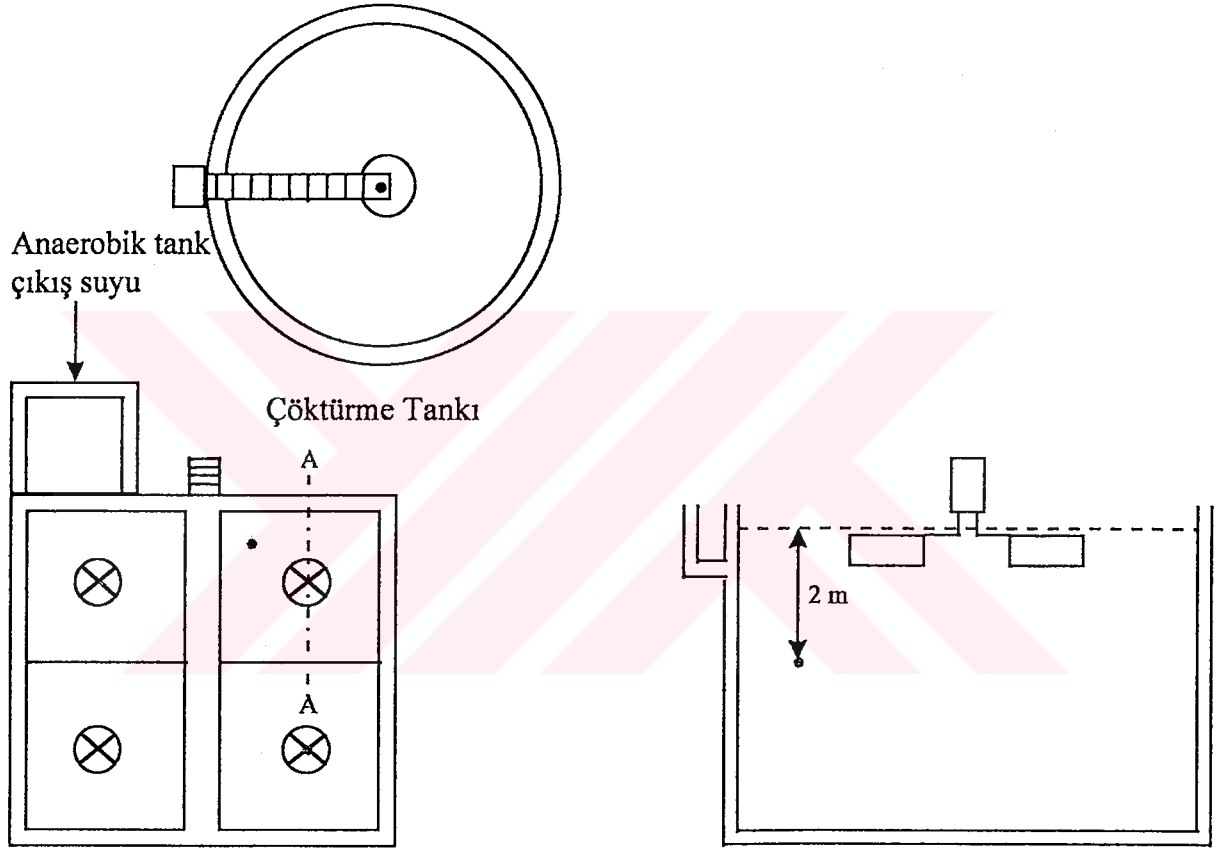
Deneyler PAKMAYA Çevre Laboratuvarı'nda 100 l'lik BIOENGINEERING Marka reaktörde yapıldı. Reaktör, paslanmaz çelikten yapılmış olup çözünmüş oksijen, pH, sıcaklık ölçme ve havalandırma ekipmanının yanısıra sabit sıcaklık ve pH değerlerinde yapılacak deneyler için sıcaklık ve pH kontrolü tertibatı da mevcuttur. Reaktör alttan yataklanmış 3 adet rushton tipi türbinle karıştırılmaktadır (0 - 750 rpm aralığında). Hava reaktöre dipten delikli bir hava dağıtım borusu yardımı ile verilmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneyde kullanılan reaktör.

Sıcaklık, buhar ve soğuk su kullanılarak deneyler süresince aerobik bakterilerin biyolojik faaliyeti için optimum sıcaklık olarak seçilen 26 °C'de tutuldu. Zira aktif çamur işleminde kullanılan bakterilerin çoğu saykrofil ve mezofildirler. (Reynolds, 1982)

Atıksu örnekleri PAKMAYA Endüstriyel Aerobik Arıtma Tesisi'nin havalandırma havuzlarından alındı. Tesiste örnek alınan yerin şematik gösterimi Şekil 3.2'de verilmiştir.



“•” Numune alınan yer

a) Plan

b) A-A kesit

Aerobik havalandırma havuzları

Şekil 3.2. Atıksu örneklerinin alındığı yerin şematik gösterimi.

Reaktöre atıksu örnekleri konulmadan önce çözünmüş oksijen ve pH kalibrasyonları yapılmaktadır. Çözünmüş oksijen reaktöre bağlı bir pO<sub>2</sub> elektrodu ile ölçülmektedir. Çözünmüş oksijenin kısmi basıncını % olarak gösteren transmitterin kalibrasyonunda önce elektrod transmitterden çıkarılarak sıfır değerine ayarlanmaktadır (elektriksel oksijen kalibrasyonu). Reaktöre musluk suyu konularak ve sıcaklık kontrolü yardımıyla çalışılacak sıcaklığa getirilerek (26 °C) yaklaşık iki saat havalandırıldıktan sonra suyun artık çözünmüş oksijen bakımından doygunluğa eriştiği kabul edilerek gösterge % 100'e ayarlanmaktadır. Daha sonra deney süresince değerler % olarak okunup 760 mm Hg, 26 °C'de sudaki çözünmüş oksijen konsantrasyonu olan 8.09 mg/l (Metcalf, 1986) ile çarpıldı. Bakteriler için kritik oksijen değeri doygunluk değerinin % 5-10'u arasında olacağı için (Kargı, 1995) bu değerlere yaklaşıldığında herhangi bir oksijen sınırlamasına meydan vermemek için karıştırma hızı artırıldı.

pH ise standart çözelti kullanılarak iki noktada (pH 4 ve 7) kalibre edildi. Deney süresince zaman zaman alınan örneklerin pH'ı pH-metrede ölçülerek kontrol edildi.

### 3.2 Diğer Deneyler

#### 3.2.1. Kuru Madde (KM) ve Uçucu Kuru Madde (UKM) Ölçümleri

Alınan örneklerden KM için 10 ml, UKM için de 30 ml, hassas terazide daraları alınmış seramik kaplara konarak 105 °C'de 24 saat kurutuldu. Etüvde sabit tartıma getirildikten sonra yeniden yapılan tartımlardan KM değerleri elde edildi. UKM değerleri ise, örnekler tartıldıktan sonra 550 °C'de 2 saat yakılıp yeniden tartılarak elde edildi. Kurutma ve yakma işlemlerinde Heraeus Marka etüvler kullanıldı.

#### 3.2.2. Oksijen Transfer Hızı (OTR) ve Karbondioksit Üretim Hızı (CPR) Ölçümleri

Reaktörden çıkan hava Maihak Finor Marka hacimsel O<sub>2</sub>- ve CO<sub>2</sub>-ölçere bağlandı. Burada okunan değerler (% O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>) bilgisayara aktarılarak aşağıdaki formüller kullanılarak OTR ve CPR hesaplandı (Yonsel, 1995).

$$\text{OTR (kg/m}^3\text{.h)} = \frac{[\text{F(m}^3\text{/h)} / \text{V}_L\text{(l)}] \times 32 \times [21 \times (100 - \text{CO}_2) - \text{O}_2 \times (100 - 0.033)]}{[22.4116 \times 10^{-3} \times (100 - \text{O}_2 - \text{CO}_2) \times 100]} \quad (3.1)$$

$$\text{CPR (kg/m}^3\text{.h)} = \frac{[\text{F(m}^3\text{/h)} / \text{V}_L\text{(l)}] \times 44 \times [\text{CO}_2 \times (100 - 21) - 0.033 \times (100 - \text{O}_2)]}{[22.4116 \times 10^{-3} \times (100 - \text{O}_2 - \text{CO}_2) \times 100]} \quad (3.2)$$

Burada F : Reaktöre verilen hava miktarı (m<sup>3</sup>/h),  
 V<sub>L</sub> : Reaktör hacmi (l),  
 O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> : Çıkan gazdaki hacimsel O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> yüzdeleri, (%).

### 3.2.3. Toplam Organik Karbon (TOC) ve İnorganik Karbon (IC) Ölçümleri

TOC ve IC ölçümleri Ionics 1555B Marka karbon analiz cihazı ile yapıldı. İki reaksiyon bölgesi olan cihazın birinci bölgesinde bakır oksit katalizörü kullanılmaktadır. 850 °C'de sabit tutulan bu bölmede örnek içindeki organik ve inorganik tüm karbon miktarı yakılarak karbondioksit çevirilmektedir. İkinci bölmede ise fosforik asit içinde cam boncuklar bulunmakta ve bölme 150 °C'de tutulmaktadır. Bu bölmede de, fosforik asit varlığında örnek içindeki inorganik karbonlar yakılmaktadır. Bu iki ölçümün farkı, örnek içindeki organik karbonu vermektedir.

Karbon analiz cihazı, kullanılmadan önce her seferinde kalibre edilmektedir. Toplam karbon kalibrasyonu için potasyum asit fitalat (KHP), inorganik karbon kalibrasyonu için de sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) kullanılmaktadır. Bunun yanında taşıyıcı gaz olarak kullanılan azot akış hızı da yine her gün kalibre edilmektedir.

Reaktörden alınan örnekler 4000 rpm'de santrifüjlendikten sonra üst sıvıda TOC ve IC analizleri yapıldı. Cihazın ölçüm aralığı olan 0-2000 mg/l'nin üzerindeki örneklerde gerekli seyreltmeler yapıldı.

### 3.2.4 Amonyak (NH<sub>3</sub>) ve Amonyum (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) Ölçümleri

NH<sub>3</sub> ve NH<sub>4</sub> ölçümleri Orion Research EA 920 Marka iyon analiz cihazı ile ölçüldü. Cihaz, bir alaktrod yardımıyla çözelti içindeki çözünmüş gazları ölçmektedir. Çözünmüş gaz, her elektrod için spesifik olan küçük bir miktardaki tampon çözeltinin içinde bulunan membran üzerinden yayılmakta ve tampon ile gazın reaksiyonunun neden olduğu pH değişikliği içsel bir cam pH elektrodu tarafından algılanmaktadır.

İyon analiz cihazının standartları amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl) ile hazırlanmaktadır. Örnek içindeki amonyumu amonyağa çevirmek için 10 M NaOH kullanılmaktadır. Okunan değer bir amonyum + amonyak toplamını ifade etmektedir. Bu iki değer arasındaki ilişki aşağıdaki formül aracılığıyla verilmiştir:

$$C(\text{NH}_3\text{-N}) = \frac{C(\text{NH}_4\text{-N}) \times 10^{\text{pH}}}{K_a} \quad (3.3)$$

Burada

$$K_a = \exp \left( \frac{6344}{273 + T} \right) \quad (3.4)$$

C(NH<sub>4</sub>-N) : Amonyum azotu derişimi (mg/l),

C(NH<sub>3</sub>-N) : Amonyak azotu (mg/l)

T : Sıcaklık (°C).

Reaktörden alınan örneklerde gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra içine elektrod batırıldı ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak üzerine NaOH damlatıldı. Toplam değer okunduktan sonra (3.3) ve (3.4) denklemleriyle derişimler ayrı ayrı hesaplandı.

### 3.2.5 Protein Ölçümleri

Protein ölçümlerinde basitliği, hızlılığı ve hassaslığı göz önünde bulundurularak, atıksulara göre modifiye edilmiş Lowry yöntemi kullanıldı. Yöntem hakkında bilgiler Bölüm 2.3.6'da verilmiştir.

#### 3.2.5.1 Deneyin Yapılışı

Deneyde üç adet çözelti kullanılmaktadır:

- 1) 1 M NaOH ( 1.0 l)
- 2) Folin çözeltisi (1:2 seyreltik, 0.1 l)
- 3) "C" çözeltisi (1.0 l)

"C" çözeltisi: 10 ml Na-K-Tartarat (20 g/l) ve 10 ml CuSO<sub>4</sub> (bakır sülfat) (10 g/l) çözeltileri Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (20 g/l) içine toplam 1 l olacak şekilde konulurlar.

İlk iki çözelti stok olarak hazırlanıp kullanılabilir, ancak Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi taze olarak hazırlanır. 1 l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden pipetle 20 ml çekilerek diğer ikisinden 10'ar ml konur. "C" çözeltisi bu şekilde her ölçümden önce taze olarak hazırlanır.

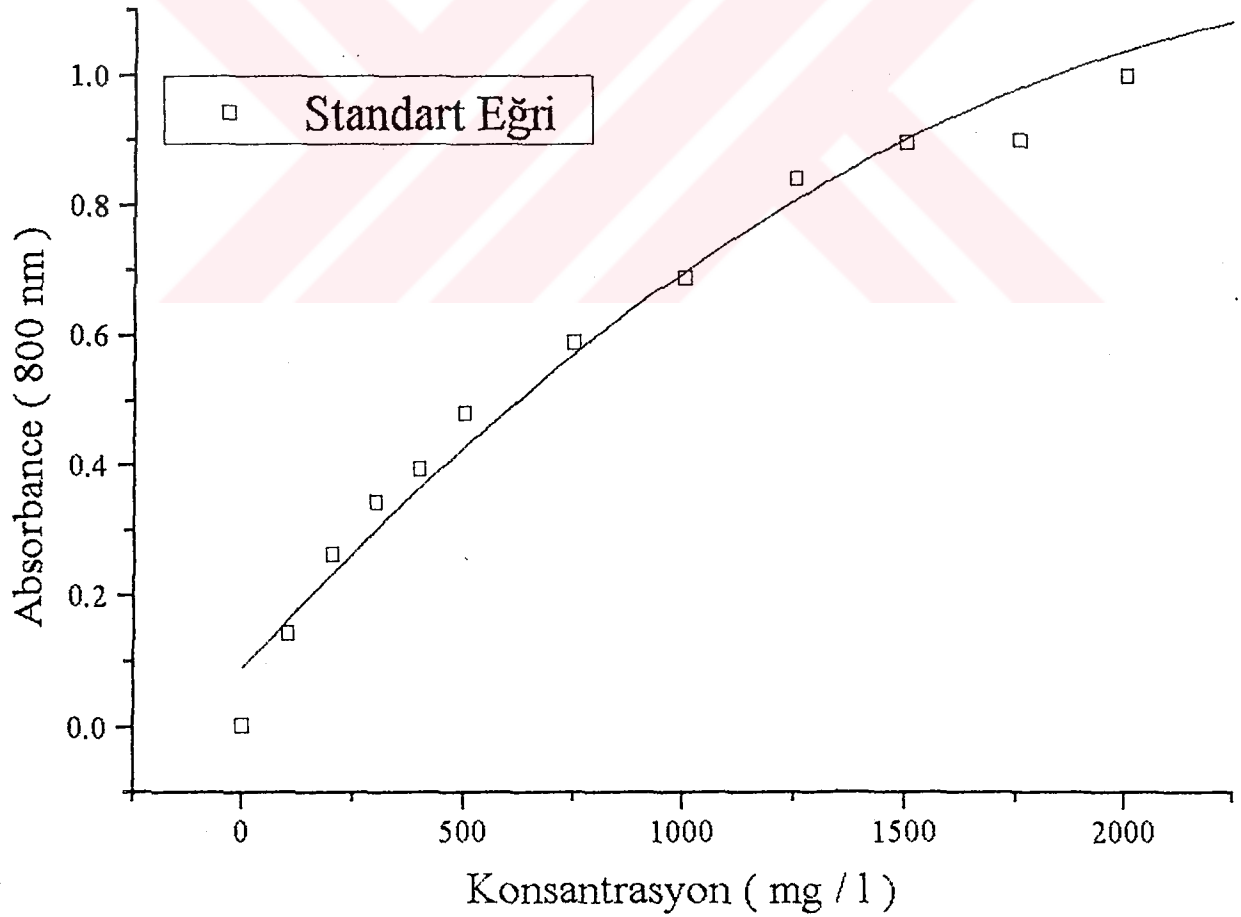
Protein ölçümü yapılacak örneğin seyreltik olması istenir, zira içine atılacak NaOH'in tüm proteinlere ulaşması gerekir. Seyreltilmiş örnekten 6 ml alınarak bir tüpe konur. Üzerine 1 M NaOH'ten 5 ml eklenir. Örnekler, bu şekilde soğutucuda saklanabilir.

Daha sonra örnek 90 °C'de 25 dakika su banyosunda tutulur. Ardından 3000 rpm'de 4 dakika santrifüjlenir. Üst sıvıdan 1 ml alınarak 5 ml "C" çözeltisinin içine konur. 10 dakika karanlıkta bekletilir. Ardından 1:2 seyreltilmiş Folin çözeltisinden 0.5 ml üzerine eklenir ve 30 dakika daha karanlıkta bekletilir. Son olarak 800 nm'de absorbans okunur. Her ölçümde örnek yerine saf su kullanılarak bir şahit hazırlanır. Örneğin absorbans değerinden şahitte okunan değer çıkarılı ve standart eğri yardımıyla konsantrasyon olarak ifade edilir

### 3.2.5.2 Standart Eğrinin Çıkarılması

Standart eğrinin çıkarılmasında bovine serum albumin (BSA) kullanıldı. BSA, 66,000 daltonluk moleküler ağırlığıyla ortalama büyüklükteki bir proteindir ve protein ölçümlerinde standart eğrinin çıkarılması için yaygın olarak kullanılır. (Lerch, 1993)

0.108 g BSA 20 ml destile su içinde çözüldü. Kullanılan BSA, % 95 katı madde, % 5 de su içermektedir. Katı maddenin % 97'si proteindir. Böylelikle 5 g/l'lik bir BSA çözeltisi hazırlanmış oldu. Bu çözeltiden 100, 200, 250, 500, 1000, 1500, 2000, ve 2500 mg/l'lik protein çözeltileri hazırlandı ve bu derişimler için standart eğri çıkarıldı. Çıkarılan standart eğri Şekil 3.3'te görülmektedir.



Şekil 3.3.Lowry yöntemi için standart eğri (0 -2500 mg/l arası)



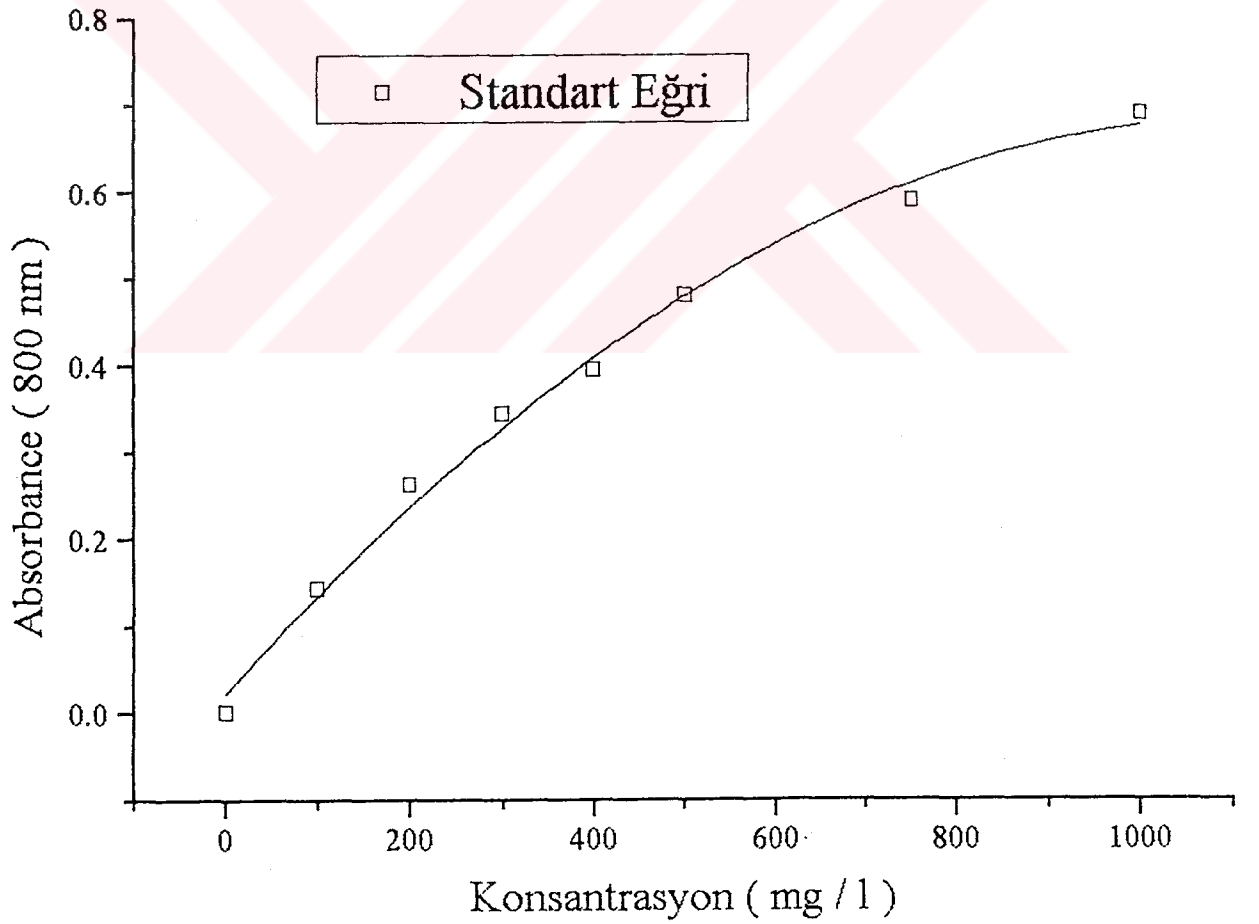
Çizilen eğrinin ikinci derece polinom olarak ifadesi şu şekildedir:

$$C = 3.49901 + 347.41116 (A) + 1570.05863 (A)^2 \quad (3.5)$$

Burada C : Protein derişimi (BSA eşdeğeri olarak) (mg/l),

A : Absorbans (Örnek - Şahit) (nm).

Eğride  $r = 0.99549$  ve  $\sigma = 83.17532$  mg/l'dir. Sapma yüksek bulunduğu için aynı değerlerle bu kez 0 ile 1000 mg/l aralığı için ikinci bir standart eğri çizildi. Bu eğri de Şekil 3.4'de görülmektedir.



Şekil 3.4 Lowry yöntemi için standart eğri (0 - 1000 mg/l arası)



Bu eğrini denklemi de şu şekildedir:

$$C = 9.65868 + 294.60028 (A) + 1650.17723 (A)^2 \quad (3.6)$$

Bu eğri için  $r = 0.99894$  ve  $\sigma = 18.3615$  mg/l' dir.

Yapılan deneylerde 0 - 1000 mg/ l aralığında çalışıldı. Reaktörden alınan atıksu örnekleri saf su ile 1:4 oranında seyreltildi. Ölçümler Perkin Elmer Lambda 3B Marka UV VIS spektrofotometrede yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri çoğunlukla 0.300 - 0.500 nm aralığında bulundular.

### 3.2.6. Kullanılan Substratın Özellikleri

Deneylerde, maya endüstrisinin ham atıksuyu kullanıldı. Şeker endüstrisinin bir yan ürünü olan melas, maya endüstrinde de hammade olarak kullanılmaktadır. Maya üretiminde melas, maya besini olarak reaktörlere verilmektedir. Mayalar, melas içindeki organik maddeleri (özellikle de şekeri) kullanmakta, melas içinde mayalar tarafından kullanılmayan organik maddeler de atıksu olarak dışarıya verilmektedir. Bu atıksu, önce anaerobik, sonra da aerobik arıtma işlemlerinde arıtılmaktadır.

Ham atıksu, PAKMAYA laboratuvarlarında sürekli olarak analiz edilmektedir. Yapılan şeker analizlerinde mayanın,  $C_{18}H_{32}O_{16}.5H_2O$  formülüyle gösterilen rafinozu enzimler aracılığıyla  $C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O$  olarak verilen mellibiyoz ve  $C_6H_{12}O_6$  formülüyle gösterilen fruktoza parçaladığı, fruktozu kullandığı ancak mellibiyozu kullanmadığı belirlenmiştir. Mellibiyoz aerobik arıtma tesislerindeki bakterilerce kullanılabilir. Mellibiyoz parçalandığında ortaya glukoz ( $C_6H_{12}O_6$ ) ve galaktoz ( $C_6H_{12}O_6$ ) çıkmaktadır. Bu maddelerin Lowry yöntemini etkiledikleri daha önce de belirtilmişti. Bu ham atıksuda ayrıca buna ek olarak başka yüksek organik maddeler olduğu (örneğin renk verici melanoidin) da bilinmektedir (Dağaşan ve diğ., 1996).

## BÖLÜM 4. DENEYLER

### 4.1. Kesikli Reaktör Deneleri

#### 4.1.1. Birinci Deney

##### 4.1.1.1 Deneyin Yapılışı

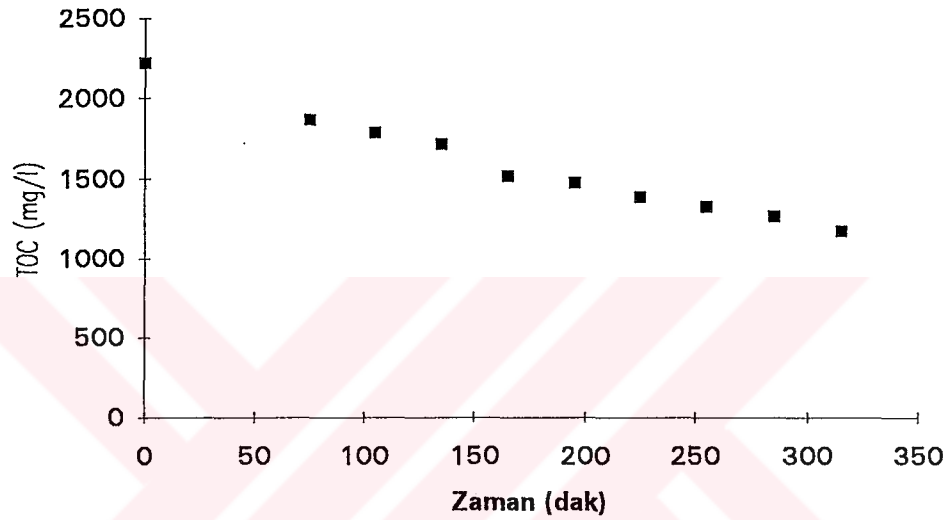
PAKMAYA Biyolojik Arıtma Tesisi aktif çamur havuzundan 30 l örnek alındı. Musluk suyu ile 60 l'ye seyreltilerek 100 l'lik reaktöre konuldu. Sıcaklık 26 °C'de sabit tutuldu ve 9 l/dak'lık bir hava debisi sağlandı. Karıştırma hızı 3 rps'da sabit tutuldu. Reaktöre besin olarak 10 l ham atıksu (toplam organik karbon içeriği (TOC = 14,800 mg/l, IC = 180 mg/l, kuru maddesi (KM)=52.2 g/l, protein içeriği=12.2 g/l) konuldu ve reaktör yaklaşık 6 saat boyunca izlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Kesikli Reaktör Deneyi Sonuçları

Zaman (dak)	TOC (mg/l)	KM (g/l)	UKM (g/l)	Protein (g/l)	pH	OTR (kg/m <sup>3</sup> .h)	CPR (kg/m <sup>3</sup> .h)
0	2220	17,1	7,82	4,29	8,17	0,07	0,06
75	1860	15,8	7,46	4,15	8,14	0,07	0,06
105	1780			4,29	8,12	0,07	0,07
135	1710	15,6	7,45	4,34	8,11	0,07	0,07
165	1510			4,22	8,12	0,06	0,07
195	1470			4,65	8,11	0,06	0,07
225	1380	15,4	7,35	4,74	8,10	0,06	0,06
255	1320			4,12	8,11	0,05	0,06
285	1260	15,3	7,42	4,96	8,10	0,04	0,06
315	1170	15,2	7,38	5,1	8,08	0,04	0,06

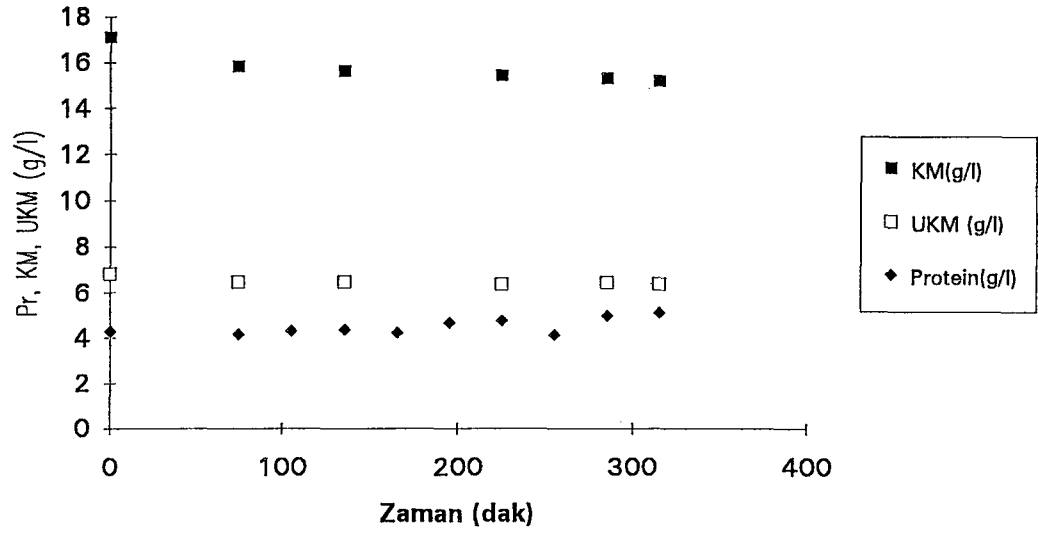
#### 4.1.1.2 Aktif Biyokütle Parametreleri

Deneyleerde protein, kuru madde, uçucu kuru madde ve oksijen transfer hızı parametreleri, bir aktif biyokütle göstergesi olarak alınabilecek substrat tüketim hızıyla (Kargı, 1995) karşılaştırıldı. TOC olarak ölçülen substrat derişiminin zamanla değişimi Şekil 4.1'de görölmektedir.



Şekil 4.1 Kesikli deney I'de zamana göre TOC değişimi

Aynı sürede elde edilen protein, KM ve UKM değeri de Şekil 4.2'de grafiklenmiştir.



Şekil 4.2 Kesikli deney I' de zamana göre protein, KM ve UKM' de gözlenen değişimler

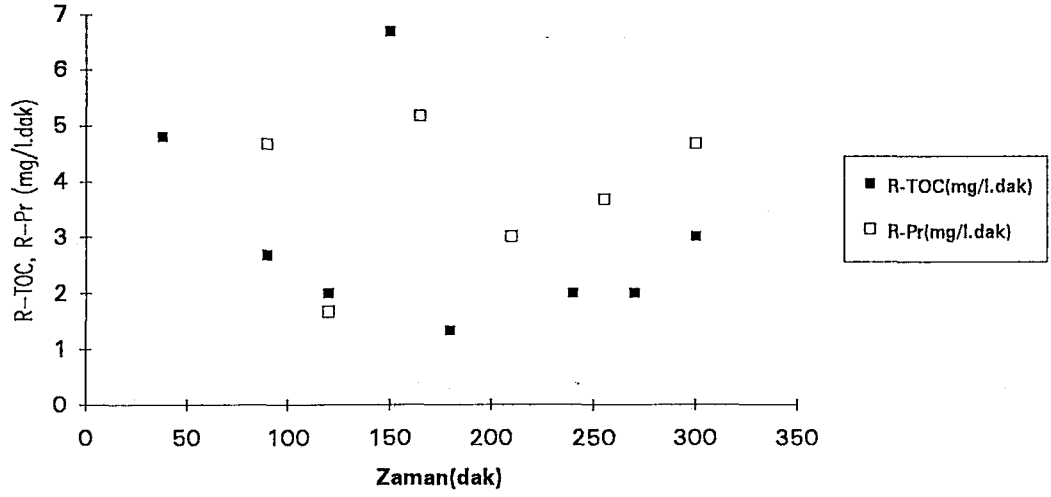
Şekil 4.1'den hızlı bir substrat tüketiminin gözleendiği ilk 75 dakikadan sonra tüketim hızının yavaşladığı (75.-135. dakikalar arası), ancak bundan sonra yeniden hızlanıp yavaşlayarak ikinci bir evreye girdiği görülmektedir. Substrat olarak kullanılan ham atıksu, kaynaklandığı prosesin özelliklerinden ve yüksek TOC ve KM içeriğinden de tahmin edilebileceği gibi oldukça karmaşık ve bakterilerce parçalanması zor organik maddeler içermektedir. Şekilde görülen basamak biçimindeki TOC tüketiminin bir açıklaması, ilk iki saat içinde bakteriler tarafından kolayca parçalanabilen atıkların tüketildiği, bu süre içinde tüketilmeyen, ancak enzimatik hidroliz işlemleri sonucu parçalanmış besinlerin bu süreden sonra tüketilmeye başlandığı şeklinde olabilir. Bu tür karmaşık besinlerin birbirinden farklı olabilen hidrolize olma ve bakterilerce kullanılmaya uygun bir hale gelme süreleri daha sonraki aşamalarda gözlenen hafif dalgalanmaları açıklamaktadır. Örneğin, bu tür besinlerden biri olarak protein değerlerinde 75. ve 165. dakikada gözlenen düşme, hidrolize olma ve tüketilme sonucu meydana gelmiş olabilir. Özellikle 135.-165. dakikalar arasında hızlı bir substrat tüketimine karşılık protein değerlerinin azalması bu görüşü güçlendirmektedir.

KM ve UKM ise giderek azalan bir eğilim göstermektedirler. Bunun nedeni, yoğun KM derişimine sahip substratın giderek bakteriler tarafından tüketilmesidir. Kullanılan substratın bir kısmının hücre sentezinde, bir kısmının da solunumda harcandığı düşünülürse, bu değerlerde görülen azalmanın bir süre sonra sentezlenen biyokütle miktarındaki artış tarafından dengelenmesi ve ardından da bu artışın substrattaki azalmaya baskın gelmesi beklenebilir. Nitekim KM de giderek yavaşlayan bir azalma göstermektedir. UKM ise 225. dakikadan sonra sabit kalma eğilimine girmiştir.

Protein ise deney süresi içinde gözlenebilir bir artış göstermiştir. Ancak, substrat diğer organik maddelerin yanısıra yoğun miktarda (12.2 g/l) protein de içermektedir. Bu proteinler hidrolize olduktan sonra bakteriler tarafından besin olarak kullanılırlar. Bu durumda substrat beslendikten bir süre sonra, protein tüketimi ve üretiminin, yukarıda anlatıldığı şekilde, birbirini dengeleyeceği, dolayısıyla protein artışının yavaşlayacağı ya da duracağı beklenebilir. Deneyde ilk dakikalarda görülen sabit kalma eğilimi buna işaret etmektedir. 135.-165. dakikalar arasında gözlenen protein azalması ve buna eşlik eden TOC tüketimindeki ivmelenme, bu bakımdan anlamlıdır.

Bu parametreler arasındaki oranlar incelenirse, KM içindeki proteinin süreç içinde % 25'ten % 34'e; KM içindeki UKM'nin % 46'dan % 49' a ve UKM içindeki proteinin de % 55'ten % 69'a çıktığı gözlenebilir. Bu veriler, KM ve UKM içindeki canlı biyokütlenin giderek arttığı ve bunun da protein artışı ile görülebileceği şeklinde yorumlanabilir, ancak UKM'nin protein içeriği, hücrelerin % 40-% 70 arasında protein içerdiği ve ölçülen örneklerde biyokütle dışında UKM olarak görünecek birçok maddenin varlığı göz önüne alındığında biraz yüksek gözükmektedir. Gerek atıksu örneğinde, gerekse kullanılan substratta bulunduğu düşünülen bu karmaşık organiklerin, protein ölçümlerinde kullanılan Lowry yöntemini etkileyeceği ve protein değerlerinin olduğundan daha yüksek çıkmasına neden olabileceği sözü edilen durumun bir açıklaması olabilir. Bir başka açıklama ise, protein ölçümlerinde yapılan yoğun seyreltmelerin bu tür yüksek değerlere yol açmış olabileceğidir.

Süreç içinde gözlenen substrat tüketim ve protein üretim hızları ise Şekil 4.3'te görülmektedir. En baştaki ile 165. ve 270. dakikalardaki protein değerleri ihmal edilmiştir.



\* En baştaki ile 165. ve 270. dakikalardaki protein değerleri ihmal edilmiştir.

Şekil 4.3. Kesikli deney I'de substrat tüketimi (R-TOC) ve protein üretimi (R-Pr) hızlarının zamanla değişimi

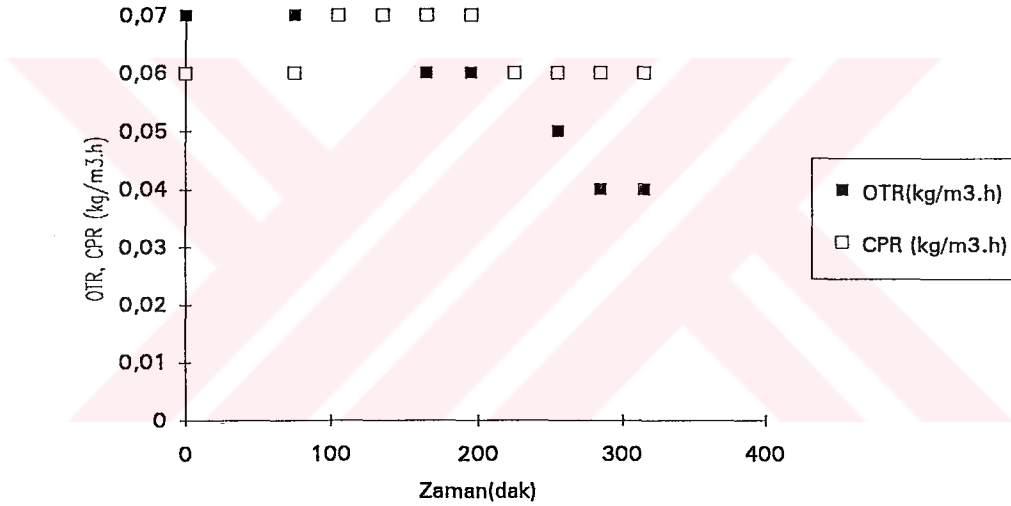
Şekil 4.3'ten, R-TOC ile R-Pr'nin iyi sayılabilecek bir korelasyon içinde olduğu görülebilir. Ancak bu uyum, konumuz açısından yanıltıcıdır. Aksi halde, proteinlerin ortalama % 50 civarında karbon içerdiği düşünülürse (Lowry'nin ölçtüğü başlıca amino asitler olan tirosinde % 60, triptofanda % 65), son 1-1.5 saatte gözlenen yüksek protein üretimi (ortalama 3.7 mg/l.dak) ve buna nazaran düşük TOC tüketimi (ortalama 2.5 mg/l.dak) hızlarından, harcanan toplam organik karbonun neredeyse tamamının (örneğin  $2.5 \text{ g C}/0.6 = 4.2 \text{ g tirosin}$ ) protein üretimine gittiği sonucu çıkar ki, bu, tartışmaya son derece açık bir sonuçtur.

Burada, bakterilerin, kendilerini tamamıyla beslenme rejimine uydurdukları göz önünde bulundurulmalıdır. Dolayısıyla farklı besleme düzeneklerinde farklı sonuçlar beklenmelidir. Yapılan kesikli deneyde en fazla TOC tüketimi deneyin ilk evrelerinde görülmektedir, ancak bu tüketimin biyokütlede bir artış meydana getirip getirmediği bilinmemektedir. Yine de, havalandırma havuzundan alınıp yaklaşık yarım saatlik bir sürede laboratuvara getirilip reaktöre konulan ve farklı bir besinle karşı karşıya bırakılan bakterilerin belli bir alışma evresi geçirmeden hemen hücre sentezlemeye başlayacakları pek mümkün gözükmemektedir. Bu süre içinde elde edilen protein

değerleri ise, substratın yoğun protein içeriği nedeniyle sağlıklı bir şekilde değerlendirilemezler. Bu konu, ileride daha ayrıntılı bir şekilde tartışılacaktır.

Üzerinde durulması gereken bir başka konu da, TOC tüketiminde deneyin sonlarına doğru görülen hızlanmadır. Bunun nedeni, daha önce de belirtildiği üzere, tüketilmesi zor besinlerin parçalanarak tüketilmeye hazır hale gelmeleri olarak düşünülebilir. Aynı evreye denk gelen protein artışı da bu görüşü desteklemektedir.

Aynı süre içinde gözlenen oksijen transferi (OTR) ve karbon dioksit üretimi (CPR) hızları da Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4 Kesikli deney I'de OTR ve CPR değerlerinin zamanla değişimi

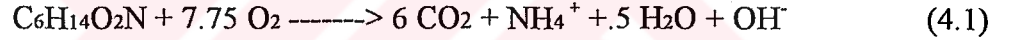
Şekil 4.4'te oksijen transfer hızının beklendiği gibi, giderek ivmelenen bir hızla azaldığı görülmektedir. Sürecin başlangıcında kolay tüketilen organik maddelerin giderimi söz konusudur, geriye kalan besinlerin tüketilmesi zorlaştıkça oksijen tüketim hızı da azalmaya başlamıştır. Ancak bunun TOC tüketimiyle uyum içinde olduğunu söylemek zordur, zira TOC tüketiminde son 1 saatte gözlenen hızlanma oksijen transferinde görünmemektedir. Solunum sonucu ortaya çıkmakta olan karbon dioksit üretimi ise deneyin ortalarında az bir yükselme göstermişse de genelde sabit kalma eğilimindedir. Oksijen transferinin bir aktif biyokütle göstergesi olarak kullanılmasıyla

ilgili sorunlardan daha önce söz edilmişti. Bakteriler, ortam koşullarına göre farklı solunum biçimlerini kullanabilmektedirler.

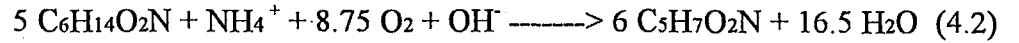
#### 4.1.1.3. Ürün Değerleri

Ürün değerleri, tüketilen substrat ve oksijen ile üretilen protein miktarları arasındaki karşılıklı ilişkileri, spesifik ürün değerleri ise, bu ilişkilerin ortamda bulunan biyokütleyle ilişkilendirilmesini ifade ederler. Substrat, oksijen ve biyokütle (burada protein/0.55 olarak alınacaktır) arasındaki ilişkilerin temeli bakterilerce gerçekleştirilen hücre sentezi ve solunum süreçleridir. Reynolds (1982)'de atıksuyun organik kısmını, yani substratı temsil etmek üzere  $C_6H_{14}O_2N$ , üretilen aktif çamuru da temsil etmek üzere  $C_5H_7O_2N$  bileşimleri alınarak aşağıdaki ampirik solunum ve sentez denklemleri elde edilmiştir:

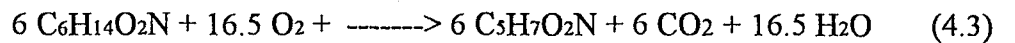
Solunum denklemi:



Sentez denklemi:



Toplam:



Bu denklemlere göre ve üretilen biyokütlenin % 55'inin protein olduğu göz önünde bulundurularak, aerobik arıtmaya ilişkin aşağıdaki teorik ürün değerleri elde edilebilir:

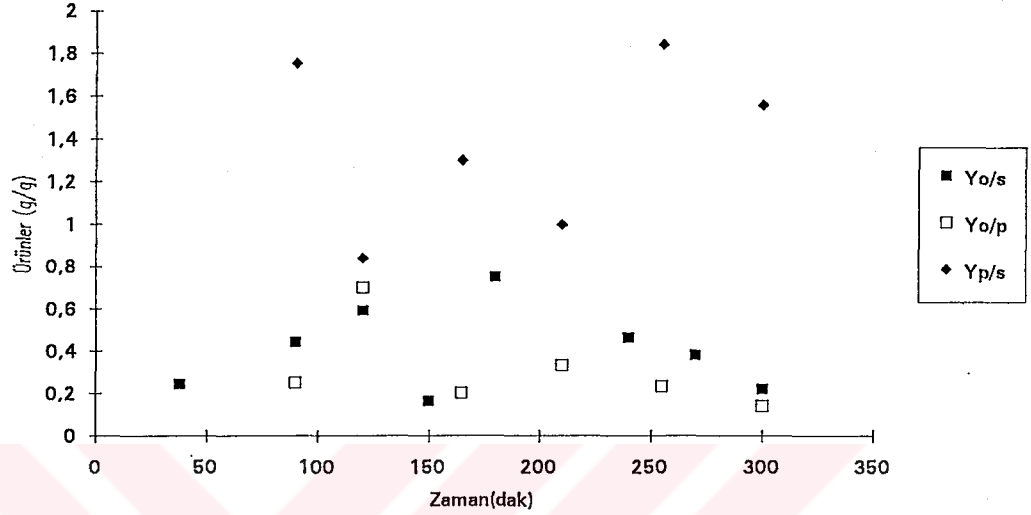
$Y_{o/s} = 1.2$  g tüketilen oksijen / g tüketilen organik karbon,

$Y_{p/s} = 0.86$  g üretilen protein / g tüketilen organik karbon, ve



$Y_{o/p} = 1.4$  g tüketilen oksijen / g üretilen protein.

Deneyde elde edilen ürün değerleri Şekil 4.5'te verilmiştir.

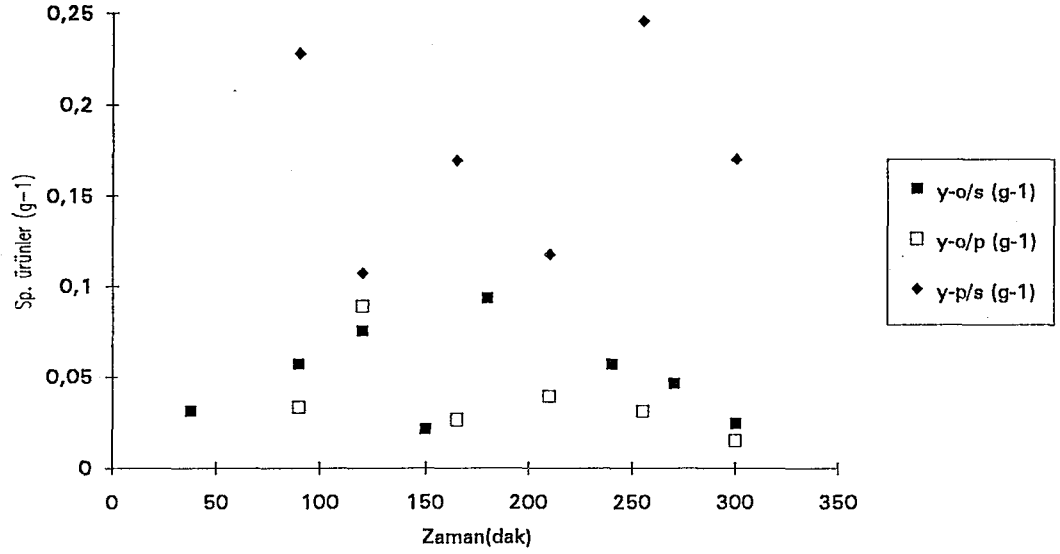


\* En baştaki ile 165. ve 270. dakikalardaki protein değerleri ihmal edilmiştir.

Şekil 4.5. Kesikli deney I'de ürün değerlerinin zamanla değişimi

Burada elde edilen ortalama ürün değerlerine bakılacak olursa,  $Y_{o/s}$  (0.4),  $Y_{o/p}$  (0.39) ve  $Y_{p/s}$  (0.77) değerlerinden sadece  $Y_{p/s}$  değeri teorik olarak verilen değere yaklaşılmaktadır. Diğer ikisi teorik değerlerden oldukça uzaktadırlar. Bu da bakterilerin çok az oksijen kullanarak hücre sentezi yaptıklarını göstermektedir. Aynı karşılaştırma R (solunum katsayısı, = OTR/CPR) açısından yapılırsa, teorik 2 değerine karşılık deneysel 0,92 değeri mevcuttur.

Ürün değerlerinin biyokütleyle bölünmesiyle elde edilen spesifik ürün değerlerinin zamanla değişimi de Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6 Kesikli deney I’de spesifik ürün değerlerinin zamanla değişimi

$Y_{o/s}$  değerleri, deneyin başlangıcından itibaren artarak deneyin ortalarında en yüksek değerlere ulaşan ve daha sonra azalıp başlangıçtaki değerlere dönen bir eğri oluşturmaktadır. Substrata göre tüketilen oksijen miktarındaki bu eğilimin açıklanmasının besleme rejimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.  $Y_{o/p}$  değerleri, 100.-135. dakikalarda protein değerlerinde gözlenen sabitlik nedeniyle bir miktar artmış gibi görünse de, deney boyunca görece sabit kalma eğilimindedir.  $Y_{p/s}$  değerleri ise, ilk dakikalarda gözlenen ve anlamlı olduğu konusunda daha önce de belirtilen şüpheleri taşıyan ilk değer ihmal edilirse, giderek artan bir grafik izlemektedirler. Bu değerlerin yorumlanmasının sistemin besleme rejimiyle ilişkili olacağı düşünülebilir.

Sistemin kesikli bir süreç olduğu ve bakterilerin tüm aktivitelerinin bu sürece göre şekilleneceği gerçeği, deneye ilişkin tüm verilerin değerlendirilmesi ve yorumlanmasında göz önünde tutulmalıdır. Buradan hareketle, süreç, 100’er dakikalık üç bölüm halinde incelenebilir. İlk bölümde yoğun bir substrat tüketimi gözlenmektedir. Tüketilen oksijen de bu bölümde yüksektir ama bu, substrat tüketimine oranlandığında önemsiz kalmaktadır. Bu bölümdeki protein değerlerinin yorumlanmasında ise güçlükler söz konusudur ve net bir yorumda bulunmak olanaksız gibidir. İkinci bölümde substrat ve oksijen tüketim hızları yavaşlamakta ve bu durum da bunlara ilişkin ürün değerlerinde bir artışa neden olmaktadır. Protein değerleri ise

görece sabitliklerini bölümün ilk yarısında da sürdürmekte, ancak ikinci yarıdan itibaren artmaya başlamaktadırlar. Son bölümde ise oksijen tüketimi azalmasını sürdürmekte iken, substrat tüketimi yeniden artmaya başlamıştır. Buradan hareketle deney süresince gözlenen tüm  $Y_{o/s}$  değerlerine substrat tüketiminin yön verdiği söylenebilir. Protein ise ikinci bölümde başlayan artışını son bölümde iyice artırarak substrat artışının üzerine çıkarmıştır.

Tüm bunlar birarada düşünüldüğünde ortaya şöyle bir tablo çıkmaktadır: İlk bölümde gözlenen yüksek substrat tüketimine karşın oksijen tüketiminde buna benzer bir artış olmaması, bakterilerin substratla karşılaştıkları ilk anda, besinleri tüketmek yerine absorpladıklarını, ya da sadece kolaylıkla tüketebildikleri besinleri tüketip geriye kalanları da absorpladıklarını akla getirmektedir. Reaktöre konulan kültürün sınırlı oksijen ve substrat koşullarında olduğu düşünülürse, bakterilerin yoğun besin ortamında, böyle davranmaları düşünülebilir. TOC ölçümü santrifüjlemeden sonra üst sıvıda yapıldığı için absorplanan besinler ölçümde görünmemektedir. Bu işlem tamamlandıktan sonra ikinci evrede hem bu besinleri hidroliz ve enzimler yardımıyla parçalanarak tüketilmeye uygun hale gelmeleri ve tüketilmeleri söz konusu olmakta, hem de hücre sentezi başlamaktadır. Bunlardan ilki yüksek  $Y_{o/s}$  değerlerine, ikincisi ise giderek artan protein değerlerine neden olmaktadır. Son bölümde ise, bu gelişmenin beklenen sonucu olarak hızlı bir hücre sentezi (dolayısıyla protein artışı) vardır. Yine bu bölümde R-TOC'ta gözlenen artma eğilimi, olasılıkla yine karmaşık besinlerin parçalanmasıyla ilgilidir, zira eğer endojenik evre söz konusu olsaydı, protein miktarında bir azalma beklenirdi. Dahası, ortamda hala 1170 mg/l TOC vardır ve reaktör çok iyi havalandırıldığı için bu kadar erken bir ölüm evresi beklenmemelidir.

Karbon kütle dengesi, ampirik (4.3) kimyasal denklemi göz önüne alınarak ve protein değerlerinin süreç içinde 4.25 g/l'den 5.1 g/l'ye çıktığı düşünülerek kurulabilir. Süreç içinde tüketilen organik karbon olarak, harcanan karbonun biyokütleyle dönüşerek çöktüğü düşünülerek üst sıvıda ölçülen TOC değerleri dikkate alınmıştır. Üretilen karbon ise, protein artışının 0.55 ile bölünmesinden elde edilen biyokütle artışından çıkarılmıştır ( (4.3) denkleminde biyokütlenin protein içeriği 360/678; ölçülen tüm

proteinin biyokütle proteini olduğu kabul edilmiştir). Buna CO<sub>2</sub> olarak uzaklaşan karbon ile süreç içerisinde gözlenen IC artışı da ilave edilmiştir.

$$\text{Tüketilen karbon} = (2220 - 1170) \times 70/1000 = 73.5 \text{ g}$$

$$\text{Üretilen karbon} = (5.1 - 4.25)/0.55 \times 360/678 \times 70 = 57.4 \text{ g}$$

$$\text{CO}_2 \text{ ile uzaklaşan karbon} = (0.064 \times 315/60) \times 70 \times 12/44 = 6.4 \text{ g}$$

$$\text{Suda çözülmüş olarak bulunan karbon} =$$

Çıkan gazın CO<sub>2</sub> içeriği % 1-1.5 arasında değişmektedir. Buradan, CO<sub>2</sub>'nin 26 °C'deki kısmi basıncı (aynı derecedeki suyun buhar basıncı 32 mbar, çıkan gazın CO<sub>2</sub> içeriği de % 1.25 alındığında) kPa olarak  $(1020 - 32) \times 1.25/100 = 12.3 \text{ mbar} = 1.23 \text{ kPa}$  olur. Buradan Schumpe et.al. (1982)'den,

$$[\text{CO}_2](\text{mg/l}) = (10^6 \times 44 \times 1.23 \times 0.737) / (22,258 \times 101.3) = 17.7 \text{ mg/l bulunur.}$$

Bu durumda reaktörde çözülmüş CO<sub>2</sub> karbonu olarak toplam;

$17.7 \times 70/1000 \times 12/44 = 0.34 \text{ g}$  karbon bulunur. Ancak bu değer zaman içindeki değişimi göz önüne alındığında, artışın ihmal edilebilir bir değer olacağı görülebilir. Dahası bu değer içine suda çözülmüş bulunan bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ve karbonat (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) iyonları dahil değildir ve bu üç bileşiğin kendi aralarında pH'a ve sıcaklığa bağlı olarak çeşitli denge reaksiyonları söz konusudur. Bunun yerine inorganik karbon ölçümlerinin kullanılmasının daha doğru olacağı düşünülmüştür.

Reaktörde deney boyunca inorganik karbon değerleri ( Tablo 4.1'de gösterilmemiştir) 340 mg/l'den 400 mg/l'ye çıkmıştır. Bu durumda inorganik karbon artışı  $(60 \text{ mg/l} \times 70 / 1000) 4.2 \text{ g}$ 'dir. Bu değer denklemin sol tarafına yazılırsa denge denklemi,

$$73.5 = 57.4 + 6.4 + 4.2$$

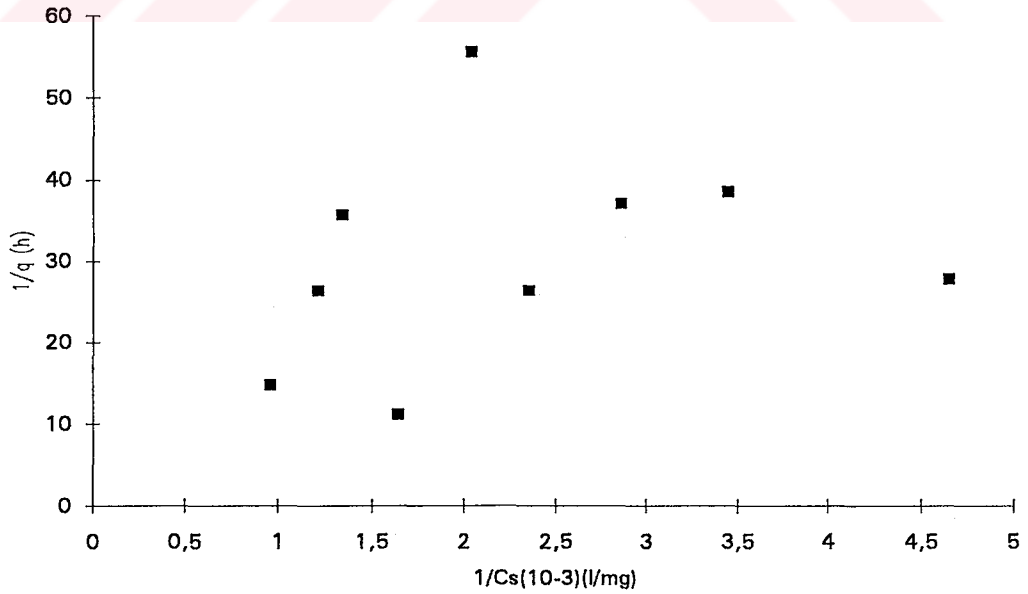
$$73.5 = 68$$

şeklinde olacaktır. Görüldüğü gibi karbon açısından iyi bir denge söz konusudur. Aradaki 5.5 g'lık karbon farkının, deneylerdeki hatalardan ziyade protein/biyokütle oranı olarak seçilen % 55'lik değerden kaynaklandığı düşünülebilir. Nitekim, eğer bu

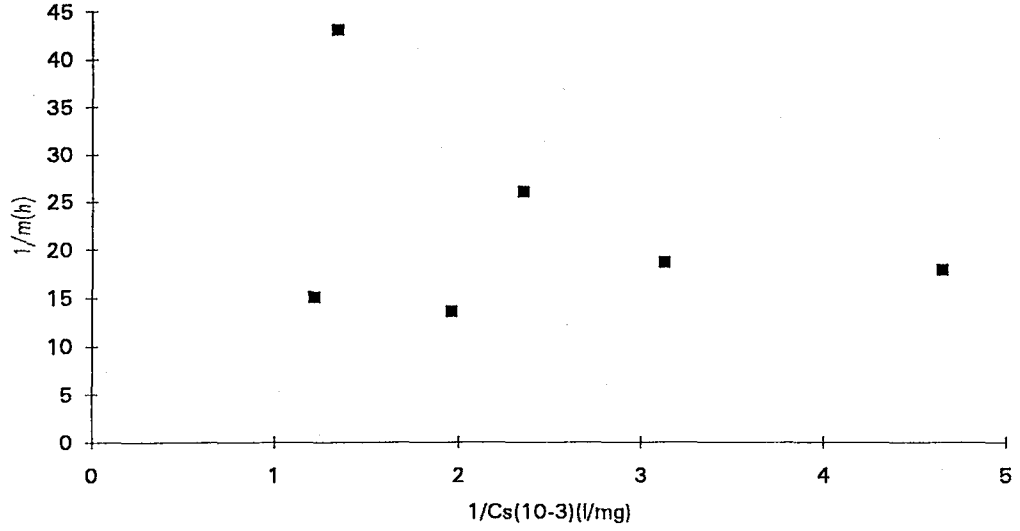
oran % 50 alınrsa denge neredeyse tamamıyla sağlanmaktadır. Bu orana ilişkin gerçek değerin bulunması ise oldukça ayrıntılı ve karmaşık bir çalışmayı gerektirecektir.

#### 4.1.1.4 Reaksiyon Kinetiklerinin Belirlenmesi

Biyokimyasal kinetiklerin belirlenmesinde Reynolds (1982)'de sözü edilen iki yaklaşım kullanıldı. Monod yaklaşımında substrat giderimi ve protein üretiminin Monod kinetiğine uyup uymadığı Langmuir yöntemiyle belirlendi. Substrata ilişkin konsantrasyon değerlerinde, verilen besinin içinde organik olan ancak bakterilerce tüketilemeyen ya da çok zor tüketilen maddelerin de var olduğu düşünüldü. Bu maddelerin miktarı, kesikli deneyin sonunda 1170 mg/l'lik bir TOC miktarının halen tüketilmemiş olduğu göz önünde bulundurularak 1000 mg/l'ye yakın bir değer olarak tahmin edildi ve besin konsantrasyonu değerlerinden bu değer çıkarıldı. Ancak daha uzun süreli bir deneyde bu kalıcı miktar kesin olarak belirlenebilir. Şekil 4.7 substrat gideriminin, Şekil 4.8 de protein üretiminin Monod kinetiği bakımından denenmesini göstermektedir.



Şekil 4.7 Kesikli deney I'de Monod kinetiğinin substrat giderimi açısından denenmesi



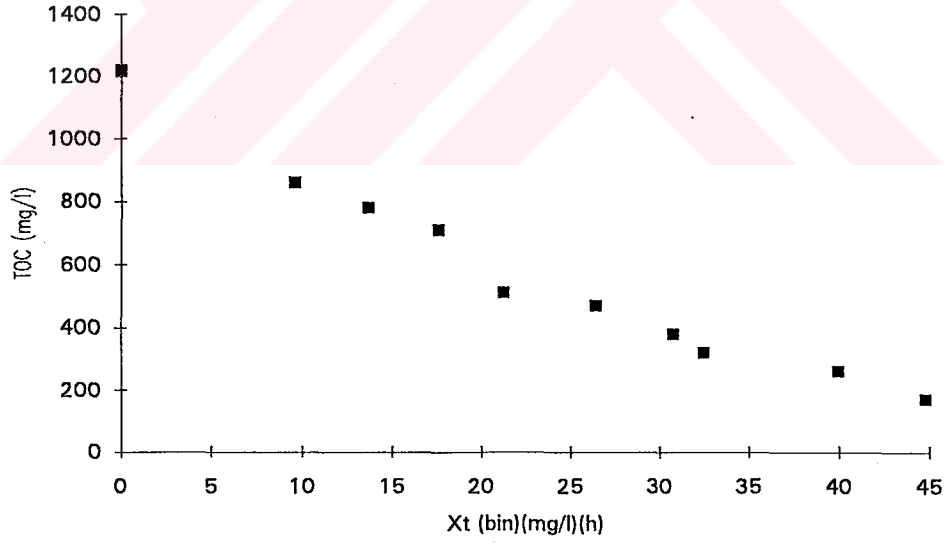
Şekil 4.8 Kesikli deney I'de Monod kinetiğinin protein üretimi bakımından denenmesi

Şekil 4.7 ve 4.8'dan da görülebileceği gibi, ne substrat giderimi ( $r=0.25$ ,  $\sigma = 12.61$ ), ne de protein üretimi (en üst değer çıkarıldıktan sonra,  $r=0.2$ ,  $\sigma = 4.32$ ) Monod kinetiğine iyi bir şekilde uymaktadır.

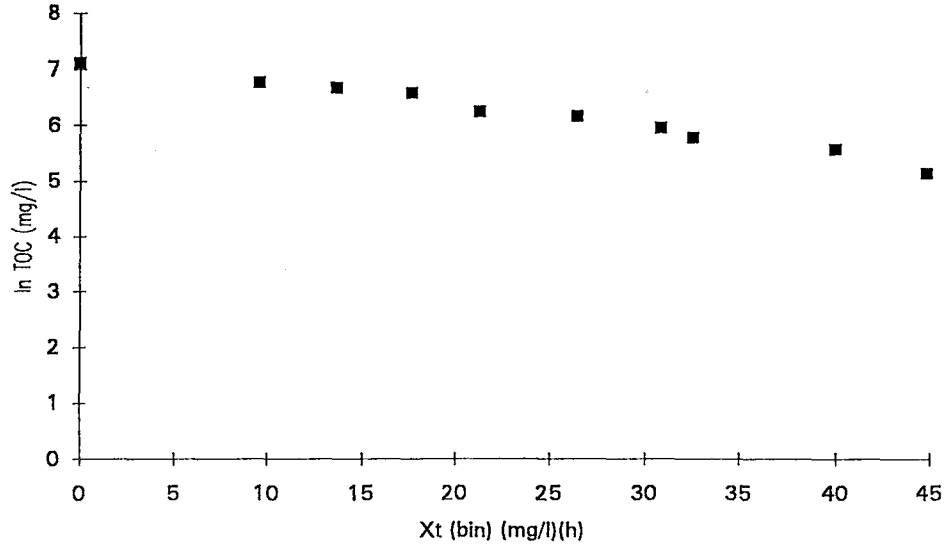
Diğer yaklaşım kimyasal kinetiklerin bir modifikasyonudur ve atıksulardaki reaksiyon derecelerini ve hız sabitlerini belirlemeyi amaçlar. (Bkz. Bölüm 1.3.1) Burada, hücre kütlesi konsantrasyon için protein/0.55 değerleri kullanılmıştır. Bu kinetiğe ilişkin değerler Tablo 4.2'de, çizilen grafikler ise Şekil 4.9 ve 4.10'da görülmektedir.

Tablo 4.2 Reaksiyon Kinetiğine İlişkin Substrat ve Biyokütle Değerleri

Zaman (dak)	Kullanılabilir TOC (mg/l)	X (mg/l)	X (mg/l)	Xt (mg/l)(h)
0	1220	7800		
75	860	7545	7670	9590
105	780	7800	7800	13650
135	710	7890	7845	17650
165	510	7670	7735	21270
195	470	8450	8125	26400
225	380	8620	8210	30790
255	320	7490	7645	32490
285	260	9020	8410	39950
315	170	9270	8535	44810



Şekil 4.9 Kesikli deney I'de sıfırıncı derece reaksiyon grafiği



Şekil 4.10. Kesikli deney I'de birinci derece reaksiyon grafiği

Her iki derecede de yüksek bir çizgisellik gözlenmektedir. Sıfırıncı derece reaksiyon için varyasyon katsayısı  $r = 0,98$ , standart sapma ise  $\sigma = 306.36$  iken, birinci derece reaksiyonda  $r = 0.99$  ve  $\sigma = 0.57$ 'dir. Ayrıca sıfırıncı derece grafiği başlarda çizgisel bir görüntü çizerken giderek bu görünümünden saptmakta ve bir eğri çizme eğilimine girmektedir. Bu bakımdan reaksiyonun, hemen tüm endüstriyel atıksularda olduğu gibi birinci dereceden olduğunu söylemek yanlış olmayacaktır. Kaldı ki, Şekil 4.9'da sürecin başlangıcında gözlenen çizgisellik, bol besin koşullarında reaksiyon derecesinin sıfır olacağını belirten görüşü de doğrulamaktadır.

Şekil 4.10'daki doğrunun eğiminden reaksiyon hız sabiti hesaplanabilir. Burada elde edilen  $0.044 \text{ l / (g biyokütle)(h)}$  değeri Tablo 1.3'tekilerle karşılaştırıldığında oldukça küçük kalmaktadır. Bunda protein ölçümüne ilişkin olarak daha önce de sözü edilen sorunların payı olabilir.

#### 4.1.2 İkinci Deney

Bu deneyde kullanılan substratın özellikleri  $\text{TOC} = 12,600 \text{ mg/l}$ ,  $\text{IC} = 110 \text{ mg/l}$ ,  $\text{KM} = 41,2 \text{ g/l}$ , ve  $\text{protein} = 7.4 \text{ g/l}$  şeklindedir. Deneyde elde edilen sonuçlar Tablo 4.4'te verilmiştir.



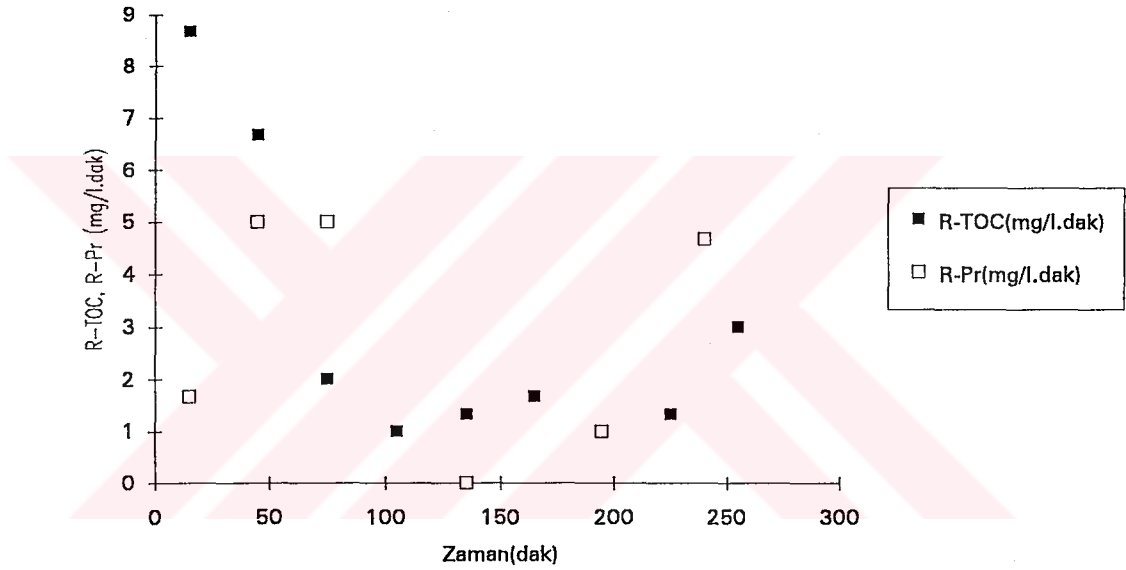
Tablo 4.3 Kesikli Deney II'de Elde Edilen Sonuçlar

Zaman (dak)	TOC (mg/l)	KM (g/l)	Protein (g/l)	pH	Çözünmüş O <sub>2</sub> (mg/l)	OTR (kg/m <sup>3</sup> .h)	CPR (kg/m <sup>3</sup> .h)
0	1970	13,3	3,03	8,16	5,18	0,15	0,15
15				8,10	5,67	0,15	0,15
30	1710		3,08	8,06	5,99	0,15	0,15
45				8,14	6,31	0,15	0,154
60	1510	13,8	3,23	8,20	6,63	0,14	0,15
75				8,18	6,80	0,14	0,15
90	1450		3,38	8,17	6,80	0,14	0,16
105				8,17	6,88	0,13	0,16
120	1420		3,19	8,15	6,88	0,12	0,16
135				8,13	6,96	0,12	0,16
150	1380	13,8	4,47	8,12	6,96	0,12	0,16
165				8,16	6,96	0,12	0,16
180	1330		3,38	8,15	6,96	0,12	0,15
195				8,13	6,96	0,12	0,15
210	1300	13,6	3,41	8,10	7,04	0,12	0,15
225				8,08	6,96	0,12	0,15
240	1250		2,6	8,08	7,04	0,12	0,15
255				8,07	7,04	0,11	0,15
270	1160	13,1	3,69	8,07	7,04	0,11	0,15

Bu deneyde kullanılan substratın KM ve protein içeriği görece daha azdır. KM değerleri burada önce nedeni anlaşılamayan bir artış göstermiş, ardından da düşmeye başlamıştır. Protein değerleri de deneyin başlarında KM gibi artma eğilimine girmiş, ancak orta kısımlarda birtakım dalgalanmalar ile sabit kalmış, son kısımda ise önceki deneyde olduğu gibi artmaya başlamıştır. KM'deki protein içeriği süreç içinde % 23'ten % 28'e çıkmıştır. TOC tüketimi de önce hızlı, sonra yavaş ve son bölümde yeniden hızlı bir rota izleyerek önceki deneyde sergilediği eğilimi sürdürmüştür. Aynı

şeyler, OTR ve CPR için de rahatlıkla söylenebilir. Yalnız bu deneydeki OTR ve CPR değerleri daha büyüktür. pH deneyin başlangıcından itibaren bir müddet arttıktan sonra ilerleyen sürelerde önceki deneyde olduğu gibi yavaşça azalma eğilimine girmiştir. Atıksu içindeki çözülmüş oksijen miktarı da bekleneceği üzere, OTR ile ters orantılı olarak artmıştır. İnorganik karbon ise 340 mg/l'den 360 mg/l'ye çıkmıştır.

Protein değerlerinin 90. ile 180. dakikalar arasında değişmediği düşünülerek çizilen zamana göre R-TOC ve R-P grafiği Şekil 4.11'de verilmektedir.

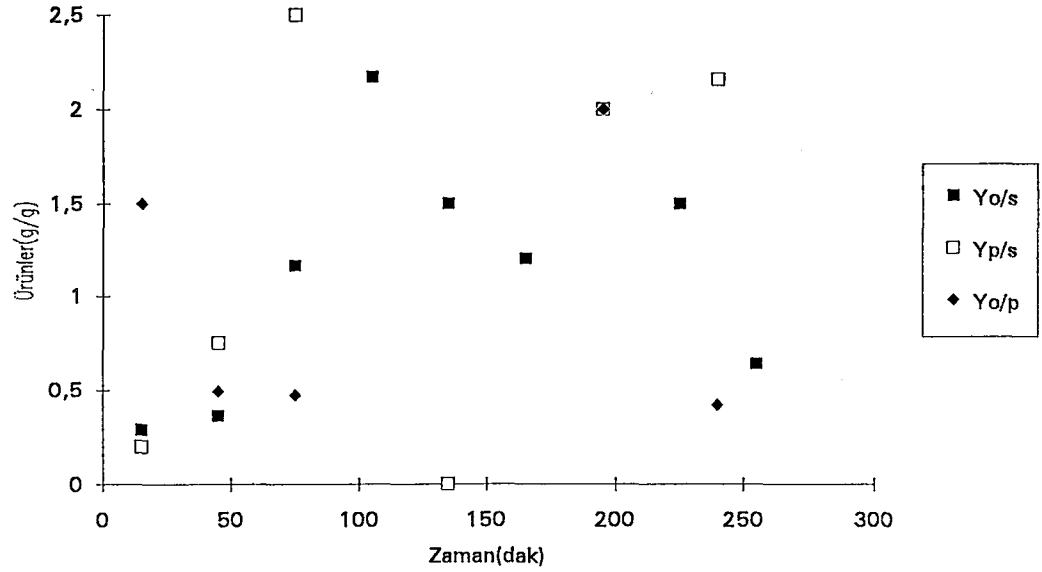


Şekil 4.11 Kesikli deney II'de zamana göre R-TOC ve R-Pr değişimi

Görüldüğü gibi önceki deney için söylenenler burada da geçerlidir. Protein üretim hızı son bölümde substrat tüketim hızının üzerine çıkmıştır.

OTR ve CPR değerleri, önceki deneye göre yaklaşık üç kat daha büyük olmasına rağmen bunun TOC tüketimine yansıdığı söylenemeyecektir. Her iki deneyde de TOC tüketim hızları birbirine yakındır.

Aynı şekilde grafiklenen ürün değerleri de Şekil 4.12'de görülmektedir.



Şekil 4.12 Kesikli deney II' de ürün değerlerinin zamana göre değişimi

$Y_{o/s}$  değerleri, önceki deneyle aynı biçimde bir yay çizmektedir. Keza  $Y_{p/s}$  değerlerinde de sonlara doğru bir artış gözlenmektedir.  $Y_{o/p}$  değerleri ise, protein değerlerinin deneyin orta kısımlarında dalgalanması nedeniyle anlamlı bir eğilim vermemektedirler. Ancak başlangıç değerleri ile bitiş değeri birbirine yakındır.

Ortalama ürün değerleri ise  $Y_{o/s} = 0.72$ ,  $Y_{p/s} = 0.81$  ve  $Y_{o/p} = 0.89$  olarak Reynolds(1982)'de verilen teorik değerlere yaklaşmışlardır. Ancak burada da harcanan oksijen, tüketilen substrat ve üretilen proteine (ya da biyokütleyle) göre hala düşüktür.

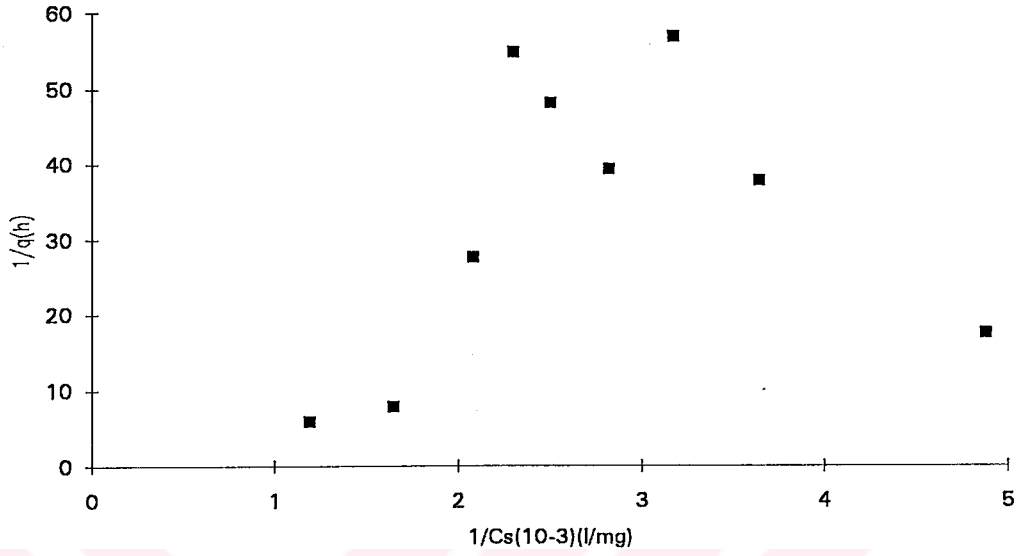
Denge ise şu şekildedir:

Tüketilen karbon = Biyokütlede üretilen karbon + CO<sub>2</sub> ile uzaklaşan karbon + Suda çözülmüş inorganik karbon artışı

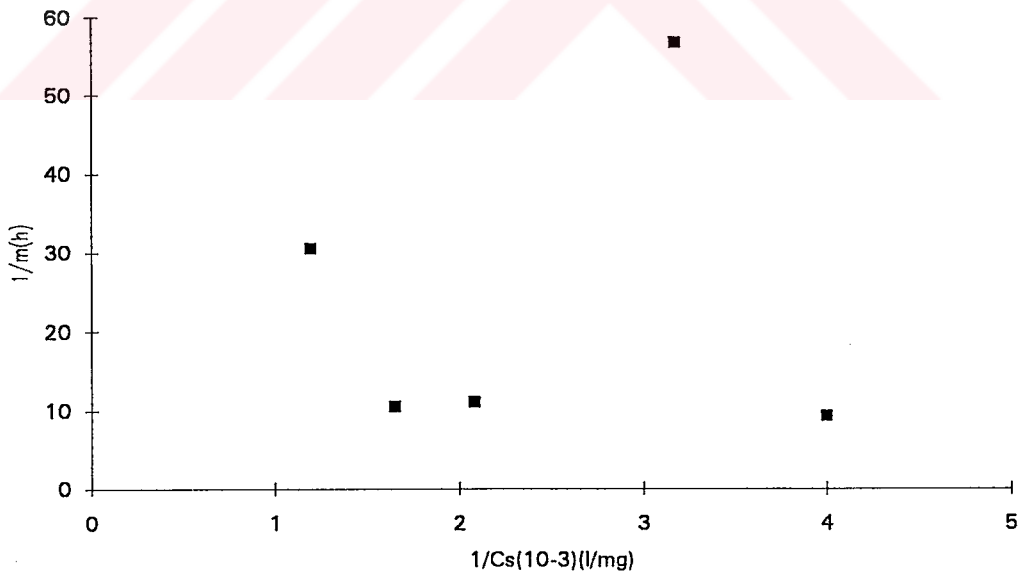
$$56.7 \text{ g} = 44.6 \text{ g} + 13,2 \text{ g} + 1.4 \text{ g}$$

$$56.7 \text{ g} = 59,2 \text{ g}$$

Substrat tüketimi ve protein üretimi ile ilgili Monod kinetiği denemeleri Şekil 4.13 ve 4.14'te verilmiştir.



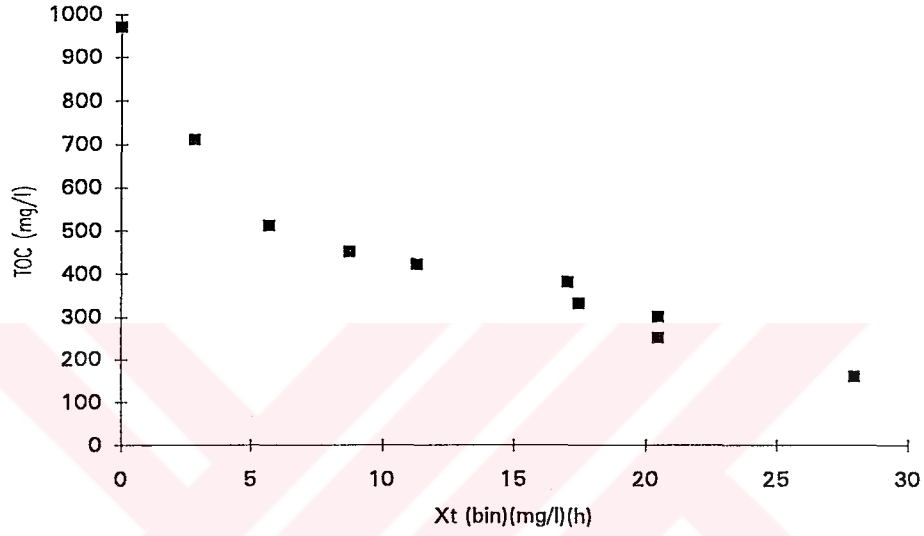
Şekil 4.13 Kesikli deney II'de Monod kinetiğinin substrat giderimi bakımından denemesi



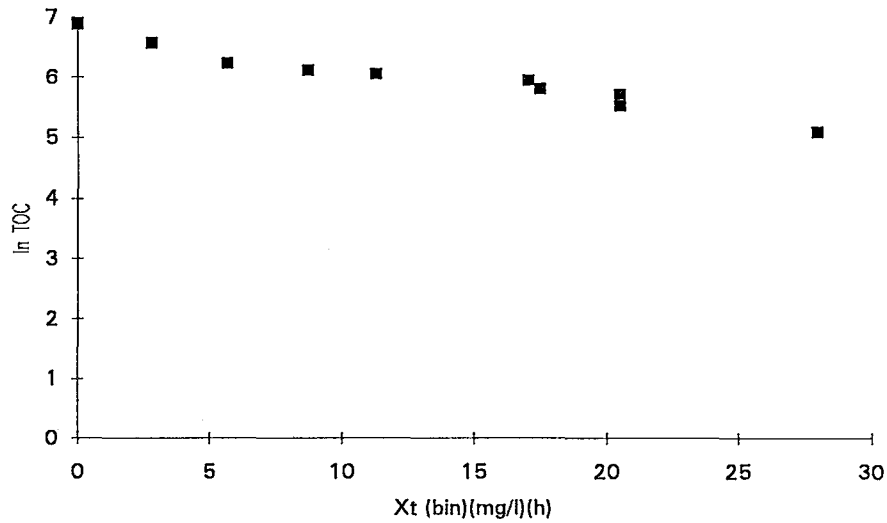
Şekil 4.14 Kesikli deney II'de Monod kinetiğinin protein üretimi bakımından denemesi

Her ikisi de Monod kinetiğine uymamaktadır. Substrat giderimi ( $r=0.24$ ,  $\sigma = 18.06$ ), ve de protein üretimi ( $r=0.08$ ,  $\sigma = 18.27$ ) Monod kinetiğine uymamaktadır.

Reaksiyon derecesini belirlemek amacıyla yapılan hesaplamalar sonucu sıfırıncı derece ve birinci derece reaksiyonlar için çizilen grafikler de Şekil 4.15 ve 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.15 Kesikli deney II'de sıfırıncı derece reaksiyon kinetiğinin denemesi



Şekil 4.16 Kesikli deney II'de birinci dereceden reaksiyon kinetiğinin denemesi

Sıfırıncı derece reaksiyon için  $r = 0.92$  ve  $\sigma = 225$  iken birinci derece reaksiyon için bunlar  $r = 0.97$  ve  $\sigma = 0.49$ 'dur. Reaksiyonun birinci dereceden olduğu söylenebilir. Reaksiyon hız sabiti ise  $K = 0.049 \text{ l / (g biyokütle)(h)}$  olarak bulunur.

Bu deneyle önceki deney arasındaki bir başka benzerlik de 240.-250. dakikalarda elde edilen düşük protein değerleridir. Bu sonuçlar seyreltmeler sırasındaki deneysel hatalardan kaynaklanıyor olabilirler. Ancak, proteinlerin farklı uzunluk ve yapıda olabilecekleri ve dolayısıyla hidrolize olup amino asitlerine ayrılma sürelerinin de bu özelliklerine bağlı olarak farklılaşabileceği unutulmamalıdır. Bu durum, ayrıca, Lowry yöntemine etki edecek diğer organik maddeler için de geçerlidir.

#### 4.1.3 Üçüncü Deney

Engellemeli deneyin ön aşaması olarak yapılan bu deneyde diğer deneylere ek olarak  $\text{NH}_3 + \text{NH}_4$  değeri de ölçülmüştür. Substrat özellikleri  $\text{TOC} = 17,020 \text{ mg/l}$ ;  $\text{IC} = 280 \text{ mg/l}$ ,  $\text{KM} = 54.5 \text{ g/l}$ ,  $\text{protein} = 18,6 \text{ g/l}$  şeklindedir. Elde edilen değerler Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4 Kesikli Deney III'de Elde Edilen Sonuçlar

Zaman (dak)	TOC (mg/l)	Protein (g/l)	NH <sub>3</sub> + NH <sub>4</sub> (mg/l)	pH	OTR (kg/m <sup>3</sup> .h)	CPR (kg/m <sup>3</sup> .h)	KM (g/l)
0	2260	4,42		8,25			16,5
30	2160	3,97	205	8,22			
90	1740	3,83	205	8,2			16,8
120	1660	3,91	190	8,21			
150	1500	3,16	170	8,2	0,2	0,16	16,6
180	1460	3,24	145	8,17	0,19	0,16	
210	1410	3,33	145	8,15	0,17	0,15	16,6
240	1380	3,41	130	8,12	0,16	0,15	
270	1500	3,18	125	8,09	0,16	0,16	16,5
300	1500	3,72	120	8,11	0,16	0,16	
330	1500	3,38	115	8,12	0,16	0,17	
360	1400	3,37	110	8,13	0,16	0,16	16,5

Başlangıçta gözlenen hızlı TOC tüketimi 150. dakikadan itibaren yavaşlamakta ve 250. dakikadan itibaren de tamamıyla durmuş gözükmemektedir. Substrat değerinde bu dakikada gözlenen artış, pH değerinde yine aynı dakikalarda gözlenen eğilim değişikliğiyle birlikte düşünüldüğünde yeni bir evreye girildiğine işaret etmektedir. Bu değişim, protein değerinde de dalgalanmalara neden olmuştur. 150. dakikaya kadar hidrolize olup parçalanmış proteinler 240. dakikaya kadar düzenli bir şekilde artmış, ancak bu dakikadan sonra dalgalanmalar meydana gelmiş, eğilim olarak ise sabit kalmıştır. NH<sub>3</sub> + NH<sub>4</sub> değerleri, ilk iki saat 200 mg/l civarında kalmış, daha sonra ise azalarak 100mg/l'ye kadar düşmüştür. Bu durum ortamda bir nitrifikasyonun varlığını göstermektedir. Zira değerlerin sabitlendiği dakikalarda pH azalmaya başlamış ve amonyak değerleri görece düşmüştür. Amonyak, amonyumdan daha önce tüketileceği için önce amonyak değerleri, daha sonra da amonyum değerleri azalmıştır. Nitrifikasyon sırasında inorganik karbon kullanıldığı ve inorganik karbon miktarının kesikli deney süresince 280 mg/l'den 200 mg/l'ye düştüğü göz önüne alınırsa bu kesikli deneyde nitrifikasyonun varlığı büyük bir olasılık olarak ortaya çıkmaktadır.

Aynı süre içinde pH da azalmıştır. Ancak bunun bir inhibisyona yol açtığı belli değildir. Protein artışı çok kısa bir süre izlenebildiği için gerek Monod, gerekse Haldane kinetikleri bu süre için anlamlı değerler vermekten uzaktır.

240. dakika sonrasında sistemin yeni bir evreye girdiği görülmektedir. Bu aşamada bakterilerin endojenik evreye girmesi pek mümkün gözükmemektedir, zira ortamda halen yoğun sayılabilecek bir besin miktarı mevcuttur. pH değerlerinin bu dakikaya kadar düşmesi bir bakıma karmaşık besinlerin parçalanarak ortamda organik asitlerin ortaya çıkmasına, bir bakıma da nitrifikasyona bağlanabilir. Ancak 240. dakikadan sonra pH'ın artmaya başlaması büyük ihtimalle substratın tükenmesi ve nitrifikasyonun sona ermesi olarak yorumlanabilir. TOC tüketiminin ve protein üretiminin de durma eğilimine girmesi, keza OTR'de de gözlenen sabitleşme eğilimi göz önüne alınırsa, diğer deneylerde 300. dakikalarda hala devam etmekte olan canlı biyolojik sürecin burada daha kısa sürdüğü (240 dakika) sonucuna varılabilir. Bu dakikadan sonra hücre sentezi azalmış ve bunun sonucu olarak solunum baskın hale gelmiş olabilir.

Başlangıçtaki biyokütlenin göstergesi olan ve substrattaki yüksek protein içeriği yüzünden ölçülemeyen biyokütlesel protein derişimi tahmini bir değer (örneğin 2.8 g/l) alınarak 240 dakikalık bir karbon dengesi kurulursa;

Giren karbon = Biyokütlede üretilen karbon + CO<sub>2</sub> ile uzaklaşan karbon + Suda çözülmüş inorganik karbon artışı

İnorganik karbondaki azalma da denklemin sol tarafına yazılırsa;

$$61.6 \text{ g} + 5.6 \text{ g} = 44.5 \text{ g} + 12.2 \text{ g}$$

$$67.2 \text{ g} = 56.7 \text{ g}$$

Burada da reaksiyon derecesi birinci derecedir, hız sabiti K ise 0.048 (l/mg)(h)'dir.



#### 4.1.4. Değerlendirme

Yapılan deneylerde izlenen kesikli süreç farklı özelliklere sahip üç bölüm halinde incelenmiştir. Bir alışma bölümü olarak da düşünülebilecek olan birinci bölümde yoğun bir substrat tüketimi söz konusudur, ancak oksijen tüketiminin görece oldukça düşük olması besinlerin tüketilmekten ziyade absorplanarak tutulduğunu akla getirmektedir. Biyokütle parametresi olarak seçilen protein değerleri bu bölümde sağlıklı olarak izlenememektedir, zira substratın yoğun bir protein içeriği vardır ve ölçülen proteinlerin biyokütle göstergesi olabilmesi için öncelikle substrat olarak verilen proteinlerin parçalanması ve bakterilerce tüketilmesi gerekmektedir. Bu işlemin 2-2.5 saatlik bir süre gerektirdiği tahmin edilmektedir.

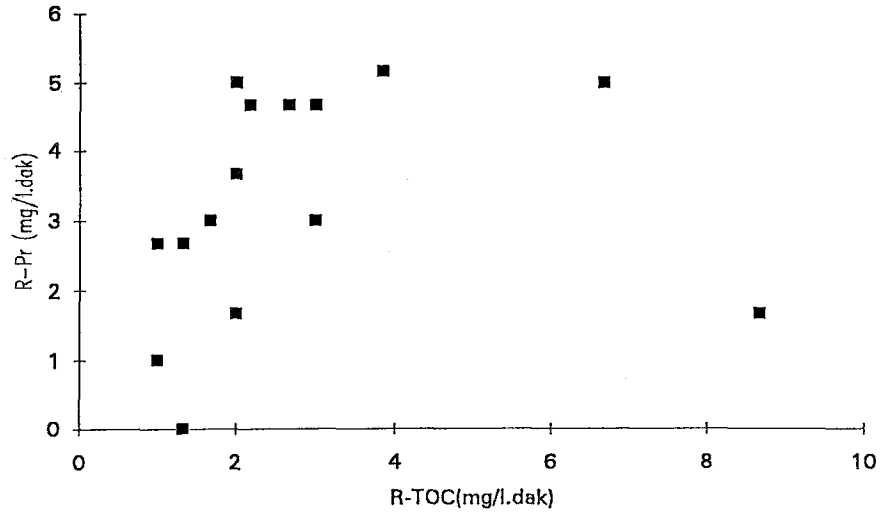
İkinci bölümde substrat tüketimi yavaşlamaktadır. Oksijen tüketimi de aynı eğilimdedir ancak azalma, substrata göre daha azdır. Bu durum ürün değerlerinin yükselmesine yol açmaktadır. Protein derişimi ise, hidrolizin sona erdiğini gösteren düşük bir değerden sonra yükselme eğilimine girmektedir. Bu bölüm ayrıca CPR'de de hafif bir artışı getirmektedir. Tüm bunlar bir arada düşünüldüğünde, örnek kültürde bulunması muhtemel anaerobik bakterilerin artık tamamen yok oldukları, aerobik bakterilerin de absorpladıkları besinleri tüketmeye ve hücre sentezlemeye başladıkları akla gelmektedir.

Son bölüm ise, substrat tüketiminin yeniden hızlandığı, buna karşılık OTR değerlerinin azalmaya devam ederek belli bir minimum noktada sabitlendikleri bir süreyi ifade etmektedir. Protein üretimi ise bu bölümde iyice hızlanmaktadır. Substrat tüketiminin hızlanması, tüketilmeleri daha uzun bir süre gerektiren karmaşık besinlerin parçalanmaya başlamaları neticesinde olabilir. Bu bölümde kolay tüketilebilen substrat miktarı artık azalmış olduğu için hücre (ve protein) sentezinin hızlanması olasıdır. Ancak sentezleme sonucu oksijen kullanımının artması beklenebilir. Ne var ki, OTR'de böyle bir artış gözlenmemekte, aksine azalma eğilimi bu bölümde de sürmektedir. Bunun, substratın giderek sınırlayıcı bir hal almaya başlaması ve bakterilerin farklı solunum yollarını kullanma eğilimine girmeleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

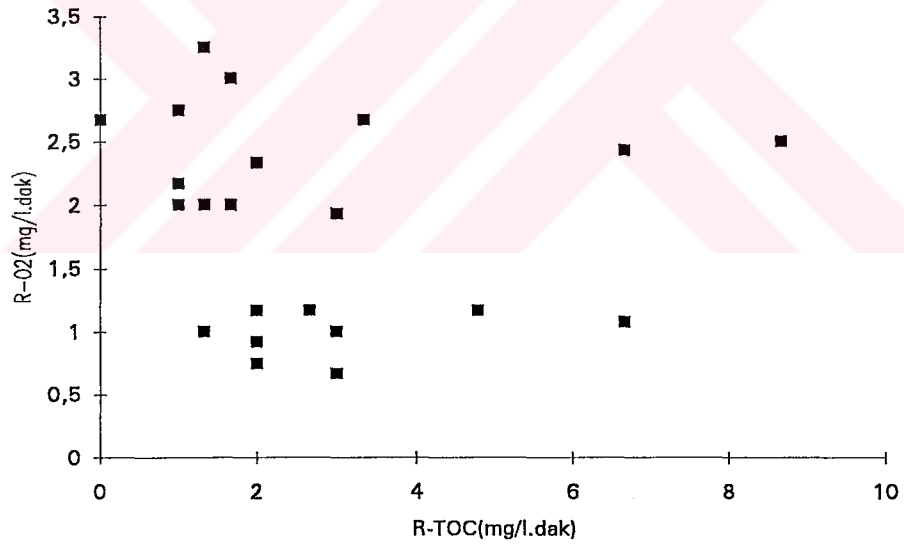
KM ve UKM değerleri biyokütleye ilişkin net bir bilgi vermemektedirler. Ancak bu sistemin kesikli karakterinden ve yoğun organik madde içeren besinden kaynaklanmaktadır. Deneylerde KM'nin protein içeriği % 25-% 32 arasında değişmektedir. Öte yandan, protein/KM oranı deney süresince artmaktadır. Aynı yargı, UKM/KM ve protein/UKM oranı için de geçerlidir. KM ya da UKM içindeki biyokütle oranının süreç içinde artması bekleneceği için, biyokütlenin proteinle kontrol edilmesi daha iyi sonuçlar verecektir.

Nitekim, proteine göre belirlenen biyokütlenin reaksiyon derecesi bakımından substrat giderimiyle ilişkisi, pekçok endüstriyel atıksuda olduğu gibi birinci dereceden bir reaksiyona işaret etmektedir. Ancak hız sabitinin oldukça düşük bir değer olarak hesaplanması, atıksuda, protein ölçümleri için kullanılan Lowry yöntemini etkileyebilecek maddelerin varlığını gündeme getirmektedir. Demir iyonlarından glikoza birçok organik ve inorganik madde Lowry yöntemini etkileyebilmektedir. Başlangıç ve son değerler arasındaki fark üzerine kurulan denge denklemlerinin mantıklı sonuçlar vermesi, bu tür maddelerin, ortamda bulunsalar da, derişimlerinin fazla değişmediğini ve her ölçümü aynı derecede etkilediklerini düşündürmektedir. Eğer böyleyse, protein/biyokütle oranı olarak alınan 0.55 değerinin yerine başka bir çalışmada elde edilebilecek gerçek bir değerin, ya da en azından daha büyük bir değerin kullanılması yoluna gidilebilir.

Deneyler tüketim hızları açısından değerlendirilirse, biyokütle parametrelerinin substrat tüketim hızıyla ilikilerine bakılabilir. Her üç deneydeki substrat tüketim hızlarına karşılık protein üretim ve oksijen tüketim hızları Şekil 4.17 ve 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.17 Kesikli deneylerdeki protein üretim hızlarının substrat tüketim hızlarına göre değişimi



Şekil 4.18 Kesikli deneylerdeki oksijen tüketiminin substrat tüketimine göre değişimi

Şekil 4.17'den de görülebileceği gibi sistemin kesikli olmasının getirdiği tüm olumsuzluklara rağmen  $R_s$  ile  $R_p$  arasında pozitif bir bağlantı vardır ( $r = 0.19$ ,  $\sigma = 1.59$ ). Oksijen tüketimi ile substrat tüketimi arasındaki bağlantı ise negatiftir ( $r = -0.22$ ,

$\sigma = 0.76$ ). Burada bir genelleme yapılırsa, proteinin gerek KM ve UKM, gerekse OTR'den daha iyi bir biyokütle göstergesi olduğu söylenebilir.



## 4.2. Kesikli-Beslemeli (Yarı Sürekli) Reaktör Deneyi

### 4.2.1 Deneyin Yapılışı

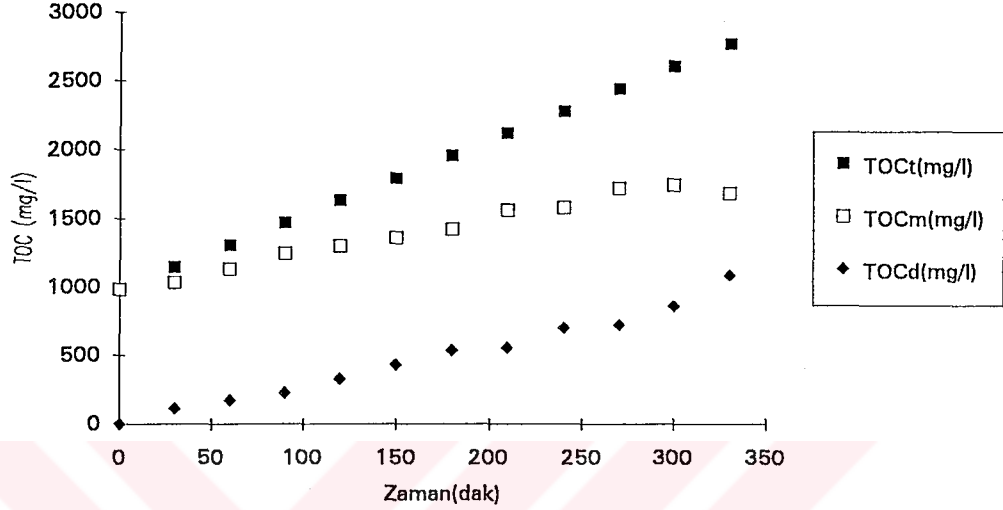
Kesikli-beslemeli süreç, kesikli sürecin devamında izlendi. Kesikli reaktör deneyinden sonra reaktör, aynı koşullarda (sıcaklık 26 °C, hava debisi 9 l/dak ve karıştırma hızı 3 rps), ancak besleme yapılmaksızın çalışır durumda bırakıldı. Bununla bakterilerin substrata iyice adapte olmaları amaçlandı. Yaklaşık 18 saatlik bir beklemeden sonra (kesikli reaktör deneyinin ertesi günü) reaktör, aynı yerden alınan ham atıksu ile (TOC = 17.800 mg/l, IC = 220 mg/l, KM = 53.2 g/l ve protein içeriği = 17.4 g/l) 21.25 ml/dak'lık bir hızla beslenmeye başlandı. İlk örnekler besleme başlamadan hemen önce alındı. Tüketilen toplam organik karbon, 5.4 mg/l.dak'lık (17,800 mg/l x 21.25 ml/dak / 70 l / 1000 ml/l) TOC besleme hızıyla ulaşılacak toplam TOC değerlerinden (TOC<sub>t</sub>) deney süresince ölçülen TOC (TOC<sub>m</sub>) değerlerinin çıkarılması yoluyla (TOC<sub>d</sub> = TOC<sub>t</sub> - TOC<sub>m</sub>) izlendi. Gerek substrat ve oksijen tüketimi, gerekse CO<sub>2</sub>, KM, UKM ve protein üretimi hızlarının hesaplanmasında kolaylık olması açısından reaktörün hacminin sabit kaldığı varsayıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5 Kesikli-Beslemeli Reaktör Deneyi Sonuçları

Zaman	TOCt (mg/l)	TOCm (mg/l)	TOCd (mg/l)	O2 (mg/l)	pH	KM (g/l)	UKM (g/l)	Protein (g/l)
0	980	980	0	7,12	8,18	13,8	5,71	3,85
15				6,47	8,16			
30	1142	1030	112	6,41	8,14			3,53
45				6,37	8,13			
60	1304	1130	174	6,31	8,11	15,2	6,27	4,41
75				6,31	8,09			
90	1466	1240	226	6,27	8,09			4,09
105				6,22	8,07			
120	1628	1300	328	6,16	8,07	15,5	6,53	3,85
135				6,13	8,06			
150	1790	1360	430					4,4
165				6,13	8,06			
180	1952	1420	532			16,5	6,71	4,56
195				6,13	8,06			
210	2114	1560	554	6,13	8,06			4,62
225								
240	2276	1580	696			17,2	7,31	4,78
255				6,13	8,07			
270	2438	1720	718	6,13	8,07			4,84
285				6,16	8,07			
300	2600	1740	860					4,94
315				6,38				
330	2762	1680	1082	6,47	8,07	18,2	7,48	5,1

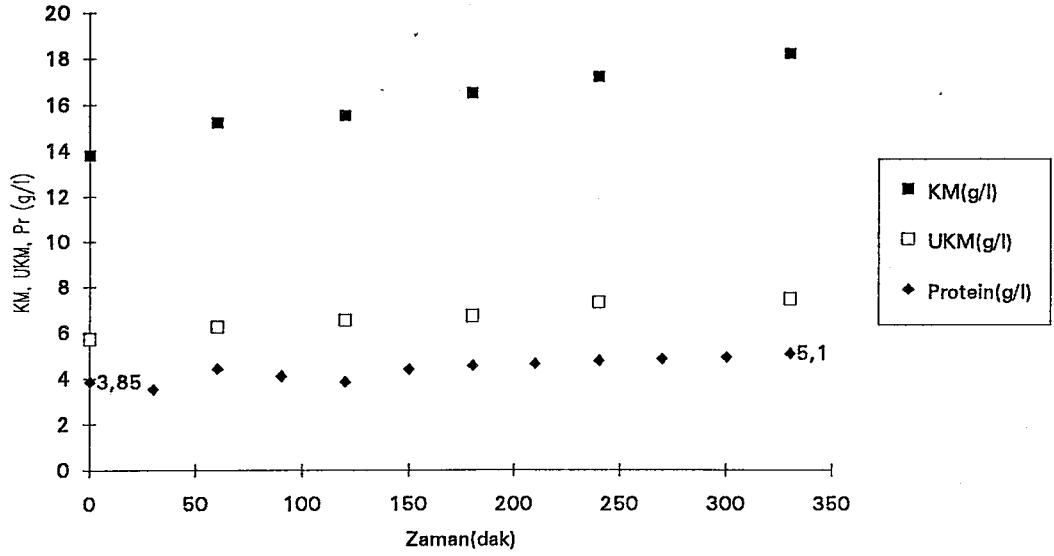
#### 4.2.2 Aktif Biyokütle Parametreleri

Deney süresince gözlenen TOC tüketimi Şekil 4.19'da verilmektedir.



Şekil 4.19 Kesikli-beslemeli reaktörde TOC tüketimi

Bakteriler, kesikli deneyde besine alıştırdıkları için bir alışma evresi beklenmemektedir. Ancak substrat yoğun organik madde içerdiği için bu organiklerin parçalanmaları zaman alabilir ve bu da TOC tüketiminde bazı dalgalanmalara neden olabilir. Şekil 4.20'de görüldüğü gibi substrat tüketimi 150.-200. ve 250.-300. dakikalar arasında gözlenen kısa süreli durgunluklar dışında oldukça sabit bir şekilde devam etmektedir. Bu süre içinde gözlenen KM, UKM ve protein derişimleri Şekil 4.20'de gösterilmektedir.

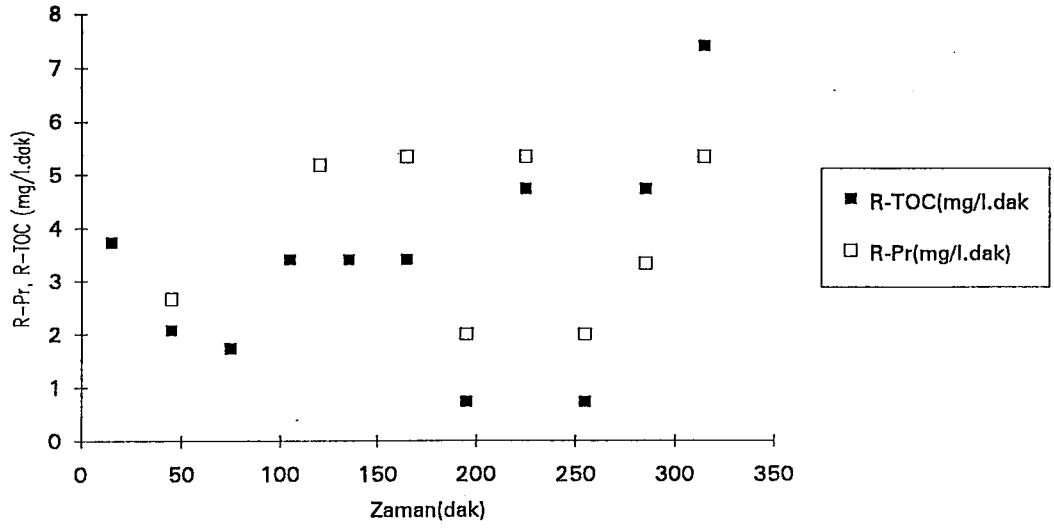


Şekil 4.20 Kesikli-beslemeli deneyde KM, UKM ve protein derişimlerinin zamanla değişimi

Her üç parametrede de bir artış söz konusudur. KM ve UKM, proteine göre daha sabit bir hızda artmaktadır. Bunun nedeni, bu parametrelerin doğrudan besinle ilişkili olmalarıdır. Substratın yoğun organik madde içeriği ve bu organiklerin sisteme ne şekilde verildikleri, bu parametrelerin değişimine yön vermektedir. Proteinler ise, ilk 120 dakikada birkaç dalgalanma yaptıktan sonra sabit bir artışa geçmişlerdir. Bu dalgalanmalarda, kesikli deneyde olduğu gibi hidroliz ve parçalanma reaksiyonlarının etkili olduğu sanılmaktadır.

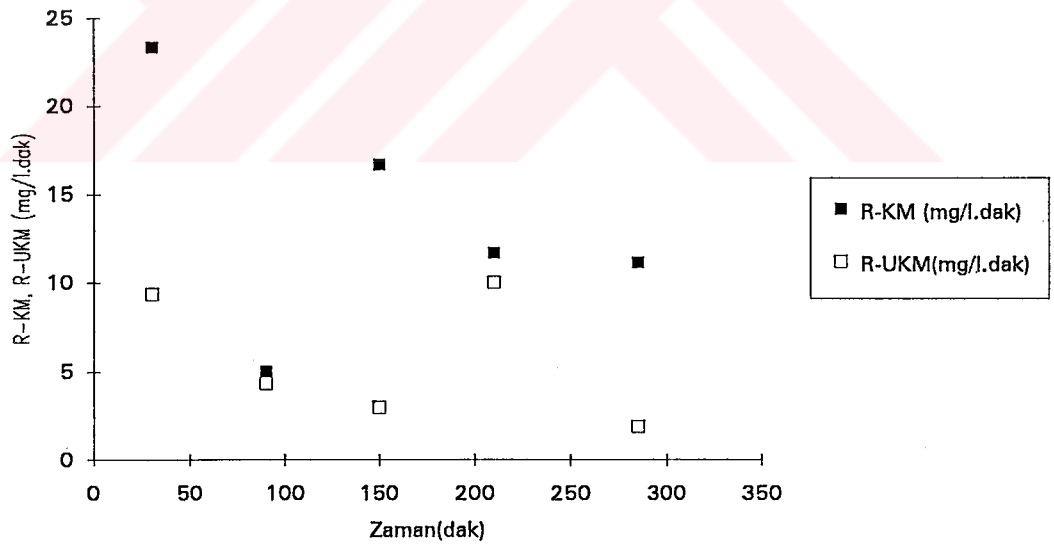
Bu parametrelerin birbirlerine göre oranları deney boyunca sabit kalmaktadır ( protein / KM = 0.28, protein / UKM = 0.67 - 0.68 ve UKM / KM = 0.41). Her üç parametre de ortamdaki substrat miktarıyla birlikte artmaktadır. Dolayısıyla kesikli deneyde net olarak gözlenen protein oranlarındaki artış burada gözlenememiştir. Ancak, bu parametrelere ilişkin artış hızları, substrat tüketim hızıyla ilişkileri açısından bir anlam ifade edebilir. Substrat tüketim ve protein üretim hızları Şekil 4.21'de, KM ve UKM artış hızları da Şekil 4.22'de görülmektedir.





\* 30, 60 ve 120. dakikalardaki protein değerleri ihmal edilmiştir.

Şekil 4.21 Kesikli-beslemeli deneyde substrat tüketimi ve protein üretimi hızlarının zamanla değişimi



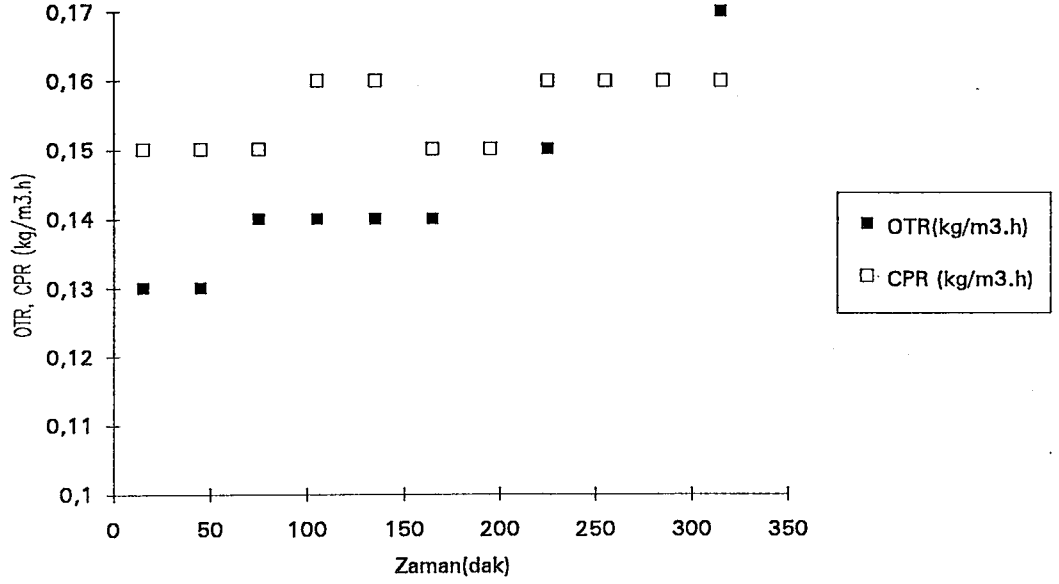
Şekil 4.22 Kesikli-beslemeli deneyde KM ve UKM artış hızlarının zamana göre değişimi

Şekil 4.21'de protein üretim hızıyla substrat tüketimi arasında iyi bir uyum olduğu gözlenmektedir. Ancak her iki parametre de oldukça dalgalı bir eğilim göstermektedir. TOC gideriminde ilk dakikalarda kesikli deneydekine benzer bir eğilim

gözlenmektedir. Protein değerlerinde dalgalanmalar gözükken bu dönem, bakterilerin besinle ilk karşılaştıkları andaki hareketlerini andırmaktadır. Bu dönemden sonra gerek TOC tüketimi, gerekse protein üretimi açısından sabit bir evreye girilmektedir. Kesikli-beslemeli reaktör deneyindeki temel amaçlardan birinin sistemi her türlü limitasyondan mümkün olduğunca uzaklaştırmak ve sabit bir işleyiş sağlamak amacı burada gerçekleşmiş gibi görünmektedir. Ancak bu bölümün hemen sonrasında hem TOC gideriminde, hem de protein üretiminde görülen 30'ar dakikalık iki büyük dalgalanmanın nedeni anlaşılammamaktadır. Bu noktada, ortamdaki besinin giderek artması nedeniyle bir substrat inhibisyonundan, ya da besin içindeki bir maddenin birikerek inhibisyona neden olabilecek bir miktara ulaşmasından şüphelenilebilir. Ancak ne ölçülen TOC değerleri, ne de o zamana kadar verilmiş olan yaklaşık 4 l besin daha önce herhangi bir inhibisyona neden olmamışlardır. Dolayısıyla bu dönemsel dalgalanmaların yine karmaşık organiklerin parçalanmaları ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu dönemin ardından deneyin son kısmında bu iki parametrede de görülen hızlı artış bu görüşü doğrulamaktadır.

KM artışı ise henüz tüketilmeyen substrat nedeniyle başlangıçta büyüktür, ancak sonraki evrelerde substrat tüketiminin giderek artması nedeniyle yavaşlama eğilimine girmiştir. Bunda reaktördeki sıvı hacminin giderek artmasının da bir etkisi vardır. UKM artışı ise giderek yavaşlamakta eğiliminde iken 150. dakikada nedeni anlaşılammayan bir yükselme söz konusudur. Bunun deneysel bir hatadan kaynaklandığı düşünülebilir.

Kesikli-beslemeli deneyde elde edilen OTR ve CPR değerleri Şekil 4.23'te verilmiştir.

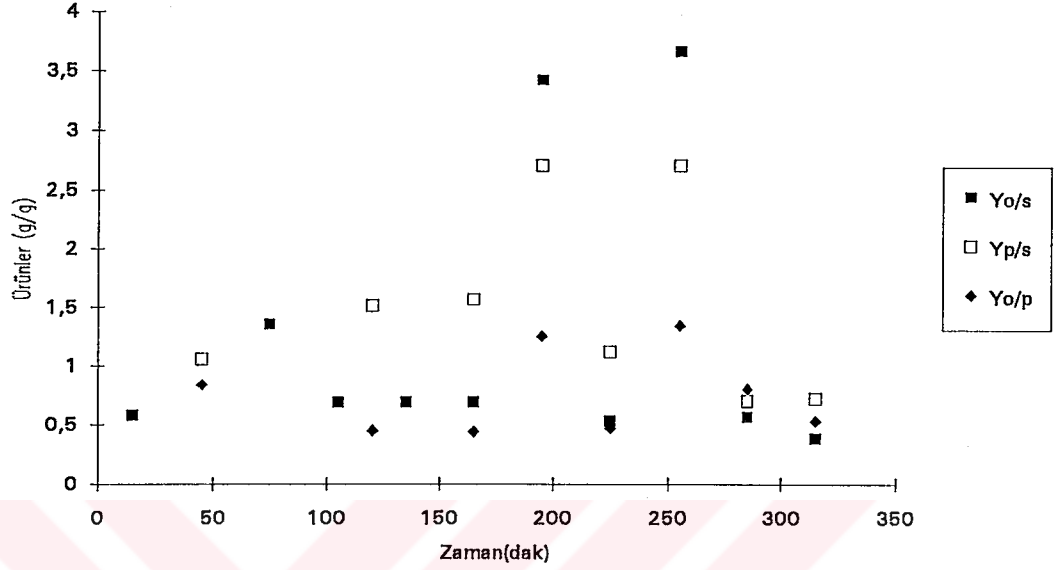


Şekil 4.23 Kesikli-beslemeli deneyde OTR ve CPR'nin zamana göre değişimi

OTR değerleri giderek artmaktadır..Ortamdaki besin, besin giderimi ve dolayısıyla hücre sentezi arttıkça oksijen tüketimi artmaktadır. Zira, besin tüketiminin yanısıra yeni sentezlenen hücrelerin solunum yapmaları da oksijen tüketimini artıracaktır. Besin giderimi ve protein sentezinin hızlı bir yükselişe geçtiği 250. dakika sonrası oksijen tüketiminde de gittikçe hızlanan bir artış görülmektedir. CPR değerleri ise görece sabit bir eğilim göstermektedir, ancak deneyin son bölümünde OTR ile birlikte CPR'de de artış söz konusudur. Kültür, besine alıştırmış bir kültür olduğu için buradaki CPR artışının solunum artışı ile bağlantılı olduğu söylenebilir.

### 4.2.3 Ürün Değerleri

Kesikli-beslemeli deneyde elde edilen ürün değerleri Şekil 4.24'te görülmektedir.



Şekil 4.24 Kesikli-beslemeli deneyde elde edilen ürün değerlerinin zamana göre değişimi

$Y_{o/s}$  ve  $Y_{p/s}$ 'ye ait olan ve substrat tüketimindeki dalgalanmadan kaynaklanan ikişer adet yüksek değer ihmal edilirse tüm ürün değerlerinin deneyin sonuna doğru azaldıkları gözlenmektedir.  $Y_{o/s}$  değerleri, deney başlangıcında kesikli deneylerde olduğu gibi artma eğilimine girmiş, ancak daha sonra uzun bir süre görece sabit kalmıştır. Bu süredeki ortalama  $Y_{o/s}$  değeri 0.84'tür. Tüm deneyin ortalama  $Y_{o/s}$  değeri ise 1.24 olup, 1.2 teorik değerine oldukça yakındır.

$Y_{p/s}$  de başlangıçta hafif artma eğilimine girmiş, ancak daha sonra yavaşça azalmıştır. Burada, substrattaki Lowry yöntemini etkileyecek maddelerin reaktörün içinde giderek biriktiğinin göz önünde bulundurulması gerekir. Nitekim  $Y_{p/s}$  değerleri çoğunlukla 0.86 teorik değerinin üzerindedirler. İhmal edilen değerler hariç ortalama  $Y_{p/s}$ , 1.11'dir. Ancak,  $Y_{p/s}$  değerlerinin deneyin sonuna doğru azalmaya başlaması, Lowry yöntemini etkileyen maddelerin de zamanla bakteriler tarafından tüketildiğini gösteriyor.

$Y_{o/p}$  değerleri ise deneyin genelinde sabit kalma eğilimindedir. Ortalama  $Y_{o/p}$  değeri, 0.77 iken, teorik değer 1.4 olarak verilmiştir. Ölçülen protein değerlerinin bir miktar yüksek olabileceği göz önünde tutulursa teorik değerlere yaklaşıldığı söylenebilir.

Bu deney için karbon dengesi kurulursa,

$$\text{Tüketilen organik karbon} = 1082 \times 70/100 = 75.74 \text{ g}$$

$$\text{Üretilen organik karbon} = (5.1 - 3.85) / 0.55 \times 360 / 678 \times 70 = 84.47 \text{ g}$$

$$\text{CO}_2 \text{ ile uzaklaşan karbon} = (0.155 \times 330 / 60) \times 70 \times 12/44 = 16.28 \text{ g}$$

$$\text{Reaktöre verilen inorganik karbon} = 220 \times 21.25/1000 \times 330/1000 = 1.54 \text{ g}$$

$$\text{Suda çözülmüş inorganik karbon artışı} = (500 - 400) \times 70 / 1000 = 7 \text{ g}$$

$$75.74 \text{ g} + 1.54 \text{ g} = 84.47 \text{ g} + 16.28 \text{ g} + 7 \text{ g}$$

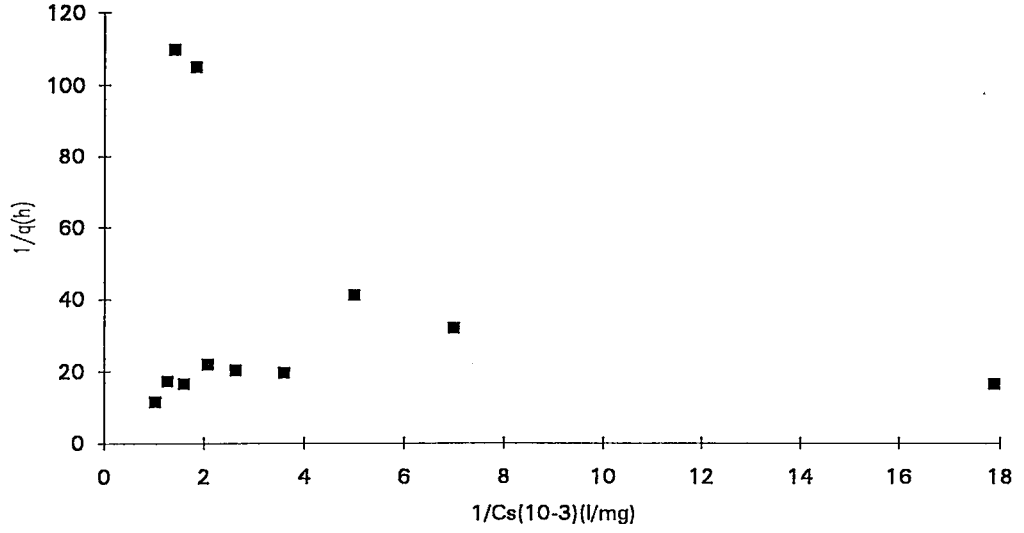
$$77.28 = 84.47 + 16.28 + 7$$

$$77.28 = 107.75$$

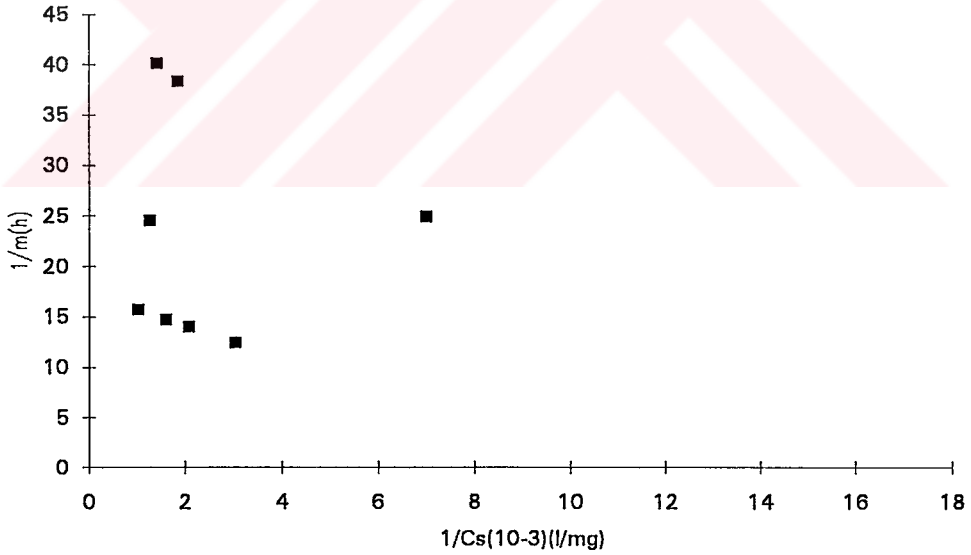
Kesikli çalışmada olduğu kadar iyi bir denge görülmemektedir. Bunun nedeni, verilen besin içinde bulunan Lowry yöntemini etkileyecek maddelerin kesikli-beslemeli süreç boyunca giderek artmasıdır. Reaktörün hacminin kabul edildiği üzere sabit kalmayıp giderek arttığı da düşünülecek olursa, reaktöre giren ve çıkan karbon miktarları arasındaki fark daha da açılacaktır.

#### 4.2.4 Reaksiyon Kinetiğinin Belirlenmesi

Reaksiyon kinetiğini belirlemek amacıyla Monod kinetiği, substrat tüketimi ve protein üretimi bakımından denendi. Substrat tüketimine ilişkin grafik Şekil 4.25'te, protein tüketimine ilişkin grafik de Şekil 4.26'da verilmiştir.



Şekil 4.25 Kesikli-beslemeli deneyde Monod kinetiğinin substrat tüketimi bakımından denenmesi

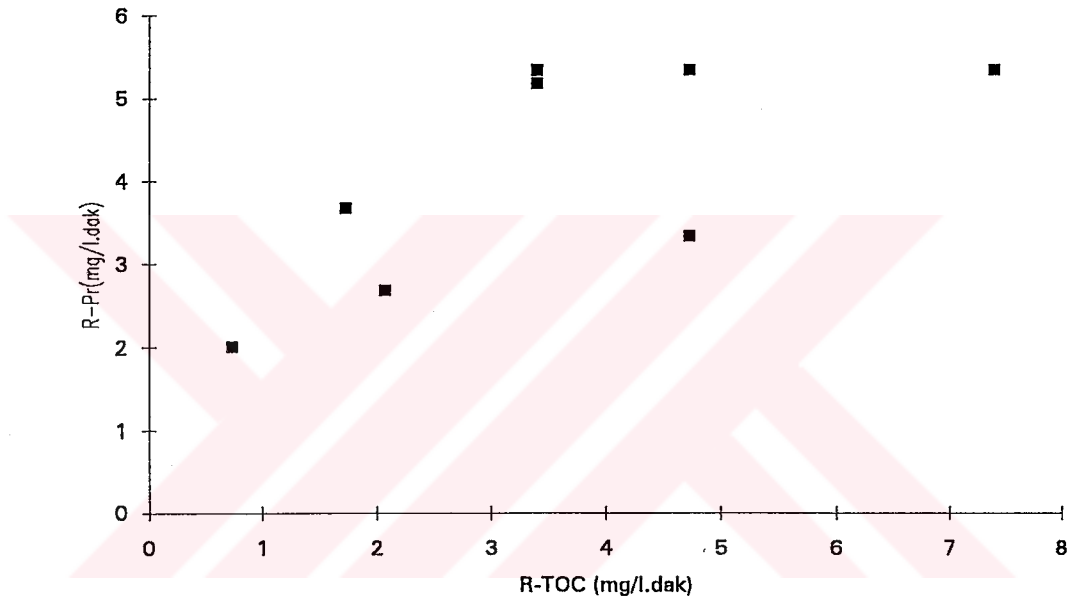


Şekil 4.26 Kesikli-beslemeli deneyde Monod kinetiğinin protein üretimi bakımından denenmesi

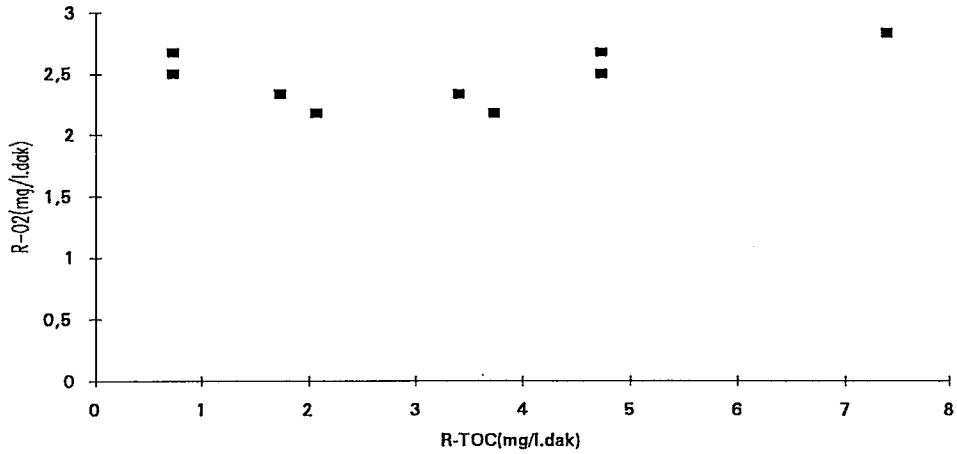
Substrat gideriminde genel eğilimden sapan üç değer ihmal edilirse,  $q_{\max} = 0.094 \text{ h}^{-1}$  ve  $K_m = 222 \text{ mg/l}$  ( $r = 0.82$ ,  $\sigma = 8.88$ ) değerleri bulunmaktadır. Protein üretiminde de iki değer ihmal edilirse  $\mu_{\max} = 0.068 \text{ h}^{-1}$  ve  $K_s = 70.4 \text{ mg/l}$  ( $r = 0.45$ ,  $\sigma = 5.02$ ); üç

değer ihmal edilirse  $\mu_{\max} = 0.09 \text{ h}^{-1}$  ve  $K_s = 150.8 \text{ mg/l}$  ( $r = 0.84$ ,  $\sigma = 4.36$ ) bulunmaktadır. Ancak ihmal edilen değer sayısının çokluğu ve bunlara bir açıklama getirilememesi nedeniyle her iki parametrenin de Monod kinetiğine kesin olarak uyduğu yorumu yapılamamaktadır. Özellikle protein üretiminin Monod kinetiğine uymadığı açıkça görülmektedir.

Aynı deneyde R-TOC ile R-Pr arasındaki ilişki Şekil 4.27’de, R-O<sub>2</sub> arasındaki ilişki de Şekil 4.28’de görülmektedir.



Şekil 4.27 Kesikli-beslemeli deneyde R-TOC ile R-Pr arasındaki ilişki



Şekil 4.28 Kesikli-beslemeli deneyde R-TOC ile R-O<sub>2</sub> arasındaki ilişki

Şekil 4.27’de substrat giderimi ile protein üretimi arasında iyi bir ilişki gözlenirken ( $r = 0.75$ ,  $\sigma = 1.37$ ), Şekil 4.28’de substrat ve oksijen tüketimi arasında böyle bir ilişki gözlenmemektedir ( $r = 0.39$ ,  $\sigma = 0.2$ ). Bu parametreler birbirinden bağımsızdır.





### 4.3. Engelli Büyüme Deneyleeri

Engelli büyüme deneyleeri PAKMAYA aktif çamur havuzlarında zaman zaman gözlenen yüksek  $\text{NH}_3 + \text{NH}_4$  derişimlerinin (özellikle de  $\text{NH}_3$ ) bakteriler için inhibisyona yol açıp açmadığının belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Bu deneyleerde, kesikli-beslemeli sürecin belli bir anında reaktöre amonyum tuzları atılarak ortamdaki amonyak miktarının artırılması ve amonyak engellemesi yaratılması amaçlandı. Süreç belirli bir süre bu şekilde izlendikten sonra pH düşürülerek ortamdaki amonyak düşük bir seviyeye indirildi.. Sistemdeki bu değişimlerin substrat tüketimine ve protein üretimine etkileri izlendi.

#### 4.3.1. Birinci Engelli Büyüme Deneyleeri

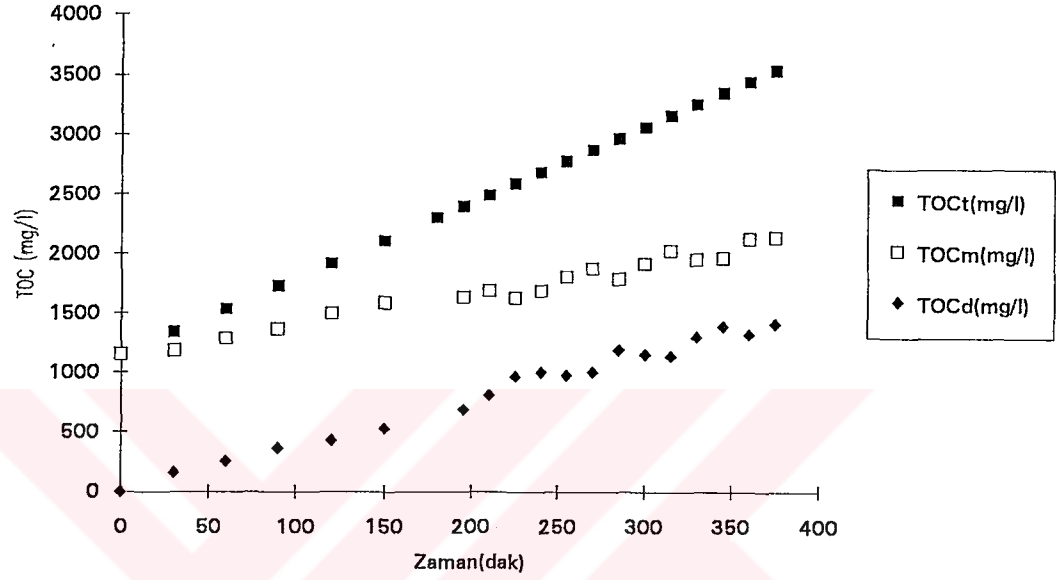
Deneylee, kesikli-beslemeli olarak başlatıldı. Önceki deneyleerde sağlanan reaktör şartları (26 °C, 9 l/dak. hava debisi ve 3 rps karıştırma hızı) bu deneyleerde de sağlandı. Bakteriler bir gece önceden beslenerek besine alıştıırıldı. Kesikli-beslemeli süreçte kullanılan substrat özellikleri  $\text{TOC} = 17,100 \text{ mg/l}$ ,  $\text{IC} = 280 \text{ mg/l}$ ,  $\text{protein} = 18.6 \text{ g/l}$  olarak belirlendi. OTR ve CPR 120. dakikadan sonra ölçülmeye başlandı. 180. dakikada reaktöre 200 g amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) atıldı ve pH NaOH ile 8.04'e çıkarıldı. 260. dakikaya kadar bu seviyede tutlmaya çalışılan pH, bu dakikada hidroklorik asit (HCl) ile 7.5'e düşürüldü. 360. dakikada çözünmüş oksijen değerinin büyümeylee sınırlayıcı bir değere düşmesi nedeniyle karıştırma hızı 5 rps'ye çıkarıldı. Elde edilen değerler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Engelli Büyüme Deneyi I' de Elde edilen Sonuçlar

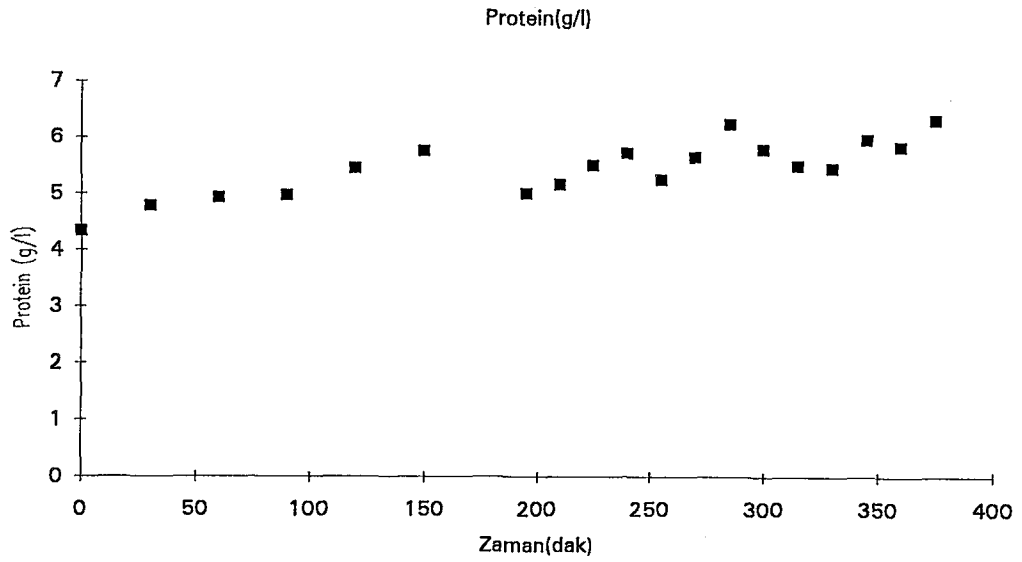
Zaman (dak)	TOCt (mg/l)	TOCm (mg/l)	TOCd (mg/l)	Protein (g/l)	pH	O2 (mg/l)	NH3+NH4 (mg/l)	OTR (kg/m <sup>3</sup> h)	CPR (kg/m <sup>3</sup> h)
0	1150	1150	0	4,33	7,62	6,63	2,5		
15					7,59	5			
30	1340	1180	160	4,78	7,57	4,61	3,65		
45					7,55	4,45			
60	1531	1280	251	4,92	7,53	4,29	5		
75					7,53	4,21			
90	1721	1360	361	4,97	7,53	4,13	5,5		
105					7,53	4,05			
120	1912	1490	422	5,45	7,53	4,05	6,5		
135					7,52	3,96		0,17	0,15
150	2102	1580	522	5,75	7,52	3,88		0,21	0,19
165					7,53			0,22	0,19
180	2293				8,04	2,27		0,25	0,2
195	2388	1630	678	4,99	7,96	2,1	800	0,26	0,06
210	2483	1680	803	5,15	7,82	2,1	750	0,26	0,07
225	2579	1620	959	5,49	7,64				
240	2674	1680	994	5,71	7,93	1,62	700	0,27	0,07
255	2769	1800	969	5,24	7,91	1,78		0,26	0,06
270	2864	1870	994	5,64	7,48	1,62	690	0,26	0,16
285	2960	1780	1180	6,23	7,46	1,62		0,26	0,26
300	3055	1910	1145	5,79	7,42	1,46	650	0,27	0,27
315	3150	2020	1130	5,49	7,42	1,38		0,27	0,28
330	3245	1950	1295	5,45	7,41	1,29	680	0,27	0,28
345	3341	1960	1381	5,96	7,4	1,29		0,28	0,3
360	3436	2120	1316	5,83	7,4	2,27	650	0,3	0,33
375	3531	2130	1401	6,31	7,4	2,27		0,3	0,33

#### 4.3.1.1 Verilerin Yorumlanması

Deney süresince harcanan TOC ile protein konsantrasyonlarının izlediği grafikler sırasıyla Şekil 4.29 ve 4.30'da görülmektedir.



Şekil 4.29 Engelli büyüme deneyi I' de zamana göre TOC tüketimi

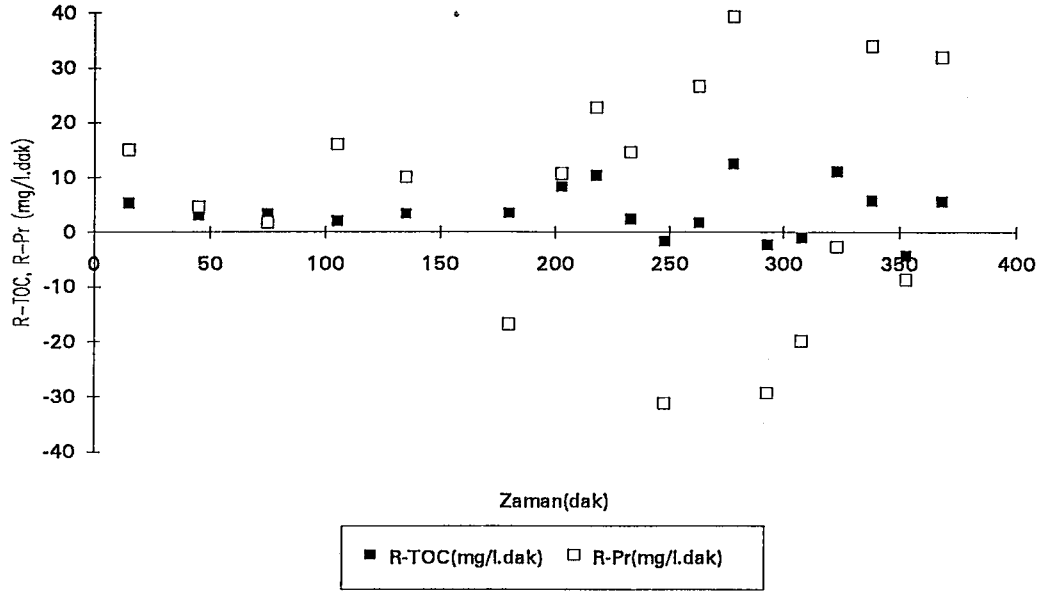


Şekil 4.30 Engelli büyüme deneyi I' de proteinin zaman göre değişimi

Reaktöre amonyum klorürün atıldığı 180. dakikaya kadar TOC tüketiminde de, protein üretiminde de sabit bir artış görülmektedir. Bu dakikadan itibaren TOC tüketimi artışını bir süre daha devam ettirdikten sonra dalgalı bir şekilde artma eğilimine girmiştir. Protein ise amonyum klorürün atılmasıyla hemen azalmış, ancak daha sonra, TOC gibi dalgalı bir artma eğilimi izlemeye başlamıştır. Burada, amonyum dolayısıyla yoğun bir bakteri ölümü beklenemeyeceğine göre (TOC gideriminde bir azalma olmaması da bunu gösteriyor) protein sentezinde ani bir duraklamayı, ya da daha olası olarak Lowry ölçümünü etkileyen demir iyonları gibi bazı maddelerin atılan amonyum klorür ile reaksiyona girerek inorganik bileşikler oluşturmaları ve Lowry üzerindeki etkilerini yitirmelerini göz önüne almak daha mantıklı olacaktır. Nitekim deneyin bu noktadan sonraki bölümünde, TOC tüketimi ile protein arasında, kısa süreler için olsa da, neredeyse bire bir bir eğilim benzeşmesi söz konusudur. Amonyum klorür eklenmesinden sonra her iki parametrede de meydana gelen dalgalanmaların karmaşık besinlerin parçalanmasından mı, yoksa yaratılmaya çalışılan amonyak inhibisyonundan mı ileri geldiği sorusu ise ileride tartışılacaktır.

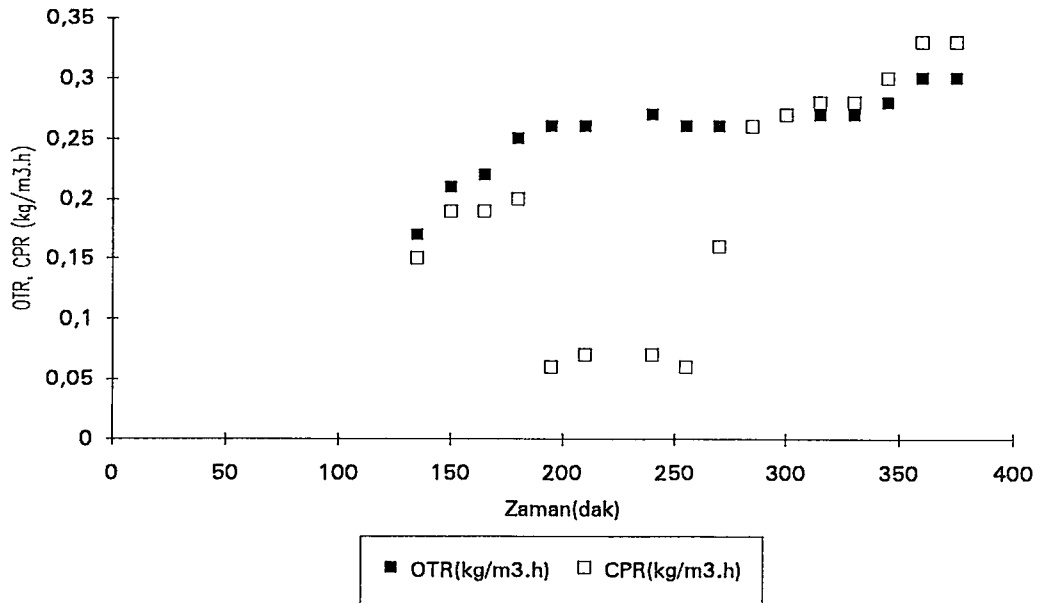
IC değerleri ise amonyum atılana kadar 110 mg/l'den 150 mg/l'ye çıkmış, ancak amonyumun atılmasından sonra bir süre sabit kalmış, ardından yavaşça azalarak 130 mg/l'ye gerilemiştir.

Deneye ilişkin kinetik değerlerin hesaplanması, görülen dalgalanmalar nedeniyle güçlükler arz etmektedir. Özellikle protein değerlerinin deneyin hiçbir bölümünde uzun süreli sayılabilecek bir eğilimleri mevcut değildir. Bu bakımdan pozitif R-Pr değerlerinin elde edilmesi, elde edilen protein değerlerinin yaklaşık yarısının ihmal edilmesini gerektirmektedir. R-TOC'ta ise bu oran dörtte birdir. Bunun yerine, meydana gelen zıt eğilimlerin de bir anlamı olduğu düşünülerek, azalma görülen durumlarda hız değerleri negatif olarak alındı. TOC tüketimi ve protein üretimi hızları Şekil 4.31'de görülmektedir.



Şekil 4.31 Engelli büyüme deneyi I' de R-TOC ve R-Pr'nin zamana göre değişimi

Protein üretiminde görülen savrulmalar büyük olasılıkla protein ölçümlerindeki yoğun seyrelmelerden kaynaklanmaktadır. Ancak her iki eğilimin deney süresince bir uyum içinde oldukları söylenebilir. OTR ve CPR grafiği ise Şekil 4.32'de verilmiştir.



Şekil 4.32 Engelli büyüme deneyi I' de OTR ve CPR'nin zamanla değişimi

180. dakikadan itibaren yavaşlayan ve 200. dakikada duran OTR, pH'ın yükseltildiği 260. dakika sonrası yeniden artmaya başlamıştır. OTR grafiğinden net bir inhibisyonun varlığı görülebilir, ancak bu süre içinde TOC gideriminin devam etmesi biyolojik faaliyetin sürdüğünü göstermektedir. Burada baskın bakteri türü dönüşümü söz konusu olabilir. Daha önceki ortama alışık olan bakteriler, yaratılan bu yeni ortama henüz alışmamış ve doğal olarak nitrit ve nitrat tüketici bakteriler bu bölümde öne çıkmış olabilirler. Oksijen transferinde son saat içinde izlenen hızlı artış ise daha çok karıştırma hızının artırılması sonucudur.

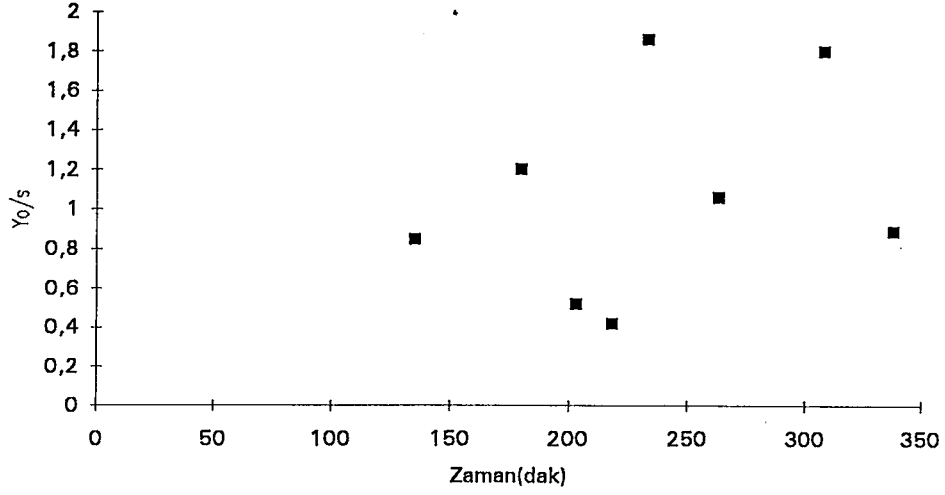
CPR ise OTR ile aynı eğilimi izlemektedir, ancak pH'ın yüksek tutulduğu dakikalarda büyük bir düşüş söz konusudur. Bunun nedeni pH'taki yükselişin sudaki karbon dioksit / bikarbonat dengesini CO<sub>2</sub> aleyhine bozmasıdır:



pH yükseltildiğinde sistem dengeyi yeniden sağlamak üzere reaksiyon sağ tarafa doğru baskın hale gelir. Bu da sistemdeki çözünmüş karbon dioksitin tükenmesine ve üretilen karbondioksitin suda çözünmesine yol açar. Neticede reaktörden çıkan havadaki CO<sub>2</sub> miktarı düşer. Nitekim pH serbest bırakıldıktan sonra sistem hızla eski dengesine kavuşmuştur.

Çözünmüş oksijen miktarı ise özellikle amonyum klorür ilavesinden sonra hızlı bir düşüş içine girmiştir. Yüksek miktarda oksijen tüketimi ve pH'ın kontrol edilmediğinde hızlı bir düşüşe geçmesi (195.-225. dakikalar arası) ortamda hızlı bir nitrifikasyon işleminin olduğunun kanıtıdır (Bkz. (2.27 - 2.28) denklemleri).

Protein değerlerindeki dalgalanmalar bu parametreye ilişkin ürün değerlerini anlamsız kılmaktadır. TOC değerlerindeki dalgalanmaların ihmal edilmesiyle oluşan Yo/s grafiği Şekil 4.33'te verilmektedir.



Şekil 4.33 Engelli büyüme deneyi I' de Y<sub>0/s</sub>'nin zamana göre değişimi

Değerler net bir eğilimi ortaya koymasalar da özellikle amonyum atılmasıyla artmaya başlayan, ve daha sonra 1.5 civarlarında sabit kalan bir eğilimin var olduğu söylenebilir. Bu da (1.46) denkleminde elde edilen teorik 1.86 ( $76 \times 32 / (109 \times 12)$ ) değerine yakın bir değerdir.

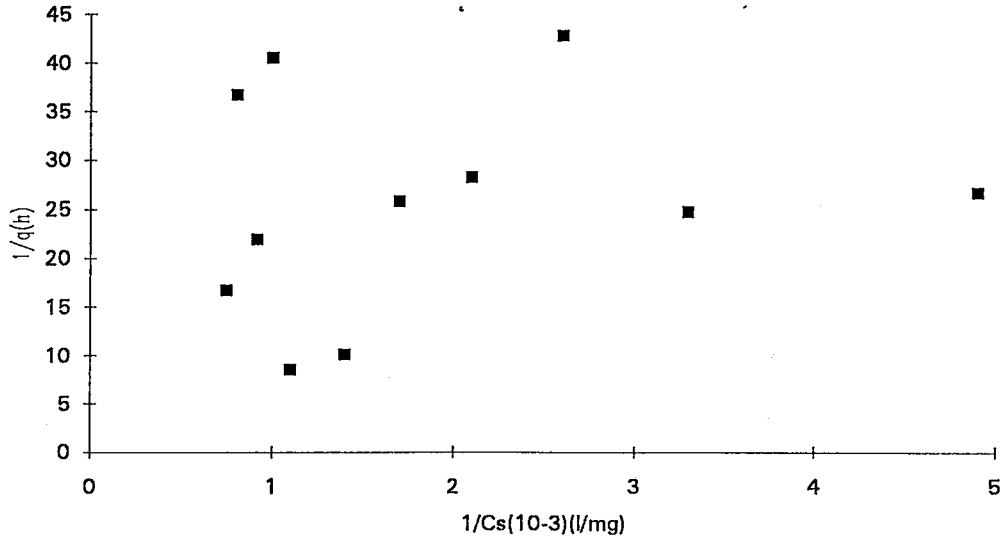
Denge kurulmaya çalışılırsa;

Tüketilen TOC + Verilen IC = Üretilen biyokütle karbonu + CO<sub>2</sub> ile uzaklaşan karbon  
+ suda çözünen inorganik karbon (tüm sistem için 110  
mg/l'den 130 mg/l'ye)

$$98,07 \text{ g} + 2,23 \text{ g} = 101,37 \text{ g} + 23,86 \text{ g} + 1,4 \text{ g}$$

$$100,3 = 126,63$$

Deneydeki substrat gideriminin Monod kinetiğine göre grafiği Şekil 4.34'te görülmektedir (birinci ve sonuncu değerler ihmal edilmiştir).



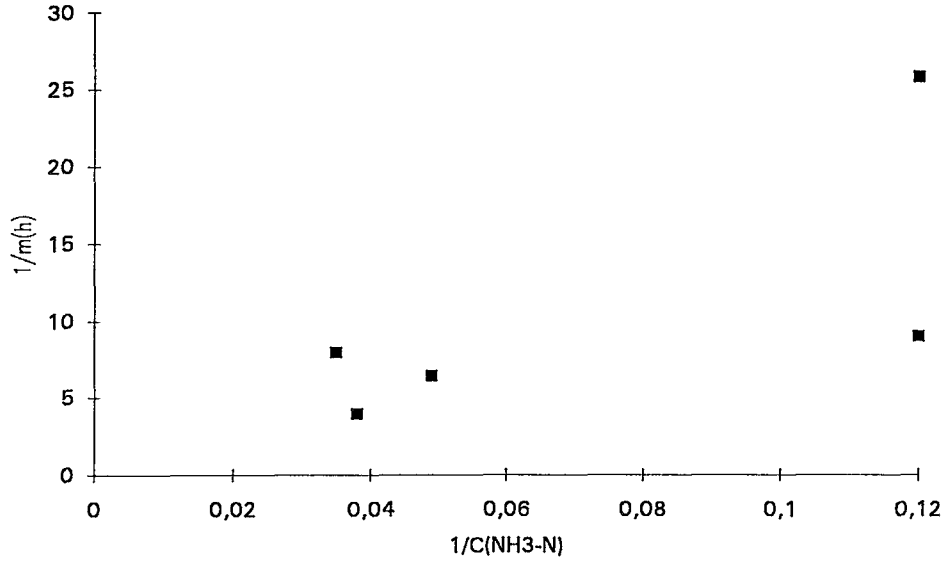
Şekil 4.34 Engelli büyüme deneyi I' de Monod kinetiğinin substrat giderimine uygulanması

Substrat giderimi Monod kinetiğine uymamaktadır.

#### 4.3.1.2 İnhibisyonun İncelenmesi

Bölüm 2.3.2.1'de amonyak inhibisyonunun  $\text{pH} < 9$  ve  $c(\text{N}) < 65$  mg/l ( $\text{NH}_4\text{-N} + \text{NH}_3\text{-N}$ ) belirtilmişti. Engelli büyüme deneyinin başlangıcında  $\text{NH}_3$  ve  $\text{NH}_4$  toplamı 5 mg/l civarındadır. (2.34) denklemine göre  $\text{NH}_3$  ve  $\text{NH}_4$  miktarları hesaplanırsa sırasıyla yaklaşık olarak 0.1 ve 4.9 mg/l bulunur. Buradan toplam N =  $(0.1 \times 14/17 + 4.9 \times 14/18) = 3.9$  mg/l bulunur. pH'ın 7.5 civarında olduğu düşünülürse ortamda herhangi bir amonyak inhibisyonu yoktur. Reaktöre atılan amonyum klorürden sonra bu miktar toplam 800 mg/l'ye ve amonyak ve amonyum azotu toplamı da 624 mg/l'ye çıkmıştır. Ancak bu değerler deneyin sonunda sırasıyla 650 ve 506 mg/l'ye düşmüştür. Bu durum, ortamda bir nitrifikasyon işleminin varlığını ve dolayısıyla büyümenin Haldane kinetiklerince belirlenebileceğini göstermektedir. Ancak, amonyum klorürün atıldığı 180. dakika sonrası, biyokütle parametresi olarak kullanılan protein değerleri, oldukça dalgalı bir görüntü arz etmektedir.  $C(\text{NH}_3\text{-N})$  değerleri ile bu süre içinde seçilen yedi adet protein değeri kullanılarak (2.32) denklemine göre yapılan kinetik değerlendirme grafiği Şekil 4.35'te görülmektedir.





Şekil 4.35 Engelli büyüme deneyi I' de inhibisyon kinetiğinin incelenmesi

Şekil 4.35'ten (en üst değer ihmal edilince)  $\mu_{max} = 0.23 \text{ h}^{-1}$ ,  $K_{SH} = 4.6 \text{ mg/l}$  ( $r = 0.66$ ,  $\sigma = 1.92$ ) değerleri bulunmaktadır. İnhibisyon kinetiği, görüleceği üzere Haldane kinetikleriyle de pek iyi bir uyum göstermemektedir, ancak amonyum klorürün atıldığı noktadan itibaren değerlendirilen substrat giderimi ve protein üretimi ile Monod kinetiği ilişkilerinin negatif sonuçlar vermesi, deneyin bu bölümündeki protein üretiminin bir bakıma reaktördeki amonyak derişimi ile ilgili olduğunu göstermektedir. Wiesmann (1994)'te amonyak azotu için verilen  $K_{SH}$  değeri  $0.71 \text{ mg/l}$ 'dir. Yine aynı kaynaktan Nitrosomonasların  $\text{NH}_4^+$  oksidasyonu için  $26 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de  $\mu_{max} = 1.04 \text{ gün}^{-1}$  verilirken burada bulunan değer  $5.52 \text{ gün}^{-1}$ 'dir. Protein ölçümündeki seyreltmeler ve yöntemi etkileyen faktörler, özellikle kesikli-beslemeli deneylerde hatalara yol açmaktadır. Ancak bu hataların bu derece büyük bir farka yol açabileceği düşünülemez. Bu bakımdan ortamda birden çok bakteri türünün bileşik faaliyeti olduğu daha akla yatkındır.

Amonyum azotu derişimleri ile uygulanan Haldane kinetikleri ise anlamsız çıkmaktadır. Bundan dolayı, eğer var ise, inhibisyon daha çok amonyak derişimi ile ilgilidir.

#### 4.3.2. İkinci Engelli Büyüme Deneyi

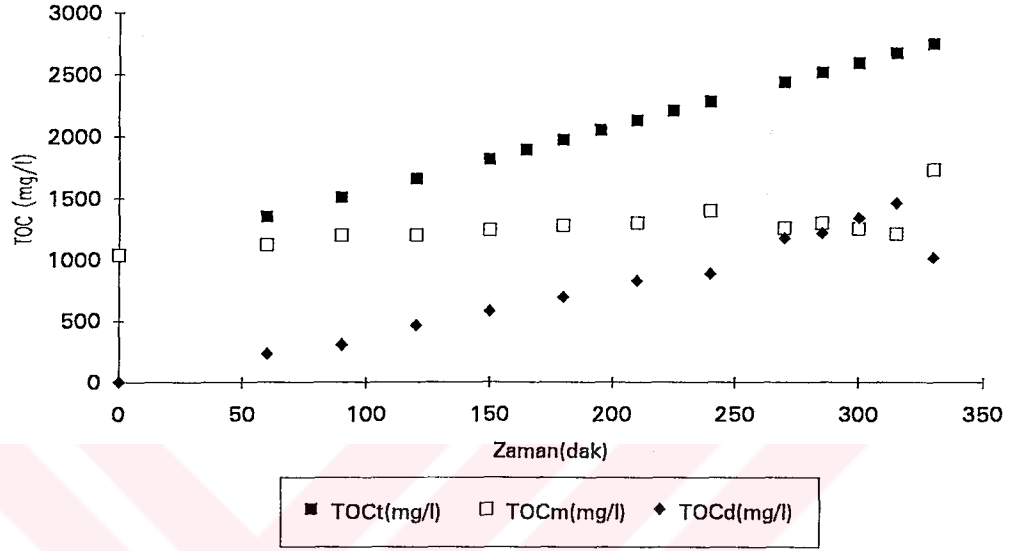
Bu deney, Bölüm 4.1’de verilen kesikli deneylerin sonuncusunun devamında (bir gün sonrasında) yapıldı. Deneyde havuzdan alınan örnekteki  $\text{NH}_3+\text{NH}_4$  derişimi 200 mg/l olup, yaklaşık 160 mg/l ( $\text{NH}_3\text{-N}+\text{NH}_4\text{-N}$ ) içermekteydi. Bu durumda örneğin kendiliğinden bir amonyak inhibisyonu içerdiği söylenebilir. Kesikli deneyin sonunda bu miktar 110 mg/l’ye (85 mg/l N) düştü. Kesikli-beslemeli olarak başlayan deneyde reaktöre, deneyin 145. dakikasında 200 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ve 195. dakikasında da 50 g amonyum sülfat  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  atılarak reaktörün  $\text{NH}_3+\text{NH}_4$  derişimi önce 780 mg/l’ye, daha sonra da 900 mg/l’ye çıkarıldı. 8 civarında olan pH’a dokunulmadı. 270. dakikada pH HCl ile 7.5 seviyesine indirildi.

Deneyde elde edilen sonuçlar, Tablo 4.7’de verilmiştir.

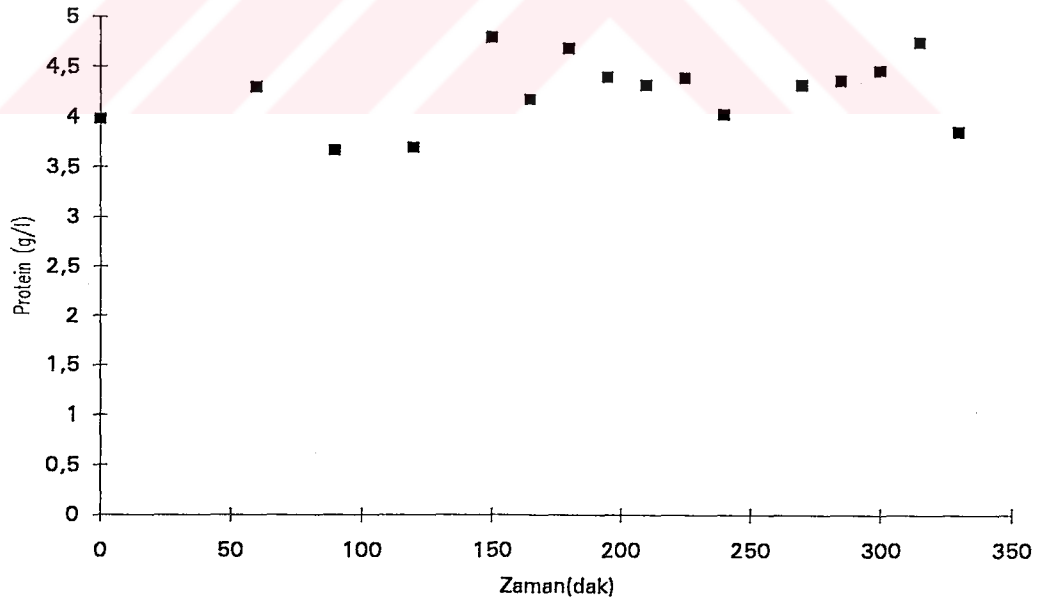
Tablo 4.7 Engelli Büyüme Deneyi II’de Elde Edilen Sonuçlar

Zaman (dak)	TOCt (mg/l)	TOCm (mg/l)	TOCd (mg/l)	Protein (g/l)	$\text{NH}_3+\text{NH}_4$ (mg/l)	pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	OTR (kg/m <sup>3</sup> .h)	CPR (kg/m <sup>3</sup> .h)
0	1040	1040	0	3,97	115	8,05	7,12		
60	1350	1120	230	4,29	120	7,97	7,12		
90	1505	1200	305	3,66	125	7,95	6,97		
120	1660	1200	460	3,68	125	7,95	6,91	0,19	0,21
150	1815	1240	575	4,78	780	7,97	6,97	0,19	0,23
165	1895			4,16		7,96	6,91	0,19	0,21
180	1970	1280	690	4,67	780	7,95	6,87	0,19	0,21
195	2050			4,38		7,95	6,87	0,19	0,22
210	2125	1300	825	4,3	900	7,95	6,8	0,19	0,22
225	2205			4,37		7,95	6,73	0,19	0,22
240	2280	1400	880	4,01	880	7,94	6,73	0,19	0,22
270	2435	1260	1175	4,3	880	7,62	6,65	0,19	0,59
285	2515	1300	1215	4,35		7,57	6,73	0,18	0,67
300	2590	1250	1340	4,45	880	7,49	6,65	0,17	0,79
315	2670	1210	1460	4,73		7,18	6,57	0,13	1,67
330	2745	1730	1015	3,83	890	7,56	6,73		

Deneyde gözlenen TOC giderimi Şekil 4.36'da, protein üretimi de Şekil 4.37'de verilmektedir.



Şekil 4.36 Engelli büyüme deneyi II' de TOC gideriminin zamanla değişimi



Şekil 4.37 Engelli büyüme deneyi II' de protein derişiminin zamanla değişimi

Reaktöre amonyum eklenmesi TOC gideriminde bir etkiye neden olmamıştır. Bu bakımdan sistemde ya varolan engelli büyüme devam etmiş, ya da sistem 900 mg/l'ye varan  $\text{NH}_3+\text{NH}_4$  derişiminden etkilenmemiştir. Ancak, pH düşürülerek ortamdaki amonyak derişimi azaltılınca TOC gideriminde bir hızlanma görülmektedir. Fakat bu hızlanmanın ortamdaki amonyağın giderilmesinden dolayı meydana geldiği kesin değildir. Zira ortamdaki amonyak-amonyum değerlerinde bir azalma görülmemektedir. Buna ek olarak ne çözünmüş oksijen miktarı büyük oranda azalmış, ne de serbest bırakıldığında sistemin pH'ında hızlı bir düşme görülmüştür. Dolayısıyla, ortamda bir nitrifikasyondan söz etmek olası değildir. Bu bakımdan ortamda bir inhibisyon olmadığı ve deneyin son kısmında gözlenen hızlanmanın da sistemdeki biyokütlenin normal gelişimini izleyerek giderek daha fazla TOC tüketmesi nedeniyle oluştuğunu düşünmek daha mantıklıdır. Dahası, deney süresince inorganik karbon miktarı, pH düşürülene kadar 200 mg/l'den 260 mg/'ye çıkmıştır. Fark, o ana kadar substrat ile reaktöre verilen yaklaşık 25 mg/l'dan daha büyüktür, dolayısıyla ortamda bir inorganik karbon kullanımı yoktur. İnorganik karbon değerlerinde pH'ın düşürülmesinden sonra hızlı bir düşme görülmüştür (260 mg/l'den 140 mg/l'ye), ancak bunun nedeni pH'ın düşürülmesiyle (4.1) denkleminin  $\text{CO}_2$  lehine bozulmasıdır. Zaten bu durum, CPR değerlerindeki ani yükselmeden de görülebilir.

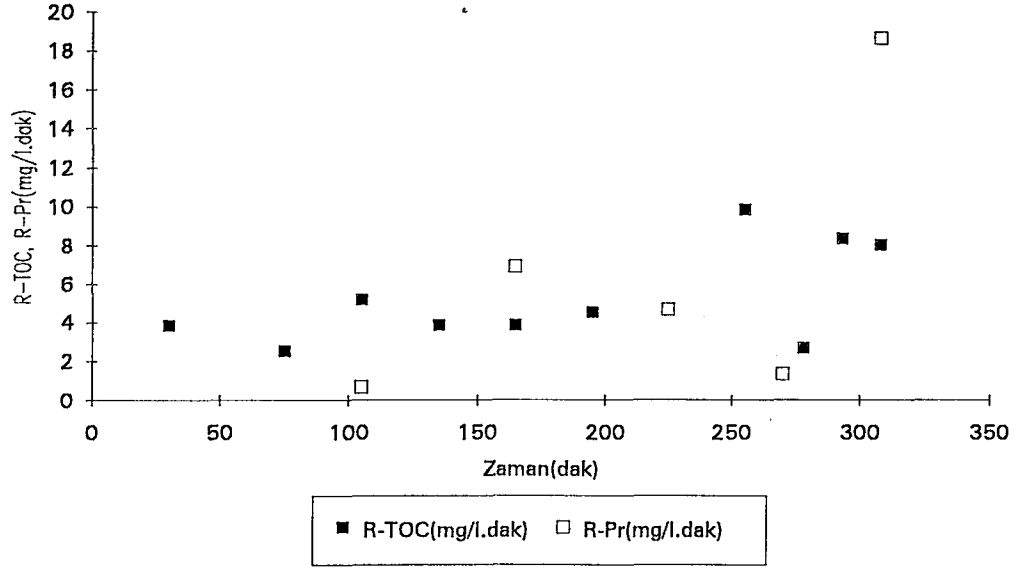
TOC gideriminde son anda gözlenen düşme, pH kontrolünün iyi yapılamaması nedeniyle pH'ın 7.18'e kadar düşmesi sonucu oluşmuştur ve bu durum hem protein hem de OTR değerlerindeki azalmadan da görülebilir. Ortamın, görel olarak asidik bir duruma gelmesinin bakterilerin ölümüne yol açmış olabileceği düşünülebilir, ancak bu pH değeri birçok bakterinin rahatlıkla yaşayabileceği bir aralık içindedir. Hatta Benefield (1980)'de bakterilerin optimum pH aralığı 6.5 -7.5 olarak verilmektedir. Yine de böylesi bir pH düşüşünde, önceki ortama alışık bakterilerin bir şok yaşayacakları, en azından biyolojik faaliyetlerini yavaşlatacakları beklenebilir. Bu durum OTR'deki hızlı düşüşü açıklar. Ancak ölçülen TOC derişiminin 15 dakika içinde 500 mg/l'lik bir sıçrama yapması sadece biyolojik etkinliğin yavaşlamasıyla açıklanamaz. Aynı şey, protein miktarındaki yaklaşık 900 mg/l'lik düşüş için de geçerlidir. Bir ihtimal, görece asidik ortamda yüksek organiklerin parçalanması ve ortaya çıkan ürünlerin ölçümlerde üst sıvıda kalan organik karbon miktarını artırmasıdır, ama bu durumda da protein düşüşü hala açıklanamamaktadır, zira bu

parçalanma sonucunda muhtemelen Lowry yöntemini etkileyecek maddeler (örneğin, yüksek şekerlerin parçalanması sonucu glukoz) de açığa çıkacaktır. Belki bir açıklama bu ortamda serbest ya da hücre dışı proteinlerinin de parçalandığıdır, ancak bu da oldukça yüksek bir hücre dışı/hücre içi proteinler oranını göstermektedir.

Öte yandan eğer ortamda nitrifiye edici bakteriler baskın durumdaysa, bu bakteriler için optimum pH aralığının 8 - 8.4 olduğu ve ayrıca pH değişimlerine çok hassas oldukları (Benefield, 1980) düşünülürse, 7.0 civarındaki pH değerlerinde ortamdaki yok olmaları elde edilen sonuçları açıklayabilir, ancak bu durumda da reaktörde neden nitrifikasyonun oluşmadığı sorusu cevapsız kalmaktadır.

Protein derişimi, diğer bazı deneylerde de olduğu gibi 120. dakikada en düşük değerine ulaşmış, bu noktadan sonra artmaya başlamıştır. Ancak, TOC giderimini etkilemeyen yüksek amonyak-amonyum derişimleri protein derişimlerini etkilemiş gözükmektedir, zira 145. dakikadan amonyağın giderildiği 270. dakikaya kadar protein değerlerinde bir sabitleme eğilimi görülmektedir. TOC tüketimi sürerken protein üretilmemesi daha önceki kesikli ve kesikli-beslemeli deneylerde karşılaşılmayan, engelli deneylere özgü bir durum gibi gözükmektedir.

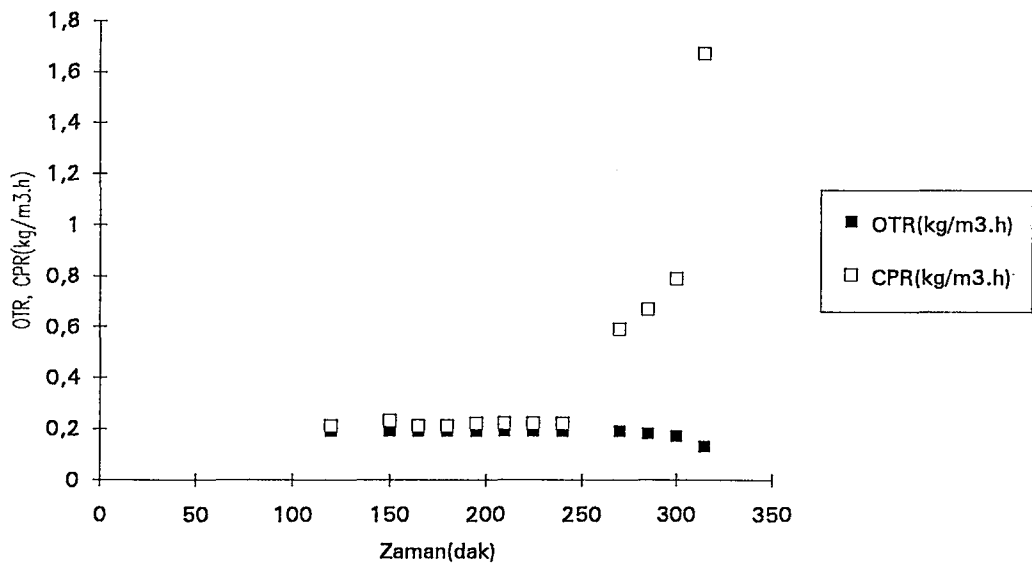
Protein ölçümleri sabit bir eğilim göstermedikleri için protein üretimine ilişkin kinetik değerler ancak seçilen değerler üzerinden yapılabilmektedir. Seçilen yedi protein değeri ile elde edilen R-Pr ve son değerin ihmal edilmesiyle elde edilen R-TOC değerleri Şekil 4.38'de görülmektedir.



Şekil 4.38 Engelli büyüme deneyi II'de R-TOC ve R-Pr'nin zamanla değişimi

R-TOC, 100. ve 200. dakikalar arasında 4 mg/l.dak civarında sabit iken, 250. dakikadan sonra yaklaşık 8 mg/l.dak'a çıkmıştır. Bölüm 4.2'de incelenen kesikli-beslemeli deneyin sonunda da buna benzer bir artış görülmesi, hızdaki bu artmanın bir sistem özelliği olduğuna delalet etmektedir.

Denyede kaydedilen OTR ve CPR grafiği Şekil 4.39'da verilmektedir.



Şekil 4.39 Engelli büyüme deneyi II'de OTR ve CPR'nin zamanla değişimi

Deneydeki ortalama ürün değerleri  $\dot{Y}_{o/s} = 0.7$ ,  $Y_{p/s} = 0.73$ , ve  $Y_{o/p} = 0.95$  olarak kesikli-beslemeli deneyde elde edilen sonuçlara yakındır.

Kinetik değerlendirmeler protein üretimi bakımından yapılamamaktadır. Substrat giderimi Monod kinetiğine uymamaktadır.

Denge ise şu şekildedir (315. dakikaya kadar; proteinin 3.7'den 4.8'e çıktığı varsayılarak) :

$$102.2 \text{ g} + 1.9 \text{ g} + 4.2 \text{ g}^* = 74.3 \text{ g} + 53.1 \text{ g}$$

$$108.3 = 127.4$$

\* İnorganik karbon deney süresince 200 mg/l'den 140 mg/l'ye düştü. Bu bakımdan fark sağ tarafa yazıldı.

Engelli ya da engelsiz, tüm kesikli-beslemeli süreçlerde denge % 15 - % 30 oranında ürünler lehinde çıkmaktadır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan kesikli ve kesikli-beslemeli deneylerde proteinin iyi bir aktif biyokütle parametresi olabileceği görüldü. Protein üretim hızı, substrat tüketimi ile diğer parametrelerden (KM, UKM ve OTR) daha iyi bir uyum gösterdi. Ancak, besin olarak kullanılan maya endüstrisi ham atıksuyunda protein ölçümlerinde kullanılan Lowry yöntemini etkileyecek maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler, atıksu içindeki biyokütle miktarının tahmin edilmesinde, bu değerin olduğundan daha büyük görünmesine yol açan hatalara neden olmaktadır. Buna ek olarak kesikli-beslemeli deneylerde dengenin sağlanamamasının ya da ürünler lehine % 15- % 30 fazla çıkmasının nedeninin de bu maddeler olduğu düşünülmektedir.

KM ve UKM değerleri, besinin ve atıksuyun içinde bulunan yüksek organik maddelerden büyük oranda etkilenmekte, ve hatta, deney süresince bu maddelerin bakterilerce tüketilmeleri sonucu gösterdikleri eğilimi yansıtmaktadırlar. Her ikisinde de protein içeriği deney süresince artmaktadır.

OTR ve CPR ise, sistemdeki biyolojik faaliyetin gidişatı hakkında bilgi vermektedirler, ancak, bu parametrelerin gerek substrat tüketimiyle, gerekse protein (ya da biyokütle) üretimiyle net bir ilişkileri saptanamamıştır. Bu parametreler daha çok, alınan atıksu örneğine ilişkin içsel bir özelliği yansıtmaktadırlar. Büyüklükleri, örnekteki bakteri türlerinin kullandıkları solunum yollarıyla ilişkili görünmektedir, zira örnekler reaktöre konuldukları anda kaydedilen OTR ve CPR değerleri, sisteme şok etkiler olmadığı müddetçe pek fazla değişmemektedirler.

Substrat, oksijen ve proteine ilişkin fark değerlerinden elde edilen ürün değerlerinde, genel olarak teorik değerlere yaklaşılmıştır, ancak, oksijen tüketimi tüm deneylerde teorik değerlere nazaran düşük kalmaktadır. Bu durum, bakterilerin ortam özelliklerine göre farklı oksijen yolları kullanma yetenekleriyle açıklanabilir. Özellikle reaktörde yaratılan yoğun ortam, çoğunlukla evsel atıksular için geliştirilen teorik değerlerden bir miktar sapılmasının nedeni olabilir.



$Y_{o/s}$  değerleri kesikli sistemlerde en yüksek değerine deneyin orta kısımlarında ulaşan bir eğri çizmektedir. Bunun nedeni, bakterilerin yoğun besin ortamında öncelikle besin tüketimi yerine besin absorplama yoluna gitmeleri ve daha sonra oksijen kullanarak besinleri tüketmeleri ile açıklanmıştır.  $Y_{p/s}$  değerleri ise kesikli sistemlerde giderek artmakta; kesikli-beslemeli sistemlerde ise deneyin büyük bölümünde sabit kalıp son kısımda bir miktar azalan bir grafik çizmektedirler. Bu değerler genel olarak teorik değerlere yakın değerlerdir. Ama, kesikli-beslemeli deneyde Lowry yöntemini etkileyen maddelerin reaktörde birikmesi dolayısıyla, özellikle deneyin sonlarına doğru teorik değerleri açan değerlere ulaşılmıştır.

Kinetik çalışmalarında ise substrat giderimi ve protein üretiminin Monod kinetiklerine uygunlukları denenmiştir. Kesikli deneylerde gerek substrat tüketimi, gerekse protein üretimi Monod kinetiği ile iyi bir uyum sergilememiştir. Ancak reaksiyon derecesi, diğer pekçok endüstriyel atıksuda olduğu gibi, burada da birinci derecedendir. Birinci derece reaksiyon hız sabiti ise  $0.047 \text{ l / g biyokütle} \cdot \text{h}$  bulunmuştur. Bu değer, diğer atıksularda elde edilen değerlere göre oldukça küçüktür. Bunun protein ölçümlerindeki hatalarla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Kesikli beslemeli deneyde de gerek substrat tüketimi, gerekse protein üretimi Monod ile iyi sayılabilecek bir uyum sergilemediler. Burada elde edilen  $q_{\text{max}}$ ,  $K_m$ ,  $\mu_{\text{max}}$  ve  $K_s$  değerleri sırasıyla,  $0.094 \text{ h}^{-1}$ ,  $222 \text{ mg/l}$ ,  $0.068 \text{ h}^{-1}$  ve  $70.4 \text{ mg/l}$ 'dir.

Yüksek amonyak ve amonyum derişimlerinde gerçekleştirilen engelli deneylerde ise  $800 \text{ mg/l}$ 'yi geçen  $\text{NH}_3+\text{NH}_4$  değerlerinde dahi farkedilir bir inhibisyon gözlenmedi. Buradan sistemin çok kararlı olduğu ve yapılmaya çalışılan engellemelerden etkilenmediği sonucuna varıldı. Bu deneylerde bir miktar nitrifikasyon söz konusu olsa da, süreçler engelli sistemler için kullanılan Haldane kinetikleriyle pek iyi bir uyum göstermemiştir. Nitrosomonaslar için bu kinetiklerle bulunan değerler de, literatür değerlerinden oldukça büyüktür.

Lowry yöntemi protein ölçümleri için oldukça basit, hızlı ve hassas bir yöntemdir. Elde edilen değerler, biyokütlenin protein ölçümü ile izlenebileceğini göstermiştir. Ancak, özellikle yüksek organikler içeren atıksularda proteinin, bunlardan etkilenmeyecek başka bir yöntemle ölçülüp, Lowry'nin bu maddelerden ne kadar etkilendiği ortaya çıkarılmalıdır. Eğer bu oran sabit ise (ki kesikli deneylerde bu gözlenmiştir) değerler düzeltilerek kullanılabilir. Öte yandan standardizasyon işlemlerinde kullanılan BSA yerine çamur proteinlerine ilişkin spesifik karakterizasyon çalışmaları yapılarak ortamdaki proteinlerin ortalama büyüklüğü bulunabilirse, standart eğrinin elde edilmesinde bu büyüklüğe yakın bir protein türü ya da çamurun kendi proteinleri kullanılarak daha hassas protein ölçümleri gerçekleştirilebilir.



**KAYNAKLAR**

1. BENEFIELD, L. D. and RANDALL, C. W., 1980, Biological Process Design, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ, USA.
2. BROWN, M. J. and LESTER, J. N., 1980, Comparison of Bacterial Extracellular Polymer Extraction Methods, Applied and Environmental Microbiology, August, 179-185.
3. DAĞAŞAN, L., ALKAN, R., YONSEL, Ş., ARHAN, Y., 1996, Maya Atıksularında Renk Giderimi Çalışmaları, UKMK-2 Bildiri Kitabı, İTÜ, İstanbul.
4. DAVIS, P. W., SOLOMON, E. P., BERG, L. R., 1990, The World of Biology, Saunders College Publishing, Rinehart and Winston, Inc., Orlando, USA.
5. DROSTE, R. L. and SANCHEZ, W. A., 1983, Microbial Activity in Aerobic Sludge Digestion, Water Res., Vol. 17, No:9, 975-983.
6. GEHR, R. and HENRY, J. G., 1983, Removal of Extracellular Material, Techniques and Pitfalls, Water Res., Vol. 17, No:12, 1743-1748.
7. GOODWIN, J. A. and FORSTER, C. F., 1985, A Further Examination Into The Composition of Activated Sludge Surfaces in Relation to Their Settlement Characteristics, Water Res., Vol. 19, No:4, 527-533.
8. JENSEN, B. K., ERIKSEN, T., JERGENSEN, P. E., 1988, Determination of Active Biomass, Water Science and Technology, Vol. 20, No:11/12, 213-219.
9. KARGI, F., 1995, Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler, DEÜ Müh. Fak. Yayınları No:234, İzmir.

10. KERLEY, S. and FORSTER, C. F., 1995, Extracellular Polymers in Activated Sludge and Stable Foams, *J. Chem. Biotechnol.*, 62, 401-404.
11. KILIÇTURGAY, K., 1992, *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*, Onur Yayıncılık, Bursa.
12. LERCH, R. N., BARBARICK, P., AZARI, L. E. S., WESTFALL, D. G., 1993, Waste Management, Sewage Sludge Proteins: I. Extraction Methodology, *J. Environ. Qual.* 22, 620-624.
13. LIEBESKIND, M. and DOHMANN. M., 1994, Improved Method of Activated Sludge Biomass Determination, *Water Sci. Technol.*, Vol. 29, No:7, 7-13.
14. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J., 1951, Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent, *Journal of Biol. Chemistry*, 193, 265-275.
15. REYNOLDS, T. D., 1982, *Unit Operations and Processes in Environmental Engineering*, Brooks/Cole Engineering Division, Monterey, California, USA:
16. SANİN, F. D. and VESILIND, P. A., 1994, Effect of Centrifugation on the Removal of Extracellular Polymers and Physical Properties of Activated Sludge, *Water Sci. Technol.*, Vol. 30, No:8, 117-127.
17. SCHUMPE, A., QUICKER, G., DECKWER, W. D., 1982, Gas Solubilities in Microbial Culture Media, *Advances in Biochemical Engineering*, Vol. 24, Springer-Verlag, Berlin.
18. ŞENGÜL, F. ve MÜEZZİNOĞLU, A., 1995, *Çevre Kimyası*, DEÜ Müh. Fak. Yayınları, No:228, İzmir.

19. TCHOBANOGLOUS, G. and BURTON, F. L., 1991, Wastewater Engineering, Treatment, Disposal, Reuse, Metcalf & Eddy Inc., McGraw-Hill Int. Ed.
20. WIESMANN, U., 1994, Biological Nitrogen Removal from Wastewaters, Adv. In Biochem. Eng., 51, 114-155.
21. YONSEL, Ş., 1995, Ders Notları, KOÜ Fen Bil. Ens. Çevre Müh. ABD.



## ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Artvin’de doğdu. 1994 Orta Doğu Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nü bitirerek Çevre Mühendisi ünvanını aldı.

1995 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

