

## ANAMMOX (ANAEROBİK AMONYUM OKSİDASYON) PROSESİ

Esra CAN-DOĞAN<sup>1\*</sup>, Lale KIRLI<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Kocaeli Üniversitesi ,Çevre Mühendisliği Bölümü, 41040 İzmit-Kocaeli, TÜRKİYE

**Özet:** Anammox bakterileri Planktomiset filumundandır ve Anaerobik Amonyum Oksidasyonunu (ANAMMOX) prosesini gerçekleştirirler; elektron alıcı olarak nitrit varlığında amonyağı azot gazına oksitlerler. Anammox reaksiyonları anammoksozom (anammoxosome) içinde gerçekleşir: Bu bölüm, iki katlı tek zarla sarılmış intrasitoplazmik zar ile çevrilidir. Anammox bakterileri ilk olarak Hollanda'daki bir atıksu arıtma tesisinde organik karbon eklemesi olmadan atıksudaki amonyağı gidermişlerdir. Son yıllarda, anammox bakterilerinin Karadeniz sedimanındaki azot tüketiminin %30-50'sinden sorumlu olduğu keşfedilmiştir. Anaerobik amonyum oksidanlar atıksudan azotun gideriminde yeni bir fırsattır. Yeni prosesler anaerobik amonyum oksidasyonu ile birleştirilen amonyağın nitrite oksitlendiği kısmi nitrifikasyon temeline dayanmaktadır. Bu prosesler, yüksek miktarda amonyağın nitrit üzerinden dönüşümünü içeren tek reaktör sistemi (SHARON), anaerobik amonyum oksidasyon prosesi (ANAMMOX) ve nitrit üzerinden tamamen ototrofik yolla azot giderimini içeren (CANON) prosesleridir.

**Anahtar Kelimeler:** ANAMMOX, Anaerobik Amonyum Oksidasyonu, SHARON, CANON

## ANAMMOX (ANAEROBIC AMMONIUM OXIDATION) PROCESS

**Abstract:** Anammox bacteria belong to the phylum Planctomycetes and perform Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) Process; they oxidize ammonium with nitrite as the electron acceptor to yield dinitrogen gas. The anammox reaction takes place inside the anammoxosome: an intracytoplasmic compartment bounded by a single ladderane lipid-containing membrane. The anammox bacteria, first found in a wastewater treatment plant in the Netherlands, have the potential to remove ammonium from wastewater without the addition of organic carbon. Very recently they were also discovered in the Black Sea sediment where they are responsible for 30-50% of the nitrogen consumption. Anaerobic ammonia oxidizers open up new possibilities for nitrogen removal from wastewater. The new processes are based on partial nitrification of ammonium to nitrite combined with anaerobic ammonium oxidation. These processes include the single reactor system for high ammonia removal over nitrite (SHARON) process, which involves part conversion of ammonium to nitrite; the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process, which involves anaerobic ammonium oxidation; and the completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) process, which involves nitrogen removal within one reactor under oxygen-limited conditions.

**Keywords:** ANAMMOX, Anaerobic Ammonium Oxidation, SHARON, CANON

---

\* Sorumlu Yazar

esracan@kou.edu.tr

## 1. GİRİŞ

Evsel ve endüstriyel atıksuların arıtımında amonyum giderilmesi gereken en önemli parametrelerden biridir. Atıksulardan amonyum giderimi genellikle biyolojik sistemlerde nitrifikasyon ve denitrifikasyon prosesleri ile sağlanmaktadır. Nitrifikasyon prosesi iki ayrı adımda, aerobik koşullar altında gerçekleşir. İlk adımda amonyum nitrite oksitlenir ve bu adımı *Nitrosomonas* ya da *Nitrosospira* gibi ototrofik amonyum oksitleyici bakteriler yürütür. İkinci adımda nitrit, *Nitrobacter* gibi nitrit oksitleyici bakteriler tarafından nitrata oksitlenir. Nitrifikasyonu takip eden denitrifikasyon prosesinde nitrat ya da nitrit; anoksik koşullar altında organik karbon kaynağının varlığında denitrifikasyon bakterileri tarafından azot gazına indirgenir [1,2]. Anoksijenik denitrifikasyonda; metanol, asetat, etanol, laktat ve glukoz gibi organik maddelerin dahil olduğu çeşitli elektron vericiler kullanılır.

Denemeler bu proseslerin etkin işlerliği için zaman ve mekan olarak ayrılması gerektiğini göstermiştir. Konvansiyonel nitrifikasyon ve denitrifikasyon reaksiyonları uzun zaman ister. Nitrifikasyon reaksiyonları fazla miktarda oksijen harcayan reaksiyonlardır. Denitrifikasyon esnasında ise elektron verici olarak organik karbona gereksinim vardır [3].

Yüksek azot konsantrasyonu içeren atıksulardan azotun tamamen giderilmesi için büyük miktarda ek karbon kaynağı gerekmektedir fakat atıksuda doğal olarak bulunan organik karbon sınırlıdır. Bu da maliyeti arttırmaktadır. Diğer taraftan mevcut atıksu işletmelerinin çoğu azot giderimi için dizayn edilmemiştir ve bu işletmelerde nitrifikasyon/denitrifikasyon proseslerinin gereksinimlerini karşılamak zordur. Bundan dolayı son yıllarda yüksek miktarda amonyum içeren atıksulardan azotun giderilmesini hedef alan yeni prosesler geliştirilmiştir [4]. Bu prosesler, yüksek miktardaki amonyağın nitrit üzerinden dönüşümünü içeren tek reaktör

sistemi (SHARON), anaerobik amonyum oksidasyon prosesi (ANAMMOX) ve nitrit üzerinden tamamen ototrofik yolla azot giderimini içeren (CANON) prosesidir [3,5,6]. Bu çalışmanın amacı yukarıda bahsedilen prosesleri tanıtmak ve bu proseslerin işleyiş prensipleri hakkında bilgi vermektedir.

## 2. ANAEROBİK AMONYUM OKSİDASYONU (ANAMMOX)

Doğada amonyumun anaerobik olarak oksitlendiği onlarca yıldır bilinmektedir. Daha 1941'lerde denizlerdeki  $N_2$  kaynağının anaerobik amonyum oksidasyonu olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonra anoksik su sütunlarında yapılan gözlemler bu savı doğrulamıştır. Benzer gözlemler Karadeniz'de sülfür içermeyen anoksik sularda da yapılmıştır. Deniz sedimentlerinde amonyumun nitrata oksitlenmesi, amonyumun anoksik ortamlarda kaybolmasını açıklamada yardımcı olmuştur. Daha sonraları amonyumun nitrata oksitlenmesinin  $\Delta G$  değerlerinin hesaplanması, bu reaksiyonun enerji yönünden gerçekleşebileceğini göstermiştir [7].

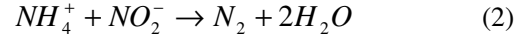
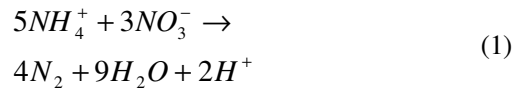
Yakın geçmişte amonyumun anaerobik koşullar altında doğrudan azot gazına indirgendiği yeni bir biyolojik proses (ANAMMOX) tanımlanmıştır. ANAMMOX prosesi, amonyağın anaerobik koşullar altında azot gazına indirgendiği yeni bir prostestir [1,8]. Bu proses konsantrasyon atıksulardan amonyumun gideriminde düşük maliyet fırsatı sağlayabilir [5,9]. Ana ürün azot gazı olmakla birlikte bir miktar nitrat da oluşmaktadır. Nitrat, anammox aktivitesi sonucu oluşmakta ve reaktör içinde zamanla birikmektedir. Bu prosesde amonyak elektron verici, nitrit ise elektron alıcı olarak kullanılır [1].

1990'ların başında amonyumun anaerobik oksidasyonuna ait ilk doğrudan delil Hollanda'da Delf'deki bir atıksu arıtma tesisinden gelmiştir [10]. Burada

ANAMMOX prosesi metanojenik reaktör çıkış suyunu arıtan, denitrifikasyon yapan akışkan yataklı reaktörde keşfedilmiş [8]. Uzun süren çalışmalar sonunda laboratuvar ölçekli denitrifikasyon pilot tesisinde akışkan yataklı bir reaktörde anaerobik amonyum oksidasyonu (ANAerobic AMMonium OXidation) yapan bakterilerin (anammox bakterilerinin) varlığı ispatlanmıştır. Birkaç yıl sonra da doğal çevrede anaerobik amonyum oksidasyonu ile ilgili ilk bulgular yayınlanmıştır [7,10]. Böylece “doğanın kayıp litotrofları” bulunmuştur. Yukarıda da belirtildiği gibi “ANAMMOX” kelimesi hem prosesi hem de bunu gerçekleştiren mikroorganizmaları tanımlar [3].

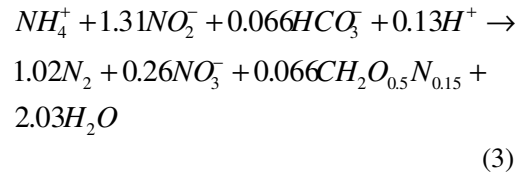
Proses ilk olarak 1977 yılında Broda tarafından mikrobiyal metabolizma olarak tanımlanmıştır ve anaerobik amonyum oksidasyonunun kemolitotrofik bakterilerin varlığında gerçekleştiği tahmin edilmiştir. Bu keşfe kadar anaerobik oksidasyonu gerçekleştirebilen herhangi bir bakteri türü bulunamamıştır. Anaerobik amonyum oksidasyonu, çok kısa bir zaman öncesine kadar biyolojik azot döngüsünün keşfedilmemiş bir bölümünü oluşturmaktaydı. Bu prosesi oluşturan mikroorganizma topluluğu *Planktomiset* türünün ototrofik grubunun bir üyesi olarak tanımlanmaktadır [6,11].

Şimdiye kadar amonyum oksidasyonu için sadece aerobik prosesler tartışılmış olmasına rağmen, Mulder ve diğ. (1995)’nin yaptıkları çalışmada anoksik şartlarda, nitrat tüketimi ve  $N_2(g)$  üretimi sürekli yükselirken yüksek miktarda amonyumun yok olduğu gözlenmiştir (Reaksiyon 1) [12]. Daha sonra  $NO_2$  gazının varlığında anoksijenik şartlarda amonyak oksitleyiciler tarafından amonyağın oksitlenebildiği belirtilmiş ve proses için elektron alıcı olarak nitritin tercih edildiği gözlemlenmiştir (Reaksiyon 2) [3].



Bazı önemli fiziksel parametreler Strous ve diğ. (1999) tarafından yapılan çalışmada verilmiştir. Bunlar; amonyum tüketiminin maksimum spesifik hızı ( $45 \pm 5 \text{ nmol mg}^{-1} \text{ protein}^{-1} \text{ dak}^{-1}$ ), maksimum spesifik büyüme hızı ( $0,0027 \text{ sa}^{-1}$ , çiftlenme süresi 11 gün) ve dönüşüm oranı ( $0,066 \pm 0,01 \text{ mol C mol}^{-1} \text{ NH}_4\text{-N}$ )’dır [13].

Anammox sitokiyometrisi, zenginleştirilmiş anammox bakteri topluluğu üzerinde kütle dengesini esas alarak şöyle tahmin edilmiştir (Reaksiyon 3) [5].



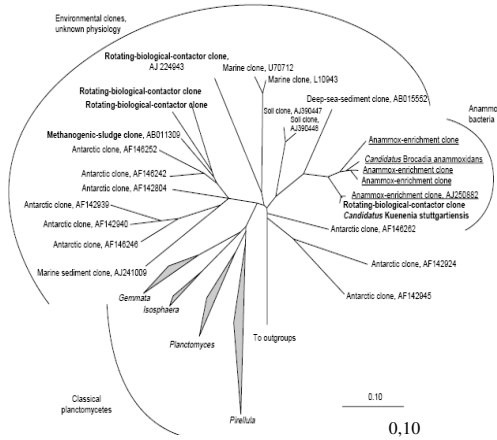
Anammox prosesi düşük organik madde içeriği olan atıksulardan azot gideriminde yeni bir yöntem olarak göze çarpmaktadır. Proses dışarıdan karbon kaynağı eklenmeksizin nitritin elektron alıcı olarak kullanıldığı anaerobik amonyum oksidasyonu temeline dayanmaktadır [3,14,15]. Hidrazin ( $N_2H_4$ ) ve hidroksilamin ( $NH_2OH$ ) prosesin bilinen ara ürünleridir. Anammox bakterilerinin büyümesi için gerekli olan ana karbon kaynağı karbondioksittir. Anammox prosesi için sabit yataklı, akışkan yataklı, ardışık kesikli ve yukarı akışlı reaktörler uygundur [6,7,16,17,18]. Anammox bakterileri amonyak ve nitriti 1:1 oranında tüketmez. Bu oran 1:1,31’dir. Fazla nitrit anaerobik yollarla nitrata okside olur. Bu oksidasyon sırasında açığa çıkan elektronlar  $CO_2$  fiksasyonunda kullanılır [6,11].

Bu proses endüstriyel atıksuların arıtımında uygulanan bir prosestir. Prosesin en önemli dezavantajı, anammox mikroorganizmalarının büyüme hızının yavaş olmasıdır. Anammox

biyokütlesinin büyümesi için en uygun reaktör tipinin ardışık kesikli reaktör olduğu belirtilmiştir. Ardışık kesikli reaktör ile yapılan çalışmada, azot yükleme hızı 0,3 g N/L gün olarak alınmıştır. İşletme periyodunun hemen hemen tamamında anammox reaktöründe nitrit uzaklaştırma oranı %98'dir. Biyokütlenin spesifik anammox aktivitesi sabit tutulmuştur ve bu değer yaklaşık olarak 0,4 g N/g UAKM (Uçucu Askıda Katı Madde) gün'dür [15].

## 2.1. Anammox Bakterilerinde Hücre Yapısının Özellikleri

16S ribozomal DNA (rDNA) temeline dayanan filojenik araştırmalara göre anammox bakterilerinin Planktomisetlerin (Planctomycetes) alt dallarına ait oldukları belirlenmiştir (Şekil 1) [7,10,19,20].



Şekil 1. Planktomisetler ve Anammox bakterilerinin filojenik analizlere göre yerleri [7].

Planktomisetlerin çoğu aerobik kemoorgano-heterotroftur. Elektron mikroskobu gözlemleri, kimyasal analizler, β-laktam ve diğer hücre duvarı hedefli antibiyotiklere dayanıklılık; diğer bakterilerde bulunan peptidoglikan yapılu hücre duvarının Planktomisetlerde bulunmadığını göstermiştir Bundan başka; hücre duvarları, gram negatif bakterilerde olduğu gibi içten ve dıştan bir zar

ile kuşatılmamıştır. Hücre duvarının üzerinde zar yoktur, bunun yerine hücre içinde iki tane zar vardır. Bunlardan bir tanesi protein yapıdaki hücre duvarına çok yakındır. Bu zar "sitoplazmik zar" olarak tanımlanır "parifoplazma (paraphoplazma)"yı dıştan sarar. Daha içte olan diğer zar ise "intrasitoplazmik zar" olarak tanımlanır ve "parifoplazma"yı içten kuşatır. Bunun için planktomisetlerde hücre yapısı gram negatif bakterilerden farklıdır [3,6].

Anammox bakterilerinde intrasitoplazmik zar ile çevrili bölüm, zarla çevrili ikinci bir bölümü içerir. İki katlı tek zarla sarılmış olan bu bölüme "anammoksozom" ismi verilir. Katabolizma olayları burada oluşur. Sonuçta anammox bakterilerinde sitoplazmanın üç bölüme ayrıldığı gözlemlenmiştir. En dıştaki bölüm "parifoplazma", ikinci bölüm nükleoid'i de içeren "riboplazma"dır. En içteki kısımda ise anammoksozom zarı ile kuşatılmış hücre hacminin %30'undan fazlasını işgal eden "anammoksozom" bulunmaktadır (Şekil 2) [10,17].



Şekil 2. Anammox bakterileri hücresinin kısımları (– 100nm) [17].

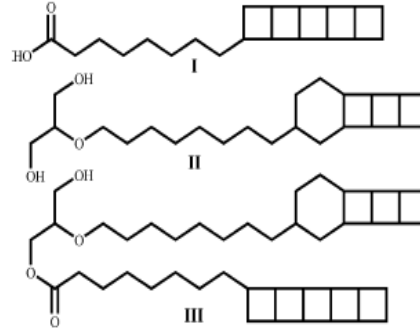
- a) Şematik gösterim  
b) Elektron mikroskobundaki görünüm

Anammox bakterileri küreye benzer (coccoid) yapıdadır. Boyutları 1µm'den küçüktür [17]. Hücre yüzeyleri girintili çıkıntılıdır. Tomurcuklanma ile çoğalırlar [7]. Çoğalma hızları çok yavaştır ve 10-30 gün arasında değişir [17,21,22].

## 2.2. Anammox Bakterilerinde Zar Lipitlerinin Özellikleri Ve İşlevi

Anammox bakterileri, diğer bütün Planktomisetlerde olduğu gibi peptidoglikanlı hücre duvarı yerine proteinli hücre duvarı taşırlar. Anammox lipidleri; bakteri ve ökaryotlarda olduğu gibi ester bağlı, arkeolarda olduğu gibi eter bağlı yağ asitlerinin bir karışımı şeklindedir. Lipidler taksonomik işaretleyiciler olduklarından, zar yapısının tayininde kullanılırlar. Lipit içeren zarlar; iyon ve metabolitlerin konsantrasyon farklılıklarının mevcut olduğu durumlarda bulunması gerekli yapılardır. Anammox bakterilerinde zar lipidleri bilinen zar lipidlerinden farklı ve çeşitlidir. Bu lipidler farklı türler ve bunların türevlerini içerirler. Aralarında benzer olmayan yapılar mevcuttur. X ve Y olarak tanımlanan halka sistemleri ile bunların her ikisini birden içerebilirler. X halka sistemi, üç siklobütan halkası ve bir sikloheksan halkası içeren oktil zincirinin son karbon atomunun gliserole eter bağı ile bağlanmasıyla oluşmuştur. Y halka sistemi ise lineer bağlı beş siklobütan halkasının, son karbon atomunda bir metil ester artığı bulunan heptil zincirine bağlanmasıyla meydana gelmiştir. X ve Y olarak tanımlanan bu halka sistemlerinin *cis* durumunda birbirine bağlanmasıyla ortaya çıkan merdivensiy yapı "ladderane" olarak isimlendirilmiştir (Şekil 3) [17].

Anammox bakterileri, bol miktarda ladderane tipli zar lipidleri içerirler. Örneğin *Candidatus "Brocadia anammoxidans"* da toplam lipidlerin %34'ünü oluştururlar. "Ladderane" yapısı gösteren zar lipidlerinin doğada benzeri yoktur, sadece anammox bakterilerinde bulunmaktadır. Dolayısıyla ladderane lipidlerinin işlevi önem kazanmaktadır [17].



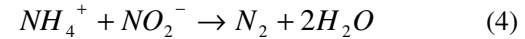
Şekil 3. Anammox bakterilerine özgü Ladderane lipidlerinin yapısı [17].

I) Y halka sistemi II) X halka sistemi III) X ve Y'nin birlikte yer aldığı halka sistemi

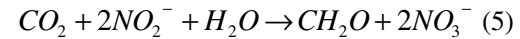
## 2.3. Anammox Bakterilerinde Metabolizma

Anammox bakterileri fizyolojik olarak diğer Planktomisetlerden farklıdır. Anammox bakterileri anaerobik kemolitototroflardır. Bu bakteriler nitriti elektron alıcı olarak kullanır ve amonyağı azot gazına çevirirler. Hidrazin ( $N_2H_4$ ) ve hidroksilamin ( $NH_2OH$ ) oluşan ara ürünlerdir [19,23]. Hidroksilamin oksidaredüktaz enzimi anammoksozom içinde bulunan anahtar enzimdir [7]. Bir molekül  $CO_2$ 'in organik moleküle dönüştürülmesi için bu katabolizma reaksiyonunun 15 defa tekrarlanması gerekir. Anabolizma reaksiyonunda ise nitrit elektron vericidir ve sonuçta nitrat oluşur [10].

Katabolizma (15x):



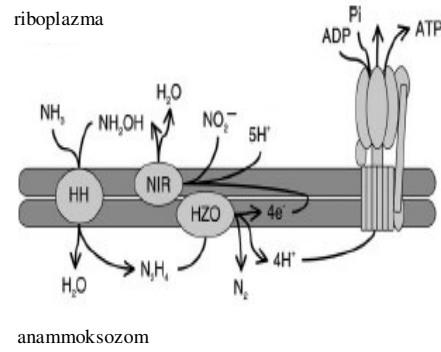
Anabolizma:



Anerobik amonyum oksidasyonundaki metabolik gidiş yolu  $^{15}N$  ile işaretlenmiş maddelerle yapılan deneyler sonunda açığa çıkarılmıştır. Bu deneylerin sonuçlarına göre; Anammox reaksiyonundaki anahtar enzimlerden biri anammoksozom içinde bulunan hidrazin oksitleyen enzimdir [6,17].

Bu da anammox katabolizmasının anammoksozom içerisinde meydana geldiğini gösterir. Olayın biyokimyasal modeline göre; amonyum ve hidroksilamin, hidrazin hidrolaz (HH) tarafından birleştirilerek hidrazin oluşturulur, daha sonra hidrazin, hidrazinoksitleyen enzim (HZO) tarafından oksitlenir. Oksidasyon anammoksozom içinde gerçekleşir, sonuçta azot gazı ve dört elektron meydana gelir. Daha sonra bu dört elektron, riboplazmadan gelen, muhtemelen nitritin nitrit redükleyen enzim (NIR) tarafından redüklenmesiyle oluşan beş proton ile birlikte kullanılır [17].

Modelde anammox reaksiyonu proton gradienti üzerine kuruludur. Riboplazmadaki protonların harcanması ve anammoksozom içinde protonların oluşturulmasına dayanır ve yüklerin ayrılması olarak bilinir. Bu durum anammoksozom'dan riboplazmaya doğru bir elektrokimyasal proton gradienti meydana getirir. Bu gradient kimyasal potansiyel enerji içerir. Çünkü protonların kimyasal gradientinin sonucunda bir pH farklılığı oluşur ve riboplazma anammoksozom'a göre daha alkali hale gelir. Diğer taraftan protonların elektriksel gradienti bir yük farklılığı yaratır. Anammoksozom ile karşılaştırıldığında, riboplazma negatif yüklüdür. Gerek pH farklılığı gerekse yük farklılığı beraberce protonların anammoksozom içinden dışarıya doğru hareket ettirilmesini sağlayan gücü oluştururlar. Bu güç anammoksozom zarına bağlı adozin trifosfatazın ATP sentezlemesi için kullanılır. Protonlar; ATPaz tarafından oluşturulan proton porlarından geçerek pasif difüzyonla riboplazmaya geri dönerler. Anammoksozom zarına bağlı küresel hidrofilik ATPazlar riboplazmada, ATP sentezleyen alan içinde yer alırlar. Bunların hidrofobik, proton geçişini sağlayan kısımları ise anammoksozom zarındadır. Sentezlenen ATP daha sonra riboplazmada serbest hale geçer (Şekil 4) [17].



**Şekil 4.** Anammox bakterilerinde anammoksozom zarında zara bağlı ATPazlar yardımıyla ATP sentezi [17].

Anammox bakterileri, yeterli miktarda ATP sentezi için, zardan geçen elektrokimyasal elektron gradientine bağlıdır. Çünkü anammox katabolizması yavaştır, birim zamanda ancak birkaç proton zardan geçebilir. Halbuki elektrokimyasal gradientin sonucu olan pasif difüzyon ile dağılım, çoğalma hızından bağımsızdır ve normal bir hızı öngörür. Bunun için biyolojik zarlardan protonların pasif difüzyonla geçişi daha önemlidir ve anammox olayında daha fazla enerji kaybına yol açar. Proton kaçışını önlemek için anammoksozom daha az geçirgen bir zarla sarılıdır. Bundan başka ara ürünler olan hidrazin ve hidroksilamin biyolojik zarlardan kolaylıkla difüze olabilirler. Biyoenerji açısından bakıldığında; anammox hücresinden 1 molekül hidrazin kaybı 15 katabolik döngüye eşdeğerdir. Muhtemelen hidrazin, nitritin hidroksilamine redüksiyonu ve daha sonra hidroksilaminin amonyum ile kondenzasyonundan oluşur. Dört elektron, depo maddesinin oksidasyonundan gelir (glikojen gibi). Depo maddesi CO<sub>2</sub>'ten türetilir. 1 molekül CO<sub>2</sub>'in organik moleküle çevrilebilmesi için 15 molekül amonyumun oksitlenmesi gereklidir. Buna bağlı olarak %10 hidrazin kaybı canlılığın tamamen sona ermesi demektir. Ayrıca anammox ara ürünleri DNA'ya zarar veren toksik ve mutajenik maddelerdir. Bu nedenlerle proton difüzyonunun sınırlanması ve

ara ürünlerin anammoksozom içinde tutulması, anammox bakterileri için son derece önemlidir. Anammox metabolizması anammoksozom içinde meydana gelir. Anammoksozom zarı yoğun ve katı ladderan lipidlerle diffüzyonu sınırlar ve olağandışı metabolizma gerçekleşir. Anammoksozom zarının olağandışı yoğunluğu geçirgenlik testleri ile ve ladderane lipidlerin iki katlı lipidlerden oluştuğu moleküler modelleme ile doğrulanmıştır [17].

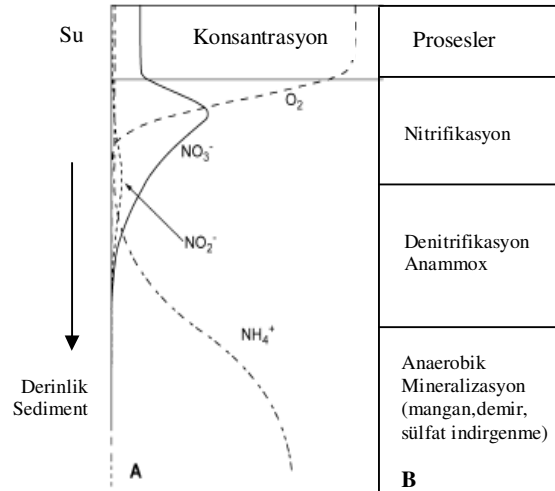
## 2.4. Anammox Prosesini Etkileyen Çevresel Özellikler

### 2.4.1. Doğal ortamda

16S rDNA temeline dayanan filojenik araştırmalara göre Anammox bakterilerinin Planktomisetlerin alt dallarına ait oldukları belirlenmiştir. *Candidatus "Brocadia anammoxidans"*, *Candidatus "Brocadia fulgida"*, *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"* atıksu arıtma sistemlerinde bulunmuştur. *Candidatus "Scalindua sorokinii"* Karadeniz'in anoksijenik sularında keşfedilmiştir [10]. Bilinen bu türlere İngiltere'deki Pitsea atıksu arıtma tesislerinde keşfedilen iki tür daha eklenmiştir. Bunlar, *Candidatus "Scalindua brodae"* ve *Candidatus "Scalindua wagneri"* dir. Yapılan çalışmada bu iki türün benzerliklerinin %93 olduğu ortaya konmuştur [24].

Deniz anammox bakterilerinin çoğalma hızları hakkında fazla bilgi yoktur. Atıksularda yaşayan cinsler için optimum sıcaklık 37 °C'dir. Fakat deniz anammox bakterileri buldukları çevreye göre daha farklı sıcaklıklarda çoğalabilirler. Atıksu arıtma tesislerindeki anammox bakterileri zorunlu anaerobtur. Biyoreaktörde 1,1 µM O<sub>2</sub> olduğu zaman anammox faaliyeti durur, ancak inhibisyon geri dönüşümlüdür. Denizlerdeki anammox bakterileri ise oksijene daha toleranslıdır [3,10].

1932'lerde Mendota gölü (ABD) sedimentlerinde fermentasyon sırasında bilinmeyen bir mekanizma ile azot gazı oluştuğu bildirilmiştir. Kizakiko gölü (Japonya) sedimentlerinde de amonyumdan doğrudan azot gazı oluşmasına ait bulgular vardır. Tatlısu sedimentlerinde yapılan çalışmalar ile bu gözlemler doğrulanmıştır. Anammox mekanizması yoluyla anaerobik amonyum oksidasyonunun oluşması için ortamda gerekli olan şartlar; hem amonyumun hem de nitritin devamlı olarak bulunması ve oksijenin yokluğudur. Nitrit; ya nitrifikasyonu oksijenin sınırladığı ekosistemlerde veya nitratın denitrifikasyonu için elektron vericilerin (sülfür veya organik maddeler) sınırlı olduğu yerlerde oluşabilir. Birçok sedimentin oksik/anoksik yüzeyi anaerobik amonyum oksitleyen mikroorganizmalar için ideal bir habitatır. Karadeniz'in tabakalarında mikro-elektrodlarla yapılan çalışmalar nitrat ve amonyumun birbiri üzerine kayan profillerini ortaya çıkarmış ve anammox bakterilerinin bulunabileceği bir habitatın mevcudiyetini göstermiştir. Gerçekten atıksu arıtma sistemleri gibi insan yapısı ekosistemler anammox organizmaları için bir habitat yaratabilir (Şekil 5) [10,21].



Şekil 5. Sediment ve su sütununda oluşan proseslerin şematik gösterimi [10].

Bütün dünya okyanuslarında, azotlu bileşikler mikro ve makro alg üretiminde önemli besinlerdir. Organik azot mineralizasyonu bakteriler tarafından gerçekleştirilir. Bunlara organik maddelerin degradasyonu ile amonyumun serbest hale geçmesi, aerobik oksidasyon ile amonyumun nitrit ve nitrate oksitlenmesi ve anaerobik şartlarda nitrit ve nitratın bakterial denitrifikasyonla N<sub>2</sub> gazına çevrilmesi de dahildir [21].

Son bulgular anammox bakterileri tarafından gerçekleştirilen anaerobik amonyum oksidasyonunun kıyasal deniz sedimentlerinde ve okyanuslardaki anoksik su sütunlarında N<sub>2</sub> oluşumu ve azot gideriminde önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. Norveç, Danimarka ve ABD sularının değişik noktalarındaki sedimentlerde <sup>15</sup>N ile işaretlenmiş maddelerle yapılan çalışmalarda anammox faaliyetleri izlenmiştir. Stokiyometrik hesaplamalar toplam N<sub>2</sub>'un %4-79'unun bu yolla oluştuğunu göstermiştir [25].

Yine <sup>15</sup>N ile deniz sedimentlerinde yapılan bir çalışmada anammox prosesi ile denizlerdeki azot miktarı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sedimentteki azot gideriminde anammoxın önemi, sediment mineralizasyon hızının daha düşük olduğu derin sularda artmaktadır. Sığ sularda sedimentin organik yükü fazlaştığından, denitrifikasyon; anammox prosesinden daha önemli hale gelir. Sedimentte NO<sub>3</sub><sup>-</sup> bulunması, sedimentin organik içeriği veya mikrobentos organizmaların varlığı, anammoxların çalışmasını düzenleyici unsurlardır. Ancak anoksik su sütunlarında anammox prosesi çok önemlidir. Çünkü bu şekilde yaklaşık %35 azot giderimi sağlanmaktadır [10].

#### 2.4.2. Arıtma Tesislerinde

Yapılan çalışmalarda Anammox prosesinin maksimum spesifik substrat (nitrit ve amonyum) değişim hızı farklı sıcaklık ve pH değerlerinde ölçülmüştür. Her bir deneydeki substratın lineer azalışı, her sıcaklık ve pH

değerinde substrat değişim hızının sabit olduğunu göstermiştir [23]. Çalışmalarda Anammox aktivitesinin en yüksek olduğu sıcaklık aralığının 20-43 °C olduğu bulunmuştur [3,13]. Anammox biyokütlesi için optimum sıcaklık 40±3 °C [26], pH aralığı 6,4-8,3'dür [3] ve optimum pH 8 olarak kabul edilmiştir [26]. Optimum sıcaklık ve pH, *Brocadia anammoxidans* ve *Kuenenia stuttgartiensis* için benzerlik gösterir. *K. stuttgartiensis* için en yüksek aktivite 26,5 nmol N<sub>2</sub>/mg protein-dak (pH=8,T=37 °C) iken, bu aktivite *B. anammoxidans* için 55 nmol N<sub>2</sub>/mg protein-dak (pH=8,T=40 °C)'dır [3].

Anammox prosesinde amonyum ve nitrit substratları için ilgi çok yüksektir ve ilgi sabitleri her ikisi için de 5 µM'dan daha azdır. Anammox prosesi; amonyum ve ürün olarak oluşan nitrat ile inhibe olmaz. Fakat 0,1 g NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/N/L'den daha fazla konsantrasyonlarda nitrit, inhibisyona neden olur [26]. Anammox bakterileri nitrite duyarlıdır. Nitrit konsantrasyonu 5 ilâ 10 mM olduğu zaman faaliyet geri dönüşümlü olarak tamamen durur [3]. İz miktarda anammox ara ürünlerini ilave etmek (1,4 mg N/L hidrazin veya 0,7 mg N/L hidroksilamin) aktiviteyi tamamen iyileştirir [13]. Anammox bakterilerinden *K. stuttgartiensis* türünün nitrite toleransı daha yüksektir. Bunun yanında *B. anammoxidans* ile karşılaştırıldığında, fosfat *K. stuttgartiensis* türünü daha az inhibe eder. Asetilen, fosfat ve oksijen anammox bakterilerinin aktivasyonunu inhibe eden maddelerdir [3,22]. Pilot ölçekli çalışmalarda asetilen, 2,4-dinitrofenol, karbonil siyanür, HgCl<sub>2</sub> gibi maddelerin amonyum oksidasyonunu inhibe ettiği görülmüştür [21].

Oksijenin anammox prosesi üzerine etkisi, kesikli ve sürekli sistemlerle yapılan deneysel çalışmalarda denenmiştir. Yapılan ilk kesikli deneylerde, zenginleştirilmiş kültürler oksijenli ortama verildiği zaman anammox aktivitesinin tamamen inhibe olduğu görülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda



20 saat boyunca oksijen inhibisyonunun geri dönüşümü incelenmiştir. Aralıklı olarak oksik ve anoksik (2'şer saat) reaktör sistemi kullanılmıştır. Bu çalışmalardan, amonyumun oksik periyotta oksitlenmediği gözlenmiştir, fakat deney boyunca anoksik periyotlarda anammox aktivitesi sabit kalmıştır. Böylece oksijenin inhibisyonunun geri dönüşümlü olduğu gösterilmiştir [26].

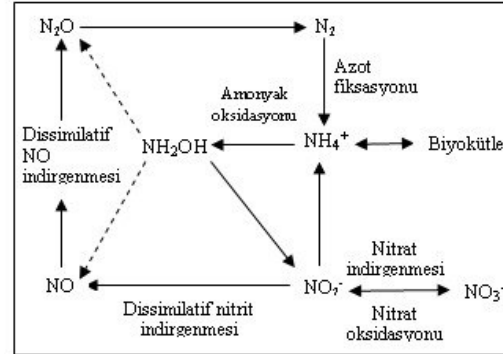
Anammox bakterileri oksijen ve nitrite karşı oldukça duyarlıdır. Oksijen konsantrasyonu 2  $\mu\text{M}$ 'dan daha düşük ve nitrit konsantrasyonu 5-10 mM arasında olduğu zaman anammox aktivitesi tamamen inhibe olur, fakat bu inhibisyon geri dönüşümlüdür [19].

Zenginleştirilmiş anammox kültürlerinin oksijene karşı duyarlılığı mikroaerobik şartlarda yapılmıştır. Farklı  $\text{O}_2$  konsantrasyonlarında (hava doygunlukları sırasıyla %2, %1, %0,5 ve %0) yapılan kesikli deneylerde, sadece %0'lık hava doygunluğunda amonyumun ve nitritin tüketildiği görülmüştür. Yapılan bu deneysel çalışmalarda da açıkça görüldüğü gibi anammox aktivitesi sadece mutlak anoksik şartlarda gerçekleşmektedir [26].

## 2.5. Mikrobiyal Azot Döngüsünde Anammox'ların Yeri Ve Önemi

Küresel azot döngüsünde mikrobiyal azot metabolizması önemli rol oynar. Denitrifikasyon ve anammox gibi mikrobiyal faaliyetler, azotlu bileşiklerin azot gazına dönüştürülmesini dolayısıyla döngünün tamamlanmasını sağlar. Aynı zamanda bu mikrobiyal faaliyetler atmosferdeki azotmonoksitler ve azotdioksitler gibi sera gazlarının oluşumuna da katkıda bulunur. Bu aktiviteler, arkeobakterilerden proteobakterilere, gram pozitif öbakterilerden mantarlara kadar çok geniş bir mikroorganizma grubu tarafından gerçekleştirilir [22]. Nitrat; nitrat redüktaz enzimi taşıyan mikroorganizmalar tarafından assimilatif veya dissimilatif olarak nitrite

çevrilir. Nitratın amonyağa assimilatif redüksiyonu, nitratı azot kaynağı olarak kullanan mikroorganizmalar tarafından yapılır. Oksijenin sınırlı olduğu şartlarda nitrit; azotmonoksite veya amonyağa redüklenebilir. Denitrifikasyon gidiş yolunu tamamlayan bakteriler, nitratın azot gazına dissimilatif redüksiyonunu katalizlerler. Bazı bakterilerde nitratın nitrit üzerinden amonyağa dissimilatif redüksiyonu, anaerobik çoğalmayı destekleyebilir veya aşırı redüksiyon enerjisinin harcanmasına neden olabilir. Amonyak oksitleyenler amonyağı, daha sonra nitrite çevrilecek olan hidrosilamine oksitlerler. Aynı zamanda bu proses azot monoksit ve azot dioksit oluşumuna yol açar. Oluşturulan nitrit; nitrit oksitleyenler tarafından nitrate çevrilir. Nitritifikasyonu yapan topluluk hem amonyak oksitleyenlerden hem de nitrit oksitleyenlerden oluşur (Şekil 6) [22].



Şekil 6. Mikrobiyal azot döngüsü [22].

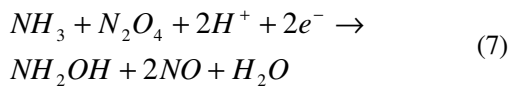
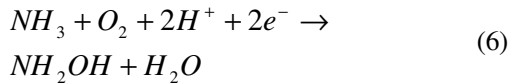
## 2.6. Aerobik Ve Anaerobik Amonyum Oksidasyonu Yapan Bakteriler Arasındaki İlişkiler

Mikrobiyal azot döngüsünün en önemli basamaklarından birisi nitrifikasyondur. Nitrifikasyon yapan mikroorganizmalar arasında litotrofik amonyak ve nitrit oksitleyen bakteriler ve heterotrofik nitrit oluşturanlar vardır. Kemolitototrofik nitrifikasyon bakterileri tatlı su, tuzlu su, atıksu sistemleri gibi birçok ekosistemde

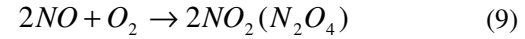
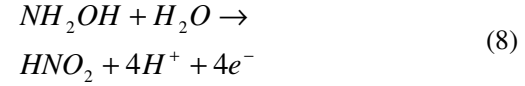
bulunabilir. Ayrıca yüksek sıcaklıkta veya Antartika topraklarında, optimum pH'ları 7.6-7.8 olmasına rağmen, pH'ı 4 olan asidik topraklarda ve pH 10 üzerindeki sodalı göllerde bulunabilirler. İlgi çekici olan durum, aerobik nitrifikasyon yapan bu bakterilerin anoksijenik çevrelerde de bulunabilmesidir. Amonyak oksitleyenler, oksijeni sınırlı şartlarda amonyağı, anoksijenik şartlarda hidrojeni veya organik bileşikleri elektron verici olarak kullanırlar. Sonuç olarak, hem oksijenik hem de anoksijenik şartlarda hidroksilaminin, amonyak oksidasyonu için oksidan olarak kullanıldığı görülmüştür [19].

*Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* gibi amonyak oksitleyen bakteriler proteobakteri sınıfındadırlar. Nitrit oksitleyen bakteriler *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* da aynı sınıfa dahildirler. Bu bakteriler kemolitotrofik organizmalardır. Temel karbon kaynağı olarak CO<sub>2</sub>'i kullanırlar. Bu türlerde intrasitoplazmik zar sistemleri bulunmaktadır.

Proteobakteriyel amonyak oksitleyen bakteriler çoğalmak için enerjilerini aerobik veya anaerobik amonyak oksidasyonundan elde ederler. Oksidasyon prosesindeki substrat büyük bir olasılıkla amonyum değil (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), amonyak (NH<sub>3</sub>)'tır [6]. Oksik şartlarda ana ürünler nitrit, anoksik şartlar altında azot gazı, nitrit ve azot dioksittir. Hem aerobik (Reaksiyon 6) hem de anaerobik (Reaksiyon 7) amonyak oksidasyonunda rol oynayan enzim, amonyağı hidroksilamine çeviren amonyak monoooksijenazdır. Oksijen ve diazot tetraoksit (N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, azotdioksitin dimer şekli) büyük bir olasılıkla bu enzim için elektron alıcılarıdır.



Hidroksilamin ve azotmonoksit (NO) ara ürünlerdir. Hidroksilamin nitrite oksitlenirken (Reaksiyon 8), NO'da azotdioksite (NO<sub>2</sub>) oksitlenir (Reaksiyon 9).



Oksijenli ortamda NO, NO<sub>2</sub>'ye oksitlendiğinden *Nitrosomonas* hücre süspansiyonlarında NO miktarı çok azdır. Oksik şartlar altında da N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> oksitleyici ajandır. Hidroksilamin ve NO ara ürünlerdir. *Nitrosomonas*'ın yaptığı amonyak oksidasyonu anaerobik şartlarda NO<sub>2</sub>'e aerobik şartlarda O<sub>2</sub>'e bağımlı olup aralarında çok az farklılık vardır. Aerobik amonyak oksidasyonunda O<sub>2</sub>'in yerine N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> kullanılır ve NO ek ürün olarak oluşur. Anaerobik amonyak oksidasyonu N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>'i oksitleyici maddedir, NO ise sitokiyometrik miktarlarda oluşur. Oksik şartlarda moleküler oksijen NO'yi oksitlemek için harcanır ve oluşan NO<sub>2</sub> amonyak oksidasyonunda kullanılır [19].

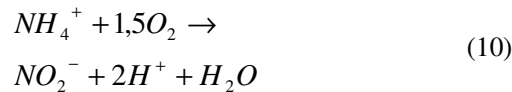
Anammox bakterileri amonyak ve nitriti anoksik şartlarda oksitleyebilirler. Oksijenin sınırlı olduğu ekosistemlerde aerobik amonyak oksitleyen bakterilerle anammox bakterilerinin birlikte bulunabileceği düşünülmektedir. Bu şartlar altında, aerobik amonyak oksitleyenler amonyağı nitrite oksitlerler. Oluşturulan nitrit, anammox bakterileri tarafından amonyakla birlikte kullanılır. Bu işbirliğinin sonucunda ana ürün olarak azot gazı ve küçük miktarda nitrat meydana gelir. Burada amonyak sınırlayıcı substrattır. Bu iki farklı bakteri grubu arasındaki rekabetin galibini bakterilerin amonyağı olan affiniteleri tayin edecektir. Ancak nitrifikasyon metabolizmaları, türler arasındaki ilişkiler ve azot döngüsündeki mikroorganizmaların filojenik dağılımları

çalışılmaya ve sonuçlarının tartışılmasına açık olan konulardır [19].

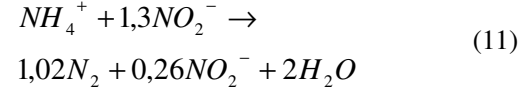
### 3. CANON PROSESİ

Yüksek miktarda amonyum ve düşük konsantrasyonda organik karbon içeren atıksularda elementel azot kaybı yüksektir. Bu durumlarda CANON prosesi çok ekonomiktir. Proses tek bir reaktörde veya oksijeni sınırlı biyofilmden gerçekleşir. Bu proses kısmi nitrifikasyon ve anoksik amonyum oksidasyonuna dayanır [8,27]. Oksijeni sınırlı şartlarda (<0,5 hava doygunluğu) aerobik ve anaerobik amonyum oksitleyen bakterilerden oluşan birleşik kültür CANON aktivitesini oluşturur. Bu proses oksijeni sınırlı şartlarda iki ototrofik mikroorganizma (*Nitrosomonas* gibi ototrofik, anammox gibi anaerobik amonyum oksitleyen iki grup mikroorganizma) arasındaki karşılıklı etkileşime dayanır. Bu ototrofik mikroorganizma grubu nitrit ara ürünü üzerinden amonyumu doğrudan azot gazına çevirirler [3].  $NO_2^-$ 'nin  $NO_3^-$ 'e oksidasyonu reaktörde yüksek  $NH_4^+$  konsantrasyonu (5 mM) ve  $O_2$  sınırlayıcı şartlarla önlenmektedir. Azot uzaklaştırma veriminin %85'den fazla olduğu belirtilmektedir. Fakat atıksu arıtımında, gerçek azot giderim hızı önemlidir ve gaz fazından sıvı faza  $O_2$  kütle transfer verimine bağlıdır [7]. Bu prosesin uygulanması ile bir ototrofik reaktörde atıksulardan amonyumun tamamı giderilebilir. Bu iki grup mikroorganizma, devamlı oluşan ve birbirini ardınca gelen reaksiyonları yaparlar.

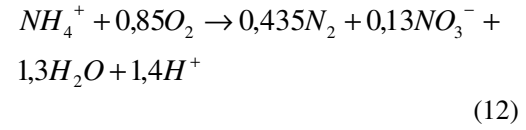
Sınırlanmış oksijenli şartlarda, amonyak aerobik nitrifikasyon yapan *Nitrosomonas* ve *Nitrosospira* gibi bakteriler tarafından nitrite oksitlenir.



Bunu takiben anammox bakterileri gibi anaerobik amonyum oksitleyenler  $N_2$  oluşturur.



Burada  $CO_2$ 'den biyokütlenin oluşması için nitrit elektron verir ve çoğalma için sitokiyometrik olarak  $NO_3^-$  oluşur.



Çözünmüş  $O_2$  konsantrasyonunun 0,5 mg/L'nin üzerinde olduğu durumlarda amonyum oksidasyonu etkilenmez, fakat askıda çoğalan reaktörlerde nitrit oksidasyonu kuvvetli bir şekilde inhibe olur. Oksijenin sınırlı olduğu şartlarda, nitrit oksitleyen mikroorganizmalar aerobik amonyum oksitleyenler ile oksijen için, anaerobik amonyum oksitleyenler ile nitrit için yarışır. Serbest amonyumun nitrit oksitleyenleri inhibe edebileceği düşünülmektedir. Anammox bakterileri bunun tersine düşük oksijen konsantrasyonlarında inhibe olurlar. Birleştirilmiş proses oksijen sınırlı şartlarda olabilir [3,6].

Konvansiyonel nitrifikasyon ve denitrifikasyon ile karşılaştırıldığında, azot uzaklaştırma hızı düşük olmasına rağmen CANON prosesi tamamen ototrofik mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirildiğinden KOİ (metanol gibi) ilavesine gerek duyulmaz [11]. Buna ek olarak, tüm azot giderimi çok az bir havalandırma ile tek bir reaktörde gerçekleştirilebilir. Bu durum enerji ve yer açısından tasarruf sağlar. Ototrofik işlem konvansiyonel azot giderim yöntemlerine göre %63 daha az oksijen ve %100 daha az organik madde harcar [3].

#### 4. SHARON PROSESİ

SHARON prosesi biyolojik nitrifikasyon için yeni bir procestir. Bu proses nispeten yüksek sıcaklıkta ( $T=55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ve pH 7'nin üzerinde tek havalandırmalı reaktörde biyokütle alıkonması olmadan işletilir. SHARON prosesi amonyumun nitrite, kısmi nitrifikasyonunu içerir. Bu durum arıtma tesisinde havalandırma maliyetini oldukça azaltmaktadır. Ayrıca yüksek amonyak konsantrasyonlarında ( $>0,5\text{ gN/L}$ ) atıksulardan azotu uzaklaştırmak için uygun bir procestir. Bu proses Hollanda'da Delft Üniversitesi'nde geliştirilmiştir. SHARON prosesi stabil şartlar altında gerçekleştirilen ve nitrifikasyon/denitrifikasyon ile ara ürün olarak nitritin oluştuğu bir procestir. Stabil nitrifikasyonu sağlamak için işletme değişkenleri (sıcaklık, pH, hidrolik alıkonma süresi, substrat konsantrasyonu, çözünmüş  $\text{O}_2$ ) kemostat şartlarında kontrol edilmelidir. Fakat büyük ölçekli işletmelerde proses değişkenlerini kontrol etmek oldukça zordur. İşletme sıcaklığı olan  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de nitrit oksitleyicilerin maksimum spesifik büyüme hızı amonyum oksitleyenlerinin yarısı kadardır ( $0,5\text{ gün}^{-1}$  ve  $1\text{ gün}^{-1}$ ). Çamur alıkonma süresi hidrolik alıkonma süresi ile kontrol edilebilir. Kısa hidrolik alıkonma süresinde nitrit oksitleyiciler iş yapamaz. Amonyum oksidasyonu asidifiye procestir. Bundan dolayı inhibisyonu önlemek için pH kontrolü şarttır. pH 6,5'dan düşük olduğunda amonyum oksidasyonu gerçekleşmez. pH

8'den yukarı olduğu zaman nitrit oksitleyiciler için fazla  $\text{NH}_3$  toksik olduğundan nitrifikasyon azalır. Aerobik alıkonma süresine bağlı olarak, çıkışta farklı konsantrasyonlarda amonyum elde edilebilir. Bunun yanında  $\text{HNO}_2$  amonyum oksitleyicilerini inhibe eder, fakat bunlar yüksek konsantrasyonlardaki  $\text{NO}_2$ 'yi ( $>0,5\text{ gNO}_2\text{-N /L}$ ) tolere edebilir.

Farklı prosesler içinde SHARON prosesi yüksek sıcaklık ve pH'da  $\text{NH}_4^+$  gideriminde etkili bir procestir. Bu proses ile %90 oranında azot giderimi sağlanmaktadır. Çamur alıkonması olmadan iyi karışımli bir reaktör tank bu proses için yeterlidir. Proceste kimyasal çamur oluşmaz ve nispeten daha düşük miktarda biyolojik çamur oluşur. Oksidasyon nitrit adımında olduğu için fazla oksijene ihtiyaç duyulmaz. Bu da enerji ihtiyacını azaltır. Nitrat açısından konvansiyonel nitrifikasyon/denitrifikasyon ile karşılaştırılırsa, SHARON prosesi %25 daha az havalandırma ve %40 daha az karbona gereksinim duyar [3].

Çizelge 1'de farklı biyolojik azot giderim yöntemleri verilmiştir. ANAMMOX, CANON ve SHARON gibi prosesler ototrofik nitrifikasyon ve heterotrofik denitrifikasyona dayalı olan konvansiyonel azot giderim yöntemleri ile karşılaştırılmıştır [16].

**Çizelge 1.** Konvansiyonel Nitrojen Giderim Sistemleri ile ANAMMOX Teknolojisinin Farklı Bileşenlerinin Niteliksel Karşılaştırması [3,16].

Sistem	SHARON	ANAMMOX	CANON	Konvansiyonel Nitrifikasyon Denitrifikasyon
Reaktör sayısı	1	1	1	2
Besleme	atıksu	amonyum nitrit karışımı	atıksu	atıksu
Deşarj	$\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$	$\text{N}_2$ , $\text{NO}_3^-$	$\text{N}_2$ , $\text{NO}_3^-$	$\text{NO}_3^-$ , $\text{N}_2\text{O}$ , $\text{N}_2$
Şartlar	oksijenik	anoksijenik	oksijen sınırlayıcı	oksijenik; anoksijenik
Oksijen gereksinimi	düşük	yok	düşük	yüksek
pH kontrolü	yok	yok	yok	Var
Biyokütlenin alıkonması	yok	var	var	Yok
KOİ gereksinimi	yok	yok	yok	var
Çamur oluşumu	düşük	düşük	düşük	yüksek
Reaktör kapasitesi (kg N/m <sup>3</sup> gün)	1	6-12	1-3	0,05-4
Bakteri	Aerobik $\text{NH}_4^+$ oksitleyiciler	<i>Planktomisetler</i>	Aerobik $\text{NH}_4^+$ oksitleyiciler ve <i>Planktomisetler</i>	Nitrifikasyon yapan bakteriler ve farklı heterotroflar

## 5. SONUÇ

Yakın geçmişe kadar yürütülen biyolojik arıtma çalışmalarının daha çok organik karbon giderimine yönelik olduğu, azotlu bileşiklerin giderilmesi ile pek fazla ilgilenilmediği görülmektedir. Azotlu bileşiklerin alıcı ortamlarda sebep oldukları zararlı etkiler nedeniyle azot giderimine ancak son yıllarda önem vermeye başlanmış, karbon-azot gideriminin birlikte

gerçekleştirildiği biyolojik sistemlerin (nitrifikasyon, denitrifikasyon) en ekonomik çözüm olarak ortaya çıktığı görülmüştür. Biyolojik azot giderim yöntemleri yavaş işleyen proseslerdir. Bunun sebebi, giderimden sorumlu mikroorganizmaların yavaş çoğalmasıdır. Buna ek olarak, nitrifikasyon ve denitrifikasyon için ihtiyaç duyulan aerobik ve anaerobik şartların

işletme kontrollerini sağlamak oldukça zordur. Bu problemlerin üstesinden gelmek için azot gideriminin artırılmasına yönelik çeşitli biyoreaktörler incelenmiş fakat yüksek konsantrasyonda azot içeren atıksulardan azotun gideriminde bu reaktörlerle de iyi sonuçlar elde edilememiştir. Bu reaktörlerin kötü performansları; düşük nitrifikasyon ve denitrifikasyon hızına, tutundurulmuş bakterilerin düşük stabilitesine ve denitrifikasyon için yetersiz veya mevcut olmayan karbon kaynaklarına bağlanmıştır. Son yıllarda mevcut sınırlandırmaların üstesinden gelebilmek için yeni prosesler geliştirilmiştir. Bu yeni prosesler ile yüksek miktarda amonyum içeren atıksulardan azotun giderilmesi hedef alınmaktadır. Bu prosesler, yüksek miktarda amonyağın nitrit üzerinden dönüşümünü içeren tek reaktör sistemi (SHARON), anaerobik amonyum oksidasyon prosesi (ANAMMOX) ve nitrit üzerinden

tamamen ototrofik yolla azot giderimini içeren prosesler (CANON)'dir [3].

Bunlardan ANAMMOX prosesi konvansiyonel denitrifikasyon sistemlerine alternatif olarak çıkartılan düşük maliyetli proseslerdir. Anammox prosesi nitrifikasyon prosesi ile kombine edilirse, nitrifikasyon prosesinde sadece amonyumun nitrite dönüştüğü kısmı gerekli olur. Anammox prosesi nitriti kullanarak kalan amonyumdan N<sub>2</sub> gazı üretir. Bu ise, nitrifikasyon reaktöründeki oksijen ihtiyacını ve maliyeti düşürür [1]. Kısmi nitrifikasyon/anammox prosesi atıksulardan azot gideriminde yeni ve uygulanabilir bir methodur. Bu proses yüksek amonyum (>0.2 g/L) ve düşük organik karbon (0.15'den daha düşük C:N oranı) içeren atıksu akıntılarını (veya gazlar) hedef almaktadır. Anammox prosesini konvansiyonel nitrifikasyon/denitrifikasyon prosesi ile karşılaştırdığımızda, bu metodun gereken sentetik karbon kaynağının %100'ünü (örnek metanol) ve oksijenin %50'sini kazandırdığını görürüz. Bu da, işletme masraflarında %90, CO<sub>2</sub> emisyonunda %100'den fazla (proses CO<sub>2</sub>'yi tüketir) azalma sağlar. Bunun yanında bu prosesle gerekli olan enerji ihtiyacı da azalır. Anammox prosesi ile artılabilen en uygun atıksu çamur sıvısı, endüstriyel atıksular ve gazlardır [11,28].

#### KAYNAKLAR

- [1] Güven D., Sözen S. (2003). ANAMMOX Prosesi ile Amonyum Giderimi ve ANAMMOX Popülasyonunun Karakterizasyonu, İTÜ Dergisi/d, Cilt: 2, Sayı:5, 27-34.
- [2] Ruiz G., Jeison D., Rubilar O., Ciudad G., Chamy R. (2006). Nitrification-Denitrification via Nitrite Accumulation for Nitrogen Removal from Wastewaters, Biotechnolgy Technology 97, 330-335.
- [3] Khin T., Annachhatre A.P. (2004). Novel Microbial Nitrogen Removal Processes, Biotechnology Advances 22, 519-532.
- [4] Kuenen J.G. and Robertson L.A. (1994). Combined Nitrification-Denitrification Processes, FEMS Microbiology Reviews, 15,(2-3), 109-117.
- [5] Strous M., Van Gevren E., Kuenen J.G., Jetten M. (1997a). Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (ANAMMOX) Sludge, Applied and Environmental Microbiology, 63(6), 2446-2448.
- [6] Schmidt I., Sliemers O., Schmid M., Bock E., Fuerst J., Kuenen J.G., Jetten M.S.M., Strous M. (2003). New Concepts of Microbial Treatment Processes for the Nitrogen Removal in Wastewaters, FEMS Microbiology Reviews, 27, 481-492.
- [7] Jetten M.S.M., Wagner M., Fuerst J., van Loosdrecht M., Kuenen G., Strous M. (2001). Microbiology and Application of the Anaerobic Ammonium Oxidation (anammox) Process, Current Opinion in Biotechnology, 12, 283-288.
- [8] Jianlong W., Jing K. (2005). The Characteristics of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX ) by Granular Sludge from an EGSB Reactor, Process Biochemistry, 40, 1973-1978.
- [9] Strous M., Gevren E.van, Zheng P., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (1997b). Ammonium Removal from Concentrated Waste Streams with the Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Process in Different Reactor Configurations, Wat.Res., 31(8), 1955-1962.
- [10] Dalsgaard T., Thamdrup B., Canfield D.E. (2005). Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) in the Marine Environment, Research in Microbiology, 156(4), 457-464.

- [11] Sliekers A.O., Third K.A., Abma W., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (2003). CANON and Anammox in a Gas-Lift Reactor, FEMS Microbiology Letters, 218, 339-344.
- [12] Mulder A., van de Graaf A.A., Robertson L.A., Kuenen J.G. (1995). Anaerobic Ammonium Oxidation Discovered in a Denitrifying Fluidized Bed Reactor. FEMS Microbiology Ecology, 16, 177-183.
- [13] Strous M., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (1999). Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation, Applied and Environmental Microbiology, 65(7), 3248-3250.
- [14] Rijn Jaap van, Tal Y., Schreier H.J. (2006). Denitrification in Recirculating Systems: Theory and Applications, Aquacultural Engineering, 34(3), 364-376.
- [15] Arrojo B., Mosquera-Corral A., Campos J.L., Mendez R., Effects of Mechanical Stress on Anammox Granules in a Sequencing Batch Reactor (SBR), Journal of Biotechnology, 2006.
- [16] Jetten, M. S. M., M. Schmid, I. Schmidt, M. Wubben, U. Van Dongen, W. Abma, O. Sliekers, N. P. Revsbech, H. J. E. Beaumont, L. Ottosen, E. Volcke, H. J. Laanbroek, J. L. Campos-Gomez, J. Cole, M. Van Loosdrecht, J. W. Mulder, J. Fuerst, D. Richardson, K. Van de Pas, R. Mendez-Pampin, K. Third, I. Cirpus, R. Van Spanning, A. Bollmann, L. P. Nielsen, H. Op den Camp, C. Schultz, J. Gundersen, P. Vanrolleghem, M. Strous, M. Wagner, and J. G. Kuenen (2002). Improved Nitrogen Removal by Application of New Nitrogen-Cycle Bacteria, Environmental Science and Bio/Technology 1, 51-63.
- [17] Niftrik van L.A, Fuerst J.A., Sinninghe Damsté J.S., Kuenen J.G., Jetten M.S.M, Strous M. (2004). The Anammoxosome: an Intracytoplasmic Compartment in ANAMMOX Bacteria, FEMS Microbiology Letters, 233, 7-13.
- [18] Dapena-Mora A., Campos J.L., Mosquera-Corral A., Jetten M.S.M., Mendez R. (2004). Stability of the ANAMMOX Process in a Gas-Lift Reactor and a SBR, Journal of Biotechnology, 110, 159-170.
- [19] Schmidt I., Sliekers O., Schmid M., Cirpus I., Strous M., Bock E., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (2002). Aerobic and Anaerobic Ammonia Oxidizing Bacteria-Competitors or Natural Partners?, FEMS Microbiology Ecology, 39, 175-181.
- [20] Sliekers A.O., Haaijer S., Schmid M., Harhangi H., Verwegen K., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (2004). Nitrification and Anammox with Urea as the Energy Source, System.Appl.Microbial.,27, 271-278.
- [21] Jetten M.S.M., Strous M., van de Pas-Schoonen K.T., Schalk J., van Dongen U.G.J.M., van de Graaf A.A., Logemann S., Muyzer G., van Loosdrecht M.C.M., Kuenen J.G. (1999). The Anaerobic Oxidation of Ammonium, FEMS Microbiology Reviews, 22, 421-437.
- [22] Ye R.W. (2001). Thomas S.M., Microbial Nitrogen Cycles: Physiology, Genomics and Applications, Current Opinion in Microbiology, 4, 307-312.
- [23] Schalk J., Oustad H., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (1998) The Anaerobic Oxidation of Hydrazine: a Novel Reaction in Microbial Nitrogen Metabolism. FEMS Microbiology Reviews, 158(1), 61-67.
- [24] Schmid M., Walsh K., Webb R., C.Rippjstra W.I., van de Pas-Schoonen K., Verbruggen M.J., Hill T., Moffett B., Fuerst J., Schouten S., Sinninghe Damsté J.S., Haris J., Shaw P., Jetten M., Strous M. (2003). Candidatus "Scalindua brodae", sp.nov., Candidatus "Scalindua Wagneri", sp. Nov., Two New Species of Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria, Systematic and Applied Microbiology, 26, 529-538.

- [25] Engström P., Dalsgaard T., Hulth S., Aller R.C. (2005). Anaerobic Ammonium Oxidation by Nitrite (Anammox): Implications for N<sub>2</sub> Production in Coastal Marine Sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(8), 2057-2065.
- [26] Güven Didem (2003). ANAMMOX Prosesinin Farklı Karbon Kaynaklarına Tepkisinin Deneysel Yöntemlerle Belirlenmesi, İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- [27] Nielsen M., Bollmann A., Sliekers O., Jetten M., Schmid M., Strous M., Schmidt I., Larsen L.H., Nielsen L.P., Revsbech N.P. (2005). Kinetics, Diffusional Limitation and Microscale Distribution of Chemistry and Organisms in a CANON Reactor, *FEMS Microbiology Ecology*, 51, 247-256.
- [28] Fux C., Boehler M., Huber P., Brunner I., Siegrist H. (2002). Biological Treatment of Ammonium-Rich Wastewater by Partial Nitritation and Subsequent Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) in a Pilot Plant, *Journal of Biotechnology* 99, 295-306.

*Geliş Tarihi: 06/11/2006*

*Kabul Tarihi: 06/03/2008*