

## Atıksu arıtma çamurlarının kapalı yataklarda güneş enerjisiyle kurutulması

Nezih Kamil SALİHOĞLU\*, Vedat PINARLI

Uludağ Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 16059, Bursa

### Özet

Ülkemizde atıksu arıtma çamurlarıyla ilgili en yaygın bertaraf yöntemi depolamadır. Mekanik süzleştirme ekipmanlarıyla %20-30 Katı Madde (KM) içeriğine ulaştırılan atık çamurlar doğrudan veya kireç ilavesinden sonra düzensiz veya düzenli depolama sahalarına depolanmaktadır. Bu çalışmada atıksu arıtma çamurlarının güneş enerjisiyle kapalı yataklarda kurutulması incelenmiştir. Ülkemizin güneş enerjisi potansiyelinden yararlanmak ve çevre yatırımlarında yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımının yaygınlaşması çalışmaya temel oluşturmuştur. Deneysel süreç için 2m x 5m taban genişliğinde, dolgu yataklı, şeffaf polikarbonat örtülü, beton kaplama tabanlı, tünel tip kurutma yatağı tasarlanmıştır. Kapalı ve açık sistem arasındaki farkı tespit etmek amacıyla aynı boyutlarda bir de açık kurutma yatağı teşkil edilmiştir. Uzun havalandırmalı kentsel bir atıksu arıtma tesisi belt filtre presinden alınan %20-25 KM içeriğindeki çamur 25 cm yüksekliğinde beton kaplama üzerine serilmiş ve kontrollü ortamda kurutma süreci incelenmiştir. Yöntemde patojen giderimini hızlandırmak amacıyla düşük miktarda (0.15 kg sönmemiş kireç / kg KM) kullanılmıştır. %23 KM içeriğindeki atık çamurun, Temmuz-Ağustos döneminde 26 gün sonunda, açık tesiste %79 KM, kapalı tesiste ise % 91 KM oranına kadar kuruduğu görülmüştür. Kasım-Aralık döneminde %23 KM içeren çamurun, 26 gün sonunda, açık sistemde hava şartları nedeniyle %17 KM'ye düştüğü, kapalı sistemde ise % 37 KM oranına kadar kuruduğu görülmüştür. Ölçümler sonunda çamur KM yüzdesi ve eklenik radyasyon değerleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu ( $r^2 > 0.9$ ) belirlenmiştir. Buna göre belt filtre presi çıkışından alınan çamurun Katı Atıkların Kontrolü Yönetmeliği'ne göre %35 KM oranına ulaşması için  $45 \pm 3$  kW/m<sup>2</sup> güneş radyasyonuna gereksinim duyulduğu hesaplanmıştır. Pilot tesisin verimi, çamur KM değişimi, kurutma süresi, patojen mikroorganizma giderimi dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Atıksu arıtma çamuru, güneşle kurutma, katı madde, fekal koliform.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Nezih Kamil SALİHOĞLU. nkamils@uludag.edu.tr; Tel: (224) 442 81 77.  
Makale metni 28.12.2006 tarihinde dergiye ulaşmış, 05.03.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## Drying of wastewater treatment sludge in covered beds by solar energy

### Extended abstract

*Sludge from biological wastewater treatment plants (WWTP) occupies a significant place in waste management, especially in recent years. Waste sludge or "biosolids" are defined as organic matter containing solid or semi-solid wastes that have been generated from wastewater treatment processes (Tchobanoglous and Burton, 1991). Sludge is a significant environmental problem because of the physical, chemical, and biological pollutants it contains.*

*Currently, landfilling is the most common method in sludge management in our country. WWTP sludge that have been dewatered up to 20-30% dry solids (DS) content with mechanical dewatering equipment are disposed of at dumpsites or municipal landfills directly or after lime addition. Different technologies to decrease disposal costs can be applied to the WWTP sludge that can be considered as an important source with its soil enrichment capacity despite its high pathogen content. The most important parameters to be considered from the formation stage to the final disposal stage of the sludge can be given as water content, volatile solid material amount, and heavy metal and pathogen microorganism concentrations.*

*Solar sludge drying was examined in this study. The basis for the study was to benefit from the solar energy potential of our country and increase the use of renewable energy sources. The system designed for further sludge dewatering and drying would also be used for temporary disposal. Pathogen microorganism concentration and the need for chemical material use were decreased when the system was used. First investment and operation costs of the system become more advantageous than the mechanical dewatering systems when there is sufficient space. Paved floor bed used in the system is a well known method in natural sludge drying systems. However, paved beds are not preferred in big plants because of space need, and odor and insect problems. The method became applicable with the development of sludge mixing equipments, emission control and additional heating units in recent years (Luboschik, 1999).*

*The study was initiated to determine the disposal alternatives of the sludge that would be generated*

*from WWTP's of Bursa Metropolitan Municipality, which were recently put into operation. A tunnel type greenhouse with 2m x 5m paved bed floor width and transparent polycarbonate cover was designed. An open drying bed with the same dimensions was also constructed to determine the differences between the covered and open systems. Sludge was obtained from a municipal WWTP with extended aeration and spread over the concrete floor with a 25cm height. The drying process of the sludge was examined in controlled conditions. Limited quicklime (0.15 kg quicklime/kg DS) was used to speed up the pathogen microorganism removal. The performance of the pilot plants were evaluated according to the DS variations, drying time, pathogen microorganism removal rate and economical components. In 26 days in June-August period, the DS content of the sludge, which was 23% initially, increased up to 79%DS and 91%DS at open and covered plants, respectively. In November-December period initial 23%DS content of the sludge was decreased down to 17%DS in the open system, and increased up to 37%DS in the covered system, because of the weather conditions. A linear correlation ( $r^2 > 0.9$ ) was found between the DS and cumulative solar radiation. Accordingly, a solar radiation of  $45 \pm 3 \text{ kW/m}^2$  was found as a need to increase the DS content of the sludge from 20% to 35%.*

*The faecal coliform values to determine the microorganism removal were measured according to the multiple tube method of Standard Methods. Initial coliform value of  $10^7$  Colony Forming Unit (CFU)/g.DS of the sludge with 20%DS content decreased down to U.S.Environmental Protection Agency(EPA) Class B sludge limit, which is  $2 \cdot 10^6$  CFU/g.DS (USEPA, 2000) in 45 days in summer period. By adding quicklime of 0.15kg/kg.DS to the sludge, the EPA Class A sludge limit target of  $10^3$  CFU/g DS was reached in 5 days. 35% DS content target of landfilling was achieved at the end of 10 days period of time in summer.*

*The results of the study suggested that solar drying with limited liming would be advantageous for further dewatering and/or drying purposes before the final disposal of the sludge from small and medium WWTP.*

**Keywords:** *Wastewater treatment plant sludge, solar drying, dry solids, faecal coliform.*

## **Giriş**

Atık çamurlar tüm dünyada gün geçtikçe artan yeni bir çevresel sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Avrupa Konseyi (AK) yönergesinin (91/271/EEC) getirdiği sınırlamalarla AB'ye üye ülkelerde 1998'de oluşan 7.2 Milyon Ton çamur Katı Maddesinin (KM), 2005 yılında 9.4 Milyon Ton KM'ye çıkması beklenmektedir. (Avrupa Çevre Ajansı (EEA), 1998.) Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri'nde (A.B.D.) 1998'de oluşan 6.9 milyon ton KM'nin 2005'te 8.2 milyon ton KM'ye ulaşacağı hesaplanmıştır (USEPA,1999). Ülkemizde 2004 yılı verilerine göre toplam nüfusun ancak %66'sına kanalizasyon şebekesi ile hizmet verilmekte ve yine nüfusun %35'lik kısmının atıksuları bir arıtma tesisine ulaşmaktadır. Ayrıca belediyelere ait 165 atıksu arıtma tesisi ile 303 belediyeye hizmet verilmektedir. Arıtılan atıksuyun %56'sına biyolojik, %32'sine fiziksel ve %12'sine ileri arıtma uygulanmıştır (TÜİK, 2005). Avrupa Birliği (AB) adaylık çalışmalarında öncelikli dosyalardan birini oluşturan çevre konusunda yasal zorunlulukların gelmesiyle birlikte ülkemizde atıksu arıtımında yaşanacak gelişmeler atık çamur miktarını da önemli ölçüde artıracaktır. Bu yüzden atıksu arıtma teknolojilerinin seçiminde çamur ber-terafı önemli bir ana başlık oluşturmaktadır. Toplam arıtım maliyetinin yarıya yakın kısmını oluşturan çamur arıtımında ülkemizde kullanılacak yöntemlerin araştırılması, karşılanacak maliyetlerin azalmasında ve uygulamadan doğacak sorunların en aza indirilmesinde fayda sağlayacaktır. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmada ülkemizin güneş enerjisi potansiyelinden yararlanmak amacıyla güneşle çamur kurutma sistemleri üzerinde durulmuştur.

Çamurun kurutulması, çamur içerisindeki suyun katı kısımdan ayrılarak buharlaştırılmasını zorunlu kılmaktadır (Vaxelaire vd., 2000). Kurutma proseslerinin tasarımı ve optimizasyonu için ön şart buharlaşmanın anlaşılmasıdır. (Schwartz ve Bröcker, 2000). Çamur içerisindeki su farklı özellikler gösterdiği için genel olarak iki ana kısımda düşünülmektedir. Bunlardan birincisi; katı taneciklere bağlı olmayan serbest su, diğeri; buharlaştırılması zor olan bağlı su kısmıdır (Vaxelaire ve Cézac, 2004).

Her çamur kurutma prosesi, çamur kompozisyonu ve çamurdaki suyun dağılımı sebebiyle farklılıklar göstermektedir. Nihai çamur bertaraf yöntemine göre farklı nem içeriklerine sahip çamur eldesi için hem doğal hem de mekanik susuzlaştırma ve kurutma yöntemleri geliştirilmiştir. Çamur içerisindeki suyun doğal buharlaşmayla uzaklaştırıldığı havayla kurutma süreçleri daha az karmaşıktır, işletimi daha kolaydır ve mekanik susuzlaştırmaya göre daha az enerji ile işletilebilmektedir (USEPA, 1987). Mekanik ısıl süreçlerin ise yüksek ilk yatırım, işletme ve enerji maliyetleri gerektirdiği belirlenmiştir (Bux vd., 2002).

Doğal susuzlaştırma ve kurutma yöntemlerinde ana enerji kaynağı güneştir. Güneş enerjisi geleneksel olarak seraların ısıtılmasında (Pieters ve Deltour, 2000; Kürklü vd., 2003) veya gıda ve tahıl kurutmada kullanılmaktadır (Ekechukwu ve Norton, 1999a; Leon vd., 2002). Güneşle atıksu arıtma çamurlarının kurutulması konusunda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda kent sel atıksu çamurlarının hacimlerinin azaltılması ve ilave stabilizasyon amacıyla otomatik güneşle kurutma tesislerinden bahsedilmektedir (Luboschik, 1999; Haralambopoulos vd., 2002; Bux vd., 2002). Haralambopoulos ve diğerleri (2002) ikinci kademe atıksu arıtma çamurlarının güneş imbiğiyle (solar still) susuzlaştırılması konusunda çalışmalar yürütmüştür. Luboschik (1999) atıksu arıtma çamurlarıyla yaptığı çalışmada güneşle kurutma sistemi işletme maliyetlerinin konvansiyonel mekanik kurutma sistemlerine göre daha düşük olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca atık ısı kaynağına sahip olunması ve bu kaynağın tabandan ısıtmada kullanılması durumunda kurutma performansının arttığını belirtmiştir.

Güneşle çamur kurutmada kullanılan kapalı hacimlerin seralara benzerlikleri açık şekilde görülmektedir. Ancak seralardan farklı olarak ana tasarım amacı kurutma olduğu için yapısal bazı değişiklikler içermektedir. Kürklü ve diğerleri (2003) tünel tip seralarla yürüttükleri çalışmalarda taban altında oluşturulan taş dolgu yatak ile iç ve dış ortam arasında 10 °C'lik bir fark oluştuğunu belirlemiştir. Güneş enerjisiyle ka-

palı kurutma yataklarında çamur kurutma konusunda son yıllarda gelişmeler görölmektedir. Güneş enerjisi; kurutma sistemlerinde doğrudan veya yardımcı enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Ekechukwu ve Norton, 1999b). Bu verilerden hareketle çalışmada kullanılan pilot tesis tasarlanmıştır. Tasarımda;

- Güneş enerjisinden yararlanarak kurutma maliyetlerinin azaltılması,
- Kurutma sırasında dış ortam şartlarının etkilerinin en aza indirilmesi,
- Oluşturulan hacimde sinek, koku ve uçucu bileşiklerin kontrolünün sağlanması,
- Taşınabilir, depolanabilir ve farklı amaçlarla kullanılabilir ürün eldesi,
- İstenildiğinde bir kompost tesisine de dönüştürülebilir ve özel durumlarda geçici depolamanın da gerçekleştirilebileceği bir hacim oluşturulması,
- Çamur şartlandırmada kullanılan kimyasal miktarının azaltılması,
- Sistemdeki ısının korunması ve ilave enerji kaynağı kullanımını mümkün kılan bir yaklaşım hedeflenmiştir.

Ulaşılmak istenen hedeflerden birisi de atık çamurların stabilizasyonudur. Çamur stabilizasyonunda önemli parametreler koku oluşumu, uçucu organik bileşiklerin azalması, oksijen kullanım seviyesi, anaerobik faaliyetin göstergesi olarak gaz oluşumu, toplam organik karbon, su-suzlaştırılabilirlik, viskozite, kalorifik değer ve mikrobiyal aktivitedir (Vesilind, 1979).

Çalışmada stabilizasyonla ilgili olarak patojen mikroorganizma giderimi de incelenmiştir. Amerikan Çevre Ajansı (EPA) tarafından belirlenen çamurdaki patojen giderimine yönelik fekal koliform konsantrasyonlarındaki değişim açıklanmaya çalışılmıştır.

## Materyal ve yöntem

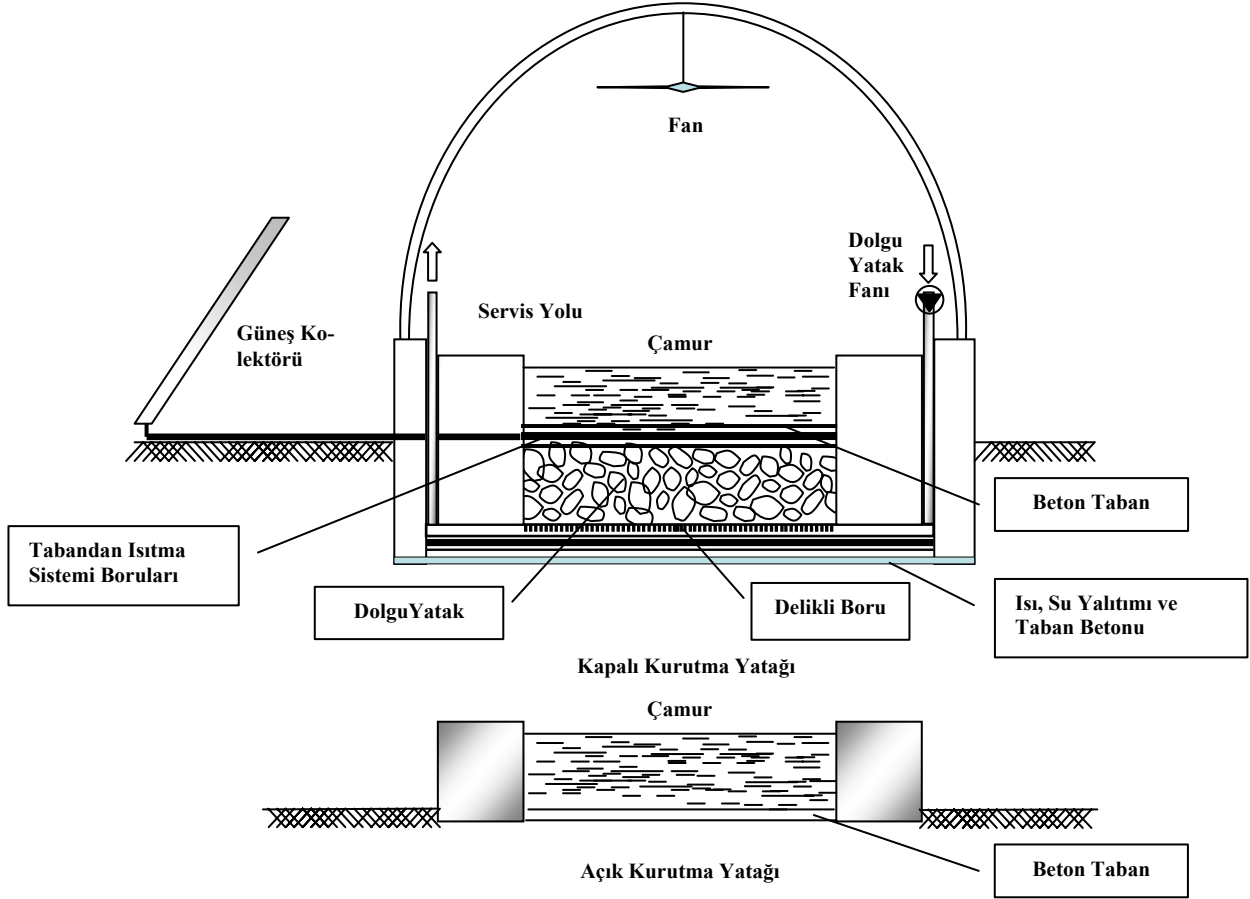
Çalışma için Bursa Su ve Kanalizasyon İdaresi (BUSKİ) Doğu Atıksu Arıtma Tesislerinde sızdırmaz, beton tabanlı, kapalı çamur kurutma yatağı pilot tesisi 2m.x 5m. ölçülerinde inşaa edilmiştir. Üzeri 8 mm. kalınlıkta, %90 ışık ge-

çirimsizliği olan tek hava bölmeli şeffaf polikarbonat örtü ile örtülmüştür. Beton zemin altına 16-48 mm. çaplı dere çakılı ile 50 cm. kalınlığında dolgu yatak teşkil edilmiştir. İç ortamda oluşan sıcak ve nemli hava tabandaki dolgu yatağa fanlar aracılığıyla gönderilerek kapalı bir döngü oluşması sağlanmıştır. Taban ısıtma sistemi iki adet düz yüzeyli güneş kolektörüne bağlanmıştır. Açık sistem için tasarlanan kurutma yatağı da aynı ölçülere sahiptir. Ancak açık sistemde taban ısıtma ve dolgu yatak teşkil edilmemiştir. Şekil 1'de pilot tesisin şeması görölmektedir.

Çalışmamızda, bir ilçenin evsel sularını da arıtan uzun havalandırmalı organize sanayi bölgesi atıksu arıtma tesisi atık çamurları ele alınmıştır. Çamur, açık ve kapalı sistemlere 25 cm. yüksekliğinde serilmiştir. Dış ve iç ortam verileri Onset Computer H21-001 HOB0 meteoroloji istasyonunu ile ölçülerek saatlik ortalamalar olarak veri derleyiciye kaydedilmiştir. Ölçülen parametreler ve ölçüm sensörlerinin hassasiyetleri şöyledir: Dış ortam rüzgar hızı ve yönü ( $\pm 0.5$  m/s; <17 m/s için,  $\pm 3$ ; 17-30 m/s için), güneş radyasyonunu ( $10 \text{ W/m}^2$  veya  $\pm 5$ ), sıcaklık ( $+25^\circ\text{C}$ ye kadar  $\pm 0.7^\circ\text{C}$ ), nem ( $0^\circ$  dan  $+50^\circ\text{C}$ 'ye kadar  $\pm 3\%$  RH), yağış yüksekliği (20 mm'ye kadar %1,0). Çamur sıcaklıkları, iç ortam nem ve sıcaklık değerleri de Onset Computer H21-002 HOB0 Mikro istasyon ile ölçülerek saatlik ortalamalar olarak veri derleyiciye aktarılmıştır.

Pilot tesisten alınan çamur numunelerine, BUSKİ atıksu laboratuvarlarında Standart Metotlara (APHA, AWWA, WEF, 1998) göre toplam KM, uçucu KM ve sabit KM, pH deneyleri yapılmıştır. Analizlerde WTW320 pH metre, SHIMADZU hassas terazi, TOLKİM 2004 saf su cihazı, NUVE FN 500 etüv kullanılmıştır.

Fekal koliform analizleri Standart Metotlar kitabında belirtilen En Muhtemel Sayı (MPN) yöntemine göre haftada 2 kez yapılmıştır. Brilliant green bile broth mikroorganizmaların (MO) besi yeri olarak kullanılmıştır. Dozlamanın yapıldığı tüpler  $24 \pm 2$  saat boyunca  $44.5 \pm 0.2$   $^\circ\text{C}$ 'lik etüvde bekletilmiştir. Daha sonra üremenin gerçekleştiği tüpler tespit edilerek MPN tablosundan



Şekil 1. Kapalı ve açık pilot tesislerin şematik gösterimi

gerekli hesaplamalar yapılmıştır. A sınıfı çamur kalitesine daha kısa sürede ulaşabilmek amacıyla 0,15 kg / kg KM oranında kullanılan sönmemiş kireç değeri laboratuvar denemeleri sonunda EPA'nın tariflediği gibi (USEPA, 1995; USEPA, 2001) en az 2 saat pH'nin 12 ve üzeri, 22 saat boyunca da pH 11.5'nin altına inmeyecek şekilde belirlenmiştir.

Tüm deneylerden elde edilen veriler STATISTICA 5.0 programında değerlendirilmiş  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  olasılıklar için değişkenler ve çıktılar arasındaki ilişkilerin kayda değer olup olmadığı belirlenmiştir. Deneysel süreç boyunca çamur temininde kentsel atıksuların arıtıldığı, nutrient giderimine dayalı, uzun havalandırılmalı bir atıksu arıtma tesisinden istifade edilmiştir. Tablo 1'de izlenen parametreler ve deneylerde kullanılan yöntemler ile Tablo 2'de çamurun özellikleri yer almaktadır.

Tablo 1. İzlenen parametreler ve deneylerde kullanılan yöntemler

Parametre	Metot	Cihaz
pH	pH Elektrot	WTW
Toplam Katılar (TS)	Gravimetrik (2540 G*)	Nuve Kurutma Fırını (F400)
Uçucu Katılar (VS)	Gravimetrik (2540 G*)	LINDBERG / BLUE Yakma Fırını
Fekal Koliform	Çoklu Tüp Fermentasyonu (9221 E2*)	Nuve LD 501 Etüv
İç ve Dış Ortam Parametreleri	Sürekli Ölçüm (Saatli Ortalama)	HOBO H21 – 22 İstasyon ve Veri Derleyici
Ağır Metaller	ICP/Mass Spectrometry (3125*)	ICP-OES Varian Vista MP-X
Toplam Organik Karbon (TOC)	Yüksek Sıcaklıkta Yakma Yöntemi (5310 B*)	Shimadzu TOC 5000A

\*Standart metodlar metot numaraları

Tablo 2. Kurutma sırasında kullanılan atık çamurun özellikleri

Parametre	Ortalama ± Standart Sapma
pH	7.6 ± 0.8
Toplam Katı Madde (TKM), %	20.6 ± 1.8
Uçucu Katı Madde (UKM), %	60.4 ± 2.1
Toplam Organik Karbon mg/kg	169 ± 23
Toplam Azot, %	5.38 ± 2.13
Toplam Fosfor, %	2.7 ± 0.6
Arsenik (As), mg/kg	44.9 ± 5.7
Kadmiyum (Cd), mg/kg	1.3 ± 0.4
Krom(Cr), mg/kg	321 ± 15
Bakır (Cu), mg/kg	388 ± 18
Demir(Fe), mg/kg	10375 ± 675
Mangan (Mn), mg/kg	165 ± 8
Nikel (Ni), mg/kg	128 ± 12
Kurşun (Pb), mg/kg	29.2 ± 3.6
Çinko (Zn), mg/kg	541 ± 73

## Deneysel çalışma sonuçları

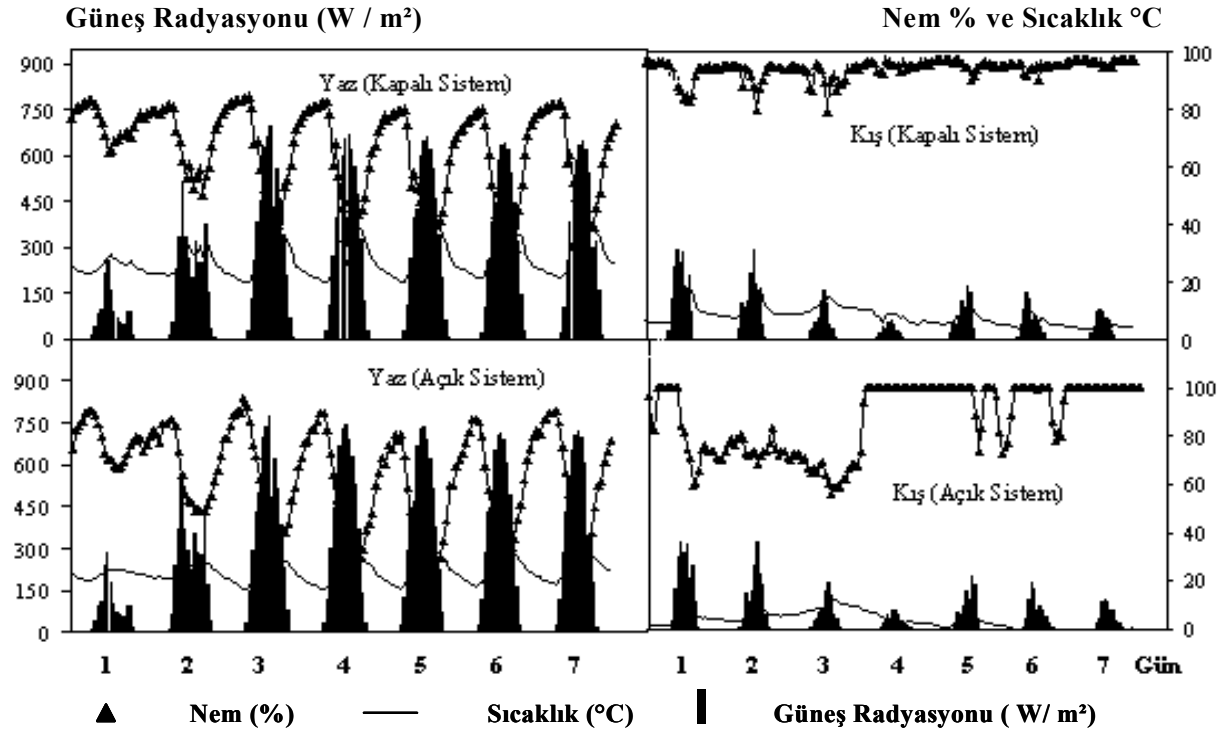
### İç ve dış ortam verileri

Yapılan çalışmalar sonunda elde edilen yaz (Ağustos) ve kış (Şubat) dönemlerine ait iç ve dış ortam nem, sıcaklık ve radyasyon değişimleri Şekil 2’de verilmektedir. Yapılan istatistiksel çalışmalar sonucu %95 güven aralığı için t Testi sonuçlarına göre kapalı kurutma yatağı iç ortam

sıcaklığının kış ve yaz dönemlerinde dış ortam sıcaklıklarına göre yüksek olduğu bulunmuştur. İç ve dış ortam sıcaklıkları arasındaki ilişki yaz dönemi için  $r^2=0.92$ , kış dönemi için  $r^2=0.84$  olarak hesaplanmıştır.

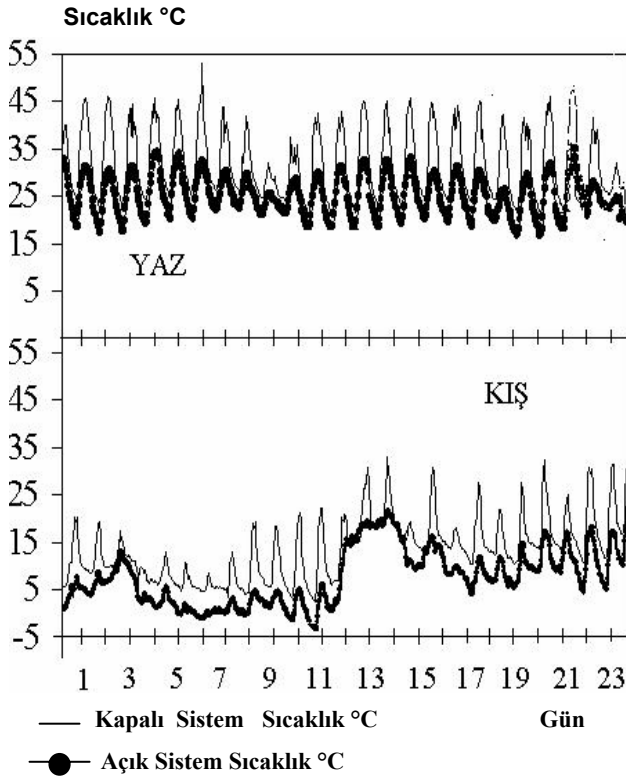
Yaz döneminde 07.00-19.00 saatleri arasında ortalama dış ortam sıcaklığı  $27.70 \pm 2.07^\circ\text{C}$ , ortalama iç ortam sıcaklığı  $36.77 \pm 3.13^\circ\text{C}$  olarak gerçekleşmiştir. Aynı dönemde 20.00-06.00 saatleri arasında ortalama iç ortam sıcaklığı  $26.27 \pm 1.58^\circ\text{C}$ , ortalama dış ortam sıcaklığı  $22.26 \pm 1.58^\circ\text{C}$ ’ye düşmüştür. Kış döneminde 07.00-17.00 saatleri arasında ortalama iç ortam sıcaklığı  $15.29 \pm 5.48^\circ\text{C}$ , ortalama dış ortam sıcaklığı  $7.64 \pm 5.46^\circ\text{C}$  olarak gerçekleşmiştir. Aynı dönemde 18.00-06.00 saatleri arasında ortalama iç ortam sıcaklığı  $10.16 \pm 4.22^\circ\text{C}$ , ortalama dış ortam sıcaklığı  $6.09 \pm 5.34^\circ\text{C}$ ’ye düşmüştür.

Kontrollü iç ortam şartları dış ortam sıcaklıklarında meydana gelen ani düşmelerden etkilenmemiştir. Kış döneminde  $-4.17^\circ\text{C}$ ’ye düşen dış ortam sıcaklığında, iç ortam sıcaklığının güneş kolektörü çalışmıyor olmasına rağmen  $2.03^\circ\text{C}$ ’nin altına inmediği Şekil 3’te görülmektedir. İç ve



Şekil 2. İç ve dış ortam nem, sıcaklık ve radyasyon değişimleri

dış ortam sıcaklık değerlerinin güneş radyasyonu değerlerinden etkilendiği görülmektedir. Yaz döneminde açık ve kapalı sistemlerde artan sıcaklıkla birlikte bağıl nem değeri düşmektedir. Bu iki parametre arasındaki ilişki bu dönemde kuvvetlidir. ( $r^2 = -0.92$ ) Kış döneminde iç ortam sıcaklığı ve bağıl nem arasındaki ilişki ( $r^2 = -0.61$ ), dış ortamda ( $r^2 = -0.68$ ) olmaktadır.



Şekil 3. Yaz ve kış dönemlerinde açık ve kapalı sistem sıcaklık farkları

Kapalı kurutma yatağının bağıl nem değeri t Testine göre %95 güven aralığında dış ortama göre hem yaz hem kış döneminde daha yüksek bulunmuştur. Yaz döneminde gündüz saatlerinde ortalama bağıl nem değeri iç ortamda  $61.05 \pm 8.91$ , dış ortamda  $51.95 \pm 11.67$  olarak gerçekleşmiştir. Dış ortamda nem değerinin rüzgarla düştüğü saptanmıştır. Buradan, sistemde oluşan su buharının mevcut fanlarla tahliye edilemediği sonucuna varılmış, otomatik kontrol sistemiyle birlikte daha güçlü salyangoz tip fanlar kullanılmaya başlanmıştır.

Dış ortamda yapılan rüzgar yönü ölçümlerinde yaz döneminde hakim rüzgar Kuzey-Kuzey-

Doğu (K-K-D), kış döneminde Doğu (D) olarak bulunmuştur. Ölçülen ortalama rüzgar hızı değerleri yaz döneminde  $1.38 \pm 0.92$  m/s, kış döneminde  $2.34 \pm 2.27$  m/s'dir. Yaz döneminde 20.00-06.00 saatleri arasında iç ve dış ortam ortalama nem değerleri  $84.56 \pm 2.63$  ve  $76.23 \pm 5.28$  olarak gerçekleşmiştir. Önemli etkenlerden biri olan ortalama güneş radyasyonu yaz döneminde  $375.69 \pm 25.8$  W/m<sup>2</sup>, kış döneminde  $85.94 \pm 9.2$  W/m<sup>2</sup> olarak tespit edilmiştir. Güneş radyasyonundaki azalmaya bağlı olarak buharlaşma hızında da bir azalma tespit edilmiştir. Yaz döneminde iç ortam sıcaklığı ve radyasyon arasında ( $r^2 = 0.84$ ) gibi yüksek bir ilişki bulunurken, açık ortam sıcaklık ve radyasyon değerleri arasında bu ilişki daha düşük ( $r^2 = 0.67$ ) tespit edilmiştir. Bu değerler kapalı sistemin güneş radyasyonundan daha fazla yararlandığını göstermektedir. Bu durum kış döneminde kapalı sistem için hesaplanan  $r^2 = 0.65$ , ve açık sistem için hesaplanan  $r^2 = 0.26$  ile de belirlenmiştir.

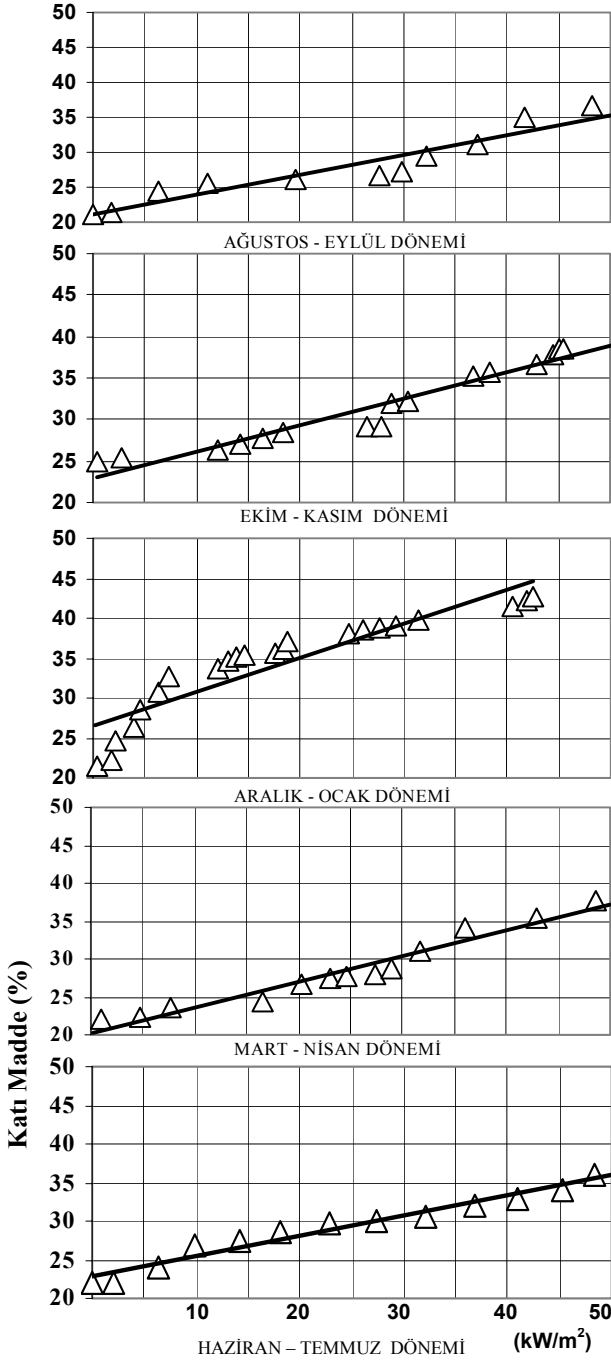
İç ortam çamur sıcaklığı yaz döneminde t Testi %95 güven aralığına göre iç ortam sıcaklığından daha yüksek bulunmuştur. Yaz döneminde açık sistemde dış ortam çamur sıcaklığı dış ortam sıcaklığından yüksek, kış döneminde ise eşit bulunmuştur. Yaz döneminde iç ortam ortalama çamur sıcaklığı  $34.9 \pm 2.39$ °C, dış ortam ortalama çamur sıcaklığı  $27.99 \pm 3.17$ °C ölçülmüştür. Kış döneminde ise bu değer iç ortam çamuru için  $28.99 \pm 6.08$ °C, dış ortam çamuru için  $7.85 \pm 4.49$ °C olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık ölçümleriyle ilgili grafik aşağıda görülmektedir.

Deneyler sonucunda belirlenen özel bir durum ise; yaz döneminde açık ve kapalı sistem kurutma değerlerinin istatistiksel olarak eşit olmasıdır. Yaz döneminde %25KM içeriğiyle kurumaya başlayan çamur 30 gün sonunda açık sistemde %80, kapalı sistemde %95 KM'ye ulaşmıştır. Bu dönemde günlük hava sıcaklıkları zaman zaman 40°C'lerin üzerine çıkmıştır.

#### Katı madde ve eklenik radyasyon

Şekil 4'te farklı dönemlerde gerçekleştirilen kurutma çalışmalarında katı madde ve eklenik radyasyon arasındaki ilişki görülmektedir. Elde edilen veriler STATISTICA 5.0 ve Sigma Plot

programlarıyla yapılan çalışmalarda %95 güven düzeyinde ( $p < 0.05$ ) için KM ile eklenik güneş radyasyonu verileri arasındaki korelasyonun kayda değer olduğu tespit edilmiştir. şekil 4'te görüleceği üzere çamurda %20 KM içeriğinden %35 KM'ye ulaşmak için gerekli güneş radyasyonu değeri yıllık ortalama olarak  $45 \pm 3 \text{ kW/m}^2$  olarak bulunmuştur.



şekil 4. Katı madde ve eklenik radyasyon arasındaki ilişki

Denemelerden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo 3'te grlmektedir. Burada p: olasılık, r: korelasyon katsayısı, t: T testi sonucu N: rnek sayısıdır. şekil 3'te açık ve kapalı sistemde yaz ve kiş dönemlerinde oluşan farklılığı ortaya koyan bir veri sunulmaktadır. Yaz döneminde açık ve kapalı sistemler arası benzerlik dikkat çekmektedir. Gün içerisinde artan radyasyon değerleriyle ısınan hava nem oranında belirgin düşüşlere sebep olmakta, özellikle sabah gün doğumuna yakın saatlerde ise nem değer en yüksek değerlerine ulaşmaktadır. Kiş döneminde özellikle açık sistemde belirli dönemlerde rzgr hızına bağlı olarak değerimler grlmektedir. İç ortamda ise nem değer %80'nin üzerinde kararlı bir yapı gözlenmiştir. Tesisin özellikle kiş aylarında dış ortamın artan nem değerlerinden etkilendiği ve buharlaşmanın devam edebilmesi için iç ortam nem değerinin düşürülme ihtiyacının olduğu belirlenmiştir. Kiş döneminde açık sistemde güneş radyasyonunda meydana gelen kısa süreli artışlar sıcak ve soğuk hava ktellerinin yer değerştirerek rzgr hızının artmasına ve nem değerlerinde önemli değerimlere neden olmaktadır.

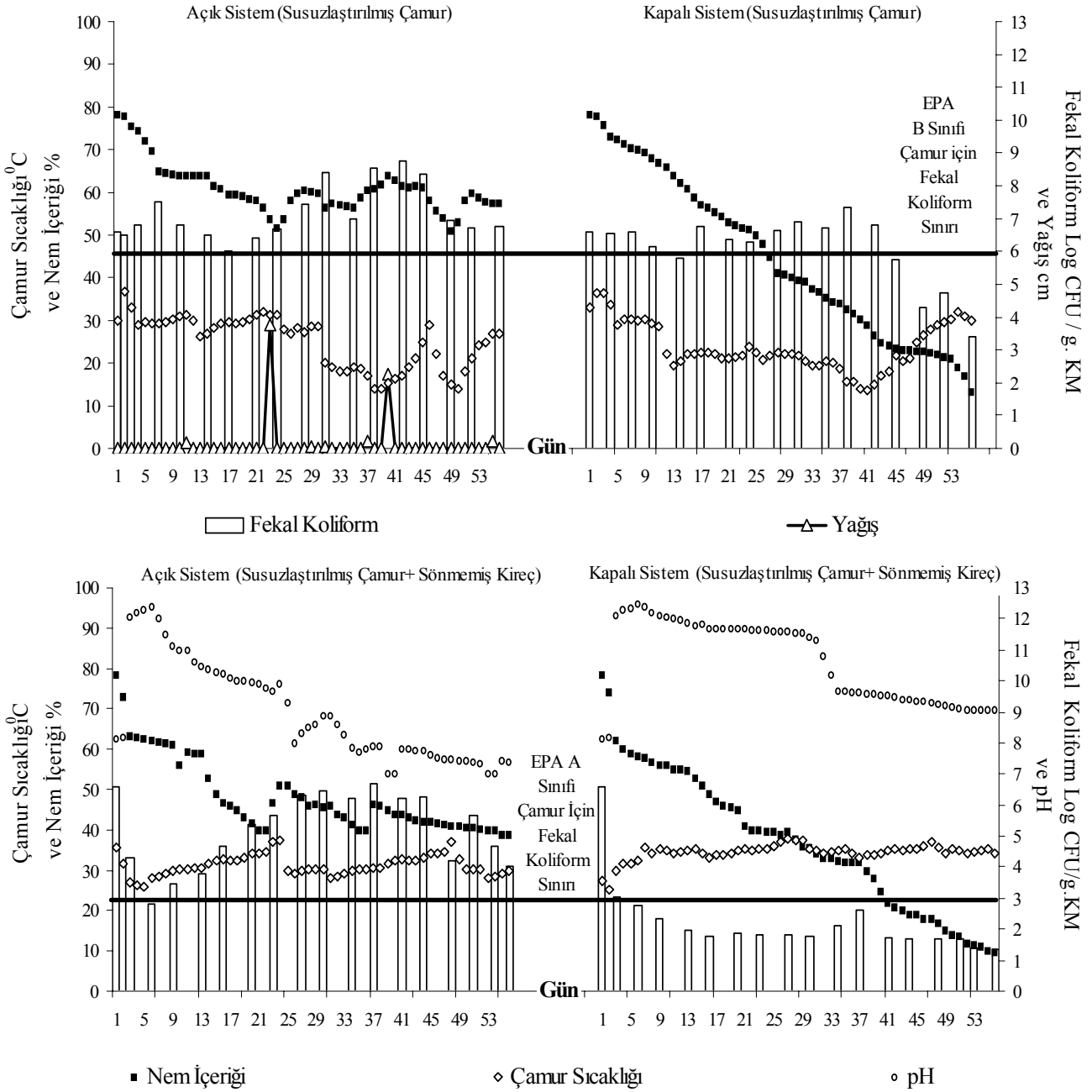
#### Patojen giderimi

Patojen gideriminde indikatör MO olarak fekal koliformla ilgili çalışmalarda yaz döneminde, açık ve kapalı sistem arasındaki farklar ve kirecin bu sistemlerdeki etkisi şekil 5'te grlmektedir. Çamur konulan açık sistemde yağışlar sebebiyle kuruma istenilen lde gerçekleşmemiştir. Çamur sıcaklığı ve nem içeriğinden dolayı bu dönemde fekal koliform konsantrasyonu artış göstermiştir. Aynı şekilde açık sistemde çamura kireç ilavesini takip eden ilk hafta içinde oldukça yüksek bir fekal koliform giderimi gözlenirken yağışla çamur nem içeriğini arttırması, pH değerini düşürmesi ve çamur sıcaklığının uygun bir aralıkta seyretmesi sebebiyle yeniden üreme gözlenmiştir. Bu konu açık alanda çamura kireç uygulamasının genel bir sonucu olarak belirlenmiştir. Çamur konan kapalı sistemde nem içeriğinin %50'nin altına inmesi sırasında bir süre fekal koliform giderimi durmuş olsa da azalan nem ile oldukça yüksek oranda fekal koliform giderimi sağlanmiştir. Yaz döneminde kapalı sistemde kireç ilave edilmesiyle



Tablo 3. Katı madde ve eklenik radyasyon değerlerinin istatistiksel değerleri

	Ortalama	Standart Sapma	r (X,Y)	r <sup>2</sup>	t	p	N	Sabit (b)	Eğim(a)
Ağustos-Eylül	28.45	6.70	0.96	0.925	9.33	3.37E-05	9	20.76	0.00032
Ekim- Kasım	32.01	5.09	0.97	0.944	15.91	8.36E-11	17	22.99	0.00031
Aralık- Ocak	35.41	5.71	0.88	0.791	7.54	1.76E-06	17	26.94	0.00042
Mart - Nisan	37.34	10.08	0.97	0.941	15.00	5.09E-10	16	19.65	0.00035
Haziran - Temmuz	38.45	10.38	0.99	0.984	41.21	3.23E-25	28	21.90	0.00030



Şekil 5. Yaz ve kış dönemlerinde fekal koliform değişimi

fekal koliform, A sınıfı limitlerine 5 günde, %35 KM'ye ise 10 günde ulaşmıştır. Liang, ve diğerleri tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada atıksu çamurlarından aerobik kompost oluşumu sırasında 22, 29, 36, 43, 50 ve 57°C'de %30, 40, 50, 60 ve 70 nem içeriğinde mikrobiyal faaliyetin izlenebilmesi için O<sub>2</sub> kullanım oranı (mg/g/h) bilgisayar kontrollü bir respirometre ile ölçülmüştür. Çalışma sonunda 1 mg/g/h'nin üzerindeki aktivitelerin belirlenmesi için nem içeriğinin %50 ve üzerinde olması gerekliliği belirlenmiştir. Sıcaklıkla ilgili olarak ise; 20°C altı ve 60°C üzerindeki değerlerde kompost oluşumu için gerekli mikrobiyal faaliyetin yavaşladığı görülmüştür. Tasarımda ulaşılan ortalama çamur sıcaklığı yaz döneminde dahi 34.9±2.39°C olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla doğal yöntemlerle mikrobiyal faaliyetin yavaşlatılması zor görünmektedir. Yaptığımız çalışmada aerobik kompost oluşumuna benzer bir sürecin takip ediliyor olması nihai ürünün hem fiziksel hem de biyolojik olarak stabil bir ürün eldesinde nem ve sıcaklığın etkisini göstermesi bakımından önemlidir (Salihoğlu vd., 2006).

### Güneş radyasyonu

Eşit miktar ve katı madde yüzdesine sahip, 25 cm. yükseklikte serilen ve çamur özgül ağırlığı  $S_s=1.02$  tespit edilen çamurla bir yıl boyunca yapılan denemeler sonunda çamurun %20 KM'den %35 KM'ye ulaşabilmesi için ortalama 45000±3000 W/m<sup>2</sup> güneş radyasyonuna ihtiyaç olduğu ortaya konulmuştur. Tchobanoglous ve Burton (1991) tarafından ortaya konulan (1) nolu eşitlik uyarınca;

$$V = (W_s / \rho_w \cdot S_s \cdot P_s) \quad (1)$$

$$\begin{aligned} V &= \text{Çamur Hacmi (m}^3/\text{gün)} \\ W_s &= \text{Çamur Katı Maddesi (kg/gün)} \\ \rho_w &= \text{Suyun Yoğunluğu (1000 kg/m}^3\text{)} \\ P_s &= \text{Katı madde Yüzdesi} \end{aligned}$$

1m<sup>2</sup>'de bulunan 0.25 m<sup>3</sup> çamurda  $P_s = \%20$  KM için  $W_s = 51$  kg bulunacaktır.  $P_s = \%35$  KM oranına ulaştığında  $V= 0.1428$  m<sup>3</sup> değerine düşecektir. Aradaki hacim farkı; ( $V_{su} = 0.25$  m<sup>3</sup>-0.1428 m<sup>3</sup> = 0.1072 m<sup>3</sup>) 1 m<sup>2</sup>'den buharlaşan su miktarını verir. Buradan; 0.1072 m<sup>3</sup> x 1000 kg/m<sup>3</sup>= 107.2 kg su bulunur.

Yukarıda belirtilen şartlara sahip bir çamurun belirtilen tesiste %20 KM'den %35 KM'ye gelmesi sırasında 1 kg çamur suyunu buharlaştırabilmek için;  $(45000 \pm 3000W) / 107.2 \text{ kg} = 420 \pm 28$  W güç gerektiği hesaplanabilir.

### Sonuçlar

Gerçekleştirdiğimiz çalışma sonunda çamurun katı madde ve patojen mikroorganizmalar bakımından stabil, taşınabilir ve depolanabilir bir yapıya kavuşması için kapalı yataklarda güneş enerjisiyle kurutulmasının açık yataklara göre daha etkin olduğu görülmüştür. Ancak düşük miktarda kireç ilavesiyle daha verimli ve güvenli bir işletim sağlanabileceği ortaya konulmuştur. Katı Atıkların Kontrollü Yönetmeliği (KAKY) gereği atıksu çamurları depolama sınırı olan %35 Katı Madde değerine ulaşabilmek için kış döneminde 20 gün, yaz döneminde 10 günlük bir süre gerektiği belirlenmiştir. Çamura 0.15 kg sönmemiş kireç / kgKM uygulandığında aynı süreler sonunda fekal koliform bakımından da EPA A sınıfı çamur için öngörülen arıtma alternatiflerinden birinin sağlandığı görülmüştür. Bu alternatifte belirtildiği gibi çamur pH'sı 12'nin üzerinde 72 saati aşan bir süre kalmış ve fekal koliform değerinin 10<sup>3</sup> CFU/g.KM sınırını aşmadığı görülmüştür. Fekal koliform değerlerinde 45 günlük alıkonma sürelerinde yeniden üremenin açık sistemle kıyaslandığında çok düşük oranda gerçekleştiği belirlenmiştir. Kapalı sistemde, düşük miktarda kireç ilave edilmiş çamurların güneşle kurutulmaları sırasında nem içeriğinin düşmüş ve pH uzun süre korunmuştur. Bu nedenle sistemde uzun dönemli çamur depolama mümkün görünmektedir. Katı madde ile eklenik güneş radyasyonu arasında varılan sonuçlar; %20 KM'den %35 KM'ye ulaşabilmek için 45±3 kW/m<sup>2</sup> güneş radyasyonuna ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymuştur.

Elde edilen sonuçlar tasarladığımız kapalı kurutma yatağının açık kurutma yatağına göre kurutma ve fekal koliform giderimi açısından daha avantajlı olduğunu ortaya koymuştur. İç ortam nem, sıcaklık değerleri ile havalandırma miktar ve hızlarının otomatik olarak kontrol edilmesi durumunda kurutma sürelerinde azalma olması beklenmektedir (Salihoğlu vd., 2006). Tesisin işletimi sırasında kirecin uygulanmaması durumunda yüksek koku

ve yaz aylarında sinek problemiyle karşı karşıya kalınmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar, tesiste çamurun serilmesi ve kaldırılması esnasında özel bir ekipmana gereksinim duyulacağını göstermiştir. Kapalı sistemin, küçük ve orta ölçekli atıksu arıtma tesislerinde, kompost üretim tesisine dönüştürülebilecek ve belirli mevsimlerde geçici çamur depolama alanı olarak kullanılabilir bir yapıya sahip olması önemli bir özelliktir.

Bu çalışmada varılmak istenen ana hedeflerden biri; yenilenebilir enerji kaynaklarının çevre yatırımlarında kullanılma imkanlarının ortaya konulmasıdır. Son yıllarda artan arıtma tesisleri, çamur bertaraf maliyetlerini de gündeme getirmektedir. Hangi nihai bertaraf metodu seçilirse seçilsin çamur hacminin azaltılmasında yüksek enerji talebi olan mekanik susuzlaştırma ve kurutma prosesleri ön plana çıkmaktadır. Bu proseslerin işletme maliyetlerinin düşürülmesi amacıyla özellikle küçük ve orta büyüklükteki arıtma tesisleri için, yeterli alanın mevcut olması durumunda, güneş enerjisiyle çamur kurutma ülkemiz için dikkate alınması gereken yöntemlerden biridir. Ülkemizde artan biyolojik atıksu arıtma tesisleri çamur gibi önemli bir sorunu da beraberinde getirmektedir. Çamur bertarafında yöntem seçiminde nihai bertaraf metodu önem taşımaktadır. Bu süreçte çamur nihai bertarafına yönelik ulusal kararların alınması zorunlu görünmektedir.

## Teşekkür

Çalışmalarda gerekli altyapının oluşturulmasını sağladığı için Bursa Su ve Kanalizasyon İdaresi'ne (BUSKİ) ve katkılarından dolayı Yüksel Proje Uluslararası A.Ş.'ye teşekkür ederiz.

## Kaynaklar

- APHA, AWWA, WEF, (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20<sup>th</sup> Ed., Washington D.C.
- Avrupa Konseyi Yönergesi (91/271/EEC) (1991). Kentsel Atıksu Arıtımı Konsey Direktifi, 21 Mayıs 1991.
- Bux, M., Baumann, R., Quadt, S., Pinnekamp J., Mühlbauer W., (2002). Volume reduction and biological stabilization of sludge in small sewage plants by solar drying, *Drying Technology*, **20**, 829–37.

- Ekechukwu, O.V., Norton, B., (1999 a). Review of solar energy drying systems II: an overview of solar drying technology. *Energy Conversion and Management*, **40**, 615–55.
- Ekechukwu, O.V., Norton, B., (1999 b). Review of solar-energy drying systems III: low temperature air-heating solar collectors for crop drying applications, *Energy Conversion and Management*, **40**, 657–67.
- Haralambopoulos, D.A., Biskos, G., Halvadakis, C., Lekkas, T.D., (2002). Dewatering of wastewater sludge through a solar still. *Renewable Energy*, **26**, 247–56.
- Katı Atıkların Kontrolü Yönetmeliği, (1991). 14.03.1991 tarih ve 20814 sayılı Resmi Gazete, Çevre Bakanlığı, Ankara.
- Kürklü, A., Bilgin, S., Özkan, B., (2003). A study on the solar energy storing rock-bed to heat a polyethylene tunnel type greenhouse, *Renewable Energy*, **28**, 683–97.
- Leon, M.A., Kumar, S., Bhattacharya, S.C., (2002). A comprehensive procedure for performance evaluation of solar food dryers, *Renewable and Sustainable Energy Review*, **6**, 367–93.
- Liang, C., Das, K.C., McClendon, R.W., (2003). The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend, *Bioresource Technology*, **86**, 131–7.
- Luboschik, U., (1999). Solar sludge drying-based on the IST process, *Renewable Energy*, **16**, 785–8.
- Salihoğlu, N.K., Pınarlı, V., Salihoğlu, G., (2006). Solar drying in sludge management in Turkey, *Renewable Energy* (Basım aşamasında).
- Schwartz, J.P., Bröcker, S., (2000). The evaporation of water into air of different humidities and the inversion temperature phenomenon, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, **43**, 1791–1800.
- Tchobanoglous, G., Burton, L.F., eds. (1991). *Wastewater Engineering Treatment, Disposal, and Reuse*, Metcalf & Eddy, Inc., 1334, McGraw-Hill, Inc. Singapore.
- TUİK (2005). [www.die.gov.tr/TURKISH/SONIST/CEVRE](http://www.die.gov.tr/TURKISH/SONIST/CEVRE).
- U.S.E.P.A., (1987). Dewatering Municipal Wastewater Sludges, *U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development*, EPA625/1-93/014.
- U.S.E.P.A., (1995). A Guide to the Biosolids Risk Assessment for the EPA Part 503 Rule, *U.S. Environmental Protection Agency, Office of Wastewater Management*, EPA832-B-93-005.

- U.S.E.P.A., (1999). Biosolids Generation, Use, and Disposal in The United States, *U.S. Environmental Protection Agency, Office of Wastewater Management*, EPA530-R-99-009.
- U.S.E.P.A., (2000). Guide to field storage of biosolids, *US Environmental Protection Agency, Office of Wastewater Management (EPA)*, EPA/832-B-00-007.
- U.S.E.P.A., (2001). <http://yosemite.epa.gov/r10/-water.nsf/NPDES+Permits/Sewage+S825>.
- Vesilind, P.A.,(1979). *Treatment and Disposal of Wastewater Sludges*. Ann Arbor Science Publishers inc. Michigan, U.S.A.
- Vaxelaire, J., Bongiovanni, J. M., Mousques, P., Puiggali, J. R. (2000). Thermal drying of residual sludge, *Water Research*, **34**, 4318-4323.
- Vaxelaire, J., Cézac, P. (2004). Moisture distribution in activated sludges: A review, *Water Research* **39**, 2215-2230.

## Dönen biyolojik disk reaktör kullanarak klorofenol içeren atıksuların arıtılması

Erkan ŞAHİNKAYA, Filiz B. DİLEK\*

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Ankara

### Özet

*Bu çalışmada pepton, 4-klorofenol (4-KF) ve 2,4-Diklorofenol (2,4-DKF) içeren sentetik olarak hazırlanmış, bir numunenin arıtımı, 5 rpm'de çalıştırılan iki kademeli Dönen Biyolojik Disk (DBD) reaktör kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca, biyolojik olarak kolay ayrışabilen bir maddenin (pepton) reaktör performansı üzerine etkileri de araştırılmıştır. Yüksek verimde klorofenol ve KOİ giderimi ancak reaktörün ilave havalandırıcılarla havalandırılması durumunda mümkün olmuştur. Aklimasyon sırasında giriş 4-KF konsantrasyonu 200 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir. Reaktörün birinci kademesinde yüksek klorofenol (>%98) ve KOİ (>%94) giderimleri gözlenmiş ve ikinci kademe giderim verimini kısmen artırmıştır. 260 günlük bir işletmeyi takiben, reaktör 3.5 ay boyunca sadece pepton ile beslenerek, biyokütle deaklime edilmiştir. Deaklimasyonu takiben, 16 gün içerisinde giriş 4-KF konsantrasyonu 200 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir. Mikroorganizmanın 16 gün içerisinde tekrar yüksek konsantrasyonlarda beslenen klorofenollere aklime olduğu ve reaktör girişinden peptonun ani olarak çekilmesinin performansı üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. 2,4-DKF, 4-KF arıtımını yarışçıl (competitive) olarak inhibe ettiği için, şok 4-KF (822.7±1.4 mg/L) ve 2,4-DKF (424.6±1.9 mg/L) yüklemesi reaktörün hem birinci hem de ikinci kademesinde 4-KF konsantrasyonunun 2,4-DKF konsantrasyonuna kıyasla 4 kat artmasına neden olmuştur. Şok yükleme sırasında reaktörler tek karbon ve enerji kaynağı olarak klorofenoller ile beslenmiş ve reaktörün birinci kademesinde maksimum 4-KF giderim hızı 2305 mg/L·gün (18.3 g/m<sup>2</sup>·gün), 2,4-DKF giderim hızı ise 1202 mg/L·gün (9.5 g/m<sup>2</sup>·gün) olarak gözlenmiştir.*

**Anahtar Kelimeler:** 4-Klorofenol, 2,4-Diklorofenol, dönen biyolojik disk reaktör.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Filiz B. DİLEK. fdilek@metu.edu.tr; Tel: (312) 210 58 78.

Makale metni 06.11.2006 tarihinde dergiye ulaştırılmış, 26.02.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## Biodegradation of chlorophenol containing wastewater using a rotating biological contactor

### Extended abstract

Chlorophenols are introduced into the environment through various human activities such as waste incineration, uncontrolled use of wood preservatives, pesticides, fungicides and herbicides, as well as via bleaching of pulp with chlorine and the chlorination of drinking water. Despite the recalcitrance of chlorophenols, efforts are still being made to treat them biologically for economic reasons and in expectation of few by-products. Although biofilm reactors are more resistant to high chlorophenols loads, limited information is currently available on biofilm based chlorophenols degradation.

In this view, this study aims at evaluating the performance of a two stage rotating biological contactor (RBC) for the treatment of synthetic wastewater containing peptone, 4-chlorophenol (4-CP) and 2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP) at 5 rpm.

The RBC had two equal stages with 9 disks in each stage. The diameter of each disk was 18 cm and the total surface area for biomass attachment was 0.44 m<sup>2</sup> per stage. Around 40% of disks were submerged in water. Total liquid volume in the reactor was 7.0 L. The study consists of four successive steps. In the first part of the study, feed chlorophenols concentrations were gradually increased, while, peptone concentration was kept constant at 400 mg/L. In the second step, peptone concentration was gradually decreased keeping the 4-CP and 2,4-DCP concentrations constant at 220 and 110 mg/L, respectively. In the third step, reactor was fed with 400 mg/L peptone in the absence of chlorophenols for around 3.5 months to deacclimated biomass and then the biomass was reacclimated to chlorophenols mixture. Lastly, the effect of shock chlorophenols loadings, in the absence of peptone was extensively evaluated. The HRT of the reactor was kept at 0.7 d throughout the study. During the experiments, the reactor was sampled regularly and analyzes were done immediately for COD, chlorophenols and 5-chloro-2-hydroxymuconic semialdehyde (CHMS).

During the acclimation, CHMS, which is –meta cleavage product of 4-CP, appeared at the effluent when reactor was fed with 20 mg/L 4-CP and 10

mg/L 2,4-DCP. Although both 4-CP and 2,4-DCP removals were complete, the CHMS appeared at the effluent for around 1 month. Also, low dissolved oxygen concentration (<1mg/L) favored the filamentous growth in the first stage of RBC. On day 60, the liquid phase of the reactor was aerated to have at least 3 mg/L of dissolved oxygen (rotational speed was kept at 5 rpm). Under these conditions, CHMS disappeared within a few days along with complete removal of chlorophenols. Then, the concentrations of 4-CP and 2,4-DCP were increased steadily up to 220 mg/L 4-CP and 110 mg/L 2,4-DCP within the 138 days of operation. Most of the chlorophenols were degraded in the first stage and the concentrations were below detection limit in the second stage. Similarly, the effluent COD concentrations were between 20-40 mg/L and the average COD removal efficiency was 96±2.36%. During this period, *Pseudomonas* sp. and *Pseudomonas stutzeri* (98% similarity) were the dominant species in biofilm. Decreasing the peptone concentration from 400 mg/L to null did not cause any remarkable adverse effect on chlorophenols degradation as the average 4-CP and 2,4-DCP concentrations in the first stage were 1.53±0.27 and 0.27±0.16 mg/L, respectively. On day 260 and the reactor was fed with 400 mg/L of peptone for 3.5 months to deacclimate the microorganisms. After 3.5 months of operation, the reactor directly started with high chlorophenols removal efficiency without experiencing any lag and no further deterioration in the overall performance was observed even the feed 4-CP and 2,4-DCP concentrations were increased to 200 and 100 mg/L, respectively, within 16 days. When the feed was containing 400 mg/L peptone, 200 mg/L 4-CP and 100 mg/L 2,4-DCP (COD = 915±13 mg/L), the second stage COD was 17±2 mg/L. During the shock loading, the concentrations were increased up to 822.7±1.4 mg/L 4-CP and 424.6±1.9 mg/L 2,4-DCP (total CP loading = 1781 mg/L·d), within 7 days. As feed chlorophenols concentrations were increased, the effluent concentrations in both stages increased linearly. For both stages, the effluent 4-CP concentrations were almost 4 times higher than 2,4-DCP, which may be due to strong competitive inhibition of 2,4-DCP on 4-CP degradation. The observed maximum 4-CP and 2,4-DCP removal rates in the first stage were 2305 mg/L·d (18.3 g/m<sup>2</sup>·d) and 1202 mg/L·d (9.5 g/m<sup>2</sup>·d), respectively.

**Keywords:** 4-Chlorophenol, 2,4-Dichlorophenol, rotating biological contactor.

## **Giriş**

Klorofenoller; atık yakılması, tarım ilaçlarının kontrolsüz olarak kullanılması, içme sularının dezenfeksiyon amacıyla klorlanması, kağıt endüstrisinde ağartma işlemlerinde klor kullanılması ve bazı endüstriyel aktivitelerden dolayı üretilmektedir (Mangat ve Elefsiniotis, 1999; Contrerasa vd., 2003; Tarighian vd., 2003). Bazı atık sularda gözlenen fenolik madde konsantrasyonlarına örnek verilecek olunur ise; fenolik resin üretimi sırasında 400 mg/L, rafinerilerde 50 mg/L ve naftalik asit üretimi sırasında 12 mg/L'dir (Chen vd., 1997). Fenolik maddelerin toksisitesi ve kanserojen etkilerinden dolayı, arıtılmadan doğaya deşarj edilmeleri oldukça tehlikeli olup, deşarjdan önce uygun yöntemlerle arıtılmaları gerekmektedir.

Mikroorganizmalar üzerindeki zehirli etkilerine rağmen, ucuz olması ve ara ürün oluşturmadan tam bir oksidasyon olasılığından dolayı klorofenollerin biyolojik yollarla arıtımı üzerine oldukça yoğun bir şekilde çalışmalar yapılmaktadır. Klorofenollerin arıtımı üzerine yapılan çalışmaların çoğu; askıda büyüyen saf (Wang ve Loh, 1999, 2000, 2001; Hill vd., 1996; Saéz ve Rittmann, 1991, 1993, Kim ve Hao, 1999; Hao vd., 2002) ya da karışık kültürler (Bali ve Şengül, 2002; Sahinkaya ve Dilek, 2002, 2005, 2006; Kargi ve Eker, 2006ab; Eker ve Kargi, 2006) ile gerçekleştirilmiştir. Yüksek mikroorganizma konsantrasyonundan ve biyofilm içindeki difüzyon bariyerinden dolayı biyofilm reaktörlerin daha yüksek klorofenol konsantrasyonlarına tolerans gösterebilmelerine rağmen (Eker ve Kargi, 2006), literatürde biyofilm reaktörler ile klorofenol arıtımı üzerine sınırlı çalışma mevcuttur (Eker ve Kargi, 2006; Shieh vd., 1990; Puhakka ve Jarvinen, 1992; Swaminathan ve Ramanujam, 1997 ve 1999).

Bir atıksu arıtma tesisine karışım halinde birçok toksik ve kolay arıtılabilen madde gelmesine rağmen, literatürde yapılan çalışmalarda genellikle kolay ayrışabilen madde varlığında veya yokluğunda tek bir klorofenol kullanılmıştır. Bu şartlarda elde edilen deneysel verilerin birden fazla klorofenol içeren gerçek atık suların arıtımında kullanılması oldukça zor olabilmektedir. Ayrıca, yarışçıl inhibisyon ve farklı besin mad-

deleri arasındaki etkileşimden dolayı, bir maddenin varlığı, diğer bir maddenin arıtımını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Hu vd., 2005). Daha önce yapılan çalışmalarda, mikroorganizmaların askıda büyüdüğü tam karışımli reaktörlerde 2,4-DKF arıtım performansının 150 mg/L'nin üzerinde önemli derecede düştüğü vurgulanmıştır (Sahinkaya ve Dilek, 2002; Uysal vd., 2005; Kargi ve Eker, 2006a). Dolayısıyla, birden fazla klorofenolün ortamda bulunması durumunda 2,4-DKF'ün toksik etkisinin daha da artması beklenmektedir. Bu bağlamda, bu çalışmada dönen biyolojik disk (DBD) reaktör kullanarak yüksek konsantrasyonlarda 4-KF ve 2,4-DKF arıtımı çalışılmıştır. Ayrıca kolay parçalanabilen bir organik maddenin (pepton) klorofenol arıtımını nasıl etkilediği detaylı olarak incelenmiştir.

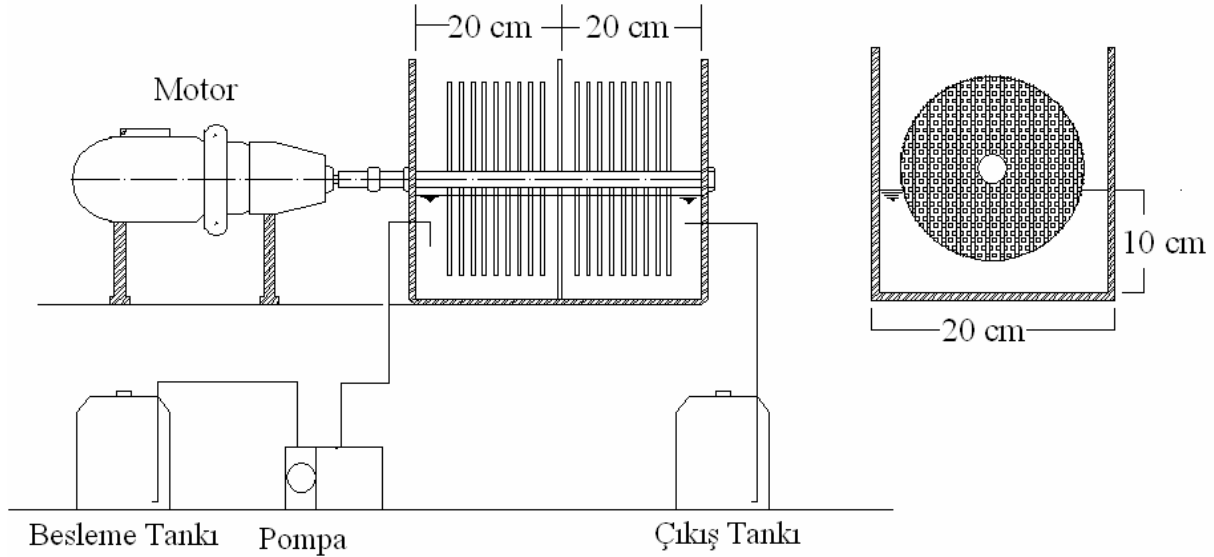
## **Materyal ve metot**

### **Dönen Biyodisk (DBD) reaktör**

Bu çalışmada kullanılan DBD reaktör her birinde dokuz adet disk bulunan eşit hacimli iki kademedeki oluşmuştur (Şekil 1). Her bir disk 18 cm çapında olup, mikroorganizmanın tutunabileceği toplam yüzey alanı her bir kademe için 0.44 m<sup>2</sup> dir. Disklerin yaklaşık olarak % 40'ı suya batık olarak işletilmiştir. Reaktörde toplam su hacmi 7.0 L olup, birim hacim başına disk yüzey alanı 126 m<sup>2</sup> dir. Diskler, bakteri yapışması kolay olduğu için alüminyum örgülerden yapılmıştır. Reaktör paslanmaz çelikten imal edilmiş olup, diskler paslanmaz çelikten yapılan bir mil sayesinde istenilen hızda döndürülmüştür. Reaktör peristaltik bir pompa yardımı ile sentetik olarak hazırlanmış numune ile beslenmiş ve hidrolik bekleme zamanı (HRT) 0.7 günde sabit tutulmuştur. Reaktör oda sıcaklığında işletilmiş ve su sıcaklığı 25±3°C'de kalmıştır. Diskler 5 rpm hızda döndürülmüştür. İşletmenin 60. gününde, reaktör sıvı fazı havalandırılarak çözünmüş oksijen konsantrasyonu en az 3 mg/L'de tutulmuştur.

### **Atık su kompozisyonu**

Deneyde kullanılan numune, 0-400 mg/L pepton; 0-1000 mg/L 4-CP; 0-500 mg/L 2,4-DCP; 46-526 mg/L NH<sub>4</sub>Cl; 30 mg/L NaCl; 44.6 mg/L MgSO<sub>4</sub>; 400 mg/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 200 mg/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 3.7 mg/L MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O ve



Şekil 1. Dönen biyolojik disk reaktör

$\text{FeCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0.057 mg/L  $\text{MnSO}_4$ ; 0.046 mg/L  $\text{ZnSO}_4$ ; 0.049 mg/L  $\text{CoSO}_4$ ; 0.076 mg/L  $\text{CuSO}_4$  içerecek şekilde musluk suyu kullanılarak hazırlanmıştır.

0.02 M NaOH çözelti içinde hazırlanan stok 4-KF ve 2,4-DKF çözeltileri besleme suyundaki farklı klorofenol konsantrasyonlarını ayarlamak için kullanılmıştır. Sentetik atık suyun hazırlanmasında musluk suyu kullanılmıştır. Giriş atıksu pH değeri  $7.2 \pm 0.2$ , çıkış pH değeri ise 7.5 ile 6.8 arasında değişmiştir. Deneylerde, giriş atıksuyuna  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ilave edilerek KOİ/N oranı yaklaşık olarak 16'da tutulmuştur.

### Reaktör işletimi

Biyofilm oluşumu için reaktör 7.0 L çöktürülmüş evsel atıksu ile doldurulmuş ve dört gün boyunca kesikli olarak işletilmiştir. Daha sonra, diskler üzerinde bakteri oluşumu gözlenene kadar, reaktör 400 mg/L pepton içeren numune ile kesikli olarak beslenmiştir. Biyofilm oluşumunu takiben reaktör sürekli olarak işletilmiştir.

Çalışma birbirini izleyen dört aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada; klorofenol giriş konsantrasyonları kademeli olarak artırılarak, mikroorganizmalar klorofenole aklime edilmiştir (Şekil 2a). Bu aşamada pepton konsantrasyonu 400 mg/L'de sabit tutulmuştur. Daha önce yapılan

çalışmalarda (Şahinkaya ve Dilek, 2002 ve 2005), 2,4-DKF'ün 4-KF'e kıyasla iki kat daha toksik bulunduğu gözlemlendiği için, reaktör giriş atık suyunda 2,4-DKF konsantrasyonu 4-KF konsantrasyonunun yarısında tutulmuştur. İkinci aşamada ise; giriş pepton konsantrasyonu kademeli olarak düşürülerek, peptonun klorofenol arıtımı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Klorofenol içeren endüstriyel atıksular her zaman klorofenol içermeyebilmekte ve uzun bir süre klorofenolsüz atık su ile beslenen reaktördeki mikroorganizmalar klorofenol arıtım kabiliyetlerini kaybedebilmektedir. Biyofilm reaktörde bu sürecin klorofenol arıtım verimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla üçüncü aşamada; klorofenole aklime edilmiş bakteriler tekrar sadece 400 mg/L pepton ile 3.5 ay beslenerek deaklime edilmeye çalışılmış ve bu süre sonunda tekrar klorofenol ile beslenerek kültürün klorofenollere tekrar aklimasyon hızı araştırılmıştır. Son olarak; pepton yokluğunda klorofenoller tek karbon ve enerji kaynağı olarak beslenmiş ve şok klorofenol yüklemesinin klorofenol arıtım verimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma boyunca hidrolik bekletme süresi (HRT) 0.7 gün (hidrolik yükleme hızı =  $0.01136 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{gün}$ )'de sabit tutulmuştur. Reaktörden düzenli olarak numune alınarak; bekletilmeden KOİ, klorofenol ve 5-kloro-2-hidroksimukonik-semialdehit (CHMS) ölçümleri yapılmıştır.



### Saf kültürlerin izolasyonu

Mikroorganizmaların 220 mg/L 4-KF, 110 mg/L 2,4-DKF ve 400 mg/L pepton içeren numuneye aklimasyonundan sonra, işletmenin 160. gününde reaktörden çamur numunesi alınarak katı besi yeri üzerine 30 koloni düşecek şekilde seyreltilerek katı besiyerine ekim yapılmıştır. Katı besiyeri; 400 mg/L pepton, 50 mg/L 4-KF, 25 mg/L 2,4-DKF ve yukarıda verilen inorganik maddeleri içeren besin çözeltisinin katılaştırılmasıyla elde edilmiştir. Ekim yapılan agarlar 30°C'de inkübe edilmiş ve gözlenen dört farklı koloni seçilerek yeni agarlara ekilmiştir. Kültürlerin saf olduğundan emin olmak için seçilen koloniler en az beş defa yeni agarlara ekilmiştir. İzole edilen kültürlerin tanımlanması API 20 NE (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanılarak yapılmıştır.

### Analitik metotlar

4-KF'ün meta bağının kırılmasıyla oluşan bir ara ürün olan CHMS konsantrasyonu, süzülen suyun 380 nm dalga boyundaki absorbans ölçümü ile izlenmiştir (Hill vd., 1996; Farrell ve Quilty, 1999). KOİ ölçümlerinde ise Hach marka hazır KOİ kitleri kullanılmıştır (Hach, 1992). 4-KF ve 2,4-DKF ölçümleri yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC; Shimadzu, LC-10AT) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kromatografi, Nucleosil C18 (4.6mm x 250 mm) kolon, LC-10Atpv solvent dağıtım modülü, SC/L0Avp sistem kontrol ve 280 nm dalga boyuna ayarlı SPD-10Avp UV-vis detektör ile donatılmıştır. HPLC'de mobil faz olarak %60 metanol, %38 su ve %2 asetik asit kullanılmıştır. Sıvı debisi 0.75 mL/dakika da tutulmuş ve her bir ölçüm için numune enjeksiyon hacmi 20 µL olarak uygulanmıştır. 4-KF ve 2,4-DKF kolon çıkış zamanları sırasıyla 7.5 ve 12 dakika olarak gözlenmiştir. Klorofenoller için minimum ölçüm sınırı 0.05 mg/L dir.

### Deneysel sonuçlar ve tartışma

#### Klorofenollere aklimasyon

DBD reaktörde giriş 4-KF 20 mg/L, 2,4-DKF 10 mg/L'ye yükseltildiği zaman reaktör çıkışında sarımsı bir renk gözlenmiştir. Gözlenen bu rengin 4-KF bağının –meta bağının kırılmasıyla oluşan CHMS oluşumu nedeniyle olduğu litera-

türde belirtilmektedir (Hill vd., 1996; Farrell ve Quilty, 1999). 4-KF ve 2,4-DKF'ün tamamen giderilmesine rağmen reaktör çıkış akımındaki CHMS'in bir ay boyunca arıtılmadan kaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, özellikle reaktörün 1. kademesinde düşük oksijen konsantrasyonu (<1 mg/L) nedeniyle oldukça yoğun ipliksi bakteri oluşumu gözlenmiştir. DBD reaktörlerin özellikle birinci kademelerinde hızlı KOİ giderimi nedeniyle gözlenen düşük oksijen konsantrasyonu nedeniyle *Beggiatoa* gibi ipliksi bakterin gelişimi oldukça yaygın görünen bir problemdir (Surampalli ve Baumann, 1997; Metcalf ve Eddy, 1991). İşletmenin 60. gününde, reaktöre hava verilerek sıvı fazda oksijen konsantrasyonunun en az 3 mg/L olması sağlanmıştır. Reaktördeki oksijen konsantrasyonunun artırılmasını takiben, bir kaç gün içerisinde CHMS'in tamamen giderildiği gözlenmiştir. Dolayısıyla, reaktörde CHMS birikim nedeninin düşük oksijen konsantrasyonu olduğu kanaatine varılmıştır. Sıvı fazın havalandırılması reaktörün tamamen karışmasına da yardımcı olarak reaktör içerisinde biyokütlenin çökerek birikimini de engellemiştir. DBD reaktöre ilave hava verilmesinin reaktör verimini olumlu yönde etkilediği daha önce yapılan çalışmalarda da (Surampalli ve Baumann, 1997; Kargi ve Uygur, 1997) vurgulanmıştır. CHMS'in tamamen giderilmesini takiben, giriş klorofenol konsantrasyonu kademeli olarak artırılmış ve 138 gün sonunda 4-KF konsantrasyonu 220 mg/L'ye, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 110 mg/L'ye yükseltilmiştir (Şekil 2a). Girişteki klorofenollerin büyük kısmı reaktörün birinci kademesinde giderilmiş, reaktörün ikinci kademesi ise kalan az miktardaki klorofenolün giderilmesini sağlayarak, reaktör çıkışında klorofenol konsantrasyonlarını ölçüm sınırının (0.05 mg/L) altına indirmiştir (Şekil 2b). Dolayısıyla %100'e varan giderme verimlerinin elde edilmesi nedeniyle DBD reaktörünün klorofenol arıtımında oldukça etkin olduğu görüşüne varılmıştır. Benzer olarak, reaktör çıkışında KOİ konsantrasyonlarının 20 ile 40 mg/L arasında kaldığı ve ortalama KOİ giderim veriminin %96±2.36 olduğu tespit edilmiştir. Reaktöre hava verildikten sonra çıkışta hiç bir zaman CHMS gözlenmemiş olması ve düşük çıkış KOİ konsantrasyonlarının elde edilmesi klorofenollerin tamamen giderildiğinin bir işaretidir.

Aklime edilen kültürden izole edilen bakteriler API 20 NE kullanılarak belirlenmiş ve *Pseudomonas sp.* (%96 benzerlik) ve *Pseudomonas stutzeri*'nin (%98 benzerlik) baskın türler olduğu saptanmıştır.

### Kolay parçalanabilen organik madde (pepton) konsantrasyonunun DBD reaktör performansına etkisi

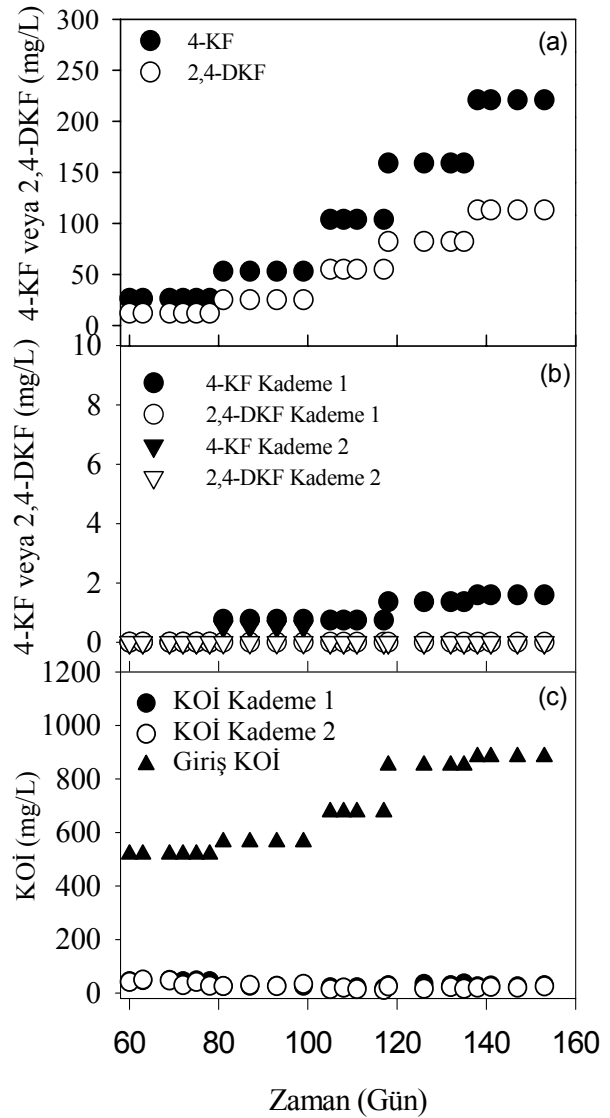
Yapılan çalışmada kolay parçalanabilir organik madde olarak pepton kullanılmıştır. Pepton konsantrasyonunun klorofenol giderimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla, 4-KF konsantrasyonu 220 mg/L'de 2,4-DKF konsantrasyonu ise 110 mg/L'de sabit tutularak giriş pepton konsantrasyonu 400 mg/L'den kademeli olarak düşürülmüş ve son aşamada ise klorofenoller tek karbon ve enerji kaynağı olarak reaktöre beslenmiştir.

Giriş pepton konsantrasyonunun kademeli olarak 400 mg/L den 0 mg/L'ye düşürülmesinin olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Farklı giriş pepton konsantrasyonlarında yürütülen deneylerde çıkış akımındaki ortalama 4-KF ve 2,4-DKF konsantrasyonları sırasıyla  $1.53 \pm 0.27$  ve  $0.27 \pm 0.16$  mg/L olarak bulunmuştur (Şekil 3). Ayrıca, aklime edilmiş bakterilerin klorofenolü tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabildiği gözlenmiştir. Reaktörün birinci ve ikinci kademelerinde ortalama KOİ konsantrasyonları sırasıyla  $25 \pm 7$  (%96 giderim) ve  $21 \pm 6$  mg/L (%97 giderim) olarak bulunmuştur (Şekil 3d).

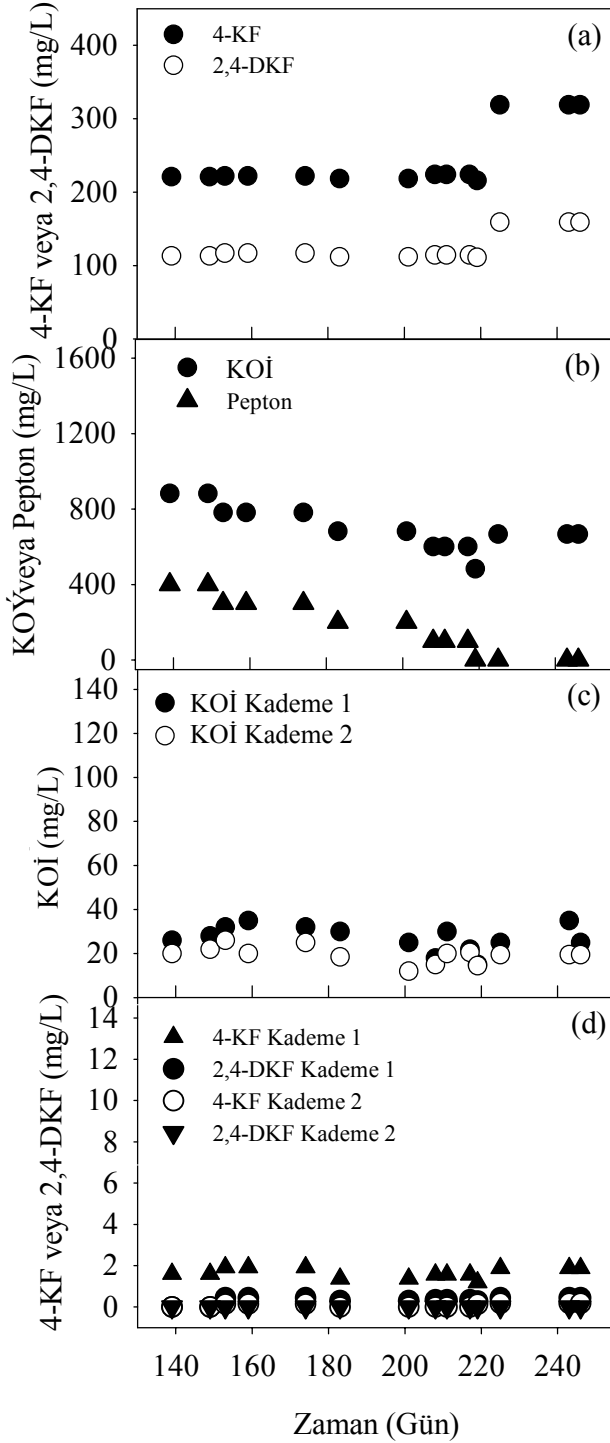
### Aklimasyon ve deaklimasyon

Bazı endüstriyel tesisler, mevsimsel çalışmaları için ya da üretimindeki çeşitli nedenlerden dolayı, oluşan atıksu debi ve kompozisyon bakımından oldukça değişkendir. Bu neden ile gerçek ölçekli arıtma tesislerinde, arıtılmak istenen toksik madde uzun bir zaman atıksu akımında bulunmayabilmektedir. Dolayısıyla, söz konusu toksik maddenin arıtımından sorumlu olan bakteriler kaybedilebilmekte veya bakteriler bu toksik maddeyi arıtma kabiliyetlerini yitirebilmektedir (Grady vd., 1999). Bu bağlamda, mevcut çalışmada bakterilerin deaklimasyondan sonra klorofenollere tekrar adaptasyonu için ihtiyaç duydukları süre araştırılmıştır. Klorofenol-

lere aklime edilmiş reaktör 260. günden itibaren 3.5 ay boyunca sadece pepton ile beslenmiş ve bakteriler deaklime edilmiştir. Bu süre boyunca, reaktördeki KOİ gideriminin oldukça iyi olduğu ve girişteki KOİ konsantrasyonunun 400 mg/L den, çıkışta 12 mg/L'ye (%97 giderim) düştüğü saptanmıştır. Pepton ile 3.5 ay beslemeyi takiben, reaktör tekrar klorofenoller ile beslenmeye başlanmış ve 16 günde giriş 4-KF konsantrasyonu 200, 2,4-DKF konsantrasyonu ise 100 mg/L'ye yükseltilmiştir (Şekil 4). Reaktör direk olarak yüksek performansta klorofenol giderimine başlamış ve giriş klorofenol konsantrasyonlarının çok kısa zamanda çok yüksek



Şekil 2. Giriş klorofenol (a), çıkış klorofenol (b), giriş ve çıkış KOİ konsantrasyonlarının DBD reaktör aklimasyon sürecince değişimi



Şekil 3. Pepton konsantrasyonunun DBD reaktör performansına etkisi. Giriş klorofenol konsantrasyonu (a), giriş KOİ ve pepton konsantrasyonları (b), çıkış KOİ (c) ve çıkış klorofenol konsantrasyonları (d)

konsantrasyonlara yükseltilmesine rağmen arıtım gideriminde bir değişiklik olmayarak %100'e varan klorofenol giderimlerine ulaşılmıştır. Re-

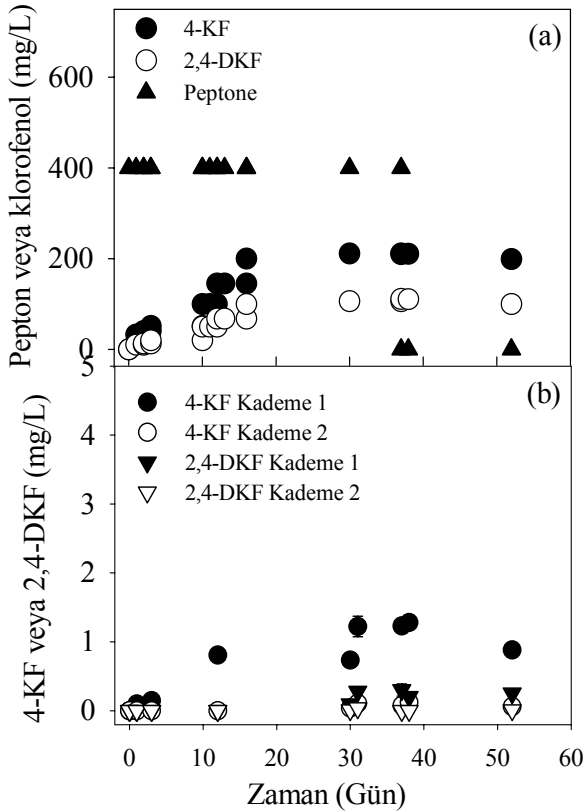
aktör 400 mg/L pepton, 200mg/L 4-KF ve 100 mg/L 2,4-DKF ile beslendiği durumda giriş KOİ konsantrasyonu 915±13 mg/L, çıkış KOİ konsantrasyonu ise 17±2 mg/L olarak ölçülmüştür. Kısa zamanda reaktörün tekrar aklime olarak, yüksek klorofenol ve KOİ gideriminin gözlenmesi reaktörün 3.5 ay boyunca pepton ile beslenmesine rağmen aklime olmuş bakterilerin sistemden atılmayarak biyofilm şeklinde tutulmuş olduğunu göstermektedir. Tekrar aklimesasyon sürecinde, reaktör işletmesinin 37. gününde pepton konsantrasyonunun ani olarak 400 mg/L'den 0 mg/L'ye indirilmesinin reaktör performansı üzerine olumsuz bir etkisi gözlememiştir (Şekil 4). İşletmenin 52. gününde giriş KOİ konsantrasyonu 473±5 mg/L iken, reaktörün birinci ve ikinci kademesindeki KOİ çıkış konsantrasyonları sırasıyla 10 ve 7 mg/L olarak bulunmuştur.

Mikroorganizmaların sistemden atılarak yok olması direkt olarak sistemin çamur bekletme zamanı (SRT) ile ilişkili olup; ilgilenilen toksik organik maddenin giriş atık suyunda olmadığı durumda bu maddenin arıtılmasından sorumlu yararlı mikroorganizmaların yaklaşık %95'i üç SRT zamanında sistemden atılmaktadır (Grady vd., 1999). Dolayısıyla, klasik bir aktif çamur sisteminde ilgilenilen toksik maddenin giriş suyunda olmadığı durumda, bu maddenin arıtımından sorumlu yararlı mikroorganizmalar bir kaç hafta içinde kaybedilebilmekte ve söz konusu toksik maddenin ani olarak sistem girişinde belirmesi durumunda mikroorganizmaların yeniden aklimesasyonu gerekebilmektedir. Mevcut çalışmada; reaktörün 3.5 ay boyunca klorofenolsüz beslenmesine rağmen, sisteme klorofenol verilir verilmez arıtım başlamış ve çok kısa zamanda yüksek konsantrasyonlarda klorofenol giderilebilmiştir. Sistemin uzun bir süre pepton ile beslenmesine rağmen yararlı bakterilerin sistemden atılmayarak tutulmasının nedeni biyofilm reaktördeki yüksek SRT'den dolayı olduğu düşünülmektedir.

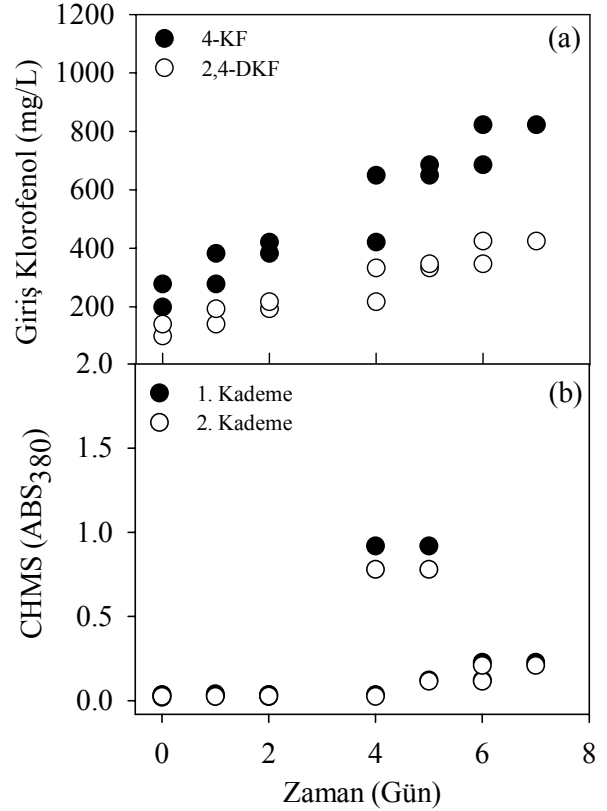
#### Şok klorofenol yüklemesinin DBD reaktör verimi üzerine etkisi

Reaktör giriş akımındaki 4-KF ve 2,4-DKF konsantrasyonları bir hafta içerisinde sırasıyla 822.7±1.4 mg/L ve 424.6±1.9 mg/L'ye yüksel-

tilmiştir (Şekil 5). Giriş klorofenol konsantrasyonları yükseltildikçe, çıkış klorofenol konsantrasyonları da doğrusal olarak artmıştır (Şekil 6). 2,4-DKF'ün 4-KF arıtımı üzerine yarışçıl inhibisyon etkisinden dolayı (Şahinkaya ve Dilek, 2006), her iki kademedeki 4-CP çıkış konsantrasyonları 2,4-DKF çıkış konsantrasyonlarından dört kat daha yüksektir. Giriş 4-KF 1000 mg/L'ye, 2,4-DKF 500 mg/L'ye yükseltildiğinde, klorofenol giderimi aniden düşmüş ve bakteriler tamamen inhibe edilerek klorofenol arıtımı tamamen durmuştur. Reaktörün birinci kademesinde gözlenen maksimum 4-KF giderim verimi 2305 mg/L.gün (18.3 g/m<sup>2</sup>.gün), maksimum 2,4-DKF giderim verimi ise 1202 mg/L.gün (9.5 g/m<sup>2</sup>.gün) olarak bulunmuştur. Reaktör eşit hacimli iki kademededen oluşup; toplam HRT 0.7 gün olduğundan, birinci kademedeki maksimum arıtım verimlerinin hesaplanmasında HRT 0.35 gün olarak alınmıştır.



Şekil 4. Giriş (a) ve çıkış (b) klorofenol konsantrasyonlarının DBD reaktörünün reaktimasyon süresince değişimi (sıfırinci gün; reaktörün 3.5 ay sadece pepton ile beslenmesinin ardından tekrar klorofenol ile beslenmeye başladığı zamanı göstermektedir)



Şekil 5. Şok yükleme süresince giriş klorofenol (a) ve çıkış CHMS konsantrasyonlarının (b) değişimi

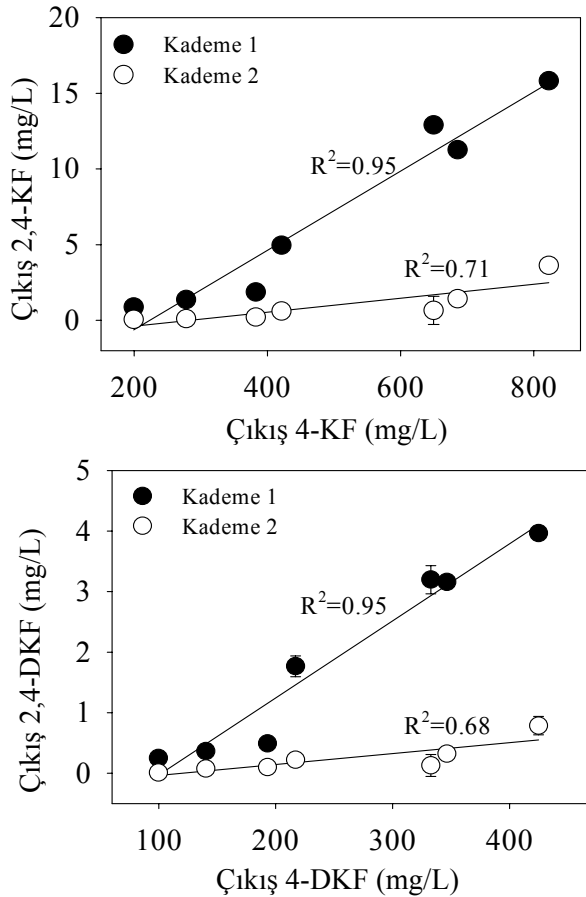
Klorofenol konsantrasyonları artırıldıkça, reaktör çıkışında CHMS birikiminden dolayı sarımsı bir renk gözlenmiştir. Özellikle 4. ve 5. günlerde giriş klorofenol konsantrasyonları 650 mg/L 4-KF ve 333 mg/L 2,4-DKF iken, çıkış CHMS konsantrasyonunda bir artış gözlenmiş ve 380 nm'deki absorbans değeri (ABS<sub>380</sub>) 1'e yaklaşmıştır (Şekil 5). Farrel ve Quilty (1999) tarafından verilen katsayı kullanılarak, 1'e karşılık gelen CHMS konsantrasyonu 3.8 mg/L olarak hesaplanmıştır. 650 mg/L 4-KF'ün hiç bir mineralizasyona uğramadan tamamen CHMS'e dönüştüğü durum için teorik CHMS konsantrasyonu 813 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Dolayısıyla, teorik olarak hesaplanan CHMS'in önemli bir kısmı giderilmiş olup sadece %0.47'si reaktör çıkışında kalmıştır.

## Sonuçlar

Pepton, 4-KF ve 2,4-DKF içeren sentetik olarak hazırlanmış bir numunenin arıtımı, 5 rpm de iş-

letilen iki kademeli bir DBD reaktör ile araştırılmıştır. Ayrıca, pepton konsantrasyonunun klorofenol arıtımına hiç bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Reaktör işletimi boyunca, birinci kademede yüksek klorofenol (>% 98) ve KOİ (>% 94) giderimleri elde edilmiş olup, reaktörün ikinci kademesi, kalan az miktardaki KOİ ve klorofenol arıtımı için kullanılmıştır. Aklimasyon periyodundan sonra yapılan izolasyon ve belirleme çalışmaları, karışık kültürde *Pseudomonas sp.* ve *Pseudomonas stutzeri*'nin baskın olduğunu göstermiştir. Reaktörün 260 gün boyunca klorofenol içeren sentetik numune ile beslenmesini takiben 3.5 ay boyunca klorofenolsüz olarak sadece pepton ile beslenmesine rağmen, kısa zamanda (16 gün) 200 mg/L 4-KF ve 100 mg/L 2,4-DKF içeren numuneye aklime olmuştur. Ayrıca, reaktör giriş akımından peptonun aniden çekilmesi de reaktör performansını olumsuz yönde etkilememiştir.



Şekil 6. Şok klorofenol yüklemesi süresince DBD reaktör çıkışında klorofenol konsantrasyonlarının değişimi

Şok 4-KF ve 2,4-DKF yüklemesi sırasında, giriş konsantrasyonları bir hafta içinde sırasıyla  $822.7 \pm 1.4$  ve  $424.6 \pm 1.9$  mg/L'ye kadar yükseltilmiş ve sistem performansında olumsuz bir değişiklik gözlenmemiştir. Reaktörün birinci kademesinde ölçülen maksimum klorofenol giderim hızları ise; 2305 mg 4-KF/L.gün ( $18.3$  g 4-KF/m<sup>2</sup>.gün) ve 1202 mg 2,4-DKF/L.gün ( $9.5$  g 2,4-DKF/m<sup>2</sup>.gün) olarak belirlenmiştir.

## Kaynaklar

- Bali, U. ve Şengül, F. (2002). Performance of a fed-batch reactor treating a wastewater containing 4-chlorophenol, *Process Biochemistry*, **37**, 1317-1323.
- Chen, J., Rulkens, W.H. ve Bruning, H. (1997). Photochemical elimination of phenols and COD in industrial wastewaters, *Water Science and Technology*, **35**, 231-238.
- Contrerasa, S., Rodriguez, M., Al Momania, F., Sansa, C. ve Esplugasa, S. (2003). Contribution of the ozonation pre-treatment to the biodegradation of aqueous solutions of 2,4-dichlorophenol, *Water Research*, **37**, 3164-3171.
- Eker, S. ve Kargi, F. (2006). Impacts of COD and DCP loading rates on biological treatment of 2,4-dichlorophenol (DCP) containing wastewater in a perforated tubes biofilm reactor, *Chemosphere*, **64**, 1609-1617.
- Farrell, A. ve Quilty, B. (1999). Degradation of mono-chlorophenols by a mixed community via a meta-cleavage pathway, *Biodegradation*, **10**, 353-362.
- Grady, C.P.L. Jr., Daigger, G.T. ve Lim, H.C. (1999). *Biological Wastewater Treatment*, 2<sup>nd</sup> Edition, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- HACH, (1992). *Water Analysis Handbook*, 2<sup>nd</sup> ed., Loveland, HACH Company.
- Hao, O.J., Kim, M.H., Seagren, E.A, Kim, H. (2002). Kinetics of phenol and chlorophenol utilization by *Acinetobacter* species, *Chemosphere*, **46**, 797-807.
- Hill, G.A., Milne, B.J. ve Nawrocki, P.A. (1996). Cometabolic degradation of 4-chlorophenol by *Alcaligenes eutrophus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **46**, 163-168.
- Hu, Z., Ferraina, R.A., Ericson, J.F. ve Smets, B.F. (2005). Effect of long-term exposure, biogenic substrate presence, and electron acceptor conditions on the biodegradation of multiple substituted benzoates and phenolates, *Water Research*, **39**, 3501-3510.

- Kargi, F. ve Eker, S. (2006a). Effect of sludge age on performance of an activated sludge unit treating 2,4 dichlorophenol-containing synthetic wastewater, *Enzyme and Microbial Technology*, **38**, 60-64.
- Kargi, F. ve Eker, S. (2006b). COD, par-chlorophenol and toxicity removal from par-chlorophenol containing synthetic wastewater in an activated sludge unit, *Journal of Hazardous Materials*, **132**, 226-231.
- Kargi, F. ve Uygur, A. (1997). Biological treatment of saline wastewater in a rotating biodisc contactor by using halophilic organisms, *Bioprocess Engineering*, **17**, 81-85.
- Kim, M.H. ve Hao, O.J. (1999). Cometabolic degradation of chlorophenols by *Acinetobacter* species, *Water Research*, **33**, 562-574.
- Mangat, S. ve Elefsiniotis, P. (1999). Biodegradation of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in sequencing batch reactors, *Water Research*, **33**, 861-867.
- Metcalf and Eddy (1991). *Wastewater engineering*, New York: McGraw-Hill.
- Puhakka, J.A. ve Jarvinen, K. (1992). Aerobic Fluidized-Bed Treatment of Polychlorinated Phenolic Wood Preservative Constituents, *Water Research*, **26**, 765-770.
- Radwan, K.H. ve Ramanujam, T.K. (1997). Studies on organic removal of 2,4-dichlorophenol wastewaters using modified RBC, *Bioprocess Engineering*, **16**, 219-223.
- Saéz, P.B. ve Rittmann, B.E. (1991). Biodegradation kinetics of 4-chlorophenol, an inhibitory cometabolite, *Research Journal of Water Pollution Control Federation*, **63**, 838-847.
- Saéz, P.B. ve Rittmann, B.E. (1993). Biodegradation kinetics of a mixture containing a primary substrate (phenol) and an inhibitory co-metabolite (4-chlorophenol), *Biodegradation*, **4**, 3-21.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2002). Effects of 2,4-Dichlorophenol on activated sludge, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **59**, 361-367.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2005). Biodegradation of 4-chlorophenol by acclimated and unacclimated activated sludge-evaluation of biokinetic coefficients, *Environmental Research*, **99**, 243-252.
- Sahinkaya, E. ve Dilek, F.B. (2006). Effect of biogenic substrate concentration on the performance of sequencing batch reactor treating 4-CP and 2,4-DCP mixture, *Journal of Hazardous Materials*, **128**, 258-264.
- Shieh, B.W.K., Puhakka, J.A., Melin, E. ve Tuhkanen, T. (1990). Immobilized-cell degradation of chlorophenols, *Journal of Environmental Engineering*, **116**, 683-697.
- Surampalli, R.Y. ve Baumann, E.R. (1997). Role of supplemental aeration in improving overloaded first-stage RBC performance, *Water, Air, and Soil Pollution*, **98**, 1-15.
- Swaminathan G. ve Ramanujam T.K. (1999). Effect of substrate concentration on biodegradation of 2,4-dichlorophenol using modified rotating biological contactors, *Bioprocess Engineering*, **21**, 169-173.
- Tarighian, A., Hill, G., Headley, J. ve Pedras, S. (2003). Enhancement of 4-chlorophenol biodegradation using glucose, *Clean Techn. Environmental Policy*, **5**, 61-65.
- Uysal, A. ve Turkman, A. (2005). Effect of biosurfactant on 2,4-dichlorophenol biodegradation in an activated sludge bioreactor, *Process Biochemistry*, **40**, 2745-2749.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (1999). Facilitation of cometabolic degradation of 4-chlorophenol using glucose as an added growth substrate, *Biodegradation*, **10**, 261-269.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (2000). New cell growth pattern on mixed substrates and substrate utilization in cometabolic transformation of 4-chlorophenol, *Water Research*, **34**, 3786-3794.
- Wang, S.J. ve Loh, K.C. (2001). Biotransformation kinetics of *Pseudomonas putida* for cometabolism of phenol and 4-chlorophenol in the presence of sodium glutamate, *Biodegradation*, **12**, 189-199.

# Hibrit mikrofiltrasyon proses ile sulardan nikel gideriminde akı düşüşünün istatistiksel yöntemlerle incelenmesi

Coşkun AYDINER\*, Orhan İNCE

İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

## Özet

Son yıllarda, çözülmüş organik ve inorganik safsızlıkların sulardan yenilikçi hibrit membran proseslerle giderimi yaygınlık kazanmıştır. Bu proseslerden membran-toz aktif karbon, membran biyoreaktör, vakum sürücülü membran-flotasyon, membran-ozonlama ve membran-elektrokoagülasyon prosesleri, özellikle dikkat çekici olanlardır. Membran proseslerin uygulamasında temel kriterlerin başında akı azalması gelmekte, buna sebep olan faktörler belirlenerek prosesin daha yüksek akı değerlerinde işletilebilmesi amaçlanmaktadır. Bu noktadan hareketle bu çalışmada, yüzey aktif madde destekli toz aktif karbon/çapraz akış mikrofiltrasyon hibrit prosesi kullanılarak sulu ortamdan nikel iyonlarının giderimi incelenmiştir. Proseste, membran türü ve gözenek boyutu, adsorban türü ve Yüzey Aktif Madde (YAM) türü olmak üzere 4 değişken için deneysel tasarıma göre gerçekleştirilmiş çalışmalar kapsamında, membran kirlenmesi ve akı azalması olayları analiz edilmiştir. Kek tabakasının parçacık çapı ve porozitesine, keke katılan YAM ve Toz Aktif Karbon (TAK) miktarlarına ve membran gözenek boyutuna bağlı olarak membran üzerinde dinamik bir kek tabakasının oluştuğu belirlenmiştir. Membrandaki kirlenmenin, membran üzerinde tutunan kütle ile orantılı olarak değişmediği ve keke katılan YAM miktarı ile TAK miktarı arasında ters orantılı bir ilişki bulunduğu tespit edilmiştir. Akı azalmasında etkili mekanizmanın, kısmen membranın iç kısımlarında ve özellikle membran üzerindeki kek tabakasında tutunan YAM miktarı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. YAM türü, akı azalması üzerine en etkili parametre olarak belirlenmiştir. Azalan YAM miktarı ile kek tabakasındaki TAK miktarının arttığı, bunun da, proseste daha yüksek akı elde edilmesine imkân sağladığı saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Hibrit membran proses, nikel giderimi, membran kirlenmesi, akı azalması, faktöriyel tasarım.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Coşkun AYDINER. aydiner@gyte.edu.tr; Tel: (262) 605 32 20.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı'nda tamamlanmış olan "Hibrit mikrofiltrasyon teknolojisi ile sulu ortamdan nikel giderimi" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 17.11.2006 tarihinde dergiye ulaştırılmış, 09.01.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## The investigation of flux decline by statistical methods in the nickel removal from waters using hybrid microfiltration process

### Extended abstract

Microfiltration (MF) and ultrafiltration (UF) processes are especially preferred by reason of low pressure requirement and flexible operation in various water and wastewater treatment applications. Despite the high efficiency achieved in solid-liquid separation, these membranes can not remove the soluble organics and inorganic impurities such as heavy metals. Nevertheless, both processes can be effectively used to remove soluble materials from wastewaters as a hybrid process combined with conventional treatment methods. Hybrid membrane processes compared with traditional membrane processes provide some advantages such as high quantity of treated wastewater, high removal efficiency, fouling control, low energy consumption and lower back-washing time. Among these processes, surfactant enhanced powdered activated carbon (PAC)/crossflow microfiltration (CFMF) hybrid process could be used as a promising technology to remove heavy metals from water environment. In this process, the adsorption capacity for metal ions on surfactant modified PAC could be higher than that for untreated PAC. The dispersed activated carbon would than be easily removed with lower energy consumption at lower pressures using MF process.

The purpose of the study was to explore the flux decline of surfactant enhanced PAC/CFMF hybrid process in the removal of nickel ions from aqueous solution. For this aim, the influence of system-component variables related to membrane material and pore size, adsorbent and surfactant types as input variables was investigated. Because surfactant-added hybrid PAC/CFMF process inherently involves a great number of independent variables which may affect the flux decline, the experiments were carried out at the base of the Taguchi experimental design. In this design, while membrane pore size was chosen as a two-level factor, the other system-component variables were embodied into the design at three levels by means of using "Idle Column Method". Process variables such as process time, crossflow velocity, transmembrane pressure, and characteristics of feed solution were chosen as constant levels for all experiments. To elaborately

assess the flux decline, the modified fouling index (MFI), specific cake resistance ( $\alpha$ ) and total dried solid mass of cake per unit membrane area ( $\omega$ ) as membrane fouling parameters and, non-steady state flux ( $J(t)$ ) and steady state flux ( $J^*$ ) values were taken into account. To interpret the influence of any input variable on membrane fouling and flux decline, analysis of variance (ANOVA) statistical technique was used.

$J(t)$  values exhibited different variations with time according to the each surfactant type. At the beginning of the process, especially in first 8-10 seconds, a considerable decrease in flux appeared for sodium dodecyl sulfate (SDS). The highest  $J(t)$  values throughout the process were obtained by means of 1-hexadecanesulfonic acid sodium salt (HDSA). The optimum combinations of membrane, adsorbent, pore size, and surfactant types for the least of mass deposition and membrane fouling were established as "cellulose acetate, 89440, 0.45  $\mu\text{m}$  and SDS" and "cellulose nitrate, C9157, 0.45  $\mu\text{m}$  and HDSA", respectively. On the other hand, for the highest steady state flux, the optimum combination was found as "mixed cellulose ester, C9157, 0.2  $\mu\text{m}$  and HDSA". This conclusion put forward that, a dynamic cake layer occurred on membrane considering various experimental conditions. Membrane fouling comprised a secondary membrane layer which formed by the surfactants micelles both on the membrane surface and within the membrane pores in addition to the PAC layer on membrane surface. According to the membrane fouling, membrane, adsorbent and surfactant types were determined as important variables, while membrane pore size performed the lowest effect. Effective parameters on flux decline were seen as surfactant type and membrane pore size owing to the blocking of membrane pores with free surfactant aggregates with or without nickel. While membrane type has no effect on steady-state flux, adsorbent type exhibited very little influence. As concluding remarks, with regard to the total influence of each variable on membrane fouling and flux decline, it can be said that surfactant type has the greatest total influence compared with the others. Adsorbent type and membrane pore size come thereafter. The influence of membrane type is the lowest compared with other three system-component variables.

**Keywords:** Hybrid membrane process, nickel removal, membrane fouling, flux decline, factorial design.



## **Giriş**

Membran prosesler, su ve atıksu arıtımında ileri arıtım teknolojileri grubunda yer almaktadır. Yaklaşık 40 yıl öncesine kadar su ve atıksuların arıtımında önemli bir uygulama alanına sahip olmayan bu prosesler; günümüzde, birçok su ve atıksu arıtım problemine pratik çözümler getirmeleri dolayısıyla yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Membran prosesler, uygulama alanlarının geliştirilmesi çalışmaları halen devam etmekle birlikte, katı-sıvı ayırımında ve sulardan organik ve inorganik kirleticilerin gideriminde oldukça etkili bir şekilde işletilebilmektedir (Akmil, 1999; Zhou ve Smith, 2002).

Ağır metallerin sulu çözeltilerden membran prosesler kullanılarak uzaklaştırılmasında, yaygın olarak, ters osmoz (RO), nanofiltrasyon (NF), elektrodializ (ED) ve misel büyütmeli ultrafiltrasyon (MBUF) prosesleri kullanılmaktadır (Yurlova vd., 2002; Qin vd., 2003). NF ve RO proseslerinde görülen başlıca problemler, membrandaki kirlenme ve düşük membran geçirgenliğidir. Yüksek enerji ve basınç gerektirmeleri dolayısıyla bu prosesler çoğunlukla ekonomik olmaktan uzak kalmaktadır (Lazaridis vd., 2004; Mavrov vd., 2004). Özellikle son 15 yılda gelişme göstermiş bulunan MBUF tekniği ile, metal iyonlarının yüzey aktif maddelerin (YAM) polar baş gruplarına elektrostatik olarak bağlanarak ultrafiltrasyon basınç aralığında su ortamından uzaklaştırılmaları sağlanmaktadır. Bu sayede proses, NF ve RO'a nazaran daha yüksek akı ve daha düşük işletme maliyetleri ile çalıştırılabilmektedir (Yurlova vd., 2002; Yoon vd., 2003).

Mikrofiltrasyon (MF) ve ultrafiltrasyon (UF) membranlar kullanılarak su arıtımında yüksek seviyelerde katı-sıvı ayırma verimi elde edilmesine karşılık, bu tip membranlarla su ortamından çözülmüş organik ve inorganik safsızlıkların etkin bir şekilde giderimi sağlanamamaktadır (Watanabe vd., 1999). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, düşük basınç seviyelerinde işletilebilmeleri sebebiyle kolaylık ve ekonomiklik sağlayan bu proseslerin, konvansiyonel arıtma prosesleri ile birleştirilerek hibrit uygulamalar şeklinde atıksulardan çözülmüş maddelerin ve safsızlıkların gideriminde uygulanabilecekleri

ortaya konmuştur. Bunlar arasından özellikle membran-toz aktif karbon (TAK), membran biyoreaktörler (biyomembranlar), vakum sürücülü membran-flotasyon, membran-ozonlama ve membran-elektrokoagülasyon proseslerinin, su ve atıksu arıtımında önemli derecede dikkat çeken yenilikçi hibrit prosesler olduğu görülmektedir (Zhou ve Smith, 2002; Saarland University, 2004; Basar vd., 2006).

TAK-MF prosesinin yanı sıra YAM destekli TAK-MF uygulaması, yenilikçi bir hibrit proses olarak gündeme gelmektedir. Yüksek adsorblanma kapasitesine sahip olan YAM'lerin, hızlı bir proses ile katılar üzerine adsorblanabilmeleri nedeniyle bu maddeler, su ortamındaki kirleticilerin adsorpsiyon ile giderimlerinin artırılması amacıyla ilave malzeme olarak kullanılabilir (Esumi vd., 1999; Gonzalez-Garcia vd., 2002). Son yıllarda YAM'lerin su arıtımında kullanımı, özellikle metal iyonlarının ve diğer toksik maddelerin konsantrasyonunun ve su ortamından uzaklaştırılması üzerine odaklanmıştır (Cserhati vd., 2002; Stalikas, 2002). YAM destekli TAK-MF hibrit prosesinde, YAM adsorblanmış TAK ile, YAM adsorblanmamış TAK'na kıyasla daha yüksek metal iyonu adsorplama kapasitesi elde edilmektedir. Su ortamındaki aktif karbon, en düşük membran basınç aralığında işletilen MF uygulaması ile kolayca sudan uzaklaştırılmaktadır. Bu suretle de, su ortamındaki metal iyonlarının, dolaylı olarak düşük işletme maliyetleri içeren MF hibrit prosesinde arıtımı sağlanabilmektedir (Basar vd., 2006).

Membran proseslerin işletilmesinde dikkate alınan en önemli kriterlerin başında akı azalması gelmektedir. Akı azalması, kütle taşınımı olayına bağlı olarak, membranın gözenekleri veya yüzeyi üzerinde biriken malzemelerin, membran kirlenmesi olarak ortaya çıkardıkları, zamana bağlı olarak süzüntü akısı miktarındaki azalma olarak tanımlanmaktadır (Mulder, 1991). Bu olay, membrandaki kirlenmenin neticesi olarak ortaya çıkan proses performansını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu da, prosesin daha sık aralıklarla devre dışına alınarak, membranların daha kısa zaman aralıklarında temizlenmesine se-

bebiyet vermesi dolayısıyla işletme maliyetlerini artırmaktadır (Turano vd., 2002). Membran kirlenmesi, temizlenebilir ve temizlenemez kirlenme olarak iki grupta ele alınmaktadır. Akının zamana bağlı olarak hızla azalma gösterdiği noktada, membran yüzeyindeki kirlenme ve sınır tabakadaki konsantrasyon polarizasyonu olayına bağlı olarak membranda temizlenebilir kirlenme meydana gelmektedir. Ancak akının zamanla azalmasının oldukça yavaşladığı, buna karşılık sınır tabakadaki taşınım olayına karşı koyan dirençlerin oldukça arttığı noktada ise; yüzey kirlenmesi, adsorpsiyon, jel tabaka oluşumu, membran gözeneklerinin tıkanması veya daralması, membran üzerinde kek oluşumu ve parçacıkların membran üzerine tutunması olaylarının fonksiyonu olarak membranda temizlenemez kirlenme oluşmaktadır (Mulder, 1991; Cheryan, 1998).

Yüksek süzüntü akısı membran proseslerde arzulanan bir durum olmakla birlikte; akı azalması olayı, özellikle çapraz akış hızı, membran geçiş basıncı, membran türü (gözenek boyutu, kimyasal kompozisyonu, vb.) ve besleme çözeltisinin fizikokimyasal özelliklerinden etkilenmektedir. Besleme akımının kirlilik içeriğine bağlı olarak membrandaki kirlenme farklı mekanizmalarla meydana gelmekte ve zamanla farklı akı azalmaları gözlenmektedir. Bu durum, membran proseslerin arzu edilen seviyelerde işletilebilmeleri için akı azalması sebeplerinin anlaşılabilir seviyelerde tutulmasını gerekli kılmaktadır (Aydiner vd., 2005). Bu noktadan hareketle bu çalışmada, YAM destekli TAK/ÇAMF (Çapraz Akış Mikrofiltrasyon) hibrit prosesi kullanılarak sulu çözeltilerden nikel gideriminde akı azalması olayı ve sebepleri analiz edilmiştir. Bu amaçla, membran türü ve gözenek boyutu, TAK ve YAM türleri olmak üzere prosese ait 4 farklı tür değişkenine bağlı olarak, membran kirlenmesi olayları açıklanmış ve akı azalmasıyla olan ilişkileri ortaya konmuştur. Her bir tür değişkeninin membran kirlenmesi ve akı azalması üzerine olan etkisi, ANOVA (varyans analizi (analysis of variance)) istatistiksel yöntemi kullanılarak birbirleriyle kıyaslamalı olarak belirlenmiştir.

## Materyal ve yöntem

### Materyal

Deneysel çalışmalar 3 farklı tipteki membran ve anyonik YAM türü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Membran malzeme olarak Schleicher & Schuell marka, 0.2 ve 0.45 µm gözenek boyutlarına sahip ve hidrofilik selüloz asetat (SA), selüloz nitrat (SN) ve karışık selüloz ester (KSE) kullanılmıştır. YAM olarak seçilen kimyasal maddeler, sodyum dodesil sülfat (SDS), sodyum dodesil benzen sülfonat (LAS) ve 1-hekzadekan sülfonik asit sodyum tuzu (HDSA)'dur. Tüm YAM'ler % 99 saflıkta olup, SDS Merck, LAS Sigma-Aldrich ve HDSA Alfa Aesar markadır. Her bir YAM'nin kimyasal formülü, molekül ağırlığı, sudaki çözünürlüğü ve kritik misel konsantrasyonu (KMK) Tablo 1'de verilmiştir.

TAK olarak, Sigma-Aldrich marka, C5510, 89440 ve C9157 ticari numaralı 3 farklı özellikte TAK kullanılmıştır. TAK'ların Brauner-Emmett-Teller (BET) yüzey alanları sırasıyla 750, 750 ve 1000 m<sup>2</sup>/g olup her bir TAK'un sulu çözeltisi 6-8 arasında pH'ya sahip bulunmaktadır (Sigma, 2005). Ortalama parçacık çapları, 89440, C9157 ve C5510 için sırasıyla 370.1, 55.1 ve 45.2 µm'dir.

### Yöntem

*Deney düzeneği*—Çalışmada kullanılan deneysel sistem, Şekil 1'de şematik olarak gösterilmiştir. 10 litre su kapasitesine sahip sistem, 5 bar'a kadar basınç altında çalışabilmektedir. Membran modül 40 cm × 15 cm × 10 cm boyutlarındaki Delrin® marka (DuPont, Wilmington, Delaware) asetal reçineden yapılmış çapraz akış filtrasyon ünitesidir. Membran modül içerisinde membran malzeme, 7.5 cm çaplı bir dış çerçeve içerisinde yer almaktadır. Membran kanal yüksekliği 0.2 cm olup; kullanılan membranın çapı 6.5 cm'dir.

Membran modülün devreye alınması öncesinde besleme çözeltisi, geri devir hattı üzerinden 20 dakika süreyle besleme tankına geri devrettirilmiştir. Sistem basıncı, hem geri devir esnasında hem de prosesin devreye alınması sonrasında 400 kPa'da sabit tutulmak suretiyle çalışmalar

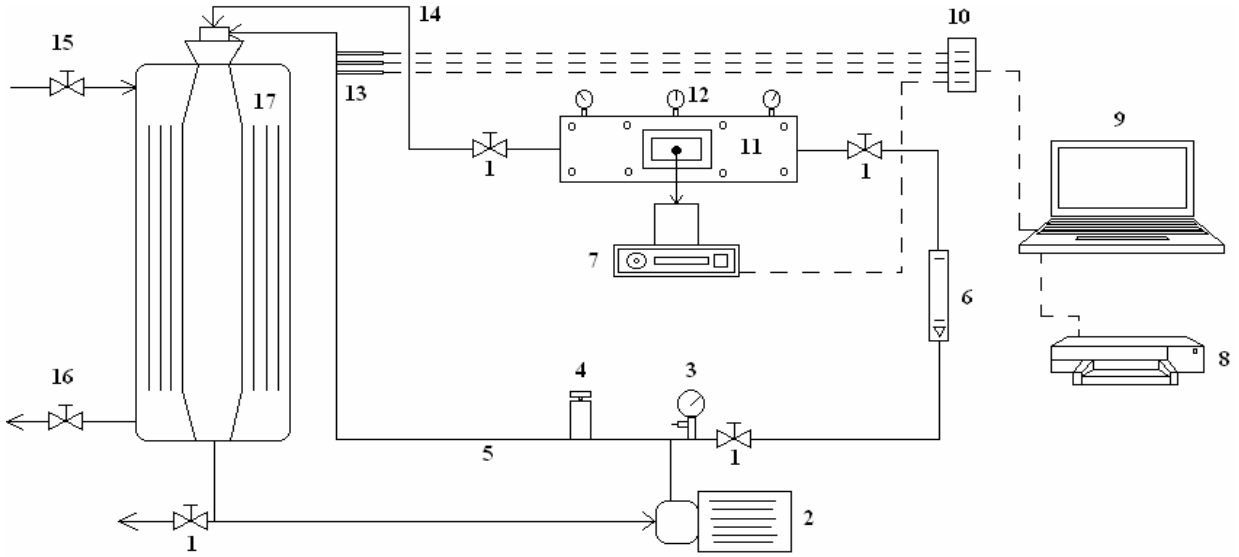
Tablo 1. Kullanılan yüzey aktif maddeler ve özellikleri

Özellik	Yüzey Aktif Maddeler		
	SDS	LAS	HDSA
Kimyasal formül	$C_{12}H_{25}SO_4Na$	$C_{18}H_{29}SO_3Na$	$C_{16}H_{33}SO_3Na$
Molekül ağırlığı, (g/mol)	288.40	348.48	328.49
Sudaki çözünürlük (g/L)	100	0.35	0.184
KMK, (mM) (30°C'de)	8.45 <sup>a</sup>	2.0 <sup>b</sup>	0.36 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> (Mokrushina vd., 2002).

<sup>b</sup> (Akmil, 1999).

<sup>c</sup> Bu değer, 30°C'de, farklı konsantrasyonlarındaki HDSA çözeltilerinin iletkenlik değerleri değişimlerinden belirlenmiştir (Aydiner, 2006).



Şekil 1. Çalışmada kullanılan deney düzeneği ((1) akış kontrol vanaları, (2) sıvı sirkülasyon pompası, (3) sistem basıncı izleme göstergesi, (4) sistem basıncı ayarlama vanası, (5) geri devir (by-pass) hattı, (6) akış hızı ayarlama cihazı, (7) hassas terazi, (8) yazıcı, (9) bilgisayar, (10) sürekli veri izleme ara bağlantı elemanı, (11) çapraz akış mikrofiltrasyon ünitesi, (12) membran ünitesi basınç izleme göstergeleri, (13) sürekli izleme probrları (pH, iletkenlik ve sıcaklık), (14) ana akış hattı, (15) soğutma suyu girişi, (16) soğutma suyu çıkışı, (17) serpantin soğutma sistemli besleme tankı

gerçekleştirilmiştir. 20 dakikalık geri devir işlemi sonrasında besleme çözeltisindeki TAK parçacıklarının ayırımı amacıyla, membran modül besleme hattındaki vana açılarak doğrudan membran filtrasyon aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada proses, 75 dakika süre ile çalıştırılmıştır. Membran modülün devreye alınması ile birlikte, modül çıkışında yer alan vana kısılarak membran geçiş basıncı ve akış hızı ayarlamaları yapılmıştır. Membran modülün devreye alınması sonrasında, süzüntü vanası açılarak membran modülden sıvı geçişi sağlanmış ve bilgisayara bağlı OHAUS-Explorer marka EP2102 model

hassas terazi ile veriler kayıt altına alınmıştır. 1 saniye zaman aralıklarıyla kaydedilen ağırlık değerlerinden hareketle süzüntü akışı değerleri hesap edilmiştir.

*Deneysel tasarım*–YAM destekli TAK/ÇAMF prosesinde akı azalmasını etkileyen birçok bağımsız proses değişkeninin olması ve prosesin karmaşık doğası sebebiyle deneysel çalışmalar, deneysel tasarım çerçevesinde planlanmıştır. Deneysel tasarım, membran türü ( $M_T$ ), membran gözenek boyutu ( $M_{GB}$ ), adsorban türü ( $A_T$ ) ve YAM türü ( $YAM_T$ ) olmak üzere 4 farklı tür de-

ğişkeni için ve 2 seviyeli değişkenlerin 3 seviyeli değişkenler ile beraber dikkate alınabildiği “Boş Sütun Yöntemi”ne göre gerçekleştirilmiştir (Ross, 1996).  $M_{GB}$ 'nin 2 seviyeli,  $M_T$ ,  $A_T$  ve  $YAM_T$  parametrelerinin ise 3 seviyeli olarak dikkate alındığı deneylerde; proses süresi, çapraz akış hızı, membran geçiş basıncı ve besleme çözeltisinin özellikleri gibi proses değişkenlerinin tamamı, Tablo 2’de gösterildiği üzere orta (0) seviye değerlerinde sabit olarak alınarak deneyler yürütülmüştür. Tasarım deneyleri planı, Tablo 3’te gösterilmiştir.

Tablo 2. Tasarım deneyleri değişkenleri ve seviyeleri

Değişken	Birim	Seviye			
		Yüksek (+1)	Orta (0)	Düşük (-1)	
X1	$M_T$	-	SA	SN	KSE
X2	$A_T$	-	C5510	89440	C9157
X3	$M_{GB}$	$\mu\text{m}$	-	0.45	0.2
X4	$YAM_T$	-	LAS	SDS	HDSA
X5	$t$	dk	120	75	30
X6	$t'$	dk	40	20	0
X7	pH	-	7	5	3
X8	$T$	$^{\circ}\text{C}$	40	30	20
X9	$C_{TAK}$	g/L	4	2.05	0.1
X10	$C_{YAM}$	KMK*	3	2	1
X11	$C_{Ni}$	mg/L	300	155	10
X12	$v$	m/sn	0.6	0.35	0.1
X13	$\Delta P$	kPa	300	200	100

\* KMK: Kritik misel konsantrasyonu

Tür değişkenleri ve seviyelerinin membran kirlenmesi ve akı azalması üzerine etkileri, ANOVA istatistiksel yöntemi kullanılarak belirlenmiş, her bir değişkenin proses performansı üzerine olan etkisi birbirleriyle kıyaslamalı olarak elde edilmiştir (Ross, 1996).

**Hesaplamalar**–Hesaplamalar, kararsız ve kararlı hal akıları, uyarlanmış kirlenme indeksi (UKİ), spesifik kek direnci ( $\alpha$ ) ve membranda tutunan kuru katı kütlesi ( $\omega$ ) parametreleri dikkate alınarak yapılmıştır. Süzüntü akısı aşağıdaki gibi hesap edilmiştir (Mulder, 1991).

$$J \equiv \frac{1}{A_m} \frac{dV_s}{dt} \quad (1)$$

Tablo 3. Tasarım deneyleri planı

Deney No	Değişken			
	X1	X2	X3	X4
1	-1	-1	-1	-1
2	-1	0	0	0
3	0	-1	0	0
4	0	0	-1	-1
5	0	0	0	0
6	0	+1	-1	+1
7	+1	0	-1	+1
8	+1	+1	0	0

Denklem (1)’de,  $J$  süzüntü akısını;  $A_m$ , etkili membran alanını;  $V_s$ , süzüntü hacmini ve  $t$ , filtrasyon süresini ifade etmektedir. Denklem (1)’in düzenlenmesinden, Denklem (2)’de verilen  $V'$ ye karşı  $t/V$  grafiği elde edilmektedir.

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu \cdot R_m}{\Delta P} + \frac{\mu \cdot \alpha \cdot C_b \cdot V}{2\Delta P} \quad (2)$$

Denklem (2)’de,  $V$ , etkili membran alanından geçen süzüntü hacmini ( $V_s/A_m$ );  $\mu$ , sıvının viskozitesini;  $R_m$ , membran direncini;  $\Delta P$ , membran geçiş basıncını;  $C_b$ , beslemedeki katı konsantrasyonunu ve  $\alpha$ , spesifik kek direncini ifade etmektedir. Denklem (2)’deki doğrunun eğimi, uyarlanmış kirlenme indeksi (UKİ) parametresini vermektedir. UKİ’den hareketle spesifik kek direnci ( $\alpha$ ) parametresi hesap edilmektedir (Mulder, 1991).  $\alpha$ , kek tabakasının birim kalınlığındaki direnç olarak Carmen-Kozeny denklemi ile ifade edilmektedir (Basar vd., 2006).

$$\alpha = 180 \frac{(1-n)^2}{d_p^2 \cdot n^3} \quad (3)$$

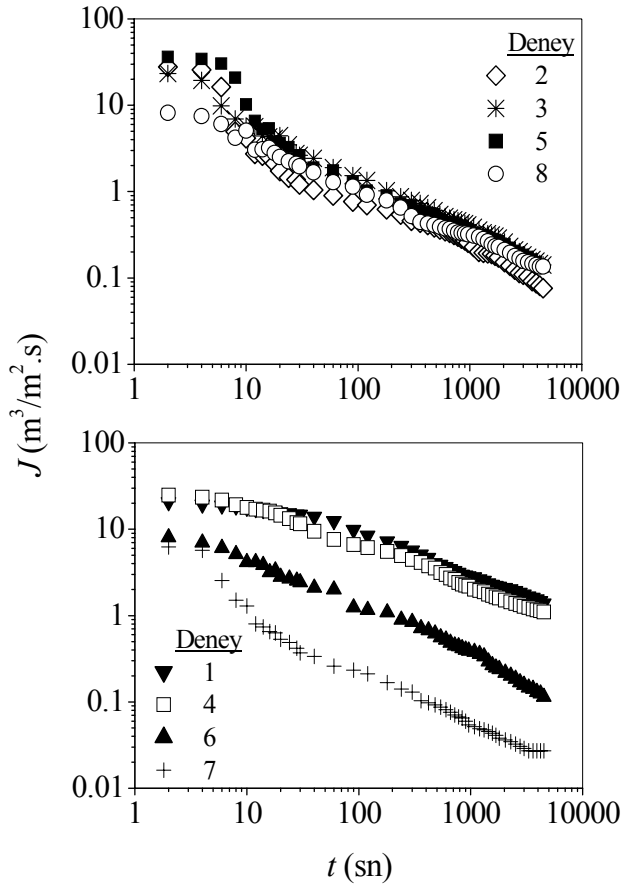
Denklem (3)’te verilen  $n$  ve  $d_p$  sırasıyla kek tabakasının porozitesi ve kek tabakasında tutunan ortalama parçacık çapı olarak tanımlanmaktadır. Parçacık çapının büyümesi ile kek tabakasının porozitesi artmaktadır. Bu bağlamda Denklem (3)’e göre parçacık çapı ve dolayısıyla porozitenin artması, membran üzerinde oluşan ikincil kek tabakasının spesifik direncini azaltmaktadır. Bu parametrelerin yanı sıra membran

kirlenmesi parametrelerinden  $\omega$  parametresi, deney sonunda birim membran alanındaki kütle artışı olarak belirlenmiştir.

## Deneysel çalışma sonuçları

### Kararsız hal akı değişimleri

Tasarım deneyleri çerçevesinde, hibrit membran procesteki kararsız hal akı değişimleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Kararsız hal akı değişimleri

YAM türü olarak SDS kullanılan deneylerde (no: 2, 3, 5 ve 8) LAS (no: 6 ve 7) ve HDSA (no: 1 ve 4) ile yürütülen deneylere kıyasla daha farklı akı davranışları gözlenmiştir. SDS türü YAM ile gerçekleştirilen deneylerde özellikle, 8-10 saniye civarlarında akıda dikkate değer bir düşüş meydana gelmiştir. Bu durum, SDS misellerinin, prosesin hemen başlangıcında membran yüzeyi üzerinde TAK parçacıkları ile birlikte daha yoğun bir ikincil membran tabakası oluşturarak akıda önemli düşüşler meydana getirdiğini ortaya koymaktadır. SDS için ilk 8-10

saniye civarındaki akı azalmasına benzer bir azalma, LAS türü YAM ile gerçekleştirilen 7 no'lu deneyde söz konusu olmuştur. Bu durum, SA türü membran ve 89440 türü TAK arasındaki etkileşimden; bunun da, YAM giderimine bağlı olarak membranda TAK'un yalnız başına oluşturduğuna nazaran daha yoğun bir kirlenmiş kek tabakası meydana getirmiş olmasından ileri gelmektedir. Proses süresi boyunca en yüksek akı değerleri, YAM türü olarak HDSA ile elde edilmiştir. Çünkü, ortama ilave edilen YAM miktarı YAM türüne göre değişmekte olup procese en düşük kütleli miktarda ilave edilen YAM türü HDSA'dır.

### Membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı

#### ANOVA analizleri

Hibrit membran procesta meydana gelen akı azalmasının ve sebeplerinin daha detaylı yorumlanabilmesi amacıyla, membrandaki kirlenmenin analiz edilmesi ve akı ile olan ilişkisinin ortaya konması gerekmektedir. Bu bağlamda, Tablo 4'te verilmiş olan tasarım deneyleri için elde edilmiş membran kirlenmesi parametreleri sonuçları ve kararlı hal akısı değerlerinden hareketle; hibrit membran proses ile nikel gideriminde, membranda meydana gelen kirlenme ve bunun da sebep olduğu akı azalması ANOVA istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak, tür değişkenleri ve seviyeleri için birbirleriyle kıyaslamalı olarak belirlenmiştir. ANOVA analizleri, MINITAB 14.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

*Tür değişkenleri seviyelerinin etkileri*—Tablo 4'te verilen tasarım deneyleri sonuçlarından hareketle, her bir tür değişkeni seviyesinin membrandaki kirlenme ve kararlı hal akısı üzerine etkileri ANOVA analizleri ile belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 3'te gösterilmiştir.

Şekil 3'te UKİ ve  $\alpha$  değerlerinin birbirine eşitlikte değişmesi,  $\alpha$  değerlerinin UKİ değerlerinden hesap edilmesinden ve tür değişkenleri için aynı TAK besleme konsantrasyonu ve membran geçiş basıncı değerlerinde çalışılmış olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak bu iki parametre için tür değişkenleri etkilerinin farklı değerlerde olduğu açıkça görülmektedir. Şekil 3'e göre, UKİ,  $\alpha$ ,  $\omega$  ve  $J^*$  parametreleri için or-

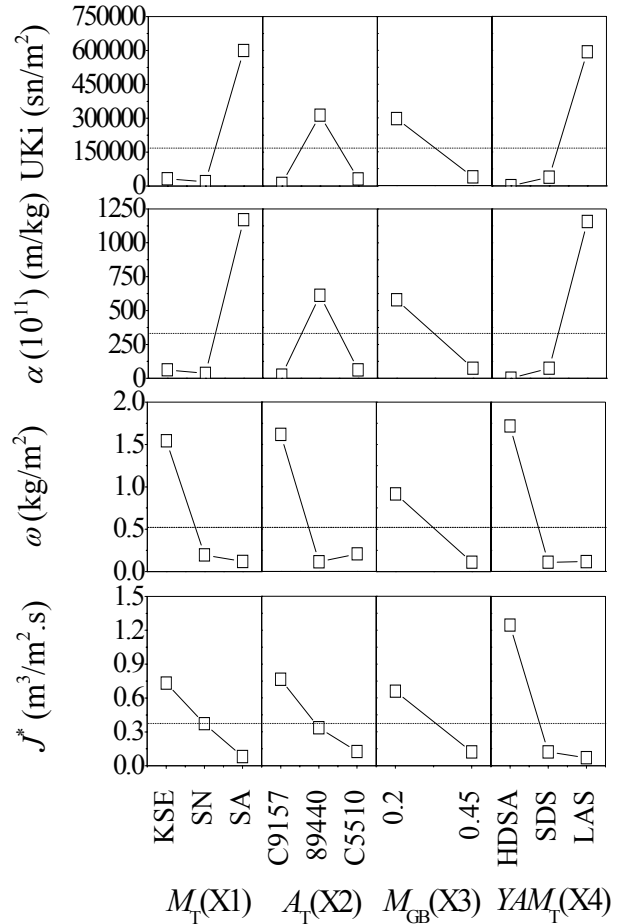
talama değerler olarak sırasıyla  $167513 \text{ sn/m}^2$ ,  $327 \times 10^{11} \text{ m/kg}$ ,  $0.513 \text{ kg/m}^2$  ve  $0.39 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  olarak tespit edilmiştir. Bu parametreler için azami değişimler, sadece YAM türü değişkeninde olmak üzere sırasıyla  $592747 \text{ sn/m}^2$ ,  $1157 \times 10^{11} \text{ m/kg}$ ,  $1.608 \text{ kg/m}^2$  ve  $1.175 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, membran kirlenmesi ve akı azalmasında en etkili parametrenin YAM türü olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durumun, ikincil membran tabakasında kesin olarak tutunuyor olmalarının yanı sıra, YAM monomer ve agregalarının membran içerisine geçişi ve buralarda da kısmen tutunabilmeleri sebebinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla, söz konusu hibrit proseste, KMK'sı düşük YAM kullanılarak daha az miktarda TAK kullanılması ve buna bağlı olarak prosesin daha yüksek akılarla daha uzun süre çalıştırılabilmesi imkânı ortaya çıkmaktadır.

Tablo 4. Membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı sonuçları

Deney No	Sonuç			
	UKİ ( $\text{sn/m}^2$ )	$\alpha$ ( $\times 10^{11}$ ) ( $\text{m/kg}$ )	$\omega$ ( $\text{kg/m}^2$ )	$J^*$ ( $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ )
1	380	0.741	3.056	1.389
2	63811	124.509	0.030	0.076
3	22377	43.662	0.180	0.141
4	694	1.354	0.379	1.102
5	28210	55.04	0.019	0.135
6	24822	48.433	0.204	0.114
7	1161745	2266.82	0.027	0.027
8	38065	74.27	0.209	0.136

Membran üzerinde en az kütle tutunumu; membran, TAK, gözenek boyutu ve YAM türleri olarak sırasıyla “SA, 89440,  $0.45 \mu\text{m}$  ve SDS” için tespit edilmiştir. Membranda en az kirlenme ise, “SN, C9157,  $0.45 \mu\text{m}$  ve HDSA” türlerinde belirlenmiştir. Membrandaki kirlenme, membran üzerinde tutunan kütle ile orantılı olarak değişmemektedir. Bu durum, membran üzerinde farklı kirlenme olaylarına ve akı azalma davranışlarına sebebiyet veren dinamik bir kek tabakası oluşumuna işaret etmektedir. En yüksek kararlı hal akısı, “KSE, C9157,  $0.2 \mu\text{m}$  ve HDSA” türlerinde belirlenmiştir. 89440 türü TAK ve LAS türü YAM'deki gibi SA türü membranda, diğer

tür çeşitlerine kıyasla kütle tutunumu düşük iken, en yüksek kirlenme durumu görülmüştür. Bu durum, membranın fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olarak membran, TAK ve YAM arasındaki etkileşimlerin farklı kirlenme mekanizmaları ile gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 3. Tür değişkenleri seviyelerinin membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı üzerine etkileri

Gözenek boyutunun küçülmesi ile membranda daha fazla kütle tutunmakta ve daha küçük çaplı parçacıklardan oluşan daha düşük poroziteli bir kek tabakası meydana gelmektedir. Bu olay, daha küçük gözenek boyutlu membranda daha çok kirlenme ve daha az akı kaybı görülmüş olması durumunu açığa kavuşturmuştur. Buna göre, küçük gözenekli membranda kek tabakasının parçacık çapı ve porozitesindeki azalmaya bağlı olarak, büyük gözenek boyutuna kıyasla, membranda tutunan kütle içerisindeki YAM miktarı azalmaktadır. Bir başka deyişle kek tabakasındaki yüzde TAK miktarı kütleli olarak

artmaktadır. Küçük gözenekli membranda, tutunan kütle miktarı ve kirlenme değerlerinin artmasına karşılık, akının azalmasında başlıca etkili parametre olan YAM türünün keke daha az katılımı dolayısıyla kirlenme ile orantılı olarak akı azalması meydana gelmemektedir.

SN türü membranda, düşük kütle tutunumu ve en az membran kirlenmesi meydana gelmiş, ortalama değere çok yakın bir akı değeri tespit edilmiştir. Büyük çaplı parçacıklardan oluşan daha poroz bir kek tabakası oluşmuştur. Diğer iki türe kıyasla C9157 türü TAK ile membranda en çok kütle tutunumu gerçekleşirken en az membran kirlenmesi söz konusu olmuş ve en yüksek akı değeri gözlenmiştir. Bu durum, daha büyük çaplı parçacıklardan oluşan daha poroz yapılı bir kek tabakası oluşumuna işaret etmektedir. Diğerlerine kıyasla en çok kütle tutunmasının ve akı değerinin görüldüğü HDSA'da en az membran kirlenmesinin meydana gelmesi, esasen bu YAM'nin düşük KMK'na sahip olması ve beslemede de düşük kütleli miktarda bulunmasıyla izah edilebilmektedir. Zira, membran yüzeyine besleme çözeltisinden bu YAM ile gelen kirlilik yükü daha düşüktür. Nitekim çalışılan şartlarda, % 50'lik bir YAM giderimi söz konusu olduğunda, besleme çözeltisinde kalan toplam HDSA miktarı yaklaşık 1.18 g iken, LAS ve SDS için bu değer sırasıyla 6.97 ve 24.37 g olarak ölçülmüştür.

Şekil 3'te verilen ANOVA sonuçları, tür değişkenlerinin bir değişken seviyesindeki deneylere ait sonuçların aritmetik ortalamasına göre hesaplanarak belirlenmiş genel etkilerdir. Bu sonuçlar, değişken seviyelerin sadece proses performansını artırıcı ya da azaltıcı etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu sonuçların doğruluğu veya daha kesin sonuçların elde edilmesi, ANOVA yöntemi ile belirlenen  $F$  değerleri üzerinden yapılmaktadır. Aritmetik ortalamalara göre hesap edilen etkilerden farklı olarak sadece C9157 türü TAK için membranda daha çok kirlenmenin meydana geldiği belirlenmiştir. C9157-89440 ve 89440-C5510 türü TAK'lar için ANOVA analizi UKİ parametresi  $F$  değerleri sırasıyla 0.82 ve 594.81 olarak hesaplanmıştır. Söz konusu değerler, C9157 türü

TAK'la membranda oluşan kirlenmenin, Şekil 3'ten farklı ve daha doğru olarak daha büyük değerlerde (89440 türü TAK için belirlenmiş kirlenme değerine yakın fakat biraz daha düşük seviyede) olduğunu göstermektedir. Bu sonuca göre, gerçekte C9157 türü TAK ile membran üzerinde, daha küçük parçacıklardan oluşan ve daha düşük poroziteli bir kek tabakası oluşmaktadır.

*Tür değişkenlerinin etkileri*– Tablo 4'teki verilerden hareketle ANOVA istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak, tür değişkenlerinin membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı üzerine etkileri birbirleriyle kıyaslamalı olarak belirlenmiştir. Sonuçlar UKİ,  $\alpha$ ,  $\omega$  ve  $J^*$  parametreleri için topluca Şekil 4'te gösterilmiştir. Şekil 4'e göre, membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı bazında tür değişkenleri rölatif etki sıralamaları aşağıdaki gibidir:

[UKİ ve  $\alpha$ ]:

$$M_T(X1) \cong A_T(X2) \cong YAM_T(X4) > M_{GB}(X3) \quad (4)$$

[ $\omega$ ]:

$$YAM_T(X4) > A_T(X2) > M_T(X1) > M_{GB}(X3) \quad (5)$$

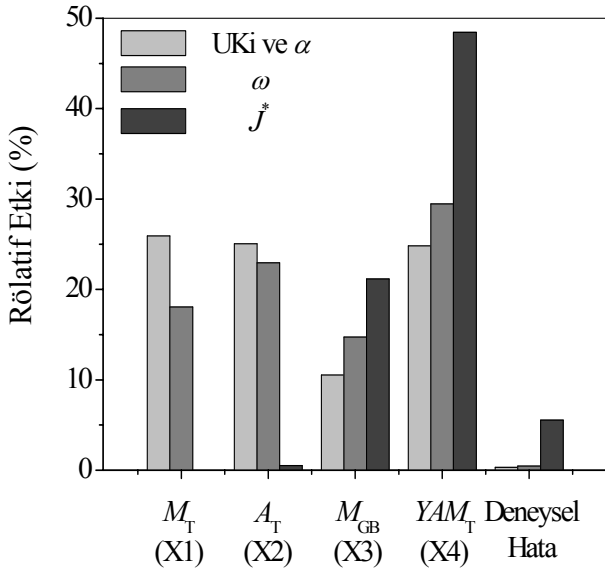
[ $J^*$ ]:

$$YAM_T(X4) > M_{GB}(X3) \gg A_T(X2) \quad (6)$$

$(M_T(X1) = 0)$

Denklem (4), (5) ve (6), tür değişkenlerinin membran kirlenmesi üzerine etkilerini birbirleriyle kıyaslamalı olarak sunmaktadır. Membran kirlenmesi ve oluşan kek direnci açısından  $M_T$ ,  $A_T$  ve  $YAM_T$ , kirlenmede başlıca etkili parametreler olup; birbirlerine çok yakın etki seviyeleri göstermektedir. Membran türünün önemi, YAM ve TAK arasındaki fiziko-kimyasal etkileşimlerden ileri gelmekte, her bir cins membranın her bir çeşit TAK ve YAM'ye olan seçiciliği, yüzey yüklerine bağlı etkileşimler ve adsorbsiyon süreci ve mekanizmaları birbirinden farklı olarak gerçekleşmektedir. TAK türü, oluşan ikincil kek tabakasının kalınlığı veya kütlesi itibarıyla önem kazanmaktadır. YAM'nin TAK'la adsorbsiyona dayalı etkileşimi kek tabakasının özelliklerini (parçacık çapı ve porozitesi) etkilemekte, membranla olan adsorbsiyona dayalı

etkileşimi ise TAK'un parçacık büyüklüğünün gözenek boyutundan daha büyük olması dolayısıyla membran gözenek boyutunun da membran kirlenmesi açısından etkili bir parametre olmasına sebep olmaktadır. Elde edilen bu sonuçlardan, membran içerisinde tutunan nikel bağlanmış ya da bağlanmamış YAM'lerin de, membranın iç kısımlarının kirlenmesine sebep olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 4. Tür değişkenlerinin membran kirlenmesi ve kararlı hal akısı üzerine rölatif etkileri

Membranda tutunan katı kütlesi, özellikle, YAM ve TAK türlerinden etkilenmektedir. Bu durum, kek tabakasındaki parçacık sayısı ve YAM miktarının, söz konusu türlere bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Şekil 3'e göre proseste KMK seviyesi baz alındığında, kütlece daha düşük miktarda olan YAM türü kullanıldığında (HDSA türü YAM), membranda tutunan katı kütlesi önemli düzeyde artış göstermektedir. Bu durum, kek tabakasında sadece parçacık boyutu ve porozitesi ile ilgili bir değişimin değil, aynı zamanda besleme çözeltisinde daha az miktardaki YAM mevcudiyetine bağlı olarak daha çok TAK'un membran üzerinde tutunması olarak yorumlanabilmektedir. Bir başka deyişle, proseste YAM miktarının kütlece artması, kısmen membran içerisinde olmak üzere membran üzerindeki kek tabakasında tutunan YAM monomer ve agregaları dolayısıyla, keke katılan TAK miktarını azaltmaktadır. Tutunan katı

kütlesi bakımından en az etkili parametreler, membran türü ve gözenek boyutudur. Membran türünün kararlı hal akısı üzerine herhangi bir etkisinin olmaması da, bu sonucu desteklemektedir.

Yürütülen bu çalışma koşullarında, proseste akı azalması üzerine etkili parametreler sırasıyla YAM türü ve membran gözenek boyutu olarak belirlenmiştir. YAM konsantrasyonu, tasarım deneyleri ışığında YAM türleri için KMK değeri baz alınarak çalışıldığından; membranda tutunan YAM miktarının kütlece değişmesi, proseste akı azalmalarının YAM türlerine bağlı olarak farklı düzeylerde olmasına sebep olmaktadır. Keke katılan YAM miktarının azalması kekteki TAK kütlelerini artırdığından, bu durumda proseste daha düşük akı azalmaları meydana gelmektedir. Bu da gerçekleştirilen ANOVA analizleri neticesinde, akı azalmasındaki en etkili mekanizma olarak belirlenmiştir. Membran gözenek boyutu akı azalması üzerine ikinci etkili parametre olarak belirlenmiştir. YAM türündeki mekanizma aynı şekliyle membran gözenek boyutu için de söz konusu olmaktadır. Şekil 3'e göre, küçük gözenekli membranda tutunan kütle içerisindeki TAK miktarının daha çok olması dolayısıyla, kararlı hal akısındaki azalma daha düşük seviyelerde olmaktadır. Membran türünün kararlı hal akısı üzerine herhangi bir etkisi tespit edilmemiş olmakla birlikte, TAK türünün YAM ve membran gözenek boyutu tür değişkenlerine kıyasla çok az etkisinin mevcut olduğu belirlenmiştir.

## Sonuçlar

YAM destekli TAK/ÇAMF hibrit prosesi kullanılarak sudan nikel gideriminde, membran türü ve gözenek boyutu, TAK ve YAM türleri olmak üzere 4 tür değişkeninin membranda oluşan kirlenme ve akı azalması üzerine etkilerinden hareketle, proseste akı azalması ile ilgili aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Seçicilik ve yarışmalı adsorbsiyona bağlı olarak membran üzerinde dinamik bir kek tabakası oluşmaktadır. Bu tabakanın parçacık çapı ve porozitesine, keke katılan YAM ve TAK miktarlarına ve membran gözenek



boyutuna bağlı olarak farklı akı azalma davranışları ortaya çıkmaktadır.

- Membran kirlenmesi açısından membran, TAK ve YAM türleri önemli tür değişkenleri olmakta, membran gözenek boyutunun kirlenme üzerine etkisi bu üç tür değişkenine kıyasla çok daha düşük seviyelerde kalmaktadır.
- Akı azalması üzerine etkili parametreler sırasıyla YAM türü ve membran gözenek boyutudur. TAK türünün kararlı hal akısı üzerine etkisi çok az olup, membran türünün herhangi bir etkisi bulunmamaktadır.
- Akı azalmasında etkili mekanizma, membranın iç kısımlarında tutunan ve kek tabakasına katılan YAM miktarı ile ilişkilidir. Keke katılan YAM miktarı ile TAK miktarı arasında ters orantılı bir ilişki bulunmaktadır. Besleme çözeltilisinde azalan YAM miktarına bağlı olarak kek tabakasına katılan TAK miktarı artmakta, bu da, prosesle daha yüksek akı elde edilmesine imkân sağlamaktadır.
- YAM türü, membrandaki kirlenme ve akı azalması üzerine en etkili parametredir. Diğer tür değişkenlerinin etkileri, adsorban türü, membran gözenek boyutu ve membran türü sırasında birbirlerine yakın seviyelerde belirlenmiştir.

## Semboller

$\alpha$	: Spesifik kek direnci (m/kg)
$A_m$	: Etkili membran alanı ( $m^2$ )
$A_T$	: Adsorban türü
$C_b$	: Beslemedeki katı konsantrasyonu (g/l)
$C_{Ni}$	: Nikel konsantrasyonu (mg/l)
$C_{TAK}$	: Toz aktif karbon konsantrasyonu (g/l)
$C_{YAM}$	: Yüzey aktif madde konsantrasyonu (mM)
$d_p$	: Kek tabakasında tutunan parçacıkların ortalama çapı ( $\mu m$ )
$\Delta P$	: Membran ve kek üzerindeki ortalama geçiş basıncı (kPa)
$F$	: F istatistik
$J$	: Süzüntü akısı ( $m^3/m^2 \cdot s$ )
$J(t)$	: Kararsız hal süzüntü akısı ( $m^3/m^2 \cdot s$ )
$J^*$	: Kararlı hal süzüntü akısı ( $m^3/m^2 \cdot s$ )
$KMK$	: Kritik misel konsantrasyonu (mM)
$M_{GB}$	: Membran gözenek boyutu ( $\mu m$ )
$M_T$	: Membran türü
$\mu$	: Süzüntü viskozitesi (Pa·sn)

$n$	: Kek tabakasının porozitesi (%)
$\omega$	: Birim membran alanında tutunan kuru katı kütlesi ( $kg/m^2$ )
$pH$	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması (-)
$R_m$	: Membran direnci (1/m)
$t$	: Filtrasyon süresi (sn)
$t'$	: Geri devir süresi (dk)
$T$	: Sıcaklık ( $^{\circ}C$ )
$UKI$	: Uyarlanmış kirlenme indeksi ( $sn/m^2$ )
$v$	: Çapraz akış hızı (m/sn)
$V$	: Etkili membran alanından geçen süzüntü hacmi ( $m^3/m^2$ )
$V_S$	: Süzüntü hacmi ( $m^3$ )
$X$	: Değişken
$YAM_T$	: Yüzey aktif madde türü
$-1, 0, +1$	: Deneysel tasarımdaki değişkenlerin sırasıyla düşük, orta ve yüksek seviyeleri

## Kaynaklar

- Akmil, C., (1999). Yüzey aktif madde dispersiyonlarının aktif karbon adsorpsiyonu ile desteklenmiş çapraz akış mikrofiltrasyonu, *Doktora tezi*, Atatürk Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi, Erzurum.
- Aydiner, C., Demir, I. ve Yildiz, E., (2005). Modeling of flux decline in crossflow microfiltration using neural networks: the case of phosphate removal, *Journal of Membrane Science*, **248**, 53–62.
- Aydiner, C., (2006). Hibrit mikrofiltrasyon teknolojisi ile sulu ortamdan nikel giderimi, *Doktora tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi, İstanbul.
- Basar, C.A., Aydiner, C., Kara, S. ve Keskinler, B., (2006). Removal of  $CrO_4$  anions from waters using surfactant enhanced hybrid PAC/MF process, *Separation and Purification Technology*, **48**, 270–280.
- Cheryan, M., (1998). *Ultrafiltration and microfiltration handbook*, Technomic Publishing Co., Inc., Technomic Publishing, Pennsylvania-USA.
- Cserhati, T., Forgacs, E. ve Oros, G., (2002). Biological activity and environmental impact of anionic surfactants, *Environment International*, **28**, 337–348.
- Esumi, K., Yoshida, K., Torigoe, K. ve Koide, Y., (1999). Sorption of 2-naphthol and copper ions by cationic surfactant-adsorbed laponite, *Colloid and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, **160**, 247–250.
- Gonzalez-Garcia, C.M., Gonzalez-Martin, M.L., Gallardo-Moreno, A.M., Gomez-Serrano, V., La-

- bajos-Broncano, L. ve Bruque, J.M., (2002). Removal of an ionic surfactant from wastewater by carbon blacks adsorption, *Separation Science and Technology*, **37**, 12, 2823–2837.
- Lazaridis, N.K., Blöcher, C., Dorda, J. ve Matis, K.A., (2004). A hybrid MF process based on flotation, *Journal of Membrane Science*, **228**, 83–88.
- Mavrov, V., Erwe, T. ve Chmiel, H., (2004). Selective separation of heavy metals from industrial wastewater streams by means of heavy metal bonding agents, *Water, Air and Soil Pollution*, **4**, 147–155.
- Mokrushina, L., Churyusova, T., Savchuk, K., Morozova, Y. ve Smirnova, N., (2002). Critical micelle concentration and phase behavior of aqueous mixtures of dodecylsulfates and sodium ethoxydodecylsulfate, *Fluid Phase Equilibria*, **194–197**, 1077–1087.
- Mulder, M., (1991). *Basic principles of membrane technology*, Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Qin, J.J., Oo, M.H., Wai, M.N., Ang, C.M., Wong, F.S. ve Lee, H., (2003). A dual membrane UF/RO process for reclamation of spent rinses from a nickel-plating operation—a case study, *Water Research*, **37**, 3269–3278.
- Ross, P.J., (1996). *Taguchi techniques for quality engineering*, McGraw-Hill. New York.
- Saarland University-Department of Process Technology, (2004). State of the art in the removal of toxic metals and the Metassep Project: selective separation of toxic metals from specific industrial wastewater streams for water and metals reuse – overview, The Project Report for 5<sup>th</sup> Framework Programme of The European Commission, Saarbrücken, Germany.
- Sigma, (2005). Product informations for C5510 (Activated charcoal), 89440 (Acid washed activated charcoal) and C9157 (Activated charcoal cell culture tested), Saint Louis, Missouri, USA, <http://sigma-aldrich.com>.
- Stalikas, C.D., (2002). Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, **21**, 5, 343–355.
- Turano, E., Curcio, S., De Paola, M.G., Calabrò, V. ve Iori, G., (2002). An integrated centrifugation–ultrafiltration system in the treatment of olive mill wastewater, *Journal of Membrane Science*, **209**, 519–531.
- Watanabe, Y., Kimura, K. ve Suzuki, T., (1999). Membrane application to water purification process in Japan—development of hybrid membrane system, International Specialized Conference on Membrane Technology in Environmental Management, 28–37, Tokyo, Japan.
- Yoon, J., Yoon, Y., Amy, G., Cho, J., Foss, D. ve Kim, T.H., (2003). Use of surfactant modified ultrafiltration for perchlorate removal, *Water Research*, **37**, 9, 2001–2012.
- Yurlova, L. Kryvoruchko, A. ve Kornilovich, B., (2002). Removal of Ni(II) ions from wastewater by micellar-enhanced ultrafiltration, *Desalination*, **144**, 1–3, 255–260.
- Zhou, H. ve Smith, D.W., (2002). Advanced technologies in water and wastewater treatment, *Journal of Environmental Engineering and Science*, **1**, 247–264.

## Havasız biyoreaktörlerde sintrofik bütiratı ayrıştıran topluluğun stabil izotop işaretlemesi ile tanımlanması

Mahmut ALTINBAŞ\*, İzzet ÖZTÜRK, Alfons J.M. STAMS

İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

### Özet

*Bütirat, metanojenik şartlar altında organik madde dönüşümünde önemli bir ara ürün olup havasız biyoreaktörlerde metanojenenezin %60'ını kapsayabilen bir maddedir. Organik maddenin ayrışması sırasında oluşan hidrojen ve/veya format, ortamdaki uzaklaştırılmadığı sürece bütiratın ayrışması termodinamik açıdan mümkün değildir. Bütiratın ayrışması hidrojen tüketen organizmalarla yapılan sintrofik etkileşimlere dayalı olup ayrışma mekanizması ile ilgili bilgiler saf kültür çalışmalarıyla sınırlıdır. Bu açıdan bakıldığında, bütirat ayrışmasını yapan sintrofik bakterilerin çeşitliliği ve ekolojisi birçok bilinmeyen özelliği içermektedir. Bu kapsamda yeni bir teknik olan stabil izotop işaretlemesi kullanılarak havasız ortamlardaki bütiratı ayrıştıran aktif mikroorganizmaların kimliği tespit edilmiştir. Sintrofik bütirat ayrıştıran bu aktif türlerin, filogenetik olarak bir gruba ait olmadığı ve 9 farklı filum içerisinde yer aldığı bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada saf kültür tanımlaması yapılmamış türlerin varlığına rastlanmıştır. 16S ribozomal ribo nükleik asit sekans analizleri belirlenen klonların, veri bankalarında yapılan karşılaştırmalı analizinde bakteriyel türlerin çok çeşitli metabolik aktivitelere sahip olabileceklerini ve büyük bir kısmının havasız ortamlardan izole edilmiş klonlara benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Özellikle, Proteobacteria filumunda yer alan klonlara benzerlik gösteren türlerin baskın olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında sintrofik bütirat ayrışmasında başlıca Syntrophus sp. türünün önemli rol aldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, şimdiye kadar kabul gören bütiratı ayrıştıran Syntrophomonas türlerinin ait olduğu Firmicutes'ten farklı olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte sintrofik propiyonat oksitleyen Syntrophobacter türünün de bütirat gideriminde aktif rol oynadığı tespit edilmiştir.*

**Anahtar kelimeler:** Havasız arıtma, moleküler biyolojik teknikler, stabil izotop işaretlemesi.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Mahmut ALTINBAŞ, maltinbas@ins.itu.edu.tr; Tel: (212) 285 65 42.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı'nda tamamlanmış olan "Population dynamics in syntrophic butyrate degrading communities in anaerobic bioreactors" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 29.01.2007 tarihinde dergiye ulaşmış, 08.03.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## Identification of syntrophic butyrate degrading community with stable isotope probing technique in anaerobic bioreactors

### Extended abstract

Anaerobic treatment is presently accepted as a sustainable technology for a wide range of wastewater and waste types; and its applicability is growing each year. An important intermediate of organic matter conversion under methanogenic conditions is butyrate; which may account for up to 60 % of methanogenesis in anaerobic bioreactors. The degradation of butyrate is thermodynamically not favorable unless the  $H_2$  and/or formate can be removed by one of the hydrogen consumers. To proceed this reaction, the hydrogen level should be kept below  $10^{-4}$  to  $10^{-5}$  atm. Butyrate oxidation requires syntrophic interactions between  $\beta$ -oxidizing, hydrogen producing bacteria and hydrogen and/or acetate utilizers. To date, several butyrate as well as some long-chain fatty acids (up to C18) oxidizing bacteria have been isolated in co-culture with hydrogen utilizing partner. This could be either methanogenic or sulfidogenic micro-organisms. The information on the degradation of butyrate is limited to the pure cultures. Diversity and ecology of syntrophic butyrate-degrading bacteria is sharing this unknown characteristic and is waiting to be explored. In this concept, the novel SIP technique was used in this study to identify the key microorganisms of the syntrophic butyrate degrading communities. The SIP incubation with  $^{13}C$  labeled butyrate was carried out on the wild anaerobic granular sludge of Eerbeek paper mill wastewater treatment plant, in the presence of sulfate (3 mM). It is very difficult to assess the best method for observing the most active microorganisms in mixed cultures. In this study, to reveal the genetic diversity of the complex microbial diversity, the conceptual design of the experiments were conducted to mimic in situ conditions to approach more real conditions as much as possible. For example, the  $^{13}C$  labelled butyrate was fed together with the actual wastewater, which was fed to the full scale anaerobic bioreactor. Since the feeding conditions were not changed from the actual situation, the syntrophic butyrate degraders would be selectively separated by the density of the nucleic acids. These results can be assigned directly to natural systems, assuming the same environmental conditions. Subsequently applied Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) profiling method was

also useful for following the changes of the presence of species along the centrifugation gradient, and was also helpful for observing the heavy and light fraction differences. The composition of the bacteria and archaea community in the syntrophic butyrate degradation environment in the full-scale upflow anaerobic sludge blanket reactor of paper mill wastewater was determined by the 16S rRNA phylogenetic analyses of clone libraries derived from RNA extracted from the density resolved gradient of the SIP. Around 120 bacterial and 24 archaeal clones from each heavy and light fraction of the enrichment 16S rRNA gene libraries constructed from the original sludge were analyzed by comparing the DGGE and Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) fragment patterns of the amplified 16S rRNA genes. This diverse active member of the syntrophic butyrate degraders were represented by grouping in 9 different phyla, which showed more diversity than recent studies of the bacteria capable of syntrophic metabolism in terms of both phylogenetics and physiology. This functional group of organisms did not fall into the phylogenetically consistent groups, rather, it spread out into several lineages. In most cases, the closest uncultured relatives have been identified from anaerobic ecosystems. These were the majority of the microbial community associated with deep subsurface aquifer, anaerobic dechlorinating mixed cultures equine fecal contaminated sites and bioreactors. Sequence representatives of several bacterial divisions have been identified in a wide range of habitats, suggesting the sophisticated distribution of the corresponding organisms in the environment and, potentially, their wide metabolic capabilities. The 16S rRNA gene clone library showed that the largest groups of clones belonged to the members of the Proteobacteria, which were not what was expected from the community of syntrophic butyrate degradation that belong to the phyla of Firmicutes. The main possible role of the butyrate degradation was attained to the *Syntrophus* sp., Sequence types associated with the genus *Syntrophus* sp. can produce energy from the anaerobic oxidation of organic acids, with the production of acetate and hydrogen. However, it was also found that the *Syntrophobacter* sp., known as propionate degrader, also played an active role in the butyrate degradation. By using these techniques, potential roles of the strain specific microorganisms involved in the syntrophic butyrate degradation were achieved.

**Keywords:** Anaerobic treatment, molecular biological techniques, stable isotope probing.

## Giriş

Havasız (anaerobik) arıtma günümüzde geniş bir atık ve atıksu türleri yelpazesi için kullanılan, uygulanabilirliği her yıl daha da büyüyen ve kabul gören bir teknolojidir. Atık maddelerin tamamen metana dönüşümü için kompleks mikrobiyal topluluklara ve farklı fizyolojik türlerdeki mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen bir dizi reaksiyona ihtiyaç vardır. Bütirat, metanojenik şartlar altında organik madde dönüşümünde önemli bir ara ürün olup; havasız biyoreaktörlerde metanojenezin % 60'ını kapsayabilen önemli bir maddedir (Fang vd., 1995). Standart şartlar altında bütiratın ayrışması endojeniktir. Organik maddenin ayrışması sırasında oluşan H<sub>2</sub> ve/veya format, hidrojen tüketiciler tarafından ortamdan uzaklaştırılmadığı sürece bütiratın ayrışması termodinamik açıdan mümkün değildir (Schink ve Friedrich, 1994). Bu reaksiyonun gerçekleştirilmesi için hidrojen seviyesinin 10<sup>-4</sup> ile 10<sup>-5</sup> atm in altında tutulması gerekmektedir (McInerney vd., 1981).

Bütiratın ayrışması hidrojen tüketen organizmalarla yapılan sintrofik etkileşimlere dayalı olup; ayrışma mekanizması ile ilgili bilgiler saf kültür çalışmalarıyla sınırlıdır. Bütiratu ve bazı uzun-zincirli yağ asitlerini (C18 e kadar) oksitleyen birçok bakteri hidrojen tüketen bir mikroorganizma ile birlikte izole edilmiştir. *Syntrophomonas wolfei* (alt tür *wolfei*) hidrojen kullanan metanojenik arke veya sülfat indirgeyici bir bakteri ile birlikte izole edilen ilk türdür (McInerney vd., 1981). Daha sonra günümüze kadar *Syntrophosphora bryantii* (Stieb ve Schink, 1985; Zhao vd., 1990), *Syntrophomonas sapovorans* (Roy vd., 1986), *Syntrophus aciditrophicus* (Jackson vd., 1999), *Syntrophomonas TB-6* (Zou vd., 2003), *Syntrophomonas erecta* (Zhang vd., 2005), *Syntrophomonas curvata* (Zhang vd., 2004) ve diğer mezofilik  $\beta$ -oksidasyonu yapan saf kültürü günümüze kadar korunamamış sintrofik mikroorganizmalar da izole edilmiştir (Wu vd., 1992; Zhao vd., 1993).

Ekosistemin çok çeşitli olmasına rağmen izole edilmiş mikroorganizma sayısı çok azdır. Diğer yandan mikroorganizmayı izole etmek, emek ve

zaman isteyen bir çalışma olup; çalışmanın önceden elde edilmiş mikroorganizma ile sonuçlanması çok olası bir durumdur. Bu açıdan bakıldığında, bütirat ayrışmasını yapan sintrofik bakterilerin çeşitliliği ve ekolojisi birçok bilinmeyen özelliği içermektedir.

Günümüze kadar, kompleks ortamlardaki önemli biyodönüşümleri gerçekleştiren mikroorganizmaların kimliğini tespit etmek birçok çalışmanın asıl hedefi olmuştur. Ancak mikroorganizmaların tanımlanmasındaki en kısıtlayıcı adım; uygulanan tekniklerin gerçek ortam şartlarında yürütmedeki yetersizliklerdir. Bununla birlikte, mikrobiyolojik analizlerden elde edilen bilgilerin yorumlanmasında ve gerçek sistemlere uygulanmasında asıl sorun ne ölçüde ekolojik bir bilgiyi bize ulaştırdığıdır. Bu çerçevede, bu çalışmada, yukarıda bahsedilen sorunlara çözüm olarak bütiratu ayrıştıran sintrofik topluluğun tanımlanması için Stabil İzotop İşaretlemesi (Sİİ) tekniği uygulanmıştır. Sİİ tekniği aktif bakteriyel toplulukları belirlemek amacıyla işaretlenmiş substratların inkübasyonu ile uygulanan ve kültür çalışması gerektirmeyen bir tekniktir (Radajewski vd., 2000). Bu teknik ile, izotop (<sup>13</sup>C, <sup>2</sup>H, <sup>15</sup>N) ile işaretlenmiş substratların hücre içine asimilasyonu ve ardından işaretli nükleik asitlerin işaretli olmayan nükleik asitlerden izofinik yoğunluk-gradyan santrifüjü yoluyla ayrılması sağlanmaktadır. Sİİ ile elde edilen işaretli ve işaretli olmayan nükleik asitlerin Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGJE) veya Terminal-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (T-RPUP) gibi yöntemlerle parmakizleri (fingerprints) çıkartılabilmektedir. Ribozomal Ribo Nükleik Asit (rRNA)'in küçük alt birim genleri ise (Lu vd., 2005; Lueders vd., 2004b; Mahmood vd., 2005; Manefield vd., 2002;) ve/veya fonksiyonel genlerinin (Hutchens vd., 2004; Lin vd., 2004; Radajewski vd., 2002) sekans analiziyle karakterize edilebilmektedir. İzotopun mikroorganizmaların bütün genlerine ideal bir biçimde işlenmesi tüm aktif mikroorganizmaların tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Böylece bu teknik organizmanın kimliğini ve fonksiyonunu eşleştirmede kullanılan diğer metotlara göre daha avantajlı hale gelmektedir. Bu teknik nükleik asitlerin

ağır ( $^{13}\text{C}$ ) ve hafif ( $^{12}\text{C}$ ) kısımlarını ayırmada çok hassas sonuçlar vermektedir. Ayırma işlemi ultrasantrifüj kullanarak  $^{13}\text{C}$  ile  $^{12}\text{C}$  arasındaki kütle farkına dayalı olarak yapılmaktadır. Tekniğin güvenilirliği açısından, bu ayırma işleminde ağır gradyan fraksiyonu sadece  $^{13}\text{C}$  nükleik asitleri içermelidir. Daha düşük santrifüj hızı (140 000 g) ve daha uzun santrifüj zamanında (69 saat) ağır ve hafif kesitler verimli bir şekilde ayrılabilir (Hutchens vd., 2004). Öte yandan, hafif ve ağır kesitlerin ayrılma verimini organizmanın nükleik asitteki G+C içeriği gibi başka faktörler de etkilemektedir. İçinde yüksek oranda G+C bulunan organizmanın kütlesi artacağından organizma  $^{13}\text{C}$  işaretli nükleik asitin kütlesine yaklaşarak gradyanın ağır tarafına doğru hareket edebilmektedir (Lueders vd., 2004a). Gradyanın ağır olan kesiti değerlendirirken bu olasılık dikkate alınmalıdır.

Bu çalışmanın amacı, havasız biyoreaktörde bütiratın ayrışmasından sorumlu anahtar mikroorganizmaların kimliğini tespit etmektir. Bu kapsamda Eerbeek Kağıt Fabrikası (Hollanda)'nın atıksu arıtma tesisine ait havasız granüler çamur kullanılmıştır. Söz konusu çamurun  $^{13}\text{C}$  işaretli bütirat ile inkübasyonu yapılmıştır. Atıksu içerisindeki mevcut sülfatın metanojenik mikrobiyal topluluğa olan etkisi de Sİİ inkübasyonuna sülfat eklenmesi ile incelenmiştir.  $^{13}\text{C}$  işaretli bütirat ve sülfat inkübasyonunda, 5., 20., 30. ve 40. günlerde Sİİ analizi için örnekler alınarak en uygun inkübasyon süresi parmak izi profillerine göre belirlenmiştir. Sonrasında ise klonlama ve sekans analizleri ile aktif mikroorganizmalar tanımlanmıştır.

## Materyal ve yöntem

### Aşı

Bu çalışmada kullanılan granüler yapıdaki aşı Eerbeek Kağıt Endüstrisi atıksuyunu arıtan Havasız Çamur Yataklı (HÇY) reaktörden alınmıştır (Paques Environmental Technology, BV, Balk, Hollanda). Bu reaktörde ~%70-80 KOİ giderimi ile birlikte metanojenik aktivite ve sülfat indirgenmesi gözlenmiştir. Reaktörde oluşan gazda %80  $\text{CH}_4$ , %19  $\text{CO}_2$  ve %1  $\text{H}_2\text{S}$  tespit edilmiştir. Reaktöre beslenen atıksuyun KOİ/ $\text{SO}_4^{2-}$  oranı ~9.5-10 olup; toplam KOİ'si 1700 mg/L'dir.

### İnkübasyon

500  $\mu\text{L}$  aşı, makro ve mikro besin maddelerini içeren 15 mL'lik sıvı hacime sahip 35 mL'lik serum şişelerine transfer edilmiştir (Plugge, 2005). Makro besin madde miktarları reaktörün içerisinde (mg/L);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 408;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 534;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ : 360;  $\text{NaCl}$ : 360;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 120;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 132;  $\text{NaHCO}_3$ : 4 000, mikro besin madde miktarları ise;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ : 0.062;  $\text{MnCl}_2$ : 0.061;  $\text{FeCl}_2$ : 0.944;  $\text{CoCl}_2$ : 0.065;  $\text{NiCl}_2$ : 0.013;  $\text{ZnCl}_2$ : 0.068;  $\text{CuCl}_2$ : 0.05;  $\text{AlCl}_3$ : 0.05;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ : 0.05;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ : 0.017;  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ : 0.029;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ : 0.021 olacak şekilde hazırlanmıştır. Serum şişeleri bütiril tapa ile kapatılıp alüminyum kapaklar ile tapa sabitlenmiştir.  $^{13}\text{C}$ -Bütirat (Sigma-Aldrich, İngiltere), inkübasyon başına 200  $\mu\text{mol}$  olacak şekilde ilave edilmiştir. Daha önce yapılmış çamur aktivite testlerine bağlı kalınarak substrat tamamen tükenmeden hemen önce serum şişelerine  $^{13}\text{C}$ -Bütirat ilavesi yapılmıştır. Toplam dört farklı inkübasyon süresi seçilmiş ve her bir süre için farklı şişede inkübasyon tamamlanmıştır. İnkübasyon sonrası serum şişelerinden alınan 1 mL'lik gaz numunelerde metan konsantrasyonu belirlenmiştir. Metan, Packard-Becker 417 model gaz kromatograf (Chrompack B.V., Middelburg, Hollanda) De Bok ve diğerlerinin (2002) kullandığı yöntemle ölçülmüştür. Serum şişelerinden alınan 1 mL hacmindeki sıvı numuneler ise 10 dakika ve 14 000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst fazdan alınan numunelerde sülfür, bütirat ve asetik asit konsantrasyonları belirlenmiştir. Sülfür, Truper ve Schlegel (1964)'de belirtildiği gibi ölçülmüştür. Bütirat ve asetat konsantrasyonları ise Stams ve diğerleri (1993) tarafından belirtilen yöntemle göre LKB model yüksek performanslı likit kromatograf (Chrompack B.V., Middelburg, Hollanda)ta ölçülmüştür. Serum şişelerinde kalan numuneler ise santrifüj (10 dakika ve 14000 rpm) edildikten sonra üst fazı atılmış ve  $-20^\circ\text{C}$ 'de RNAlater® (Ambion Inc., Austin, Amerika) içerisinde üretici firmanın önerdiği şekilde saklanmıştır.

### Nükleik asit ekstraksiyonu

Çamurdan RNA ekstraksiyonu TRIZOL® ile yapılmıştır (Invitrogen, Breda, Hollanda). Yaklaşık 25 mg çamur, 500 mg zirkonyum boncuk-

ları ve 1.5 ml TRIZOL<sup>®</sup> içeren 2-mL'lik tüplere transfer edilmiştir. Granüler çamur boncuklu dövücüde (45 s, 6.5 m/s) parçalandıktan sonra 18 000 g'de 5 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Sonrasında sıvı fazdaki RNA kloroform kullanılarak saflaştırılmıştır. Son olarak RNA 2-propanol kullanılarak çöktürülmüş ve 100 µl EB tamponu (EB, 10 mM Tris-HCl, pH 8.5) kullanılarak tekrar sıvı faza geçirilmiştir. RNA Easy Kit (Qiagen, Hamburg, Almanya) kullanılarak RNA saflaştırmasına devam edilmiştir. Elde edilen RNA ürünü rutin olarak agaroz jelde kontrol edilmiştir. NanoDrop ND1000 Spectrophotometer (Intas, Göttingen, Almanya) kullanılarak miktarlar belirlenmiştir.

### Santrifüjleme

Yoğunluk gradyan santrifüjü 11 mL'lik ultrasantrifüj tüpleri (Polyallomer, Sorvall, Minnesota, Amerika), Kontron TVF 65.13 düşey rotora sahip Centrikon T-1065 santrifüjü (Kontron Instruments, Bletchley, İngiltere) ile gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi 20°C'de 65 saat ve 37 000 rpm'de (130 000 g<sub>av</sub>) sezyum trifloroasetat (CsTFA) gradyanında yapılmıştır. rRNA, ortalama yoğunluğu 1.795 g/mL olan CsTFA gradyanında ayrılmıştır. Çözeltiler; 2 g/mL CsTFA stok çözelti (Amersham, Roosendaal, Hollanda), gradyan tamponu (0.1 M Tris-HCl, pH 8; 0.1 M KCl; 1 mM EDTA) ve rRNA (1000 ng)'nın son hacim 11 mL olacak şekilde karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Buna ilave olarak, RNA'nın stabilitesi için 350 µL formamit eklenmiştir.

### Gradyanın fraksiyonlarına ayrılması

Santrifüj sonrası gradyan, tüpün alt tarafından başlayarak yukarı doğru peristaltik pompa (Watson Marlow, Rotterdam, Hollanda) kullanılarak 11 eşit hacimde fraksiyonlarına ayrılmıştır. Her bir fraksiyonun yoğunluğu, 75µL'lik numunelerin tartılmasıyla belirlenmiştir. CsTFA gradyan fraksiyonlarındaki nükleik asitler 1:1 hacimde iso-propanol eklenerek çöktürülmüştür. Çökelekler %70'lik etanol ile bir kere yıkanıp 30 µL'lik temizleme tamponu (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) içerisinde sıvı faza geçirilmiştir. Toplam rRNA miktarları, RiboGreen<sup>®</sup> RNA Quantitation Kiti (Molecular

Probes, Leiden, Hollanda) kullanılarak belirlenmiştir.

### Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) sentezi

16S rRNA'yı tamamlayıcı tek zincirli DNA, SuperScript<sup>™</sup> III RNase H<sup>+</sup> Reverse Transcriptase (Invitrogen, Breda, Hollanda) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre sentezlenmiştir. Ters Transkriptaz - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) analizleri için hazırlanan 13 µL'lik reaksiyon karışımı, 10 ng toplam RNA, 10 pmol tüm organizmaları kapsayan ters primer 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (Lane, 1991), 10 pmol dNTP karışımı ve steril RNaz-içermeyen su (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) ihtiva etmektedir. 16S rRNA'nın ikincil yapısını bozmak için karışım 65°C'de 5 dakika, hemen arkasından buz üzerinde 1 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasında cDNA sentezi için 13 µL'lik reaksiyon karışımına 4 µL 5× Tekil zincir tamponu, 1 µL 0.1 M DTT, 1 µL (40 birim) RNaseOUT<sup>™</sup> RNase inhibitörü (Invitrogen, Breda, Hollanda), 1 µl (200 birim) Superscript III<sup>™</sup> RT eklenmiştir. Bu karışım 50°C'de 1 saat, arkasından reaksiyonu durdurmak için 15 dakika 70°C'de inkübe edilmiştir. cDNA'yi tamamlayıcı kısım olan RNA'yı gidermek için ise, reaksiyon karışımı RNase H (2 birim) ile 37°C'de 20 dakika inkübe edilmiştir.

### Amplifikasyon

cDNA çözeltisinden 2 µL'lik kısım, bakteri ve arke PCR amplifikasyonu için kullanılmıştır. PCR 50 µL'lik reaksiyon karışımlarında *Taq* DNA polimerazı (Invitrogen, Breda, Hollanda) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon işlemi Roest ve diğerleri (2005) tarafından yürütülen çalışmada belirtildiği gibi yapılmıştır. Çoğaltma işlemi Biometra Thermocyclers (Goettingen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm primerler MWG-Biotech (Ebersberg, Almanya) firmasından sağlanmıştır. Oluşan ürünün boyutu ve kalitesi % 1 (a/v)'lik agaroz jel ile elektroforez yapılarak belirlenmiştir.

### Klonlama ve sekans analizi

PCR'de çoğaltılan bakteri ve arke ürünleri (~400 baz çifti) üretici firmanın talimatnamesine göre QIAquick PCR kiti (Qiagen, Hilden

Almanya) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PCR ürünlerinin miktar ve kalitesi % 1 (a/v)'lik agaroz jel ile elektroforezde DNA işaretleyici (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Vilnius, Litvanya) ile birlikte elektroforezi yapılarak belirlenmiştir. Sonrasında ürünler pGEM®-T Easy Vector System I (Promega, Madison, Amerika) kullanılarak vektöre bağlanmış ve arkasından XL1-Blue Compotent Cells (Stratagene, Amerika) hücrelerine üretici firmanın talimatnamesine göre klonlanmıştır. Klonlar amfisilin ve mavi-beyaz renk ayırımına dayanan yöntem ile 20 µl TE tampon çözeltisine aktarılarak 95°C'de 10 dakika inkübe edilmiş ve hücreler parçalanarak DNA sıvı faza geçirilmiştir. DNA pGEM®-T spesifik PG1 (5'-TGGCGGCCGCGGGAA-3') ve PG2 (5'-GGCCGCGAATTCAGTAGTG-3') primerleri ile çoğaltılmış ve ürünlerin *Alu* I, *Cfo* I, ve *Msp* I (Promega, Madison, Amerika) restriksiyon enzim karışımı kullanılarak 37°C'de 90 dakika süreli inkübasyonu sonucunda fraksiyonlarına ayrılmıştır. Enzim reaksiyonu ile kısa zincirlerine ayrılmış klonları birbirinden ayırmak için Elchrom Submerged Gel Electrophoresis System (Elchrom, Cham, İsviçre) kullanılarak RPUP analizi yapılmıştır. Ürünler bu elektroforezde % 12 (a/v)'lik hazır agaroz jellerde DNA işaretleyici (GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) kullanılarak 100 V, 55 °C'de 45 dakika süre ile koşurulmuştur. Sonrasında DNA etidyum bromit ile boyanarak UV ışığı altında görüntülenmiştir. Farklı profile sahip klonlar DGJE ve sekans analizleri için seçilmiştir. DNA; QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan klonların sekans analizleri vektör üzerinde yer alan dizinlere uygun T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGG G-3') ve Sp6 (5'-GATTTAGGTGACACTATA G-3') (Promega, Madison, Amerika) primerleri kullanılarak yapılmıştır. İki yönlü yapılan sekans analizleri DNA STAR, Seqman II program (expert sequence analysis software) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sekans analizlerin veri bankalarındaki homoloji araştırması BLAST (Altschul vd., 1997), dizinleme çalışmaları ise Clustal X (Chenna vd., 2003) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm se-

kans dizinleri CHIMERA\_CHECK programı sürüm 2.7, Ribosomal Database Project II (RDP II) (Maidak vd., 2001) ile hatalı (chimeric) genlerin olup olmadığı kontrol edilmiştir.

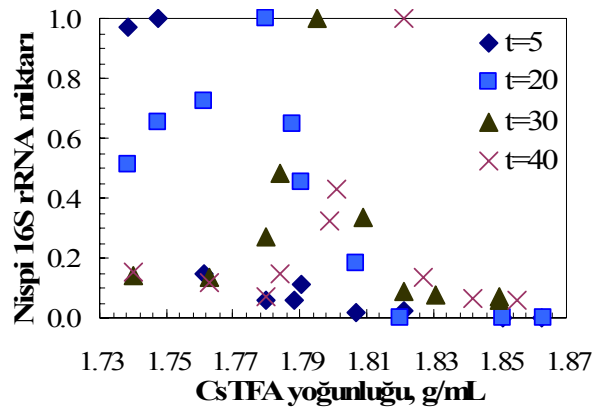
## DGJE

Bakteri ve arke için GC ekli PCR ürünleri DCode™ System cihazında, (BioRad, Hercules, Amerika) üre ve formamit içeren % 8 poliakrilamit (37.5:1 akrilamit-bisakrilamit) jelde koşurulmuştur. Koşurulma ve jelin boyanması Roest ve diğerlerinde (2005) belirtildiği gibi yapılmıştır.

## Deneysel çalışma sonuçları

### Santrifüj gradyanlarında SSU rRNA dağılımı

5, 20, 30 ve 40 günlük inkübasyon sürelerinin ardından ekstrakte edilen rRNA örnekleri, işaretli nükleik asitleri işaretli nükleik asitlerden ayırmak için CsTFA kullanılarak izofinik yoğunluk-gradyanı santrifüjüne tabii tutulmuştur. CsTFA ile santrifüjün ardından 10 ayrı tüpe bölünen rRNA örneklerinin yoğunluğu belirlenerek; elde edilen sonuçlar bir grafik üzerinde işaretlenmiş ve daha sonraki klonlama ve sekans işlemleri için hafif ve ağır fraksiyonlar değerlendirilmiştir. [<sup>13</sup>C] bütirat ve 3 mM sülfat karışımı ile 5, 20, 30, ve 40 günlük inkübasyonu sonunda çamurdan ekstrakte edilen rRNA'ların CsTFA yoğunluk gradyanı santrifüj sonuçları Şekil 1'de gösterilmektedir. Gradyanın ağır ve hafif bölümleri arasındaki belirgin farklılık bu şekilden gözlenmektedir.

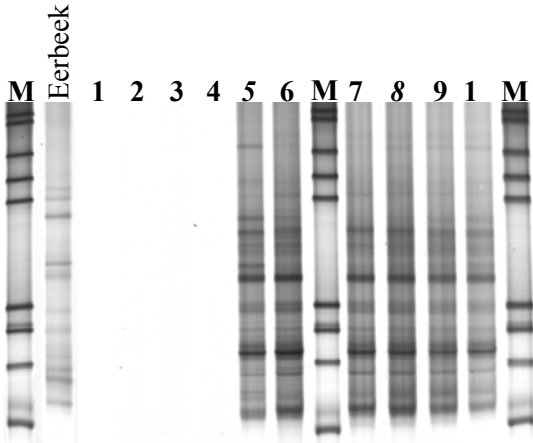


Şekil 1. Çamurdan ekstrakte edilen rRNA'ların CsTFA yoğunluk gradyanı santrifüj sonuçları



40 günlük inkübasyonun “zaman serileri” ağır ve hafif fraksiyonlar arasındaki belirgin farkı ortaya koymaktadır. Genellikle, işaretli nükleik asit içermeyen hafif fraksiyon CsTFA sonuçlarında 1.79 g/mL’den daha az bir yoğunluk değeri gözlenmiştir (Lueders vd., 2004a). 40 günlük inkübasyon süreci sonrasında, ağır fraksiyonun yoğunluğu CsTFA’da ağır kısımlar için saptanan kritik değer üzerinde olan 1.82 g/mL değerine ulaşmıştır.

Fraksiyonlar arasındaki popülasyon değişimlerini gözlemlemek için, 40 gün [<sup>13</sup>C] bütirat ve 3 mM sülfat karışımı ile inkübasyona tabi tutulan çamurun, santrifüj gradyanlarının her bölümü DGJE parmakizi profilleri ile analiz edilmiştir (Şekil 2, 1-10 arası profiller, gradyanın ağırdan hafife giden fraksiyonlarına karşılık gelmektedir). DGJE profilinde görüldüğü gibi, 40 gün inkübasyona tabi tutulan çamurun fraksiyonları arasında çok az bir değişim olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2. PCR ile çoğaltılan 16S rRNA'ların bakteriyel DGJE profilleri

DGJE profilindeki farklılıklar her bir fraksiyondaki bantların zayıflık ve kalınlıklarına bakılarak belirlenmiştir. Şekil 2’de, 5 numaralı fraksiyonda bantların kalınlığı göze çarparken, 8 numaralı fraksiyonda bu bantların zayıfladığı görülmüştür. Bu nedenle, DGJE jelinde 5 numara ile gösterilen fraksiyon, ağır kısım olarak kabul edilmiş ve bu kısımdaki mikroorganizma topluluğu filogenetik karakterizasyonda ele alınmıştır. Bu kriterler göz önünde bulundurularak, 8 numaralı fraksiyon da hafif olan kısım olarak ele alınmıştır.

### Yoğunluğuna göre ayrılmış nükleik asitlerinin DGJE profilleri ve sekans analizleri

Çamurun incelenmesi için toplam 230 adet 16S rRNA bakteriyel gen klonu (116 hafif ve 114 ağır) analiz edilmiştir. 16S rRNA genlerinin RPUP analiz sonuçları 40 değişik grupta toplanmıştır. Analiz sonuçlarının veri bankasında karşılaştırılması sonucunda söz konusu 16S rRNA genlerinin 12 temel bakteriyel filum ile bağlantılı olduğunu tespit edilmiştir (Altschul vd., 1997). Tablo 1’de toplu halde verilen bu türler;  $\delta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ - *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Nitrospirae* ve *Chlorobi* olarak belirlenmiştir.

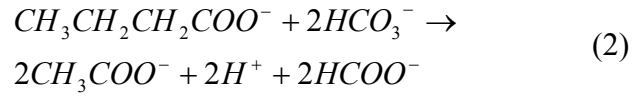
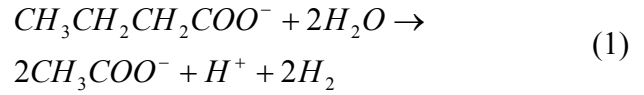
Tablo 1. Sintrofik bütirat ayrıştıran topluluğun filogenetik tanımlaması ve türlerin yüzde dağılımı

Taksonomik Sınıflandırma	Klonların dağılımı	
	Ağır	Hafif
<b>Deltaproteobacteria</b>	50 (43.1)	39 (%34.2)
<i>Syntrophobacter</i> sp.	4	14
<i>Desulfovibrio</i> sp.	20	13
<i>Desulforegula conservatrix</i>	1	-
<i>Desulfobacterium cetonicum</i>	-	3
<i>Desulfacinum</i> sp.	1	-
<i>Desulfomonile limimaris</i>	-	1
<i>Syntrophus</i> sp.	6	5
<i>Bacteriovorax</i> sp.	11	-
<i>Thermodesulforhabdus norvegicus</i>	3	-
Diğerleri	4	3
<b>Gammaproteobacteria</b>	6 (%5.2)	1 (%0.9)
<b>Betaproteobacteria</b>	1 (%0.9)	2 (%1.8)
<b>Alphaproteobacteria</b>	-	1 (%0.9)
<b>Firmicutes</b>	8 (%6.9)	8 (%7)
<i>Syntrophomonas</i> sp.	2	-
<i>Thermoanaerobacter</i> sp.	2	4
Diğerleri	4	4
<b>Chloroflexi</b>	23 (%19.8)	54 (%47.4)
<i>Anaerolinea thermophila</i>	13	49
<i>Caldilinea aerophila</i>	5	2
<i>Dehalococcoides</i> sp.	5	3
<b>Bacteroidetes</b>	19 (%16.4)	2 (%1.8)
<b>Verrucomicrobia</b>	-	1 (%0.9)
<b>Acidobacteria</b>	2 (%1.7)	1 (%0.9)
<b>Actinobacteria</b>	2 (%1.7)	-
<b>Nitrospirae</b>	-	3 (%2.6)
<b>Chlorobi</b>	5 (%4.3)	2 (%1.8)

Yoğunluğuna göre ayrılmış nükleik asitlerin ağır olan kısmı göz önüne alındığında klonlar 9 ana grupta toplanmıştır. Bu gruplar;  $\delta$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -*Proteobacteria* (sırasıyla %43.1, %0.9, ve %5.2), *Chloroflexi* (%16.4), *Firmicutes* (%6.9), *Bacteroidetes* (%16.4), *Acidobacteria* (%1.7), *Actinobacteria* (%1.7), *Chlorobi* (%0.9)'dir. Diğer yandan, hafif olan fraksiyonun klonları 11 ana grupta toplanmıştır. Bu gruplar;  $\delta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -*Proteobacteria* (sırasıyla %34.2, %0.9, %1.8 ve %0.9), *Chloroflexi* (%47.4), *Firmicutes* (%7), *Verrucomicrobia* (%0.9), *Bacteroidetes* (%1.8), *Acidobacteria* (%0.9) *Nitrospirae* (%2.6), *Chlorobi* (%1.8)'dir.

Bütiratu ayrıştıran aktif mikrobiyal topluluğun önemli bir bölümünün sülfat indirgeyen bakteriler (SRB) olarak gruplandırılan *Desulfovibrio* türleriyle yakından ilgili olduğu belirlenmiştir. Bu SRB popülasyonunun varlığı, bu popülasyonun hidrojen ve/veya format tüketen metanojenler ile iş birliği içinde proton indirgeyici olarak görev aldığını göstermektedir. Bütiratu ayrıştıran topluluğun yapısı fizyolojik açıdan incelendiğinde, SRB ve metanojenlerin varlığı daha net bir şekilde açıklanabilmektedir.

Teorik olarak 1 mol bütiratın havasız ortamda ayrışması ile açığa çıkan proton indirgeyici, 2 mol  $H_2$  (Eşitlik 1) veya 2 mol formata (Eşitlik 2) eşdeğerdir. Bu çalışmada yapılan inkübasyonda verilen bütirat miktarının 18 mol olması ile 36 mol  $H_2$  açığa çıkmaktadır. Termodinamik açıdan SRB'nin metanojene göre daha üstün olmasından dolayı açığa çıkan  $H_2$  ilk önce SRB tarafından kullanılacaktır. Ancak ortamda bulunan 3 mol sülfat, mevcut bütiratın proton eşdeğerinden düşüktür. Çünkü 1 mol sülfatın indirgenmesi için 4 mol hidrojen gerekmektedir (Eşitlik 3). Bu nedenle bütiratın ayrışmasından açığa çıkan 36 mol  $H_2$ 'in sadece 12 mol'lük kısmını SRB'nin kullanabildiği görülmektedir. Sonuç olarak, bütün sülfatın indirgenmesi için hidrojenin bir kısmı yeterli olduğu düşünülürse, metanojen tarafından indirgenmek üzere ortamda 24 mol  $H_2$  kalmaktadır. SRB'lerin oksitleyebileceği hidrojen miktarından daha fazla hidrojenin ortamda bulunmasından dolayı hidrojen kullanan metanojenler bütiratu ayrıştıran karışık kültürde tespit edilmiştir.



*Syntrophobacter* sp. (propiyonat oksitleyici bakteri) türü, gradyanın hafif fraksiyonunda 14 klon (%12.3), ağır fraksiyonda ise 4 klon (%3.5) gibi düşük bir oranda saptanmıştır. Klonların bu dağılımı propiyonat oksitleyici bakterilerin bütirat ayrışmasında rol aldığını fakat etkinliğinin az olduğunu göstermektedir. SRB'nin ağır fraksiyondaki azınlık grupları, *Desulforegula conservatrix* ve *Desulfacinum* sp. olarak ve hafif fraksiyondaki azınlık gruplar ise; *Desulfomonile limimaris* ve *Desulfobacterium ceticum* olarak tespit edilmiştir.

16S rRNA gen bankası, klonların büyük bir kısmının *Proteobacteria* grubunun üyesi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunun yanında bütirat gideriminde başlıca *Syntrophus* sp. türünün görev aldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, şimdiye kadar kabul gören bütiratu ayrıştıran *Syntrophomonas* türlerinin ait olduğu *Firmicutes*'ten farklı olduğunu göstermiştir. Sekans analizi *Syntrophus* sp. geni ile benzerlik gösteren türler, organik asitlerin havasız oksidasyonu sonucunda asetat ve hidrojen gibi ara ürünler üretmektedir. Bununla birlikte sintrofik propiyonat oksitleyen *Syntrophobacter* türünün de bütirat gideriminde aktif rol oynadığı tespit edilmiştir.

Birçok yağ asidi kullanan bakterilerin; saf kültür içerisinde homoasetojen, sülfat indirgeyici veya fermentasyon ile çoğaldığı bilinmektedir (Beaty ve McInerney, 1987; Chen vd., 2005; Stams vd., 1993). Yağ asidi kullanarak çoğalan organizmaların bu özelliklerini, ortamın enerji seviyesine bağlı olarak, karışık kültürde de göstermesi mümkün olabilmektedir. Buna benzer olarak sintrofik bakterilerde, *Syntrophomonas wolfei* türünün krotonatı indirgemesi (Wallrabenstein ve Schink, 1994) gibi organizmaların ara ürün-

leri indirgenmesi ve elektron transfer zinciri ile ortaya çıkan enerjinin korunması söz konusu olabilmektedir. Sitokromların *Syntrophomonas wolfei* içinde bulunması bu mikroorganizmanın bir elektron transfer zincirine sahip olabileceğini de işaret etmektedir (McInerney ve Wofford, 1992).

Filogenetik gruplar içerisinde en çok bulunan ikinci türün (bütün rRNA gen klonlarının % 16.4'ü) ise *Chloroflexi* grubuna ait, hidrokarbonları ayrıştıran toplulukta bulunan klonlarla ilgili olduğu bulunmuştur. Ancak, *Chloroflexi* grubuna ait bakterilerin, gradyanın hafif kısmında artarak topluluğun % 47'sini oluşturduğu saptanmıştır. Değerlendirme yapılırken *Chloroflexi* grubunun birçok bilinmeyen tür içerdiği ve temsil edici türlerin azlığı göz önüne alınmalıdır. Bu yüzden, veri bankasından karşılaştırılarak belirlenen ve değerlendirilen organizmalar yanlış sonuçlara varılmasına neden olabilmektedir.

Gradyanın ağır kısmında % 16.4'lük oranda *Taxeobacter* sp., *Reichenbachia agariperforan*, *Rhodothermus marinus*, ve *Saprosira* türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu türler *Bacteroidetes* filumuna ait olup sakkarolitik özelliğe sahip bu türlerin sintrofik bir ortamda bulunması şüphe oluşturmaktadır.

*Chlorobium* filumuna ait olan klon, kağıt fabrikası atıksuları arıtma tesisinden ekstrakte edilen 16S rRNA'sına düşük bir oranda benzerlik göstermiştir (<93). Aynı zamanda bu klonların, petrol rafinerileri, diğer yüzey altı yaşam alanları ve hidrokarbon ile kirlenmiş alanlardan izole edilmiş *Chlorobium* sp türlerinin 16S rDNA dizinlerine olan benzerliği de oldukça düşüktür (Heising vd., 1999).

Ağız bölgesinden izole edilmiş sakkarolitik olmayan *Eubacterium brachy* (Cheeseman vd., 1996), ağır fraksiyonda tespit edilen diğer bir klondur. Bu türe, aynı çamur üzerinde yürütülen asetat, propiyonat ve bütirat karışımından oluşan ve 25°C ve 37°C'de inkübasyonu yapılan bir başka kültür çalışmasında da rastlanmıştır (Altınbaş, 2007). Bu türler sülfat indirgeyen mikrobiyal toplulukta homoasetojenik bakteri gibi çalışarak aktivitelerini sürdürebilmektedir.

Homoasetojenik bakteriler; hidrojenin karbon-dioksit ile reaksiyona girerek asetat oluşturması için ortam hazırlama özelliğine sahip olan gruptur.

Deniz dibinde biriken sedimentte ve kağıt fabrikası çıkış suyu arıtma tesisinde tespit edilen 7 klon sekansının; *Proteobacteria* olmayan *Chloroflexi*, ve *Bacteroidetes* filumundan *Chlorobi*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, ve sınıflandırılmamış OP8 grubunda bulunan bakterilere ait olduğu belirlenmiştir. Tanımlanmış türlerle benzerliği düşük olan *Acidobacteria/Holophaga* grubu klonlar, hava numunesinden ve derin yeraltı suyu 0.2 mikrometre'lik por çapına sahip filtreden geçen mikroorganizmalardan izole edilmişlerdir.

Gradyanın ağır kısmından elde edilen klonların izole edildikleri yaşam alanları ve klonların topluluk içerisindeki yüzdeleri Tablo 2'de verilmektedir.

Tablo 2. Gradyanın ağır fraksiyonunda bulunan türlerin yaşam alanlarına bağlı klon yüzde dağılımları (Altschul vd., 1997)

Yaşam Alanı	Oran (%)
Derin yüzey altı akiferi	17.1
2-dikloropropan ayrıştıran havasız reaktör	16.2
Ahr atığıyla kirlenmiş bölge	10.8
Yüzey altı toprak	6.3
Pirinç tarlaları	6.3
Kağıt fabrikası, havasız reaktör	4.5
Yağ asitlerini ayrıştıran havasız reaktör	3.6
Asetat indirgeyen metanojik topluluk	3.6
Asidik sedimentler	2.7
2,3,4,5-klorobifenil ayrıştıran sediment	2.7
Havasız domuz lagünleri	2.7
Proteini ayrıştıran havasız reaktör	2.7
Metan hidrat ile ilişkili deniz dibi sedimenti	2.7
Hidrotermal menfez	1.8
Amonyak oksidasyonu gözlenen anoksik deniz sedimenti	1.8

İzole edilen filototipler içerisinde varlığı sadece birer kez belirlenen klon türleri ise, hidrokarbon ve klorürlü çözelti ile kirlenmiş akifer, pilot ölçekli perklorat indirgeyici biyoreaktör, 4-

metilbenzoatı ayrıştıran metanojenik topluluk, trikloroetanla kirlenmiş derin akifer, dolgu alanı süzüntüleriyle kirlenmiş akifer, peyniraltı atıklarının psikofilik sıcaklıkta havasız biyoreaktörde arıtılan çamur, amonyak nişastası üretim atıklarının arıtılan granüler çamur, soda gölü, hava numuneleri ve derin yeraltı sularında yaşayan mikroorganizmalardır. Özetle, bütün klonlar farklı çoğunlukla havasız yaşam ortamlarından elde edilmiştir.

Sülfat indirgeyici bakteriler; başta delta-*Proteobacteria* olmak üzere, birçok taxonomic gruptan oluşmakla beraber bazı üyeler *Nitrospira* türüne aittir. Ancak, bu filum içinde bulunan klonlar hafif fraksiyonda gözlemlendiği için bu türlerin sintrofik bütirat giderilmesinde görev almadığı söylenebilir.

#### Arke nükleik asitlerin sekans analizleri

Arkeler *Euryarchaeota* filumu içinde yer alan 3 farklı tür ile temsil edilmiştir. Bu 3 arke türü; *Methanobacterium formicicum* (Bryant ve Boone, 1987), *Methanobacterium beijingense*, ve *Methanosaeta concilii* olarak tanımlanmaktadır. Bu türler hidrojen ya da format kullanan metanojenler (*M. Beijingense* ve *M. formicicum*) ve asetat kullanan metanojenler (*M. Concilii*) olmak üzere 2 fonksiyonel gruba ayrılmaktadır. Hidrojen kullanan metanojenler % 62.5 oranında iken, asetat kullanan metanojenler tüm klonların geri kalan kısmını oluşturmaktadır.

#### Sonuçlar

Kağıt fabrikası atıksu arıtma tesisine ait tam ölçekli HÇY reaktöründe, sintrofik bütirat gideren ortamda bulunan bakteri ve arke topluluklarının kompozisyonu; Sİİ yoğunluk gradyanından ayrılan ağır ve hafif fraksiyonlarından 16S rRNA sekans analizi yapılarak tespit edilmiştir. Sintrofik bütirat gideren bu aktif türler, 9 farklı filum içerisinde yer almaktadır. Bu daha önce, sintrofik metabolik aktiviteye sahip bakterilerle yapılan filogenetik ve fiziksel özellik çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre daha fazla çeşitlilik olduğunu göstermektedir.

Farklı besin grubuna ait mikroorganizmaların mevcut olduğu ortamda işaretlenmiş substratı

kullanan topluluğun yapısı tanımlanırken bunun dışındaki mikroorganizmalara da besin zinciri ile bulaşması Sİİ tekniğinde problem teşkil etmektedir. İşaretlenmiş substratın kullanılmasının ardından, organizma işaretlenmiş ara ürün üretmekte ve bu ara ürün diğer besin grupları tarafından kullanılabilir. Bu özellik birçok çalışmada Sİİ tekniğinin dezavantajı olarak ifade edilirken; bu çalışmada tekniğin önemli üstün bir özelliği olarak kullanılmıştır. Bütiratı ayrıştıran bakterilerin oluşturduğu ürünler metanojenik arkeler tarafından kullanılmaktadır. Böyle bir besin zincirinin olması ile bütiratı ayrıştıran aktif bakteri ve arke türleri tanımlanabilmiştir.

Mikrobiyal topluluğun yapısını ve fonksiyonunu eşleştiren Sİİ tekniği; farklı mikrobiyal toplulukların özelliklerini açıklamak amacıyla tek başına ya da tamamlayıcı olarak kullanılabilen güçlü bir tekniktir. Bu yöntem doğal ortamlarında sintrofik bütirat ayrıştıran mikroorganizmalarla ilgili etkili bir bakış açısı sağlamıştır. Bununla birlikte, aktif popülasyonda yer alan türlerin metabolik özelliklerini belirlemek amacıyla yapılacak saf kültür çalışmalarında da kullanılacak bilgiler bu teknik ile ortaya çıkarılmıştır.

#### Kaynaklar

- Altınbaş, M., (2007). Population dynamics in butyrate degrading communities in anaerobic bioreactors, *Doktora tezi*, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Altschul, S.F., Stephen, F., Thomas, L., Madden, L., Alejandro, A., Schaffer, A., Zang, J., Zhang, Z., Miller, W. ve Lipman, D.J., (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic Acids Research*, **25**, 17, 3389-3402.
- Beatty, P.S. ve McInerney, M.J., (1987). Growth of *Syntrophomonas wolfei* in pure culture on crotonate, *Archives of Microbiology*, **147**, 4, 389-393.
- Bryant, M.P. ve Boone, D.R., (1987). Isolation and characterization of *Methanobacterium formicicum* MF, *International Journal of Systematic Bacteriology*, **37**, 2, 171-173.
- Cheeseman, S.L., Hiom, S.J., Weightman, A.J. ve Wade, W.G., (1996). Phylogeny of oral asaccharolytic Eubacterium species determined by 16S Ribosomal DNA sequence comparison and proposal of *Eubacterium infirmum* sp. nov. and

- Eubacterium tardum* sp. nov., *International Journal of Systematic Bacteriology*, **46**, 4, 957-959.
- Chen, S., Liu, X. ve Dong, X., (2005). Syntrophobacter sulfatireducens sp. nov., a novel syntrophic, propionate-oxidizing bacterium isolated from UASB reactors, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**, 3, 1319-1324.
- Chenna, R., Sugawara, H., Koike, T., Lopez, R., Gibson, T.J., Higgins, D.G. ve Thompson, J.D., (2003). Multiple sequence alignment with the clustal series of programs, *Nucleic Acids Research*, **31**, 13, 3497-3500.
- De Bok, F.A.M., Luijten, M.L.G.C. and Stams, A.J.M., (2002). Biochemical evidence for formate transfer in syntrophic propionate-oxidizing cocultures of Syntrophobacter *fumaroxidans* and *Methanospirillum hungatei*, *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 9 4247-4252.
- Fang, H.H.P., Chui, H.K. ve Li, Y.Y., (1995). Anaerobic degradation of butyrate in a UASB reactor, *Bioresource Technology*, **51**, 1, 75-81.
- Heising, S., Richter, L., Ludwig, W. ve Schink, B., (1999). *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov., a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a "*Geospirillum*" sp. strain, *Archives of Microbiology*, **172**, 2, 116-124.
- Hutchens, E., Radajewski, S., Dumont, M.G., McDonald, I.R., Murrell, J.C. ve Hutchens, E., (2004). Analysis of methanotrophic bacteria in Movile Cave by stable isotope probing, *Environmental Microbiology*, **6**, 2, 111-120.
- Jackson, B.E., Bhupathiraju, V.K., Tanner, R.S., Woese, C.R. ve McInerney, M.J., (1999). *Syntrophus aciditrophicus* sp. nov., a new anaerobic bacterium that degrades fatty acids and benzoate in syntrophic association with hydrogen- using microorganisms, *Archives of Microbiology*, **171**, 2, 107-114.
- Lane, D.J., (1991). *16S/23S rRNA sequencing*, in *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, eds, Stackebrandt E. and Goodfellow M., John Wiley & Sons, 115-1745, Chichester, United Kingdom.
- Lin, J.L., Radajewski, S., Eshinimaev, B.T., Trotsenko, Y.A., McDonald, I.R. ve Murrell, J.C., (2004). Molecular diversity of methanotrophs in Transbaikal soda lake sediments and identification of potentially active populations by stable isotope probing, *Environmental Microbiology*, **6**, 10, 1049-1060.
- Lu, Y., Lueders, T., Friedrich, M.W. ve Conrad, R., (2005). Detecting active methanogenic populations on rice roots using stable isotope probing, *Environmental Microbiology*, **7**, 3, 326-336.
- Lueders, T., Friedrich, M.W. ve Manefield, M., (2004a). Enhanced sensitivity of DNA- and rRNA-based stable isotope probing by fractionation and quantitative analysis of isopycnic centrifugation gradients, *Environmental Microbiology*, **6**, 1, 73-78.
- Lueders, T., Pommerenke, B. ve Friedrich, M.W., (2004b). Stable-isotope probing of microorganisms thriving at thermodynamic limits: Syntrophic propionate oxidation in flooded soil, *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 10, 5778-5786.
- Mahmood, S., Paton, G.I. ve Prosser, J.I., (2005). Cultivation-independent in situ molecular analysis of bacteria involved in degradation of pentachlorophenol in soil, *Environmental Microbiology*, **7**, 9, 1349-1360.
- Maidak, B.L., Cole, J.R., Lilburn, T.G., Parker, C.T., Saxman, P.R., Farris, R.J., Garrity, G.M., Olsen, G.J., Schmidt, T.M. ve Tiedje, J.M., (2001). The RDP-II (Ribosomal Data Project), *Nucleic Acids Research*, **29**, 1, 173-174.
- Manefield, M., Whiteley, A.S., Griffiths, R.I. ve Bailey, M.J., (2002). RNA stable isotope probing, a novel means of linking microbial community function to phylogeny, *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 11, 5367-5373.
- McInerney, M.J., Bryant, M.P., Hespell, R.B. ve Costerton, J.W., (1981). *Syntrophomonas wolfei* gen. nov. sp. nov., an anaerobic, syntrophic, fatty acid-oxidizing bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, **41**, 4, 1029-1039.
- McInerney, M.J. ve Wofford, N.Q., (1992). Enzymes involved in crotonate metabolism in *Syntrophomonas wolfei*, *Archives of Microbiology*, **158**, 5, 344-349.
- Plugge, C.M., (2005). *Anoxic media design, preparation and considerations*, in *Methods in Enzymology: Environmental Microbiology*, eds, Leadbetter J, Academic Press, 3-16, USA.
- Radajewski, S., Murrell, J.C., Ineson, P. ve Parekh, N.R., (2000). Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology, *Nature*, **403**(6770), 646-649.
- Radajewski, S., Webster, G., Reay, D.S., Morris, S.A., Ineson, P., Nedwell, D.B., Prosser, J.I. ve Murrell, J.C., (2002). Identification of active methylotroph populations in an acidic forest soil by stable-isotope probing, *Microbiology*, **148**, 8, 2331-2342.

- Roest, K., Altınbaş, M., Paulo, P.L., Heilig, H.G., Akkermans, A.D.L., Smidt, H., De Vos, W.M., ve Stams, A.J., (2005). Enrichment and detection of microorganisms involved in direct and indirect methanogenesis from methanol in an anaerobic thermophilic bioreactor, *Microbial Ecology*, **50**, 3, 440-446.
- Roy, F., Samain, E., Dubourguier, H.C. ve Albagnac, G., (1986). *Syntrophomonas sapovorans* sp. nov., a new obligately proton reducing anaerobe oxidizing saturated and unsaturated long chain fatty acids, *Archives of Microbiology*, **145**, 2, 142-147.
- Schink, B. ve Friedrich, M., (1994). Energetics of syntrophic fatty acid oxidation, *FEMS Microbiology Reviews*, **15**, 2-3, 85-94.
- Stams, A.J.M., Van Dijk, J.B., Dijkema, C. ve Plugge, C.M., (1993). Growth of syntrophic propionate-oxidizing bacteria with fumarate in the absence of methanogenic bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 4, 1114-1119.
- Stieb, M. ve Schink, B., (1985). Anaerobic oxidation of fatty acids by *Clostridium bryantii* sp. nov., a sporeforming, obligately syntrophic bacteria, *Archives of Microbiology*, **140**, 4, 387-390.
- Truper, H.G. ve Schlegel, H.G., (1964). Sulphur metabolism in *Triorhodaceae*. 1. Quantitative measurements on growing cells of *Chromatium okenii*, *Antonie van Leeuwenhoek*, **30**, 1, 225-238.
- Wallrabenstein, C. ve Schink, B., (1994). Evidence of reversed electron transport in syntrophic butyrate or benzoate oxidation by *Syntrophomonas wolfei* and *Syntrophus buswellii*, *Archives of Microbiology*, **162**, 1-2, 136-142.
- Wu, W.M., Jain, M.K., Macario, E.C., Thiele, J.H. ve Zeikus, J.G., (1992). Microbial composition and characterization of prevalent methanogens and acetogens isolated from syntrophic methanogenic granules, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **38**, 2, 282-290.
- Zhang, C., Liu, X. ve Dong, X., (2004). *Syntrophomonas curvata* sp. nov., an anaerobe that degrades fatty acids in co-culture with methanogens, *International Journal of Systematic and Bacteriology*, **54**, 3, 969-973.
- Zhang, C., Liu, X. ve Dong, X., (2005). *Syntrophomonas erecta* sp. nov., a novel anaerobe that syntrophically degrades short-chain fatty acids, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**, 799-803.
- Zhao, H., Yang, D., Woese, C.R. ve Bryant, M.P., (1990). Assignment of *Clostridium bryantii* to *Syntrophosphora bryantii* gen. nov., comb. nov. on the basis of a 16S rRNA sequence analysis of its crotonate-grown pure culture, *International Journal of Systematic Bacteriology*, **40**, 1, 40-44.
- Zhao, H., Yang, D., Woese, C.R. ve Bryant, M.P., (1993). Assignment of fatty acid-B-oxidizing syntrophic bacteria to *Syntrophomonadaceae* fam. nov. on the basis of 16S rRNA sequence analyses, *International Journal of Systematic Bacteriology*, **43**, 2, 278-286.
- Zou, B.Z., Takeda, K., Tonouchi, A., Akada, S. ve Fujita, T., (2003). Characteristics of an anaerobic, syntrophic, butyrate-degrading bacterium in paddy field soil, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **67**, 10, 2059-2067.

## Yapay sulakalan sisteminde fosfor giderimine ortam malzemesinin etkisi

Sönmez DAĞLI\*, Lütfi AKÇA

İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

### Özet

*Bu çalışmada, fosforun yapay sulakalan sistemlerinde giderimi incelenmiş, ortam malzemesinin giderim verimine olan etkisi adsorpsiyon izotermi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu etkinin anlaşılabilmesi için ortam malzemesi olarak toprak, demir-çelik endüstrisi yüksek fırın cürufu, perlit, çakıl ve kum kullanılmıştır. Dane büyüklüğü açısından çakıldan sonra en iri yapılı malzemeler sırası ile cüruf, perlit, toprak ve kum olarak bulunmuştur. Atomik absorpsiyon spektrometre analizlerine göre en fazla katyon içeren malzeme, her üç katyonu da (Al, Fe, Ca) içeren yüksek fırın cürufu olarak belirlenmiştir. Yüksek fırın cürufunu sırası ile çakıl, toprak, kum ve perlit izlemektedir. Ancak her bir katyon için değerlendirme yapıldığında Ca içeriği en yüksek malzemeler çakıl ve yüksek fırın cürufu'dur. Fe içeriği en yüksek malzeme yüksek fırın cürufu; Al içeriği en yüksek malzeme ise toprak ve yüksek fırın cürufu'dur. X ışını difraktometre cihazı ile yapılan tam element analizi ile bulunan sonuçlar, atomik absorpsiyon spektrometresi sonuçları ile benzerlik göstermiş, fosfor tutulması açısından en umut verici malzemeler cüruf, çakıl, toprak ve kum olarak bulunmuştur. Sulakalanlarda kullanılma potansiyeli olan yüksek fırın cürufu, kum, çakıl, toprak ve perlitin 21 °C ve 4 °C'de yaz ve kış şartlarında adsorpsiyon denge zamanı, Jar-Test düzeneğinde gerçekleştirilen deneyler ile tespit edilmiştir. Aynı düzenek kullanılarak yukarıda verilen ortam malzemelerinin 21 °C ve 4 °C'de, 12 mg/l toplam fosfor (TP) konsantrasyonu için Freundlich, Langmuir ve BET izotermine uygunluğu araştırılmıştır. Kullanılan malzemelerin tümünün Langmuir izotermine uygun adsorpsiyon davranışı gösterdiği saptanmıştır.*

**Anahtar kelimeler:** Langmuir izotermi, yapay sulakalan, fosfor, adsorpsiyon.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Sönmez DAĞLI. Sonmez.Dagli@mam.gov.tr; Tel: (262) 677 29 54.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı'nda tamamlanmış olan "Evsel atıksulardan yapay sulakalanlarda fosfor gideriminin incelenmesi" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 13.07.2006 tarihinde dergiye ulaşılmış, 08.02.2007 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2007 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## The effect of media material to phosphorus removal on constructed wetlands

### Extended abstract

Constructed wetland systems, a low cost and low technology option, have been successfully used for recycling and managing domestic and different types of industrial wastewater. The capacity of these systems is widely documented and because of their relative low cost, easy operation and maintenance the use of constructed wetlands as wastewater management solution, has extended rapidly as a choice for treatment of domestic wastewater. Such naturalized treatment systems have been shown to have a significant capacity for both wastewater treatment and resource recovery. Most studies on constructed wetlands have focused mainly on the net removal of pollutants such as bacteria, suspended solids, biological oxygen demand and nutrients such as nitrogen and phosphorus from wastewater. Although such studies have generally confirmed the effectiveness of constructed wetlands for pollutants removal, they provide little information on the processes involved in pollutant removal. The mechanisms of phosphorus removal in constructed wetlands are incompletely understood. Settling and retention of particulate forms of phosphorus is generally considerable in the slow moving waters of wetlands. Uptake of soluble forms of phosphorus occurs by sorption, complexation, precipitation and assimilation into microbial and plant biomass. In this study, removal of phosphorus, which is one of the most important elements in wastewater and causes to eutrophication was examined; the effect of media material on removal efficiency were detailed investigated.

The mechanisms of phosphorus removal in constructed wetlands such as adsorption (onto media material), precipitation, plant uptake, system geometry, climate, wastewater composition are insufficiently understood. As to the removal mechanisms for P also include biological transformations. Although wetland capacity to remove pollutants is considered good, water quality discharge limits are becoming more stringent; and therefore the performance demand of constructed wetlands capacity is increasing. The discharge of nutrients to the environment is one of the water quality parameters that are becoming increasingly restricted, since nutrients are responsible for eutrophication of waters. The capacity of constructed wetlands to remove phosphorus is an issue that has not been satisfactorily solved. The aim of this study is to understand the effect of media material on phosphorus removal on

constructed wetlands. To understand this effect, the Jar-Test system was fed batch and all supernatant analysis after one hour settling time was made according to standard methods.

As the media material the most important parameter in constructed wetlands, its effect on phosphorus removal efficiency was explored by means of adsorption experiments. Soil, slag, perlite, gravel and sea sand were selected as media materials in this experimental study. Soil was provided from a construction site, slag was supplied from iron and steel foundry, perlite obtained from mine, gravel was provided from Municipality of Gebze, sea sand was taken from Gebze seaside. According to the sieve analysis, perlite was found as the most uniform and suitable material for the study. The others were exhibited changeable grain size distribution.

To determine the effect of cation contents of the materials which is considered very important in the literature, atomic absorption spectrometer analysis was conducted on the materials. According to the results of this analysis, slag was evaluated the most suitable material as it contains all three cations (Al, Fe, Ca). Gravel, soil, sea sand and perlite are followed to the slag. The element analysis showed that gravel and slag have the highest amount of iron among the tested materials; slag has the highest aluminium content. Therefore it is decided that slag, gravel and soil are the most proper media materials for the adsorption of phosphorus.

Equilibrium times of all materials used in the wetlands were determined under summer and winter conditions (21 °C and 4 °C) using Jar-Test equipment. The experiments were conducted on at constant temperature for each condition. The reactor was continuously mixed at 50 rpm until the system reached to equilibrium. The suitability of the materials to Freundlich, Langmuir and BET isotherms are searched by using the same jar-test equipment for 12 mg/l total phosphorus concentration as for representing medium organic loaded wastewater. The results of the adsorption experiments indicated that isotherms obtained for all materials used in this study fit Langmuir isotherm.

According to these findings, soil, slag and sea sand has been evaluated most promising media materials either phosphorus adsorption capacity or easy and fast availability.

**Keywords:** Langmuir isotherm, constructed wetland, phosphorus adsorption.



## **Giriş**

Yapay sulakalanlar, doğal arıtmanın mühendislik tasarımı ile daha küçük reaktörlerde cereyan ettiği kontrollü sistemlerdir. 1920'lerden itibaren yerini konvansiyonel arıtma sistemlerine bırakmaya başlayan doğal arıtma sistemleri, Almanya, Fransa ve ABD gibi gelişmiş ülkelerde enerji gerektirmemesi ve arazi ihtiyacının azlığı sebebiyle son yıllarda yeniden cazip hale gelmeye başlamıştır (Vymazal vd., 1998). Masi (2005) çalışmasında halen Almanya'da 5000, İngiltere'de 800, Avusturya'da 500, Danimarka'da 300, İtalya'da 300, Çek Cumhuriyetinde 160, Portekiz ve Polonya'da 120, Fransa'da 100 civarında yapay sulakalanın halihazırda kullanıldığını belirtmektedir.

Avrupa Birliği adaylık sürecinde bulunan ülkemizi de ilgilendiren, Su Politikası Alanında Topluluk Faaliyeti için bir Çalışma Çerçevesi Oluşturan 23 Ekim 2000 tarihli ve 2000/60/EC sayılı Su Çerçeve Direktifi (Water Framework Directive), iç yerüstü sularının, geçiş sularının, kıyı sularının ve yeraltı sularının korunması için bir çerçeve oluşturmayı amaçlamıştır. Direktifin 4. ve 5. maddesinde nehir havzalarının; 7. maddesinde ise içme suyu amaçlı kullanılan tüm yerüstü ve yeraltı su kaynaklarının topluluk ülkelerinde korunması ve sürdürülebilir kullanımının sağlanması öngörülmektedir. Bu amaçla üye ülkelerin su koruma havzaları için koruma ve izleme planları yapmaları ve bunları uygulamaları istenmektedir. Aynı direktifin 4. maddesinin 5. bendinde ise koruma planlarının uygulanamayacak kadar pahalı olması durumunda benzer çevresel önceliklere sahip daha pratik ve ucuz yöntemlerin araştırılması tavsiye edilmektedir.

Sulakalanlar şehirselsel, endüstriyel ve zirai deşarjların arıtımında kullanılan çok düşük masraflı alternatifler olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Bunun yanında sulakalanların asit maden yatağı sularının arıtımında, yağmur suyu arıtımında da kullanım alanları bulunmaktadır (Kadlec ve Knight, 1996). Günümüzde dünyaya yayılmış ve sulakalan temelli binlerce atıksu arıtım sistemleri mevcuttur. Son 10 yıl içerisinde sulak alanların BOİ, nütrientler, sınırlı derecede metal ve toksik organik bileşiklerin giderilmesi,

mühendislik değerlendirmesi ve tasarım kriterleri, optimizasyon ve maliyet değerlendirilmesi hakkında çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (Uğurlu ve Salman, 1998).

Özellikle gelişmekte olan ve ılıman iklim kuşağında yer alan ülkeler için uygun olan bu sistemler, düşük işletme ve bakım masraflarının yanında çamur üretimlerinin de yok denecek kadar az olması sebebiyle tercih edilmektedir (Ayaz ve Saygın, 1996).

Bu çalışmada yapay sulakalanlarda fosfor arıtımında önemli parametrelerden biri olan ortam malzemesinin giderme verimine etkisi adsorpsiyon izotermi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda çakıl, kum, yüksek fırın cürufu, perlit ve toprak malzemeleri, fosfor giderimi üzerindeki etkisinin anlaşılması için laboratuvar ortamında Jar-Test deneylerine tabi tutulmuştur.

## **Materyal ve metod**

Adsorpsiyon deneyleri için orta kuvvette evsel atıksuyu temsil etmesi açısından 12 mg/L toplam fosfor konsantrasyonuna sahip, 0.1 g glikoz, 0.001 g maya ekstraktı, süttozu, üre, 0.15 g amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), 0.08 g sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), 0.01 g potasyum bikarbonat ( $\text{KHCO}_3$ ), 0.1 g sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), 0.09 g magnezyum sülfat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 5 g demir sülfat ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 0.09 g mangan sülfat ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), 0.014 g kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 0.1 g bentonit içeren sentetik atıksu numunesi kullanılmıştır.

Bu maddelerden hazırlanmış 100 mg/L toplam fosfor içeren stok sentetik numune, içeriği 12 mg/L olacak oranda seyreltilerek deneylerde kullanılmıştır.

Jar-Test ile tutulma deneyleri, Şekil 1'de görülen düzeneğin dönüş hızının 50 rpm'e ayarlandığı durumda, ortam sıcaklığının yaz şartları için 21 °C' ye; kış şartları için 4 °C' ye ayarlanması ile gerçekleştirilmiştir. 1 litrelik cam beherlere konulan sentetik numune her bir malzemenin 10 gramı ilave edilmiş ve her 12 saatte bir üst duru fazda toplam fosfor konsantrasyon-

ları ölçülmüştür. Fosfor analizi Standart Yöntemler'e (APHA, Standard Methods, 1998) göre yapılmıştır.



Şekil 1. Jar-test düzeneği

Adsorpsiyon deneylerinde kullanılan malzemelerin fiziksel özelliklerini karşılaştırmak üzere elek analizi otomatik çalkalama özelliğine sahip Karl Kolb marka elekte yapılmıştır. Emniyetli çalışma açısından cihaza her bir deneyde 2 adet elek takılmış, her bir eleme işlemi cihazın zamanlayıcısı 5 dakikaya ayarlanarak gerçekleştirilmiştir.

Malzemelerin katyon içeriğinin etkisini görmek amacı ile atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) analizleri yapılmıştır. Katyon (metal) analizleri malzemelerin öğütücüde öğütülmesini takiben kuvvetli asit ile çözülerek Varian marka AAS cihazında alev modunda okunması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Malzemelerin atıksu arıtımındaki etkinliğinin tam olarak değerlendirilmesi ve olası diğer ağır metal içeriklerinin bulunması amacı ile Philips marka X-Ray Difraktometre cihazı ile tam element analizi de yapılmıştır.

### Deneysel çalışma sonuçları

Adsorpsiyon deneylerinde kullanılan malzemelerin elek analizi sonucu bulunan dane boyut dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Sistemlerde kullanılan malzemelerin dane boyutları

Malzeme	-1	+1	+2	+2.8	+4	+5.6
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
	%	%	%	%	%	%
Çakıl	0.52	0.07	0.6	7.21	13.95	77.6
Cüruf	13.02	20.01	12.98	12.75	7.24	34
Malzeme	-0.25	+0.25	+0.5	+1	+2	+4
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
	%	%	%	%	%	%
Kum	6.9	24.6	28.7	19.3	15.2	5.3
Perlit	0	0	14	35	48	0
Toprak	11.1	27.3	25.5	17.3	9.4	9.4

Tablo 1'e göre en düzenli (üniform) dane boyutuna sahip ortam malzemesi perlit olarak belirlenmiştir. Ancak bunun sebebi perlitin ticari olarak eşit dane boyunda üretilmesidir. Diğer bütün malzemelerin dane boyutu değişkendir. Dane büyüklüğü açısından çakıldan sonra en iri yapıları malzemeler sırası ile cüruf, perlit, toprak ve kum'dur.

Deneysel çalışmada kullanılan malzemelere ait AAS analiz sonuçları ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Seçilen malzemelerin katyon içerikleri

Ortam	Al İçeriği	Fe İçeriği	Ca İçeriği
Malzemesi	g/kg	g/kg	g/kg
<b>Toprak</b>	40.10	34.10	48.90
<b>Çakıl</b>	6.90	4.20	336.00
<b>Perlit</b>	1.27	1.55	1.05
<b>Kum</b>	12.20	13.85	37.70
<b>Cüruf</b>	28.50	222.90	212.70

Tablo 2'deki sonuçlara göre en fazla katyon içeren malzeme her üç katyonu da içeren yüksek fırın cürufu olarak gözükmektedir. Yüksek fırın cürufunu sırası ile çakıl, toprak, kum ve perlit izlemektedir. Ancak her bir katyon için değerlendirme yapıldığında kalsiyum içeriği en yük-

sek malzemeler çakıl ve yüksek fırın cürufu'dur. Demir içeriği en yüksek malzeme yüksek fırın cürufu; alüminyum içeriği en yüksek malzeme ise toprak ve yüksek fırın cürufu'dur. Tablo 2'den de görüleceği gibi en umut verici malzemeler yüksek fırın cürufu, çakıl ve toprak olarak sıralanabilmektedir.

Deneysel çalışmada kullanılan perlit dışındaki diğer malzemelerin atıksu arıtımındaki etkinliğinin tam olarak değerlendirilmesi ve olası diğer ağır metal içeriklerinin belirlenmesi amacı ile X-Ray Difraktometre cihazı ile element analizi de yapılmıştır. Perlit analiz sırasında presleme sonucu eridiğinden bu malzeme için sonuç alınamamıştır. Philips marka PW2004 model XRF cihazı ile bulunan sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3'te verilen sonuçlar, Tablo 2'dekilerle benzerlik göstermekte olup, fosfor tutulması açısından en umut verici malzemeler yine cüruf, çakıl, toprak ve kum olarak sıralanmaktadır. Bu sonuçlardan malzemelerin önemli oranda ağır metal içermediği de görülmektedir. Tablo 3'teki XRF analizi değerlerinin AAS değerlerinden bir miktar daha yüksek olmasının sebebi AAS cihazının odaklanan metali hassas olarak ölçmesi, XRF cihazının ise malzemedeki tüm metalleri taraması şeklinde izah edilebilmektedir.

Adsorpsiyonu incelemek için kullanılan en uygun gösterimler izoterm eğrileridir. Sabit sıcaklıkta adsorban tarafından adsorplanan madde miktarı ile denge basıncı veya konsantrasyonu arasındaki bağıntıya adsorpsiyon izotermi adı verilmektedir. Diğer bir ifadeyle, izoterm ile adsorban ve adsorplanacak madde arasındaki ilişki anlaşılmaktadır. İzoterm eğrileri ampirik olarak belirlenmekte fakat matematiksel olarak ifade edilmektedir. İzotermiler sabit sıcaklıkta adsorbanın birim kütesinde adsorbe olan maddenin adsorplanacak maddenin bağıl konsantrasyonuna karşı çizilmektedir.

Genellikle adsorban ile adsorbat arasında meydana gelen kuvvetli bir afinite (kimyasal adsorpsiyon) Langmuir izotermi ile, basit fiziksel adsorpsiyon ise Freundlich izotermi ile ifade edilmektedir (Apak vd., 1991).

Tablo 3. Seçili malzemelerin XRF sonuçları

Element	Çakıl (%)	Kum (%)	Toprak (%)	Cüruf (%)
Al	1.933	6.249	9.920	4.749
Ba	0.058	0.074	0.065	0.179
Ca	55.286	6.006	6.030	21.340
Cl	0.055	0.022	0	0.072
Fe	1.467	1.811	3.529	19.449
K	0.669	1.501	1.779	0.039
Mg	0.677	0.711	1.025	1.561
Mn	0.116	0.047	0.123	3.570
Na	0.058	0.532	0.321	0.066
O	32.817	48.715	47.534	37.102
P	0.054	0.065	0.068	0.249
Rb	0.003	0.005	0.009	0
S	0.218	0.039	0.029	0.155
Si	6.320	33.958	29.084	10.25
Sr	0.077	0.022	0.017	0.019
Ti	0.144	0.199	0.392	0.261
Y	0.002	0.002	0.007	0.054
Zn	0.027	0.003	0.008	0.017

Kullanılan malzemelerin yaz ve kış şartlarında adsorpsiyon denge zamanını tespit etmek için 21 °C ve 4 °C'de yapılan laboratuvar deney sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. Deneyler sırasında ortam sıcaklığı dijital klima ile sabit tutulmuştur.

Tablo 4'ten de görüldüğü üzere ortamda kalan TP konsantrasyonlarında ilk 5 saatte hızlı bir düşüş meydana gelmekte, bundan sonra gözlem süresi olan 120 saate kadar yavaş ta olsa düşüşler devam etmektedir. İncelenen malzemelerin çoğunlukla dengeye ulaşma süresi 96 saatin üzerindedir. Çakıl malzemesinin her denge süresi 120 saatin üzerindedir. Toprak ve perlit için düşük sıcaklıkta denge süresi 120 saatten fazla, yüksek sıcaklıkta ise 96 saat olarak gözlenmiştir.

tir. İncelenen malzemelerden yüksek fırın cürufunda fosfor tutulmasının dengeye ulaşma süresi diğer malzemelere göre belirgin şekilde düşük çıkmıştır. Özellikle düşük sıcaklıkta (4 °C) 24 saatlik sürede denge konsantrasyonuna ulaşmıştır.

Tablo 4. Malzemelerin 21°C ve 4°C'de denge zamanları

Zaman (saat)	Toplam Fosfor (mg P/L)				
	Çakıl	Kum	Cüruf	Perlit	Toprak
<b>21°C</b>					
0	12	12	12	12	12
1	10.2	10.5	10.2	11.5	10.2
5	10.1	10.0	9.6	11	9.2
24	9.9	9.6	9.0	10.6	8.8
48	9.6	8.8	8.1	10.0	8
72	8.8	8.1	7.2	9.6	7.5
96	8.5	7.8	6.4	8.8	7.0
120	8.0	7.5	6.0	8.6	6.7
<b>4°C</b>					
0	12	12	12	12	12
1	10.9	10.6	10.2	11.2	10.3
5	10.2	10.2	9.9	11.0	9.6
24	9.9	10.0	8.6	10.7	9.1
48	9.2	9.3	8.2	10.3	8.6
72	9.0	8.8	8.0	10.0	8.1
96	8.8	8.3	7.9	9.6	7.9
120	8.2	8.1	7.6	9.1	7.5

#### İzoterm ve malzemelerin davranışları

Teorik yaklaşımlar kullanılarak tüm adsorpsiyon izoterm türleri için uygun genel bir eşitlik bulunmamaktadır. Adsorpsiyon izotermi genelde beş tip olarak sınıflandırılmaktadır (Berkem ve Baykut, 1998). Her bir tip izoterm için uygun olduğu eşitlik farklıdır (Brauner ve Preisinger, 1956).

Laboratuvar şartlarında 21 °C'de ve 4 °C'de tüm malzemeler için elde edilen grafikler değerlendirilmiş; Freundlich ve Brauner-Emmett-Teller (BET) izotermine uygun olmadığı görülmüştür.

#### Langmuir izotermi ve malzemelerin davranışı

Langmuir tarafından geliştirilen teoriye göre

atom veya moleküller adsorplayıcı yüzeyinde aktif merkezler tarafından tutulmakta ve bu tutulma tek tabaka halinde gerçekleşmektedir.

$$y = \frac{a.C_d}{1 + b.C_d} \quad (1)$$

Bu formüle,

$y$ : belirli bir adsorban kütlesi tarafından adsorplanan madde miktarı, (mg/mg)

$C_d$ : adsorplanan maddenin denge konsantrasyonu, (mg/L)

$a, b$ : reaksiyon sabitleri

olarak verilmektedir. Denklem 1'in her iki tarafı  $C_d$ 'ye bölünürse,

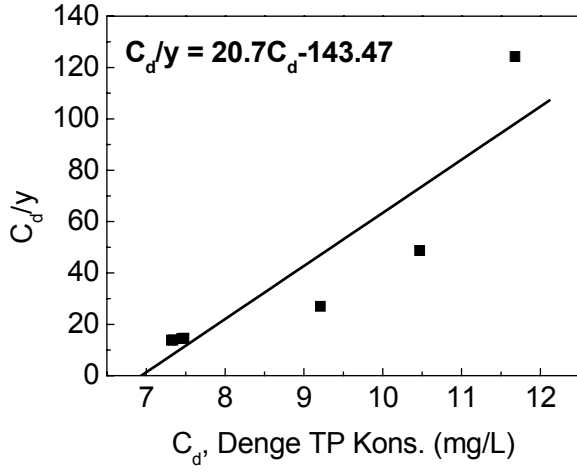
$$\frac{C_d}{y} = \frac{1}{a} + \left(\frac{b}{a}\right)C_d \quad (2)$$

eşitliği elde edilmektedir. Absiste  $C_d$ , ordinatta  $C_d/y$  değerleri kullanılarak çizilen grafiğin doğru şeklinde olması, gerçekleşen adsorpsiyonun Langmuir izotermine uygunluğunu göstermektedir. Doğrunun ordinatı kesim noktasından  $1/a$ ; eğiminden ise  $b/a$  değeri elde edilmektedir.

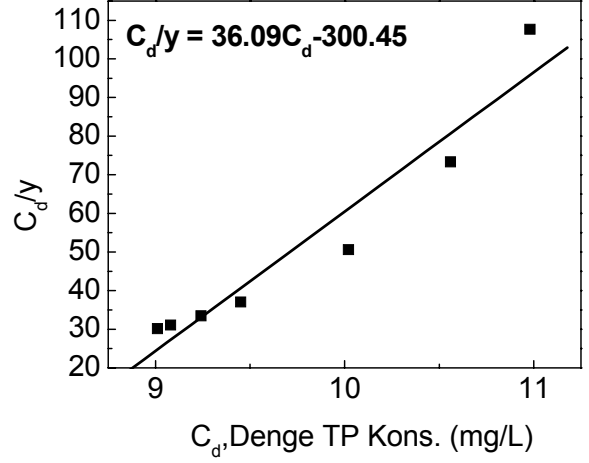
#### Toplam fosfor için Langmuir izotermi

12 mg/l toplam fosfor içeren sentetik numune ile elde edilen deney sonuçları Şekil 2 ile Şekil 11 arasında toplu halde gösterilmiştir.

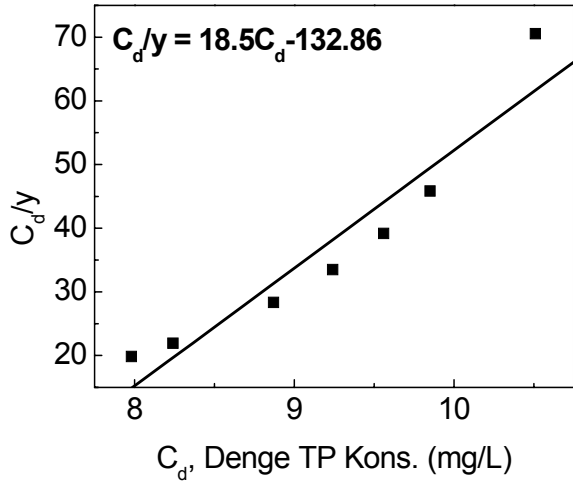
Şekil 2-11 incelendiğinde, malzemelerin gerek 21°C'de gerekse 4°C'de genellikle Langmuir izotermine uygun davrandığı görülmektedir. Çakıl ve kum için 21°C'de elde edilen grafiklerin Langmuir izotermine kısmen uygun olduğu gözlemlenmektedir. Malzemeler tarafından giderilecek fosforun hesabı izoterm aracılığı ile sudaki fosfor konsantrasyonu ile ilişkilendirilebilmektedir. Bir katı madde üzerinde tutulmuş fosfor konsantrasyonunun hangi izotermine uygun olduğu belirlendikten sonra ortam malzemesi üzerinde fosfor tutulma kapasitesi de bulunan izoterm denkleminde hesaplanabilmektedir.



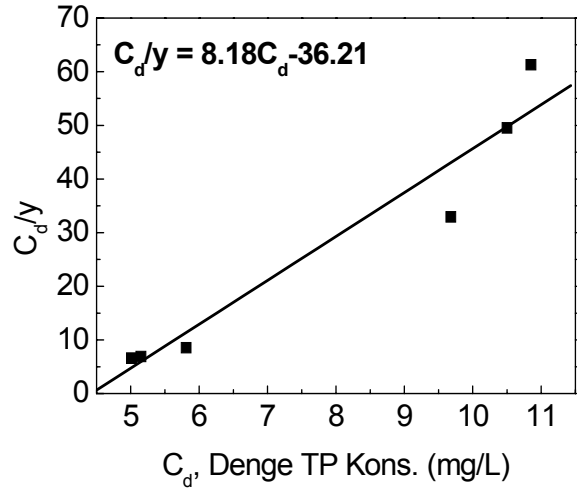
Şekil 2. Toprak için 21 °C'de Langmuir izotermi



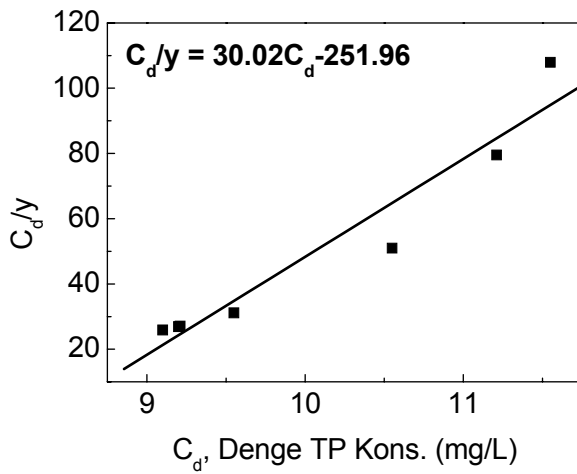
Şekil 5. Perlit için 4 °C 'de Langmuir izotermi



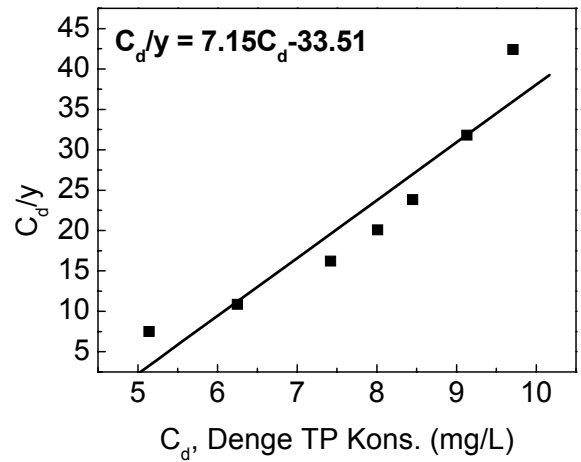
Şekil 3. Toprak için 4 °C 'de Langmuir izotermi



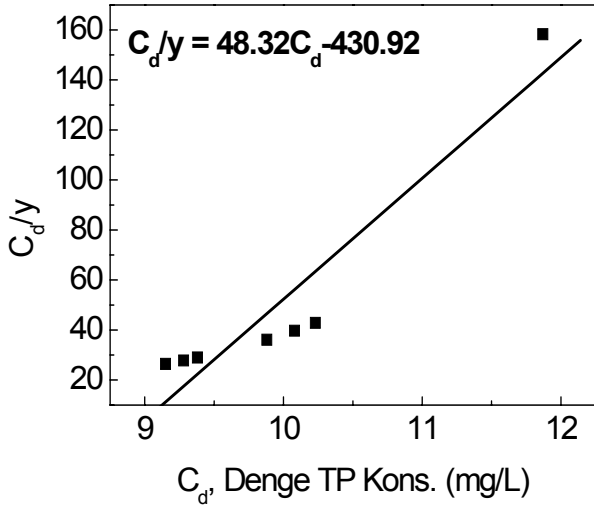
Şekil 6. Cüruf için 21 °C'de Langmuir izotermi



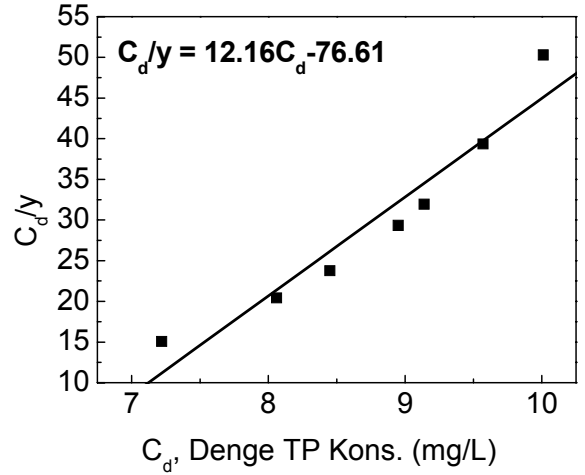
Şekil 4. Perlit için 21 °C'de Langmuir izotermi



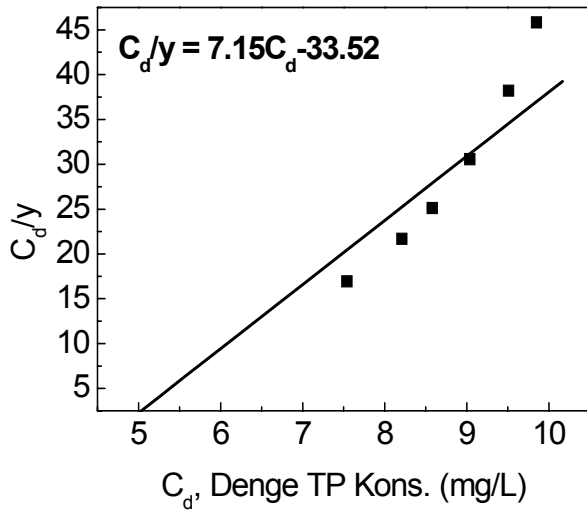
Şekil 7. Cüruf için 4 °C'de Langmuir izotermi



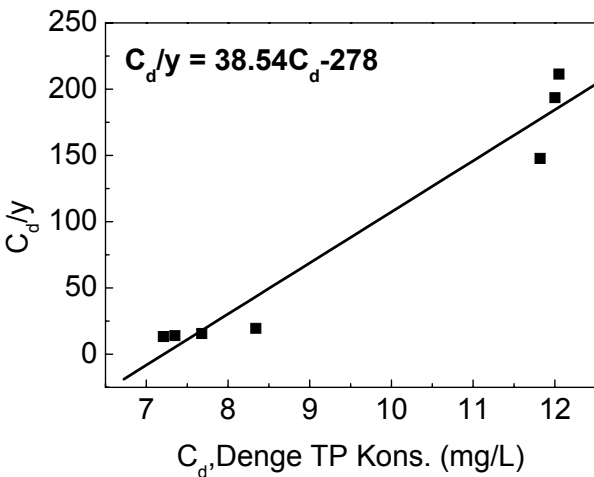
Şekil 8. Çakıl için 21 °C'de Langmuir izotermi



Şekil 11. Kum için 4 °C'de Langmuir izotermi



Şekil 9. Çakıl için 4 °C'de Langmuir izotermi



Şekil 10. Kum için 21 °C'de Langmuir izotermi

Şekil 1-10'dan bulunan izoterm sabitleri ve tutulma eşitlikleri kullanılarak 21 °C ve 4 °C'de elde edilen tutulma miktarları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. 21 °C ve 4 °C'de tutulan TP miktarları

Malzeme	21 °C mg P/kg	4 °C mg P/kg
Toprak	1363	239
Perlit	20	17
Cüruf	458	363
Çakıl	111	324
Kum	669	367

Tablo 5'e göre bir değerlendirme yapıldığında, 21°C'de elde edilen tutulmanın 4°C'de elde edildenden daha fazla olduğu söylenebilmektedir. Bu durum çakıl için tam tersi olarak gerçekleşmiştir. 21 °C'de en fazla tutulma toprak tarafında gerçekleştirilmiş, bunu kum ve cüruf izlemiştir. 4 °C'de ise en fazla tutulmayı kum, cüruf ve çakıl gerçekleştirmiş, bunları toprak ve perlit izlemiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Yüksek fırın cürufu, üç katyonu da (Al 28.5 g/kg, Fe 222.9 g/kg, Ca 212.7 g/kg) en fazla içeren malzeme olarak belirlenmiştir. Yüksek

sek fırın cürufunu sırası ile çakıl, toprak, kum ve perlit izlemektedir. Ancak her bir katyon için değerlendirme yapıldığında kal-siyum içeriği en yüksek malzemeler çakıl ve yüksek fırın cürufudur. Demir içeriği en yüksek malzeme yüksek fırın cürufu; alü-minyum içeriği en yüksek malzeme ise toprak ve yüksek fırın cürufu'dur. Dolayısıyla yapay sulakalanda dolgu malzemesi olarak kullanılmak üzere katyon içeriği bakımından en umut verici malzemeler yüksek fırın cürufu, çakıl ve toprak olarak değerlendirilmektedir.

- Arazide tesis edilen pilot ölçekli sulakalanlarda kullanılan malzemelerin 21 °C ve 4 °C'deki adsorpsiyon izotermine göre, tüm malzemelerin Langmuir izotermine kısmen uygun davranış gösterdiği gözlenmiştir. Katyon içeriği en yüksek malzeme olan cürufun Langmuir izotermine uyumu da diğer malzemelere göre daha iyi olarak gözükmektedir.
- 21°C'de elde edilen fosfor tutulması, 4°C'de elde edilenden daha fazladır. Her iki sıcaklık değerinde de birbirine yakın tutulma elde edilen malzemeler kum (669 mg P/kg, 367 mg P/kg) ve cüruf'tur (458 mg P/kg, 363mg P/kg). Toprak 21°C'de iyi bir tutulma (1363 mg P/kg) sağlmasına rağmen 40°C'de daha düşük performans (239 mg P/kg) göstermiştir. Perlit, her iki sıcaklık değerinde de zayıf tutulma (20 mg P/kg, 17 mg P/kg) sağlayabilmiştir. Çakıl ise tüm malzemelerin aksine 21°C'de daha az tutulma (111 mg P/kg) sağlamış, 4°C'de ise daha fazla fosfor (324 mg P/kg) tutmuştur.

Bu sonuçlara göre toprak, cüruf ve kum gerek fosfor tutma kabiliyeti gerekse kolay ve ucuz

bulunabilirliği sebebiyle fosfor gideriminde kullanılabilir malzemeler olarak değerlendirilmiştir.

### Kaynaklar

- Apak, R., Tütem, E., Hugül, M., Kar, F., (1991). *Suların arıtılması*, TÜBİTAK Proje No:KTÇAG-7, s.22-23, Ankara.
- Ayaz Ç.S. ve Saygın Ö., (1996). Hydroponic wastewater treatment garden, 9th International Association on Water Quality Conference, 11-12, Vienna.
- Berkem A.R., Baykut, S., (1998). *Fizikokimya*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 42, Kimya Fakültesi, İstanbul.
- Brauner, K., Preisinger, A., (1956). Struktur und Entstehung des sepioliths, *Mineralogische und Petrographische Mitteilungen*, **25**, 6, 120-140.
- European Union Water Framework Directive, (2000). 2000/60/EC, Luxemburg.
- Hosomi, M., Murakami, A., and Sudo, R., (1994). A four year mass balance for a natural wetland system receiving domestic wastewater, *Water Science and Technology*, **30**, 8, 235-244.
- Kadlec, R.H., ve Knight, L.R., (1996). *Treatment wetlands*, CRC Press, The University of Michigan, 151, Ann Arbor and Wetland Management Services Chelsea, Michigan.
- Masi, Fabio, (2005). Training course notes on constructed wetlands, MRC-Gebze, Kocaeli, Turkey.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1998. 4500- P A, 4500- P B; 4500-P D. Stannous Chloride Method (20<sup>th</sup> Edition), APHA, *American Water Works Association*, USA.
- Uğurlu A. ve Salman B., (1998). Phosphorus removal by fly ash, *Environment International*, **24**, 8, 911-918.
- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. F., Green, M. B., Haberl, R., (1998). *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe*, 18, Backhuys Publishers, Leiden.