

Karışık karbon kaynağı ortamının nişasta giderim performansı ve bakteriyel kompozisyon üzerine etkisi

Aslı Seyhan ÇIĞGIN^{*1}, Mauro MAJONE², Derin ORHON¹

¹ İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

² Roma La Sapienza Üniversitesi, Kimya Bölümü, P.le Aldo Moro 5, 00185 Roma, İtalya

Özet

Evsel atıksuların arıtımında yaygın olarak kullanılan aktif çamur sistemlerinin başlıca kirletici parametre olan karbon kaynağının giderim performansı açısından değerlendirilmesi, sistemin en uygun tasarım kriterlerinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu konuda yürütülen çalışmalarda, evsel atıksuların içeriğini yansıtabilecek şekilde seçilen tek bir karbon kaynağı model substrat olarak kullanılmaktadır. Fakat farklı karbon kaynaklarının bir arada veya ayrı ayrı arıtılmaları mikrobiyal dinamikler doğrultusunda farklı giderim performansları elde edilmesine neden olabilmektedir. Bu kapsamda, çalışmanın amacı evsel atıksuların karbonhidrat içeriğini yansıtan ve hedef karbon kaynağı olarak ele alınan nişastanın, başka bir karbon kaynağı ile beraber aktif çamur sisteminde arıtılması durumunda, giderim veriminde ve bakteriyel kompozisyonda oluşabilecek farklılıkların tespit edilmesidir. 2 farklı çamur yaşında işletilen sistemde, ikincil karbon kaynağı olarak evsel atıksu kompozisyonunun büyük bir kısmını oluşturan uçucu yağ asitlerini temsilen asetat seçilmiş ve bu sayede farklı giderim mekanizmaları ile giderilen farklı yapıdaki karbon kaynaklarının birbirlerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler, 8 gün çamur yaşında nişasta giderim performansının, ortamda asetatın bulunmasından etkilendiğini ancak, 2 gün çamur yaşında karışık karbon kaynağı ortamının nişasta giderim performansı bakımında önemli bir etkisi olmadığını göstermiştir. Farklı koşullarda işletilen reaktörlerde bulunan baskın türlerin Flüoresanli yerinde hibritleşme tekniği (FISH) yöntemi ile analizi sonucunda, 8 gün çamur yaşında karışık karbon kaynağı ortamının sadece mikrobiyal aktivite üzerinde değil aynı zamanda mikrobiyal seleksiyon üzerinde de etkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, deneysel sonuçlar, çamur yaşının sistem performansı ve bakteriyel kompozisyon üzerinde etkili bir parametre olduğunu ve bu nedenle aktif çamur tesislerinin tasarımında öncelikli olarak ele alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Nişasta; karışık karbon kaynağı; karbon kaynağı giderim kinetiği; FISH; Aktif Çamur Sistemi.

*Yazışmaların yapılacağı yazar: Aslı Seyhan ÇIĞGIN. ciggin@itu.edu.tr; Tel: (212) 216 83 22.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı'nda tamamlanmış olan "Değişik karbon kaynaklarında çalıştırılan aktif çamur sistemlerinde farklı çamur yaşlarında çoğalma ve depolama kinetiği" adlı doktora tezinden hazırlanmıştır. Makale metni 22.04.2011 tarihinde dergiye ulaşılmış, 23.05.2011 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.04.2012 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

Bu makaleye "Çığgın, A.S., Majone, M., Orhon, D., (2011) 'Karışık karbon kaynağı ortamının nişasta giderim performansı ve bakteriyel kompozisyon üzerine etkisi', İTÜ Dergisi/E Su Kirlenmesi Kontrolü, 21: 2, 37-46" şeklinde atıf yapabilirsiniz.

Effect of multiple substrate environment on the starch removal performance and related microbial composition

Extended abstract

The microbial processes have been extensively investigated for the efficiently design and operation of the activated sludge systems. The experimental studies have often focused on the single representative carbon source, although, microorganisms have to remove wastewater which is the mixture of several different type carbon sources. Under such conditions, bacteria often utilize one carbon source preferentially and other carbon sources are consumed only, when the preferred one is exhausted. The carbon source providing the best growth rate and/or growth yield is preferred, and the successive utilization of the substrates is often represented (Monod, 1942). In the environmental engineering point of view, it is important to understand the interaction between the removal mechanisms of different carbon sources which have a different degree of complexity.

Although, recent studies have mainly focused on the biodegradation kinetics of the industrially produced starch as the only pollutant in wastewater, the simultaneous use of multiple substrates, such as the co-treatment of the industrially produced wastewater with the domestic wastewater produced in the facility, can lead to differences in biodegradation kinetics of any individual organic constituent as well as in the bacterial community.

The researches with bacteria and higher organisms have revealed that selective carbon source utilization is common and that glucose is the preferred carbon source by many organisms. Moreover, the presence of glucose often prevents the use of other, secondary, carbon sources (Gorke and Stülke, 2008). In a study carried out under aerobic conditions with a mixture of similar type substrates (i.e. a mixture of acetic, lactic and propionic acid), a strong decrease in the removal rates of acetic and lactic acid was observed when treated in the presence of another substrate (Dionisi et al., 2004). This strong interaction among different substrates was explained with the interconnected pathways utilized by microorganisms for the removal of these substrates.

Less clear evidences are available when dealing with mixtures of different type substrates, like volatile fatty acids and carbohydrates. Carta et al. (2001) reported that there were no differences in the uptake rate of acetate and glucose under mixed substrate environment compared to single substrate environment. In addition to the substrate uptake rates, the degradation kinetics and rates of the storage compounds were also reported as the same. In another study, when starch and acetate were treated together, slightly lower rates were observed in terms of individual carbon removal of acetate and starch, as well as respective storage of PHA and glycogen compared to treatment of substrate alone (Karahan et al., 2008).

The fate of slowly biodegradable carbon source was evaluated in a SBR acclimated to starch as the sole carbon source and mixture of starch and acetate. The SBRs were operated with the same organic loading rate at two different sludge ages. Acetate, which is the one of the volatile fatty acid, was used as secondary pollutant as the volatile fatty acids have been reported as the main constituents of the domestic wastewaters.

Although, the carbon source was fed to the SBRs in continuous mode throughout the cycle, the production of the storage polymer, namely glycogen, was observed in all SBRs. The relatively constant storage ratios were observed in SBRs fed with different carbon sources. The COD removal efficiency of the SBRs operated at the sludge ages of 8 days was significantly affected from the presence of acetate in the environment, although the COD removal efficiencies were constant at the sludge ages of 2 days independently from the presence of the secondary substrate. The bacterial characterization studies performed with fluorescent in situ hybridization (FISH) showed the decrease in the Actinobacteria phylum which was reported as the main starch consumer when the starch removal was performed in the multiple substrate environments at the sludge ages of 8 days. On the other hand, the detection of different groups at different sludge ages indicated the importance of the sludge age for evaluating treatment performance in activated sludge systems.

Keywords: Starch; dual substrate; substrate removal kinetic; FISH, activated sludge system.

Giriş

Karbonhidratlar evsel ve endüstriyel kaynaklı atıksuların büyük kısmını oluşturmakta ve yavaş ayrışabilir yapıya sahip oldukları için arıtılmaları kompleks biyolojik prosesler ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle, karbonhidrat giderim mekanizmasının anlaşılması arıtma tesislerinin tasarımı için büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda, evsel atıksuların ve aynı zamanda birçok gıda endüstrisi atıksu içeriğinin büyük kısmını oluşturan nişasta gibi yavaş ayrışabilir yapıdaki karmaşık bir karbon kaynağının arıtım mekanizması birçok çalışmada ele alınmıştır (Goel vd., 1998; Smolders vd., 1994). Yürütölen alışmalar nişasta gideriminde ilk adımın nişastanın mikroorganizma tarafından kullanılabilir kolay ayrışan karbon kaynağı olan glikoza hidroliz edilmesi olduğunu ortaya koymuştur (Matsuzawa ve Mino, 1991; San Pedro vd., 1994).

Son yıllarda, depolama sürecinin aktif çamur sistemlerinde gerçekleşen önemli proseslerden biri olarak kabul görmeye başlanmasıyla (Gujer vd., 1999) bu süreci araştırmaya yönelik olarak birçok karbon kaynağı ile deneysel çalışmalar yürütölmüştür. Stanier ve diğerleri (1976) tarafından belirtildiği gibi glikoz gibi pürivat üzerinden giderilen karbon kaynakları glikojen olarak hücre içinde depolanmaktadır. Bu çerçeve- de, nişasta giderim mekanizması araştırılırken depolama ürünü oluşumunun ele alınmasının ardından yürütölen çalışmalarda, depolama ürünü ölçümü ile elde edilen veriler nişastanın hücre içine hidroliz edilmeden önce adsorbe edildiğini ortaya koymuştur (Karahana vd., 2005).

Nişastanın tek karbon kaynağı olarak giderim mekanizması hakkında detaylı çalışmalar yürütölmekle birlikte, bu karbon kaynağının evsel atıksularda olduğu gibi, farklı yapıya sahip atıksular ile bir arada arıtılması durumunda, karbon kaynağı giderim mekanizmasının ve dolayısıyla mevcut bakteriyel türlerin ne şekilde etkileneceği hakkında detaylı çalışmalar literatürde önemli yer tutmamıştır.

Aktif amur sistemlerinde mikroorganizmalar, birden fazla karbon kaynağının bir arada bulunduğu ortama maruz kalmakta ve bu ortamda bir

karbon kaynağı tercihen öncelikli olarak kullanılırken diğer karbon kaynakları çoğu zaman söz konusu birincil karbon kaynağı tükendikten sonra giderilmektedir. Monod (1942) tarafından belirtildiği gibi, tercih edilen karbon kaynağı en uygun mikrobiyal çoğalma hızı ve/veya çoğalma verimine olanak sağlayan karbon kaynağı olmaktadır. Çevre mühendisliği açısından, atıksular farklı moleküler ağırlığa sahip ve farklı giderim mekanizmaları ile metabolize edilen birçok karbon kaynağını bir arada bulundurabildiğinden karbon kaynağı giderim mekanizmalarının birbirleri ile etkileşiminin belirlenmesi önem taşımaktadır.

Karbon kaynağı giderim mekanizmalarında olabilecek etkileşimlerin incelenmesi amacıyla saf kültürler ile birçok çalışma yürütölmüştür. Deneysel alışmalar ortamda glikozun bulunması durumunda, bu karbon kaynağının öncelikli olarak arıtıldığını ve hatta glikozun ortamda bulunmasının diğer karbon kaynaklarının giderimini kısıtladığı göstermiştir (Gorke ve Stölke, 2008). Lin (1996) tarafından *Escherichia coli* ve *B. subtilis* saf kültürleri ile yürütölen bir çalışmada, karışık karbon kaynağı ortamında, karbon kaynaklarının sırayla kullanıldığı belirtilmiştir. Wendisch ve diğerleri (2000) tarafından yürütölen diğer bir çalışmada, *Corynebacterium glutamicum* saf kültürünün asetat ve glikoz ile beslenmesi durumunda her iki karbon kaynağının aynı anda ancak tek karbon kaynağı ortamına kıyasla daha yavaş hızla giderildiği gözlenmiştir. *Corynebacterium glutamicum*'ın tersine *Azotobacter vinelandii* saf kültürünün asetat glikoz karışımına aklime edilmesi sonucunda asetatın birincil karbon kaynağı olarak kullanıldığı ve glikoz tüketim hızının asetat yüzünden inhibe olduğu belirlenmiştir (George vd., 1985; Tauchert vd., 1990). Doshi ve Venkatesh (1998) tarafından *Escherichia coli* saf kültürünün glikoz ve organik asitler (laktat, pürivat ve asetat) ile beslenmesi ile yürütölen çalışmada ise, glikozun ortamda bulunmasının diğer organik asitlerin giderim hızını etkilemediği ancak, asetat tüketim hızını yavaşlattığı gözlenmiştir.

Saf kültürler ile yürütölen bu geniş çaplı çalışmalara kıyasla, karışık mikrobiyal türlerden olu-

şan aktif çamur sistemlerinde karbon kaynağı giderim mekanizmalarının etkileşimi üzerinde detaylı çalışmalar mevcut değildir. Dionisi ve diğçerleri (2004) tarafından asetik asit, laktik asit ve propiyonik asit karışımının karbon kaynağı olarak kullanıldığı çalışmada, asetik asit ve laktik asit gideriminde önemli azalma olduğu gözlenmiş ve bu durumun, söz konusu karbon kaynaklarının benzer metabolik süreçler ile aynı mikroorganizmalar tarafından arıtılmasından kaynakladığı sonucuna varılmıştır.

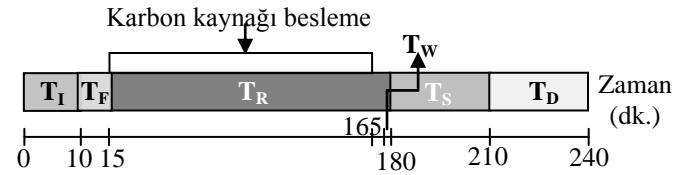
Carta ve diğçerleri (2001) tarafından aktif çamur sisteminde karışık karbon kaynağı ortamının glikoz ve asetat giderim hızları ve bu karbon kaynaklarının depolama ürünleri olan glikojen ve poli hidroksi bütirat (PHB) üretim mekanizmaları üzerinde etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, her iki karbon kaynağının da tek başına buldukları durumlara kıyasla giderim kinetiklerinde ve depolama ürünü oluşum hızlarında bir değışiklik olmadığını göstermiştir. Nişasta ve asetatın bir arada beslendiğı aktif çamur sisteminde ise, bu iki karbon kaynağının tek karbon kaynağı olarak kullanıldıkları duruma kıyasla, daha yavaş hızla olmakla birlikte benzer şekilde giderildiğı gözlenmiştir (Karahan vd., 2008).

Bu çalışmada, birçok karbon kaynağının bir arada arıtıldığı evsel atıksu arıtma tesisleri gibi sürekli sistemlerde, karbon kaynağı giderim performansı ile ilgili gerçekçi veriler ortaya koyulabilmesi amacıyla, birincil karbon kaynağı olarak karbonhidratları temsilen seçilen nişastanın tek başına arıtılması ve karışık karbon kaynağı ortamında arıtılması durumlarında giderim performansı ve kinetiğı incelenmiştir. Bu çerçevede, önemli işletme parametrelerinden biri olan çamur yaşının sistem performansına etkisinin belirlenebilmesi için deneysel çalışmalar düşük ve yüksek çamur yaşları olarak ifade edilen 2 ve 8 gün çamur yaşlarında benzer organik yüklemeler uygulanarak yürütülmüştür. Karışık karbon kaynağı ortamının gerçekçi bir şekilde yanıtılabilmesi amacıyla, evsel atıksuların başlıca bileşenlerinden biri olan uçucu yağ asitlerini temsilen asetat ikincil karbon kaynağı olarak kullanılmıştır.

Karışık karbon kaynağı ortamının mikrobiyal kompozisyon üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla Flüoresanlı Yerde Hibritleşme Tekniğı (FISH) ile her bir aklımasyon koşulunda baskın olan bakteriyel türler belirlenmiş ve karbon kaynağına bağılı olarak bu türlerin miktarlarında oluşan değışimler değerlendirilmiştir.

Materyal ve yöntem

İSKİ Paşaköy İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi'nin havalandırma havuzundan temin edilen biyokütle numuneleri, ardışık kesikli reaktörde (AKR), nişasta ve nişasta + asetat karışımı olmak üzere iki farklı substrat kompozisyonuna, sürekli besleme koşullarında aklime edilmiştir. Her bir karbon kaynağı için aklımasyon çalışmaları 2 ve 8 gün çamur yaşlarında, AKR'lerin bir çevrimi 4 saatte tamamlanacak şekilde, günde 6 çevrim çalıştırılması ve karbon kaynağının reaksiyon süresi boyunca ilavesiyle yürütülmüştür. AKR'lerin işletme düzeni Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. AKR'nin işletme düzeni

Şekil 1'de görüldüğü gibi AKR sisteminin her bir çevrimi sadece karıştırma ve havalandırma uygulanan 10 dakikalık başlangıç fazı (T₁) ile başlamakta, ardından 5 dakika süre ile gerekli besi maddeleri (T_F) ilave edilmektedir. Bu fazın ardından 165 dakikalık reaksiyon fazının (T_R) 150 dakikası boyunca karbon kaynağı sisteme verilmekte, son iki dakika da ise, çamur yaşına bağılı olarak fazla çamur sistemden uzaklaştırılmaktadır (T_w). Reaksiyon fazının ardından, havalandırma ve karıştırma kapatılarak, 30'ar dakikalık çöktürme (T_S) ve supernatantın uzaklaştırılması (T_D) fazları ile 4 saatlik reaksiyon süreci tamamlanmaktadır.

Farklı çamur yaşı veya karbon kaynağı ile işletilen her bir AKR'de minimum 3 gün çamur yaşı

kadar süre geemesinin ardından reaksiyon fazı çıkışında uçucu askıda katı madde (UAKM), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve depolama ürünü konsantrasyonları ölçülerek reaktörlerin kararlı dengeye ulaşma süreçleri izlenmiştir. Aktif çamur sistemleri dengeye ulaştığında, her bir işletme koşulunda, zaman aralıkları ile KOİ, nişasta ve glikojen numuneleri alınarak çevrim içi karbon giderim performansları belirlenmiştir.

UAKM numuneleri Standart Metotlar (1995)'da belirtilen şekilde, KOİ numuneleri ise ISO 6060 (ISO 6060, 1986) metoduna göre ölçülmüştür. Nişasta analizi için alınan numuneler 0.45 µm PVDF filtreden geçirildikten sonra 0.5 mL 6M hidroklorik asit (HCl) ilavesi ile glikoza hidroliz edilmiş ve numunelerin glikoz içeriği yüksek basınçlı likit kromatograf (HPLC) ile belirlenmiştir. Glikojen numunelerinin analizi için ise, Smolders ve diğerleri (1994) tarafından belirtilen şekilde ön işlemler uygulanarak glikojenin glikoza hidroliz edilmesinin ardından numunelerin glikoz içeriği tayin edilmiştir.

Nişasta ile beslenen sistemlerde, ortamda bir diğer karbon kaynağı bulunmasının bakteriyel türler üzerinde etkisinin belirlenebilmesi için, AKR'ler kararlı dengeye ulaştıktan sonra biyokütle numuneleri alınarak, Flüoresanlı yerinde hibritleşme tekniği (FISH) ile başlıca bakteriyel türler belirlenmiştir. Biyokütle numuneleri Amann ve diğerleri (1990) tarafından belirtilen şekilde fiske edilmiştir. Çalışma sırasında, *Actinobacteria* (HGC69A), *Chloroflexi* (CFX1223),

Alphaproteobacteria (ALF968), *Betaproteobacteria* (Bet-42a), *Gammaproteobacteria* (Gam-42a), *Flavobacteria* (CF319a) ve *Firmicutes* (LGC354mix) gruplarına spesifik oligonükleik problemler kullanılmış olup, oligonükleik problemler ile ilgili detaylı bilgi probeBase (Loy vd., 2005)'de bulunmaktadır.

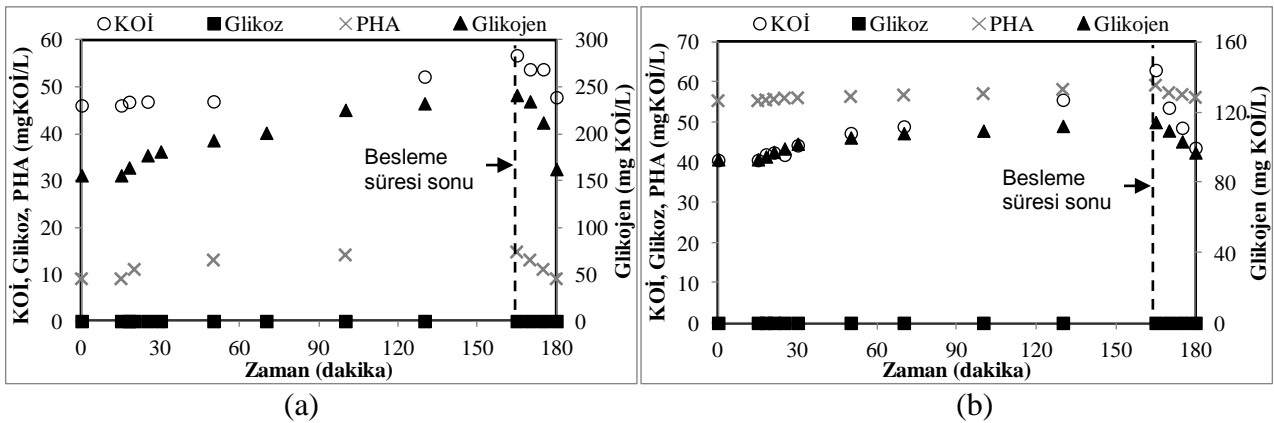
Başlıca filumlara özgü oligonükleik problemler ile yürütölen tüm hibridizasyon çalışmaları sırasında, toplam bakteri miktarının belirlenmesi amacıyla EUB338, EUB338-II ve EUB338-III birleşiminden oluşturulan karışım (EUB338mix) ile hibridizasyon ve tüm hücrelerin belirlenmesi amacıyla DAPI ile boyama uygulanmıştır. Filamentli bakteriler ise, morfolojik karakterlerine göre tespit edilmiştir.

Deneysel alışma sonuçları

AKR sistemlerinin performansı

Karbon kaynaklarının reaktöre reaksiyon süresi boyunca sürekli düzende beslenmesi sonucunda, mikroorganizmaların karbon kaynağı flokülasyonları ve dolayısıyla dinamik koşullar ile karşı karşıya kalmayacakları ve bu nedenle dışsal karbon kaynağı üzerinden doğrudan çoğalmanın baskın proses olması beklenirken, Şekil 2'de görüldüğü üzere, depolama karbon gideriminde önemli bir rol oynamaktadır.

Şekil 2'de birincil eksenlerde görölen KOİ giderim ve ikincil eksenlerde görölen glikojen depolama profillerinden anlaşıldığı üzere, sisteme



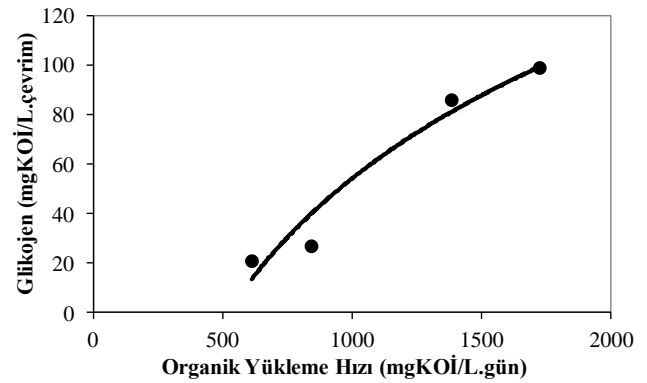
Şekil 2. 8 gün çamur yaşında işletölen AKR'lerin çevrim içi KOİ ve Glikojen performansı
(a) nişasta (b) nişasta + asetata aklimasyonu

sürekli beslenen nişasta, ortamda bir diğeri karbon kaynağının giderimden bağımsız olarak, besleme süresi boyunca glikojen olarak depolanmaktadır. İçsel karbon kaynağı olarak depolanan glikojen 165. dakika olan besleme süresinin bitiş anından itibaren geri kalan 15 dakikalık reaksiyon süreci boyunca tüketilmektedir.

Diğeri yandan, glikoz olarak ölçülen nişastanın, tek karbon kaynağı olduğu duruma benzer şekilde, karışık karbon kaynağı ortamında da çevrim süresi boyunca tespit edilmemesi, Karahan ve diğeri (2008) tarafından belirtilen şekilde, nişastanın her iki koşulda da hızla hücre içine adsorbe olduğunu göstermektedir.

Glikojen ölçümlerine ek olarak yaygın olarak bilinen depolama ürünü olan PHA (poli hidroksi alkanat) konsantrasyonlarında meydana gelen değişimler de incelenmiştir. Şekil 2’de görüldüğü gibi, nişastanın tek karbon kaynağı olarak kullanıldığı sistemde PHA konsantrasyonunda aşırı çamurdan kaynaklanan 10 mg/L birikim dışında bir değişiklik gözlenmemiştir. Sabit PHA birikiminde bir değişiklik gözlenmemesi, nişastanın PHA olarak depolanmadığını ve aynı zamanda, ortamda PHA tüketiminden sorumlu mikroorganizmaların baskın olmadığını göstermektedir. Karışık karbon kaynağı ile akline edilen sistemde ise, asetatın ortama verilmesi sonucunda asetatın depolama ürünü olan PHA’nın biriken miktarında olduğu kadar besleme sırasında, nişasta gideriminden bağımsız olarak, depolanan miktarında artış olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, ortamda bulunan farklı yapıya sahip karbon kaynaklarının farklı mikrobiyal türler tarafından giderildiğini göstermektedir.

Sürekli beslenen sistemlerde depolamanın etkin karbon giderim mekanizmalardan biri olarak rol oynaması ise, mikroorganizmaların sadece 15 dakikalık bir süre boyunca açlık (feast) fazına maruz kalmalarının, dinamik koşullara neden olmaya yeterli olduğunu ve depolama mekanizmasını harekete geçirdiğini göstermektedir. Bu kapsamda, depolama oranına etki eden işletme parametrelerinde biri olarak birçok çalışmada ele alınmış olan organik yükleme hızının (Dionisi vd., 2001), Şekil 3’te görüldüğü üzere, depolama oranına etkisi olduğu ve organik yüklemelerde görülen artış ile doğru orantılı olarak nişastanın glikojen olarak depolanan fraksiyonunda artış meydana geldiği gözlenmiştir.



Şekil 3. Organik yükleme hızının depolamaya etkisi

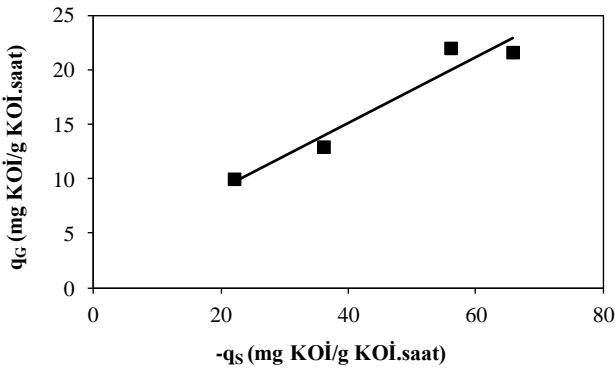
Ardışık kesikli reaktör sistemlerinin işletme parametreleri ve reaktörlerde kararlı denge koşullarının gözlenmesinin ardından elde edilen karbon giderim performansı sonuçları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. AKR’lerde kararlı denge halinde gözlenen nişasta giderim performansları

İşletme ve Performans Parametreleri	Set 1	Set 2	Set 3	Set 4
Karbon kaynağı	Nişasta	Nişasta + Asetat	Nişasta	Nişasta + Asetat
Çamur yaşı (gün)	8	8	2	2
Organik yükleme hızı (mg KOİ/L.gün)	1382	1200	1722	1620
Biyokütle konsantrasyonu (mg UAKM/L)	1800	2320	1230	1300
Y_{OBS} (gKOİ/gKOİ)	0.23	0.34	0.49	0.56
Depolanan Glikojen Konsantrasyonu (mgKOİ/L.çevrim)	86	42	99	54
Karbon kaynağının depolanan oranı (%)	37	42	34	39
KOİ giderimi (%)	90	78	81	80

Tablo 1’de görüldüğü üzere işletme koşullarına bağlı olarak karbon kaynaklarının yaklaşık %34-42’si glikojen olarak depolanmıştır. Karbon giderim verimleri açısından karşılaştırma yapıldığında, 8 gün çamur yaşında nişasta giderim veriminin asetatın ortamda bulunması durumunda oldukça azaldığı, 2 gün çamur yaşında ise, asetatın varlığının nişasta giderim verimi üzerinde bir etkiye yol amadığı gözlenmiştir. Tablo 2’de ortalama karbon giderim hızları ve depolama ürünü oluşum hızları verilmiştir.

Tablo 2’de görüldüğü üzere, 8 gün çamur yaşında işletilen AKR’lerde ortamda asetatın bulunması durumunda, glikojen depolama hızı azalmaktadır. Depolama prosesi mikroorganizmanın çoğalma hızından bağımsız ve bu nedenle direk çoğalma prosesine oranla daha hızlı olduğu için depolama hızında görülen azalma ile doğru orantılı olarak karbon kaynağı tüketim hızında da azalma görülmektedir (şekil 4).



şekil 4. Depolama hızının nişasta tüketim hızı ile değişimi

Diğer yandan, 2 gün çamur yaşında işletilen sistemlerde, asetatın ortamda ikincil karbon kaynağı olarak bulunması karbon giderim verimine benzer şekilde, nişasta tüketim hızı ve glikojen depolama hızını da etkilememiştir. Karışık kar-

bon kaynağı ortamının, farklı çamur yaşlarında mikroorganizma davranışını farklı şekillerde etkilemesi mikroorganizmaların çoğalma hızı ile açıklanabilir. Çamur yaşı, reaktörde bulunan mikroorganizmaların toplam yenilenme süresini belirlemekte ve düşük çamur yaşında, mikroorganizmaların kısa yenilenme süresine maruz kalmaları yüksek çoğalma hızına sahip mikroorganizmaların baskın hale gelmesine neden olmaktadır (Katipoğlu vd., 2010). Bu yüksek çoğalma hızına sahip mikroorganizmalar ortamda farklı bir karbon kaynağının bulunmasından etkilenmeden, tek karbon kaynağı ortamına benzer davranış gösterebilmektedir. Bir diğer yaklaşımla ise, 2 gün çamur yaşında işletilen sistemlerde kararlı denge halinde, mikroorganizmaların çoğalma hızı yüksek olduğu için, karışık karbon kaynağı ortamında, hedef alınan karbon kaynağının giderim veriminin etkilenmemesi enzim sentez hızı ile açıklanmaktadır (Ellis vd., 1998).

Ayrıca, özellikle birçok biyolojik atıksu arıtma tesisinde olduğu gibi, düşük çamur yaşlarında işletilen sistemlerde, bir başka karbon kaynağının ortamda bulunması durumunda birincil karbon kaynağı gideriminin yavaşladığı ve bu yavaşlamanın birincil karbon kaynağı gideriminden sorumlu mikroorganizma konsantrasyonunda azalmadan kaynaklandığı belirlenmiştir (Grady ve Gaudy, 1969). Mikroorganizma konsantrasyonunda görülen azalmanın ise enzim seviyeleri ve aktivitelerinde meydana gelen azalmadan kaynaklandığı belirtilmiştir.

Bu nedenle, asetatın ortamda bulunmasının bakteriyel kompozisyona etkisi olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, AKR’lerde kararlı denge sağlanması ardından, aktif çamur numuneleri alınarak FISH analizleri yürütülmüştür.

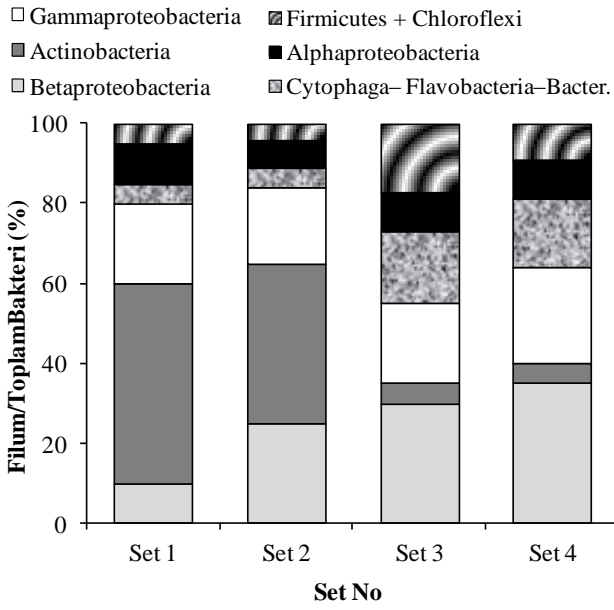
Tablo 2. evrim içi deneylerde elde edilen ortalama hızlar

Parametre	Set 1	Set 2	Set 3	Set 4
Spesifik nişasta tüketim hızı, $-q_s$ (mgKOİ/gKOİ.saat)	36	22	66	56
Spesifik Glikojen üretim hızı, q_G (mgKOİ/gKOİ.saat)	13	10	22	22
Spesifik Glikojen tüketim hızı, $-q_G$ (mgKOİ/gKOİ.saat)	122	84	79	120
$q_p/-q_s$	0.36	0.42	0.33	0.41

Mikrobiyal karakterizasyon

FISH analizleri için kullanılan başlıca filogenetik gruplara ait proplar ile AKR'lerde bulunan bakterilerin çoğu Şekil 5'te görüldüğü üzere, filum bazında sınıflandırılabilmiştir.

Şekil 5'te görüldüğü gibi, nişasta gideriminde rol aldığı bilinen *Actinobacteria* (Xia vd., 2008) 8 gün çamur yaşında sadece nişasta ile beslenen sistemde bakteriyel kompozisyonun yaklaşık %50'sini oluştururken, ortamda asetatin diğer bir karbon kaynağı olarak bulunması bu türün miktarında azalmaya neden olmuştur.



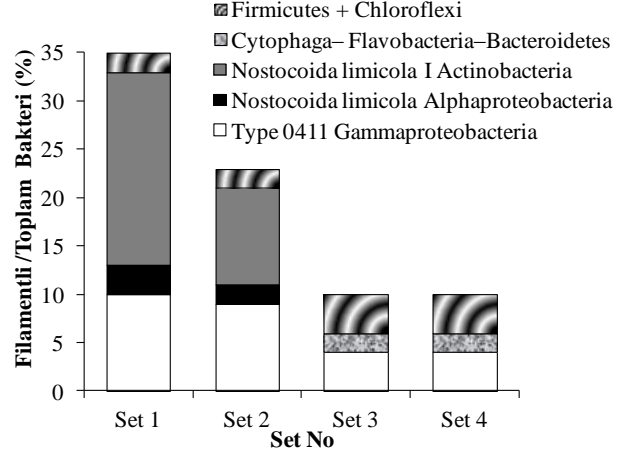
Şekil 5. AKR'lerde mikrobiyal kompozisyonun dağılımı

Diğer yandan 2 gün çamur yaşına akliye edilen mikroorganizmaların kompozisyonunda *Gammaproteobacteria* ve *Betaproteobacteria* gruplarının bakteriyel kompozisyonun büyük kısmını oluşturduğu ve bu türlerin miktarının asetatin ortamda bulunmasından etkilenmediği görülmüştür.

Mikrobiyal kompozisyonu oluşturan filamentli organizmaların AKR'lerde dağılımı incelendiğinde ise, 8 gün çamur yaşında işletilen sistemlerde oldukça yüksek oranda filamentli organizma bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).

AKR'lerde varlığı tespit edilen *Actinobacteria* filumuna ait filamentli *Nostocoida Limicola* ve

Gammaproteobacteria filumuna ait filamentli bakterilerin varlığı nişasta ile ani beslenen ve depolama sürecinin baskın olduğu AKR sistemleri ile yürütülen çalışmada da (Çığgın vd., 2011) belirlendiği için yürütülen çalışmada bu türlerin nişasta depolamasında rol oynadığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 6. AKR'lerde tespit edilen filamentli organizmalar ve dağılımları

Aktif çamur reaktörlerinde elde edilen performans verilerine paralel olarak karışık karbon kaynağı ile özellikle 8 gün çamur yaşında akliye edilen sistemlerde bakteriyel kompozisyonunda da değişim gözlenmiştir. Bu sonuç, saf kültür çalışmalarıyla elde edilen sonuçlara benzer şekilde, ikincil karbon kaynağı olarak asetatin ortamda bulunması durumunda, nişasta gideren mikroorganizmaların enzim aktivitelerinde azalma meydana geldiğini ve dolayısıyla mikrobiyal seleksiyon ile baskın türlerde de değişim olduğunu göstermektedir.

Sonuçlar

Karışık karbon kaynağı ortamının birincil karbon kaynağı olarak ele alınan nişasta giderim performansı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla iki farklı çamur yaşında yürütülen deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Yüksek çamur yaşında, birincil karbon kaynağı olarak izlenen nişastanın giderim verimi ortamda ikincil bir karbon kaynağı bulunmasından etkilenmekte ve bunun sonu-

cunda toplam karbon giderim verimi azalmaktadır. Bu nedenle, bu çalışma, farklı kompozisyona sahip birçok karbon kaynağının bir arada giderilmesini hedefleyen evsel atıksu arıtma tesislerinin tasarımı amacıyla yrtlen deneysel çalışmalarda tek bir karbon kaynağının sistem performansına etkisi yerine karışık karbon kaynağı ortamında gözlenen giderim performanslarının değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

- Dk amur yalarında, biyokütle yüksek çoğalma hızına sahip mikrobiyal türlerden oluştuğu için, mikroorganizmalar karışık karbon kaynağı ortamı gibi dışsal etkenlerden etkilenmeden aktivitelere devam edebilmekte ve karbon giderim performansı korunabilmektedir. Aktif amur sistemlerinin farklı çamur yalarında aklima edilmesi sonucunda farklı performans verileri ve farklı mikrobiyal kompozisyonlar gözlenmesi, arıtma tesislerinde yrtlen çalışmalarda çamur yaının artıma tesisi karbon giderim performansı üzerinde etkili bir parametre olarak ele alınması gerektiğini ortaya koymuştur.

Kaynaklar

- Amann, R.I., Binder, B.J., Olson, R.J., Chisholm, S.W., Devereux, R., Stahl, D.A., (1990). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations, *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 1919-1925.
- Carta, F., Beun, J.J., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., (2001). Simultaneous storage and degradation of PHB and glycogen in activated sludge cultures, *Water Research*, **35**, 2693-2701.
- ıđđın, A.S., Orhon, D., Rossetti, S., Majone, M. (2011). Effect of feeding and sludge age on acclimated microbial ecology and fate of slowly biodegradable substrate, *Bioresource Technology*, **102**, 7794-7801.
- Dionisi, D., Majone, M., Tandoi, V., Beccari, M., (2001). Sequencing batch reactor: Influence of periodic operation on performance of activated sludges in biological wastewater treatment, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **40**, 5110-5119.
- Dionisi, D., Majone, M., Papa, V., Beccari, M., (2004). Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding, *Biotechnology and Bioengineering*, **85**, 569-579.
- Doshi, P., Venkatesh, K.V., (1998). An optimal strategy to model microbial growth in multiple substrate environment - simultaneous and sequential utilization, *Process Biochemistry*, **33**, 663-670.
- Ellis, T.G., Smets, B.F., Grady, C.P.L.Jr., (1998). Effect of simultaneous biodegradation of multiple substrates on the extant biodegradation kinetics of individual substrates, *Water Environment Research*, **70**, 27-38.
- George, S.E., Costenbader, C.J., Melton, T., (1985). Diauxic growth in *Azotobacter vinelandii*, *Journal of Bacteriology*, **164**, 866-871.
- Goel, R., Mino, T., Satoh, H. and Matsuo, T., (1998). Intracellular storage compounds, oxygen uptake rates and biomass yield with readily and slowly degradable substrates, *Water Science and Technology*, **38**, 85-93.
- Gorke, B., Stlke, J., (2008). Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients, *Nature Reviews Microbiology*, **6**, 613-624.
- Grady, C.P.L., Jr., Gaudy, A.F., Jr., (1969) Control mechanisms operative in a natural microbial population selected for its ability to degrade L-lysine-I-Effects of carbohydrates in continuous flow systems under shock load conditions, *Applied Microbiology*, **18**, 790-797.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M., (1999). Activated sludge model no.3, *Water Science and Technology*, **39**, 183-193.
- ISO 6060, (1986). *Water quality-determination of the chemical oxygen demand*, International Standards Organization, Switzerland.
- Karahan, O., Martins, A., Orhon, D. and van Loosdrecht, M.C.M., (2005). Experimental evaluation of starch utilization mechanism by activated sludge, *Biotechnology and Bioengineering*, **93**, 964-970.
- Karahan, O., Orhon, D. and van Loosdrecht, M.C.M., (2008). Simultaneous storage and utilization of polyhydroxyalkanoates and glycogen under aerobic conditions, *Water Science and Technology*, **58**, 945-951.
- Katipoglu, T., Cokgor, E.U., Insel, G., Orhon, D., (2010). Response of mixed microbial culture to 2,6-dihydroxybenzoic acid and peptone mixture at low sludge age-effect of culture history, *Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, **45**, 875-882.

- Lin, E.C.C., (1996). Dissimilatory pathways for sugars, polyols and carboxylates, In: *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and molecular biology*, 2nd ed., ASM Press, Washington, DC, 307-342.
- Loy, A., Schulz, C., Lücker, S., Schöpfer-Wendels, A., Stoecker, K., Baranyi, C., Lehner, A., Wagner, M., (2005). 16S rRNA gene-based oligonucleotide microarray for environmental monitoring of the betaproteobacterial order Rhodocyclales, *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 1373-1386.
- Matsuzawa, Y. ve Mino, T., (1991). Role of glycogen as an intracellular carbon reserve of activated sludge in the competitive growth of filamentous and non-filamentous bacteria, *Water Science and Technology*, **23**, 899-905.
- Monod, J., (1942). *Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes*, Hermann et Cie, Paris, France.
- San Pedro, D.C., Mino, T., Matsuo, T., (1994). Evaluation of the rate of hydrolysis of slowly biodegradable COD (SBCOD) using starch as substrate under anaerobic, anoxic and aerobic conditions, *Water Science and Technology*, **30**, 191-199.
- Smolders, G.J.F., van der Meij, J., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., (1994). Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence, *Biotechnology and Bioengineering*, **43**, 461-470.
- Stanier, R.Y., Adelberg, E.A., Ingraham. J., (1976). *The microbial world*, 4th ed., 284. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- Standard Methods, (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th ed., American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC.
- Tauchert, K., Jahn, A., Oelze, J., (1990). Control of diauxic growth of *Azotobacter vinelandii* on acetate and glucose, *Journal of Bacteriology*, **172**, 6447-6451.
- Wendisch, V.F., De Graaf, A.A., Sahm, H., Eikmanns, B.J., (2000). Quantitative determination of metabolic fluxes during cointilization of two carbon sources: Comparative analyses with *Corynebacterium glutamicum* during growth on acetate and/or glucose, *Journal of Bacteriology*, **182**, 3088-3096.
- Xia, Y., Kong, Y., Nielsen, P.H., (2008). In situ detection of starch-hydrolyzing microorganisms inactivated sludge, *FEMS Microbiology Ecology*, **66**, 462-471.