



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜKÜRT BAZLI OTOTROFİK DENİTRİFİKASYON
PROSESİ İLE ARSENİK İÇEREN İÇME SULARINDA
NİTRAT GİDERİMİ VE MİKROBİYAL
POPÜLASYON DİNAMİĞİN BELİRLENMESİ**

ARZU KILIÇ

DOKTORA TEZİ

BİYOMÜHENDİSLİK ve BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2014

T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜKÜRT BAZLI OTOTROFİK DENİTRİFİKASYON
PROSESİ İLE ARSENİK İÇEREN İÇME SULARINDA
NİTRAT GİDERİMİ VE MİKROBİYAL
POPÜLASYON DİNAMİĞİN BELİRLENMESİ**

ARZU KILIÇ

Bu tez,

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında

DOKTORA

derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2014

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Arzu KILIÇ tarafından hazırlanan “KÜKÜRT BAZLI OTOTROFİK DENİTRİFİKASYON PROSESİ İLE ARSENİK İÇEREN İÇME SULARINDA NİTRAT GİDERİMİ VE MİKROBİYAL POPÜLASYON DİNAMİĞİN BELİRLENMESİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 02/05/2014 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özer ÇINAR (DANIŞMAN)

.....

Çevre Müh. KSÜ

Doç. Dr. Erkan Şahinkaya (İKİNCİ DANIŞMAN)

.....

Biyomühendislik Bölümü, İMÜ

Prof. Dr. Mustafa GÜL (ÜYE)

.....

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KSÜ

Doç. Dr. İsmail AKYOL (ÜYE)

.....

Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, KSÜ

Ünvan, Ad ve Soyad (ÜYE)

.....

Anabilim Dalı, Üniversite Adı

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. M. Hakkı ALMA

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Arzu KILIÇ

Bu çalışma TUBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 110Y256

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**KÜKÜRT BAZLI OTOTROFİK DENİTRİFİKASYON PROSESİ İLE ARSENİK
İÇEREN İÇME SULARINDA NİTRAT GİDERİMİ VE MİKROBİYAL
POPÜLASYON DİNAMİĞİN BELİRLENMESİ**

(DOKTORA TEZİ)

ARZU KILIÇ

ÖZET

Dünyada yer altı suları, içme amaçlı kullanım için belirlenen sınırların üzerinde nitrat içermektedir. Nitratin en önemli kaynakları; azotlu gübreler ve arıtılmadan deşarj edilen evsel ve endüstriyel nitelikli atıksulardır. Dolayısıyla, yer altı sularının in-situ (yerinde) veya bu suların içme suyu olarak kullanıldığı tesislerde ex-situ (dışarıda) arıtımı amacıyla ekonomik ve etkili nitrat giderim teknolojilerinin araştırılması gerekmektedir. Ters osmoz, iyon değiştirme, distilasyon ve elektrodializ içme sularından nitrat giderimi için kullanılan fiziko-kimyasal yöntemler arasında yer almaktadır. Bu yöntemlerin en önemli dezavantajları yüksek işletme ve bakım maliyetleri, düşük seçicilik özellikleri ve tuzlu atıksu üretimidir. Ayrıca, bu teknolojiler, hem pahalı hem de yerinde (in-situ) arıtım için uygun yöntemler değildir. Bu nedenle, biyolojik denitrifikasyon önemli bir arıtma yöntemi olarak düşünülmelidir. Ototrofik denitrifikasyonun, heterotrofik denitrifikasyona kıyasla en önemli avantajı organik madde ilavesi gerektirmemesi ve dolayısıyla, arıtılmış suyun klorla dezenfeksiyonu sırasında klorlu organik maddeler oluşturmamasıdır. Ayrıca düşük bakteri üretimi nedeniyle çıkış suyunun bakteriyolojik olarak kirlenme riski de azaltılmakta ve arıtım maliyeti düşmektedir. Kükürt, ucuz olması ve kolay bulunabilmesi nedeniyle; denitrifikasyon prosesi için uygun bir elektron kaynağıdır. Bu proseste, elementel kükürt elektron verici olarak davranır ve nitrat azota indirgenirken, kükürt sülfata oksitlenir. Birçok avantajlarına rağmen kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyonun en önemli dezavantajları sülfat ve asit üretmesidir. Alkalinite kaynağı olarak kireç taşı veya bikarbonat kullanılabilir. Daha yüksek nitrat konsantrasyonuna sahip yer altı sularının arıtımında ise heterotrofik ve ototrofik denitrifikasyon prosesinin eş zamanlı olarak kullanıldığı mikсотrofik proses kullanılarak üretilen sülfat kontrol altına alınabilir.

Tez çalışmasında; elementel-kükürt bazlı ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon prosesiyle içme sularından nitrat gideriminin ayrıntılı olarak çalışılması ve arseniğin prosesperformansına etkisi irdelenmiştir. Bu amaçla; toplam 3 adet kolon reaktör çalışma

boyunca uzun süreli olarak işletilmek koşuluyla ototrofik denitrifikasyon performansı; farklı kükürt/kireç taşı oranlarında, farklı dane çaplarında, farklı nitrat yüklemelerinde, alkalinite kaynağı olarak bikarbonat kullanılması durumunda araştırılmıştır. Ayrıca, mikсотrofik denitrifikasyon performansı da farklı metanol ve nitrat konsantrasyonlarında, farklı yüklemelerde ve farklı alkalinite kaynakları varlığında araştırılmıştır. Her iki proses performansına arseniğin etkisi ve reaktörlerdeki bakteriyel topluluğun zamanla değişimi de incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda; düşük nitrat konsantrasyonlarında (<30 mg/L NO₃-N), ototrofik denitrifikasyon ile sülfat için içme suyu limitleri aşılmadan tam denitrifikasyon gerçekleştirilebileceği gözlenmiştir. Ototrofik denitrifikasyon performansının elementel kükürt dane çapına bağlı olduğu belirlenmiştir. Elementel kükürt partikül boyutu küçüldükçe artan yüzey alanı nedeniyle elementel kükürtün çözünürlüğü artmış ve proses performansı da yükselmiştir. Mikсотrofik denitrifikasyon prosesinde çok daha yüksek denitrifikasyon hızları elde edilmiş ve çıkışta kalıntı organik madde miktarının oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla yüksek nitrat konsantrasyonlarında (>30 mg/L NO₃-N) mikсотrofik denitrifikasyon prosesiyle içme sularından nitrat giderilebileceği belirlenmiştir. 1000 µg/L'ye kadar arseniğin denitrifikasyon performansını olumsuz etkilemediği ancak sistemden arıtılmadan çıktığı belirlenmiştir. Moleküler biyoteknoloji ile ayrıca mikrobiyal popülasyondaki değişimlerde belirlenmiş ve bu değişimlerin denitrifikasyonu etkilediği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ototrofik denitrifikasyon, mikсотrofik denitrifikasyon, arsenik, içme suyu denitrifikasyonu, mikrobiyal dinamik

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında, Mayıs / 2014

Danışman: Prof. Dr. Özer ÇINAR

Eş Danışman: Doç. Dr. Erkan Şahinkaya

Sayfa sayısı: 154

.

**REMOVAL OF NITRATE IN DRINKING WATER CONTAINING
ARSENIC WITH SULFUR-BASED AUTOTROPHIC DENITRIFICATION AND
DETERMINATION OF MICROBIAL POPULATION DYNAMICS**

(PhD THESIS)

ARZU KILIÇ

SUMMARY

In the world, nitrate concentration in ground water has exceeded the maximum allowable limits for drinking water. The most important sources of nitrate in ground waters are nitrogen containing fertilizers and the industrial and domestic wastewaters discharged without being treated properly. Therefore, economical and effective treatment technologies for ground water denitrification should be developed for in-situ (in place) and ex-situ (on-site) applications. Reverse osmosis, ion exchange, distillation and electrodialysis are the physico/chemical methods used for the removal of nitrate from drinking waters. The main disadvantages of these processes are high operational cost, low selectivity and the formation of secondary brine wastes after treatment. Moreover, these processes are expensive and not proper for in-situ applications. For these reasons, biological denitrification should be considered as an important process. The main advantage of autotrophic denitrification is the not requirement of organic supplementation. Hence, there is no risk of chloro-organics formation in the chlorination process following denitrification. Additionally, due to low biomass production, the risk of bacterial contamination and the operational cost are reduced in autotrophic denitrification process. Sulfur-based autotrophic denitrification is an effective alternative due to low cost and availability. In this process, the elemental sulfur and nitrate behave as an electron donor and an acceptor, respectively. Hence, when nitrate is reduced to nitrogen gas, sulfur is oxidized to sulfate. Although sulfur-based autotrophic denitrification has several advantages, its main disadvantages are sulfate and acid formation. Lime stone or bicarbonate can be used as alkalinity sources. For the waters containing higher nitrate concentrations, mixotrophic process combining heterotrophic and autotrophic denitrification processes can be used to control the amount of sulfate formation.

In the thesis study, sulfur-based autotrophic and mixotrophic denitrification processes for drinking water denitrification and the impact of arsenic on the process performance were deeply investigated. For this purpose, 3 column reactors were operated continuously in

long term for the investigation of sulfur/limestone ratio, particle size, nitrate loadings, and alkalinity source on autotrophic denitrification performance. Additionally, mixotrophic denitrification performance was deeply investigated under varying methanol and nitrate loadings as well as with different alkalinity sources. The impacts of arsenic on both autotrophic and mixotrophic denitrification performances and the microbial community were investigated. Results showed that at low influent nitrate concentrations ($< 30 \text{ mg/L NO}_3\text{-N}$), complete autotrophic denitrification can be achieved without exceeding the drinking water limit values for sulfate concentration. Autotrophic denitrification performance highly depended on sulfur particle size. As the particle size of elemental sulfur granules decreased, the surface area increased, which also increased sulfur dissolution and denitrification performance. Under mixotrophic denitrification conditions, only a part of nitrate was reduced by autotrophic microorganisms and system was well operated without external alkalinity supplementation. Therefore, mixotrophic process can be effectively used for the denitrification of drinking water with high nitrate concentrations ($>30 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$). System performance was not adversely affected from arsenic even at $1000 \text{ }\mu\text{g/L}$ and arsenic left the column without being treated. The change of microbial community in the reactors was also determined.

Key Words: Autotrophic denitrification, mixotrophic denitrification, arsenic, drinking water denitrification

University of Kahramanmaraş Sutcu Imam

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Bioengineering and Science, Mayıs/ 2014

Supervisor: Prof. Dr. Özer ÇINAR

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Erkan Şahinkaya

Page number: 154

TEŞEKKÜR

“Kükürt Bazlı Ototrofik Denitrifikasyon Prosesi ile Arsenik İçeren İçme Sularında Nitrat Giderimi ve Mikrobiyal Popülasyon Dinamiğinin Belirlenmesi” isimli tez çalışmamda;

Danışmanlığımı yürüten, her konuda fikir ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Özer ÇINAR’a teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca büyük emekler sarf eden, değerli fikir, tecrübe, bilgi ve desteğiyle yanımda olan eş danışmanım Doç. Dr. Erkan ŞAHİNKAYA’ya şükranlarımı sunarım.

Maraş’ta bulunduğum süre zarfında hep yanımda olan manevi desteği, bilgi ve tecrübeleriyle bana kendimi yalnız hissettirmeyen değerli hocam Doç. Dr. İsmail AKYOL’a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarımın yürütülmesinde bana her türlü imkânını sağlayan CNR Araştırma grubuna, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi ÜSKİM müdürlüğüne, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Biyomühendislik Laboratuvarına ve Arş. Gör. Beste ÇALIMLIOĞLU’na teşekkür ederim.

Bu tez çalışması “Yeraltı Sularından Nitrat Giderimi için Elementel Kükürt Bazlı Ototrofik ve Miksotrofik Denitrifikasyonun İncelenmesi ve Arseniğin Proses Performansına Etkisinin İrdelenmesi” başlıklı TÜBİTAK projesinin (Proje No: 110Y256) bir bölümünü oluşturmaktadır. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteğiyle yanımda olan, eğitimim süresince beni destekleyen ve bugünlere gelmemde büyük emeği olan teyzem Hatun DAŞBAŞ’a sonsuz minnettarlıkla teşekkür ederim.

ARZU KILIÇ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
ABSTRACT	ОШИБКА! ЗАКЛАДКА НЕ ОПРЕДЕЛЕНА.
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. İçme Suları ve İçme Suyu Standartları	1
1.2. İçme Sularında Nitrat Kirliliği	2
1.3. Nitratın Sağlığa Etkileri	3
1.4. İçme Sularında Nitrat Giderim Metotları	6
1.4.1. Fiziko-kimyasal prosesler	7
1.4.1.1. İyon değiştirme prosesi	7
1.4.1.2. Ters osmoz prosesi	8
1.4.2. Biyolojik denitrifikasyon	10
1.4.2.1. Heterotrofik denitrifikasyon	11
1.4.2.2. Ototrofik denitrifikasyon	13
1.4.2.2.1. Hidrojen gazının elektron kaynağı olarak kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon	14
1.4.2.2.2. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon	16
1.4.2.2.3. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon ve heterotrofik denitrifikasyon proseslerinin birleştirilmesi (miksotrofik denitrifikasyon)	18
1.4.3. Biyolojik denitrifikasyonun avantaj ve dezavantajları	20
1.4.4. Biyolojik denitrifikasyonun mikrobiyolojisi ve stokiyometrisi	20
1.5. İçme Sularında Arsenik Kirliliği	23
1.6. Arseniğin Sağlığa Etkileri	25
1.7. İçme Sularında Arsenik Kirliliği ve Denitrifikasyon	27
1.8. Çalışmanın Amacı	29
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	30
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Deneysel Plan	37
3.2. Kullanılan Reaktörler ve İşletme Koşulları	43
3.2.1. Deney Seti - 1A'da kullanılan sürekli akışlı kolon reaktörler	43
3.2.2. Deney Seti-1C'de kullanılan kesikli reaktörler	44
3.2.3. Deney Seti-2B'da kullanılan sabit yataklı kolon reaktörler ve işletme koşulları	46
3.2.4. Deney Seti-2C'de kullanılan akışkan yataklı reaktörler	48
3.3. Aşı Bakterisi	48
3.4. Dolgu Malzemesi	49

3.5.	Besin Çözeltisi.....	49
3.6.	Numune Alma ve Hazırlama	50
3.7.	Analiz Metotları.....	51
3.7.1.	pH.....	51
3.7.2.	Sıcaklık.....	51
3.7.3.	Alkalinite	51
3.7.4.	Toplam sertlik analizi	52
3.7.5.	Sülfür Tayini	54
3.7.6.	Nitrat, Nitrit ve Sülfat Tayini	54
3.7.7.	TÇOK (Toplam Çözünmüş Organik Karbon) Tayini	54
3.7.8.	Arsenik tayini	55
3.7.9.	Mikroorganizma popülasyonunun belirlenmesi	55
3.7.9.1.	DNA izolasyonu	56
3.7.9.2.	Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	56
3.7.9.3.	Denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE)	58
3.7.9.4.	Nükleotit analizleri	60
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	62
4.1.	Kükürt Bazlı Ototrofik Denitrifikasyon Performansına Kükürt ve CaCO ₃ Oranının, HRT ve NO ₃ -N konsantrasyonun Etkisi	62
4.1.1.	Farklı HRT değerlerinin denitrifikasyona etkisi	63
4.1.2.	Farklı NO ₃ -N konsantrasyonlarının denitrifikasyona etkisi.....	64
4.1.3.	Kolon reaktörlerde pH, alkalinite ve sertlik değişimleri	67
4.1.4.	Kolon reaktörlerde gaz oluşumu ve ÇOK parametrelerinin değerlendirilmesi	70
4.2.	Kesikli Reaktörlerde Denitrifikasyon Kinetiğinin Belirlenmesi	71
4.2.1.	NO ₃ -N kinetiğinin belirlenmesi	71
4.2.2.	NO ₂ -N kinetiğinin belirlenmesi	79
4.3.	Kolon Reaktörde Miksotrofik Denitrifikasyon Koşullarının Oluşturulması	85
4.4.	Kolon Reaktörlerde Arseniğin Denitrifikasyon Performansına Etkisi	86
4.5.	AYR reaktörlerde Arseniğin Denitrifikasyon Performansına Etkisi.....	90
4.6.	Ototrofik ve Miksotrofik Koşullarda Kolon Reaktörlerde Sülfat, Alkalinite ve Sertlik Konsantrasyonlarının Değişimi	91
4.7.	Mikroorganizma Popülasyon Dinamiğinin Belirlenmesi	96
4.7.1.	HRT'nin mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi	98
4.7.1.1.	16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu.....	98
4.7.1.2.	DGGE ve Nükleotit sonuçları	99
4.7.2.	NO ₃ -N konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi	104
4.7.2.1.	16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu.....	104
4.7.2.2.	DGGE ve Nükleotit sonuçları	105
4.7.3.	Metanol konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi.....	107
4.7.3.1.	16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu.....	107
4.7.3.2.	DGGE ve Nükleotit sonuçları	108

4.7.4.	Arsenik (III) konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi	112
4.7.4.1.	16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu.....	112
4.7.4.2.	DGGE ve Nükleotit sonuçları	113
4.7.5.	Arsenik (III) konsantrasyonunun akışkan yataklı reaktörlerde mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi	120
4.7.5.1.	16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu.....	120
4.7.5.2.	DGGE ve Nükleotit sonuçları	121
5.	SONUÇLAR	125
	KAYNAKLAR.....	129
	ÖZGEÇMİŞ.....	135

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

EPA:	Amerika birleşik devletleri çevre koruma ajansı
WHO :	Dünya sağlık örgütü
TSE:	Türk standartları enstitüsü
KOİ:	Kimyasal oksijen ihtiyacı
NO₃-N:	Nitrat azotu
NO₂-N:	Nitrit azotu
SO₄ :	Sülfat
As(III) :	Arsenit
As(V):	Arsenat
DNA:	Deoksiribonükleik asit
AYR:	Akışkan yataklı reaktör
UAKM:	Uçucu askıda katı madde
HRT:	Hidrolik bekleme süresi
SLAD:	Kükürt/kireçtaşı ototrofik denitrifikasyon prosesi
PRB:	Reaktif geçirgen bariyer
MBfR:	Membran biyofilm reaktör
H₂S:	Hidrojen sülfür
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
DGGE:	Denatüre gradyan jel elektroforezi
rRNA:	Ribozomal ribonükleik asit
APS:	Amonyum persülfat
TEMED:	Tetramethylethylenediamide
TAE:	Tris asetik asit EDTA
DNTP:	Deoksinükleotit trifosfat
q :	Spesifik substrat tüketim hızı, mg/g.gün
q_m:	Maksimum spesifik substrat tüketim hızı, mg/g.gün
K_s :	Yarı doygunluk hız sabiti, mg/L
S :	Substrat konsantrasyonu, mg/L

SMDDC: Batık mikrobiyal arıtım ve denitrifikasyon hücresi

CaCO₃: Kalsiyum karbonat

ÇOK: Çözünmüş organik karbon

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

IC: İyon kromatografi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Nitrat iyonunun yapısı	2
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan kolon reaktörler	43
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan kesikli reaktörler	45
Şekil 3.3. Kesikli reaktörlerde farklı $\text{NO}_3\text{-N}$ ve $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonlarında denitrifikasyon kinetiğini araştırmak üzere kurulan reaktörler	46
Şekil 3.4. Elementel kükürt (1,5-4,0 mm) ile doldurulmuş akışkan yataklı kolon (AYR) reaktör fotoğrafları	48
Şekil 3.5. PCR çalışma koşulları	57
Şekil 3.6. DGGE Bio-Rad Dcode Universal Mutation Detection System(Bio-Rad, Hercules, CA, USA).....	59
Şekil 4.1. Kolon reaktörlerde giriş ve çıkış $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, sülfat değişimleri.....	65
Şekil 4.2. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde kükürt / CaCO_3 oranının denitrifikasyona etkisi ve nitrat giderim hızları (g/L.gün).....	67
Şekil 4.3. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde giriş ve çıkışta alkalinite (A), sertlik (B) ve pH (C) değişimleri	69
Şekil 4.4. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde gaz ölçümü.....	70
Şekil 4.5. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde ÇOK değişimi	71
Şekil 4.6. 10 (A), 15 (B) ve 25 (C) mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri.....	73
Şekil 4.7. 50 (A), 75 (B) ve 100 (C) mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri.....	74
Şekil 4.8. Spesifik denitrifikasyon hızı ile nitrat konsantrasyonunun değişimi	77
Şekil 4.9. Kesikli reaktörlerde nitrat giderim hızının nitrat konsantrasyonu ile değişimi ve verilere uydurulan Monod modelinin kıyaslanması	78
Şekil 4.10. 10 (A), 15 (B) ve 25 (C) mg/L $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri.....	80
Şekil 4.11. 50 (A), 75 (B) ve 100 (C) mg/L $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri	81
Şekil 4.12. Spesifik denitrifikasyon hızı ile nitrat konsantrasyonunun değişimi	83
Şekil 4.13. Nitrat ve nitrit giderim hızlarının kıyaslanması	84
Şekil 4.14. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve sülfat değişimleri	88
Şekil 4.15. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde Nitrat Giderim ve Yükleme Hızı.....	89
Şekil 4.16. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde giriş ve çıkış arsenik değerleri	91
Şekil 4.17. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde Alkalinite (A) , Sertlik (B) ve pH (C) değişimleri	93
Şekil 4.18. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde giriş ve çıkış ÇOK konsantrasyonu	94
Şekil 4.19. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde oluşan gaz miktarı.....	95
Şekil 4.20. Reaktörlerden bakteri numunesinin alındığı noktalar (Noktalar arası uzaklık 10 cm'dir).	96
Şekil 4.21. HRT 12 saat ve 9 saat'te kolon reaktörlerdeki mikroorganizmaların PCR amplifikasyon görüntüsü (Çizelge 4.8.).....	98
Şekil 4.22. HRT 6 saat ve 3 saat'te kolon reaktörlerdeki mikroorganizmaların PCR amplifikasyon görüntüsü (Çizelge 4.8.).....	99

Şekil 4.23.	HRT 12, 9, 6 ve 3 saat için PCR ürünlerinin DGGE görüntüleri.....	101
Şekil 4.25.	Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO ₃ -N konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).	104
Şekil 4.26.	Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO ₃ -N konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü.....	105
Şekil 4.27.	Kolon reaktör 3'te mikсотrofik koşulların öncesi ve sonrasında bakterilerin PCR görüntüsü.....	108
Şekil 4.28.	Kolon reaktör 3'te mikсотrofik koşulların öncesi ve sonrasında bakterilerin DGGE görüntüsü	109
Şekil 4.29.	Kolon reaktörlerde 100 ve 200 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).	112
Şekil 4.30.	Kolon reaktörlerde 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).	113
Şekil 4.31.	Kolon reaktörlerde 100 ve 200 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar.....	114
Şekil 4.32.	Kolon reaktörlerde 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar.....	115
Şekil 4.33.	Akışkan yataklı reaktörlerde (AYR) PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).	120
Şekil 4.34.	Akışkan yataklı reaktörlerde (AYR) DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar	121

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1.TSE 266, WHO ve Sağlık bakanlığı İnsani Tüketim amaçlı Sular Yönetmeliğine göre içme suyu standartları (Varol ve ark., 2008)	5
Çizelge 1.2. Nitrat giderim metotları.....	9
Çizelge 1.3. Önemli karbon kaynakları ile heterotrofik denitrifikasyonun sitokiyometrik ilişkisi	12
Çizelge 1.4. Biyolojik nitrat giderme prosesleri ve verimleri	16
Çizelge 1.5. Ototrofik denitrifikasyon için sitokiyometrik eşitlikler.....	22
Çizelge 1.6. 200 gün işletilen kolon reaktörlerde yapılan moleküler çalışmalar sonucunda belirlenen mikroorganizma türleri (Koenig ve ark., 2005).	23
Çizelge 1.7. İçme suyunda arsenik konsantrasyonuna bağlı olarak kanser riski oranları ...	27
Çizelge 3.1. Deneysel Plan	38
Çizelge 3.2. Sürekli akışlı kolon reaktörlerin işletme koşulları	44
Çizelge 3.3. Sabit yataklı kolon reaktörlerin işletme koşulları.....	47
Çizelge 3.4. Geri devirli akışkan yataklı reaktörlerin işletme koşulları	49
Çizelge 3.5. Kuyu suyundan temin edilen musluk suyu analiz sonuçları	50
Çizelge 3.6. PCR içeriği	57
Çizelge 3.7. Denatürant miktarları	59
Çizelge 4.1. Sürekli akışlı kolon reaktörlerdeki işletme koşulları.....	62
Çizelge 4.2.Literatürde yer alan kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon proseslerinin kıyaslanması	66
Çizelge 4.3. Kesikli reaktörlerde farklı nitrat konsantrasyonlarında üretilen ve teorik olarak hesaplanan sülfat konsantrasyonlarının kıyaslanması.....	75
Çizelge 4.4. Farklı başlangıç nitrat konsantrasyonlarında yapılan kinetik çalışmalara ait veriler	76
Çizelge 4.5. Nitrat giderimi için Şekil 4.9’de verilen Monod Modeline ait kinetik katsayıları	78
Çizelge 4.6. Farklı başlangıç nitrit konsantrasyonlarında yapılan kinetik çalışmalara ait veriler	82
Çizelge 4.7. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR’lerin işletme koşulları	87
Çizelge 4.8. Sürekli akışlı ve AYR reaktörlerden alınan mikroorganizma örnekleri.....	97
Çizelge 4.9. Değişen HRT koşullarında kolon reaktörlerde DGGE bantlarından elde edilen sekans sonuçları.....	102
Çizelge 4.10. Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO ₃ -N konsantrasyonlarında DGGE’den elde edilen sekans sonuçları	106
Çizelge 4.11. Miksotrofik koşullar öncesi ve sonrasında Kolon reaktör 3’ten alınan bakterilerden elde edilen sekans sonuçları	111
Çizelge 4.12. Kolon reaktörlerde 100, 200, 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların sekans sonuçları	117
Çizelge 4.13. Akışkan yataklı reaktörler (AYR)’de sekans sonuçları.....	125

1. GİRİŞ

Su insan yaşamı için vazgeçilmez bir besindir. İnsan vücudunun %70'ini oluşturan su, sadece besin maddesi olarak değil günlük yaşamın her aşamasında temizlik, beslenme, tarımsal sulama ve endüstriyel amaçlı kullanılmaktadır. Tüm bunların yanı sıra su, doğada bulunan en iyi çözücü madde olma özelliğine de sahiptir. Bu özelliği ile kirleticiler içinde iyi bir taşıyıcı görevi de yapmaktadır. Tüm su kaynaklarının yaklaşık %2.66'sı temiz sudur (yeraltı suyu, göller, nehirler ve kutuplarda ki buzullar); ancak küçük bir kısmı (%0,6) içme suyu kaynağı olarak kullanıma uygundur (Tuğrul, 2006). Bu nedenle sınırlı olan tatlı su kaynaklarının kalitesinin korunması çok büyük önem taşımaktadır.

1.1. İçme Suları ve İçme Suyu Standartları

Su, doğal halinde içerisinde pek çok çözünmüş madde, katı partikül, canlı ve cansız organizma içerir. İnsanlar, yaşamsal ve ekonomik gereksinimleri için suyu hidrolojik çevrim denilen bir döngüden alır ve kullandıktan sonra çevrime geri verirler. Bu işlevler sırasında suya geçen maddeler suyun kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerinin değişmesine yol açarlar ki, bu olay su kirliliği olarak adlandırılır. Kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerin değişmesi, sucul ekosistemin doğal dengesinin bozulmasına, giderek doğadaki tüm suların sahip oldukları özümleme (asimilasyon) ve kendi kendini temizleme kapasitesinin azalmasına veya yok olmasına yol açabilir (Akkurt ve Şendil, 2002).

Amerika Birleşik Devletleri çevre koruma ajansı (EPA), Dünya sağlık örgütü (WHO) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE) içme sularında aynı standartları kabul etmektedir. İçme sularının renksiz, berrak olması, hastalık yapıcı organizmaları, zararlı kimyasal maddeleri ihtiva etmemesi ve agresif olmaması gerekir. Bu bağlamda suyun içme suyu olarak tanımlanabilmesi için aşağıda verilen tanımlamalara uygun olması gerekir.

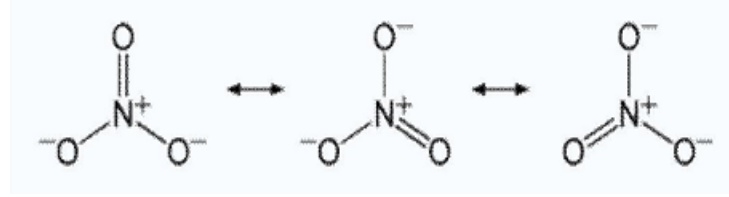
İçme suyu, hastalık yapıcı mikroorganizmalar içermemeli, kokusuz, renksiz, berrak ve içimi hoş olmalı, içeriğinde fenoller, yağlar gibi suya kötü koku ve tat veren maddeler bulunmamalı, yeterli derecede yumuşak olmalı, ne aşındırıcı olmalı, ne de taş yapmalıdır. Ayrıca hidrojen sülfür, demir ve mangan gibi elementleri ihtiva etmemelidir (web-1).

Ayrıca suda sağlığa zararlı kimyasal maddeler bulunmamalıdır. Bazı kimyasal maddeler zehirli etki yapabilir; arsenik, kadmiyum, krom, kurşun, civa gibi. Bunun yanında baryum, nitrat, florür, radyoaktif maddeler, amonyum, klorür gibi maddeler sınır değerlerinin üzerinde sağlığa olumsuz etkileri olan maddelerdir. Özellikle amonyum, NO₃-N ve NO₂-N

gibi maddelerin varlığı, suya kirli suların karıştığının göstergesidir. Sularda kullanılabilirlik şartlarını sağlamak ve suda bulunması arzu edilmeyen maddeleri belirli bir seviyenin altında tutmak için çeşitli standartlar geliştirilmiştir. TS- 266'ya göre içme suyu standartları aşağıda Çizelge 1.1.de verilmiştir.

1.2. İçme Sularında Nitrat Kirliliği

İçme sularında varlığı sağlık açısından sakıncalı olan nitrat iyonu, ampirik formülü NO_3 ile ifade edilen çok atomlu bir iyondur ve molekül ağırlığı 62,0049'dir. Organik kimyada, nitrik asit ve bazı alkollerin esterlerine nitrat adı verilir. Nitrat iyonları 3 farklı yapıda olabilirler (Şekil 1.1). Yer altı suları ve içilebilir su kaynaklarında nitrat, makul konsantrasyonlarda bulunabilir. EPA, WHO ile dünyada, TS 266 standardı ile ülkemizde, $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonunun içme ve kullanma sularında sınır değeri, 10 mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 1.1. Nitrat iyonunun yapısı

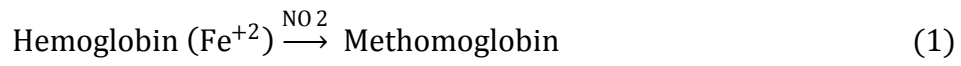
Nitrat, atık suların deşarjı ve gübre kullanımına bağlı olarak yeraltı sularında, yüksek değerlere çıkarak bir kirlenici haline almaktadır. Genel olarak yoğun tarım yapılmayan alanlardaki sularda göreceli olarak daha düşük; tarımsal faaliyetlerin yoğun olduğu alanlarda ise daha yüksek nitrat konsantrasyonları gözlenmektedir. Nitrat bulunduğu su kaynaklarının rengine, kokusuna veya tadına herhangi bir etki etmemektedir. Bu nedenle bu yollarla kirlenmenin görülmesi imkânsızdır. Geçmişteki çalışmalar birçok ülkede yeraltı suyunda nitrat konsantrasyonunun hızında artış olduğunu göstermektedir. EPA 1992'de 43.500 küçük çocuğun da bulunduğu yaklaşık olarak 3 milyon insanın kabul edilebilir seviye olan 10 mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ 'den fazla nitrat içeren yeraltı suyunu içtiğini göstermiştir. Danimarka ve Hollanda'da yeraltı sularındaki nitrat konsantrasyonunun yılda 0,2–1,3 mg- N/L gibi yüksek bir hızda artmakta olduğu rapor edilmiştir (Tuğrul, 2006). ABD'de su kaynağı olarak kullanılan kuyuların %10 ile 25'inde maksimum sınır olan 10 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ aşılmış durumdadır. Çin'de ise durum daha kötü olup, bazı bölgelerde yer altı suyunda

nitrat konsantrasyonu 130 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ 'den daha fazladır (Liu ve ark., 2009). Ülkemizde ise durum farklı değildir. Şanlıurfa, Harran ovasında yapılan bir çalışmada (Yeşilnacar ve ark., 2008) 24 kuyudan bir yıl boyunca alınan su numunelerinde nitrat takip edilmiş olup, konsantrasyonların oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bazı kuyularda nitrat konsantrasyonunun 180 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ 'e kadar yükseldiği ve tüm ovada ortalama nitrat konsantrasyonunun 35 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ olduğu belirtilmiştir.

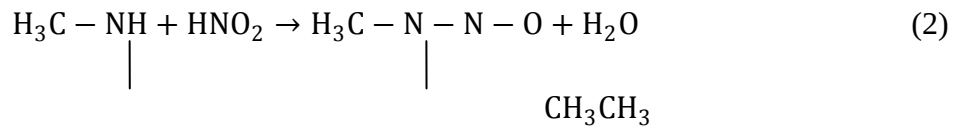
1.3. Nitratın Sağlığa Etkileri

İnsanlarda nitratın bilinen en yaygın toksik etkisi yenidoğanlarda meydana getirdiği methemoglobinemi ve buna bağlı olarak mavi bebek (blue-baby) hastalığıdır. Çocuklarda methemoglobinemiye neden olan birçok madde arasında nitrat ve bizmut subnitrat sıklık bakımından ilk iki sırayı almaktadır. Yetişkinlerde nitrat alımına bağlı methemoglobin gelişimine rastlanmamıştır. Yaşamın ilk üç ayında gastrik asit salgısı yetersiz olduğundan mide pH'sı alkalidir ve bakteriler burada kolayca üreyebilirler.

Üst gastrointestinal bölümde üreme olanağı bulan bu bakteriler nitratı indirgeyerek $\text{NO}_2\text{-N}$ oluşumuna neden olurlar, daha sonra kana geçen $\text{NO}_2\text{-N}$, hemoglobinle birleşerek methemoglobin oluşturur. Bu hemoglobin tipinde demir oksitlenerek ferroz (Fe^{2+}) halden ferrik (Fe^{3+}) hale dönüşür [reaksiyon (1)] (Della Rocca ve ark., 2007). Methemoglobin oksijen taşıma kapasitesine sahip değildir. Methemoglobin oranı %5-10 arasında iken dudaklarda ve tırnak yataklarında siyanoz meydana gelir. Methemoglobin oranı %20'ye ulaşana dek hastalar asemptomatik kalabilirler, bu seviyeden sonra siyanoz şiddetlenir, hipoksiye bağlı semptomlar belirginleşir ve %44 methemoglobin düzeyinde ölüm meydana gelir. Yenidoğan döneminde meydana gelen methemoglobinemilerde ölüm oranının %8-10 olduğu tahmin edilmektedir (Liu ve ark., 2009), (web-2) Yenidoğan dönemindeki methemoglobiden sonra, nitrat ve $\text{NO}_2\text{-N}$ alımının meydana getirebileceği en önemli etki şüphesiz kanser oluşumudur[Reaksiyon (2)](Della Rocca ve ark., 2007). Bu olasılıkları ortadan kaldırmak için içme suyundan $\text{NO}_3\text{-N}$ ve $\text{NO}_2\text{-N}$ 'in giderilmesi konusunda çalışmaların yapılması gerekmektedir.



(Oksijen ile birleşebilir) (Oksijenle birleşemez)



(Dimetil Amin) (Dimetil Nitrosoamin)

Çizelge 1.1. TSE 266, WHO ve Sağlık bakanlığı İnsani Tüketim amaçlı Sular
Yönetmeliğine göre içme suyu standartları (Varol ve ark., 2008)

Madde İsmi	TSE 266	Sağlık Bakanlığı İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik			WHO
	Müsaade edilebilen değer	Maksimum değer	Parametrik değer	Tavsiye edilen konsantrasyon sınırı (mg/L)	
Zehirli maddeler					
Kurşun (Pb)	-	0,05 mg/L	10 µg/L	0,05	
Selenyum (Se)	-	0,01 mg/L	10 µg/L	0,01	
Arsenik (As)	-	0,05 mg/L	10 µg/L	0,05	
Krom (Cr)	-	0,02 mg/L	50 µg/L	0,05	
Sağlığa etki eden maddeler					
Florür (F)	1 mg/L	1,5 mg/L	1,5 mg/L	1,4-2,4	
Nitrat (NO ₃)	-	45 mg/L	50 mg/L	45	
İçilebilme özelliğine etki eden faktörler					
Renk	5 birim	50 birim	-	50 birim	
Bulanıklık	5 birim	25 birim	-	25 birim	
Koku ve tat	kokusuz	kokusuz	kokusuz	Kokusuz	
Buharlaşma kalıntısı	500 mg/L	1500 mg/L	-	normal	
Demir(Fe)	0,3 mg/L	1 mg/L	200 µg/L		
Mangan (Mn)	0,1 mg/L	1,5 mg/L	50 µg/L	0,3 mg/L	
Bakır (Cu)	1 mg/L	1,5 mg/L	2000 µg/L	0,05 mg/L	
Çinko (Zn)	5 mg/L	15 mg/L	-	1 mg/L	
Kalsiyum (Ca)	75 mg/L	200 mg/L	-	5 mg/L	
Magnezyum (Mg)	50 mg/L	150 mg/L	-	75-200 mg/L	
Sülfat (SO ₄)	200 mg/L	400mg/L	250 mg/L	250 mg/L	

Çizelge 1.1. devamı

Madde İsmi	TSE 266	Sağlık Bakanlığı İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik			WHO
	Müsaade edilebilen değer	Maksimum değer	Parametrik değer	Tavsiye edilen konsantrasyon sınırı (mg/L)	
Klorür (Cl)	200 mg/L	600mg/L	250 mg/L	250 mg/L	
pH	7-8,5	6,5-9,2	6,5-9,2	6,5-9,2	
Bakiye klor	0,1 mg/L	0,5 mg/L	-		
Fenolik maddeler	-	0,002 mg/L	-	0,001-0,002 mg/L	
Kirlenmeyi belirten maddeler					
Toplam organik madde	3,5 mg/L	-	-	-	
Nitrit	-	-	0,5 mg/L	-	
Amonyak	-	-	0,5 mg/L	-	

1.4. İçme Sularında Nitrat Giderim Metotları

İçme suyu ve yer altı su kaynaklarındaki nitrat düzeyinin azaltılmasına yönelik başlıca iki yaklaşım bulunmaktadır.

- Suya nitrat transferinin önlenmesi,
- Nitratın sulardan uzaklaştırılması ya da sulardaki nitrat düzeyinin azaltılması (Akkurt ve Şendil, 2002).

Suya nitrat transferinin önlenmesi, öncelikle suda nitrat kirlenmesine yol açan nedenlerin ortaya konması, buna sebebiyet veren uygulamalar konusunda insanların eğitimi ve bilinçlendirilmesi ile olabilir. Suların kirlenmemesi kirlendikten sonra kirleticilerin uzaklaştırılmasından daha kolay ve ekonomik bir uygulamadır ancak uygulanabilirlik açısından zordur. Bu nedenle sulardan nitrat giderimi ve uzaklaştırılması uygulamaları daha fazla üzerinde durulan bir konudur. Nitrat gideriminde kullanılan arıtma prosesleri; fiziko-kimyasal prosesler ve biyolojik arıtma yöntemleri olarak iki'ye ayrılmaktadır.

1.4.1. Fiziko-kimyasal prosesler

Suya nitrat transferinin önlenmesi veya giderimi arasındaki tercih tamamen ekonomik nedenlere göre belirlenmektedir. Nitratin içme ve yeraltı sularından gideriminde uygulanan metotlar çoğunlukla iyon değiştirme, ters osmoz, ve elektrodializ gibi fiziko-kimyasal proseslerdir. Bu arıtma yöntemleri daha çok ileri arıtım metotları olarak karşımıza çıkmaktadır.

1.4.1.1. İyon değiştirme prosesi

İyon değiştirme metodu, sudan nitrat gideriminde yaygın kullanılan bir metottur (Darbi, 2003). Metodunun prensibi, su veya atık su bünyesindeki istenmeyen anyon veya katyonların uygun bir anyon veya katyon tipi iyon değiştirici kolonda tutulmasıdır. İyon değişimi sağlayan maddeler; alüminyum silikat, zeolit, sentetik reçineler ve sülfolanmış karbonlu maddelerdir. Nitrat içeren su reçineden geçtiğinde, nitrat iyonları, zamanla reçineye bağlı klorür ve karbonat iyonları ile yer değiştirir. Reçinenin rejenerasyonu sodyum klorür veya sodyum karbonat gibi tuz çözeltileri ile yapılır (Darbi, 2003). Saf su üretimi için kullanılan anyon değiştirme reçineleri nitrat giderimi içinde kullanılabilir ancak bunun bazı dezavantajları bulunmaktadır:

- a) Sodyum klorür ile yapılan rejenerasyon sonucu, suda artan klorür iyonları, bikarbonat iyonları ile birleştiğinde dağıtım sisteminde korozyona yol açabilir.
- b) Düşük nitrat giderim kapasitesi yüksek hacimde atık rejenerant ve fazla tuz gereksinimine sebep olabilir (Böke, 2008).

Bu dezavantajların yanı sıra, iyon değiştirme prosesi yağ, gres, demir mangan alüminyum ve klorlu organiklere karşı duyarlıdır. Su içerisinde bulanabilecek çamur veya kum reçinenin değişim mekanizmasını inhibe eder. Tüm bu faktörler düşük kalite nitrat giderimine, reçinenin ömrünün azalmasına ve düşük akış oranına sebep olabilir.

İyon değiştirme prosesi, nitrat giderimi için kullanılmakla birlikte yüksek sülfat içeren sularda, reçinenin sülfatın etkisiyle hızlı bir şekilde tükenmesi prosesin etkinliğini azaltmaktadır. Prosesin bu tür dezavantajları, bazı modifikasyonlar ile elimine edilebilmektedir. Reçinenin rejenerasyonunda kullanılan tuzlu su içeriğinde yer alacak olan Ca ve Ba, sülfatın $\text{CaSO}_{4(k)}$ ve $\text{BaSO}_{4(k)}$ olarak çökmesini sağlayabilmektedir. Böylelikle reçine ömrü uzatılabilmektedir (Kim ve ark., 2004).

İyon değiştirme, daha etkin bir arıtım için membran biyoreaktörler veya adsorpsiyon prosesi ile birlikte kombine kullanılabilir. Bu tür iyon değiştiren membranlar biyolojik denitrifikasyon prosesinde de kullanılabilir (Fonseca ve ark., 2000).

Genel olarak iyon değiştirme prosesinin avantaj ve dezavantajları aşağıda verildiği şekilde özetlenebilir.

Avantajları

- a) Giderilmek istenen kirleticiye göre çalışabilir.
- b) Kısa temas süresi yeterlidir.
- c) İz miktardaki kirletici konsantrasyonlarına karşı duyarsızdır.
- d) ıkışta kirletici madde kalma olasılığı çok dūřuktur.
- e) Kirleticilere özel çok çeşitli reçineler bulunabilmektedir.
- f) Rejenerantlar kirletici giderimine gerek kalmaksızın tekrar kullanılabilirler.

Dezavantajları

- a) Tek yatak kullanıldığında, iyonlarla ilgili çıkış kalitesi değişkendir.
- b) Yüksek konsantrasyonlardaki sülfat ve çözünmüş organik katılar içeren sular için uygulanabilir değildir.
- c) Yüksek hacimlerde suların arıtımında, kullanılan rejenerantın bertarafı zor olmaktadır.

1.4.1.2. Ters osmoz prosesi

Bir diğer nitrat giderim yöntemi olan Ters Osmoz (TO) ise içme ve yer altı sularından nitrata etkin bir şekilde ayırabilen fiziko-kimyasal proseslerden biridir. Ancak TO yöntemiyle sadece nitrat değil tüm çözünmüş katılar ayrılmaktadır. TO, suda bulunan iyonları yarı geçirgen bir membrandan geçirerek ayıran bir yöntemdir (Darbi, 2003). Bu proses, suda yüksek osmotik basına karşı, TO hücresinde basının sağlanmasıyla gerçekleştirilir. Proseste genellikle selüloz asetat membranlar kullanılmasına karşın, poliamid ve kompozit membranlardan yapılmış membranlarda kullanılmaktadır. TO'da kullanılan membranların en yaygın problemleri ise, sık kirlenme, sıkıştırma ve zamanla bozulmadır. Bu problemler çoğunlukla çözünebilir maddeler, organik madde birikimi,

koloidal partikülle, diğer kirleticiler ile pH değişimleri ve klora maruz kalmaktan kaynaklanmaktadır (Böke, 2008).

Son araştırmalara göre dünyada günlük üretilen arıtılmış suyun 25 milyon m³'ü tuzlu suların arıtılmasından elde edilmektedir (Gonzalez ve ark., 2012). TO yöntemi, özellikle kırsal bölgelerde yüksek tuzluluk ve nitrat içeren yer altı sularının arıtımında başarıyla kullanılmaktadır. Bu proses tuz içeriği yüksek sularda denitrifikasyonu gerçekleştirmek için diğer fiziko-kimyasal proseslere göre daha etkin ve uygulanabilirdir (Schoeman ve Steyn, 2003). TO, deniz suyunun yanı sıra acı suların arıtımında da etkili bir yöntemdir. Her iki su kaynağı arasındaki farklılıklar, su kaynaklarının tuz konsantrasyonu, katı madde içeriği, ters osmoz prosesinin gelişimi, uygulanması, tesis seçimini etkilemiştir (Greenlee ve ark., 2009).

Küçük ve orta ölçekli arıtma tesislerinde, denitrifikasyon amaçlanıyorsa, özellikle bu yöntemlerin uygulanabilirliğinin, biyolojik arıtma yöntemlerine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Nitrat giderim yöntemlerinin verimliliğinin karşılaştırılması Çizelge 1.3'de verilmiştir (Schoeman ve Steyn, 2003).

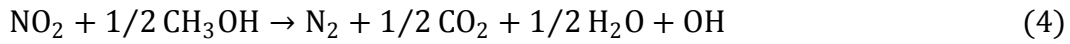
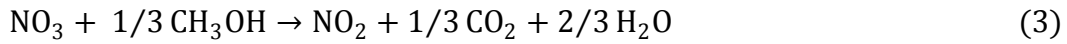
Çizelge 1.2. Nitrat giderim metotları

Nitrat Giderim Metotları	
Metot	Giderim verimliliği, %
Biyolojik denitrifikasyon	70-95
Alg ekimi	50-90
İyon değiştirme	80-99
Elektrodiyaliz	30-50
Kimyasal indirgenme	33-90
Ters osmoz	50-96
Damıtma	90-98
Arazi uygulamaları	5-15

Fiziko-kimyasal proseslerin çoğu bir kirleticiyi başka bir kirletici özelliği olan kimyasal maddelerle gidermek demektir ki, bu metotların hem işletme bakım maliyetleri yüksek, hem de düşük seçicilik özellikleri ve tuzlu atıksu üretimi ile uygulanabilirliği düşüktür. Bu metotlara alternatif bir metot olarak, nitrat gideriminde biyolojik denitrifikasyon metodu oldukça yaygın kullanılmaktadır. Fiziko- kimyasal yöntemlere göre hem ekonomik hem de uygulama yönünden pek çok avantajı bulunmaktadır. Büyük hacimlerde su ve atıksuların arıtılmasında da en çok tercih edilen proses biyolojik arıtım prosesidir.

1.4.2. Biyolojik denitrifikasyon

Anoksik koşullarda biyolojik olarak $\text{NO}_3\text{-N}$ 'nin $\text{NO}_2\text{-N}$ 'e sonuçta da moleküler azota (N_2) dönüşmesi olayı biyolojik denitrifikasyon olarak adlandırılmaktadır. Çözünmüş oksijenin "sıfıra yakın" olduğu ortamlarda; nitrat, fosfat ve sülfat gibi inorganik anyonlar elektron alıcısı olarak iş görmektedirler. Elektron verici olarak organik maddelerin, elektron alıcı olarak da NO_3 , PO_4 gibi maddelerin olduğu bir ortamda mikroorganizmalar enerjilerini bu tür elektron alıcılarını kullanarak kazanmaktadırlar. Denitrifikasyon iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ 'e dönüşür. İkinci basamakta ise $\text{NO}_2\text{-N}$, N_2 indirgenir. (Reaksiyon 3ve 4).



Değişik fakültatif heterotrofik mikroorganizmalar, 3 ve 4nolu denklemlerde belirtilen reaksiyonları gerçekleştirebilmekte; nitrifikasyonda olduğu gibi özel spesifik bakteri türlerine gereksinim duyulmamaktadır. Denitrifikasyon sonucunda ortama OH^- iyonları verilmektedir. Buda ortam pH'ını yükseltmektedir. Denitrifikasyonda optimum pH aralığı 6-7 dir. Bu nedenle asit baz dengesi ile pH kontrol edilmelidir.

Tam bir denitrifikasyonun gerçekleşmesi için;

- a) Elektron alıcısı olarak nitratın bulunması,
- b) Çözünmüş oksijenin bulunmaması,
- c) Fakültatif biyokütlenin bulunması,
- d) Elektron vericisi olarak organik maddenin bulunması,

- e) Hedeflenen nitrat azotunu giderebilmek için stokiyometrik olarak hesaplanan miktarda organik maddeye gereksinim duyulmaktadır.

Denitrifikasyonda kullanılan elektron vericisi;

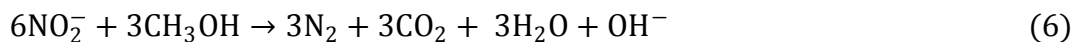
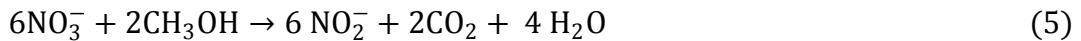
- a) Denitrifikasyon kademesine dışarıdan ilave edilen organik madde,
- b) Atıksudaki mevcut organik madde,
- c) Biyokütlenin içsel solunumu ile açığa çıkan organik madde gibi üç farklı kaynaktan sağlanabilmektedir (Çakıcı, 2007).

Biyolojik denitrifikasyon iki şekilde gerçekleşmektedir.

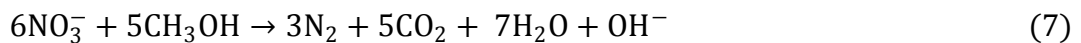
- a) Karbon ve enerji kaynağı olarak organik maddelerin kullanıldığı *heterotrofik denitrifikasyon*,
- b) Hücre sentezi için karbon kaynağı olarak inorganik karbonun, enerji kaynağı olarak da inorganik maddelerin kullanıldığı *ototrofik denitrifikasyon* (Darbi, 2003).

1.4.2.1. Heterotrofik denitrifikasyon

Heterotrofik denitrifikasyon, anoksik koşullar altında harici bir organik karbon kaynağı kullanarak, heterotrofik denitrifikasyon bakterileri tarafından gerçekleştirilir. Heterotrofik bakteriler, organik maddeyi elektron verici, nitratı ise elektron alıcı olarak kullanır ve nitratı sudan gidererek azot gazına dönüştürür (Darbi, 2003; Böke, 2008). Bu nedenle heterotrofik denitrifikasyon organik maddenin varlığında çok etkin bir nitrat giderme yöntemidir (Moon ve ark., 2006). Metanol, etanol, asetik asit, sıklıkla kullanılan elektron verici ve karbon kaynaklarıdır (Liu ve ark., 2009; Wan ve ark., 2009). Metanol kullanıldığında stokiyometrik olarak denitrifikasyon 7. denklemde verildiği şekilde gerçekleşir. Önemli karbon kaynakları ile heterotrofik denitrifikasyonun stokiyometrik ilişkisi Çizelge 1.3’de gösterilmektedir.



Tüm reaksiyon;



Nitratin azot gazına tam indirgenmesi için, $\text{KOİ}/\text{NO}_3\text{-N}$ oranı 3/6 olmalıdır (Böke, 2008). Burada NO_2 , N_2O gibi ara ürünlerin birikiminde karbon sınırlayıcı maddedir. Bu nedenle denitrifikasyon oranı karbon kaynağının tipine bağlı olmaktadır. Heterotrofik denitrifikasyonun içme suyundan nitrat gidermede kullanılabilmesi için dışarıdan karbon eklenmesi gerekmektedir. Bu amaçla çok farklı karbon kaynakları ile sistemi daha ekonomik hale getirebilmek için çalışmalar yapılmıştır. Genellikle, sıvı karbon kaynaklarının ham suya eklenmesi veya katı materyallerin mikroorganizma için hem tutunma yüzeyi hemde karbon kaynağı olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Literatür incelendiğinde yapılan çalışmaların çoğunluğunun karışık kültür (mix culture) dediğimiz milyonlarca çeşit mikroorganizma ihtiva eden çamurlar kullanılarak yapıldığı görülmüştür. Biyolojik denitrifikasyonun verimini artırmak için uygun karbon kaynağı seçiminin önemli olduğuna dikkat çeken araştırmacılar, aynı zamanda C/N oranının da verim üzerinde etkili olduğunu belirtmişlerdir (Ökmen ve Algur, 2000).

Çizelge 1.3. Önemli karbon kaynakları ile heterotrofik denitrifikasyonun stokiometrik ilişkisi

Karbon Kaynağı	Stokiometrik Eşitlik
Metanol	$6\text{NO}_3^- + 6\text{CH}_3\text{OH} + 1.304 \text{H}^+ \rightarrow 2.870 \text{N}_2 + 0.261 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 4.696 \text{HCO}_3^- + 9.391 \text{H}_2\text{O}$
Etanol	$0.6 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + \text{NO}_3^- \rightarrow 0.102 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0.714 \text{CO}_2 + 0.286 \text{OH}^- + 0.98 \text{H}_2\text{O} + 0.449 \text{N}_2$
Asetik asit	$0.819 \text{CH}_3\text{COOH} + \text{NO}_3^- \rightarrow 0.068 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + \text{HCO}_3^- + 0.301 \text{CO}_2 + 0.902 \text{H}_2\text{O} + 0.466 \text{N}_2$
Glikoz	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2.8 \text{NO}_3^- + 0.5 \text{NH}_4^+ + 2.3 \text{H}^+ \rightarrow 0.5 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 1.4 \text{N}_2 + 3.5 \text{CO}_2 + 6.4 \text{H}_2\text{O}$

Denitrifikasyon bakterisi olan *Paracoccus denitrificans* ve *Pseudomonas stutzeri* türleri kullanılarak farklı karbon kaynaklarının denitrifikasyon üzerine etkisini araştıran Ökmen ve Algur (2000), araştırmada karbon kaynağı olarak metanol, etanol ve asetik asit kullanmışlar ve C/N oranlarını 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 olarak uygulamışlardır. *Paracoccus denitrificans* türü için etanol ile C/N = 1 uygulamasından % 40, *Pseudomonas stutzeri* için de asetik asit ile C/N = 1 uygulamasından % 59 verim elde etmişler ve nitrat gideriminde

daha çok *Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Bacillus* ve *Thiobacillus* türlerinin etkili olduğunu belirtmişlerdir (Ökmen ve Algur, 2000).

Heterotrofik denitrifikasyon, sudan nitrat gideriminde etkili bir yöntem olmasına karşın organik madde ilavesi gerektirmesi, bunun sonucunda maliyetin artması ve çıkışta kalıntı organik maddenin oluşu sistemin başlıca dezavantajlarından. Nitrat ve organik maddenin tamamen giderilebilmesi için eklenmesi gereken organik madde miktarını belirlemek çok zordur. Gerekli organik madde miktarı nitrat konsantrasyonuna ve bakteri dönüşüm katsayısına (yield coefficient) bağlı olup, ortam şartlarıyla ve reaktör işletim parametreleriyle değişmektedir. Organik madde stokiyometrik olarak gerekli değerden daha az eklenirse, çıkış suyunda $\text{NO}_2\text{-N}$ birikimi gözlenebilir. Bu da bir kirleticiyi daha zararlı bir forma dönüştürmek demektir. Organik maddenin fazla eklenmesi durumunda ise, çıkış suyunda organik madde gözlenmekte olup dezenfeksiyonda klorlu organik madde oluşumuna neden olacağından giderilmesi gereklidir (Liu ve ark., 2009). Çıkışta organik madde kalmaması için organik maddenin sınırlı verilmesi durumunda, yukarıda açıklandığı üzere, hem denitrifikasyon kinetiği düşebilir, hem de $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonu artabilir. Avrupa Birliği'ne göre $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonu için maksimum sınır değer 0,1 mg/L $\text{NO}_2\text{-N}$ olup, bu değer maksimum nitrat konsantrasyonundan 100 kat daha düşüktür. ABD'de ise, $\text{NO}_2\text{-N}$ için maksimum sınır değer daha yüksek olup 1 mg/L $\text{NO}_2\text{-N}$ 'dir. Dolayısıyla, çıkışta organik madde konsantrasyonunu düşük tutmak için organik maddenin sınırlı olarak verildiği heterotrofik denitrifikasyon proseslerinde genellikle çıkış $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonu sınır değerinin üzerinde kalmaktadır. Heterotrofik denitrifikasyonun bahsedilen bu dezavantajları, prosesin in-situ ve ex-situ arıtımda uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır. Bu nedenle sudan nitrat gideriminde daha ucuz ve daha avantajlı olan ototrofik denitrifikasyon prosesi tercih edilebilir (Liu ve ark., 2009; Rittmann ve McCarty, 2001).

1.4.2.2. Ototrofik denitrifikasyon

Thiobacillus denitrificans ve *Thiomicrospira denitrificans* gibi ototrofik bakterileri nitratı azot gazına indirgeyebilme yeteneğine sahiptirler. Ototrofik denitrifikasyon mikroorganizmaları enerji kaynağı ve elektron verici olarak hidrojen, kükürt gibi elementleri, karbon kaynağı olarak da inorganik bileşikler (CO_2 , HCO_3 gibi) kullanırlar. Bu sebeple elektron verici kaynağına göre ototrofik denitrifikasyon prosesini hidrojene dayalı ve kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi olarak iki bölüme ayırmak mümkündür. Çizelge 2.3.'de önceki çalışmalardan derlenmiş hidrojen ve kükürt kullanılan

ototrofik denitrifikasyon çalışmaları ile farklı karbon kaynakları kullanılmış heteretrofik denitrifikasyon çalışmalarına yer verilmiştir (Darbi., 2003).

1.4.2.2.1. Hidrojen gazının elektron kaynağı olarak kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon

Hidrojenin elektron verici olarak kullanıldığı denitrifikasyon çalışmaları genellikle sabit-yataklı (fixed-bed) veya akışkan yataklı reaktörlerde çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda, genellikle hidrojen gazı sisteme direk olarak basınç ile kabarcıklı şekilde verilmektedir. Fakat bu sistemlerde, ihtiyaçtan daha fazla elektron verici verilmekte olduğundan, yanıcı bir atmosfer oluşturabilmektedir. Bu nedenle; son zamanlarda, kabarcık oluşturmadan suya hidrojen gazını verebilen membran biyofilm reaktörler kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistemlerde, gaz bir membran ile sisteme verilir. Membran bir difüzör gibi davranarak kabarcık oluşturmadan hidrojeni sisteme verir. Bakteriler membran yüzeyinde gelişerek sisteme gelen gazı kullanır ve yanıcı bir atmosfer oluşumu engellenir. Ayrıca, elektron verici ihtiyaç miktarına göre verildiğinden bu sistemler daha ekonomik olabilmektedir (Rittmann ve McCarty, 2001).

Membran biyofilm reaktör çalışmalarında, yüksek denitrifikasyon performansları gözlenmiş olup, ABD standardı olan 10 mg/L NO₃⁻N ve 1 mg/L NO₂⁻N limitleri sağlanabilmıştir. Reaktörde 42 dakika gibi düşük hidrolik bekletme sürelerinde dahi yüksek denitrifikasyon verimleri gözlenmiştir. Dolayısıyla, membran biyofilm reaktörün, içme suyunda denitrifikasyon amacıyla kullanımının uygun olduğu belirtilmiştir (Lee ve Rittmann, 2002).

Yapılan araştırmalar oksitlenmiş kirleticilerin kirliliğe sebep olduklarını ortaya koymaktadır. Arsenat (H₂AsO₄⁻), kromat (CrO₄⁻²), selenat (SeO₄⁻²), bromat (BrO₃), perklorat (ClO₄⁻) gibi kirleticilerin su arıtma tesislerinden giderilebilmeleri için fiziko-kimyasal ve ileri arıtım prosesleride dahil olmak üzere birçok arıtma yöntemleri uygulanmıştır. Yapılan araştırmalarda bu bileşiklerin giderimi için ozonlama ve klorlu oksidasyon proseslerinin yetersiz kaldığı bildirilmiştir(Nerenberg ve Rittmann (2004).Hidrojen gazı elektron verici olduktan sonra biyofilm kominitesi organik elektron alıcılara ihtiyaç duymuştur. Atıksu arıtma için hidrojen gazı harika sonuç vermiştir. Çünkü ortamdaki organik elektron alıcılar minimize olmuştur. Bu avantajdan dolayı membran biyofilm reaktör sudaki çeşitli kirleticilerin (fosfat, nitrat, selenat, perklorat, klorlu organik bileşikler için) indirgenmesi için kullanılmıştır.

Hidrojen kullanarak ototrofik denitrifikasyon, oldukça hızlı, temiz ve etkili bir yoldur. Özellikle, organik madde eklenmediği ve ikincil bir kirletici oluşturmadığı için içme suyundan nitrat giderimi için ideal bir seçenektir. Fakat hidrojen gazının sudaki düşük çözünürlüğü prosesin önemli bir dezavantajıdır. Hidrojenin sudaki çözünürlüğü çok düşük olduğundan, sisteme ihtiyacından daha fazla hidrojen verilmektedir. Bu durum, yanıcı bir atmosfer ve tehlikeli durumlar oluşturabilmektedir. Bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak amacıyla, hidrojenin membran içerisinden difüzyonla verildiği membran biyofilmreaktörler geliştirilmiş olsa da, bu sistemler pahalı, işletimi zor ve henüz deneme aşamasındadır. Bu nedenle, alternatif proseslerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Biyolojik nitrat giderme prosesleri ve elde edilen verimler ile ilgili yapılan çalışmalar Çizelge 1.4’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.4. Biyolojik nitrat giderme prosesleri ve verimleri

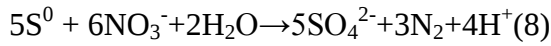
Proses tipi	Büyüme ortamı	Yatak tipi	Giderim oranı (kgN/m ³ .gün)	Sıcaklık (C°)	Referans
Ototrofik					
H ₂	Kum	Akışkan	0,5	18	Tuisel ve ark. (1989)
H ₂	Plastik	Paket yatak	0,8	10	Gros ve ark. (1986)
H ₂	Kum	Akışkan	0,13	10	Kurt ve ark. (1987)
H ₂	Poliüretan	Akışkan	1,3	20	Dries ve ark. (1998)
S	CaCO ₃	Granül	0,3	15	Kruitrof ve ark. (1988)
Heterotrofik					
Metanol	Çamur		7,2	-	Hoek ve ark. (1992)
Metanol	Kum	Yukarı akışlı	2,7	21	Kopman ve ark. (1990)
Asetik asit	Kil	Granül	0,4	10	Richard (1992)
Şeker	Silikat	Granül	1,15	12	Nurizzo ve Vismara (1988)
Etanol	Polistiren	Granül	1,5	10	Roennefahrt ve ark. (1986)
Etanol	Şist	Granül	1,2	12	Philipot ve ark. (1982)

1.4.2.2.2. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon

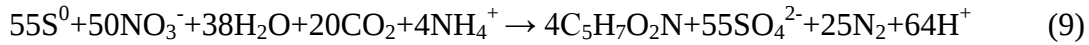
Ucuz olması ve kolay bulunabilmesi nedeniyle kükürt, nitrat içeren suların denitrifikasyonu için oldukça iyi bir alternatiftir. Ayrıca, elementel kükürtün toksik olmaması, suda çözünmemesi, normal şartlarda stabil olması ve bazı endüstrilerde yan ürün olarak oluşabilmesi, kolay taşınabilmesi, yanıcı ve patlayıcı olmaması nedeniyle hidrojenin elektron kaynağı olarak kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon prosesine kıyasla daha avantajlıdır. Hidrojen kullanarak ototrofik denitrifikasyon sadece ex-situ (dışarıda) arıtım proseslerinde kullanılabilirken, elementel kükürdün elektron verici olarak kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon prosesi reaktif biyobariyerlerde in-situ (yerinde

arıtım) ve sabit yataklı veya akışkan yataklı reaktörlerde ex-situ olarak kullanılabilir. Dolayısıyla, elementel kükürtün elektron verici olarak kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon prosesi, yer altı sularından nitrat giderimi için daha iyi bir alternatiftir.

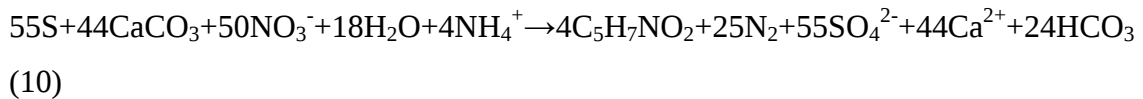
Denitrifikasyon yapan mikroorganizmalar içinde, sadece birkaç çeşit ototrofik bakteri kükürt oksitleyerek denitrifikasyon yapabilmektedir. Bu mikroorganizmalardan en çok bilineni *Thiobacillus denitrificans* olup, kükürt-bazlı denitrifikasyon aşağıdaki reaksiyonla özetlenebilir:



Yukarıdaki denklem bakteri büyümesini ihmal etmekte olup, bakteri büyümesinin de göz önüne alındığı reaksiyon aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Soares, 2002; Şahinkaya ve ark., 2011).



Birçok avantajlarının olması sebebiyle heterotrofik denitrifikasyona alternatif olan kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyonun, sülfat üretmesi ve alkalinite ihtiyacı gibi dezavantajları bulunmaktadır. Proseste, elementel kükürt sülfata oksitlenmekte ve giderilen her mg NO_3^- -N sonucunda 7.54 mg sülfat üretilmektedir (Reaksiyon 9). İçme suyu için sülfat konsantrasyonun genellikle 400 mg/L'den düşük olması istenmektedir (Soares, 2002). Kükürt-bazlı denitrifikasyon prosesinin diğer önemli bir dezavantajı ise, reaksiyon 8 ve 9'dan görüldüğü üzere asit üretimidir. Alkalinite tüketimini azaltmak için kükürt ve kireçtaşının kullanıldığı ototrofik denitrifikasyon (SLAD) sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemlerde kullanılan kireçtaşı işletim maliyetini düşüren, etkili bir alkalinite kaynağıdır (Oh ve ark., 2001). Kireç taşı eklendiğinde reaksiyon, 10'da verildiği şekilde gerçekleşmekte ve alkalinite üretilmektedir.



Ototrofik denitrifikasyon reaktörlerinde pH kontrolü için alkalinite kaynağı kireçtaşı kantitatif olarak değerlendirilebilir. Optimum kükürt/kireçtaşı oranı, kükürt/kireçtaşı reaktörlerin işletimi ve dizaynı için kriterlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda, optimum pH'ın 6,8 olduğunu ve pH 6,8'in altına düştüğünde pH inhibisyonundan dolayı spesifik denitrifikasyon oranının giderek azaldığı ortaya

koyulmuştur. Optimum pH olan 6,8'i veren kükürt/ kireç taşı oranının ise kütlece 1/2, hacimce ise 1/1,6 olduğunu belirtilmiştir (Koenigve Liu, 2002).

Literatürde kükürt-bazlı denitrifikasyon çalışmaları genellikle kolon tipi reaktörlerde gerçekleştirilmiş olup, kolonun tıkanması, kolonda gazın hapsolması, kütle transfer hızının düşük olması gibi işletme problemleri sık sık rapor edilmiştir. Bütün bu dezavantajları ortadan kaldıracabilecek ve yüksek kütle transfer hızıyla verimi arttıracabilecek akışkan yataklı reaktörler ile ototrofik denitrifikasyon üzerine yapılmış sadece bir adet çalışma mevcuttur (Kim ve ark., 2004). Yapılan bu çalışmada, evsel atıksu ve çöp sızıntı suyundan nitrat giderimi çalışılmış olup, akışkan yataklı reaktörlerin, kolon tipi reaktörlere göre daha etkili ve daha daha yüksek giderim hızlarının olduğu belirtilmiştir. Akışkan yataklı reaktörlerle yapılan bu çalışmada atıksu arıtımı çalışılmış olup, içme sularından nitrat giderimi amacıyla akışkan yataklı reaktörler ile kükürt bazlı ototrofik ve miksotrofik denitrifikasyon üzerine yeterince çalışma yapılmadığı tespit edilmiştir.

1.4.2.2.3. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon ve heterotrofik denitrifikasyon proseslerinin birleştirilmesi (miksotrofik denitrifikasyon)

Ototrofik denitrifikasyon sonucu asit üretilirken, heterotrofik denitrifikasyon sonucunda alkalinite üretilmektedir. Ayrıca, heterotrofik denitrifikasyon prosesi oldukça hızlı ve ototrofik denitrifikasyon prosesindeki gibi sülfat üretimi söz konusu değildir. Fakat heterotrofik denitrifikasyonun en önemli dezavantajı, organik madde ilavesi gerektirmesi ve hem nitratın hem de eklenen organik maddenin tam olarak giderilmesi için C/N değerinin tam olarak ayarlanamamasıdır. Bu nedenle, hem ototrofik hem de heterotrofik denitrifikasyon proseslerinin avantajlarını birleştirmek oldukça etkileyici görünmektedir. Heterotrofik denitrifikasyon ile üretilen alkalinite ototrofik denitrifikasyon için kullanılabilir. Ayrıca, nitratın heterotrofik yolla giderileceği miktar C/N oranıyla ayarlanmak suretiyle çıkış sülfat konsantrasyonu da sınır değerlerin altında tutulabilir. Ototrofik ve heterotrofik denitrifikasyon proseslerinin birleştirildiği proses üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu bağlamda Oh ve ark. (2001), kükürt kullanılan ototrofik denitrifikasyonda organik madde (metanol ve sızıntı suyu) etkisini araştırmak amacıyla ototrofik, heterotrofik ve miksotrofik koşullarda, yaklaşık 1 yıl çalışma yapmışlardır. Proseste hidrolik bekleme süresinin düşürülmesi ile birlikte sülfat oluşumunun azaldığı gözlenmiştir. Metanol dozunun teorik seviyenin altında olduğu koşullarda dahi denitrifikasyon %80-90 oranında gerçekleşmiş ve çıkışta çözünmüş organik karbona

(DOC) rastlanmamıştır. Organik madde ilavesi ile ototrofik+heterotrofik (miksotrofik) denitrifikasyon aynı anda gözlenmiş olup heterotrofik denitrifikasyonda üretilen alkalinite ototrofik denitrifikasyon sırasında üretilen asiditeyi nötralize etmiştir. Ayrıca organik madde ilavesi ile miksotrofik şartlarda ototrofik şartlara kıyasla sülfat üretimi azalmış fakat çıkış suyunda ilave arıtım gerektirebilen çözünmüş organik madde konsantrasyonu artmıştır.

Hem heterotrofik hem de ototrofik denitrifikasyonun avantajlarından yararlanmak amacıyla, iki kademeli denitrifikasyon prosesinden yararlanılabilir. Bu sistemde ilk proses heterotrofik olup, nitratın bir kısmı bu aşamada giderilerek aşağıdaki reaksiyon uyarınca asit tüketilerek alkalinite üretilmektedir:



Reaksiyon 11'e göre, stokiyometrik C/N (mg CH₃OH: NO₃⁻-N) oranı 2,47'dir. Fakat suda oksijen mevcudiyetinden dolayı gerekli oran 2,47'den daha büyük olmaktadır. Yapılan çalışmada (Liu ve ark., 2009), organik madde stokiyometrik oranda veya daha fazla ilave edildiğinde, çıkışta organik maddenin kaldığı bulunmuştur. Stokiyometrik orandan daha az (C/N=2) organik madde ilave edildiğinde ise, çıkışta metanol kalmamakta fakat denitrifikasyon verimi düşmektedir. C/N oranının düşmesiyle, çıkışta nitritin belirdiği gözlenmiştir. Çıkışta organik maddenin kalmaması için heterotrofik denitrifikasyon basamağı C/N oranı stokiyometrik oranın altında işletilmiştir. Bu durumda, çıkış suyunda kalan düşük konsantrasyonda nitrat ve nitrit, kükürt oksitleyen ototrofik denitrifikasyon kolonda giderilmiştir. Her iki prosesin birleştirilmesiyle, hem organik madde hem de nitrat tamamen giderilmiş ve ototrofik denitrifikasyon için alkalinite ilavesi gerekmemiştir. Ayrıca, nitratın önemli bir kısmı heterotrofik proseste giderildiği için, ototrofik denitrifikasyon sonucu oluşan sülfat azalmış ve sülfat konsantrasyonu standart değerlerin altında kalmıştır (Liu ve ark.,2009).

Miksotrofik denitrifikasyon C/N oranı tam olarak belirlendiği koşullarda çıkışta sertlik ve sülfat oluşumunu sınırlayan uygulamaya yönelik avantajlı bir prosesdir. Ancak bu konuda yapılmış çok az çalışma bulunmakta olup bu konuya yönelik çalışmaların artması ve miksotrofik koşulların belirlenmesi için gerekli optimum C/N oranının ortaya konması gerekmektedir.

1.4.3. Biyolojik denitrifikasyonun avantaj ve dezavantajları

Biyolojik denitrifikasyon prosesinin sulardan nitrat gideriminde uygulanmasının avantajları aşağıda verilmiştir:

- a) Diğer arıtma yöntemleriyle kıyaslandığında bakım ve işletimi daha ucuzdur.
- b) Fiziko-kimyasal prosesler sonunda oluşan atık tuz çözeltilerinin tekrar arıtımından biyolojik denitrifikasyon sonucunda oluşan bakteriyolojik kirliliğin arıtımı daha kolay ve ucuzdur.
- c) Özellikle bakterinin bağlı büyüyebileceği dolgu malzemesi kullanıldığında proses stabilitesi çok iyi olmaktadır.
- d) Giriş suyu nitrat konsantrasyonu ne olursa olsun proses nitratı minimal düzeye indirgemedi oldukça etkilidir.
- e) Biyolojik arıtım genellikle çoğu fiziko-kimyasal prosesden toksik ve tehlikeli kirleticilerin arıtımında daha uygundur(Darbi, 2003).

Prosesin dezavantajları ise aşağıda verildiği gibidir:

- a) Özellikle yer altı sularında bulunan çözünmüş oksijen miktarı, toplam organik karbon, nütrient konsantrasyonu, pH, sıcaklık ve inhibitörlerin varlığı sistem performansını önemli ölçüde etkilemektedir.
- b) Biyolojik denitrifikasyon uygulamaları için özellikle yer altı sularında karbon kaynağı yetersizdir. Karbon kaynağının fazla eklenmesi, çıkışta kalıntı organiklere yol açarken, az eklenmesi nitrit oluşumuna sebebiyet vermektedir.
- c) Arıtılmış suda kalıntı organikler, mikrobiyal aktivite ürünleri gibi zararlı bileşenler kalabilir. Fakat bu dezavantajlar ototrofik denitrifikasyon prosesi ile elimine edilebilmektedir(Darbi, 2003).

1.4.4. Biyolojik denitrifikasyonun mikrobiyolojisi ve stokiyometrisi

Biyolojik nitrat indirgenmesi, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu gerçekleşen oksidasyon-redüksiyon prosesleri sonucunda oluşmaktadır (Pan, 2007). Denitrifikasyonun gerçekleşmesinde dört temel element rol almaktadır. Bunlar, elektron verici, elektron alıcı, aktif mikroorganizma ve anoksik koşullardır. Mikroorganizmalar, elektron vericileri (inorganik veya organik maddeler) oksitleyerek enerji elde ederler. Nitrat ortamda elektron alıcı olarak iş görür, elektronları alarak indirgenir ve azot gazına

dönüşür. Heterotrofik denitrifikasyonda nitrati indirgeyen bakteriler çoğunlukla *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Methanomonas*, ve *Pseudomonas* türleridir (Pan, 2007). İnorganik maddeleri oksitleyerek nitrati indirgeyen bakteriler ise ototrofik denitrifikasyonda çoğunlukla *Thiobacillus denitrificans* (*T. denitrificans*), *Thiomicrospira denitrificans* ve *T. thioparus* türleridir (Moon ve ark., 2006; Oh ve ark., 2001; Pan, 2007). Biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda sülfürlü bileşikler de (S^{2-} , $S_2O_3^{2-}$ gibi) oluşmaktadır. Pan (2007), ototrofik bakterilerde bulunması gereken dört fiziksel özelliğe değinmiştir. Bunlar;

- a) Sadece mineral ortamda büyürler fakat kükürt gibi inorganik bir substrat varlığında oksitlenebilirler.
- b) Oksitlenebilen bu inorganik maddelerin varlığı, mikroorganizmaların yaşamsal işlevlerini gerçekleştirebilmeleri için gereklidir. Mikroorganizmalar için tek enerji kaynağı bu inorganik maddelerdir.
- c) Bu nedenle karbon ve enerji kaynağı olarak bir organik maddeye ihtiyaç kalmamaktadır.
- d) Karbondioksiti karbon kaynağı olarak kullanmaktadırlar.

Heterotrofik denitrifikasyonun sitokiyometrik reaksiyonlarına, Çizelge 1.3.'de değinilmiştir. Bu nedenle bu bölümde sadece ototrofik denitrifikasyon için sitokiyometrik denklemlere yer verilecektir. Karbon ve elektron verici kaynağına göre sitokiyometrik ilişkiler çizelge 1.5'de verilmiştir (Pan, 2007).

Biyolojik denitrifikasyon prosesi ve özellikle kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinin mikrobiyolojisi, ototrofik denitrifikasyon bakterilerinin belirlenmesi ve tür tayini konularında yeterince araştırma bulunmamaktadır.

Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon çalışmalarında, kolon reaktörlerde ki mikroorganizma popülasyonu incelendiğinde, elementel kükürdü elektron verici olarak kullanan *Thiobacillus denitrificans*, ve H_2S 'i elektron verici olarak kullanan *Chlorobium limicolab* benzeri türler bulunmuştur. Yukarı akışlı kolon içerisinde kolon boyunca mikroorganizma türlerinin değiştiği ve kolonun pek çok farklı türü içerdiği görülmüştür. Çizelge 1.6'da çalışma sonucunda bulunan türler ve özellikleri verilmiştir (Moon ve ark., 2010).

Çizelge 1.5. Ototrofik denitrifikasyon için sitokiyometrik eşitlikler

Elektron Alıcı	Elektron Verici	Karbon Kaynağı	Ürün	Alkalinite
1NO ₃ (amonyum azot kaynağı olarak kullanıldığında)	1.1 S ⁰ (elementel kükürt)	0.4 CO ₂	0.5 N ₂ , 1.1 SO ₄ ve 0.08 C ₅ H ₇ O ₂ N	1.28 H ⁺ üretilir.
8 NO ₃	5 S ₂ O ₃ ²⁻ (tiyosülfat)	-	4 N ₂ , 10 SO ₄	2 H ⁺ üretilir.
8 NO ₃	5 S ²⁻ (sülfid)	-	4 N ₂ , 5SO ₄	8 H ⁺ tüketilir.
2 NO ₃	5 H ₂	-	1 N ₂ , 4 H ₂ O	2 OH ⁻ üretilir.

Kükürt partiküllerinin yüzeyinde büyüyen biyofilm tabakasında 16S rDNA metodu ile mikrobiyal çeşitliliği belirleme çalışmaları yapıldığında, belirlenen türler arasında %54'lük kısmının ototrof, %35'lik bir bölümün ise heteretrof bakteriler olduğu ortaya konmuştur. *Thiobacillus denitrificans* bakterilerinin ise tek başına tüm mikrobiyal çeşitliliğin %32'sini oluşturduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda belirlenen türlerin, *Thiobacillus denitrificans*, *Trichlorobacter thiogenes*, *Xanthomonas maltophilia*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Sinorhizobium sp.* olduğu belirtilmiştir (Koenig ve ark., 2005).

Çizelge 1.6. 200 gün işletilen kolon reaktörlerde yapılan moleküler çalışmalar sonucunda belirlenen mikroorganizma türleri (Koenig ve ark., 2005).

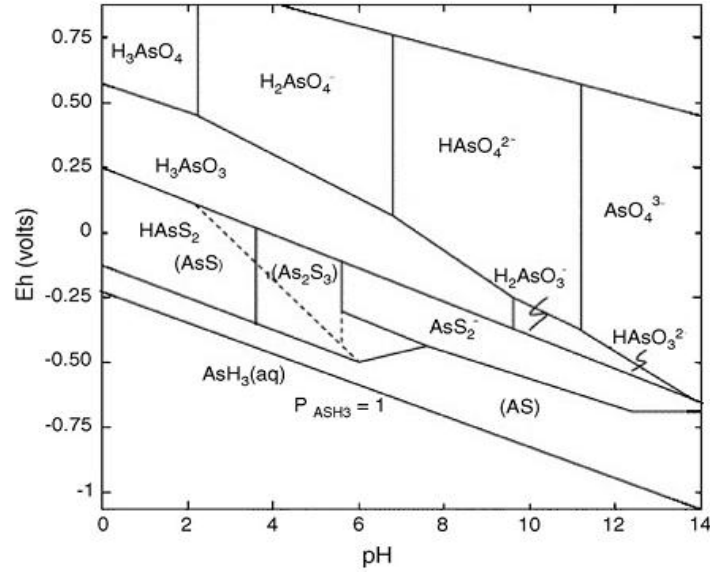
Gen Bank Tür Adı	Benzerlik %	Elektron verici	Elektron alıcı
<i>Thiobacillus denitrificans</i> <i>NCIMB 9548^T</i>	97	Elementel Kükürt	NO ₃ veya NO ₂
<i>Cenibacterium</i> <i>arsenoxidans ULPAs1</i>	94	Organik madde	NO ₃
<i>Pseudoxanthomonas</i> <i>taiwanensis CB-226T</i>	93	Organik madde	NO ₂
<i>Frateuria aurantia IFO</i> <i>13333</i>	95	Organik madde	O ₂
<i>Chlorobium limicola DSM</i> <i>246</i>	98	H ₂ S	CO ₂
<i>Comamonas badia IAM</i> <i>14839^T</i>	97	Organik madde	O ₂

1.5. İçme Sularında Arsenik Kirliliği

İçme sularındaki en tehlikeli kirleticilerden biri olan arsenik, yarı metal bir elementtir. Yeraltı sularında arsenik zenginleşmesi genelde sülfür minerallerinin bozulması ve jeotermal alanlardan kaynaklanır (Varol ve ark., 2008). 20 farklı forma sahip arsenik her yerde bulunabilen bir elementtir. Biyolojik aktivite, jeokimyasal reaksiyonlar, volkanik emisyonlar ve diğer antropojenik aktiviteler gibi doğal reaksiyonlar ile yer kabuğunda zararlı formlara dönüşebilir. Bunların yanı sıra fosil yakıtların yanması, arsenik içeren pestisit, herbisitlerin ve arsenikli hayvan yemlerinin kullanımı ile su ve toprakta konsantrasyonu artabilir. Arseniğin çevreye başlıca yayılma ve taşınma yolu sulardır. Arseniğin su yoluyla ekosistemde dağılması canlılarda birikime neden olmaktadır. Arsenik (-3), (0), (+3) ve (+5) değerlikli olarak bulunur. Doğada ise arsenious asit (H₃AsO₃, H₃AsO₃, H₃AsO₃²⁻), arsenik asit (H₃AsO₄, H₃AsO₄⁻, H₃AsO₄²⁻), arsenik, arsenat, metil arsenik asit gibi formlarda bulunur. Yer kabuğunun içerdiği ortalama arsenik miktarı 0,5-2,5 mg/kg arasındadır (Mohan ve Pittman, 2007). Sularda ki arsenik miktarının çeşitliliği

ise arazinin coğrafi yapısına, artezyen ve kuyu sularının derinliklerine ve kirletici kaynaklarının durumuna bağlıdır. Özellikle pH ve redoks potansiyeli arseniğin ortamda ki formunu belirlemede önemli bir faktördür. Düşük pH değerlerinde (pH 6,9'dan daha az) oksitleyici ortamlarda arsenik H_2AsO_4^- formunda daha baskınken, yüksek pH'larda daha çok HAsO_4^{2-} formundadır. Doğada bulunan arsenik formlarının pH ile ilişkisi Şekil 4.1.'de verilmiştir. Ortalama 100-300 m derinliğindeki artezyen sularındaki arsenik konsantrasyonu 0,35-1,14 mg/L arasında iken, yüzeysel sularda 0,00-0,30 mg/L arasında değişir. Oksijensiz ortamda arsenik genel olarak (+3) formda bulunur. Su kaynakları içerisinde arsenik çoğunlukla inorganik formdadır. Doğal sularda en yaygın bulunan iki formu (+3) ve (+5) değerlikli olan arsenit (AsO_3^{3-}) ve arsenattır (AsO_4^{3-}). İnorganik formda bulunan arsenik bileşikleri vücutta absorbe edilebildiğinden organik arsenik bileşiklerine göre çok daha zararlıdır. Uzun süreli arsenik içeren suların tüketilmesi, insan vücudunda; deri, akciğer, mesane ve böbrek kanseri, nörolojik bozukluklar, kaslarda güç kaybı gibi sağlık problemlerine yol açmaktadır.

Dünya sağlık örgütü (WHO) ve EPA, içme ve kullanma sularında 10 µg/L (ppb)' ye kadar arsenik bulunabileceğini, 50 ppb'den daha yüksek miktarlarda arsenik içeren suların ise kesinlikle kullanılmaması gerektiğini bildirmiştir (Yılmaz ve Ekici, 2004). Yer altı sularında arsenik kirliliği özellikle ABD, Çin, Şili, Bangladeş, Yenizelanda, Tayvan, Meksika, Arjantin, Kanada, Japonya ve Hindistan'da büyük problem oluşturmaktadır. BM'nin 2006 tarihli İnsani Gelişme Raporu'nda Türkiye sulardaki arsenik konsantrasyonu yüksek olan ülkeler arasında gösterilmiştir. Özellikle son yıllarda içme ve kullanma suyuna artan ihtiyaç ile birlikte yeraltı suları çok daha fazla kullanılmaya başlamıştır. Yeraltı suyunun aşırı kullanımı, suyun daha derinlerden temin edilmesine, dolayısıyla arsenik konsantrasyonunun su da yükselmesine ve su kalitesinin düşmesine neden olmaktadır (Mohand ve Pittman, 2007). Ülkemizde yer altı suyu kullanımı çok fazla olmakla birlikte bu suların kontrolü yapılamamaktadır. Özellikle son yıllarda Batı Anadolu havzalarında yer altı suları ve yüzeysel sularda ciddi bir arsenik kirlenmesi gözlemlenmektedir. Bu bölgelerde yeraltı ve yerüstü sularında arsenik, bor gibi birçok elementin hızlı oksitlenme, yüksek çözünürlük ve mobilitelerine bağlı olarak normal standartların üstünde değerlere ulaştıkları görülmüştür. Örneğin, Emet havzasındaki yüzey sularında arsenik konsantrasyonu 21-655 µg/L arasında değişirken, yeraltı sularında ise, arsenik konsantrasyonu 35-1660 µg/L arasında değişmektedir (Helvacı, 2005).



Şekil 1.2. Doğada bulunan arsenik formlarının pH ve redoks potansiyeli ile ilişkisi

Yer altı sularında yüksek konsantrasyonlarda bulunan arsenik biyolojik denitrifikasyon prosesini olumsuz şekilde etkileyebilir. Fakat arseniğin kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesi üzerine etkisini inceleyen bir çalışma halen mevcut değildir. Dolayısıyla, kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinin yer altı sularından nitrat giderimi için uygun olup olmadığına karar vermek için arsenik gibi yer altı sularında bulunan ve bakterilere toksik etki yapabilen maddenin proses performansı üzerine etkilerinin incelenmesi gerekmektedir.

1.6. Arseniğin Sağlığa Etkileri

Arsenik konsantrasyonu su da yükseldiğinde tat, koku ve görsel yollarla tespit edilememektedir (Öztürk, 2008). Arsenikli suların devamlı ve uzun süreli kullanımında cilt hastalıkları özellikle de pigmentasyon değişiklikleri melanosiz ve keratosiz görülmektedir. Nadir de olsa cilt kanseri oluşumu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar arseniğin, solunum yolu, karaciğer, üriner sistem gibi sağlık sorunlarına ek olarak, kanser, şeker hastalığı, kalp-damar ve sinir sistemi hastalıklarına da yol açtığını göstermiştir.

Arseniğin toksisite etkisinin ortaya çıkmasında, arsenik bileşiklerinin özellikleri, arseniğin hangi formda bulunduğu, dozajı ve maruz kalma süresi etkili olmaktadır. İnorganik arsenik bileşikleri organik formlara göre daha toksiktir. Arsenik bileşiklerinin suda çözünürlüğü arttıkça toksisite etkisi de artmaktadır. Su yoluyla alınan inorganik arsenik bileşikleri

bağırsaklarda absorbe olabilirken, organik arsenik bileşiklerinin büyük çoğunluğu idrar yoluyla dışarı atılabilmektedir (Öztürk, 2008). İçilen arsenikli suyun ilk etkisi, ciltte yaralar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Uzun süreli kullanımda ise akciğer ve mesane kanseriyle karşılaşılabilir. Uzun süreli arsenik içeren su tüketen kişilerde arseniğin ciltte oluşturduğu yaralar Şekil 1.3.'de gösterilmektedir.

Arseniğe maruz kalma sonucunda görülebilecek belirtiler ile arsenik dozu yakından ilişkilidir. Dermatolojik belirtiler;

- 40 $\mu\text{g/kg/gün}$ gibi yüksek doza maruz kalma sonucunda 6 ay ile 3 yıl süre içinde hiperpigmentasyon görülebilmektedir.
- 10 $\mu\text{g/kg/gün}$ gibi düşük doza maruz kalındığında 5-15 yıl içerisinde hiperpigmentasyon görülebilmektedir.



Şekil 1.3. Arseniğin ciltte oluşturduğu hasarlar

Arsenik konsantrasyonuna bağlı olarak kanser oluşumu Çizelge 1.7.'de özetlenmiştir. İçme suyunda arsenik konsantrasyonu ve bu konsantrasyona maruz kalma süresi arttıkça, kanser riski de artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütüne göre, içme suyunda arsenik konsantrasyonu 10 $\mu\text{g/L}$ 'nin altında olduğunda tahmini deri kanseri oluşum riski 10^{-5} 'dir (Öztürk, 2008).

Çizelge 1.7. İçme suyunda arsenik konsantrasyonuna bağlı olarak kanser riski oranları

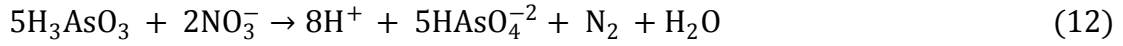
İçme Suyunda Arsenik Konsantrasyonu (µg/L)	Yaklaşık Toplama Kanser Riski (Kişinin 2L/gün su tükettiği kabul edilirse)
0.5	1/10.000
1	1/5.000
3	1/1.667
4	1/1.250
5	1/1.000
10	1/500
20	1/250
25	1/200
50	1/100

1.7. İçme Sularında Arsenik Kirliliği ve Denitrifikasyon

Arsenik yüksek derecede toksik bir mineraldir. Özellikle metalik cevherlerle birlikte bulunması ve suda çok iyi çözünebilir yapıda olması toksik özelliğinin artmasına neden olmaktadır.

Arsenit ve arsenat sucul ortamlarda yaygın olarak görülen arsenik formlarıdır. Arsenit (As(III)) ise en zararlı arsenik formudur. Epidemiyolojik araştırmalar deri, mesane, akciğer, karaciğer ve böbrek kanserinin içme suyunda bulunan arsenik ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur (Chung ve ark., 2007). Arsenik giderimi için pek çok arıtma yöntemi bulunmakla birlikte bunların çoğu yüksek maliyet gerektiren ileri arıtım yöntemleridir. Biyolojik arıtım prosesleriyle nitrat ve arseniğin birlikte giderimi çalışmaları ise artarak devam etmektedir. Bu bağlamda, heterotrofik ve kemoototrofik mikroorganizmaların aerobik ve anaerobik denitrifikasyon koşullarında As(III)'i oksitleyebildiği bildirilmiştir (Sun ve ark., 2009). Aerobik As(III) oksidasyonunun oldukça etkili bir biçimde gerçekleştirildiği biyolojik prosesler mevcuttur (Battaglia-Brunet ve ark., 2006; Lievremont ve ark., 2003; Simeonova ve ark., 2005). As(III) oksidasyonu hızlı ve

kolay uygulanabilir olmasına rağmen yer altı sularında anaerobik uygulamalar için kullanılabilir değildir. Nitrat anaerobik koşullar için oksijen yerine bir alternatif oksidant olarak kabul edilebilir. Kolay çözünür olması ve yer altı sularında bulunuyor olması nitratı etkili bir elektron alıcı yapmaktadır. Kemolitotrofik denitrifikasyon biyoreaktörlerinde elektron verici olarak ise elementel kükürt (Sierra-Alvarez ve ark., 2007), hidrojen sülfür (H_2S) (Kleerebezem and Mendez, 2002), ve hidrojen (H_2) (Lee and Rittmann, 2002) kullanılabilir. Bununla birlikte Sun ve ark. (2009), yukarı akışlı çamur yatak biyoreaktörlerde nitratı elektron alıcı olarak kullanarak As(III) daha az toksik olan As(V) formuna oksitlemeyi başarmışlardır. Çalışmada paralel iki biyoreaktör kullanılmış birine nitrat verilirken diğerine nitrat verilmemiştir. Nitratın bulunduğu reaktörlerde %92 oranında As(III)'ün oksitlendiği bildirilmiştir. Aynı zamanda Reaksiyon 12'ye göre nitrat'ta azot gazına dönüşmüştür (Sun ve ark., 2009).



Çoğunlukla As(III)'ün daha az toksik form olan As(V)'e oksitlenmesi amaçlanır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda As(V)'i As(III)'e indirgenmiştir. Çünkü As(III)'ün demir veya sülfür bileşikleriyle çökeltilerek giderilmesi mümkündür. Hidrojen gazının elektron verici olarak kullanıldığı membran biyofilm reaktörlerde (MBfR), As(III) katı demir ile adsorbe edilerek veya sülfür ile çökeltilerek sudan uzaklaştırılmıştır (Chung ve ark., 2006).

Sulardan arsenik giderimi çoğunlukla kimyasal yöntemlerle yapılmaktadır. Biyolojik arıtım yöntemlerinde ise çoğu kez arseniğin kimyasal reaksiyonlar ile form değiştirdiği veya başka bir bileşiğe dönüştürülerek giderildiği görülmüştür. Özellikle adsorpsiyon ve iyon değiştirme gibi yöntemler biyolojik proseslerle birlikte kullanılmaktadır.

Arıtımda karışık mikroorganizma kullanıldığı durumlarda, biyolojik aktif karbon reaktörlerde oksijen, nitrat, arsenik ve sülfat elektron alıcı olarak kullanılabilir. Biyolojik olarak sistemde üretilen sülfür, demir sülfür ve arsenik sülfür bileşiklerini oluşturarak çökelmektedir. Böylelikle sudan hem arsenik ve nitrat hem de sülfür uzaklaştırılabilir (Upadhyaya ve ark., 2010).

Çok fazla çalışma olmamakla birlikte yer altı sularında görülen önemli kirleticilerden olan nitrat, arsenat, kromat, klorat, perklorat selenat ve dibromokloropropan'ın birlikte biyolojik olarak sudan giderilebildiği görülmüştür. Chung ve ark. (2006), ototrofik denitrifikasyonda yaygın kullanılan bir elektron verici olan, H_2 gazı kullanılarak, membran biyofilm

reaktörlerde (MBfR) bunu gerçekleştirmeyi başarmışlardır. Gerçek yer altı suyunun kullanıldığı çalışmalarda, 13 mg/L-N nitrat, 34 µg/L perklorat + klorat, 27 mg/L sülfat, ve 7.3µg/L arsenat içeren yer altı sularında nitrat, klorat ve perkloratın 20 günde tamamen giderildiği görülmüştür. 24 gün sonunda ise arsenatın (As(V)) % 40'ı arsenite (As(III)) indirgenmiştir. Hidrojen basıncı artırıldığında ise bu oranın %80'ne çıktığı görülmüştür(Chung ve ark., 2006).

1.8. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada;

- a) Yukarı akışlı kolon reaktörlerde hem elektron verici hem de dolgu malzemesi olarak kullanılan toz ve granül kükürdün denitrifikasyona etkisinin belirlenmesi,
- b) Optimum kükürt ve kireç oranının (S/L) belirlenmesi,
- c) Optimum hidrolik bekleme süresinin (HRT) belirlenerek, farklı nitrat konsantrasyonlarında denitrifikasyon veriminin belirlenmesi,
- d) Nitrat ve Nitrit kinetiğinin belirlenmesi,
- e) Miksotrofik koşulların sağlandığı optimum C/N oranının belirlenmesi,
- f) Farklı arsenik konsantrasyonlarının denitrifikasyon verimine etkisinin ortaya konması,
- g) Değişen işletme koşullarında mikrobiyal popülasyon dinamiğinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Çalışma öncesinde ve çalışma boyunca taranan konu ile ilgili literatür kaynakları bu bölümde yer almaktadır. Burada biyolojik denitrifikasyon, kükürt bazlı denitrifikasyon, ve mikсотorofik denitrifikasyon konularında yapılmış çalışmalar ve önerilerden bahsedilmiştir.

Sularda denitrifikasyonun gerçekleştirilmesi amacıyla elektron verici olarak çok çeşitli karbon kaynakları kullanılmaktadır.

Asetik asitin karbon kaynağı olarak kullanıldığı biyolojik dönen reaktör çalışmasında, nitrat giderme hızının, giriş asetik asit yükleme hızına bağlı olduğu belirtilmiştir. Asetik asidin diğer karbon kaynaklarına göre en önemli olumsuz tarafının fazla tüketimi ve sonuç olarak yüksek maliyeti olduğu bildirilmiştir. Arıtma maliyetini azaltmak için metanol, etanol ve asetik asit gibi karbon kaynakları yerine daha ucuz materyallerin kullanıldığı çalışmalarda bulunmaktadır (Mohsani-Bandpi ve ark.,1999).

İşlenmemiş pamuk ve gazete kâğıdını karbon kaynağı olarak kullanan Volokita ve ark.'ları,% 99 nitrat giderimi elde ederken, çıkış suyunda NO₂-N birikimi olmadığını açıklamışlardır. Çalışmada biyolojik denitrifikasyonun sıcaklığa bağlı olduğunu, sıcaklığın 32 °C'den 14 °C'ye düşmesiyle nitrat giderme hızının 1/3 oranında azaldığını bildirilmiştir (Volokita ve ark.,1996a, b).

Karbon kaynağı olarak kullanılabilen ucuz materyallere bir örnekte saman sapıdır. Yukarı akışlı biyolojik denitrifikasyon çalışmasında, karbon kaynağı ve tutunma yüzeyi olarak saman sapı kullanılmıştır. Çalışmada yüksek nitrat giderme verimine ulaşılrken, samanın çözünmesi ve karbon içeriğinin azalması ile nitrat gideriminin azaldığı belirtilmiştir. Çıkış suyunda oluşan renk probleminin gideriminde ise aktif karbon kullanılmıştır (Soares ve Abeliovich 1998).

Karbon kaynağı olarak uçucu yağ asitlerinin kullandığı heterotrofik denitrifikasyon çalışmasında, denitrifikasyonun, çok farklı uçucu yağ asiti içeren sularda, tek uçucu yağ asiti içerene göre daha hızlı gerçekleştiğini belirlemiştir (Yatong, 1996).

Ototrofik denitrifikasyon için basit bir kinetik modelin oluşturulması, kinetik sabitlerin belirlenmesi, ve heterotrofik ve ototrofik denitrifikasyon kinetiklerinin karşılaştırılması bu proses için önemli parametrelerdir. Bu parametrelerin belirlenmesi amacıyla yapılan

deneysel çalışmalarda, Koenig ve Liu (2002), yukarı akışlı kükürt yataklı reaktörlerde, düşük debilerde nitratın, tamamen giderildiğini gözlemlemiştir. Küçük çaplı partiküllerin, nitrat konsantrasyonunu daha hızlı düşürdüğü tespit edilmiş olup, maksimum spesifik denitrifikasyon hızı yaklaşık 0,15 g NO₃⁻N/g UAKM.gün olarak bulunmuştur. *Thiobacillus denitrifikans* bakterileri renksiz bakteriler olduğundan kükürt partikülleri üzerinde oluşan biyofilm gözle gözlenememiştir. Yaklaşık 1 yıl gibi uzun bir süre sonra biyofilm kırmızımsı bir renge sahip olmuş ve görünür bir form kazanmıştır. Taramalı elektron mikroskobu ölçümleri biyofilm kalınlığının 10-40 µm aralığında değiştiğini göstermiştir.

Soares (2002) tarafından yapılan çalışmada kükürt ile doldurulan kolonda ototrofik denitrifikasyon çalışılmıştır. İnorganik karbon ve alkalinite kaynağı olarak sisteme sodyum bikarbonat verilmiştir. Hidrolik bekletme süresi 1 saat ve nitrat yükleme hızı 0.24 kg N/(m³.gün)'nde en yüksek denitrifikasyon hızı olan 0.20 kg N/(m³.gün) gözlenmiştir.

Elementel kükürtün dolgu malzemesi olarak kullanıldığı geçirgen reaktif bariyer (PRB) sistemi ile ototrofik denitrifikasyon çalışmalarında, PRB kirlenmiş yer altı suyunun taşındığı yola yerleştirilir ve bariyer içindeki reaktif maddeler, kirlenmiş yer altı suyunda kirleticilerinin arıtımı veya gideriminde biyolojik ve jeokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesini sağlar (Moon ve ark.,2004). Deneysel çalışmalarda, elementel kükürt kullanılarak ototrofik denitrifikasyonun fizibilitesi, farklı nitrat konsantrasyonlarında çalışılmış ve nitrat, nitrit ve sülfat konsantrasyonlarının kolon boyunca dağılımı incelenmiştir. Kolon, 2 mm çapında kükürt granülleri ve hacim oranı 3/1 olacak şekilde 2-5 mm çapında kireç taşı ile doldurulmuştur. Kolon, akış hızı 1 mL/dk ve yukarı akışlı olacak şekilde 20 C°'de işletilmiştir. Nitrat konsantrasyonunun giderim verimine etkisinin belirlenmesi için hidrolik bekletme süresi (HRT) 12 saatte sabit tutularak giriş nitrat konsantrasyonu 30 ve 60 mg NO₃-N/L arasında değiştirilmiştir. Deneysel çalışmaların ilk 4 gününde 30 mg NO₃-N/L nitratın tamamına yakını nitrite dönüşmüştür. 12 günün sonunda nitrit konsantrasyonu 2 mg NO₂-N/L'den daha düşük seviyelere düşmüştür. Giriş nitrat konsantrasyonu 30, 40 ve 60 mg NO₃-N/L ve kolon kükürt içeriği %75 olduğunda ototrofik denitrifikasyon reaksiyon hız sabitleri sırasıyla 31,73x10⁻³, 33,3x10⁻³, and 36,4x10⁻³ mg ^{1/2}/l ^{1/2} dakika olarak elde edilmiştir (Moon ve ark.,2004).

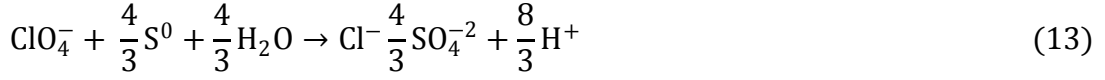
Kükürt oksitleyen bakteriler kullanılarak ototrofik denitrifikasyon kinetiği üzerine sınırlı çalışma mevcuttur. Zeng ve Zhang, (2005) tarafından yapılan bir çalışmada granül kükürt ile doldurulan kolon reaktörler kullanılmış ve kükürt/kireçtaşı oranı 2/1 de çalışılmıştır.

Kolonlar 30 mg NO₃⁻-N/L ile beslenmiş ve HRT 3,56 saat olarak belirlenmiştir. Deneysel çalışmalarda SLAD biofilm prosesinde monod kinetiğine ait K_s , k , K_d ve Y değerler belirlenmiş ve diğer denitrifikasyon prosesleri ile SLAD prosesinin kinetik parametreleri kıyaslanmıştır. Başka bir çalışmada ise giriş nitrat konsantrasyonunun 30 mg/L'den 60 mg/L'ye artırılmasıyla, nitrat giderim hızı kısmen artarak $31,73 \times 10^{-3}$ 'den $36,4 \times 10^{-3}$ mg ^{1/2}/l ^{1/2} dakika'ya yükselmiştir (Moon ve ark., 2004). Fakat bu çalışmada Monod denklem sabitleri hesaplanmamıştır.

Başka bir çalışmada, Moon ve ark. (2006) nitrat ile kirlenmiş yer altı sularının biyolojik PRB'de ototrofik denitrifikasyon ile arıtımına reaktif medya bileşimi ve çeşitli kirleticilerin etkilerini araştırmıştır. Proseste *Thiobacillus denitrificans* ve *Thiomicrospira denitrificans* gibi kükürt oksitleyen bakteriler kullanılmıştır. Dolgu malzemesi olarak granül kükürt ve kireç taşı farklı oranlarda (1:1, 2:1, 3:1, 4:1) denenmiştir. Giriş nitrat konsantrasyonu 30 ve 60 mg-N/L olacak şekilde ayarlanmıştır. TCE (10-80 mg/L), Zn, Cr (VI), ve Cu (0.1-1 mg/L) gibi yeraltı suyu kirleticilerinin ve kükürt partikül büyüklüğünün (dane çapı) denitrifikasyon verimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Deney sonuçları kükürt partikül büyüklüğü azaldıkça denitrifikasyon hızının arttığını ve en yüksek nitrat veriminin 1:1 kükürt/CaCO₃ oranında elde edildiğini göstermiştir. Zn ve Cu gibi ağır metaller aktiviteyi büyük ölçüde inhibe ederken, TCE ve Cr (VI)'un varlığı denitrifikasyon aktivitesini önemli derecede etkilememiştir.

Sierra-Alvarez ve ark. (2007) değişen nitrat ve kükürt konsantrasyonlarında denitrifikasyon kinetiğinin ve kirlenmiş yer altı sularında bulunan nitratın ototrofik denitrifikasyonla gideriminin uygulanabilir olup olmadığını araştırmıştır. Yapılan çalışmada, nitrat yükleme hızının 21,6 mmol/(L.gün) ve nitrat giriş konsantrasyonunun 7,3 mM olması durumunda nitratın hemen hemen tamamı giderilmiştir. Daha düşük giriş konsantrasyonlarında (1,3 mM nitrat) ise (18,1 mmol/(L.gün) yükleme hızlarında) ortalama %96 nitrat giderim verimi bulunmuştur. Nitrat konsantrasyonu arttıkça denitrifikasyon hızının arttığı gözlenmiştir. Maksimum nitrat giderim hızı 5,5 mmol NO₃/(g UAKM.gün) olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmada elementel kükürt tane çapının, mikrobiyal kullanım hızına etkisi de incelenmiştir. Sülfür (HS⁻) genellikle ölçüm limitinin altında çıkmış (1,5 µM), ancak birkaç ölçümde çok düşük de olsa (6,6 µM) sülfür üretimi gözlenmiştir. Sülfür; toksik, korozyif, kötü kokulu ve oksijen tüketim özelliğinden dolayı istenmemektedir. Eğer aşırı sülfür oluşumu gözlenirse, filtrasyonu takiben kaskat havalandırma gibi ilave arıtma adımları gerekebilir.

Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde nitratla birlikte başka kirleticilerinde giderimi mümkündür. Ju ve ark. (2007), kemolitotrofik denitrifikasyon prosesi kullanılarak nitrat ile birlikte perkloratı da gidermeye çalışmışlardır. Elektron verici olarak elemental kükürtün kullanıldığı bu sistemde perkloratın klorür iyonuna indirgenmesi mümkün olmaktadır (Reaksiyon 13).



Hasar ve ark., (2008), oksitlenmiş kirletici olarak bilinen nitrat ve klorlu organik bileşiklerin giderimini MBfR sistemlerde denemiştir. Büyüme için verilen süreçlerde mikroorganizmaların aktif tabakası biyofilm olarak tanımlanmıştır. Denitrifikasyon için elektron verici olarak hidrojen gazı kullanılmıştır. Genellikle hidrojen ve oksijenin kullanımıyla desteklenen biyofilm membran, hidrofobik gaz transfer membranlar olarak tanımlanmıştır (membran duvarı boyunca gaz difüze eden reaktör). Fakat gaz ya da sıvının yatay olarak hareket etmesine izin vermemiştir. Buna genellikle düşük baloncuk gaz transfer membran olarak adlandırılmıştır. (Hasar ve ark.,2008).

Kükürt içeren reaktif bariyer sistemlerinin uzun süreli performansının belirlenmesi gerçek ölçekli çalışmalar için önemlidir. Büyük bir kolon PRB reaktör kurularak bu durum test edilmiştir. Giriş suyu 60 mg/L NO₃-N'de tutulmuştur. Kolon 5-10 mm çapında kükürt ve kireçtaşı ile 3/1 hacim oranında doldurulmuştur. Fosfat ilave edilmediği durumda, nitrat arıtımı gözlenmemiş olup, fosfat ilavesiyle beraber, nitrat giderimi gerçekleşmiştir. Bekleme zamanının 24 saatten 12 saate düşürülmesi sistem performansını etkilememiş ve %95'in üzerinde denitrifikasyon verimi gözlenmiştir. Uzun süreli çalışmalar sonucunda denitrifikasyon veriminin değişmediği görülmüştür (Moon ve ark.,2008).

Moon ve ark. (2010), Kükürt-bazlı ototrofik denitrifikasyon ile nitrat giderimini gerçekleştirirken, bakteriyel popülasyon dinamiğinin, substrata ve zamana göre değişimini araştırmışlardır. 16S rRNA gen ve DGGE analizleri ile başlangıçta ve nitrat konsantrasyonunun değişimi ile bakteriyel dinamiğin nasıl değiştiğini ortaya koymuşlardır. 200 gün işletilen reaktörlerde elde edilen BLAST sonuçlarına göre reaktörlerde %97 benzerlikle *Thiobacillus denitrificans*, %94 benzerlikle *Cenibacterium arsenoxidans* ve %98 benzerlikle *Chlorobium limicola* görülmüştür.

pH ayarlamaları için kullanılan kireç/kireç taşının çıkış sertlik konsantrasyonunu artırması, ototrofik denitrifikasyon ve biyoelektrokimyasal yöntemleri birlikte uygulamaya yöneltmiştir. Çalışmada (Wan ve ark., 2009), biyolojik ve elektrokimyasal reaktörler birleştirilerek biofilm-elektrod reaktör yöntemi geliştirilmiştir. Bu sistemde ototrofik denitrifikasyon mikroorganizmaları katot yüzeyinde immobilize olmakta ve elektrolizde bir elektron verici olan H_2 gazı üretilmektedir (Wan ve ark., 2009).

Bu gibi proseslerde kükürt-bazlı ototrofik ve hidrojen-bazlı ototrofik sistemlerin birleştirilmesinin nedenleri;

- Kükürt denitrifikasyonunda üretilen H^+ iyonları nötralizasyon için biyoelektrokimyasal hidrojen denitrifikasyonu ile tüketilebilir.
- Bunun yanı sıra SLAD proseslerine kireçtaşı eklenmesine gerek kalmayabilir ve böylelikle sertlik artışının da önüne geçilebilir.
- Çıkış sülfat konsantrasyonu kükürt ototrofik denitrifikasyon bölümünde ki azot yüklemesi ile kontrol edilebilir.

Çalışmada kullanılan giriş suyu, Pekin'in Fengtai ilçesinden temin edilen nitratla kirlenmiş yer altı suyudur. Tüm çalışma 105 gün devam etmiş ve 21 gün boyunca HRT4.2, 3.6, 3.0, 2.4 ve 2.1 saat olarak değiştirilerek HRT'nin etkisi incelenmiştir. Buna karşılık hacimsel azot yükleme hızı da 0.12, 0.14, 0.17, 0.20, 0.24 kg N/m³gün olmuştur. Çalışmada kükürt bölümünün kinetiği belirlenmiş, çıkış SO_4 , pH, bulanıklık ve farklı hacimsel azot yükleme hızlarında optimum akım parametreleri araştırılmıştır. Sistem 0.12 - 0.24 kg N/m³gün hacimsel azot yükleme hızında nitrit birikimi olmadan %95–100 nitrat giderimi ile etkin bir şekilde işletilmiştir.

Miksotrofik, ototrofik ve heterotrofik denitrifikasyonun kıyaslanmasında sistemin mikrobiyolojisi de önemlidir. Elektron vericinin ototrofik denitrifikasyonda H_2S , heterotrofik denitrifikasyonda plusp-cresol, ve miksotrofik denitrifikasyonda H_2S , plusp-cresol olduğu koşullarda yapılan mikrobiyolojik analizlerde altı farklı bakteri türü ve üç farklı arkea gurubu gözlenmiştir. Ana türün *Proteobacteria* olduğu reaktörlerde denitrifikasyon yapan bakterilerin baskın olduğu görülmüştür. Diğer görülen türler ise *Limnobacter*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* ve *Actinobacteria*'dır. Reaktörlerde elde edilen denitrifikasyon verimi ise ototrofik koşullarda %89, miksotrofik koşullarda %99 ve heterotrofik koşullarda %95 olmuştur (Fernandez ve ark., 2009).

Kükürt ve kireçtaşı içeren biyoreaktörde yürütülen çalışmalarda, içmesularında nitrat gideriminde kükürt çözünürlüğünün denitrifikasyon hızını etkilediği öne sürülmüştür. Alkalinite desteği olarak kullanılan kireç taşı çıkışta yüksek sertlik oluşumuna neden olduğundan, bunun engellenmesi için mikсотrofik denitrifikasyon önerilmiştir. Ayrıca ototrofik denitrifikasyon sonucunda kükürtün yükseltgenmesiyle oluşan sülfatın kontrolünde de mikсотrofik denitrifikasyonun kullanılabileceği bildirilmiştir (Şahinkaya ve ark. 2011).

Şahinkaya ve Dursun (2012), ototrofik denitrifikasyon ve heterotrofik denitrifikasyonu aynı reaktörlerde gerçekleştirerek (mikсотrofik denitrifikasyon) sülfat üretimini kontrol altına alarak ihtiyaç duyulan alkaliniteyi sağlamışlardır. 200 gün boyunca yürütülen çalışmada farklı nitrat yüklemelerinde ve farklı HRT değerlerinde çalışılmıştır. Önceki çalışmalarda belirtilen C/N oranından daha düşük oranlarda başarılı bir şekilde denitrifikasyonun gerçekleştiği görülmüştür. Buna paralel olarakta sülfat üretimi başlangıçta 400 mg/L iken mikсотrofik denitrifikasyonla bu değer 220 ± 50 mg/L'ye kadar düşmüştür. Dışarıdan harici bir alkalinite kaynağı kullanmaya gerek kalmadan denitrifikasyon için gerekli alkalinitenin üretildiği görülmüştür.

Mikсотrofik denitrifikasyon atıksularda nitrat gideriminde de etkin bir şekilde kullanılabilmektedir. Kostik içeren atıksularda azot gideriminde mikсотrofik denitrifikasyon uygulanmış ve mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi çalışmaları yürütülmüştür. Kostik uygun bir prosese eklendiğinde denitrifikasyon için uygun bir elektron verici ve alkalinite kaynağı olabilmektedir. Maksimum $0.15 \text{ kg/m}^3\text{gün}$ nitrat yükleme hızında kostik elektron verici olarak kullanılarak denitrifikasyon başarıyla gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyal çalışma sonucunda reaktörlerde, *Achromo-bacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Flavo-bacterium*, *Hyphomicrobium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas* ve *Thiobacillus denitrificans* gibi heterotrofik ve ototrofik mikroorganizmalara rastlanmıştır (Park ve ark., 2011).

Huang ve ark. (2011), aktif karbonlu bir kolon biyoreaktörde mikсотrofik denitrifikasyonu farklı elektron vericilerle gerçekleştirmişlerdir. Elektron verici kaynağı olarak heterotrofik denitrifikasyonda asetik asit, ototrofik denitrifikasyonda ise demir sülfid kullanılmıştır. Yüksek nitrat yüklemelerinde ($42 \text{ mg/L NO}_3\text{-N}$) % 85'in üzerinde nitrat giderimi elde edilmiştir. Çıkışta organik madde, nitrit ve sülfat gibi ürünler olmaksızın denitrifikasyonun gerçekleştirildiği bildirilmiştir.

Fajardo ve ark. (2012), ototrofik denitrifikasyon ile nitrat giderimini, elektron verici olarak sülfür kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Nitrat yükleme hızını sabit tutarak (450 mg NO₃-N L.gün) sülfür yükleme hızını 200 mg/L.gün S⁻²’den 450mg/L.gün S⁻² e yükseltmişlerdir. Kesikli reaktörlerde yürütülen çalışmalarda sülfür % 100 oranında giderilirken azotun %67 oranında giderildiği tespit edilmiştir.

Oksijenin ototrofik denitrifikasyona etkisinin açık ve kapalı kesikli reaktörlerde çalışıldığı deneysel çalışmalarda Qambrani ve ark. (2013), yarı dereceden kinetik model üzerinde denitrifikasyon hız sabitlerini belirlemişlerdir. Elektron vericinin kükürt olduğu çalışmada açık reaktörlerde yüksek sülfat değerleriyle karşılaşmıştır. Oksijenin varlığında kükürdün sürekli olarak oksitlendiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra kapalı reaktörlerde yüksek denitrifikasyon hızı elde edilirken oksijenin açık reaktörlerde inhibisyon etkisi yaptığı görülmüştür.

Şahinkaya ve ark. (2013), nitratla birlikte kromatin indirgenmesini kükürt bazlı mikсотrofik denitrifikasyon reaktöründe çalışmışlardır. Çalışmada C/N oranı 1,33 olacak şekilde metanol yüklemesi yapılmıştır. Giriş nitrat konsantrasyonu 75 mg/L, giriş Cr(VI) konsantrasyonu 10 mg/L olduğunda denitrifikasyonun tamamlandığı bildirilmiştir. Giriş Cr(VI) konsantrasyonu 5 mg/L’ye eşit veya altında olduğunda çıkışta 50 µg/L’ye kadar düşebildiği görülmüştür.

Yapılan son çalışmalarda yer altı sularından nitrat gideriminde in-situ (yerinde) uygulamalar için yeni denitrifikasyon hücresi olarak isimlendirilen metotlar geliştirilmiştir. Batık mikrobiyal arıtım ve denitrifikasyon hücresi (SMDDC) olarak adlandırılan bu sistem ile elektrik enerjisi üretilmiş ve aynı zamanda yer altı sularında denitrifikasyon başarıyla gerçekleştirilmiştir. Anot bölümünde yer alan atıksudaki organik madde bakteriler tarafından CO₂’ye yükseltgendiğinde yer altı suyunda yer alan nitrat anot’a ve Na⁺ da katot’a transfer edilir. Anot çıkışında direnç vasıtasıyla katota geçen nitrat burada ototrofik denitrifikasyon yoluyla N₂’ye dönüştürülür. Bu çalışma ile yer altı sularından % 90,5 nitratgiderilirken, 3,4 A/m² akım yoğunluğu elde edilmiştir. Nitrat konsantrasyonu ve iyonik kuvvet sistem performansını sınırlayan parametreler olmuştur (Zhang ve Andeliki 2013).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deneysel Plan

Tez çalışmaları kapsamında kurulan laboratuvar ölçekli kolon reaktörler ve kesikli reaktörlerin işletilmesi için Çizelge 3.1.'de yer alan deneysel plan kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Deneysel Plan

İşletme Parametreleri											
Bölüm No	Deney Seti	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	Toz Kükürt/ Kireç	Granül Kükürt /Kireç (1,5-4 mm)	HRT (Saat)	Nitrat Yükleme hızı g NO ₃ ⁻ -N/(L.d) Yükleme	Arsenit (µg/L)	C/N oranı	ÇOK (mg/L)	Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)
1A	Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde HRT'nin etkisi	25	-	1/1	-	12	0,050	-	-	-	-
						9	0,066	-	-	-	-
						6	0,100	-	-	-	-
						3	0,200	-	-	-	-
		25	-	2/1	-	12	0,050	-	-	-	-
						9	0,066	-	-	-	-
						6	0,100	-	-	-	-
						3	0,200	-	-	-	-
		25	-	3/1	-	12	0,050	-	-	-	-
						9	0,066	-	-	-	-
						6	0,100	-	-	-	-
						3	0,200	-	-	-	-

Çizelge 3.1.'in devamı

İşletme Parametreleri											
Bölüm No	Deney Seti	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	Toz Kükürt/ Kireç	Granül Kükürt /Kireç (1,5-4 mm)	HRT (Saat)	Nitrat Yükleme hızı g NO ₃ ⁻ -N/(L.d) Yükleme	Arsenit (µg/L)	C/N oranı	ÇOK (mg/L)	Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)
1B	Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesinde NO ₃ -N konsantrasyonunun etkisi	25	-	1/1	-	3	0,200	-	-	-	-
		50	-				0,400	-	-	-	-
		75	-				0,600	-	-	-	-
		100	-				0,800	-	-	-	-
		25	-	2/1	-	3	0,200	-	-	-	-
		50	-				0,400	-	-	-	-
		75	-				0,600	-	-	-	-
		100	-				0,800	-	-	-	-
		25	-	3/1	-	3	0,200	-	-	-	-
		50	-				0,400	-	-	-	-
		75	-				0,600	-	-	-	-
		100	-				0,800	-	-	-	-
1C	Kesikli reaktörlerde NO ₃ -N kinetiğinin etkisi	10	-	1/1	-	-	-	-	-	-	-
		15	-				-	-	-	-	-
		25	-				-	-	-	-	-
		50	-				-	-	-	-	-
		75	-				-	-	-	-	-
		100	-				-	-	-	-	-

Çizelge 3.1.'in devamı

İşletme Parametreleri											
Bölüm No	Deney Seti	NO ₃ ⁻ - N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	Toz Kükürt/ Kireç	Granül Kükürt /Kireç (1,5-4 mm)	HRT (Saat)	Nitrat Yükleme hızı g NO ₃ ⁻ N/(L.d) Yükleme	Arsenit (µg/L)	C/N oranı	ÇOK (mg/L)	Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)
1D	Kesikli reaktörlerde NO ₂ -N kinetiğinin etkisi	-	10	1/1	-	-	-	-	-	-	-
		-	15				-	-	-	-	-
		-	25				-	-	-	-	-
		-	50				-	-	-	-	-
		-	75				-	-	-	-	-
		-	100				-	-	-	-	-
2A	Optimum C/N oranının belirlenmesi	50	-	-	Miksotrofik	12	0,100	-	0,37	18,82	-
								-	0,56	28,23	-
								-	0,75	37,65	-
								-	0,64	32	-

Çizelge 3.1.'in devamı

İşletme Parametreleri											
Bölüm No	Deney Seti	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	Toz Kükürt/ Kireç	Granül Kükürt /Kireç (1,5-4 mm)	HRT (Saat)	Nitrat Yükleme hızı g NO ₃ ⁻ -N/(L.d) Yükleme	Arsenit (µg/L)	C/N oranı	ÇOK (mg/L)	Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)
2B	As (III) konsantrasyonunun denitrifikasyona etkisi	50	-	-	1/1	12	0,100	20	-	-	500
								100	-	-	
								200	-	-	
								500	-	-	
								1000	-	-	
		50	-	-	Sadece granül kükürt	12	0,100	20	-	-	500
								100	-	-	
								200	-	-	
								500	-	-	
								1000	-	-	
		50	-	-	Miksotrofik	12	0,100	20	0,64	32	500

Çizelge 3.1.'in devamı

İşletme Parametreleri											
Bölüm No	Deney Seti	NO ₃ ⁻ - N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	Toz Kükürt/ Kireç	Granül Kükürt /Kireç (1,5-4 mm)	HRT (Saat)	Nitrat Yükleme hızı g NO ₃ -N/(L.d) Yükleme	Arsenit (µg/L)	C/N oranı	ÇOK (mg/L)	Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)
2C	As(III)'ün geri devirli AYR reaktörlerde denitrifikasyona etkisi	50	-	-	1/1	12	0,100	1000	-	-	-
									-	-	
		100							-	-	
									-	-	
		50	-	-	Sadece granül kükürt	12	0,100	1000	-	-	500
									-	-	
		100							-	-	
									-	-	
		50	-	-	Miksotrofik	12	0,100	1000	0,64	32	-
		100									
3	Moleküler çalışmalar (PCR, DGGGE, Gen Sekans)	√				√		√		√	

3.2. Kullanılan Reaktörler ve İşletme Koşulları

Tez çalışmalarında camdan üretilmiş kolon reaktörler ve 100 mL hacimli kesikli reaktörler kullanılmıştır. Araştırmanın amacına göre reaktörlerin işletme koşulları farklılık göstermektedir.

3.2.1. Deney Seti - 1A'da kullanılan sürekli akışlı kolon reaktörler

Çalışmada cam malzemeden yapılmış kolon reaktörler kullanılmıştır. Reaktörler yukarı akışlı olarak işletilmiştir. Reaktör çapı, yaklaşık 5,5 cm olacak şekilde tasarlanmış ve boş yatak hacmi yaklaşık 500 mL olarak belirlenmiştir. Kolon dolgu malzemesi olarak elementel kükürt ve CaCO_3 kullanılmıştır (Şekil 3.1). Kullanılacak olan dolgu malzemesinin oranları 1/1, 2/1, 3/1 oranlarında değiştirilerek sistem performansı araştırılmıştır (Çizelge 3.1). Sistem sürekli akışlı olarak işletilmiş ve çalışmalar oda sıcaklığında (23 ± 2 °C) yürütülmüştür. Fototrofik bakterilerin gelişimini önlemek için reaktörlerin dış kısımları kumaş ile kaplanmıştır. Küçük partikül boyutuna sahip kükürt ve kireçtaşı denitrifikasyon prosesinin hızını artırdığından toz kükürt ve CaCO_3 tercih edilmiştir. Anoksik şartların sağlanması amacıyla giriş suyundan azot gazı geçirilmiş ve besin sürekli olarak anoksik koşullarda ve buzdolabında ($+4$ C⁰) tutulmuştur.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan kolon reaktörler

Reaktörler, bakterilerin adaptasyonu için 20 gün boyunca HRT 24 saatte işletilmiştir. Denitrifikasyon sonucu oluşan gaz, günlük olarak toplanmış ve teorik gaz üretimi ile kıyaslanmıştır. Fosfor kaynağı olarak reaktörlere musluk suyuna ilave olarak verilen azot değerinin 1/5'i oranında fosfor K_2HPO_4 olarak eklenmiştir. $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonu 25

mg/L’de sabit tutulmuş ve NO₃-N kaynağı olarak KNO₃ kullanılmıştır. Reaktörlerin işletim koşulları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Sürekli akışlı kolon reaktörlerin işletme koşulları

	Kolon 1	Kolon 2	Kolon 3
Proses	Ototrofik	Ototrofik	Ototrofik
Taşıyıcı madde oranı	Kükürt/Kireçtaşı (1/1)	Kükürt/Kireçtaşı (2/1)	Kükürt/Kireçtaşı (3/1)
NO ₃ -N (mg/L)	25-50-75-100	25-50-75-100	25-50-75-100
HRT (saat)	12-9-6-3	12-9-6-3	12-9-6-3

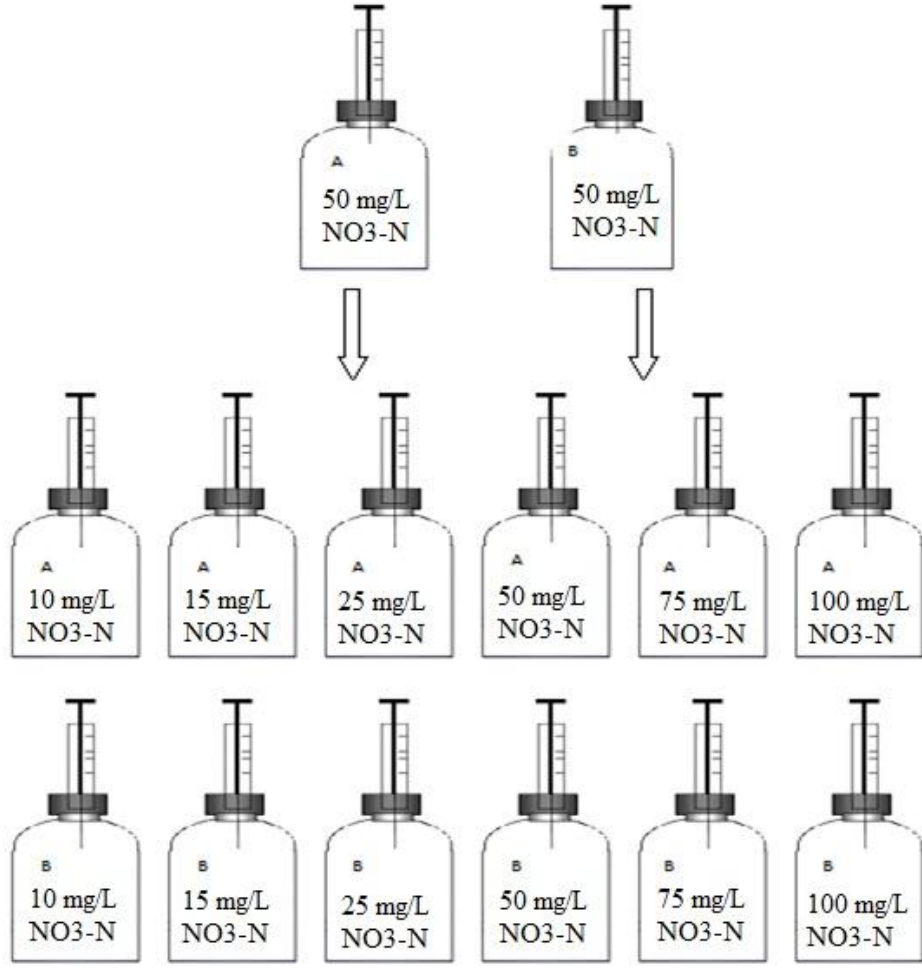
3.2.2. Deney Seti-1C’de kullanılan kesikli reaktörler

Çalışmanın bu bölümünde, kesikli reaktörler kullanılarak NO₃-N ve NO₂-N denitrifikasyon kinetiği çalışılmıştır. Kesikli reaktör olarak 150 mL hacminde amber renkli cam şişelerden yararlanılmıştır (Şekil 3.2). Kesikli reaktörlere 1/1 oranında kükürt/kireçtaşı (3gr/3gr) eklendikten sonra kolon reaktörlerden alınan yatak numunesi bakteri aşısı olarak reaktörlere eşit hacimde eklenmiştir. Kesikli reaktörler, anaerobik kabinde oksijensiz ortamda hazırlanmıştır. Numune alım işleminde ise şırınga kullanılmıştır. 12 adet reaktör kurulmuş olup bunlar 6’lı setler halinde paralel olarak çalıştırılmıştır. 6 farklı reaktörde NO₃-N ve NO₂-N konsantrasyonları 10, 15, 25, 50, 75 ve 100 mg/L olarak çalışılmıştır (Şekil 3.3). Ayrıca çalışma sonunda reaktörlerdeki mikroorganizmalar alınarak organik azot miktarı ölçülmüş ve buradan yola çıkılarak mikroorganizma konsantrasyonu hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan kesikli reaktörler

Organik azot ölçümü için reaktörlerden 10 mL karışım halinde bakteri numunesi alınmış ve santrifüj edilmiştir. Bu işlem saf su eklenerek 2 kez tekrar edilmiş ve çözünmüş organikler sudan giderilmiştir. Daha sonra numune üzerine 10 ml digestion reagent (parçalayıcı kimyasal) (Standart Metotlar da verildiği şekliyle hazırlanmıştır) eklenerek KOİ ısıtma aparatında 2 saat 150 °C’de ısıtılmıştır. Bu ısıtmada organik azot parçalanarak suya alınmıştır. Daha sonra numune önce santrifüj edilmiş ve daha sonra üst duru su şırınga filtreden geçirilerek toplam azot konsantrasyonu ölçülmüştür. Bakteri formülü $C_5H_7O_2N$ olarak alınarak toplam biyokütle konsantrasyonu mg/L VSS olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Kesikli reaktörlerde farklı NO₃-N ve NO₂-N konsantrasyonlarında denitrifikasyon kinetiğini araştırmak üzere kurulan reaktörler

3.2.3. Deney Seti-2B’da kullanılan sabit yataklı kolon reaktörler ve işletme koşulları

Deney Seti-1’de kullanılan kolon reaktörler, bu çalışmada da yine yatak hacmi 500 mL olacak şekilde kullanıldı. Çalışmada kullanılan 3 adet reaktörde 1,5- 4mm çapında granül kükürt ve kireç kullanıldı. Reaktörlerde ilk olarak ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon koşullarının oluşması sağlanmıştır. İlk aşamada adaptasyon süresince HRT 24 saat’de 50 mg/L NO₃-N konsantrasyonunda çalışılmıştır. Daha sonra HRT 12 saate düşürülmüş ve çalışma boyunca bu değerde sabit tutulmuştur (Çizelge 3.3).

Arsenik’in denitrifikasyona etkisinin farklı konsantrasyonlarda gözlemlenebilmesi ve için HRT 12 saatte çalışılması uygun görülmüştür. Kolon 1 ve 2’de adaptasyon süreci 1.

Aşamada tamamlanmıştır. Kolon 3’de mikсотrofik koşulların oluşması için farklı metanol konsantrasyonları denenmiş ve mikсотrofik koşullar sağlandıktan sonra reaktörlere aynı anda arsenik vermeye başlanmıştır. İlk olarak 20 µg/L arsenik verilmiş ve konsantrasyon kademeli olarak artırılmıştır. Arsenik yer altı sularında yaygın görülen ve daha toksik form olan arsenit formunda verilmiştir. Bu nedenle arsenik, arsenit olarak ifade edilecektir. Kimyasal madde olarak ise Sodyum meta arsenit (NaAsO₂) kullanılmıştır.

Kolon 2 girişine alkalinite ve ototrofik bakteriler için karbon kaynağı olarak kullanılmak üzere yaklaşık 250 mg/L CaCO₃ eşdeğerinde NaHCO₃ eklenmiştir. Besleme çözeltisi için musluk suyu kullanılmıştır ve musluk suyu alkalinitesi yaklaşık 250 mg/L CaCO₃’dır. Böylece toplamda reaktöre verilen alkanite kaynağı 500 mg/LCaCO₃ olmuştur (Çizelge 3.2). Kolon 3’e ise mikсотrofik koşullar sağlanana kadar (1-3. Aşama) aynı şekilde NaHCO₃ eklenmiştir. Heterotrof bakterilerin ürettiği alkalinite, ototrofik bakterilerin ihtiyacını karşılayacak duruma geldiğinde yani giriş alkalinite değeri ile çıkış değeri eşitlendiğinde NaHCO₃ verilmesi kesilmiştir.

Çizelge 3.3. Sabit yataklı kolon reaktörlerin işletme koşulları

	Kolon 1	Kolon 2	Kolon 3
Proses	Ototrofik	Ototrofik	Mikсотrofik
Taşıyıcı madde	Kükürt/Kireçtaşı (1/1)	Kükürt	Kükürt
NO ₃ -N (mg/L)	50	50	50
HRT (saat)	12	12	12
Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)	-	500	-
Metanol (mg/L)	-	-	85
DOC (mg/L)			32
Debi (mL/gün)	950	950	950

3.2.4. Deney Seti-2C’de kullanılan akışkan yataklı reaktörler

Sabit yataklı olarak işletilen kolon reaktörler, çalışmanın son aşamasında geri devirli olarak işletildi. Reaktör çıkışının 5 cm altında yer alan çıkış noktasına ilave edilen bir pompa yardımıyla çıkış suyu reaktör girişine verildi (Şekil 3.4). Geri devir debisi pompanın kapasitesine bağlı olarak giriş debisinin 60 katı olarak belirlendi (Çizelge 3.4).



Şekil 3.4. Elementel kükürt (1,5-4,0 mm) ile doldurulmuş akışkan yataklı kolon (AYR) reaktör fotoğrafları

3.3. Aşı Bakterisi

İlk kolon reaktör Harran Üniversitesi Osmanbey Kampüsü’ndeki atık su arıtma tesisinin 5 aşamalı Bardenfo prosesinin anoksik bölmesinden alınan çamur ile aşılanmıştır (denitrifikasyon yapan aktif çamur). Diğer reaktörler için ise aşı çamuru ilk reaktörde zenginleştirilen denitrifikasyon bakterilerinden temin edilmiştir.

3.4. Dolgu Malzemesi

Deney Seti-1A’da kullanılan reaktörlerde, dolgu malzemesi, elementel kükürt ve CaCO_3 Merck’den temin edilmiştir. Deney Seti-2A’da ise AYR ve kolon reaktörlerde granül kükürt (dane çapı 3-4 mm) ve kireç kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Geri devirli akışkan yataklı reaktörlerin işletme koşulları

	Kolon 1	Kolon 2	Kolon 3
Proses	Ototrofik	Ototrofik	Miksotrofik
Taşıyıcı madde	Kükürt/Kireçtaşı (1/1)	Kükürt	Kükürt
$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	50-100	50-100	50-100
HRT (saat)	12	12	12
Bikarbonat (mg/L CaCO_3)	-	500	-
Metanol (mg/L)	-	-	85-175
DOC (mg/L)			32-65
Geri devir Debisi (mL/gün)	57000	57000	57000

3.5. Besin Çözeltisi

Besin çözeltisinin hazırlanmasında kuyu suyundan temin edilen musluk suyu kullanılmıştır. Musluk suyunun özellikleri Çizelge 3.5’de verilmiştir.

Musluk suyuna çalışma koşullarına göre farklı miktarlarda 25-100 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ ve mikrobiyal aktiviteyi desteklemek için, verilen $\text{NO}_3\text{-N}$ miktarının 1/5’i oranında $\text{PO}_4\text{-P}$ eklenmiştir. Anoksik koşulların sağlanması için besleme çözeltisine azot gazı verilmiş ve günlük olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5. Kuyu suyundan temin edilen musluk suyu analiz sonuçları

Parametre	Birim	Analiz Sonucu
pH		7,67
İletkenlik (EC)	$\mu\text{S/cm}$	450
Florür (F^-)	mg/L	0,20
Klorür (Cl^-)	mg/L	5,3
Nitrat (NO_3^-)	mg/L	11,23
Sülfat (SO_4^{2-})	mg/L	10,75
Sodyum (Na^+)	mg/L	2,61
Potasyum (K^+)	mg/L	0,624
Magnezyum (Mg^{2+})	mg/L	24,08
Kalsiyum (Ca^{2+})	mg/L	56,53
Toplam sertlik	(mg/L CaCO_3)	240,32
Karbonat (CO_3^{2-})	mg/L	-
Bikarbonat (HCO_3^-)	mg/L	473

3.6. Numune Alma ve Hazırlama

Her bir bölümde reaktör çıkışında haftada üç kez $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, sülfat, sülfür, pH, ÇOK, alkalinite ve sertlik ölçümü için numune alınmıştır. Alınan numuneler 0.45 μm 'lik şırınga filtreden geçirilmiş ve buzdolabında (+4 $^\circ\text{C}$) saklanmıştır. Arsenik içeren numunelerde ise 0.22 μm 'lik şırınga filtre kullanılmıştır. Sülfür analizinde, numune havayla temas ettirilmeden alınmış ve bekletilmeden analiz yapılmıştır.

Besin çözeltisinden ise her hazırlanışta $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, SO_4 , çözünmüş organik karbon (ÇOK), pH, alkalinite ve sertlik analizi için numune alınmıştır. Sıvı yer değiştirme yöntemiyle ölçülen gaz miktarı, aşağıdaki denkleme göre hesaplanan teorik olarak üretilen gaz miktarı ile karşılaştırılmıştır (Moonve ark., 2008). Alınan numuneler haftalık olarak analiz edilmiştir.

Teorik N gaz üretim hızı (mL/gün) = giderilen NO_3^-

$$- \quad \text{N kons. (mg/L)} \times \frac{22.4 \text{ mL}}{28 \text{ mg}} \times \frac{\text{Temp (}^\circ\text{K)}}{273.15 \text{ (}^\circ\text{K)}} \times \text{debi L/gün}$$

3.7. Analiz Metotları

Çalışmada performans kriterleri aşağıda verilen parametrelere göre belirlenmiştir.

3.7.1. pH

Thermo Orion 5 Star pHmetre ile hem giriş hem de çıkış suyunda ölçülmüştür. Kükürt yatağa farklı oranlarda eklenen CaCO_3 ve/veya HCO_3^- ile reaktörlerde düşük pH değerlerinin önlenmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle çıkış suyunda pH günlük olarak takip edilmiştir.

3.7.2. Sıcaklık

Tüm deneysel çalışmalar boyunca reaktörler oda sıcaklığında ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) işletilmiştir. Sıcaklık reaktörler üzerine monte edilebilen dijital termometre ile kontrol edilmiştir.

3.7.3. Alkalinite

Alkalinite, suyun asit nötralizeedebilme kapasitesidir. Alkalinite, öncelikle sudaki karbonat, bikarbonat ve hidroksil içeriğinin bir fonksiyonudur. Ototrofik denitrifikasyon çalışmalarında tüm reaktörlere pH kontrolü için eklenen CaCO_3 ve HCO_3^- sonucu suda alkalinite oluşmaktadır. Çıkış suyunda alkalinite, standart metotlara göre ölçülmüştür (APHA, 2005).

Kullanılan kimyasal çözeltiler

Standart sülfürik asit çözeltisi, 0,1 N: 2,8 ml derişik asit litreye tamamlanır. Bu çözeltinin her ml'si 5 mg eşdeğerdir.

Standart sülfürik asit çözeltisi, 0.02 N: 200 ml 0,1 N H_2SO_4 çözeltisi litreye tamamlanır. Bu çözeltinin her ml'si 1 mg CaCO_3 'a eşdeğerdir.

Metil oranj indikatörü: 100 mg metil oranj tozu 200 ml distile suda çözülür.

Fenol Ftalein indikatörü: 1 gr fenol ftalein disodyum tuzu önce 100 ml alkolde çözülür ve 100 ml distile su ilave edilir.

Deneyin yapılışı

Çalışmada tüm analizlerde 20 mL numune kullanılmıştır. Numune 0,1 N H₂SO₄ standart çözeltisi ile önce fenolftalein indikatörü (5 damla) eşliğinde kırmızı renkten renksiz dönüşmeye kadar titre edilir ve sarfiyatı fenol ftalein alkalinitesi sarfiyatı olarak kaydedilir. Eğer fenol ftalein indikatörü ilave edildiğinde renk dönüşümü olmuyorsa, numunede fenol ftalein alkalinitesi yoktur demektir. Bu kez aynı karışım üzerine metil oranj indikatörü (5 damla) ilave ederek bürette kalan yerden titrasyona devam edilir. Portakal renginden kırmızıya dönülen noktadaki sarfiyat toplam alkalinite sarfiyatıdır.

Hesaplamalar

$$\text{Alkalinite (mg CaCO}_3\text{/L)} = \frac{\text{S. N 50000}}{\text{mL numune}}$$

S: Standart titrasyon çözeltisi sarfiyatı, mL

N: Standart titrasyon çözeltisi normalitesi (0,025 N)

3.7.4. Toplam sertlik analizi

İçme sularında sertlik suyun kalitesi bakımından önemli bir parametredir. Sertlik sudaki kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarının toplamı olarak ifade edilir. Sertlik karbonat ve bikarbonat alkalinitesi toplamından büyük olduğunda sertliğin toplam alkaliniteye eşdeğer kısmı karbonat sertliği, geri kalan kısmı ise karbonat olmayan sertlik olarak ifade edilir.

Kullanılan kimyasal çözeltiler

Tampon Çözeltisi: 1,179 gr EDTA disodyum tuzu ve 780 mg MgSO₄.7H₂O veya 644 mg MgCl₂.6H₂O, 50 ml damıtık suda çözülür. Bu çözeltiye 16,9 gr NH₄Cl ve 143 ml derişik NH₃ ilave edilir, karıştırılır, damıtık su ile 250 ml ye seyreltilir.

Erio Chrome Black T İndikatörü: 0,5 gr Eriochrome black T (Eriochrome-Schwartz T) ve 100 gr NaCl bir havanda çok ince ezilerek karıştırılır.

Standart EDTA çözeltisi: (0,01 M veya 0,02 N) Bunun için EDTA etüvde 80 °C’de 2 saat süreile kurutulur ve desikatörde soğuması için bekletilir. Bu maddeden duyarlı olarak 3,7224 g tartılıp 1 L lik balon jojeye konur. Önce az miktarda damıtık suda çözülür, daha sonra litreye tamamlanır.

Hazırlanan EDTA çözeltisinin normalitesini belirlemek için birincil standart bir maddeye karşı ayarlanması gerekir. Birincil standart madde olarak 110 °C’de kurutulmuş saf kalsiyum karbonat kullanılır. Kalsiyum karbonat, kalsiyum klorür çözeltisine dönüştürülerek kullanılır. Bunun için 1 gram dolayında duyarlı olarak CaCO₃ tartılır, 250 ml’lik bir beher alınır. Buna 10 ml saf su ve 5 ml 6 M HCl eklenip beherin ağzı hemen kapatılır. Tamamen çözünme sağlandıktan sonra çözelti litrelik bir balon jojeye aktarılır. Beher saf su ile yıkandıktan sonra litreye tamamlanır.

Bu çözeltinin normalitesi aşağıda verilen formülden hesaplanır.

$$N_{CaCO_3} = \frac{\text{tartılan(g)} \cdot 1000}{\frac{CaCO_3}{2} \cdot V \text{ (mL)}} = \frac{\text{tartılan(g)} \cdot 10^3}{50,04 \cdot V \text{ (mL)}}$$

Bu çözeltiden 25 ml’lik örnekler alınır. Bunlara 0,5 ml 6 N NH₃, 1 ml tampon çözeltisi ve 25 mg dolayında toz indikatör(veya 5-6 damla indikatör çözeltisi) eklenir. EDTA ile gök mavisi oluncaya kadar titre edilir. EDTA’nın normalitesi hesaplanır.

$$N_{EDTA} = \frac{N_{CaCO_3} \cdot V_{CaCO_3}}{V_{CaCO_3}}$$

Deneyin yapılışı

Tüm analizlerde 20 mL numune kullanılarak EDTA ile titrasyon yapılmıştır. Bulunan EDTA sarfiyatı ile aşağıdaki formülden toplam sertlik hesaplanmıştır.

Hesaplamalar

$$\text{Toplam Sertlik(ppmCaCO}_3) = \frac{V_{EDTA} \cdot N_{EDTA} \cdot \frac{CaCO_3}{2} \cdot 1000}{\text{Numune hacmi (mL)}}$$

3.7.5. Sülfür Tayini

Kullanılan kimyasal çözeltiler

Bakır sülfat çözeltisi: 50 mM CuSO₄. 5H₂O ve 50 mM HCl 500 mL safsuya eklenir ve 1 L'ye tamamlanır.

Deneyin yapılışı

Analiz edilecek numune 40 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. UV spektrofotometre 480 nm'ye ayarlanır. 1 mL saf su içerisine 4.5 mL bakır sülfat çözeltisi konulur. Cihaz safsu ile sıfırlanır. Santrifüj edilen numunedan 1 mL alınır ve hava alması önlenerek içerisine 4,5 mL bakır sülfat çözeltisi konulur. 480 nm'de absorbans değeri okunur (Cord-Ruwisch, 1985).

Sülfür (mg/L) = Absorbans x 154,62 x Seyrelme oranı

3.7.6. Nitrat, Nitrit ve Sülfat Tayini

Denitrifikasyonun gerçekleşmesinin gözlemlenmesi ve nitrat gideriminin belirlenmesi için çıkış suyunda rutin NO₃-N, NO₂-N ve SO₄ analizleri ICS-5000 model İyon Kromatografi Cihazında (Dionex, Sunnyvale, CA, ABD) analiz edilmiştir. Cihaz, ASRS-300 (4mm) supresör, iletkenlik dedektörü, İonPac® AG9-HC (4X50mm) guard ve AS9HC (4x250mm) analitik kolonlara sahiptir. Analizlerde kullanılan eluent (9 mM Na₂CO₃) cihazdan 1mL/dk debide geçirilmektedir. Cihaz için kullanılan yöntem ile tek analizde tüm anyonlar ölçülebilmektedir. Oluşturulan kalibrasyon çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılarak numunedeki anyonların konsantrasyonları ppm veya mg/L olarak ölçülebilmektedir.

3.7.7. TÇOK (Toplam Çözünmüş Organik Karbon) Tayini

Çalışmadabesin çözeltisinde ve arıtılmış çıkış suyunda kalıntı mikroorganizma veya organik maddelerin belirlenmesi için Toplam Organik Karbon (TOK) Ölçüm Cihazı (TeledyneTekmar Company, Mason, Ohio, ABD) kullanılmıştır. Numuneler analiz edilmeden önce 0,45 µm filtreden geçirilerek saklanmıştır. Cihaz kalibrasyonu içme sularında TOK değeri baz alınarak yapılmış ve TOK kalibrasyonu için 10 ppm'lik stok çözelti hazırlanması öngörülmüştür. Bu çözeltinin hazırlanmasında potasyum hidrojen fitalat

($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) kullanılmıştır. Kalibrasyon, numunelerin TOK değerindeki değişimlere karşı 0,1-1 ppm, 1-10 ppm ve 5-50 ppm aralığında yapılmıştır.

3.7.8. Arsenik tayini

Arsenik çalışmalarında arsenik analizleri Perkin Elmer ICP-OES Optima 2100 DV (Perkin Elmer Inc. USA) cihazı ile yapılmıştır. Cihaz, arseniği kuru yöntemle hidrür sistemi ile okumaktadır.

Kullanılan kimyasal çözeltiler

Sodyum borohidrür çözeltisi (% 0,2 w/v) : 2 gr NaBH_4 ve 0.5 gr NaOH tartılır damıtık suda çözülüp balon joje’de 1000 ml’ye tamamlanır.

HCl çözeltisi (% 5 v/v) : 50 ml konsantre HCl alınır ve balon jodede 1000 ml’ye tamamlanır.

Potasyum iyodür ve askorbik asit çözeltisi (% 5 w/v) : 5 gr KI ve 5 gr Askorbik asit tartılır balon joje’de 100 ml ye tamamlanır.

Standartların Hazırlanması: 50–1000 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonları arasında arsenik ölçümleri yapılmıştır geniş konsantrasyon aralığında çalışıldığından her bir bölüm için ayrı kalibrasyon hazırlanmıştır. Antimon ve Arsenik karma standartları hazırlandıktan sonra seyrelmeler % 5 HCl çözeltisi ile yapılmıştır.

Numunelerin Hazırlanması: Numuneler % 5 HCl içerecek şekilde hazırlanmış, seyrelme ise % 10 HCl çözeltisi ile yapılmıştır.

Tüm standartlara ve numunelere 1 ml KI+Askorbik asit çözeltisi ilave edilir ve 20 –45 dk. Bekletilir ve hidrür sisteminde okutulur.

3.7.9. Mikroorganizma popülasyonunun belirlenmesi

Deneysel çalışmalar süresince reaktörlerde her bir bölümde mikroorganizmalar farklı ortam koşullarına maruz kalmıştır. Bu değişikliklerin mikroorganizma popülasyonuna etkisinin olup olmayacağı bilinmemektedir. Bu nedenle bu değişimin belirlenebilmesi amacıyla DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE) ve Nükleotit yapılmıştır. Reaktörlerden işletme koşullarının

değiştirdiği durumlarda reaktörü temsil edecek bir noktadan örnekler alınmış ve bu örneklerden DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.7.9.1. DNA izolasyonu

Moleküler biyoloji çalışmaları ile kolon reaktörlerde, kesikli reaktörlerde ve AYR'de kükürt yataкта bağılı büyüyen mikroorganizmaların, DNA izolasyonu, ardından da baskın mikroorganizmaların tür tanımlama işlemleri için PCR, DGGE ve Nükleotit analizleri yapılmıştır. Reaktörlerde kükürt yatağın 4 farklı noktasından alınan mikroorganizma popülasyonundan Genomic DNA/İzolasyonu Kit el kitabına göre uygun prosedürler (hücrelerin yıkımı, hücre duvar kırıntıları ve istenmeyen organik maddelerin uzaklaştırılması, DNA eldeki gibi) uygulanarak izole edilmiştir. DNA izole edildikten sonra konsantrasyonu NanoDrop 2000 (Thermo Sci. USA) ile ölçülmüştür.

3.7.9.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

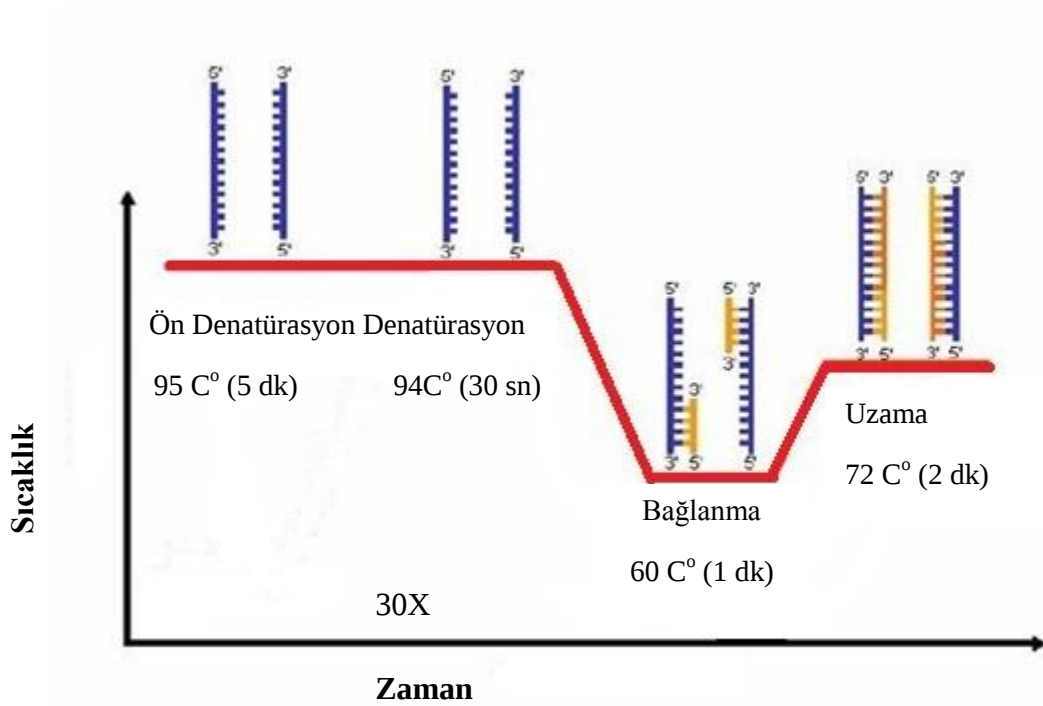
Tür tanımlama çalışmalarının ikinci adımı olan PCR ile korunmuş 16S rRNA gen bölgesinin çoğaltılması ve bakterilerin tanımlanması amaçlanmıştır. İzole edilen ribozomal DNA'nın 16S rRNA bölgesi, 338f (GC clamp, 5'CGCCGCGCGCGCCCGCGCCCGTC

CCGCGCGCCCGCGCGCTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3') ve 907r (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') (İontek, İstanbul, Türkiye) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Moon ve ark., 2010). PCR çoğaltma işlemi PCR Thermocycler (Eppendorf, Hamburg, Almanya) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.6'de yer alan bileşim PCR çalışmalarında kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan PCR koşulları Şekil 3.5.'de verilmiştir. Verilen koşullardaki döngü sayısı 30 olarak seçilmiştir (Özkaya ve ark., 2007). Elde edilen PCR ürünlerinin doğrulanması için PCR ürünleri agaroz jelde (% 1), TBE (1x) tampon kullanılarak 120 Voltta 100 dakika elektroforez edilmiştir (Sub-Cell® Model 96, BioRad, Hercules, CA, ABD).

Çizelge 3.6. PCR içeriği

Kimyasallar	PCR için belirlenen miktar (µL)
	(1 örnek için)
dNTP (10mM)	1
MgCl ₂ (25mM)	6
Tampon Çözelti (10x) NaSO ₄	10
BSA(20mg/mL)	2
Taq DNA Polimeraz	0,6
338F	0,2
907 R	0,2
DNA	5
Dionize su	75
Toplam hacim	100 µL



Şekil 3.5. PCR çalışma koşulları

3.7.9.3. Denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE)

DGGE, aynı büyüklükte olan, ancak farklı nükleotit dizilerine sahip DNA fragmentlerinin ayrışmasını sağlayan bir elektroforez çeşididir. Aynı zamanda karışık bakteri kültürlerinin profilinin oluşturulmasında ve aralarındaki etkileşimleri gözlemlene olanağı sağlayan, basit ve hızlı bir yöntemdir. Bu yöntem, farklı nükleik asit zincirlerine sahip fakat aynı boyuttaki denatüre olmuş DNA parçalarının gradient bir jel tarafından ayırt edebilmesi esasına dayanmaktadır. DGGE tekniğinde agaroz yerine poliakrilamid kullanılmaktadır. Kullanılacak poliakrilamid, PCR ürünlerinin elektroforez sonucunda görülen bandın moleküler büyüklüğüne göre %9'luk olarak hazırlanmıştır. Denatüre edici gradyan olarak üre ve formamid kullanılmaktadır. Bu denatüre edicilerin miktarlarının farklı oranlarda kullanılması sonucu %40'lık ve %60'lık iki farklı gradyanda PCR ürünleri elektroforeze tabi tutulmuştur (Çizelge 3.7). Böylece numunedeki biyolojik çeşitliliği direkt olarak yansıtan bantlar oluşmaktadır. Oluşan bant sayısı baskın tür sayısı, aynı zamanda mikrobiyal topluluğun kompozisyonu hakkında bilgi vermektedir. Bu işlem, Bio-Rad Dcode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6).

Elektroforez işlemi 60 °C'de 100 Voltta 16 saat boyunca 1X TAE Buffer (40 mM Tris, 20 mM asetik asit, 1mM EDTA; pH 8.3) içerisinde gerçekleştirilmiştir.. Elektroforez işlemi sonucunda elde edilen jel (16x16 ebatlarında) görüntülenmek üzere öncelikle 50 µL etidyum bromür/1000 mL saf su içerisinde 15 dk tutularak boyanmış ve jel görüntüleme sistemi ile jelin görüntülenmesi sağlanmıştır (Özkaya ve ark., 2007).

Denatürant hazırlandıktan sonra 100µL %2'lik (0,2 gr/1mL) amonyum persülfat (APS) ve 5 µL N,N,N',N'-tetramethylethylenediamide (TEMED) eklenmiştir. Dökülen jel tarak mesafesinin altında bırakılmıştır ve izopropanol alkol kullanılarak düzleştirilmiştir. Yaklaşık 2-3 saat jelin donması beklenmiş sonra izopropanol alınarak taraklar yerleştirilmiş ve poliakrilamid jel yüzdesi 4 olarak hazırlanmış Çizelge 3.7.'de verilen miktarlarda kimyasal içeren toplayıcı (stacking) jel ile doldurulmuştur.

Stacking jel hazırlanmasında 2,66 mL % 30 akrilamid/bis, 0,2 mL 50x TAE buffer 10 mL'ye saf su ile tamamlanır. Son olarak stacking jele 200 µL APS ve 6 µL TEMED eklenmiştir. Toplayıcı jelin amacı, tüm DNA örneklerinin jel içerisinde aynı anda koşturmayı başlatmasını sağlamaktır. Bu amaçla daha az yoğun bir poliakrilamid içermektedir.

Çizelge 3.7. Denatürant miktarları

Kimyasallar	Birim	%40 Denatürant Jel	%60 Denatürant Jel
Üre	(g)	8,4	12,6
50X TAE Tris-acetate-EDTA)Buffer	(mL)	1	1
%30 Akrilamid BIS	(mL)	13,3	13,3
Formamid	(mL)	8	12
Toplam Hacim	(mL)	50	50



Şekil 3.6. DGGE Bio-Rad Dcode Universal Mutation Detection System(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)

Hazırlanan jele PCR ürünleri yüklenerek 1X TAE tampon çözeltisi içeren 60 °C sıcaklıktaki elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Güç kaynağı (PowerPac™, Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) 16 saat 100 Volt olarak programlanmıştır (Özkaya vd. 2006). Elektroforez tamamlandığında jel 15 dakika etidyum bromür çözeltisinde bekletilmiş ve sonrasında jelin fotoğrafı jel görüntüleme cihazı (Transilluminator Infinity-1000, Vilber Lourmat, Marnela Vallée, Fransa) ile çekilmiştir. Daha sonra görüntülenen jelden UV ışık altında her bir örnekte görülen farklı bantlar kesilmiştir. Kesilen bantların bant büyüklüğünde olması ve fazla jel içermemesi önemlidir. Jelden kesilen bu bantlar 0,2 mL'lik PCR tüplerine alınmış ve üzerlerine 35 µL dionize su eklenerek bir gün +4 C⁰'de buzdolabında bekletilmiştir. Bunun amacı kesilen bantlardaki DNA'nın suya geçmesini sağlamaktır. DGGE jelden elde edilen DNA'lar çizelge 3.5 ve şekil 3.5'de verilen koşullarda PCR yapıldıktan sonra yukarıda belirtilen şekilde agaroz jelde elektroforez yapılmış ve görüntülenmiştir. Bu PCR ürünleri Nükleotit analizi yapılmak üzere -20 C⁰'de saklanmıştır.

3.7.9.4. Nükleotit analizleri

Tür tanımlama işleminin son aşamasını nükleotit analizleri oluşturmaktadır. DGGE sonucu elde edilen bantlar bir bistüri yardımıyla kesilerek DNA dizi analizine gönderilmiş ve kesilen her banda ait tür tanımlanması yapılmıştır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan dizi metodu Sanger tarafından bulunmuş olan “zincir-sonlandırma” metodudur. Çünkü bu metod daha önceki metotlara göre daha etkin ve daha az toksik kimyasallar kullanımına sahiptir. Bu metodun anahtar prensibi DNA zincir sonlandırıcı olarak dideoksinükleotit (ddNTP) kullanılmasıdır. Bu metotta normal PCR'de, PCR tüpleri içine konulan malzemelere ek olarak ddNTP'ler kullanılmaktadır. Bu ddNTP'lerin dNTP'lerden farkı deoksiriboz şekerlerinin 3. karbona bağlı olan OH grubundan O uzaklaştırılmıştır ve bunlar floresans ışık yayan bir maddeye sahiptirler. 3. karbondan sadece H atomunun bağlı olması bundan sonra bu ddNTP'ye başka bir dNTP ya da ddNTP bağlanmaması yani uzamanın sonlandırılması demektir. Bu işlemde kalıp DNA'ya uygun olarak, primere ddNTP'ler ve dNTP'ler bağlanacaktır. İşlemin sonucunda ddNTP'ler, primerden sonra ilk nükleotit olarak bağlanacağı gibi, farklı sayıda dNTP'lerin bağlanmasından sonra ya da bütün dNTP'ler bağlandıktan sonra en son nükleotit olarak da bağlanabilir. ddNTP'lerin bağlanması, ddNTP'lerin bağlandığı nükleotit yerine göre, DNA uzamasını sonlandıracağı için, farklı büyüklüklerde PCR ürünleri elde edilmektedir. Nükleotitsinde, kapiller elektroforez sistemi ile küçük molekül ağırlığına sahip olan DNA fragmentlerinden büyük

olana doğru PCR ürünleri, hızlı bir şekilde bir dedeksiyon sisteminden geçirilir. Her bir nükleotit çeşidi için kullanılan floresan madde farklı dalga boyundadır. Bu farklılığa göre, cihazın yazılımı her bir nükleotiti farklı bir renkte göstererek, PCR ürünlerinin nükleotit dizisini belirlemiştir. Nükleotit analizlerinin yapılması için DGGE sonrası yapılan PCR ürünleri, primerlerle birlikte REFGEN (Ankara) firmasına gönderilmiştir ve nükleotit dizileri hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tezin laboratuvar aşamasında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda elde edilen veriler bu bölümde sunulmuş ve tartışılmıştır. Tez çalışmaları kükürt/kireç oranının, granül kükürdün, HRT'nin, nitrat konsantrasyonunun ve arseniğin denitrifikasyona etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Deneysel veriler ve elde edilen bulgular aşağıda tartışılmıştır.

4.1. Kükürt Bazlı Ototrofik Denitrifikasyon Performansına Kükürt ve CaCO_3 Oranının, HRT ve $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonunun Etkisi

Tez çalışmalarında birinci bölümde 3 adet cam kolon reaktör kurulmuş ve her biri daha önce belirtilen oranlarda (1/1, 2/1, 3/1) toz kükürt/ CaCO_3 ile doldurulmuştur (Şekil 3.1). Kullanılan dolgu malzemelerinin küçük partikül boyutu ile yüzey alanı artırılarak, denitrifikasyon ve kükürtün sülfata oksidasyonu hızlandırılabileceği bildirilmiştir (Moon ve ark., 2006). Bu nedenle çalışmada küçük partikül boyutuna sahip elementel kükürt ve CaCO_3 kullanılmıştır. Denitrifikasyon bakterilerinin oluşması ve ortam koşullarına adaptasyonu için reaktörler 1 ay boyunca HRT 24 saat olarak işletilmiştir. Adaptasyon süresi sonunda cam kolon reaktörler ototrofik denitrifikasyon koşullarında 100 gün süreyle 7 aşama olarak işletilmiştir. Giriş nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$) konsantrasyonu 25 mg/L'de sabit tutulmuş, HRT değeri 12 saatten 3 saate kademeli olarak düşürülerek, optimum HRT değerinin belirlenmesi amaçlanmış ve reaktör performansı irdelenmiştir. Optimum HRT değerinin belirlenmesinden sonra ise sabit HRT'de farklı nitrat konsantrasyonlarının denitrifikasyona etkisi gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Sürekli akışlı kolon reaktörlerdeki işletme koşulları

Aşamalar	1	2	3	4	5	6	7
Gün	0-15	15-30	30-45	45-62	62-75	75-87	87-100
$\text{NO}_3\text{-N}$ (mg/L)	25	25	25	25	50	75	100
HRT (sa)	12	9	6	3	3	3	3
Nitrat Yükleme ($\text{gNO}_3\text{-N}/(\text{L.gün})$)	0.050	0.066	0.100	0.200	0.400	0.600	0.800

4.1.1. Farklı HRT değerlerinin denitrifikasyona etkisi

4 aşamadan oluşan çalışmanın bu bölümünde, giriş nitrat azotu ($\text{NO}_3\text{-N}$) konsantrasyonu 25 mg/L'de sabit tutulmuş, HRT değeri 12 saatten 3 saate kademeli olarak düşürülerek, optimum HRT değerinin belirlenmesi amaçlanmış ve reaktör performansı irdelenmiştir (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1). İlk aşamada 0,05 g $\text{NO}_3\text{-N}/(\text{L.gün})$ nitrat yüklemesi yapılmıştır. Farklı kükürt/ CaCO_3 oranlarına sahip her 3 reaktörde de denitrifikasyonun %100 tamamlandığı tüm nitratın nitrifiye olduğu görülmüştür. İkinci aşamada HRT 9 saate düşürülmüş ve nitrat yükleme oranı 0,066 $\text{NO}_3\text{-N}/(\text{L.gün})$ 'ne yükseltilmiştir. Bu aşamada tüm reaktörlerde Şekil 4.1A'da görülebileceği gibi verilen nitratın % 100 nitrifiye olduğu görülmüştür. Üçüncü ve dördüncü aşamada da nitrat yüklemesi birinci aşamanın sırasıyla 2 ve 4 katına çıkarılmasına rağmen nitratın tamamen giderildiği ve denitrifikasyonun tamamlandığı görülmektedir. Bu, küçük partikül boyutuna sahip kükürtün denitrifikasyon hızını artırmasıyla açıklanabilir. Zhang and Lampe (1999), farklı kükürt/ kireçtaşı oranlarının denitrifikasyona etkilerini denemiş 1/1, 2/1, 3/1 oranlarında benzer şekilde yaklaşık %95 nitrat giderim verimi elde etmiştir. Kireçtaşı oranının alkalinite üretiminde ve pH'ın dengelenmesinde önemli olduğunu bildirmişlerdir. Kireçtaşı oranının azaldığı durumlarda pH'ın düşmesinin 5 kat daha fazla sülfat oluşumuna neden olduğu açıklanmıştır (Zhang and Lampe, 1999).

Bununla birlikte kükürdün çözünürlüğünün denitrifikasyonun gerçekleşmesini önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir. Kesikli reaktörlerde farklı konsantrasyonlarda kükürt (0, 60.8, 121.6, 243.2, 486.4 mg/L S^0) ile denemeler yapılmıştır. Stokiyometrik eşitliklere göre 266.6 mg/L NO_3 'ni N_2 'ye indirmek için gerekli S^0 miktarı 121.6 mg/L'dir. Deney sonuçlarına göre 60.8 mg/L S^0 den yüksek konsantrasyonlarda nitrit birikimi gözlenmiştir. 486.4 mg/L S^0 de ise NO_3 tamamen N_2 'ye dönüşmüştür (Sierra-Alvarez ve ark., 2007).

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde her 3 reaktörde kükürt/ CaCO_3 oranındaki farklılığın, HRT'nin değişmesiyle denitrifikasyonun gerçekleşme oranında bir etkisi görülmemiştir (Şekil 4.2).

Çalışmada, HRT 2 saate düşürülmüş ancak reaktörlerde kükürt yatağın hareketlenmesi ve işletme sorunları nedeniyle bu aşama tamamlanmamıştır. İnilebilen en düşük HRT değeri 3 saat seçilerek bir sonraki aşamaya geçilmiştir.

4.1.2. Farklı NO₃-N konsantrasyonlarının denitrifikasyona etkisi

5. Aşamada seçilen optimum HRT değeri (3 saat) sabit tutulmuş ve giriş nitrat konsantrasyonu 50 mg/L'ye çıkarılmıştır. Nitrat yükleme oranı ise 0,400 g NO₃-N/(L.gün)'ne yükseltilmiştir (Şekil 4.2). Bu aşamada yaklaşık olarak %98 nitrat giderimi elde edilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Nitrat gideriminin tüm reaktörlerde yaklaşık olarak aynı olduğu söylenebilir. Bu aşamanın sonuna kadar her üç reaktörde de kükürt/CaCO₃ oranının denitrifikasyon verimine etkisi gözlenmemiştir.

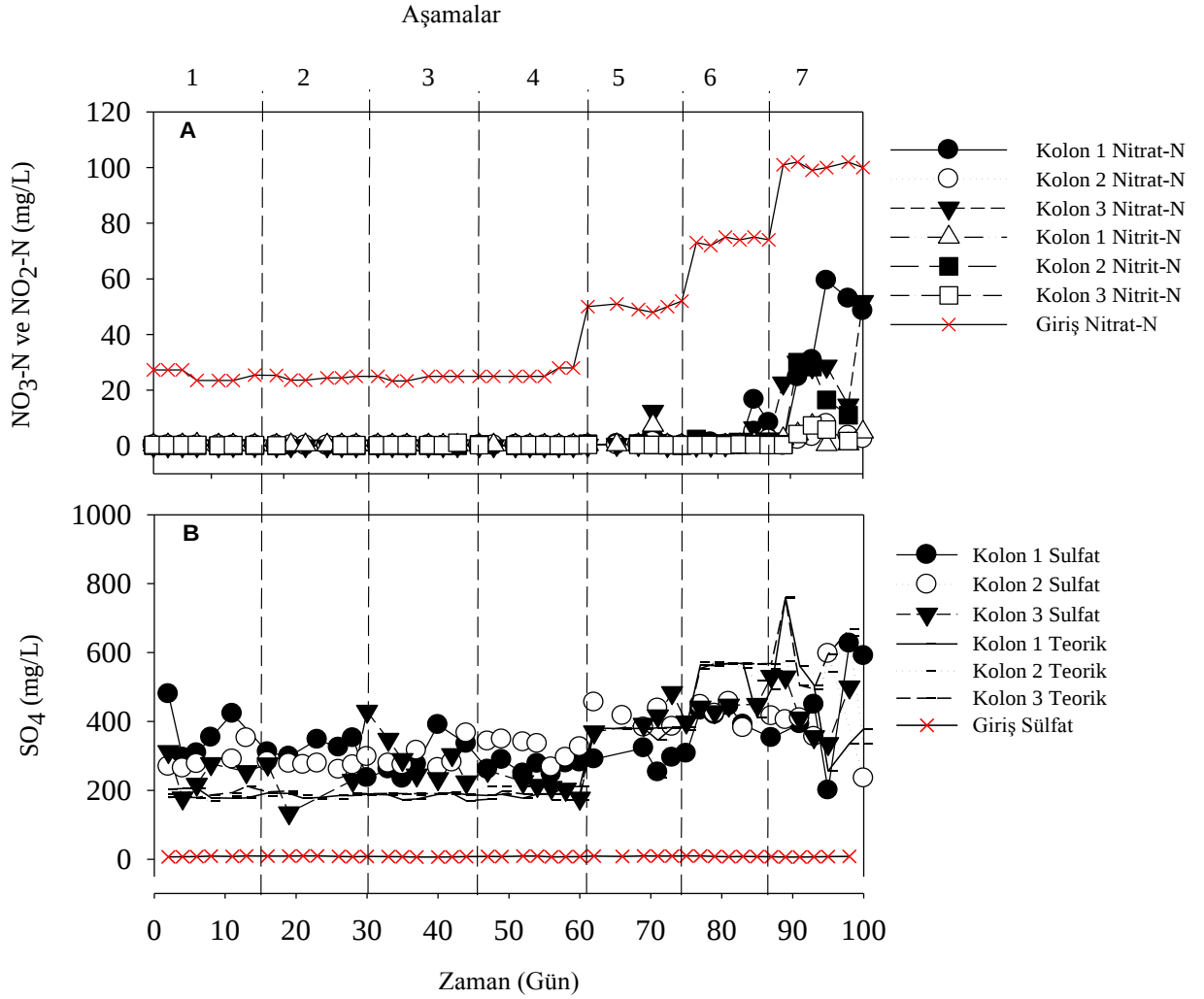
6. aşamada HRT 3 saatte, giriş nitrat konsantrasyonu 75 mg/L'ye çıkarılmıştır. Bu aşamada Kolon 1'de 12 mg/L NO₃-N ve Kolon 2'de ise 4 mg/L NO₃-N nitrat birikimi gözlenmiştir. Aşamanın sonuna doğru ise nitrat giderim veriminin düştüğü görülmüştür (Şekil 4.1 ve 4.2). Bu aşamada nitrat giderimi sırasıyla kolon 1'de %93, kolon 2'de %97, kolon 3'de %98 olarak belirlenmiştir. Çalışmanın tümü göz önüne alındığında, literatürde yer alan çalışmalara kıyasla elde edilen giderim verimlerinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2).

7. aşamada giriş nitrat konsantrasyonunun 100 mg/L'ye çıkarılmasıyla nitrat yükleme oranı 0,800g NO₃-N/(L.gün)'ne yükselmiştir. Bu aşamada çıkış nitrat konsantrasyonu yükselmiş ve denitrifikasyon veriminde oldukça belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Nitrat giderimi, Kolon 1'de %64, Kolon 2'de %75 ve Kolon 3'de % 82 olarak gerçekleşmiştir. Kükürt/CaCO₃ oranının etkisinin açıkça görüldüğü bu aşamada, en iyi giderim verimi 3/1 kükürt/CaCO₃ oranına sahip olan Kolon 3'de gözlenmiştir (Şekil 4.2). Benzer şekilde Zhang and Lampe (1999) de, yaptıkları kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon çalışmalarında optimum kükürt/kireçtaşı oranının 3/1 olduğunu bildirmişlerdir.

Denitrifikasyon hızını sınırlayan parametrenin kükürdün çözünürlüğü olduğu iddia edilmiştir. Kükürt apolar bir mineraldir ve suda nispeten çözünmeyen bir yapıdadır. Suda ki çözünürlüğünün 20 C^o'de sadece 5 µg/L olduğu bildirilmiştir (Ju ve ark., 2007). Bu nedenle kükürt oranının fazla olduğu reaktörde denitrifikasyonun daha iyi gerçekleştiği görülmüştür. Bu durumda çözünürlüğün ve kükürt miktarının verimi belirleyici parametre olduğu savunulabilir.

Önceki çalışmalarda belirtildiği üzere elementel kükürt ortamda var olan elektron alıcı (NO₃) tükendiğinde kimyasal tepkimeye uğrar ve sülfat oluşumu devam eder (Luna-Velasco ve ark., 2010). Nitratın %100 giderimi ve nitrit birikiminin oluşmaması sonucu,

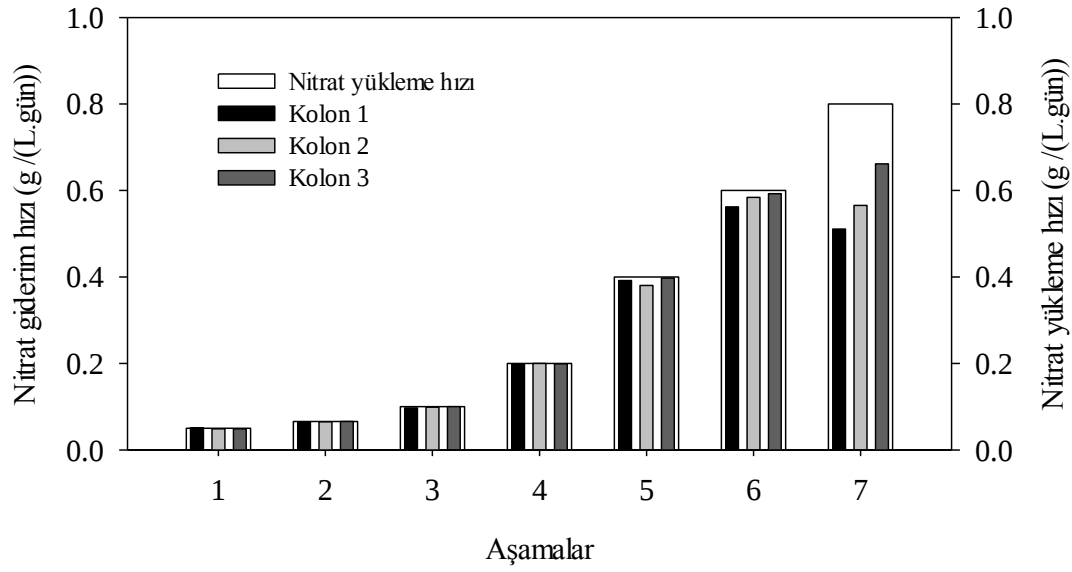
ortamda elektron alıcı tükenmiş verilen reaksiyon sonucu sülfat üretimi devam etmiş olabilir (Reaksiyon 14). Çıkışta sülfür oluşumu da bu bilgiyi desteklemektedir.



Şekil 4.1. Kolon reaktörlerde giriş ve çıkış NO₃-N, NO₂-N, sülfat değişimleri

Çizelge 4.2. Literatürde yer alan kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon proseslerinin kıyaslanması

Reaktör Tipi	Dolgu Maddesi ve Oranı	HRT (saat)	Nitrat Yükleme Oranı (kg/m ³ .d)	Nitrat Giderim Hızı (kg/m ³ .d)	Referans
Geçirgen reaktif bariyer sistemi	Kükürt/Kireçtaşı 3/1	12	0.120	0.108	Moon ve ark., (2004)
Sabit yataklı kolon reaktörler	Granül Kükürt/Kireçtaşı 2/1	6	0.204	0.190	Zhang, (2004)
Sürekli akışlı reaktör	Kükürt/Kireçtaşı 1/1	15	0.291	0.279	Alvarez ve ark., (2007)
Sürekli akışlı reaktör	Kükürt/ Granül Antrasit 1/1	4.2 - 2.1	0.12-0.24	0.114-0.23	Wan ve ark., (2009)
Kolon reaktör	Kükürt/Kireçtaşı/Aktif Karbon 1/1/1	15-5.6	0.08-0.214	0.064-0.171	Sahinkaya ve ark., (2011)
Sürekli akışlı reaktör	Kükürt	3-0.4	0.42-0.58	0.30-0.41	Sun ve Nemati (2012)
Paket biyoreaktör	Kükürt –kireç seramik taşıyıcı madde	2-3.6	0.001-0.130	0,00098-0.128	Han ve ark., (2012)
Sürekli akışlı reaktör	Kükürt/Kireçtaşı 1/1-2/1-3/1	12-3	0.05-0.8	0.05-0.66	Tez çalışması



Şekil 4.2. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde kükürt / CaCO_3 oranının denitrifikasyona etkisi ve nitrat giderim hızları (g/L.gün)

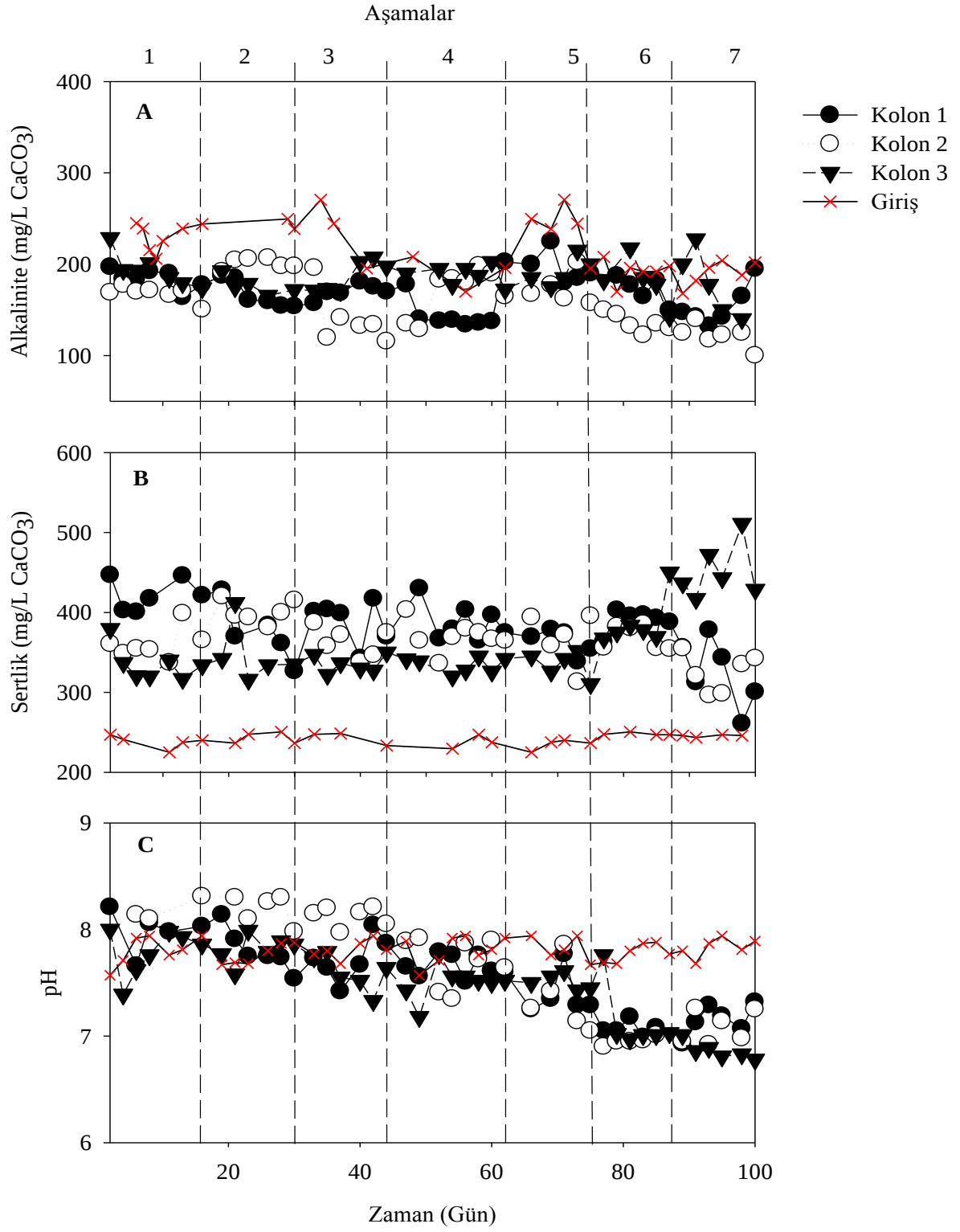
4.1.3. Kolon reaktörlerde pH, alkalinite ve sertlik değişimleri

Tez çalışmaları süresince giriş ve çıkışta pH değişimleri düzenli olarak belirlenmiştir. Giriş pH değeri ortalama 7,9 civarında seyretmiştir. İlk iki aşamada çıkış pH değerleri her 3 reaktörde de 7,5-8,0 aralığındadır. Zhou ve ark. (2011), kükürt/kireçtaşı içeren biyoreaktörlerde nitrit ve nitrat giderimi çalışmışlar ve HRT'nin 3 saat nitrat konsantrasyonunun 10, 40, 70 ve 100 mg N/L olduğu koşullarda pH değerlerinin girişte 6 iken çıkışta 7,5'a kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Kireçtaşının çözünürlüğünün yüksek olmasından dolayı iyi bir pH dengeleyici ve alkalinite sağlayıcı olduğunu ifade etmişlerdir. Kükürt oksitleyen denitrifikasyon bakterileri için en uygun pH 6 ile 9 arasındadır (Holt vd., 1994). Tez çalışmalarında da tüm aşamalarda gözlenen pH değerleri bu değerleri sağlamıştır. 3. ve 4. aşamada pH değerlerinin bir miktar düştüğü görülmektedir (Şekil 4.3). Özellikle oran olarak kireçtaşının daha az olduğu, Kolon 2 (2/1) ve Kolon 3 (3/1) de pH değerlerinde Kolon 1(1/1)'e kıyasla daha belirgin bir düşüş olduğu gözlenmiştir. HRT'nin azalması ve debinin artması ile kireç taşının hızlı çözünmesi ve üretilen asit miktarının dengelenmesinin zorlaşması pH'da ki düşüşün nedeni olabilir. 7. aşamada reaktörler arasındaki denitrifikasyon veriminin etkisi pH değerlerine de yansımıştır. En yüksek nitrat giderim veriminin elde edildiği Kolon 3'de alkalinite ihtiyacının artması ile kireçtaşının hızlı bir biçimde çözündüğü, pH'ın da belirgin bir biçimde düştüğü görülmektedir.

Ototrofik şartlarda 1 g $\text{NO}_3\text{-N}$ 'in indirgenmesi 4.57 g CaCO_3 tüketimine neden olmaktadır (Şahinkaya ve ark., 2011). Çalışmada 1. aşamada tüm reaktörlerde alkalinite değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. 2. Aşamada Kolon 1 ve Kolon 3 alkalinite değerlerinden farklı olarak 2. Kolonda alkalinite de azda olsa bir artış gözlenmektedir. Aynı kolonda 2. aşamada sertlik değerinin de artması bu kolonda kireçtaşının daha hızlı çözündüğünü göstermektedir. 3. aşamada Kolon 2'de alkalinitenin hızlı bir şekilde düşüşünün nedeninin, artan debi ve azalan HRT (6 saat) ile kireçtaşının çözünmesiyle üretilen alkalinite, ototrofik denitrifikasyonda üretilen asidi dengeleyememiş olması olarak düşünülebilir.

6. ve 7. aşamalarda alkalinite değerlerinde gözlenen düşüş, Kolon 1 ve Kolon 2'de benzerlik gösterirken, Kolon 3'de özellikle nitrat yükleme oranının 0,800 $\text{NO}_3\text{-N}/(\text{L.gün})$ 'ne yükseltildiği 7. aşamada alkalinitenin hızlı bir biçimde düştüğü görülmektedir (Şekil 4.3). Yüksek nitrat yükleme oranı ile tüketilen alkalinite miktarının artması, kireçtaşının çözünürlüğünü de artırmıştır. Bu durum daha az kireçtaşı oranına sahip Kolon 3'de sertliğinde hızlı bir biçimde artması ile sonuçlanmıştır. En yüksek nitrat giderim veriminin elde edildiği Kolon 3'de nitrat giderimi, alkalinite, sertlik ve pH değerleri arasındaki ilişkinin net bir biçimde sonuçlara yansıdığı görülmektedir (Şekil 4.3).

Alkalinite tedariki için en etkili ve ekonomik yol kireç taşı kullanımı olarak gözükmese de rağmen, sınırlı çözünme hızı, yüksek nitrat yüklemelerinde gerekli alkaliniteyi sağlayamamasını da beraberinde getirmektedir (Oh vd., 2001). Alkalinite tüketimi ve sülfat üretiminin yanında kireçtaşının çözünmesi sonrası sertliğin artması da "kükürt-kireçtaşı ototrofik denitrifikasyon" işleminin bir diğer önemli dezavantajıdır. Ortalama giriş sertliği 250 mg/L civarındadır. Kireç taşının çözünmesi ile ortaya çıkan Ca^+ iyonları çıkışta sertliğin artmasına neden olmaktadır. Heterotrofik ve ototrofik denitrifikasyon prosesinin eş zamanlı olarak kullanıldığı mikсотrofik proses kullanılarak üretilen sülfat kontrol altına alınırken sertlik oluşumu da azaltılabilir (Şahinkaya vd., 2011). Mikсотrofik proseste heterotrofik aktivite sonucu alkalinite üretilmektedir. Üretilen alkalinite ile kireç taşının çözünmesini azalttığından sertlik oluşumu da kontrol altına alınabilmektedir. Bu nedenle çalışmanın sonraki bölümlerinde bu dezavantajları elimine etmek için alkalinite tedariki için bikarbonat ilavesi, sülfat üretiminin azaltılması için ise mikсотrofik denitrifikasyon kullanılacaktır.

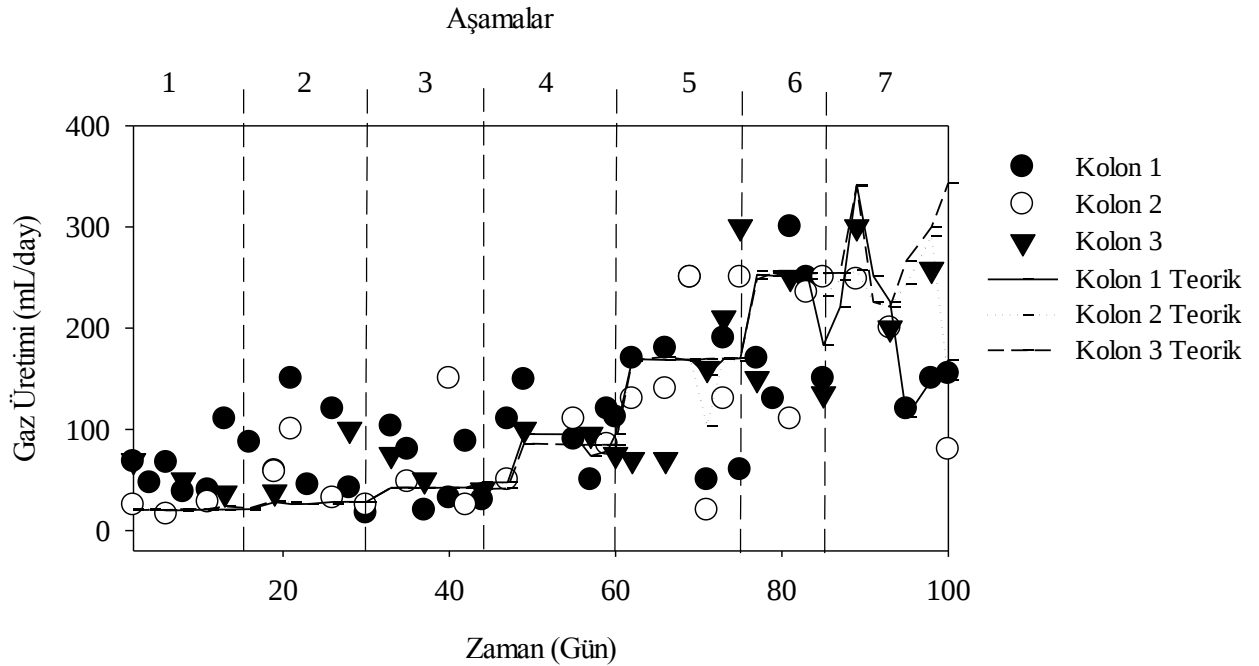


Şekil 4.3. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde giriş ve çıkışta alkalinite (A), sertlik (B) ve pH (C) değişimleri

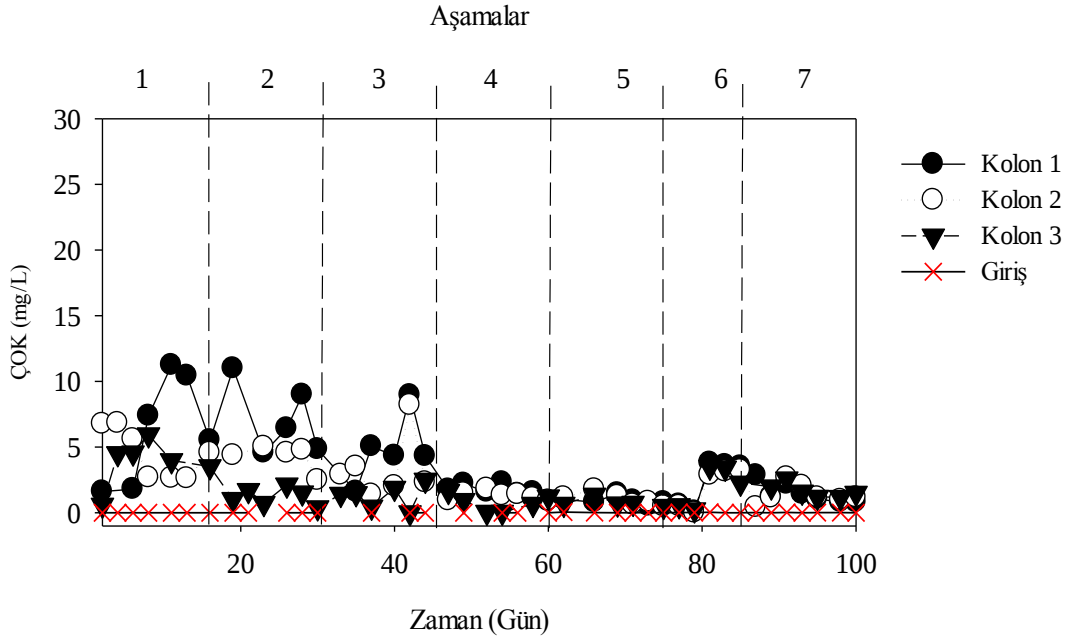
4.1.4. Kolon reaktörlerde gaz oluşumu ve ÇOK parametrelerinin değerlendirilmesi

Kolon reaktörlerde azot gazı ölçümleri sıvı yer değiştirme yöntemiyle ölçülmüştür. Azot gazı miktarında çok salınlı sonuçların elde edilmesi, dolgu malzemesi olarak çok küçük partikül boyutuna sahip kükürt ve kireçtaşı seçilmesinin bir sonucu olarak üretilen gazın yatakta tutulması ve bir gün sonra birdenbire salınması olabilir (Şekil 4.4). Benzer şekilde, denitrifikasyon prosesi sırasında üretilen azot (N_2) gazının bir kısmının özellikle yukarı akışlı reaktörlerde kolonun destek malzemesinde tutulduğunu Moon ve ark., (2008) de belirtmiştir. Gazın reaktörde bu şekilde hapsedilmesi denitrifikasyon verimini, kütle transferinin sınırlaması yüzünden düşürebilir.

Çalışmada tüm safhalarda giriş ve çıkışta çözünmüş organik karbon konsantrasyonları izlenmiştir. Reaktörlere organik madde girişi olmadığından çıkışta görülen ÇOK konsantrasyonunun mikroorganizmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. İlk iki safhada dolgu malzemesinin hareketli olması ve çıkışa bakteri kaçmasından dolayı ÇOK değerlerinde bir artış görülmektedir. Bu artış aynı zamanda ölü bakterilerin parçalanmasıyla açığa çıkan organik madde varlığından da kaynaklanabilir. Yatağın oturması ve bakteri kaçışının önlenmesi ile ÇOK değeri 5 mg/L'nin altına düşmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde gaz ölçümü



Şekil 4.5. Sürekli akışlı kolon reaktörlerde ÇOK değişimi

4.2. Kesikli Reaktörlerde Denitrifikasyon Kinetiğinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu bölümüne 100 mL hacimli kesikli reaktörlerde $\text{NO}_3\text{-N}$ ve $\text{NO}_2\text{-N}$ kinetiğinin belirlenmesi için çalışmalar yürütülmüştür.

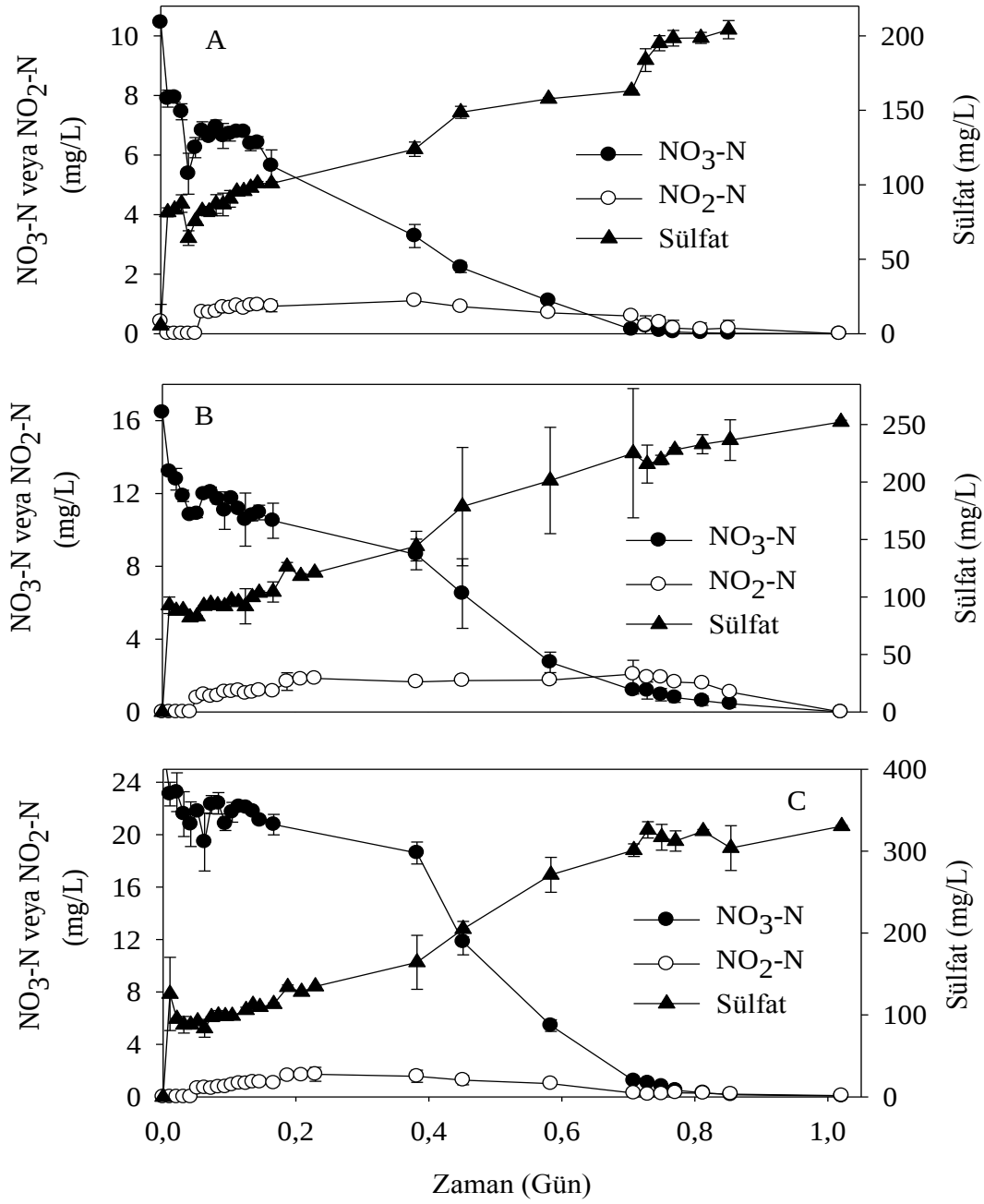
4.2.1. $\text{NO}_3\text{-N}$ kinetiğinin belirlenmesi

İlk olarak reaktörlerden alınan mikroorganizma 150 mL'lik kesikli reaktörde paralel olarak 50 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ içeren besin ile ortam koşullarına adapte edilmiştir (veriler gösterilmemiştir). $\text{NO}_3\text{-N}$ tamamen tükenene kadar kesikli reaktörlerden numune alınmıştır. Adaptasyonu sağlanan mikroorganizma 12 adet paralel çalıştırılacak kesikli reaktörlere eşit miktarda eklenmiştir. Kükürt/ CaCO_3 oranı 1/1 olarak ayarlanmış ve farklı $\text{NO}_3\text{-N}$ başlangıç konsantrasyonlarında giderim hızı belirlenmeye çalışılmıştır (Şekil 3.3). $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonu 10-15 ve 25 mg/L olan reaktörlerde denitrifikasyon bir günde tamamlanmış ve gün sonunda $\text{NO}_3\text{-N}$ tamamen giderilmiştir. Denitrifikasyon süresince reaktörlerde çok düşük konsantrasyonlarda kısa süreli $\text{NO}_2\text{-N}$ birikimi gözlenmiş ancak $\text{NO}_3\text{-N}$ 'le birlikte $\text{NO}_2\text{-N}$ 'de tamamen giderilmiştir (Şekil 4.6). 10-25 mg/L arasında $\text{NO}_3\text{-N}$ içeren reaktörlerde başlangıç nitrat konsantrasyonlarının farklı olmasına rağmen

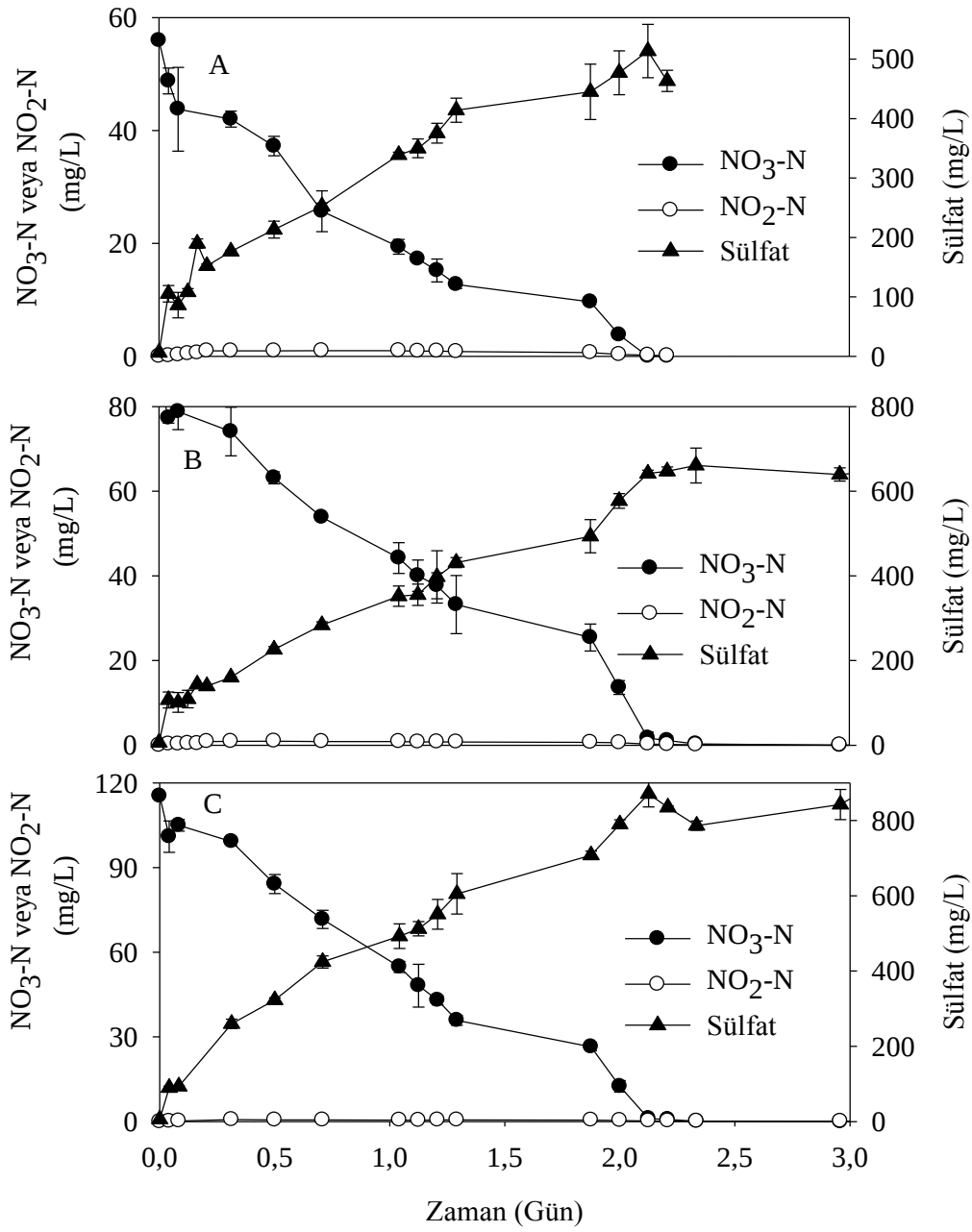
yaklaşık 0,8 günde bütün nitrat ve nitritin tüketilmesi konsantrasyon arttıkça hacimsel giderim hızının arttığını göstermektedir.

Reaksiyon hızlarının konsantrasyona göre değişimi ileride ayrıca tartışılacaktır. Başlangıç nitrat konsantrasyonları 50, 75 ve 100 mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ olması durumunda nitrat, nitrit ve sülfat konsantrasyonundaki değişim ise Şekil 4.6'da sunulmuştur. Konsantrasyonların kademeli olarak arttırılmasına rağmen yaklaşık olarak eşit zamanlarda denitrifikasyon prosesinin tamamlanması, başlangıç nitrat konsantrasyonu arttıkça denitrifikasyon hızının da arttığını göstermekte olup, bu konu detaylı olarak ileride tartışılacaktır.

Denitrifikasyon sırasında reaktörlerdeki sülfat konsantrasyonu sürekli olarak artmış olup, denitrifikasyonun elementel-kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesiyle gerçekleştiğini göstermektedir. Her bir kesikli reaktörde denitrifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra üretilen ve teorik olarak üretilmesi gereken sülfat konsantrasyonları Çizelge 4.3.'de ayrıca kıyaslanmıştır.



Şekil 4.6. 10 (A), 15 (B) ve 25 (C) mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri



Şekil 4.7. 50 (A), 75 (B) ve 100 (C) mg/L $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri

Çizelge 4.3. Kesikli reaktörlerde farklı nitrat konsantrasyonlarında üretilen ve teorik olarak hesaplanan sülfat konsantrasyonlarının kıyaslanması

Nitrat konsantrasyonu (mg/L NO ₃ -N)	Üretilen sülfat (mg/L)	
	Ölçülen	Teorik Değer
10.4	123	78
15	140	113
27	205	204
56	457	422
86	641	648
115	905	867

Çizelge 4.3.'de görüldüğü üzere kesikli reaktörlerde üretilen sülfat konsantrasyonu genel olarak teorik olarak üretilmesi gereken sülfat konsantrasyonundan daha yüksektir. Bunun nedeni ise; reaktörlerden numune alımı sırasında reaktöre oksijen sızması ve elementel kükürtü sülfata oksitlemesi olarak düşünülmektedir.

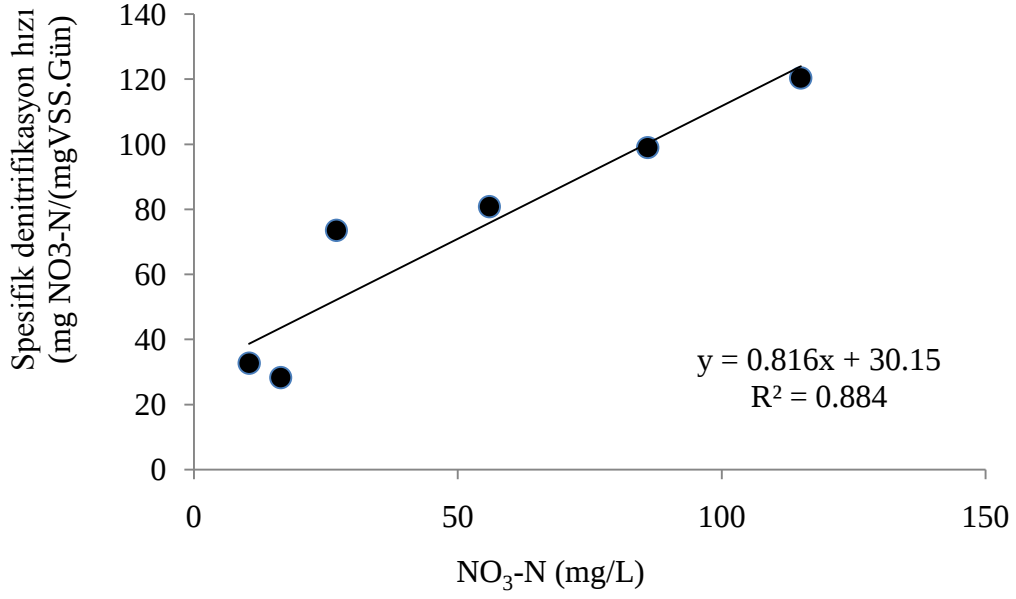
Başlangıç NO₃-N konsantrasyonunun artmasıyla NO₃-N giderim hızının da arttığı görülmüştür. Nitrat kinetiğinin çalışıldığı kesikli reaktörlerde nitrit birikiminin olmadığı gözlenmiştir. Nitrit birikimi nitrat indirgenmesini sınırlayıcı etki yapmaktadır. Proje bünyesinde yapılan ve yayımlanan çalışmamızda (Şahinkaya ve ark., 2012), 25, 50 ve 100 mg/L başlangıç NO₃-N konsantrasyonunda kesikli deneylerde sırasıyla 2.8, 6.3 ve 20.3 mg/L NO₂-N birikimi gözlenmiştir. Daha önceki sonuçlarda mevcut çalışmada gözlenen farklılığın nedenleri ise; denitrifikasyonun gerçekleştiği ortam koşulları (sıcaklık vs.) ve mikroorganizma popülasyonundaki farklılıktan ileri gelmektedir.

Çizelge 4.4.'de her bir kesikli reaktör için denitrifikasyon hızları, bakteri konsantrasyonları ve spesifik denitrifikasyon hızları verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı başlangıç nitrat konsantrasyonlarında yapılan kinetik çalışmalara ait veriler

Kesikli Reaktör	NO ₃ -N (mg/L)	Ortalama Bakteri TN mg/L	Nitrat indirgenme hızı mg/L/gün	Nitrat indirgenme hızı mg/gVSS.gün
10a	10	43	11	33
10b				
15a	16	65	15	28
15b				
25a	27	50	29	74
25b				
50a	56	44	28	81
50b				
85a	86	44	35	99
85b				
100a	115	51	50	120
100b				

Reaktörlerde bakteri konsantrasyonları 330-580 mg/L arasında değişmektedir. Nitrat indirgeme hızları ise 11-50 mg/L/gün arasında değişmekte olup başlangıç nitrat konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Spesifik denitrifikasyon hızının başlangıç nitrat konsantrasyonuyla değişimi de Şekil 4.8’de ayrıca sunulmuştur.



Şekil 4.8. Spesifik denitrifikasyon hızı ile nitrat konsantrasyonunun değişimi

Şekil 4.8.'den görüldüğü üzere nitrat giderim hızı başlangıç nitrat konsantrasyonuyla doğrusal olarak değişmektedir.

Spesifik nitrat giderim hızının başlangıç nitrat konsantrasyonuyla değişiminin ayrıca Monod denklemi (denklem 13) ile ifade edilebileceği de belirlenmiş olup, deneysel veriler ve verilere uydurulan Monod modeli Şekil 4.9.'de kıyaslamalı olarak verilmiştir.

$$q = \frac{q_m S}{K_s + S} \quad (14)$$

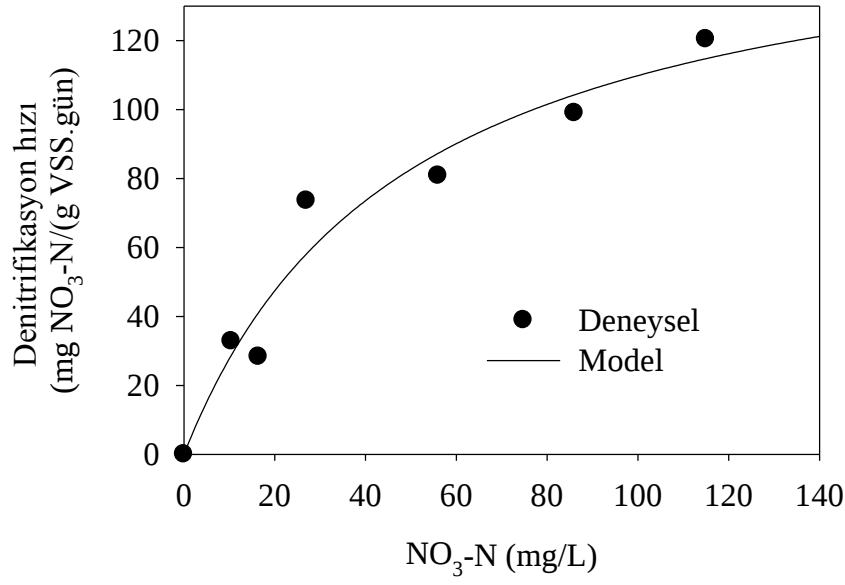
Denklemde;

q = Spesifik substrat tüketim hızı, mg/g.gün

q_m = Maksimum spesifik substrat tüketim hızı, mg/g.gün

K_s = Yarı doygunluk hız sabiti, mg/L

S = Substrat konsantrasyonu, mg/L



Şekil 4.9. Kesikli reaktörlerde nitrat giderim hızının nitrat konsantrasyonu ile değişimi ve verilere uydurulan Monod modelinin kıyaslanması

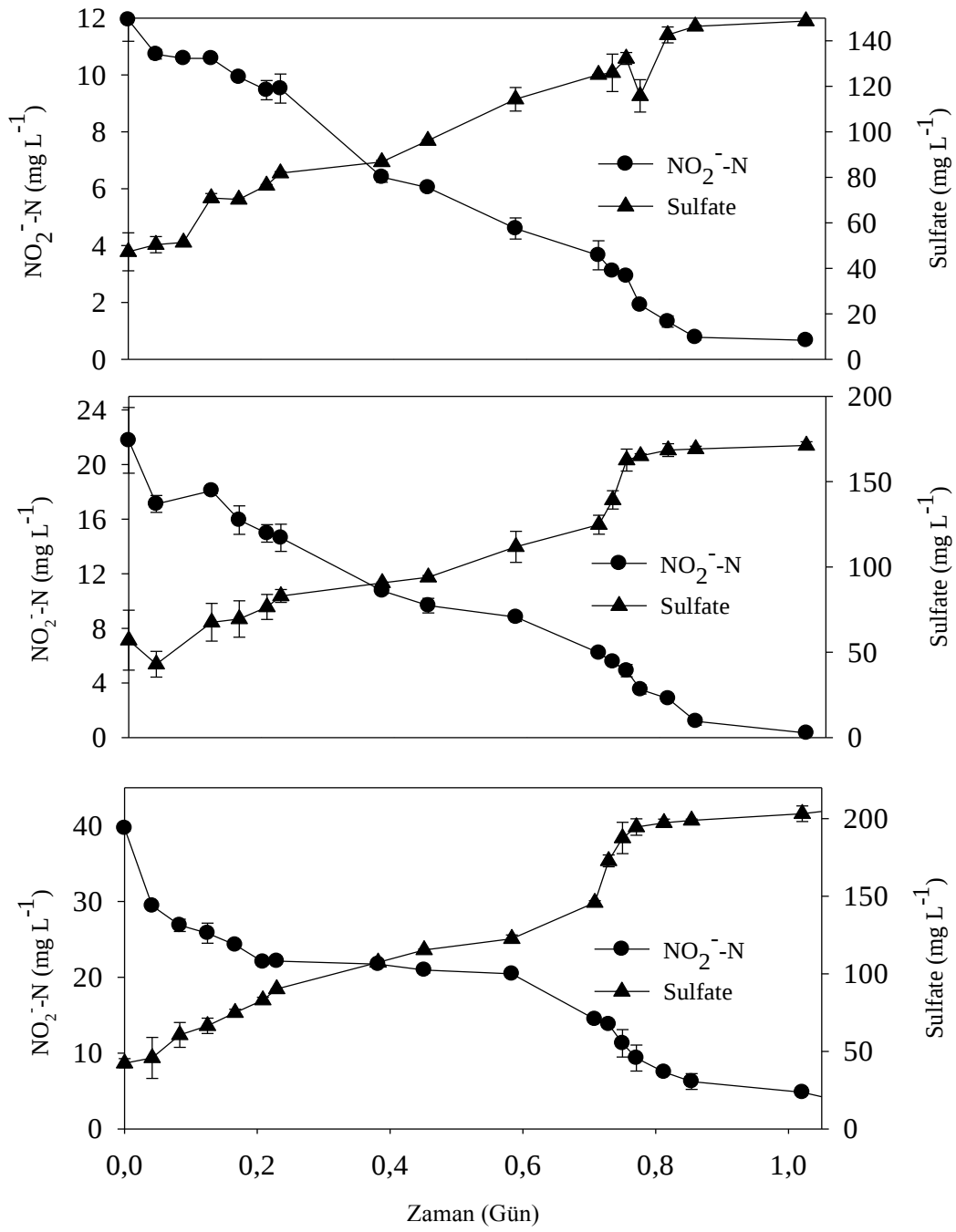
Verilere Monod Denkleminin uydurulması için SigmaPlot 11 kullanılmış olup, elde edilen R , R^2 , q_m ve K_s değerleri aşağıda sunulmuştur (Çizelge 4. 1).

Çizelge 4.5. Nitrat giderimi için Şekil 4.9’de verilen Monod Modeline ait kinetik katsayıları

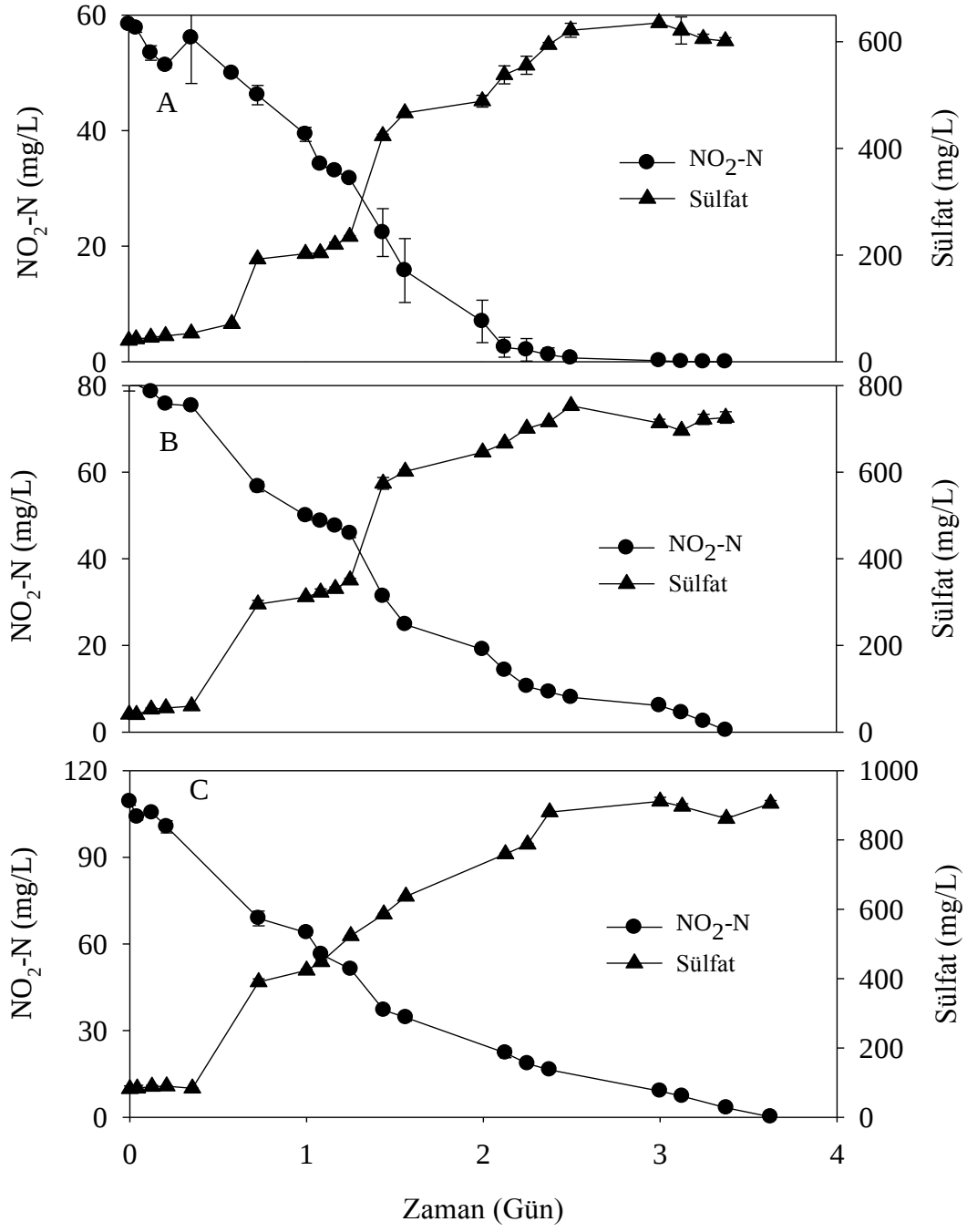
Parametre	Değer
R	0,97
R^2	0,95
K_s	49±2,6
q_m	164±27

4.2.2. NO₂-N kinetiğinin belirlenmesi

NO₂-N kinetiğinin çalışıldığı kesikli reaktörler NO₃-N kinetiği çalışmalarıyla aynı şekilde kurulmuştur. Farklı NO₂-N konsantrasyonlarında (10, 15, 25, 50, 75, 100 mg/L) NO₂-N giderim hızı belirlenmiş olup, Şekil 4.10 ve 4.11’de zamana bağlı olarak konsantrasyon değişimleri sunulmuştur. Nitrit giderimine paralel olarak sülfat konsantrasyonu artmıştır. Bu durum denitrifikasyonun elementel-kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon prosesiyle gerçekleştiğini göstermektedir. Başlangıç nitrit konsantrasyonu arttıkça üretilen sülfat konsantrasyonu da beklendiği gibi artmıştır. Nitrit konsantrasyonlarının 10-40 mg/L NO₂-N olması durumunda nitrit giderimi bir gün içerisinde tamamlanmıştır. Nitrit konsantrasyonunun 60 mg/L NO₂-N ve üzerinde olması durumunda ise nitrit giderimi başlangıç konsantrasyonuna bağlı olarak 2,5-3,5 gün arasında tamamlanmıştır.



Şekil 4.10. 10 (A), 15 (B) ve 25 (C) mg/L $\text{NO}_2^- \text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_2^- \text{-N}$ ve SO_4 değerleri



Şekil 4.11. 50 (A), 75 (B) ve 100 (C) mg/L $\text{NO}_2\text{-N}$ konsantrasyonlarında kesikli reaktörlerde $\text{NO}_2\text{-N}$ ve SO_4 değerleri

Farklı nitrit konsantrasyonlarında elde edilen veriler ayrıca Çizelge 4.6.'da sunulmuştur.

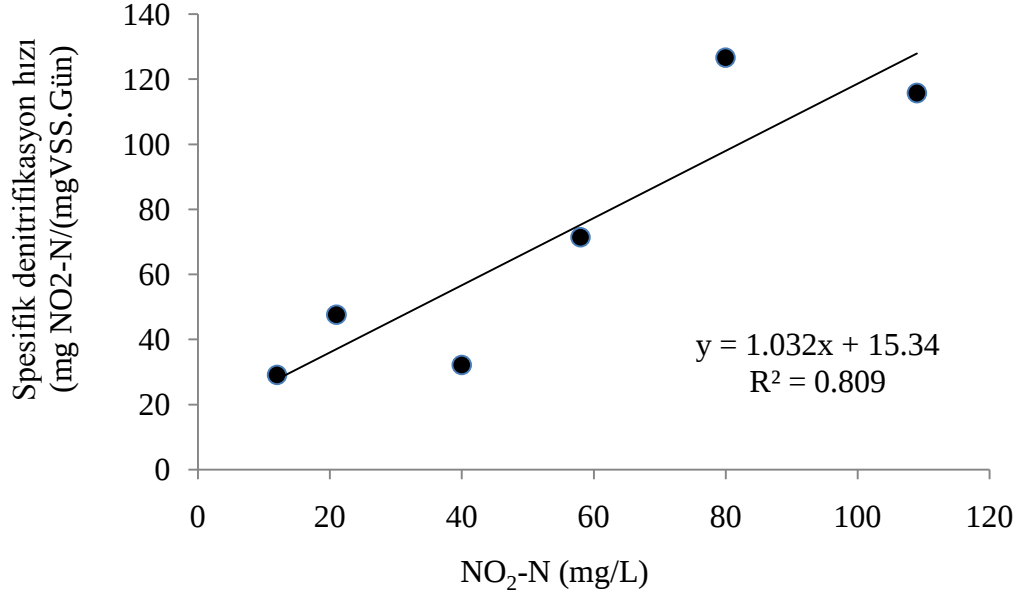
Çizelge 4.6. Farklı başlangıç nitrit konsantrasyonlarında yapılan kinetik çalışmalara ait veriler

Kesikli Reaktör	NO ₃ -N (mg/L)	Ortalama Bakteri TN mg/L	Nitrat indirgenme hızı mg/L/gün	Nitrat indirgenme hızı mg/gVSS.gün
10a	12	436	13	29
10b				
15a	21	412	20	48
15b				
25a	40	561	18	32
25b				
50a	58	367	26	71
50b				
75a	80	258	33	127
75b				
100a	109	416	48	116
100b				

Farklı başlangıç nitrit konsantrasyonlarında gözlenen spesifik denitrifikasyon hızlarının nitrit konsantrasyonuyla değişimi de ayrıca Şekil 4.12.'de sunulmuştur.

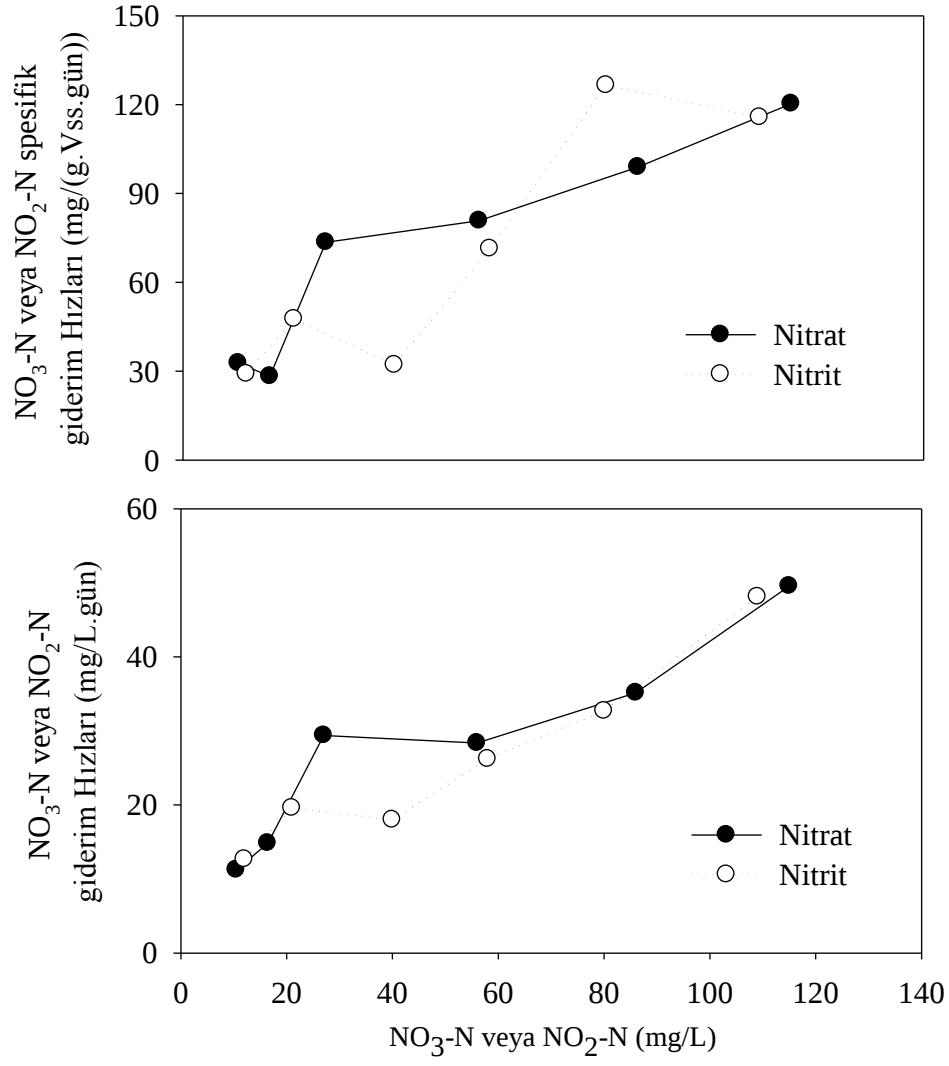
Şekil 4.12.'de görüldüğü gibi, nitrit giderim hızı başlangıç nitrit konsantrasyonuyla doğrusal olarak artmıştır. Elde edilen spesifik nitrit giderim hızları verilerine Monod Denklemi uygulansa da R^2 değeri düşük çıkmış (0,86) olup veriler gösterilmemiştir.

Çalışma sonuçlarında $\text{NO}_2\text{-N}$ giderim hızı ile $\text{NO}_3\text{-N}$ giderim hızının birbirine çok yakın olduğu belirlenmiş olup nitrat ve nitrit giderim hızları kıyaslamalı olarak Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.12. Spesifik denitrifikasyon hızı ile nitrat konsantrasyonunun değişimi

Şekil 4.13’de gözlendiği gibi nitrat ve nitrit hacimsel ve spesifik denitrifikasyon hızlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.6. ve 4.7.’de nitrat giderimi sırasında nitrit birikimi gözlenmemesi veya çok düşük konsantrasyonlarda nitrit gözlenmesi de elde edilen sonuçları doğrulamaktadır.

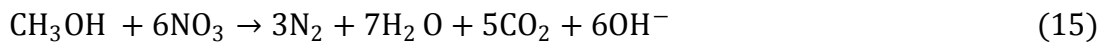


Şekil 4.13. Nitrat ve nitrit giderim hızlarının kıyaslanması

4.3. Kolon Reaktörde Miksotrofik Denitrifikasyon Koşullarının Oluşturulması

Tez çalışmalarının bu bölümünde önceki bölümlerde kullanılan üç adet kolon reaktörün dolgu yatak malzemeleri granül kükürt ve kireç ile değiştirilmiştir. Dolgu yatak olarak 1,5-4mm çapında granül kükürt ve kireç kullanılmıştır. Kolon 1,1/1 oranında granül kükürt ve kireç, Kolon 2ve 3ise sadece kükürt içermektedir. İlk iki reaktör ototrofik olarak işletilirken Kolon 3 miksotrofik koşullarda işletilmiştir (Çizelge 3.2). Reaktörler işletmeye alındıktan sonra ilk 4 aşama boyunca Kolon 1 ve 2 ototrofik koşullarda işletilmiştir. Kolon 3’de ise miksotrofik koşulların oluşması için gereken organik madde (metanol) miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu süre boyunca metanol konsantrasyonu 50 mg/L’den başlanarak yükseltilmiş ve heterotrof bakterilerin çoğalması ve heterotrofik koşulların oluşması beklenmiştir. Verilmesi gereken metanol konsantrasyonu, çıkış sülfat konsantrasyonunun izin verilen değerin (250 mg/L) altına düştüğü görülene kadar artırılmıştır. Sisteme 100 mg/L metanol konsantrasyonu verildiğinde çıkış sülfat değerinin yaklaşık 200 mg/L ye kadar düştüğü görülmüştür. Böylece metanol konsantrasyonu biraz azaltılmış ve 85 mg/L metanol verildiğinde hem sülfat konsantrasyonu 250 mg/L’ nin altına düşmüş hem de giriş ve çıkış alkalinite değerlerinin birbirine yaklaşık olarak eşitlendiği görülmüştür (Şekil 4.17 ve 4.18). Buna göre miksotrofik koşulların 0,64 ÇOK/NO₃-N oranında gerçekleştiği ortaya konmuştur.

Tek başına heterotrofik denitrifikasyonda ÇOK/NO₃-N oranı organik madde olarak metanol kullanıldığında aşağıda verilen reaksiyon 15’e göre 0,71 olmaktadır.



Ototrofik denitrifikasyon heterotrofik denitrifikasyon ile birlikte gerçekleştiğinde ise bu değeri 0,75 olarak elde etmişlerdir (Zhou ve ark., 2011).

Şahinkaya ve Dursun (2012) yaptıkları benzer bir çalışmada 4 saat HRT’de ve 0,45 g NO₃-N/L.gün nitrat yüklemesinde bu değeri 0,74 olarak belirlemişlerdir.

Tez çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre, daha düşük organik madde yüklemesiyle miksotrofik koşullar sağlanabilmiştir.

Bu aşamadan sonra miksotrofik koşulların oluştuğu düşünülerek elde edilen koşullarda reaktörleri işletilmeye devam edilmiş ve sisteme arsenik verilmeye başlanmıştır.

4.4. Kolon Reaktörlerde Arseniğin Denitrifikasyon Performansına Etkisi

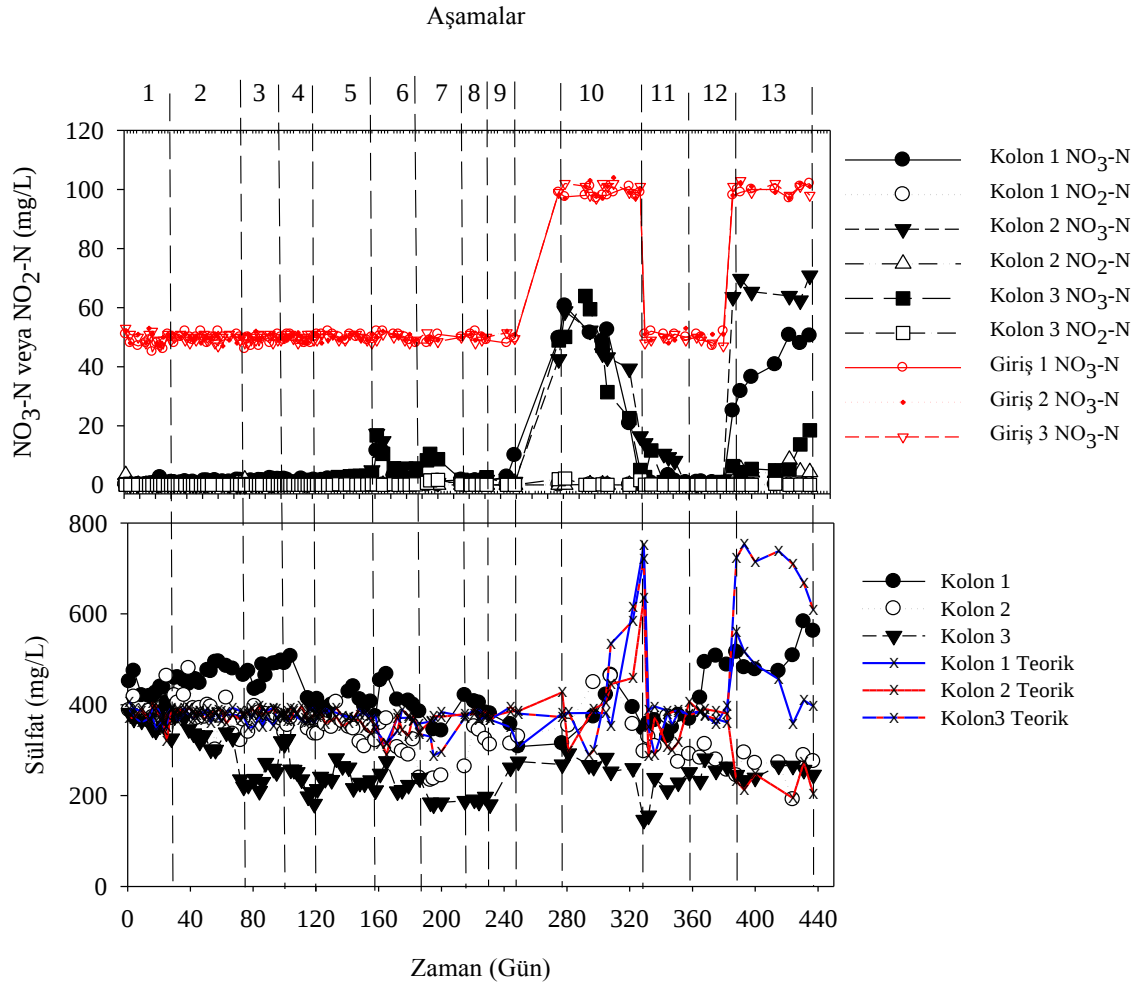
5. aşama ile birlikte her üç kolon reaktöre başlangıç arsenik miktarı 20 µg/L olacak şekilde arsenik vermeye başlanmıştır. Reaktörlerin işletim koşulları Çizelge 4.7’de verilmiştir. İçme sularında izin verilen değer 10 µg/L’dir. Ancak son yıllarda içme sularında görülen arsenik miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle çalışma, izin verilen arsenik miktarının hemen üzerinde bir değerle başlanarak geniş bir aralıkta sürdürülmüştür. Bu bölümde arsenik konsantrasyonu 20-100-200-500 ve 1000 µg/L olarak belirlenmiştir. Şekil 4.14’de görüldüğü gibi 5. aşamada denitrifikasyon, verilen arsenikten etkilenmezken, arsenik konsantrasyonunun 20 µg/L’den 100 µg/L’ye çıkarılmasıyla 6. aşamanın ilk birkaç gününde nitrat giderim veriminin düştüğü görülmektedir (Şekil 4.14 ve 4.15). Ancak devam eden süreçte sistem, artan arsenik konsantrasyonuna adapte olmuş ve denitrifikasyon hızı artmıştır.

9. aşamaya kadar artan arsenik konsantrasyonunda, her üç reaktörde de birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir ve % 95’in üzerinde denitrifikasyonun gerçekleştiği görülmüştür.

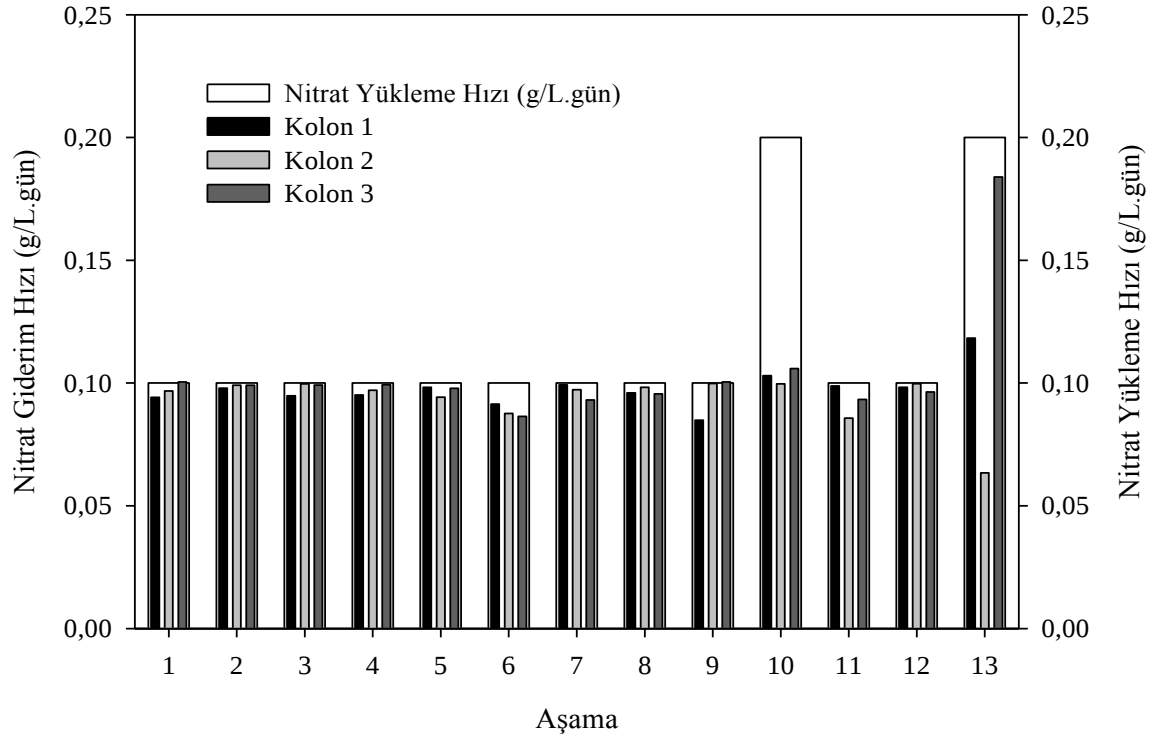
10. aşamayla birlikte arsenik konsantrasyonu 1000 µg/L’de sabit tutularak nitrat konsantrasyonu 100 mg/L’ye yükseltilmiştir. Burada amaç artan arsenik yüklemelerini tolere edebilen sistemde, nitrat yükleme hızı artırıldığında denitrifikasyonun ne ölçüde etkileneceğini görmektir. 10. aşamada Şekil 4.14’de de görüldüğü gibi denitrifikasyon performansının %50 düşmesinin kükürdün çözünürlüğünün yeterli gelmeyişinden ve arseniğin etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. İlk bölümde 100 mg/L nitrat konsantrasyonunda nitrat yükleme oranı 0,8 g NO₃-N/L.gün iken denitrifikasyon verimi Kolon 1’de % 64, Kolon 2’de % 75 ve Kolon 3’de % 82 olarak gerçekleşmiştir. Bu bölümde ise 10. aşamada nitrat yükleme oranı 0,2g NO₃-N/L.gün olmasına rağmen aynı performans elde edilememiştir. Bu durumun granül kükürdün çözünürlüğünün düşük oluşu ve arseniğin mikroorganizmalar üzerinde ki toksik etkisinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Çizelge 4.7. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerin işletme koşulları

Aşamalar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Gün	0 -25	26-70	71- 100	101-120	121-160	161-195	196-225	226-236	237-250	278-329	330-358	359-388	389-437
NO ₃ -N (mg/L)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	100	50	50	100
HRT (saat)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Arsenite(µg/L)	-	-	-	-	20	100	200	500	1000	1000	1000	1000	1000
Metanol (mg/L)	Kolon 3	50	75	100	85	85	85	85	85	175	85	85	175
ÇOK (mg/L)	Kolon 3	18,82	28,23	37,65	32	32	32	32	32	66	32	32	66
Bikarbonat (mg/L CaCO ₃)	Kolon 2	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
	Kolon 3	500	500	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrat Yükleme (gNO ₃ -N/(L.gün))	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.200	0.100	0.100	0.200



Şekil 4.14. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde NO₃-N, NO₂-N ve sülfat değişimleri



Şekil 4.15. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR’lerde Nitrat Giderim ve Yükleme Hızı

11. aşamayla birlikte nitrat konsantrasyonu tekrar 50 mg/L’ye düşürülmüş ve reaktörlerin performansı eski haline gelene kadar bu koşullarda işletilmiştir. Kolon 1 ve kolon 3 hızlı bir şekilde eski denitrifikasyon performansını yakalarken (Nitrat giderim hızı 0,098 ve 0,093g/L.gün) kolon 2’de nitrat giderim hızı 0,085g/L.gün olmuştur (Şekil 4.15).

Arsenik çalışmaları ile ilgili literatür incelendiğinde biyoreaktörlerde arseniğin daha ziyade absorpsiyon özelliğine sahip bir malzeme ile tutulduğu veya zararlı bir formdan daha az zararlı bir forma dönüştürülebildiği görülmektedir.

Benzer biyoreaktörlerde elektron vericinin tiyosülfat olarak kullanıldığı, As(III) ve nitrat içeren atıksu ile yapılan çalışmalarda sadece arsenik içeren atıksuda arsenik biyokimyasal bir değişime uğramazken nitrat ve arsenik (III) içeren reaktörlerde As(III)’ün, As(V)’e dönüştüğü görülmüştür. Nitrat elektron alıcı olarak kullanılırken As(III)’ün % 92’sinin As(V)’e oksitlendiği belirtilmiştir (Sun ve ark., 2009).

Aktif karbonun kullanıldığı biyoreaktörlerde (BAC), nitrat ve arsenik heterotrofik olarak giderilebilmektedir. Bu yöntemle nitrat konsantrasyonu 50 mg/L’den 0,2 mg/L’ye kadar

düşmüştür. Reaktörlerde oluşan sülfür demir sülfürü oluşturmuş böylelikle arsenik demir sülfür yüzeyinde arsenik sülfür olarak çökelmiştir. Bu yöntemle arsenik 200µg/L'den 20µg/L'nin altına düşürülmüştür (Upadhyaya ve ark., 2010).

4.5. AYR reaktörlerde Arseniğin Denitrifikasyon Performansına Etkisi

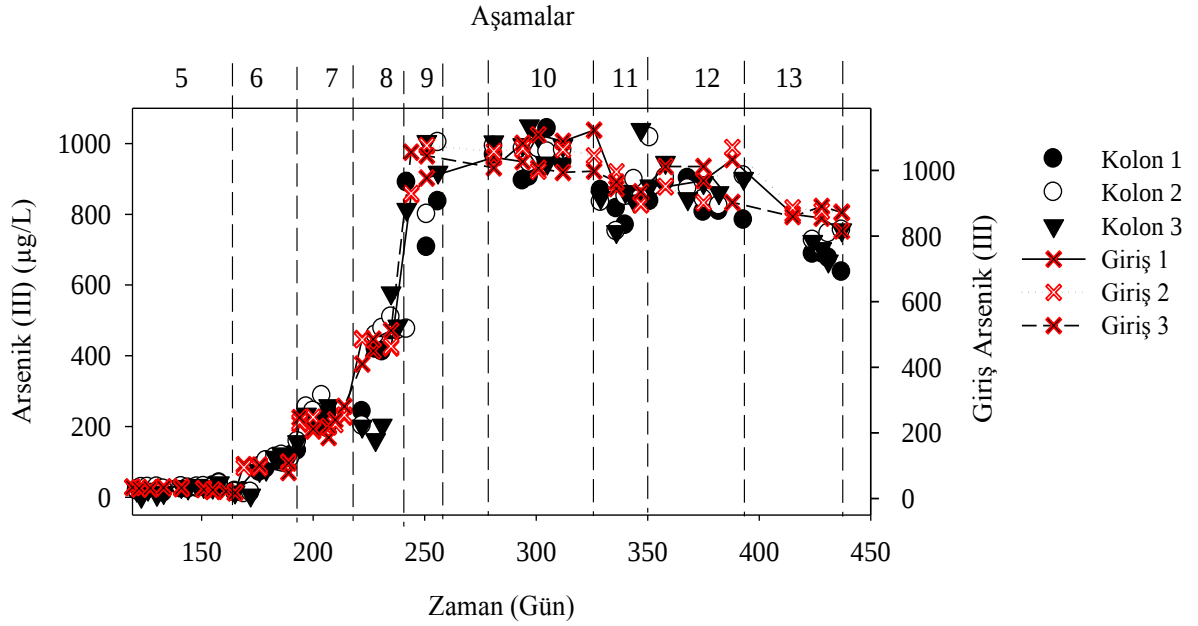
12. aşamada kolon reaktörler geri devirli akışkan yataklı reaktörler olarak işletilmeye başlanmıştır. Her bir reaktör de çıkış suyu bir pompa yardımıyla reaktör girişine beslenmiştir. Geri devir debisi giriş debisinin 60 katı olarak çalışılmıştır (Şekil 3.4 ve Çizelge 3.3). Bu aşamada çalışma koşulları değiştirilmeden sadece reaktörler geri devrettirilerek geri devrin denitrifikasyona etkisi gözlenmeye çalışılmıştır ve 11. aşamadaki denitrifikasyon hızını giderildiği görülmüştür.

13. aşamada ise 10. aşama koşullarında reaktörler, geri devirli olarak işletilerek performans kıyaslanmıştır. Özellikle bu bölümde geri devirli akışkan yataklı reaktörlerin işletme performansının, sabit yataklı reaktörlere göre çok daha iyi olduğu açıkça görülmektedir. 10. aşamada NO₃-N konsantrasyonunun 100 mg/L'ye çıkarılmasıyla yaklaşık %50 oranında bozulan denitrifikasyon verimi her 3 reaktörde de aynıken, 13. aşamada reaktörler arasında açıkça görülen bir fark ortaya çıkmıştır. Miksotrofik koşullarda işletilen kolon 3'de geri devrin denitrifikasyona hızına etkisi Şekil 4.15.'de görülmektedir. Burada kolon 3'de en yüksek denitrifikasyon hızı elde edilmiştir ve bu değer 0,183 g/L.gün olmuştur. Kolon 1, 1/1 oranında kükürt/kireçtaşı içermesinden dolayı en az elektron vericiye sahip olan reaktör olmasına rağmen geri devrin kükürdün çözünürlüğüne etkisi 13 aşamada açıkça görülmüştür. Kolon 2'de gözlenen düşük denitrifikasyon hızının (0,063 g/L.gün) nedeni ise reaktördeki mikrobiyal popülasyon dinamiğinde gözlenen değişimler olabileceği düşünülmüştür.

Çalışma süresince reaktörlerde denitrifikasyon verimi izlenirken, hem girişte hem çıkış numunelerinde arsenik konsantrasyonu da takip edilmiştir. Arsenik verilmeye başlandıktan sonra kademeli olarak artırılmıştır ve içme sularında görülebilen maksimum Arsenik konsantrasyonu olan 1000 µg/L'ye kadar yükseltilmiştir (Çizelge 1.3). Bu noktadan sonra arsenik konsantrasyonu sabitlenmiş ve nitrat konsantrasyonu artırılarak sabit yataklı ve akışkan yataklı reaktörlerde denitrifikasyon verimi gözlenmiştir (Şekil 4.14 ve 4.16).

5. aşamadan 7. aşamaya kadar tüm reaktörlerde verilen arseniğin aynen çıkışta da gözlendiği görülmektedir. Yani verilen arsenik herhangi bir biyokimyasal reaksiyona

girmeksizin, arıtılmadan çıkmıştır. Arsenik konsantrasyonunun 500 µg/L'ye çıkarıldığı 8. aşamada, kolon 1 ve kolon 2'de herhangi bir değişiklik gözlenmezken kolon 3'de çıkışta arsenik miktarının % 50 oranında azaldığı görülmektedir. Ancak bu durum sadece bu aşamada sınırlı kalmış ve tüm aşamalar izlendiğinde benzer şekilde salınımlar gözlenmişse de genel itibariyle bir arsenik gideriminin gözlenmediği açıkça görülmektedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde giriş ve çıkış arsenik değerleri

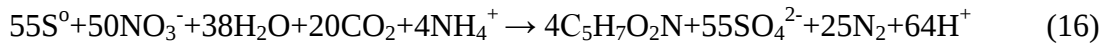
4.6. Ototrofik ve Miksotrofik Koşullarda Kolon Reaktörlerde Sülfat, Alkalinite ve Sertlik Konsantrasyonlarının Değişimi

Kolon reaktörlerde ototrofik koşullar altında üretilen sülfat konsantrasyonu ve teorik olarak üretilmesi gereken sülfat konsantrasyonu Şekil 4.13'de kıyaslamalı olarak verilmiştir. Kolon 2'de elde edilen sülfat konsantrasyonlarının teorik olarak üretilmesi gereken değere oldukça yakın olduğu görülmektedir. Kolon 1'de ise ilk 4 aşamada görülen yüksek sülfat konsantrasyonlarının reaktöre kontrol edilemeyen bir oksijen girişinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak sonraki aşamalarda bu durum kontrol altına alınmış ve çıkış sülfat değerlerinin teorik sülfat konsantrasyonuna oldukça yaklaştığı görülmüştür. Kolon 3 için hesaplanan teorik sülfat konsantrasyonu ototrofik koşullarda elde edilmesi beklenen

değerlerdir. Bu reaktörde mikсотроfik koşulların oluşmaya başladığı 3. Aşamadan sonra sülfat konsantrasyonunun beklenen şekilde düştüğü görülmektedir (Şekil 4.13).

Metanol konsantrasyonunun 85 mg/L’de sabitlenmesiyle birlikte çıkıştaki sülfat konsantrasyonu yaklaşık olarak 235 mg/L’ye düşmüştür. Ototrofik denitrifikasyon prosesiyle 50 mg/L NO₃⁻-N denitrifikasyonu neticesinde yaklaşık 400 mg/L sülfat üretilbileceği hesaplanmıştır. Organik madde ilavesiyle nitratın bir kısmı heterotrof bakteriler tarafından kullanılmış ve böylelikle çıkış sülfat konsantrasyonu düşmüştür. Üretilen sülfattan yola çıkarak nitratın yaklaşık %40’ının heterotroflar ve %60’nın da ototroflar tarafından giderildiği hesaplanmıştır. Metanol ilavesiyle hem denitrifikasyon performansı artmış hem de çıkış sülfat konsantrasyonu içme suyu standart değerlerine indirilebilmiştir.

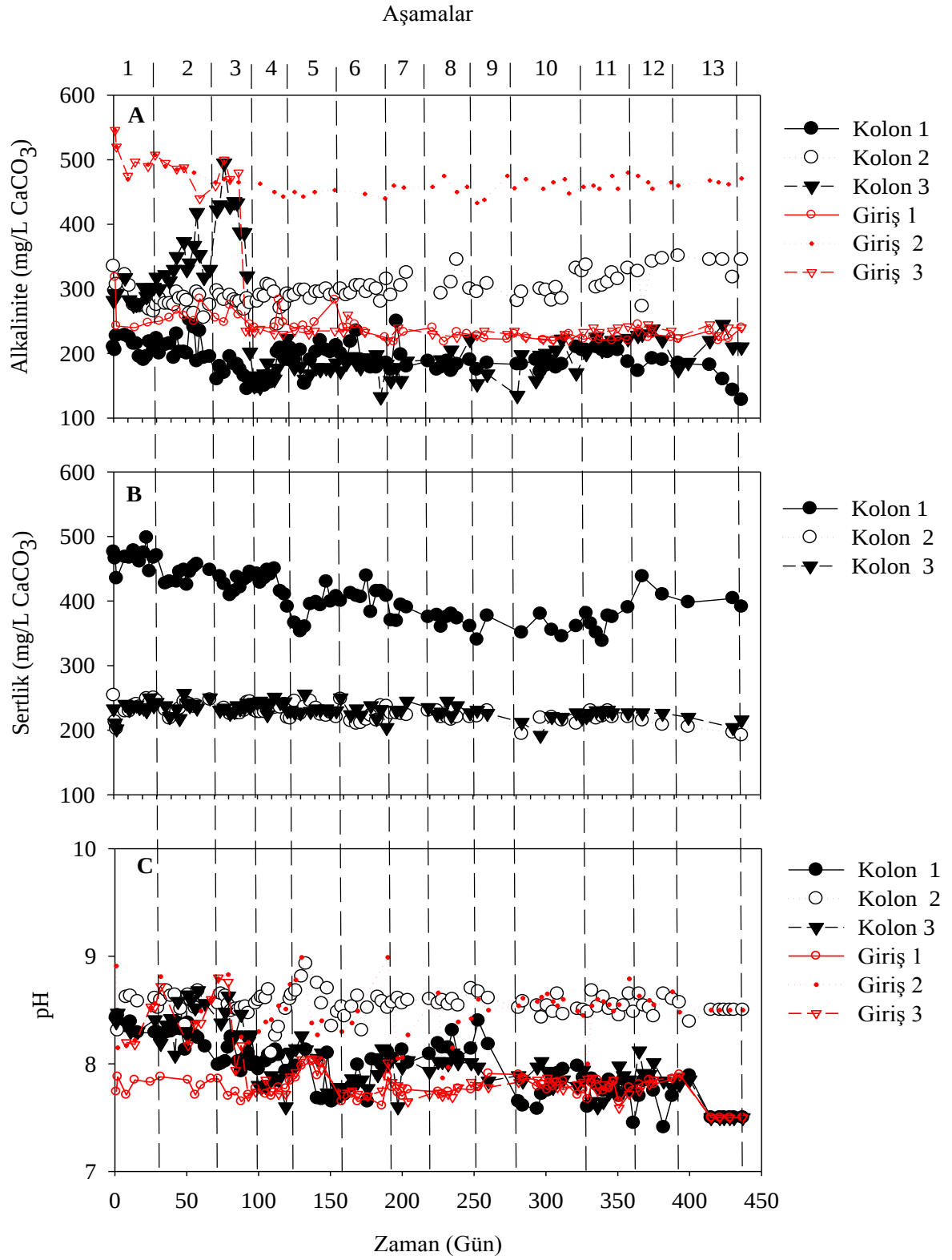
Kolon 1’de alkalinite kaynağı olarak kireç kullanılırken, kolon 2 ve 3’de reaktör girişine alkalinite ve ototroflar için karbon kaynağı olarak bikarbonat ilave edilmiştir. Her iki reaktörde de girişdeki alkalinite konsantrasyonu 500 mg/L CaCO₃ civarındadır. Ototrofik denitrifikasyon nedeniyle tüketilen alkalinite sonucunda kolon 2 ve kolon 3’de 1. aşamada reaktör çıkışında ortalama alkalinite konsantrasyonları 300 mg/L CaCO₃ değerlerine düşmüştür (Şekil 4.16.(A)). Aşağıda verilen reaksiyona göre 1 mg/L mg NO₃⁻-N giderimi neticesinde 4,57 mg/L CaCO₃ tüketilmektedir.



Kolon 3’de mikсотроfik denitrifikasyon prosesinin başlamasıyla reaktör çıkışındaki alkalinite konsantrasyonları artmış 3. aşamayla birlikte giriş alkalinite değeri ile çıkış alkalinite değeri eşitlenmiştir. Bu artışın nedeni ise metanol ilavesiyle heterotrofik denitrifikasyonun gerçekleşmesi ve denklem 17’de verildiği üzere alkalinite üretilmesidir.



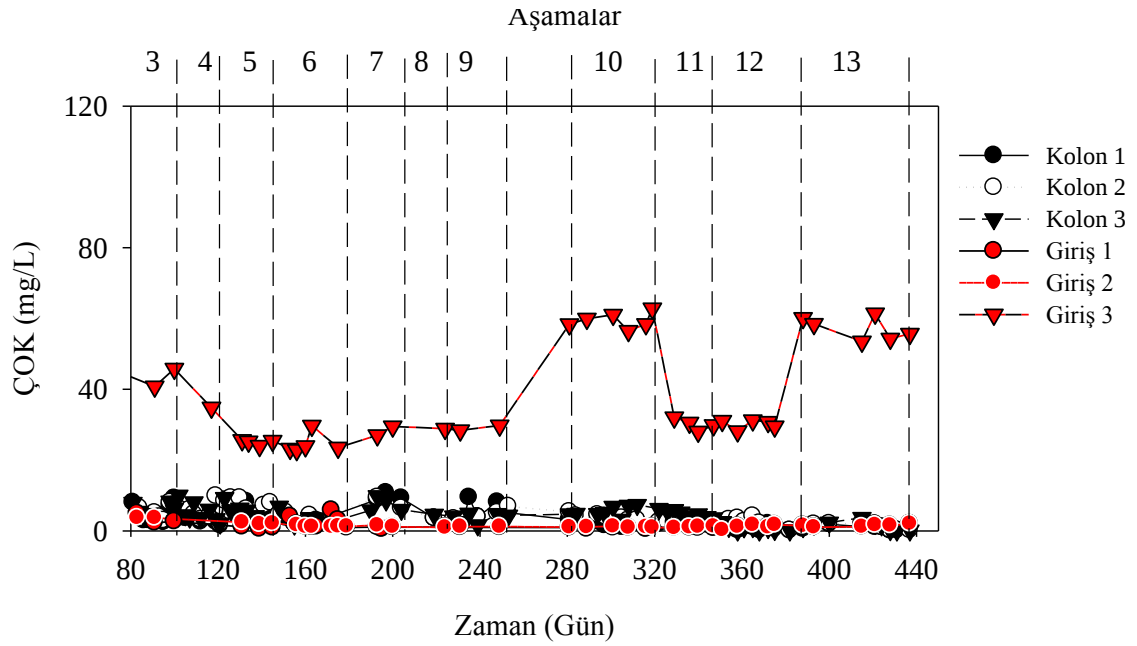
Bu aşamadan sonra kolon 3’e girişte bikarbonat verilmemeye başlanmıştır. Giriş suyu alkalinitesi ile birlikte heterotrofların ürettiği alkalinite miktarı ototrofların alkalinite ihtiyacını karşılamaktadır.



Şekil 4.17. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR'lerde Alkalinite (A) , Sertlik (B) ve pH (C) değişimleri

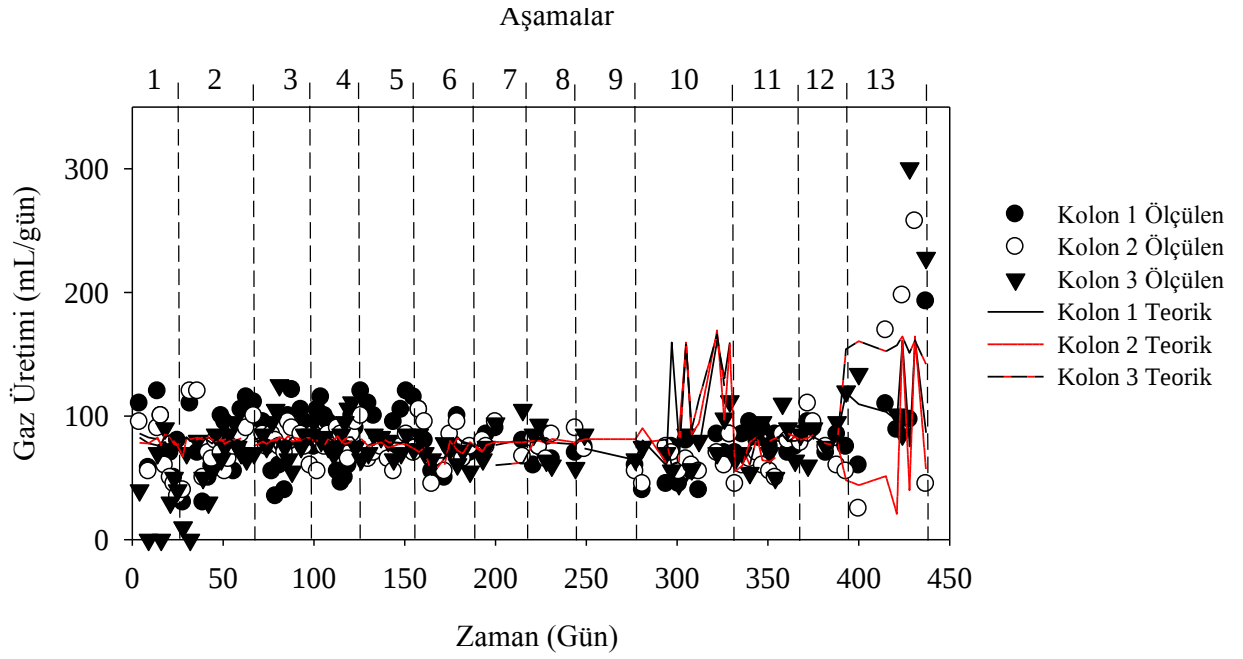
Kolon reaktörlerde çalışma boyunca çıkışta sertlik parametresi de kontrol edilmiştir. Özellikle kolon 1’de alkalinite kaynağı olarak kireç kullanımı nedeniyle oluşan Ca^+ çıkışta sertliğin yükselmesine neden olmuştur (Şekil 4.16.(B)). Bu nedenle girişte alkalinite kaynağı olarak bikarbonat kullanımı kireç kullanımına karşı daha etkin görülmektedir. Ancak girişte kimyasal olarak verilen bikarbonatın ek maliyet getireceği göz önünde bulundurulursa kireç veya bikarbonat kullanımına gereksinim duymadan kendi içinde alkalinite ihtiyacını karşılayabilen mikсотotrofik denitrifikasyonun daha etkin bir çözüm olduğu açıkça görülmektedir.

Bir diğer kontrol edilen parametre ise reaktör giriş ve çıkışında çözünmüş organik madde (ÇOK) konsantrasyonudur. İçme suları için izin verilen değer 3 mg/L’dir. Özellikle organik madde verilen kolon 3’de çıkışta metanolün tamamının kullanıldığı ve organik madde olmadığı görülmektedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.18. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR’lerde giriş ve çıkış ÇOK konsantrasyonu

Kolon reaktörlerin işletimi süresince hesaplanan teorik gaz üretimi ve ölçülen gaz üretimi de kıyaslamalı olarak Şekil 4.18’de sunulmuş olup üretilen değerin teorik değerden bazen düşük bazen yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeni üretilen gazın önce reaktörde birikmesi daha sonra basınçlı bir şekilde toplama mezürüne dolması olabilir. Özellikle 10. aşamada denitrifikasyon veriminin düşüşünün gaz üretimine yansması açık bir şekilde görülmektedir.

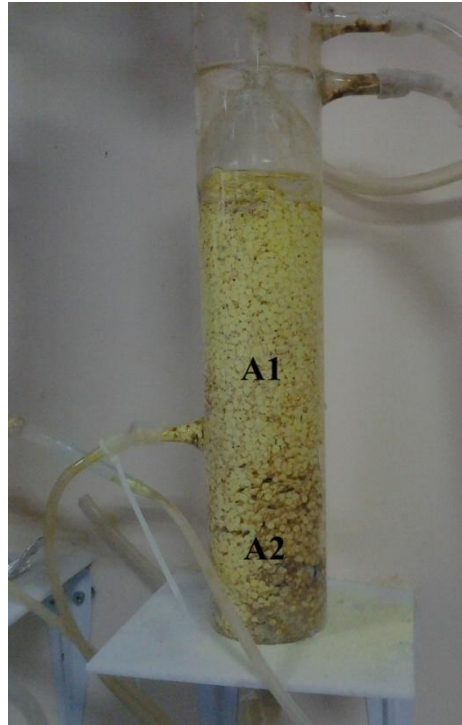


Şekil 4.19. Sürekli akışlı kolon reaktör ve geri devirli AYR’lerdeoluşan gaz miktarı

4.7. Mikroorganizma Popölasyon Dinamiğinin Belirlenmesi

Tez çalışmalarında, birinci bölümden itibaren, işletme koşullarının değiştiği noktalarda işletilen tüm reaktörlerden reaktörü temsil edecek şekilde bakteri numuneleri alınmıştır. Bakteri örneklerinin alındıkları noktalar şekil 4.20’de gösterilmiş ve alınan tüm bakteri örnekleri izelge 4.8’de verilmiştir.

Değişen HRT’nin, NO₃-N ve arsenik (III) konsantrasyonunun reaktör içerisindeki mikroorganizma popölasyon dinamiğine olan etkilerinin incelenmesi amacıyla işletme koşullarının değiştiği noktalarda alınan bakteri örneklerinde, öncelikle DNA izolasyonu ve üniversal primerler kullanılarak tür belirlemeye uygun bölgenin çoğaltılması (PCR) işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca reaktörlerin geri devirli AYR reaktörler olarak kullanıldığı çalışmaların son bölümünde de reaktörlerden bakteri örnekleri alınmıştır. Amplifiye edilen DNA’lar jel de koşturularak PCR örneklerinin oluşan bantlar ı görüntülenmiş ve şekil 4.21 ve 4.22’de sunulmuştur.



şekil 4.20. Reaktörlerden bakteri numunesinin alındığı noktalar (Noktalar arası uzaklık 10 cm’dir).

Çizelge 4.8. Sürekli akışlı ve AYR reaktörlerden alınan mikroorganizma örnekleri

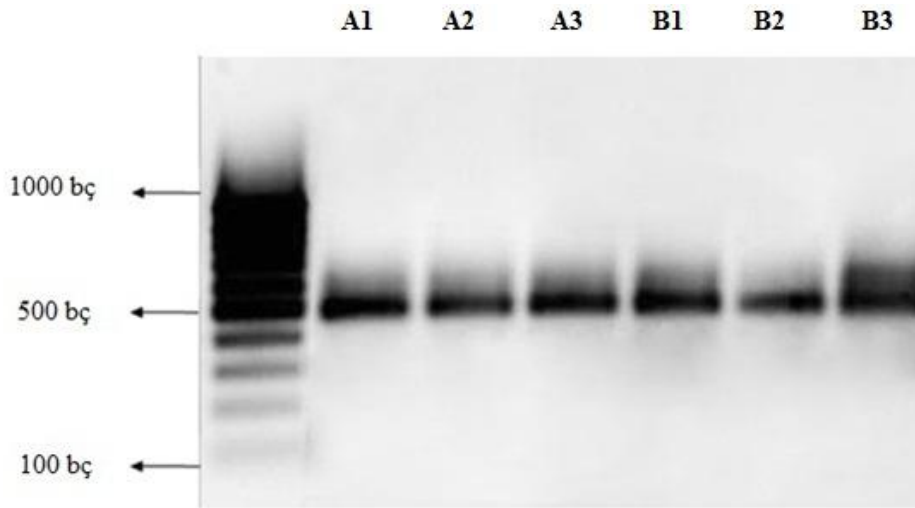
İşletme koşulları	Zaman	Kolon 1	Kolon 2	Kolon 3
HRT 'nin etkisi	12 saat	A1	A2	A3
	9 saat	B1	B2	B3
	6 saat	C1	C2	C3
	3 saat	D1	D2	D3
	Konsantrasyon	Kolon 1	Kolon 2	Kolon 3
NO ₃ -N konsantrasyonunun etkisi	50 mg/L NO ₃ -N	E1	E2	E3
	75 mg/L NO ₃	F1	F2	F3
	100 mg/L NO ₃ -N	G1	G2	G3
Miksotrofik koşulların etkisi	0 mg/l metanol	-	-	H1
	85 mg/l metanol	-	-	K1
Arsenik konsantrasyonunun etkisi	100 µg/L arsenik	L1	L2	L3
	200 µg/L arsenik	M1	M2	M3
	500 µg/L arsenik	N1	N2	N3
	1000 µg/L arsenik	O1	O2	O3
Geri devirli AYR reaktörlerin etkisi	100 mg/L NO ₃ -N	P1	P2	P3
	50 mg/L NO ₃ -N	R1	R2	R3

4.7.1. HRT'nin mikroorganizma popölasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi

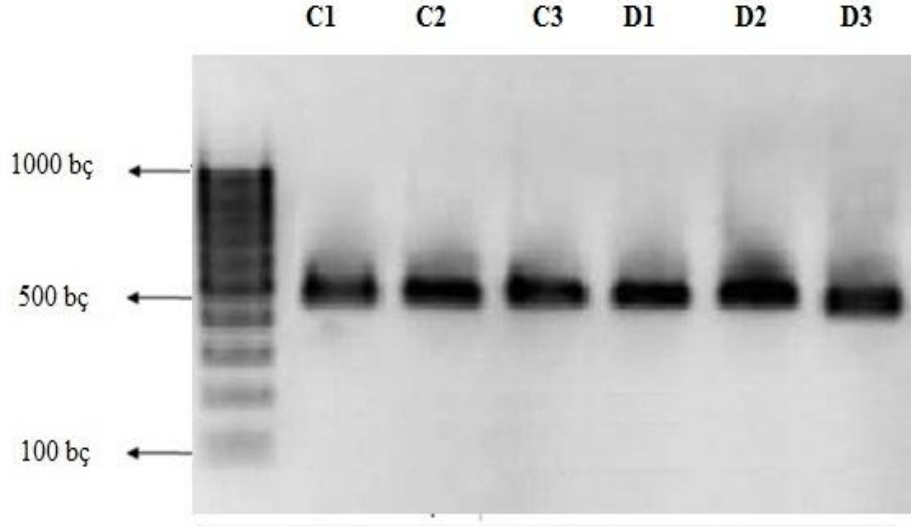
4.7.1.1. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu

Reaktörler işletmeye alınıp değişen HRT koşullarında alınan bakteri örnekleri izole edildikten sonra elde edilen DNA'ların 338f ve 907r primerleri ile amplifiye edilmiş ve jel görüntüleri Şekil 4.21 ve 4.22'de verilmiştir.

Şekilde marker ile karşılaştırıldığında okunduğuna göre DNA uzunlukları yaklaşık 450-500 baz çifti (bç) olarak bulunmuştur. Elde edilen elektroforez görüntüsü DNA izalasyonunun ve PCR amplifikasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.21. HRT 12 saat ve 9 saat'te kolon reaktörlerdeki mikroorganizmaların PCR amplifikasyon görüntüsü (Çizelge 4.8.).



Şekil 4.22. HRT 6 saat ve 3 saat'te kolon reaktörlerdeki mikroorganizmaların PCR amplifikasyon görüntüsü (Çizelge 4.8.).

4.7.1.2. DGGE ve Nükleotit sonuçları

DGGE uygulaması PCR ürünlerinin farklı denatürant konsantrasyonu (% 40-60) içeren akrilamid jelde koşturulması ile gerçekleştirilmiştir. Böylece bantların ayrılması sağlanarak mikroorganizmalardaki çeşitlilik tespit edilmiştir. Şekil 4.23. ve 4.24'de elde edilen DGGE verileri sunulmaktadır.

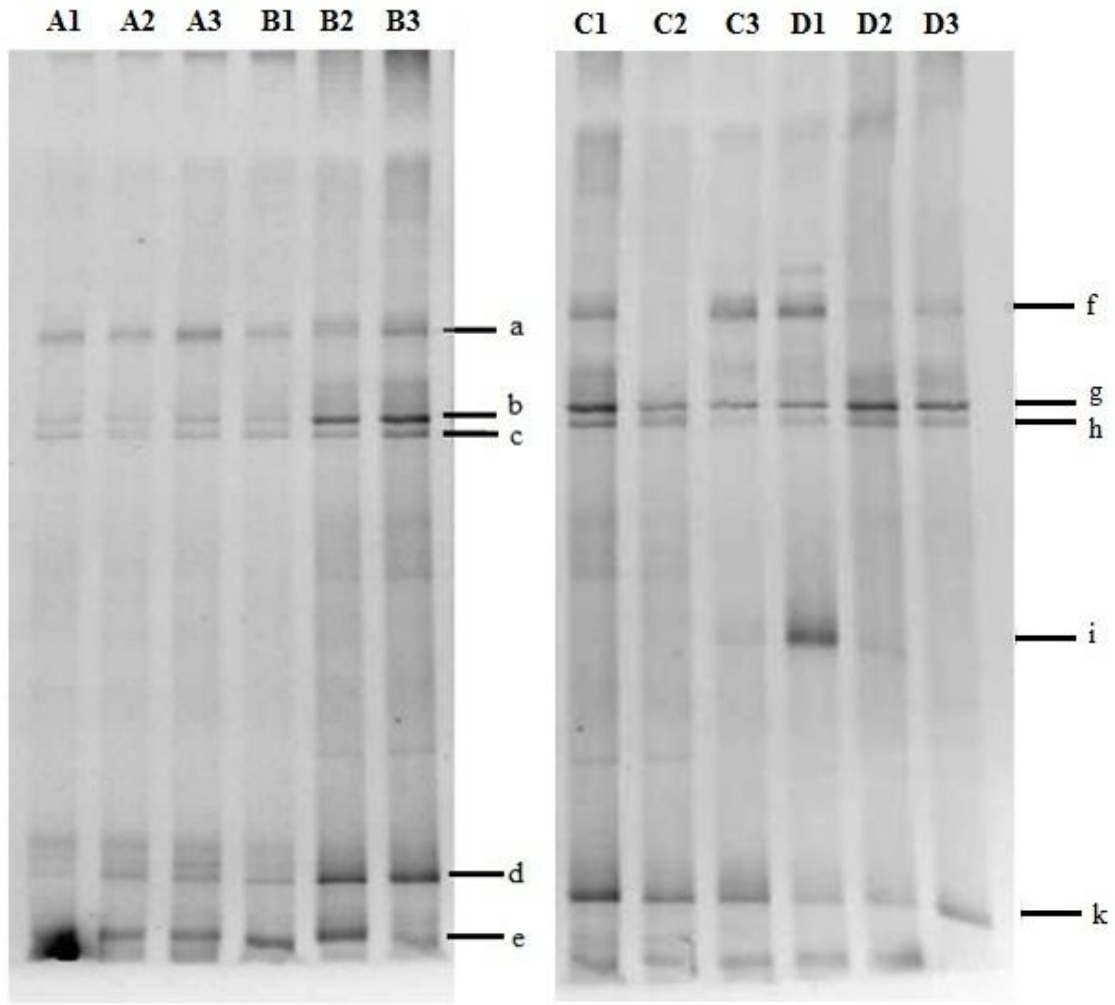
Şekil 4.23. incelendiğinde HRT 12 saat ve 9 saat örneklerinde her üç reaktörde de bantlarda herhangi bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Elde edilen görüntü tüm reaktörlerde mikroorganizma popülasyon dinamiğinin benzer olduğunu göstermektedir. Ancak sadece DGGE sonuçları ile bu kanıya varmak doğru değildir. Bu konuda yorum yapabilmek amacıyla daha kesin sonuca ulaştıran nükleotit yapılmıştır. Materyal ve metotta belirtildiği gibi şekil 4.23'de gösterilen a, b, c, d, e bantları kesilmiştir. Jelden kesilen bu bantlar 0,2 mL'lik PCR tüplerine alınmış ve üzerlerine 35 µL dionize su eklenerek bir gün +4 C⁰'de buzdolabında bekletilmiştir. Bunun amacı kesilen bantlardaki DNA'nın suya geçmesini sağlamaktır. DGGE jelden elde edilen DNA'lar çizelge 3.5 ve şekil 3.5'de verilen koşullarda PCR yapıldıktan sonra yukarıda belirtilen şekilde agaroz jelde elektroforez yapılmış ve görüntülenmiştir. Bu PCR ürünleri sekans analizi için REFGEN firmasına gönderilmiştir. Nükleotit dizi sonuçları çizelge 4.9'da verilmektedir.

Propionivibrio dicarboxylicus gram negatif olup, fermentatif bir bakteridir. Malat fümerat, propionat gibi fermentasyon ürünlerini kullanır. Kemoorganotrofik bir metabolizmaya

sahiptir. Oksijene toleransı olan bir bakteri türü olup nitrata indirgeme özelliğine sahiptir (Brune ve ark., 2002). Değişen HRT koşullarında çalışmanın başlarında HRT 12 ve 9 saat koşullarında bu bakteriye rastlanırken HRT 6' kolon 2'de HRT 3 saatte ise kolon 2 ve kolon 3'de görülmediği tespit edilmiştir. HRT'nin düşmesi ile artan nitrat yüklemelerinde bu bakterinin görülmediği gözlenmiştir.

Uncultured Campylobacterales bacterium kükürt oksitleyen bakterilere benzerliği ile bilinmektedir (Zhang ve ark., 2009). Sülfür metabolizmasında önemli rol oynarlar ve sülfürün indirgenmesinden sorumludurlar. Bazı türleri kemolitotroftur. Patojen mikroorganizmalar olup insan ve hayvanlarda hastalığa neden olabilmektedirler. Düşük oksijen varlığında büyüebilmektedirler (Kaakoush ve ark., 2007).

Uncultured Sulfuricella sp. temiz sularda bulunan fakültatif anaerob bir bakteridir. Ototrofik olarak büyürler. Elementel kükürt ve tiyosülfatı enerji kaynağı olarak kullanır ve sülfata dönüştürür. Aynı zamanda nitrata elektron alıcı olarak kullanarak azot gazına indirgeyebilir. 28 C⁰'nin altında büyüdükleri gözlenmiştir. Optimum büyüme sıcaklığı 22 C⁰ olup pH 6-9 arasında büyüebilmektedirler (Kojima ve ark., 2010). Bu bakterinin varlığı HRT 3 saat koşullarında sadece kolon 1'de görülürken diğer reaktörlerde bu bakteri türüne rastlanmamıştır.



Şekil 4.23. HRT 12, 9, 6 ve 3 saat için PCR ürünlerinin DGGE görüntüleri

Thiobacillus sp. inorganik sülfür bileşiklerini oksitleme özelliğine sahip denitrifikasyon yapabilen kemolitotrofik bir bakteridir (Şahinkaya ve ark., 2013). Bu bakteri aktif karbon ve kükürt granülleri üzerinde büyüyebilir ve nitratı azot gazına indirgeyebilir (Wang ve ark., 2014).

Çalışmanın ilk bölümü olan farklı HRT değerlerinde ototrofik denitrifikasyonun belirlenmesi kısmında elde edilen mikrobiyolojik sonuçlara göre reaktörde kükürt oksitleyen ve nitrat indirgeyen bakterilerin varlığı açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.9. Değişen HRT koşullarında kolon reaktörlerde DGGE bantlarından elde edilen sekans sonuçları

Örnek No	Sekans sonucu	Benzerlik (%)	Sekans dizisi
a-f	<i>Propionivibrio dicarboxylicus</i>	91	GGCGCAGCCTGATGCAGCCACGCCGCGTGGAGGATGACGCTCTTCGGTGTGTAAACTCCTTTTATCTGTCAAGATAA TGACGGTATCCTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCTAGCGTTACTC GGAATCACTGGGCGTAAAGGACGCGTAGGCTGTTTATCAAGTCAGATGTGAAATCCCATGGCTCAACCATTGAACTG CATTTGAAACTGCTAGACTAGAGTATGGGAGAGGCAGATGGAATTACTGGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGATATCA CTAGGAATACCTAAGGCGAAGGCGATCTGCTGGAACATTACTGACGCTGAGGCGTGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGAACACTAGTCGCTCGCTCTGCTAGTCAGTGCGGTGATGCACT TAACAGGTAAAGTGTCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAAATTAAGTCA
b-g, c-h	<i>Uncultured Campylobacteriales bacterium</i>	96	GGCGCAGCCTGATGCAGCCACGCCGCGTGGAGGATGACGCTCTTCGGTGTGTAAACTCCTTTTATCTGTCAAGATAA TGACGGTATCCTATGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCTAGCGTTACTC GGAATCACTGGGCGTAAAGGACGCGTAGGCTGTTTATCAAGTCAGATGTGAAATCCCATGGCTCAACCATTGAACTG CATTTGAAACTGCTAGACTAGAGTATGGGAGAGGCAGATGGAATTACTGGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGATATCA CTAGGAATACCTAAGGCGAAGGCGATCTGCTGGAACATTACTGACGCTGAGGCGTGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGAACACTAGTCGCTCGCTCTGCTAGTCAGTGCGGTGATGCACT TAACAGGTAAAGTGTCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAAATTAAGTCA

Çizelge 4.9'un devamı

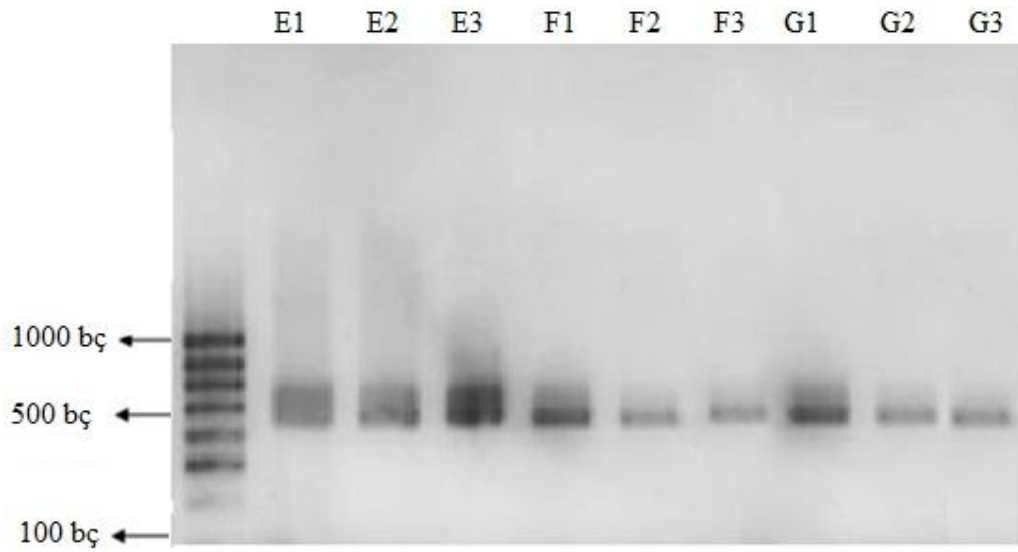
i	<i>Uncultured Sulfuricella sp</i>	99	GCGCACGCCTGATCAGCCATTCCGCGTGAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCGGCAGGAAAGAAATCGTTGCTCCTAATA CGAGTGATGGATGACGGTACCTGAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATC GGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTAAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCGTTTGAAACTA CAAGGCTAGAGTGTGTCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCA GCCCCCTGGGATAAACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGT CAACTAGTTGTCTGGGAGGGTAACCCTCTTGGTAAACGCAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAACT CATTGGAAATTGACGGGCTGCTGCCT
d-e, k	<i>Thiobacillus sp.</i>	98	AGATGGGGGGCAACCCTGATCAGCCATTCCGCGGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGCCGGAAAGAAACGGTAC GCTCTAACATAGCGTGCTAATGACGGTACCGGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGA GCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGATTATTAAGCAAGACGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCGT TTTGAAGTGGTAGTCTAGAGTGTGTCAGAGGGGGGTGGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAATGG CGAAGGCAGCCCCCTGGGATAAACTGACGCTCATGTACGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTATATACCCTGGTAGTCCACGCCCTA AACGATGTCAACTGTGTTGTGGGGGAGTGAATCCCTTAATAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAA GATTACCCCTCAAAGTGAATTGACGCACTGCTGCCTCCCCGAGAGA

4.7.2. NO₃-N konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi

4.7.2.1. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu

Bölüm 1A'da optimum HRT değerinin belirlenmesinden sonra reaktörlerde farklı NO₃-N konsantrasyonlarının denitrifikasyona etkisi denenmiştir (Çizelge 3.5. ve 4.8). bu koşullarda HRT 3 saatte sabit tutulmuştur. NO₃-N konsantrasyonu değiştirildiğinde reaktörlerden bakteri örnekleri alınmıştır. Bu örnekler izole edildikten sonra elde edilen DNA'ların 338f ve 907r primerleri ile yapılan PCR sonuçlarının elektroforez görüntüleri verilmiştir (Şekil 4.24).

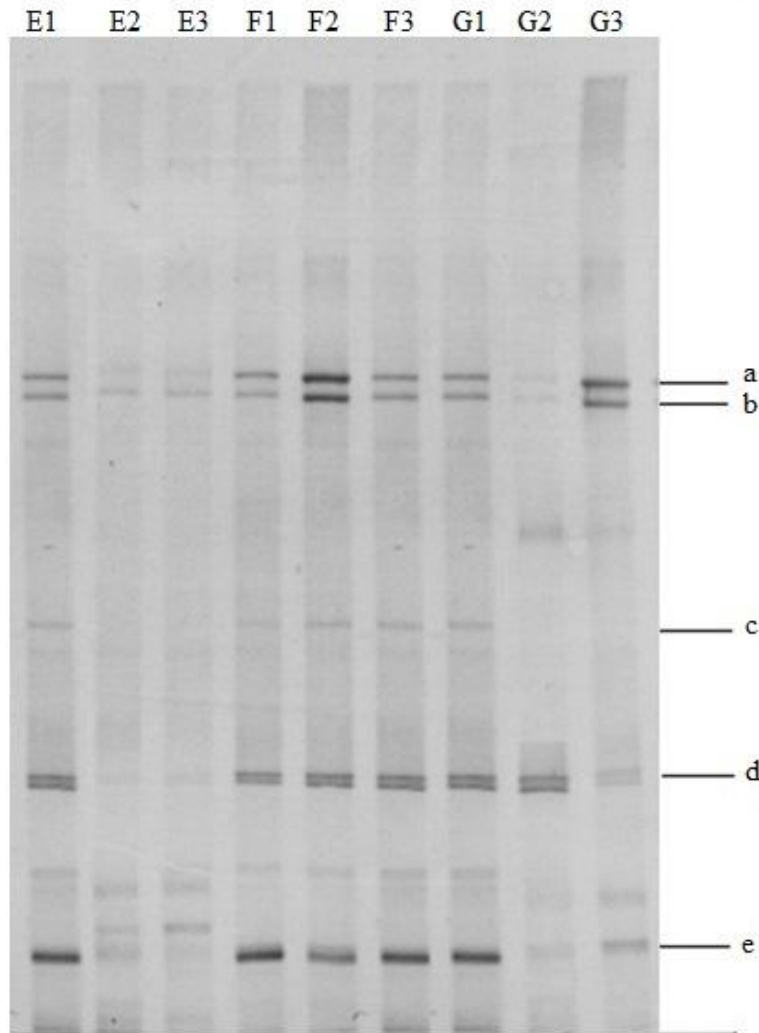
Şekilde marker üzerinde okunduğuna göre DNA uzunlukları yaklaşık 450-500 baz çifti (bç) olarak bulunmuştur. Elde edilen elektroforez görüntüsü DNA izalasyonunun ve çoğaltma (PCR) işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 4.24. Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO₃-N konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8.).

4.7.2.2. DGGE ve Nükleotit sonuçları

Farklı nitrat konsantrasyonlarında elde edilen bakteri örnekleri ile yapılan DGGE analiz sonuçları şekil 4.26’da görüntülenmektedir. DGGE jelden belirtilen yöntemle kesilen a ve b bantlarının sekans işlemi sonucunda aynı tür olduğu görülmüştür. *Cupriavidus taiwanensis* azot fiske eden bir bakteridir (Kreutzer ve Nett, 2012). Bununla birlikte diğer bantlar incelendiğinde nitrat konsantrasyonundaki değişimin, mikrobiyolojik değişimi önemli ölçüde değiştirmedeği görülmüştür. Bir önceki çalışmada elde edilen sekans sonuçlarında olduğu gibi yine *Uncultured Sulfuricella sp.* ve *Thiobacillus sp.* türleri gözlenmiştir.



Şekil 4.25. Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO₃-N konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü

Çizelge 4.10. Kolon reaktörlerde 50, 75 ve 100 mg/L NO₃-N konsantrasyonlarında DGGE’den elde edilen sekans sonuçları

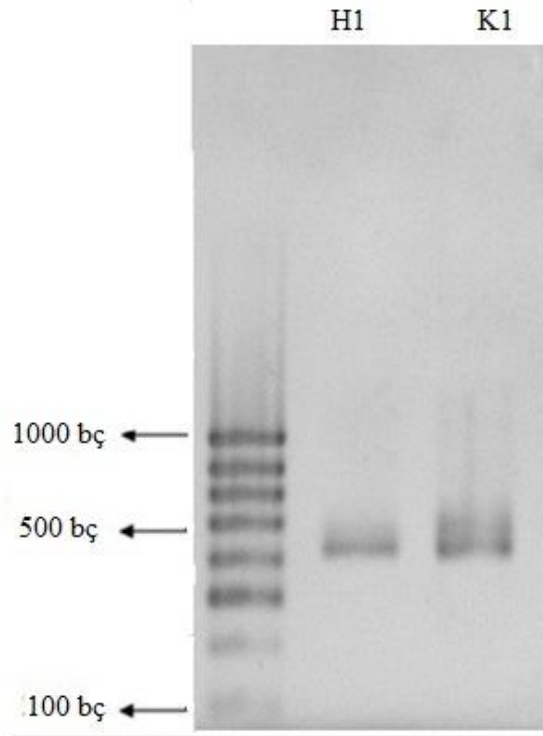
Örnek No	Sekans sonucu	Benzerlik (%)	Sekans dizisi
a-b	<i>Cupriavidus taiwanensis</i>	91	GTTGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGGTGAGTGATCGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTGTCCGGAAG GAAAAGGTCGCTGCTAATACCATCGGGTCCTGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCC GCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTTAAGTCTGAT GTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTGATACTGGCGGACTAGAGTGCGTCAGAGGGGAGTTGAATTCT CCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACATCGATGGCGAAGGCGGCCCTCTGGGACCTGCACTGACG CTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCCAACCTGTGA TGTTGGGTAGGTATATGTCTCTGAATATCGACTATAACGCGTAAATTACCCCCGCGTGGGAGAAATACGGTCGCAAT ATAGAATCTAAG
c	<i>Uncultured Sulfuricella sp.</i>	98	TAGGGCATGAGCGCACGCCTGATCAGCCATTCCGCGTGAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCGGCAG GAAAGAAATCGTTGCTCCTAATACGAGTGATGGATGACGGTACCTGAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGC AGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTAAAGTC AGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCGTTTGAAGTACAAGGCTAGAGTGTGTCAGAGGGGGGTAGA ATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAAACT GACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTA GTTGTCGGGAGGGTAACCCTCTTGTTAACGCAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATT AAAACTCATTGGAAATTGACGGGCTGCTGCCT
d-e	<i>Thiobacillus sp.</i>	98	AGATGGGGGGCAACCCTGATCAGCCATTCCGCGGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGCCGGA AAGAAACGGTACGCTCTAACATAGCGTGCTAATGACGGTACCGGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCA GCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGATTATTAAGCAA GACGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCGTTTGAAGTGGTAGTCTAGAGTGTGTCAGAGGGGGGTGGAAT TCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAAACTGA CGCTCATGTACGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTATATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGTG TTGTTGGGGGAGTGAAATCCCTTAATAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATT CACCTCAAAGTGAATTGACGCACTGCTGCCTCCCCGGAGAGA

4.7.3. Metanol konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi

4.7.3.1. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu

Sürekli akışlı kolon reaktörlerden üçüncüsüne (kolon 3) granül kükürt ile adaptasyon aşamasından sonra kademeli bir şekilde kükürdün yanı sıra elektron verici olarak metanol verilmeye başlanmıştır. Burada denitrifikasyonun bir kısmının heterotrof bakteriler bir kısmının ise ototrof bakteriler tarafından gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Metanol ilk olarak 50 mg/L verilmeye başlanmıştır. DOC olarak bu miktarın eş değeri 18,82 mg/L'dir (Çizelge 4.7). Daha sonra metanol miktarı 75 ve 100 mg/L olacak şekilde artırılmıştır. Metanol artırılırken çıkışta sülfat ve alkalinite parametreleri takip edilmiştir. Heterotrofların ürettiği alkalinite ototrof bakterilerin ihtiyacı olan alkaliniteyi sağladığı ve çıkış sülfat değerinin izin verilen değerin (250 mg/L) altına düştüğü metanol konsantrasyonunda mikсотrofik koşulların sağlandığı düşünülmüştür. Bu koşulların elde edildiği metanol konsantrasyonu ise 85 mg/L'dir (32 mg/L DOC). Kolon 3'ün mikсотrofik denitrifikasyona adaptasyonu aşamasında metanol verilmeden önce ve mikсотrofik koşulların sağlandığı şartlarda reaktörden bakteri örnekleri alınarak mikroorganizma popülasyonunda değişiklik olup olmadığı irdelenmiştir. Şekil 4.26'da DNA'ların 338f ve 907r primerleri ile çoğaltılan elektroforez görüntüleri verilmiştir.

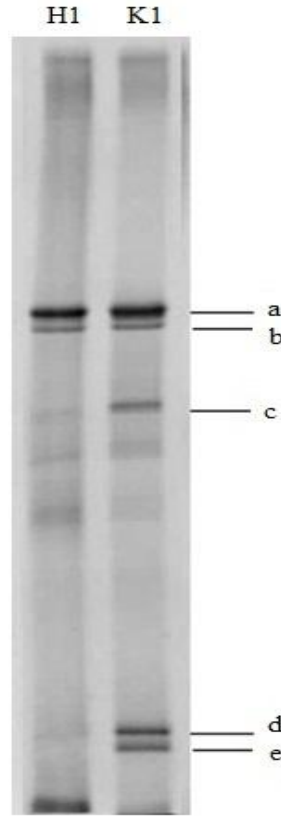
Şekilde marker üzerinde okunduğuna göre DNA uzunlukları yaklaşık 450-500 baz çifti (bç) olarak bulunmuştur. Elde edilen elektroforez görüntüsü DNA izolasyonunun ve çoğaltma (PCR) işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.27).



Şekil 4.26. Kolon reaktör 3’te mikсотrofik koşulların öncesi ve sonrasında bakterilerin PCR görüntüsü

4.7.3.2. DGGE ve Nükleotit sonuçları

DGGE uygulaması PCR ürünlerinin farklı denatürant konsantrasyonu (% 40-60) içeren akrilamid jelde koşturulması ile gerçekleştirilmiştir. Böylece bantların ayrılması sağlanarak mikroorganizmalardaki çeşitlilik tespit edilmiştir. Şekil 4.28’de mikсотrofik koşullar öncesi ve sonrasında bakterilerin DGGE görüntüleri sunulmaktadır. H1 bandı reaktöre organik madde verilmeye başlanmadan önce bakteri popülasyonunu göstermektedir. Bu bantta işaretlenen a ve b bantları kesilmiş ve daha önce bildirilen prosedür uygulanarak sekans analizi yapılmıştır. K1 bandı ise mikсотrofik koşulların oluştuğu 32 mg/L organik madde verilen reaktör koşullarında bakteri popülasyonunu göstermektedir. Reaktörlere organik madde verilmeye başlanmasıyla birlikte popülasyon dinamiğinin değiştiği ve yeni türlerin ortaya çıktığı açıkça görülmektedir (Şekil 4.28).



Şekil 4.27. Kolon reaktör 3'te mikсотроfik koşulların öncesi ve sonrasında bakterilerin DGGE görüntüsü

K1 bandında belirlenen c,d ve e bantları yeni oluşan mikroorganizmalara işaret etmektedir. Bu bantlar kesilmiş ve belirlenen prosedürler uygulanarak sekans analizi yapılmıştır. Çizelge 4.11'de sekans analiz sonuçları yer almaktadır.

Thiobacillus thioparus sülfat indirgeyen bakterilerdendir. Bu bakteriler kemolittoroftur ve CO₂'i karbon kaynağı olarak kullanırlar. Sülfür bileşikleri indirgeyebilirler (Valdebenito-Rolack ve ark., 2011). Sekans analizleri sonucunda %99 benzerlikle *Thiobacillus thioparus* türüne rastlanmıştır.

Uncultured Paracoccus sp. heterotrofik nitrat indirgeyen bakterilerdendir ve anaerobik koşullar altında denitrifikasyon yapabilmektedir. (Jiang ve ark., 2013; Klueglein ve ark., 2014). Çalışmada sadece kolon 3'de mikсотроfik denitrifikasyon yapılmış diğer reaktörler ototrofik olarak işletilmiştir. Kolon 3'de mikсотроfik şartlar oluşturulmadan önce ototrofik olarak işletilmiştir. Şekil 4.28'de verilen DGGE sonuçlarında c bandının mikсотроfik şartların sağlanması ile oluştuğu görülmektedir. Bu bakımdan bu koşullarda reaktörde heterotrofik bakterilerin görülmeye başlandığı söylenebilir.

Uncultured Ferruginibacter sp. ise denitrifikasyonla alakalı olmayıp aerobik ve anaerobik koşullarda nitrat indirgeme özelleğine sahip olmayan bir türdür. Yüksek pH'larda görülür (Lim ve ark., 2009).

Çizelge 4.11. Miksotrofik koşullar öncesi ve sonrasında Kolon reaktör 3'ten alınan bakterilerden elde edilen sekans sonuçları

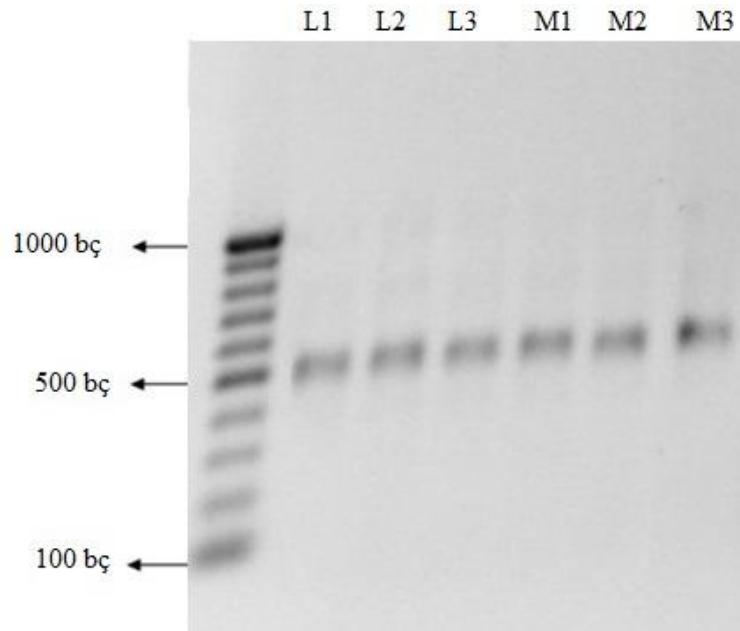
Örnek No	Sekans sonucu	Benzerlik (%)	Sekans dizisi
a-b	<i>Thiobacillus thioparus</i>	99	GGGAAGTATATACATTGGGGGACACCCTGATCCAGCCATTCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGCTGGAGCGAAACGGTACGCTCTAACATAGCGTGCTAATGACGGTACCGGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGATTGTTAAGCAAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCGTTTTGAACTGGCAGTCTAGAGTGCCTCAGAGGGGGGTGGAATTCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATGACACTGACGCTCATGTACGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGGGGAGTGAAATCCCTTAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAGGGAATTGACGGACTGCTGCCTCCCCGTAGGAGA
c	<i>Uncultured Paracoccus sp</i>	87	GGAGATATATGAGATGGGGGACAGCCTTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCTCCTGGGGACGAAAAAGGACGTTCTCTCATAAAAAAGCCCCTGCCTACTTCGTGCCAACAACCGCGGTAATACTAAGGGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGGCGAAAGGGCATCGAAGCTGGTGTGTAAATCTCGAACTTGCCATGTTAATGGCGGTTGAAGCTATTGGAATTGCGGGTGTGGGAGTGGATTGGTATTCTTCGGAAGAACACCCATTGGTGAAATGATGGCTTCTTGTACATGATTTAATACCCTGGTAGTCCACACCATTAATATGAATGCTATCCGTCCGCTAGCTTGATCTACTGTGCGCCGCTAAAAACATAATCCTTTCCCCGCGGGGAGGACGCGTCGCCAGAGTCTCCTGCTGGGTGTTGGCGCGGATTGCCCCCTCCAGGGAATTGACGGACT
d-e	<i>Uncultured Ferruginibacter sp</i>	99	GGTGATTGTGTGATTGGGACGAAGTCCTGAAACCGCCATGCCGCGGGGAGGATGAAGGTCTCTGGATTGTAAACTTCTTTTATCTGGGACGAAAAAAGGGAATTCTTTCCCACTTGACGGTACCAGAGGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATCCGGATTCACTGGGTTTAAAGGGTGCGTAGGTGGGTCTGTAAAGTCAGTGGTGAAATCTCCGAGCTTAACCTCGGAACTGCCGTTGATACTATAGGTCTTGAATCATCTGGAGGTAAAGCGGAATATGTCATGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATGACATAGAACACCAATTGCGAAGGCAGCTTACTACGGATGCATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGGATCTCGACATTTGCGATATACTGTAAGTGTCTGAGCGAAAGCATTAAAGTATCCACCTGGGAAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAATGGAATTGACGGGACTG

4.7.4. Arsenik (III) konsantrasyonunun mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi

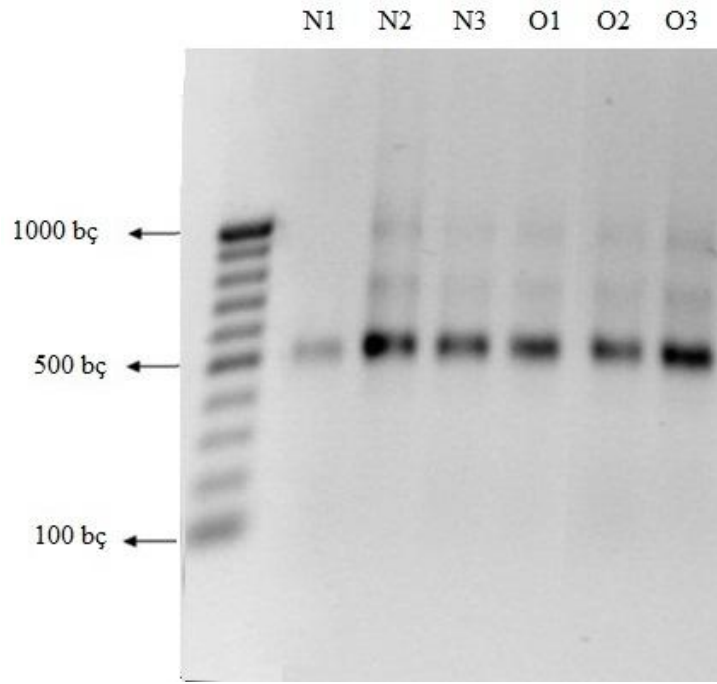
4.7.4.1. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu

Miksotrofik denitrifikasyon koşullarının oluşturulmasının akabinde, miksotrofik reaktörler birlikte kolon 1 ve 2'ye eş zamanlı olarak arsenik (III) vermeye başlanmıştır. İlk olarak sürekli akışlı reaktörlere 20 µg/L arsenik (III) verilmiş, daha sonra kademeli olarak 100, 200, 500 ve 1000 µg/L olacak şekilde konsantrasyon artırılmıştır. Konsantrasyon değişimlerinde reaktörlerden bakteri örnekleri alınmış, izole edildikten sonra daha önce belirtilen prosedürler uygulanarak PCR görüntüleri elde edilmiştir. Şekil 4.28 ve 4.29'da arsenik verilen reaktörlerde 100 ve 200 µg/L arsenik (III) konsantrasyonunda mikroorganizmaların PCR görüntüleri verilmektedir.

Şekilde marker üzerinde okunduğuna göre DNA uzunlukları yaklaşık 450-500 baz çifti (bp) olarak bulunmuştur. Elde edilen elektroforez görüntüsü DNA izolasyonunun ve çoğaltma (PCR) işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.29 ve 4.30).



Şekil 4.28. Kolon reaktörlerde 100 ve 200 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).

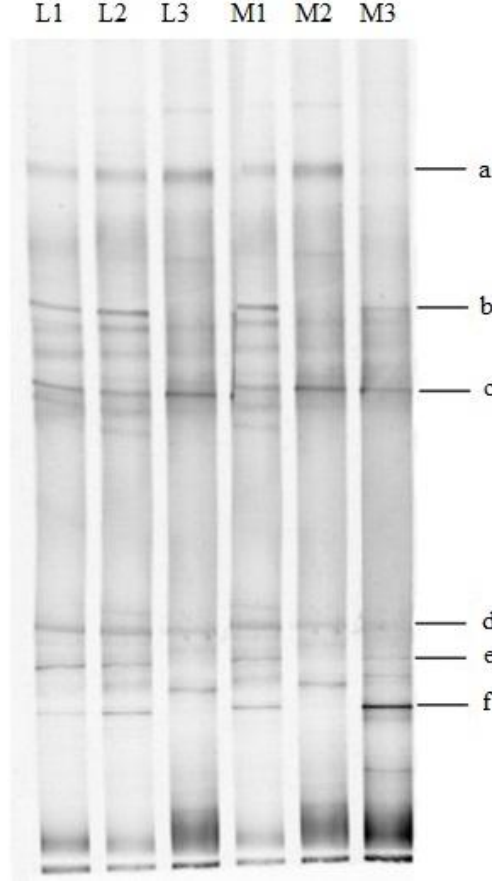


Şekil 4.29. Kolon reaktörlerde 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların PCR görüntüsü (Çizelge 4.8).

4.7.4.2. DGGE ve Nükleotit sonuçları

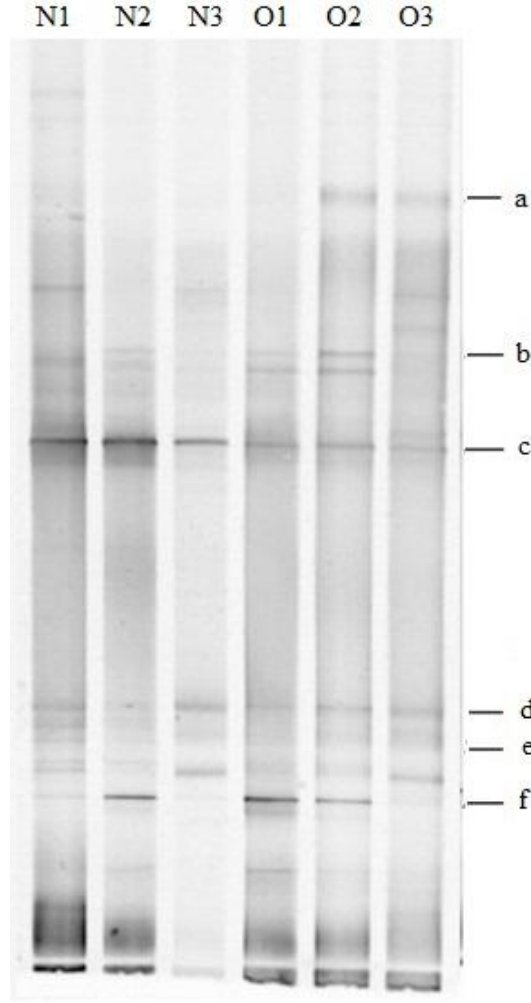
DGGE uygulaması önceden belirtildiği gibi PCR ürünlerinin farklı denatürant konsantrasyonu (% 40-60) içeren akrilamid jelde koşturulması ile gerçekleştirilmiştir. Farklı arsenik konsantrasyonlarında alınan DNA örneklerinden elde edilen PCR ürünlerinin DGGE görüntüleri Şekil 4.31 ve 4.32’de verilmektedir. Kesilen 6 adet bant belirtilen yöntemle sekans yapılmıştır ve sonuçları Çizelge 4.12’de verilmektedir.

Desulfomonile tiedjei sülfür oksianyonlarının varlığında anaerobik koşullarda nitrati indirgeyebilen bir bakteridir. Hidrojen ve sülfür gibi inorganik maddeleri elektron verici olarak kullanabilmektedir (Deweerd ve ark., 1991). Bu bakteri 100 µg/L As(III) konsantrasyonunda her üç reaktörde de varlığını göstermektedir. Arsenik konsantrasyonu arttıkça önce mikсотrofik olan kolon 3’de daha sonra ise diğer reaktörlerde rastlanmamıştır.



Şekil 4.30. Kolon reaktörlerde 100 ve 200 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar

Lysobacter sp.aerobik şartlarda büyüeyebilen bir bakteridir. Bazı türleri arseniğe karşı direnç gösterebilme yeteneğine sahiptir (Luo ve ark., 2012). Çoğunlukla mezofilik şartlarda yaşamaktadır (Wei ve ark., 2012). 100 µg/L As(III) konsantrasyonunda kolon 1 ve 2’de görülürken mikсотrofik reaktörde bu bakteriye rastlanmamıştır. Artan arsenik konsantrasyonlarında ise kolon 1 ve 2’de görülmeye devam etmiştir (Şekil 4.31 ve 4.32).



Şekil 4.31. Kolon reaktörlerde 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar

Uncultured Rhizobiales bacterium, azot fiske eden bakterilerden olup metan ve metanolü enerji ve karbon kaynağı olarak kullanan bakterilerdendir (web 3). Bu bakteri türünün bütün reaktörlerde tespit edildiği görülmüştür (Şekil 4.31 ve 4.32). Ayrıca artan arsenik konsantrasyonunun bu bakterinin varlığını sürdürmesinde etkisinin olmadığı görülmüştür.

Thiomonas arsenitoxydans, asidofilik fakültatif bir ototrofik bakteridir. Arsenatı (As (V)), arsenite (As(III)), oksitler ve tiyosülfatı enerji kaynağı olarak kullanır (Sliyemi ve ark., 2013). d bandından elde edilen ve % 92 benzerlikte olan bu bakterinin 100 µg/L As(III) konsantrasyonundan itibaren 1000 µg/L As(III) konsantrasyonuna kadar tüm aşamalarda görüldüğü tespit edilmiştir.

% 99 benzerlikte e bandından elde edilen *Thiomonas perometabolis*, tiyosülfatı enerji kaynağı olarak kullanan mikсотrofik koşullarda büyüeyebilen bir kemototrof bakteridir (Duquesne ve ark., 2008; Panda ve ark., 2009) .

Uncultured Desulfosporosinus sp. sülfat indirgeyen bakterilerdendir (Pester ve ark., 2012). Sülfatı elektron alıcı olarak kullanırlar. Ototorofik koşullarda büyürler ve hidrojen, karbondioksit ve sülfatı kullanırlar (Robertson ve ark., 2001). Mezofilik bir bakteri olduğundan dolayı reaktörlerde farklı aşamalarda kendini göstermiştir. Mikсотrofik koşullarda ise yüksek arsenik konsantrasyonlarında görülmemiştir.

Çizelge 4.12. Kolon reaktörlerde 100, 200, 500 ve 1000 µg/L As(III) konsantrasyonlarında mikroorganizmaların sekans sonuçları

Örnek No	Sekans sonucu	Benzerlik (%)	Sekans dizisi
a	<i>Desulfomonile tiedjei</i>	98	GGTATAGCGCATGGAAGGAACTCTGACGCAGCAACGCCGCTGGGTGAAGAAGGCTTTCGGGTTGT AAAGCCCTGTCAGGCGGGAAGAAACCTTTGCGAGCGAATAGCTCGTGAACTGACGGTACCGCCAA AGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGGTGCAAGCGTTGTTCGGAA TCACTGGGCGTAAAGCGCGTGTAGGCGGTTTCGATAAGTCGAATGTGAAAGCCCGAGGCTCAACCTCG GAAGTGCATTGAACTATCGGGCTTGAGTACGGGAGAGGGAAGTGGAATTCCTGGTGTAGAGGTG AAATTCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTTCCTGGACCGATACTGACGCTGAG ACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGAGCAC TAGGTGTAGCGGGTATTGACCCCTGCTGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTGCTCCGCCTGGGGAGTA CGGTGCAAGATTAAACTCAAGGGGAATTGACGGATCCCATGCGCGTTTAAGCTTCCCTTGGTCCA AGAAGGGGTTTCGCCAGAGGTGTTGCTTGTGCTTTGGCGATGTTTCTCTCGACCCGGTACTCCCCCTCG CTCGCCCGGTCCGTAGGCCGAGAGTTGATTGACTTTCGTGGTTGACCTCGGGTTTTCCCTTTCAATTT TGCGACATGGATACCCGTGCTTTTGGCAGAGTTTTTTCGAAAAGGCTTTCACC
b	<i>Lysobacter sp.</i>	90	AGCGAGCCTGATCAGCCTGCCGCGTGAGTGATAGGAGGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGCCCGG AAAGAACTTCTCGTGGGTGTACCTTCTGGTCCGTACGGTACCGGAAGAAGAAGCACCGGCTAACTTC GTGGCGGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTTACTGGAATTACTGGGTGTAAAGCGTGCG TATGTGGTTCGATAAGACTGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGTAATTGCTTTGGAGACTGGCG GGCTAAAATGCGGAAGAGGATGGTGGAATTCCTGGTGTATGAGTGAAATGCGTAAAGATCGGGAGG AACATCTGTGCGAAGGCGGCCATCTGGGACCACTACTGACACTGAGCGCACGAAAGCGTGGGGAG CAAACAGGATTAGATACCCTGGCCTTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAACTA AGCTCTCACATATCGAAGCTAACGCTGTTAAAGTACGCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGGACTGA CACTCAAGGGGAATTGACGGACCGCTCTTTACAATTTGTTTTGGCGTGCCACGGGGGTTTTATAAGT GTTTGCTCTGTCTGCTTTTCGTCTTACTGTATATATTGTACTCGGGGTCCGCTTTCGCCGACTGGGTGT TCTTTTCTGTTTTGGGCGATTGTAATCTTCTCTATATAGTGAATTGGCCTTCCACCAACCTCGGGCCC AAGCAGATGTCTAAACCCTTTGGATTTTTTCCCCCTCCCCCGGTAAAAGGGTAACCCTTATCCCT

Çizelge 4.12'nin devamı

c	<i>Uncultured Rhizobiales bacterium</i>	85	CATGGGGGGGCAGCCTGATCAAGCAATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCGGC GGGAAAGATAATGACGGTACCCGGAGAATAAGCCCCGGCTAGCTTCGTGCCAGCAGCCGCGGGATTACTAAG GGGGCTAGCGTTGTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAAGCTACTGGTTGTATCGGGGGTGCAAGCC CGGTGCTCAACCCCAGAACTGCCCTTTGATACTGAACCTCTTAAGTGCGTTTGAGGCTAGTGGACTTCCGAGTG TAGAAGTGAAATTGAAATATATTCGGAGGAATGAAATGGGCAAAGGTGGCTCACTGGTCCGATGCTGACGCT GACGTGCTGAAGCGTGGGTAGCAATCATGATTAAATACGTGGGTAGTCAACGCGATAAAATATGATGGTAGT CCGTTGGGTAGCTTGCTGTTCTGTGGCGCAGCTGACGCATTAAACCTTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAG ATTCACACTGAGGGGAATCTGACGGAAATATTAAATCTCAGGGGAATTTGCGCG
d	<i>Thiomonas arsenitoxydans</i>	92	ATGGGGGGACACCCTGAATCAGGCACTGCCGCGTGGAGTGATGAAAGGCTTTCGGGTGGTAAGCTCTTTTGG CGGGAGCGAAATGTCGAGTGCTAATACCATTCGGTGATGACGGTACCCGCAAAATAAGCACCGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACTTATGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGG CCGGTAGGTAAGACAGATGTGAAATTCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTTGAGACTGCCTGACTAGAGT GCGGCAGAGGGAAGTGGAATTCCTCGTGTAGCAGTGCAATGCGTAAATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAA GGCAACTCCCTGGGCCTGCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCCAACAGGATTAGATACCCTGGT AGTCCACGCCCTAAACTATGTCGACTAGTTGTTGGACGGGTTACTGTCTTCAACGTAGCTAACACGTGAAGTC GACCGCCTGGGAGGAACGGCGCCCAGGTTAAACTC

Çizelge 4.12'nin devamı

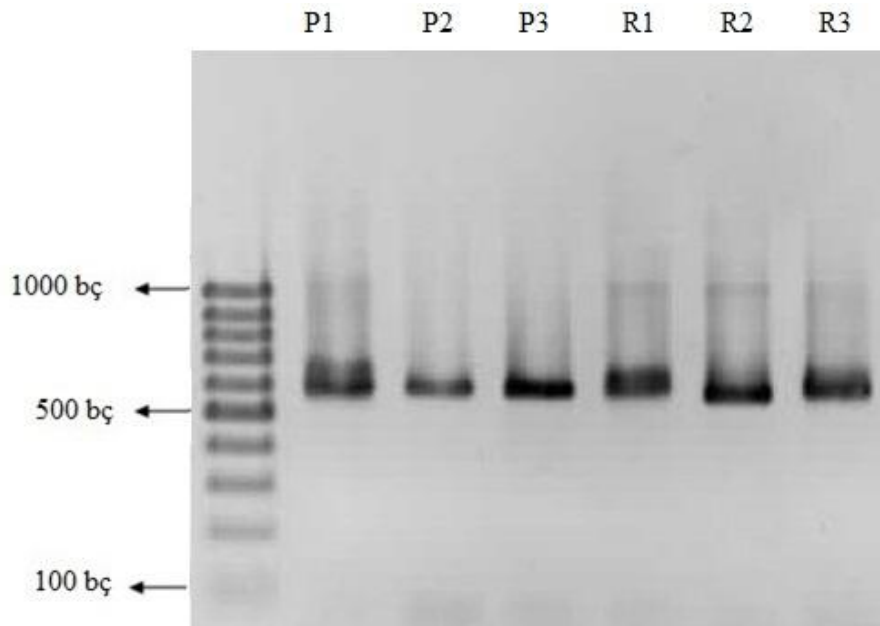
e	<i>Thiomonas perometabolis</i>	99	TGGGGGGGCACCCTGATCAGCAGTGCCGCGTGTGGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACCACTTTTGGCGGG GGCGAAATATCGAGTGCTAATACCAATTCGGTGATGACGGTACCCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTT AGGTAAGACAGATGTGAAATTCGCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTTGTGACTGCCTGACTAGAGTGC AGAGGGGAGTGGAATTCGCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCA ACTCCCTGGGCTGCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC CACGCCCTAAACGATGTCGACTAGTTGTTGGACGGGTTACTGTTTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTCGAC CGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAGG
f	<i>Uncultured Desulfosporosinus sp.</i>	96	GGAGCGACGCTTGACGCAGCACGCCGCGTGTATGATGAAGGTCTTCGGAGTGTAATCCTTTTGCATAGGAA GATAATGCTGGTTTACCGTCACTGACGGTACTCTGCGTCCATGCCACGGCTCACTCTGTGCCTGCGTGCGCGGT GATACCTGGGTGGCAAGGGTTGTCCGGATTCCTGGGTGTTCTGTTGCTCGGGTGGGCTCACCTATCGGTGG TTAAATCAATGTGCTTACGGATGCATGATGAGAATCGGGGAGGGTCTAAAGTCACTAATAGTAAATGAAAT TTCCGGTATACCTCTGGAATGATTACATATCGGAAAGAAATCTTCTGGCACAGGTCGGCTTCTGATCCACAAC TGACGCTCGAGCACAAAAGGTTGGATAGCCTAGGTAGACTACATACCTAGGTATTCCTGGTAGTCAACGATG AATACTATCTTTTCGTCGTATTGATCAATGTCACATCTATCGCACCTAGGTATTTACGTCGGGAAGAACACAC TCAGGGGAATAGTCAAGGAATTTGACGGA

4.7.5. Arsenik (III) konsantrasyonunun akışkan yataklı reaktörlerde mikroorganizma popülasyon dinamiğine etkisi ve türlerin belirlenmesi

4.7.5.1. 16S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu

Sürekli akışlı reaktörlerde As(III) konsantrasyonunun etkisi çalışmalarından sonra reaktörlerin çıkışı birer pompa ile reaktör girişine verilerek geri devirli akışkan yataklı reaktörler (AYR) olarak işletilmeye başlamıştır. Burada amaç geri devir ile kükürdün çözünürlüğünün artırılarak denitrifikasyon hızının yükselmesini sağlamaktır. Reaktör tipinin değişmesinin ve geri devirli reaktörlerin kullanılmasının mikrobiyal popülasyon dinamiğinde değişime sebep olup olmayacağı araştırılmıştır. Şekil 4.33’de DNA’ların 338f ve 907r primerleri ile çoğaltılan elektroforez görüntüleri verilmiştir.

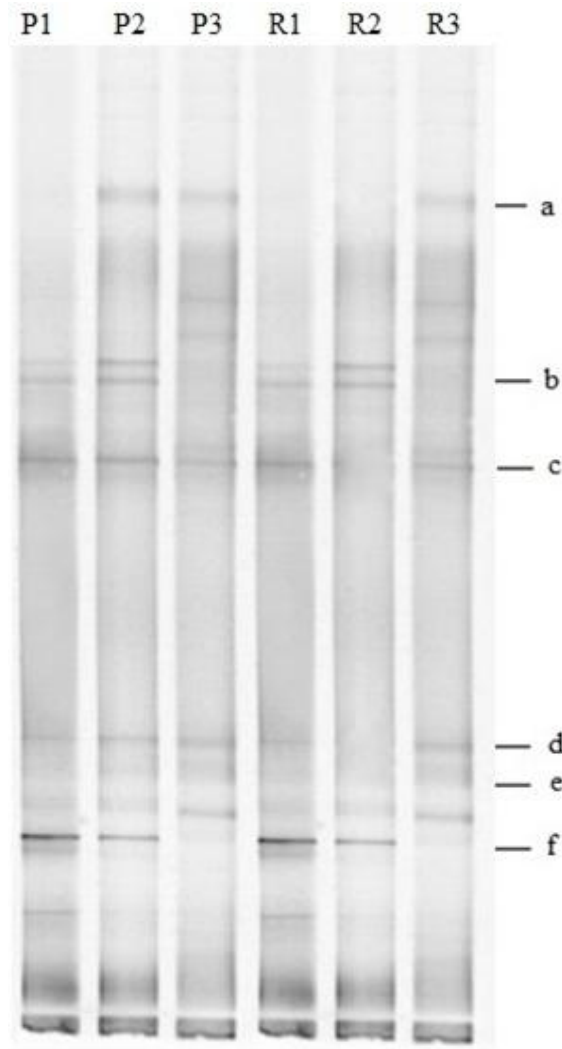
Şekilde marker üzerinde okunduğuna göre DNA uzunlukları yaklaşık 550-600 baz çifti (bç) olarak bulunmuştur. Elde edilen elektroforez görüntüsü DNA izalasyonunun ve çoğaltma (PCR) işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 4.33).



Şekil 4.32. Akışkan yataklı reaktörlerde (AYR) PCR görüntüsü (Çizelge 4.8.).

4.7.5.2. DGGE ve Nükleotit sonuçları

DGGE uygulaması önceden belirtildiği gibi PCR ürünlerinin farklı denatürant konsantrasyonu (% 40-60) içeren akrilamid jelde koşturulması ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DGGE sonuçlarına göre reaktörlerin geri devirli olarak işletilmesinin mikroorganizma popülasyon dinamiğini değiştirmedeği gözlenmiştir. b ve e bantlarında yer alan *Lysobacter sp.* ve *Uncultured Desulfosporosinus sp.* türlerinin önceki çalışmada olduğu gibi mikсотrofik reaktörde görülmediği gözlenmiştir. c ve d bantlarından elde edilen *Uncultured Rhizobiales bacterium* ve *Thiomonas arsenitoxydans* bakterilerinin ise AYR çalışmaları boyunca kolon 2 hariç tüm reaktörlerde gözlemlendiği tespit edilmiştir (Şekil 4.34 ve Çizelge 4.14).



Şekil 4.33. Akışkan yataklı reaktörlerde (AYR) DGGE görüntüsü ve sekans için kesilen bantlar

Kolon 2 'de gözlenen bakteri popülasyonundaki değişimin AYR reaktörlerde 13. aşamada görülen denitrifikasyon hızındaki düşmeyi açıkladığı düşünülmektedir. Reaktörlere geri devrin kükürt çözünürlüğünü artırdığı böylelikle denitrifikasyon hızını da yükselttiği görülmektedir (Şekil 4.15). Ancak bu durum kolon 2'de gözlenenememiştir. Mevcut işletim koşulları altında sonucu etkileyen parametrenin bakteri popülasyonu olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.13. Akışkan yataklı reaktörler (AYR)’de sekans sonuçları

Örnek No	Sekans sonucu	Benzerlik (%)	Sekans dizisi
a	<i>Desulfomonile tiedjei</i>	98	GGTATAGCGCATGGAAGGAACTCTGACGCAGCAACGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCTTTCGGG TTGTAAAGCCCTGTCAGGCGGGAAGAAACCTTTGCGAGCGAATAGCTCGTGAAACTGACGGTA CCGCCAAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGGTGCAAGCG TTGTTCCGAATCACTGGGCGTAAAGCGCGTGTAGGCGGTTTCGATAAGTCGAATGTGAAAGCCCC AGGCTCAACCTCGGAAGTGCATTGAACTATCGGGCTTGAGTACGGGAGAGGGAAGTGGAAT TCCTGGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTTCCT GGACCGATACTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG TCCACGCCGTAAACGGTGAGCACTAGGTGTAGCGGGTATTGACCCCTGCTGTGCCGCAGCTAAC GCATTAAGTGCTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAGGGGAATTGACGGAT CCCATGCGCGTTTAAAGCTTCCCTTGGTCCAAGAAGGGGTTTCGCCAGAGGTGTTGTCTTGCTTTG GCGATGTTTCTCTCGACCCGGTACTCCCCCTCGCTCGCCCGGTCCGTAGGCCGAGAGTTGGATTG ACTTTCGTGGTTGACCTCGGGTTTTCCCTTTCAATTTTGCACATGGATACCCGTGCTTTTGGCA GAGTTTTTTCGCAAAGGCTTTCACC
b	<i>Lysobacter sp.</i>	90	AGCGAGCCTGATCAGCCTGCCGCGTGAGTGTAGGAGGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGGC CGGAAAGAACTTCTCGTGCGGTGTACCTTCTGGTCTGACGGTACCGGAAGAAGAAGCACCGGCT AACTTCGTGGCGGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTTACTGGAATTACTGGGTGTA AAGCGTGCGTATGTGGTTCGATAAGACTGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGTAATTGCTT TGGAGACTGGCGGGCTAAAATGCGGAAGAGGATGGTGGAATTCCCGGTGTATGAGTGAAATGC GTAAAGATCGGGAGGAACATCTGTGGCGAAGGCGGCCATCTGGGACCACTACTGACACTGAGC GCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGCCTTCCACGCCCTAAACGATGCG AACTGGATGTTGGGTGCAACTAAGCTCTCACATATCGAAGCTAACGCTGTTAAAGTACGCCGCC TGGGGAGTACGGTCGCAAGGACTGACACTCAAGGGGAATTGACGGACCGCTCTTACAATTTGT TTTGGCGTGCCACGGGGTTTTTCATAAGTGTTTGCTCTGTCTGCTTTCGTCCTTACTGTATATATT GTACTCGGGGTCCGCTTTCCGCCACTGGGTGTTCTTTTCTGGTTTGGGCGATTGTAATCTTCTCT ATATAGTGAATTGGCCTTCCACCAACCTCGGGCCCAAGCAGATGTCTAAACCCTTTGGATTTTT TCCCCCTCCCCCGTTAAAAGGGTAACCCTTATCCCT

Çizelge 4.13'ün devamı

c	<i>Uncultured Rhizobiales bacterium</i>	85	CATGGGGGGGCGAGCCTGATCAAGCAATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTCGGC GGGAAAGATAATGACGGTACCCGGAGAATAAGCCCCGGCTAGCTTCGTGCCAGCAGCCGCGGGATTACTAAG GGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAAGCTACTGGTTGTATCGGGGGTGCAAGCC CGGTGCTCAACCCCAAGAACTGCCTTTGATACTGAACCTCTTAAGTGCGTTTGAGGCTAGTGGACTTCCGAGTG TAGAAGTGAAATTGAAATATATTTCGGAGGAATGAAATGGGCAAAGGTGGCTCACTGGTCCGATGCTGACGCT GACGTGCTGAAGCGTGGGTAGCAATCATGATTAAATACGTGGGTAGTCAACGCGATAAAATATGATGGTAGT CCGTTGGGTAGCTTGTCTGTTCTGTGGCGCAGCTGACGCATTAAACCTTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAG ATTCACACTGAGGGGAATCTGACGGAAATATTAAATCTCAGGGGAATTTGCGCG
d	<i>Thiomonas arsenitoxydans</i>	92	ATGGGGGGACACCCTGAATCAGGCACTGCCGCGTGAGTGATGAAAGGCCTTCGGGTGGTAAGCTCTTTTGG CGGGAGCGAAATGTCGAGTGCTAATACCATTTCGGTGATGACGGTACCCGCAAAATAAGCACCGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACTTATGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGG CCGGTAGGTAAGACAGATGTGAAATTCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTTGAGACTGCCTGACTAGAGT GCGGCAGAGGGAAGTGGAATTCCTCGTGTAGCAGTGCAATGCGTAAATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAA GGCAACTCCCTGGGCCTGCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGCGGAGCCAACAGGATTAGATACCCTGGT AGTCCACGCCCTAAACTATGTGCTAGTGTGTTGGACGGGTACTGTCTCAACGTAGCTAACACGTGAAGTC GACCGCCTGGGAGGAACGGCGCCAGGTAAACTC
e	<i>Uncultured Desulfosporosinus sp.</i>	96	GGAGCGACGCTTGACGCAGCACGCCGCGTGATGATGAAGGTCTTCGGAGTGTAATCCTTTTGCATAGGAA GATAATGCTGGTTTACCGTCACTGACGGTACTCTGCGTCCATGCCACGGCTCACTCTGTGCCTGCGTGCGCGGT GATACCTGGGTGGCAAGGGTTGTCCGATTTCCTGGGTGTTCTGTGGTGCTCGGGTGGGCTCACCTATCGGTGG TTAAATCAATGTGCTTACGGATGCATGATGAGAATCGGGGAGGGTCTAAAGTCACTAATAGTAAATGAAAT TTCCGGTATACCTCTGGAATGATTACATATCGGAAAGAAATCTTCTGGCACAGGTCGGCTTCTGATCCACAAC TGACGCTCGAGCACAAAAGGTTGGATAGCCTAGGTAGACTACATACCTAGGTATTCTGGTAGTCAACGATG AATACTATCTTTTCGTCGTATTGATCAATGTCACATCTATCGCACCTAGGTATTTACGTCGGAAGAACACAC TCAGGGGAATAGTCAAGGGAATTTGACGGA

5. SONUÇLAR

Tez çalışmalarının birinci bölümünde, kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyon reaktörleri 100 gün boyunca ilk dört safhada sabit giriş nitrat konsantrasyonunda (25 mg/L) farklı HRT değerlerinde (12-3 sa) beşinci safhadan sonra ise sabit HRT’de farklı nitrat konsantrasyonlarında (50-100 mg/L) içme sularından nitrat giderimi amacıyla başarıyla işletilmiştir. Nitrat yükleme hızakademeli olarak artırılmış (0,05- 0,800 g NO₃-N /(L/gün)), ilk beş safhada % 100 nitrat giderimi elde edilmiştir. Nitrat yükleme hızı 0,3 g NO₃-N /(L/gün)’ne çıkarılarak HRT 2 saate düşürüldüğünde ise kolon reaktörler kükürt yatağın artan debi nedeniyle hareketlenmesinden dolayı işletilememiştir. Bu durumda reaktörlerde denitrifikasyonun sınırlandığı noktanın belirlenebilmesi için giriş nitrat konsantrasyonunun artırılarak ve sabit HRT’de (3 saat) çalışılmaya devam edilmiştir. Çalışma nitrat giderim veriminin yaklaşık olarak % 60-70 lere kadar düşmesi ve nitrat birikiminin gözlenmesi ile yedinci safhada tamamlanmıştır. Reaktörlerde çıkış sülfat konsantrasyonun içme suları için belirtilen sınır değeri aştığı görülmektedir. Aynı şekilde hızlı bir şekilde çözünen kireçtaşının çıkışta sertliğin yükselmesine de neden olduğu görülmektedir. Kükürt bazlı ototrofik denitrifikasyonun dezavantajları olan bu iki parametre mikсотrofik denitrifikasyon ile kontrol altına alınabilir. İzlenen tüm parametreler birlikte ele alındığında kükürt/CaCO₃ oranlarının etkisinin (1/1, 2/1, 3/1) ilk dört safhada düşük nitrat konsantrasyonların da çok büyük değişiklikler göstermediği tespit edilmiştir. Bu da nitratın giderimi için gerekli olan kükürt ve kireç taşının ihtiyaç duyulandan çok daha fazla olduğunu göstermektedir. Artan nitrat yükleme oranı ile reaktörlerde kükürt / CaCO₃ oranının etkisi daha net bir biçimde gözlenmiştir. Maksimum nitrat yükleme hızında (0,80 gNO₃-N/(L.d), maksimum denitrifikasyon verimi % 82 ile Kolon 3’de elde edilmiştir. Tüm parametreler dikkate alındığında optimum kükürt / CaCO₃ oranının 3/1 olduğu görülmüştür.

Alkalinite tedariki için en etkili ve ekonomik yol kireç taşı kullanımı olarak gözükmese de rağmen, sınırlı çözünme hızı ve çıkışta sertlik artışına neden olmasından dolayı alternatif bir alkalinite kaynağının temin edilmesi gerekmektedir. Çalışmanın bundan ikinci bölümü için, alkalinite tedarikinin girişte bikarbonat ilavesi ile sağlanması, yüksek sülfat üretimi ve artan sertlik gibi dezavantajların giderilmesi içinse mikсотrofik denitrifikasyonun kullanılması önerilmiştir.

Tez çalışmalarının birinci bölümünün sonunda nitrat ve nitrit kinetiğini belirlemek üzere kesikli reaktörlerde çalışmalar yürütülmüştür. Kesikli reaktörlerde ototrofik nitrat ve nitrit giderim hızları farklı başlangıç nitrit ve nitrat konsantrasyonlarında belirlenerek kıyaslanmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki, nitrat ve nitrit giderim hızları birbirine oldukça yakın olup, genel olarak başlangıç konsantrasyonunun artmasıyla giderim hızı da artmaktadır. Bu bulgu oldukça önemlidir. Çünkü yüksek nitrat yüklemelerinde nitrit birikiminin gözlenmeyeceğini ifade etmektedir. Kesikli reaktör çalışmaları da bunu doğrular niteliktedir. Şöyle ki; nitrat gideriminin belirlendiği kesikli çalışmalarda nitrit birikimi gözlenmemiştir.

Benzer çalışmalar ile kıyaslandığında kesikli reaktörlerde, nitrit gideriminin nitrat giderimine kıyasla 2-3 kat daha düşük olduğu bulunmasına rağmen, mevcut çalışmada farklı bir sonuç ile karşılaşılmıştır. Bu durum; kültür geçmişinin kinetikte ne denli önemli olduğunu vurgulamaktadır. Farklı koşullarda ve farklı tip reaktörlerde geliştirilen kültürlerde farklı mikroorganizma türleri gelişebilmekte ve bu durum da denitrifikasyon kinetiğini değiştirebilmektedir.

Tez çalışmalarının ikinci bölümünde, granül kükürt ve kireç kullanılarak işletilen ototrofik ve mikсотrofik denitrifikasyon prosesinde, arseniğin denitrifikasyon performansına etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda yüksek arsenik konsantrasyonlarında sabit yataklı reaktörler ile akışkan yataklı reaktörlerde denitrifikasyon hızı kıyaslanmıştır. Sistemin yüksek arsenik konsantrasyonlarında bile yüksek verimle denitrifikasyon yapabildiği görülmüştür. Nitrat konsantrasyonunun artırılması durumunda granül kükürdün çözünürlüğünün yeterli gelmeyeşinden ve arsenit toksisitesinden dolayı denitrifikasyon hızının %50 oranında düştüğü görülmüştür. Bu durumda kükürdün çözünürlüğünü artıran geri devirli akışkan yataklı reaktörler kullanılmış ve denitrifikasyon hızının arttığı görülmüştür. Yüksek nitrat ve arsenik konsantrasyonlarında (100 mg/L NO₃-N ve 1000 µg/L) sabit yataklı reaktörlerde denitrifikasyon hızının her üç reaktörde de yaklaşık olarak benzer sonuçlar elde edilmiştir (0,103-0,099-0,105 g/L.gün). Aynı koşullarda akışkan yataklı reaktörlerde denitrifikasyon hızı kolon 1 ve 3’de yükselirken kolon 2’de düştüğü görülmüştür. 1000 µg/L Arsenit varlığında en yüksek denitrifikasyon hızı mikсотrofik reaktörde 0,183 g/L.gün olarak elde edilmiştir. Kolon 2’de denitrifikasyon hızının belirgin bir biçimde düşmesinin reaktörde ki mikrobiyal popülasyon dinamiğinde ki değişimden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tez çalışmalarının üçüncü bölümünde, reaktörlerden işletme parametrelerinin değiştiği koşullarda alınan bakteri örnekleri izole edilmiş ve bildirilen prosedürler uygulanarak sırasıyla PCR, DGGE ve sekans analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre birinci bölümde *Propionivibrio dicarboxylicus*, *Uncultured Campylobacteriales bacterium*, *Uncultured Sulfuricella sp.*, *Thiobacillus sp.* türleri gözlenmiştir. Bildirilen türler kemoototrof bakteriler olup denitrifikasyon yapabilme özelliğine sahiptir. Ayrıca bu türler kükürtlü bileşikler elektron verici olarak kullanabilmektedirler.

İkinci bölümde alınan bakteri örnekleri incelendiğinde ise miksotrofik reaktör ile diğer ototrofik reaktörlerin arasında farklılıklar olduğu ortaya konmuştur. Miksotrofik reaktörde *Thiobacillus thioarus*, türleri bulunmuştur. Bu bakteriler kükürt bileşiklerinin enerji kaynağı olarak kullanmakta ve denitrifikasyon yapabilmektedir. Ayrıca *Uncultured Paracoccus sp.* türlerinin inorganik kükürt bileşiklerinin yanı sıra metanol gibi organik bileşikler de kullanabildiği bildirilmiştir.

Arsenik çalışmalarında ise türler değişmiş inorganik kükürt bileşiklerinin enerji kaynağı olarak kullanan ve arseniği oksitleyebilen bakteriler ortaya çıkmıştır. Bu bakteriler *Desulfomonile tiedjei*, *Thiomonas arsenitoxydans*, *Uncultured Desulfosporosinus sp. türleridir*. Bu türlerin reaktörler akışkan yataklı geri devirli reaktörler olarak işletildiğinde de değişmediği görülmüştür.

Sonuç olarak, farklı HRT, nitrat konsantrasyonu ve arseniğin denitrifikasyona etkilerinin araştırıldığı bu tez çalışmasından elde edilen tüm verilerden çıkarılan ortak sonuçlar ise şunlardır.

- ⊕ Kükürdün çözünürlük hızı denitrifikasyon hızını sınırlamaktadır.
- ⊕ Toz kükürdün çözünürlük hızı yüksek olduğundan düşük HRT ve yüksek nitrat konsantrasyonlarında denitrifikasyon başarılı bir şekilde tamamlanabilmektedir.
- ⊕ Denitrifikasyon hızını belirleyen en önemli parametre kükürt çözünürlüğü olduğundan optimum kükürt /kireçtaşı oranının 3/1 olduğu görülmüştür.
- ⊕ Granül kükürdün çözünürlüğünün toz kükürt çözünürlüğüne kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir.
- ⊕ Arseniğin yüksek konsantrasyonlarda bile denitrifikasyonu olumsuz etkilemediği, denitrifikasyon hızında ki düşmelerin granül kükürdün düşük çözünürlük hızından kaynaklandığı ortaya konulmuştur.

- ⊕ Miksotrofik denitrifikasyonun ekstrem şartlarda, kükürt/kireçtaşı ototrofik denitrifikasyon ve bikarbonat destekli ototrofik denitrifikasyondan daha yüksek hızda denitrifikasyonu gerçekleştirdiği görülmüştür.
- ⊕ AYR reaktörlerde geri devrin kükürt çözünürlüğünü artırmış, en iyi denitrifikasyon performansı ise miksotrofik reaktörde görülmüştür.
- ⊕ Yapılan moleküler analiz çalışmalarında bakteri popülasyon dinamiği belirlenmiş her aşamada bakteri popülasyonunun ortam koşullarına göre farklılık gösterdiği ortaya konmuştur. Moleküler çeşitliliğin denitrifikasyonu doğrudan etkilediği açıkça görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Akkurt F., Alicılar A., Şendil O. 2002. Sularda Bulunan Nitratın Adsorpsiyon Yoluyla Uzaklaştırılması. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 17, 83-91.
- APHA AWWA WEF, W. E. F., 2005. Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Washington DC, USA.
- Battaglia-Brunet, F., Itard, Y., Garrido, F., Delorme, F., Crouzet, C., Greffie, C., Joulia, C., 2006. A Simple Biogeochemical Process Removing Arsenic from A Mine Drainage Water. *Geomicrobiology Journal* 23, 201-211.
- Böke, N., 2008. The Effect Of Pesticide Adsorption On Biological Denitrification Of Drinking Water, Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Graduate School of Applied and Natural Sciences, Bornova, İzmir.
- Brune, A., Ludwig, W., Schink, B. 2002. *Propionivibrio Limicola* sp nov., A Fermentative Bacterium Specialized in The Degradation of Hydroaromatic Compounds, Reclassification of *Propionibacter Pelophilus* as *Propionivibrio Pelophilus* Comb. Nov and Amended Description of The Genus *Propionivibrio*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 441-444.
- Chung, J., Rittmann, B. E., Wright, W. F. Bowman, R. H. 2007. Simultaneous Bio-reduction of Nitrate, Perchlorate, Selenate, Chromate, Arsenate, and Dibromochloropropane Using A Hydrogen-Based Membrane Biofilm Reactor. *Biodegradation*, 18, 199-209.
- Cord-Ruwish, R. 1985. A Quick Method for The Determination of Dissolved and Precipitated Sulfides in Cultures of Sulfate-reducing Bacteria. *Journal Microbiology Methology*, 4, 33-36.
- Çakıcı, H., 2007. Yavaş Kum Filtresinde Biyolojik Denitrifikasyonla İçme Sularından Nitrat Giderimi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Sivas.
- Darbi, A., 2003. Biological Removal of Nitrate from drinking Water, Doktora Tezi, University of Regina, Philosophy in Engineering, USA.
- Della Rocca, C., Belgiorno, V., Meric, S. 2007. Overview of In-Situ Applicable Nitrate Removal Processes. *Desalination*, 204, 46-62.
- Dries D., Liessens J., Versraete W., Stevens P., De Vos P., de Lay J. 1998. Nitrate Removal from Drinking Water By Means of Hydrogenotrophic Denitrifiers with Polyurethane Carrier. *Water Supply*, 6, 181-192.
- Duquesne, K., Lieutaud, A., Ratouchniak, J., Muller, D., Lett, M. C., Bonnefoy, V. 2008. Arsenite Oxidation by A Chemoautotrophic Moderately Acidophilic *Thiomonas* sp.: from The Strain Isolation to The Gene Study. *Environmental Microbiology*, 10, 228-237.
- Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Mendez, R. 2012. Autotrophic Denitrification with Sulphide in A Sequencing Batch Reactor. *Journal of Environmental Management* 113, 552-556.
- Fernandez, N., Sierra-Alvarez, R., Amils, R., Field, J. A., Sanz, J. L., 2009. Compared Microbiology of Granular Sludge Under Autotrophic, Mixotrophic and Heterotrophic Denitrification Conditions. *Water Science and Technology* 59, 1227-1236.
- Fonseca, A. D., Crespo, J. G., Almeida, J. S., Reis, M. A. 2000. Drinking Water Denitrification Using A Novel Ion-Exchange Membrane Bioreactor. *Environmental Science & Technology*, 34, 1557-1562.

- Greenlee, L. F., Lawler, D. F., Freeman, B. D., Marrot, B., Moulin, P. 2009. Reverse Osmosis Desalination: Water Sources, Technology, and Today's Challenges. *Water Research*, 43, 2317-2348.
- Gros H., Schnoor G., Rutten G. 1986. Nitrate Removal from Groundwater by Autotrophic Microorganisms. *Water Supply*, 4, 1-21.
- Han, G. B., Park, J. K., 2012. NO₃⁻-N Removal with Sulfur-Lime Porous Ceramic Carrier (Slpc) in The Packed-Bed Bioreactors by Autosulfurotrophic Denitrification. *Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43, 591-596.
- Hasar, H., Xia, S. Q., Ahn, C. H., Rittmann, B. E. 2008. Simultaneous Removal of Organic Matter and Nitrogen Compounds by an Aerobic/Anoxic Membrane Biofilm Reactor. *Water Research*, 42, 4109-4116.
- Helvacı, C., 2005. Batı Anadolu'da Arsenik ile Bor Mineralleri İlişkisi ve Sağlığa Etkileri. *Tıbbi Jeoloji Sempozyumu, Türkiye*.
- Hoek J.P. Van der Kappelhof J.W.N.M., Hijnen W.A.M. 1992. Biological Nitrate Removal from Groundwater by Sulfur/Limestone Denitrification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 54(2), 197-200.
- Jiang, C. H., Liu, Y., Chen, Z. L., Megharaj, M., Naidu, R. 2013. Impact of Iron-based Nanoparticles on Microbial Denitrification by *Paracoccus* sp. Strain YF1. *Aquatic Toxicology*, 142, 329-335.
- Ju, X. M., Field, J. A., Sierra-Alvarez, R., Salazar, M., Bentley, H., Bentley, R. 2007. Chemolithotrophic Perchlorate Reduction Linked to The Oxidation of Elemental Sulfur. *Biotechnology and Bioengineering*, 96, 1073-1082.
- Kaakoush, N. O., Sterzenbach, T., Miller, W. G., Suerbaum, S., Mendz, G. L. 2007. Identification of Disulfide Reductases in Campylobacteriales: A Bioinformatics Investigation. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 92, 429-441.
- Kim, J., Benjamin, M. M. 2004, Modeling A Novel Ion Exchange Process for Arsenic and Nitrate Removal. *Water Research*, 38, 2053-2062.
- Kim, H. R., Lee, I. S., Bae, J. H. 2004. Performance of A Sulphur-Utilizing Fluidized Bed Reactor for Post-Denitrification. *Process Biochemistry*, 39, 1591-1597.
- Kleerebezem, R., Mendez, R. 2002. Autotrophic Denitrification for Combined Hydrogen Sulfide Removal from Biogas and Post-Denitrification. *Water Science and Technology*, 45, 349-356.
- Klueglein, N., Zeitvogel, F., Stierhof, Y. D., Floetenmeyer, M., Konhauser, K. O., Kappler, A., Obst, M. 2014. Potential Role of Nitrite for Abiotic Fe(II) Oxidation and Cell Encrustation during Nitrate Reduction by Denitrifying Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 1051-1061.
- Koenig, A., Liu, L.H. 2002. Use of Limestone for pH Control in Autotrophic Denitrification: Continuous Flow Experiments in Pilot-Scale Packed Bed Reactors. *Journal of Biotechnology*, 99, 161-171.
- Koenig, A., Zhang, T., Liu, L. H., Fang, H. H. P. 2005. Microbial Community and Biochemistry Process in Auto Sulfurotrophic Denitrifying Biofilm. *Chemosphere*, 58, 1041-1047.
- Kojima, H., Fukui, M. 2010. *Sulfuricella Denitrificans* Gen. Nov., sp nov., A Sulfur-Oxidizing Autotroph Isolated from A Freshwater Lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 2862-2866.
- Koopman B., Stevens C.M., Wonderlick C.A. 1990. Denitrification in A Moving Bed Upflow Sand Filter. *Research J. Water Pollution Control Fedn.*, 62, 239-245.

- Kreutzer, M. F., Nett, M. 2012. Genomics-Driven Discovery of Taiwachelin, A Lipopeptide Siderophore from *Cupriavidus Taiwanensis*. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10, 9338-9343.
- Kruithof C.J., Van Bennekom A.C., Dierx L.H., Hijnen M.W., Van Paassen M.J., Schippers C.J. 1988. Nitrate Removal from Groundwater By Sulfur/Limestone Filtration. *Water Supply*, 6, 207-217.
- Kurt M., Dunn I.J., Bourne J.R. 1987. Biological Denitrification of Drinking Water Using Autotrophic Organisms with H_2 in A Fluidized-Bed Biofilm Reactor. *Biotechnology ve Bioengineering*, 29, 493-501.
- Lee, K. C., Rittmann, B. E. 2002. Applying A Novel Autohydrogenotrophic Hollow-Fiber Membrane Biofilm Reactor for Denitrification of Drinking Water. *Water Research*, 36, 2040-2052.
- Lievremont, D., N'Negue, M. A., Behra, P., Lett, M. C. 2003. Biological Oxidation of Arsenite: Batch Reactor Experiments in Presence of Kutnahorite and Chabazite. *Chemosphere*, 51, 419-428.
- Lim, J. H., Baek, S. H., Lee, S. T. 2009. *Ferruginibacter Alkalilientus* gen. Nov., sp nov and *Ferruginibacter Lapsinanis* sp nov., Novel Members of The Family 'Chitinophagaceae' in The Phylum Bacteroidetes, Isolated from Freshwater Sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2394-2399.
- Liu, H. J., Jiang, W., Wan, D. J., Qu, J. H. 2009. Study of A Combined Heterotrophic and Sulfur Autotrophic Denitrification Technology for Removal of Nitrate in Water. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 23-28.
- Luna-Velasco, A., Sierra-Alvarez, R., Castro, B., Field, J. A. 2010. Removal of Nitrate and Hexavalent Uranium From Groundwater by Sequential Treatment in Bioreactors Packed With Elemental Sulfur and Zero-Valent Iron. *Biotechnology and Bioengineering*, 107, 933-942.
- Luo, G. S., Shi, Z. J., Wang, G. J. 2012. *Lysobacter Arseniciresistens* sp nov., An Arsenite-resistant Bacterium Isolated from Iron-Mined Soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1659-1665.
- Mohan, D., Pittman, C. U. 2007. Arsenic Removal from Water/Wastewater Using Adsorbents - A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 142, 1-53.
- Mohseni-Bandpi A., E., D.J., Memeny-Mazdek, A. 1999. Denitrification of Groundwater Using Acetic Acid as a Carbon Source. *Water Science and Technology*, 40, 53-59.
- Moon, H. S., Ahn, K. H., Lee, S., Nam, K., Kim, J. Y. 2004. Use of autotrophic Sulfur-Oxidizers to Remove Nitrate from Bank Filtrate in A Permeable Reactive Barrier system. *Environmental Pollution*, 129, 499-507.
- Moon, H. S., Chang, S. W., Nam, K., Choe, J., Kim, J. Y. 2006. Effect of Reactive Media Composition and Co-Contaminants on Sulfur-Based Autotrophic Denitrification. *Environmental Pollution*, 144, 802-807.
- Moon, H. S., Shin, D., Nam, K., Kim, J. Y. 2010. Distribution of the Microbial Community Structure in Sulfur-Based Autotrophic Denitrification Columns. *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 136, 481-486.
- Nerenberg, R., Rittmann, B. E. 2004. Hydrogen-Based, Hollow-Fiber Membrane Biofilm Reactor for Reduction of Perchlorate and Other Oxidized Contaminants. *Water Science and Technology*, 49, 223-230.
- Nurizzo C., Vismara R. 1988. Biological Denitrification: Pilot Plant Results Using Sugar as Organic Carbon Source. *Ing Ambien*, 17(2), 88-95.

- Oh, S. E., Yoo, Y. B., Young, J. C., Kim, I. S. 2001. Effect of Organics on Sulfur-Utilizing Autotrophic Denitrification under Mixotrophic Conditions. *Journal of Biotechnology*, 92, 1-8.
- Ökmen G., Algur. Ö. F. 2000. Farklı Karbon Kaynaklarının ve C/N Oranlarının Mikrobiyal Denitrifikasyon Üzerine Etkileri. *Tubitak Turk J Biol.*, 24, 533–542.
- Özkaya, B., Sahinkaya, E., Nurmi, P., Kaksonen, A. H., Puhakka, J. A. 2007. Kinetics of Iron Oxidation by *Leptospirillum Ferriphilum* Dominated Culture at pH Below One. *Biotechnology and Bioengineering*, 97, 1121-1127.
- Öztürk, M., 2008. İçme Suyunda Arsenik Miktarı ve Sağlık Üzerine Etkisi.
- Pan, S. H., 2007. Autotrophic Denitrification of Groundwater in A Granular Sulfur-Packed Up-Flow Reactor, Doktoraz Tezi, The University of Texas at Arlington.
- Panda, S. K., Jyoti, V., Bhadra, B., Nayak, K. C., Shivaji, S., Rainey, F. A., Das, S. K. 2009. *Thiomonas Bhubaneswarensis* sp. Nov., An Obligately Mixotrophic, Moderately Thermophilic, Thiosulfate-oxidizing Bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2171-2175.
- Park, S., Yu, J., Byun, I., Cho, S., Park, T., Lee, T. 2011. Microbial Community Structure And Dynamics in A Mixotrophic Nitrogen Removal Process Using Recycled Spent Caustic under Different Loading Conditions. *Bioresource Technology*, 102, 7265-7271.
- Pester, M., Brambilla, E., Alazard, D., Rattei, T., Weinmaier, T., Han, J., Lucas, S., Lapidus, A., Cheng, J. F., Goodwin, L., Pitluck, S., Peters, L., Ovchinnikova, G., Teshima, H., Detter, J. C., Han, C. S., Tapia, R., Land, M. L., Hauser, L., Kyrpides, N. C., Ivanova, N. N., Pagani, I., Huntmann, M., Wei, C. L., Davenport, K. W., Daligault, H., Chain, P. S. G., Chen, A., Mavromatis, K., Markowitz, V., Szeto, E., Mikhailova, N., Pati, A., Wagner, M., Woyke, T., Ollivier, B., Klenk, H. P., Spring, S., Loy, A. 2012. Complete Genome Sequences of *Desulfosporosinus orientis* DSM765(T), *Desulfosporosinus youngiae* DSM17734(T), *Desulfosporosinus meridiei* DSM13257(T), and *Desulfosporosinus acidiphilus* DSM22704(T). *Journal of Bacteriology*, 194, 6300-6301.
- Philipot J.M., Patte A. 1982. Water Denitrification by A Biological Processes. *Techniques et Sciences Municipales-L'eau*, 77(4), 165-172.
- Qambrani, N. A., Oh, S. E. 2013. Effect of Dissolved Oxygen Tension and Agitation Rates on Sulfur-Utilizing Autotrophic Denitrification: Batch Tests. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, 181-191.
- Richard Y., Thebault P. 1992. Biological Removal of Nitrates – Report On 7 Years Of Operation and Progress. *Water Supply*, 10(3), 151-160.
- Rittmann B.E., McCarty. P. L., 2001. Environmental Biotechnology: Principles and Applications. McGraw-Hill Book Co, New York.
- Robertson, W. J., Bowman, J. P., Franzmann, P. D., Mee, B. J. 2001. *Desulfosporosinus Meridiei* sp. nov., A S-forming Sulfate-Reducing Bacterium Isolated from Gasolene-Contaminated Groundwater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 133-140.
- Schoeman, J. J., Steyn, A. 2003. Nitrate Removal with Reverse Osmosis in A Rural Area in South Africa. *Desalination*, 155, 15-26.
- Sierra-Alvarez, R., Beristain-Cardoso, R., Salazar, M., Gomez, J., Razo-Flores, E., Field, J. A. 2007. Chemolithotrophic denitrification with Elemental Sulfur for Groundwater Treatment. *Water Research*, 41, 1253-1262.

- Simeonova, D. D., Micheva, K., Muller, D. A. E., Lagarde, F., Lett, M. C., Groudeva, V. I., Lievremont, D. 2005. Arsenite Oxidation in Batch Reactors with Alginate-Immobilized ULPAs1 Strain. *Biotechnology and Bioengineering*, 91, 441-446.
- Slyemi, D., Moinier, D., Talla, E., Bonnefoy, V. 2013. Organization and Regulation Of The Arsenite Oxidase Operon of The Moderately Acidophilic and Facultative Chemoautotrophic *Thiomonas Arsenitoxydans*. *Extremophiles*, 17, 911-920.
- Soares M.I.M., Abeliovich, A. 1998. Wheat Straw as Substrate for Water Denitrification. *Water Research*, 32, 3790- 3794.
- Soares, M. I. M. 2002. Denitrification of Groundwater with Elemental Sulfur. *Water Research*, 36, 1392-1395.
- Sun, W. J., Sierra-Alvarez, R., Milner, L., Oremland, R., Field, J. A. 2009. Arsenite and Ferrous Iron Oxidation Linked to Chemolithotrophic Denitrification for the Immobilization of Arsenic in Anoxic Environments. *Environmental Science & Technology*, 43, 6585-6591.
- Sun Y., Nemat M. 2012. Evaluation of Sulfur-Based Autotrophic Denitrification and Denitritation for Biological Removal of Nitrate and Nitrite from Contaminated Waters. *Bioresource Technology*, 114: 207–216.
- Şahinkaya, E., Dursun, N., Kilic, A., Demirel, S., Uyanik, S., Cinar, O. 2011. Simultaneous Heterotrophic and Sulfur-Oxidizing Autotrophic Denitrification Process for Drinking Water Treatment: Control of sulfate production. *Water Research*, 45, 6661-6667.
- Şahinkaya, E., Dursun, N. 2012. Sulfur-oxidizing Autotrophic and Mixotrophic Denitrification Processes for Drinking Water Treatment: Elimination of Excess Sulfate Production and Alkalinity Requirement. *Chemosphere*, 89, 144-149.
- Sahinkaya, E., Kilic, A., Calimlioglu, B., Toker, Y. 2013. Simultaneous Bioreduction of Nitrate and Chromate Using Sulfur-Based Mixotrophic Denitrification Process. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 234-239.
- Upadhyaya, G., Jackson, J., Clancy, T. M., Hyun, S. P., Brown, J., Hayes, K. F., Raskin, L. 2010. Simultaneous Removal of Nitrate and Arsenic from Drinking Water Sources Utilizing A Fixed-Bed Bioreactor System. *Water Research*, 44, 4958-4969.
- Tuğrul, Z., 2006. Toz Halinde Fe^0 ve Al^0 ile Nitratın Kimyasal Denitrifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi Çevre Mühendisliği Anabilimdalı, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Tuisel H., Heinzle E., Luttenberger H. 1989. Biological Denitrification of Drinking Water With Hydrogen in A Fluidized Bed Reactor, (in German) *GWF Wasser-Abwasser*, 130, 10-13.
- Valdebenito-Rolack, E. H., Araya, T. C., Abarzua, L. E., Ruiz-Tagle, N. M., Sossa, K. E., Aroca, G. E., Urrutia, H. E. 2011. Thiosulphate Oxidation by *Thiobacillus Thioparus* and *Halothiobacillus Neapolitanus* Strains Isolated from The Petrochemical Industry. *Electronic Journal of Biotechnology*, 14.
- Varol, S., Davraz, A., Varol, E. 2008. Yeraltı Suyu Kimyası ve Sağlığa Etkisinin Tıbbi Jeoloji Açısından Değerlendirilmesi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 7, 351-359.
- Volokita, M., Abeliovich, A., Soares, M. I. M. 1996a. Denitrification of Groundwater Using Cotton as Energy Source. *Water Science and Technology*, 34, 379-385.
- Volokita, M., Belkin, S., Abeliovich, A., Soares, M. I. M. 1996b. Biological Denitrification of Drinking Water Using Newspaper. *Water Research*, 30, 965-971.

- Wan, D. J., Liu, H. J., Qu, J. H., Lei, P. J., Mao, S. H., Hou, Y. N. 2009. Using The Combined Bioelectrochemical and Sulfur Autotrophic Denitrification System for Groundwater Denitrification. *Bioresource Technology*, 100, 142-148.
- Wang, H. Y., Zhou, Y. X., Yuan, Q., Zhao, H., Dai, X. 2014. Bacteria Morphology and Diversity of The Combined Autotrophic Nitritation and Sulfur-Carbon Three-Dimensional-Electrode Denitrification Process. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 49, 39-51.
- Wei, D. Q., Yu, T. T., Yao, J. C., Zhou, E. M., Song, Z. Q., Yin, Y. R., Ming, H., Tang, S. K., Li, W. J. 2012. *Lysobacter Thermophilus* sp nov., Isolated from a Geothermal Soil Sample in Tengchong, South-West China. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 102, 643-651.
- Web1, Erişim tarihi: 10.08.2010. www.iski.gov.tr
- Web 2, Erişim tarihi: 10.08.2010. <http://www.nitrate.com/nitrate2.htm>.
- Web 3, 20.02.2014. www.wikipedia.com
- Yatong, X., 1996. Volatile Fatty Acids Carbon Source for Biological Denitrification. *Journal of Environmental Sciences*, 3, 257-260.
- Yesilnacar, M. I., Sahinkaya, E., Naz, M., Ozkaya, B. 2008. Neural Network Prediction of Nitrate in Groundwater of Harran Plain, Turkey. *Environmental Geology*, 56, 19-25.
- Yilmaz, O., Ekici, K. 2004. Van Yöresinde İçme Sularında Arsenikle Kirlenme Düzeyleri. *YYÜ Vet Fak Dergisi*, 15, 47-51.
- Zhang, T. C., Lampe, D. G. 1999. Sulfur:Limestone Autotrophic Denitrification Processes for Treatment of Nitrate-Contaminated Water: Batch Experiments. *Water Research*, 33, 599-608.
- Zhang T.C. 2004. Development of Sulfur-Limestone Autotrophic Denitrification Processes for Treatment of Nitrate-Contaminated Groundwater in Small Communities. Project Final Report. *Midwest Technology Assistance Center*.
- Zhang, M., Zhang, T., Shao, M. F., Fang, H. H. P. 2009. Autotrophic Denitrification in Nitrate-Induced Marine Sediment Remediation and Sulfurimonas Denitrificans-Like Bacteria. *Chemosphere*, 76, 677-682.
- Zhang, Y. F., Angelidaki, I. 2013. A New Method for In Situ Nitrate Removal from Groundwater Using Submerged Microbial Desalination-Denitrification Cell (SMDDC). *Water Research*, 47, 1827-1836.
- Zhou, W. L., Sun, Y. J., Wu, B. T., Zhang, Y., Huang, M., Miyanaga, T., Zhang, Z. J., 2011. Autotrophic Denitrification for Nitrate and Nitrite Removal Using Sulfur-Limestone. *Journal of Environmental Sciences-China*, 23, 1761-1769.
- Zeng, H., Zhang, T. C. 2005. Evaluation of Kinetic Parameters of A Sulfur-Limestone Autotrophic Denitrification Biofilm Process. *Water Research*, 39, 4941-4952.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Arzu KILIÇ

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 02.11.1980 /KIŞLA

Medeni hali : Bekar

e-posta: arzukilic@hotmail.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Selçuk Üniversitesi Fen Bil. Ens. Çevre Müh. Anabilimdalı	2006
Lisans	Selçuk Üniversitesi Müh. Mim. Fak. Çevre Müh. Bölümü	2004
Lise	Açıköğretim Lisesi	1999

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2007-2009	HAKAY Yapi	Çevre Mühendisi
2010-2014	KSÜ	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Gezginci, M., Uysal, Y., Kılıç, A., Çınar. Ö. (2011). Mikrobiyal Yakıt Hücrelerinde Ekstraselüler Elektron Transferleri, Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 4(2), 81-85.
2. Kılıç, A., Uysal, Y., Çınar. Ö. (2011). Laboratuvar Ölçekli Bir Mikrobiyal Yakıt Hücresinde Sentetik Atıksudan Elektrik Üretimi, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17(1), 43-49.
3. Kılıç A., Başak S., Cırık K., Özgün D., Akman D., Özdemir Ş., Sahinkaya E., Çınar Ö. (2012). İçme Sularından Nitrat Gideriminde İkincil Kirlenmelerin Denitrifikasyona Etkisi. Tarih Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi (Tüketim Toplumu ve Çevre Özel Sayısı) C. 1, No. 4, 475-486.
4. Özgün D., Başak S., Cırık K., Kılıç A., Akman D., Özdemir Ş., Çınar Ö. (2012). Anammox Bakterilerinin Zenginleştirilmesinde Farklı Dolgu Malzemelerinin Etkisi. Tarih Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi (Tüketim Toplumu ve Çevre Özel Sayısı) C. 1, No. 4, 458-467.
5. Özdemir Ş., Akman D., Cırık K., Başak S., Kılıç A., Özgün D., Çınar Ö. (2012). Farklı Hidrolik Bekletme Sürelerinin Anaerobik Perdeli Reaktörde Sülfat İndirgenmesi Üzerine Etkisi. Tarih Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi (Tüketim Toplumu ve Çevre Özel Sayısı) C. 1, No. 4, 487-496.
6. Kılıç A., Özgün D., Başak S., Cuci Y., Çınar Ö. (2013). Pestisit Kaynaklı Endosülfanın Yeraltısularının Arıtımında Kükürt Bazlı Ototrofik Denitrifikasyona Etkisi. KSÜ Doğa Bil. Derg., 16(2), 48-55.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. Demiröz, K., Kılıç, A., Dolaz, M., Çınar Ö. (2009). Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Bioenergy Generation, International symposium on engineering and architectural sciences of Balkan, Caucasus and Turkic Republics, 22-24 October, Isparta, Turkey.

2. Cırık K., Çutay E., Gündoğan E.G., Kılıç A., Çınar Ö. (2010). Membrane Biofilm Reactors (MBfRs) for Drinking Water Treatment. International Symposium on Sustainable Development, June 8-9, Sarejova.
3. Kılıç A., Uysal Y., Gezgin M., Çınar Ö. (2010). Electrical Energy Generation From Industrial Wastewaters By Using Microbial Fuel Cells. 2nd International Conference on Nuclear and Renewable Energy Resources, 4-7 July Ankara, Turkey.
4. Kılıç A., Sahinkaya E., Çınar Ö. (2011). Sulfur–Limestone Autotrophic Denitrification (SLAD) Processes for Ex-Situ and In-Situ Nitrate Removal From Drinking Water, 20 th. ISEB International Society for Environmental Biogeochemistry, 27-30 Sept. 2011, Istanbul, Turkey.

Uluslararası toplantıda tam metin olarak yayımlanan posterler

1. Cırık K., Basak S., Kılıç A., Ozgun D., Akman D., Ozdemir S., Cınar O. (2013). The coloration method oh textile wastewater. The Second International Conference on Water, Energy and Environment (ICWEE'2013), September 21-24, Kusadası, Turkey.

Ulusal toplantıda özet metin olarak yayımlanan posterler

1. Akman D., Özdemir Ş., Cırık K., Başak S., Özgün D., Kılıç A., Çınar Ö. (2012). Nitritasyon Prosesinin Farklı Reaksiyon Süreleri Altında İncelenmesi. Tüketim Toplumu ve Çevre Sempozyumu 2012. 16-17 Kasım. Karabük.

Hobiler

Doğa bilimleri, yüzme, kitap okuma, şiir, deneme yazma, seyahat