



**HALOALKALİ ŞARTLARDA ANAEROBİK BATIK
MEMBRAN BİYOREAKTÖR İLE EŞ ZAMANLI
SÜLFAT VE ORGANİK MADDE GİDERİMİ**

Yük. Müh. Hande TÜRK

Doktora Tezi
Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği
Programı: Çevre Bilimleri
Danışman: Doç. Dr. Özge HANAY

AĞUSTOS 2019

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HALOALKALİ ŞARTLARDA ANAEROBİK BATIK MEMBRAN
BİYOREAKTÖR İLE EŞ ZAMANLI SÜLFAT VE ORGANİK MADDE
GİDERİMİ

DOKTORA TEZİ

Yük. Müh. Hande TÜRK

(141112203)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 09.07.2019

Tezin Savunulduğu Tarih: 06.08.2019

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Özge HANAY (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Bestami ÖZKAYA (Y.T.Ü)

Doç. Dr. Gülşad USLU ŞENEL (F.Ü)

Doç. Dr. Mehmet KALENDER (F.Ü)

Doç. Dr. Mehtap TANYOL (M.Ü)

AĞUSTOS-2019

TEŞEKKÜR

Doktora tez sürecimde bilgi birikimi ve mesleki tecrübesiyle her zaman bana destek olan, yol gösteren kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Özge Hanay’a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmam sırasında yardımcı olan Arş. Gör. Burçin Yıldız’a ve tüm bölüm hocalarım ve çalışanlarına, 116Y133 nolu proje kapsamında doktora tez çalışmamın gerçekleşmesi için finansal destek sağlayan TÜBİTAK’a

Tez çalışmam boyunca bilgisiyle, tecrübesiyle bana yardımcı olan ve manevi desteği ile hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan nişanlım Dr. Arş. Gör. Yunus Aksoy’a ve hayatım boyunca aldığım tüm kararlarda beni destekleyen, koruyup kollayan üzüntümü, mutluluğumu benimle yaşayan, maddi manevi her anlamda her zaman yardımcı olan ve doktora tez çalışmamı rahatlıkla gerçekleştirmemi sağlayan canımdan çok sevdiğim annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Anlam ve Önemi	1
1.2. Tezin Amacı	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Haloalkali ortamlar	4
2.2. Haloalkalifilik Bakteriler	5
2.3. Haloalkalifilik Bakterilerin Biyoteknoloji Alanındaki Yeri	7
2.4. Sülfat İndirgenmesi	12
2.5. Anaerobik Membran Biyoreaktörler	19
2.6. Anaerobik Batık Membran Biyoreaktör	21
2.7. Anaerobik Membran Biyoreaktör İle Sülfat Giderimi	25
2.8. Anaerobik Reaktörlerde Gerçekleştirilen Sülfat ve Organik Madde Giderim Çalışmaları	27
3. MATERYAL METOT	32
3.1. Sediment Örneklerinin Toplanması ve İzolasyon Çalışmaları	32
3.2. İzole Edilen Haloalkalifilik Bakterilerin Na_2CO_3 ve NaHCO_3 İçeren Ortama Alıştırılması	35
3.3. SAnMBR İşletimi	36
3.4. SAnMBR İşletimi Süresince Gerçekleştirilen Analizler	37
3.5. Mikrobiyal Türlerin Belirlenmesi	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1. SAnMBR İşletimi Süresince KOİ, TOK, Sülfat Giderim Sonuçları	41
4.2. SAnMBR İşletimi Süresince pH, Alkalinite ve İletkenlik Sonuçları	54

4.3. SAnMBR İşletimi Süresince Reaktör AKM, UAKM ve AKM ve Sonuçları	56
4.4. SAnMBR İşletimi Süresince Gaz Oluşumu	58
4.5. Mikrobiyal Ekoloji	59
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	101



ÖZET

Bu tez çalışmasında haloalkali şartlarda eş zamanlı sülfat ve organik madde giderimini gerçekleştirmek için tam karışımli anaerobik batık membran biyoreaktör (SAnMBR) kullanılmıştır. Biyoreaktör işletimine başlamadan Van Gölü'nün farklı derinliklerinden alınan sedimentlerden haloalkalifilik mikroorganizmaların zenginleştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Zenginleştirme işleminde elde edilen mikroorganizmaların reaktöre aşılmasıyla işletim başlatılmıştır. Yaklaşık 380 gün boyunca çalıştırılan biyoreaktör işletimi 11 periyotta gerçekleştirilmiştir. Periyotlarda; farklı kimyasal oksijen ihtiyacı/sülfat oranı ($KOİ/SO_4^{2-}$) (1-12), hidrolik bekleme süresi (HBS) (7-15 gün) ve organik karbon kaynakları (asetat, etanol, asetat+etanol) denenmiştir. Bu farklı işletme şartlarının kimyasal oksijen ihtiyacı ($KOİ$), sülfat ve toplam organik karbon (TOK) giderim verimlerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Sülfat indirgenmesine bağlı olarak üretilen bisülfür konsantrasyonu da belirlenmiştir. Ayrıca biyoreaktör işletimine etki eden diğer faktörler; sentetik atıksu beslemesi ve çıkış atıksuyu pH'ı, alkalinitesi ve iletkenliği belirli aralıklarla ölçülmüştür. Bunun yanı sıra uygulanan farklı işletme şartlarının mikrobiyal tür çeşitliliğine olan etkisi de araştırılmıştır.

Sülfat giderimi tek başına karbon kaynağı olarak asetatin kullanıldığı işletme periyotları süresince gerçekleşmemiştir. Buna karşılık etanolün kullanıldığı işletme periyotlarında en yüksek sülfat giderim verimleri gözlenirken, etanolün dönüşüm ürünü olan asetatin oluşumundan dolayı $KOİ$ giderim verimi nispeten sınırlı kalmıştır.

$KOİ/SO_4^{2-}$ oranı 1 (3000:3000), HBS:10 gün ve etanol/asetat oranı 1:2 olan 10. periyotta (P10), $KOİ$ ve sülfatın eş zamanlı en yüksek giderim verimleri %69 olarak elde edilmiştir. Buna karşılık en yüksek $KOİ$ giderim verimi %81,70 ile $KOİ/SO_4^{2-}$ oranının 1 (3000:3000), HBS:10 gün ve etanol/asetat oranı 1:4 olan 11. periyotta (P11) meydana gelmiş, en yüksek sülfat giderim verimi %70,41 ile $KOİ/SO_4^{2-}$ oranının 1 (3000:3000), HBS:10 gün ve etanol/asetat oranı 1:1 olan 8. periyotta (P8) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anaerobik batık membran biyoreaktör, Elektron verici, Haloalkalifilik mikroorganizmalar, Sülfat giderimi

SUMMARY

Simultaneous Removal of Sulfate and Organic Matter by Anaerobic Submerged Membrane Bioreactor Under Haloalkaline Conditions

In this thesis, submerged anaerobic membrane bioreactor was used to simultaneous remove organic matter and sulfate under haloalkaline condition. The enrichment of haloalkaliphilic microorganisms was done from the sediments of Van Lake at different points. The beginning of reactor operation was conducted after the enrichment of mixed culture. The operation of bioreactor was carried out throughout 380 days with eleven periods. Different ratio of COD/SO₄²⁻ (1-12), hydraulic retention time (HRT) (7-15 day) and organic carbon sources (acetate, ethanol and mixture of ethanol/acetate) were assessed. The performance of reactor was followed in terms of the removal efficiencies of chemical oxygen demand, sulfate and total organic carbon and in parallel to sulfate reduction, the concentration of bisulphur was analysed. Additionally, pHs, alkalinity and conductivity of synthetic wastewater and influent were periodically determined. The influence of different operation conditions on microbial diversity was also determined.

Sulfate removal did not occur in the periods when acetate was used as sole carbon resource. Ethanol was good carbon source for sulfate utilization, however, acetate formation from ethanol biotransformation was a limiting factor for COD removal.

The simultaneous removal efficiency for both COD and sulfate was 69% when ratio of COD/SO₄²⁻ of 1, HRT:10 day, the ratio of ethanol/acetate: 1/2. The highest COD removal was determined as 81,70% at period 11 where the ratio of COD/SO₄²⁻ of 1, HRT:10 day and the ratio of ethanol/acetate:1/4 while the highest sulfate removal was about 70% at period 8 (P8) where the ratio of COD/SO₄²⁻ of 1, HRT:10 day and the ratio of ethanol/acetate:1/1.

Key Words: Submerged anaerobic membrane bioreactor, Electron donor, Sulfate removal, Haloalkaline condition

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil 2.1.	Dünyada soda göllerinin başlıca bulunduğu alanlar	5
Şekil 2.2.	Yüksek pH veya tuzlulukta yaşayabilen ekstremofillerin sınıflandırılması ..	6
Şekil 2.3.	Farklı pH değerlerinde H_2S ve HS^- oranları	9
Şekil 2.4.	Batık (a) ve harici (b) membran biyoreaktörlerin şematik gösterimi	21
Şekil 3.1.	Anaerobik kabinde gerçekleştirilen zenginleştirme çalışmaları	34
Şekil 3.2.	Katı ve sıvı besiyerine alınan bakterilerin görüntüleri.....	35
Şekil 3.3.	Anaerobik batık membran biyoreaktör	36
Şekil 3.4.	TOC-VCPN-Shimadzu cihazı.....	38
Şekil 3.5.	Moleküler analiz yöntemlerinin uygulama akış şeması.....	39
Şekil 4.1.	Periyot 1, 2, 3, 4 süresince KOİ giderim verimi	43
Şekil 4.2.	Periyot 1, 2, 3, 4 süresince TOK giderim verimi	44
Şekil 4.3.	Periyot 5, 6, 7 süresince KOİ giderim verimi	49
Şekil 4.4.	Periyot 5-11 süresince SO_4^{2-} giderim verimi ve HS^- oluşumu	49
Şekil 4.5.	Periyot 5-11 süresince HS^- oluşum miktarı	50
Şekil 4.6.	Periyot 5, 6, 7, 8 süresince TOK giderim verimi	50
Şekil 4.7.	Periyot 9, 10, 11 süresince KOİ giderim verimi	52
Şekil 4.8.	Periyot 9, 10, 11 süresince TOK giderim verimi	52
Şekil 4.9.	SAnMBR işletim süresince reaktör giriş ve çıkış pH değerleri	54
Şekil 4.10.	SAnMBR işletim süresince reaktör giriş ve çıkış alkalinite değerleri	55
Şekil 4.11.	Periyot 8, 9, 10, 11 süresince giriş ve çıkış iletkenlik değerleri	56
Şekil 4.12.	SAnMBR işletim süresince reaktör AKM ve UAKM değişimi	57
Şekil 4.13.	SAnMBR işletim süresince giriş ve çıkış AKM konsantrasyonu değişimi .	58
Şekil 4.14.	3. ve 5. işletme periyotlarına ait örneklerle uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü	59
Şekil 4.15.	3. ve 5. periyotlarına ait örneklerin DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü.....	60
Şekil 4.16.	3. ve 5. işletme periyotlarına ait örneklerin DGGE bantları	61
Şekil 4.17.	6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklerle uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü.....	65

- Şekil 4.18.** 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklerin DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü. 66
- Şekil 4.19.** 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklerin DGGE görüntüsü 66



TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. AnMBR ile gerçekleştirilen giderim çalışmaları	24
Tablo 2.2. AnMBR'de gerçekleştirilen sülfat indirgenmesi çalışmaları	26
Tablo 3.1. Van Gölü sediment örnekleme yerlerinin koordinatları	32
Tablo 3.2. Haloalkalifilik bakteri zenginleştirme ortam bileşenleri.....	33
Tablo 3.3. Metal çözeltisi bileşenleri	33
Tablo 3.4. Süzüntü suyunda izlenen parametreler	37
Tablo 4.1. SAnMBR işletim şartları.....	41
Tablo 4.2. Farklı elektron vericileri ile sülfat giderim oranları (Zhou ve Xing, (2015) 45	
Tablo 4.3. 3. ve 5. işletme periyotlarında SAnMBR’de tespit edilen türler.....	61
Tablo 4.4. 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarında SAnMBR’de tespit edilen diğer türler	67

SİMGELER VE KISALTMALAR

AKM	: Askıda katı madde
AeMBR	: Aerobik membran biyoreaktör
AnMBR	: Anaerobik membran biyoreaktör
ATP	: Adenozin trifosfat
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
Ca²⁺	: Kalsiyum
CH₄	: Metan
CO₂	: Karbondioksit
GC	: Gaz kromatografisi
H₂S	: Hidrojen sülfür
HBS	: Hidrolik bekleme süresi
HS⁻	: Bisülfür
KAS	: Katı alıkonma süresi
KOİ	: Kimyasal oksijen ihtiyacı
MA	: Metan arkeleri
MBR	: Membran biyoreaktör
Mg²⁺	: Magnezyum
NaCl	: Sodyum klorür
NO₂⁻	: Nitrit
NO₃⁻	: Nitrat
O₂	: Oksijen
S²⁻	: Sülfür
SAnMBR	: Batık anaerobik membran biyoreaktör
SİB	: Sülfat indirgeyen bakteri
SO₃²⁻	: Sülfite
SO₄²⁻	: Sülfat
st	: Saat
TMP	: Trans membran basıncı
TOK	: Toplam organik karbon
UAKM	: Uçucu askıda katı madde
UYA	: Uçucu yağ asidi

1. GİRİŞ

1.1. Tezin Anlam ve Önemi

Bazı endüstriyel (deri işleme, pestisit ve ilaç gibi) atıksular yüksek tuzluluk ve yüksek alkali içeriğe sahip olmakla birlikte birçok organik ve inorganik kirleticileri içermektedir. Bu atıksuların klasik biyolojik proseslerle arıtımı hedeflendiğinde nötralizasyon ve tuzluluğun azaltılması için uygulanacak farklı fizikokimyasal proseslere ihtiyaç duyulmaktadır. Yüksek alkali ve yüksek tuzluluğa sahip atıksuların arıtımında klasik biyolojik prosesler yetersiz kalmaktadır. Doğal pH şartlarında ve düşük tuz içeriğinde biyolojik faaliyetlerini gösteren aerobik ve anaerobik mikroorganizmalarla atıksuların arıtımı kolaylıkla gerçekleşmesine rağmen, yüksek tuzlu ve alkali ortamlarda bu mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri organik ve inorganik maddeleri gidermek için uygun olmamaktadır. Bu nedenle alternatif arıtım teknolojileri bu ekstrem şartlardaki kirleticilerin giderimine yönelik olmalıdır.

Fizikokimyasal ve ardışık membran filtrasyon konfigürasyonlarının maliyet ve işletme problemleri dikkate alındığında, yüksek alkali, tuzlu ve organik içerikli endüstriyel atıksuların biyolojik arıtım alternatifleri daha sürdürülebilir bir yaklaşım olarak gözükmemektedir. Ancak, yüksek alkali ve tuzlu atıksuların biyolojik arıtım sistemlerinde arıtımı esnasında haloalkali bakterilerin büyüme ve agregasyon problemleriyle karşılaşıldığı için biyokütle büyümesini, mikrobiyal topluluk ve agregasyonunu sağlayan etkin sistem konfigürasyonları üzerinde durulmalıdır. Membran biyoreaktörün işletiminde haloalkali şartlarda biyokütlenin agrega olamama gibi olumsuz durumları gözardı edilmekte ve yüksek hacimsel organik yüklemeler ile çalıştırılabildiklerinden kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve sülfat gideriminde önemli avantajlar sağlayabilmektedir.

Doğal ortamlarda haloalkali mikroorganizmaların keşfedilmesinden sonra bu mikroorganizmaların biyoteknoloji alanında kullanılmasına başlanılmıştır. Haloalkali ortamlarda sülfat ve organik madde giderim verimlerini belirleyen birkaç çalışma vardır. Bunlardan bir tanesi anaerobik filtrede diğeri ise hidrojen gaz sıyırma biyoreaktörde araştırılmıştır (Zhou vd., 2014; Sousa vd., 2015a). Biyoreaktördeki yüksek pH ve tuzluluk, yavaş büyüyen organizmaların biyokütle alıkonmasında gerekli

olan mikroorganizmaların stabil agregasyonunu engelleyebilmektedir. Batık anaerobik membran biyoreaktörde sıvı-katı ayırımı filtrasyon ile gerçekleştiğinden çamurun agrega olup olmaması veya bir başka deyişle çamur çökme problemlerinden bağımsız olduğundan haloalkali şartlarda agregasyonun oluşmaması olumsuz bir durum değildir.

Klasik anaerobik prosesler ile yüksek sülfat içerikli atıksuların arıtımında oluşan hidrojen sülfür (H_2S), hücre içerisine kolayca geçebilmekte ve bakteriler için toksik etki oluşturmaktadır. Haloalkali şartlardaki pH seviyesinde sülfür HS^- formundadır ve doğal pH şartlarıyla karşılaştırıldığında daha düşük toksisiteye sahiptir. Buna ilaveten batık anaerobik membran biyoreaktörün yüksek hacimsel organik yükleme hızlarında çalışma özelliğinin olması, sistem performansında KOI/SO_4^{2-} oranının önemini ortaya koymaktadır.

Klasik biyolojik arıtım proseslerinde tuzlu atıksuların arıtımı esnasında büyüme ve agregasyon problemlerinin yaşanması bu atıksuların arıtımında biyolojik proseslerin kullanımını sınırlar. Membran biyoreaktörlerde biyokütlenin membran filtrasyonu ile tamamen tutulması, istenmeyen çamur yıkanma sorununu ortadan kaldırır. Böylece haloalkali şartlarda membran biyoreaktörde çalışılması agregasyon sorununu ortadan kaldırarak daha verimli bir arıtımın gerçekleşmesini gerçekleştirebilir. Ayrıca yüksek pH koşullarında H_2S 'nin HS^- 'e dönüşmesi bakteriler için oluşacak toksisiteyi azaltarak arıtımın daha başarılı ilerlemesini sağlayabilir.

1.2. Tezin Amacı

Bu tezin amacı batık anaerobik membran biyoreaktör (SAnMBR) kullanılarak anaerobik haloalkalifilik karışık bakteri kültürü ile yüksek alkali ve tuzlu ortamda eşzamanlı sülfat ve organik madde giderimini incelemektir. Çalışmada, aynı zamanda değiştirilen işletme şartlarına karşılık mikrobiyal popülasyondaki değişimler belirlenerek buna paralel olarak sistemin KOI ve sülfat giderme potansiyeli detaylı irdelenmiştir. Tezin amacı özetle:

- ✓ Doğal alkali ortam olan Van Gölü'nde olası organik kirlilik yükleme noktalarında, dip çamurundan haloalkalifilik bakteri zenginleştirmek,
- ✓ Haloalkalifilik bakteriler aracılığıyla sülfat ve KOI giderimini eş zamanlı gerçekleştirmek,

- ✓ Klasik anaerobik proseslerde yüksek pH, tuz ve sülfat içeriğine sahip atıksuların arıtımı sonucu oluşan H_2S korozyon problemini ve sülfür birikimini ortadan kaldırmak için haloalkali ortamda biyolojik arıtımın performansını belirlemek,
- ✓ Çevre biyoteknolojisi uygulamalarında haloalkalifilik bakterilerin farklı kirleticilerin gideriminde kullanım potansiyelini belirlemek,
- ✓ Yüksek alkali ve tuzluluk şartlarında anaerobik batık membran prosesin kullanım potansiyelini belirlemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Haloalkali ortamlar

Tuz konsantrasyonunun 35 g/L'nin üzerinde olduğu ve pH > 8,5 olan ortamlar haloalkali ortamlar olarak tanımlanırlar ve soda gölleri, soda solonçak toprağı, madencilik endüstrisi atıkları ve tuz salgılayan ağaçların yaprakları gibi çeşitli ortamlar, haloalkali ortamlara örnek olarak verilebilir (Qvit-Raz vd., 2008; Sorokin vd., 2008; Sorokin vd., 2014; 2015a; Santini vd., 2015).

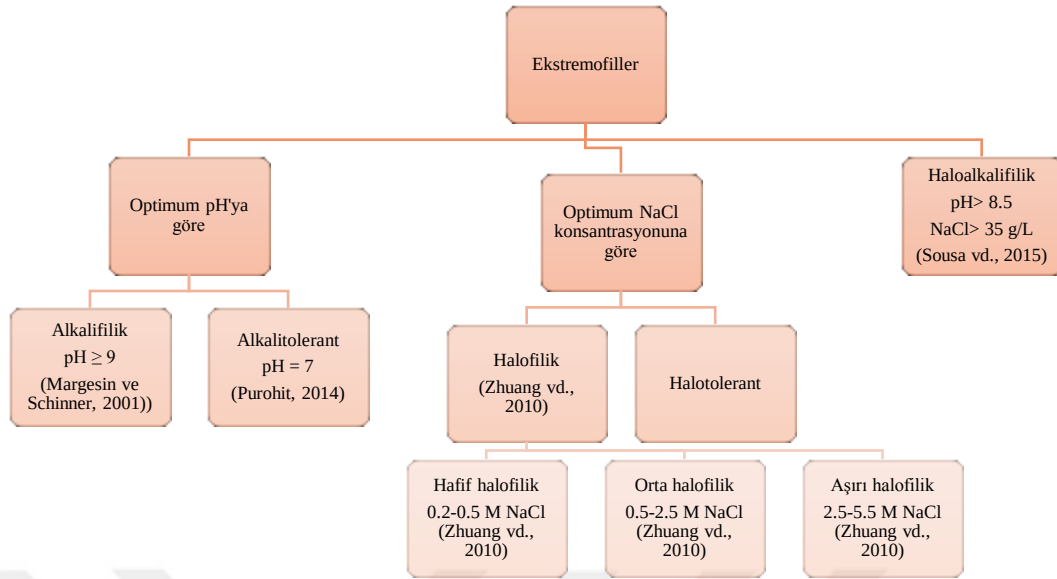
Soda gölleri, sodyum karbonat/bikarbonat tuzlarının hakim olduğu spesifik tuz gölleridir. Bu göller daha çok, buharlaşma ile çukurlarda tuz birikimini kolaylaştıran kuru iklim koşullarına sahip bölgelerde bulunur. Bazı soda göllerinin dünya üzerindeki dağılımı Şekil 2.1'de verildiği gibidir. Soda gölleri, düşük kalsiyum (Ca^{2+}) ve (Mg^{2+}) zemininde, yüksek konsantrasyonda karbondioksit (CO_2) bulunduran yer altı sularının sodyum (Na^+) açısından zengin kayalardan süzülmesi ile oluşmuştur. Yüksek konsantrasyonlarda sodyum karbonatın varlığı, bölgesel koşullara bağlı olarak büyük aralıklardaki tuz konsantrasyonları ve genellikle 9,5'in üzerindeki pH değerleri, atmosferik CO_2 'in asitleştirici etkisinden korunan, stabil ve doğal alkali bir habitat sunar. Soda göllerinde sodyum baskın katyon, karbonat/bikarbonatın yanı sıra klorür ve sülfat ise baskın anyonlardır. Bu nedenle, soda gölleri, genellikle pH 10 civarında gelişebilen ve büyüme için en az 0,1 M Na^+ konsantrasyonu gerektiren zorunlu alkalifilik, tuz-toleranslı mikroorganizmaların gelişimi için uygun koşullara sahip tek doğal ortamdır (Sorokin vd., 2011a).



Şekil 2.1. Dünyada soda göllerinin başlıca bulunduğu alanlar (Sorokin vd., 2014)

2.2. Haloalkalifilik Bakteriler

“Hazine sandıkları” olarak adlandırılan soda gölleri, yüksek pH ve tuzlulukta aktif olan ekstreozim enzimlerini üretme yeteneğine sahip ekstremofilleri bulundurlar (Sorokin vd., 2014). Optimum büyümenin gerçekleştiği pH değeri ve tuz konsantrasyonlarına göre ekstremofiller farklı isimlerle adlandırılırlar. Yüksek tuzlu ortamlarda aktif ve kararlı olan halofiller ortamın osmotik basıncını dengeleyebilen ve tuzların doğal yapılarında meydana getirebileceği etkilere karşı direnebilen prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalardan oluşur. NaCl gereksinimlerine göre hafif, orta veya aşırı halofilikler olarak sınıflandırılırlar (Mevarech vd., 2000; Purohit vd., 2014). Hem yüksek hem de düşük tuz konsantrasyonlarında yaşayabilen halofilik olmayan mikroorganizmalar, halotolerant veya aşırı halotolerant organizmalar olarak sınıflandırılabilir. Alkalifililer ve alkalitoleranslar ise büyümenin en iyi gerçekleştiği pH değerine göre sınıflandırılırlar. pH 9 ve üzerinde büyüme hızı optimum olan mikroorganizmalar alkalifililer iken alkalitoleranslar, nötr veya daha düşük pH değerlerinde optimum büyüebilir ancak pH > 9 olduğunda da büyüyüp hayatta kalabilirler (Margesin ve Schinner, 2001). Optimum tuz konsantrasyonu ve pH değerlerine göre ekstremofiller Şekil 2.2’deki gibi sınıflandırılabilirler.



Şekil 2.2. Yüksek pH ve/veya tuzlulukta yaşayabilen ekstremofillerin sınıflandırılması

Haloalkali şartlarda ($\text{NaCl} > 35 \text{ g/L}$ ve $\text{pH} > 8,5$) yaşayabilen haloalkalifiliklerin ekstrem şartlarda yaşayabilmeleri onları potansiyel biyoteknolojik araştırmalar uygun görülmüştür (Boominadhan vd., 2009; Purohit ve Singh 2011; Pandey vd., 2012; Purohit vd., 2014).

Spesifik haloalkalifilik/toleranslı türlerle temsil edilen prokaryotların baskın olduğu alkali ve yüksek tuzlu soda göllerinde, iki kat aşırı koşullara rağmen normal mikrobiyal topluluklarda bulunan yapısal fonksiyonel grupların çoğu da tanımlanmıştır (Jones vd., 1998; Zavarzin vd., 1999). Mikroorganizmalar, bu yüksek pH ve tuzluluk ortamlarında varlıklarını sürdürebilmek için farklı fizyolojik mekanizmalar oluşturmuşlardır. Tuzlu ortamlarda uygulanan mekanizmaların temeli, ortamın yüksek tuz konsantrasyonundan kaynaklanan osmotik basıncın hücreden sızan suya eşitlenmesi esasına dayanır. Bunun için mikroorganizmalar, hücre içerisindeki su kaybını önleyen osmoregulatorler olarak görev yapan organik veya inorganik bileşikler biriktirirler (Dektova ve Boltyanska, 2007). Diğer taraftan yüksek pH, ATP üretiminden sorumlu ATPaz'lar tarafından protonların taşınmasını ve dengesini etkiler. Bu problemin üstesinden gelmek için, hücreler anyonların geçişini engelleyerek hücre duvarının daha fazla negatif yükü yüklenmesini sağlar böylece hücre yakınında daha konsantre proton tabakası ve daha düşük pH üreten tabaka oluşur. Sonuç olarak ortamın pH'ı alkali olsa dahi hücre içi genellikle nötr pH'a yakın çalışır (Sousa vd., 2015b).

2.3. Haloalkalifilik Bakterilerin Biyoteknoloji Alanındaki Yeri

Soda göllerindeki mikrobiyal türlerin, haloalkali koşullara uyum sağlayarak yaşayabilmeleri (Grant vd., 1990; Zavarzin ve Zhilina 2000; Humayoun vd., 2003; Rees vd., 2004) ve bu bakterilerin hücre dışı enzimlerinin biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilir olması dikkat çekmiştir (Horikoshi, 2004). Bu özellikleri ile haloalkalifilik bakteri kullanımının avantajlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

- Anaerobik arıtmımda haloalkalifilik mikroorganizmaların kullanılması, pH:7 civarında biyofermantasyonun gerçekleşmesini sağlayarak pH ayarlama zorluğunu ortadan kaldırır (Porsch vd., 2015).
- Haloalkali ortamlarda metan oluşumu ile biyogaz eldesi mümkündür (Nolla-Ardèvol vd., 2015).
- Alkali ortam CO₂ yıkayıcı görevi yaparak üretilen gazın daha yüksek metan içeriğine sahip olmasını sağlar (Nolla-Ardèvol vd., 2015).
- Yüksek pH'da sülfür, daha az uçucu ve daha az toksik olan iyonize HS⁻ şeklinde bulunur. Böylece elde edilen biyogazın sülfür içeriği çok daha düşük olur (Nolla-Ardèvol vd., 2015).
- Yüksek pH'da uçucu yağ asitleri, genellikle ayrılmış haldedir ve bu şekilde hücre zarından geçişi zorlaşır ve proton dengesini bozamaz, böylelikle uçucu yağ asitlerinin toksisitesi azalmış olur (Nolla-Ardèvol vd., 2015).
- Tuzlu atıksularda organik kirleticilerin arıtmını gerçekleştiren mikroorganizmaların bulunması, biyolojik arıtmıdan önce tuzluluğun giderilmesi için seyreltme gereksinimini ya da ters osmoz, iyon değişimi ya da elektrodializ gibi arıtım proseslerine olan ihtiyacı ortadan kaldırır (Margesin ve Schinner, 2001).
- Yukarıda bahsedilen özelliklerde biyogaz üretimi, CO₂ ve H₂S arıtım ihtiyacını ortadan kaldırarak biyogazın doğrudan doğal gaz şebekesinde kullanımına izin verir (Sousa vd., 2015b).

Haloalkalifilik topluluklarda, siyanobakteriler ve mor sülfür bakterileri olarak bilinen birincil üreticiler ve anaeroblar, kompleks organik bileşikleri uçucu yağ asitleri, metan, hidrojen sülfür ve amonyak gibi temel son parçalanma ürünlerine dönüştürürler. İndirgeme işleminden sorumlu haloalkalifiliklerin yanı sıra soda gölü sedimentlerinde

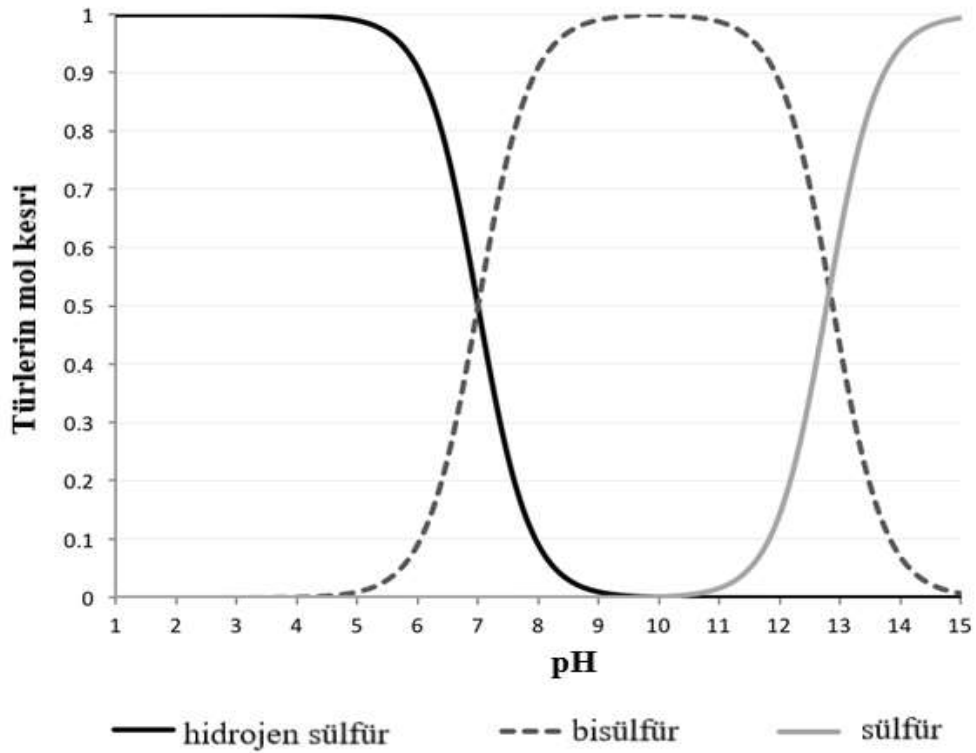
haloalkalifilik anaeroblar tarafından üretilen indirgenmiş inorganik bileşiklerin oksidasyonunu gerçekleştiren bakteriler de tespit edilmiştir (Sorokin ve Kuenen, 2005).

Soda göllerinin anoksik sedimentlerinde en çok gözlenen biyokimyasal süreçlerden biri olan sülfidogenez; sülfat, sülfid ve tiyosülfat gibi oksitlenmiş kükürt bileşiklerinin indirgenmesi ile sülfür üretimidir (Sorokin vd., 2010a, 2011a). Bu proseste görev alan bazı haloalkalifilikler, *deltaproteobakteriyel* cinsi *Desulfonatronum*, *Desulfonatronovibrio* ve *Desulfonatronospira* litotrofik sülfat indirgeyen bakterileridir (Sorokin vd., 2011c). Bu organizmalar, elektron alıcı olarak sülfat, tiyosülfat, sülfid kullanarak, elektron verici olarak ise format, bütirat, propiyonat veya kısa zincirli diğer organik bileşikler oksitleyerek reaksiyon sonunda asetat üretimine neden olurlar ya da sülfat ya da tiyosülfat orantısızlığı ile enerji elde ederek diğer sülfat indirgeyen bakteriler gibi büyüyebilirler (Sorokin vd., 2008, 2011a). (Sorokin vd., 2010b; Sorokin vd., 2012).

Soda gölü sedimentlerinde, yüksek konsantrasyonlarda sülfür bulunması sülfat indirgenmesinin devam eden bir süreç olduğunu kanıtlamaktadır (Sorokin vd., 2011b). Sorokin vd., (2011b), soda göllerinde sülfat indirgeyen bakterileri izleyerek, format, H₂ ve tiyosülfat gibi inorganik elektron vericilerini kullanabilen *Desulfovibrionales* türüne ait iki grup kültürlenebilen sülfat indirgeyen bakterilerin varlığını kanıtlamıştır. Bu haloalkalifilik izolatlarının en ilginç fizyolojik özelliği, tiyosülfat ve sülfidin dismutasyonu ile litotrofik olarak büyüebilmeleridir. Tüm izolatlar zorunlu alkalifiliklerdir ve pH: 9,5-10 değerlerinde ve orta derecede tuz konsantrasyonunda yaşayabilmektedirler.

Soda göllerinde kükürt döngüsünün indirgeyici kısmı hakkında yapılan çalışmalar nispeten daha azdır ve genellikle yapılan çalışmalarda sülfat indirgeme hızları tespit edilmiştir (Gorlenko vd., 1999; Sorokin vd., 2004a; Kulp vd., 2006, 2007). Bu çalışmalardan birinde Sorokin vd. (2010a) en iyi elektron vericisinin format olduğunu, hidrojenin inorganik kükürt alıcılarının herhangi biriyle yüksek sülfür konsantrasyonlarına yol açmadığını, asetatın ise sadece kükürt indirgemelerini uyardığını gözlemlemişlerdir (Sorokin vd., 2010a). Zhou ve Xing (2015) ise yüksek pH ve tuzlulukta baca gazını alkali çözeltiden uzaklaştırmak için haloalkalifilik mikroorganizmaları kullanmışlardır. Bu çalışmada laktat, glikoz, metanol, etanol, format ve asetat gibi çeşitli elektron vericilerinin haloalkalifilik biyoreaktörlerin performansına olan etkileri incelenmiştir. En uygun elektron vericisinin pH: 9,5 ve

Na^+ :1,0 M tuzlulukta, 31 günlük en kısa lag periyodu ve en yüksek sülfat giderme oranı ile etanol olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada kanıtlanan en önemli sonuçlardan biri, yüksek sülfür konsantrasyonlarının sülfat indirgeyen bakterilerin çalışmalarını engellememesidir. Bunun nedeni, Şekil 2.3'te de gösterildiği gibi nötr pH'nın üzerindeki yüksek pH değerlerinde sülfürün, HS^- formunda bulunması nedeniyle, nötral pH'dakine kıyasla biyokütle için nispeten çok daha az toksik etkiye neden olmasıdır (Sousa vd., 2015b). Ardèvol vd., (2015) haloalkali şartlarda elde ettikleri biyogaz içinde H_2S bulunmadığını gözlemlemişlerdir.



Şekil 2.3. Farklı pH değerlerinde H_2S ve HS^- oranları

Düşük miktarda sülfat indirgenmesine neden olan melas diğer elektron verici maddelere kıyasla daha ucuzdur (Zhang vd., 2009; Maree vd., 1991). Haloalkalifilik şartlarda format ile beslenen reaktörde tam oksidasyon sağlayan haloalkalifilik sülfat indirgeyen bakteriler bulunabilir, laktat, melas ve diğer elektron vericileri ile sülfat indirgeyen bakteriler tarafından tam olarak oksitlenemediği için oluşan asetat, atıksudaki KOİ miktarını artırır ancak glikoz bakteriler tarafından doğrudan kullanılabilir (Liamleam ve Annachatre, 2007; Zhou ve Xing., 2015).

Sousa vd. (2015a), pH: 9'da meydana gelen sülfat indirgenmesi ile 260 mM kadar yüksek sülfür konsantrasyonlarının oluştuğunu, Van Houten vd. (1994) çalışmalarında pH 7'de sülfür toksisitesinin 30 mM'da bile çok şiddetli olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle, haloalkali koşullarda çalıştırılan biyoreaktörler, nötr pH değerine kıyasla daha yoğun sülfür konsantrasyonları ile başa çıkabilirler (Sousa vd., 2015b). Kulunda soda göllerindeki doğal bentik sülfidojenik popülasyonlar, zorunlu alkalifilik olarak pH 9-10'da optimum aktivite gösterirken, 2 M Na⁺ konsantrasyonunun üzerindeki tuzluluk değerlerinde, sülfat indirgemesini büyük oranda engellemiştir. Aynı durum, nötr pH'ta yüksek tuzlu klorür-sülfat göllerinde de gözlenmiştir (Brandt vd., 2001; Sørensen vd., 2004). Ayrıca yüksek oranlarda sülfat indirgenmesini engelleyen tek durum yüksek tuzlu şartların egemen olduğu ortamların bulunmasıdır (Sorokin vd., 2011a).

Mikrobiyal karbon çevriminin önemli bir ögesi olan metan döngüsü soda göllerinde araştırılmıştır (Sorokin vd., 2014). Araştırma sonuçları bu tür göllerde metilotrofik metanogenezin baskın olduğunu ve asetoklastik proseslerin oluşmadığını gösterirken, hidrogenotrofik metanogenez ile ilgili bulgular tatmin edici olmamıştır (Oremland ve Miller 1993; Sorokin vd., 2004a; Nolla-Ardèvol vd., 2012). İzole edilen hidrogenotrofik metanojenler, H₂ ve format kullanan *Methanocalculus* cinsine, metilotrofik metanojenler ise çeşitli metillenmiş bileşikler kullanan *Methanobolus* ve *Methanosalsum* cinslerine aittir. Çok düşük miktarda da olsa asetata dönüşüm, orta tuzluluk konsantrasyonlarında alkalifilik *Methanosaeta* tarafından doğrudan ya da orta-yüksek tuzluluk değerlerinde reversed asetojenler ve litotrofik *Methanocalculus* simbiyotik ilişkisi ile meydana gelmiştir (Sorokin vd., 2015b).

Alkali ortamlarda, metan içeriği zengin biyogaz elde edebilmek için 12 gibi yüksek pH değeri ve yüksek tuz konsantrasyonuna sahip soda göllerinden elde edilen haloalkali mikrobiyal toplulukların kullanılması gerekmektedir (Nolla-Ardèvol vd., 2015). Yapılan çalışmalar soda göllerinde ve sedimentlerinde metanojenik arkelerin bulunduğunu bunun yanı sıra metan üretimini de göstermiştir (Sorokin vd., 2004a, 2015; Nolla-Ardèvol vd., 2012). Van Leerdam vd. (2008) kontrollü şartlarda haloalkali mikroorganizmaların biyogaz üretebileceğini kanıtlamışlardır.

Alkali koşullarda, karbonat sistemi (CO₂/HCO₃⁻/CO₃²⁻/OH⁻), bikarbonat ve karbonat yönüne kayar (Şekil), bu nedenle organik maddenin parçalanması sırasında açığa çıkan CO₂, çoğunluğunu metanın oluşturduğu biyogazda bikarbonat/karbonat olarak sıkışıp kalır. CO₂, yüksek pH'da, biyogaz içerisinde daha çok karbonat olarak bulunduğu için

üretilen biyogazın CO₂ içeriği düşük olur (Nolla-Ardèvol vd., 2015). Ardèvol vd. (2015) pH 10'da 2 M Na⁺ tuzlulukta elde ettikleri biyogazın % 96'sının metan (CH₄) gazından oluştuğunu, üretilen gazda çok düşük miktarda CO₂ bulunmuştur.

Yaygın metanojenik bakteriler H₂/CO₂, asetat, metanol ve metilaminler gibi substratlardan metan üretebilirler ancak halofilik olmayan ekosistemlerde, hidrojen ve asetat fermentasyonun en önemli ürünleri oldukları için H₂/CO₂ ve asetat en önemli metanojenik öncüllerdir (Oren, 1986). Bununla birlikte yüksek tuzlu ortamlar, metan oluşum safhası için engel değildir; çoğu zaman, yüksek tuzlu ortamlarda yaşayan birçok bakteri tarafından sentezlenen ve sülfat indirgeyen bakteriler tarafından kullanılamayan glisin-betain gibi uygun çözümlerden türeyen, rekabetçi olmayan, metanol, dimetilsülfid, metionin ve metil aminler gibi daha özel substratlar üretilir. Dimetilsülfid, esas olarak dimetilsülfonpropiyonatın hidrolizi ile üretilir, uygun bir çözümlüdür ve yüksek tuzlu ortamlarda yaygın olarak bulunur (Schönheit vd., 1982; Kiene vd., 1986; Kiene ve Visscher, 1987). Bu nedenle, metilolitik metanojenler, istisnalar olmakla birlikte, yaklaşık 5,2 M NaCl gibi yüksek tuzlu koşullarda hemen hemen her zaman baskın metanojenlerdir (Oremland ve King, 1989). Yüksek tuzlu ortamlar ile normal ekosistemlerde kullanılan substratların farklılık göstermesi, yüksek tuzlu ortamların, deniz suyuyla karşılaştırıldığında sülfat içeriğinin daha yüksek olması ve bu nedenle ortamda bulunan sülfat indirgeyen bakterilerin, mevcut hidrojen ve/veya asetat için metanojenler ile rekabete girmesinden kaynaklanmaktadır. Sülfat konsantrasyonlarının yeterince yüksek olduğu tuzlu ortamlardaki sülfat indirgeyen bakteriler, bu rekabetçi substratlar için daha yüksek ilgiye sahip olduğu için sülfat indirgenmesi baskın son elektron alıcı proses olacaktır (McGenity, 2010).

Metan oluşum safhası yüksek tuzlu ortamlarda metilolitik metanogenezler (rekabetçi olmayan) ile, daha düşük tuzluluklarda ise sülfat indirgeyiciler tarafından hidrojen veya asetat oksidasyonu ile sülfat indirgemesi önleğinde meydana geldiği bilinmektedir (Sorokin vd., 2015b).

Sorokin vd., (2015), yaptıkları çalışmada metilolitik, litolitik ve asetat kullanan metanogenezler ile metan oluşumunun pH: 8-10,5 aralığında gerçekleştiğini ve pH: 8'in altında metanojenik aktivitenin oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca metilolitik ve daha az sayıda da litolitik metanojen, 4 M Na⁺ tuzlulukta dahi aktif olmuş ancak asetat kullanan metanojenler 3 M⁺ tuzluluğun altında aktiftirler. Soda göllerinde substrat olarak metanol, asetat ve hidrojen kullanıldığında metan üretimini belirlemek amacıyla

yapılan bir diğer çalışmada, 0,6-2 M Na⁺ tuz konsantrasyonunda ve pH 9,5-10 aralığında çalışılmıştır. İnkübasyondan 10 gün sonra metan oluşumu gözlenmiştir. En yüksek metan üretimi, pH 10'da 1 M tuz konsantrasyonunda metanol ile gerçekleşmiştir. Üretilen metan miktarı hidrojen ile üretilen miktara eşit olarak belirlenmiş ve pH 10'da hidrojen ile metan üretimi artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Asetat ile metan üretimi, pH ve tuzdan bağımsız olarak tespit edilememiştir (Nolla-Ardèvol vd., 2012). Her bir substrat için metan üretiminin, pH değerine ve tuz konsantrasyonuna bağlı olması, soda gölü sedimentlerinde farklı substrat spektrumları ve optimum pH/tuz konsantrasyonu değerlerinde farklı metanojenik toplulukların var olabileceğini göstermektedir (Nolla-Ardèvol vd., 2012). Asetat ile metan üretiminin gerçekleşmemesi ve hidrojen ile düşük metan üretimi, hidrojen ya da asetat kullandığı bilinen sülfat indirgeyicilerin ortamda hakim olması ile açıklanabilir (Oren, 1988). Ancak yapılan çalışmada hidrojen ile üretilen metan miktarının metanol ile üretilene eşit olduğu ve tuz konsantrasyonunun artmasıyla arttığı gözlenmiştir.

2.4. Sülfat İndirgenmesi

Sülfat, birçok doğal su ve atıksuyun ortak bileşenidir ve bazen yüksek konsantrasyonlarda su ortamlarında bulunabilir. Ancak sülfat kirliliği dolaylı çevresel etkilere neden olabileceğinden endişe konusudur. Çözünmüş oksijen ve nitratın bulunmadığı ortamlarda, sülfat oksijen kaynağı veya elektron alıcısı görevi görür ve sülfüre (H₂S) dönüştürülür. Bu oluşum koku ve korozyon problemlerine neden olur (Sawyer vd., 2003). Sülfatın (S⁶⁺) sülfüre (S²⁻) indirgenmesi, Denklem 2.1'de gösterildiği gibi sekiz elektron gerektirir (Choi ve Rim, 1991): Sülfat indirgeyen bakteriler (SİB), son elektron alıcısı olarak sülfatı kullanarak organik maddenin oksidasyonunu gerçekleştirirken yüksek konsantrasyonlarda insanlar için ölümcül etkiye neden olabilen toksik sülfüre (H₂S) dönüştürebilir. Bu nedenle, sülfat içeriği fazla olan atıksular çevreye bırakılmadan önce arıtılmalıdır (Zhou vd., 2014; O'Flaherty vd., 1998).



Sülfatlı atıksular fizikokimyasal ve biyolojik arıtma prosesleri ile arıtılabilirler. Fizikokimyasal süreçler verimli olmalarına rağmen katı fazın ayrılması ve bertaraf edilmesi, nispeten yüksek maliyet ve enerji tüketimi gibi işletim zorlukları içermektedir (Silva vd., 2002). Sülfat içeren atıksuların biyolojik arıtımı genellikle anaerobik prosesler ile gerçekleştirilir (Mohan vd., 2005). Anaerobik arıtım prosesi sülfat içeren atıksuların arıtımı sırasında, toksisite problemleri, metan veriminin düşmesi, kötü koku ve korozyon gibi zorluklara neden olmaktadır (O'Flaherty vd., 1998).

Sülfat indirgenmesi, sülfat indirgeyen bakteriler (SİB) olarak bilinen bir grup mikroorganizma tarafından gerçekleştirilir (Liamleam ve Annachhatre, 2007). Sülfat indirgeyen mikroorganizmalar zorunlu anaerobik organizmalar olmalarına rağmen, bazıları oksijen varlığında da çalışabilir ve geçici olarak havaya maruz kalan kaynaklardan izole edilebilirler (Salo, 2017). SİB çeşitli bakteri ve arkelerden oluşur (Zhou vd., 2011; Muyzer ve Stams, 2008). Karbon kaynağı olarak organik bileşikler kullanan SİB heterotrofik, CO₂ kullananlar ise ototrofik SİB olarak adlandırılırlar. Ototrofik SİB, H₂ oksidasyonundan elektron elde ederler (Lens ve Kuennen, 2001). Sülfat indirgeyen bakteriler, sülfat indirgenmesi sırasında organik biyo bozunmanın tamamlanmasına göre genellikle iki gruba ayrılırlar; tam oksitleyici SİB ve tamamlanmamış oksitleyici SİB (Jing vd., 2013). Tam oksitleyiciler organik karbon kaynaklarını CO₂'e dönüştürebilir ve tamamlanmamış oksitleyiciler organik bileşiklerin oksidasyonunu asetata kadar gerçekleştirebilirler. *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus* ve *Desulfotomaculum*, tamamlanmamış oksitleyici SİB lerdir (Salo, 2015). Sülfat indirgeyen bakteriler, elektron verici olarak oksijen veya nitrat kullanan heterotrofik bakterilere göre daha düşük büyüme verimi ve dolayısıyla daha az çamur üretimi ile tanımlanırlar (Wang vd., 2009).

Sülfat indirgenmesi sırasında pH'ın artmasına bağlı olarak alkalinite üretilir ve birçok ağır metal, sülfür ve karbonatları olarak çökelir (Knobel ve Lewis, 2002). pH 7 civarında, HS⁻ konsantrasyonu, toksik olan H₂S konsantrasyonundan daha yüksek olduğu için sülfat indirgenmesi için en uygun pH 7-8 değer aralığı kabul edilir (Moosa ve Harrison, 2006). Sülfür, $[H_2S]_s = \alpha[H_2S]_g$ eşitliği doğrultusunda gaz ve sıvı fazda bulunacaktır. Bu eşitlikte α boyutsuz dağılım katsayısını ifade eder. Sıvı fazda toplam çözünmüş sülfür iyonize olmayan H₂S ve HS⁻ şeklinde bulunur. Bu eşitliğin pKa değeri yaklaşık 7'dir ve pH: 6-8 aralığındaki küçük pH değişimleri, iyonize olmayan H₂S konsantrasyonunu oldukça etkiler. Sülfürün inhibitör etkisi yalnızca nötr moleküllerin

hücre zarı boyunca iyi bir şekilde ilerleyebildiği için iyonize olmamış hidrojen sülfürün neden olduğu varsayılmaktadır (Pol vd., 1998).

Sülfat indirgeyen mikroorganizmaların maksimum hücre büyümesi ve sülfat indirgemesi genellikle 35 °C sıcaklığa kadar artar, sonrasında aktivite azalır ve daha sonra durur. Bu nedenle sülfat indirgeyen reaktörler çoğunlukla mezofilik sıcaklıklarda (20-45 °C) işletilirler (Bijmans vd., 2011). Reaktörde 8 °C'nin altındaki sıcaklıklar hakim olduğunda, asetat oksidasyonu yavaşladığı için alkalinite ilavesi gerekir (Şahinkaya vd., 2007).

Anaerobik arıtmada sülfürün bir kısmı reaktör çıkışında mevcut olacaktır. Daha önce bahsedildiği gibi, bu durum anaerobik reaktörde genel olarak daha düşük bir arıtma verimine neden olur, çünkü sülfür arıtılan suyun KOİ değerine katkıda bulunur (sülfata tam oksidasyon için sülfürün her molü iki mol oksijen gerektirir) (Weiland, 2010).

Nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-), sülfat (SO_4^{2-}) veya sülfid (SO_3^{2-}) miktarına göre fazla miktarda organik elektron alıcısı içeren atıksular mevcut olduğunda, bu elektron alıcılarının (oksijen vericileri) tamamen giderimi meydana gelebilir. Atıksuyun sülfat içerdiği durumlarda sudaki çözünabilir H_2S 'nin miktarı metan miktarını önemli ölçüde aştığı için su fazından oldukça düşük KOİ giderimi elde edilecektir. Ortamda sülfat bulunduğunda metan oluşumu aşağıdaki reaksiyon (2.2) gereğince düşer (Lier vd., 2008).



Anaerobik arıtmada sülfat indirgeyen ve metan üreten bakteriler karbon kaynağı için rekabet ederler (Acharya vd., 2008). Sülfat içeriği fazla olan atıksuların arıtılması durumunda, SİB genellikle ortamda metan üreten arkelerden daha fazla hakim olurlar ve yüksek miktarda sülfür oluşumu gözlemlenir (Xu vd., 2012). Oluşan sülfür hem metan üreten arkeler hem de SİB için zehirli olduğundan reaktörün işletimi ve metan üretiminde düşüşe neden olur. Aşırı sülfür oluşumu, biyogaz miktarını ve kalitesini de etkileyebilir (Jing vd., 2013).

Aşırı sülfür reaktör performansı üzerinde kesin bir etkiye sahiptir ancak mekanizması açık değildir. Sülfürün mikrobik hücre zarlarından geçtiği ve protein sentezini ve hücre solunumunu bozduğu veya çevrelerindeki mikroorganizmalar için

önemli eser metallerin çökmesinin bir sonucu olarak sülfür inhibisyonunu gerçekleştirdiğini öne süren farklı teoriler vardır (Salo, 2015).

Anaerobik çürütme sırasında SİB ve metan üreten arkeler arasındaki rekabet büyük oranda substrat ve $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranına bağlıdır (Li vd., 1996). Sülfat içeren atıksuların anaerobik reaktörlerde arıtım sırasında sülfat indirgen bakteriler, hidrojen ve asetat substratları için metanojenik bakteriler ile kısa zincirli yağ asitleri ve alkoller gibi ara ürünler için asetojenik bakteriler ile rekabet ederler. Anaerobik mineralizasyon süreçlerinin son ürünleri olan sülfür ve metanın ne kadar üretileceğini belirleyeceği için bakteriler arasındaki rekabetin sonucu önemlidir. Rekabetin önemi, atıksuların $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranındaki düşüş ile artmaktadır (Omil vd., 1998). Düşük $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranında, SİB her zaman karbon kaynağı kullanımı ve elektron akış iletiminde baskındır ve metan üreten arkelerin aktivitesini baskılar (Shin vd., 1997).

Organik madde, sülfat indirgenmesi ile oksitlenirse, sülfat molekülü başına 8 elektron kabul edilebilir (Reaksiyon 2.1). 1 mol oksijen ise 4 elektron kabul edebileceği için 2 mol oksijenin elektron kabul etme kapasitesi 1 mol sülfatınkine eşittir, gram SO_4^{2-} başına 0,67 g O_2 'e eşdeğerdir. Bu, $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı 0,67 olan atık akımları için, sülfat indirgemesi yoluyla organik maddeyi (KOİ) tamamen gidermek için yeterli miktarda sülfatın mevcut olduğu anlamına gelir. $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranlarının 0,67'den daha düşük olması durumunda, organik maddenin miktarı, mevcut sülfatın tamamen indirgenmesi için yetersizdir ve prosesin amacı sülfat arıtmını gerçekleştirmekse substrat ilave edilmelidir. Aksine, 0,67'den büyük $\text{KOİ}/\text{sülfat}$ oranına sahip atıksularda organik maddenin tamamen giderilmesi ancak sülfat indirgenmesine ek olarak metan oluşum safhası gerçekleşirse elde edilebilir (Lier vd., 2008). Bunun yanı sıra anaerobik arıtmıda $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-} > 10$ olduğunda kritik varsayılan 150 mg/L H_2S konsantrasyonunun üzerine çıkılamayacağı için arıtım işlemi başarılı bir şekilde yürütülür (Rinzema ve Lettinga, 1988). $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı 10'dan düşük olduğunda sülfür toksisitesi için önlem alınarak sistem düzgün bir şekilde ilerleyebilir (Rinzema ve Lettinga, 1998).

Yurtsever vd. (2016) sülfat indirgenme verimliliğinin doğrudan $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı ile ilişkili olduğunu ve $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranının 0,67'den 2'ye çıkarılması hem KOİ hem de sülfat giderim verimini arttırdığını gözlemlemişlerdir. Haloalkalifilik biyoreaktörde karbon kaynağı olarak etanol kullanıldığında $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı azaldıkça, sülfat giderim verimi dalgalanmıştır (Zhou vd., 2014). Teorik $\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı 0,67'dir (Xie vd., 2008; Liu vd., 2002) ancak bu oran saf SİB kültürleri için geçerlidir. Zhou vd. (2014)

haloalkalifilik biyoreaktör için optimum KOI/SO_4^{2-} oranının 4,0 olma nedenini farklı mikrobiyal kültürlerin oluşumuna bağlamışlardır. KOI/SO_4^{2-} oranının, mikrobiyal topluluğun çeşitliliği ve yapısı üzerinde önemli bir etkisi vardır (Annachhatre ve Suktrakoolvait, 2001b; Choi ve Rim, 1991; McCartney ve Oleszkiewicz, 1993; Silva vd., 2002).

Annachhatre ve Suktrakoolvait (2001a,) yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı proseste $KOI/SO_4^{2-} < 2$ olduğunda elektron verici olarak kullanılan melasın, yeterli biyolojik sülfat indirgenmesini gerçekleştirdiğini, daha büyük KOI/SO_4^{2-} oranlarında çamurda biyolojik olarak parçalanamayan melas birikimi nedeniyle KOİ giderim verimi düştüğünü gözlemlemişlerdir. Yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörde yapılan bir diğer çalışmada Omil vd. (1997) metanojenler ve SİB arasındaki rekabeti araştırmışlardır. KOI/SO_4^{2-} oranının metanojenler ve SİB arasındaki asetat kullanımının ayrılmasında önemli bir faktör olduğunu ve KOI/SO_4^{2-} oranının 0,67'den daha düşük olması durumunda uzun süreli reaktör işletiminden sonra SİB'nin metanojenler üzerinde baskın hale geldiği sonucuna varmışlardır.

Eş zamanlı organik madde ve sülfat indirgenmesi elektron vericisinin tipi çok önemlidir. Yukarıda da anlatıldığı gibi tam sülfat indirgenmesi için KOI/SO_4^{2-} oranının en az 0,67 olması gerekir. Bazı sülfat ve sülfürik asit içeren atıksular, organik madde içeriği bakımından yeterli değildir bu durum eksik sülfat indirgemesine yol açar. Sülfatın tamamen indirgenmesi için bu tür atıksulara elektron verici veya karbon kaynağı eklenmelidir (Liamleam ve Annachhatre, 2007). Ancak elektron verici kaynaklar sülfat indirgeyen biyoreaktörler için en yüksek işletim maliyetini oluşturmaktadır (Kaksonen vd., 2004b).

Mikroorganizmalar elektron verici olarak ve hücre büyümesi için bir karbon kaynağına ihtiyaç duyarlar (Knobel ve Lewis, 2002). Sülfat indirgeyen bakteriler zorunlu anaeroblardır ve anaerobik arıtmadaki görevleri son ürünler olarak CH_4 ve CO_2 oluşturan metanojenik bakterilere benzerdir (Mohan vd., 2005). SİB'nin büyümesi, karbon ve sülfat kaynaklarının konsantrasyonuna bağlıyken, metanojenlerin büyümesi sadece karbon kaynağı konsantrasyonuna bağlıdır (Vossoughi vd., 2003).

Etanol veya kısa zincirli bir yağ asidinin kullanılmasıyla hem elektron verici hem de karbon kaynağı tek bir bileşik ile edilmiş olur. Bazı sülfat indirgeyen bakteri türleri elektron verici olarak hidrojeni, karbon kaynağı olarak da CO_2 'i kullanırlar. Hidrojen ve etanol gibi kısa zincirli yağ asitleri, SİB tarafından doğrudan kullanılabilir. Proteinler

ve karbonhidratlar gibi daha karmaşık yapıları organik bileşikler asit üreten bakteriler tarafından hidrolize edilerek ve fermentasyona uğratıldıktan sonra SİB tarafından kullanılabilir (Knobel ve Lewis, 2002).

SİB bütirat, laktat, propiyonat, asetat, etanol ve metanol olmak üzere birçok düşük molekül ağırlıklı bileşiği elektron verici olarak kullanabilirler (Nagpal vd, 2000).

Elektron vericisinin seçimi;

- a) birim indirgenmiş sülfat başına eklenen elektron vericisinin maliyetine,
- b) az veya çok giderilebilen katkı maddesinin atıksuda kalan kirlilik yüküne bağlıdır.

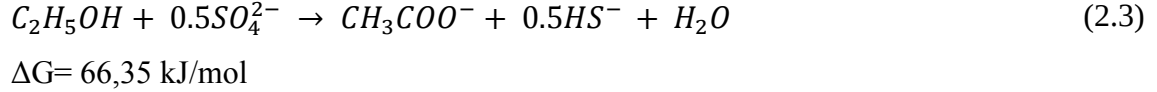
SİB elektron verici olarak basit organik bileşiklere kıyasla H_2 kullandıkları durumlarda diğer anaerobik bakteriler arasında baskın olduğu için bu koşullarda hidrogenotrofik metanojenler daha az bulunurlar (Pol vd., 1998).

Asetat, metanojenler ve sülfat indirgeyiciler ile rekabet eden homoasetojenik bakteriler tarafından daima sistemde üretilir. Oluşan asetat daha sonra metan arkeleri (MA) ve SİB tarafından elektron verici ve karbon kaynağı olarak kullanılabilir. Ancak uzun süreli işletimde SİB substrat için daha fazla yakınlık gösterdikleri ve daha yüksek substrat giderim hızını sağladıkları için sülfidojenik reaktörde MA'ni baskılar (Harada vd., 1994). Biyolojik sülfat indirgenmesi sırasında asetat üretimi sülfat indirgeyen reaktörlerin esas dezavantajıdır çünkü SİB, fazla sülfat seviyeleriyle bile asetatı tamamen okside edemez (Lens vd., 2002). Biriken asetatın kesin nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte tam oksitleyiciler hem de diğer asetat kullanıcılarının yokluğuna ek olarak asetatın yavaş oksidasyon hızından kaynaklanabilir (Nagpal vd., 2000b; Kaksonen vd., 2003; Koschorreck vd., 2004).

Laktat oksidasyonu çok fazla alkalinite ürettiği için asidik atıksuları nötralize etme kapasitesi yüksektir. Ancak laktat pahalı bir substrattır ve büyük ölçekli proseslerde hedef verimli sülfat indirgenmesi için bol miktarda biyokütle üretmek olduğunda başlangıçta mümkündür. (Nagpal vd. 2000; vd. 2004b). Laktatla beslenen biyoreaktörde, sülfatı indirgemek için propiyonat elektron verici olarak kullanılabilir (Zhou vd., 2015).

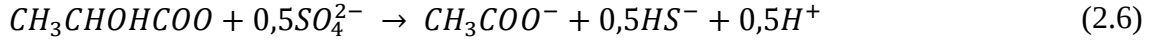
Diğer elektron vericilerinin kullanımına benzer şekilde, etanol kullanımı da asetat üretir ve bu atıksuyun KOİ değerinde bir artışa neden olur. Bu sorun asetat kullanımı için metanojenler ve SİB'nin dahil edilmesiyle çözülebilir (Nagpal vd., 2000). Etanol

kullanımı, hidrojen, karbonmonoksit veya sentez gazı kullanımına kıyasla kütle transferi sınırlamalarını önemsiz kılar. Bununla birlikte etanol SİB'in oldukça düşük bir hızda büyümesine neden olur. SİB'nin büyümesi, ayrışmamış H₂S tarafından, hidrojenotrofik büyümeden daha büyük oranda engellenir (Liamleam ve Annachhatre, 2007). SİB'ler, etanolü reaksiyon (2.3), (2.4), (2.5)'te verildiği şekilde okside ederler:



Reaktör hidrolik bekleme süresi tam asetat oksidasyonunu gerçekleştirmek için yeterli değilse, asetat birikir ve ortam pH'ını düşürür. Sülfidojenik asetat oksidasyonu, etanol ve laktik asitin asetata oksidasyonundan daha az enerji sağlar, bundan dolayı asetat oksitleyici SİB'lerin büyüme hızları daha yavaştır. Ortam fazla miktarda sülfat sağlandığında bile tam asetat oksidasyonu gerçekleşmeyebilir ve asetat okside edici SİB'lerin zenginleşmesi zor olabilir (Nevatalo vd., 2010). Kaksonen vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada sülfidojenik etanol oksidasyonunun, sülfidojenik asetat oksidasyonuna kıyasla H₂S toksisitesine daha hassas olduğunu göstermişlerdir. Asetik asitin ayrışmamış şekli, hücre zarından geçip hücre içinde ayrıştığında sitoplazmanın asitleşmesine neden olur (Nevatalo vd., 2010). Kaksonen vd. (2004a) akışkan yataklı reaktörde etanol oksidasyonunun asetat oksidasyonuna göre sülfür toksisitesi ile daha fazla inhibe olduğunu kanıtlamışlardır.

Sülfidojenik etanol (2.3), asetat (2.4) ve laktik asit (2.6) oksidasyonu reaksiyonlarda gösterildiği gibidir. Bu reaksiyonlar, tam elektron verici oksidasyonunun daha fazla hidrojen sülfür ve alkalilik üretildiğini göstermektedir. Hem bu nedenle hem de daha az çıkış KOİ değerine neden olduğu için asetat oksidasyonu tercih edilir (Kaksonen vd., 2004b).



Etanol oksidasyonu sadece üretilen asetatın tam oksidasyonundan sonra reaksiyon 2.4'te verildiği gibi bikarbonat şeklinde (HCO_3^-) alkalinite üretir. Fazla asetatın etkisi, substrat olarak etanol kullanıldığında açıktır. Oksidasyon asetatı durursa, reaktör pH'ı proton üretimine bağlı olarak azalır, çünkü bu aşamada hiçbir alkalinite üretilmez. Ancak pH 5'in altında asetatın hücre zarı boyunca daha yoğun olarak yayılmasına olanak tanır ve bu sitoplazmayı etkin bir şekilde asitleyen ve ortamdaki asetat konsantrasyonu yüksek olduğunda büyümeyi durduran daha fazla protonun sitoplazmaya girmesine izin verir (Baronofsky ve diğerleri, 1984). Jing vd. (2013) yukarı akışlı akışkan çamur yataklı reaktörde asetatı substrat olarak kullandıklarında metan, *Methanosaeta concilii* GP6 tarafından üretilirken etanolü substrat olarak kullandıklarında sülfat çoğunlukla *Desulfovibrio* türü ile indirgenmiştir.

Metanolün, mezofilik koşullarda düşük oranlarda sülfat indirgenmesine neden olduğu belirlenmiştir (Liamleam ve Annachhatre, 2007). Weijma vd. (2003), kullanılan metanolün % 90'ından fazlasının metana dönüştürüldüğünü, sülfat indirgemesi için ise sadece % 5-10 oranında kullanıldığı sonucuna varmışlardır.

2.5. Anaerobik Membran Biyoreaktörler

Klasik biyolojik atıksu arıtım prosesleri, katı maddelerin çökmesi, organik maddenin parçalanması ve oluşan biyokütlenin çökeltmesi aşamalarından meydana gelir. Membran biyoreaktörler (MBR) ise membran filtrasyon ile biyolojik arıtımı birleştirerek membran boyunca biyokütleyi filtreler ve böylece klasik arıtımda yer alan çökeltme havuzlarına olan ihtiyacı ortadan kaldırır. Elde edilen atıksuyun kalitesi ise klasik biyolojik arıtıma göre daha yüksektir ve dezenfeksiyon işlemine gerek yoktur (Judd, 2007; Chang vd., 2002). Gander vd. (2000) MBR'de bakteri, virüs ve patojenlerin uzaklaştırıldığını belirtmişlerdir. Martinez-Sosa vd. (2011) batık anaerobik membran biyoreaktör (SAnMBR) ile arıtımını yaptıkları atıksuyun fekal koliform bakterileri içermediği için tarımda sulama amaçlı kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bir diğer taraftan, MBR biyokütlenin atıksudan ayrımı yerçekimi kuvveti yerine membran filtrasyonu ile gerçekleştirildiği için katı alıkonma süresi (KAS) ve hidrolik bekleme süresi (HBS) daha kolay kontrol edilmektedir. Sonuç olarak daha az çamur üretimi,

daha kısa HBS ve daha uzun KAS değerleri ile daha yüksek yükleme hızlarında çalışılabilir (Chang vd., 2002). Aynı zamanda anaerobik arıtım prosesinin verimi, biyokütlenin tutulmasına bağlı olarak hidrolik bekleme süresi ve katı alıkonma sürelerinin, biyofilm/granül oluşumu ile ayrılması esasına dayanır (Jeison and Van Lier, 2006). Anaerobik mikroorganizmaların yavaş büyüme hızları nedeniyle uzun KAS değerlerinin sağlanması anaerobik arıtımın amaçlarından biridir. zet olarak başarılı bir anaerobik arıtım, reaktördeki yüksek çamur konsantrasyonlarını sağlamak ve aynı zamanda reaktör hacmini azaltmak için HBS'den KAS'ı ayırmak ile mümkün olur (Ho ve Sung, 2010). Reaktör içerisinde yüksek biyokütle konsantrasyonları için uzun KAS ile kısa HBS'nin birlikte elde edilmesi, ancak katı-sıvı ayrımının gerçekleştirildiği membran biyoreaktörler yardımıyla gerçekleşir (Huang vd., 2011).

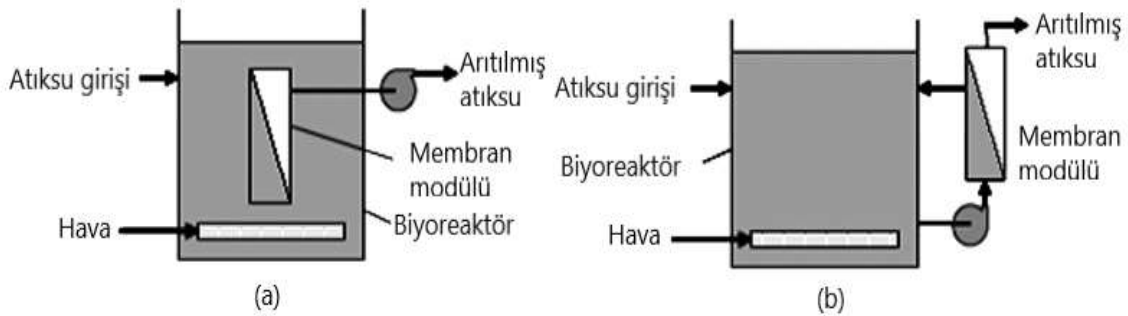
MBR'lerde KOİ giderimi, katı ve besin maddelerinin giderimi aynı reaktör içerisinde gerçekleştiği için düşük yüzey alanı ihtiyaı ve askıda katı madde (AKM) bulundurmayan atıksu oluşur (Chen vd., 2017b). MBR teknolojisi ile katı maddeler reaktör içinde tutularak parçalanabildiği için yüksek organik süspanse katı içeriğine sahip atıksuların arıtımına izin verir (Fuchs, 2003; Harada, 1994). Membran ıkış suyu, katı ve hücrelerden ayrıldığı için yeniden kullanım veya geri dönüşüm işlemleri için son arıtım ihtiyaı daha düşük olacaktır (Jeison vd., 2006).

Membran filtrasyonu ile anaerobik aktif çamur prosesinin biraraya getirilmesi ile elde edilen anaerobik membran biyoreaktörler, diğer anaerobik arıtım proseslerine göre biyokütlenin tamamen tutulmasını sağlayarak istenmeyen çamur yıkanma problemini çözen yüksek kaliteli atık su elde edilmesini sağlayan alternatif bir teknolojidir (Ng vd., 2015; Nie vd., 2017c; Smith vd., 2012). Anaerobik membran biyoreaktörler atıksudaki organik kirleticilerin çoğunluğunu, KOİ değerinin yaklaşık %98'ini biyogaza dönüştürerek enerji geri kazanımında önemli bir rol oynayabilirler (Van Zyl vd., 2008; Sutton vd., 2010). Anaerobik mikroorganizmaların düşük büyüme verimleri nedeniyle sistemde oluşan çamur miktarı çok düşük olur (Van Zyl vd., 2008). Oluşan biyogazdaki CH₄ bileşimi, CO₂/CH₄ oranına ve parçalanacak organik bileşiklerin özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir (Lemos Chernicharo, 2007). Klasik anaerobik arıtma proseslerine kıyasla, AnMBR'lerde elde edilen daha yüksek CH₄ içeriği, çamur ayrımı için membranlar kullanılmasına bağlı olarak meydana gelen kısa HBS nedeniyle dir. Bu durum Henry kanunlarına göre, CH₄'dan yaklaşık 10 kat daha fazla çözünürlüğe sahip olan CO₂'in atıksudan daha fazla giderimine neden olur (Skouteris, vd., 2012).

Membran biyoreaktörler kullanımındaki en büyük sorunu membran kirlenmesidir. Membran akısı, gözenek boyutu ve malzemesi, işletme basıncı ve sıcaklık, hidrodinamik ve çamur özellikleri gibi birçok faktör membran kirlenmesini etkileyen önemli faktörlerdir. (Liao vd., 2006).

2.6. Anaerobik Batık Membran Biyoreaktör

Anaerobik membran konfigürasyonları genellikle harici ve batık membran biyoreaktörler (Şekil 2.4) olarak sınıflandırılırlar (Chen vd., 2017a). Harici membran biyoreaktörler yan akışlı olarak yerleştirilirler ve batık membran biyoreaktörler ise doğrudan su içerisine daldırılan membran ünitesi ile süspansiyonlu büyüyen biyolojik reaktörden oluşur (Chang vd., 2002). Harici membran biyoreaktör, sirkülasyon pompası ile yüksek çapraz akışlı sıvı hızı oluşturarak membran yüzeyinde asılı katıların birikimini azaltır ancak yüksek hızın neden olduğu kayma gerilmesi mikroorganizmaların çalışmasını olumsuz yönde etkiler (Gouveia vd., 2015; Chang vd., 2002). Bu tasarım şekli basit, temizlenmesi ve membran değişimi kolaydır ancak enerji ihtiyacı yüksektir (Chen vd., 2017a; Chang vd., 2002). Batık konfigürasyon ise tank içi sirkülasyonu sağlamak ve kirlenmeyi önlemek için iri kabarcıklarla havalandırma esasına dayanır (Chang vd., 2002). Batık MBR'lar düşük trans membran basıncı (TMP) ve düşük enerji ihtiyaçları ile karakterize edilmelerine rağmen (Stephenson vd., 2000), batık sistemler daha düşük bir akı ile çalıştıkları için daha fazla membran alanına ihtiyaç duyarlar (Chang vd., 2002). Batık MBR'de partiküllerin biraraya gelerek birikmesini önlemek için kullanılan yöntem gaz dağıtımı, yüzey kesme sağlamak için en yaygın yoldur (Stephenson vd., 2000). SAnMBR'de meydana gelen işletme maliyetleri, biyogaz geri kazanımı ile tamamen dengelenebilir (Lin vd., 2011).



Şekil 2.4. Batık (a) ve harici (b) membran biyoreaktörlerin şematik gösterimi (Ng vd., 2007)

Anaerobik mikroorganizmalar düşük sıcaklıklarda daha yavaş büyüdüğü için uygun arıtma performansına ulaşmak ve biyokütlenin mezofilik veya termofilik koşullarda reaktörden kaybını en aza indirmek uzun katı alıkonma süreleri ile gerçekleşir. Klasik tam karışımli reaktörlerde, HBS ile KAS aynıdır ve yüksek hacimler gereklidir. Membran proses ile birleştirilmesi, HBS ve KAS'ın ayrıştırılması için gerekli olan biyokütle tutulmasını sağlar (Giménez vd., 2012). Anaerobik arıtmada membran kullanılması katı, sıvı ayrımını tam anlamıyla gerçekleştirdiği için sıcaklık değişiminin artırılmış suda neden olduğu çamurla ilgili problemler, SAnMBR kullanımı ile azaltılmıştır. Gao vd. (2011) sıcaklık şoklarının SAnMBR performansını ve mikrobiyal topluluk yapısını nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Sıcaklıkla beraber mikrobiyal topluluklar zenginleşmiş ve çeşitlilik artmıştır. Bununla birlikte SAnMBR 37 °C'de 37-45 °C arasında 5-10 °C'lik sıcaklık şoklarını tolere edebilmiş, 45 °C'de ise 5 °C değişim önemli değişiklik yaratmazken 10 °C'lik sıcaklık şoku önemli değişikliklere yol açmıştır. Biyogaz üretim miktarı ve bileşimindeki önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Giménez vd. (2012) kentsel atıksu arıtımı için kullandıkları SAnMBR'de 20 °C'de %53,6, 33 °C ise % 57,4 metan geri kazanım verimi elde etmişlerdir. Her iki işletme sıcaklığı için, metan geri kazanım verimliliği, giriş atık suyundaki yüksek sülfat konsantrasyonu ile kuvvetli bir şekilde etkilenmiştir. Metan geri kazanım veriminin KOI/SO_4^{2-} oranından etkilendiği sülfat mevcut olmadığı durumlarda 33 °C ve 20 °C için sırasıyla 83% ve 77% verimleri elde edilmiştir.

SAnMBR, yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktör ve aktif çamur prosesine göre kaliteli süzüntü oluşumunu sağlayan maksimum katı tutulması ile biyogaz üretimini zenginleştirmek için partiküler KOİ'yi çözünmüş KOİ'ye dönüştürebilir ve ikincil arıtım ihtiyacını ortadan kaldırır (Umayyakunjaram ve Shanmugam, 2016). Huang vd. (2011) düşük mukavemetli atıksuyun batık anaerobik membran biyoreaktörde sonsuz katı alıkonma süresi ile arıtımını gerçekleştirirken 0,056 L CH₄/g MLVSS biyogaz elde etmişlerdir. Daha kısa bir HBS veya daha uzun SRT, organik yükleme oranının artmasına ya da metanojenik bakterilerin ortamda daha da hakim olmasını sağlayarak biyogaz üretimini artırmıştır.

Umayyakunjaram ve Shanmugam (2016) yüksek konsantrasyonda katı madde içeren deri fabrikası atıksuyunun arıtımını yüksek tuzlu anaerobik çamur ile aşıl原因 SAnMBR'de gerçekleştirmişlerdir. KOİ giderim verimi %90'nın üzerinde olmuş ve

giderilen KOİ başına 0,160 L/g biyogaz üretilmiştir. Reaktöre giren yüksek tuzlu atıksuyun biyogaz karışımında yüksek miktardaki CO₂ ile asitleşmesi gaz, sıvı ve katı ayrımını dört katına çıkarmış, pH ve NH₃ kontrolünü ve CH₄ konsantrasyonunun artmasını sağlamış ve membran kirlenmesini önlemiştir. Başlangıçta fazla olan uçucu yağ asit (UYA) miktarının zamanla kararlı hale gelmesi partiküler KOİ'nin çözünebilir KOİ ve biyogaza hidrolize olarak yüksek konsantrasyonda askıda katı madde içeren atıksuyun SAnMBR'de arıtılabileceğini kanıtlamıştır.

Uzun katı alıkonma süreleri hem anaerobik MBR'de (Jeison ve Lier, 2006) hem de SAnMBR'de (Ng ve Hermanowicz, 2005) yüksek askıda katı madde konsantrasyonları içeren yüksek kirlilikteki atıksuların arıtımında membran kirlenmesine neden olur (Huang vd., 2011). Batık sistemlerde membran kirlenmesi, emme pompasının süzünüğü membrana doğru çekmesiyle, reaktör içerisindeki mikrobiyal floklar, kolloidal partiküller ve çözünmüş organiklerin membran yüzeyinde birikmesi ile oluşur (Maleki vd., 2018).

Anaerobik arıtım esnasında reaktörde UYA konsantrasyonunun artması metan oluşumunu engelleyebilir (Weiland, 2010). Thanh vd. (2017) anaerobik mikroorganizmaların gelişimi için gerekli olan iz metallerin eksikliğinin SAnMBR'de arıtma verimliliği üzerindeki etkilerini incelerken eser metaller olmadan SAnMBR beslemesi ile arıtılan sudaki UYA konsantrasyonunun arttığını sonuç olarak KOİ giderimini ve metan oluşumunu azalttığını görmüşlerdir (Thanh vd., 2017). Spagni vd. (2012) tarafından yapılan bir diğer çalışmada tekstil atıksularından azo boyar maddelerin giderimi için SAnMBR kullanmışlardır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre boya giderim verimi %99'dan daha fazladır ancak boyar madde konsantrasyonu arttıkça reaktörde biriken uçucu yağ asitleri arttığından, bu durum metanojenleri diğer anaerobik mikrobiyal topluluklardan daha çok etkilemiştir.

Literatürde SAnMBR ile yapılan farklı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların kısa bir derlemesi Tablo 2.1'de sunulmuştur. Liu vd. (2018) klasik batık anaerobik membran biyoreaktörüne süngerler ekleyerek reaktördeki arıtım etkinliğini hem SAnMBR'de hem de sünger eklenen SAnMBR'de gözlemlemişlerdir. Sünger eklenmesi, membran kirlenmesini arttıran temel faktör protein bazlı çözünebilir mikrobiyal ürünleri azaltmıştır. HBS değerinin 18'den 12 saate indirilmesi, SAnMBR kirlenme döngüsünü %62 ve sünger eklenende ise %87 kadar kısaltabileceğini göstermiştir. KOİ/NO₃ oranının 4-5 aralığında olması durumunda SAnMBR ile %88 NO₃ giderilirken sünger

eklenen ile %90'dan fazla giderim olmuştur. Tam karışım şartlarının olması haline %95'ten fazla toplam organik karbon (TOK) giderimi olacağını da belirtmişlerdir. Xie vd. (2010) yaptıkları çalışmada toksik şoklar ve pH bozulmasının sistem performansını olumsuz yönde etkilediğini ve biyogaz üretimini azalttığını gözlemlemişlerdir. SAnMBR, olumsuz şartları tolere ederek bir hafta içinde eski durumuna dönmüştür. Sonuç olarak, SAnMBR'nin belirli seviyede toksik şok ve pH bozulmalarına dirençli olduğu tespit edilmiştir. Maleki vd. (2018) malt atıksularını SAnMBR'de arıtırken organik yükleme hızını 1,36'dan 3,8 kg KOİ/m³.gün değerine yükselttiklerinde, KOİ giderim verimi yaklaşık % 94'ten % 90'a düşmüştür. Arıtılan suyun KOİ değeri 283 mg/L'den 506 mg/L'ye çıktığında biyogaz oluşumu da giderilen KOİ başına 0,345'ten 0,308 L/g değerine gerilemiştir.

Tablo 2.1. AnMBR ile gerçekleştirilen giderim çalışmaları

Atıksu türü	İşletme Parametreleri	Giderim verimleri	Kaynak
Kentsel atıksu	Kritik akı: 7 L/(m ² h) Sıcaklık: 35 - 20 °C Zaman: 69 - 31 gün	%90 KOİ	Martinez-Sosa vd. (2011)
Sentetik atıksu	Reaktör hacmi: 6L KAS: 30 - 60 - sonsuz gün HBS: 12 - 10 - 8 saat	%97 KOİ	Huang vd. (2011)
Sentetik atıksu	KOİ: 544 ± 22 mg KOİ/L HBS: 12 - 8 - 6 - 4 - 2 - 1 saat	> %94 KOİ (12-8-6-4-2 st) %80 KOİ (1saat) > %69 CH ₄	Kunacheva vd. (2017)
Sentetik atıksu	Organik yükleme hızı (OYH): 0,35-0,7-1,05-1,4- 2,1 g KOİ/L/gün HBS: 48 - 24 - 16 - 12 - 8 saat Zaman: 25 gün	> %94 KOİ > % 71 CH ₄	Chen vd. (2017b)
Kentsel atıksu	Sıcaklık: 20 °C Zaman: 90 gün	> %94 KOİ	Martinez-Sosa vd. (2012)
Kentsel atıksu	KOİ: 425 mg/L Sıcaklık: 30 °C HBS: 10 gün	%90 KOİ	Lin vd. (2011)
Sentetik atıksu	OYH: 1 - 24 COD/m ³ /gün Sıcaklık: 37 °C Zaman: 9 ay	%93-99 KOİ %80-90 CH ₄	Xie vd. (2010)
Katı atık sızıntı suyu	KAS: 30 ve 300 gün Sıcaklık: 20 - 35 °C HBS: 1,5- 1,1 gün	%95 KOİ (1,5-1,1 gün HBS, 30 ve 300 gün KAS, 35 °C) %95 (1,5- 1,1 gün HBS, 300 gün KAS, 20 °C)	Trzcinski ve Stuckey (2010)
Kağıt endüstrisi atıksuyu	Sıcaklık: 37 - 45 - 55 °C Zaman: 416 gün	%76-83 KOİ	Gao vd. (2011)

Tablo 2.1.'in devamı

Kentsel atıksu	Sıcaklık: 33 - 20 °C KAS: 76 - 74 gün	%53,6 (20 °C) KOİ %57,4 (33 °C) KOİ	Giménez vd. (2012)
Kentsel atıksu	Sıcaklık: 18 °C Zaman: 3 yıl	%90 KOİ	Gouveia vd. (2017)
Sentetik tekstil atıksuyu	Boya konsantrasyonu: 0,060 – 3,2 g/L Zaman: 4 ay pH: ~ 7	%91 – 95 boya %94 – 95 KOİ	Spagni vd. (2012)
Sentetik atıksu	HBS: 14 gün	> %99 KOİ	Jeong vd. (2010)
Sentetik atıksu	HBS: 18 - 12 gün Zaman: 35 gün KOİ/NO ₃ ⁻ -N: 5 - 4	NO ₃ ⁻ : %88	Liu vd. (2018)
Malt atıksuyu	Sıcaklık: 36 °C Zaman: 104 gün Organik yükleme hızı: 1,36 m ³ /gün	%90 KOİ %99 BOİ	Maleki vd. (2018)
Sentetik atıksu	Reaktör hacmi: 6 L Sıcaklık: 25 °C HBS: 24 - 12 Organik yükleme hızı: 3 – 6 kg KOİ/m ³ .gün Zaman: 243 gün	%96,8 KOİ	Nie vd. (2017b)
Kentsel atıksu	Reaktör hacmi: 6 L Sıcaklık: 25 °C HBS: 24 – 12 gün Organik yükleme hızı: 3 – 6 kg KOİ/m ³ .gün Zaman: 400 gün	%96,8 KOİ Biyogaz üretimi: 2,55 L/gün	Nie vd. (2017a)
Sentetik atıksu	Reaktör hacmi: 15 L Sıcaklık: 25 °C pH: 6,8 – 7,2 KOİ: 361 mg/L	%90 KOİ	Sun vd. (2018)
Deri fabrikası atıksuyu	Reaktör hacmi: 80 L Organik yükleme hızı: 6 g KOİ/L.gün	%90 KOİ 0,160 L/g biyogaz	Umayyakunja ram ve Shanmugam (2016)
Katı atık sızıntı suyu	Sıcaklık: 25 °C HBS: 48 - 24 - 16 - 12 - 8 saat Zaman: 151 gün KOİ: 35 g/L	%90 KOİ %94 BOİ	Chen vd. (2017a)

2.7. Anaerobik Membran Biyoreaktör İle Sülfat Giderimi

Anaerobik membran biyoreaktörler atıksuda bulunan kirleticilerin giderimi için şimdiye kadar birçok araştırmacı tarafından çalışılmış olsa da sülfat indirgenmesi sadece birkaç çalışmada (Tablo 2.2) araştırma konusu olmuştur (Şahinkaya vd., 2018). MBR teknolojisinin sülfat indirgenmesi için kullanılması, yavaş büyüyen veya granül oluşturmayan mikroorganizmaların reaktörden yıkanmasını engellediği için avantajlıdır (Yurtsever vd., 2017). Ayrıca SAnMBR'nin yavaş büyüyen sülfat indirgeyen bakterileri tutabildiği ve yüksek sülfat indirgeme oranları elde edilebileceği Vallero vd. (2005)

tarafından kanıtlanmıştır. pH 7’de işletilen tam ölçekli atıksu arıtma biyoreaktörlerinden elde edilen karışık bir mikrobiyal topluluk kullanılarak pH 6’da mezofilik şartlarda sülfat indirgenmesi çalışılan bir SAnMBR’de, biyokütle konsantrasyonu 15 günde 0,2 g/L’den 4g/L uçucu askıda katı madde (UAKM) değerine çıkarak 110 mmol/g.UAKM.gün sülfat indirgenmesini gerçekleştirmişlerdir. Bijmans vd. (2008) elektron verici olarak format kullanmış ve sülfat indirgenmesinin %69’unun elektron transferi ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Sülfat indirgenmesi $KOİ/SO_4^{2-}$ oranıyla alakalıdır. Teorik $KOİ/SO_4^{2-}$ oranı 0,67 olmasına rağmen sülfat indirgeyen bakterilerin hakim olduğu ortamlarda tamamen $KOİ$ ve sülfat giderimi için gereken oran biyokütle büyümesi için organik madde konsantrasyonu ihtiyacından dolayı genellikle 0,8-1,0 değer aralığındadır (Yurtsever vd., 2016). Yurtsever vd. (2016) tekstil atıksularının arıtım performansını değerlendirmek için ardışık sülfat indirgeyen AnMBR ve sülfür oksitleyen aerobik MBR (AeMBR) kullandıkları çalışmada, $KOİ/SO_4^{2-}$ oranı 0,67 ve 2 olduğunda $KOİ$ ve sülfat giderim verimleri sırasıyla %80-85 ve %55-95 olduğu sonucuna varmışlardır. Şahinkaya vd. (2018) tarafından yapılan bir başka çalışmada AnMBR’nin sülfat indirgeme kapasitesini değerlendirmek amacıyla 2000 mg/L sülfat konsantrasyonuna sahip sentetik atıksu reaktöre beslenmiş ve 165 gün boyunca reaktör işletimi devam etmiştir. Atıksuyun $KOİ/SO_4^{2-}$ oranı 0,75 olacak şekilde ayarlanmış ve yaklaşık %95 sülfat ve %90 $KOİ$ giderim verimi elde etmişlerdir.

Tablo 2.2. AnMBR’de gerçekleştirilen sülfat indirgenmesi çalışmaları

Membran tipi	pH	Sıcaklık	Zaman (gün)	$KOİ/Sülfat$	Giriş sülfat konst.	Giderilen sülfat (mg/L)	Elektron verici	Kaynak
SAnMBR	6	30 °C	20	6	-	-	Format	Bijmans vd. (2008)
AnMBR	6,5-7	35 °C	165	0,75	2000 mg/L	1900	Etanol	Şahinkaya vd. (2018)
SAnMBR	7,2	33 °C	92	0,5	5000 mg/L	4250	Asetat Etanol	Vallero vd. (2005)
AnMBR	8	-	> 400	0,67-2	1000 mg/L	950	Asetat	Yurtsever vd. (2016)

Vallero vd. (2005) tuzluluğa toleranslı sülfat indirgeyen bakterileri kullanarak SAnMBR’de organik madde giderimi ve sülfat indirgenmesini araştırmışlardır. Organik karbon kaynağı olarak ilk 79 gün boyunca asetat ve daha sonra etanol kullanmışlardır. Asetat kullanıldığı dönemde maksimum $KOİ$ ve sülfat giderim verimleri sırasıyla 36. ve

55. günlerde %80 ve %85'tir. SAnMBR'de etanol 10 günde tamamen giderilirken sülfat indirgenmesi de asetat ile indirgenenden çok daha fazladır. Biyokütlenin asetata kıyasla etanole daha yakınlık gösterdiği sonucuna varmışlardır.

Yurtsever vd. (2016) metanojenik koşullarda uzun bir süre AnMBR işletmelerine rağmen, reaktöre sülfat ilavesi olmadan sadece lag fazında yüksek sülfat indirgenmesi gerçekleşmiştir. Bu durum, sülfat indirgeyicilerin proton indirgeyici asetojenler ve/veya fermenterler olarak görev yapabilmelerinden dolayı sülfat yokluğunda bile ortamda sülfat indirgeyicilerin varlığı ile bağlı açıklanabilir (Raskin vd., 1996).

2.8. Anaerobik Reaktörlerde Gerçekleştirilen Sülfat ve Organik Madde Giderim Çalışmaları

Vossoughi vd. (2003) $KOİ/SO_4^{2-}$ oranının anaerobik perdeli reaktör performansına olan etkilerini araştırmışlardır. 3000 mg/L $KOİ$ konsantrasyonuna sahip sentetik atıksu, hidrolik bekleme süresinin 1 gün ve sıcaklığın 35 °C olduğu reaktörde arıtılmıştır. Sülfat konsantrasyonu 180'den 500 mg/Lye artırıldığında $KOİ/SO_4^{2-}$ oranını bu konsantrasyonlarda sırasıyla 16,7 ve 6 olmuş bu sırada $KOİ$ dönüşümü azalmamış aksine çok az artmıştır. Bu durum, hem metanojenik bakterilerin hem de sülfat indirgeyen bakterilerin (SİB), sistemde sintrofik olarak var olabileceğini göstermiştir. Ayrıca sülfat konsantrasyonunun artmasıyla $KOİ$ giderim veriminin artması yeni hücre metabolitleri için organik karbonu kullanabilen SİB'nin varlığına bağlanmıştır.

Mohan vd. (2005) sülfat içeren kimyasal atıksuların arıtımını iyileştirmek için aljinat immobilize edilen matris içerisinde zenginleştirilmiş sülfat indirgeyen bakterilerin anaerobik ardışık kesikli biyofilm reaktöre aşılınması ile biyoaugmentasyon stratejisi uygulamışlardır. Biyoaugmentasyondan önce $KOİ$ ve sülfat giderim verimleri sırasıyla %35 ve %27'dir. Reaktörde uçucu yağ asitlerinin birikimi metanojenik bakterilerin işlevlerini gerçekleştirememelerinin kanıtı olarak gösterilmiştir. Reaktörün zayıf performansı sülfat varlığına, SİB ve metanojenlerin sistemde bulunmamasına bağlı olarak prosesin inhibe olmasından kaynaklanmıştır. Reaktörün aljinat matrisinde immobilize edilen zenginleştirilmiş sülfat indirgeyen bakteri konsorsiyumlarıyla güçlendirilmesi ile $KOİ$ ve sülfat giderim verimleri sırasıyla %78 ve %80 olmuştur. Augmentasyondan sonra reaktördeki mikrobiyal dağılımda MB ve SİB'nin oranı artarken asetojenik bakterilerin oranı azalmıştır. Zenginleştirilmiş sülfat indirgeyen

bakteri konsorsiyumunun aşılması, sistemdeki farklı anaerobik bakteriler arasındaki rekabeti değiştirerek, proses performansında genel bir iyileşmeye yol açmıştır.

Shayegan vd. (2005) yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörün hızının ve reaktör girişindeki KOİ konsantrasyonunun, sülfat indirgeyen bakterilerin aktiviteleri üzerindeki etkileri incelemişlerdir. Dört farklı paralel reaktör, dört farklı yukarı akış hızı ve iki farklı KOİ konsantrasyonunda (500-1000 mg/L) işletilmiştir. 1 m/st'ten daha yüksek hızlarda, SİB'nin düşük yoğunluktan ve yoğun ve sert granüller oluşturma kabiliyetinin yetersizliğinden dolayı reaktörlerden kolayca yıkandığı gözlenmiştir. KOİ/SO₄²⁻ oranı 2 olan düşük mukavemetli atıksularda, 1,5-2,5 m/st aralığında bir yukarı hızın uygun olabileceği bulunmuştur. Düşük hızlarda, önemli sayıda sülfat indirgeyen bakteri olacağı için sistem için toksik etki oluşturma riski vardır. Daha yüksek hızlarda, sistemdeki daha düşük hidrolik tutma süresine bağlı olarak KOİ giderim verimi düşebilir. KOİ konsantrasyonunun artırılması, KOİ giderim verimini arttırmış ancak SİB'nin yıkanması üzerinde çok düşük etkiye neden olmuştur.

Celis-García vd. (2006) sülfat bakımından zengin bir sentetik atıksuyun arıtılması için aşağı akışlı akışkan yataklı reaktörün kullanımını, aşağı akış rejimi altında plastik desteğe tutturulmuş bir biyofilmden sülfat indirgemesi sonucuna ilişkin görüş elde etmek için araştırmışlardır. Reaktör işletiminden 369 gün sonra %93 KOİ ve %75 sülfat giderim verimi gerçekleşmiştir. Reaktörde oluşan 1200 mg/L'ye kadar olan sülfür konsantrasyonu mikroorganizmaların çalışmasını engellememiştir.

Hirasawa vd., (2008) yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörde farklı KOİ/SO₄²⁻ oranlarında sisteme oksijen vererek granüler çamurun mikrobiyal karakteristiklerini gözlemlemişlerdir. Etanol kullanılan reaktörde KOİ/SO₄²⁻ oranı 3,0, 2,0 ve 1,6 olarak değiştirilmiştir. Oran 1,6 olduğunda sülfat indirgeyen bakterilerin oksijen varlığında gelişimi için çok az daha uygun olmuştur. Organik madde giderim ve sülfat indirgenme verimi %74'ün üzerinde olmuştur. Bu sonuçlar, oksijen varlığının, yaygın olarak görülen mikroorganizmaların metabolizmasını ciddi şekilde etkilemediğini göstermiştir. Sonuç olarak, aralıklı oksijen uygulamasının ne metanojenezi ne de sülfat indirgemesini inhibe etmediğini bunun yanısıra HS⁻ üretimi ve elementel kükürt oluşumu nedeniyle sülfür toksisitesinin azaltılabileceğini de kanıtlanmışlardır.

Damianovic ve Foresti (2007) 500-3000 mg/L konsantrasyonlarında sülfat içeren, KOİ/SO₄²⁻ oranı 5,0, 3,0, 2,4, 1,7 ve 1,0 olan sentetik atıksuyun odun kömürü ile doldurulan yatay anaerobik sabit yataklı reaktörde arıtımını değerlendirmişlerdir.

Etanol, asetat, propiyonat ve bütirat karbon kaynakları, 1100-6200 mg/L arasında değişen KOİ içeriğine sahip atıksuları hazırlamak için kullanılmıştır. 1965 mg/L'ye kadar olan düşük sülfat konsantrasyonları ve 1,7'den yüksek KOİ/SO₄²⁻ oranları ile %90'nın üzerinde sülfat giderim verimleri elde edilmiştir. Sülfat konsantrasyonunun yüksek olduğu işletme dönemlerinde sülfidojenez baskın proses olmuş ve bu durumda biyogaz içerisinde metan tespit edilememiştir.

Rodriguez vd. (2012) sülfat indirgenmesi ile asit maden drenajını atıksuyunu laboratuvar ölçekli yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörde çalışmışlardır. Karbon kaynağı olarak etanol kullanılan çalışmada KOİ/SO₄²⁻ oranı 0,67 olduğunda sülfat giderim verimi %46,3 iken KOİ/SO₄²⁻ oranı 1 olduğunda verim %85,6 olmuştur. Tam etanol oksidasyonu ile sülfat indirgenmesi reaktörde baskın yol olmuştur ancak işletim aşamalarının hiçbirinde KOİ giderim verimi %68'den fazla olmamıştır.

Jing vd. (2013) etanol ve asetat içeren ve KOİ/SO₄²⁻ oranı 1 olan sülfat bakımından zengin atıksuyun arıtımı için uygun bir yöntem bulmak için, 180 günden daha uzun bir süre boyunca yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörü (YAAÇY) işletmişlerdir. Sonuçlar, bu sistemin 6 saatin üzerinde HBS ve 12,3 gKOİ/Lgün'ün altında organik yükleme hızı ile % 80'den fazla KOİ ve % 30'dan fazla sülfat giderimi gerçekleştirdiğini göstermiştir. HBS 2 st olduğunda serbest sülfür konsantrasyonu 110 mg/L'nin üzerine çıkarak parçalanmayı inhibe etmiştir. HBS 2 st haricinde KOİ ve elektron akışı çoğunlukla metan üreten arkeler tarafından kullanılmış ve metan verimi 0,18-0,24 LCH₄/gKOİ arasında olmuştur. HBS'nin daha fazla azalması uçucu yağ asitleri birikimine neden olarak sistem performansını bozmuştur.

Camiloti vd. (2013) yeni bir tasarım olan sabit yapılı yatak anaerobik biyoreaktör kullanarak eş zamanlı sülfat indirgenmesi ve organik madde giderimini gözlemlemişlerdir. KOİ/SO₄²⁻ oranları; 0,72, 1,7, 3,5 ve 6,1 olarak ayarlanmış ve en yüksek KOİ (%82) ve sülfat giderim verimi (%89) KOİ/SO₄²⁻ oranı 1,7 olduğunda elde edilmiştir. Kinetik parametreler, 1,7-6,1 arasındaki KOİ/SO₄²⁻ oranlarında sülfat indirgeyen bakterilerin, organik madde giderim prosesinde önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Tasarlanan bu reaktör KOİ ve sülfat giderimini tüm şartlar altında kararlı ve verimli şekilde gerçekleştirmiştir.

Li vd. (2014) tuzlu sülfat atıksuyunun arıtılması için yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktör kullanmışlardır. Hidrolik bekleme süresi 16 st olarak ayarlanmış ve reaktör mezofilik şartlarda işletilmiştir. Tuzluluk 28 g/L olduğunda, KOİ ve sülfat

giderim verimleri sırasıyla %52 ve %67 olmuştur. Sülfat giderimine tuzluluğun etkisi, organiklerin giderimine olan etkisinden daha düşük olmuştur. 12-28 g/L NaCl konsantrasyonlarında metan üretimi sırasıyla 887 ve 329 cm³/L'dir. Sülfat indirgeyen bakteriler yüksek tuzlu ortamlarda, metan üreten arkelerden baskın olmuşlardır. Bu yüksek tuzlu ortamlarda metan üreten arkeler hem tuzluluk hem de sülfat nedeniyle inhibe olmuştur.

Hu vd. (2015) asetat, etanol ve sülfat içeren sentetik kimyasal atıksuların anaerobik arıtımı üzerine KOİ/SO₄²⁻ oranının etkisini yukarı akışlı anaerobik çamur yataklı reaktörde gözlemlemiştir. KOİ/SO₄²⁻ oranı 0,5, sülfat konsantrasyonu 6000 mg/L iken KOİ giderim verimi %79,2 ve metan üretimi 0,20 LCH₄/g KOİ'dir. KOİ/SO₄²⁻ oranı 20'den 0,5'e düştüğünde, KOİ'nin metan'a dönüşümü %80,5'ten % 4,4'e düşmüştür. Uygulanan tüm KOİ/SO₄²⁻ oranlarında, toplam elektron akışının % 79,4'ünden fazlası metan üreten arkeler tarafından kullanılmıştır, bu durum metan fermantasyonunun baskın reaksiyon olduğunu göstermiştir. Metanın çoğunluğu, yüksek KOİ/SO₄²⁻ oranlarında asetoklastik metan üreten arkeler ve düşük KOİ/SO₄²⁻ oranlarında hem asetoklastik hem de hidrojenotrofik metan üreten bakteriler tarafından üretilmiştir. Sadece düşük KOİ/SO₄²⁻ oranlarında, *Desulfovibrio* gibi SİB'nin türleri etanolün parçalanmasında kilit bir rol oynamışken, tüm sülfat indirgeyen bakteri türleri hem yüksek hem de düşük KOİ/SO₄²⁻ oranlarında eksik oksitleyiciler olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak SİB ve metan üreten arkeler arasındaki rekabetin sonucunun KOİ/SO₄²⁻ oranı gibi tek bir faktöre değil, aynı zamanda tüm faktörlerin kombinasyonuna bağlı olduğu olduğu sonucuna varmışlardır.

Damianovic vd. (2016) organik madde (1500 mg/L) ve sülfat (500 mg/L) içeren sentetik atıksu ile beslenen yatay akışlı bir anaerobik immobilize biyokütle reaktörünün uzun vadeli performansını (888 gün) incelemiştir. Sülfidojenez için elektron kaynağı olarak etanol kullanılan çalışmada KOİ/SO₄²⁻ oranı 2,6 veya daha fazla olduğunda sülfat giderim verimi %100'e yakinken oran 1,4 olduğunda giderim verimi yaklaşık %80'e düşmüştür. Sülfidojenezin elektron vericinin varlığına bağlı olduğu gözlemlemiştir. Reaktör çıkışındaki atıksuda uçucu yağ asitlerinin varlığı sülfür nedeniyle metanojenezin inhibe olduğunu göstermiştir. Uzun süreli işletimde reaktör yatağında tıkanmasının gerçekleşmemesi sülfat giderimi için bu reaktörün yeni bir bakış açısı kazandırabileceğini göstermiştir.

Damianovic vd. (2018) yaptıkları bir diğer çalışmada kağıt geri dönüşüm tesisinden elde edilen seyreltilmiş atıksu ile sürekli beslenen laboratuvar ölçekli yatay akışlı anaerobik immobilize edilmiş biyokütle reaktörde eşzamanlı sülfat ve organik madde giderimini değerlendirmişlerdir. Sülfat indirgenmesi, metanojenez ve sülfür giderimi aynı reaktör içerisinde gerçekleşmiştir. Organik madde gideriminin yanısıra %90'nın üzerinde sülfat indirgenmesi meydana gelmiş ve sülfürün yaklaşık %30'u elementel kükürde dönüşmüştür. Bu nedenle, entegre sülfat indirgeme ve elementel kükürt üretimi, bu çalışmada verildiği gibi, sürdürülebilir atıksu arıtımı için ilgi çekici bir yöntem olarak kabul edilebilir.



3. MATERYAL METOT

3.1. Sediment Örneklerinin Toplanması ve İzolasyon Çalışmaları

Haloalkalifilik bakterilerin zenginleştirilme işlemi Van Gölü'ndeki dip çamurundan gerçekleştirilmiştir. Van Gölü; 1648 m rakıma sahip olup, 576 km³'lük hacmi, 3.522 km²'lik alanı ve 450 m derinliğiyle dünyanın en büyük dördüncü kapalı gölü ve aynı zamanda en büyük soda gölüdür. Göl suyunun pH'ı 9,7-9,8 arasında değişmektedir. Sodyum klorür (NaCl), sodyum karbonat (Na₂CO₃), sülfat (SO₄²⁻), potasyum (K) ve magnezyum (Mg) içeren gölün tuzluluk oranı % 2,17'dir (Aygan, 2008). Kalsiyum konsantrasyonu 4-5 mg/L gibi oldukça düşüktür. Van Gölü'nden alınan sediment örnekleme yerlerinin koordinatları Tablo 3.1'de verilmiştir. Toplam 11 adet istasyon belirlenmiştir. İstasyon yerleri Van Gölü'nün genel karakteristiklerini yansıtacak şekilde birbirinden uzak noktalarda seçilmiştir.

Tablo 3.1. Van Gölü sediment örnekleme yerlerinin koordinatları

İstasyon No	X	Y
1	35° 17'	42° 63'
2	33° 57'	42° 46'
3	32° 25'	42° 45'
4	31° 01'	42° 62'
5	26° 96'	42° 65'
6	27° 79'	42° 87'
7	30° 26'	42° 95'
8	35° 74'	43° 14'
9	36° 06'	43° 17'
10	38° 15'	43° 10'
11	34° 32'	42° 71'

Haloalkalofilik bakterilerin zenginleştirilmesi için DSMZ 742 numaralı ortam kullanılmıştır (Sorokin vd., 2004b). Ortam bileşenleri Tablo 3.2'de ve metal çözeltisi bileşenleri Tablo 3.3'de verildiği gibidir.

Tablo 3.2. Haloalkalifilik bakteri zenginleştirme ortam bileşenleri

Ortam Bileşenleri	Ortama Eklenen Miktarlar
NaCl	10 g
Na ₂ SO ₄	3 g
Na ₂ HPO ₄	0,2 g
KCl	0,2 g
NH ₄ Cl	1 g
Metal solüsyonu	10 mL
Resazurin	0,5 mg
NaHCO ₃	15 g
Na ₂ CO ₃	10 g
Maya ekstraktı	1,5 g
Vitamin solüsyonu	10 mL
Na-format	5 g
Na ₂ S. 9H ₂ O	1 g
Distile su	1000 mL

Tablo 3.3. Metal çözeltisi bileşenleri

Metal Çözeltisi Bileşenleri	Miktarlar (mg)
H ₃ BO ₄	6
CoCl ₂ .6H ₂ O	12
CuCl ₂ .2H ₂ O	1,5
MnCl ₂ . 4H ₂ O	10
NiCl ₂ .6H ₂ O	2,5
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2,5
ZnCl ₂	7

Hazırlanan matriks 30-45 dakika azot gazı uygulanarak anoksik hale getirilmiş daha sonra bikarbonat ve karbonat eklenerek ortamın pH'sı yaklaşık 9.5-10'a ayarlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. 1 g dip çamuru anoksik koşullarda hazırlanan matrikse transfer edilmiştir. Bütün bu işlemler Fırat Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nde mevcut olan anaerobik kabinde gerçekleştirilmiştir

(Şekil 3.1). DSMZ 742 numaralı ortama %2 oranında bakteriyolojik agar ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyeri petri plaklarına dağıtılmıştır. İzolasyon için Hungate tüplerinden anoksik şartlarda petri plaklarına ekim yapılmıştır. Petri plakları anaerogen kit içeren bir ortam içerisinde 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Sorokin vd., 2004b; Mormile vd., 1999).



Şekil 3.1. Anaerobik kabinde gerçekleştirilen zenginleştirme çalışmaları

Haloalkalifilik bakterilerin zenginleştirilmesi için DSMZ 742 numaralı ortama sterilizasyon öncesi % 2 oranında bakteriyolojik agar ilave edilmiş ve sterilizasyon sonrasında hazırlanan besiyeri petri plaklarına dağıtılmıştır. İzolasyon için Hungate tüplerinden anoksik şartlarda 1 g sediment içeren ve seyreltme yapılan her bir tüp için ikişer petri plaklarına 1 ml ekim yapılmıştır. Petri plakları anaerogen kit içeren kavanozlar içerisinde 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 100 ile 102 arasındaki dilüsyon oranlarına sahip petri plakalarında gelişen mikroorganizmalar sıvı ortama transfer edilmiş, tekrar petri plakalarına 1'er ml ekim yapılmış ve yine 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2). Saf kültürün elde edilebilmesi için petri plakalarına çizme yöntemi ile ekim yapılmaya devam edilmiş, inkübasyon süresi tamamlanan petri plakaları sürekli dolapta saklanmıştır. Bir yandan da inkübasyon sonrasında aynı seyreltme oranına sahip olan petri plakalarından bakterilerin iyi bir şekilde çoğaldığı seçilerek numune alınıp bakteri tür belirleme analizine ayrılmıştır. İnkübasyon sonunda petri plakalarında gelişen mikroorganizmalar sıvı ortama transfer edilmiş ve bakterilerin çoğaltılması işlemine

artık sıvı ortamda devam edilmiştir. Bunun için aynı seyreltme oranına sahip olan petri plakalarındaki mikroorganizmalar öncelikle sıvı besiyeri içeren tüpe aktarılmış sonrasında ise bu karışık sıvıdan 5 ml alınarak serum şişesindeki sterilize edilmiş 45 ml'lik besiyerine eklenmiştir. İşlemler gerçekleştirilirken steril pipet ucu, öze kullanılmış ve olası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için anaerobik kabinde çalışılmıştır. Sıvı kültürler, 100 rpm'de ve 30 °C'de orbital inkübatörde inkübe edilmiş ve periyodik olarak sülfat ve KOİ giderimi araştırılmıştır. İnkübe edilmiş olan sıvı kültürler, daha sonra analizlerde kullanılmak üzere 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 3.2. Katı ve sıvı besiyerine alınan bakterilerin görüntüleri

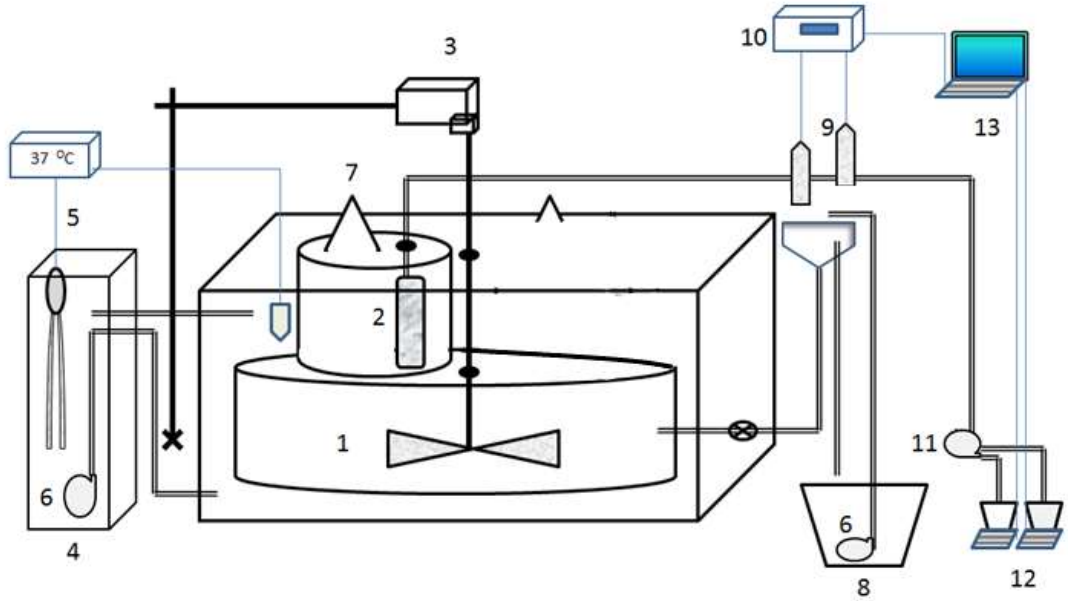
3.2. İzole Edilen Haloalkalifilik Bakterilerin Na_2CO_3 ve NaHCO_3 İçeren Ortama Alıştırılması

Mikroorganizmaların organik ve inorganik bileşiklere alıştırılması, mikrobiyal aktivitenin artırılabilmesi için yapılması gerekli olan önemli bir işlemdir. Alıştırma süresi; kullanılan aşının niteliklerine bağlı olarak birkaç saatle birkaç hafta arasında değişir. Bu doğrultuda haloalkalifilik bakterilerin Na_2CO_3 ve NaHCO_3 alıştırılması için seri deneyler yapılmıştır. İlk aşamada Na_2CO_3 derişimi sabit tutulup NaHCO_3 derişimi sırasıyla 0, 5, 10, 15 ve 20 g/L olacak şekilde DSMZ 742 ortamı hazırlanıp serum şişelerine 90 ml dağıtılmıştır. İkinci aşamada ise NaHCO_3 derişimi sabit tutularak Na_2CO_3 derişimi sırasıyla 0, 1, 5, 10 ve 15 g/L olacak şekilde DSMZ 742 ortamı hazırlanıp 250 ml'lik serum şişelerine 90 ml dağıtılmış ve 121 °C'de 1 atm basınç altında çalışan otoklavda sterillenmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra anaerobik kabin

içerisinde her birine 10'ar mL sıvı kültür ilave edilmiş ve 30 °C'de 100 rpm'de çalışan orbital inkübatörde 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. $t=0$ ve $t=48$ st zamanlarında numuneler alınarak pH değerleri ölçülmüştür. Belirli hacimdeki numune vakum süzme düzeneği kullanılarak 0,22 μm 'lik membran filtre kağıdından süzülerek mikroorganizma kuru ağırlık analizi yapılmış ve 0,22 μm 'lik enjektör filtreden geçirilerek, KOİ, sülfat ve toplam organik karbon analizleri yapılmıştır.

3.3. SAnMBR İşletimi

Tez çalışmasında kullanılan reaktör, 110Y043 no'lu TÜBİTAK desteğiyle yapılan laboratuvar ölçekli tam karışımli anaerobik batık MBR (SAnMBR) sistemidir. Reaktörün şematik görünümü Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Anaerobik batık membran biyoreaktör: 1) Tam karışımli anaerobik reaktör, 2) Membran, 3) Mekanik karıştırıcı, 4) Isıtma tankı, 5) Termostatlı ısıtıcı, 6) Dalgıç pompalar, 7) Gaz çıkışı, 8) Atıksu besleme tankı, 9) Basınç sensörleri, 10) Bilgisayar bağlantılı kumanda tablosu, 11) Peristaltik pompa, 12) Bilgisayar bağlantılı teraziler

SAnMBR karbon kaynağı olarak 152 gün boyunca asetat ile daha sonra etanol ile beslenmiş yaklaşık olarak 300 günden sonra ise asetat ve etanol karışımı ile sırasıyla 1:1, 1:2 ve 1:4 oranlarında beslenmiştir. Besleme suyu olarak kullanılan sentetik atıksu bileşenleri şu şekildedir; NaCl 10 g; Na_2HPO_4 0,2 g; KCl 0,2 g; NH_4Cl 1,0 g; metal solüsyonu 10 ml; resazurin 0,5 mg; NaHCO_3 15 g; Na_2CO_3 10 g; maya ekstratı, 1,5 g;

vitamin solüsyonu 10 ml; Na₂S. 9H₂O 1 g (1000 mL’de). Sülfat kaynağı olarak ise reaktöre Na₂SO₄ verilmiştir. KOİ/SO₄ oranı 1-12 arasında farklı değerler alacak şekilde bu oranlara göre ilave edilen asetat ve/veya etanol ve Na₂SO₄ bileşenleri ile ayarlanmıştır. Sentetik atıksu bileşiminde bulunan NaHCO₃ ve Na₂CO₃ ile biyoreaktörde genel olarak pH> 9,5 sağlanmıştır. Reaktör işletimi süresince pH’da düşüş yaşanmadığı için herhangi bir baz tampon kullanılmamıştır.

Reaktör işletmeye alınırken 1/3 oranında aşı (zenginleştirme sonrası DSMZ)/sentetik atıksu karışımı ile beslenmiştir. Tam karışimli anaerobik batık membran biyoreaktör (SAnMBR) tüm işletim süresi boyunca 7-15 gün arasında değişen hidrolik bekleme sürelerinde işletilmiştir. Ancak işletim boyunca oluşan membrandaki kirlenmeye bağlı olarak membrandaki akı miktarı değiştiği için hidrolik bekleme süresi de sabit kalmayarak değişmiştir.

3.4. SAnMBR İşletimi Süresince Gerçekleştirilen Analizler

Biyoreaktörden belirli aralıklarla alınan numunelerde KOİ, sülfat (SO₄²⁻), bisülfür (HS⁻), toplam organik katı (TOK), tam karışimli sıvıda askıda katı madde (AKM) ve tam karışimli sıvıda uçucu askıda katı madde (UAKM) ve çözünmüş katı madde (ÇKM) analizleri yapılmıştır. Süzüntü suyunda Tablo 3.4’te belirtilen parametrelerin analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.4. Süzüntü suyunda izlenen parametreler

Parametre	Ölçüm sıklığı	Metot
TOK	3 gün/hafta	TOC-VPN-Shimadzu (APHA, 5310 B)
KOİ	3 gün/hafta	Standart metotlar (APHA, 5220 B)
AKM	3 gün/hafta	Standart metotlar (APHA, 2540 D)
Toplam Alkalinite	1 gün/hafta	UV-VIS spektrofotometre (Hach yöntemi)
Sülfat	2 gün/hafta	UV-VIS spektrofotometre (APHA, 4500-SO ₄ ²⁻ C)
Bisülfür	1 gün/hafta	UV-VIS spektrofotometre (HACH LANGE Yöntemi)
pH	Sürekli	pH metre Standart metotlar (APHA, 4500-H ⁺ B)

Giriş sentetik atıksuyu ve reaktör çıkışından alınan numuneler için "Standart Metotlar'da" belirtilen Açık Reflux Metodu'na göre kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) analizleri gerçekleştirilmiştir.

Giriş sentetik atıksuyu ve membran çıkışından alınan numunelerin, ölçüm aralığı 150-900 mg/L SO_4^{2-} olan sülfat test kitleri kullanılarak HACH-DR 6000 marka UV-VIS spektrofotometre cihazı ile sülfat konsantrasyonları belirlenmiştir.

Bisülfür tayini için ölçüm aralığı 0,1-2,0 mg/L S^{2-} olan bisülfür test kitleri kullanılarak UV-VIS spektrofotometre cihazı ile giriş sentetik atıksu ve membran çıkışından alınan numunelerin bisülfür konsantrasyonları belirlenmiştir. Reaktör giriş sentetik atıksuyu ve membran çıkışından alınan numunelerin alkalinite konsantrasyonları UV-VIS spektrofotometre cihazı ile tespit edilmiştir. Numunelerin toplam organik karbon (TOK) konsantrasyonu Şekil 3.4'te verilen TOC-VCN-Shimadzu cihazı kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4. TOC-VCN-Shimadzu cihazı

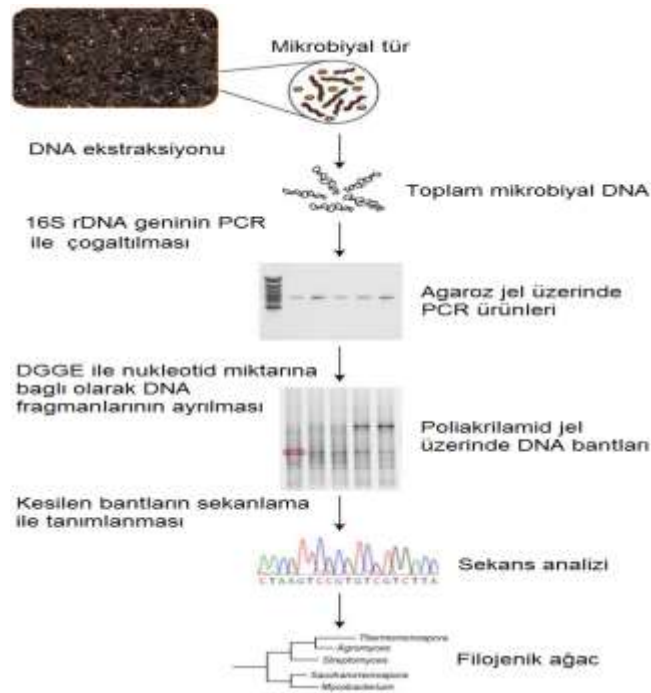
SAnMBR sentetik atıksu beslemesi ve membran çıkışından alınan numunelerin katı madde içeriği "Standart Metotlar'da" belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. SAnMBR içerisinden alınan numunenin askıda katı madde tayini için 125 μm gözenek boyutuna sahip filtre kağıtları kullanılarak "Standart Metotlar'da" verildiği gibi gerçekleştirilmiştir. SAnMBR içerisinden alınan numunenin filtre kalıntısı, 550 °C'de kül fırınında yakıldıktan sonra UAKM konsantrasyonu tespit edilmiştir.

Numunelerin pH ölçümü Thermo Scientec marka pH metre ile belirlenmiştir. Yüksek tuzluluğa sahip SAnMBR sentetik atıksu beslemesi, reaktör içerisinden alınan

numune ve membrandan süzülen reaktör içeriğinin iletkenliğini belirlemek amacıyla iletkenlik ölçer kullanılmıştır.

3.5. Mikrobiyal Türlerin Belirlenmesi

Çalışma süresince SAnMBR’de mikrobiyal tür değişimini tespit etmek amacıyla PCR-DGGE analizleri yapılmıştır. Bu amaçla SAnMBR’nin işletme süresi boyunca farklı KOİ/SO₄ oranı ve hidrolik bekleme sürelerinde membran yüzeyinden ve reaktör sıvısından numune alınarak -20 °C’de muhafaza edilerek biriktirilmiştir. Mikrobiyal analizler uygulanırken ilk olarak numunelerde mevcut olan mikroorganizmalara ait DNA ekstrakte edilmiş ve daha sonra izole edilen DNA’lara PCR işlemi uygulanarak hedeflenen bölgenin çoğaltılması sağlanmıştır. Ardından elde edilen PCR ürünlerine DGGE işlemi uygulanarak her bir mikroorganizmaya ait DNA’nın gradyan jel içerisinde ayrılması gerçekleştirilmiştir. Jel içerisinde ayrılan DNA’lar jelden ekstrakte edilerek PCR işlemi ile tekrar çoğaltılmış ve DNA dizileme işlemine gönderilmiştir. Dizi analizi sonuçları BLAST programı kullanılarak gen bankasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) benzerlik yüzdeleri, organizma sınıfları ve referansları tespit edilmiştir. Moleküler analiz yöntem uygulama akış şeması Şekil 3.5’te verilmiştir.



Şekil 3.5. Moleküler analiz yöntemlerinin uygulama akış şeması (Özkaya ve Demir, 2010)

a) Nükleik Asit Ekstraksiyonu

Moleküler çalışmalarda, AnMBR reaktöründen alınan numuneler DNA ekstraksiyonu için UltraCleanSoil DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu için üretici firmanın belirlemiş olduğu prosedür uygulanarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

b) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

DNA izolasyonu yapılmış olan numunelerde bakteriyel 16S rRNA genleri literatürde Muyzer vd. (1996) tarafından belirtilen ileri ve ters primerler kullanılarak çoğaltılmıştır. Ayrıca SAnMBR içerisinde bulunan arke türlerini tespit etmek için Casamayor vd. (2000) tarafından belirtilen primerler kullanılmıştır. PCR işlemlerinde kullanılacak olan primere özgü olan sıcaklık döngüleri çalışmada kullanıldığı şekilde uygulanarak örneklerin amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

c) Agaroz Jel Elektroforezi

PCR analizinden sonra işlemin başarısını görmek amacıyla elde edilen ürünler agaroz jelde yürütülmüştür. İşlem 100 Volt'ta 30 dk süre ile gerçekleştirilerek ardından jel görüntüleme cihazında hedeflenen genin çoğaltılıp çoğaltılmadığı belirlenmiştir. Ardından PCR ürünlerine Denature Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE) işlemi uygulanmıştır.

d) Denatüre Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE)

PCR işlemi ile çoğaltılan DNA'lar DGGE işlemine tabi tutularak farklı mikroorganizmalara ait DNA'lar gradyan jel içerisinde ayrılmıştır. Jel içerisinde ayrılan DNA'lar ekstrakte edilerek GC klampsiz primerler kullanılarak aynı PCR protokolü ile tekrar çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri DNA sekans analizine gönderilmiştir. Her bir numuneye ait A-G-C-T dizilimleri gen bankasında (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) değerlendirmeye alınarak ve bu veri tabanında tanımlanmış mevcut türler tespit edilmiştir.

e) Filojenik Ağaç

Unipro UGENE v.1.9.1. software programı ile SAnMBR'de elde edilen türlere ait filojenik ağaç elde edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. SAnMBR İşletimi Süresince KOİ, TOK, Sülfat Giderim Sonuçları

380 gün boyunca çalıştırılan reaktör işletimine ait deneysel şartlar Tablo 4.1’de sunulmuştur. Reaktör işletimindeki şartlar, başlangıç KOİ ve sülfat konsantrasyonu ve hidrolik bekletme süresi esas alınarak reaktör işletimindeki şartlar değiştirilmiştir.

380 gün boyunca elde edilen veri sayılarının fazla olmasından dolayı KOİ, TOK ve sülfat giderim verimlerine ait sonuçlar özellikle karbon kaynakları dikkate alınarak sunulmuştur. Buna göre tek başına asetat, etanol ve asetat-etanol karışımının kullanıldığı periyotlar bir arada değerlendirilerek sonuçlar anlaşılır şekilde sunulmaya çalışılmıştır.

Tablo 4.1. SAnMBR işletim şartları

Parametre	Periyot (Gün)										
	1 (1-37)	2 (38-75)	3 (76-116)	4 (117-52)	5 (153-205)	6 (206-253)	7 (254-281)	8 (282-309)	9 (310-339)	10 (340-359)	11 (360-380)
KOİ (mg/L)	10000	8000	8000	8000	6000	6000	6000	3000	3000	3000	3000
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	2000	2000	2000	1000	500	500	1000	3000	3000	3000	3000
KOİ/SO ₄ ²⁻	5	4	4	8	12	6	1	1	1	1	1
HBS (gün)	10	10	15	10	15	7	7	10	10	10	10
Karbon Kaynağı	A	A	A	A	E	E	E:A	E:A1	E:A1:4	E:A1:2	E:A1:4
pH	9,5	9,5	9,3	9,2	9,8	9,8	9,7	9,8	9,7	9,7	9,8
Alkalinite (mg/L)	10200	10150	13350	13400	17500	17700	17000	16200	19500	18350	21000
NaCl (mg/L)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Birinci işletme periyodunda (P1) KOİ: 10000 mg/L ve SO₄²⁻: 2000 mg/L ve HBS: 10 gün olarak reaktör işletimine başlanış ve 37 gün sürdürülen periyotta organik karbon kaynağı olarak asetat biyoreaktöre beslenmiştir. KOİ giderim verimi ortalama %35 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1). TOK giderim verimi ortalama %24,7 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.2). Bu dönemde reaktör işletimine yeni başlanması ve bakterilerin ortam şartlarına henüz tam olarak uyum sağlayamamış olması, düşük KOİ giderim verimine neden olduğu düşünülmüştür. Bu işletim periyodunda SO₄²⁻ giderim

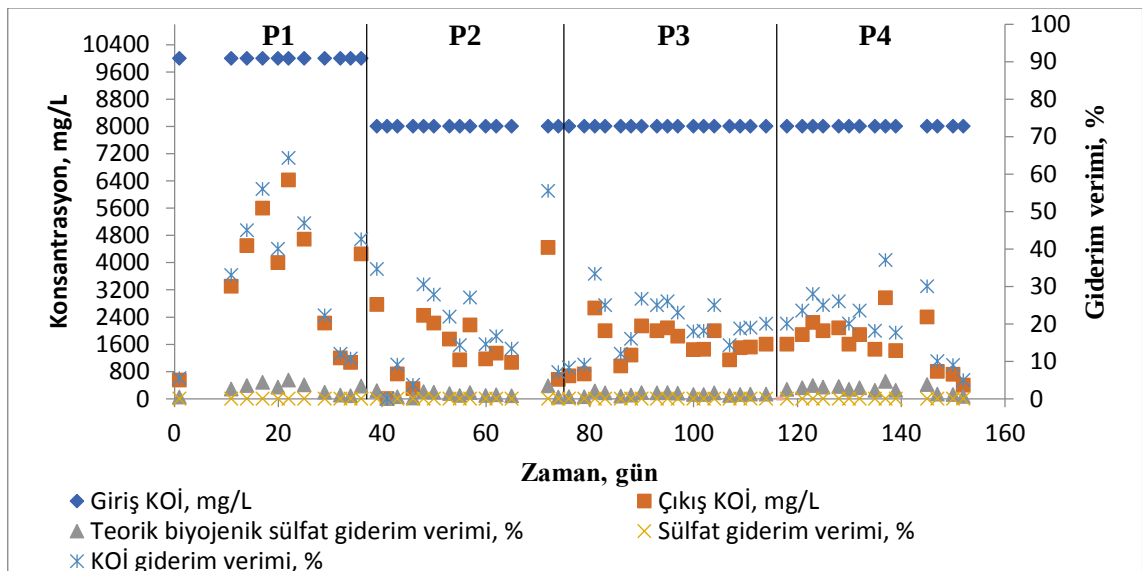
verimi çok düşük bulunmuş ve ortalama %7 olarak belirlenmiştir ve grafiksel olarak gösterilmemiştir. Bunun paralelinde bisülfür de tespit edilememiştir. Bu aşamada yavaş büyüme özelliğine sahip sülfat indirgeyen bakterilerin ortam şartlarına uyum sağlayamadığı bu nedenle sülfat indirgenmesini gerçekleştiremedikleri düşünülmüştür. Nitekim mikrobiyal analiz sonuçları da bu işletme periyodunda spesifik sülfat indirgeyen herhangi bir bakteri olmadığını göstermiştir. Bu periyoda kadar elde edilen sonuçların benzeri Mohan vd. (2005) AnMBR’de yürüttükleri KOİ ve sülfat giderimi çalışmalarında elde etmişlerdir, düşük KOİ ve sülfat giderim verimlerinin sülfat varlığına, SİB ve metanojenlerin sistemde bulunmamasına bağlı olarak prosesin inhibe olmasından kaynaklandığını tespit etmişlerdir.

KOİ giderim veriminin %35’lerde kalması ve sülfat gideriminin neredeyse gerçekleşmediği bu işletme şartının değiştirilmesine karar verilmiştir. KOİ oranı 8000 mg/L ve SO_4^{2-} : 2000 mg/L olacak şekilde yani daha düşük KOİ: SO_4^{2-} : 4 oranlarda çalışılmasına karar verilmiştir. Bu şartlardaki HBS değeri değiştirilmemiş yaklaşık 10 gün olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu dönemde KOİ giderim verimi %22 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1). Periyot 2 (P2) süresince elde edilen sonuçlar organik karbon kaynağı konsantrasyonunun azaltılmasının reaktörün performansını iyileştirmede göstermiştir. KOİ/ SO_4^{2-} oranının 5’ten 4’e düşürülmesi özellikle KOİ giderim verimini olumsuz yönde etkilemiştir. Periyot 1’e benzer şekilde periyot 2’de de sülfat indirgenmesi gerçekleşmemiştir. Bu periyotta ortalama TOK giderim verimi de P1’e benzer oranlarda %21 tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

Özellikle sülfat gideriminin sağlanmamış olması ve bununla birlikte KOİ giderim verimlerinin kötüleşmesi sonucunda bu işletme şartının değiştirilmesine karar verilmiştir. 29.06.2018 ile başlayıp 09.08.2018 tarihine kadar sürdürülen yeni işletme periyodunda (Periyot 3) KOİ ve sülfat oranları ve konsantrasyon değerleri aynı tutulmuş (KOİ: 8000 mg/L, SO_4^{2-} : 2000 mg/L) HBS değeri 10 günden 15 güne arttırılarak sistemin biraz daha stabilleşmesi amaçlanmıştır. Lens vd. (1998) gerçekleştirdikleri asetatotrofik sülfat indirgenmesi çalışmalarında sülfat indirgenmesinin 138 günde sadece %14 artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. 42 gün süren bu işletme periyodunda sistem performansının belirlenmesi aynı analizlerle gerçekleştirilmiştir. Bu dönemde elde edilen KOİ giderim sonuçları bir önceki periyotlardakine benzer şekilde olup ortalama %19,86’dır. TOK giderim verimi ise %19 olarak belirlenmiştir. Periyot işletme şartlarında HBS değerinin artması da KOİ ve sülfat giderim verimini değiştirmemiştir.

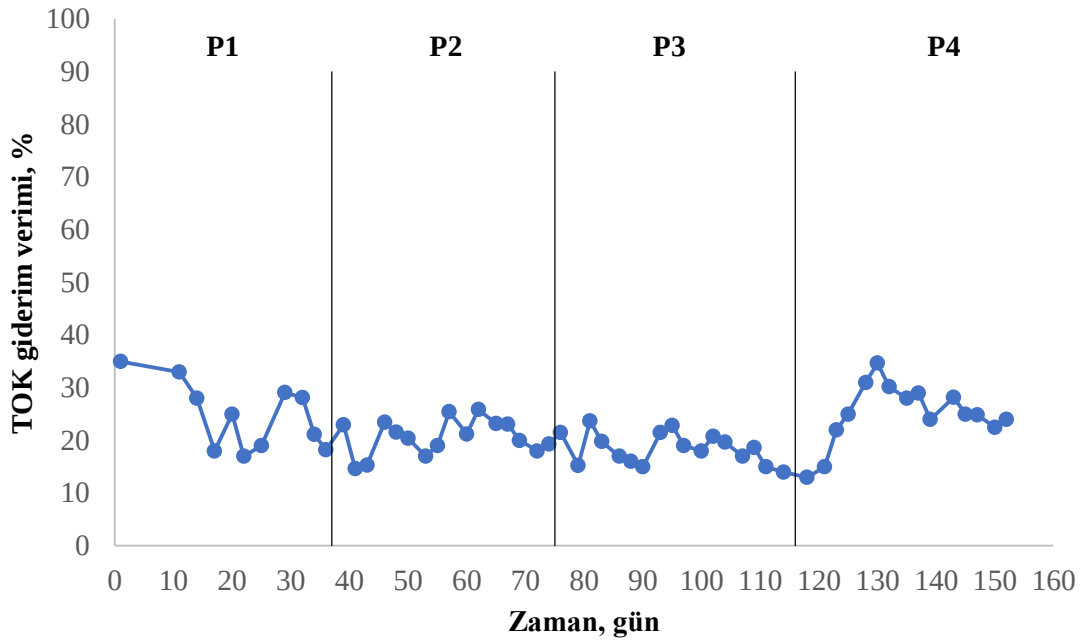
Hidrolik bekleme süresinin giderim verimlerini değiştirmediği, hatta sistem performansının başka etkenlere bağlı olarak kötüleştiği belirlenmiştir. Özellikle sülfat gideriminin sağlanamaması çalışmanın hedeflerine ulaşılmasını olumsuz yönde etkilemiştir. Bu nedenle bir sonraki adımda hidrolik bekletme süresini değiştirmektense aynı KOÇ konsantrasyon değerlerinde başlangıç sülfat konsantrasyonunun 2000 mg/L'den 1000 mg/L'e düşürülmesine karar verilmiştir. Bu nedenle yeni işletme periyodunda KOÇ: 8000 mg/L, SO₄⁻²: 1000 mg/L ve HBS: 10 gün olarak seçilmiştir (Periyot 4). Aynı zamanda membran çıkarılmış, yerine yeni membran takılarak reaktör işletimine devam edilmiştir. Çıkarılan membranın yüzey özelliklerinin belirlenmesi amacıyla biyofilm sıyrılma ve bir de biyofilmi sıyrılmış numuneler analizler gerçekleştirilinceye kadar +4 C'de buzdolabında saklanmıştır.

Bu işletme periyodunda deneysel süreç boyunca elde edilen sonuçlarla KOÇ giderim verimi ortalama %22 olduğu (şekil 4.1) ve bu periyodun son on gününde KOÇ gideriminin giderek azaldığı tespit edilmiştir. Giriş sülfat konsantrasyonu değiştirilmesine rağmen sülfat gideriminde bir değişiklik olmamış ve giderim gözlenmemiştir. Aynı şekilde bisülfür tespit edilmemiştir. TOK ortalama giderim verimi %22 olarak tespit edilerek diğer periyotlarda elde edilen sonuçlardan daha az oranlarda giderimin gerçekleştiği belirlenmiştir (şekil 4.2).



şekil 4.1. Periyot 1, 2, 3, 4 süresince KOÇ giderim verimi

P1: KOÇ: 10000 mg/L,	P2: 8000 mg/L,	P3: 8000 mg/L	P4: 8000 mg/L
SO₄⁻²: 2000 mg/L	2000 mg/L	2000 mg/L	1000 mg/L
HBS: 10 gün	10 gün	15 gün	15 gün
C kaynağı: Asetat	Asetat	Asetat	Asetat



Şekil 4.2. Periyot 1, 2, 3, 4 süresince TOK giderim verimi

P1: KOİ: 10000 mg/L, SO42-: 2000 mg/L HBS: 10 gün C kaynağı: Asetat	P2: 8000 mg/L, 2000 mg/L 10 gün Asetat	P3: 8000 mg/L 2000mg/L 15 gün Asetat	P4: 8000 mg/L 1000 mg/L 15 gün Asetat
---	--	--	---

Yaklaşık 160 gün boyunca reaktör işletme şartları yukarıda bahsedildiği gibi değiştirilmesine rağmen, KOİ ve sülfat giderimleri için istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Farklı karbon kaynakları farklı mikrobiyal toplulukları etkileyerek biyoreaktörün başlatılması gibi biyoreaktör performansını ve sülfür (H_2S) birikimini etkileyebilmektedir. Reaktör başlatımı sülfat indirgeyen biyoreaktörlerde uygun mikrobiyal toplulukların oluşmasında önemlidir. Kötü işleme alma; uzamış aklımasyon periyoduna, sülfatın verimsiz giderimine ve sülfür birikimine neden olabilir (Liamleam ve Annachhatre, 2007). Bu nedenle haloalkalifilik sülfat indirgeyen bakteri (SİB) için uygun elektron vericileri seçmek önemlidir.

Sülfat indirgenmesi için farklı elektron vericileri birçok avantaj ve dezavantaja sahiptir ve uygun elektron vericisi seçilmeden önce çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Bu faktörler arasında termodinamik veya kinetik parametreler (Liamleam ve Annachhatre, 2007; Thauer vd., 1977; Gibert vd., 2007), arıtım kabiliyeti, maliyeti (Van Houten vd., 1994), mevcudiyeti ve kalıntı kimyasal oksijen ihtiyacı bulunmaktadır (Liamleam ve Annachhatre, 2007). Tablo 4.2’de farklı elektron vericileri ile yapılan sülfat indirgeme çalışmalarında elde edilen sülfat giderim oranları

verilmiştir. Termodinamik ve kinetik parametreler SİB ve metan oluşturan ark arasındaki rekabeti etkileyebilir ki bu durum bir sonraki durumda arıtma verimini etkileyebilmektedir (Zhang vd., 2009). Örneğin melas diğer organik maddelere göre daha ucuzdur ama daha az sülfat giderimi sağlar. Laktat, molaz ve hidrokarbon gibi kompleks organik maddeler çıkış suyunda asetatla birlikte yüksek KOİ seviyeleri oluşturan SİB'ler tarafından tamamen okside olamayabilirler (Liamleam ve Annachhatre, 2007).

Tablo 4.2. Farklı elektron vericileri ile sülfat giderim oranları (Zhou ve Xing, (2015))

Biyoreaktör türü	Elektron verici	Sülfat giderim oranı (kg/m ³ gün)	Kaynak
Yukarı akışlı çamur yataklı (YAÇY) reaktör	Melas	6,40	Annachhatre ve Suktrakoolvait (2001)
Yukarı akışlı çamur yataklı reaktör- Mikrobiyal yakıt hücreleri-Biyolojik havalandırma filtresi	Melas	3,21	Zhang vd. (2009)
Paket yataklı	Melas/maden atıksuyu	1,36	Maree vd. (1991)
Gaz kaldırma reaktör	H ₂ + CO ₂	30,0	Van Houten vd. (1995)
Gaz kaldırma reaktör	H ₂ + CO ₂	25,0	Du Preez vd. (1994)
Paket yataklı	H ₂ + CO	1,20	Sipma vd. (2007)
Gaz kaldırma reaktör	H ₂ + CO	1,63	Houten vd. (2006)
MBR	Format	13,7	Bijmans vd. (2008)
Akışkan yataklı	Etanol	4,30	Kaksonen vd. (2004b)
MBR	Etanol + asetat	6,62	Vallero vd. (2005)
Akışkan yataklı	Etanol + asetat	12,0	Nevatalo vd. (2010)
Perdeli reaktör	Sakaroza + pepton	23,5	Barber ve Stuckey, (2000)
Anaerobik çürütücü	Glikoz + asetat	1,92	Polprasert vd. (1995)
Anaerobik filtre reaktör	Laktat	3,38	Zhou ve Xing, (2015)
Anaerobik filtre reaktör	Glukoz	5,0	Zhou ve Xing, (2015)
Anaerobik filtre reaktör	Metanol	0	Zhou ve Xing, (2015)
Anaerobik filtre reaktör	Etanol	8,60	Zhou ve Xing, (2015)
Anaerobik filtre reaktör	Format	8,17	Zhou ve Xing, (2015)
Anaerobik filtre reaktör	Asetat	0	Zhou ve Xing, (2015)

Zhou ve Xing (2015) tarafından yapılan çalışmada; haloalkalifilik sülfat indirgeyen biyoreaktörde baca gazı arıtımı için farklı elektron vericilerin sülfat indirgenmesine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları dikkate değer sonuçlar içermektedir. KOİ/SO₄²⁻: 2, NaCl: 6 g/L ve pH: 9.5 olarak ayarlanan şartlarda farklı elektron vericileri; metanol, asetat, glukoz, etanol, laktat ve format kullanılarak sülfat giderimi araştırılmıştır. Metanol ve asetatla beslenen biyoreaktörler başarılı bir şekilde başlatılamamıştır. Glukoz ve etanolle beslenen biyoreaktörler daha kısa işleme alma süresini gerektirerek daha yüksek performans göstermiştir. 42 ve 31. günlerde sülfat giderim verimleri %99'ların üzerinde tespit edilmiştir. İşletmeye alma süresi karbon kaynağının biyokullanılabilirliğine ve kompleksliğine bağlıdır. Ara mikrobiyal canlıların yardımı olmadan sülfat indirgenmesinde laktat, metanol, etanol ve asetat direk olarak kullanılabilir fakat glukoz fermentatif canlılarla etanol, laktat veya uçucu yağ asitlerine dönüşebilir. Kompleks elektron vericileri kullanan biyoreaktörler uzun başlatma süresini gerektirmektedir. Çalışmada karbon kaynağının biyokullanılabilirliği ve kompleksliği dikkate alınır ise laktat optimum elektron verici; işleme alma sıralaması ise, etanol, glukoz, laktat, format ve metanol/asetat olarak bulunurken, metanol ve asetatla beslenen biyoreaktörler başarılı bir şekilde başlatılamamıştır. Aynı zamanda giriş sülfat konsantrasyonunun çok yüksek olduğu şartlarda biyoreaktörlerin performansı kötüleşmiştir. Yüksek sülfat yüklemelerinden dolayı SİB aktivitesi yüksek sülfat konsantrasyonu ile inhibe olarak çıkış suyunda yüksek sülfat ve KOİ konsantrasyonuna neden olmuştur.

Bahsedilen çalışmalar doğrultusunda, karbon kaynağının asetat yerine etanol olmasına karar verilmiştir. Bu nedenle 14.09.2018 itibarıyla reaktör beslemesi etanol ile gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık on günlük adaptasyondan sonra analizler yapılmaya başlanmıştır. KOİ: 6000 mg/L ve sülfat konsantrasyonunun 500 mg/L olduğu (KOİ/SO₄²⁻: 12) şartlarda HBS: 15 gün olacak şekilde reaktör işletilmesine devam edilmiştir (Periyot 5). Aynı zamanda bu şartlarda 06.11.2018 tarihinde membran değişimi gerçekleştirilmiştir.

Etanol elektron verici olarak yüksek sülfat yükleme oranlarında %80 gibi yüksek sülfat dönüşüm verimlerine sahiptir. Farklı mikroorganizmalar etanolü parçalayarak farklı ürünlere dönüşebilir. Sülfidojen aşamasında aşağıdaki reaksiyonlar (Reaksiyon 4.1 ve 4.2) gereği; asetat, bikarbonat ve bisülfüre dönüşmektedir. Etanolün direk karbondioksite oksidasyonunu sadece iki kültür (*Desulfovibrio desulfuricans* ve

Desulfobacter postgatei) ile gerçekleştiği rapor edilmiştir. Diğer elektron kaynaklarına (asetat) benzer olarak etanolün kullanımı ile ara ürün asetat oluşarak çıkış suyunda KOİ artışına neden olmaktadır (Liamleam ve Annachhatre, 2007; Zhou vd.2014).



Etanol ile beslemenin yapıldığı bu ilk periyotta (Periyot 5) KOİ ve sülfat giderim verimlerinde önemli artışlar gözlenmiştir. KOİ giderim verimi; ortalama % 43, sülfat giderim verimi ise %56 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3 ve 4.4). Sülfat giderimindeki bu artışın karbon kaynağının değişiminden kaynaklandığı düşünülmüştür. Sülfat indirgeyen bakterilerin faaliyet gösterdiği sülfür dönüşümlerinden de anlaşılmaktadır. H₂S; canlı hücreye sızdığı ve metaloproteinleri bloke edebildiğinden dolayı SİB'lere toksik olduğu bulunmuştur. Oysa ki pH 9'un üzerinde olduğu zaman çözeltideki H₂S, HS⁻ formundadır ve bu hücreye kolaylıkla girmeyi engeller (Yongsiri vd., 2005; Mora-Naranjo vd., 2003). Periyot 5 şartlarında HS⁻ konsantrasyonu da tespit edilmiş ve sonuçlar giriş sülfat konsantrasyonunun 500 mg/L olduğu şartlarda en yüksek 183 mg/L'ye kadar HS⁻ oluştuğu gözlenmiştir. Şekil 4.5'te HS⁻ konsantrasyon değerleri verilmiştir. Şekil 4.5'ten de görüldüğü gibi HS⁻ üretimi sülfat giderimine paralel olarak artmış sülfat indirgenmesinin azalmaya başlaması ile düşüş göstermiştir.

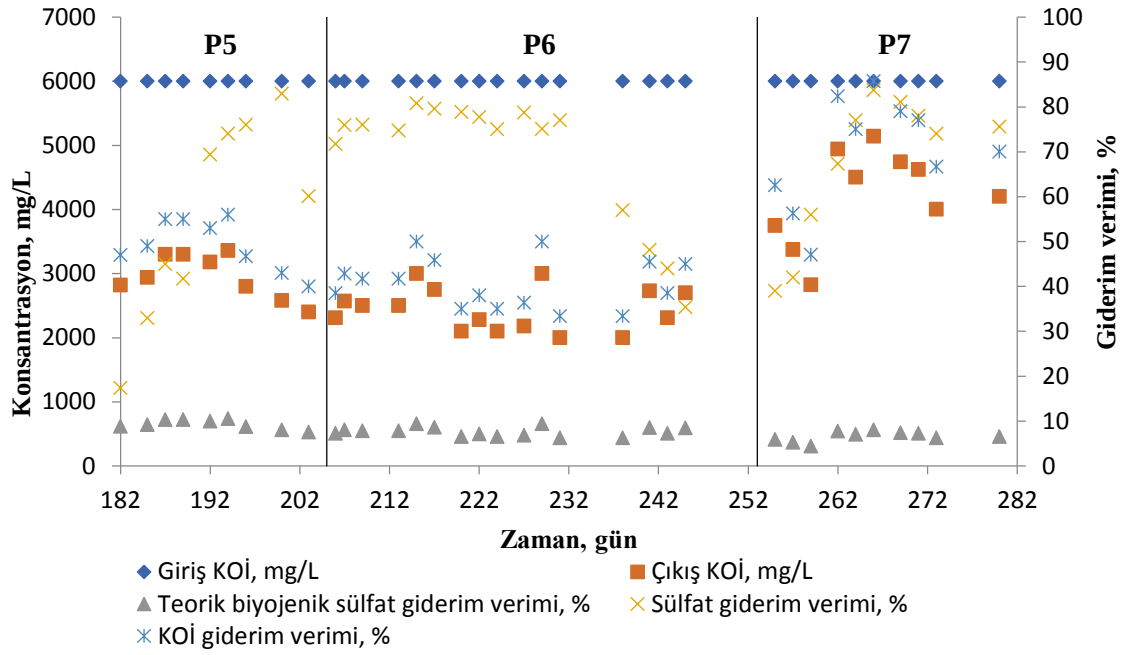
TOK giderim verimi ortalama %18'dir (Şekil 4.6). KOİ giderim verimi artarken toplam organik karbon (TOK) gideriminin azalması etanolün asetata olan oksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda hidrolik bekleme süresinin 15 güne çıkarılması, etanol ile daha iyi performans gösteren sülfat indirgeyen bakterilerin reaktörde daha uzun süre muhafaza edilmesini sağlamış olabilir. Vallero vd. (2005) SAnMBR'de HBS'yi 39 saatten 12 saate düşürdüklerinde sülfat giderim veriminin %55'ten %20'ye düştüğünü ve aynı şekilde Zhou vd. (2014) haloalkalifilik biyoreaktörde sülfat gideriminin HBS azaldıkça düştüğünü bildirmişlerdir. Sülfat gideriminin HBS'nin artışına bağlı olarak artması bu çalışma ile paralellik göstermiştir. Sülfat indirgenmesinde, reaktör işletimine başladıktan yaklaşık 6 ay sonra iyileşmenin gözlenmesi Şahinkaya vd. (2018) tarafından da desteklenmiştir. SİB'nin AnMBR'deki

nispeten hızlı zenginleşmesi, reaktör içindeki yavaş büyüyen SİB'nin membran tarafından tutulması ve çamur yaşının sınırsız tutulması ile ilişkilendirmişlerdir.

KOİ konsantrasyonunun 6000 mg/L, sülfat konsantrasyonunun 500 mg/L olduğu altıncı periyotta KOİ giderim verimi %41 olarak tespit edilmiş ve 5. periyottaki KOİ giderim verimi ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. TOK giderim verimi %15,80'dir. Sülfat giderim verimi bir önceki döneme göre belirgin oranda artarak %69'a ulaşmıştır. Bu dönemde sülfat giderim verimi artarken KOİ giderim veriminin önceki periyotla (periyot 5) benzer şekilde daha düşük seviyelerde olması, SİB'nin aktiviteleriyle etanolün asetata dönüşümünün reaktör çıkışında asetat birikimine neden olduğu düşünülmüştür. Bu durum çıkış atıksuyunun KOİ değerini arttırarak organik karbon giderim verimini düşürmüştür.

Etanolün parçalanması esnasında sistemde yüksek miktarda asetat ve H₂S birikir. Asetat, mikrobiyal sülfat indirgenmesinin potansiyel bir inhibitörüdür (Baronofsky vd., 1984; Gyure vd., 1990). Bu çalışmadaki sonuçların tam tersi olarak Koschorreck vd. (2004) asetata olan oksidasyonu önlemek amacıyla asetat tüketen mikrobiyal topluluk oluşturmak için reaktörün başlangıç aşamasında etanol yerine asetat kullanılmasının alternatif bir uygulama olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte, asetat oksitleyici SİB'nin gelişiminin çok yavaş olabileceğini belirtmişlerdir.

Etanol kullanımı ile KOİ giderimi açısından dezavantajlar oluşmasına rağmen eş zamanlı KOİ ve sülfat giderimini arttırmak hedeflenmiştir. Bu nedenle bir sonraki periyotta (periyot 7) reaktör işletim şartı KOİ/SO₄⁻² oranının ve HBS'nin değiştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. KOİ/SO₄⁻²: 6 (6000/1000) olduğu yedinci periyotta HBS: 7 gün olarak devam edilmiştir. KOİ giderim verimi önceki dönemlere göre belirgin şekilde artmış ve %70,15' e ulaşmıştır (Şekil 4.3). TOK giderim verimi %26,11 olarak tespit edilmiştir. Sülfat giderim verimi ortalama %68 olarak periyot 6'da elde edilen değerlere yakındır (Şekil 4.4).

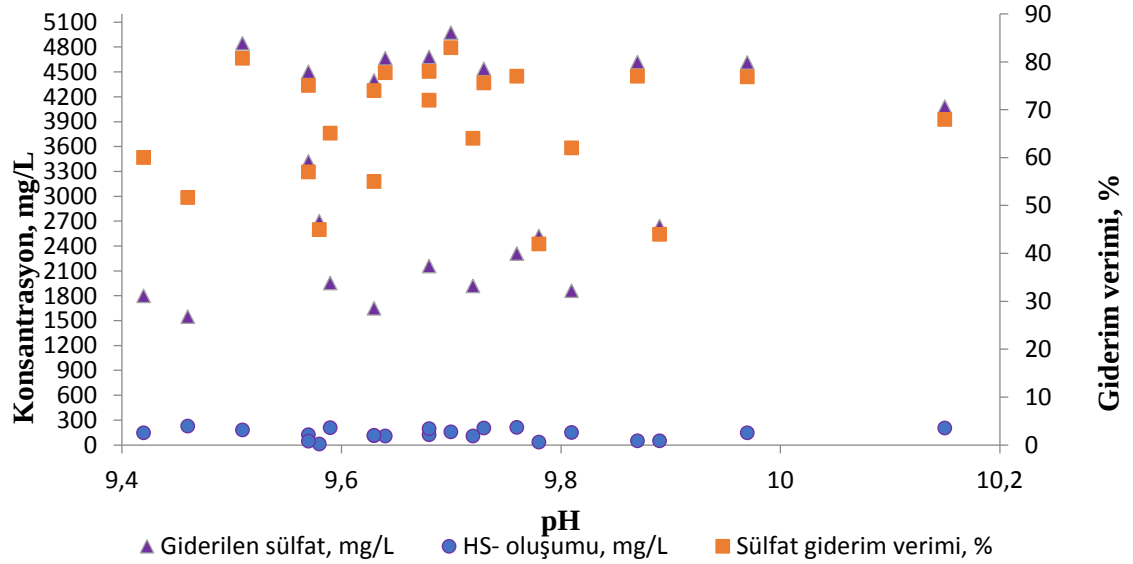


Şekil 4.3. Periyot 5, 6, 7 süresince KOİ giderim verimi

P5: KOİ: 6000 mg/L,
SO₄²⁻: 500 mg/L
HBS: 15 gün
C kaynağı: Etanol

P6: 6000 mg/L,
500 mg/L
7 gün
Etanol

P7: 6000 mg/L,
1000 mg/L
7 gün
Etanol



Şekil 4.4. Periyot 5-11 süresince SO₄²⁻ giderim verimi ve HS⁻ oluşumu

P5: KOİ: 6000 mg/L,
SO₄²⁻: 500 mg/L
HBS: 15 gün
C kaynağı: Etanol

P6: 6000 mg/L,
500 mg/L
7 gün
Etanol

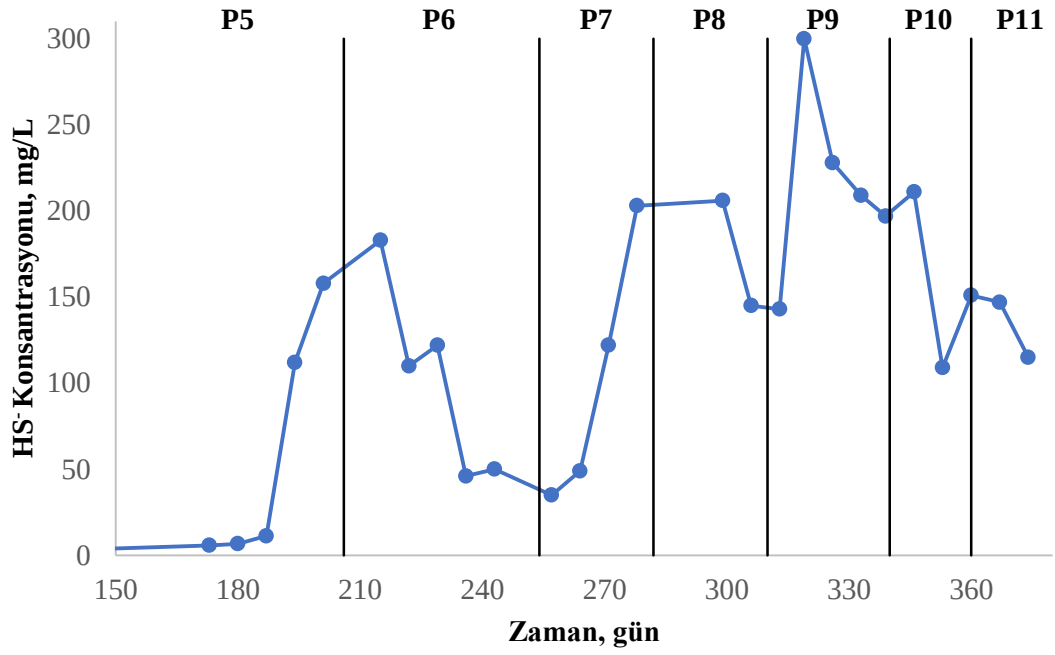
P7: 6000 mg/L,
1000 mg/L
7 gün
Etanol

P8: 3000 mg/L,
3000 mg/L
10 gün
Etanol

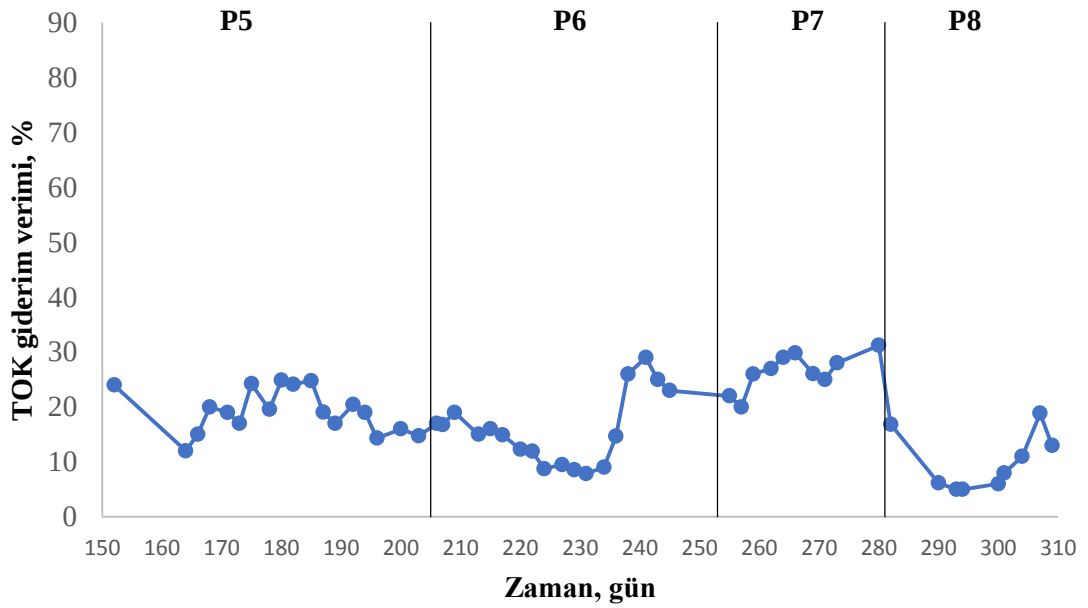
P9: KOİ: 3000 mg/L,
SO₄²⁻: 300 mg/L
HBS: 10 gün
C kaynağı: Etanol/Asetat= 1

P10: 3000 mg/L,
30000 mg/L
7 gün
1/2

P11: 3000 mg/L
3000 mg/L
7 gün
1/4



Şekil 4.5. Periyot 5-11 süresince HS⁻ oluşum miktarı



Şekil 4.6. Periyot 5, 6, 7, 8 süresince TOK giderim verimi

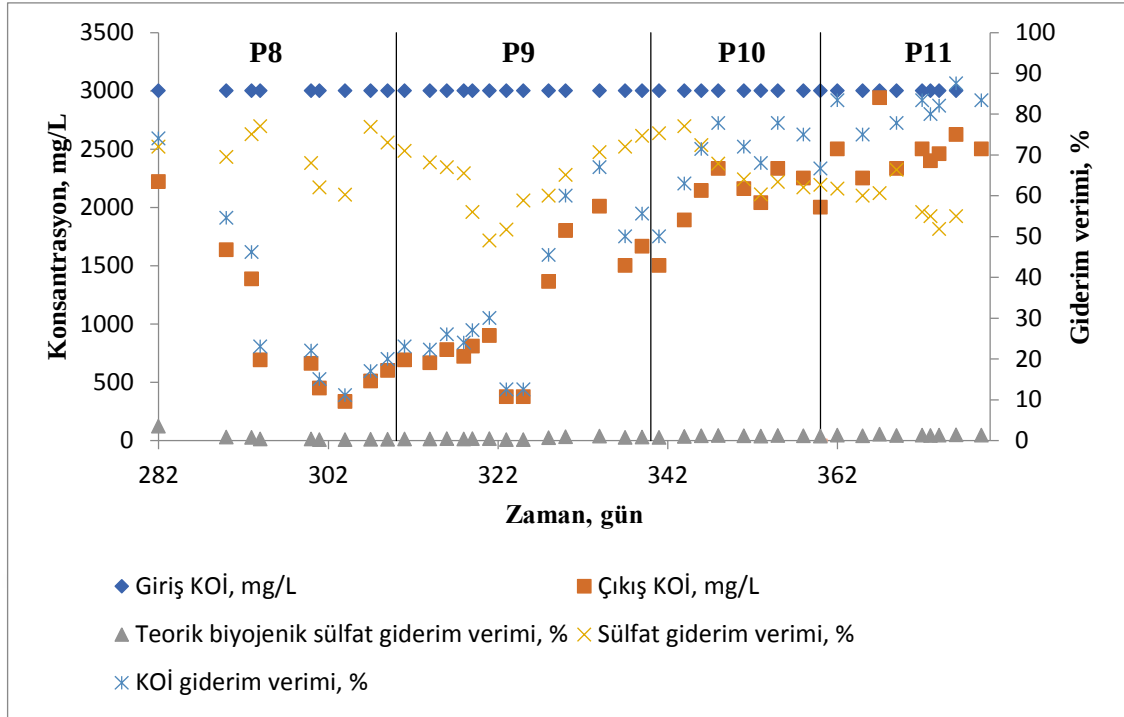
P5: KOİ: 6000 mg/L, SO42-: 500 mg/L HBS: 15 gün C kaynağı: Etanol	P6: 6000 mg/L, 500 mg/L 7 gün Etanol	P7: 6000 mg/L 1000 mg/L 7 gün Etanol	P8: 3000 mg/L 3000 mg/L 10 gün Etanol
---	--	--	---

KOİ/SO₄²⁻ oranının 12'den 6'ya düşmesinin organik madde giderim verimini arttırdığını göstermiştir. Teorik KOİ/ SO₄²⁻ oranı 0,67'dir (Lier vd., 2008). Dolayısı ile bu orana göre elektron akışı değişiklik göstererek; düşük KOİ/ SO₄²⁻ oranlarında sülfat giderimi beklenirken yüksek oranlarda KOİ gideriminin daha yüksek olacağı beklenebilen bir durumdur. Örneğin; Yurtsever vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada AnMBR'de KOİ/SO₄²⁻ oranını 0,67'den 2'ye çıkardıklarında KOİ giderim verimi %80'den %85'e ulaşmıştır.

En düşük KOİ/SO₄²⁻ oranının (1) ayarlandığı ikinci işletme periyodu ile reaktör işletimine devam edilmiştir. KOİ ve sülfat konsantrasyonu 3000 mg/L ve HBS: 10 gün'de tutulmuştur. Bu dönemde sülfat, KOİ ve TOK (Şekil 4.4, 4.7, 4.8) giderim verimleri sırasıyla; %31,42, %10 ve %70,41 olarak bulunmuştur. Sülfat gideriminin artması ile HS⁻ oluşumu da zamanla artmaktadır. Organik madde giderim veriminin azaldığını hem KOİ hem de TOK giderim verimlerinin periyot 7'ye (P7) kıyasla belirgin düşüşünden gözlemleyebiliriz.

Buraya kadar elde edilen sonuçlara göre organik karbon kaynağı türü KOİ ve sülfat gideriminde önemli bir etkidir. Aynı zamanda literatürde karbon kaynağının birden fazla karışım halinde uygulandığı sülfat indirgenme çalışmaları mevcuttur. Örneğin, Zhou vd. (2014) haloalkalifilik biyoreaktörde laktat ve etanol karbon karışımını, elektron verici olarak kullandıkları çalışmalarında, ortalama sülfat giderim verimi %91,1 ± 4,61 ve tek başına laktat kullanıldığında ortalama %37,8 ± 6,43 ve etanol kullanıldığında ise % 90,1 ± 5,4 olarak tespit etmişlerdir. 9, 10 ve 11. periyotlarda etanol/asetat oranı; 1/1, 1/2 ve 1/4 olarak hazırlanarak her üç periyotta KOİ/SO₄²⁻ oranı 1 ve HBS:10 gün olarak ayarlanmıştır. Periyot 8, 9, 10 ve 11'e ait sonuçlar KOİ giderim verimi Şekil 4.7'de ve TOK giderim verimi ise Şekil 4.8'de verilmiştir. Sülfat giderim verimi ise Şekil 4.4'te tüm periyotlar için gösterilmiştir. KOİ ve TOK giderim verimlerinde önemli değişiklikler gözlenmezken, sülfat giderim verimi %62'ye kadar azalmıştır.

Her biri yaklaşık 21 gün süren periyot 10 ve periyot 11'de KOİ giderim verimleri sırasıyla %70 - %82; TOK giderim verimleri %28 - %25 ve sülfat giderim verimleri ortalama %70 - %60 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre organik karbon kaynağı karışımında asetat konsantrasyonunun artışı sülfat giderim verimini düşürmüştür.



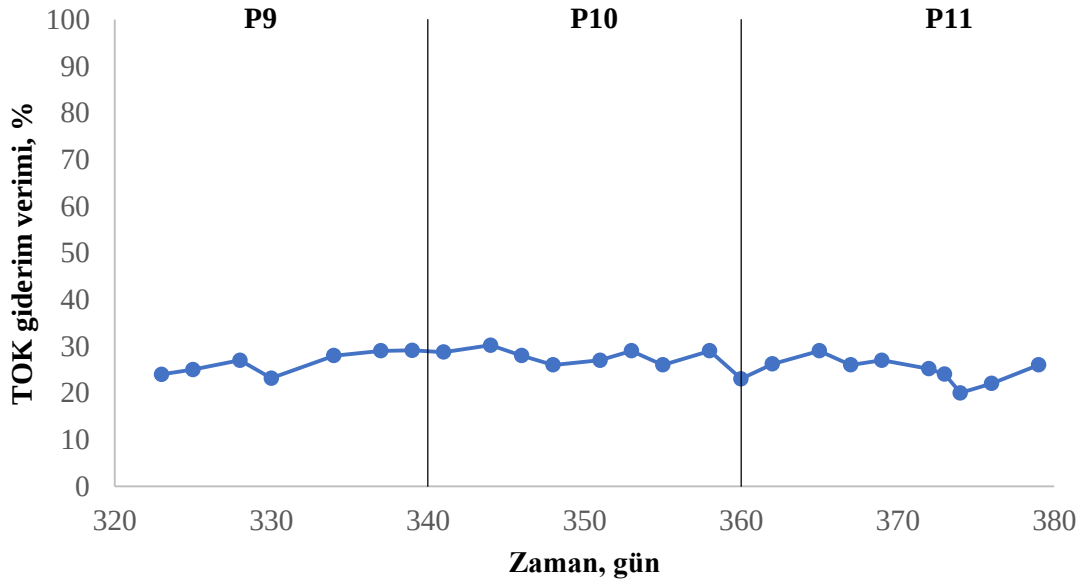
Şekil 4.7. Periyot 9, 10, 11 süresince KOİ giderim verimi

P8: KOİ: 3000 mg/L,
 SO₄²⁻: 300 mg/L
 HBS: 10 gün
 C kaynağı: Etanol

P9: 3000 mg/L
 3000 mg/L
 10 gün
 1

P10: 3000 mg/L,
 30000 mg/L
 7 gün
 1/2

P11: 3000 mg/L
 3000 mg/L
 7 gün
 1/4



Şekil 4.8. Periyot 9, 10, 11 süresince TOK giderim verimi

P9: KOİ: 3000 mg/L
 SO₄²⁻: 300 mg/L
 HBS: 10 gün
 C kaynağı: Etanol/Asetat= 1

P10: 3000 mg/L
 30000 mg/L
 7 gün
 1/2

P11: 3000 mg/L
 3000 mg/L
 7 gün
 1/4

TÜBİTAK 116Y133 nolu proje kapsamında gerçekleştirilen bu tez çalışmasının bir başka aşamasında haloalkali şartlarda membran kirlenmesinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Membran yüzeyinde gerçekleştirilen EDX analiz sonuçlarına göre membran yüzeyi sıyrılmamış numunelerde ağırlıkça %1-2 oranında kükürt (S) tespit edilmiştir. Aynı zamanda ağırlıkça %20-30 oksijen (O) içeriği de tespit edilmiştir.

Atıksuda organik ve inorganik bileşenlerin bulunması halinde, SİB'ler kirleticilerin giderimini ve metallerin sülfidler halinde çökmesini gerçekleştirebilir, substrat eksikliği harici elektron vericinin eklenmesi ile giderilebilir (Weidhaas, 2013). Aşağıdaki reaksiyonlarda ((4.3), (4.4) ve (4.5)) gösterildiği gibi metaller sülfidler halinde çökebilir (Widdele, 1988).



Bu çalışma esnasında gerçekleşen SO_4^{2-} indirgenmesinin teorik olarak hesaplanan giderilmesi gereken SO_4^{2-} konsantrasyonundan daha yüksek bulunması, reaktöre beslenen sentetik atıksu karışımında bulunan metallerin reaktör içerisinde sülfidler halinde çökmesi sonucu sülfat giderim verimine katkı sağladığını göstermiştir. Gerçekleştirilen bir sülfat indirgemesi çalışmasında metallerin metal sülfidler olarak çökmesinin pH'nın artması ile arttığı gözlenmiştir (Deng ve Lin, 2013). Bu tez çalışmasında da yüksek pH şartlarının hakim olması metal sülfid oluşma eğilimini desteklemektedir. Bu durumda çıkış atıksuyundaki sülfat giderim verimine katkıda bulunmuş olabilir.

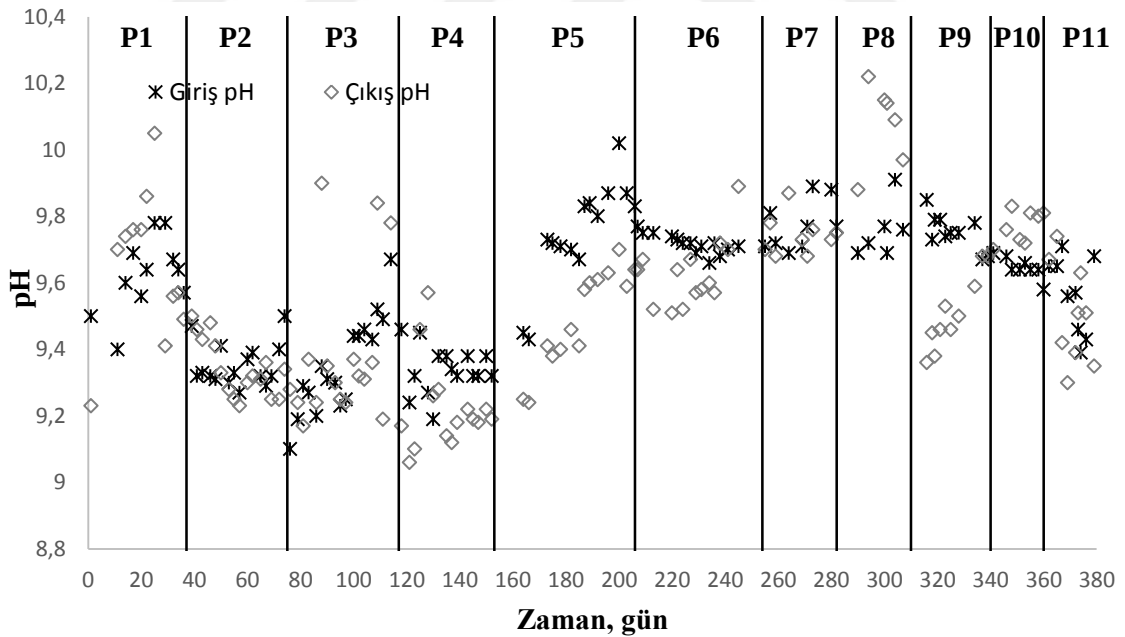
Biyoreaktörde spesifik bir sülfat indirgeyen bakteri türü belirlenmemiş olmasına rağmen sülfat indirgenmesinin bazı dönemlerde çok yüksek oranlarda gerçekleşmesi sülfat indirgeyen bakterilerin enerji ya da elektron kaynağı için diğer organizmalar ile iş birliği yaparak sülfat indirgenmesini arttırması ile açıklanabilir (Hao vd., 2014).

Biyoreaktörde asetat kullanılan dönemde sülfat indirgenmesi gerçekleşmemiştir. Asetat karbon kaynağını sadece birkaç SİB türünün okside edebildiği yapılan bir çalışmada belirlenmiştir (De Smul ve Verstraete, 1999). Bu çalışmadaki biyoreaktörde

de asetat indirgeyen SİB türlerinin bulunmadığı bu nedenle asetat kullanımının sülfat indirgenmesini etkilemediği düşünülmüştür.

4.2. SAnMBR İşletimi Süresince pH, Alkalinite ve İletkenlik Sonuçları

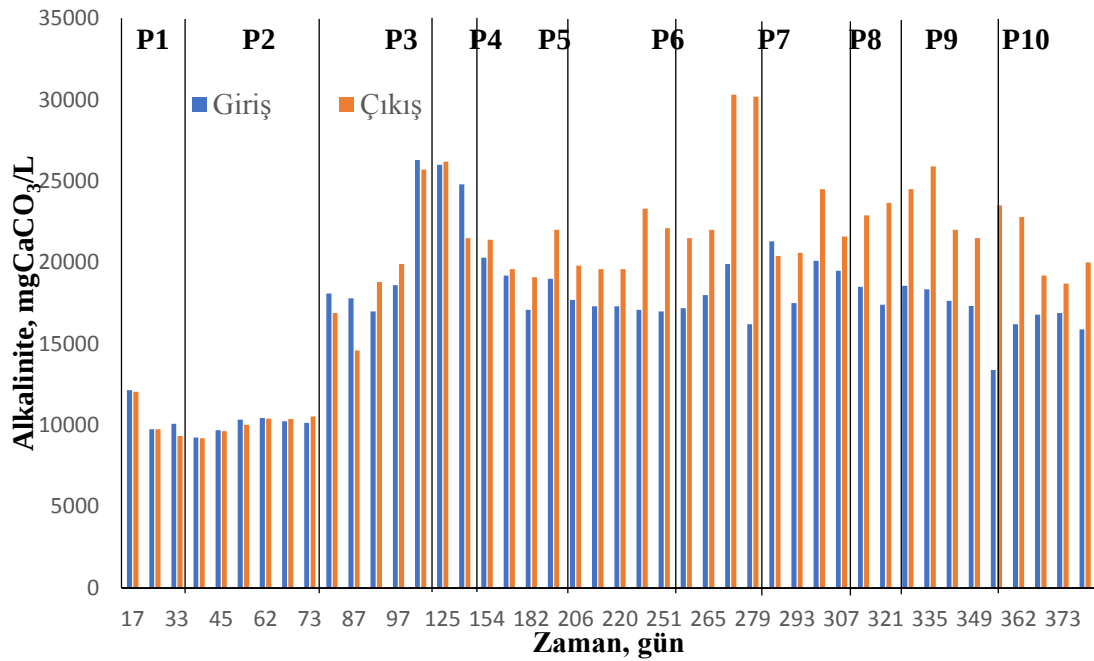
Reaktör işletimi süresince haloalkali şartların hakim olduğundan reaktör giriş ve çıkışı pH değerleri 9,2-10,2 aralığında olmuştur (Şekil 4.9). Bu değer aralığı haloalkalifilik mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerini gerçekleştirmeleri için uygundur. Reaktörde asetat ve etanolün karbon kaynağı kullanımına bağlı olarak pH'da meydana gelen küçük değişimler gözlenmiştir. Örneğin periyot 1, 2, 3 ve 4 süresince asetat kullanıldığı için etanol kullanılan 5, 6, 7 ve 8 periyotlarına göre pH nispeten daha düşük olmuştur. Bunun yanı sıra hem etanol hem asetat kullanılan 9, 10, 11 periyotlarında pH, asetat ve etanolün ayrı kullanıldığı dönemlerdeki pH değerleri arasında olmuştur. İşletim sırasında reaktör pH'ında reaktör çalışmasını etkileyebilecek pH değişimleri yaşanmamıştır.



Şekil 4.9. SAnMBR işletim süresince reaktör giriş ve çıkış pH değerleri

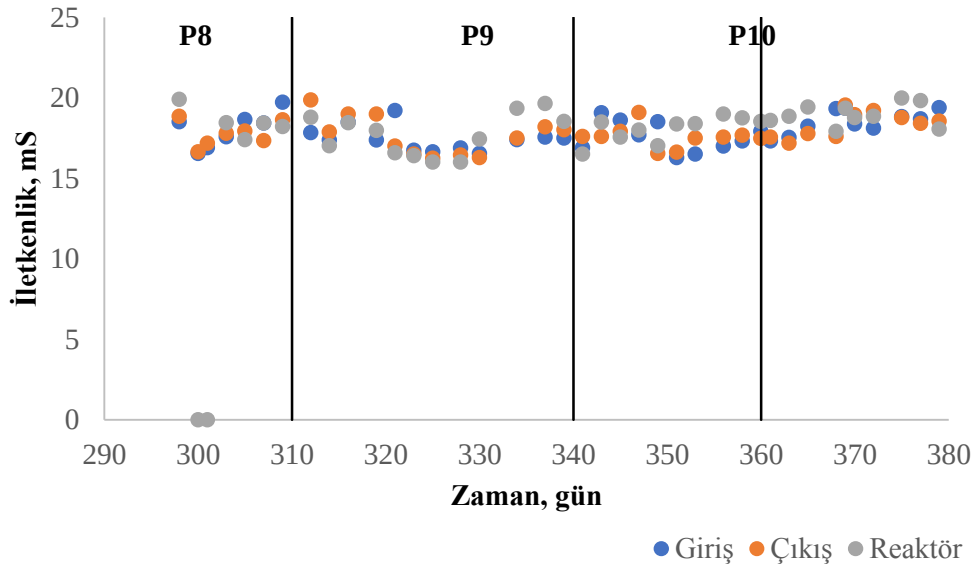
Haloalkali şartların sağlanması gerektiğinden reaktör giriş ve çıkışında alkalinite değerleri yüksektir (Şekil 4.10). Anaerobik şartlarda alkalinite parametresi, özellikle oluşan uçucu yağ asitlerinin ve CO₂ gazından kaynaklanabilecek pH düşüşünü tamponlama özelliğinden dolayı önemlidir. Reaktör giriş ve membran çıkışından alınan

numenelerde alkalinite değerlerinin çok değişmediği görülmüştür. Reaktör pH değerinin yaklaşık 9,5 olduğu ve işletim süresince alkalinite değerlerinin yüksek olduğu dikkate alınırsa reaktör giriş alkalinite değerleri beklenen değerlerdedir. Membran faktörü düşünüldüğünde çıkış alkalinite değerlerinin daha düşük olması beklenirken giriş ile yakın değerlerdedir. Bu durum reaktör ortamında alkaliniteye katkı sağlayacak hususları göstermektedir. Organik karbonun bir kısım mineralizasyonu sonucu CO₂ gazına dönüşebilir ve reaktör yüksek pH ortamında (pH:9,3-9,5) karbonat ve bikarbonat olarak bulunarak toplam alkaliniteye katkı sağladığı düşünülmektedir. Bir diğer yönden karbon kaynağı olarak asetat kullanılan reaktörde sülfat indirgenmesi Reaksiyon 4.2 gereği alkalinite üretse de ilk üç periyotta sistemde sülfat indirgenmesi gerçekleşmediğinden bu husus dikkate alınmamıştır. Ancak özellikle beşinci periyottan itibaren meydana gelen sülfat indirgenmesi ile doğru orantılı olarak çıkış atıksuyunun alkalinite değerleri giriş atıksuyuna nispeten daha fazla olmuştur.



Şekil 4.10. SANMBR işletim süresince reaktör giriş ve çıkış alkalinite değerleri

Reaktör işletiminin 300. gününden itibaren reaktör beslemesi, çıkış atıksuyu ve reaktör içeriğinin iletkenlik ölçümleri yapılmaya başlanmıştır. Sekizinci periyottan itibaren ölçülen iletkenlik sonuçları; giriş, çıkış ve reaktör iletkenlik konsantrasyonları sırasıyla ortalama; 17,88 mS, 17,83 mS, 18,27 mS değerlerinde ölçülmüştür (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Periyot 8, 9, 10, 11 süresince giriş ve çıkış iletkenlik değerleri

4.3. SAnMBR İşletimi Süresince Reaktör AKM, UAKM ve AKM ve Sonuçları

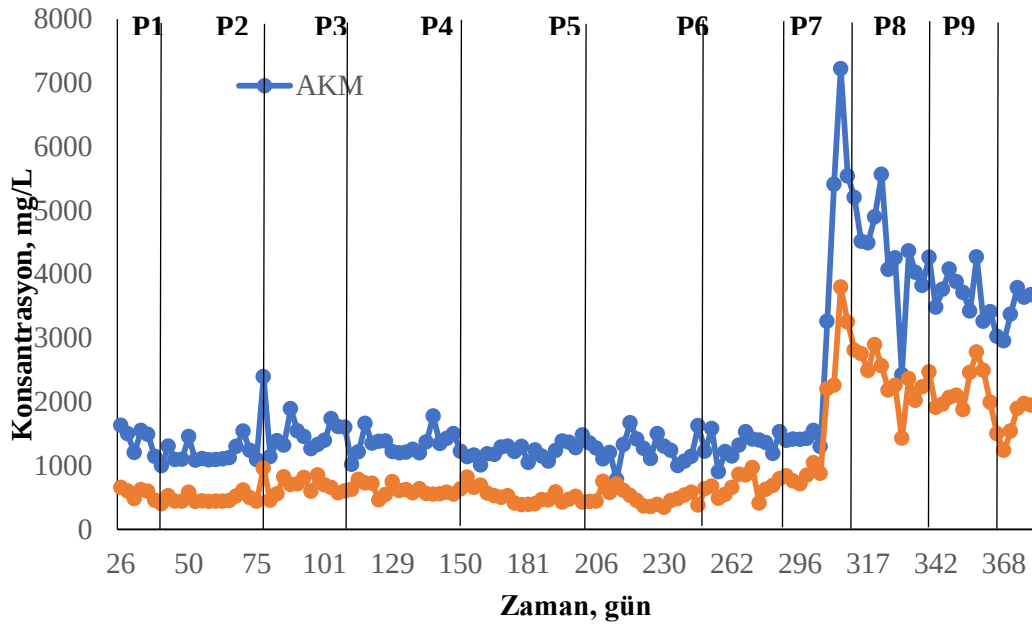
Reaktör askıda katı madde (AKM) konsantrasyonu ilk sekiz periyot boyunca aynı konsantrasyon aralığında ve ortalama 1312,75 mg/L (Şekil 4.12) olarak belirlenmiştir. Tespit edilen bu değer tuzlu olmayan ve pH:7 şartlarında çalıştırılan anaerobik membran biyoreaktörler için elde edilen değerlerden düşüktür. Bu nedenle sekizinci periyodun son günlerinde reaktöre Ambarlı İleri Biyolojik Atıksu Arıtma Tesisi Anaerobik çürütücüsünden alınan aşı verilmiştir. Reaktör şartlarına alıştırılmış aşının sisteme verilmesinden sonra reaktördeki ortalama AKM konsantrasyonu 3885,6 mg/L olmuştur.

İlk sekiz periyot boyunca reaktördeki uçucu askıda katı madde konsantrasyonu (UAKM) ortalama 583,17 mg/L, daha sonraki dönemlerde ise ortalama 2254,35 mg/L'ye yükselmiştir. Konsantrasyondaki artışın nedeni ortama verilen aşından kaynaklanmaktadır. UAKM konsantrasyonundaki artışla birlikte KOİ ve TOK giderim verimlerinde de artış yaşanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen UAKM konsantrasyon verilerine kıyasla Stephenson (2000) tarafından anaerobik membran biyoreaktörün daha yüksek UAKM (3-31 g/L) konsantrasyonlarında işletilebileceği bildirilmiştir. Reaktördeki düşük biyokütle konsantrasyonu, Van Gölü'ndeki sedimentlerden aşılana karışık kültürün çok düşük büyüme oranlarına bağlanabilir. Sousa vd. (2015) tarafından yapılan haloalkali

koşullarda sülfat indirgeme işleminde de biyokütlenin düşük büyüme hızı gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca işletim parametrelerinde meydana gelen değişimlerin de ($\text{KOİ}/\text{SO}_4^{2-}$ oranı, HBS) AKM ve UAKM konsantrasyonlarını etkilemediği Şekil (4.12)'ten görülmektedir.

Tüm periyotlarda UAKM konsantrasyonunda dalgalanmalar yaşanmıştır. Bu dalgalanmaların sebebi biyoreaktörde bulunan karışık kültür ve kültürlenemeyen bakterilerin varlığı ile açıklanabilir. Bölüm 4.5'te sunulan mikrobiyal analiz sonuçlarına göre bu periyotlara ait sonuçlar daha çok kültürlenemeyen bakterilerin mevcudiyetini göstermektedir. Hao vd. (2014) SİB için yaygın olarak seçilen elektron vericilerin yararlarını ve kısıtlamalarını derledikleri çalışmalarında etanol ve asetat kullanımının düşük SİB biyokütle verimlerine neden olduklarını bildirmişlerdir.

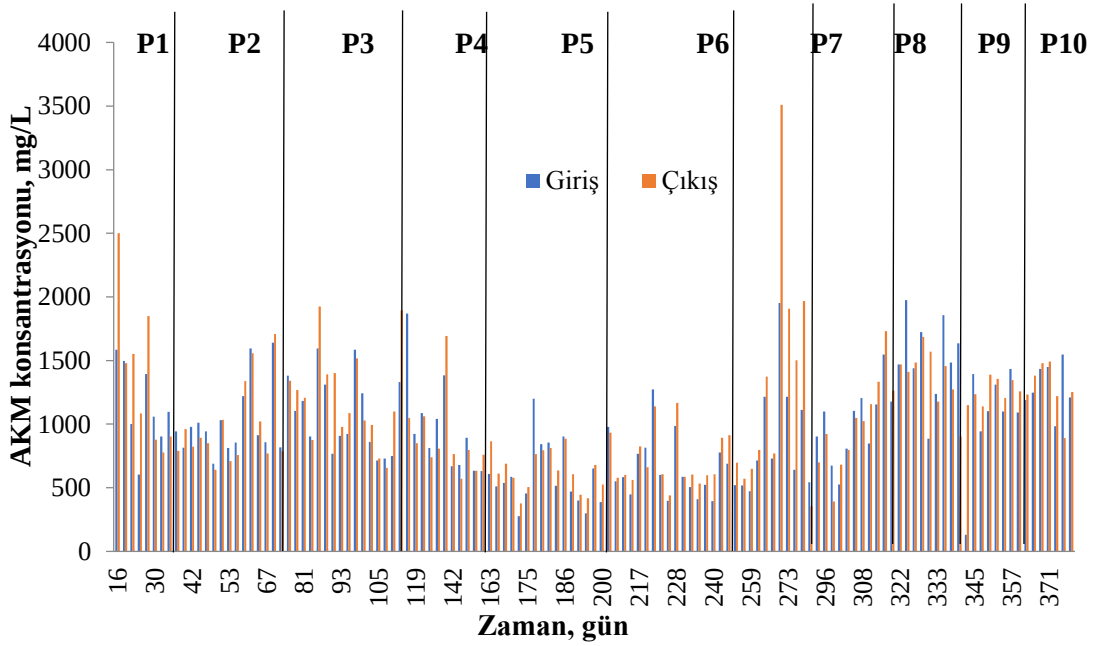


Şekil 4.12. SAnMBR işletim süresince reaktör AKM ve UAKM değişimi

15 mmol/L konsantrasyonu üzerindeki asetat değerleri, sülfat indirgenmesini inhibe ettiği yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Muthumbi vd., 2001; Koschorreck vd., 2004; Widdele, 1988). Reaktör çıkışından alınan numune ile HPLC cihazında yapılan analiz sonucuna göre çıkış atıksuyunda 125-225 mg/L aralığında asetat tespit edilmiştir. Bu değerler mmol cinsinden 50-90 mmol/L olarak ifade edilebilir. Belirlenen asetat konsantrasyonları sınır olarak belirlenen 15 mmol/L asetat değerinin üzerinde olduğu için SİB'leri inhibe ederek büyümelerini ve aktivitelerini yerlerine getirmeyi engellemiş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca sentetik atıksu bileşiminde bulunan amonyum klorür

(NH₄Cl) reaktör içerisindeki yüksek pH ile serbest NH₃'e dönüşüp SİB'ler için toksik etkiye neden olarak sülfat indirgeyen bakterilerin büyüyüp gelişmelerini engellemiş olabilir.

Reaktöre beslenen atıksu ve reaktör çıkışından alınan numuneler ile gerçekleştirilen askıda katı madde (AKM) sonuçları Şekil 4.13'te verilmiştir. Giriş ve çıkış AKM konsantrasyonları ortalama; 1013 mg/L ve 1044 mg/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.13. SAnMBR işletim süresince giriş ve çıkış AKM konsantrasyonu değişimi

4.4. SAnMBR İşletimi Süresince Gaz Oluşumu

Tüm işletme periyotlarında çok az gaz oluşumu gözlenmiş ve az da olsa toplanan gaz içeriğinde CO₂ ve CH₄ gazlarına rastlanılmamıştır. Mikrobiyal analiz sonuçlarında da reaktörde metanojen mevcudiyeti hemen hemen yoktur ve buna paralel olarak metan gazı oluşumu gözlenmemiştir. Sülfat indirgenmesinde asetat ve etanol dönüşümlerindeki son ürünler Bölüm 2.3'te verilen Reaksiyon 2.3 ve 2.4'e göre gaz ürünler değildir. Yaklaşık %70-80 civarlarında gerçekleşen KOİ gideriminde anaerobik kültürlerden dolayı CO₂ gazının oluşabileceği düşünülmüş fakat reaktördeki yüksek pH şartlarından dolayı CO₂'in daha çok karbonat olarak mevcut olduğu alkalinite sonuçlarıyla ilişkilendirilmiştir. Benzer sonuçlar haloalkali şartlarda işletilen hidrojen beslemeli biyoreaktörde sülfat indirgenmesinin araştırıldığı çalışmada da tespit edilmiş

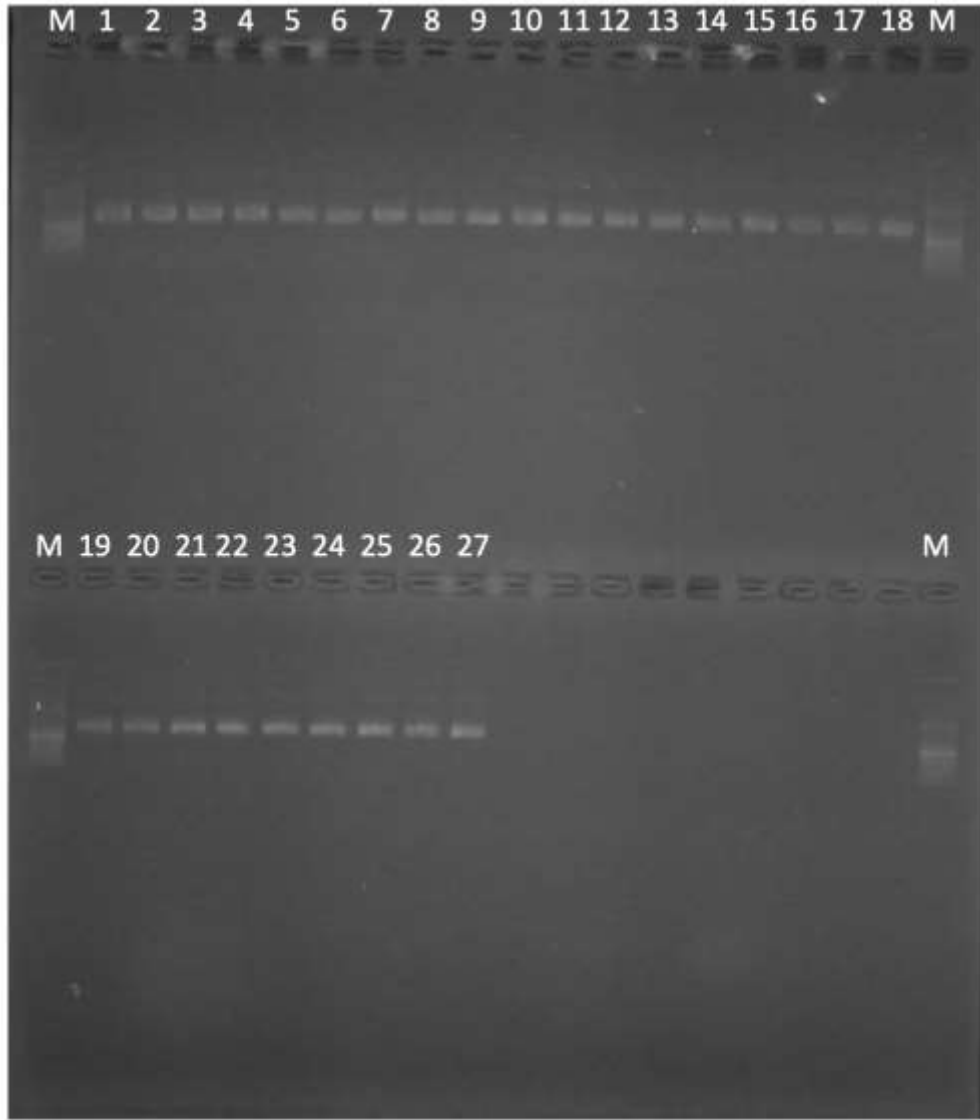
ve CO₂ tespit edilmezken metan yüzdesi maksimum %15 olarak belirlenmiştir (Sousa vd., 2015). Aynı zamanda sülfür de yüksek pH değerlerinde daha çok iyonize formda olup HS⁻ şeklindedir ve daha az uçuculuk ve toksisite sergileyerek biyogazda daha düşük sülfür yüzdelere sebebiyet vermektedir.

4.5. Mikrobiyal Ekoloji

Çalışmada üçüncü ve beşinci işletme periyotlarında reaktör sıvısından alınan numuneler ilk olarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuş ve ardından PCR analizi yapılmıştır. PCR işlemlerine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.14’de verilmiştir. Elde edilen agaroz jel görüntüleri PCR işlemlerinin her iki numune için başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu işlemten sonra elde edilen PCR ürünleri DGGE sisteminde akrilamid jel içerisine yüklenmiş ve elektrik akımı altında karışık DNA fragmentlerinin denatürant jel içerisinde ayrılması sağlanmıştır. Her bir numune için yapılan PCR analizi ile çoğaltma işlemi kontrol edilmiştir (Şekil 4.15).

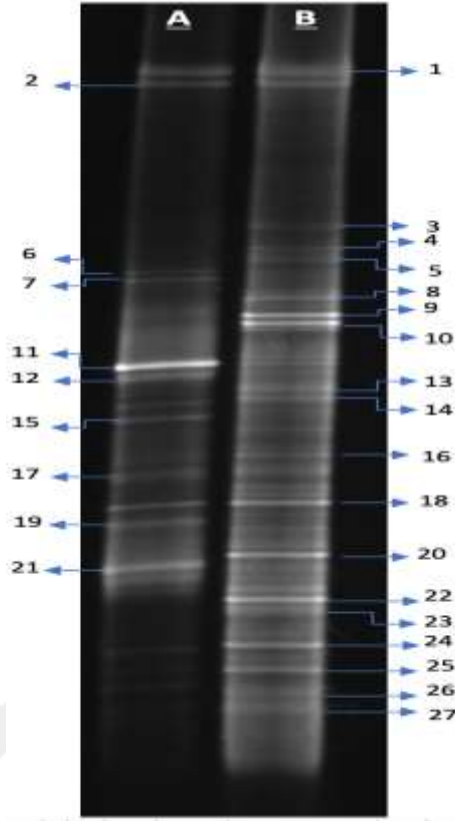


Şekil 4.14. 3. ve 5. işletme periyotlarına ait örneklere uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü



Şekil 4.15. 3. ve 5. periyotlarına ait örneklerin DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü

Her bir numuneye ait DGGE jel görüntüsünde farklı türleri temsil eden yatay yönde numaralandırılmış bantlar Şekil 4.16’da verilmiştir. SAnMBR’den alınan numunelerde 27 farklı bakteri türü tespit edilmiştir. Etanol ile beslenen şartlardaki membranda mikrobiyal tür çeşitliliği asetat ile olana göre daha fazladır. Her bir bant için tespit edilen PCR ürünlerinin sekans analizi sonucunda gen bankası erişim numaraları, bantları temsil eden mikrobiyal tür, benzerlik yüzdesi ve organizma sınıfları bant numaraları ile birlikte Tablo 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.16. 3. ve 5. işletme periyotlara ait örneklerin DGGE bantları

Reaktörden alınan numunelerde tespit edilen türler Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Benzerlik oranları ve referans bilgileri ayrıca tabloda sunulmuştur.

Tablo 4.3. 3. ve 5. işletme periyotlarında SAnMBR’de tespit edilen türler

Bant	Mikroorganizma Türü	Gen Bankası Erişim No	Benzerlik (%)	Referans
1	<i>Flavosolibacter</i> sp.	FJ177533	85	Lim, J.H., Baek, S.H. and Lee, S.T. Novel Flavosolibacter strains isolated from fresh water sediment Unpublished
2	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium	CU923588	87	Riviere, D., Desvignes, V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guermazi, S., Weissenbach, J., Li, T., Camacho, P. and Sghir, A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge ISME Journal 3 (6), 700-714 (2009)
3	Uncultured <i>Trachelomonas</i>	JN679075	94	Fang, Y. Microbial community composition in MBR Unpublished
4	Uncultured <i>Chitinophagaceae</i> bacterium	HG973425	86	Dirren, S., Salcher, M. M., Blom, J. F., Schweikert, M. and Posch, T. Ménage-à-trois: the amoeba <i>Nuclearia</i> sp. from Lake Zurich with its ecto-and endosymbiotic bacteria Protist, 165(5), 745-758.

Tablo 4.3. in devami

5	Uncultured <i>Trachelomonas</i>	JN679099	92	Fang, Y. Microbial community composition in MBR Unpublished
6	Uncultured bacterium	JX225219	93	Handley, K.M., Wrighton, K.W., Miller, C.S. and Banfield, J.F. Subsurface microbial community response to acetate amendment Unpublished
7	Uncultured bacterium	JX225882	92	Handley, K.M., Wrighton, K.W., Miller, C.S. and Banfield, J.F. Subsurface microbial community response to acetate amendment Unpublished
8	<i>Flavobacteriales bacterium</i>	KC295388	86	Green, D.H., Brennan, D. and Hart, M.C. Bacterial diversity associated with the coccolithophorid algae <i>Emiliania huxleyi</i> and <i>Coccolithus braarudii</i> Unpublished
9	Uncultured <i>Saprospiraceae bacterium</i>	EU177726	92	Xia, Y., Kong, Y., Thomsen, T.R. and Nielsen, P.H. Identification and ecophysiological characterization of epiphytic protein-hydrolyzing Saprospiraceae ("Candidatus Epiflobacter" spp.) in activated sludge. Applied Environmental Microbiology, 74(7), 2229-2238 (2008)
10	<i>Saprospiraceae bacterium</i>	GQ902899	81	Beloqui, A., Nechitaylo, T.Y., Lopez-Cortes, N., Ghazi, A., Guazzaroni, M.E., Polaina, J., Strittmatter, A.W., Reva, O., Waliczek, A., Yakimov, M.M., Golyshina, O.V., Ferrer, M. and Golyshin, P.N. Diversity of glycosyl hydrolases from cellulosedegrading communities enriched from casts of two earthworm species Applied Environmental Microbiology 76 (17), 5934-5946 (2010)
11	Uncultured bacterium	KF956496	98	Xu, X., Xia, S. and Rittmann, B.E. Bioreduction of vanadium (V) in groundwater by autohydrogentrophic bacteria: mechanisms and microorganisms Unpublished
12	<i>Methanogenic prokaryote</i>	KC821490	99	Ding, C., Chen, L. and Zhang, H. Phylogenetic diversity of microbial communities associated with hexadecane degradation under hypothermia methanogenic condition Unpublished
13	Uncultured bacterium	KM999335	91	Rout, S.P., Charles, C.J., Doulgeris, C., McCarthy, A.J., Rooks, D.J., Loughnane, J.P., Laws, A.P. Humphreys, P.N. Anoxic biodegradation of isosaccharinic acids at alkaline pH by natural microbial communities. PloS one 10(9), e0137682 (2015)
14	Uncultured <i>gamma proteobacterium</i>	AF441937	82	Frias-Lopez, J., Zerkle, A.L., Bonheyo, G.T. and Fouke, B.W. Partitioning of bacterial communities between seawater and healthy, black band diseased, and dead coral surfaces. Applied Environmental Microbiology 68(5), 2214-2228 (2002)

Tablo 4.3. 'in devamı

15	<i>Zobellella taiwanensis</i>	JQ246892	99	Tao, Y. Direct Submission, Submitted (06-DEC-2011) Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, 9 Section 4, Renmin Nan Road, Chengdu, Sichuan 610041, P.R. China
16	Uncultured <i>Chloroflexi bacterium</i>	EF613959	80	Kim, M.C. and Ka, J.O. Molecular Analysis of Bacterial Community Structures in Paddy Soil Planted with Genetically-Modified Rice Varieties Unpublished
17	Uncultured <i>Flavobacteriaceae bacterium</i>	MH728462	94	Grosser, S., Sauer, J., Paijmans, A.J., Caspers, B.A., Forcada, J., Wolf, J.B. and Hoffman, J.I. Fur seal microbiomes are shaped by the social environment, Show mother-offspring similarities and are affected by host genetic quality Unpublished
18	<i>Thiobacillus aquaesulis</i>	LN794608	92	Bharath, G., Gangagni Rao, A. and Swamy, Y.V. Biodegradation Unpublished
19	Uncultured <i>Synergistetes bacterium</i>	CU927842	90	Riviere, D., Desvignes, V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guermazi, S., Weissenbach, J., Li, T., Camacho, P. and Sghir, A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge ISME J 3 (6), 700-714 (2009)
20	Uncultured <i>Levilinea</i> sp.	HE861032	95	Mapelli, F.M., Tsiamis, G.T., Scaglia, B.S., Marasco, R.M., Balloi, A.B., Rolli, E.R., Tambone, F.T., Vasileiadis, S.V., Adani, F.A., Bourtzis, K.B., Borin, S.B. and Daffonchio, D.D. Succession of a bacterial rhizospheric community along a chronosequence of a cold desert Unpublished
21	Uncultured <i>Candidatus Nitrotoga</i> sp.	KM063342	88	Schmidt, B., Sánchez, L.A., Fretschner, T., Kreps, G., Ferrero, M. A., Siñeriz, F. and Szewzyk, U. Isolation of Sphaerotilus–Leptothrix strains from iron bacteria communities in Tierra del Fuego wetlands FEMS microbiology ecology 90(2), 454-466 (2014)
22	Uncultured <i>beta proteobacterium</i>	FM991991	96	Sanchez, O., Garrido, L., Mas, J. and Becares, E. Molecular characterization of microbial communities in constructed wetlands in relation to hydraulic design and plant species Unpublished
23	<i>Georgfuchsia toluolica</i>	NR_115995	91	Weelink, S.A., Van Doesburg, W., Saia, F.T., Rijpstra, W.I.C., Röling, W.F., Smidt, H. and Stams, A. J. A strictly anaerobic betaproteobacterium <i>Georgfuchsia toluolica</i> gen. nov., sp. nov. degrades aromatic compounds with Fe (III), Mn (IV) or nitrate as an electron acceptor FEMS microbiology ecology 70(3), 575-585 (2009)

Tablo 4.3.'in devamı

24	<i>Nitrospira lenta</i>	NR_148573	95	Nowka, B., Off, S., Daims, H. and Spieck, E. Improved isolation strategies allowed the phenotypic differentiation of two <i>Nitrospira</i> strains from widespread phylogenetic lineages FEMS microbiology ecology 91(3), fiu031 (2014)
25	Uncultured <i>proteobacterium</i>	HE861143	90	Mapelli, F.M., Tsiamis, G.T., Scaglia, B.S., Marasco, R.M., Balloi, A.B., Rolli, E.R., Tambone, F.T., Vasileiadis, S.V., Adani, F.A., Bourtzis, K.B., Borin, S.B. and Daffonchio, D.D. Succession of a bacterial rhizospheric community along a chronosequence of a cold desert Unpublished
26	Uncultured bacterium	KR312920	88	Ding, C., Chen, L. and Zhang, H. Phylogenetic diversity of microbial communities associated with hexadecane degradation under hypothermia methanogenic condition Unpublished
27	Uncultured bacterium	KR325607	87	Chang, B.V. and Yang, C.W. Bacterial communities associated with tetrabromobisphenol-A biodegradation with a combination of sludge-amended soil and spent mushroom compost Unpublished

Elde edilen sonuçlarda anaerobik reaktörde tespit edilen bakterilerin genellikle uncultured türlerden oluştuğunu göstermiştir. Akrilamid jel içerisinde 2 ve 19 nolu olarak gösterilen bakteriler anaerobik bir reaktörde (Riviere vd. 2009), 13 nolu bakteri ise yüksek pH'lı alkali şartlarda yaşayan tür olarak rapor edilmiştir (Rout vd. 2015).

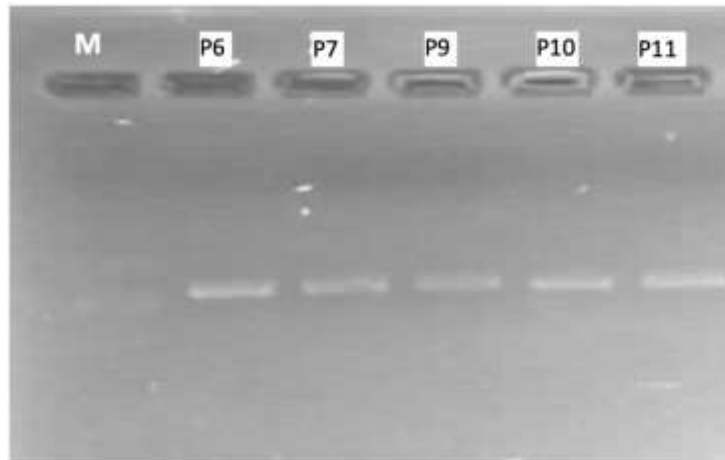
Tespit edilen mikroorganizma sınıflarının önemli bir yüzdesinin Environmental samples (%48) grubundaki bakteri sınıfında yer aldığı tespit edilmiştir. Bunun yanında CFB grup bakteri (%30), b-proteobacteria (%19) ve gproteobacteria (%4) grubuna ait bakteri türlerinin bulunduğu belirlenmiştir.

Muthumbi vd. (2001) mikrobiyal sülfat indirgenmesini araştırdıkları çalışmalarında reaktördeki bakteriyel topluluklar arasında tipik SİB'lerin tespit edilemesinin nedenini sülfat indirgeyen bakterilerin sayısal olarak baskın olmaması ve dolayısıyla DGGE modelinde açıkça görülmemesi ile ilgili olduğunu savunmuşlardır. SİB grubuna özgü PCR primerleri kullanan bir DGGE analizi, asetat ile beslenen bir sülfat indirgenme reaktöründe sülfat indirgeyici bakteriyel toplulukların bileşimi ile performans arasındaki potansiyel ilişkinin analizini büyük ölçüde kolaylaştırabilir (Muthumbi vd., 2001). Steril olmayan bir giriş beslemesi ile beslenen anaerobik reaktörlerin, asetat ve sülfat gibi spesifik substratlar üzerinde muhafaza edilmelerine rağmen oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir.

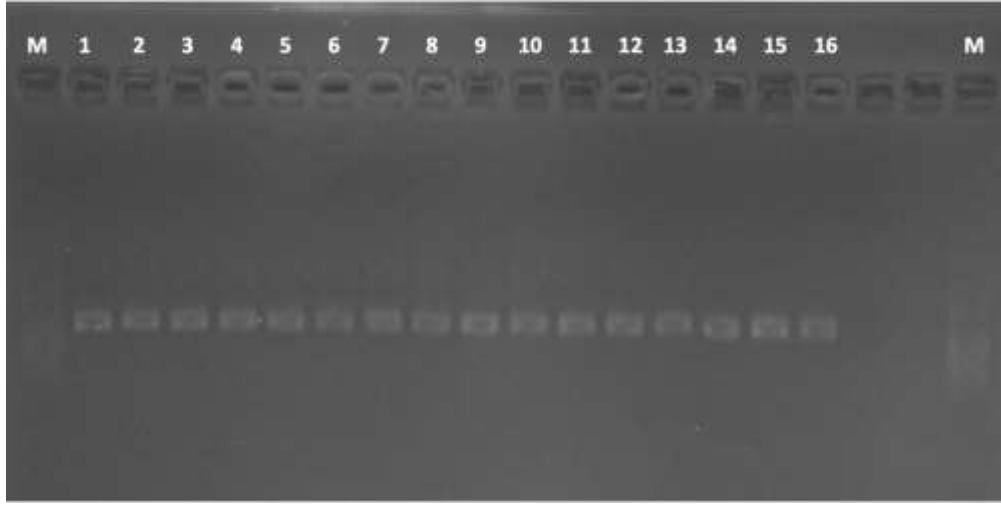
Hashsham vd. (2000) ve Fernandez vd. (2000), bakteriyel topluluk yapısındaki değişikliklerin, muhtemelen sayısal olarak küçük fakat önemli bakteri topluluklarının varlığı nedeniyle topluluk işlevine yansımadığını bulmuştur. Bu nedenle, tam ölçekli anaerobik reaktörlerde asetat ile sülfat indirgemesinin arttırılması için, çeşitli çevresel ve operasyonel koşulların aktif SRB bakteri topluluklarının yoğunluğu ve bileşimi üzerindeki etkisini belirlemek için moleküler karakterizasyon teknikleri üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Muthumbi vd., 2001).

Koschorreck vd. (2004) asidik gölün arıtımı için sülfat indirgeyen reaktörde asetatın birikimini ve inhibe edici özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında etanolü tamamen CO₂'e oksitleyen sülfat indirgeyen bakterilerin reaktörde bulunmadığını gözlemlemişlerdir.

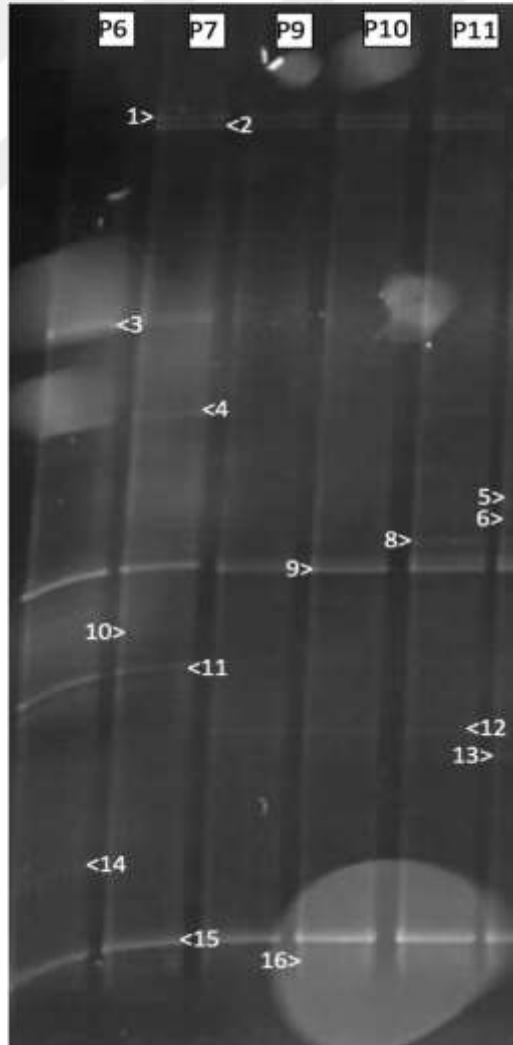
SAnMBR'nin işletimi devam ederken 6, 7, 9 10 ve 11. işletme periyotlarında membran yüzeyinden alınan numunelerin PCR işlemlerine ait agaroz jel görüntüsü Şekil 4.17'de verilmiştir. Elde edilen agaroz jel görüntüleri PCR işlemlerinin bütün numuneler için başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu işlemde sonra elde edilen PCR ürünleri DGGE sisteminde akrilamid jel içerisine yüklenmiş ve elektrik akımı altında karışık DNA fragmentlerinin denatürant jel içerisinde ayrılması sağlanmıştır (Şekil 4.18). DGGE işlemi sonucunda söz konusu periyotlarda reaktörde 16 adet farklı mikroorganizma türünün baskın olduğu tespit edilmiştir. Akrilamid jelde tespit edilen türlere ait PCR analizi sonucunda elde edilen ürünler agaroz jelde yürütülmüş ve elde edilen görüntü Şekil 4.19'da verilmiştir. Elde edilen görüntüde PCR işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiği görülmüştür. 6, 7, 9, 10 ve 11. işletme periyotlarında SAnMBR'de tespit edilen türler Tablo 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.17. 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklere uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü



Şekil 4.18. 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklerin DGGE bantları kesildikten sonra uygulanan PCR işlemi sonucu elde edilen jel görüntüsü



Şekil 4.19. 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarına ait örneklerin DGGE görüntüsü

Tablo 4.4. 6, 7, 9, 10, 11. işletme periyotlarında SANMBR’de tespit edilen diğer türler

Bant No	Mikroorganizma Türü	Gen Bankası Erişim No	Benzerlik (%)	Referans
1	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	EU188793	88	Castro, M., Castelli, J., Echeverria, P., Quintana, E., Nieves, V. and Borthagaray, G. Direct Submission, Submitted (02-OCT-2007) Microbiology, Facultad de Quimica, Av Gral Flores 2124, Montevideo 11800, Uruguay
2	<i>Erysipelothrix tonsillarum</i>	MK063688	92	Pomaranski, E.K., Reichley, S.R., Yanong, R., Shelley, J., Pouder, D.B., Wolf, J.C., Kenelty, K.V., Van Bonn, B., Oliaro, F., Byrne, B., Clothier, K.A., Griffin, M.J., Camus, A.C. and Soto, E. Characterization of spaC-type Erysipelothrix sp. isolates causing systemic disease in ornamental fish Jornal of Fish Diseases 41 (1), 49-60 (2018) PUBMED Griffin, M.J., Reichley, S.R., Pomaranski, E.K. and Soto, E. Direct Submission, Submitted (17-OCT-2018) Thad Cochran National Warmwater Aquaculture Center, Mississippi State University, 127 Experiment Station Road, Stoneville, MS 38776, USA
3	<i>Porphyromonadaceae bacterium</i>	HF675162	90	Wouters, K., Moors, H., Boven, P. and Leys, N. Evidence and characteristics of a diverse and metabolically active microbial community in deep subsurface clay borehole water FEMS Microbiology Ecology 86(3), 458-473 (2013) Wouters, K. Direct Submission, Submitted (01-FEB-2013) Environment, Health and Safety, SCKCEN, Boeretang 200, 2400, BELGIUM
4	Uncultured <i>Clostridia</i> bacterium	KX672170	87	Zhang, H., He, H., Cao, R. and Zhang, Z. Direct Submission, Submitted (07-AUG-2016) School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology (Weihai), The 2nd West Wenhua Road, Weihai 264209, China

Tablo 4.4.’ün devamı

5	<i>Gamma proteobacterium</i>	HQ663001	79	Martinez-Garcia, M., Swan, B.K., Poulton, N.J., Gomez, M.L., Masland,D., Sieracki, M.E. and Stepanauskas, R. High-throughput single-cell sequencing identifies photoheterotrophs and chemoautotrophs in freshwater bacterioplankton ISME Journal 6 (1), 113-123 (2012) Martinez-Garcia, M., Swan, B., Poulton, N., Lluesma-Gomez, M., Masland, D., Sieracki, M. and Stepanauskas, R. Direct Submission, Submitted (29-NOV-2010) Single Cell Genomics Center, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, 180 McKown Point Road, P.O. Box 475, West Boothbay Harbor, ME 04575-0475, USA
6	<i>Gamma proteobacterium</i>	HQ663065	75	Martinez-Garcia, M., Swan, B.K., Poulton, N.J., Gomez, M.L., Masland,D., Sieracki, M.E. and Stepanauskas, R. High-throughput single-cell sequencing identifies photoheterotrophs and chemoautotrophs in freshwater bacterioplankton ISME Journal 6 (1), 113-123 (2012) Martinez-Garcia, M., Swan, B., Poulton, N., Lluesma-Gomez, M., Masland, D., Sieracki, M. and Stepanauskas, R. Direct Submission, Submitted (29-NOV-2010) Single Cell Genomics Center, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, 180 McKown Point Road, P.O. Box 475, West Boothbay Harbor, ME 04575-0475, USA
7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	MK796034	79	Truong, X.H., Rubio, M.M.M. and Dela Cruz, A.A. Direct Submission, Submitted (17-APR-2019) Crop Protection Division, Philippine Rice Research Institute, Maligaya, Science City of Munoz, Nueva Ecija 3119, Philippines
8	Uncultured <i>Anaerorhabdus</i> sp.	LN996030	92	De Vrieze, J., Raport, L., Roume, H., Vilchez-Vargas, R., Jauregui,R.J., Pieper, D.H. and Boon,N. The full-scale anaerobic digestion microbiome is represented by specific marker populations Unpublished De Vrieze, J. Direct Submission Submitted (01-DEC-2015) Laboratory of Microbial Ecology and Technology, Universiteit Gent, Coupure Links 653, 9000, BELGIUM

Tablo 4.4.’ün devamı

9	<i>Uncultured Clostridia bacterium</i>	KX672170	92	Zhang, H., He, H., Cao, R. and Zhang, Z. Direct Submission, Submitted (07-AUG-2016) School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology (Weihai), The 2nd West Wenhua Road, Weihai 264209, China
10	<i>Halomonas alkalicola</i>	MK478810	84	Zmorrod, N. Direct Submission Submitted (03-FEB-2019) Biological and Environmental Sciences, Beirut Arab University, Dibbieh, Dibbieh 11-50-20 Riad El Sol, Lebanon
11	<i>Caldanaerobacter subterraneus</i>	NR_117591	81	Yarza, P., Sproer, C., Swiderski, J., Mrotzek, N., Spring, S., Tindall, B.J., Gronow, S., Pukall, R., Klenk, H.P., Lang, E., Verbarg, S., Crouch, A., Lilburn, T., Beck, B., Unosson, C., Cardew, S., Moore, E.R., Gomila, M., Nakagawa, Y., Janssens, D., De Vos, P., Peiren, J., Suttels, T., Clermont, D., Bizet, C., Sakamoto, M., Iida, T., Kudo, T., Kosako, Y., Oshida, Y., Ohkuma, M., Arahal, D., Spieck, E., Pommerening Roeser, A., Figge, M., Park, D., Buchanan, P., Cifuentes, A., Munoz, R., Euzeby, J.P., Schleifer, K.H., Ludwig, W., Amann, R., Glockner, F.O. and Rossello-Mora, R. Sequencing orphan species initiative (SOS): Filling the gaps in the 16S rRNA gene sequence database for all species with validly published names Systematic Applied Microbiology 36 (1), 69-73 (2013) CONSRTM NCBI RefSeq Targeted Loci Project Direct Submission, Submitted (28-APR-2014) National Center for Biotechnology Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA Sproer, C. Direct Submission, Submitted (12-AUG-2011) to the INSDC. D, Molecular Systematics, Inhoffenstrasse 7B, D-38124 Braunschweig, GERMANY

Tablo 4.4.’ün devamı

12	<i>Halomonas aidingensis</i>	KY783421	96	Nural, B., Deniz Sonmez, G., Korkmaz, F., Aytar Celik, P., Mutlu, M.B. and Cabuk,A. Isolation and determination of tolerance gene of boronotolerant bacteria from boron mine Unpublished Nural, Y.B., Deniz, S.G., Aytar, C.P., Korkmaz, F., Mutlu, M.B. and Cabuk, A. Culture- dependent diversity of boron- tolerant bacteria from boron mine tailings pond and solid wastes Water and Environment Journal (2018)
13	<i>Halomonas campisalis</i>	KY681788	96	Ersoy Omeroglu, E. Isolation, Phenotypic and Molecular Characterization of Anaerobic Arsenate Reducing and Arsenite Oxidizing Bacteria From Lake Van and Determination of Their Arsenic Metabolism Unpublished Ersoy Omeroglu, E. Direct Submission, Submitted (01-MAR-2017) Biology, Ege University, Faculty of Science, Izmir, Bornova 35040, Turkey
14	<i>Halomonas sp.</i>	LT990052	99	Erdyneeva BAZYROVNA, E. Direct Submission, Submitted (12-MAR-2018) INSTITUTE OF GENERAL AND EXPERIMENTAL BIOLOGY SB RAS, microbiology, Ulan-Ude, Sahyanova 8, 670031, Russia
15	<i>Halomonas ventosae</i>	GU112970	99	Li, Z. Biogeography of halophilic bacterial and actinobacterial communities from mud volcanoes in Xinjiang (China) Unpublished Li, Z. Direct Submission, Submitted (20-SEP-2009) College of Life Science and Technology of Xinjiang University, Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agriculture Science, No.403, Nanchang Road, Urumqi, Xinjiang 830091, China

Tablo 4.4.’ün devamı

16	<i>Gamma proteobacterium</i>	AB126973	94	Yoshie, S., Noda, N., Miyano, T., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y. Microbial community analysis in the denitrification process of saline-wastewater by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA and the cultivation method Journal of Bioscience and Bioengineering 92 (4), 346-353 (2001) Yoshie, S., Noda, N., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y. Design of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes and microbial community analysis in the denitrification process of a saline industrial wastewater treatment system FEMS Microbiolgy Letters 235 (1), 183-189 (2004) Yoshie, S., Noda, N., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y. Salinity decreases nitrite reductase gene diversity in denitrifying bacteria of wastewater treatment systems Applied Environmental Microbiology, 70(5), pp. 3152-3157 (2004)
----	------------------------------	----------	----	---

Gerçekleştirilen proje çalışmasında Van Gölü dip çamurundan yapılan zenginleştirme çalışmaları sonucunda tespit edilen türlerin bir kısmının tuzlu ve alkali şartlarda yaşayan mikrobiyal türler olduğu belirlenmiş ve bu türler SAnMBR sıvısına enjekte edilmiştir. Buna paralel olarak işletme süresi devam ederken 3. işletme periyodunda yapılan mikrobiyal çalışmalar sonucunda yaklaşık 15 adet bakteri türünün mevcut olduğu görülürken 5. işletme periyodunda bu sayı yaklaşık olarak 27 adet olmuştur. Bu durum reaktöre besleme yapılan karbon kaynağının değişimi ile açıklanabilmektedir. 3. işletme periyodunda asetat karbon kaynağı olarak besleme yapılırken 5. İşletme periyodunda etanol karbon kaynağı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu değişimin reaktördeki mikrobiyal çeşitliliği ciddi ölçüde arttırdığı görülmüştür. SAnMBR'ye karbon kaynağı olarak etanol beslemesinin yapıldığı süreçte mikrobiyal çeşitliliğin arttığı görülmektedir. Özellikle Uncultured Trachelomonas (JN679075), Uncultured Chitinophagaceae bacterium (HG973425), Uncultured Trachelomonas (JN679099), Uncultured beta proteobacterium (FM991991), Georgfuchsia toluolica (NR_115995), Uncultured proteobacterium (HE861143), Uncultured bacterium (KR312920), Uncultured bacterium (KR325607) türleri etanol ilavesi yapıldığı süreçte baskın duruma geçtiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar baskın türlerin etanol oksidasyonundan sorumlu olabileceğini göstermektedir. İlerleyen işletme periyotlarında (6. ve 7.) SAnMBR'de Porphyromonadaceae bacterium (Band 3), Uncultured Clostridia bacterium (Band 4), Halomonas alkalicola (Band 10), Caldanaerobacter subterraneus (Band 11) ve Halomonas sp. (Band 14) gibi türler baskınken daha sonraki işletme periyotlarında bu türlerin reaktör ortamında kaybolduğu görülmüştür. Bu durum reaktör ortamındaki $KOİ/SO_4^{2-}$ oranının düşmesi ile açıklanabilir. Bu türlerden Halomonas alkalicola ve Halomonas sp. türleri literatür çalışmalarında alkalifilik ve halotolerant tür olarak ifade edilmiştir (Zhai vd., 2018). İlerleyen işletme periyotlarında (11.) g-proteobacterium, Halomonas aidingensis ve Halomonas campisalis türleri ortamda baskın duruma gelmiştir. Bu türlerden Halomonas aidingensis ve Halomonas campisalis'da yüksek alkali şartlarda ve tuz konsantrasyonlarında yaşayan türlerdir (Liu vd., 2011; Mormile vd., 1999). Genel olarak SAnMBR'deki baskın tür sayısı $KOİ/SO_4^{2-}$ oranının düşürülmesi ile azalmıştır.

SAnMBR'de direk olarak sülfat indirgenmesinden sorumlu bir tür tespit edilememiştir. Ancak belirlenen türlerden Uncultured gamma proteobacterium (Dafale vd., 2010), Thiobacillus aquaesulis (Clarke vd., 2004; Kilic vd., 2014; Krishnani vd.,

2010), *Zobellella taiwanensis* (Abdel-Rahman vd., 2017; Ibrahim ve Steinbüchel, 2010), türlerinin sülfatın mevcut olduğu ortamlarda, *Gamma proteobacterium* (Zemskaya vd., 2010), *Acinetobacter calcoaceticus* (Palaniappan ve Toleti, 2016), *Caldanaerobacter subterraneus* (Shestakova vd., 2010) ve *Uncultured Clostridia bacterium* (Lienen vd., 2017) türlerinin ise sülfat indirgemesinin gerçekleştiği ortamlarda baskın oldukları tespit edilmiştir. Literatür verileri ortamda direk olarak sülfat indirgenmesinden sorumlu bir mikroorganizma türünün olmaması durumunda sülfat indirgemesinin gerçekleşebileceğini göstermektedir.

Çalışma süresince gerçekleştirilen mikrobiyal ekoloji çalışmalarında Van Gölü dip çamurunda izole edilen bakterilerin önemli bir kısmının (%50) g-proteobacteria grubundaki bakterilere ait olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara paralel olarak reaktör ortamında 6-11. işletme periyotları arasında baskın mikrobiyal türlerin önemli bir yüzdesinin (%50) g-proteobacteria grubuna ait bakteriler olduğu tespit edilmiştir. 3. ve 5. işletme periyotlarında tespit edilen bakterilerin %30'u, 6-11. işletme periyotları arasında ise bakterilerin %6'sı. *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* (CFB) grubuna ait bakterilerdir. Bunun yanında 6-11. işletme periyotları arasında bakterilerin %25'i *Firimicutes* grubuna ait bakterilerdir. Literatürde yapılmış çalışmalarda söz konusu bakteri gruplarına ait bakterilerin haloalkali şartlarda işletilen reaktörlerde (Sousa vd., 2015a) veya sülfat indirgemesinin gerçekleştiği diğer ortamlarda tespit edilen bakteriyel gruplar olduğu belirtilmiştir (He vd., 2013).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında haloalkali şartlarda yüksek tuzlu ve yüksek alkali sentetik atıksuda eş zamanlı organik madde giderimi ve sülfat indirgenmesi araştırılmıştır. Bu amaçla anaerobik batık membran biyoreaktör 380 gün boyunca işletilmiştir. En iyi giderim performansını sağlayabilmek için farklı KOİ ve sülfat konsantrasyonları, KOİ/SO₄²⁻ oranları, hidrolik bekleme süreleri denenmiş ve farklı karbon kaynakları kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- ❖ Van Gölü'nün farklı sedimentlerinden alınan çamur örneklerinden izole edilerek SAnMBR'e aşıl原因an bakteri kültürü içerisinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonucuna göre metanojenler belirlenememiştir. Bu durum SAnMBR'de eş zamanlı sülfat ve organik madde giderimini incelerken metanojenler ve sülfat indirgeyen bakteriler arasındaki ilişkinin gözlemlenmesini engellemiştir.
- ❖ Şimdiye kadar yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da sülfat indirgeyen bakterilerin çok yavaş büyüme özelliklerine sahip oldukları gerek sülfat indirgenmesinin reaktör işletimine alındıktan uzun süre sonra gerçekleşmesinden gerekse reaktör uçucu askıda katı madde konsantrasyonlarının tüm periyotlar süresince ortalama olarak benzer olmasından anlaşılmaktadır.
- ❖ Sülfat indirgenmesi esnasında meydana gelen en büyük dezavantajlardan biri zehirli, kötü kokuya sahip ve kolayca tutuşabilme özelliğine sahip olan H₂S gazının oluşumudur. pH 7'nin üzerinde oluşum HS⁻ yönüne doğru kayar. Yürüttüğümüz tez çalışması haloalkali şartlarda gerçekleştirildiği için gaz kromatografisi ile reaktörde oluşan gazdan alınan numunelerde gerçekleştirilen analiz sonuçları sülfat indirgenmesinin en yüksek (%70,41) olduğu dönemde bile dikkate alınmayacak konsantrasyonlarda H₂S oluştuğunu göstermektedir.
- ❖ Tüm işletim periyotlarında meydana gelen KOİ, sülfat ve TOK giderim verimleri incelendiğinde sülfat indirgenmesinin gerçekleşmediği ilk dört periyot boyunca KOİ ve TOK verimleri eş zamanlı artmış ya da azalmıştır. Sülfat indirgenmesinin oluşmaya başladığı HBS: 15 gün, KOİ/SO₄²⁻: 12 şartlarına sahip olan beşinci periyotta KOİ artarken TOK giderim verimi artmıştır. Sülfat indirgenmesinin en düşük olduğu dönemde TOK giderimi en yüksek, sülfat

indirgenmesinin en yüksek olduğu dönemde ise TOK giderimi en yüksek olmuştur. KOİ ve sülfatın eş zamanlı hareket ettiği dönem onuncu periyotta geçildiği zaman dilimidir. KOİ/SO₄²⁻: 1, HBS: 10 gün ve etanol/asetat oranının 1:2 olduğu onuncu periyotta organik madde ve sülfat giderim verimi ilk defa eş zamanlı yüksek ve hemen hemen aynı (yaklaşık %69) olarak gerçekleşmiştir.

- ❖ Literatür kısmında verilen daha önce yapılan çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstererek bizim çalışmamızda da etanolün karbon kaynağı olarak kullanıldığı dönemde SİB'ler en iyi aktivelerini sergilemişlerdir. Ancak etanol ya da asetat yavaş büyüme özelliği ile karakterize edilen SİB'lerin büyümelerini arttırıcı etki yaratmamıştır.
- ❖ Etanol/asetat oranında asetat konsantrasyonunun arttırılmasının organik madde giderimini büyük oranda arttırdığını ancak sülfat indirgenmesini düşürdüğünü söyleyebiliriz. Bu durum SİB'nin etanole yakınlığı ile ilgilidir. Organik madde gideriminin yüksek olmasıyla ilgili etanolün asetata oksidasyonu sonrasında çıkış atıksuyunun KOİ konsantrasyonunu arttırdığından bahsedilmişti. Karışımındaki asetat arttıkça Çıkış atıksuyunun sahip olacağı organik yük azalacağından KOİ ve TOK giderim verimleri sülfatın aksine artmıştır.
- ❖ Tüm parametrelerin sabit tutulup HBS'nin değiştirildiği altıncı periyotta KOİ/SO₄²⁻: 12, hidrolik bekleme süresi ise 15 günden 7 güne düşürülmüştür. HBS değerinin düşüşü ile KOİ giderim verimi %43,20'den %41,20'ye düşmüş ancak meydana gelen azalma dikkate alınmayacak kadar küçüktür. Bunun yanı sıra sülfat giderim verimi %55,49'dan %69,87'ye ulaşmıştır. HBS değeri değişimi organik madde giderimini etkilememiş ancak sülfat giderim verimini arttırmıştır. Sülfat giderim verimindeki artış bir önceki dönemde etanol karbon kaynağı kullanımına geçilmesi ile de etkili olduğundan HBS'nin değişiminin sülfat giderimini tam olarak nasıl etkilediği anlaşılmamıştır.
- ❖ Tüm parametrelerin sabit tutulup KOİ/SO₄²⁻ oranının değiştirildiği yedinci periyotta HBS: 7 gün iken KOİ/SO₄²⁻ değeri 12'den 6'ya düşürülmüştür. Bu durumda KOİ giderim verimi %41,20'den %70,15'e yükselmiş, sülfat giderim verimi ise %69,87'den %67,37'ye düşmüştür. KOİ/SO₄²⁻ oranının azalması organik madde giderim verimini arttırmış ancak sülfat giderim verimini çok az etkileyerek azalmasına neden olmuştur.

- ❖ Tüm periyotlardaki giderim verimlerine bakıldığında hem organik madde hem de sülfat giderim verimini etkileyen en önemli parametrenin karbon kaynağı türü olduğu tespit edilmiştir.
- ❖ Yüksek tuz ve alkali içeriğe sahip endüstrilerin atıksularında sülfat ve KOİ giderimi haloalkalifilik bakteriler aracılığı ile eş zamanlı gerçekleştirilebilir.
- ❖ Yüksek tuzlu ve alkali atıksuların haloalkali şartlarda arıtımı esnasında gaz oluşumunun gözlenmemesi, gaz çıkış ünitesine olan ihtiyacı ortadan kaldırarak, reaktör tasarımını kolaylaştırır, yatırım ve işletme maliyetlerini düşürecektir.
- ❖ Sülfat indirgenmesi için kullanılan farklı elektron vericiler (asetat, etanol) ile farklı giderim verimleri elde edilmiştir. Bu nedenle asetat ve etanol dışındaki farklı karbon kaynaklarının eş zamanlı KOİ ve sülfat giderimine olan etkileri incelenebilir.
- ❖ Membran biyoreaktörler yavaş büyüyen mikroorganizmaların ortamdan kaçışını engellediği için avantajlıdır. Biyokütle konst düşük ve yavaş büyüyen mikrobiyal topluluklar için etkin reaktör konfigürasyonlarıdır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Rahman, M.A., Desouky, S.E.-S., Azab, M.S., Esmael, M.E.,** 2017. Fermentative Production of Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from Glycerol by *Zobellella taiwanensis* Azu-IN1. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* Vol, 5(05), pp. 16-25.
- Acharya, B.K., Mohana, S. and Madamwar, D.,** 2008. Anaerobic treatment of distillery spent wash—A study on upflow anaerobic fixed film bioreactor. *Bioresource technology*, 99(11), pp. 4621-4626.
- Annachhatre, A.P.,and Suktrakoolvait, S.,** 2001a. Biological sulfide oxidation in a fluidized bed reactor. *Environmental technology*, 22(6), pp. 661-672.
- Annachhatre, A.P. and Suktrakoolvait, S.,** 2001b. Biological sulfate reduction using molasses as a carbon source. *Water Environment Research*, 73(1), pp. 118-126.
- Aygan, A.S.H.A. and Arikan, B.U.R.H.,** 2008. A new halo-alkaliphilic, thermostable endoglucanase from moderately halophilic *Bacillus* sp. C14 isolated from Van soda lake. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(4), 3pp. 69-374.
- Barber, W.P. and Stuckey, D.C.,** 2000. Effect of sulfate reduction on chemical oxygen demand removal in an anaerobic baffled reactor. *Water Environment Research*, 72(5), pp. 593-601.
- Baronofsky, J.J., Schreurs, W.J. and Kashket, E.R.,** 1984. Uncoupling by acetic acid limits growth of and acetogenesis by *Clostridium thermoaceticum*. *Applied Environmental Microbiology*, 48(6), pp. 1134-1139.
- Barton, L.E.,** 1995. Sulphate-Reducing Bacteria, *Biotechnology Handbooks*. V, 8, 1-333.
- Bayrakdar, A., Sahinkaya, E., Gungor, M., Uyanik, S. and Atasoy, A. D.,** 2009. Performance of sulfidogenic anaerobic baffled reactor (ABR) treating acidic and zinc-containing wastewater. *Bioresource Technology*, 100(19), pp. 4354-4360.
- Beloqui, A., Nechitaylo, T.Y., Lopez-Cortes, N., Ghazi, A., Guazzaroni, M.E., Polaina, J., Strittmatter, A.W., Reva, O., Waliczek, A., Yakimov,**

- M.M., Golyshina, O.V., Ferrer, M. and Golyshin, P.N.** (2010). Diversity of glycosyl hydrolases from cellulosedegrading communities enriched from casts of two earthworm species *Applied Environmental Microbiology*, 76 (17), 5934-5946.
- Bijmans, M.F., Peeters, T.W., Lens, P.N. and Buisman, C.J.,** 2008. High rate sulfate reduction at pH 6 in a pH-auxostat submerged membrane bioreactor fed with formate. *Water research*, 42(10-11), pp. 2439-2448.
- Boominadhan, U., Rajakumar, R., Sivakumar, P.K.V. and Joe, M.M.,** 2009. Optimization of protease enzyme production using *Bacillus* sp. isolated from different wastes. *Bot. Res. Int*, 2(2), pp. 83-87.
- Brandt, K.K., Vester, F., Jensen, A.N. and Ingvorsen, K.,** 2001. Sulfate reduction dynamics and enumeration of sulfate-reducing bacteria in hypersaline sediments of the Great Salt Lake (Utah, USA). *Microbial Ecology*, 41, pp. 1-11.
- Camiloti, P.R., Mockaitis, G., Domingues Rodrigues, J.A., Rissato Zamariolli Damianovic, M.H., Foresti, E. And Zaiat, M.,** 2014. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(7), pp. 1044-1050.
- Casamayor, E. O., Schäfer, H., Bañeras, L., Pedrós-Alió, C., & Muyzer, G.,** 2000. Identification of and spatio-temporal differences between microbial assemblages from two neighboring sulfurous lakes: comparison by microscopy and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied Environmental Microbiology*, 66(2), pp. 499-508.
- Castro, M., Castelli, J., Echeverria, P., Quintana, E., Nieves, V. and Borthagaray, G.** (2007). Microbiology, Facultad de Química, Av Gral Flores, 2124, Montevideo 11800, Uruguay
- Celis- García, L.B., Razo- Flores, E. and Monroy, O.,** 2007. Performance of a down-flow fluidized bed reactor under sulfate reduction conditions using volatile fatty acids as electron donors. *Biotechnology and bioengineering*, 97(4), pp. 771-779.

- Chang, I. S., Le Clech, P., Jefferson, B. and Judd, S.,** 2002. Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater treatment. *Journal of environmental engineering*, 128(11), pp. 1018-1029.
- Chen, R., Nie, Y., Ji, J., Utashiro, T., Li, Q., Komori, D. and Li, Y. Y.,** 2017a. Submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) performance on sewage treatment: removal efficiencies, biogas production and membrane fouling. *Water Science and Technology*, 76(6), pp. 1308-1317.
- Chen, R., Nie, Y., Hu, Y., Miao, R., Utashiro, T., Li, Q., Xu, M. and Li, Y.Y.,** 2017b. Fouling behaviour of soluble microbial products and extracellular polymeric substances in a submerged anaerobic membrane bioreactor treating low-strength wastewater at room temperature. *Journal of Membrane Science*, 531, pp. 1-9.
- Choi, E. and Rim, J.M.,** 1991. Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. *Water science and technology*, 23(7-9), pp. 1259-1264.
- Clarke, A.M., Kirby, R. and Rose, P.D.** 2004. "Molecular microbial ecology of lignocellulose mobilisation as a carbon source in mine drainage wastewater treatment", *Water Sa*, 30(5), pp. 558-661.
- Dafale, N., Agrawal, L., Kapley, A., Meshram, S., Purohit, H. and Wate, S.,** 2010. Selection of indicator bacteria based on screening of 16S rDNA metagenomic library from a two-stage anoxic-oxic bioreactor system degrading azo dyes. *Bioresource technology*, 101(2), pp. 476-484.
- Damianovic, M.H.R.Z., de Godoi, L.A.G., Saia, F.T. and Foresti, E.,** 2018. Horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor for organic matter and sulfate removal from paper recycling plant wastewater with simultaneous conversion of sulfide into elemental sulfur. *Journal of environmental chemical engineering*, 6(1), pp. 964-969.
- Damianovic, M.H.R.Z. and Foresti, E.,** 2007. Anaerobic degradation of synthetic wastewaters at different levels of sulfate and COD/sulfate ratios in horizontal-flow anaerobic reactors (HAIB). *Environmental Engineering Science*, 24(3), pp. 383-393.
- Damianovic, M.H.R.Z., Saia, F.T., de Godoi, L.A.G. and Foresti, E.,** 2016. Long-term operation of anaerobic immobilized biomass reactor treating organic

- wastewater containing sulfate. *Journal of Water Process Engineering*, 13, pp. 100-106.
- De Lemos Chernicharo, C.A.**, 2007. Biological Wastewater Treatment Series, Anaerobic Reactors, vol. 4, IWA Publishing, London.
- De Smul, A., Verstraete, W.**, 1999. Retention of sulfate-reducing bacteria in expanded granular-sludge-blanket reactors. *Water Environment Research*, 71, 427-431.
- De Vrieze, J.** (2015). Laboratory of Microbial Ecology and Technology, Universiteit Gent, Coupure Links 653, 9000, BELGIUM
- Deng, D, Lin. L.S.**, 2013. Two-stage combined treatment of acid mine drainage and municipal wastewater. *Water science and Technology*, pp. 1000-1007.
- Detkova, E.N. and Boltyanskaya, Y.V.**, 2007. Osmoadaptation of haloalkaliphilic bacteria: role of osmoregulators and their possible practical application. *Microbiology*, 76(5), pp. 511-522.
- Dirren, S., Salcher, M. M., Blom, J. F., Schweikert, M. and Posch, T.** (2014). Ménage-à-trois: the amoeba *Nuclearia* sp. from Lake Zurich with its ecto- and endosymbiotic bacteria. *Protist*, 165(5), pp. 745-758.
- Du Preez, L.A. and Maree, J.P.**, 1994. Pilot-scale biological sulphate and nitrate removal utilizing producer gas as energy source. *Water science and technology*, 30(12), pp. 275-286.
- Erdynееva, B.E.** (2018). INSTITUTE OF GENERAL AND EXPERIMENTAL BIOLOGY SB RAS, microbiology, Ulan-Ude, Sahyanova 8, 670031, Russia
- Ersoy Omeroglu, E.** (2017). Biology, Ege University, Faculty of Science, Izmir, Bornova 35040, Turkey
- Fernandez, A.S., Hashsham, S.A., Dollhopf, S.L., Raskin, L., Glagoleva, O., Dazzo, F.B., Hickey, R.F., Criddle, C.S. and Tiedje, J.M.**, 2000. Flexible community structure correlates with stable community function in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. *Applied Environmental Microbiology*, 66(9), pp. 4058-4067.
- Frias-Lopez, J., Zerkle, A.L., Bonheyo, G.T. and Fouke, B.W.** (2002). Partitioning of bacterial communities between seawater and healthy, black band

- diseased, and dead coral surfaces. *Applied Environmental Microbiology*, 68(5), pp. 2214-2228.
- Fuchs, W., Binder, H., Mavrias, G. and Braun, R.,** 2003. Anaerobic treatment of wastewater with high organic content using a stirred tank reactor coupled with a membrane filtration unit. *Water Research*, 37(4), pp. 902-908.
- Gander, M., Jefferson, B. and Judd, S.,** 2000. Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment: a review with cost considerations. *Separation and purification Technology*, 18(2), pp. 119-130.
- Gao, W.J., Leung, K.T., Qin, W.S. and Liao, B.Q.,** 2011. Effects of temperature and temperature shock on the performance and microbial community structure of a submerged anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 102(19), pp. 8733-8740.
- Giménez, J.B., Martí, N., Ferrer, J. and Seco, A.,** 2012. Methane recovery efficiency in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) treating sulphate-rich urban wastewater: evaluation of methane losses with the effluent. *Bioresource technology*, 118, pp. 67-72.
- Gorlenko, V.M., Namsaraev, B.B., Kulyrova, A.V., Zavarzina, D.G., Zhilina, T.N.,** 1999. Activity of sulfate-reducing bacteria in the sediments of the soda lakes in south-east Transbaikalian area. *Microbiology (Moscow, English Translation)* 68, pp. 580–586
- Gouveia, J., Plaza, F., Garralon, G., Fdz-Polanco, F. and Peña, M.,** 2015. A novel configuration for an anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR). Long-term treatment of municipal wastewater under psychrophilic conditions. *Bioresource technology*, 198, pp. 510-519.
- Grant, W.D., Mwatha, W.E. and Jones, B.E.,** 1990. Alkaliphiles: ecology, diversity and applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 6(2-3), pp. 255-269.
- Griffin, M.J., Reichley, S.R., Pomaranski, E.K. and Soto, E.** (2018). Thad Cochran National Warmwater Aquaculture Center, Mississippi State University, 127 Experiment Station Road, Stoneville, MS 38776, USA
- Gyure, R.A., Konopka, A., Brooks, A. And Doemel, W.,** 1990. Microbial sulfate reduction in acidic (pH 3) strip-mine lakes. *FEMS Microbiology Ecology*, 6(3), pp. 193-201.

- Hao, T., Xiang, P., Mackey, H.R., Chi, K., Lu, H., Chui, H.K., Loosdrecht, M.C.M.V., Chen, G.H.,** 2014 A review of biological sulfate conversions in wastewater treatment. *Water Resource*, 65, pp. 1-21.
- Harada, H., Momonoi, K., Yamazaki, S. and Takizawa, S.,** 1994. Application of anaerobic-UF membrane reactor for treatment of a wastewater containing high strength particulate organics. *Water Science and Technology*, 30(12), pp. 307.
- Horikoshi, K.,** 2004. Alkaliphiles. *Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Sciences*, 80, pp. 166–178.
- Harada, H., Uemura, S. and Momonoi, K.,** 1994. Interaction between sulfate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. *Water Research*, 28(2), pp. 355-367.
- Hashsham, S.A., Fernandez, A.S., Dollhopf, S.L., Dazzo, F.B., Hickey, R.F., Tiedje, J.M. and Criddle, C.S.,** 2000. Parallel processing of substrate correlates with greater functional stability in methanogenic bioreactor communities perturbed by glucose. *Applied Environmental Microbiology*, 66(9), pp. 4050-4057.
- He, Y., Xiao, X. and Wang, F.** 2013. Metagenome reveals potential microbial degradation of hydrocarbon coupled with sulfate reduction in an oil-immersed chimney from Guaymas Basin. *Frontiers in microbiology*, 4, pp. 148.
- Hirasawa, J.S., Sarti, A., Del Aguila, N.K.S. and Varesche, M.B.A.,** 2008. Application of molecular techniques to evaluate the methanogenic archaea and anaerobic bacteria in the presence of oxygen with different COD: Sulfate ratios in a UASB reactor. *Anaerobe*, 14(4), pp. 209-218.
- Ho, J. and Sung, S.,** 2010. Methanogenic activities in anaerobic membrane bioreactors (AnMBR) treating synthetic municipal wastewater. *Bioresource technology*, 101(7), pp. 2191-2196.
- Hong, J., Li, W., Lin, B., Zhan, M., Liu, C. And Chen, B.Y.,** 2013. Deciphering the effect of salinity on the performance of submerged membrane bioreactor for aquaculture of bacterial community. *Desalination*, 316, pp. 23-30.

- Hu, Y., Jing, Z., Sudo, Y., Niu, Q., Du, J., Wu, J. and Li, Y.Y.,** 2015. Effect of influent COD/SO₄²⁻ ratios on UASB treatment of a synthetic sulfate-containing wastewater. *Chemosphere*, 130, pp. 24-33.
- Huang, Z., Ong, S. L. and Ng, H. Y.,** 2011. Submerged anaerobic membrane bioreactor for low-strength wastewater treatment: effect of HRT and SRT on treatment performance and membrane fouling. *Water research*, 45(2), pp. 705-713.
- Ibrahim, M. And Steinbüchel, A.** 2010. *Zobellella denitrificans* strain MW1, a newly isolated bacterium suitable for poly (3- hydroxybutyrate) production from glycerol. *Journal of applied microbiology*, 108(1), pp. 214-225.
- Jeison, D. and Van Lier, J.B.,** 2006. Cake layer formation in anaerobic submerged membrane bioreactors (AnSMBR) for wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 284(1-2), pp. 227-236.
- Jeong, E., Kim, H.W., Nam, J.Y. and Shin, H.S.,** 2010. Enhancement of bioenergy production and effluent quality by integrating optimized acidification with submerged anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 101(1), pp. S7-S12.
- Jing, Z., Hu, Y., Niu, Q., Liu, Y., Li, Y.Y. and Wang, X. C.,** 2013. UASB performance and electron competition between methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in treating sulfate-rich wastewater containing ethanol and acetate. *Bioresource Technology*, 137, pp. 349-357.
- Jones, B.E., Grant, W.D., Duckworth, A.W. and Owenson, G.G.,** 1998. Microbial diversity of soda lakes. *Extremophiles*, 2(3), pp. 191-200.
- Judd, S.,** 2008. The status of membrane bioreactor technology. *Trends in biotechnology*, 26(2), pp. 109-116.
- Kaksonen, A.H., Franzmann, P.D. and Puhakka, J.A.,** 2003. Performance and ethanol oxidation kinetics of a sulfate-reducing fluidized-bed reactor treating acidic metal-containing wastewater. *Biodegradation*, 14(3), pp. 207-217.
- Kaksonen, A.H., Plumb, J.J., Franzmann, P.D. and Puhakka, J.A.,** 2004a. Simple organic electron donors support diverse sulfate-reducing communities in fluidized-bed reactors treating acidic metal-and sulfate-containing wastewater. *FEMS Microbiology Ecology*, 47(3), pp. 279-289.

- Kaksonen, A.H., Franzmann, P.D. and Puhakka, J.A., 2004b.** Effects of hydraulic retention time and sulfide toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulfate- reducing metal- precipitating fluidized- bed reactor. *Biotechnology and bioengineering*, 86(3), pp. 332-343.
- Kilic, A., Sahinkaya, E., Cinar, O., 2014.** Kinetics of autotrophic denitrification process and the impact of sulphur/limestone ratio on the process performance. *Environmental technology*, 35(22), pp. 2796-2804.
- Kiene, R.P. and Visscher, P.T., 1987.** Production and fate of methylated sulfur compounds from methionine and dimethylsulfoniopropionate in anoxic salt marsh sediments. *Applied Environmental Microbiology*, 53(10), pp. 2426-2434.
- Kiene, R.P., Oremland, R.S., Catena, A., Miller, L.G. and Capone, D.G., 1986.** Metabolism of reduced methylated sulfur compounds in anaerobic sediments and by a pure culture of an estuarine methanogen. *Applied Environmental Microbiology*, 52(5), pp. 1037-1045.
- Knobel, A.N. and Lewis, A.E., 2002.** A mathematical model of a high sulphate wastewater anaerobic treatment system. *Water Research*, 36(1), pp. 257-265.
- Koschorreck, M., Kunze, T., Luther, G., Bozau, E. and Wendt-Potthoff, K., 2004.** Accumulation and inhibitory effects of acetate in a sulphate reducing in situ reactor for the treatment of an acidic pit lake. *International Mine Water Association (IMWA)*, pp. 101-109.
- Krishnani, K.K., Gopikrishna, G., Pillai, S.M. and Gupta, B.P., 2010.** Abundance of sulphur- oxidizing bacteria in coastal aquaculture using soxB gene analyses. *Aquaculture research*, 41(9), pp. 1290-1301.
- Kudo, T., Kosako, Y., Oshida, Y., Ohkuma, M., Arahall, D., Spieck, E., Pommerening Roeser, A., Figge, M., Park, D., Buchanan, P., Cifuentes, A., Munoz, R., Euzeby, J.P., Schleifer, K.H., Ludwig, W., Amann, R., Glockner, F.O. and Rossello-Mora, R. (2013).** Sequencing orphan species initiative (SOS): Filling the gaps in the 16S rRNA gene sequence database for all species with validly published names. *Systematic Applied Microbiology*, 36 (1), pp. 69-73.

- Kulp, T.R., Han, S., Saltikov, C.W., Lanoil, B.D., Zargar, K. and Oremland, R.S.,** 2007. Effects of imposed salinity gradients on dissimilatory arsenate reduction, sulfate reduction, and other microbial processes in sediments from two California soda lakes. *Applied Environmental Microbiology*, 73(16), pp. 5130-5137.
- Kulp, T.R., Hoeft, S.E., Miller, L.G., Saltikov, C., Murphy, J.N., Han, S., Lanoil, B. and Oremland, R.S.,** 2006. Dissimilatory arsenate and sulfate reduction in sediments of two hypersaline, arsenic-rich soda lakes: Mono and Searles Lakes, California. *Applied Environmental Microbiology*, 72(10), pp. 6514-6526.
- Kunacheva, C., Soh, Y.N.A., Trzcinski, A.P. and Stuckey, D.C.,** 2017. Soluble microbial products (SMPs) in the effluent from a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR) under different HRTs and transient loading conditions. *Chemical Engineering Journal*, 311, pp. 72-81.
- Lens, P., Vallerol, M., Esposito, G. and Zandvoort, M.,** 2002. Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 1(4), pp. 311-325.
- Lens, P.N.L. and Kuenen, J.G.,** 2001. The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology. *Water science and technology*, 44(8), pp. 57-66.
- Lens, P.N.L., Visser, A., Janssen, A.J.H., Pol, L.H. and Lettinga, G.,** 1998. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 28(1), pp. 41-88.
- Li, J., Yu, L., Yu, D., Wang, D., Zhang, P. and Ji, Z.,** 2014. Performance and granulation in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor treating saline sulfate wastewater. *Biodegradation*, 25(1), pp. 127-136.
- Li, Y.Y., Lam, S. and Fang, H.H.,** 1996. Interactions between methanogenic, sulfate-reducing and syntrophic acetogenic bacteria in the anaerobic degradation of benzoate. *Water Research*, 30(7), pp. 1555-1562.
- Li, Z.** (2009). College of Life Science and Technology of Xinjiang University, Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agriculture Science, No.403, Nanchang Road, Urumqi, Xinjiang 830091, China

- Liamleam, W. and Annachhatre, A.P.,** 2007. Electron donors for biological sulfate reduction. *Biotechnology advances*, 25(5), pp. 452-463.
- Liao, B.Q., Kraemer, J.T. and Bagley, D.M.,** 2006. Anaerobic membrane bioreactors: applications and research directions. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(6), pp. 489-530.
- Lienen, T., Lüders, K., Halm, H., Westphal, A., Köber, R. and Würdemann, H.** 2017. Effects of thermal energy storage on shallow aerobic aquifer systems: temporary increase in abundance and activity of sulfate-reducing and sulfur-oxidizing bacteria. *Environmental Earth Sciences*, 76(6), pp. 261.
- Lin, H., Chen, J., Wang, F., Ding, L. and Hong, H.,** 2011. Feasibility evaluation of submerged anaerobic membrane bioreactor for municipal secondary wastewater treatment. *Desalination*, 280(1-3), pp. 120-126.
- Liu, W.T., Chan, O.C. and Fang, H.H.,** 2002. Microbial community dynamics during start-up of acidogenic anaerobic reactors. *Water research*, 36(13), pp. 3203-3210.
- Liu, W. Y., Wang, J. and Yuan, M.,** 2011. Halomonas aidingensis sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from Aiding salt lake in Xinjiang, China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 99(3), pp. 663-670.
- Liu, Y., Zhang, X., Ngo, H.H., Guo, W., Wen, H., Deng, L., Yajing, L. and Guo, J.,** 2018. Specific approach for membrane fouling control and better treatment performance of an anaerobic submerged membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 268, pp. 658-664.
- Maleki, E., Catalan, L.J. and Liao, B.,** 2018. Effect of organic loading rate on the performance of a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) for malting wastewater treatment and biogas production. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93(6), pp. 1636-1647.
- Maree, J.P., Hulse, G., Dods, D. and Schutte, C.E.,** 1991. Pilot plant studies on biological sulphate removal from industrial effluent. *Water Science and Technology*, 23(7-9), pp. 1293-1300.
- Margesin, R. and Schinner, F.,** 2001. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied microbiology and biotechnology*, 56(5-6), pp. 650-663.

- Martinez-Garcia, M., Swan, B.K., Poulton, N. J., Gomez, M. L., Masland, D., Sieracki, M. E. and Stepanauskas, R.** (2012). High-throughput single-cell sequencing identifies photoheterotrophs and chemoautotrophs in freshwater bacterioplankton. *The ISME journal*, 6(1), pp. 113.
- Martinez-Sosa, D., Helmreich, B. and Horn, H.,** 2012. Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) treating low-strength wastewater under psychrophilic temperature conditions. *Process Biochemistry*, 47(5), pp. 792-798.
- Martinez-Sosa, D., Helmreich, B., Netter, T., Paris, S., Bischof, F. and Horn, H.,** 2011. Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) for municipal wastewater treatment under mesophilic and psychrophilic temperature conditions. *Bioresource technology*, 102(22), pp. 10377-10385.
- McCartney, D.M. and Oleszkiewicz, J.A.,** 1993. Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD: sulfate ratio and acclimation. *Water Environment Research*, 65(5), pp. 655-664.
- McGenity, T.J.,** 2010. Methanogens and methanogenesis in hypersaline environments. *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, pp. 665-680, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Mevarech, M., Frolow, F., and Gloss, L.M.,** 2000. Halophilic enzymes: proteins with a grain of salt. *Biophysical chemistry*, 86(2-3), pp. 155-164.
- Mohan, S.V., Rao, N.C., Prasad, K.K. and Sarma, P.N.,** 2005. Bioaugmentation of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (AnSBBR) with immobilized sulphate reducing bacteria (SRB) for the treatment of sulphate bearing chemical wastewater. *Process Biochemistry*, 40(8), pp. 2849-2857.
- Moosa, S., Nemati, M. and Harrison, S.T.L.,** 2002. A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, Part I: Effect of sulphate concentration. *Chemical Engineering Science*, 57(14), pp. 2773-2780.
- Mora-Naranjo, N., Alamar-Provecho, C., Meima, J., Haarstrick, A. and Hempel, D.C.,** 2003. Experimental investigation and modelling of the effect of sulfate on anaerobic biodegradation processes in municipal solid waste. *Water science and technology*, 48(4), pp. 221-227.

- Mormile, M. R., Romine, M. F., Garcia, M. T., Ventosa, A., Bailey, T. J. and Peyton, B. M.,** 1999. *Halomonas campisalis* sp. nov., a denitrifying, moderately haloalkaliphilic bacterium. *Systematic and applied microbiology*, 22(4), pp. 551-558.
- Muthumbi, W., Boon, N., Boterdaele, R., De Vreese, I., Top, E. and Verstraete, W.,** 2001. Microbial sulfate reduction with acetate: process performance and composition of the bacterial communities in the reactor at different salinity levels. *Applied microbiology and biotechnology*, 55(6), pp. 787-793.
- Muyzer, G.,** 1996. Denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA. A new molecular approach to analyze the genetic diversity of mixed microbial communities. *Molecular microbial ecology manual*.
- Muyzer, G. and Stams, A.J.,** 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature reviews microbiology*, 6(6), pp. 441.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L. and Livingston, A.,** 2000. Microbial sulfate reduction in a liquid–solid fluidized bed reactor. *Biotechnology and bioengineering*, 70(4), pp. 370-380.
- Nevatalo, L.M., Mäkinen, A.E., Kaksonen, A.H. and Puhakka, J.A.,** 2010. Biological hydrogen sulfide production in an ethanol–lactate fed fluidized-bed bioreactor. *Bioresource technology*, 101(1), pp. 276-284.
- Ng, A.N. And Kim, A.S.,** 2007. A mini-review of modeling studies on membrane bioreactor (MBR) treatment for municipal wastewaters. *Desalination*, 212(1-3), pp. 261-281.
- Ng, H.Y. and Hermanowicz, S.W.,** 2005. Membrane bioreactor operation at short solids retention times: performance and biomass characteristics. *Water Research*, 39(6), pp. 981-992.
- Ng, K.K., Shi, X.Q. and Ng, H.Y.,** 2015. Evaluation of system performance and microbial communities of a bioaugmented anaerobic membrane bioreactor treating pharmaceutical wastewater. *Water Resource*, 81, pp. 311–324.
- Nie, Y., Kato, H., Sugo, T., Hojo, T., Tian, X. and Li, Y.Y.,** 2017b. Effect of anionic surfactant inhibition on sewage treatment by a submerged anaerobic membrane bioreactor: Efficiency, sludge activity and methane recovery. *Chemical Engineering Journal*, 315, pp. 83-91.

- Nie, Y., Tian, X., Zhou, Z. and Li, Y.Y., 2017c.** Impact of food to microorganism ratio and alcohol ethoxylate dosage on methane production in treatment of low-strength wastewater by a submerged anaerobic membrane bioreactor. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 11(6), pp. 6.
- Nie, Y., Niu, Q., Kato, H., Sugo, T., Tian, X. and Li, Y.Y., 2017a.** Efficient methanogenic degradation of alcohol ethoxylates and microbial community acclimation in treatment of municipal wastewater using a submerged anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 226, pp. 181-190.
- Nolla-Ardèvol, V., Strous, M., Sorokin, D.Y., Merkel, A.Y. and Tegetmeyer, H.E., 2012.** Activity and diversity of haloalkaliphilic methanogens in Central Asian soda lakes. *Journal of biotechnology*, 161(2), pp. 167-173.
- Nolla-Ardèvol, V., Strous, M. and Tegetmeyer, H.E., 2015.** Anaerobic digestion of the microalga *Spirulina* at extreme alkaline conditions: biogas production, metagenome, and metatranscriptome. *Frontiers in microbiology*, 6, pp. 597.
- Nowka, B., Off, S., Daims, H. and Spieck, E. (2014).** Improved isolation strategies allowed the phenotypic differentiation of two *Nitrospira* strains from widespread phylogenetic lineages. *FEMS microbiology ecology*, 91(3), pii031.
- Nural, Y.B., Deniz, S.G., Aytar, C.P., Korkmaz, F., Mutlu, M.B. and Cabuk, A. (2018).** Culture- dependent diversity of boron- tolerant bacteria from boron mine tailings pond and solid wastes. *Water and Environment Journal*.
- O'Flaherty, V., Lens, P., Leahy, B. and Colleran, E., 1998.** Long-term competition between sulphate-reducing and methane-producing bacteria during full-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater. *Water Research*, 32(3), pp. 815-825.
- Omil, F., Lens, P., Visser, A., Hulshoff Pol, L.W. and Lettinga, G., 1998.** Long- term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, 57(6), pp. 676-685.

- Oremland, R.S. and Miller, L.G.,** 1993. Biogeochemistry of natural gases in three alkaline, permanently stratified (meromictic) lakes. U.S. Geological Survey Professional Paper, 1570, pp. 439-452, Washington.
- Oren, A.,** 1988. Anaerobic degradation of organic compounds at high salt concentrations. *Antonie van Leeuwenhoek*, 54(3), pp. 267-277.
- Oren, A.,** 1986. The ecology and taxonomy of anaerobic halophilic eubacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2(1-2), pp. 23-29.
- Özkaya, B. and Demir, A.,** 2011. Microbial community analysis with PCR-DGGE-SEQUENCING based molecular methods in municipal solid waste management. *Sigma*, 3, pp. 219-227.
- Palaniappan, B. and Toleti, S. R.,** 2016. Characterization of microfouling and corrosive bacterial community of a firewater distribution system. *Journal of bioscience and bioengineering*, 121(4), pp. 435-441.
- Pandey, S., Rakholiya, K.D., Raval, V.H. and Singh, S.P.,** 2012. Catalysis and stability of an alkaline protease from a haloalkaliphilic bacterium under non-aqueous conditions as a function of pH, salt and temperature. *Journal of bioscience and bioengineering*, 114(3), pp. 251-256.
- Pendashteh, A.R., Fakhru'l-Razi, A., Madaeni, S.S., Abdullah, L.C., Abidin, Z.Z. and Biak, D.R.A.,** 2011. Membrane foulants characterization in a membrane bioreactor (MBR) treating hypersaline oily wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 168(1), pp. 140-150.
- Pol, L.W.H., Lens, P.N., Stams, A.J. and Lettinga, G.,** 1998. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation*, 9(3-4), pp. 213-224.
- Pomaranski, E.K., Reichley, S.R., Yanong, R., Shelley, J., Pouder, D.B., Wolf, J.C., Kenelty, K.V., Van Bonn, B., Oliaro, F., Byrne, B., Clothier, K.A., Griffin, M.J., Camus, A.C., Soto, E.,** (2018). Characterization of spaC- type *Erysipelothrix* sp. isolates causing systemic disease in ornamental fish. *Journal of fish diseases*, 41(1), pp. 49-60.
- Porsch, K., Wirth, B., Tóth, E.M., Schattenberg, F. and Nikolausz, M.,** 2015. Characterization of wheat straw- degrading anaerobic alkali- tolerant mixed cultures from soda lake sediments by molecular and cultivation techniques. *Microbial biotechnology*, 8(5), pp. 801-814.

- Purohit, M.K., Raval, V.H. and Singh, S.P., 2014.** Haloalkaliphilic bacteria: molecular diversity and biotechnological applications. *In Geomicrobiology and Biogeochemistry*, pp. 61-79, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Purohit, M.K. and Singh, S.P., 2011.** Comparative analysis of enzymatic stability and amino acid sequences of thermostable alkaline proteases from two haloalkaliphilic bacteria isolated from Coastal region of Gujarat, India. *International journal of biological macromolecules*, 49(1), pp. 103-112.
- Qvit-Raz, N., Jurkevitch, E. and Belkin, S., 2008.** Drop-size soda lakes: transient microbial habitats on a salt-secreting desert tree. *Genetics*, 178(3), pp. 1615-1622.
- Raskin, L., Rittmann, B.E. and Stahl, D.A., 1996.** Competition and coexistence of sulfate-reducing and methanogenic populations in anaerobic biofilms. *Applied Environmental Microbiology*, 62(10), pp. 3847-3857.
- Rinzema, A. and Lettinga, G., 1988.** Anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. *Biotreatment systems*, 3, pp. 65-109.
- Riviere, D., Desvignes, V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guermazi, S., Weissenbach, J., Li, T., Camacho, P. and Sghir, A. (2009).** Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. *ISME Journal*, 3(6), pp. 700-714 (2009)
- Rodriguez, R.P., Oliveira, G.H.D., Raimundi, I.M. and Zaiat, M., 2012.** Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. *International biodeterioration & biodegradation*, 74, pp. 48-53.
- Rout, S.P., Charles, C.J., Doulgeris, C., McCarthy, A.J., Rooks, D.J., Loughnane, J.P., Laws, A.P. and Humphreys, P. N. (2015).** Anoxic biodegradation of isosaccharinic acids at alkaline pH by natural microbial communities. *PloS one*, 10(9), pp. e0137682.
- Sahinkaya, E., Altun, M., Bektas, S. and Komnitsas, K., 2012.** Bioreduction of Cr (VI) from acidic wastewaters in a sulfidogenic ABR. *Minerals Engineering*, 32, pp. 38-44.
- Sahinkaya, E., Özkaya, B., Kaksonen, A.H. and Puhakka, J.A., 2007.** Sulfidogenic fluidized-bed treatment of metal-containing wastewater at low and high temperatures. *Biotechnology and bioengineering*, 96(6), pp. 1064-1072.

- Sahinkaya, E., Yurtsever, A., Isler, E., Coban, I. and Aktaş, Ö.,** 2018. Sulfate reduction and filtration performances of an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR). *Chemical Engineering Journal*, 349, pp. 47-55.
- Sahinkaya, E. and Yucesoy, Z.,** 2010. Biotreatment of acidic zinc-and copper-containing wastewater using ethanol-fed sulfidogenic anaerobic baffled reactor. *Bioprocess and biosystems engineering*, 33(8), pp. 989-997.
- Santini, T.C., Warren, L.A. and Kendra, K.E.,** 2015. Microbial diversity in engineered haloalkaline environments shaped by shared geochemical drivers observed in natural analogues. *Applied Environmental Microbiology*, 81(15), pp. 5026-5036.
- Salo, M.,** 2017. Biological Sulfate Reduction and Recovery of Elemental Sulfur from Mining Waste Waters. Master of Science Thesis, Tampere University Of Technology, Natural Sciences Faculty, Finland.
- Sawyer, C.N., McCarty, P.L., Parkin, G.F.,** 2003. Chemistry for environmental engineering and science. McGraw-Hill.
- Schmidt, B., Sánchez, L.A., Fretschner, T., Kreps, G., Ferrero, M.A., Siñeriz, F. and Szewzyk, U.** (2014). Isolation of *Sphaerotilus*–*Leptothrix* strains from iron bacteria communities in Tierra del Fuego wetlands. *FEMS microbiology ecology*, 90(2), pp. 454-466.
- Schönheit, P., Kristjansson, J.K. and Thauer, R.K.,** 1982. Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate. *Archives of Microbiology*, 132(3), pp. 285-288.
- Shayegan, J., Ghavipanjeh, F. and Mirjafari, P.,** 2005. The effect of influent COD and upward flow velocity on the behaviour of sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry*, 40(7), pp. 2305-2310.
- Shestakova, N.M., Ivoilov, V.S., Tourova, T.P., Belyaev, S.S., Poltarau, A.B. and Nazina, T.N.,** 2010. Which microbial communities are present? Application of clone libraries: syntrophic acetate degradation to methane in a high-temperature petroleum reservoir–culture-based and 16S rRNA genes characterisation. *In Applied microbiology and molecular biology in oilfield systems*, pp. 45-53. Springer, Dordrecht.

- Shin, H.S., Oh, S.E. and Lee, C.Y.,** 1997. Influence of sulfur compounds and heavy metals on the methanization of tannery wastewater. *Water science and technology*, 35(8), pp. 239-245.
- Silva, A.J.D., Varesche, M.B., Foresti, E. and Zaiat, M.,** 2002. Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. *Process Biochemistry*, 37(9), pp. 927-935.
- Sipma, J., Osuna, M. B., Lettinga, G., Stams, A.J. and Lens, P.N.,** 2007. Effect of hydraulic retention time on sulfate reduction in a carbon monoxide fed thermophilic gas lift reactor. *Water research*, 41(9), pp. 1995-2003.
- Skouteris, G., Hermosilla, D., López, P., Negro, C. and Blanco, Á.,** 2012. Anaerobic membrane bioreactors for wastewater treatment: a review. *Chemical Engineering Journal*, 198, pp. 138-148.
- Smith, A. L., Stadler, L. B., Love, N.G., Skerlos, S.J. and Raskin, L.,** 2012. Perspectives on anaerobic membrane bioreactor treatment of domestic wastewater: a critical review. *Bioresource technology*, 122, pp. 149-159.
- Sørensen, K.B., Canfield, D.E. and Oren, A.,** 2004. Salinity responses of benthic microbial communities in a solar saltern (Eilat, Israel). *Applied Environmental Microbiology*, 70(3), pp. 1608-1616.
- Sorokin, D.Y., Gorlenko, V.M., Namsaraev, B.B., Namsaraev, Z.B., Lysenko, A.M., Eshinimaev, B.T., Khmelenina, V.N., Trotsenko, Y.A. and Kuenen, J. G.,** 2004. Prokaryotic communities of the north-eastern Mongolian soda lakes. *Hydrobiologia*, 522(1-3), pp. 235-248.
- Sorokin, D.Y., Abbas, B., Geleijnse, M., Pimenov, N.V., Sukhacheva, M.V. and van Loosdrecht, M.,** 2015b. Methanogenesis at extremely haloalkaline conditions in the soda lakes of Kulunda Steppe (Altai, Russia). *FEMS microbiology ecology*, 91(4).
- Sorokin, D.Y., Banciu, H.L. and Muyzer, G.,** 2015a. Functional microbiology of soda lakes. *Current opinion in microbiology*, 25, pp. 88-96.
- Sorokin, D.Y., Kuenen J.G. and Muyzer G.,** 2011a. The microbial sulfur cycle at extremely haloalkaline conditions of soda lakes. *Frontiers in microbiology*, 2, pp. 44.
- Sorokin, D.Y., Rusanov, I.I., Pimenov, N.V., Tourova, T.P., Abbas, B. and Muyzer, G.,** 2010a. Sulfidogenesis under extremely haloalkaline conditions in soda

- lakes of Kulunda Steppe (Altai, Russia). *FEMS microbiology ecology*, 73(2), pp. 278-290.
- Sorokin, D.Y., Berben, T., Melton, E.D., Overmars, L., Vavourakis, C.D. and Muyzer, G., 2014.** Microbial diversity and biogeochemical cycling in soda lakes. *Extremophiles*, 18(5), pp. 791-809.
- Sorokin, D. Y., Detkova, E. N. and Muyzer, G., 2010b.** Propionate and butyrate dependent bacterial sulfate reduction at extremely haloalkaline conditions and description of *Desulfobotulus alkaliphilus* sp. nov. *Extremophiles*, 14(1), pp. 71-77.
- Sorokin, D.Y., Gorlenko, V.M., Namsaraev, B.B., Namsaraev, Z.B., Lysenko, A.M., Eshinimaev, B.T., Khmelenina, V.N., Trotsenko, Y.A. and Kuenen, J. G., 2004a.** Prokaryotic communities of the north-eastern Mongolian soda lakes. *Hydrobiologia*, 522(1-3), pp. 235-248.
- Sorokin, I.D., Kravchenko, I.K., Doroshenko, E.V., Boulygina, E.S., Zadorina, E.V., Tourova, T.P. and Sorokin, D.Y., 2008.** Haloalkaliphilic diazotrophs in soda solonchak soils. *FEMS microbiology ecology*, 65(3), pp. 425-433.
- Sorokin, D.Y. and Kuenen, J.G., 2005.** Alkaliphilic chemolithotrophs from sodas lakes. *FEMS Microbiology Ecology*, 52, pp. 287-295.
- Sorokin, D. Y., Tat'yana, P. T., Antipov, A. N., Muyzer, G. and Kuenen, J. G., 2004b.** Anaerobic growth of the haloalkaliphilic denitrifying sulfur-oxidizing bacterium *Thialkalivibrio thiocyanodenitrificans* sp. nov. with thiocyanate. *Microbiology*, 150(7), pp. 2435-2442.
- Sorokin, D.Y., Tourova, T.P., Henstra, A.M., Stams, A.J., Galinski, E.A. and Muyzer, G., 2008.** Sulfidogenesis under extremely haloalkaline conditions by *Desulfonatronospira thiodismutans* gen. nov., sp. nov., and *Desulfonatronospira delicata* sp. nov.—a novel lineage of Deltaproteobacteria from hypersaline soda lakes. *Microbiology*, 154(5), pp. 1444-1453.
- Sorokin, D.Y., Tourova, T.P., Kolganova, T.V., Detkova, E.N., Galinski, E.A. and Muyzer, G., 2011b.** Culturable diversity of lithotrophic haloalkaliphilic sulfate-reducing bacteria in soda lakes and the description of *Desulfonatronumthioautotrophicum* sp. nov., *Desulfonatronum*

- thiosulfatophilum sp. nov., Desulfonatronovibrio thiodismutans sp. nov., and Desulfonatronovibrio magnus sp. nov. *Extremophiles*, 15(3), pp. 391-401.
- Sorokin, D.Y., Tourova, T.P., Sukhacheva, M.V. and Muyzer, G., 2012.** Desulfuribacillus alkaliarsenatis gen. nov. sp. nov., a deep-lineage, obligately anaerobic, dissimilatory sulfur and arsenate-reducing, haloalkaliphilic representative of the order Bacillales from soda lakes. *Extremophiles*, 16(4), pp. 597-605.
- Sousa, J.A., Plugge, C.M., Stams, A.J. and Bijmans, M.F., 2015a.** Sulfate reduction in a hydrogen fed bioreactor operated at haloalkaline conditions. *Water research*, 68, pp. 67-76.
- Sousa, J.A., Sorokin, D.Y., Bijmans, M.F., Plugge, C.M. and Stams, A.J., 2015b.** Ecology and application of haloalkaliphilic anaerobic microbial communities. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(22), pp. 9331-9336.
- Spagni, A., Casu, S. and Grilli, S., 2012.** Decolourisation of textile wastewater in a submerged anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 117, pp. 180-185.
- Sproeer, C. (2011).** Molecular Systematics, Inhoffenstrasse 7B, D-38124 Braunschweig, GERMANY
- Stephenson, T., Judd, S., Jefferson, B. and Brindle, K., 2000.** Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment, IWA Publishing, London.
- Sun, F., Zhang, N., Li, F., Wang, X., Zhang, J., Song, L. and Liang, S., 2018.** Dynamic analysis of self-forming dynamic membrane (SFDm) filtration in submerged anaerobic bioreactor: Performance, characteristic, and mechanism. *Bioresource technology*, 270, pp. 383-390.
- Sutton, P.M., Melcer, H., Schraa, O.J. and Togna, A.P., 2011.** Treating municipal wastewater with the goal of resource recovery. *Water Science and Technology*, 63(1), pp. 25-31.
- Tao, Y. (2011).** Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, 9 Section 4, Renmin Nan Road, Chengdu, Sichuan 610041, P.R. China.

- Thanh, P.M., Ketheesan, B., Stuckey, D.C. and Zhou, Y.,** 2017. Effects of trace metal deficiency and supplementation on a submerged anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 241, pp. 161-170.
- Truong, X.H., Rubio, M.M.M. and Dela Cruz, A.A.** (2019). Protection Division, Philippine Rice Research Institute, Maligaya, Science City of Munoz, Nueva Ecija 3119, Philippines
- Trzcinski, A.P. and Stuckey, D.C.,** 2010. Treatment of municipal solid waste leachate using a submerged anaerobic membrane bioreactor at mesophilic and psychrophilic temperatures: analysis of recalcitrants in the permeate using GC-MS. *Water research*, 44(3), pp. 671-680.
- Umaiyaakunjaram, R. and Shanmugam, P.,** 2016. Study on submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR) treating high suspended solids raw tannery wastewater for biogas production. *Bioresource technology*, 216, pp. 785-792.
- ULR-1, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, 23 Nisan 2013.
- Yongsiri, C., Vollertsen, J. and Hvitved-Jacobsen, T.,** 2005. Influence of wastewater constituents on hydrogen sulfide emission in sewer networks. *Journal of environmental engineering*, 131(12), pp. 1676-1683.
- Yoshie, S., Noda, N., Miyano, T., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y.** (2001). Microbial community analysis in the denitrification process of saline-wastewater by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rDNA and the cultivation method. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92 (4), pp. 346-353.
- Yoshie, S., Noda, N., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y.** (2004). Design of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes and microbial community analysis in the denitrification process of a saline industrial wastewater treatment syste. *FEMS Microbiolgy Letters*, 235 (1), pp. 183-189.
- Yoshie, S., Noda, N., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y.** (2004). Salinity decreases nitrite reductase gene diversity in denitrifying bacteria of wastewater treatment systems. *Applied Environmental Microbiology*, 70(5), pp. 3152-3157.

- Yurtsever, A., Calimlioglu, B. and Sahinkaya, E.,** 2017. Impact of SRT on the efficiency and microbial community of sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactors for the treatment of textile industry wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 314, pp. 378-387.
- Yurtsever, A., Çınar, Ö. and Sahinkaya, E.,** 2016. Treatment of textile wastewater using sequential sulfate-reducing anaerobic and sulfide-oxidizing aerobic membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 511, pp. 228-237.
- Vallero, M.V., Lettinga, G. and Lens, P.N.,** 2005. High rate sulfate reduction in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBaR) at high salinity. *Journal of Membrane Science*, 253(1-2), pp. 217-232.
- Van Houten, R.T., Pol, L.W.H. and Lettinga, G.,** 1994. Biological sulphate reduction using gas- lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source. *Biotechnology and bioengineering*, 44(5), pp. 586-594.
- Van Houten, B.H., Roest, K., Tzeneva, V.A., Dijkman, H., Smidt, H. and Stams, A.J.,** 2006. Occurrence of methanogenesis during start-up of a full-scale synthesis gas-fed reactor treating sulfate and metal-rich wastewater. *Water Research*, 40(3), pp. 553-560.
- Van Leerdam, R.C., Bonilla- Salinas, M., de Bok, F.A., Bruning, H., Lens, P.N., Stams, A.J. and Janssen, A. J.,** 2008. Anaerobic methanethiol degradation and methanogenic community analysis in an alkaline (pH 10) biological process for liquefied petroleum gas desulfurization. *Biotechnology and bioengineering*, 101(4), pp. 691-701.
- Van Lier, J.B., Mahmoud, N. and Zeeman, G.,** 2008. Anaerobic wastewater treatment. biological wastewater treatment, principles, modelling and design, pp. 415-456.
- Van Zyl, P.J., Wentzel, M.C., Ekama, G.A. and Riedel, K.J.,** 2008. Design and start-up of a high rate anaerobic membrane bioreactor for the treatment of a low pH, high strength, dissolved organic waste water. *Water Science and Technology*, 57(2), pp. 291-295.
- Vossoughi, M., Shakeri, M. and Alemzadeh, I.,** 2003. Performance of anaerobic baffled reactor treating synthetic wastewater influenced by decreasing COD/SO₄ ratios. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 42(10), pp. 811-816.

- Wang, J., Lu, H., Chen, G.H., Lau, G.N., Tsang, W.L. and van Loosdrecht, M.C.,** 2009. A novel sulfate reduction, autotrophic denitrification, nitrification integrated (SANI) process for saline wastewater treatment. *Water research*, 43(9), pp. 2363-2372.
- Weidhaas, J.,** 2013. Review of Biological Treatment of Wastewaters Using Sulfate Reducing Bacteria, Doctoral dissertation, West Virginia University, USA.
- Weijma, J., Chi, T. M., Pol, L.W.H., Stams, A.J. and Lettinga, G.,** 2003. The effect of sulphate on methanol conversion in mesophilic upflow anaerobic sludge bed reactors. *Process Biochemistry*, 38(9), pp. 1259-1266.
- Weiland, P.,** 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(4), pp. 849-860.
- Widdele. F.,** 1988. Microbiology And Ecology Of Sulfate And Sulfur Reducing Bacteria. A.J.B Zehuder . New York: Wiley & Sons.
- Wouters, K.** (2013). Environment, Health and Safety, SCKCEN, Boeretang 200, 2400, BELGIUM
- Wouters, K., Moors, H., Boven, P. and Leys, N.** (2013). Evidence and characteristics of a diverse and metabolically active microbial community in deep subsurface clay borehole water. *FEMS microbiology ecology*, 86(3), pp. 458-473.
- Xia, Y., Kong, Y., Thomsen, T.R., Nielsen, P.H.** (2008). Identification and ecophysiological characterization of epiphytic protein-hydrolyzing Saprospiraceae ("Candidatus Epiflobacter" spp.) in activated sludge. *Applied Environmental Microbiology*, 74(7), pp. 2229-2238.
- Xie, B., Cheng, J., Zhou, J., Song, W., Liu, J. and Cen, K.,** 2008. Production of hydrogen and methane from potatoes by two-phase anaerobic fermentation. *Bioresource technology*, 99(13), pp. 5942-5946.
- Xie, K., Lin, H.J., Mahendran, B., Bagley, D.M., Leung, K.T., Liss, S.N. and Liao, B.Q.,** 2010. Performance and fouling characteristics of a submerged anaerobic membrane bioreactor for kraft evaporator condensate treatment. *Environmental technology*, 31(5), pp. 511-521.
- Xu, X.J., Chen, C., Wang, A.J., Fang, N., Yuan, Y., Ren, N.Q., Lee, D.J.,** 2012. Enhanced elementary sulfur recovery in integrated sulfate-reducing,

- sulfur-producing reactor under micro-aerobic condition. *Bioresource Technology*, 116, pp. 517–521.
- Yurtsever, A., Çınar, Ö. and Sahinkaya, E.,** 2016. Treatment of textile wastewater using sequential sulfate-reducing anaerobic and sulfide-oxidizing aerobic membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 511, pp. 228-237.
- Zavarzin, G.A. and Zhilina, T.N.,** 2000. Anaerobic chemotrophic alkaliphiles. In *Journey to diverse microbial worlds*, pp. 191-208, Springer, Dordrecht.
- Zavarzin, G.A., Zhilina, T.N. and Kevbrin, V.V.,** 1999. The alkaliphilic microbial community and its functional diversity. *Microbiology -Aibs- c/c of Mikrobiologiya*, 68, pp. 503-521.
- Zemskaya, T.I., Pogodaeva, T.V., Shubenkova, O.V., Chernitsina, S.M., Dagurova, O. P., Buryukhaev, S. P., Namsaraev, B.B., Khlystov, O.M., Egorov, A.V., Krylov, A.A. and Kalmychikov, G.V.,** 2010. Geochemical and microbiological characteristics of sediments near the Malenky mud volcano (Lake Baikal, Russia), with evidence of Archaea intermediate between the marine anaerobic methanotrophs ANME-2 and ANME-3. *Geo-Marine Letters*, 30(3-4), pp. 411-425.
- Zhai, L., Xie, J., Lin, Y., Cheng, K., Wang, L., Yue, F., Guo, J., Liu, J. and Yao, S.,** 2018. Genome sequencing and heterologous expression of antiporters reveal alkaline response mechanisms of *Halomonas alkalicola*. *Extremophiles*, 22, pp. 221-231.
- Zhang, B., Zhao, H., Zhou, S., Shi, C., Wang, C. and Ni, J.,** 2009. A novel UASB–MFC–BAF integrated system for high strength molasses wastewater treatment and bioelectricity generation. *Bioresource Technology*, 100(23), pp. 5687-5693.
- Zhang, H., He, H., Cao, R. and Zhang, Z.** (2016). School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology (Weihai), The 2nd West Wenhua Road, Weihai 264209, China
- Zhao, Y.G., Wang, A.J. and Ren, N.Q.,** 2010. Effect of carbon sources on sulfidogenic bacterial communities during the starting-up of acidogenic sulfate-reducing bioreactors. *Bioresource technology*, 101(9), pp. 2952-2959.

- Zhou, J. and Xing, J.**, 2015. Effect of electron donors on the performance of haloalkaliphilic sulfate-reducing bioreactors for flue gas treatment and microbial degradation patterns related to sulfate reduction of different electron donors. *Biochemical engineering journal*, 96, pp. 14-22.
- Zhou, J., He, Q., Hemme, C.L., Mukhopadhyay, A., Hillesland, K., Zhou, A., He, Z., Van Nostrand, J.D., Haze, T.C., Stahl, D.A., Wall, J.D. and Arkin, A.P.**, 2011. How sulphate-reducing microorganisms cope with stress: lessons from systems biology. *Nature Reviews Microbiology*, 9(6), pp. 452.
- Zhou, J., Zhou, X., Li, Y. and Xing, J.**, 2015. Bacterial communities in haloalkaliphilic sulfate-reducing bioreactors under different electron donors revealed by 16S rRNA MiSeq sequencing. *Journal of hazardous materials*, 295, pp. 176-184.
- Zhou, J.M., Song, Z.Y., Yan, D.J., Liu, Y.L., Yang, M.H., Cao, H.B. and Xing, J.M.**, 2014. Performance of a haloalkaliphilic bioreactor and bacterial community shifts under different COD/SO₄²⁻ ratios and hydraulic retention times. *Journal of hazardous materials*, 274, pp. 53-62.
- Zhuang, X., Han, Z., Bai, Z., Zhuang, G. and Shim, H.**, 2010. Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil. *Environmental Pollution*, 158(5), pp. 1119-1126.
- Zmorrod, N.** (2019). Biological and Environmental Sciences, Beirut Arab University, Dibbieh, Dibbieh 11-50-20 Riad El Sol, Lebanon.

ÖZGEÇMİŞ

HANDE TÜRK, 1989 yılında Elazığ'da doğdu. İlk ve orta eğitimini Elazığ'da tamamladı. 2008-2012 yılları arasında Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimini, 2012-2014 yılları arasında yüksek lisans eğitimini ve 2014-2019 yılları arasında da doktora eğitimini tamamlamıştır.

